

Electrochemical determination of malondialdehyde biomarker in exhaled breath condensate using poly arginine functionalized by graphene quantum dots and chitosan

Fozieh Mokhtari¹, Mohammad Hasanzadeh^{2*} , Ahad Mokhtarzadeh³, Nasrin Shadjou⁴

¹Pharmaceutical Analysis Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

³Immunology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴Nano Technology Research Center, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding author; E-mail: mhmmmd_hasanzadeh@yahoo.com hasanzadehm@tbzmed.ac.ir

Received: 19 August 2017 Accepted: 4 November 2017 First Published online: 4 July 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 August- September; 41(3):85-94

Abstract

Background: Lipid peroxidation is a prominent manifestation of free radical activity in biological systems, and it is involved in the development of different diseases such as cancer or cardiovascular and liver diseases. Malondialdehyde (MDA) is globally recognized as a scientifically accepted biomarker of oxidative stress. Due to the significance of MDA as a marker of lipid peroxidation and because of its elevations in various diseases, the assessment of MDA with new and reliable assays, the development of a fast, sensitive, and selective method to detect MDA with simple instruments is necessary.

Methods: This study used the electro polymerization of a low toxic and biocompatible polymer with entitle poly arginine-graphene quantum dots-chitosan (PARG-GQDs-CS) as a novel strategy for surface modification of glassy carbon (GC) surface and preparation a new interface for measurement of MDA in human exhaled breath condensate (EBC). Nanocomposite PARG/CS/GQDs the method of precipitation out of place (ex situ) on the electrode surface was prepared. To verify sequestration nanobiopolymer synthesized Scanning electron microscope images (SEM) were recorded. To identify and study the behavior of malondialdehyde electrochemical methods such as cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry were used.

Results: The scanning electron microscopy (SEM) images indicated immobilization of uniformly CS and GQDs onto PARG film. The modified electrode appeared as an effective electro activity for detection of MDA. Under the optimized analysis conditions and physiological pH, the prepared sensor showed one oxidation processes for MDA at potentials about 1 V vs. Ag/AgCl with a low limit of quantification (LLOQ) 5.94 nM.

Conclusion: The Glassy carbon electrode modified by poly-arginine/chitosan/graphene quantum dots, has good electrical activity for Electro-oxidation malondialdehyde that could be due to synergistic effect poly-arginine, graphene quantum dots and chitosan to create many active sites for this purpose.

Keyword: Malondialdehyde, Biomarker, Poly amino acid, Chitosan, Graphene quantum dots, Nanosensor, Electrochemistry.

How to cite this article: Mokhtari F, Hasanzadeh M, Mokhtarzadeh A, Shadjou N .[Electrochemical determination of malondialdehyde biomarker in exhaled breath condensate using poly arginine functionalized by graphene quantum dots and chitosan]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 August- September; 41(3):85-94. Persian.

© 2019 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تعیین مقدار الکتروشیمیایی بیومارکر مالون دی آلدهید در نمونه‌های بازدم انسانی با استفاده از پلی‌آرژنین عامل‌دار شده با نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان

فوزیه مختاری^۱، محمد حسن زاده^{۲*}، احد مختارزاده^۳، نسرين شادجو^۴

^۱ مرکز تحقیقات آنالیز دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲ مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۳ مرکز تحقیقات ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۴ پژوهشکده نانو فناوری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

* نویسنده مسوول؛ ایمیل: hasanzadehm@tbzmed.ac.ir / mhmmmd_hasanzadeh@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۶/۵/۲۸ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۱۳ انتشار برخط: ۱۳۹۸/۴/۱۳
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. مرداد و شهریور ۱۳۹۸؛ ۴۱(۳): ۸۵-۹۴

چکیده

زمینه: پراکسیداسیون لیپیدی یک شاخص مهم فعالیت رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های بیولوژیک است و در ایجاد بیماری‌های مختلف مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی و کبدی مشارکت دارد. مالون دی آلدهید یکی از فراورده‌های مهم پراکسیداسیون لیپیدی است و به عنوان بیومارکر تشخیصی استرس اکسیداتیو به صورت جهانی پذیرفته شده است. با توجه به اهمیت مالون دی آلدهید به عنوان یک بیومارکر تشخیصی پراکسیداسیون لیپیدها و به دلیل جایگاه آن در بیماری‌های مختلف، تشخیص مالون دی آلدهید با ابزار ساده کار ضروری است.

روش کار: در این مطالعه کاربرد الکتروشیمیایی الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکامپوزیت پلی‌آرژنین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافن به عنوان پلیمری زیست سازگار و با سمیت کم برای اندازه‌گیری مالون دی آلدهید در نمونه‌های بازدم انسانی بررسی شد. نانوکامپوزیت پلی‌آرژنین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافن به روش ترسیب خارج از محل بر سطح الکتروکربن تهیه شد. برای تأیید ترسیب نانویوپلیمر سنتز شده، تصاویر میکروسکوپ الکترونی رویشی ثبت گردید. جهت تشخیص و بررسی رفتار مالون دی آلدهید از تکنیک‌های الکتروشیمیایی همچون ولتامتری چرخه ای و ولتامتری پالس تفاضلی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از تصاویر میکروسکوپ الکترونی ثابت می‌کند که پراکندگی نقاط کوانتومی گرافن و کیتوسان بر روی سطح پلی‌آرژنین با موفقیت انجام شده است. الکتروکربن اصلاح شده فعالیت الکتریکی مناسبی برای تشخیص مالون دی آلدهید نشان می‌دهد. کمترین حد تعیین مقدار برای مالون دی آلدهید در شرایط pH فیزیولوژیک و پتانسیل حدود ۱ ولت نسبت به Ag/AgCl برای سنسور طراحی شده، ۵/۹۴ میلی‌مولار محاسبه شد.

نتیجه گیری: نتایج نشان می‌دهد که الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژنین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافن، فعالیت الکتریکی خوبی برای الکترواکسیداسیون مالون دی آلدهید نشان می‌دهد که می‌تواند ناشی از اثر هم‌افزایی پلی‌آرژنین، نقاط کوانتومی گرافن و کیتوسان در ایجاد سایت‌های فعال فراوان برای این منظور باشد.

کلید واژه‌ها: مالون دی آلدهید، بیومارکر، پلی‌آمینواسید، کیتوسان، نقاط کوانتومی گرافن، نانو حسگر، الکتروشیمی

نحوه استناد به این مقاله: مختاری ف، حسن زاده م، مختارزاده ا، شادجو ن. تعیین مقدار الکتروشیمیایی بیومارکر مالون دی آلدهید در نمونه‌های بازدم انسانی با استفاده از پلی‌آرژنین عامل‌دار شده با نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۳): ۸۵-۹۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

تاکنون روش‌های مختلفی جهت تشخیص مالون دی آلدئید به منظور کمی کردن سطح استرس اکسیداتیو در بدن و شرایط آزمایشگاهی توسعه یافته است. تکنیک‌های تحلیلی مختلفی جهت تعیین مالون دی آلدئید در نمونه‌های بیولوژیک استفاده شده است، این روش‌ها شامل فلورسانس، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا با تشخیص آرایه دیود، گاز کروماتوگرافی با طیف سنجی جرمی، طیف سنجی ارتقا یافته سطحی رامان، آشکارسازی رسانای الکتریکی، الکتروفورز موئین و زیست حسگرهای الکتروشیمیایی هستند. روشی که به طور گسترده استفاده می‌شود براساس تشخیص رنگ محصولات واکنش مالون دی آلدئید با تیوباریتوریک اسید (TBA) می‌باشد. اشکال این روش این است که تیوباریتوریک اسید تنها با مالون دی آلدئید واکنش نمی‌دهد بلکه با بسیاری دیگر از مواد شیمیایی مانند اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها نیز واکنش می‌دهد، این عامل باعث اختلال در تشخیص ترکیب مالون دی آلدئید-تیوباریتوریک اسید می‌گردد. به علاوه تیمار نمونه‌های بیولوژیک در دمای بالا و شرایط اسیدی انجام می‌شود که این باعث می‌شود اکسیداسیون ماتریکس بیشتر اتفاق بیفتد و بنابراین اختلاف در تخمین سطح مالون دی آلدئید رخ دهد. بسیاری از روش‌های کروماتوگرافی اختصاصیت و حساسیت بالایی دارند. با این حال نیاز به فرآیندهای استخراج به وسیله کارکنان متخصص، تمیز کردن و بازسازی ستون، استفاده از تجهیزات گران قیمت، آماده کردن نمونه، به ویژه زمانی که از نمونه‌های بیولوژیک استفاده می‌شود، دارند (۱). با توجه به اهمیت مالون دی آلدئید به عنوان یک بیومارکر تشخیصی پراکسیداسیون لیپیدها و به دلیل اهمیت آن در بیماری‌های مختلف تشخیص مالون دی آلدئید با ابزار ساده کار ضروری است. یوان و همکاران یک حسگر الکتروشیمیایی بدون برچسب بر اساس نانولوله‌های کربنی جهت تشخیص مالون دی آلدئید تولید کردند (۵). حسن‌زاده و همکاران از یک فیلم پلی‌تورین به عنوان نانوبیوسنسور الکتروشیمیایی جهت تشخیص مالون دی آلدئید در نمونه سرم و هوای بازدم انسان استفاده کردند (۱). در سالهای اخیر، الکترودهای اصلاح شده به وسیله فیلم‌های پلیمری توجه زیادی را به خود جلب کرده است. به جهت کاربردهای گسترده آنها در زمینه حسگرهای الکتروشیمیایی این چنین فیلم‌های پلیمری می‌توانند باعث بهبود خواص الکتریکی آنالیت، افزایش نرخ فعالیت و بهبود پایداری الکتروود شوند (۶). تا به حال روش‌های گوناگونی برای تهیه الکترودهای اصلاح شده به وسیله فیلم‌های پلیمری از جمله پوشش دادن، پیوندکوالانسی و الکتروپلیمریزیشن استفاده شده است (۷-۱۰). در میان این روش‌ها، الکتروپلیمریزاسیون مولکول‌های آلی و به خصوص اسیدهای آمینه با گروه‌های عاملی مناسب (OH, NH₂, COOH, SH) و غیره) به عنوان یک ابزار مناسب برای آماده کردن پلیمر سطح الکتروود مطرح است چون این روش‌ها به راحتی توسط تنظیم فاکتورهای الکتروشیمیایی کنترل می‌شوند. براساس

پراکسیداسیون لیپیدی، شاخص مهم فعالیت رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های بیولوژیک می‌باشد و در ایجاد بیماری‌های مختلف مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی و کبدی نقش دارد. مالون دی آلدئید، یکی از فرآورده‌های مهم پراکسیداسیون لیپیدی است و به عنوان بیومارکر تشخیصی استرس اکسیداتیو به صورت جهانی پذیرفته شده است (۱). مالون دی آلدئید به عنوان بیومارکر پراکسیداسیون لیپیدی و همچنین علت بیماری‌های خطرناکی مثل سرطان معده، ریه، پستان و آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی و عروقی مطرح می‌باشد. علاوه بر این سطوح مالون دی آلدئید در موجودات زنده جهت مشخص کردن تغییرات مهم در بسیاری از شرایط پاتولوژیک مثل سرطان‌های پستان، ریه، معده و آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی و عروقی به کار می‌رود (۱). اهمیت تشخیص مالون دی آلدئید در سرم یا پلاسما انسان می‌تواند از بسیاری از جنبه‌ها مطرح شود. پراکسیداسیون لیپیدی عموماً یک فرآیند ناشی از حمله اکسیدان‌هایی از قبیل رادیکال‌های آزاد یا انواع غیررادیکالی به لیپیدهای دارای باند دوگانه کربن-کربن به خصوص اسیدهای چرب غیراشباع (PUFAs) می‌باشد (۲). پراکسیداسیون لیپیدی یا واکنش اکسیژن با لیپیدهای غیراشباع طیف گسترده‌ای از محصولات اکسیداسیون را تولید می‌کند. در این میان بسیاری از آلدئیدهای مختلف که می‌توانند به عنوان محصولات ثانویه در طول پراکسیداسیون لیپیدی تولید شوند، مالون دی آلدئید، پروپانال، هگزانال، ۴-هیدروکسی نونال، به طور گسترده توسط استرابایر و همکاران در دهه ۸۰ مورد مطالعه قرار گرفته است. به نظر می‌رسد که مالون دی آلدئید بیشترین محصول جهش‌زای پراکسیداسیون لیپیدی است. بر خلاف رادیکال‌هایی که به بیومولکول‌های واقع در فاصله چند نانومتری از محل تولید خود حمله می‌کنند، آلدئیدهای مشتق از پراکسیداسیون لیپیدی می‌توانند به راحتی از طریق غشا منتشر شده و بصورت کووالانسی در پروتئین‌های موجود در سیتوپلاسم و هسته، دور از منشا تولیدشان، تغییر ایجاد کنند (۳). تحت شرایط فیزیولوژیک یا میزان پایین پراکسیداسیون لیپیدی (شرایط غیرسمی) سلولها بقاء خود را از طریق تشکیل سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی یا فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ تحریک می‌کنند. در مقابل، در پراکسیداسیون‌های لیپیدی متوسط یا بالا (شرایط سمی) سلول‌ها آپوپتوز یا نکروز (مرگ برنامه ریزی شده سلول) را القا می‌کنند، که هر دو فرآیند سرانجام منجر به آسیب سلولی می‌شود که می‌تواند باعث تسهیل انواع مختلف حالت‌های پاتولوژیک و تسریع روند پیری شود. مالون دی آلدئید یا ۳ پروپان دی ال به علت ویژگی‌های کربونیلی از نظر شیمیایی واکنش پذیر است و به راحتی تحت واکنش با مراکز نوکلئوفیلی بیومولکول‌های مختلف شامل DNA و آمینو اسیدهای موجود در پروتئین‌ها قرار می‌گیرد. خواص شیمیایی مالون دی آلدئید را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد: (۱) اسیدیته ناشی از اتم‌های هیدروژن؛ و (۲) واکنش پذیری دو گروه آلدئید آن نسبت به هسته‌های نوکلئوفیل (۴). از سال ۱۹۶۰

ویژگی‌های الکترودهای اصلاح‌شده به وسیله پلیمرها به خوبی می‌توان ضخامت و بار این پلیمرها را تعریف کرد. همچنین آماده کردن این حسگرها به دلیل تهیه آسان به روش الکتروپلیمریزاسیون، کم هزینه می‌باشد (۱۱-۱۶). تلفیق مزایای نانو ساختارها با تکنیک‌های الکتروشیمیایی در زیست حسگرها در سال‌های اخیر موجب پیشرفت‌های چشمگیر در حساسیت و قدرت آنالیزی این سیستم‌ها شده است. اثبات شده است که با بکارگیری مواد پیشرفته همچون نانو لوله‌های کربنی، مزوپروس‌های سیلیکاتی، گرافن و مشتقات آنها، نقاط کوانتومی و... در ساختار نانو حسگرها، کارایی به لحاظ سرعت، دقت، میزان آنالیت مصرفی و توان عملیاتی افزایش می‌یابد (۱۷). یکی از بهترین نامزدها برای این منظور نقاط کوانتومی گرافنی است. نقاط کوانتومی گرافنی بدلیل داشتن ویژگی‌های عالی نظیر خاصیت فوتولومینسانس و فلورسانس مطلوب، حلالیت در محلول‌های آبی، سمیت پایین، زیست سازگاری (۱۸) و خصوصیات منحصر بفرد دیگری همچون خصلت مکانیکی، الکتریکی، دمایی، اپتیکی، مساحت سطحی بسیار بالا و امکان کنترل تمام این ویژگی‌ها از طریق عامل‌دار کردن شیمیایی، مورد توجه محققین می‌باشد (۱۹).

از سوی دیگر، رسوب نقاط کوانتومی گرافنی بر روی برخی از مواد پلیمری توجه زیادی به خود جذب کرده است. با این حال، فیلم‌های پلیمری بر اساس اسیدهای آمینه بسیار شکننده هستند، در نتیجه استفاده از بتا سیکلودکسترین و کیتوسان و سایر مواد محکم برای بی حرکتی نقاط کوانتومی گرافنی در سطح پلیمر مطرح شده است (۲۱). کیتوسان از فراوان‌ترین آمینوپلی ساکاریدها در طبیعت، دارای ساختاری بی نظیر و خصوصیات چند منظوره می‌باشد. کیتوسان توجه زیادی را به خصوص در صنایع پزشکی و دارویی به خود جلب کرده است. از مهمترین خصوصیات آن را مناسب برای این کاربردها کرده است می‌توان به زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و غیرسمی بودن آن اشاره کرد. کیتوسان معمولاً به دلیل توانایی تشکیل فیلم، نفوذپذیری بالای آب، انتقال یونی سریع و قابلیت چسبندگی به سطوح هیدروفیل و سهولت تغییرات شیمیایی و به دلیل حضور گروه‌های آمینی و هیدروکسیل به عنوان ماتریکس ساکن برای توسعه حسگر انتخاب می‌شود (۲۲-۲۵). اضافه کردن نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان به ساختار پلی آرژنین می‌تواند یک فیلم نازک رسانای الکتریکی عالی در جهت تقویت جریان فارادی ایجاد کند (۲۶، ۲۷). در نتیجه در این مطالعه یک رابط سازگار با محیط زیست و با سمیت کم از پلی آرژنین/کیتوسان/ نقاط کوانتومی گرافنی به عنوان نانوکامپوزیت سه تایی با استفاده از روش‌های الکتروشیمیایی تهیه و فعالیت الکتریکی آن نسبت به الکترواکسیداسیون MDA بررسی خواهد شد.

روش کار

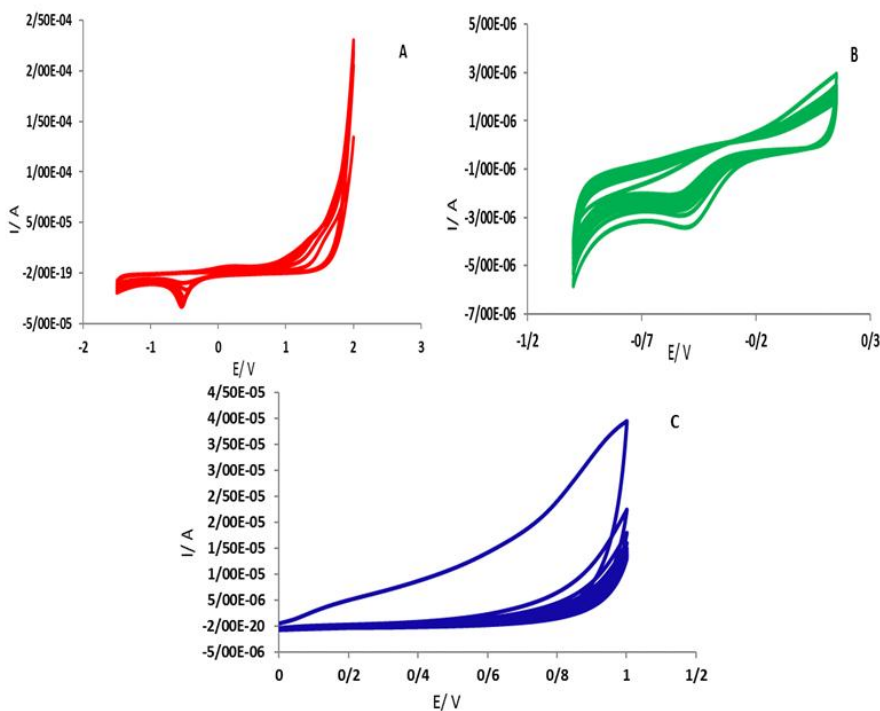
در این پژوهش، ال-آرژنین از سیگما آلد ریچ تهیه شد. در تمامی قسمت‌های این مطالعه از محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با

جانبی آمینی و هیدروکسیل پیوند داده و منجر به تشکیل شبکه‌های متمایز بین زنجیره‌های کیتوسان شود. لذا در ادامه کار کیتوسان و بدنبال آن نقاط کوانتومی گرافنی بر روی سطح پلی‌آرژینین ترسیب شدند. تصویرهای به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، تشکیل فیلم پلیمری در سطح الکتروود را نشان می‌دهد. الکتروپلیمریزاسیون مستقیم پلی‌آرژینین بر روی الکتروود کربن شیشه‌ای به صورت یک ماتریکس با پراکندگی مشاهده می‌شود (شکل ۲-۱). همچنین اندازه ذرات در نواحی مختلف تعیین شده که میانگین آن در حدود ۲۵ نانومتر می‌باشد. لذا فیلم پلی‌آرژینین در مقیاس نانومتری بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای پلیمریزه می‌شود. گروه‌های حاوی آمین در کیتوسان می‌تواند مقدار زیادی سایت‌های فعال برای رسوب بر روی نقاط کوانتومی گرافنی فراهم کند. از طرف دیگر گروه‌های حاوی اکسیژن بر روی نقاط کوانتومی گرافنی برای ترکیب الکترون‌های خارجی با کیتوسان از دیدگاه نقطه الکترواستاتیک مفید هستند. در نتیجه، با برهمکنش باند هیدروژن پلی‌آرژینین با کیتوسان و به دنبال آن برهمکنش الکترواستاتیک کیتوسان با نقاط کوانتومی گرافنی، یک فیلم با سمیت کم و زیست سازگار بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای ساخته می‌شود.

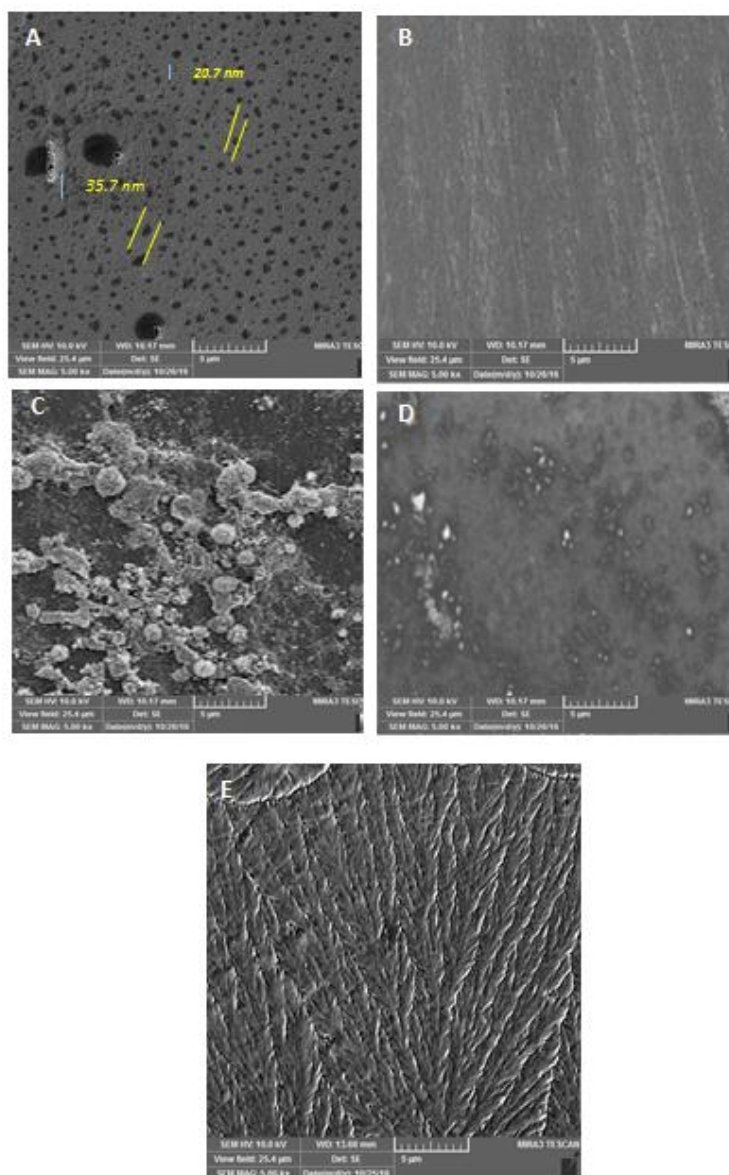
داخل سل الکتروشیمیایی انتقال می‌دهیم. توسط تکنیک ولتامتری چرخه‌ای در پتانسیل -۱ تا ۰/۱۵ ولت با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه و با تکرار ۲۰ چرخه کیتوسان بر روی الکتروود لایه نشانی می‌شود. در مرحله آخر مانند مرحله قبل بعد از شستشوی الکتروود با آب مقطر و انتقال محلول نقاط کوانتومی گرافنی به سل، نقاط کوانتومی گرافنی با تکنیک ولتامتری چرخه‌ای، در محدوده پتانسیل ۰ تا ۱ ولت و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، با تکرار ۳۰ چرخه نیز بر روی الکتروود لایه نشانی می‌شود. الکترودهای اصلاح شده با پلی‌آرژینین و پلی‌آرژینین/نقاط کوانتومی گرافنی نیز به طور جداگانه تهیه و نتایج حاصل از سه الکتروود اصلاح شده باهم مقایسه می‌گردد.

یافته

شکل ۱-۱ و ۱-۲ ولتاموگرام چرخه‌ای پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی ال-آرژینین بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای را نشان می‌دهد. ال-آرژینین دارای دو گروه NH_2 و دو گروه NH می‌باشد که می‌تواند به راحتی به NH_2 اکسید شوند؛ بنابراین پیوند کوالانسی (C-N) ممکن است بین الکتروود کربنی و گروه آلفا آمین از آرژینین تشکیل شده باشد. با عنایت به اینکه کیتوسان آلدوست است، لذا می‌تواند با نقاط کوانتومی گرافنی از طریق گروه‌های



شکل ۱: (A) ولتامتری چرخه‌ای برای پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی ال-آرژینین بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه در محدوده ۰/۱۵-۱ ولت با تعداد ۲ ولت با تعداد ۱۰ چرخه. (B) ولتامتری چرخه‌ای برای پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی کیتوسان بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه در محدوده ۰/۱۵-۱ ولت با تعداد ۲۰ چرخه. (C) ولتامتری چرخه‌ای برای ترسیب الکتروشیمیایی نقاط کوانتومی گرافنی بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه در محدوده ۰ تا ۱ ولت با تعداد ۳۰ چرخه.



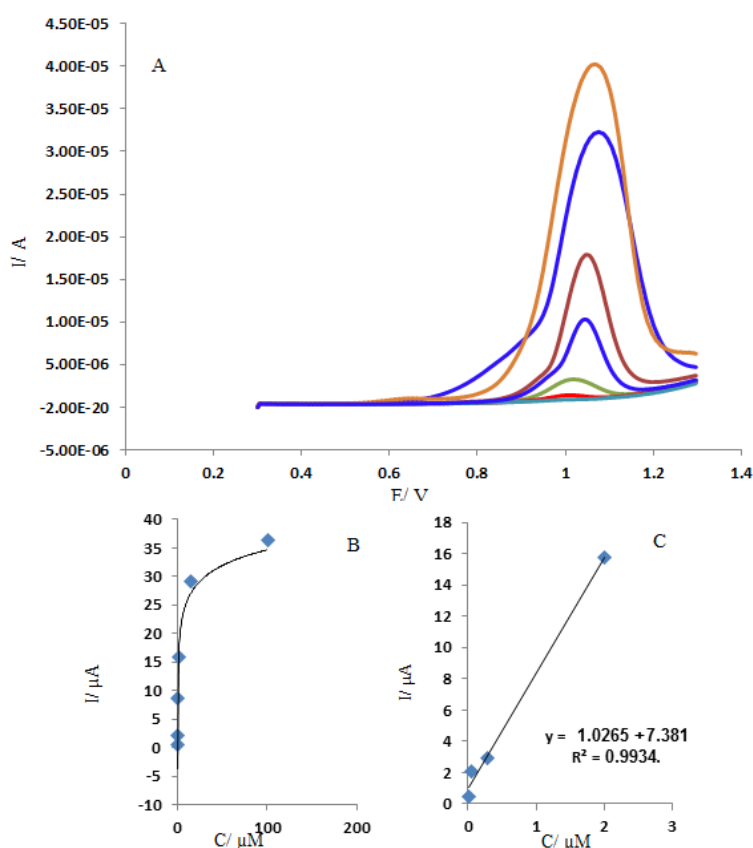
شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژنین (A) و از سطح الکتروود کربن شیشه‌ای (B). الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژنین / نقاط کوانتومی گرافنی (C) و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نقاط کوانتومی گرافنی (D) و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژنین / کیتوسان / نقاط کوانتومی گرافنی (E).

می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که الکتروود اصلاح شده با پلی‌آرژنین/کیتوسان/ نقاط کوانتومی گرافنی عملکرد بهتری برای اکسیداسیون مالون دی‌آلدید نسبت به الکتروود اصلاح شده با نقاط کوانتومی گرافنی و الکتروود اصلاح شده با پلی‌آرژنین ارائه می‌دهد. از مطالب بالا می‌توان نتیجه گرفت که نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان می‌تواند یک مرکز شتاب برای انتقال الکترون را ایجاد کنند. این نتایج نشان می‌دهد که فیلم پلی‌آرژنین/کیتوسان/ نقاط کوانتومی گرافنی می‌تواند باعث تسریع انتقال الکترون مالون دی‌آلدید و فعالیت‌های الکتروکاتالیتیکی برای واکنش‌های

ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نقاط کوانتومی گرافنی، الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژنین و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژنین/کیتوسان/ نقاط کوانتومی گرافنی، در حضور ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات با $\text{pH} = 7/4$ و ۱ میلی‌لیتر محلول استاندارد مالون دی‌آلدید در محدوده پتانسیلی ۱- تا ۱ ولت با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت گردید. نتایج نشان دادند که بر روی الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده هیچ رفتار اکسیداسیون و کاهش مشاهده نمی‌شود که نشان دهنده عدم فعالیت الکتروکاتالیتیک آن

کمتر مالون دی آلدهید و با جریان زمینه کمتر نسبت روش ولتامتری چرخه‌ای بدست آمده. با توجه به نتایج به دست آمده، از این تکنیک برای تجزیه و تحلیل کمی مالون دی آلدهید استفاده شد. شکل ۳، ولتامتری پالس تفاضلی الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژینین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافنی برای تعیین مقدار مالون دی آلدهید در بافر فسفات ۰/۱ مولار با $\text{pH}=7/4$ در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد. منحنی کالیبراسیون مالون دی آلدهید در بافر فسفات، توسط ولتامتری پالس تفاضلی بدست آمد (شکل ۳-B و C). کمترین حد تعیین مقدار (LLOQ) برای مالون دی آلدهید، ۵/۹۴ میلی مولار محاسبه شد. نتایج نشان می‌دهد که فیلم پلی‌آرژینین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافنی، فعالیت الکتریکی خوبی برای اکسیداسیون مالون دی آلدهید نشان می‌دهد که می‌تواند ناشی از اثر هم‌افزایی پلی‌آرژینین، نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان در ایجاد سایت‌های فعال فراوان برای این منظور باشد.

اکسیداسیون و احیا، بنابراین فیلم پلی‌آرژینین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافنی یک حدواسط مناسب برای انتقال الکترون بین مالون دی آلدهید و الکتروود کار می‌باشد که ممکن است با مشخصات مناسب آن مثل مساحت سطح هندسی بالا و رسانایی الکتریکی بالا مرتبط باشد. در این شکی نیست که نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان نقش مهمی را جهت بهبود فعالیت الکتروکاتالیتی پلی‌آرژینین جهت الکترواکسیداسیون مالون دی آلدهید بازی می‌کنند. نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان به عنوان یک جزء فعال الکتریکی در فیلم پلیمری، یک سطح کاتالیستی برای تشخیص مالون دی آلدهید ایجاد می‌کند. در ضمن کیتوسان می‌تواند تقویت سیگنال‌های الکتروشیمیایی به وجود آمده در طول فرآیند تشخیص الکتروشیمیایی را ایجاد کند. از طرف دیگر، اثر هم‌افزایی استفاده هم‌زمان از نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان منجر به تشخیص موفقیت آمیز و تعیین مالون دی آلدهید می‌گردد. از روش ولتامتری پالس تفاضلی برای تشخیص مالون دی آلدهید استفاده شد زیرا پیک‌های واضح‌تر و بهتر در غلظت‌های



شکل ۳: (A) ولتامتری پالس تفاضلی الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژینین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافنی برای تعیین مالون دی آلدهید در بافر فسفات ۰/۱ مولار با $\text{pH}=7/4$ در غلظت‌های: ۰/۰۰۰۰۰۵۹۴، ۰/۰۰۰۰۰۴۱۶، ۰/۰۰۰۰۲۹۱، ۰/۰۰۰۲، ۰/۰۱۴، ۰/۰۱۴ میکرومولار. (B) منحنی کالیبراسیون مالون دی آلدهید در غلظت‌های ذکر شده در بالا. (C) منحنی کالیبراسیون مالون دی آلدهید در غلظت‌های پایین.

می‌تواند فرصت‌های جدیدی را برای گسترش استفاده کاربردی پلی‌آمینواسیدها در زمینه سنجش الکتروشیمیایی باز کند. همچنین، اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید، در نمونه بازدم انسانی مایع شده، جمع‌آوری شده توسط سیستم خنک‌کننده هوای بازدم، به عنوان یک تکنیک جدید استفاده گردید که به عنوان روشی غیرتهاجمی و با توجه به سایر مزیت‌های آن نسبت به خون، سرم، ادرار و غیره موفقیت آمیز می‌باشد.

قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از مؤسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی ایران (NIMAD) با شماره گزنت ۹۶/۹۴۳ به جهت حمایت‌های مالی از این پژوهش اعلام می‌دارد. همچنین از کلیه دست‌اندرکاران این مقاله که در بخش تجربی و نوشتن مقاله مشارکت داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

عدم وجود کارآزمایی بالینی

منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی از طرف مرکز تحقیقات کاربردی دارویی صورت پذیرفته است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

ف. م. ح. ا. م. ن. ش طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. همچنین نامبرندگان مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

هوای بازدم مایع شده (EBC)، جمع‌آوری شده توسط سیستم خنک‌کننده هوای بازدم تحت شرایط تنفس عادی فرد داوطلب، یک تکنیک جدید می‌باشد که به عنوان روشی غیرتهاجمی و با توجه به سایر مزیت‌های آن نسبت به خون، سرم، ادرار و در تشخیص بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. برای تشخیص مالون دی‌آلدهید در بازدم انسانی مایع شده از نمونه بازدم مایع شده فرد سالم، ۴ غلظت مختلف مالون دی‌آلدهید به وسیله محلول استاندارد آماده گردید و نتایج بدست آمده در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: نتایج مشاهده شده برای تشخیص مالون دی‌آلدهید در نمونه هوای بازدم مایع شده انسانی به وسیله الکتروکود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلی‌آرژینین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافنی

سیگنال/میکرو امپر	غلظت/میکرو مولار
۲/۷۳	۲۶۰۰۰
۰/۴۵۸	۳۷۱
۰/۳۰۸	۵۳
۰/۲۰۱	۷۶

نتیجه گیری

به‌طور خلاصه در این مطالعه کاربرد الکتروشیمیایی الکتروکود کربن شیشه‌ای اصلاح‌شده با نانوکامپوزیت پلی‌آرژینین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافنی (PARG/CS/GQDs) برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید در نمونه‌های بازدم انسانی بررسی شد. فیلم نازک پلی‌آرژینین/کیتوسان/نقاط کوانتومی گرافنی، مزایای پلی‌آرژینین (به عنوان یک نانوبیوپلیمر نیمه‌رسانا)، نقاط کوانتومی گرافنی (دارای هدایت الکتریکی عالی) و کیتوسان (به عنوان یک عامل زیست سازگار) را با هم ترکیب می‌کند. از همه مهمتر، از نانو حسگر پیشنهادی برای تعیین مقدار مالون دی‌آلدهید در pH فیزیولوژیک، بدون نیاز به پیش تیمار نمونه یا هر نوع فرایند استخراج یا تبخیر زمان بر، با نتایج رضایت بخش استفاده شد. نتایج نشان دادند که، ترکیبی از پلی‌آمینواسیدها با نقاط کوانتومی گرافنی و کیتوسان

References

- Zamani-Kalajahi M, Hasanzadeh M, Shadjou N, Khoubnasabjafari M, Ansarin K, Jouyban-Gharamaleki V, et al. Electrodeposition of taurine on gold surface and electro-oxidation of malondialdehyde *Surf Eng* 2015; **31**(3): 194-201. doi: 10.1179/1743294414Y.0000000349
- Yin H, Xu L, Porter N A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev* 2011; **111**(10): 5944-5972. doi: 10.1021/cr200084z
- Ayala A, Muñoz M F, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014; **2014**: 23-28. doi: 10.1155/2014/360438
- Tsikakos D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Anal Biochem* 2017; **524**: 13-30. doi: 10.1016/j.ab.2016.10.021
- Yuan L, Lan Y, Han M, Bao J, Tu W, Dai Z. Label-free and facile electrochemical biosensing using carbon nanotubes for malondialdehyde detection. *Analyst* 2013; **138**(11): 3131-3134. doi: 10.1039/c3an00041a

6. Chen X, Ma Y, Chen D, Ma M, Li C. Electrochemical fabrication of polymerized imidazole-based ionic liquid bearing pyrrole moiety for sensitive determination of hexestrol in chicken meat. *Food chem* 2015; **180**: 142-149. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.038
7. Shahrokhian S, Karimi M, Khajehsharifi H. Carbon-paste electrode modified with cobalt-5-nitrosalophen as a sensitive voltammetric sensor for detection of captopril. *Sens Actuators B Chem* 2005; **109**(2): 278-284. doi: 10.1016/j.snb.2004.12.059
8. Sun H, Wu L, Wei W, Qu X. Recent advances in graphene quantum dots for sensing. *Mater Today* 2013; **16**(11): 433-442. doi: 10.1016/j.mattod.2013.10.020
9. Tang H, Yan F, Lin P, Xu J, Chan H L. Highly sensitive glucose biosensors based on organic electrochemical transistors using platinum gate electrodes modified with enzyme and nanomaterials. *Adv Funct Mater* 2011; **21**(12): 2264-2272. doi: 10.1002/adfm.201002117
10. Wang K, Sun Z, Feng M, Liu A, Yang S, Chen Y, et al. Design of a sandwich-mode amperometric biosensor for detection of PML/RAR α fusion gene using locked nucleic acids on gold electrode. *Biosens Bioelectron* 2011; **26**(6): 2870-2876. doi: 10.1016/j.bios.2010.11.030
11. Beitollahi H, Sheikhsaie I. Electrochemical behavior of carbon nanotube/Mn (III) salen doped carbon paste electrode and its application for sensitive determination of N-acetylcysteine in the presence of folic acid. *Int J Electrochem Sci* 2012; **7**: 7684-7698.
12. Cosnier S. Biosensors based on immobilization of biomolecules by electrogenerated polymer films. *Appl Biochem Biotechnol* 2000; **89**(2-3): 127-138.
13. Lupu S, del Campo F J, Muñoz F X. Development of microelectrode arrays modified with inorganic-organic composite materials for dopamine electroanalysis. *J Electroanal Chem* 2010; **639**(1): 147-153. doi: 10.1016/j.jelechem.2009.12.003
14. Niu L, Lian K, Kang W, Li S. Characterization of poly (safranin T)-modified electrode and application for simultaneous determination of epinephrine and uric acid coexisting with ascorbic acid. *J Braz Chem Soc* 2011; **22**(2): 204-210. doi: 10.1590/S0103-50532011000200003
15. Areias MC, Shimizu K, Compton RG. Voltammetric detection of captopril using copper (II) and an unmodified glassy carbon electrode. *Electroanalysis* 2016; **28**(7): 1524-1529. doi: 10.1002/elan.201501156
16. Lu S, Lu P, Li C, Wang C, Yu J. Highly improved electrooxidation of captopril on copper hexacyano ferrate/ordered mesoporous carbon-modified glassy carbon electrode. *Aust J Chem* 2014; **67**(6): 851-857. doi: 10.1071/CH13650
17. Noroozifar M, Khorasani-Motlagh M, Nadiki H H, Hadavi M S, Foroughi M M. Modified fluorine-doped tin oxide electrode with inorganic ruthenium red dye-multiwalled carbon nanotubes for simultaneous determination of a dopamine, uric acid, and tryptophan. *Sens Actuators B Chem* 2014; **204**: 333-341. doi: 10.1016/j.snb.2014.07.060
18. Jian X, Liu X, Yang H-m, Guo M-m, Song X-l, Dai H-y, et al. Graphene quantum dots modified glassy carbon electrode via electrostatic self-assembly strategy and its application. *Electrochim Acta* 2016; **190**: 455-462. doi: 10.1016/j.electacta.2016.01.045
19. Zhang P, Zhao X, Ji Y, Ouyang Z, Wen X, Li J, et al. Electrospinning graphene quantum dots into a nanofibrous membrane for dual-purpose fluorescent and electrochemical biosensors. *J Mater Chem B* 2015; **3**(12): 2487-2496. doi: 10.1039/C4TB02092H
20. Hasanzadeh M, Karim-Nezhad G, Shadjou N, Hajjizadeh M, Khalilzadeh B, Saghatforoush L, et al. Cobalt hydroxide nanoparticles modified glassy carbon electrode as a biosensor for electrooxidation and determination of some amino acids. *Anal Biochem* 2009; **389**(2): 130-137. doi: 10.1016/j.ab.2009.03.024
21. Zhao J, Chen G, Zhu L, Li G. Graphene quantum dots-based platform for the fabrication of electrochemical biosensors. *Electrochem Commun* 2011; **13**(1): 31-33. doi: 10.1016/j.elecom.2010.11.005
22. Li Y, Wu K, Zhitomirsky I. Electrodeposition of composite zinc oxide-chitosan films. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2010; **356**(1): 63-70. doi: 10.1016/j.colsurfa.2009.12.037
23. Lei L, Cao Z, Xie Q, Fu Y, Tan Y, Ma M, et al. One-pot electrodeposition of 3-aminopropyltriethoxysilane-chitosan hybrid gel film to immobilize glucose oxidase for biosensing. *Sens Actuators B Chem* 2011; **157**(1): 282-289. doi: 10.1016/j.snb.2011.03.063
24. Zeng X, Li X, Xing L, Liu X, Luo S, Wei W, et al. Electrodeposition of chitosan-ionic liquid-glucose oxidase biocomposite onto nano-gold electrode for amperometric glucose sensing. *Biosens Bioelectron* 2009; **24**(9): 2898-2903. doi: 10.1016/j.bios.2009.02.027
25. Hasanzadeh M, Shadjou N, Marandi M. Graphene quantum dot functionalized by chitosan and beta-cyclodextrin as a new support nanocomposite material for efficient methanol electrooxidation. *J Alloys Compd* 2016; **688**: 171-186. doi: 10.1016/j.jallcom.2016.07.202
26. Ou J, Tao Y, Xue J, Kong Y, Dai J, Deng L. Electrochemical enantio-recognition of tryptophan enantiomers based on graphene quantum dots-chitosan composite film. *Electrochem Commun* 2015; **57**: 5-9. doi: 10.1016/j.elecom.2015.04.004
27. Shadjou N, Hasanzadeh M, Marandi M, Hasanzadeh A. Graphene quantum dot functionalized by chitosan

- as an electrically conductive nano-material toward low potential detection: a new platform for interface science. *J Mater Sci* 2016; **27**(11): 11834-11843. doi: 10.1007/s10854-016-5324-5
28. Risby T H, Solga S. Current status of clinical breath analysis. *Appl Phys B* 2006; **85**(2): 421-426. doi: 10.1007/s00340-006-2280-4
29. Guentsch A, Preshaw P M, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch B W. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig* 2008; **12**(4): 345. doi: 10.1007/s00784-008-0202-z
30. Syslová K, Kačer P, Kuzma M, Najmanová V, Fenclová Z, Vlčková Š, et al. Rapid and easy method for monitoring oxidative stress markers in body fluids of patients with asbestos or silica-induced lung diseases. *J Chromatogr B* 2009; **877**(24): 2477-2486. doi: 10.1016/j.jchromb.2009.06.008