بسم الله الرحمن الرحیم

بسمه تعالی

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم پایه

# تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای /خانم **هژیرتیموریان** رساله ۲۴ واحدی خود را باعنوان: « **طراحی وساخت الکترودهای اصلاح شده با نانو کامپوزیتهای مغناطیسی برای تثبیت آنزیمها و مولکولهای فعال زیستی وکاربرد آنها در تسریع فرایندهای انتقال الکترون وساخت زیست حسگرها** »در تاریخ **۹۰/۱۲/۲۰** ارائه کردند.اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می کند.

| اعضای هیأت داوران | نام و نام خانوادگی | رتبه علمی | امضاء |
|---|---|---|---|
| ۱- استاد راهنما | دکتر عبد اله سلیمی | استاد | |
| ۲- استاد ناظرداخلی | دکتر یداله یمینی | استاد | |
| ۳- استاد ناظر داخلی | دکتر میر فضل اله موسوی | استاد | |
| ٤-استاد ناظر خارجی | دکتر پرویز نوروزی | استاد | |
| ٥- استاد ناظر خارجی | دکتر علیرضا فخاری | استاد | |
| ٦- نماینده تحصیلات تکمیلی | دکتر یداله یمینی | استاد | |

## آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه،دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل رساله دکتری نگارنده در رشته **شیمی تجزیه** است که در سال **۱۳۹۰** در دانشکده **علوم پایه** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر **عبدالله سلیمی** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ٤: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ٥: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ٤ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ٦: اینجانب **هژیر تیموریان** دانشجوی رشته **شیمی تجزیه** مقطع **دکتری** تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: **هژیر تیموریان**

تاریخ و امضا: **۱۳۹۱/۲/۲**

## آیین‌نامه حق مالکیت مادي و معنوي در مورد نتایج پژوهشهاي علمي دانشگاه تربیت مدرس

**مقدمه:** با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ٥- این آیین‌نامه در ٥ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب هژیر تیموریان دانشجوی رشته شیمی ورودی سال تحصیلی ۱۳۸۵ مقطع دکتری دانشکده علوم پایه متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا:

تاریخ: ۱۳۹۱/۲/۲

**دانشگاه تربیت مدرّس**

دانشکده علوم پایه

رساله دکتری شیمی (تجزیه)

**عنوان**

# طراحی و ساخت الکترودهای اصلاح شده با نانو کامپوزیتهای مغناطیسی برای تثبیت آنزیمها و کاربرد آنها در ساخت زیست حسگرها

نگارش:

**هژیر تیموریان**

استاد راهنما:

**دکتر عبداله سلیمی**

اسفند ۱۳۹۰

## چکیده

در قسمت اول تحقیق، الکترود کربن شیشه‌ای (GC) اصلاح شده با نانوکامپوزیت نانولوله‌های کربن چنددیواره / مایع یونی N - بوتیل- N- متیل- پیرولیدینیم- بیس (تری فلوئورو متیل سولفونیل) ایمید $[C_4mpyr][NTf_2]$ (MWCNTs/IL) بعنوان بستری عالی جهت تثبیت الکتروشیمیایی محصولات اکسایش $NAD^+$ (Ox-P($NAD^+$)) بکار گرفته شده است. نتایج ولتامتری چرخه‌ای حاکی از توانایی الکترود GC اصلاح شده با MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$) جهت کاتالیز اکسایش NADH در پتانسیل بسیار پایین (۰/۰۵ V نسبت به Ag/AgCl) و در نتیجه مقدار کاهش قابل توجهی در اضافه ولتاژ (حدود ۶۰۰ mV) در قیاس با الکترود GC اصلاح نشده بود. نتایج بدست آمده در تعیین آمپرومتری NADH با این الکترود اصلاح شده نشان از حساسیت بالای حسگر با حد تشخیص بسیار پایین (۲۰ nM)، پتانسیل اعمال شده کم (۰/۰۵ V) در گستره غلظتی تا µM ۴۲ و حداقل آلودگی سطح الکترود داشتند. با استفاده از آنزیم الکل دهیدروژناز (ADH) بعنوان آنزیم مدل، امکان اندازه‌گیری اتانول توسط سیستم پیشنهاد شده تست گردید. نتایج نشان دادند که پاسخ زیست‌حسگر به‌طور خطی با افزایش غلظت اتانول در دو گستره غلظتی شامل µM ۶۰-۵ و µM ۹۰۰-۶۰ افزایش پیدا می‌کند. همچنین زیست‌حسگر اتانول دارای حد تشخیص کم (µM ۰/۵) و زمان پاسخ سریع s ۱۰ بود.

در قسمت دوم این رساله، از یک روش هم‌رسوبی ساده جهت تولید درمحل نانوذرات مغناطیسی $Fe_3O_4$ بر روی نانولوله‌های کربنی چنددیواره (MWCNTs) استفاده شد. نتایج ولتامتری چرخه‌ای حاکی از توانایی بالای الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWCNTs جهت کاتالیز اکسایش NADH در پتانسیل بسیار کم (۰/۰ mV بر حسب Ag/AgCl) و در نتیجه کاهش قابل ملاحظه‌ای در اضافه ولتاژ (۶۵۰ mV) در مقایسه با الکترود GC اصلاح نشده بود. جریان حاصل از اکسایش

کاتالیزوری امکان تعیین آمپرومتری NADH در پتانسیل اعمال شده پایین ۰/۰ mV (Ag/AgCl) با حد تشخیص ۰/۳ µM و گستره پاسخ خطی تا حد ۳۰۰ µM را فراهم نمود. تعیین لاکتات با استفاده از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی (DPV) بر روی الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWCNT/LDH/$NAD^+$، منجر به پاسخهای خطی در گستره غلظتی ۵۰۰-۵۰ µM با حد تشخیص ۵ µM و حساسیت ۷/۶۷ µA $mM^{-1}$ گردید.

در قسمت سوم رساله حاضر، نانوکامپوزیت نانوذرات مغناطیسی $Fe_3O_4$/نانوورقه‌های گرافن اکسید کاهیده (r-GO) ($Fe_3O_4$/r-GO) سنتز شده و پس از اصلاح الکترود کربن شیشه‌ای با آن، کاربرد الکترود حاصله بعنوان سیستمی جدید در ساخت و طراحی حسگرها و زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی گزارش گردیده است. کارایی بالقوه سیستم الکتروشیمیایی $Fe_3O_4$/r-GO/GC با استفاده از انواع مختلفی از ترکیبات الکتروفعال مهم معدنی و آلی مورد بررسی قرار گرفت. این ترکیبات دربرگیرنده مولکولهای مرتبط به سیستمهای اکسیداز/دهیدروژناز (NADH/$H_2O_2$)، چهار باز آزاد DNA (گوانین (G)، آدنین (A)، تیمین (T) و سیتوزین (C))، ایمونوگلوبولین E (IgE) بعنوان یک پروتئین مدل هدف و نیتریت بعنوان یک آنالیت مهم معدنی بودند. مطالعات الکتروشیمیایی نشان دادند که الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC از فعالیت الکتروکاتالیزوری عالی در اکسایش NADH در پتانسیل کوچک ۰/۰۵ V (برحسب SCE) و همچنین کاهش کاتالیزوری $O_2$ و $H_2O_2$ برخوردار است. با تثبیت لاکتات دهیدروژناز (LDH) یا گلوکز اکسیداز (GOx) بعنوان آنزیمهای مدل اکسیداز/دهیدروژناز بر روی الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC، قابلیت الکترود اصلاح شده در اندازه‌گیری گلوکز و لاکتات به خوبی اثبات گردید. بعلاوه با بکارگیری ولتامتری پالس تفاضلی (DPV) برای بررسی رفتار اکسایش الکتروشیمیایی چهار باز آزاد DNA در الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC معلوم گردید که الکترود اصلاح شده فعالیت الکتروکاتالیزوری بالایی برای تعیین همزمان این بازها دارا بوده و جدایی پیک مربوط به بازهای مورد نظر قابل توجه می‌باشد. علاوه بر این یک

روش طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) بدون نشانه برای اندازه‌گیری IgE بر پایه الکترود اصلاح شده $Fe_3O_4$/r-GO/GC گزارش شد که اساس آن، اندازه‌گیری تغییرات امپدانس مربوط به میزان اتصال IgE به آپتامرهای تثبیت شده بر سطح الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC بود. از تکنیک EIS همچنین جهت مطالعه فرایندهای تثبیت و هیبریدیزاسیون DNA استفاده شده و بر همین اساس، روشی با قابلیت بالا جهت اندازه‌گیری بدون نشانه فرایند هیبریدیزاسیون DNA گزارش شد. در نهایت بر پایه فعالیت الکتروکاتالیزوری بسیار قوی الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC هم برای اکسایش و هم کاهش نیتریت، یک حسگر آمپرومتری با حساسیت بالا در اندازه‌گیری نیتریت پیشنهاد گردید.

**کلمات کلیدی**: نانوذرات مغناطیسی، نانوکامپوزیت، اکسید آهن، نانولوله‌های کربنی، گرافن، اکسایش الکتروکاتالیزوری، دی‌هیدرونیکوتین‌آمیدآدنین‌دی‌نوکلئوتید، آنزیمهای دهیدروژناز، زیست-حسگر، اتانول، لاکتات، DNA، IgE.

## فهرست مطالب:


**۱- فصل اول: مقدمه ..... ۱**

**۱-۱- انواع نانوزیست‌حسگرها ..... ۴**

۱-۱-۱- زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی ..... ۴

الف) زیست‌حسگرهای آمپرومتری ..... ۵

ب) زیست‌حسگرهای پتانسیومتری ..... ۵

ج) زیست‌حسگرهای هدایت‌سنجی ..... ۶

۱-۱-۲- زیست‌حسگرهای گرمایی‌سنجی ..... ۷

۱-۱-۳- زیست‌حسگرهای نوری ..... ۷

۱-۱-۴- زیست‌حسگرهای پیزوالکتریک ..... ۸

**۱-۲- ساخت زیست‌حسگرها ..... ۸**

۱-۲-۱- تثبیت زیست‌مولکول‌ها ..... ۸

۱-۲-۲- اتصال زیست‌مولکول‌ها با نانومواد ..... ۱۲

**۱-۳- نانوذرات مغناطیسی ..... ۱۳**

۱-۳-۱- سنتز نانوذرات مغناطیسی ..... ۱۵

الف) روش همرسوبی ..... ۱۵

ب) تجزیه حرارتی ..... ۱۶

ج) میکرو امولسیون ..... ۱۷

د) سنتز هیدروترمال ..... ۱۸

۱-۳-۲- محافظت/پایدارسازی نانوذرات مغناطیسی ..... ۱۹

۱-۳-۳- کاربرد نانوذرات مغناطیسی در طراحی و توسعه سیستم‌های الکتروکاتالیزوری زیستی ..... ۲۱

۱-۴- نانولوله‌های کربنی ..... ۳۰

الف) نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره (SWCNT) ..... ۳۰

ب) نانولوله‌های کربنی چند دیواره (MWCNT) ..... ۳۰

۱-۴-۱- حسگرهای الکتروشیمیایی بر پایه نانولوله‌های کربنی ..... ۳۰
۱-۴-۲- بیوالکتروشیمی برپایه نانولوله‌های کربن ..... ۳۵
۱-۴-۳- زیست‌حسگرهای بر پایه نانولوله‌های کربن ..... ۳۶
**۱-۵- کاربرد گرافن در ساخت حسگرها و زیست‌حسگرها ..... ۳۷**
۱-۵-۱- سنتز گرافن ..... ۳۹
۱-۵-۲- خواص الکتروشیمیایی ..... ۴۰
۱-۵-۳- کاربرد در ساخت حسگرها و زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی ..... ۴۲
الف) حسگرهای الکتروشیمیایی ..... ۴۲
ب) زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی ..... ۵۱
ج) کاربرد گرافن پوشش داده شده با نانوذرات در اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی ..... ۵۴
**۱-۶- زیست حسگرهای بر پایه NAD(P) ..... ۵۸**
۱-۶-۱- الکتروشیمی $NAD(P)^+$/NAD(P)H ..... ۶۳
الف) اکسایش الکتروشیمیایی مستقیم NAD(P)H ..... ۶۳
ب) مشاهدات کلی ..... ۶۳
ج) تأثیر جذب سطحی ..... ۶۴
د) مکانیسم و سینتیک ..... ۶۵
ه) مشکلات ناشی از مقدار پایین $E^{o\square}$ جهت کاربردهای کمی ..... ۷۲
۱-۶-۲- حدواسط‌های انتقال الکترون جهت اکسایش الکتروکاتالیزوری NAD(P)H ..... ۷۲
۱-۶-۳- سایر حدواسط‌های انتقال الکترون ..... ۸۲
**فصل دوم: ساخت زیست‌حسگر اتانول با حساسیت و گزینش‌پذیری بالا بر پایه تثبیت الکتروشیمیایی محصول اکسایش $NAD^+$ بر روی نانوکامپوزیت نانولوله‌های کربن چنددیواره/مایع یونی ..... ۸۷**
**۲-۱- مقدمه و تاریخچه ..... ۸۸**
**۲-۲- بخش تجربی ..... ۹۱**

۲-۲-۱- واکنشگرهای مورد استفاده ..... ۹۱
۲-۲-۲- دستگاه‌ها و وسایل بکار رفته ..... ۹۲
۲-۲-۳- تهیه الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ($MWNTs/IL/Ox-P(NAD^+)$ ..... ۹۲
۲-۲-۴- روش کار مورد استفاده در زیست‌حسگر اتانول و آنالیز نمونه حقیقی ..... ۹۳

**۲-۳- بحث و نتیجه‌گیری ..... ۹۴**

۲-۳-۱- تعیین خواص و ویژگی‌های الکتروشیمیایی الکترود GC اصلاح شده با ($MWCNT/IL/Ox-P(NAD^+)$ ..... ۹۴
۲-۳-۲- اکسایش الکتروکاتالیزوری NADH بر روی الکترود GC اصلاح شده با ($MWCNTs/IL/Ox-P(NAD^+)$ ..... ۱۰۲
۲-۳-۳- تعیین اتانول با زیست‌حسگر GC اصلاح شده با ($MWCNTs/IL/Ox-P(NAD^+)$ ..... ۱۰۸
۲-۳-۴- بررسی اثر ترکیبات مزاحم بر روی پاسخ زیست‌حسگر اتانول و آنالیز نمونه حقیقی ..... ۱۱۲

**۲-۴- نتیجه‌گیری ..... ۱۱۵**

**فصل سوم: تعیین الکتروکاتالیزوری NADH بر پایه کامپوزیت نانوذرات $FE_3O_4$ / نانولوله-های کربنی چنددیواره و ساخت زیست‌حسگر مجتمع لاکتات ..... ۱۱۷**

**۳-۱- مقدمه و تاریخچه ..... ۱۱۸**

**۳-۲- بخش تجربی ..... ۱۲۰**

۳-۲-۱- واکنشگرهای مورد استفاده ..... ۱۲۰
۳-۲-۲- دستگاه‌ها و وسایل بکار رفته ..... ۱۲۱
۳-۲-۳- تهیه الکترود GC اصلاح شده با نانوکامپوزیت $Fe_3O_4/MWCNTs$ ..... ۱۲۲
۳-۲-۴- تهیه الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4/MWCNT/LDH/NAD^+$ ..... ۱۲۳
۳-۲-۵- اساس کار در زیست‌حسگر لاکتات و آنالیز نمونه‌های سرم خون ..... ۱۲۴

**۳-۳- بحث و نتیجه‌گیری ..... ۱۲۶**

۳-۳-۱- تعیین خواص الکترودهای GC اصلاح شده با $Fe_3O_4/MWCNTs$ و $Fe_3O_4/MWCNTs/LDH/NAD^+$ ..... ۱۲۶
۳-۳-۲- رفتار الکتروشیمیایی الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4/MWCNTs$ ..... ۱۲۸

۳-۳-۳- اکسایش الکتروکاتالیزوری NADH بر روی الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWCNTs ..... ۱۳۲

۳-۳-۴- اندازه‌گیری لاکتات با زیست‌حسگر الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWCNTs/LDH/$NAD^+$..... ۱۴۱

**۳-۴- نتیجه‌گیری ..... ۱۴۴**

**فصل چهارم: معرفی کامپوزیت نانوذرات مغناطیسی $FE_3O_4$/نانوورقه‌های گرافن اکسید کاهیده (R-GO) به عنوان سیستمی جدید در طراحی و ساخت حسگرها و زیست-حسگرهای الکتروشیمیایی ..... ۱۴۶**

**۴-۱- مقدمه و تاریخچه ..... ۱۴۷**

**۴-۲- بخش تجربی ..... ۱۵۰**

۴-۲-۱- واکنشگرهای مورد استفاده ..... ۱۵۰

۴-۲-۲- دستگاه‌ها و وسایل بکار رفته ..... ۱۵۲

۴-۲-۳- تهیه r-GO و $Fe_3O_4$/r-GO ..... ۱۵۳

۴-۲-۴- تهیه و اصلاح الکترود ..... ۱۵۴

**۴-۳- بحث و نتیجه‌گیری ..... ۱۵۵**

۴-۳-۱- تعیین خواص نانوکامپوزیت $Fe_3O_4$/r-GO ..... ۱۵۵

۴-۳-۲- الکتروکاتالیز $O_2$ و $H_2O_2$ در الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC ..... ۱۵۸

۴-۳-۳- الکتروشیمی مستقیم گلوکز اکسیداز و اندازه‌گیری گلوکز در الکترود GOx/$Fe_3O_4$/r-GO/GC ..... ۱۶۵

۴-۳-۴- الکتروکاتالیز NADH و تعیین لاکتات ..... ۱۷۱

۴-۳-۵- رفتار الکتروشیمیایی بازهای آزاد DNA در الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC ..... ۱۷۶

۴-۳-۶- بکارگیری الکترود اصلاح شده با $Fe_3O_4$/r-GO در ساخت آپتاحسگر IgE بر پایه طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) ..... ۱۷۹

۴-۳-۷- مطالعه فرایند هیبریدیزاسیون DNA در الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC و ساخت حسگر حساس برای آنالیز DNA بر پایه روش طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) ..... ۱۸۴

۴-۳-۸- تعیین الکتروکاتالیزوری نیتریت در الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC ..... ۱۸۷

۴-۴- نتیجه‌گیری ..... ۱۸۹

منابع و مراجع: ..... ۱۹۱

## فهرست شکل‌ها


شکل ۱-۱- شمای یک زیست‌حسگر..... ۳

شکل ۱-۲- (بالا) : تصاویر TEM نانوکریستال‌های مغناطیسی..... ۲۰

شکل ۱-۳- شمای فرایند ساخت ایمنی‌حسگر (a) قرار دادن غشای هیدروژل ذرات نانوی طلا-چیتوسان..... ۲۴

شکل ۱-۴- عملکرد یک حسگر گلوکز بر اساس نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره..... ۳۲

شکل ۱-۵- ولتامتری چرخه‌ای $10^{-3}$ M آسکوربیک اسید (A)، $10^{-3}$ M اوریک اسید (B)..... ۳۴

شکل ۱-۶- انواع نقایص موجود در نانولوله‌های کربن تک‌دیواره..... ۳۶

شکل ۱-۷- انواع مختلف کربن با آرایش الکترونی $sp^2$ ..... ۳۷

شکل ۱-۸- بکارگیری GNPs در حسگرهای الکتروشیمیایی..... ۴۴

شکل ۱-۹- کاربرد گرافن در اندازه‌گیری‌های محیطی..... ۴۶

شکل ۱-۱۰- جذب سطحی نیکوتین‌آدنین بر روی ورقه‌های گرافن..... ۴۸

شکل ۱-۱۱- عملکرد بهتر SGNFs در قیاس با نانولوله‌های کربنی و گرافیت در تعیین بازهای آزاد DNA..... ۵۰

شکل ۱-۱۲- القای ارتباط الکتریکی پروتئین‌ها توسط گرافن..... ۵۲

شکل ۱-۱۳- تثبیت GOx به عنوان آنزیم مدل بر روی SGNFs و SWCNTs..... ۵۴

شکل ۱-۱۴- بکارگیری ورقه‌های گرافنی با پوششی از نانوذرات در الکتروشیمی..... ۵۵

شکل ۱-۱۵- کاربرد گرافن پوشش‌دار شده با نانوذرات در زیست‌حسگرهای آنزیمی..... ۵۷

شکل ۱-۱۶- فرمول ساختاری ترکیب فعال آنزیمی ۱و٤-NADH..... ۵۹

شکل ۱-۱۷- مسیرهای محتمل در الکتروشیمی زوج ردوکس $NADH/NAD^+$..... ۶۹

شکل ۱-۱۸- مسیر انتقال پروتون در اکسایش NADH..... ۷۰

شکل ۱-۱۹- نمایش شماتیک سیستم‌های ردوکس اکسیژن سطحی..... ۷۱

شکل ۱-۲۰- مکانیسم غیرفعالسازی پیشنهاد شده برای واکنش یک حدواسط جذب سطحی شده..... ۷۵

شکل ۱-۲۱- فرمول‌های ساختاری تعدادی از حدواسط‌های معمول برای اکسایش کاتالیزوری NADH..... ۷۶
شکل ۱-۲۲- رقابت سینتیکی اکسایش NAD(P)H توسط حدواسط (M)..... ۷۷
شکل ۱-۲۳- برهم‌کنش یون‌های $Ca^{+2}$ اضافه شده با حدواسط PQQ..... ۸۱
شکل ۱-۲۴- فرمول ساختاری ۲و۴و۷-تری‌نیترو-۹-فلوئورنون (A)..... ۸۴
شکل ۲-۱- نمای شماتیک واکنش‌های الکتروکاتالیزوری درگیر در زیست‌حسگر اتانول..... ۹۴
شکل ۲-۲- (چپ): تصویر SEM نانولوله‌های کربنی چنددیواره؛ (راست): تصویر SEM نانوکامپوزیت..... ۹۵
شکل ۲-۳- اولین و دومین ولتاموگرام چرخه‌ای به دست آمده با الکترود GC اصلاح شده..... ۹۵
شکل ۲-۴- اولین و آخرین ولتاموگرام چرخه‌ای در طی اجرای ۲۵۰ چرخه متوالی..... ۹۶
شکل ۲-۵- شمای اکسایش الکتروشیمیایی بخش آدنینی در مولکول $NAD^+$..... ۹۸
شکل ۲-۶- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود GC اصلاح شده با (MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$)..... ۱۰۱
شکل ۲-۷- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود GC اصلاح شده با (MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$)..... ۱۰۲
شکل ۲-۸- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترودهای GC اصلاح شده با MWCNTs..... ۱۰۳
شکل ۲-۹- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود GC اصلاح شده با (MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$)..... ۱۰۴
شکل ۲-۱۰- (A) پاسخ آمپرومتری الکترود GC اصلاح شده با (MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$)..... ۱۰۶
شکل ۲-۱۱- پاسخ آمپرومتری ۲۰ µM از NADH در مدت ۱۸۰۰ s در محلول PBS ۰/۱ M..... ۱۰۷
شکل ۲-۱۲- وابستگی پاسخ الکترود GC اصلاح شده با (MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$)..... ۱۰۸
شکل ۲-۱۳- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود GC اصلاح شده با (MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$) در PBS..... ۱۰۹
شکل ۲-۱۴- پاسخ کرونوآمپرومتری الکترود GC اصلاح شده با (MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$) در ۱ mM..... ۱۱۱
شکل ۲-۱۵- وابستگی پاسخ الکترود GC اصلاح شده با (MWCNTs/IL/Ox-P($NAD^+$) در غلظت ۲۰ µM..... ۱۱۲
شکل ۲-۱۶- پاسخ آمپرومتری الکترود GC اصلاح شده با نانوکامپوزیت..... ۱۱۴
شکل ۳-۱- نمایش شماتیک (a) ساخت الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWNTs/LDH/$NAD^+$..... ۱۲۵

شکل ۳-۲- تصاویر TEM (a) MWCNTs و (b) نانوکامپوزیت $Fe_3O_4$/MWNTs.....۱۲۶
شکل ۳-۳- طیف FTIR (a) MWCNTs و (b) نانوکامپوزیت $Fe_3O_4$/MWNTs.....۱۲۷
شکل ۳-۴- نمودارهای AGFM دمای اتاق (a) MWCNTs، (b) $Fe_3O_4$/MWCNTs و (c) $Fe_3O_4$.....۱۲۸
شکل ۳-۵- پاسخ‌های ولتامتری چرخه‌ای الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWNTs در ۰/۱ M.....۱۲۹
شکل ۳-۶- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترودهای (a) GC اصلاح نشده.....۱۳۰
شکل ۳-۷- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWCNTs.....۱۳۳
شکل ۳-۸- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWCNTs.....۱۳۴
شکل ۳-۹- پاسخ کرونوآمپرومتری الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWNTs.....۱۳۶
شکل ۳-۱۰- اثر pH محلول بر روی پاسخ جریان آمپرومتری برای ۲۰ µM از NADH.....۱۳۷
شکل ۳-۱۱- پاسخ آمپرومتری الکترود GC اصلاح شده با نانوکامپوزیت $Fe_3O_4$/MWNTs در ۰/۱ M PBS .....۱۳۸
شکل ۳-۱۲- پاسخ آمپرومتری ۵۰ µM از NADH در مدت ۲۰۰۰ s در محلول ۰/۱ M.....۱۳۹
شکل ۳-۱۳- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWCNTs/LDH/$NAD^+$ در ۰/۱ M.....۱۴۲
شکل ۳-۱۴- ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی الکترود GC اصلاح شده با $Fe_3O_4$/MWCNTs/LDH/$NAD^+$.....۱۴۳
شکل ۴-۱- تصاویر TEM با بزرگنمایی (A) کم و (B) زیاد از نانوکامپوزیت $Fe_3O_4$/r-GO.....۱۵۶
شکل ۴-۲- الگوی XRD نانوکامپوزیت $Fe_3O_4$/r-GO.....۱۵۷
شکل ۴-۳- منحنی‌های مغناطیس دمای اتاق (a) نانوذرات $Fe_3O_4$ و (b) نانوکامپوزیت $Fe_3O_4$/r-GO.....۱۵۸
شکل ۴-۴- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترودهای $Fe_3O_4$/GC، r-GO/GC و $Fe_3O_4$/r-GO/GC.....۱۶۰
شکل ۴-۵- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترودهای $Fe_3O_4$/GC، r-GO/GC.....۱۶۱
شکل ۴-۶- منحنی آمپرومتری برای الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC با افزایش‌های متوالی $H_2O_2$ در غلظت.....۱۶۳
شکل ۴-۷- منحنی آمپرومتری برای الکترود $Fe_3O_4$/r-GO/GC با افزایش‌های متوالی $H_2O_2$ در غلظت.....۱۶۴
شکل ۴-۸- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترودهای GOx/$Fe_3O_4$/GC، GOx/r-GO/GC و GOx/$Fe_3O_4$/r-GO/GC .....۱۶۷

شکل ۴-۹- پاسخ‌های ولتامتری چرخه‌ای الکترود $GOx/Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در PBS ۰/۱ M (pH ۷/۰)..... ۱۶۸
شکل ۴-۱۰- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود $GOx/Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در سرعت روبش..... ۱۶۹
شکل ۴-۱۱- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود $GOx/Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در محلول‌های PBS..... ۱۷۰
شکل ۴-۱۲- منحنی آمپرومتری برای الکترود $GOx/Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ با افزایش‌های متوالی گلوکز در..... ۱۷۰
شکل ۴-۱۳- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترودهای $Fe_3O_4/GC$، r-GO/GC و $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$..... ۱۷۲
شکل ۴-۱۴- منحنی آمپرومتری برای الکترود $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ با افزایش‌های متوالی NADH..... ۱۷۴
شکل ۴-۱۵- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای $LDH/Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در PBS ۰/۱ M (pH ۷/۰)..... ۱۷۵
شکل ۴-۱۶- ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی $LDH/Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در PBS ۰/۱ M (pH ۷/۰)..... ۱۷۶
شکل ۴-۱۷- ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی الکترود $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در PBS ۰/۱ M (pH ۷/۴)..... ۱۷۸
شکل ۴-۱۸- ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی الکترود $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در ۰/۱ M..... ۱۷۹
شکل ۴-۱۹- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای ۱/۰ mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ در KCl ۰/۱ M..... ۱۸۲
شکل ۴-۲۰- دیاگرام‌های نایکویست ۱/۰ mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ در الکترودهای $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$، ..... ۱۸۳
شکل ۴-۲۱- دیاگرام‌های نایکویست ۱/۰ mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ در الکترودهای GC..... ۱۸۶
شکل ۴-۲۲- دیاگرام‌های نایکویست ۱/۰ mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ در الکترود $S_1/Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$..... ۱۸۶
شکل ۴-۲۳- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترود $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در PBS ۰/۱ M..... ۱۸۸
شکل ۴-۲۴- منحنی آمپرومتری الکترود $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در PBS ۰/۱ M ..... ۱۸۸
شکل ۴-۲۵- منحنی آمپرومتری الکترود $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ در PBS ۰/۱ M ..... ۱۸۹

فهرست جدول‌ها

جدول ۱-۱- مقایسه‌ای از روش‌های سنتز نانوذرات مغناطیسی..... ۲۱

جدول ۱-۲- پارامترهای تجزیه‌ای تعدادی از حسگرها و زیست‌حسگرهای بر پایه گرافن..... ۴۳

جدول ۲-۱- شاخصه‌های تجزیه‌ای زیست‌حسگرهای مختلف اتانول بر پایه آنزیم‌های دهیدروژناز..... ۱۱۳

جدول ۲-۲- اندازه‌گیری اتانول در نمونه‌های حقیقی با استفاده از الکترود GC اصلاح شده با ($MWCNTs/IL/Ox\text{-}P(NAD^+)$..... ۱۱۵

جدول ۳-۱- پارامترهای تجزیه‌ای حسگرهای NADH متفاوت..... ۱۴۰

جدول ۳-۲- تعیین لاکتات در نمونه‌های پلاسما..... ۱۴۴

جدول ۴-۱- شاخصه‌های پاسخ الکترود $Fe_3O_4/r\text{-}GO/GC$ برای آنالیت‌های مختلف..... ۱۶۵

فصل اول:

# مقدمه

نانوتکنولوژی را می‌توان به عنوان تکنولوژی بکارگیری نانومواد و روش‌های مرتبط با نانوساختارها تعریف نمود [۱]. تلاش روزافزون در راستای تلفیق نانوتکنوبوژی، زیست شناسی، علم مواد پیشرفته و فتونیکس منجر به پیدایش نانوزیست‌حسگرها بعنوان ابزارهای تشخیصی قدرتمند شده است. زیست‌حسگر وسیله‌ای است که از واکنش‌های زیست‌شیمیایی تسهیل شده توسط آنزیم‌ها، سیستم‌های ایمنی، بافت‌ها، اندام زنده[1] و یا سلول‌های کامل در تعیین و اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی معمولاً از طریق سیگنال‌های الکتریکی، گرمایی یا نوری بهره می‌گیرد [۲]. نانوزیست‌حسگرها[2]، زیست‌حسگرهای طراحی شده بر مبنای بکارگیری نانومواد است [۳، ۴]. ساختار یک زیست حسگر معمولاً شامل سه بخش می‌باشد که عبارتند از : عنصر تشخیصی[3]، مبدل[4] و تقویت‌کننده [۴]. عنصر یا بخش تشخیصی که حساس به آنالیت مورد نظر است دربرگیرنده عناصر زیستی شامل گستره‌ای از بافت‌ها، سلول‌ها و اندام زنده تا آنتی بادی‌ها، آنزیم‌ها، گیرنده‌ها، نوکلئیک اسیدها و ترکیبات مشتق شده زیستی یا مواد دیگری با رفتار زیستی[5] است. مبدل به صورت حد واسطی بین عنصر زیستی و تقویت کننده عمل کرده و بنابراین همانند یک آشکارساز عمل می‌نماید. نقش عمده آن تبدیل سیگنال حاصل از برهم‌کنش بین آنالیت و عنصر تشخیصی به یک خروجی قابل تشخیص و یا قابل اندازه‌گیری است. انواع اصلی مبدل‌ها عبارتند از مبدل‌های الکتروشیمیایی، نوری، پیزوالکتریک و کالریمتری که به ترتیب تغییرات مربوط به توزیع الکتریکی، خواص نوری، جرم و خواص گرمایی را اندازه‌گیری می‌کنند. در نهایت کار تقویت کننده، تقویت سیگنال مبدل و نمایش آن به شیوه‌ای قابل فهم برای کاربر است (شکل ۱-۱) [۵].

[1] Organelles
[2] Nanobiosensor
[3] Recognition element
[4] Transducer
[5] Biomimetic materials