بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم-گروه شیمی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

گرایش شیمی تجزیه

ساخت حسگر زیستی گلوکز توسط الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله-کربن و پلیمر

نگارنده:

صدیقه شریفی‌راد

استاد راهنما:

دکتر محمدعلی کامیابی

دی ماه ۹۰

به پاس تعبیر عظیم و انسانی‌شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگان

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین

روزگاران بهترین پشتیبان است

به پاس قلب‌های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در

پناهشان به شجاعت می‌گراید

و به پاس محبت‌های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی‌کند

این پایان‌نامه را به مادر و پدر عزیزم و خواهران دوقلو دوست‌داشتنیم

تقدیم می‌کنم.

من به سرچشمه خورشید نه خود بردم راه

ذره‌ای بودم و مهر تو مرا بالا برد

اولین سپاس به پیشگاه حضرت دوست که هر چه هست از اوست.

از استاد فرهیخته و فرزانه جناب آقای دکتر کامیابی
که با کرامتی چون خورشید، سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش را با راهنمایی‌های کار ساز و سازنده بارور ساختند تقدیر و تشکر می‌نمایم.

زندگی، گرمی دل‌های به هم پیوسته است

تا در آن دوست نباشد، همه دل‌ها خسته است!

از دوستان بزرگوارم، خانم الهام ساداتی و مینا حبیبی‌زاده از این که دلسوزانه در کنارم بودند و در کنارشان آرامش روحی و آسایش فکری داشتم سپاسگذارم.

از کلیه دوستان آزمایشگاه الکتروشیمی جهت همکاری بی دریغشان جهت پیشبرد این پایان‌نامه سپاسگذارم.

و در پایان سپاس از عزیزانی که از سر اغماض رخصت بردن نامشان را به ما ندادند که اگرحضور ایشان نبود، راه به جایی نمی‌بردیم.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده

فصل اول : مقدمه

۱-۱ مقدمه‌ای بر الکتروشیمی ۱

۱-۲ حسگرها و انواع آنها ۲

۱-۳ زیست حس‌گرها ۵

۱-۳-۱ زیست حس‌گرهای الکتروشیمیایی ۶

۱-۴ زیست حس‌گرهای گلوکز ۶

۱-۴-۱ نسل اول زیست حس‌گرهای گلوکز ۶

۱-۴-۲ نسل دوم زیست حس‌گرهای گلوکز ۷

۱-۴-۳ نسل سوم زیست حس‌گرهای گلوکز ۹

۱-۵ الکترودهای اصلاح شده به طریق شیمیایی ۱۰

۱-۵-۱اصطلاحات و تعاریف ۱۱

۱-۶ نانولوله‌های‌کربنی (CNTs) ۱۳

۱-۶-۱ ویژگی‌های الکتروشیمیایی و الکتروکاتالیزوری نانولوله‌های کربنی ۱۵

۱- ۷ پلیمرهای رسانا و نارسانا ۱۶

۱-۷-۱ پلیمرهای رسانا ۱۶

۱-۷-۲ پلیمرهای نارسانا ۱۷

۱-۷-۳ اصلاح سطح الکترودها با پلیمرها ۱۹

۱-۸ الکترودهای آنزیمی ۲۰

۱-۸-۱ آنزیم‌ها ۲۱

۱-۸-۲ سازوکار واکنش‌های آنزیمی ۲۱

۱-۹ فناوری نانو ۲۴

فصل دوم: تاریخچه

۲-۱ مروری بر تحقیقات گذشته ۲۶

۲-۱-۱ اندازه‌گیری آمپرومتری پراکسید هیدروژن و گلوکز توسط الکترودهای اصلاح شده ۲۷

۲-۲ نانولوله‌های کربنی در حسگرهای زیستی گلوکز ۲۸

۲-۳ کاربرد پلیمرها در تکامل بیوسنسورها ۳۳

۲-۳-۱ استفاده از فیلم پلیمری تنها برای تهیه‌ی بیوسنسور ۳۴

۲-۳-۲ استفاده همزمان فیلم پلیمری و اصلاح کننده‌های دیگر ۳۶

۲-۳-۲-۱ اصلاح سطح الکترود با ترکیب پلیمرها و نانولوله‌های کربن ۳۷

۲-۴ مروری بر روش‌های الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه‌گیری دوپامین، اوریک اسید و آسکوربیک اسید ۴۰

۲-۵ اهداف پروژه ۴۷

۲-۶ معرفی گونه‌های بیولوژیکی به کار رفته در این پروژه ۴۸

۲-۶-۱ آنزیم‌ها ۴۸

۲-۶-۱-۱ آنزیم گلوکز اکسیداز ۴۸

۲-۶-۱-۲ روش‌های تثبیت آنزیم روی سطح الکترود ۵۰

۲-۶-۲ گلوتارآلدهید ۵۳

۲-۶-۳ گلوکز ۵۵

۲-۶-۴ دوپامین ۵۶

۲-۶-۵ اوریک اسید ۵۷

۲-۶-۶ آسکوربیک اسید ۵۹

۲-۶-۷ ترکیب ۴-آمینوتیوفنول ۶۰

فصل سوم : بخش تجربی

۳-۱ دستگاه‌های مورد استفاده ۶۱

۳-۲ مواد مورد نیاز ۶۱

۳-۳ تهیه محلول‌ها ۶۲

۳-۴ آماده کردن الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله کربن و ۴-آمینوتیوفنول ۶۳

۳-۵ قرار دادن آنزیم و گلوتارآلدهید بر روی سطح الکترود اصلاح شده با نانولوله‌ی کربنی و پلی ۴-آمینوتیوفنول ۶۳
۳-۶ بهینه کردن عوامل مرتبط با فعالیت الکتروکاتالیزوری فیلم پلیمری سنتز شده در سطح الکترود کربن شیشه‌ای ۶۳
۳-۷ بررسی‌های انجام گرفته با الکترود اصلاح شده با نانولوله کربن، پلی ۴-آمینوتیوفنول، آنزیم گلوکزاکسیداز و گلوتارآلدهید ۶۴
۳-۷-۱ ولتاموگرام‌های مربوط به بررسی رفتار گلوکز ۶۴
۳-۷-۲ تعیین حد تشخیص گلوکز در سیستم اصلاح شده ۶۴
۳-۷-۳ تهیه نمونه حقیقی ۶۵
۳-۷-۴ مطالعه‌ی سینتیکی اکسایش الکتروکاتالیزوری گلوکز در الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده ۶۵
۳-۸ تعیین حد تشخیص در اندازه‌گیری دوپامین، آسکوربیک اسید و اوریک اسید ۶۵
۳-۹ تهیه‌ی نمونه‌ی حقیقی ۶۶

فصل چهارم : بخش تجربی
۴-۱ تهیه الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌های کربن و پلی۴-آمینوتیوفنول ۶۷
۴-۱-۱ الکتروسنتز فیلم پلی ۴-آمینوتیوفنول در سطح الکترود کربن شیشه‌ای پوشیده شده با نانولوله-های کربن ۶۹
۴-۲ بهینه کردن پارامترهای مرتبط با فعالیت الکتروکاتالیزوری الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده ۷۲
۴-۲-۱ بهینه کردن مقدار نانولوله‌های کربنی ۷۳
۴-۲-۲ بهینه کردن غلظت مونومر ۷۴
۴-۲-۳ بهینه کردن غلظت اسید ۷۶
۴-۲-۴ بررسی تعداد چرخه‌های الکتروپلیمره کردن ۷۷
۴-۳ بررسی خواص فیلم پلی۴-آمینوتیوفنول ۷۸
۴-۳-۱ مطالعه‌ی ولتامتری چرخه‌ای فیلم پلی۴-آمینوتیوفنول ۷۸
۴-۳-۲ مطالعه‌ی اثر سرعت روبش پتانسیل روی فیلم پلیمری ۸۱
۴-۳-۳ بررسی پایداری پلیمر ۸۳
۴-۴ اصلاح سطح الکترود پلیمر شده با آنزیم وگلوتارآلدهید ۸۴
۴-۴-۱ بهینه کردن مقدار آنزیم ۸۴

۴-۴-۲ بررسی ویژگی‌های فیلم آنزیم تثبیت شده ۸۵
۴-۴-۲-۱ مطالعه‌ی اثر سرعت روبش پتانسیل روی پیک آنزیم ۸۷
۴-۴-۳ بهینه کردن مقدار گلوتارآلدهید ۹۰
۴-۵ بررسی اثر اکسیژن ۹۱
۴-۶ ولتاموگرام‌های مربوط به بررسی رفتار گلوکز و شرایط پاسخ الکترود اصلاح شده ۹۲
۴-۶-۱ بررسی ولتامتری چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای(بدون اصلاح سطح، اصلاح شده با نانولوله‌های کربن و اصلاح شده با نانولوله‌های کربن و پلی۴-آمینوتیوفنول) در حضور گلوکز بدون تثبیت آنزیم بر سطح الکترود ۹۲
۴-۶-۲ مطالعه‌ی ولتامتری چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای(بدون اصلاح سطح، اصلاح شده با نانولوله-های کربن و اصلاح شده با نانولوله‌های کربن و پلی۴-آمینوتیوفنول) در حضور گلوکز پس از تثبیت آنزیم بر سطح الکترود ۹۴
۴-۶-۳ بررسی ولتامتری چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌ی کربن و پلی۴-آمینوتیوفنول در حضور گلوکز ۹۶
۴-۷ محاسبه‌ی ثابت میکائیلیس-منتن ۹۹
۴-۸ بررسی کارایی الکترود اصلاح شده ۱۰۱
۴-۸-۱ اندازه‌گیری گلوکز در نمونه‌ی حقیقی ۱۰۱
۴-۹ بررسی پایداری پاسخ الکترود اصلاح شده در حضور گلوکز ۱۰۳
۴-۱۰ تکرارپذیری و ثکثیرپذیری پاسخ الکترود ۱۰۴
۴-۱۱ بررسی اثر مزاحمت ۱۰۵
۴-۱۲ ولتاموگرام‌های مربوط به بررسی رفتار آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید و شرایط پاسخ الکترود اصلاح شده ۱۰۶
۴-۱۲-۱ بررسی ولتامتری چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای بدون اصلاح سطح، اصلاح شده با نانولوله‌های کربن و اصلاح شده با نانولوله‌های کربن و پلی۴-آمینوتیوفنول) در حضور آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید ۱۰۶
۴-۱۲-۲ اثر pH ۱۱۲
۴-۱۲-۳ اندازه‌گیری دوپامین و اوریک اسید و آسکوربیک اسید روی الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله کربنی و پلیمر ۴-آمینوتیوفنول ۱۱۸

۴-۱۲-۴ اندازه‌گیری همزمان مخلوط دوپامین و اوریک اسید روی الکترود اصلاح شده و منحنی درجه-بندی ۱۲۵
۴-۱۲-۵ اندازه‌گیری دوپامین و اوریک اسید و آسکوربیک اسید در نمونه‌های حقیقی ۱۲۵
نتیجه‌گیری ۱۳۰
مراجع ۱۳۱

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ انواع نانولوله‌های کربنی ۱۳
شکل ۱-۲ ساختار برخی از پلیمرهای رسانا..... ۱۷
شکل ۱-۳ ساختار برخی از پلیمرهای نارسانا..... ۱۸
شکل ۱-۴ منحنی تغییر سرعت واکنش آنزیمی برای مقادیر مختلف سوبسترا..... ۲۳
شکل ۱-۵ نمودار دو معکوسی لینویور- برک..... ۲۴
شکل ۲-۱ روش‌های مختلف تثبیت آنزیم روی سطح الکترود..... ۵۳
شکل ۲-۲ شمای کلی اکسیداسیون دوپامین..... ۵۶
شکل ۲-۳ شمای کلی اکسیداسیون اوریک اسید..... ۵۸
شکل ۲-۴ شمای کلی اکسیداسیون آسکوربیک اسید ۶۰
شکل ۴-۱ ولتاموگرام چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده در بافر فسفات pH=۷..... ۶۸
شکل ۴-۲ ولتاموگرام چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای در بافر فسفات pH=۷ a)اصلاح نشده و b) اصلاح شده با نانولوله‌های کربن چند دیواره..... ۶۸
شکل ۴-۳ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای ثبت شده در حین الکتروپلیمره کردن ۴-آمینوتیوفنول در روی الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده ۶۹
شکل ۴-۴ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای ثبت شده در حین الکتروپلیمره کردن ۴-آمینوتیوفنول در روی الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده..... ۷۱
شکل ۴-۵ مکانیسم پیشنهادی برای پلیمریزاسیون ۴-آمینوتیوفنول در سطح الکترود..... ۷۲
شکل ۴-۶ نمودار جریان‌های ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده از پراکسید هیدروژن (۹ میلی مولار) بر روی الکترود اصلاح شده با پلی۴-آمینوتیوفنول با مقادیر مختلف از نانولوله‌های کربنی چند دیواره ۷۴
شکل ۴-۷ نتایج جریان‌های ولتاموگرام چرخه‌ای به دست آمده از پراکسید هیدروژن (۹ میلی مولار) بر روی الکترود اصلاح شده با غلظت‌های متفاوت از ۴-آمینوتیوفنول..... ۷۵
شکل ۴-۸ نتایج جریان‌های ولتاموگرام چرخه‌ای به دست آمده از گلوکز (۱۰۰ میکرو مولار) بر روی الکترود اصلاح شده با غلظت‌های متفاوت از ۴-آمینوتیوفنول ۷۶

شکل ۴-۹ نمودار جریان‌های ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده از پراکسید هیدروژن (۹ میلی مولار) بر روی الکترود اصلاح شده با پلی۴-آمینوتیوفنول با تعداد چرخه‌های پتانسیل مختلف ۷۸
شکل ۴-۱۰ ولتاموگرام چرخه‌ای فیلم پلی۴-آمینوتیوفنول روی سطح الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده و اصلاح شده با نانولوله‌های کربن چند دیواره.....۷۹
شکل ۴-۱۱ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌های کربن و پلی۴-آمینوتیوفنول، در محلول‌های بافر فسفات با pHهای متفاوت.....۸۰
شکل ۴-۱۲ نمودار پتانسیل برحسب pH برای پلیمر سنتز شده در محلول‌های بافر فسفات با pHهای متفاوت.....۸۰
شکل ۴-۱۳ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای ثبت شده الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با فیلم پلی۴-آمینوتیوفنول در سرعت‌های مختلف روبش.....۸۲
شکل ۴-۱۴ ولتاموگرام‌های چرخشی مربوط به تکرار ۵۰ بار روبش پتانسیل از الکترود اصلاح شده ۸۳
شکل ۴-۱۵ نمودار جریان‌های ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده از گلوکز بر روی الکترود اصلاح شده با مقادیر مختلف از گلوکز اکسیداز در ناحیه منفی پتانسیل ۰/۴۸۲- ولت.....۸۴
شکل ۴-۱۶ نمودار جریان‌های ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده از گلوکز بر روی الکترود اصلاح شده با مقادیر مختلف از گلوکز اکسیداز در ناحیه مثبت پتانسیل ۰/۲۲۲ ولت.....۸۵
شکل ۴-۱۷ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌های کربن چند دیواره و فیلم پلی۴- آمینوتیوفنول، آنزیم و گلوتارآلدهید در محلول‌های بافر فسفات با pH متفاوت.....۸۶
شکل ۴-۱۸ نمودار پتانسیل برحسب pH برای آنزیم تثبیت شده روی سطح الکترود در محلول‌های بافر فسفات با pH متفاوت.....۸۶
شکل ۴-۱۹ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌های کربن چند دیواره فیلم پلی۴- آمینوتیوفنول، آنزیم و گلوتارآلدهید در سرعت‌های روبش مختلف.....۸۸
شکل ۴-۲۰ نتایج جریان‌های ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده از گلوکز بر روی الکترود اصلاح شده با حجم‌های متفاوت از گلوتارآلدهید.....۹۰
شکل ۴-۲۱ ولتاموگرام چرخه‌ای الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌های کربن چند دیواره و فیلم پلی۴-آمینوتیوفنول، آنزیم و گلوتارآلدهید بدون تزریق هوا و با تزریق هوا.....۹۱
شکل ۴-۲۲ ولتاموگرام چرخه‌ای در حضور و عدم حضور گلوکز روی الکترود اصلاح نشده و اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره و اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره و پلی۴- آمینوتیوفنول در غیاب آنزیم.....۹۲ و ۹۳

شکل ۴-۲۳ ولتاموگرام چرخه‌ای پس از تثبیت آنزیم در حضور و عدم حضور گلوکز روی الکترود اصلاح نشده و اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره واصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره و پلی۴-آمینوتیوفنول ..... ۹۵ و ۹۶
شکل ۴-۲۴ ولتاموگرام چرخه‌ای ثبت شده الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره و پلی۴-آمینوتیوفنول و قرار دادن آنزیم و گلوتارآلدهید در غلظت‌های مختلف از گلوکز..... ۹۷
شکل ۴-۲۵ نمودار کاهش جریان در دماغه‌ی کاتدی آنزیم در ۰/۴۸- ولت نسبت به الکترود مرجع با افزایش غلظت گلوکز ۹۸
شکل ۴-۲۶ افزایش دماغه‌ی اکسایش گلوکز بر روی اکترود اصلاح شده در پتانسیل ۲۲۲/ ولت نسبت به الکترود مرجع ۹۹
شکل ۴-۲۷ نمودار لینویور- برک ۱۰۰
شکل ۴-۲۸ نمودار لینویور- برک برای اندازه‌گیری در پتانسیل ۰/۲۲ ولت نسبت به الکترود مرجع..... ۱۰۰
شکل ۴-۲۹ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود اصلاح شده در بافر فسفات در ۵۰ چرخه‌ی پی‌درپی در حضور گلوکز..... ۱۰۳
شکل ۴-۳۰ کاهش جریان ناشی از افزایش گلوکز بر روی الکترود اصلاح شده در طی ۱۴ روز ۱۰۴
شکل ۴-۳۱ پاسخ ولتاموگرام چرخه‌ای مربوط به غلظت ۵۰ میکرومولار دوپامین روی الکترود اصلاح شده با نانولوله کربنی و روی الکترود اصلاح شده با نانولوله کربنی و پلی۴-آمینوتیوفنول..... ۱۰۸ و ۱۰۹
شکل ۴-۳۲ پاسخ ولتاموگرام چرخه‌ای مربوط به غلظت ۱ میلی مولار آسکوربیک اسید روی الکترود اصلاح شده با نانولوله کربنی و روی الکترود اصلاح شده با نانولوله کربنی و پلی۴-آمینوتیوفنول ... ۱۰۹ و ۱۱۰
شکل ۴-۳۳ پاسخ ولتاموگرام چرخه‌ای مربوط به غلظت ۱ میلی مولار اوریک اسید روی الکترود اصلاح شده با نانولوله کربنی و روی الکترود اصلاح شده با نانولوله کربنی و پلی۴-آمینوتیوفنول..... ۱۱۱ و ۱۱۲
شکل ۴-۳۴ وابستگی پتانسیل پیک ولتاموگرام‌های چرخه‌ای دوپامین نسبت به pH..... ۱۱۳ و ۱۱۴
شکل ۴-۳۵ وابستگی پتانسیل پیک ولتاموگرام‌های چرخه‌ای اوریک اسید نسبت به pH..... ۱۱۵ و ۱۱۶
شکل ۴-۳۶ وابستگی پتانسیل پیک ولتاموگرام‌های چرخه‌ای آسکوربیک اسید نسبت به pH..... ۱۱۷ و ۱۱۸
شکل ۴-۳۷ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای و پالس تفاضلی برای غلظت‌های مختلف دوپامین..... ۱۲۱
شکل ۴-۳۸ افزایش دماغه‌ی اکسایش دوپامین بر روی الکترود اصلاح شده در پتانسیل ۰/۱۸ولت۰ ..... ۱۲۲
شکل ۴-۳۹ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای و پالس تفاضلی غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید..... ۱۲۲ و ۱۲۳
شکل ۴-۴۰ افزایش دماغه‌ی اکسایش آسکوربیک اسید بر روی الکترود اصلاح شده در پتانسیل ۰/۰۸۳ولت ۱۲۳

شکل ۴-۴۱ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای و پالس تفاضلی غلظت‌های مختلف اوریک اسید.....۱۲۴
شکل ۴-۴۲ افزایش دماغه‌ی اکسایش اوریک اسید بر روی الکترود اصلاح شده در پتانسیل۰/۲۴۲ ولت ...۱۲۵
شکل ۴-۴۳ ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به غلظت‌های مختلف دوپامین در حضور اوریک اسید...۱۲۶

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۴-۱ اندازه‌گیری غلظت گلوکز در نمونه‌ی سرم خون ۱.....۱۰۲
جدول ۴-۲ اندازه‌گیری غلظت گلوکز در نمونه‌ی سرم خون ۲.....۱۰۲
جدول ۴-۳ تعیین حد تحمل در اندازه‌گیری گلوکز.....۱۰۳
جدول ۴-۴ اندازه‌گیری غلظت دوپامین نمونه حاوی دوپامین تزریقی.....۱۲۷
جدول ۴-۵ استفاده از سرم به عنوان بافت طبیعی برای اندازه‌گیری اوریک اسید.....۱۲۸
جدول ۴-۶ اندازه‌گیری غلظت آسکوربیک اسید نمونه پرتقال.....۱۲۸
جدول ۴-۷ مقایسه‌ی ارقام شایستگی به دست آمده در کار حاضر با کارهای مشابه.....۱۲۹

چکیده

در این پژوهش، مطالعه‌ی گسترده‌ای بر روی تثبیت فیزیکی آنزیم گلوکز اکسیداز بر روی الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌ی کربنی چنددیواره و پلی۴-آمینوتیوفنول انجام شده است. الکترود کربن شیشه‌ای/ نانولوله‌ی کربنی چنددیواره/پلی۴-آمینوتیوفنول/آنزیم گلوکزاکسیداز/ گلوتارآلدهید به‌عنوان حس-گر زیستی در دنبال کردن گلوکز به روش ولتامتری چرخه‌ای استفاده شد. این پژوهش در سه قسمت صورت گرفت. پس از به‌دست آوردن شرایط بهینه، بررسی‌های کمی برای به‌دست آوردن ارقام شایستگی انجام شد.

در بخش اول، انتقال الکترون مستقیم آنزیم دنبال شد که در این قسمت یک دماغه‌ی برگشت پذیر با پتانسیل فرمال ۰/۴۴۸- ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl در بافر فسفات pH = ۷ مشاهده می‌شود. با اشباع کردن محلول از هوا به‌علت اثر الکتروکاتالیزوری آنزیم برای کاهش اکسیژن محلول در این سیستم، دماغه‌ی کاهشی آنزیم به‌شدت بزرگ و دماغه‌ی اکسایش آن کوچک می‌شود. با افزایش گلوکز و کم شدن جریان دماغه‌ی کاتدی، رابطه‌ی خطی خوبی بین غلظت گلوکز و کاهش جریان کاتدی به‌دست آمد. این روش حساسیت ۰/۰۲۱ μA/μM رنج خطی ۱۰تا ۴۵۰ میکرو مولار و با ضریب هم‌بستگی ۰/۹۹۶ و حد تشخیص ۴/۸ میکرومولار را داراست. مطالعه‌های انجام شده در اثر سرعت روبش پتانسیل روی پیک آنزیم نشان‌دهنده‌ی کنترل سطحی فرآیند است. ضریب انتقال الکترون ۴۷/ ۰و ثابت انتقال الکترون $3/2\ s^{-1}$ از دیگر ویژگی‌های قابل توجه کار حاضر به‌شمار می‌روند که نشان دهنده‌ی انتقال الکترون آسان در این سیستم است. در این بخش، ثابت میکائیلیس-منتن ۴۹/۸۲ میکرومولار محاسبه شد.

اکسایش پراکسید هیدروژن حاصل از فرآیند الکتروکاتالیتیکی گلوکز بر روی این الکترود اصلاح شده در پتانسیل ۰/۲۲۲ ولت صورت می‌گیرد. در این قسمت نیز حساسیت ۰/۰۱۷ μA/mM و حدتشخیص ۳/۴۵ میکرومولار در رنج خطی گستره‌ی ۱۰تا ۲۰۰ میکرومولار نسبت به گلوکز (با ضریب هم‌بستگی ۰/۹۹۶). به‌دست آمد. همچنین حساسیت این الکترود ۰/۰۰۴ μA/mMدر محدوده خطی ۲۵۰- ۴۰۰ میکرومولار و حدتشخیص ۱۴/۶۶ میکرو مولار به دست آمد.

دربخش دوم کار حاضر شامل اندازه‌گیری آسکوربیک اسید، دوپامین و اسید اوریک بر روی الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌ی کربنی چنددیواره و پلی۴-آمینوتیوفنول است. اکسایش الکتروکاتالیتیکی دوپامین و اسید اوریک (در محلول بافری با pH معادل ۷) با استفاده از الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده، در ولتاژ پایینی به ترتیب در حدود پتانسیل ۰/۱۸۰ و ۰/۲۴۲ ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl اتفاق می‌افتد. فعالیت الکتروکاتالیزوری الکترود اصلاح شده باعث شد که پتانسیل اکسایش دو گونه‌ی دوپامین و اسید اوریک از یکدیگر جدا شود و امکان اندازه‌گیری همزمان این دو گونه را فراهم کند. الکترود اصلاح شده حساسیت خیلی خوبی در اندازه‌گیری هر کدام از این گونه‌های الکتروفعال با گستره‌ی خطی ۰/۵تا ۷ میلی-مولار، ۱۰ تا ۵۰۰ میکرومولار و ۵/ ۰تا ۵/۵ میلی‌مولار به ترتیب برای آسکوربیک اسید، دوپامین و اسید اوریک از خود نشان می‌دهد. حد تشخیص‌های بدست آمده برای آن‌ها نیز به ترتیب برابر با ۰/۲۷ میلی‌مولار ،۳۱/۷۳ میکرومولار و ۰/۲۹۸ میلی‌مولار است. همچنین کارایی سیستم ارائه شده توسط آنالیز نمونه حقیقی بررسی شد. با توجه به نتایج بدست آمده در این بخش، کار انجام شده یک روش ساده و راحت برای انداره-گیری این سه گونه ارائه می‌دهد.

فصل اول

مقدمه

۱-۱ مقدمه‌ای بر الکتروشیمی

شیمی تجزیه، دانش ابداع و اصلاح روش‌های شناسایی و اندازه‌گیری مواد با بهره‌گیری از اصول و قوانین شیمیایی و فیزیکی است و الکتروشیمی تجزیه، شاخه‌ای از این مجموعهٔ وسیع است که راههای تجزیه‌ای مبتنی بر فرآیندهای الکتروشیمیایی را مورد بررسی قرار می‌دهد.گزینش‌پذیری واکنش‌های الکتروشیمیایی و دقت بالایی که با آن می‌توان پارامترهای مرتبط با این واکنش‌ها را اندازه گرفت، روش-های الکتروشیمیایی تجزیه را در ردیف حساس‌ترین و انتخابی‌ترین روش‌های تجزیه‌ای تشخیص و تعیین مقدار قرار می‌دهد. یکی از ویژگیهای کم‌نظیر روش‌های الکتروشیمیایی تجزیه، گستردگی دامنهٔ کارایی آنهاست، بطوریکه علاوه بر امکان کاربرد آنها بصورت روش‌های مستقل، می‌توان از آنها برای آشکارسازی نتایج بسیاری از پدیده‌های فیزیکی و شیمیایی استفاده کرد. در حال حاضر محدودهٔ الکتروشیمی تجزیه از معدود روش‌های کلاسیک نظیر پتانسیومتری، آمپرومتری، پلاروگرافی، هدایت‌سنجی و ترسیب الکتریکی فراتر رفته و روش‌های جدیدتری که ثمرهٔ تلفیق اطلاعات الکتروشیمیایی با تکنولوژی مدرن الکترونیک است به‌میان آمده‌اند. تمام واکنشهای شیمیایی، اساسا ماهیت الکتریکی دارند، زیرا الکترونها در تمام انواع پیوندهای شیمیایی به راههای گوناگون دخالت دارند. اما الکتروشیمی بیش از هر چیز به بررسی پدیده‌های اکسایش -کاهش می‌پردازد. روابط بین تغییر شیمیایی و انرژی الکتریکی، هم از لحاظ نظری و هم از لحاظ عملی حائز اهمیت است.از واکنشهای شیمیایی می‌توان برای تولید انرژی الکتریکی استفاده کرد (در سلولهایی که سلولهای ولتایی یا سلولهای گالوانی نامیده می‌شوند) و انرژی الکتریکی را می‌توان برای تبادلات شیمیایی بکار برد (در سلولهای الکترولیتی). علاوه بر این، مطالعه فرآیندهایی الکتروشیمیایی منجر به فهم و تنظیم قواعد آنگونه از پدیده‌های اکسایش- کاهش که خارج از اینگونه سلولها روی می‌دهند، نیز می‌شود.

پیشرفت‌های انجام شده در بین سالهای ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۰ شامل توسعه‌ی الکترودهای بسیار ریز، طراحی سطح‌های تماس مناسب و تک لایه‌های مولکولی، تلفیق اجزاء زیستی با انتقال دهنده‌های

الکتروشیمیایی و غیره است که باعث افزایش قابل توجه در فراگیر شدن روش‌های الکتروشیمیایی تجزیه و گسترش آن در قلمروهای جدید مانند حس‌گرهای شیمیایی شده است [۱].

۱-۲ حسگرها[1] و انواع آنها

اندازه‌گیری گونه‌های مهم شیمیایی و زیستی یکی از هدف‌های اساسی علوم تجزیه‌ایی از گذشته تا کنون بوده است. از آنجایی که در بسیاری از موارد گونه مورد نظر در محیط‌های بسیار پیچیده وجود دارد، لذا نیاز به روش‌هایی است که بدون نیاز به مراحل وقت‌گیر و هزینه‌بر جداسازی،گونه مورد نظر را بصورت انتخابی[2] اندازه‌گیری کنند، ضمن اینکه از حساسیت[3] بسیار زیادی نیز برخوردار باشد. حسگرها، ابزارهایی هستند که در چند دهه اخیر مورد توجه دانشمندان تجزیه قرار گرفتند. می‌توان یک حسگر را بعنوان یک آشکار ساز[4] برای اندازه‌گیری مستقیم غلظت گونه مورد نظر تعریف نمود. حسگرهای شیمیایی و یا زیست شیمیایی از یک مبدل پوشیده شده با لایه‌ایی از ماده تشخیص دهنده[5] شیمیایی (یا زیستی) ساخته شده است. لایه مورد اشاره با گونه مورد نظر واکنش داده و تغییرات ناشی از این بر هم کنش توسط مبدل به پاسخ‌های کمی الکتریکی، نوری ،جرم یا حرارتی تبدیل می‌شوند [۲].

حسگرهای الکتروشیمیایی دسته مهمی از حسگرهای شیمیایی می‌باشند که در ساختار آنها یک الکترود به عنوان مبدل مورد استفاده قرار می‌گیرد و در نتیجه یک برهم کنش الکتروشیمیایی، پاسخی الکتریکی متناسب با غلظت گونه مورد نظر تولید می‌کند. این ابزارها طوری طراحی می شوند که می-توانند به گونه مورد نظر دریکی از فازهای جامد، مایع و گاز پاسخ دهند. چنین ابزارهایی در حال حاضر از موقعیت برجسته ای در میان سنسورهای موجود، برخوردارند و به مرحله تجاری رسیده و گستره وسیعی

[1] sensor
[2] selective
[3] sensitivity
[4] transducer
[5] recognizer

از کاربردهای مهم در زمینه تجزیه‌های بالینی، صنعتی، زیست محیطی، کشاورزی و آشکارسازهای کروماتوگرافی مایع باکارایی بالا و لوله‌موئینی[6] الکتروفورز را پیدا کرده است [۳].

حسگرهای الکتروشیمیایی به سه دسته تقسیم می شوند:

- حسگرهای پتانسیومتری
- حسگرهای آمپرومتری
- حسگرهای هدایت سنجی

حسگرهای پتانسیومتری گسترده‌ترین گروه حسگرهای الکتروشیمیایی هستند. آنها ابزاری هستند که پتانسیل خوانده شده توسط آنها به طور خطی با لگاریتم فعالیت یون مورد اندازه‌گیری در محلول رابطه دارد. این دسته از سنسورها بسیار ارزان و ساده می باشند و از اوایل دهه۱۹۳۰بطور کاربردی مورد استفاده قرار گرفتند. این حسگرها به چهارگروه تقسیم می شوند که هریک مکانیسم عمل متفاوتی دارند:

- الکترودهای یون گزین(ISE)[7]
- الکترودهای سیم روکش دار (CWE)[8]
- الکترودهای حالت جامد
- ترانزیستور با اثر میدان (FET) [9]

الکترودهای یون گزین یا ISEs مهمترین و کاربردی ترین گروه از این دسته هستند. الکترودهای سیم روکش دار، از روکش دادن مستقیم یک لایه پلیمری مناسب حاوی ماده فعال برروی یک هادی تهیه می شوند. هادی می تواند فلزاتی نظیر پلاتین، طلا، مس یا میله گرافیت باشد. حذف محلول داخلی باعث ایجاد مزایای جدیدی گشته است. ترانزیستور با اثرمیدان یک ابزار جامد است که امپدانس ورودی بالا و امپدانس

[6] capillary
[7] Ion-selective electrode
[8] Wire carbon electrode
[9] Field effect transistors