

УДК 543.426:546.650:615.322

**Е. В. Малинка<sup>1</sup>, М. Е. Вельц<sup>1</sup>, А. В. Егорова<sup>2</sup>, Ю. В. Скрипинец<sup>2</sup>,  
В. П. Антонович<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Одесская национальная академия пищевых технологий, кафедра пищевой химии и экспертизы, ул. Канатная, 112, Одеса, 65039, Украина, e-mail: onahtan@ukr.net<sup>2</sup>Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, отдел аналитической химии и физико-химии координационных соединений, Люстдорфская дорога, 86, Одесса, 65080, Украина, e-mail: yegorova@interchem.com.ua

### **НОВЫЙ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ ЗОНД НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ЕВРОПИЯ(III) ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КУРКУМИНА**

Изучены спектрально-люминесцентные свойства комплекса Eu(III) с батофенантролином (БФ). Обнаружен эффект тушения куркумином (КК) люминесценции комплекса Eu(III)-БФ = 1:1 по статическому механизму. С помощью нового люминесцентного зонда Eu(III)-БФ разработана методика для определения куркумина в фармацевтических препаратах и пищевых продуктах. Градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера линейен в интервале концентрации КК 2–100 нг/мл, предел обнаружения 0,7 мкг/мл.

**Ключевые слова:** куркумин, комплексные соединения европия, батофенантролин, тушение люминесценции

Куркумин (КК) – основной куркуминоид, входящий в состав корневища куркумы, является полифенолом, используется в качестве натурального пищевого красителя (Е100). Для определения содержания куркумина в фармацевтических препаратах и пищевых продуктах широко применяют методы обращенно-фазовой высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-, диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием [1-4], ВЭТСХ [5], спектрофотометрии [6,7], флуориметрии [8-11], вольтамперометрии [12]. Хотя метрологические характеристики фотометрических методик удовлетворяют требованиям анализа, необходимость улучшения чувствительности определения куркумина не вызывает сомнений. В этом плане более перспективны ВЭЖХ и флуоресцентные методы. Известно также определение КК, основанное на тушении собственной флуоресценции триптофана в комплексе с Eu(III) [11]. В настоящее время актуальной задачей флуоресцентного анализа является увеличение чувствительности определения ряда биологически активных веществ (БАВ) с использованием люминесцентных зондов, эмиссия которых значительно изменяется в присутствии БАВ (увеличивается или гасится). Лантанидные комплексы широко используются для определения биоактивных веществ (белков, ферментов, нуклеиновых кислот, лекарственных препаратов и др.) [13-16]. В ряде случаев оказалось возможным определение не только БАВ, компоненты которых участвуют в комплексообразовании с ионами лантанидов и сенсбилизируют их 4-f люминесценцию, но и применение люминесцентных зондов по тушению их эмиссии биологически активными веществами без химического взаимодействия с центральным ионом [17].

В связи с этим целью настоящей работы явилась разработка простой и высокочувствительной методики количественного определения куркумина по тушению люминесценции комплексного соединения европия (III) с эффективным сенсбилизатором – батофенантролином (БФ).

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В работе использовали реактивы квалификации не ниже ч.д.а. и бидистиллированную воду.

Стандартные растворы хлорида европия (0,1 моль/л) готовили растворением соответствующего оксида высокой чистоты, который предварительно прокаливали в муфельной печи в течение 1 часа при 650-700°C, в хлористоводородной кислоте (1:1) с последующим выпариванием ее избытка на водяной бане. Сухой остаток растворяли в дистиллированной воде и разбавляли до необходимого объема. Концентрацию полученного раствора контролировали комплексонометрически с индикатором арсенazo I в уротропиновом буферном растворе при pH  $7,0 \pm 0,2$ .

В работе использовали реагент – сенсбилизатор батофенантролин производства Merck (CAS 1662-01-7). Раствор ( $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л) реагента получали растворением точной навески в этаноле.

В работе использовали куркумин производства Merck (CAS 458-37-7). Раствор куркумина (1,0 мг/мл) получали растворением точной навески в этаноле.

*Раствор куркумина (1,0 мкг/мл).* 0,1 мл раствора куркумина (1,0 мг/мл) помещали в мерную колбу объемом 100,0 мл, доводили до метки водой.

Кислотность растворов устанавливали с помощью 40%-ного водного раствора уротропина.

Спектры люминесценции и возбуждения, а также кривые затухания люминесценции регистрировали с помощью спектрофлуориметра Cary Eclipse (Varian, Австралия) с ксеноновой лампой 150 W. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре UV-2401 PC (Shimadzu, Япония). Значения pH растворов измеряли с помощью pH-метра серии Seven Easy фирмы Mettler Toledo (Китай) со стеклянным электродом, калибровку которого проводили с помощью стандартных буферных растворов. Все измерения проводили при комнатной температуре.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Куркумин – это естественный полифенол. В растворенном виде может существовать в виде таутомерной смеси кетонной и енольной форм. Комплексообразование КК с ионами Eu(III) сопровождается батохромным смещением полосы лиганда (рис. 1). В то же время в образующихся комплексах отсутствует перенос энергии возбуждения. Известны флуориметрические методики определения БАВ, основанные на тушении сенсбилизированной люминесценции лантанидов [17].

В качестве эффективного сенсбилизатора 4-f люминесценции европия выбран батофенантролин, который характеризуется наличием в ультрафиолетовой области спектра полос поглощения с высокими молярными коэффициентами экстинкции, что обуславливает эффективное поглощение энергии возбуждения. Триплетный уровень лиганда, рассчитанный из спектров фосфоресценции его

комплекса с Gd(III) при 77°К, составляет  $18100 \text{ см}^{-1}$  и превышает энергию уровня первого возбужденного состояния ионов  $\text{Eu}^{3+}$  ( $17300 \text{ см}^{-1}$ ), что определяет возможность внутримолекулярной передачи поглощенной лигандом энергии на уровень ионов европия и приводит к значительному росту их люминесценции. Комплекс  $\text{Eu(III)}\text{-БФ}$  использован в дальнейшей работе в качестве люминесцентного зонда для определения куркумина.

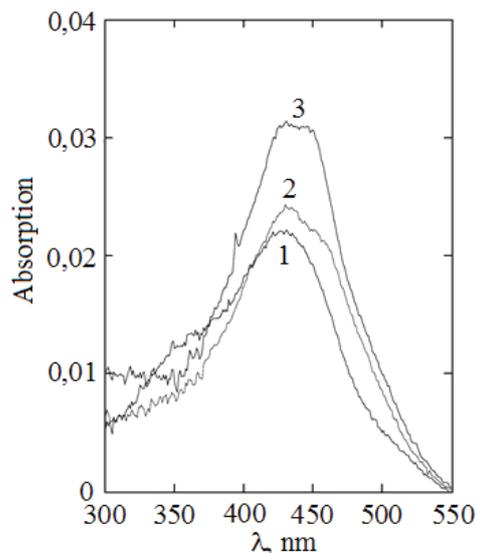


Рис. 1. Спектры поглощения куркумина (1) и его комплекса с  $\text{Eu(III)}$  ( $C_{\text{КК}} = 1 \cdot 10^{-5}$  моль/л;  $C_{\text{Eu}} = 1 \cdot 10^{-5}$  моль/л (2);  $C_{\text{Eu}} = 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л (3))

Fig. 1. Absorption spectra of curcumin (1) and its complex with  $\text{Eu(III)}$  ( $c_{\text{cc}} = 1 \cdot 10^{-5}$  mol/l;  $C_{\text{Eu}} = 1 \cdot 10^{-5}$  mol/l (2);  $C_{\text{Eu}} = 1 \cdot 10^{-4}$  mol/l (3))

Максимальная интенсивность люминесценции зонда  $\text{Eu(III)}\text{-БФ}$  наблюдается при pH 7,5-8,0, которое достигается введением 0,5 мл 40% раствора уротропина, а также используется для изучения взаимодействия данного зонда с куркумином. Методом ограниченного логарифмирования Бента-Френча установлено, что образуется комплекс  $\text{Eu(III)}\text{-БФ} = 1:1$ . При постоянной концентрации куркумина (50 нг/мл) изучены зависимости  $I_{\text{люм}}$  от концентрации  $\text{Eu(III)}$  и БФ для системы  $\text{Eu(III)}\text{-БФ-КК}$ . Установлено, что оптимальными являются равные концентрации компонентов:  $C_{\text{Eu}} = C_{\text{БФ}} = 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л. Можно предположить, что образуется смешанный комплекс  $\text{Eu(III)}\text{-БФ-КК}$  (1:1:1) (рис. 2).

Обнаружено, что введение разных количеств куркумина в водные растворы комплекса  $\text{Eu(III)}\text{-БФ}$  вызывает уменьшение 4f-люминесценции европия (III) ( $I_{\text{макс}} = 615 \text{ нм}$ ; переход  ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ ) (рис. 3).

Известно, что к тушению может приводить множество процессов, в том числе реакции в возбужденном состоянии, перенос энергии, образование комплексов и тушение при столкновениях. Обнаруженный нами эффект тушения куркумином

4f-люминесценции комплекса Eu(III)–БФ обусловлен образованием смешанного комплекса.

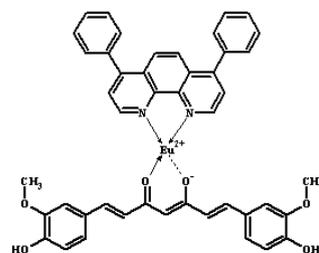


Рис. 2. Схематическое изображение комплекса Eu(III)–БФ–КК (1:1:1)

Fig. 2. Schematic representation of the Eu(III)–BPhen–CC complex (1:1:1)

В спектрах возбуждения комплекса Eu(III)–БФ с увеличением концентрации куркумина полосы в интервале длин волн 240–360 нм закономерно уменьшаются (рис. 4.а). Существенно, что при тушении куркумином 4f-люминесценции зонда Eu(III)–БФ ( $\lambda_{\text{эмис}} = 615$  нм) время жизни ( $\tau$ ) его возбужденного состояния не изменяется ( $300 \pm 5$  мкс (рис. 4.б), что можно интерпретировать в рамках статического механизма тушения [18].

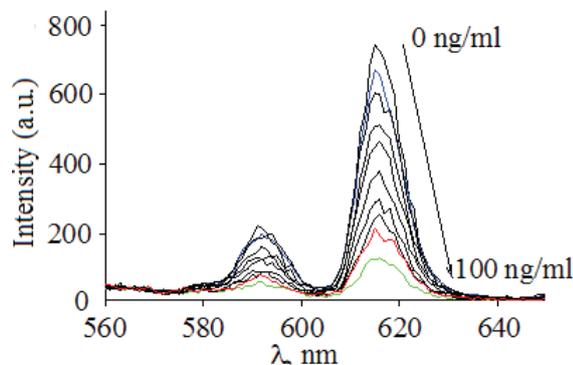


Рис. 3. Спектры люминесценции комплекса Eu(III)–БФ в присутствии различных концентраций КК 2-100 нг/мл ( $C_{\text{Eu}}=C_{\text{БФ}}=1 \cdot 10^{-4}$  моль/л)

Fig. 3. Luminescence spectra of the Eu(III)–Bphen complex in the presence of various concentrations of CC 2-100 ng/ml ( $C_{\text{Eu}}=C_{\text{BPhen}}=1 \cdot 10^{-4}$  mol/l)

*Градуировочный график.* В мерные колбы объемом 10,0 мл вносили по 0,02; 0,05; 0,07; 0,10; 0,20; 0,30; 0,50; 0,70; 0,90; 1,00 мл рабочего раствора КК (1 мкг/мл). В каждую колбу добавляли по 0,1 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л раствора хлорида европия, 0,5 мл 40%-ного раствора уротропина, 0,1 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л раствора БФ. Доводили во-

дой до 10,0 мл и перемешивали. Параллельно готовили раствор контрольной пробы, который содержит все компоненты, кроме куркумина. Через 5 мин измеряли интенсивность люминесценции при  $\lambda_{\text{эмис}} = 615 \text{ нм}$  ( $\lambda_{\text{возб}} = 320 \text{ нм}$ ) в каждой точке ( $I$ ) и интенсивность люминесценции контрольной пробы ( $I_0$ ).

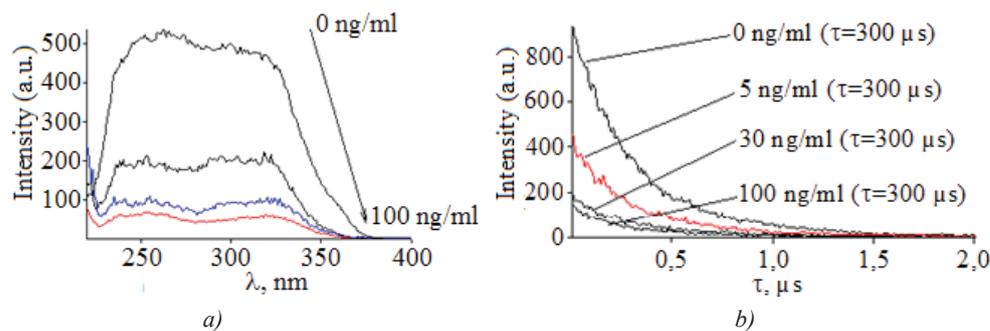


Рис. 4. Спектры возбуждения комплекса Eu(III)–БФ (а) и кривые затухания люминесценции комплекса Eu(III)–БФ (б) ( $C_{\text{Eu}}=C_{\text{БФ}}=1\cdot 10^{-4}$  моль/л;  $\lambda_{\text{эмис}}=615 \text{ нм}$ ;  $\lambda_{\text{возб}}=320 \text{ нм}$ ) в присутствии различных концентраций КК (2–100 нг/мл)

Fig. 4. Excitation spectra of the Eu(III)–BPhen complex (a) and luminescence decay curves of the Eu(III)–BPhen complex (b) ( $C_{\text{Eu}}=C_{\text{BPhen}}=1\cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$ ;  $\lambda_{\text{em}}=615 \text{ nm}$ ;  $\lambda_{\text{ex}}=320 \text{ nm}$ ) in the presence of various concentrations of CC (2–100 ng/ml)

Градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера (рис. 5) линейен в интервале концентраций КК 2–100 нг/мл, предел обнаружения равен 0,7 нг/мл (по  $3\sigma$ -критерию).

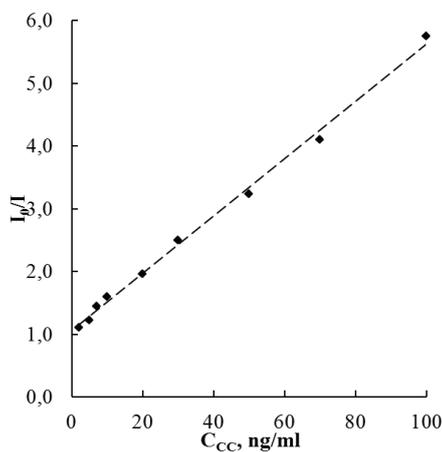


Рис. 5. Градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера для определения куркумина ( $C_{\text{Eu}}=C_{\text{БФ}}=1\cdot 10^{-4}$  моль/л)

Fig. 5. Stern-Volmer plot for determination of curcumin ( $C_{\text{Eu}}=C_{\text{BPhen}}=1\cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$ )

Эффективность тушения люминесценции Eu(III) в комплексе с БФ пропорциональна концентрации КК в соответствии с законом Штерна–Фольмера:

$$I_0/I = 1 + K_{SV} \cdot [C_{КК}]$$

где:  $I_0$  и  $I$  – интенсивности люминесценции Eu(III) без и в присутствии тушителя КК, соответственно,  $[C_{КК}]$  – концентрация тушителя,  $K_{SV}$  – константа Штерна–Фольмера.

Определена константа тушения Eu(III)–БФ в присутствии куркумина:  $K_{SV} = 0,045 \text{ мл} \cdot \text{нг}^{-1}$ . Полученное значение константы тушения ионов европия в комплексе с БФ куркумином позволяет характеризовать КК как эффективный тушитель 4f–люминесценции ионов Eu(III).

#### Методика

Проведено количественное определение КК в порошке экстракта куркумина NATUREX OF3489 (Франция), содержащего экстракт турмерика, лактозу, мальтодекстрин, изопропанол, полисорбат 80 (E433), оксид кремния (E551). По сертификату производителя содержание куркумина составляет 7,5 – 8,1 %.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску 125,0 мг порошка экстракта куркумина, помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, добавляли 70 мл этанола, тщательно перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 мин. Доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр (0,20 мкм RC 15). 1,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100,0 мл и доводили объем раствора водой до метки, перемешивали (раствор А).

Далее в мерные колбы объемом 10,0 мл вносили по 1,00 мл раствора А. В каждую колбу добавляли по 0,1 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л раствора хлорида европия, 0,5 мл 40%-ного раствора уротропина, 0,1 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л раствора БФ. Доводили водой до 10,0 мл и перемешивали. Параллельно готовили раствор контрольной пробы, который содержит все компоненты, кроме куркумина. Через 5 мин измеряли интенсивность люминесценции при  $\lambda_{эмис} = 615 \text{ нм}$  ( $\lambda_{возб} = 320 \text{ нм}$ ) в каждой пробе ( $I_0$ ) и интенсивность люминесценции контрольной пробы ( $I_0$ ).

Содержание КК в порошке экстракта куркумина NATUREX OF3489 определяли по градуировочному графику (табл. 1).

Таблица 1

Результаты определения содержания КК в порошке экстракта куркумина NATUREX OF3489 (n = 5; P = 0,95)

Table 1

The results of the CC content determination in curcumin extract powder NATUREX OF3489 (n = 5; P = 0,95)

Найдено, %	Метрологические характеристики
7,90	$X_{cp} = 7,91$
8,05	$S = 0,16$
7,94	$\Delta X = 0,19$
7,65	$s_r = 1,98 \%$
8,01	

Сравнение чувствительности предложенного метода и других методов, применяемых для определения КК, представлено в табл. 2.

Таблица 2

**Методы, используемые для определения куркумина**

Table 2

**Methods of curcumin determination**

Метод	Интервал линейности (мкг/мл)	Предел обнаружения (мкг/мл)	Литература
ВЭЖХ	5 - 15	0,018	[1]
ВЭЖХ	2 - 8	0,039	[2]
ВЭЖХ	10 - 60	0,9	[3]
ВЭЖХ	0,05 - 100	0,004	[4]
ВЭТСХ	0,5 - 4	-	[5]
Спектрофотометрия	1 - 7	0,05	[6]
Спектрофотометрия	0,1 - 5	0,23	[7]
Флуориметрия	0,001-0,01	-	[8]
Флуориметрия	0,000737 – 0,18 0,18 – 2,95	0,00015	[9]
Флуориметрия	0,74 – 5,18	0,0448	[10]
Флуориметрия	0,003 – 40	0,0003	[11]
Вольтамперометрия	0,01 – 0,2	0,0073	[12]
Флуориметрия	0,002 – 0,1	0,0007	данная работа

Предложенная методика сопоставима по чувствительности с некоторыми из представленных методов.

### **ВЫВОДЫ**

Показана возможность использования комплексного соединения европия (III) с батофенантролином в качестве нового люминесцентного зонда для высокочувствительного определения куркумина. Предлагаемая методика характеризуется удовлетворительными метрологическими характеристиками, простотой выполнения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Panigrahi S., Hirlekar R. A new stability-indicating RP-HPLC method for determination of curcumin: An application to nanoparticulate formulation // *Int. J. Pharmacy Pharm. Sci.* – 2016. – Vol. 8, N 12. – P. 149-155. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2016v8i12.14473>
2. Pundarikakshudu K., Dave H.N. Simultaneous determination of curcumin and berberine in their pure form and from the combined extracts of *Curcuma Longa* and *Berberis Aristata* // *Int. J. Appl. Sci. Eng.* – 2010. – Vol. 8, N 1. – P. 19-26.
3. Wichitnithad W., Jongaroonngamsang N., Pummangura S., Rojsitthisak P. A simple isocratic HPLC method for the simultaneous determination of curcuminoids in commercial turmeric extracts // *Phytochem Anal.* – 2009 – Vol. 20, N 4 – P. 314-319. <https://doi.org/10.1002/pca.1129>
4. Ramshankar Y.V., Suresh S. A sensitive reversed phase HPLC method for the determination of curcumin // *Pharmacognosy Magazine.* – 2009. – Vol. 5, N 17. – P. 71-74.
5. Mishra J., Tripathi A., Misra K., Sarada S.K.S. HPTLC: A tool for determination of curcumin in mammalian samples // *Int. J. Pharmacog. Phytochem. Res.* – 2017. – Vol. 9, N 4. – P. 498-501. <https://doi.org/10.25258/phyto.v9i2.8120>
6. Sharma K., Agrawal S.S., Gupta M. Development and validation of UV spectrophotometric method for the estimation of curcumin in bulk drug and pharmaceutical dosage forms // *Int. J. Drug Dev. & Res.* – 2012. – Vol. 4, N 2. – P. 375-380.
7. Murti Y B., Hartini Y.S., Hinrichs W.L.J., Frijlink H.W., Setyaningsih D. UV-Vis spectroscopy to enable determination of the dissolution behavior of solid dispersions containing curcumin and piperine // *J. Young Pharm.* – 2019. – Vol. 11, N 1. – P. 26-30. <https://doi.org/10.5530/jyp.2019.11.6>
8. Gupta N.K., Nahata A., Dixit V.K. Development of a spectrofluorimetric method for the determination of curcumin // *Asian J. Tradition. Med.* – 2010. – Vol. 5, N 1. – P. 12-18.
9. Wang F., Huang W., Wang Y. Fluorescence enhancement effect for the determination of curcumin with yttrium(III) – curcumin – sodium dodecyl benzene sulfonate system // *J. Lumin.* – 2008. – Vol. 128, N 1. – P. 110-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jlumin.2007.05.012>
10. Shi Y., Li C., Liu S., Liu Z., Zhu J., Yang J., Hu X. Facile synthesis of fluorescent carbon dots for determination of curcumin based on fluorescence resonance energy transfer // *RSC Advances.* – 2015. – Vol. 79, N 5. – P. 64790-64796. <https://doi.org/10.1039/C5RA13404H>
11. Wang F., Huang W. Determination of curcumin by its quenching effect on the fluorescence of Eu<sup>3+</sup>-tryptophan complex // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2007. – Vol. 43, N 1. – P. 393-398. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.07.007>
12. Çakır S., Biçer E., Arslan E.Y. A Newly Developed Electroanalytical Oxidation and Voltammetric Determination of Curcumin at the Surface of PdNp-graphite Electrode by an Aqueous Solution Process with Al<sup>3+</sup> // *Croat. Chem. Acta.* – 2015. – Vol. 88, N 2. – P. 105-112. <http://dx.doi.org/10.5562/cca2527>
13. Смирнова Т.Д., Паращенко И.Ю. Флуориметрическое определение рутина, основанное на комплексообразовании с европием (III) в мицеллярных растворах ПАВ // *Известия Саратовск. ун-та, Сер. Химия. Биология. Экология.* – 2010. – Т. 10, № 2. – С. 19-23.
14. Zheng J., Li Q.-Z., Zhao Y.-B. Determination of coenzymes with phosphates by fluorescence quenching of Tb(III)-Tiron complex // *J. Anal. Sci.* – 2007. – Vol. 2. – P. 15-21.
15. Jouyban A., Amjadi M., Panahi-Azar V., Karami-Bonari A.R., Tamizi E. Spectrofluorimetric determination of buparvaquone in biological fluids, food samples and a pharmaceutical formulation by using terbium-deferasirox probe // *Food Chem.* – 2011. – Vol. 126, N 4. – P. 1845-1849. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.160>
16. Bian W., Zhang N., Wang L. Spectrofluorometric determination of total bilirubin in human serum samples using tetracycline-Eu<sup>3+</sup> // *Anal. Sci.* – 2010. – Vol. 26, N 7. – P. 785-789. <https://doi.org/10.2116/analsci.26.785>
17. Леоненко И.И., Александрова Д.И., Егорова А.В., Антонович В.П. Аналитическое применение эффектов тушения люминесценции. Обзор // *Методы и объекты хим. анализа.* – 2012. – Т. 7, № 3. – С. 108-125.
18. Lakowicz J.R. Principles of fluorescence spectroscopy, 3rd edn. Springer Science and Business Media, LLC, New York, 2006. P. 954.

Стаття надійшла до редакції 15.04.2019

**О. В. Малинка<sup>1</sup>, М. Є. Вельц<sup>1</sup>, Ю. В. Скрипинець<sup>2</sup>, А. В. Єгорова<sup>2</sup>,  
В. П. Антонович<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Одеська національна академія харчових технологій, вул. Канатна, 112, Одеса, 65039, Україна, e-mail: onahtan@ukr.net

<sup>2</sup>Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Люстдорфська дорога, 86, Одеса, Україна, e-mail: yegorova@interchem.com.ua

## **НОВИЙ ЛЮМІНЕСЦЕНТНИЙ ЗОНД НА ОСНОВІ КОМПЛЕКСУ ЄВРОПІУ(III) ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КУРКУМІНУ**

Розроблено спектрофлуориметричне визначення куркуміну (КК) у фармацевтичних препаратах та харчових продуктах. Методика оснований на ефекті гасіння КК флуоресценції комплексу іонів  $\text{Eu}^{3+}$  з батофенантроліном (БФ), який використано у якості флуоресцентного зонду. Досліджені оптимальні умови для визначення КК.

Досліджено спектральні та люмінесцентні властивості комплексу  $\text{Eu}^{3+}$ -БФ без і в присутності КК. Склад комплексу  $\text{Eu}^{3+}$ -БФ зі стехіометричним співвідношенням (1:1) (метал:ліганд) визначали спектрофлуориметрично у водному розчині при рН = 7,5 методом Бента-Френча. Інтенсивність флуоресценції комплексу  $\text{Eu}(\text{III})$ -БФ в спектрах збудження та випромінювання зменшується зі збільшенням концентрації КК внаслідок утворення комплексу  $\text{Eu}(\text{III})$ -БФ-КК зі стехіометричним співвідношенням (1:1:1). Встановлено, що час життя флуоресценції комплексу  $\text{Eu}(\text{III})$ -БФ при  $\lambda_{\text{em}} = 615$  нм становить близько 300 мкс та не змінюється при збільшенні концентрації гасника. Таким чином, ефект гасіння люмінесценції комплексу  $\text{Eu}(\text{III})$ -БФ куркуміном відбувається за статичним механізмом.

КК значно гасить інтенсивність люмінесценції зонду  $\text{Eu}(\text{III})$ -БФ. В оптимальних умовах гасіння інтенсивності люмінесценції пропорційно концентрації КК в діапазоні від 2 до 100 нг/мл. Межа виявлення розрахована за  $3\sigma$ -критерієм, становить 0,7 нг/мл.

Флуоресцентне гасіння описується за допомогою рівняння Штерна-Фольмера. Константа гасіння Штерна-Фольмера  $K_{\text{sv}} = 0,045$  мл  $\cdot$  нг<sup>-1</sup>. Значення  $K_{\text{sv}}$  вказує, що молекули куркуміну ефективно гасять люмінесценцію комплексу  $\text{Eu}(\text{III})$ -БФ.

Ефект гасіння люмінесценції комплексу  $\text{Eu}(\text{III})$ -БФ було використано для розробки процедури визначення КК ( $C_{\text{Eu}} = 10^{-4}$  моль/л,  $C_{\text{БФ}} = 10^{-4}$  моль/л, у водних розчинах при рН = 7,5-8,0,  $\lambda_{\text{ex}} = 320$  нм,  $\lambda_{\text{em}} = 615$  нм). Спектрофлуориметрична методика застосована для визначення КК у порошку куркумінового екстракту (NATUREX OF3489, Франція).

**Ключові слова:** куркумін, комплексні сполуки європію, батофенантролін, гасіння люмінесценції

**O. V. Malynka<sup>1</sup>, M. E. Vielts<sup>1</sup>, A. V. Yegorova<sup>2</sup>, Yu. V. Scrypynets<sup>2</sup>,  
V. P. Antonovich<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Odessa National Academy of Food Technologies; 112, Kanatna Street, Odessa, 65039, Ukraine, e-mail: onahtan@ukr.net

<sup>2</sup>A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, 86, Lustdorfskaya doroga, Odessa 65080, Ukraine, e-mail: yegorova@interchem.com.ua

## **NEW LUMINESCENT PROBE BASED ON EUROPIUM (III) COMPLEX FOR DETERMINATION OF CURCUMIN**

A spectrofluorimetric method was developed for the determination of curcumin (CC) in pharmaceuticals and food, based on its quenching effect on the fluorescence intensity of a complex of  $\text{Eu}^{3+}$  ions with batophenanthroline (BPhen) as a fluorescent probe. The optimum conditions for the determination of CC were investigated.

The spectral and luminescent properties of the  $\text{Eu}^{3+}$ -BPhen complex without and in the presence of CC have been studied. The composition of the  $\text{Eu}^{3+}$ -BPhen complex with stoichiometric ratio (1:1) (metal: ligand) was determined spectrofluorimetrically in aqueous solution at pH=7,5 by the application of Bent-French's method. The fluorescence intensity of the Eu(III)-BPhen complex in the excitation and emission spectra is decreased with increasing of CC concentration owing to formation of Eu(III)-BPhen-CC complex with stoichiometric ratio (1:1:1). It was established that the fluorescence lifetime of the Eu(III)-BPhen complex at  $\lambda_{\text{em}} = 615 \text{ nm}$  is about  $300 \mu\text{s}$  does not change upon increasing quencher concentration. Thus, the quenching effect on the luminescence of the Eu (III)-Bphen complex by CC is occurred via static mechanism.

The CC was remarkably quenched the luminescence intensity of the Eu(III)-BPhen probe. Under optimal conditions, the quenching of luminescence intensity was found to be proportional to the concentration of CC in the range from 2 to 100 ng/ml. The detection limit was calculated according to the  $3\sigma$ -criterion is equal to 0,7 ng/ml.

Fluorescence quenching is described using the Stern-Volmer equation. The Stern-Volmer quenching constant  $K_{\text{sv}} = 0,045 \text{ ml}\cdot\text{ng}^{-1}$ .  $K_{\text{sv}}$  value indicates that molecules of curcumin effectively quench the luminescence of the Eu(III)-BPhen complex.

The effect of luminescence quenching of the Eu(III)-BPhen complex was used to developing the procedure for determining of CC ( $C_{\text{Eu}} = 10^{-4} \text{ mol/l}$ ,  $C_{\text{BPhen}} = 10^{-4} \text{ mol/l}$ , in aqueous solutions at pH = 7,5-8,0,  $\lambda_{\text{ex}} = 320 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 615 \text{ nm}$ ). A spectrofluorimetric method was applied to determination of CC in curcumin extract powder (NATUREX OF3489, France).

**Key words:** curcumin, europium complex, bathophenanthroline, quenching of luminescence

## REFERENCES

1. Panigrahi S., Hirlekar R. *A new stability-indicating RP-HPLC method for determination of curcumin: An application to nanoparticulate formulation*. Int. J. Pharmacy Pharm. Sci., 2016, vol. 8, no 12, pp. 149-155. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2016v8i12.14473>
2. Pundarikakshudu K., Dave H.N. *Simultaneous determination of curcumin and berberine in their pure form and from the combined extracts of Curcuma Longa and Berberis Aristata*. Int. J. Appl. Sci. Eng., 2010, vol. 8, no 1, pp. 19-26.
3. Wichitnithad W., Jongaroonngamsang N., Pummangura S., Rojsitthisak P. *A simple isocratic HPLC method for the simultaneous determination of curcuminoids in commercial turmeric extracts*. Phytochem Anal., 2009, vol. 20, no 4, pp. 314-319. <https://doi.org/10.1002/pca.1129>
4. Ramshankar Y.V., Suresh S. *A sensitive reversed phase HPLC method for the determination of curcumin*. Pharmacognosy Magazine, 2009, vol. 5, no 17, pp. 71-74.
5. Mishra J., Tripathi A., Misra K., Sarada S.K.S. *HPTLC: A tool for determination of curcumin in mammalian samples*. Int. J. Pharmacog. Phytochem. Res., 2017, vol. 9, no. 4, pp. 498-501. <https://doi.org/10.25258/phyto.v9i2.8120>
6. Sharma K., Agrawal S.S., Gupta M. *Development and validation of UV spectrophotometric method for the estimation of curcumin in bulk drug and pharmaceutical dosage forms*. Int. J. Drug Dev. & Res., 2012, vol. 4, no 2, pp. 375-380.
7. Murti Y.B., Hartini Y.S., Hinrichs W.L.J., Frijlink H.W., Setyaningsih D. *UV-Vis spectroscopy to enable determination of the dissolution behavior of solid dispersions containing curcumin and piperine*. J. Young Pharm., 2019, vol. 11, no 1, pp. 26-30. <https://doi.org/10.5530/jyp.2019.11.6>
8. Gupta N.K., Nahata A., Dixit V.K. *Development of a spectrofluorimetric method for the determination of curcumin*. Asian J. Tradition. Med., 2010, vol. 5, no 1, pp. 12-18. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/215737879f> (Accessed 10 April 2019).
9. Wang F., Huang W., Wang Y. *Fluorescence enhancement effect for the determination of curcumin with yttrium(III) – curcumin – sodium dodecyl benzene sulfonate system*. J. Lumin., 2008, vol. 128, no 1, pp. 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2007.05.012>
10. Shi Y., Li C., Liu S., Liu Z., Zhu J., Yang J., Hu X. *Facile synthesis of fluorescent carbon dots for determination of curcumin based on fluorescence resonance energy transfer*. RSC Advances., 2015, vol. 79, no 5, pp. 64790-64796. <https://doi.org/10.1039/C5RA13404H>

11. Wang F., Huang W. *Determination of curcumin by its quenching effect on the fluorescence of  $\text{Eu}^{3+}$ -tryptophan complex*. J. Pharm. Biomed. Anal., 2007, vol. 43, no 1, pp. 393–398. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.07.007>
12. Çakır S., Biçer E., Arslan E.Y. *A Newly Developed Electrocatalytic Oxidation and Voltammetric Determination of Curcumin at the Surface of Pd/Np-graphite Electrode by an Aqueous Solution Process with  $\text{Al}^{3+}$* . Croat. Chem. Acta., 2015, vol. 88, no 2, pp. 105–112. <https://doi.org/10.5562/cca2527>
13. Smirnova T.D., Paraschenko I.Yu. *Fluorimetric determination of rutin, based on the complexation with  $\text{Eu(III)}$  in micellar solutions of surfactants*. Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology, 2010, vol. 10, no 2, pp. 19–23 (in Russian).
14. Zheng J., Li Q.-Z., Zhao Y.-B. *Determination of coenzymes with phosphates by fluorescence quenching of  $\text{Tb}^{3+}$ -Tiron complex*. J. Anal. Sci., 2007, vol. 2, pp. 15–2115.
15. Manzoori J.L., Jouyban A., Amjadi M., Panahi-Azar V., Karami-Bonari A.R., Tamizi E. *Spectrofluorimetric determination of buparvaquone in biological fluids, food samples and a pharmaceutical formulation by using terbium-deferasirox probe*. Food Chem., 2011, vol. 126, no 4, pp. 1845–1849. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.160>
16. Bian W., Zhang N., Wang L. *Spectrofluorometric determination of total bilirubin in human serum samples using tetracycline- $\text{Eu}^{3+}$* . Anal. Sci., 2010, vol. 26, no 7, pp. 785–789. <https://doi.org/10.2116/analsci.26.785>
17. Leonenko I.I., Aleksandrova D.I., Yegorova A.V., Antonovich V.P. *Analytical application of luminescence quenching effects (Review)*. Metody i Ob'ekty Khimicheskogo Analiza, Methods Objects Chem. Anal., 2012, vol. 7, no 3, pp. 108–125 (in Russian).
18. Lakowicz J.R. Principles of fluorescence spectroscopy, 3rd edn. Springer Science and Business Media, LLC, New York, 2006. pp. 954.