

کاربرد الکتروود اصلاح شده با نانوذرات مغناطیسی $NiCuFe_2O_4$ با ساختار اسپینلی برای اندازه گیری ناپروکسن در حضور استامینوفن

حسین صلواتی^۱، معصومه طائی^{۱*}، ناهید رسولی^۱، علی ظهور^۲، گلشن آشیان^۱

^۱گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^۲گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۹/۰۵

تاریخ تصحیح: ۹۷/۰۷/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۱/۱۸

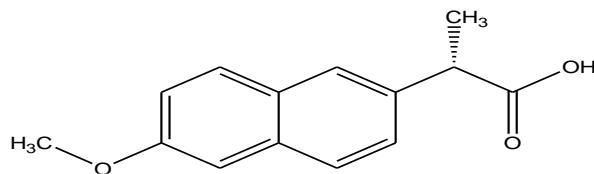
چکیده

یک روش ساده و در عین حال حساس برای اندازه گیری ناپروکسن بر مبنای الکتروود کربن خمیری اصلاح شده با $NiCuFe_2O_4$ و نانولوله های چند دیواره کربنی گزارش شده است. این الکتروود اصلاح شده به صورت اختصار به صورت (MWCNTs/ $NiCuFe_2O_4$ /CPE) نشان داده می شود. رفتار الکتروشیمیایی ناپروکسن بر الکتروود اصلاح شده با تکنیک های مختلفی نظیر ولتامتری چرخه ای، ولتامتری پالس تفاضلی و امپدانس الکتروشیمیایی بررسی شده است. لازم به ذکر است الکتروود اصلاح شده خواص الکتروکاتالیستی بسیار خوبی نسبت به ناپروکسن نشان داده و یک پیک اکسایش شاخص در $+1/02$ ولت نسبت به الکتروود مرجع $Ag/AgCl$ از خود نشان می دهد. این حسگر همچنین قادر به اندازه گیری ناپروکسن در حضور استامینوفن بدون هیچ مزاحمتی می باشد. این انتخابگری بالا باعث می شود روش ارائه شده به طور موفقیت آمیزی برای اندازه گیری ناپروکسن در نمونه های بیولوژیکی بکار رود.

کلمات کلیدی: $NiCuFe_2O_4$ ، ناپروکسن، امپدانس الکتروشیمیایی، الکتروود خمیری.

۱- مقدمه

ناپروکسن [(+) - ۲ - (۶ - متوکسی - ۲ ناپتیل) پروپیونیک اسید] یک داروی غیراستروئیدی است و به طور گسترده در درمان بسیاری از بیماری ها مانند تورم روماتیسمی مفاصل، بیماری مفصلی، نقرس حاد و قاعدگی دردناک اولیه به کار می رود [۱]. نقش حیاتی ناپروکسن در سلامت انسان، با تاکید بر تعیین آن در سیالات زیستی و فرمولبندی دارویی است. چندین روش برای تعیین ناپروکسن گزارش شده است، مانند فسفرسنجی دما بالا [۲]، کروماتوگرافی مایع [۳] و الکتروفورز موئین [۴]. بررسی مقالات نشان می دهد که از نظر الکتروشیمیایی ناپروکسن فعال است لذا از روش های الکتروشیمیایی نیز برای اندازه گیری آن استفاده شده است [۵]. با توجه به سینتیک کند اکسایش و حساسیت پایین اندازه گیری ناپروکسن با استفاده از روش های الکتروشیمی، انتخاب یک کاتالیزور مناسب برای بهبود پارامترهای تجزیه ای همواره حائز اهمیت بوده است.



شکل ۱-۱ ساختار شیمیایی ناپروکسن

بیت الهی و همکارانش با استفاده از یک روش الکتروشیمیایی ساده، سریع با حساسیت بالا بر اساس الکتروود کربن خمیری اصلاح شده با NiO/CNTs و مایع یونی اکسایش الکتروشیمیایی ناپروکسن با روش ولتامتری را مورد بررسی قرار دادند [۶]. این روش حد تشخیص ۱۲۰ نانومولار را نشان داد. محدوده خطی برای این روش ۰/۷۵-۸۰۰ میکرو مولار بدست آمد. تشکوریان و همکارانش با استفاده از یک روش الکتروشیمیایی ساده، سریع با حساسیت بالا بر اساس الکتروود کربن خمیری اصلاح شده با ZnO و کربن نانولوله اکسایش الکتروشیمیایی ناپروکسن با روش ولتامتری را بررسی نمودند. این روش حد تشخیص ۰/۲۳ نانومولار را نشان داد. هم چنین ضریب خطی قابل قبول و رنج خطی غلظت ۱- ۲۰۰ میکرو مولار برای این حسگر برآورد شد. الکتروود اصلاح شده با این روش در نهایت برای نمونه‌های دارویی مورد استفاده قرار گرفت [۷].

در این کار تحقیقاتی از نانوذرات مغناطیسی $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ برای اصلاح الکتروود استفاده گردیده است. از آنجا که در ساختار این ذرات از دو فلز مس و نیکل (II) به طور همزمان استفاده گردیده است، این اصلاح گر یک مخلوط فریتی نام دارد. $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ متعلق به خانواده اسپینل ها با فرمول کلی AB_2O_4 است که کاتیون A در موقعیت چهاروجهی و کاتیونهای B در موقعیت هشت وجهی قرار دارند. کاتیون های بکار رفته در ساختار این نانوذرات بشدت بر خواص سطحی آن تاثیر گذار است [۸]. در کارهای تحقیقاتی پیشین هیچ روش الکتروشیمیایی برای اندازه گیری ناپروکسن در حضور استامینوفن ارائه نشده است در حالی که حسگر الکتروشیمیایی ساخته شده یک روش بسیار ساده، حساس، دقیق و معتبر برای اندازه‌گیری ناپروکسن با استفاده از اثر هم افزایی نانو لوله های کربنی و خاصیت مغناطیسی اسپینل $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ در نمونه‌های حقیقی ارائه نموده است. ورود مس به ساختار NiFe_2O_4 (از نظر بیولوژیک) سمیت اسپینل را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد. لازم به ذکر است تاکنون کاربردی برای ترکیب $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ در روشهای الکتروشیمیایی ارائه نگردیده است و در این کار تحقیقاتی برای اولین با این ترکیب به عنوان کاتالیست الکتروشیمیایی بکار گرفته می شود.

۲- بخش تجربی

۲-۱- دستگاه های مورد استفاده

اندازه‌گیری‌های ولتامتری با استفاده از یک سیستم سه الکترودی متشکل از الکتروود Ag/AgCl به عنوان الکتروود مرجع، سیم پلاتینی به عنوان الکتروود کمکی و یک الکتروود اصلاح شده خمیر کربنی بعنوان الکتروود انجام پذیرفت. برای تمام اندازه گیری های ولتامتری از دستگاه الکتروشیمی Metrohm مدل 797 VA سه الکترودی و برای اندازه گیری امپدانس شیمیایی از

دستگاه Autolab مدل 72036AUT استفاده شد. برای تشخیص ساختار و مورفولوژی نانو ذرات مغناطیسی سنتز شده، میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) مدل S-4160 ساخت شرکت هیتاچی ژاپن و جهت تایید سنتز نانوذرات، طیف سنج پراش پرتو ایکس (XRD) مدل Xpert با طول موج مس ساخت شرکت فیلیپس هلند و طیف سنج تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) مدل Jasco 4200 بکار گرفته شد. برای تنظیم pH دستگاه pH متر Metrohm مدل 691 pH/mV استفاده شد.

۲-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده

تمام مواد شیمیایی از مواد تجزیه‌ای با درجه خلوص بالا تهیه شد. سدیم ناپروکسن و استامینوفن از شرکت سیگما تهیه شد. محلول‌های استوک از ناپروکسن و استامینوفن (۱/۰۰۱ مولار) با حل کردن مقادیر مناسب از آن‌ها در یک بالن مناسب قبل از آنالیز تهیه شدند. محلول‌های دیگر استاندارد با رقیق کردن محلول‌های استوک با محلول بافر حاصل شدند. بافرهای فسفات با pH های متفاوت بکار گرفته شد.

۲-۳- نرم افزارهای مورد استفاده

ثبت ولتاگرام‌ها، بررسی آنها در نرم افزار 797VA Computrace به کمک رایانه شخصی انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل صورت گرفت.

۲-۴- سنتز نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$

نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ با روش هم‌رسوبی شیمیایی با استفاده از سورفاکتانت ستیل تری آمینو برماید (CTAB) به عنوان سورفاکتانت آلی سنتز شد. در این روش نمک‌های نیترات آهن ۹ آبه و نیترات نیکل ۶ آبه و نیترات مس ۳ آبه و سدیم هیدروکسید ۱/۶ گرم با هم مخلوط شد و سپس در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. آنگاه ۰/۲ گرم CTAB در حالی که مخلوط به طور پیوسته به هم زده می‌شد، اضافه شد. سپس pH محلول در محدوده ۷/۵-۶/۵ تنظیم شد. در این مرحله رنگ محلول تغییر کرد که نشان دهنده تشکیل نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ می باشد. محلول به مدت ۱۲۰ دقیقه بهمزده شد. آنگاه نمونه بدست آمده تا دمای اتاق سرد شد. رسوب سیاه جداسازی شد و با آب و اتانول چندین بار شسته شد. نمونه در کوره در دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت حرارت داده شد و در نهایت نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ تهیه شد.

۲-۵- آماده سازی الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$

برای حذف اکسیدهای فلزی از نانولوله‌ها، نانولوله‌ها کربنی در اسید نیتریک ۲ مولار به مدت ۱۵ ساعت رفلاکس شد. سپس با آب دو بار تقطیر شده شسته شد و در دمای اتاق خشک شد. اسید نیتریک باعث ایجاد گروه‌های عاملی از جمله COOH در لبه های نانولوله‌ها می‌شود. ۰/۰۲ گرم از نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ در ۱۰ میلی لیتر دی‌اتیل اتر حل شد و سپس ۰/۸ گرم گرافیت

و ۰/۱ گرم کربن نانولوله به آن افزوده شد. دی ایتیل اتر نقش همسان ساختن توزیع نانوذرات را دارد و در حقیقت با ایجاد یک محیط آلی توزیع ذرات گرافیت و نانولوله‌های کربنی را در مخلوط یکسان می‌سازد. خمیر حاصل سپس داخل یک تیوپ شیشه‌ای قرارداده شد. انتقال الکتریکی با استفاده از یک سیم مسی برقرار شد. سطح این الکتروود روی یک کاغذ کشیده شد تا کاملاً یکنواخت گردد. الکتروود کربن خمیری اصلاح نشده (CPE) از ترکیب ۰/۸ گرم گرافیت و ۰/۱ گرم کربن نانولوله بدون استفاده از هیچ اصلاح‌گری بدست آمد. همچنین الکترودهای اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی و الکتروود اصلاح شده با نانو ذرات مغناطیسی نیز برای مقایسه نتایج حاصل از اکسایش ناپروکسن ساخته شد.

۲-۶- آماده سازی نمونه های حقیقی

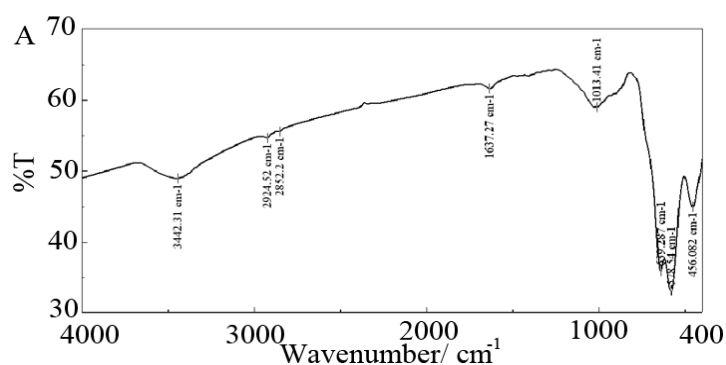
نمونه‌های ادرار پس از جمع‌آوری در یخچال نگهداری شد. سپس ۴ میلی لیتر از محلول ادرار سانتریفیوژ شده (۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ rpm) تا ذرات معلق از نمونه ادرار جدا شود. این ذرات گاهی با جذب بر روی الکتروود سبب آلودگی سطح می‌شود و کارایی آن را کاهش می‌دهد. سپس محلول فوقانی با محلول بافر pH=۵ با نسبت ۲:۱ رقیق شد. این رقیق سازی مزاحمت ماتریس را تا حد مطلوبی کاهش می‌دهد و همچنین با استفاده از روش افزایش استاندارد محتوای ناپروکسن موجود در نمونه اندازه گیری شد تا مزاحمت بافت نمونه بطور کامل حذف گردد. برای نشان دادن کارایی روش جهت آنالیز نمونه های دارویی، نمونه قرص ناپروکسن انتخاب شد. هر قرص حاوی ۲۵۰ میلی گرم ناپروکسن می باشد. بعد از اینکه ۵ قرص از این دارو کاملاً سائیده و همگن شد. وزنی مناسب از نمونه در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. برای انحلال بهتر از روش انحلال با استفاده از امواج فرا صوت استفاده شد. سپس نمونه توسط کاغذ صافی صاف شد. سپس این محلول ۱۰ مرتبه توسط بافر رقیق شد (بافر با pH=۵). سپس محلول‌های تهیه شده به سل الکتروشیمیایی انتقال یافت تا غلظت دقیق آن‌ها با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی تعیین گردد. نمونه‌های پلاسما پس از تهیه، در فریزر نگهداری شدند. قبل از آنالیز، این نمونه ها آماده سازی شد. ابتدا نمونه ها سانتریفیوژ شدند. سپس ۴ میلی لیتر متانول اضافه شد تا پروتئین‌ها رسوب کنند. پروتئین‌های رسوب داده شده توسط سانتریفیوژ ته نشین و جداسازی شدند (۲ min با سرعت ۲۰۰۰ rpm). محلول شفاف حاصله بعد از فیلتر شدن و رقیق سازی با بافر فسفات به سل ولتامتری منتقل شد. سپس در شرایط بهینه محتوای ناپروکسن با روش افزایش استاندارد محاسبه شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی و شناسایی نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$

برهم‌کنش تابش مادون قرمز با یک نمونه باعث تغییر انرژی ارتعاشی پیوندها و تغییر در گشتاور دو قطبی مولکول می‌شود. طیف FT-IR ترکیب فریت نیکل مس در محدوده فرکانس $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ثبت شده است. باند جذبی در ناحیه 450 cm^{-1}

متعلق به ارتعاشات کششی پیوندهای $O^{2-}-M^{2+}$ و $O^{2-}-Fe^{3+}$ است [۹]. در ساختار اسپینل نرمال $NiCuFe_2O_4$ در مکان‌های تتراهدرال نیکل و مس قرار گرفته‌اند. باند جذبی در 560 cm^{-1} متعلق به ارتعاشات کششی $Fe^{3+}-O^{2-}$ در مکان‌های هشت وجهی است. یک پاند پهن در 3400 cm^{-1} نشان دهنده پیوندهای $O-H$ است که به علت رطوبت هوا توسط KBr جذب شده است (شکل ۱-۳).

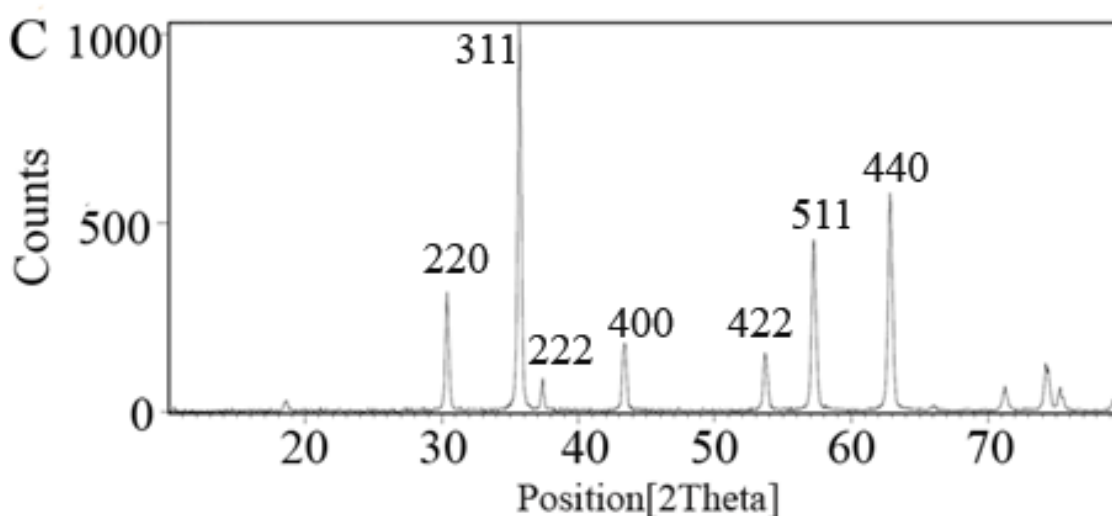


شکل ۱-۳: طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) نانوذرات $NiCuFe_2O_4$

آنالیز ساختار نمونه با روش XRD نیز پیک‌های اصلی (220) ، (311) ، (400) ، (422) ، (511) ، (440) ، (220) را به وضوح نشان داد که بیانگر ساختار اسپینل مکعبی است [۱۰، ۱۱]. همچنین شکل ۲-۳ به وضوح پیک‌های شارپی را نشان می‌دهد که دلیل بر ساختار کریستالی نمونه است. میانگین سایز ذرات (D) با شدت‌ترین پیک (311) براساس معادله شرر محاسبه شد:

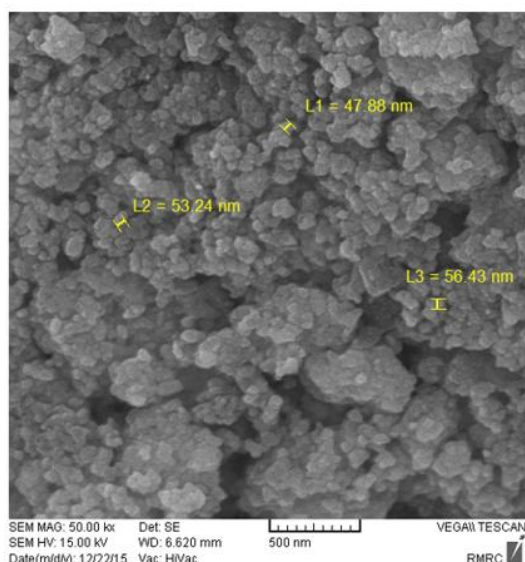
$$D = 0.9\lambda / BCOS\theta \quad (\text{معادله ۱})$$

که در آن D میانگین سایز ذرات، λ طول موج تابش x-ray، β پهنای پیک در نصف ارتفاع و θ زاویه بزرگ است.

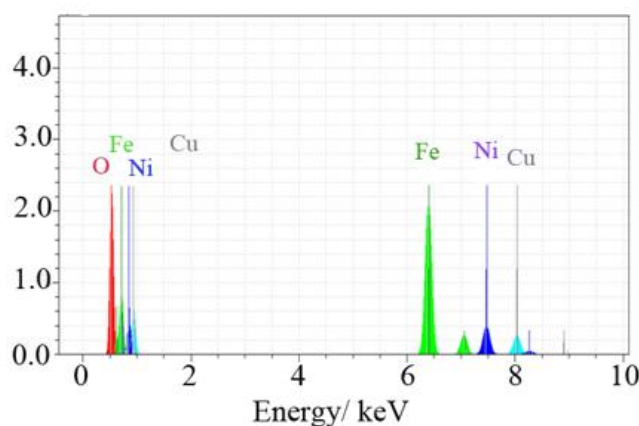


شکل ۲-۳: الگوی طیف سنجی پراش پرتو ایکس نانوذرات $NiCuFe_2O_4$

سایز ذرات و مورفولوژی نمونه‌ها توسط FE-SEM شناسایی شدند. تصاویر FE-SEM در شکل ۳-۳ نشان می‌دهد که نمونه شامل ذرات تجمع یافته با مورفولوژی منظم است. آنالیز EDX همانگونه که در شکل ۳-۴ نشان داده شده است جهت تصدیق سنتز نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ بکار گرفته شد. تصویر EDX حضور عناصر نیکل، مس، آهن، اکسیژن را تصدیق می‌نماید.



شکل ۳-۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$

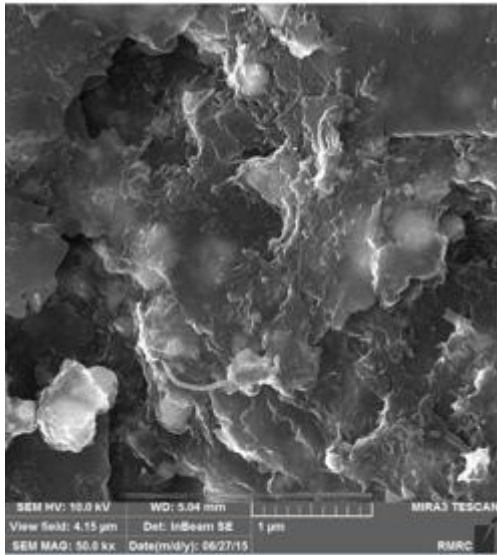


شکل ۳-۴- بررسی انرژی پراکندگی پرتو ایکس نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$

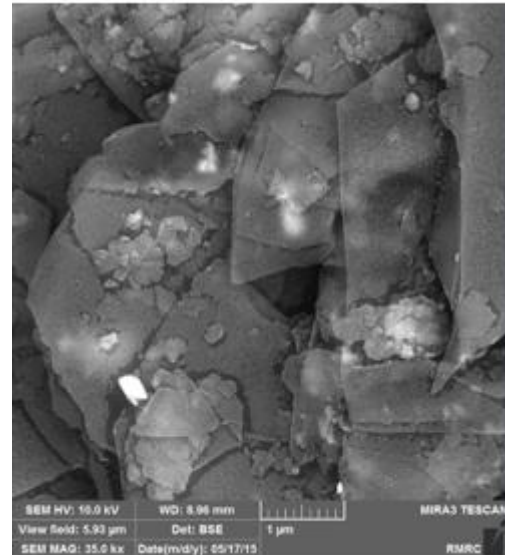
۳-۲- بررسی مورفولوژی الکتروود اصلاح شده $\text{MWCNTs/NiCuFe}_2\text{O}_4/\text{CPE}$

بعد از بررسی مورفولوژی ذرات سنتز شده، تکنیک FE-SEM برای نشان دادن مورفولوژی نانوذرات مغناطیسی بعد از قرار گرفتن در بافت خمیر کربن استفاده شد. سطح برای CPE و $\text{MWCNTs/NiCuFe}_2\text{O}_4/\text{CPE}$ توسط تکنیک FE-SEM بررسی شد. شکل ۳-۵ الف نشان می‌دهد که CPE شامل گرافیت با مورفولوژی صفحه‌ای است. با اضافه کردن اسپینل و MWCNTs ساختار CPE شکل حفره‌دار به خود می‌گیرند و مساحت سطح به طور مشهودی افزایش می‌یابد (شکل ۳-۳)

۵ ب). در حقیقت افزایش نانولوله های کربنی چند دیواره و نانوذرات مغناطیسی ساختار متخلخل تری را برای الکتروود خمیر کربن فراهم می آورد. همین امر سطح فعال الکتروود را که در تماس با الکتروولیت و گونه های الکترواکتیو قرار می گیرد را افزایش می دهد.



(ب)

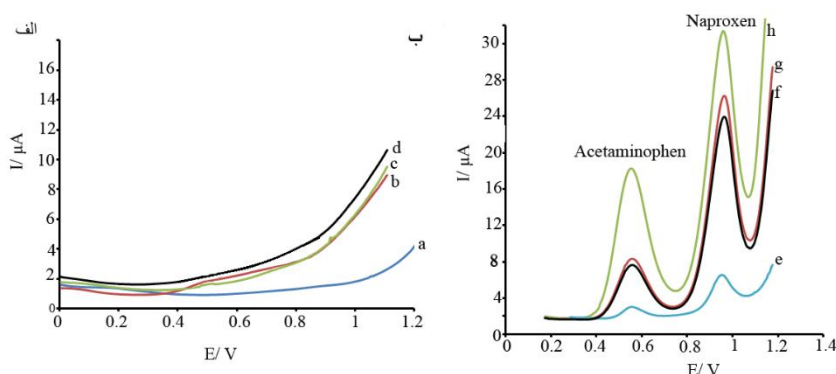


(الف)

شکل ۳-۵- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) (الف) الکتروود کربن خمیری ، (ب) الکتروود خمیری اصلاح شده با اسپینل MWCNTs و

۳-۳- بررسی رفتار الکتروشیمیایی ناپروکسن در حضور الکتروود اصلاح شده

رفتار الکتروشیمیایی الکتروود اصلاح شده با کربن نانولوله و اسپینل در حضور ناپروکسن توسط تکنیک ولتامتری مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که مشاهده می گردد ماکزیمم حساسیت در سطح الکتروودی مشاهده می گردد که در بافت آن شامل نانوذرات مغناطیسی $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ و هم نانولوله های کربنی است. در حقیقت الکتروودی که به این گونه اصلاح شده است نه تنها سطح موثر را برای اکسایش گونه های دارویی افزایش می دهد بلکه باعث تسریع انتقال الکترون بین آنالیت و الکتروود می گردد. این الکتروود همچنین باعث افزایش جریان اکسایش استامینوفن در $\text{pH}=5$ می گردد. لازم به ذکر است که پیک اکسایش ناپروکسن در پتانسیل $1/07$ ولت و پیک اکسایش استامینوفن در پتانسیل در حدود $0/70$ ولت ظاهر می شود.



شکل ۳-۶ - ولتاموگرام (الف) محلول بافر در سطح الکتروود خمیر کربن (a) و الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ (b)، الکتروود CNPE (c)، الکتروود اصلاح شده با $\text{MWCNTs/NiCuFe}_2\text{O}_4/\text{CPE}$ (d) - ولتاموگرام (ب) مانند ولتاموگرام الف در حضور ۳۰۰ میکرومولار ناپروکسن و ۶۰۰ میکرومولار استامینوفن

۳-۴- محاسبه مساحت سطح ویژه الکتروود اصلاح شده با $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$

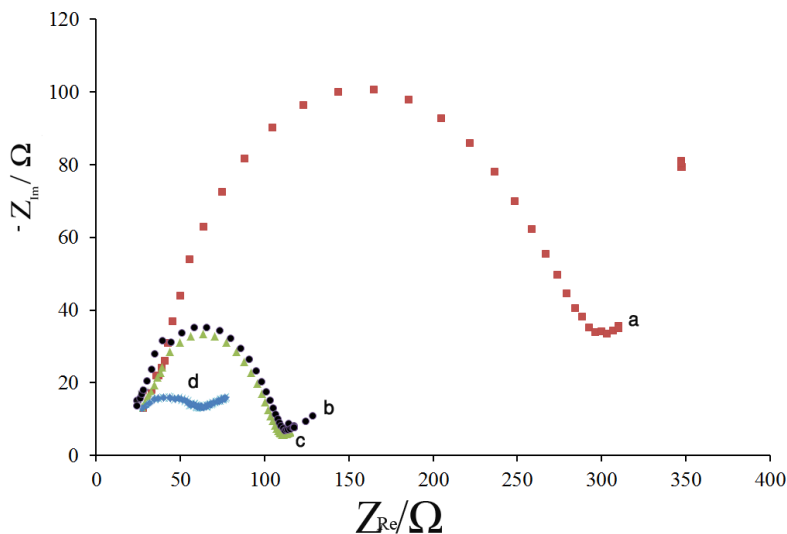
به منظور مشخص کردن اینکه الکتروود اصلاح شده باعث افزایش سطح موثر سنسور می‌شود. مساحت سطح واقعی (A) برای CPE و الکتروود اصلاح شده توسط فرمول زیر (معادله ۲) محاسبه می‌شود.

$$I_{p_a} = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} A C_0 D_R^{1/2} v^{1/2} \quad (\text{معادله ۲})$$

که در آن I_{p_a} اشاره به جریان پیک آندی دارد، n تعداد الکترون انتقال یافته، A مساحت سطح، D_R ضریب نفوذ، C_0 غلظت نمک آهن، $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ و v سرعت اسکن است. از آنجایی که برای گونه آهن است برای محلول ۱ میلی مولار سطح الکتروود بیشتر از الکتروود خمیر تنها است. در واقع مساحت سطح واقعی ۰/۰۴۳۲ سانتی متر مربع برای CPE و برای الکتروود اصلاح شده ۲ مرتبه بیشتر از CPE محاسبه شد.

۳-۵- امپدانس الکتروشیمیایی

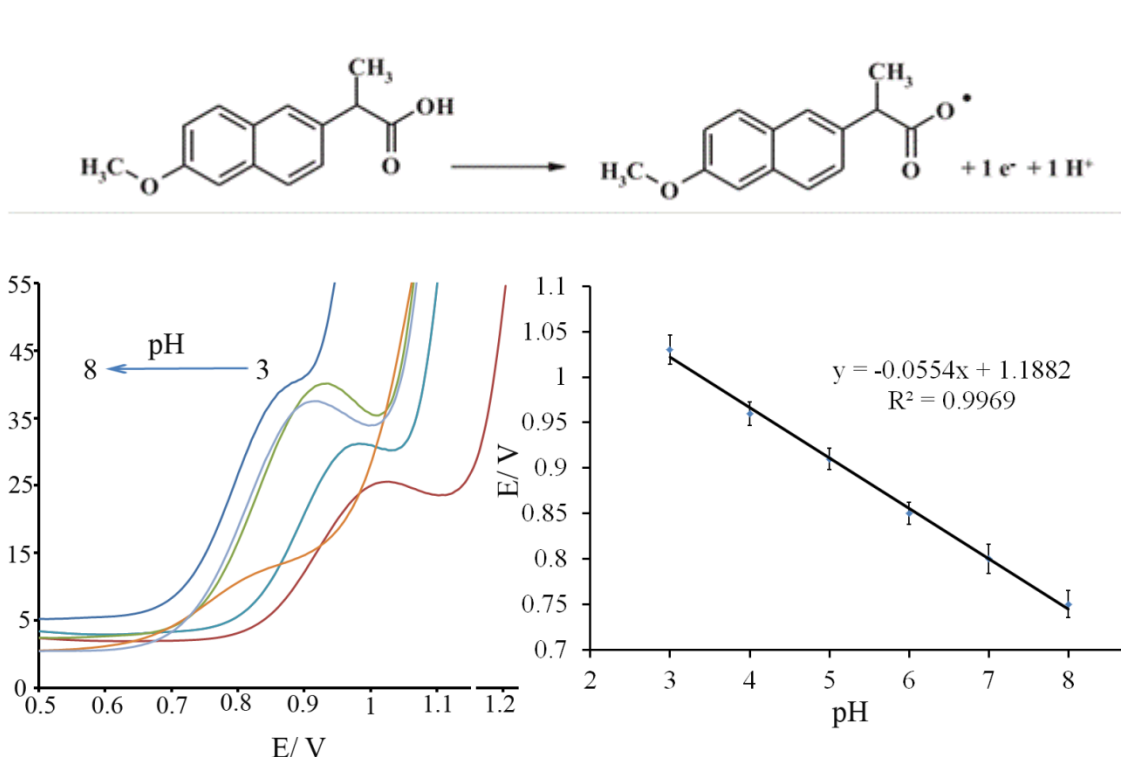
امپدانس الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری مقدار مقاومت سطح الکتروودهای اصلاح شده مختلف استفاده شد. هدف از این قسمت بررسی تغییرات سرعت انتقال الکترون در سطوح الکتروودهای مختلف است. شکل ۳-۷ دیاگرام‌های نیکوست برای الکتروودهای متفاوت را در حضور نمک ۱ مولار $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ و محلول ۱ مولار نیترات پتاسیم (KNO_3) نشان می‌دهد در این دیاگرام قطر نیم‌دایره EIS معادل R_{ct} (مقاومت انتقال الکترون) برای واکنش ردوکس نمک $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ است. مشاهده می‌شود R_{ct} برای CPE مقدار 530Ω است. اصلاح CPE با نانو درات اسپینل و کربن نانولوله مقدار R_{ct} را به 70Ω کاهش می‌دهد و این واقعیت بیانگر تسریع انتقال الکترون بر سطح الکتروود $\text{MWCNTs/NiCuFe}_2\text{O}_4/\text{CPE}$ است (شکل ۳-۷). لازم به ذکر است که در موردی که نانولوله های کربنی و نانوذرات مغناطیسی به طور جداگانه در بافت خمیر کربن قرار گرفته اند به طور مشهودی مقاومت سطح الکتروود را کاهش داده اند.



شکل ۳-۷ - امپدانس الکتروکود خیمیر کربن (a) ، الکتروکود CNPE (b) ، الکتروکود NiCuFe₂O₄/CPE (c) ، الکتروکود MWCNTs/NiCuFe₂O₄/CPE (d).

۳-۶- تاثیر pH محلول روی پیک‌های اکسایشی ناپروکسن

همانگونه که بیان شد در این کار تحقیقاتی از اسپینلی استفاده شد که در آن عناصر نیکل، مس، آهن، اکسیژن وجود دارد. از آنجا که این عناصر در بالاترین حالت اکسایش خود در ساختار اسپینل ظاهر شده اند عملاً هیچ پیک اکسایشی مربوط به اصلاح گر در محدوده اکسایش ناپروکسن و استامینوفن دیده نمی شود. در حقیقت این اصلاح گر هیچ گونه مبادله پروتون و الکترون انجام نمی دهد. تاثیر pH محلول روی پیک‌های اکسایشی ناپروکسن در محدوده pH=۳ تا ۸ با فرسفات بررسی شد. پتانسیل اکسایش ناپروکسن با افزایش pH تغییری کرد. این نشان می دهد که پروتون در واکنش‌های اکسایشی نقش دارد. پتانسیل اکسایش استامینوفن و ناپروکسن با تغییر pH به مقادیر منفی انتقال می یابد. با توجه به ساختار ناپروکسن که در شکل ۲-۱ نشان داده شده است دو گروه عاملی اتری و کربوکسیلیک اسیدی در ساختار این مهارکننده آنزیمی وجود دارد. همانگونه که در واکنش زیر به وضوح نشان داده شده است در فرایند اکسایش الکتروشیمیایی ناپروکسن یک پروتون و یک الکترون شرکت می کند. این مکانیسم توسط روش‌های الکتروشیمیایی که در گذشته ارائه شده اند نیز تایید می گردد [۱۲، ۱۳]. همانگونه که شکل ۳-۸ نشان می دهد برای تعیین ناپروکسن ماکسیمم جریان اکسایش در pH=۵ حاصل می شود و برای مطالعات بعدی این pH مورد استفاده قرار گرفت.



شکل ۳-۸- بررسی اثر pH در اندازه گیری ۳۵۰ میکرو مولار ناپروکسن بر روی MWCNTs/NiCuFe₂O₄/CPE

۳-۷- تاثیر سرعت اسکن روی پیک جریان

برای بررسی فرایند اکسایش از اثر سرعت روبش استفاده شد. فرایند اکسایش استامینوفن و ناپروکسن هر دو تحت کنترل نفوذ است. ناپروکسن در اثر اکسایش یک ماده حدواسط ایجاد می کند که در ۱/۳ ولت یک پیک اکسایش می دهد. این حد واسط به شدت بر روی سطح جذب می شود. چون بعد از هر بار اندازه گیری سطح الکتروود تجدید می گردد عملاً این ماده هیچ مزاحمتی بر اندازه گیری استامینوفن و ناپروکسن ندارد. همچنین پیک اکسایش این حد واسط در پتانسیل مثبت تری نسبت به ناپروکسن و استامینوفن ظاهر شده و پیک آندی آن هیچ همپوشانی با پیک اکسایش استامینوفن و ناپروکسن ندارد. برای اثبات این موضوع رابطه سرعت روبش پتانسیل و جریان برای ناپروکسن و حدواسط حاصل از فرایند اکسایش آن بررسی شد. دلیل دیگری که تایید می کند این حد واسط بر سطح حسگر جذب سطحی می گردد این است که اگر بدون تمیز کردن سطح حسگر چندین بار اکسایش ناپروکسن را بر روی یک الکتروود تکرار کنید بتدریج پیک آندی ناپروکسن ناپدید می گردد که می تواند حضور این حدواسط را به عنوان یک مانع برای تبادل الکترون بین آنالیت و الکتروود تایید کند.

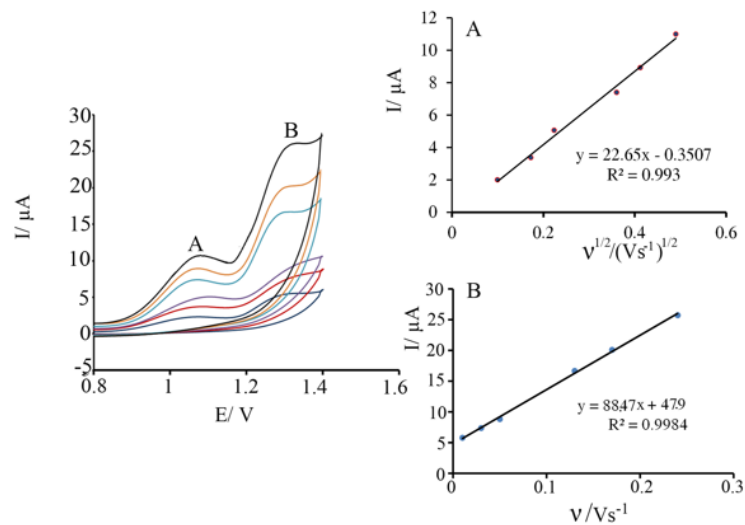
برای بررسی فرایند اکسایش ناپروکسن بر روی الکتروود MWCNTs/NiCuFe₂O₄/CPE از تکنیک ولتامتری چرخه ای استفاده شد. رابطه بین جریان اکسایش و سرعت روبش به روشنی مشخص می گرداند که فرایند اکسایش تحت کنترل چه پدیده ای (نفوذ و یا جذب سطحی) است. نظر به اینکه اکسایش ناپروکسن دو پیک مشخص آندی در پتانسیل های ۱/۰۲ و ۱/۳

ولت ایجاد می کند که پیک اول ناشی از اکسایش خود گونه ناپروکسن و پیکی که در پتانسیل $1/3$ ولت ظاهر می شود ناشی از اکسایش یک محصول از فرایند اکسایش الکتروشیمیایی ناپروکسن است که به شدت بر سطح الکتروود جذب سطحی می گردد. بررسی اثر سرعت روبش مشخص می گرداند که رابطه بین جریان پیک اول و $v^{1/2}$ یک رابطه خطی است این در حالی است که محصول اکسایش ناپروکسن ۲- استیل ۶- متوکسی ناپروکسن در پتانسیل $1/3$ ولت اکسید شده و پیک اکسایش آن با سرعت روبش رابطه خطی نشان می دهد که دلیل بر جذب سطحی این ترکیب بر سطح الکتروود است. لذا این محصول سطح الکتروود را بعد هر بار اندازه گیری آلوده می نماید. بنابر این الکتروود خمیر کربن بهترین گزینه برای اندازه گیری ناپروکسن است چون سطح الکتروود به راحتی تجدید پذیر است. این در حالی است که کاربرد الکترودهایی چون کربن شیشه ای در این باب محدود می گردد.

اثر سرعت اسکن روی پیک جریان و پیک پتانسیل روی سطح الکتروود اصلاح شده در محلول بافر فسفات که شامل ۴۰ مولار ناپروکسن است توسط چرخه ولتامتری بررسی شد. چرخه ولتامتری دو پیک آندی برگشت ناپذیر را نشان داد. اولین پیک مربوط به اکسایش ناپروکسن است. در واقع نمودار I_{pA} (جریان) براساس $v^{1/2}$ (سرعت اسکن) یک خط مستقیم را می دهد و معادله زیر حاصل می شود:

$$I_{pA} = 22/65 v^{1/2} - 0/3507 \quad R^2 = 0/993$$

این نشان می دهد که فرایند اکسایش در سطح الکتروود اصلاح شده تحت کنترل نفوذ صورت می گیرد. جریان های آندی احتمال دارد که ناشی از اکسایش ۲- استیل ۶- متوکسی ناپروکسن باشد که محصول حاصل از اکسایش است [۱۳]. خطوط I_{pA} در مقابل v در سرعت های اسکن متفاوت از $240 - 10$ یک وابستگی خطی I_{pA} به v را نشان داد که همانگونه که شکل ۳-۹ نشان می دهد یک فرایند برگشت ناپذیر است. در واقع سطح الکتروود اصلاح شده با این محصول اکسایش آلوده (پوشیده) می شود. بنابراین بهترین الکتروود برای تعیین ناپروکسن الکتروود کربن خمیری است چون به راحتی توسط پاک کردن سطح آن قابل بازیابی است.



شکل ۳-۹ - بررسی اثر سرعت روبش برای سانسیت یلو در ولتامتری چرخه ای الکترواد خمیر کربن اصلاح شده با $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ در سرعت های اسکن متفاوت. a) 10; b) 30; c) 50; d) 130; e) 170.0; and f) 240 mV s^{-1} .

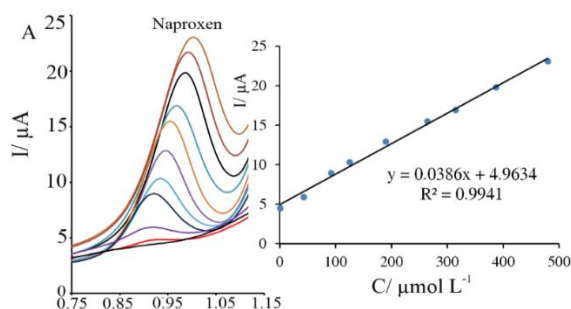
۳-۸ - تعیین ناپروکسن در حضور استامینوفن

ولتامتری پالس تفاضلی برای تعیین غلظت ناپروکسن در محلول آبی تحت شرایط بهینه مورد استفاده قرار گرفت. نمودار جریان در مقابل غلظت ناپروکسن یک ارتباط خطی را نشان می دهد و معادله زیر (معادله ۳) حاصل شد.

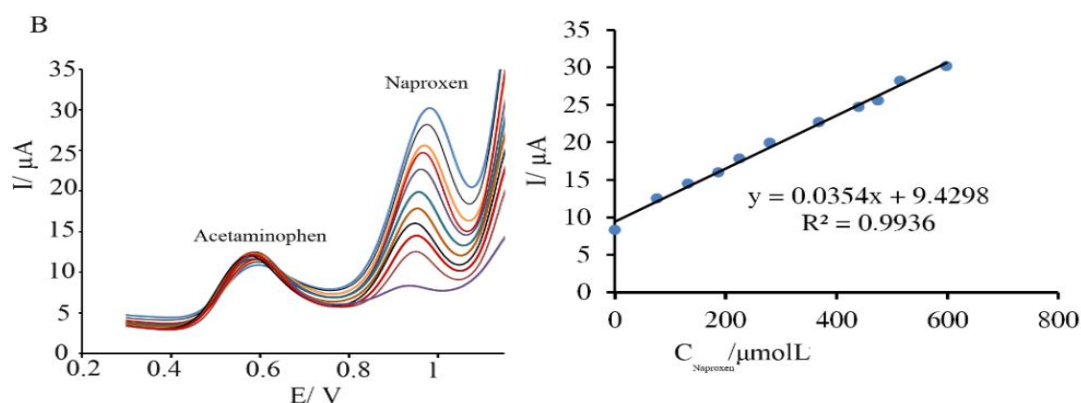
$$I_{PA}(\mu A) = (0.0386 \pm 0.0030)C + (4.9634 \pm 0.1500) \quad (R^2 = 0.9941, n=5) \quad (\text{معادله ۳})$$

که C غلظت ناپروکسن در رنج ۰/۱ تا $48.0 \frac{\mu\text{mol}}{\text{L}}$ است. حد تشخیص این روش $0.05 \frac{\mu\text{mol}}{\text{L}}$ برای ناپروکسن بدست آمد. همچنین پایداری الکترواد اصلاح شده بررسی شد و برای این روش از ناپروکسن با غلظت $100 \frac{\mu\text{mol}}{\text{L}}$ استفاده شد. چرخه ولتامتری برای ناپروکسن روی سطح الکترواد اصلاح شده نشان داد که پتانسیل اکسایش برای ناپروکسن بعد از گذشت یک ماه بدن تغییر باقی می ماند و پیک آندی (جریان آندی) در حدود ۴/۱ درصد نسبت به پیک جریان اولیه کاهش داشت. درصد بازیافت الکترواد اصلاح شده با روش DPV و با استفاده از ۶ الکترواد اصلاح شده مجزا مورد بررسی قرار گرفت. انحراف استاندارد نسبی (RSD) برای ناپروکسن با غلظت $100 \frac{\mu\text{mol}}{\text{L}}$ مقدار ۴٪ برآورد شد. استامینوفن یک داروی مسکن است که معمولاً همراه ناپروکسن استفاده می شود که به دلیل دارا بودن گروه های فنلی می تواند روی سطح الکترواد می تواند در پتانسیل ۵۳۷ / +۰ اکسید شود. در این بخش توانایی الکترواد اصلاح شده در حضور استامینوفن یا تعیین همزمان ناپروکسن و استامینوفن با تکنیک DPV بررسی می شود. همان طور که مشاهده می شود دو پیک آندی قابل تشخیص برای ناپروکسن و استامینوفن به ترتیب مشاهده شد. علاوه بر این حساسیت الکترواد اصلاح شده برای تعیین ناپروکسن در حضور و غیاب استامینوفن بررسی شد و نتیجه نشان داد که حساسیت الکترواد اصلاح شده برای تعیین ناپروکسن در این دو شرایط تقریباً یکسان است. در حقیقت حساسیت شیب منحنی معیار گیری است در حضور استامینوفن و در اندازه گیری ناپروکسن به تنهایی شیب های منحنی

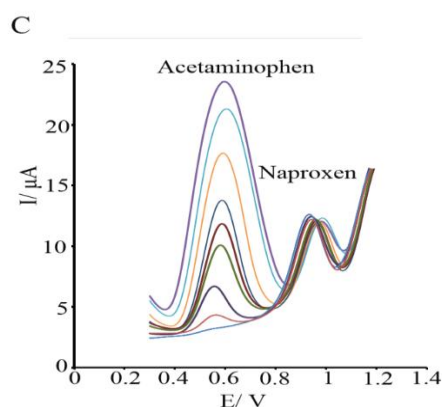
معیارگیری تفاوت فاحشی ندارد که دلیل محکمی است که نشان می‌دهد امکان اندازه‌گیری ناپروکسن در حضور استامینوفن و همچنین اندازه‌گیری همزمان دو ترکیب کاملاً امکان‌پذیر است. علاوه بر این جریان آندی برای استامینوفن در 0.537 V افزایش می‌یابد زمانی که غلظت استامینوفن با افزایش غلظت افزایش می‌یابد. در حالی که پیک جریان مربوط به ناپروکسن بدون تغییر می‌ماند.



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۳-۱۰ - ولتاگرام پالس تفاضلی برای تعیین ناپروکسن در الکترود خمیر کربن اصلاح شده با نانو ذرات $\text{NiCuFe}_2\text{O}_4$ در غیاب استامینوفن، در حضور استامینوفن، در غلظت‌های متفاوت استامینوفن

در این قسمت لازم است که روش پیشنهادی با روش‌هایی که تاکنون برای اندازه‌گیری ناپروکسن ارائه شده است مقایسه گردد. بر طبق جدول ۱ استفاده از الکترودهایی نظیر پلاتین و یا اصلاح گرهایی نظیر نانوذرات دیسپرسیم برای اندازه‌گیری نمونه‌های دارویی گران و بصره نیست. اگر چه حساسیت روش برای اندازه‌گیری ناپروکسن در حد معمولی است اما پارامترهای دیگر تجزیه‌ای دیگر مانند حد تشخیص و محدوده خطی قابل مقایسه و در بعضی موارد حتی بهتر از روش‌های ارائه شده است. در برای اولین بار این اصلاح گر برای اصلاح حسگرهای الکتروشیمیایی بکار گرفته شده است.

جدول ۱- مقایسه پارامترهای تجزیه‌ای الکترودهای مختلف در اندازه‌گیری ناپروکسن

الکتروود	حد تشخیص (nM)	محدوده خطی (μM)	اصلاح گر	حساسیت	مرجع
CPE	۱۲	۰/۷۵-۸۰۰	NiO/CNTs, مایع یونی	۰/۰۴۹۵	[۶]
CPE	۲۳۰	۱-۲۰۰	ZnO/MWCNTs	۰/۲۵۶	[۷]
CPE	۲۳	۰/۱-۱۲۰	Activated carbon nanoparticle	۰/۰۰۱۳	[۱۲]
Platinum	۱۰۰۰	۴-۱۰۰	-	۰/۴۹۶	[۱۳]
CPE	۰/۵	۰/۰۰۱-۵۰۰	Dysprosium Nanowire	۰/۳۸۷	[۱۴]
CPE	۵۰	۰/۱-۴۸۰	MWCNTs/ $NiCuFe_2O_4$	۰/۰۳۸۶	این پروژه

۳-۹- بررسی اثر مزاحمت‌ها

جهت اندازه‌گیری ناپروکسن در ماتریس‌های متفاوت لازم است که اثر گونه‌هایی که قابلیت اکسایش و یا کاهش بر روی سطح الکتروود را دارند بررسی گردد [۱۶ و ۱۷]. تأثیر مواد متفاوت در تداخل پتانسیل تعیین ناپروکسن در شرایط بهینه برای غلظت $5 \frac{\mu mol}{L}$ ناپروکسن در $pH=5$ مورد مطالعه قرار گرفت. مواد مداخله‌گر از گروه موادی انتخاب شد که در ناپروکسن در سیالات دارویی و بیولوژیکی وجود دارد. حد مزاحمت به عنوان ماکسیمم گونه تعیین شد که خطای کمتر از $\pm 5\%$ را در تعیین ناپروکسن داشته باشد. نتایج نشان داد که وجود ساکارز، گلوکز، لاکتوز، فروکتوز و هم‌چنین Ca^{2+} ، SO_4^{2-} ، Mg^{2+} ، F^- ، Br^- ، Al^{3+} ، روی گزینش پذیری حسگر اثر ندارد. در حضور اوره و نشاسته هم پیک اکسایش ناپروکسن تغییر مشهودی نکرد و تداخل برای تعیین ناپروکسن دیده نشد. اما در حضور $200 \frac{\mu mol}{L}$ سیستئین 40% کاهش در پیک اکسایش ناپروکسن دیده شد. علی‌رغم این تداخل سیستئین در نمونه حقیقی در سطح غلظتی پایین‌تر از حد مزاحمت وجود دارد و لذا هیچ مزاحمتی در تعیین ناپروکسن ایجاد نکرد. لازم به ذکر است که این گونه در پتانسیل $+0.91$ ولت اکسایش می‌یابد و به شدت پیک ناپروکسن را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

۳-۱۰- تعیین ناپروکسن در سیالات بیولوژیکی

برای بررسی کاربرد عملی الکتروود اصلاح شده در تعیین الکتروشیمیایی ناپروکسن نمونه‌های حقیقی ادرار و قرص انتخاب شد. روش استاندارد برای تعیین ناپروکسن در این نمونه‌ها استفاده شد. علاوه بر این نتایج با یک روش استاندارد جهت اطمینان از

صحت روش مقایسه شد [۱۸]. جدول ۲ نتایج این آنالیز را نشان می‌دهد. نتایج تایید کننده کارایی بالای الکتروود اصلاح شده برای اندازه گیری ناپروکسن در نمونه‌های حقیقی است.

جدول ۲- اندازه گیری ناپروکسن در نمونه های حقیقی

نمونه واقعی	افزوده شده ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	روش پیشنهادی ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	باز یافت (%)	روش استاندارد
۱ ادرار	-	حد تشخیص <	-	حد تشخیص <
	۳۰	۲۹/۸(±۱/۸)	۹۹/۳	۲۹/۳۲(±۲/۴)
	۱۰۰	۱۲۲/۵(±۳/۲)	۹۴/۷	
۲ ادرار	-	حد تشخیص <	-	حد تشخیص <
	۱۵۰	۱۴۸/۵(±۵/۱)	۹۹	۱۵۸/۴(±۵/۶)
	۴۰	۱۹۰/۵(±۳/۵)	۹۶/۰	
سرم	-	حد تشخیص <	-	حد تشخیص <
	۵/۰	۴/۸۷(±۰/۰۹)	۹۷/۴	۴/۷(±۰/۱۴)
	۱۰۰/۰	۱۰۱/۳(±۲/۱)	۹۶/۸	
قرص ^a	۵۰/۰	۱۴۷/۲(±۴/۳)	۹۵/۲	
	-	۵۰/۷(±۱/۴)	-	۴۹/۴(±۱/۸)
	۸۰	۱۳۲/۴(±۶/۴)	۱۰۲/۳	
	۲۰۰	۳۲۸/۵(±۱۱/۳)	۹۹/۷	

قرص ناپروکسن از شرکت دکتر عبیدی حاوی ۲۵۰ میلی گرم ناپروکسن^a

۴- نتیجه گیری

رفتار الکتروشیمیایی ناپروکسن بر روی حسگر الکتروشیمیایی اصلاح شده با کربن نانولوله و نانوذرات مغناطیستی مورد بررسی قرار داده شد. پاسخ الکتروشیمیایی فرایند تحت کنترل نفوذ. حساسیت بالا و حد تشخیص کم (۵۰ nM)، هم‌چنین تهیه آسان حسگر و بازیابی سطح راحت روی سطح الکتروود اصلاح شده از مزایای اصلی این حسگر است. الکتروود کربن خمیری اصلاح شده با کربن نانولوله و نانوذرات مغناطیستی به عنوان سنسور به طور موثری برای اکسایش و تعیین ناپروکسن در نمونه‌های دارویی و بیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفت. الکتروود ساخته شده از پایداری و قابلیت بازیابی بالا همراه با عملکرد تجزیه‌ای بسیار عالی برخوردار است. علاوه بر این اندازه گیری ناپروکسن در حضور استامینوفن با تکنیک DPV و جدایی پیکی در حدود ۳۶۰ mV موثر است.

۵- مراجع

- [1] P.A. Todd and S.P. Clissold, *Drugs*, **40** (1990)91.
- [2] G. Zhu and H. Ju, *Anal. Chim. Acta*, **506** (2004)177.
- [3] M. Asadi, A. M. Haji Shabani, Sh. Dadfarnia and B. Abbasi, *J. Chromatogr A*, **1425** (2015)17.
- [4] J. Sadecka, M. Čakrt, A. Hercegová, J. Polonský and I. Skačáni, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **25** (2001)881

- [5] G. Y. Aguilar-Lira, G. A. Álvarez Romero, A. Rojas-Hernández, M. E. Páez-Hernández, J. A. Rodríguez-Ávila and M. A. Romero-Romo, *Electroanalysis*, **26** (2014)1573.
- [6] H. Beitollahi and R. Yoonesar, *Anal. Bioanal. Chem.*, **8** (2016)29.
- [7] J. Tashkhourian , B. Hemmateenejad , H. Beigizadeh, M. Hosseini-Sarvari and Z. Razmi, *J. Electroanal. Chem.*, **714-715** (2014)103.
- [8] S.N. Dolia, *SSP.*,**171**(2011)79.
- [9] N.M.Deraz, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **82**(2008) 212.
- [10] Y.P.Fu , K.Y.Pan and C.H. Lin, *Matter Lett.*, **57** (2002)291.
- [11] A.M. El-Sayed, *Ceramic Int.*, **28**(2002) 363.
- [12] N.Soltani,N.Tavakkoli, Z.S.Mosavimanesh and F.Davar, *C. R. Chim.*, **21** (2018)54.
- [13] K. Sarhangzadeh, *J. Iran. Chem. Soc.*, **12** (2015) 2133.
- [14] N. Adhoum, L. Monser, M. Toumi and K. Boujlel, *Anal. Chim. Acta*, **495** (2003)69.
- [15] P. Norouzi, F. Dousty, M.R. Ganjali and P. Daneshgar, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **4** (2009)1373.
- [16] G.Y.Aguilar-Lira, G.A.Álvarez Romero, A.Rojas-Hernández, M.E.Páez-Hernández, J.A. Rodríguez-Ávila and M.A. Romero-Romo, *Electroanalysis*, **26** (2014)1573.
- [17] A. Reza, M. T. Amir, R. G. Esmail, K. Hossein, *J. Of Applied Chemistry*, **46** (1397) 219, in persian.
- [18] M. Javad, P. Mahdi, *J. Of Applied Chemistry*, **36** (1394) 79, in persian.
- [19] M. Faranak, P. Mehdi, *J. Of Applied Chemistry*, **46** (1397) 157, in persian.