بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

طراحی و ساخت نانو زیست حسگرهای الکتروشیمیایی بر پایه DNA جهت اندازه‌گیری سودانII در نمونه‌های غذایی، آمیترول به عنوان علف‌کش و تشخیص تخریب DNA

رساله دکتری شیمی تجزیه

مریم امینی

اساتید راهنما

پروفسور علی اصغر انصافی

پروفسور بهزاد رضایی

۱۳۹۲

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

بارالها

در هر مرحله ای از زندگی لطف و عنایت خود را بر من ارزانی داشتی، راه را بر من هموار ساخته و هدایتم نمودی. هر زمان که سختی های زندگی عرصه را بر من تنگ کرد، یاد تو آرامش بخش قلبم بود.

اکنون که با عنایت تو برگ دیگری از دفتر زندگیم ورق می خورد، تو را با تمام وجود سپاس می گویم که هدایتم کردی و لطفت را شامل حالم ساختی.

جز شکر و سپاس به درگاه لایزالت از بنده چه برآید...

تقدیم به:

پدر بزرگوار و دلسوزم

مادر مهربان و فداکارم

که سرچشمه هر چه پاکی، از خودگذشتگی و عشق را در وجود نازنینشان می‌باید جست

تقدیم به همراهان همیشگی لحظه‌های شادی و اندوهم:

خواهر و برادرهای عزیزم

آنان که آفتاب را به زندگی دیگران ارزانی می دارند، نمی توانند خود از آن بی بهره باشند

آمدنم را در وادی آگاهی دستی نیرومند هدایتگر شد، هم آمدنم، هم ماندنم، هم برخاستنم و هم رفتنم را.

او که در لحظه لحظه هایم جاری است...

سپاس را چگونه در آغوشت رها کنم که ذره بودنم در برابر دریا بودنت هویدا شود.

از تو مدد می گیرم تا سپاس را بر تمامی آنانی که گام های استوار و دستان پرمهرشان تکیه گاه خستگی راهم بودند، پیشکش کنم.

از تعلیمات گهربار و راهنمایی های ارزنده ی اساتید راهنمای عزیزم جناب آقای پروفسور علی اصغر انصافی و جناب آقای پروفسور بهزاد رضایی تشکر و قدردانی نموده و از درگاه خداوند منان سلامتی و طول عمر روزافزون برایشان آرزومندم.

از اساتید داور جناب آقای پروفسور مرتضی طالبی، جناب آقای پروفسور تقی خیامیان و جناب آقای دکتر محمد تقی جعفری که زحمت مطالعه و داوری این رساله را متقبل شدند سپاسگزارم.

از پدر و مادر بزرگوار و مهربانم که در پناه مهر، محبت و حمایت های آنها مسیر زندگیم هموار و موفقیت هایم دست یافتنی گشت بی نهایت سپاسگزارم.

از خواهر و برادرهای مهربانم که کوچک ترین موفقیت هایم را ستودند و همواره مشوق من بوده اند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از دوستان خوب و عزیزم که همیشه در خاطرم خواهند ماند آقای اسماعیل حیدری بفروئی و خانم ها آنا میتا همتی و ملیحه ابراهیمی به پاس لطف و صمیمیت بی پایانشان تشکر می کنم.

مریم امینی

شهریور ۱۳۹۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب.....یازده

فهرست اشکال.....هفده

فهرست جداول.....بیست و سه

چکیده.....۱

فصل اول ۲

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۲- نانوتکنولوژی و علم نانو مواد ۳

۱-۲-۱- نانولوله‌های کربنی ۴

۱-۲-۱- الف) ساختارهای مختلف نانولوله‌های کربن ۵

۱-۲-۱- ب) خصوصیات فیزیکوشیمیایی ۶

۱-۲-۱- ج) خالص‌سازی نانولوله‌های کربنی ۷

۱-۲-۱- د) اصلاح نانولوله‌ها ۷

۱-۳- روش‌های اندازه‌گیری و تعیین خصوصیات نانومواد ۹

۱-۳-۱- میکروسکوپ کاوشگر روبشی (SPM)..... ۱۰

۱-۳-۲- میکروسکوپ پروبی جریان تونلی(STM)..... ۱۰

۱-۳-۳- میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) ۱۱

۱-۳-۴- میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM) ۱۲

۱-۴- کاربرد کربن نانوتیوپ در الکتروشیمی..... ۱۲

۱-۴-۱- مقدمه ۱۲

۱-۴-۲- استفاده از نانولوله‌های کربنی در تهیه حسگرهای الکتروشیمیایی ۱۳

۲-۴-۲ ج) استفاده از کامپوزیت ترکیبی ۱۴

۱) کامپوزیتهای پلیمر هادی و نانولوله‌های کربنی ۱۵

۳) دیگر کامپوزیتهای شامل نانولوله‌های کربنی ۱۶

۱-۴-۳- زیست حسگرهای الکتروشیمیایی بر پایه نانولوله‌های کربنی ۱۶

۱-۵- مقدمه‌ای بر ds-DNA و ساختار آن..... ۱۷

۱-۶- الکتروشیمی DNA ۱۸

۱-۶-۱- کاهش DNA..... ۱۹

۱-۶-۲- اکسیداسیون DNA ۲۰
۱-۷- جذب DNA ۲۱
۱-۸- بررسی الکتروشیمیایی برهمکنش گونه‌ها و DNA ۲۱
۱-۸-۱- بیومارکرهای تشخیص تخریب DNA ۲۲
۱-۸-۲- برهمکنش بین DNA و فلزات ۲۳
۱-۸-۳- برهمکنشهای DNA و دارو ۲۴
۱-۹- زیست حسگرهای الکتروشیمی بر پایه DNA ۲۶
۱-۹-۱- عملکرد زیست حسگرهای الکتروشیمیایی بر پایه ds-DNA ۲۶
۱-۱۰- مقدمه‌ای بر روشهای الکتروشیمی ۲۷
۱-۱۰-۱- مقدمه ۲۷
۱-۱۰-۲- ولتامتری ۲۷
۱-۱۰-۳- تجزیه با عاری‌سازی ۲۹
۱-۱۱- طیف‌نگاری امپدانس الکتروشیمیایی ۳۰
۱-۱۱-۱- مقدمه ۳۰
۱-۱۱-۲- تحلیل امپدانس یک واکنش انتقال الکترون ساده ۳۰
۱-۱۱-۳- نمایش نموداری نتایج ۳۳
۱-۱۱-۳- الف) نمودارهای بد بر حسب نمودارهای صفحه مختلط ۳۴

فصل دوم ۳۵
۲-۱- مقدمه ۳۵
۲-۲- سودان واهمیت بررسی آن ۳۵
۲-۲-۱- مروری بر کارهای انجام شده سودانII ۳۶
۲-۳- آمیترول و اهمیت بررسی آن ۳۸
۲-۳-۱- مروری بر کارهای انجام شده ۳۹
۲-۴- اهمیت بررسی تخریب DNA توسط روشهای الکتروشیمی ۴۱
۲-۴-۱- کروم(VI) و اهمیت بررسی تخریب ناشی از آن ۴۱
۲-۴-۲- مروری بر کارهای انجام شده ۴۲
۲-۴-۳- کتکول (CA) و بررسی تخریب ناشی از آن ۴۳
۲-۴-۴- مروری بر کارهای انجام شده. ۴۳
۲-۴-۵- میتومایسین C (MMC) ۴۴
۲-۴-۶- مروری بر کارهای انجام شده در مورد تخریب ناشی از MMC ۴۵

فصل سوم ۴۶
۳-۱- مقدمه ۴۶
۳-۲- وسایل و ابزار مورد استفاده ۴۷
۳-۳- نرم‌افزارهای مورد استفاده ۴۷
۳-۴- واکنشگرهای مورد استفاده ۴۸
۳-۵- آماده‌سازی نمونه جهت ثبت تصاویر AFM، SEM و TEM ۵۰
۳-۶- ساخت زیست حسگر بر پایه ds-DNA جهت اندازه‌گیری سودان II براساس سیگنال گوانین و آدنین ۵۱
۳-۷- ساخت الکترود گرافیت مدادی (PGE) ۵۱
۳-۷-۱- ساخت الکترود گرافیت مدادی اصلاح شده با ds-DNA (ds-DNA/PGE) ۵۱
۳-۸- مطالعات اولیه برهمکنش ds-DNA با سودان II با استفاده از روش DPV ۵۲
۳-۸-۱- برهمکنش سودان II با ds-DNA بر روی ds-DNA/PGE ۵۲
۳-۸-۲- برهمکنش سودان II با ds-DNA در فاز محلول ۵۴
۳-۸-۳- مطالعات برهمکنش ds-DNA با سودان II با استفاده از روش UV-Vis ۵۵
۳-۹- بهینه سازی عوامل مؤثر بر حساسیت روش ۵۶
۳-۹-۱- انتخاب pH ۵۷
۳-۹-۲- اثر غلظت ds-DNA در مرحله تثبیت بر روی الکترود PGE ۵۷
۳-۹-۳- اثر زمان جذب در مرحله تثبیت ds-DNA بر روی سطح PGE ۵۸
۳-۹-۴- اثر زمان برهمکنش ds-DNA با سودان II ۶۰
۳-۹-۵- بررسی اثر زمان برهمکنش سودانII و ds-DNA در فاز محلول ۶۲
۳-۱۰- روش پیشنهادی ۶۳
۳-۱۱- رسم منحنی تنظیم ۶۴
۳-۱۲- دقت و حد تشخیص روش ۶۸
۳-۱۳- بررسی اثر مزاحمتهای احتمالی ۶۹
۳-۱۴- بررسی کارایی روش ۶۹
۳-۱۵- بحث و نتیجه‌گیری ۷۰
۳-۱۶- اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم سودان II با استفاده از روش ولتامتری عاری‌سازی جذبی بر روی الکترود گرافیت مدادی پیش فعال شده (PPGE). ۷۴
۳-۱۶-۱- مقدمه ۷۴
۳-۱۶-۲- آماده‌سازی PGE پیش فعال شده (PPGE) ۷۴
۳-۱۷- روش انجام کار ۷۴
۳-۱۷-۱- مطالعات اولیه ۷۵
۳-۱۸- بررسی اثر پارامترهای مؤثر بر حساسیت روش ۷۶

۳-۱۸-۱- بررسی اثر pH مرحله پیش تغلیظ (نشاندن) ۷۶
۳-۱۸-۲- بررسی اثر pH محلول در مرحله اندازه‌گیری بر شدت سیگنال و پتانسیل پیک ۷۸
۳-۱۸-۳- بررسی اثر زمان پیش تغلیظ ۸۰
۳-۱۹- رسم منحنی تنظیم ۸۱
۳-۲۰- دقت و حد تشخیص روش ۸۳
۳-۲۱- بررسی اثر مزاحمتهای احتمالی ۸۳
۳-۲۲- بررسی کارایی روش ۸۴
۳-۲۳- بحث و نتیجه‌گیری ۸۵
۳-۲۴- ساخت و تهیه زیست حسگر بر پایه DNA با استفاده از MWCNT و پلیمر کیتوزان (Chit) جهت اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم آمیترول ۸۷
۳-۲۴-۱- روش ساخت PGE ۸۷
۳-۲۴-۲- مراحل ساخت الکترود اصلاح شده ۸۷
۳-۲۴-۳- بررسی مورفولوژی سطح ۸۸
۳-۲۴-۴- مطالعات سطح با استفاده از تکنیک ولتامتری چرخه‌ای ۸۸
۳-۲۵- مطالعات اولیه برهمکنش بین آمیترول و DNA ۸۹
۳-۲۵-۱- مطالعات برهمکنش ds-DNA با آمیترول با استفاده از روش UV-Vis ۹۱
۳-۲۶- انتخاب شرایط بهینه ۹۲
۳-۲۶-۱- اثر زمان تثبیت نانو کامپوزیت Chit-MWCNT بر روی PGE ۹۲
۳-۲۶-۲- اثر غلظت MWCNT ۹۴
۳-۲۶-۳- انتخاب pH مناسب ۹۵
۳-۲۶-۴- اثر زمان برهمکنش آمیترول و ds-DNA ۹۷
۳-۲۷- روش پیشنهادی ۹۸
۳-۲۸- منحنی تنظیم ۹۹
۳-۲۹- دقت و حد تشخیص روش ۱۰۱
۳-۳۰- بررسی اثر مزاحمتهای احتمالی اندازه‌گیری آمیترول ۱۰۱
۳-۳۱- کاربرد روش ۱۰۲
۳-۳۲- بحث و نتیجه‌گیری ۱۰۴
۳-۳۳- طراحی زیست حسگر بر پایه ds-DNA جهت تشخیص تخریب ناشی از سیستم کروم(VI)/گلوتاتیون/آب اکسیژنه با استفاده از متیلن بلو به عنوان ردیاب الکتروشیمیایی ۱۰۷
۳-۳۳-۱- مقدمه ۱۰۷
۳-۳۳-۲- ساخت PGE ۱۰۷

۳-۳۴- ساخت الکترود اصلاح شده PGE ۱۰۷
۳-۳۵- بررسی تغییرات مورفولوژی سطح الکترود ۱۰۸
۳-۳۶- مطالعه امپدانس الکتروشیمیایی ۱۰۹
۳-۳۶-۱- مطالعات اولیه و بررسی برگشت‌پذیری برهمکنش بین متیلن بلو و ds-DNA ۱۱۰
۳-۳۷- بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر بر حساسیت روش ۱۱۲
۳-۳۷-۱- اثر زمان تثبیت ds-DNA ۱۱۲
۳-۳۷-۲- اثر n در $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_n/PGE$ ۱۱۴
۳-۳۷-۳- اثر زمان بارگیری متیلن بلو در ds-DNA ۱۱۵
۳-۳۷-۴- اثر زمان رهاسازی متیلن بلو از $MB\text{-}[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$ ۱۱۶
۳-۳۸- روش پیشنهادی ۱۱۸
۳-۳۹- تشخیص تخریب ایجاد شده توسط سیستم کروم(VI)/گلوتاتیون/آب اکسیژنه ۱۱۸
۳-۴۰- بررسی سرعت تخریب ایجاد شده توسط سیستم کروم (VI)، گلوتاتیون و آب اکسیژنه ۱۲۲
۳-۴۱- بحث و نتیجه‌گیری ۱۲۵
۳-۴۲- بررسی تخریب ناشی از کتکول در حضور یونهای فلزی با استفاده از PGE اصلاح شده با ds-DNA و کتکول ۱۳۰
۳-۴۲-۱- مقدمه ۱۳۰
۳-۴۲-۲- ساخت PGE ۱۳۰
۳-۴۲-۳- ساخت PGE اصلاح شده ۱۳۰
۳-۴۲-۴- کپسوله شدن الکتروشیمیایی کتکول در MWCNT ۱۳۱
۳-۴۳- بررسی مورفولوژی سطح ۱۳۴
۳-۴۴- بررسی اصلاحات انجام شده بر روی سطح PGE با استفاده از تکنیک طیف‌نگاری امپدانس الکتروشیمیایی ۱۳۴
۳-۴۵- بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر بر حساست روش ۱۳۶
۳-۴۵-۱- بررسی اثر غلظت MWCNT ۱۳۶
۳-۴۵-۲- بررسی اثر زمان تثبیت MWCNT بر روی سطح PGE ۱۳۷
۳-۴۵-۳- بررسی اثر غلظت کتکول ۱۳۸
۳-۴۶- بررسی تخریب ds-DNA توسط کتکول در حضور یونهای فلزی ۱۳۹
۳-۴۶-۱- بررسی تخریب با استفاده از ds-DNA/MWCNT/PGE ۱۳۹
۳-۴۶-۲- بررسی تخریب ناشی از کتکول در حضور یونهای مس(II)، کروم(VI) و آهن(III) با استفاده از ds-DNA/CA@MWCNT/PGE. ۱۴۲
۳-۴۶-۳- بررسی اثر بازدارندگی گلوتاتیون و پلامباگین بر تخریب ناشی از کتکول در حضور مس(II) ۱۴۶
۳-۴۷- بحث و نتیجه‌گیری ۱۴۷
۳-۴۸- ساخت زیست حسگر بر پایه ds-DNA جهت بررسی فعالیت ضدسرطانی میتومایسین C ۱۵۱

۳-۴۸-۱- آماده‌سازی محلول MWCNT ۱۵۱
۳-۴۹- ساخت الکترود گرافیت مدادی ۱۵۱
۳-۴۹-۱- ساخت الکترود اصلاح شده با ds-DNA ۱۵۲
۳-۴۹-۲- بررسی تغییرات مورفولوژی سطح ۱۵۲
۳-۴۹-۳- مطالعه امپدانس الکتروشیمیایی ۱۵۳
۳-۵۰- روش انجام کار ۱۵۳
۳-۵۰-۱- بررسی اثر MMC بر روی ds-DNA ۱۵۳
۳-۵۰-۲- تاثیر MMC فعال شده با اسید بر روی ds-DNA ۱۵۵
۳-۵۰-۳- اثر pH بر روی برهم‌کنش MMC فعال شده اسیدی با ds-DNA ۱۵۵
۳-۵۰-۴- تأثیر غلظت MMC فعال شده با اسید بر روی ds-DNA ۱۵۷
۳-۵۰-۵- تأثیر MMC پس از کاهش الکتروشیمیایی بر روی ds-DNA ۱۵۸
۳-۵۰-۶- بررسی پتانسیل فعالسازی MMC ۱۵۹
۳-۵۰-۷- اثر pH بر روی برهمکنش MMC کاهش یافته با ds-DNA ۱۶۰
۳-۵۱- بحث و نتیجه‌گیری ۱۶۱

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل (۱–۱) : الف) نانولوله‌های کربنی a) تک دیواره، b) چند دیواره ۵

شکل (۱–۲): انواع ساختارهای نانولوله‌های کربنی ۶

شکل (۱–۳): عامل‌دار کردن نانولوله‌های کربنی با استفاده از مخلوط نیتریک اسید و سولفوریک اسید ۷

شکل (۱–۴): انواع روشهای اصلاح نانو لوله های کربنی، a) برهمکنشهای π–π، b) اصلاح کؤوالانسی، c) پیچیده شدن غیر کؤوالانسی پلیمر به دور نانو لوله‌های کربنی. ۹

شکل (۱–۵): شمایی از اصول عملکرد میکروسکوپ‌های AFM ۱۱

شکل (۱–۶): ساختار شماتیک HOPG. ۱۳

شکل (۱–۷): ساختارچهار باز تشکیل دهنده زنجیره DNA. ۱۷

شکل (۱–۸): اجزای تشکیل دهنده نوکلئوتید ۱۸

شکل (۱–۹): ولتاموگرامهای چرخه ای ss-DNA به دست آمده بر روی الکترود قطره جیوه آویزان. CA: پیک کاهش سیتوزین (C) و آدنین (A)، G: پیک اکسیداسیون و کاهش گوانین (G) ۱۹

شکل (۱–۱۰): ساختار و مکانیسم تولید ۸–اکسو گوانین ۲۰

شکل (۱–۱۱): مدار متشکل از مقاومت و خازن به طور سری. ۳۱

شکل (۱–۱۲): نمودار امپدانس صفحه مختلط برای مدار RC موازی. این ساده‌ترین نمودار مشابه ممکن برای یک واکنش فارادایی در الکترودی با خازنی به ظرفیت C_{dl} در سطح مشترک است ۳۳

شکل (۲–۱): ساختار شیمیایی سودان II ۳۶

شکل (۲–۲): ساختار شیمیایی آمیترول ۳۹

شکل (۲–۳): ساختار شیمیایی MMC ۴۵

شکل (۳–۱): شمای یک ظرف آزمایش (سل) برای اندازه‌گیری‌های ولتامتری، WE =الکترود کار، RE= الکترود مرجع، CE = الکترود کمکی پلاتین. ۴۷

شکل (۳–۲):a) ولتاموگرامهای پالس تفاضلی بافر استات (pH=۴/۸) بر روی PGE اصلاح نشده، b) ولتاموگرامهای پالس تفاضلی برهمکنش بین سودان II و ds-DNA بر روی ds-DNA/PGE: سیگنال اکسیداسیون گوانین و آدنین بعد از برهمکنش با ۰/۰، ۰/۵، ۰/۲، ۰/۳؛ ۰/۴، ۰/۵ و ۰/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر سودان II (از بالا به پایین). ۵۴

شکل (۳–۳): a) ولتاموگرامهای پالس تفاضلی برهمکنش بین سودان II وds-DNA بر روی ds-DNA/PGE: سیگنال اکسیداسیون گوانین و آدنین بعد از برهمکنش با ۰/۵، ۱/۲، ۲/۰، ۲/۵، ۳/۲، ۳/۵ و ۴/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (از بالا به پایین). ۵۵

شکل (۳–۴): طیف UV-vis محلول ۴/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سودان II، a) قبل، b) بعد از برهمکنش با ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ds-DNA و c) ds-DNA (۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بدون حضور سودان II. ۵۶

شکل (۳–۵): وابستگی سیگنال اکسایش بازهای ▲) آدنین و♦)گوانین با غلظت ds-DNA، شرایط: تثبیت ds-DNA بر روی PGE

در پتانسیل ۰/۵۰+ ولت در طول ۲۰۰ ثانیه. ۵۸
شکل (۳–۶): اثر زمان تغلیظ ds-DNA بر روی سطح الکترود PGE بر روی شدت جریان ▲) آدنین و ♦) گوانین، شرایط: غلظت ds-DNA: ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تثبیت ds-DNA بر روی PGE در پتانسیل ۰/۵۰+ ولت. ۵۹
شکل (۳–۷): بررسی زمان برهمکنش سودان II و ds-DNA، . غلظت ds-DNA: ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تثبیت ds-DNA بر روی PGE در پتانسیل ۰/۵۰+ ولت ۶۱
شکل (۳–۸): بررسی اثر زمان برهمکنش سودان II و ds-DNA، شرایط: غلظت ۱۰/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ds-DNA و ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر سودان II. ۶۲
شکل (۳–۹): منحنی تنظیم اندازه گیری سودان II از طریق دنبال کردن سیگنال گوانین تحت شرایط بهینه با استفاده از ds-DNA/PGE. ۶۵
شکل(۳–۱۰): منحنی تنظیم اندازه گیری سودان II از طریق دنبال کردن سیگنال آدنین تحت شرایط بهینه با استفاده از ds-DNA/PGE. ۶۵
شکل (۳–۱۱): منحنی تنظیم اندازه گیری سودان II از طریق دنبال کردن سیگنال گوانین تحت شرایط بهینه با استفاده از PGE در فاز محلول. ۶۷
شکل (۳–۱۲): منحنی تنظیم اندازه گیری سودان II از طریق دنبال کردن سیگنال آدنین تحت شرایط بهینه با استفاده از PGE در فاز محلول. ۶۷
شکل (۳–۱۳): ولتاموگرامهای پالس تفاضلی ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر سودان II در بافر فسفات (pH=۴/۰) بر روی a) PGE پیش فعال نشده بدون پیش تغلیظ، b) PGE پیش فعال نشده همراه با پیش تغلیظ، c) PPGE بدون پیش تغلیظ و d) PPGE همراه با پیش تغلیظ. شرایط: زمان پیش تغلیظ: ۳۰۰ ثانیه و اندازه‌گیری در بافر فسفات (pH=۴/۰). ۷۶
شکل (۳–۱۴): بررسی اثر pH مرحله پیش تغلیظ بر روی شدت جریان سودان II، شرایط: پیش تغلیظ به مدت ۳۰۰ ثانیه در محلول ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اندازه‌گیری در pH=۴/. ۷۷
شکل (۳–۱۵): بررسی اثر pH مرحله اندازه گیری بر شدت سیگنال سودان II. شرایط: پیش تغلیظ به مدت ۳۰۰ ثانیه در بافر فسفات (pH=۴/۰). ۷۸
شکل (۳–۱۶): بررسی اثر pH مرحله اندازه‌گیری بر پتانسیل پیک سودان II. شرایط: پیش تغلیظ به مدت ۳۰۰ ثانیه در بافر فسفات (pH=۴/۰). ۷۹
شکل (۳–۱۷): بررسی اثر زمان پیش تغلیظ سودان II بر روی PPGE در بافرفسفات (pH=۴/۰). ۸۱
شکل (۳–۱۸): منحنی تنظیم سودان II با استفاده از PPGE در شرایط بهینه. ۸۲
شکل (۳–۱۹): تصاویر AFM به دست آمده طی مراحل اصلاح PGE، A) PGE اصلاح نشده، ۸۸
شکل (۳–۲۰): ولتاموگرامهای چرخه‌ای مربوط به a) PGE اصلاح نشده، b) Chit-MWCNT/PGE، c) ds-DNA/Chit-MWCNT/PGE در محلول ۵/۰ میلی‌مولار $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ و ۰/۱ مول بر لیتر نسبت به پتاسیم کلرید. ۸۹
شکل (۳–۲۱): ولتاموگرامهای آمیترول ۱/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر بر روی PGE اصلاح نشده در بافر فسفات۰/۱ مولار pH=۷/۴ و

غلظتهای متفاوت dsDNA a) ۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، b) ۵/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، c) ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر. (B) ولتاموگرامهای آمپترول ۱/۵ نانوگرم بر میلی لیتر بر روی (a) PGE اصلاح نشده، (b) ds-DNA/Chit-MWCNT/PGE پس از ۳۰۰ ثانیه به عنوان زمان پیش تغلیظ، (C) ولتاموگرامهای ثبت شده بر روی PGE اصلاح نشده در بافر فسفات۰/۱ مولار pH=۷/۴ مربوط به: (a) محلول ۱/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر آمپترول، (b) محلول ۱/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر نسبت به آمپترول و ۱۰/۰ میکر.گرم بر میلی لیتر نیبت به ss-DNA و (c) محلول ۱/۵ نانوگرم بر میلی لیتر نسبت به آمپترول و ۱۰/۰ میکر.گرم بر میلی‌لیتر نیبت به ds-DNA پس از ۱۰ دقیقه برهمکنش. ۹۱

شکل (۳–۲۲): طیف UV-vis (a) ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ds-DNA، ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ds-DNA و ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آمپترول پس از (b) ۲، (c) ۵ و (d) ۱۰ دقیقه در بافر TE (pH=۷/۴). ۹۲

شکل (۳–۲۳): بررسی اثر زمان تثبیت کامپوزیت Chit-MWCNT بر روی جریان آندی $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ۵/۰ میلی‌مولار. ۹۳

شکل (۳–۲۴): بررسی اثر غلظت MWCNT بر روی جریان آندی $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ۵/۰ میلی‌مولار در زمان تثبیت ۳۰ دقیقه. ۹۴

شکل (۳–۲۵): بررسی اثر pH مرحله اندازه گیری بر شدت سیگنال آمپترول در محلول ۱/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر آمپترول و زمان برهمکنش ۱۸۰ ثانیه. ۹۶

شکل (۳–۲۶): بررسی اثر زمان برهمکنش آمپترول وds-DNA بر روی Chit-MWCNT/PGE تهیه شده در شرایط بهینه، غلظت آمپترول: ۱/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و زمان برهمکنش ۳۰۰ ثانیه. ۹۷

شکل (۳–۲۷): شمای کلی ساخت و عملکرد ds-DNA/Chit-MWCNT/PGE جهت اندازه‌گیری آمپترول. ۹۹

شکل (۳–۲۸): منحنی تنظیم اندازه‌گیری آمپترول از طریق دنبال کردن سیگنال اکسایش آمپترول در شرایط بهینه. ۱۰۰

شکل (۳–۲۹): تصاویر SEM به دست آمده از مراحل مختلف اصلاح سطح، A) PGE، B) PDDA-MWCNT/PGE، C) ds-DNA/[PDDA-MWCNT]/PGE. ۱۰۹

شکل (۳–۳۰): مطالعات طیف نگاری امپدانس الکتروشیمیایی a) PGE اصلاح نشده، PGE اصلاح شده با b) n=۱، c) n=۲ و d) n=۳. در محلول $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ۱/۰ میلی‌مولار. ۱۱۰

شکل (۳–۳۱): ولتاموگرامهای پالس تفاضلی متیلن بلو با استفاده از a) PGE اصلاح نشده، b) $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$ پس از برهمکنش با محلول بافر فسفات (pH=۷/۰)، ۲۰/۰ میکرومولار نسبت به متیلن بلو به مدت ۲ ساعت. ۱۱۱

شکل (۳–۳۲): ولتاموگرامهای پالس تفاضلی متیلن بلو در مراحل a) بارگیری، b) رهاسازی، c) بارگیری مجدد. شرایط: بارگیری و بارگیری مجدد در بافر فسفات (pH=۷/۰) ۲۰/۰ میکرومولار نسبت به متیلن بلو به مدت ۲ ساعت، رهاسازی در بافر فسفات (pH=۷/۰) به مدت ۶ ساعت. ۱۱۲

شکل (۳–۳۳): بررسی اثر زمان تثبیت ds-DNA، آماده‌سازی الکترود به مدت ۳۰۰ ثانیه در پتانسیل ۱/۴۰+، زمان تثبیت نانوکامپوزیت PDDA-MWCNT: ۳۰ دقیقه. ۱۱۳

شکل (۳–۳۴): ولتاموگرامهای پالس تفاضلی متیلن بلو بر روی a) PGE اصلاح نشده، b) $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_1/PGE$، c) $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$ و d) $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_3/PGE$، شرایط: بارگیری به مدت ۲/۰

ساعت در بافر فسفات (pH=۷/۰) ۲۰/۰ میکرومولار نسبت به متیلن بلو ۱۱۴
شکل (۳–۳۵): بررسی اثر زمان بارگیری متیلن بلو، شرایط: بارگیری در بافر فسفات (pH=۷/۰) ۲۰/۰ میکرومولار نسبت به متیلن بلو. ۱۱۵
شکل (۳–۳۶): بررسی اثر زمان رهاسازی، شرایط: بارگیری به مدت ۲/۰ ساعت در در بافر فسفات (pH=۷/۰) ۲۰/۰ میکرومولار نسبت به متیلن بلو. ۱۱۷
شکل (۳–۳۷): ولتاموگرامهای پالس تفاضلی متیلن بلو a) قبل و پس از قرار گرفتن الکترود در محلول b) ۰/۱ میلی مولار آب اکسیژنه، c) ۰/۲ میلی‌مولار کروم (VI)، d) محلول ۰/۲ میلی‌مولار نسبت به کروم (VI) و ۱/۰ میلی‌مولار نسبت به گلوتاتیون ، e) محلول ۰/۲ میلی‌مولار نسبت به کروم (VI) و ۰/۱ میلی‌مولار نسبت به آب اکسیژنه ، f) محلول ۰/۱ میلی‌مولار نسبت به آب اکسیژنه، ۰/۲ میلی‌مولار نسبت به کروم (VI) و ۱/۰ میلی‌مولار نسبت به گلوتاتیون (حالت اول) و g) محلول ۰/۱ میلی‌مولار نسبت به آب اکسیژنه، ۰/۲ میلی‌مولار نسبت به کروم (VI) و ۱/۰ میلی‌مولار نسبت به گلوتاتیون (حالت دوم). ۱۲۱
شکل (۳–۳۸): بررسی رابطه بین IP_{III}/IP_I با زمان تخریب در محلولهای ▲) کروم(VI)، گلوتاتیون و آب اکسیژنه، ●) کروم(VI)، ♦) کروم(VI) و گلوتاتیون. ۱۲۳
شکل (۳–۳۹): بررسی نسبت I_{PIII}/I_{PI} با زمان در محلولهای ♦) آب اکسیژنه و ▲) آب اکسیژنه و کروم(VI). ۱۲۳
شکل (۳–۴۰): بررسی رابطه بین IP_{III}/I_{PI} و زمان تخریب در محلول آب اکسیژنه. ۱۲۴
شکل (۳–۴۱): A) ولتاموگرامهای چرخه ای فرایند کپسوله شدن کتکول داخل MWCNT در ۱۰/۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=۷/۰) ۱/۰ میلی‌مولار نسبت به کتکول با سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه طی ۳۰ سیکل CV، B) ولتاموگرام چرخه ای کتکول کپسوله شده در MWCNT تثبیت شده بر روی سطح PGE در بافر فسفات (pH=۷/۰). ۱۳۲
شکل (۳–۴۲): بررسی رابطه بین (♦) $Ipa_۱$ و (▲) $Ipa_۲$ کتکول کپسوله شده در MWCNT با سرعت روبش در بافر فسفات (pH=۷/۰). ۱۳۲
شکل (۳–۴۳): بررسی اثر pH بر پتانسیل پیک آندی اول، شرایط: ثبت ولتاموگرامها با سرعت روبش ۵۰ ..... ۱۳۳
شکل (۳–۴۴): تصاویر TEM A) MWCNT و B) CA@MWCNT. ۱۳۴
شکل (۳–۴۵): مطالعات طیف‌نگاری امپدانس الکتروشیمیایی a) PGE اصلاح نشده، b) MWCNT/PGE، c) CA@MWCNT/PGE و ds-DNA/CA@MWCNT/PGE در بافر فسفات (pH=۴/۰) ۵/۰ میلی‌مولار نسبت به $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$، شرایط امپدانس: پتانسیل پلاریزاسیون ۰/۱ ولت، محدوده فرکانس ۰/۰۰۵ تا $۱۰^۵$ هرتز و دامنه پتانسیل ۱۰ میلی‌ولت. ۱۳۵
شکل (۳–۴۶): بررسی اثر غلظت MWCNT، شرایط: زمان تثبیت ۶۰ دقیقه، طیف نگاری امپدانس الکتروشیمیایی در محلول بافر فسفات (pH=۴/۰) ۰/۵ میلی‌مولار نسبت به $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$. ۱۳۶
شکل (۳–۴۷): بررسی اثر زمان تثبیت MWCNT با غلظت ۳/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، طیف‌نگاری امپدانس الکتروشیمیایی ۱۳۷
شکل (۳–۴۸): بررسی اثر غلظت کتکول، شرایط: کپسوله شدن الکتروشیمیایی با اعمال ۳۰ سیکل در محدوده پتانسیل ۰/۴۰- تا ۱/۰۰ ولت در بافر فسفات (pH=۷/۰). ۱۳۹

شکل (۳–۴۹): طیفهای امپدانس ds-DNA.MWCNT/PGE پس از دو ساعت قرار گرفتن در محلول ۱۰۰/۰ میکرومولار کتکول a) در غیاب و در حضور محلول ۲۰/۰ میکرومولار b) مس(II)، c) آهن(III) و d) کروم(VI) در بافر تریس (pH=۷/۰). ۱۴۰
شکل (۳–۵۰): بررسی اثر غلظت کتکول بر روی مقاومت انتقال بار ds-DNA/MWCNT/PGE. ۱۴۱
شکل (۳–۵۱): طیفهای امپدانس ds-DNA/CA@MWCNT/PGE پس از ۲/۰ ساعت قرار گرفتن در بافر تریس (pH=۷/۰)، a) در غیاب و در حضور محلولهای ۲۰/۰ میکرومولار از b) مس(II)، c) آهن(III) و d) کروم(VI). ۱۴۲
شکل (۳–۵۲): بررسی اثر غلظت یونهای مس(II)، آهن(III) و کروم (VI) بر روی مقاومت انتقال بار، شرایط امپدانس: پتانسیل پلاریزاسیون ۰/۱ ولت، محدوده فرکانس ۰/۰۰۵ تا 10^5 هرتز و دامنه پتانسیل ۱۰ میلی‌ولت..... ۱۴۴
شکل (۳–۵۳): بررسی اثر زمان برهمکنش ds-DNA/CA@MWCNT/PGE با بافر تریس (pH=۷/۰)، ۲۰/۰ میکرومولار نسبت به a) مس(II)، b) آهن(III) و c) کروم(VI)..... ۱۴۵
شکل (۳–۵۴): بررسی اثر بافت نمونه بر روی میزان مقاومت انتقال بار پس از ۲/۰ ساعت برهمکنش در محلول بافر فسفات (pH=۷/۰). ۱۴۶
شکل (۳–۵۵): بررسی طیف امپدانس ds-DNA/CA@MWNT/PGE پس از ۲/۰ ساعت قرار گرفتن در بافر تریس (pH=۷/۰)، a) در غیاب و در حضور محلول ۲۰/۰ میکرومولار b) مس(II)، c) مس(II) و گلوتاتیون، d) مس(II) و پلامباگین..... ۱۴۷
شکل (۳–۵۶): مکانیسم برهمکنش کتکول و مس(II) و تشکیل رادیکالهای مولد تخریب ds-DNA [۱۶۸]..... ۱۵۰
شکل (۳–۵۷): تصویر SEM: A) PGE اصلاح نشده، B) C PDDA-MWCNT/PGE) و D) $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$] با دو بزرگنمایی متفاوت ۱۵۲
شکل (۳–۵۸): تاثیر غلظت MMC بر روی پاسخ امپدیمتری $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$] پس از قرارگرفتن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۴/۰) حاوی مقادیر مشخصی از MMC در مدت زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه. ۱۵۴
شکل (۳–۵۹): مطالعات طیف نگاری امپدانس الکتروشیمیایی $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$]، a) قبل و پس از b) ۵، c) ۱۰ و d) ۱۵ دقیقه قرار گرفتن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۴/۰) ۱/۰ میکرومولار نسبت به MMC..... ۱۵۵
شکل (۳–۶۰): تاثیر pH محلول ۱/۰ میکرومولار MMC بر روی مقاومت انتقال بار $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$] پس از قرارگرفتن در محلول بافر فسفات با pH های مختلف حاوی MMC در مدت‌زمان ۱۰ دقیقه. ۱۵۶
شکل (۳–۶۱): تاثیر غلظت MMC فعال شده با اسید بر روی مقاومت انتقال بار $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$] پس از قرارگرفتن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۴/۰) حاوی مقادیر مشخصی از MMC به مدت ۱۰ دقیقه. ۱۵۷
شکل (۳–۶۲): ولتاموگرام چرخه‌ای محلول بافر فسفات (pH=۷/۰) ۱۰۰/۰ میکرومولار نسبت به MMC در سرعت اسکن ۲۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه. ۱۵۸
شکل(۳–۶۳): بررسی اثر پتانسیل اعمالی برای کاهش الکتروشیمیایی MMC بر روی مقاومت انتقال با $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$ پس از قرارگرفتن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) ۱۰/۰ میکرومولار نسبت به MMC و اعمال پتانسیل‌های متفاوت. ۱۵۹
شکل (۳–۶۴): بررسی اثر pH محلول MMC بر روی مقاومت انتقال بار $[ds\text{-}DNA/PDDA\text{-}MWCNT]_2/PGE$] پس از قرارگرفتن

در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) ۱۰/۰ میکرومولار نسبت به MMC و اعمال پتانسیل ۰/۶- ولت در مدت زمان ۱ دقیقه ۱۶۱
شکل (۳–۶۵): مکانیسم فعالسازی MMC با اسید ۱۶۲
شکل ۳–۶۶): فرایند کاهش تک الکترونی MMC و تشکیل آنیون رادیکال ۳. ..... ۱۶۲
شکل (۳–۶۷): گونه‌های تولید شده طی فرایند کاهش MMC و برهمکنش آن با DNA ۱۶۲

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول (۳-۱): وابستگی سیگنال اکسایش بازهای آدنین و گوانین با غلظت ds-DNA در شرایط مشابه شکل (۳–۵). ۵۸

جدول (۳-۲): اثر زمان تغلیظ ds-DNA بر روی سطح الکترود PGE به شدت سیگنال اکسایش آدنین و گوانین.....۶۰

جدول (۳-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان برهکنش سودان II و ds-DNA در شرایط مشابه شکل (۳–۷). ۶۱

جدول (۳-۴): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان برهمکنش سودان II و ds-DNA در فاز محلول در شرایط مشابه شکل (۳–۸). ۶۳

جدول (۳-۵): نتایج حاصل از رسم منحنی کالیبراسیون سودان II از طریق دنبال کردن سیگنال گوانین و آدنین با استفاده از ds-DNA/PGE. ۶۶

جدول (۳-۶): نتایج حاصل از رسم منحنی کالیبراسیون سودان II از طریق دنبال کردن سیگنال گوانین و آدنین. ۶۸

جدول (۳-۷): بررسی مزاحمتهای احتمالی جهت اندازه‌گیری سودان II با استفده از ds-DNA/PGE و PGE در فاز محلول. ۶۹

جدول (۳-۸): نتایج حاصل از آنالیز سودان II در بافتهای حقیقی با استفاده از ds-DNA/PGE و PGE در فاز محلول با افزودن سودان II. ۷۱

جدول (۳-۹):نتایج حاصل از بررسی اثر pH مرحله پیش تغلیظ در شرایط شکل (۳–۱۴). ۷۷

جدول (۳-۱۰): بررسی اثر pH مرحله اندازه‌گیری بر شدت سیگنال سودان II در شرایط مشابه شکل (۳–۱۵). ۷۹

جدول (۳-۱۱): نتایج حاصل از بررسی اثر pH مرحله اندازه‌گیری بر پتانسیل پیک سودان II. ۸۰

جدول (۳-۱۲): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان پیش تغلیظ سودان II بر روی PPGE در بافرفسفات (pH=۴/۰). ۸۱

جدول (۳-۱۳): نتایج حاصل از رسم منحنی تنظیم سودان II با استفاده از PPGE در شرایط بهینه.....۸۳

جدول (۳-۱۴): بررسی اثر مزاحمتهای احتمالی با استفاده از PPGE. ۸۴

جدول (۳-۱۵): نتایج حاصل از آنالیز سودان II در بافتهای حقیقی با استفاده از PPGE طبق شرایط بهینه. ۸۵

جدول (۳-۱۶): مقایسه کارایی روش جهت اندازه‌گیری سودان II با سایر روشهای الکتروشیمی. ۸۶

جدول (۳-۱۷): بررسی اثر زمان تثبیت کامپوزیت Chit-MWCNT بر روی جریان آندی $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ۵/۰ میلی‌مولار. ۹۳

جدول (۳-۱۸): بررسی اثر غلظت MWCNT بر روی جریان آندی $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ۵/۰ میلی‌مولار در زمان تثبیت ۳۰ دقیقه. ۹۵

جدول (۳-۱۹): بررسی اثر pH مرحله اندازه‌گیری بر شدت سیگنال آمیترول در شرایط مشابه شکل (۳–۲۵).....۹۶

جدول (۳-۲۰): بررسی اثر زمان برهمکنش آمیترول وds-DNA بر روی Chit-MWCNT/PGE تهیه شده در شرایط مشابه شکل (۳–۲۶). ۹۸

جدول (۳-۲۱): نتایج حاصل از رسم منحنی تنظیم اندازه‌گیری آمیترول از طریق دنبال کردن سیگنال اکسایش آمیترول در شرایط بهینه. ۱۰۰

جدول (۳-۲۲): بررسی اثر مزاحمتهای احتمالی در اندازه‌گیری آمیترول با استفاده از ds-DNA/Chit-MWCNT/PGE. ۱۰۱

جدول (۳-۲۳). نتایج حاصل از آنالیز آمیترول در بافتهای حقیقی با استفاده از ds-DNA/Chit-MWCNT/PGE به روش افزودن