

## حسگر الکتروشیمیایی انسولین با به کارگیری الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با

### نانولوله های کربن و کمپلکس تریس (۱-۱۰ فنانترولین) کبالت (II)

محمد علی کامیابی\*، سارا نیازی، زهره عسگری

گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۹/۱۲

تاریخ تصحیح: ۹۶/۰۸/۲۷

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۴

#### چکیده

در این مقاله حسگر جدیدی برای اندازه گیری انسولین معرفی می گردد. برای این منظور ابتدا الکتروود کربن شیشه ای با نانولوله کربنی اصلاح گردید. این اصلاح الکتروود با جذب فیزیکی نانولوله ی کربن بر سطح الکتروود کربن شیشه ای حاصل شد. سپس فیلم پلیمری از کمپلکس تریس (۱-۱۰ فنانترولین) کبالت (II) روی سطح الکتروود قرار داده شد. اصلاح سطح الکتروود با فیلم پلیمری از طریق روش ولتامتری چرخه ای داخل محلول بافر فسفات با  $pH=7/4$  حاوی ۵ میلی مولار از کمپلکس تریس (۱-۱۰ فنانترولین) کبالت (II) و با اعمال ۱۰ چرخه با سرعت رویش  $0/05 V/s$  و محدوده ی پتانسیل  $-0/3$  تا  $0/85$  ولت نسبت به الکتروود مرجع  $Ag/AgCl$  انجام گردید. سپس از این الکتروود اصلاح شده برای اندازه گیری غلظت انسولین در محلول های مختلف از جمله سرم خون انسان استفاده گردید. در این پژوهش دو گستره ای خطی در بازه های  $0/0654$  تا  $0/0019$  میکرومولار و  $0/0741$  تا  $0/167$  میکرومولار، حد تشخیص معادل با ۸ نانومولار به دست آمد. الکتروود اصلاح شده از تکرارپذیری و تکثیرپذیری خوبی برخوردار است.

**کلمات کلیدی:** نانولوله کربن، انسولین، الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده.

#### ۱- مقدمه

قدیمی ترین و بزرگترین گروه حسگرهای شیمیایی، حسگرهای الکتروشیمیایی هستند. امروزه بسیاری از این حسگرها به صورت تجاری ساخته شده اند و در بازار موجود هستند، تعداد زیادی هم در مراحل توسعه هستند. در این حسگرها در نتیجه یک واکنش الکتروشیمیایی بین لایه تشخیص و آنالیت موجود در محلول، سیگنال الکتریکی ایجاد می شود [۱]. کاربردهای مختلفی برای حسگرهای زیستی در پزشکی و بالینی متصور است در تهیه حسگرهای زیستی تثبیت مولکولهای زیستی به ویژه آنزیمها بر سطح الکتروود یکی از مهمترین نکات است [۲-۵].

تشخیص سریع بیماریها با استفاده از تست های سریع یا Point-of-care، همچنین سریع و ارزان بودن آنها از مزایای این حسگرها می باشد [۶-۱۰]. نانولوله های کربنی که از صفحات کربن به ضخامت یک اتم و به شکل استوانه های توخالی ساخته

شده است، در سال ۱۹۹۱ توسط سامیو ایجیما<sup>۱</sup> (از شرکت NEC ژاپن) کشف شد. خواص ویژه و منحصر به فرد آن از جمله مدول یانگ بالا و استحکام کششی خوب از یک طرف و طبیعت کربنی بودن نانولوله‌ها (به خاطر این که کربن ماده‌ای است کم وزن، بسیار پایدار و ساده جهت انجام فرایندها که نسبت به فلزات برای تولید ارزان تر می‌باشد) باعث شده که در دهه گذشته شاهد تحقیقات مهمی در کارایی و پرباری روش‌های رشد نانولوله‌ها باشیم [۱۱]. فودز و اومانان<sup>۲</sup> در سال ۱۹۸۶ و برای اولین بار فیلم‌های پلی‌مری الکترو سنتز شده را برای ساخت بیوسگرها به کار بردند [۱۲-۱۴] و با قرار دادن آنزیم‌ها درون شبکه‌ی فیلم پلی‌مری در حین الکتروسنتز در سطح الکتروود از آن در اندازه‌گیری استفاده کردند. پس از این گزارش، رشد انفجاری تحقیقات انجام گرفته در این زمینه به وجود آمد و مقالات مروری زیادی در این زمینه موجود است [۱۵-۱۶]. توانایی هدایت الکتریکی بالای فیلم‌های پلی‌مری الکتروسنتز شده‌ی رسانا سبب توجه گسترده به آن‌ها در تکامل بیوسگرها شده است [۱۷]. در بعضی موارد یک فیلم پلی‌مری الکتروود ته‌نشین شده در سطح یک الکتروود به تنهایی دارای قابلیت‌ها و ویژگی‌های یک حسگر شیمیایی مطلوب است و امکان اندازه‌گیری تعدادی از گونه‌های زیستی را فراهم می‌کند. در زیر به تعدادی از این موارد اشاره شده است. الکساندر سیزوسکی<sup>۳</sup> در سال ۲۰۰۳ یک فیلم پلی‌مری از کمپلکس نیکل(II) کرومیوم را روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای سنتز و از زوج ردوکس Ni(II)/Ni(III) به عنوان کاتالیست در اندازه‌گیری الکتروکاتالیتیکی الکل‌ها استفاده کرد [۱۸]. انسولین یکی از هورمون‌هایی است که تاثیرات مختلفی در متابولیسم و دیگر اعمال بدن می‌گذارد. انسولین با اثر به سلول‌های کبد باعث می‌شود این سلول‌ها با گرفتن قند از خون و ذخیره آن به صورت گلیکوژن، قند خون را کاهش دهند و با تجمع گلیکوژن در سلول‌های ماهیچه‌ای به عنوان یک منبع سوخت انرژی را افزایش دهد. هم‌چنین با اثر به بافت‌های چربی، استفاده از چربی به عنوان منبع سوخت را متوقف می‌کند. در صورت نبود یا کمبود انسولین در خون، بدن از چربی به عنوان منبع سوخت استفاده می‌کند. انسولین به عنوان مرکز کنترل متابولیسم بدن عمل می‌کند. اثر هورمون گلوکاگون عکس عمل انسولین می‌باشد [۱۹]. انسولین در پزشکی برای درمان نوعی دیابت شیرین استفاده می‌شود. در دیابت شیرین نوع یک (دیابت وابسته به انسولین) توانایی تولید انسولین در بدن کاهش می‌یابد یا قطع می‌شود از این رو با تزریق روزانه انسولین (اغلب به صورت زیرپوستی) علائم بیماری از بین می‌رود [۲۰]. اهمیت اندازه‌گیری انسولین در تشخیص بیماری دیابت باعث گردیده که محققان به دنبال روش‌هایی برای اندازه‌گیری این ترکیب با غلظت‌های بسیار کم باشند. از این روش‌های مهم برای اندازه‌گیری انسولین، سنجش بیولوژیکی و سنجش ایمن سازی را می‌توان نام برد [۲۱]. مشکل این تکنیک‌های آزمایشی حساسیت ودقت نه چندان زیاد ومدت زمان طولانی می‌باشد. در روش‌های سنجش ایمن سازی واکنش‌های جانبی و پیوندهای غیر ویژه با

مولکول‌های زیستی همراه با انسولین از مزاحمت‌های جدی برای اندازه‌گیری می‌باشد [۲۲]. در سال ۲۰۰۳ سلیمی و همکارانش یک روش آمپرومتری برای اندازه‌گیری انسولین بر سطح الکتروود کربن سرامیک با کمپلکس روتنیم را گزارش داد. رنج خطی، حد تشخیص و حساسیت به دست آمده با روش آمپرومتری به ترتیب  $0.145 \mu\text{M}$ ،  $0.04 \text{ nM}$  و  $7/602 \text{ A/M}$  گزارش شده است. حساسیت زیاد، توانایی اندازه‌گیری در pH بیولوژیکی، فعالیت کاتالستی عالی برای اکسیداسیون انسولین، هزینه‌ی کم و طراحی آسان از محاسن این حسگر می‌باشد [۲۳]. جوزف وانگ در سال ۲۰۰۴ مقاله‌ای ارائه داد که در آن از اصلاح کردن الکتروود کربن شیشه‌ای با نانو لوله‌های کربن برای اندازه‌گیری انسولین با روش آمپرومتری تزریق در جریان استفاده کرد. حساسیت و حد تشخیص گزارش شده به ترتیب  $48 \text{ nA}/\mu\text{M}$  و  $14 \text{ nM}$  می‌باشد [۲۴].

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- دستگاه‌های الکترو شیمیایی

کلیه آزمایش‌های ولتامتری با استفاده از دستگاه میکرو اتولپ مدل PGSTAT101 انجام شد و از یک سل سه الکتروودی که در آن از الکتروود کربن شیشه‌ای به عنوان الکتروود کار، الکتروود پلاتین به عنوان الکتروود مقابل و الکتروود  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  به عنوان الکتروود مرجع استفاده شد هم‌چنین از یک دستگاه pH متر Metrohm مدل ۷۸۰ برای تهیه محلول‌های بافر و از یک ترازوی تجزیه‌ای Ohaus با دقت  $0.001 \pm$  گرم مدل GA200D جهت توزین استفاده گردید. دستگاه Ultrasonic برای تمیز کردن سطح الکتروود استفاده گردید. از دستگاه آون مدل پارس آزما برای خشک کردن وسایل شیشه‌ای و تهیه الکتروودهای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربن استفاده گردید. از هیترمدل Heidolph برای تهیه لیگاندها و کمپلکس‌ها استفاده شد. وسایل شیشه‌ای متداول نیز در انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

**۲-۲- مواد مورد استفاده**

نانولوله کربن چنددیواره با قطر داخلی ۱ تا ۸ نانومتر و قطر خارجی ۲ تا ۲۵ نانومتر از پژوهش گاه صنعت نفت ایران خریداری گردید. کلرید کبالت (II)، سالیسیل آلدهید ، ۲\_آمینوفنول، ۲\_آمینوتیول، اتانول ۹۶٪، اتانول بدون آب، استیل استونات اکسید-وانادیم، ۶و۱-متیلن دی آمینوپیریدین از شرکت مرک<sup>۴</sup>، ۱و۲-فنیلن دی آمین از شرکت فلوکاس<sup>۵</sup>، سولفات مس (II)، متانول ۹۷٪، استون ، دی متیل فرم آمید<sup>۶</sup>، حلال دی متیل سولفو کسید<sup>۷</sup>، ۱و۲ نفتالن دی آمین نیز از شرکت فلوکا خریداری گردید.

**۲-۳- آماده کردن الکتروود اصلاح شده**

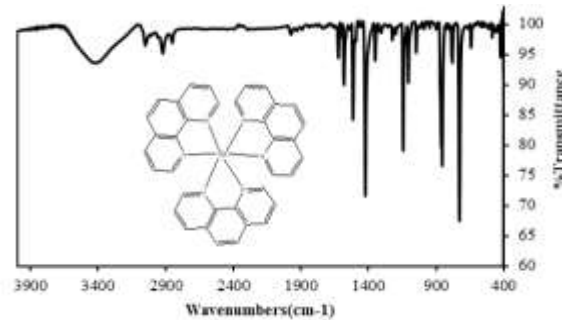
در ابتدا جهت اطمینان از تمیز بودن سطح الکتروود کربن شیشه ای یک ولتاموگرام چرخه ای زمینه از الکتروود گرفته می شود در صورت آلوده بودن، سطح الکتروود تمیز شده سپس الکتروود با آب مقطر شستشو و در آون خشک می شود. با استفاده از میکروبیپیت از محلول نانولوله کربنی پخش شده با غلظت ۱ mg/ml در حلال دی متیل سولفو کسید که به مدت ۲۴ ساعت در همزن مغناطیسی قرار گرفته بود، برداشته شده و بر روی الکتروود قرار داده می شود. سپس الکتروود را داخل آون با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده تا حلال مورد نظر تبخیر شود و نانولوله کربنی بر روی الکتروود قرار بگیرد. اصلاح سطح الکتروود با این روش، باعث می شود که رسانایی سطح الکتروود کربن شیشه ای افزایش یابد [۲۵]. پس از به دست آوردن پیک زمینه ثابت از الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با نانولوله کربنی، در محلول بافر فسفات با pH = ۷/۴، ۱۰ ولتاموگرام چرخه ای با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه در گستره ی پتانسیل (۰/۳ تا ۰/۹) ولت نسبت به الکتروود مرجع (Ag/AgCl) به محلول ۰/۰۵ مولار از کمپلکس  $[Co(phen)_3]^{2+}$  اعمال شد. نقش بافر در اینجا، علاوه بر تثبیت pH، در حکم الکتروولیت محافظ نیز می باشد.

**۳- نتایج و بحث**

کمپلکس  $[Co(Phen)_3]^{2+}$  سنتز شده توسط طیف IR و ولتاموگرام چرخه ای، ساختار آن تایید گردید. جدول و شکل ۱ بترتیب مشخصات و طیف مادون قرمز کمپلکس سنتز شده را نشان می دهد که تاییدی بر سنتز کمپلکس می باشد.

جدول ۱- داده‌های حاصل از طیف سنجی IR کمپلکس  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$ 

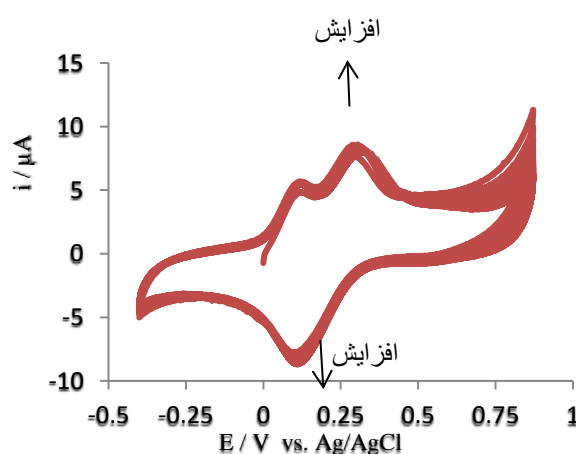
ترکیب	C=N	Co-N	C=C
$[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$	1423( $\text{cm}^{-1}$ )	460( $\text{cm}^{-1}$ )	1600-1440( $\text{cm}^{-1}$ )

شکل ۱- طیف IR کمپلکس سنتز شده  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$ 

مکانیسم پلیمریزاسیون این ترکیب مشابه ترکیبات هم خانواده آن می باشد که قبلاً گزارش شده است که بر اساس تشکیل کاتیون رادیکال در سطح الکتروود و ادامه واکنش های شیمیایی می باشد [۲۶-۲۷]. شکل ۲ نمایش تعداد ۱۰ ولتاموگرام بهینه برای الکترو پلیمره کردن کمپلکس  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  در غلظت بهینه به دست آمده ۵ میلی مولار و سرعت روبش پتانسیل ۵۰ میلی ولت بر ثانیه می باشد. همانطور که مشاهده می شود با افزایش تعداد سیکل ها، جریان های آندی و کاتدی نیز افزایش می یابد که نشان دهنده تشکیل فیلم پلیمری روی سطح الکتروود می باشد. به دلیل پایدار و رسانا بودن فیلم پلیمری روی سطح الکتروود، احتیاجی به مرحله رسانا کردن و افزایش پایداری نیست. محلول مناسب برای الکترو پلیمره کردن، محلول بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با  $\text{pH}=7/4$  می باشد. برای این منظور بافرهای یونیورسال و استات نیز مورد امتحان قرار گرفت ولی یون های موجود در این بافرها مزاحم پاسخ حسگر می باشد و لذا بافر فسفات برای تنظیم  $\text{pH}$  مورد استفاده قرار گرفت. بر روی پلیمره شدن این فیلم در  $\text{pH}$  های مختلف و مشاهده ی پاسخ انسولین در شرایط های مختلف، نشان دهنده این بود که بهترین پاسخ مربوط به زمانی می باشد که شرایط محلول بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با  $\text{pH}=7/4$  حاکم باشد.

در غلظت های مختلف از  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  پاسخ الکتروود اصلاح شده به انسولین بررسی شد. نتایج به دست آمده بیانگر بهترین پاسخ انسولین به الکتروود الکتروپلیمره شده با غلظت ۰/۰۵ مولار  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  می باشد. حساسیت کمتر در غلظت های اولیه کمتر از ۰/۰۵ مولار احتمالاً به علت امکان دسترسی کمتر سطح الکتروود به مونومر برای رشد پلیمر در این

غلظت ها

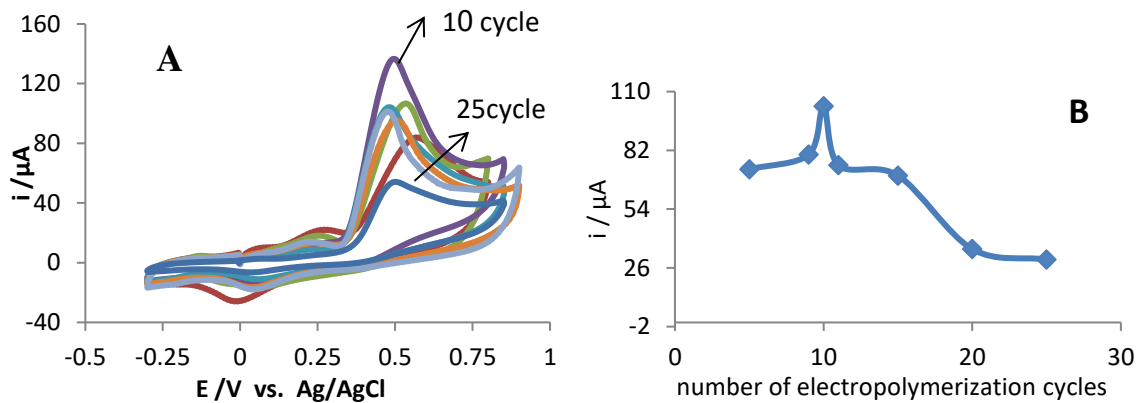


شکل ۲- ولتاموگرام های چرخه ای ثبت شده در حین الکتروپلیمره کردن  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  توسط الکتروود  $\text{MWNTs}/\text{GC}$ . غلظت  $0.05$  مولار از کمپلکس  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  در محلول بافر فسفات  $0.05$  مولار و  $\text{pH}=7/4$ ،  $10$  ولتاموگرام چرخه ای ثبت شده برای الکتروپلیمره کردن در سرعت روبش  $50$  میلی ولت بر ثانیه

نسبت به غلظت  $0.05$  مولار است. هم چنین در غلظت های بالاتر از  $0.05$  مولار امکان تشکیل الیگومرهای مختلف و در نتیجه تغییر در ساختار فیلم پلیمری و شبکه ای شدن را افزایش و در نتیجه هدایت الکتریکی آن را کاهش می دهد. بنابراین در تهیه الکتروود اصلاح شده برای اندازه گیری انسولین از غلظت  $0.05$  مولار مونومر  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  استفاده شد.

### ۳-۱- بهینه نمودن تعداد چرخه های مرحله الکتروپلیمره فیلم

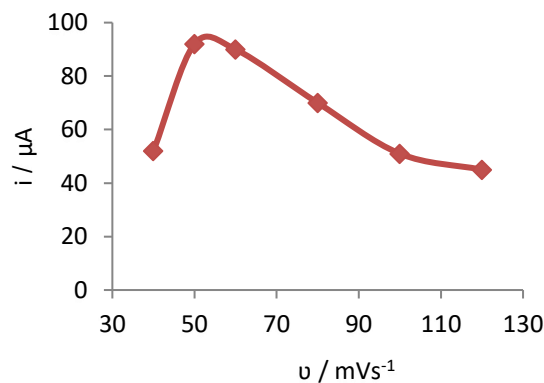
بررسی تعداد چرخه های الکتروپلیمره کردن  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  نشان داد که سنتز فیلم پلیمری با به کار بردن  $10$  چرخه ولتاموگرام نتایج مطلوب تری به دست می دهد (شکل ۳). احتمالاً در تعداد چرخه های کمتر فیلم پلیمری ساختار شبکه ای کمتر نسبت به فیلم پلیمری. با  $10$  چرخه ایجاد می شود. در چرخه های روبش پتانسیل بالاتر از  $10$  بار نیز ساختار فیلم پلیمری شبکه ای در هم تنیده تر و دارای تخلخل کمتری می شود و در نتیجه هدایت الکتریکی آن کاهش یافته و رفتار ردوکس مناسبی را نسبت به گونه های الکتروفعال از خود نشان نمی دهد. افزایش جریان هر ولتاموگرام نسبت به ولتاموگرام قبلی، نشان گر تشکیل فیلم رسانایی از  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  بر روی سطح الکتروود می باشد. در نتیجه هدایت الکتریکی آن کاهش یافته و رفتار ردوکس مناسبی را نسبت به گونه های الکتروفعال از خود نشان نمی دهد. افزایش جریان هر ولتاموگرام نسبت به ولتاموگرام قبلی، نشان گر تشکیل فیلم رسانایی از  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  بر روی سطح الکتروود می باشد



شکل ۳ (A) نتایج ولتامتری چرخه‌ای بدست آمده از ۰/۰۳۵ میکرو مولار انسولین بر روی الکتروود اصلاح شده با تعداد چرخه‌های متفاوت برای الکتروپلیمره کردن  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  در محلول بافر فسفات با  $\text{pH}=7/4$ . بقیه شرایط مطابق شکل ۳ (B) منحنی تعداد چرخه ولتاموگرام-جریان

### ۳-۲- بهینه نمودن سرعت روبش پتانسیل مرحله الکتروپلیمره فیلم

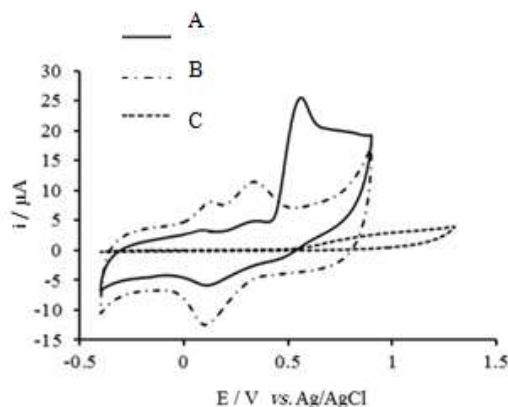
برای مطالعه‌ی اثر سرعت روبش بر ولتاموگرام‌های چرخه‌ای حاصل از الکتروود اصلاح شده، ولتاموگرام‌های مختلف با سرعت پس از اصلاح کردن الکتروود کربن شیشه‌ای با نانو لوله کربن، فیلم  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  بر سطح الکتروود پلیمره شد. همانطور که در شکل ۴ مشخص می‌باشد، بهترین حالت سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشد.



شکل ۴- منحنی جریان برحسب سرعت روبش نتایج ولتامتری چرخه‌ای بدست آمده از ۰/۰۳۵ میکرومولار انسولین بر روی الکتروود اصلاح شده با سرعت‌های روبش متفاوت برای الکتروپلیمره کردن  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  در محلول بافر فسفات با  $\text{pH}=7/4$

### ۳-۳- مطالعه‌ی ولتامتری چرخه‌ای الکتروود اصلاح شده

ولتاموگرام ثبت شده (شکل ۵، ولتاموگرام (B) از فیلم  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  در محلول بافر فسفات ۰/۰۵ مولار و  $\text{pH}=7/4$  بر روی الکتروود اصلاح شده با نانو لوله‌ی کربن نشان‌دهنده‌ی یک دماغه‌ی برگشت پذیر در پتانسیل‌های ۰/۲۸ و ۰/۱۲ ولت و یک



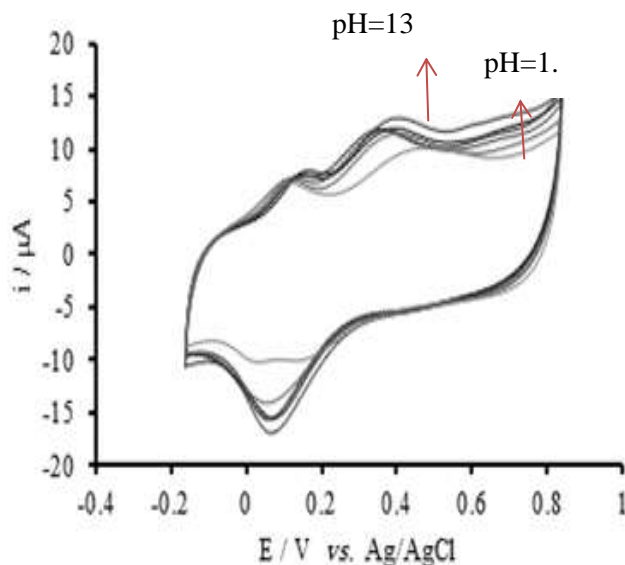
شکل ۵- ولتاموگرام چرخه‌ای محلول انسولین به غلظت  $0.14 \mu\text{M}$  میکرو مولار در سرعت روبش  $100$  میلی‌ولت بر ثانیه در درون محلول بافر فسفات  $0.05$  مولار،  $\text{pH}=7.4$  (A) الکتروود اصلاح شده با نانولوله‌ی کربنی همراه با  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  با غلظت  $3$  میلی‌مولار (B) ولتاموگرام جریان زمینه الکتروود اصلاح شده با نانولوله‌ی کربنی و  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  (C) الکتروود کربن شیشه‌ای

دماغه‌ی برگشت ناپذیر در  $0.335$  ولت می‌باشد که می‌توان دماغه‌ی برگشت پذیر را به زوج ردوکس دانست و دماغه‌ی آندی دوم را ناشی از تغییر موقعیت کبالت نسبت به (۱-۱۰ فنانترویلین) بر روی الکتروود اصلاح شده با نانو لوله‌ی کربن دانست. پس از اصلاح کردن الکتروود کربن شیشه‌ای با نانو لوله کربن، فیلم  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  بر سطح الکتروود پلیمره شد. ولتاموگرام شکل ۵- A پاسخ این الکتروود نسبت به اندازه‌گیری انسولین را نشان می‌دهد. جریان به دست آمده برای دماغه‌ی انسولین برابر با  $15/3$  میکرو آمپر و پتانسیل آن  $0.57$  ولت می‌باشد که بیان‌گر جابجایی پتانسیل دماغه‌ی انسولین در الکتروود اصلاح شده به سمت پتانسیل‌های منفی و یا اضافه ولتاژ کمتر می‌باشد. هم‌چنین جریان دماغه نیز در الکتروود اصلاح شده افزایش چشم‌گیری داشته است این ناشی اثر الکتروکاتالیستی  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  می‌باشد.

### ۳-۴- مطالعه‌ی اثر pH بر روی ولتامتری چرخه‌ای الکتروود اصلاح شده

بررسی اثر pH بر روی دماغه‌ی اکسایش الکتروود اصلاح شده با فیلم  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  در محلول بافر فسفات در شکل ۶ نشان می‌دهد که پتانسیل دماغه‌ی اکسایش و کاهش فیلم پلیمری با pH تغییر محسوسی نمی‌کند و شیب نرنستی به دست آمده برای پلیمر سنتز شده برابر با  $2/6 \text{ mV/pH}$  بود که بیان‌کننده‌ی عدم انتقال پروتون همراه با انتقال الکترون در طی فرایند ردوکس برای فیلم است. نتیجه حاصل شده با پیش‌بینی هم‌خوانی دارد چرا که فرایند ردوکس این فیلم با انتقال پروتون همراه نیست.

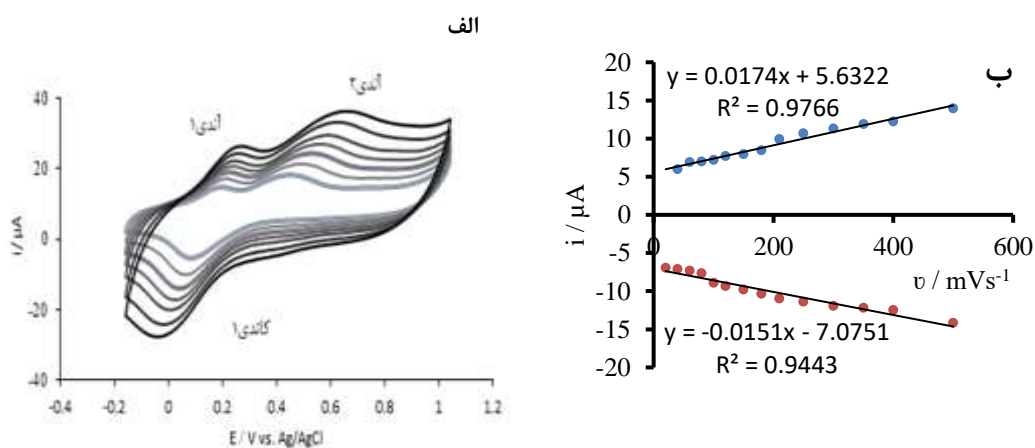




شکل ۶- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای ثبت شده الکتروود اصلاح شده با فیلم  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  در محلول بافر فسفات در pH های مختلف (۱/۵، ۳، ۵، ۷، ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵). و شرایط بهینه

### ۳-۵- مطالعه‌ی اثر روبش پتانسیل بر روی ولتامتری چرخه‌ای الکتروود اصلاح شده

رویش های متفاوتی به سیستم اعمال و ولتاموگرام های مربوطه ثبت شد (شکل ۷). همانطور که مشخص می باشد، با افزایش سرعت روبش، جریان ولتاموگرام نیز افزایش می یابد. نمودار جریان آندی و کاتدی ولتاموگرام‌های به دست آمده نسبت به سرعت روبش پتانسیل در شکل ۷ آورده شده است. با بررسی نمودار این شکل مشخص است که یک رابطه‌ی خطی خوبی بین جریان‌های آندی و



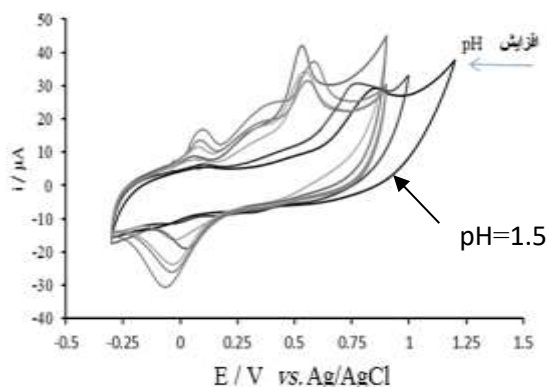
شکل ۷-الف ولتاموگرام‌های چرخه‌ای ثبت شده الکتروود اصلاح شده با فیلم  $[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  در بافر فسفات با  $\text{pH}=7.4$ ، در سرعت‌های روبش مختلف (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰، ۲۱۰، ۲۵۰، ۳۰، ۳۵۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه). فسفات ۰/۰۵ مولار، (ب) نمودار جریان‌های آندی و کاتدی بدست آمده در سرعت‌های روبش پتانسیل مختلف بر حسب سرعت روبش

کاتدی با سرعت روبش در گستره سرعت روبش پتانسیل ۵۰۰-۲۰ میلی ولت بر ثانیه وجود دارد و این موضوع نشان دهنده ی قرار داشتن گونه ی الکتروفعال (فیلم پلیمری) بر سطح الکتروود است. با افزایش سرعت روبش میزان جدایی دماغه ی آندی و کاتدی بیشتر می گردد که این مسئله نیز بیان گر سینتیک کند انتقال الکترون می باشد (شکل ۷.ب). با استفاده از رابطه ی ۱ ثابت سرعت انتقال الکترون برابر  $1/45 \text{ s}^{-1}$  محاسبه گردید.

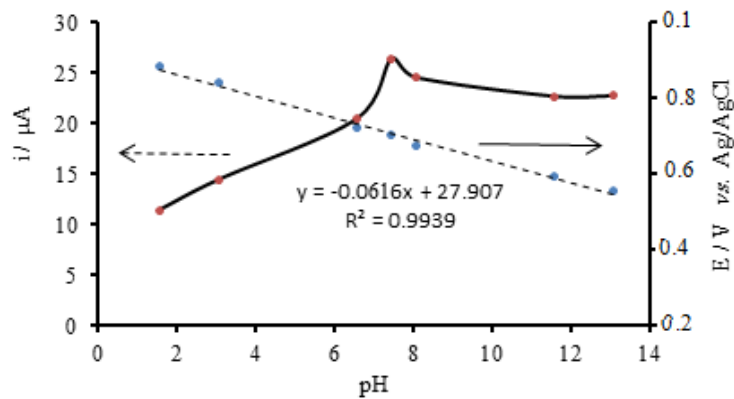
$$\log K_s = \alpha \log(1-\alpha) + (1-\alpha) \log \alpha - \log(RT/nFv) - \alpha(1-\alpha)nF\Delta E_p/2.33RT \quad (\text{رابطه ۱})$$

### ۳-۵- بررسی اثر pH محیط بر اندازه گیری انسولین

پس از تهیه ی الکتروود اصلاح شده، در pH های (۱/۵، ۳، ۶/۵، ۷/۴، ۸، ۱۱/۵، ۱۳) به بررسی ولتاموگرام چرخه ای انسولین پرداخته شد. نتایج در شکل ۸ آورده شده است. با بررسی اکسایش الکتروکاتالیزوری برای انسولین در محلول بافری در گستره ی pH (۱، ۵-۱۳) جابجایی دماغه ی انسولین به سمت پتانسل کمتر با افزایش pH مشاهده شد.



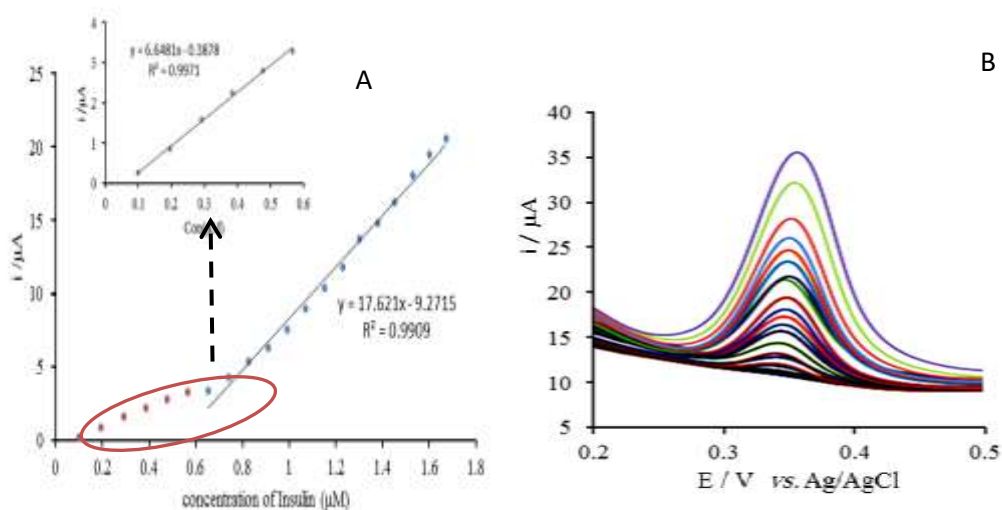
شکل ۸- نمودار جریان و پتانسیل بدست آمده از ولتامتری چرخه ای برای محلول با غلظت  $0.14 \mu\text{g/ml}$  میکرومولار انسولین در بافر فسفات با  $\text{pH}=7/4$  بر روی الکتروود اصلاح شده در مطالعه ی pH آماده سازی الکتروود.  
شیب این خط برابر  $60 \text{ mV/pH}$  می باشد (شکل ۹) که به طور تقریبی نزدیک به مقدار تئوری  $59 \text{ mV/pH}$  می باشد این نکته بیان گر این است که تعداد الکتروود مبادله شده در فرایند ردوکس انسولین تک الکترونی می باشد. هم چنین با مطالعه ی جریان در pH های مختلف،  $\text{pH}=7/4$  بهترین pH می باشد که هم جریان بیشتری دارد و هم اضافه ولتاژ سیستم کمتر است (شکل ۹). از طرفی این pH مخصوص سیستم های بیولوژی می باشد و عبارت دیگر مزیتی برای سیستم اندازه گیری محسوب می شود و امکان اندازه گیری همزمان در بافت نمونه زنده را فراهم می آورد.



شکل ۹- نمودار جریان و پتانسیل بدست آمده از ولتامتری چرخه ای برای محلول با غلظت  $0.14 \mu\text{M}$  میکرومولار انسولین در بافر فسفات با  $\text{pH}=7.4$  بر روی الکتروود اصلاح شده در مطالعه‌ی  $\text{pH}$  آماده سازی الکتروود. مطالعه‌ی اثر سرعت روبش پتانسیل دماغه‌ی انسولین در محلول بافر فسفات  $\text{pH}=7.4$ ، در گستره‌ی سرعت روبش  $20-500$  میلی‌ولت بر ثانیه، نیز وابستگی خطی جریان دماغه‌ی اکسایش انسولین به سرعت روبش پتانسیل در سطح الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$ ، را نشان می دهد که بیان گر این مطلب می باشد که اکسایشی تحت کنترل پدیده نفوذ<sup>۸</sup> می باشد.

### ۳-۶- اندازه گیری انسولین روی الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده

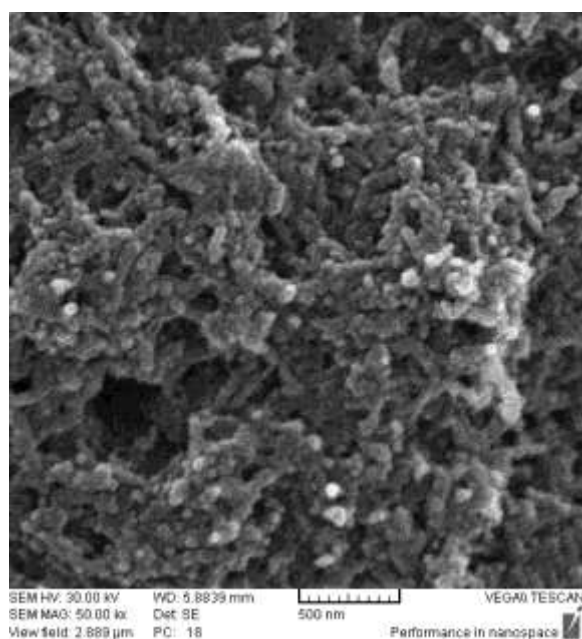
ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی بدست آمده با الکتروود اصلاح شده در محلول بافر فسفات با  $\text{pH}=7.4$  حاوی غلظت‌های مختلف از انسولین در شکل ۱۰ نشان داده شده است. منحنی درجه بندی به دست آمده نشان دهنده‌ی دو رابطه‌ی خطی بین جریان اکسایشی و غلظت‌های انسولین تزریقی به محلول آزمایش در گستره‌های غلظتی  $0.0654-0.19$  میکرومولار و  $0.0741-0.167$  میکرو مولار از انسولین است. حد تشخیص به دست آمده معادل با  $0.083$  میکرومولار و حساسیت  $6.48 \mu\text{A}/\mu\text{M}$  می باشد.



شکل ۱۰ (A) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی بدست آمده در غلظت‌های مختلف از انسولین (۰/۰۰۲/۰۱۹، ۰/۰۰۲۹۱، ۰/۰۳۸۵، ۰/۰۴۷۶، ۰/۰۵۶۶، ۰/۰۶۵۴، ۰/۰۷۴۱، ۰/۰۸۲۶، ۰/۰۹۹۱/۰۹۰۹، ۰/۱۰۷، ۰/۱۱۵، ۰/۱۲۳، ۰/۱۳، ۰/۱۳۸، ۰/۱۴۵، ۰/۱۵۳، ۰/۱۶، ۰/۱۶۷ میکرومولار) در بافر فسفات pH=۷/۴ بقیه موارد مطابق شکل (B) منحنی کالیبراسیون

### ۷-۳- ریخت‌شناسی سطح الکتروود با روش میکروسکوپ الکترونی روبشی

شکل شماره ۱۱، تصویر سطح الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با نانولوله های کربنی بعد از اصلاح با فیلم پلیمری



شکل (۱۱) تصویر سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله کربنی همراه با  $\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$

$\text{Poly}[\text{Co}(\text{Phen})_3]^{2+}$  نشان می‌دهد. همانطور که مشخص می‌باشد ذرات با ابعاد نانو روی شبکه نانولوله های کربنی تشکیل شده است.

## ۳-۸- بررسی اثر مزاحمت

از آنجا که انسولین، از ترکیبات زیستی مهم است، بررسی اثر مزاحمت گونه‌های دیگر که معمولاً همراه با این ترکیب در نمونه‌های زیستی وجود دارند، یک امر ضروری است. بنابراین به منظور مشخص کردن قابلیت کاربرد الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری نمونه‌های حقیقی، اثر مزاحمت ترکیبات معمول در سیستم‌های زیستی روی عملکرد آن مورد بررسی قرار گرفت. میزان مزاحمت گونه‌های مورد بررسی بر روی محلول شامل انسولین ۰/۱۴ میکرومولار بررسی شد و حد مزاحمت به صورت غلظتی از گونه‌ی مزاحم در نظر گرفته شد که به میزان ۵٪ خطا در اندازه‌گیری انسولین ایجاد کند. نتایج آن در جدول ۲ ذکر شده است.

جدول ۲) تعیین حد تحمل در اندازه‌گیری انسولین

گونه مزاحم	گلوکز	دوپامین	آسکوربیک اسید	یوریک اسید	هیستیدین	گلاسین	سیستین
(M) (μ) حد تحمل	۳۸۶	۱۲۱	۱۹۵	۱۰۵	۱۰۰	۱۲۰	۱۰۰

## ۳-۹- اندازه‌گیری انسولین در نمونه‌ی حقیقی

جهت اندازه‌گیری نمونه‌ی حقیقی برای انسولین از سرم خون استفاده شد. برای کار کردن در ناحیه خطی حسگر، محلول نمونه حقیقی توسط بافر فسفات با  $\text{pH} = 7/4$  رقیق گردید و هر نمونه به روش افزایش استاندارد اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری هر نمونه ۴ بار انجام شده است. نتایج این اندازه‌گیری‌ها در جدول ۲ برای حالت‌های مختلف آماده‌سازی سطح الکتروود، آورده شده است.

جدول ۳) اندازه‌گیری غلظت انسولین در نمونه سرم خون انسان

غلظت نمونه تزریقی (μM)	غلظت اضافه شده (μM) محلول استاندارد	غلظت کل (μM)	غلظت کل اندازه‌گیری شده	درصد بازیابی	انحراف استاندارد نسبی
۵۴/۵	-	۵۴/۵	۵۳/۶	۹۸/۳	۳/۳±
۵۴/۵	۲۹/۲	۸۳/۷	۸۴/۳	۱۰۰/۱	۲/۶±
۵۴/۵	۳۹/۵	۹۳/۱	۹۲/۸	۹۹/۶	۳/۸±
۵۴/۵	۵۸/۲	۱۱۲/۷	۱۱۱/۵	۹۸/۹	۲/۹±
۵۴/۵	۷۷/۴	۱۳۱/۹	۱۳/۳	۹۸/۷۸	۳/۵±

نتایج نشان می‌دهد که مقدار انسولین اندازه‌گیری شده برای نمونه‌ی سرم خون با این روش تا حد قابل قبولی نزدیک به مقدار گزارش شده‌ی آزمایشگاه است. پاسخ نزدیک به دست آمده در اندازه‌گیری نمونه‌ی سرم خون از طریق این روش با روش استاندارد (داده‌ی آزمایشگاه)، از ویژگی‌های مثبت کار حاضر محسوب می‌شود.

## تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت گروه شیمی دانشگاه زنجان انجام شده است که بدینوسیله، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌شود.

## ۴- مراجع

- [1] S. Ligler, C.R. Taritt, "Optical biosensors" **20** (2001) 12.
- [2] X.J. Huang, Y.K. Choi, *Chemical sensors based on nanostructured materials, Sensors and Actuators B*, **122** (2007) 659.
- [3] L. Wang, J. Bai, X. Bo, X. Zhang, L. Guo, *Talanta*, **83** (2011) 1386.
- [4] J. Wang, *Chem.Rev.*, **108** (2008) 814.
- [5] K. Mohammad Ali, Sh. Sedigheh, *J. Of Applied Research in Chemistry*, **2** (1395) 63, in Persian.
- [6] A. Rasooly, k.E. Herolds, *Biosensors & bio detection*, Vol 1. Optical-Based Detectors.
- [7] A.P. Periasamy, y.J. Chang, S.M, Chen, *Bioelectrochemistry*, **80** (2011) 114.
- [8] A. Vahid, *J. Of Applied Chemistry*, **40** (1395) 9, in Persian.
- [9] N. Maryam, B. Majede, L. S. Afsaneh, K. Fatemeh, Kh. Mohammad Ali, K. . Hassan, *J. Of Applied Chemistry*, **25** (1391) 69, in Persian.
- [10] K. Sarvenaz, Kh. Mohammad Ali, K. M. Hassan, *J. Of Applied Chemistry*, **44** (1396) 69, in Persian.
- [11] P.R. Bandaru, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **7** (2007) 1239.
- [12] Ciszewski, I, Milczarek, G, Lewandowska, B, Krutowski, K, *Electroanalysis* **15** (2003) 518.
- [13] Y. Xiao, C. Guo, C. M. Li, Y. Li, J. Zhang, R. Xue, S. Zhang, *Analytical Biochemistry* **371**(2007) 229.
- [14] S. Palys, A. Bokuna, J. Rogalski, *Electrochimica Acta* **52** (2007) 7075.
- [15] J. Wang, M. Musameh, Y. Lin, *J. Am. Chem* **125** (2003) 2408.
- [16] M. Zhang, A. Smith W. Gorski, *Anal. Chem.*, **76** (2004) 5045.
- [17] I. Iwuoha, D. S. Villaverde, N. P. Garcia, M. R. Smyth, J. M. Pingarron, *Biosens and Bioelectron*, **12** (1997) 749.
- [18] J. C. Vidal, E. García and J. R. Castillo., *Anal. Chim. Acta*, **385** (1999) 213.
- [19] H. K. Ortmeye, B.C. Hansen, *Diabetologia* **37** (1994) 127.
- [20] R. S. Yalow, S.A. Noorbakhsh, E. Sharili, A. Semnani, *Biosensors and Bioelectronics* **24** (2008) 792.
- [21] Y. Luo, K. Hung, *Analytica Chimica Acta*, **64** (2005) 553.
- [22] J. Zsuga, K. Tory, L. Jszlits, A. bajza, *Biochem Biophys Methods* **61** (2004) 253.
- [23] R. Chakrabarty, S. J. Bora, B. K. Das, *Inorg. Chem* **46** (2007) 9450.
- [24] S. Durmus, A. Atahan, M. Zangin, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular spectroscopy* **84** (2011) 1.
- [25] K. Mohhamad ali, R. saeedeh, *J. Of Applied Chemistry*, **44** (1396) 9, in Persian.
- [26] K. J. Lee, I. Yoon, Sh. S. Lee, B. Y. Lee, *Bull. Korean Chem. Soc.* **23** (2002) 399.

[27] T.F. Guarr, F.C. Anson, J. Phys. Chem., **91** (1987) 4037.

