

# ساخت یک زیست حسگر الکتروشیمیایی حساس به هیدروژن پراکساید با استفاده از هموگلوبین تثبیت شده بر روی نانوکامپوزیت حاصل از آلیاژهای آهن-نیکل و نانولوله

## های کربنی چنددیواره

مهدی بقایری\*، بهروز ملکی و سمانه فرهادی

دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۸/۲۳

تاریخ تصحیح: ۹۴/۰۸/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۷/۱۰

### چکیده

در این تحقیق، انتقال الکترون مستقیم توسط هموگلوبین (*Hb*) تثبیت شده در سطح الکتروکد خیمیرکربن اصلاح شده توسط نانولوله های کربنی چند دیواره و نانوکریستال های آهن- نیکل مورد ارزیابی قرار گرفته است. نانوکریستال های آهن- نیکل با یک روش شیمیایی ساده سنتز شده و سپس توسط روش های مختلف نظیر میکروسکوپ الکترونی روبشی (*SEM*)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (*TEM*) و پراش اشعه ایکس (*XRD*) مشخصه یابی شده اند. حضور همزمان نانوکریستال های آهن- نیکل (*Fe@Ni*) و نانولوله های کربنی چند دیواره (*MWCNT*) در ساختار الکتروکد اصلاح شده بستر مناسبی را برای برهمکنش پایا و موثر هموگلوبین با سطح الکتروکد فراهم می آورد. هموگلوبین تثبیت شده در سطح الکتروکد خواص زیست- الکتروکاتالیزی خود را حفظ کرده و الکتروکد اصلاح شده عملکرد خوبی را نسبت به تشخیص و اندازه گیری هیدروژن پراکساید از خود نشان داد. رفتار الکتروشیمیایی الکتروکد اصلاح شده توسط تکنیک های مختلف نظیر ولتامتری چرخه ای (*CV*) و اسپکتروسکوپی امپدانس الکتروشیمیایی (*EIS*) بررسی شد. الکتروکد اصلاح شده گستره خطی وسیعی را در محدوده غلظت ۵/۰ تا ۲۵۰/۰ میکرومولار برای فرایند کاهش هیدروژن پراکساید از خود نشان داده و حد تشخیص ۱/۴۳ میکرومولار برای این الکتروکد بدست آمده است.

واژگان کلیدی: زیست حسگر، الکتروکد خیمیر کربن، نانوکریستال های آهن- نیکل، نانولوله های کربنی چنددیواره

### ۱- مقدمه

هیدروژن پراکسید یا آب اکسیژنه (یک اکسنده متداول است که به عنوان سفید کننده استفاده می شود. هیدروژن پراکسید ساده ترین پراکسید است (پراکسیدها ترکیباتی هستند که دارای یک پیوند یگانه اکسیژن-اکسیژن هستند). آب اکسیژنه خالص یک مایع ناروانی است که کمی آبی رنگ می باشد و با زحمت زیاد می توان آنرا تهیه نمود. آب اکسیژنه ای که در داروخانه ها به اسم آب اکسیژنه رقیق فروخته می شود محلولی است از آب اکسیژنه در آب که در ۱۰۰ قسمت آن سه قسمت آب اکسیژنه است، مانند آب بی رنگ و بی بوست، مزه تلخی دارد و کمی اسیدی است. این مایع اکسید کننده ای قوی است. بیماری های فراوانی از جمله قلبی-عروقی را میتوان با اندازه گیری مقدار این ترکیب در بافت مورد نظر تشخیص داد. نارسایی های قلبی

میزان هیدروژن پراکسید را در بافت های بدن افزایش میدهند که به لایه داخلی شریان ها آسیب می رساند و سبب لخته شدن خون و سکتته های قلبی و مغزی می گردد. بنابراین اندازه گیری هیدروژن پراکسید در بافت های بدن و مایعات بیولوژیکی نظیر پلاسما اهمیت بالایی خواهد داشت [۱].

در سال های اخیر، تحقیقات کاربردی گسترده ای با استفاده از فنون الکتروشیمیایی جهت آنالیز و شناسایی گروه-های مختلف مواد در محیط های مختلف، از جمله نمونه های دارویی، آلاینده های زیستی و سیستم های بیولوژیکی در مراحل مختلف تولید تا ارائه به بازار مورد استفاده قرار گرفته است [۲]. سادگی، کم هزینه بودن و عدم نیاز به افراد متخصص جهت استفاده از مزایایی این روش ها هستند [۳، ۴]. از طرف دیگر، اضافه ولتاژ بالای ترکیبات بیولوژیکی، اندازه گیری مستقیم آنها را در سطح الکترودهای معمولی با روش های الکتروشیمیایی با مشکل مواجه ساخته است. این موضوع منجر به کاهش حساسیت و گزینش پذیری در آنالیز الکتروشیمیایی این دسته از ترکیبات گردید. براین اساس، تلاش برای بهبود خواص سطح الکترودها منجر به کاربرد الکترودهای اصلاح شده با اصلاحگرهای ناهمگن در سطح الکترودها و یا اصلاحگرهای همگن در درون محلول شده است [۵]. این حدواسط ها انتقال الکترون بین سطح الکترودها و گونه مورد نظر را تسهیل کرده و باعث افزایش حساسیت و کاهش حد تشخیص در اندازه گیری های الکتروشیمیایی می شوند. کاربرد ترکیباتی که نسبت به آنالیز نمونه هدف به صورت اختصاصی عمل کنند یکی از مهمترین مراحل ساخت الکترودهای اصلاح شده به شمار می رود. از طرف دیگر این ترکیبات باید سازگار با بافت های بدن باشند تا بتوان آنها را بطور مستقیم در بافت هدف به کار برد. آنزیم ها و پروتئین ها مهمترین ترکیبات زیستی هستند که این هدف را تامین می کنند [۶]. همانطور که می دانیم واکنش های آنزیمی کاملاً اختصاصی عمل میکنند از طرف دیگر به علت سازگاری با شرایط طبیعی بدن انسان و حیوان سبب تخریب بافت ها نمی گردند. اشکال عمده در به کار گیری آنزیم ها و پروتئین ها در ساخت الکترودهای اصلاح شده برقراری ارتباط الکتریکی آنها می باشد زیرا گروه های آلی شکل دهنده به ساختار آنزیم خود به صورت عایقی در برابر نقل و انتقالات الکترونی عمل میکنند [۷]. بنابر این در مراحل ساخت الکترودها باید از موادی استفاده شود که علاوه بر سازگاری با بافت های بدن و برهمکنش خوب با آنزیم یا پروتئین، هدایت الکتریکی بالایی هم داشته باشند [۸-۱۲]. از طرف دیگر، در سال های اخیر استفاده از نانو مواد به علت کارایی بالا که در حوزه های وسیعی از زمینه های مختلف دانش مانند الکترونیک، کاتالیست، سرامیک، حسگرهای الکتروشیمیایی و ... دارند، گسترش قابل توجهی یافته است. گستردگی وسیع نانو مواد، کاربرد و دامنه کارایی آنها را در سیستم های الکتروشیمیایی به صورت قابل ملاحظه ای افزایش داده است [۱۳]. با کاهش اندازه مواد تا ابعاد نانومتری، خواص مکانیکی و الکتریکی مواد بهبود قابل توجهی پیدا می کنند. این تغییر در خواص الکتروشیمیایی و بهبود در انتقال الکترون باعث افزایش کارایی این دسته از ترکیبات در اصلاح الکترودها برای آنالیز ترکیبات بیولوژیکی شده است [۱۴-۱۶].

کامپوزیت ترکیبی است که از لحاظ ماکروسکوپی از چند ماده متمایز ساخته شده باشد، به طوری که این اجزاء به آسانی از یکدیگر قابل تشخیص باشند. برای ایجاد تغییر و بهینه کردن خواص فیزیکی و شیمیایی مواد، آن‌ها را ترکیب یا کامپوزیت می‌کنیم. در واقع، هدف از ایجاد کامپوزیت، به دست آوردن ماده‌ای ترکیبی با خواص مورد انتظار می‌باشد. نانوکامپوزیت نیز همان کامپوزیت است که یک یا چند جزء از آن، ابعاد کمتر از ۱۰۰ نانومتر دارد. نانوکامپوزیت‌ها از دو فاز تشکیل شده‌اند. فاز اول یک ساختار بلوری است که در واقع پایه یا ماتریس نانوکامپوزیت محسوب می‌شود و ممکن است از جنس پلیمر، فلز و یا سرامیک باشد [۱۷، ۱۸]. فاز دوم نیز ذراتی در مقیاس نانومتر می‌باشند که به عنوان تقویت کننده به منظور اهداف خاص از قبیل استحکام، مقاومت، هدایت الکتریکی، خواص مغناطیسی و ... در درون فاز اول (ماده پایه) توزیع می‌شوند. حضور ذرات و الیاف در ساختار نانوکامپوزیت‌ها معمولاً باعث ایجاد استحکام در ماده‌ی پایه می‌شود [۱۹]. در واقع هنگامی که ذرات و یا الیاف درون یک ماده‌ی پایه توزیع شوند، نیروهای اعمال شده به کامپوزیت به طور یکنواختی به ذرات یا الیاف منتقل می‌شود. با توزیع مواد پرکننده درون ماده پایه خصوصیات نظیر استحکام، سختی، خواص تریبولوژیکی و تخلخل تغییر می‌کند. به علاوه اجزاء نانوکامپوزیت‌ها بر اثر برهمکنش سطحی بین ماده‌ی پایه و مواد پرکننده، از خواص بهتری برخوردار می‌شوند [۲۰-۲۲]. استفاده از نانوکامپوزیت‌ها برای اصلاح سطوح مختلف الکترودی در سالهای اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۵]. سان و همکارانش با استفاده از نانوکامپوزیت متشکل از گرافن، دی‌اکسید تیتانیوم و کیتوسان به بررسی رفتار الکتروشیمیایی هموگلوبین پرداخته و توسط الکترواد اصلاح شده پیشنهادی فرایند احیای هیدروژن پراکسید را ارزیابی کرده‌اند [۲۳]. کافی و همکارانش با استفاده از یک ساختار شبکه‌ای نانولوله‌های کربنی و هموگلوبین تثبیت شده بر سطح الکترواد طلای عامل دار شده به بررسی رفتار الکتروشیمیایی هموگلوبین پرداخته و توسط الکترواد اصلاح شده پیشنهادی فرایند احیای هیدروژن پراکسید را بررسی کرده‌اند [۱۱]. وانگ و همکارانش به بررسی ویژگی‌های الکتروکاتالیزی هموگلوبین تعبیه شده در یک شبکه پلیمری و نانولوله‌های کربنی پرداخته‌اند. در این کار با استفاده از تکنیک‌های ولتامتری حضور موثر هموگلوبین در ساختار کامپوزیت مورد بررسی قرار گرفته است [۲۴].

در این مقاله نانوکریستال‌های آهن-نیکل با استفاده از روش آسیاب گلوله‌ای سنتز شده و نمونه سنتزی با استفاده از روشهای SEM، TEM و XRD مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت. پس از سنتز نانوکریستال‌های آهن-نیکل و شناسایی آن، به همراه نانولوله‌های کربنی چند دیواره به منظور ساخت الکترواد خمیر کربن اصلاح شده استفاده خواهد شد. سپس هموگلوبین در سطح الکترواد خمیر کربن اصلاح شده با استفاده از روش قطره گذاری به منظور ساخت زیست حسگر تثبیت می‌گردد. رفتار الکتروشیمیایی زیست حسگر تهیه شده و عملکرد آن در اندازه گیری هیدروژن پراکسید توسط روشهای مختلف

الکتروشیمیایی مانند ولتامتری چرخه‌ای، آمپرومتری و اسپکتروسکوپی امپدانس الکتروشیمیایی مورد بررسی قرار خواهد گرفت. در پایان توانایی این زیست حسگر در آنالیز نمونه های حقیقی ارزیابی می شود.

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- مواد شیمیایی

پودر آهن خالص (۹۹/۹٪)، پودر نیکل خالص (۹۹/۹٪)، پودر گرافیت، تولوئن و هیدروژن پراکساید از شرکت مرک تهیه شده اند. هموگلوبین گاوی و نانولوله های کربنی چند دیواره (قطر خارجی ۱۵-۱۰ نانومتر، قطر داخلی ۶-۲ نانومتر و طول ۱۰-۰/۱ میکرومتر) از شرکت سیگما-آلدریج تهیه شده اند. روغن پارافین (دانسیته  $0.88 \text{ g cm}^{-3}$ )، دی اتیل اتر، سدیم هیدروژن فسفات، سدیم دی هیدروژن فسفات و سدیم هیدروکسید از شرکت فلوکا تهیه شدند. از محلول های سدیم دی هیدروژن فسفات و دی سدیم منوهیدروژن فسفات برای تهیه بافرهای فسفات به غلظت کل  $0.1 \text{ M}$  در pH های مختلف استفاده شد و سپس pH محلول های بافر تهیه شده توسط دستگاه pH متر تنظیم شد. تمامی محلول ها پیش از انجام آزمایش توسط گاز نیتروژن، اکسیژن زدایی شدند.

### ۲-۲- تهیه نمونه های حقیقی

نمونه های حقیقی بیولوژیکی پلاسمای خون از سانتریفیوژ کردن نمونه های خون فرد سالم با سرعت  $3000$  دور بر دقیقه به مدت  $15$  دقیقه و جمع آوری محلول بالای حاصل (آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر عابد-سبزواری) و رقیق کردن  $100 \mu\text{L}$  از این نمونه با  $10 \text{ mL}$  محلول بافر فسفات آماده شده اند. نمونه حقیقی ادرار، پس از جمع آوری، بطور منجمد در دمای  $20^\circ\text{C}$  در فریزر نگهداری شد. در زمان استفاده، نمونه ادرار منجمد در دمای اتاق قرار گرفته و پس از آن به مدت  $10$  دقیقه در  $4000$  دور در دقیقه سانتریفیوژ می گردید. سپس مایع رویی از یک صافی  $0.45 \mu\text{M}$  عبور داده و توسط محلول بافر فسفات  $0.1 \text{ M}$  در بالن حجمی  $10/0$  میلی لیتری به حجم رسانده می شد. در تمامی موارد فوق pH محلول های نهایی برابر با  $7/0$  تنظیم شد.

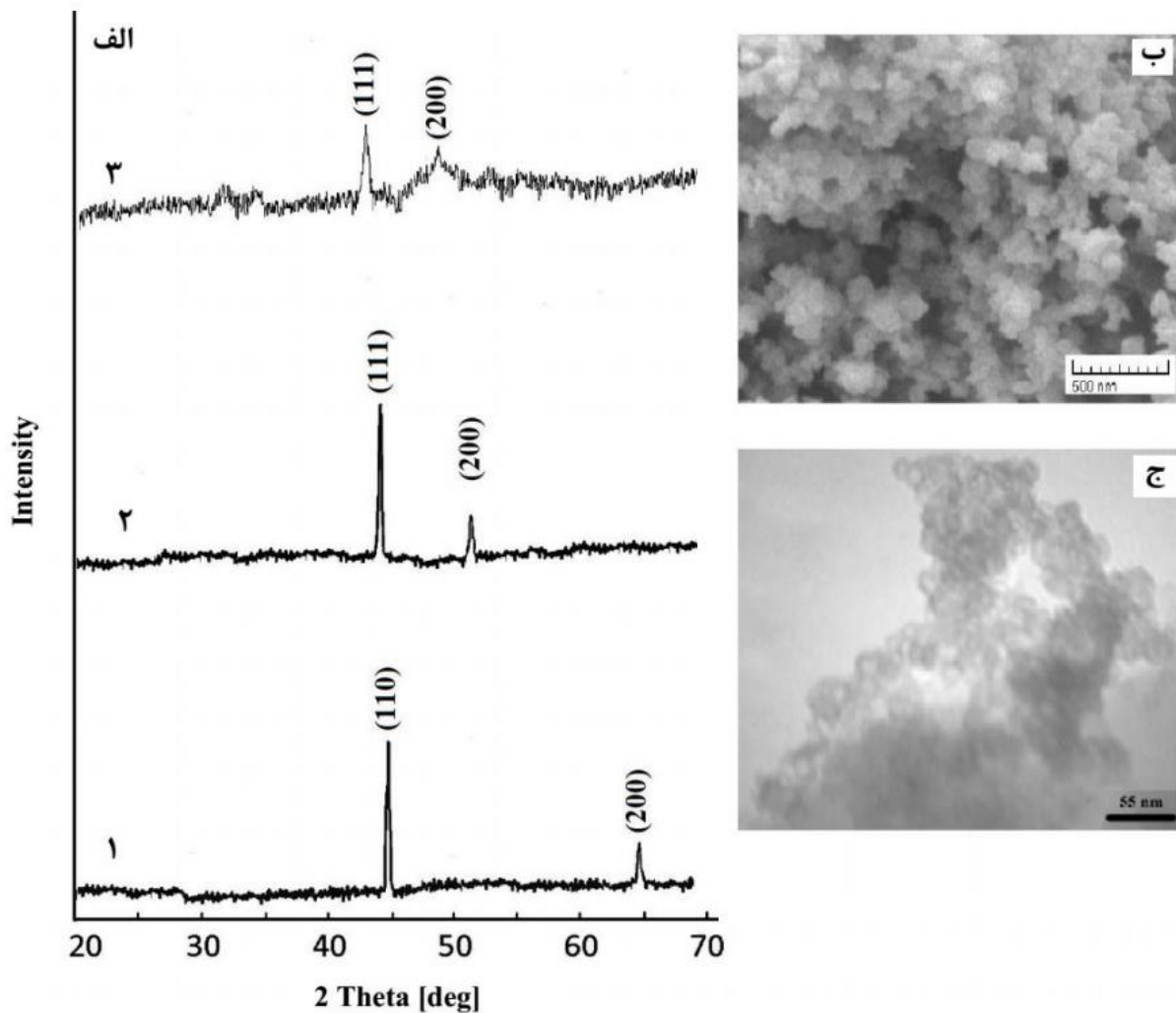
### ۲-۳- دستگاه ها

مطالعات ولتامتری با استفاده از یک دستگاه پلاروگراف سه الکترودی مترواهم مدل ۷۹۷ انجام شد. سیستم سه الکترودی شامل الکترود خمیر کربن اصلاح نشده یا اصلاح شده (قطر داخلی  $3/4$  میلی متر) به عنوان الکترود کار، الکترود کالومل اشباع شده با کلرید پتاسیم به عنوان مرجع و سیم پلاتین به عنوان الکترود کمکی استفاده شد. در تهیه محلول های بافر (به عنوان الکترولیت پشتیبان در آزمایش های ولتامتری) از دستگاه pH متر ساخت شرکت مترو اهم از کشور سوئیس استفاده شد. تصویر برداری و بررسی ریخت شناسی نانو ساختار ها با استفاده از میکروسکوپ انتقال الکترونی AB912 LEO میکروسکوپ روبش الکترونی VEGA-Tescan انجام شد. آنالیز XRD با استفاده از دستگاه shimadzu XD-3A توسط تشعشعات Cu

K $\alpha$  در ۱/۵۴ آنگسترم انجام گرفت. از دستگاه پتانسیواستات-گالوانواستات Ivium ساخت کشور هلند مجهز به نرم افزار Ivium Soft جهت انجام آزمایش های آمپرومتری و اسپکتروسکوپی امپدانس الکتروشیمیایی استفاده شد.

#### ۲-۴- سنتز نانوکریستالهای آهن- نیکل با درصد جرمی ۵۰/۵۰ (Fe@Ni)

سنتز نانوکریستال های آهن-نیکل، با استفاده از یک روش گزارش شده در سال ۲۰۰۶ با کمی اصطلاحات انجام شده است [۲۵]. این روش یک آلیاژسازی مکانیکی است که در آن پودرهای خالص عنصری آهن (درصد خلوص ۹۹/۹٪) و نیکل (درصد خلوص ۹۹/۹٪) همراه با گلوله های فولادی ضد زنگ در یک ویال استوانه ای تحت جو گاز آرگون مهر و موم شده و به شدت آسیاب می شوند. نسبت وزنی گلوله ها به مخلوط پودر عنصر ها با نسبت ۳۰ به ۱ بهینه سازی شده است. از تولوئن به عنوان عامل کنترل فرایند برای پیشگیری از تراکم ذرات در طی مراحل سنتز نانوذرات استفاده شده است. مراحل ساخت نانوکریستال ها از جمله زمان آسیاب بهینه سازی گردیده است. بررسی ها نشان داده که زمان ۷۰ ساعت در سرعت پرخش ۳۰۰ دور بر دقیقه مناسب ترین زمان برای ساخت نانوکریستال ها بوده است. با استفاده از طیف های بدست آمده از XRD ساختار نانوکریستال های آهن- نیکل و خلوص آنها مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۱-الف طیف های پراش اشعه ایکس حاصل از نمونه آهن خالص، نیکل خالص و نانوکریستال های آهن- نیکل را نشان می دهد. با توجه به شکل ۱-الف، دماغه های ظاهر شده در زاویه های ۴۵<sup>o</sup> و ۵۱/۸<sup>o</sup> در نانوکریستال های آهن- نیکل سنتزی و مقایسه آنها با طیف های XRD بدست آمده از آهن و نیکل خالص به وضوح تشکیل نانوکریستال های آهن- نیکل را اثبات می کند [۲۷-۲۵]. با بکار گیری معادله شرر میانگین اندازه نانوذرات سنتز شده در حدود ۱۳ نانومتر بدست آمده است [۲۸]. ریخت شناسی و ساختار سطحی نانوکریستال های سنتز شده همچنین توسط تصاویر SEM (شکل ۱-ب) و TEM (شکل ۱-ج) مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در تصاویر SEM و TEM مشاهده می شود، نانوکریستال ها از توزیع مناسبی برخوردار بوده و میانگین اندازه ی نانوذرات حاصل، طیف های XRD بدست آمده را تایید می کنند.



شکل ۱. الف) طیف XRD برای آهن خالص (۱)، نیکل خالص (۲) و نانوکریستال های آهن- نیکل (۳). ب) تصویر SEM نانوکریستال های آهن- نیکل. ج) تصویر TEM نانوکریستال های آهن- نیکل.

## ۲-۵- تهیه الکتروده های خمیر کربن اصلاح شده

به منظور تهیه الکتروده های خمیر کربن اصلاح شده، مقدار ۰/۰۸۵ گرم پودر گرافیت، ۰/۰۱ گرم نانوذرات آهن- نیکل و ۰/۰۰۵ گرم از نانولوله های کربنی چند دیواره را در یک هاون ریخته و سپس به خوبی ساییده، یک یا دو میلی لیتر دی اتیل اتر به عنوان حلال افزوده تا مخلوط همگنی حاصل شود. حلال فرار را در زیر هود در دمای اتاق تبخیر کرده سپس به مخلوط همگن حاصل ۱۲ میکرولیتر پارافین اضافه و حدود سی دقیقه عمل ساییدن انجام گرفت تا یک خمیر کربنی همگن تهیه شود. خمیر به دست آمده در انتهای یک لوله شیشه ای به طول ۱۰ سانتی متر و قطر ۳/۴ میلی متر به خوبی فشرده شد. برای بدست آوردن سطح تازه ای از الکتروده، سطح آن بر روی یک کاغذ به آرامی صیقل داده شد. از یک سیم نازک مسی برای برقراری ارتباط الکتریکی استفاده گردید. پس از تهیه الکتروده خمیر کربن اصلاح شده، ۸ میکرولیتر از محلول هموگلوبین با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر به روش قطره گذاری روی سطح الکتروده اصلاح شده نشانده شد. به منظور تثبیت هموگلوبین در سطح

الکترو، زیست حسگر تهیه شده به مدت ۲ ساعت در یخچال نگهداری شد. الکترو اصلاح شده حاصل به اختصار زیست حسگر (Hb-Ni@Fe/MWCNTs/CPE) نامیده شد. برای مقایسه الکتروهای خمیر کربن برهنه (CPE) (حاوی پودر گرافیت و روغن پارافین)، الکترو خمیر کربن اصلاح شده با هموگلوبین (Hb-CPE)، الکترو خمیر کربن اصلاح شده با نانوکریستال های آهن- نیکل (Fe@Ni/CPE)، الکترو خمیر کربن اصلاح شده با نانوکریستال های آهن- نیکل و هموگلوبین (Hb-Fe@Ni/CPE) و الکترو خمیر کربن اصلاح شده با نانوکریستال های آهن- نیکل و نانولوله های کربنی چند دیواره (Fe@Ni/MWCNT/CPE) نیز به همین روش تهیه شدند.

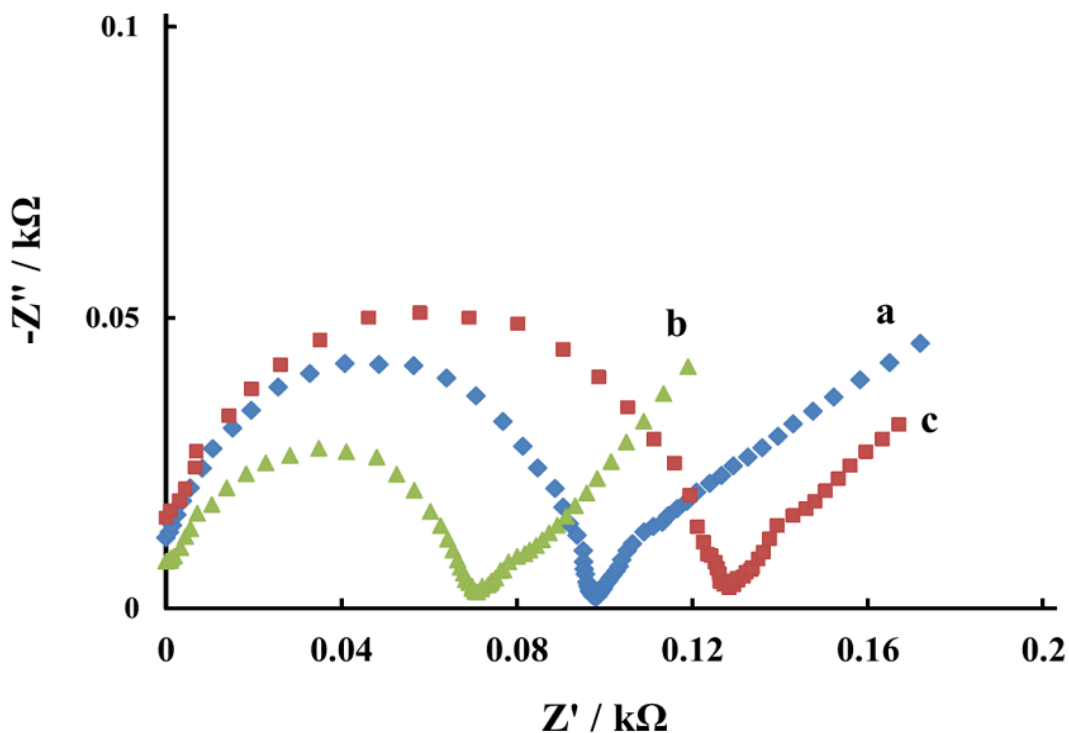
### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- مطالعات طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی الکتروهای اصلاح شده

اسپکتروسکوپی امپدانس تکنیک موثر برای بررسی خصوصیات الکتروهای اصلاح شده و درک سرعت واکنش های الکتروشیمیایی می باشد. طیف های امپدانس حاصل، موسوم به نمودار نایکوئیست، در برگرفته ی اطلاعات وسیع درباره ی سطح مشترک باردار و واکنش انتقال الکترون می باشد. نمودار های نایکوئیست معمولا شامل یک نیم دایره قرار گرفته در روی محور است که در ادامه به یک خط مستقیم وصل می شود. قسمت نیم دایره (مشاهده شده در فرکانس های بالا) به فرایند محدود شده با انتقال الکترون ( $R_{ct}$ ) مربوط می شود. در حالی که قسمت خط مستقیم (محدوده ی فرکانس های پایین) نشان دهنده ی فرایند محدود شده با انتشار می باشد. در پژوهش حاصل از تکنیک طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی برای بررسی تغییرات مقاومت الکتریکی سطح الکترو در طی مراحل مختلف اصلاح آن استفاده شد. نتایج حاصل، اطلاعات ارزشمندی در رابطه با خصوصیات سطح الکتروهای مورد بررسی فراهم می کند.

بدین منظور، منحنی نایکوئیست الکتروهای خمیر کربن برهنه (CPE)، اصلاح شده با نانوکریستال های آهن-نیکل و نانولوله های کربنی چند دیواره (Ni@Fe/MWCNTs/CPE) و اصلاح شده با هموگلوبین و با نانوکریستال های آهن-نیکل و نانولوله های کربنی چند دیواره (Hb-Ni@Fe/MWCNTs/CPE) در محلول ۰/۰۱ مولار فرو سیانید پتاسیم /فری سیانید پتاسیم (با نسبت حجمی یک به یک) ثبت شد (شکل ۲). قطر نیم دایره در منحنی نایکوئیست، سینتیک انتقال الکترون کاوشگر ردوکس را در سطح مشترک الکترو و محلول نشان می دهد. در سطح CPE، یک نیم دایره کوچک با قطر تقریبی ۹۳۰ اهم متصل به یک خط مستقیم را می توان مشاهده نمود (منحنی a). در سطح Ni@Fe/MWCNTs/CPE، قطر نیم دایره کوچک شده و تقریبا به ۶۳۰ اهم می رسد و نشان می دهد که با اضافه شدن نانوکریستال های آهن-نیکل و نانولوله های کربنی چند دیواره به ساختار الکترو مقاومت انتقال الکترون بطور قابل ملاحظه ای کاهش می یابد (منحنی b). با تثبیت هموگلوبین در سطح الکترو در Hb-Ni@Fe/MWCNTs/CPE، مقاومت انتقال الکترون بطور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد و  $R_{ct}$  به مقدار

۱۹۶۹ اهم می‌رسد (منحنی c). افزایش  $R_{ct}$  در سطح Hb-Ni@Fe/MWCNTs/CPE به دو نکته برمی‌گردد: (۱) هموگلوبین موجود در سطح الکترود بار سطحی منفی زیادی دارد. در نتیجه، با قرار گرفتن الکترود اصلاح شده با هموگلوبین در محلول دارای پتاسیم فرو سیانید / پتاسیم فری سیانید به دلیل وجود دافعه بارهای منفی بین زوج ردوکس پتاسیم فرو سیانید / پتاسیم فری سیانید و هموگلوبین، مقاومت انتقال الکترون در سطح الکترود افزایش می‌یابد. (۲) طبیعت بخش عایق مولکول پروتئین منجر به افزایش مقاومت در برابر انتقال الکترون در سطح الکترود اصلاح شده می‌گردد. نتایج حاصل به وضوح تثبیت موفقیت-آمیز هموگلوبین در سطح زیست حسگر را تایید می‌کند. همچنین، کاهش  $R_{ct}$  در منحنی (b) نسبت به منحنی (c) نشان می‌دهد که الکترود اصلاح شده با نانوکریستال های آهن-نیکل و نانولوله های کربنی چند دیواره، سبب تسهیل انتقال الکترون و در نتیجه کاهش مقاومت در برابر زوج ردوکس با بار منفی پتاسیم فری سیانید / پتاسیم فرو سیانید نسبت به سطح الکترود اصلاح شده با هموگلوبین می‌گردد.



شکل ۲. منحنی نایکوئیست الکترودهای (a) CPE، (b) Ni@Fe/MWCNTs/CPE و (c) Hb-Ni@Fe/MWCNTs/CPE در محلول

۰/۰۱ مولار فرو سیانید پتاسیم / فری سیانید پتاسیم (با نسبت حجمی یک به یک).

### ۲-۳- مطالعه رفتار الکتروشیمیایی هموگلوبین در سطح الکترود اصلاح شده

ولتامتری چرخه ای، روشی است که دارای بیشترین کاربرد در دریافت اطلاعات کیفی درباره واکنش های الکتروشیمیایی می باشد. قدرت ولتامتری چرخه ای از توانایی آن در تامین سریع اطلاعات چشمگیر درباره ترمودینامیک فرآیندهای ردوکس و

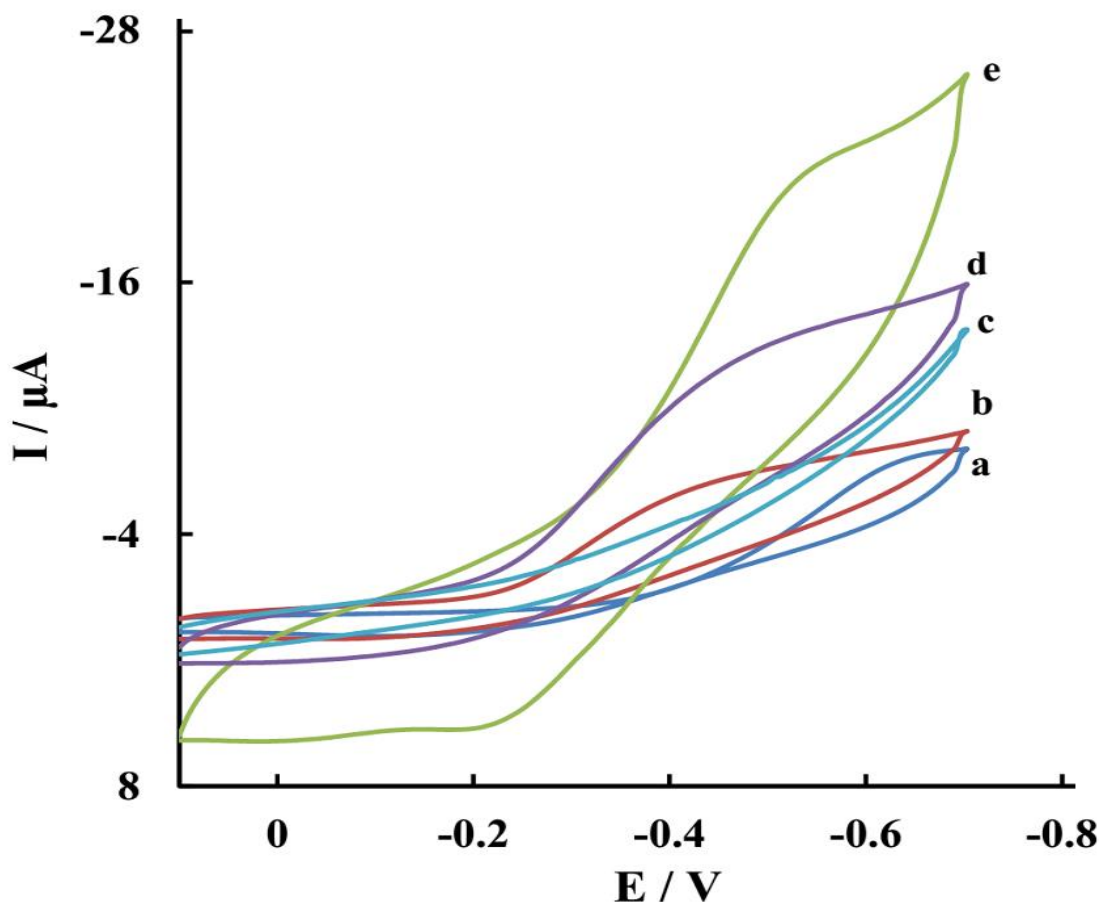


سنتیک واکنش های انتقال الکترون ناهمگن و نیز در مورد واکنش های شیمیایی و فرآیندهای جذب سطحی همراه حاصل می شود. ولتامتری چرخه ای غالباً اولین آزمایش انجام یافته در یک بررسی الکتروشیمی تجزیه ای است.

ولتاموگرام های چرخه ای الکترودهای CPE، Fe@Ni/MWCNT/CPE، Hb-CPE، Hb-Fe@Ni/CPE و Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) با سرعت روبش پتانسیل ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه در محیط اکسیژن زدایی شده در شکل ۳ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می شود، الکترودهای CPE (منحنی a) و Fe@Ni/MWCNT/CPE (منحنی c) در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰)، هیچ دماغه ای در محدوده پتانسیل کاری نشان نمی دهند. همچنین الکترودهای Hb-CPE (منحنی b) نیز در این محلول دارای هیچ دماغه ای نیست که نشان می دهد هموگلوبین در سطح الکترودهای برهنه قادر به انتقال الکترون مستقیم نیست. در حالیکه در سطح الکترودهای Hb-Fe@Ni/CPE یک زوج دماغه اکسایش و کاهش ضعیف ظاهر می شود (منحنی d)، که نشان می دهد حضور نانوکریستال های آهن-نیکل تا حدودی می تواند انتقال الکترون مستقیم هموگلوبین را تسهیل کند. در نهایت، در سطح Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE، یک زوج دماغه اکسایش و کاهش کاملاً مشخص ترتیب در پتانسیل های ۰/۲۴- و ۰/۵۱- ولت نسبت به الکترودهای مرجع نقره/نقره کلرید ایجاد می شود (منحنی e) که به فرایند اکسایش-کاهش زوج ردوکس Fe(III)/Fe(II) گروه هم<sup>۱</sup> موجود در مولکول هموگلوبین مربوط می شود. پتانسیل نیم موج (E<sub>1/2</sub>) این زوج در سطح الکترودهای اصلاح شده، برابر با ۰/۳۷- ولت نسبت به الکترودهای مرجع نقره/کلرید نقره برآورد گردید. میزان جدایی پتانسیل دماغه های آندی و کاتدی (ΔE<sub>p</sub>) برابر با ۰/۲۷- میلی ولت و همچنین نسبت شدت جریان دماغه کاتدی به دماغه آندی پس از حذف جریان زمینه نزدیک به یک می باشد. نتایج حاصل نشان می دهد، هموگلوبین در سطح زیست حسگر Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE رفتار الکتروشیمیایی شبه برگشت پذیر دارد. با مقایسه الکترودهای Hb-Fe@Ni/CPE و Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE می توان نقش حضور نانولوله های کربنی چند دیواره را در روند انتقال الکترون مستقیم هموگلوبین مشاهده نمود و همان طور که نتایج نشان می دهد نانولوله های کربنی چند دیواره به عنوان یک عامل تقویت کننده در کنار نانوکریستال های آهن-نیکل قادر به افزایش چشمگیر جریان حاصل از انتقال الکترون مستقیم هموگلوبین می باشند. بطور کلی میتوان اظهار کرد که حضور نانولوله های کربنی چند دیواره با مساحت سطح بالا در سطح الکترودهای یک طرفه و افزایش هدایت الکتریکی ناشی از حضور نانوکریستال های آهن-نیکل در سطح الکترودهای اصلاح شده با امکان برهمکنش دوگانه الکترواستاتیکی با مولکول هموگلوبین از طرف دیگر، می تواند توانایی جذب هموگلوبین را افزایش دهد و در نتیجه سبب تسهیل انتقال الکترون مستقیم بین هموگلوبین و سطح الکترودهای اصلاح شده در زیست حسگر پیشنهادی گردد.

<sup>۱</sup> Heme

مقدار پوشش سطحی الکترواد اصلاح شده را می توان از معادله  $\Gamma = Q/nFA$  محاسبه نمود، که در آن  $Q$  بار بدست آمده از انتگرال گیری سطح زیر دماغه ی کاتدی در منحنی (e) شکل ۳ است و  $n$  تعداد الکترون های شرکت کننده در واکنش،  $A$  مساحت الکترواد و  $\Gamma$  پوشش سطحی الکترواد می باشد. با استفاده از معادله ذکر شده مقدار پوشش سطحی الکترواد در سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه،  $1/3 \times 10^{-8} \text{ mol cm}^{-2}$  محاسبه گردید. پوشش سطحی بدست آمده چندین برابر بزرگتر از میزان تئوری یک پوشش تک لایه ( $1/89 \times 10^{-11}$  مول بر سانتی متر مربع) برای حسگرهایی است که در ساختار آنها از نانولوله های کربنی استفاده شده است [۲۹]. این مقایسه نشان می دهد که نانوکریستال های آهن- نیکل نقش کلیدی در افزایش پوشش سطحی هموگلوبین، بهبود و تسهیل انتقال الکترون مستقیم در زیست حسگر ساخته شده دارند.



شکل ۳. ولتاموگرام های چرخه ای الکتروادهای (a) CPE، (b) Hb-CPE، (c) Fe@Ni/MWCNT/CPE، (d) Hb-Fe@Ni/CPE و (e) Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) با سرعت روبش پتانسیل ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه.

### ۳-۳- بررسی اثر سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروشیمیایی $Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE$

به منظور بررسی ماهیت شدت جریان فارادی ایجاد شده، تغییرات شدت جریان بر حسب تغییرات سرعت روبش پتانسیل مورد بررسی قرار گرفت.

شکل ۴-الف، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکتروود اصلاح شده Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE را در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH=۷/۰ در سرعت‌های روبش مختلف نشان می‌دهد. شکل (۴-ب) نشان می‌دهد که شدت جریان دماغه‌های آندی و کاتدی وابسته به هموگلوبین بطور خطی با سرعت روبش پتانسیل در محدوده‌ی ۵ تا ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، افزایش می‌یابد. این رابطه خطی حاکی از یک فرایند الکتروشیمیایی کنترل شده سطحی می‌باشد.

مقدار ضریب انتقال ( $\alpha$ ) و ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن ( $k_s$ ) را بر اساس تئوری لاورون [۳۰] و با توجه به شیب و عرض از مبدا نمودارهای تغییرات پتانسیل دماغه‌های آندی و کاتدی نسبت به لگاریتم سرعت روبش پتانسیل در سرعت‌های روبش بیشتر از ۲۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، براساس معادله ۱ می‌توان محاسبه کرد:

$$E_{pa} = E^{\circ} - \left[ \frac{2.3RT}{(1-\alpha)nF} \right] \log \left\{ \left[ \frac{(1-\alpha)nF}{RT} \right] \times \left[ \frac{v}{K_s} \right] \right\} \quad (\text{معادله ۱})$$

که در این معادله  $E^{\circ}$ ، پتانسیل استاندارد فرمال،  $E_{pa}$  پتانسیل دماغه آندی،  $v$  سرعت روبش پتانسیل،  $\alpha$  ضریب انتقال،  $n$  تعداد الکترون‌های مبادله شده،  $F$  عدد فارادی،  $R$  ثابت عمومی گازها،  $T$  دمای محیط برحسب کلین و  $k_s$  ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن می‌باشند. معادلات (۲) و (۳)، با استخراج شیب و عرض از مبدا تغییرات  $E_{pa}$  بر حسب  $\log v$  بر مبنای معادله (۱) بدست می‌آیند:

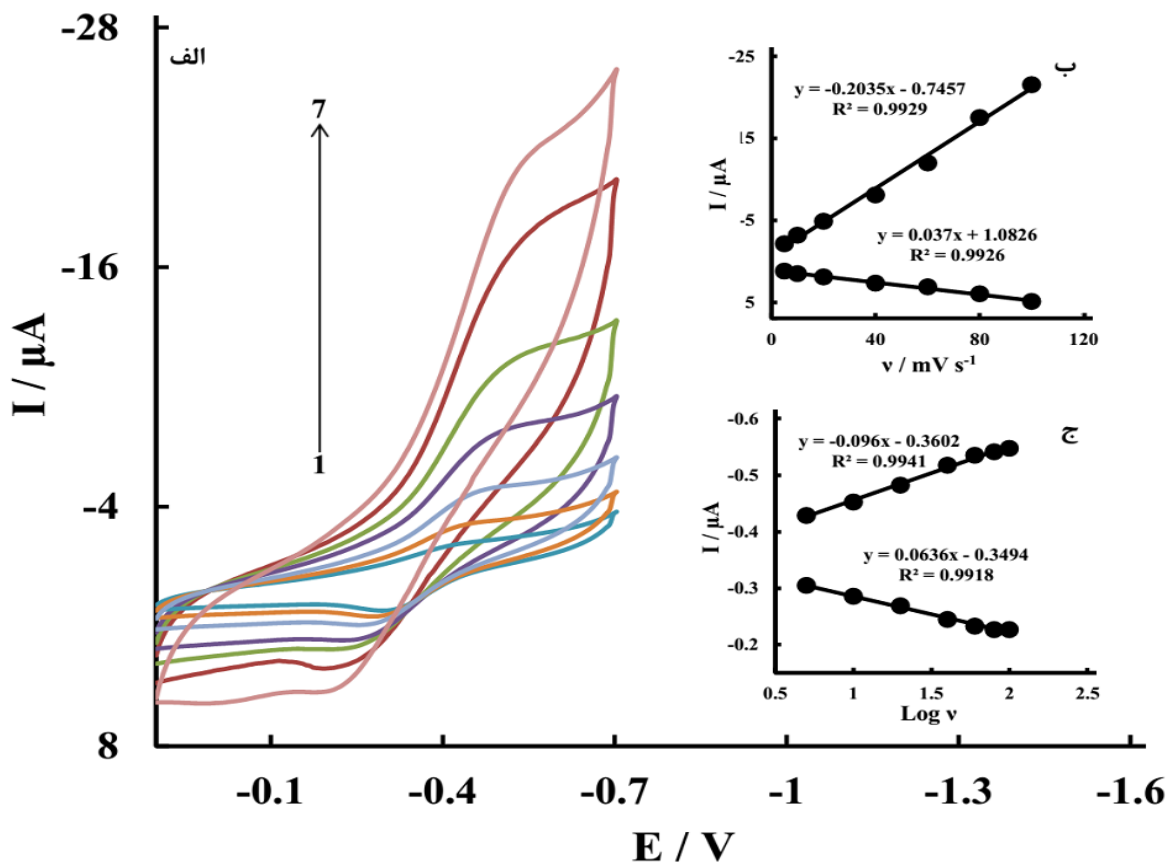
$$\text{شیب} = - \frac{2.3RT}{(1-\alpha)nF} = S \quad (\text{معادله ۲})$$

$$\text{عرض از مبدا} = E^{\circ} + S \log \left( \frac{-2.3}{S} \right) - S \log (K_s) \quad (\text{معادله ۳})$$

با توجه به شیب بدست آمده (نمودار نشان داده نشده است) و جایگذاری در معادله (۲)، مقدار ضریب انتقال در سطح الکتروود اصلاح شده Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE برابر با ۰/۵۲ برآورد شد. همچنین با استفاده از عرض از مبدا این نمودار، مقدار ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن ( $k_s$ ) در سطح این الکتروود اصلاح شده، برابر با  $0.99 \text{ s}^{-1}$  بدست آمد. مقدار  $k_s$  بدست آمده در سطح الکتروود اصلاح شده پیشنهادی از مقدار بدست آمده برای الکتروود اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی و هموگلوبین ( $\text{s}^{-1}$ ) ۰/۵۸ [۳۱]، الکتروود اصلاح شده با فیلم نانوکامپوزیتی پلیمر-هموگلوبین-نانولوله‌های کربنی ( $0.4 \text{ s}^{-1}$ ) [۳۲]، الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات کربنات کلسیم/نافیون و هموگلوبین ( $0.75 \text{ s}^{-1}$ ) [۳۳] و میکرو الکتروود اصلاح شده با هموگلوبین و نانولوله‌های کربنی ( $0.062 \text{ s}^{-1}$ ) [۳۴]، به مقدار قابل توجهی بزرگتر است. این مقایسه نشان می‌دهد Fe@Ni/MWCNT

محیط مناسبی را برای تثبیت و افزایش سرعت انتقال الکترون هموگلوبین در سطح الکتروکد خیمیر کربن اصلاح شده فراهم می- نماید.

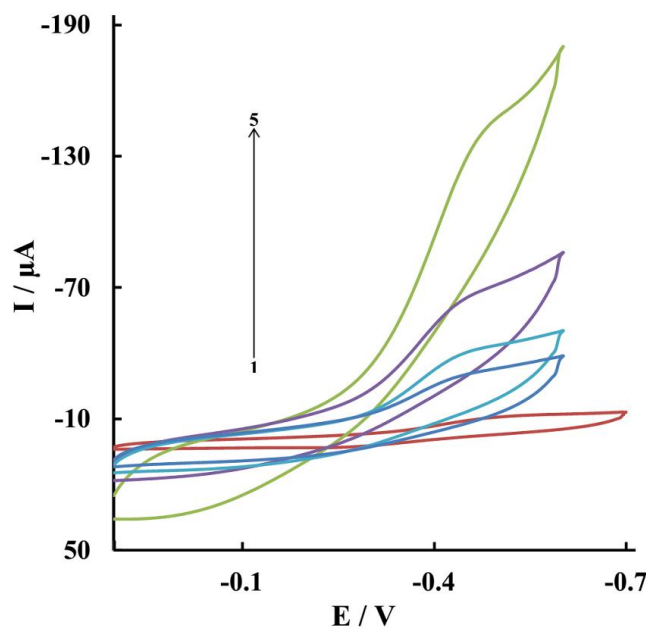
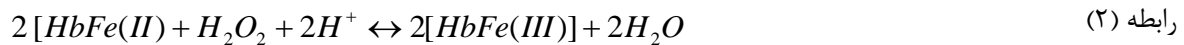
از روش ولتامتری چرخه‌ای برای بررسی میزان پایداری الکتروکد اصلاح شده استفاده گردید و اثر چرخه‌های متوالی بر رفتار الکتروشیمیایی آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن است که پتانسیل اکسایش و کاهش هموگلوبین در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با  $\text{pH}=7$  در محدوده پتانسیل  $-0.7$  تا  $0.1$  ولت در سرعت روبش  $100$  میلی ولت بر ثانیه، بعد از  $30$  چرخه پتانسیلی متوالی تقریباً ثابت هستند. همچنین جریان دماغه‌های آندی و کاتدی بعد از  $30$  چرخه پتانسیلی متوالی، کمتر از  $5$  درصد نسبت به جریان در چرخه اول، کاهش نشان می‌دهند که این نتایج حاکی از پایداری خوب زیست‌حسگر تهیه شده می‌باشد. همچنین پس از نگهداری الکتروکد اصلاح شده به مدت  $1$  هفته در دمای  $+4$  درجه سانتیگراد، پاسخ الکتروکاتالیزوری آن نسبت به کاهش هیدروژن پراکساید به  $85$  درصد الکتروکد اصلاح شده تازه رسید.



شکل ۴. (الف) ولتامگرام چرخه‌ای الکتروکد خیمیر کربن اصلاح شده نانوکریستال‌های آهن-نیکل در سرعت‌های مختلف: (۱)  $5$ ، (۲)  $10$ ، (۳)  $20$ ، (۴)  $30$ ، (۵)  $40$ ، (۶)  $50$ ، (۷)  $60$ ، (۸)  $80$ ، (۹)  $100$ ، (۱۰)  $150$ ، (۱۱)  $200$ ، (۱۲)  $300$ ، (۱۳)  $400$ ، (۱۴)  $500$ ، (۱۵)  $700$ ، (۱۶)  $1000$  میلی ولت بر ثانیه در محلول بافر فسفات  $0.1$  مولار با  $\text{pH}=7$ ، (ب) نمودار تغییرات جریان دماغه آندی و کاتدی نسبت به سرعت روبش پتانسیل. (ج) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه آندی و کاتدی نسبت به لگاریتم سرعت روبش پتانسیل.

## ۳-۴- بررسی کاهش الکتروکاتالیزی هیدروژن پراکساید در سطح Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE

به منظور بررسی اثر الکتروکاتالیزی هموگلوبین در سطح Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای این الکتروود اصلاح شده در بافر فسفات ۰/۱ M با pH=۷/۰ در غیاب و حضور غلظت‌های متفاوت از هیدروژن پراکساید ثبت شد (شکل ۵). بطوریکه ملاحظه می‌شود، با افزایش هیدروژن پراکساید به محلول بافر فسفات، شدت جریان دماغه کاتدی مربوط به کاهش هموگلوبین افزایش می‌یابد در حالیکه دماغه آندی آن ناپدید می‌شود که نشان‌دهنده فرایند الکتروکاتالیز کاهش هیدروژن پراکساید در سطح این الکتروود اصلاح شده است. جریان الکتروکاتالیزی این زیست‌حسگر با افزایش غلظت هیدروژن پراکساید از ۰/۰۰۵ میلی مولار به ۰/۱۲۵ میلی مولار، نیز افزایش می‌یابد. نتایج ارائه شده در این بررسی مجدداً تایید می‌کند که تثبیت مغناطیسی هموگلوبین بر روی Fe@Ni/MWCNT در سطح الکتروود خمیرکربن اصلاح شده، راهبرد مناسبی برای ساخت زیست‌حسگرهای نسل سوم می‌باشد. مکانیسم پیشنهادی برای کاهش الکتروکاتالیزی هیدروژن پراکساید در سطح الکتروود Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE به صورت زیر بیان می‌شود:



شکل ۵. الف) ولتاموگرام چرخه‌ای الکتروود اصلاح شده در محلول اکسیژن زدایی شده بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH=۷ در غلظت‌های (۱) ۰، (۲)

۰/۰۰۵، (۳) ۰/۰۲۵، (۴) ۰/۰۴ و (۵) ۰/۱۲۵ میلی مولار هیدروژن پراکساید در سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

## ۳-۴- اندازه گیری آمپرومتری هیدروژن پراکساید در سطح الکتروود اصلاح شده

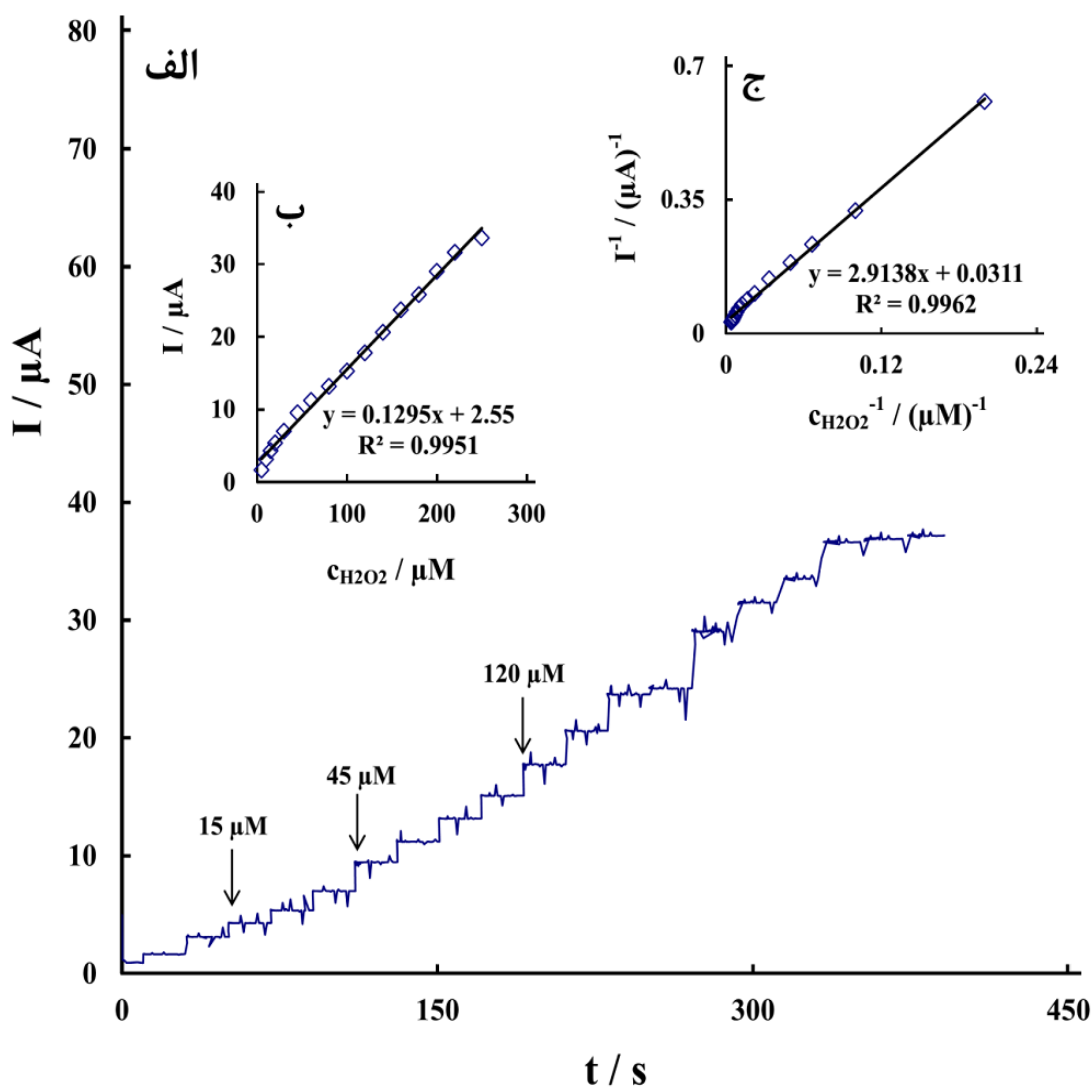
کاهش الکتروکاتالیزی هیدروژن پراکساید در سطح الکتروود اصلاح شده توسط روش آمپرومتری هیدرودینامیک مورد مطالعه قرار گرفت. پاسخ آمپرومتری الکتروود اصلاح شده Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE با اعمال پتانسیل ثابت ۰/۵۵- ولت نسبت به الکتروود مرجع، تحت شرایط همزدن مداوم و اتمسفر گاز نیتروژن در حین افزایش غلظت‌های مختلف هیدروژن پراکساید ثبت شد (شکل ۶). با استفاده از روش آمپرومتری، یک محدوده خطی غلظتی برای کاهش الکتروکاتالیزی هیدروژن پراکساید از ۵/۰ تا ۲۵۰/۰ میکرومولار در سطح این الکتروود اصلاح شده بدست آمد. حد تشخیص و حساسیت این الکتروود اصلاح شده با توجه به نمودار معیارگیری، به ترتیب ۱/۴۳ میکرومولار و ۰/۱۲۹۵ میکروآمپر/ میکرومولار بدست آمد.

همانطور که در شکل (۶-الف) مشاهده می‌شود، وقتی غلظت هیدروژن پراکساید بیشتر از ۲۵۰/۰ میکرو مولار می‌شود، جریان دماغه در نمودار معیارگیری آن تقریباً ثابت می‌ماند که نشان دهنده مشخصات مدل مکانیسم میکائیلیس-منتن<sup>۱</sup> است. ثابت میکائیلیس-منتن ( $K_m$ ) که نشانه‌ای از سینیتیک آنزیم-سوبسترا است، با استفاده از معادله لاین ویور-برک<sup>۲</sup> (معادله ۴) قابل محاسبه است [۳۵]:

$$\frac{1}{I_{ss}} = \frac{1}{I_{max}} + \frac{K_m}{I_{max} C} \quad (\text{معادله ۴})$$

در معادله (۴)،  $I_{ss}$  جریان ایستا بعد از اضافه کردن نمونه،  $C$  غلظت نمونه، و  $I_{max}$  بیشترین جریان تحت شرایط اشباع از گونه شیمیایی هدف در محلول آزمایشی است. از روی شیب و عرض از مبدا نمودار لاین ویور-برک (معکوس شدت جریان در برابر معکوس غلظت هیدروژن پراکساید یا نمودار دوعکسی) در شکل ۶-ج، مقدار  $K_m$  برابر با ۹۳/۶۹ میکرومولار برآورد شد. مقدار  $K_m$  بدست آمده با استفاده از الکتروود Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE در مقایسه با کارهای مشابه دیگران بسیار کمتر است [۳۶، ۳۷، ۱۱]، که نشان‌دهنده حفظ فعالیت زیست کاتالیزی هموگلوبین تثبیت شده در سطح زیست حسگر ساخته شده و تمایل بالای آن نسبت به کاهش هیدروژن پراکساید می‌باشد. جدول (۱)، کارایی زیست حسگر پیشنهادی را در کاهش هیدروژن پراکساید نسبت به دیگر حسگرهای ارائه شده توسط سایر محققین نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، زیست حسگر پیشنهادی دارای کمترین حد تشخیص نسبت به دیگر حسگرهای ارائه شده می‌باشد. حد تشخیص پایین بدست آمده در سطح الکتروود اصلاح شده Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE بیانگر فعالیت زیست الکتروکاتالیزوری بالای هموگلوبین موجود در سطح Fe@Ni/MWCNT/CPE است.

<sup>1</sup> Michaelis-Menten<sup>2</sup> Lineweaver-Burk



شکل ۶. الف) پاسخ آمپرومتری زیست‌حسگر Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با  $pH=7.0$  تحت اتمسفر نیتروژن با اعمال پتانسیل ثابت  $-0.55$  ولت نسبت به الکتروود مرجع. ب) نمودار تغییرات شدت جریان کاهش هیدروژن پراکساید بر حسب غلظت‌های مختلف از آن و ج) نمودار تغییرات معکوس شدت جریان ایستا در برابر معکوس غلظت هیدروژن پراکساید.

جدول (۱): مقایسه داده‌های تجزیه‌ای روش پیشنهادی با روش‌های ارائه شده توسط سایر محققین در اندازه‌گیری الکتروشیمیایی هیدروژن پراکساید

الکتروود	اصلاحگر	حد تشخیص ( $\mu\text{M}$ )	محدوده خطی غلظت ( $\mu\text{M}$ )	مرجع
کربن شیشه‌ای	Hb/poly( $\epsilon$ -caprolactone)	۶/۰۷	۲-۳۰	[۳۸]
کربن شیشه ای	Hb/SA-MWCNTs	۱۶/۴۱	۴۰-۲۰۰	[۳۹]
طلا	Hb/Chit-MWNTs	۳/۲	۴۰-۷۲۰	[۴۰]
کربن شیشه‌ای	Hb/TiO <sub>2</sub> -NTs	۴/۶	۴-۶۴	[۴۱]
کربن شیشه‌ای	Hb/RGO/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	۲	۴-۱۰۰۰	[۴۲]
الکتروود خمیر کربن	Hb/Fe@Ni/MWCNTs	۱,۴۳	۵-۲۵۰۰۰۰	کار حاضر

SA: sodium alginate, MWCNTs: multiwall carbon nanotubes, chit: chitosan, NTs: nanotubes, RGO: reduced grapheme oxide.

### ۳-۵- بررسی تکرارپذیری و گزینش پذیری الکتروود Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE

تکرارپذیری زیست حسگر تهیه شده برای تشخیص هیدروژن پراکساید در غلظت  $100/10$  میکرومولار در  $\text{pH} = 7/0$  مورد بررسی قرار گرفت. درصد انحراف استاندارد نسبی پاسخ‌های بین-الکتروودی برای سه الکتروود اصلاح شده مختلف،  $4/5\%$  بدست آمد. همچنین انحراف استاندارد نسبی پاسخ‌های درون-الکتروودی برای سه بار تکرار اندازه‌گیری هیدروژن پراکساید در غلظت  $100/10$  میکرومولار برابر با  $3/6\%$  برآورد شد. نتایج حاصل تکرارپذیری قابل قبول الکتروود Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE را نشان می‌دهند. میزان گزینش پذیری این زیست حسگر در غلظت  $20/10$  میکرومولار هیدروژن پراکساید در  $\text{pH} = 7/0$  با افزودن غلظت‌های  $10$  برابر بیشتر برخی از گونه‌های مزاحم با استفاده از روش آمپرومتری سنجیده شد. نتایج بدست آمده (جدول ۲) نشان می‌دهد که این ترکیبات در غلظت مربوطه ( $200/10$  میکرومولار) مزاحمت قابل توجهی برای اندازه‌گیری آمپرومتری هیدروژن پراکساید ایجاد نمی‌کنند.



جدول (۲): بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر پاسخ آمپرومتری کاهش هیدروژن پراکساید (۲۰/۰ میکرومولار) در سطح زیست حسگر

پیشنهادی

گونه‌های مورد بررسی	غلظت ( $\mu\text{M}$ )	درصد تغییرات شدت جریان کاهشی
گلوکز	۲۰۰	+۴,۴
اسکوربیک اسید	۲۰۰	+۶,۲
اوریک اسید	۲۰۰	+۵,۱
تیروزین	۲۰۰	+۲,۸

### ۳-۶- اندازه‌گیری هیدروژن پراکساید در نمونه حقیقی با استفاده از الکتروود اصلاح شده

به منظور مطالعه توانمندی زیست حسگر تهیه شده برای سنجش هیدروژن پراکساید در نمونه‌های حقیقی، اندازه‌گیری هیدروژن پراکساید در آب باران و همچنین نمونه ادرار و پلاسمای خون به روش آمپرومتری انجام شد. در این بررسی مقادیری از هیدروژن پراکساید با غلظت معلوم در هر مرحله با توجه به محدوده غلظتی اندازه‌گیری شده برای هیدروژن پراکساید به نمونه‌های مورد آزمایش اضافه شده و سپس مقدار آن توسط الکتروود اصلاح شده با استفاده از روش افزایش استاندارد تعیین گردید. نتایج بدست آمده در جدول (۳) ارائه شده است.

جدول (۳): نتایج حاصل از اندازه‌گیری هیدروژن پراکساید توسط روش پیشنهادی در نمونه‌های حقیقی مختلف (n=۵).

RSD (%)	درصد بازیابی	غلظت هیدروژن پراکساید ( $\mu\text{M}$ )		نمونه
		مقدار اندازه‌گیری شده	مقدار اضافه شده	
-	-	۰٫۰	-	آب باران
۱٫۸	۱۰۲٫۱	۱۰٫۲۱	۱۰٫۰	
۲٫۸	۱۰۱٫۰	۴۰٫۴۳	۴۰٫۰	
۳٫۲	۹۹٫۰	۵۹٫۴۳	۶۰٫۰	
-	-	۰٫۰	-	پلازما
۲٫۴	۱۰۲٫۸	۸٫۲۳	۸٫۰	
۱٫۹	۱۰۱٫۱	۱۲٫۱۴	۱۲٫۰	
۳٫۲	۱۰۱٫۲	۲۰٫۲۵	۲۰٫۰	
۳٫۱	-	۱۵۲٫۶۵	-	ادرار
۴٫۲	۱۰۰٫۳	۱۷۳٫۲	۲۰٫۰	
۲٫۲	۱۰۰٫۲	۱۹۳٫۱	۴۰٫۰	

#### ۶-۱۴- نتیجه‌گیری

در این کار، یک زیست حسگر جدید و با کارایی بسیار بالا برای اندازه‌گیری هیدروژن پراکساید ساخته شد. برای تهیه این زیست حسگر، تثبیت مغناطیسی هموگلوبین در سطح الکتروود کربن خمیر کربنی، بر اساس تلفیق موثر نانوذرات مغناطیسی آهن-نیکل و نانولوله های کربنی چند دیواره در حالت مخلوط بطور موفقیت آمیز انجام شد. این الکتروود اصلاح شده بطوری موثری انتقال الکترون بین هموگلوبین و سطح الکتروود را بهبود می‌بخشد و در نتیجه فعالیت الکتروکاتالیزوری بالایی نسبت به احیای هیدروژن پراکساید نشان می‌دهد. زیست حسگر Hb-Fe@Ni/MWCNT/CPE پایداری و گزینش پذیری قابل قبول، حساسیت بالا و حد تشخیص بسیار پایین برای سنجش هیدروژن پراکساید ارائه می‌دهد.

## مراجع

- [1] P. Gimeno, C. Bousquet, N. Lassu, A. F. Maggio, C. Civade, C. Brenier, L. Lempereur, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **107** (2015) 386.
- [2] L. Peng, S. Dong, N. Li, G. Suo, T. Huang, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **210** (2015) 418.
- [3] C. Cheng, Y. Huang, X. Tian, B. Zheng, Y. Li, H. Yuan, D. Xiao, S. Xie, M.M.F. Choi, *Analytical Chemistry*, **84** (2012) 4754.
- [4] امیری م. م.، علیمرادی م. م.، نکوئیان خ.، ولتامتری استامینوفن با استفاده از الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانو ساختار های مرتبه ای کبالت. مجله شیمی کاربردی ( اندیشه علوم) ، ۲۰۱۲ . ۷ (۲۲) : ص ۱۹-۹.
- [5] مشهدی آقای م. م.، محمد علی تهرانی ر.، اندازه گیری آمپرومتری گلوکز به کمک نانو حسگر بدون آنزیمی بر پایه الکتروود خمیر گرافیتی اصلاح شده با کامپوزیت نانوسلولز/ نانوذرات اکسید مس/ گرافن اکساید. مجله شیمی کاربردی ( اندیشه علوم) ، ۲۰۱۵ . ۱۰ (۳۵) : ص ۴۴-۳۳.
- [6] A. Salimi, R. Rahmatpanah, R. Hallaj, M. Roushani, *Electrochimica Acta*, **95** (2013) 60.
- [7] H. K. Maleh, F. T. Javazmi, A. A. Ensafi, R. Moradi, S. Mallakpour, H. Beitollahi, *Biosensors and Bioelectronics*, **60** (2014) 1.
- [8] F. Wang, R. Han, G. Liu, H. Chen, T. Ren, H. Yang, Y. Wen, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **706** (2013) 102.
- [9] Y. L. Yao, K. K. Shiu, *Electroanalysis*, **20** (2008) 1542.
- [10] Z. Yang, X. Huang, R. Zhang, J. Li, Q. Xu, X. Hu, *Electrochimica Acta*, **70** (2012) 325.
- [11] A. K. M. Kafi, M. J. Crossley, *Biosensors and Bioelectronics*, **42** (2013) 273.
- [12] B. Haghghi, M. A. Tabrizi, *Electrochimica Acta*, **56** (2011) 10101.
- [13] شیردل ک.، پهلوان ع.، صادقی ر.، کریمی مله ج.، سنتز نانوذره اکسید کادمیم به روش رسوب دهی مستقیم و بررسی تاثیر آن بر کاهش مقاومت انتقال الکترون در سیستم های مبادله الکترون. مجله شیمی کاربردی ( اندیشه علوم) ، ۲۰۱۲ . ۷ (۲۲) : ص ۴۹-۵۵.
- [14] X. Kang, Z. Mai, X. Zou, P. Cai, J. Mo, *Analytical Biochemistry*, **363** (2007) 143.
- [15] W. D. Zhang, J. Chen, L. C. Jiang, Y. X. Yu, J. Q. Zhang, *Microchim Acta*, **168** (2010) 259.

- [16] C. Lu, Q. Shen, X. Zhao, J. Zhu, X. Guo, W. Hou, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **150** (2010) 200.
- [17] M. Baghayeri, E. N. Zare, M. Mansour Lakouraj, *Biosensors and Bioelectronics*, **55** (2014) 259.
- [18] نوری م. م.، پروینی م. م.، لطیفی م. م.، صالحی راد ع. م.، سنتز جاذب های نانوکامپوزیتی روی اکسید / منیزیم اکسید و بررسی ساختار سطح و خواص فیزیکی این کامپوزیت ها. مجله شیمی کاربردی ( اندیشه علوم ) ، ۲۰۱۵ ، ۱۰ ( ۳۵ ) : ص ۳۲-۲۳.
- [19] M. Baghayeri, *RSC Advances*, **5** (2015) 18267.
- [20] G. H. Yang, A. Abulizi, J. J. Zhu, *Ultrasonics Sonochemistry*, **21** (2014) 1958.
- [21] M. Arvand, T. M. Gholizadeh, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **186** (2013) 622.
- [22] C. J. Mao, X. B. Chen, H. L. Niu, J. M. Song, S. Y. Zhang, R. J. Cui, *Biosensors and Bioelectronics*, **31** (2012) 544.
- [23] J. Y. Sun, K. J. Huang, S. F. Zhao, Y. Fan, Z. W. Wu, *Bioelectrochemistry*, **82** (2011) 125.
- [24] Z. Wang, J. Yi, S. Yang, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **176** (2013) 211.
- [25] A. Djekoun, A. Otmani, B. Bouzabata, L. Bechiri, N. Randrianantoandro, J. M. Greneche, *Catalysis Today*, **113** (2006) 235.
- [26] E. Lima Jr., V. Drago, R. Bolsoni, P. F. P. Fichtner, *Solid State Communications*, **125** (2003) 265.
- [27] W. Zhang, X. Quan, J. Wang, Z. Zhang, S. Chen, *Chemosphere*, **65** (2006) 58.
- [28] A. A. Ensafi, H. K. Maleh, *Electroanalysis*, **22** (2010) 2558.
- [29] X. Lu, J. Hu, X. Yao, Z. Wang, J. Li, *Biomacromolecules*, **7** (2006) 975.
- [30] E. Laviron, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **101** (1979) 19.
- [31] H. L. Qi, C. X. Zhang, X. R. Li, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **114** (2006) 364.
- [32] L. Chen, G. Lu, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **121** (2007) 423.
- [33] W. Sun, R. Gao, K. Jiao, *Journal of Physical Chemistry B*, **111** (2007) 4560.
- [34] Y. Wang, R. Guo, J. Xi, *Journal of Colloid and Interface Science*, **331** (2009) 470.
- [35] J. Li, S. N. Tan, H. Ge, *Analytica Chimica Acta*, **335** (1996) 137.
- [36] Y. Ding, Y. Wang, B. Li, Y. Lei, *Biosensors and Bioelectronics*, **25** (2010) 2009.
- [37] C. Chen, Y. Liu, H. Y. Gu, *Microchimica Acta*, **171** (2010) 371.

- 
- [38] W. Zheng, J. Li, Y. F. Zheng, *Biosensors and Bioelectronics*, **23** (2008) 1562.
- [39] H. Y. Zhao, W. Zheng, Z. X. Meng, H. M. Zhou, X. X. Xu, Z. Li, Y. F. Zheng, *Biosensors and Bioelectronics*, **24** (2009) 2352.
- [40] Y. Li, F. Huang, Z. Luo, B. Xu, X. Wang, F. Li, F. Wang, L. Huang, S. Li, Y. Li, *Electrochimica Acta*, **74** (2012) 280.
- [41] W. Zheng, Y. F. Zheng, K. W. Jin, N. Wang, *Talanta*, **74** (2008) 1414.
- [42] S. Zhu, J. Guo, J. Dong, Z. Cui, T. Lu, C. Zhu, D. Zhang, J. Ma, *Ultrasonics Sonochemistry*, **20** (2013) 872.

