

طراحی و ساخت نانو الکتروکاتالیست خودآرایی شونده مبتنی بر گرافن متخلخل / پلیمر / آنزیم گلوکز اکسیداز برای تشخیص و اندازه گیری گلوکز

ابوالفضل میرزاپور ارمکی⁺*

گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

چکیده: بسترهای نانومتری چندلایه مبتنی بر گرافیت به عنوان حوزه ای جدید در طراحی و ساخت زیست کاتالیست‌ها ظهور کرده است. نانوسطح‌های لایه لایه و خودآرایی شونده می‌تواند سطح قابل دسترس چشمگیری برای استقرار داروها، سامانه‌های زیستی و آنزیم‌های فعال در تشخیص نشانگرهای زیستی فراهم آورد. در این مطالعه، یک بیوالکتروکاتالیست جدید با خودآرایی گرافن متخلخل و پلیمر غنی از گوانین ساخته شد. گرافن متخلخل که به صورت صفحات لوله‌ای روی هم تابیده شده است، آبگریز بوده و با پلیمر غنی از گوانین برای استقرار آنزیم گلوکز اکسیداز عامل دار شد. صفحات گرافنی به واسطه برهمکنش با پلیمرهای اشباع از گوانین در محیط آبی به صورت کامل توزیع شده است. پاسخ الکتروشیمیایی بیوالکتروکاتالیست به گلوکز به عنوان مدلی برای بیوالکتروکاتالیست مورد مطالعه قرار گرفت. بیوالکتروکاتالیست پاسخ خطی به غلظت گلوکز در محدوده ۰٫۲ تا ۲ میلی مولار، حساسیتی به میزان ۰٫۰۹۲ میکرو آمپر/میکرومولار/ساعتی متر مربع و حد تشخیص ۰٫۰۸۶ میکرو مولار را نشان داد. این پژوهش نشان داد که گرافن متخلخل می‌تواند برای ساخت رابط‌های بیوالکترونیکی و ساخت دستگاه‌های زیستی الکتروشیمیایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: نانو الکتروکاتالیست، گلوکز اکسیداز، گرافن متخلخل، پلیمر خطی، گلوکز.

KEYWORDS: Nanoelectrocatalyst, Glucose oxidase, Porous graphene, Linear polymer, Glucose.

مقدمه

ویژگی‌های منحصر به فرد خود در زمینه ساخت ابزارهای نانوالکترونیکی، سامانه‌های ذخیره سازی انرژی و طراحی و ساخت سامانه‌های دارویی و پزشکی مورد بهره برداری قرار می‌گیرد [۱۳-۸]. گرافن متخلخل در نگاهی دقیقتر نانو ساختارهایی لایه لایه است که از ساختارهای تک لایه ای و صفحه‌ای گرافیت ساخته شده است. نگاه دقیق تر نشان می‌دهد که گرافن متخلخل از یک شبکه به هم پیوسته

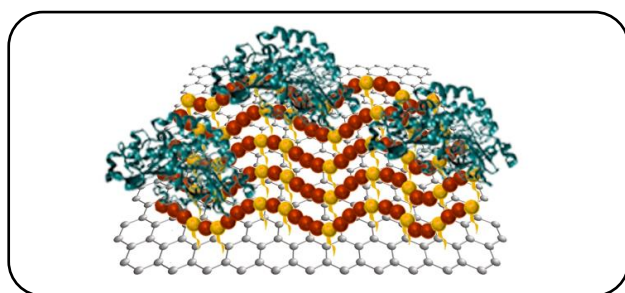
نانوساختارهای کربنی مانند نانولوله‌های کربنی، گرافن، فولرن و نانوساختارهای شبکه ای سه بعدی بر پایه گرافن به صورت گسترده‌ای در حوزه‌های مختلف پزشکی، طراحی و ساخت حسگرها و ابزارهای بیوالکترونیکی مورد استفاده و بهره برداری قرار می‌گیرند [۷-۱]. گرافن که نانوساختاری صفحه‌ای با سطح در دسترس قابل توجه است از جمله این نانوساختارهای کربنی است که به دلیل خواص و

+E-mail: a.mirzapour@modares.ac.ir

* عهده‌دار مکاتبات

جدول ۱- نانومواد و نانوکامپوزیت‌های کربنی برای ساخت الکتروود سنجش گلوکز

| مرجع | LOD (μM) | حساسیت ($\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$) | گیرنده زیستی | مواد |
|------|-----------------------|--|--------------|---------------------------------|
| [۱۴] | ۲ | ۲۰/۳۱ | GOX | Pt NP- Graphene oxide /Nafion |
| [۱۵] | ۰/۰۳ | ۱۰۳/۸ | GOX | PVP/ Graphene nanosheets/Ni NP |
| [۱۶] | ۰/۳۴ | ۲۶۵۰ | GOX | Ni(OH) ₂ /3Dgraphene |
| [۱۷] | ۳ | | GOX | Polypyrrole/graphene sheet |
| [۱۸] | ۰/۵ | ۱/۴۳۸ | No E | NiNP/SMWNTs |
| [۱۹] | ۱۰ | ۳۳/۱۹ | No E | MnO ₂ /MWCNTs |
| [۲۰] | ۱ | ۱/۰۹۶ | No E | Nanocubes/MWCNTs |
| [۲۱] | ۰/۰۸ | | GOX | CNT |
| [۲۲] | ۰/۱۵ | | GOX | Pd-GOD-Nafion CNT |
| [۲۳] | ۵ | ۲/۸۰ | GOX | chitosan-MWCNTs |
| [۲۴] | ۵۰ | | GOX | SWCN/polypyrrol |
| [۲۵] | ۰/۰۱ | ۶ | GOX | PPY/SWCNTs-PhSO ₃ |



شکل ۱- الگوی کلی الکتروکاتالیست آنزیمی

سطوح گسترده قابل دسترس بر روی صفحات گرافنی میزان زیادی از آنزیم‌ها را بر روی خود می‌پذیرند و پاسخ الکتروشیمیایی قابل قبولی را در حضور گلوکز نشان می‌دهند.

بخش تجربی

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

گرافن متخلخل صفحات گرافنی هستند که به صورت لوله‌ای روی هم تائیده شده اند که با استفاده از روش رسوب بخار شیمیایی تک مرحله ای (CVD) بر اساس شبکه های ZnO قابل تنظیم سنتز شده است و از آزمایشگاه همکار تهیه شد [۱۰]. پلیمر غنی از گوآنین، مونومر عملکردی، متاکریلات گوآنین (GuaM) از طریق واکنش‌های جایگزینی با واسطه بنزوتربازولاز آزمایشگاه همکار تهیه شد. گلوکز اکسیداز (GOx) (پودر لیوفیلیزه، ≤ 100000 واحد در گرم جامد) و گلوکز از سیگما آلدْرِیج (سنت لوئیس، MO، ایالات متحده آمریکا)

یکپارچه از پوسته‌های لایه لایه فشرده گرافن تشکیل شده است که به آن اجازه می‌دهد تا سطح قابل دسترس چشمگیری برای پایداری سازی و استقرار ساختارهای پلیمری و انواع پروتئین‌های آنزیمی و غیر آنزیمی فراهم آورد.

گزارش‌های زیادی در مورد استفاده از نانومواد و نانوکامپوزیت‌های مبتنی بر کربن برای ساخت الکترودهای آنزیمی و غیر آنزیمی برای سنجش گلوکز ارائه شده است. به طور کلی می‌توان تاکید کرد که به دلیل خواص ایده آل نانوذرات کربنی در انواع مختلف آن به ویژه هدایت الکتریکی مناسب، نانوزیست کاتالیست‌های آنزیمی طراحی شده بر پایه آن عملکرد مناسبی در تشخیص کمی گلوکز نشان می‌دهد [۱۴-۲۵]. نانوصفات گرافنی به دلیل الگوی صفحه‌ای و همچنین سطح قابل دسترس مطلوب و تاثیرگذاری اندک بر ساختار و عملکرد پروتئین‌ها یکی از نانوساختارهای پُرطرفدار در طراحی و ساخت الکتروکاتالیست‌های آنزیمی به حساب می‌آید [۶ و ۷]. در جدول ۱ نمونه‌های مختلفی از الکتروکاتالیست‌های زیستی گلوکز بر اساس نانوساختارهای ترکیبی مبتنی بر نانومواد کربنی و نانو ساختارهای گرافنی از نظر عملکردی مقایسه شده‌اند. در این پژوهش از پلیمرهای خطی با قابلیت برهم کنش‌های الکتروستاتیک با صفحات گرافنی به منظور توزیع صفحات گرافنی متخلخل و ساخت الکتروکاتالیست نانوکامپوزیتی پلیمر/گرافن استفاده شد. این صفحات گرافنی اصلاح شده با پلیمر به عنوان بستر استقرار آنزیم مورد استفاده و بهره برداری قرار گرفت. بر این اساس از طریق خودآرایی ساختارهای ترکیبی، نانوزیست کاتالیست‌های آنزیمی مبتنی بر گلوکز اکسیداز طراحی و ساخته شود.

در مرحله بعد آنزیم گلوکز اکسیداز (GOX) به دلیل خصوصیات الکتروشیمیایی مناسب و قابلیت تثبیت مناسب به عنوان یک آنزیم مدل برای تثبیت انتخاب شد. پس از آماده سازی نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر، ۲۰۰ میکرولیتر آنزیم گلوکز اکسیداز (۲ میلی گرم در میلی لیتر) به سوسپانسیون اضافه شد و مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۲۰ درجه سلسیوس هم زده شد. ساختار ترکیبی به دست آمده به مدت ۶۰ دقیقه در دور ۲۱۹۵۲ g سانتریفیوژ می‌شود و پس از سه بار شستشو با بافر PBS، سپس در محیط بافر باز توزیع می‌شود.

تثبیت الکتروکاتالیست های گرافن/آنزیم روی سطح الکتروود کربن شیشه ای

نانوکامپوزیت پلیمری آنزیمی مبتنی بر گرافن متخلخل بر روی یک الکتروود کربن شیشه ای (GCE) تهیه شد. GCE ها با پرداخت متوالی با دوغاب آلومینا ۱، ۰،۵ و ۰،۳ میکرومتر تمیز شدند. مقدار کمی (۱۰ میکرولیتر) از الکتروکاتالیست های گرافن/پلیمر/ آنزیم گلوکز اکسیداز بر روی سطح GCE ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس خشک شد. روش ساخت بیوالکتروود در شکل ۲ نشان داده شده است. الکترودهای کنترل شامل نانوکامپوزیت های اممبتنی بر گرافن متخلخل بدون آنزیم نیز برای مقایسه با استفاده از روش های مشابه بالا آماده شدند.

روش های مطالعه نانو الکتروکاتالیست

طیف سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و همچنین اندازه گیری های الکتروشیمیایی برای توصیف الکترودها استفاده شد. طیف FTIR با یک سل با طول مسیر ۱،۰ سانتی متری با استفاده از یک طیف سنج میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) در بزرگنمایی های مختلف با استفاده از میکروسکوپ Zeiss Ultra Plus (۵ کیلوولت) تهیه شد. زاویه تماس با استفاده از دستگاه اندازه گیری زاویه تماس، کشش سطحی و انرژی سطح ژیکان اندازه گیری شد. اندازه گیری های ولتامتری چرخه ای، امپدیمتری و کروئوآمپرومتری برای توصیف الکترودها و همچنین مطالعات بیوالکتروکاتالیست مورد استفاده قرار گرفت. مطالعات الکتروشیمیایی با استفاده از یک سیستم سه الکترودی Ivium Stat-XR (Eindhoven, NL) انجام شد. علاوه بر این، اندازه گیری امپدانس الکتروشیمیایی با استفاده از یک پتانسیواستات (Autolab, PGSTAT30، NL) انجام شد. سیستم سه الکترودی شامل یک الکتروود کربن شیشه ای با مساحت ۷ میلی متر مربع

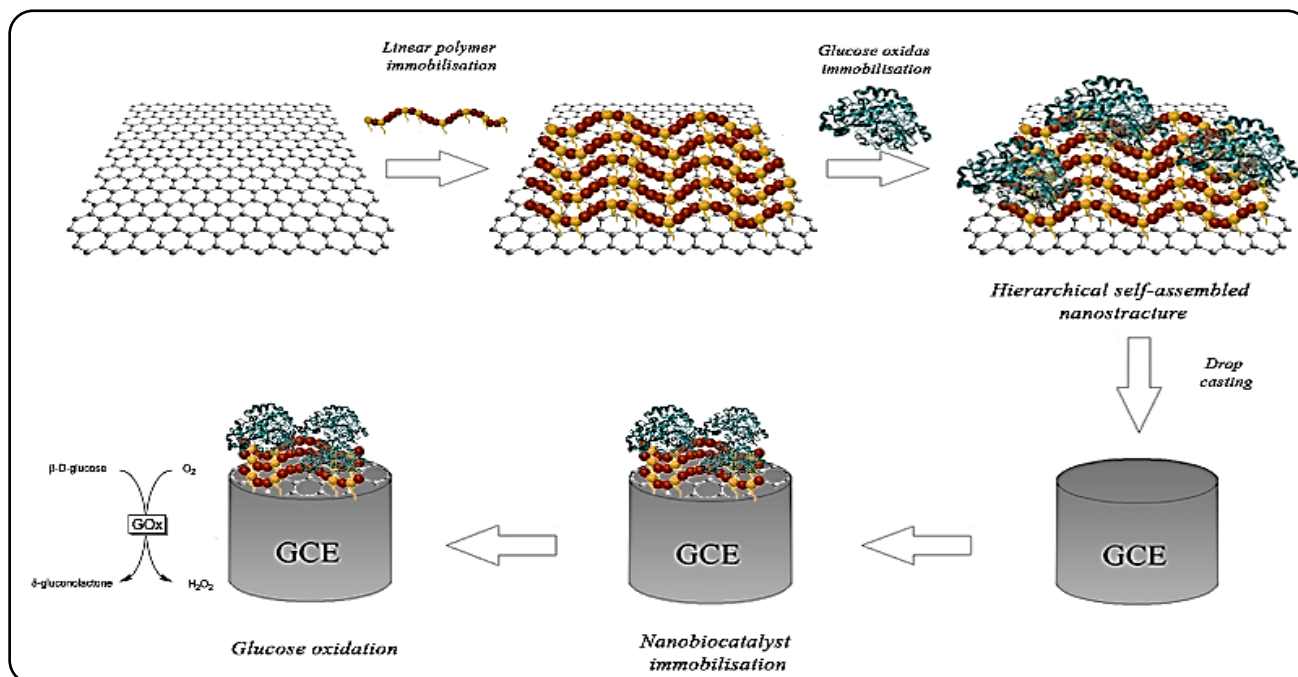
خریداری شد. همه مواد شیمیایی شامل نمک های بافر (K₂HPO₄) و (KH₂PO₄) نمک های (K₃[Fe(CN)₆] و (K₄[Fe(CN)₆])، کلرید پتاسیم (KCl)، سولفات پتاسیم (KPS) و تترا متیل اتیلن دی آمین (TEMED) از سیگما آلد ریچ (سنت لوئیس، MO، ایالات متحده آمریکا) خریداری شد. بافر فسفات سالین (pH 7.4) ۰،۱ مولار و محلول های فری/فروسیانید نیز از سیگما آلد ریچ (سنت لوئیس، MO، ایالات متحده آمریکا) خریداری شد و به ترتیب به عنوان الکتروولیت و شناساگر برای تمام اندازه گیری های الکتروشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند. تمام محلول ها با آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تهیه شد.

طراحی و ساخت الکتروکاتالیست نانوکامپوزیتی مبتنی بر گرافن/پلیمر

ساختارهای کربنی به دلیل ماهیت غیر قطبی سازگاری مطلوبی با حلال های قطبی به ویژه آب ندارند. برای رفع این مساله می توان از انواع اصلاح کننده ها و یا پلیمرهای آب دوست استفاده کرد [۲۶ و ۲۷]. پلیمر غنی از گوانین پلی بین فاز محلول مایع و نانوساختارهای گرافن متخلخل آبریز از طریق گروه های قطبی و گروه های عاملی آمیدی ایجاد می کند. در نتیجه تثبیت نانوکامپوزیت های طراحی شده بر روی الکتروود افزایش می یابد. طراحی و ساخت الکتروزیست حسگر تشکیل شده از گرافن و پلیمر شامل دو مرحله اساسی است؛ مرحله اول برهمکنش الکتروستاتیک و خودآرایی پلیمر و نانوصفحات گرافن متخلخل و مرحله دوم استقرار آنزیم گلوکوزاکسیداز بر روی سطح آماده سازی شده و تثبیت آن به روش غیر کوالان. الکتروزیست حسگر تشکیل شده از گرافن و پلیمر، از طریق برهم کنش های π-π بین حلقه های آروماتیکی گوانین و صفحات هگزاگونالی آروماتیکی در ساختار گرافن خودآرایی می شوند. به منظور ساخت نانوساختارهای ترکیبی پلیمر و گرافن، ۰،۱ میلی گرم گرافن متخلخل به ۱،۰ میلی لیتر محلول پلیمری غنی از گوانین با غلظت ۰،۲ میلی گرم در میلی لیتر که در محلول بافری PBS (۰،۱ مولار، pH ۷،۴) حل شده است اضافه شد و به مدت ۵ ساعت در حمام اولتراسونیک تا پراکندگی کامل آن تحت فرآیند قرار گرفت. پس از توزیع شدن کامل پلیمر در آب به واسطه التراسونیک و در حضور گرافن، ترکیب آماده سازی شده به مدت ۱۲ ساعت در دمای محیط روی همزن مغناطیسی قرار گرفته و پس از سانتریفیوژ در دور ۲۱۹۵۲ g طی دو مرحله شستشو می شود.

تثبیت آنزیم بر روی سطوح الکتروکاتالیست نانوکامپوزیتی مبتنی بر گرافن/پلیمر

در مرحله قبل سطح گرافن برای بهبود ترشوندگی سطح و حفظ رسانایی بالا با پلیمر از طریق فعل و انفعالات غیر کووالانسی اصلاح شد.



شکل ۲- فرآیند و مراحل ساخت الکتروکاتالیست بر روی سطح الکتروکربن شیشه ای

گلوکز اکسیداز برای کاتالیز گلوکز از طریق بیوالکتروکاتالیز در اختیار قرار می‌دهد.

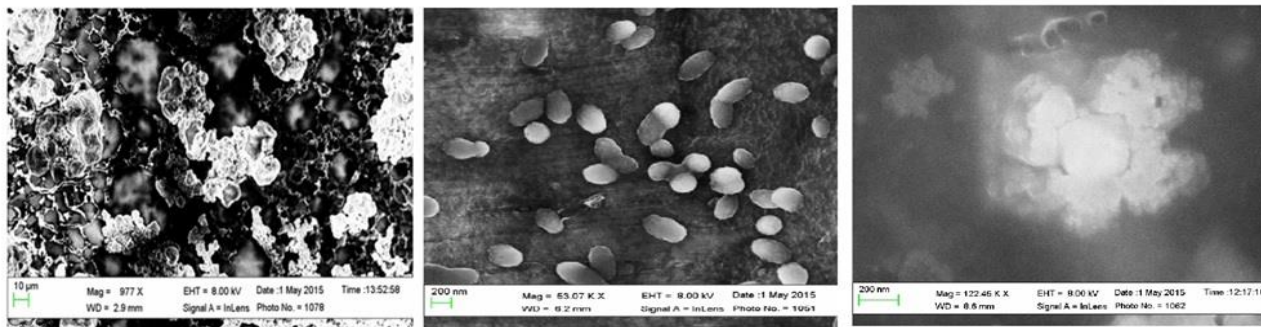
شکل ۴ (راست) توزیع نانوغرافن در حضور و عدم حضور پلیمر را نشان می‌دهد. از شکل مربوطه می‌توان دریافت که برهم کنش‌های مناسبی بین گرافن و پلیمر مربوطه وجود دارد و نانوکامپوزیت هیبریدی یکنواختی را خواهیم داشت که متناسب با تصویر میکروسکوپی هم است. طیف اسپکتروسکوپی FTIR گرافن به صورت تنها و نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر در شکل ۲ (چپ) نشان داده شده است. پیک‌های متوسط ضعیف و چندگانه در ۱۴۰۰-۱۵۰۰ بر سانتی متر ارتعاش کشش C=C و پیک ۱۱۵۰ بر سانتی متر ارتعاش کششی C-O، پیک ۱۵۵۰ بر سانتی متر به ارتعاش اسکلت کربنی در گرافن نسبت داده می‌شود. طیف گرافن/پلیمر نشان می‌دهد که گروه آمید پلیمر (-CONH₂) به گروه‌های C=C گرافن متصل شده است. پیک‌های ارتعاشی گروه‌های آلکیل C-H، کربونیل و آمید در طیف‌های ۲۷۵۰، ۱۷۲۶ و حدود ۱۶۵۰ بر سانتی متر تشکیل کامپوزیت گرافن/پلیمر را تأیید می‌کند. همچنین کاهش قابل توجه پیک‌های محدوده ۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ بر سانتی متر که پیک ۱۷۶۰ بر سانتی متر مربوط به کربونیل و ۱۶۰۰ بر سانتی متر پیوندهای دوگانه کربن-کربن گرافن متخلخل می‌باشد بیانگر توزیع کامل صفحات گرافنی و پوشش کامل صفحات به واسطه پلیمر است.

به عنوان الکتروکاتالیز، الکتروکاتالیز Ag/AgCl با 3M KCl به عنوان الکتروکاتالیز مرجع و سیم پلاتین به عنوان الکتروکاتالیز کمکی بوده است. در کنار الکتروکاتالیز کربن شیشه ای، الکتروکاتالیز GCE اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر با و بدون آنزیم به عنوان الکتروکاتالیز کار پس از تمیز کردن، پرداخت و روش‌های اصلاح مناسب استفاده شد. حساسیت نانوالکتروکاتالیست با ترسیم نمودار پاسخ/غلظت در ۱۰ غلظت مختلف از گلوکز (در غلظت‌های ۰,۲ تا ۲ میلی مولار گلوکز) و با محاسبه شیب نمودار و حد تشخیص سه برابر انحراف استاندارد محاسبه شد [۲۸].

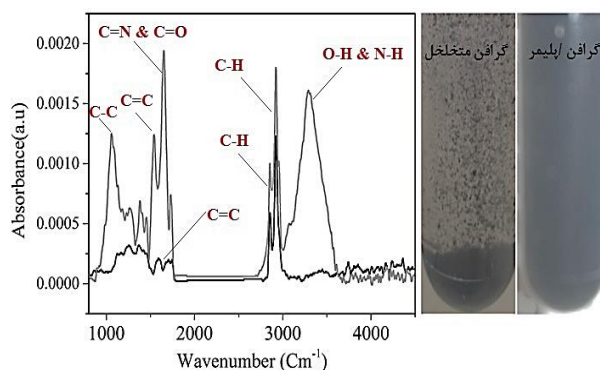
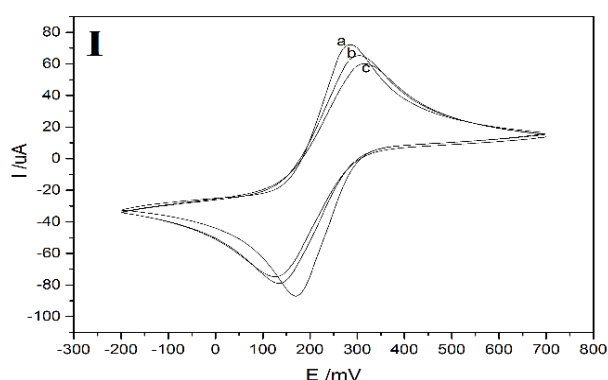
نتایج و بحث

مشخصه بانی نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر

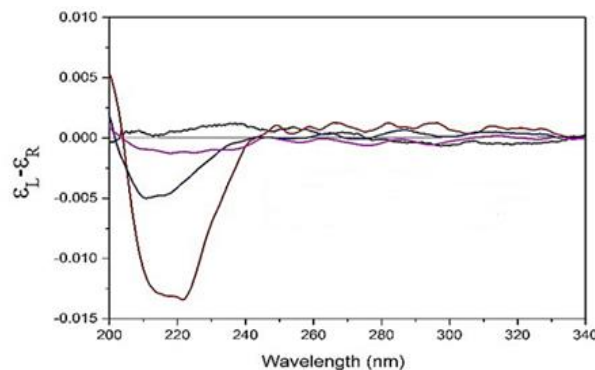
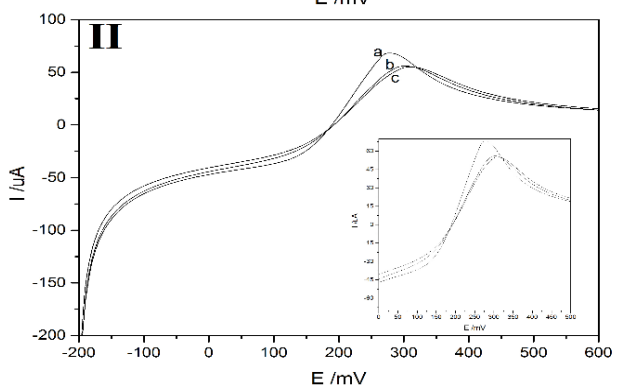
تصاویر میکروسکوپی الکترونی عبوری (SEM) نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر در بزرگنمایی‌های مختلف در شکل ۳ ارائه شده است. ساختار سه بعدی از گرافن به میزان زیادی توسط پلیمرهای غنی از گوانین پوشیده شده بود، که نشان دهنده برهمکنش الکترواستاتیکی بین گرافن و پلیمرها و پراکندگی پایدار گرافن در آب است. در واقع تشکیل کامپوزیت یکنواخت از گرافن و پلیمر قابل مشاهده است. گرافن همگن اصلاح شده با پلیمر، با پراکندگی پایدار و سازگارتر با آب، سطح آبدوست نسبتاً زیادی را برای تثبیت آنزیم



شکل ۳ - تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (SEM) نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر در بزرگنمایی‌های مختلف



شکل ۴ - (راست) مخلوط گرافن متخلخل در آب در حضور و عدم حضور پلیمر (چپ) طیف FTIR گرافن متخلخل (خاکستری) نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر (مشکی)



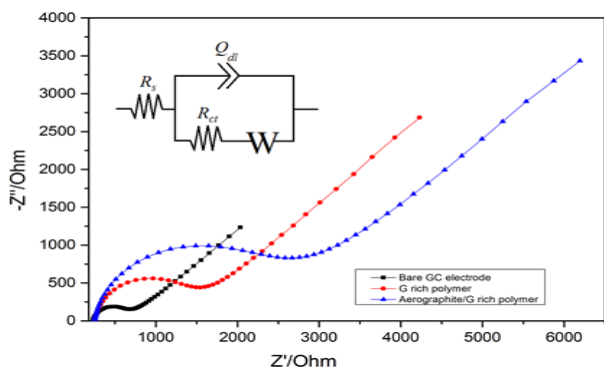
شکل ۶ - (I) طیف ولتامتری چرخه ای و (II) ولتامتری خطی الکتروکربن شیشه‌ای (a) الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلیمر اشباع از گوانین (b) و الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر (c).

شکل ۵ - طیف دورنگ نمایی دورانی الکتروکاتالیست گرافن/پلیمر بدون آنزیم و اصلاح شده با آنزیم گلوکز اکسیداز (آبی)، کلسترول استراز (قرمز) و لاکاز (صورتی).

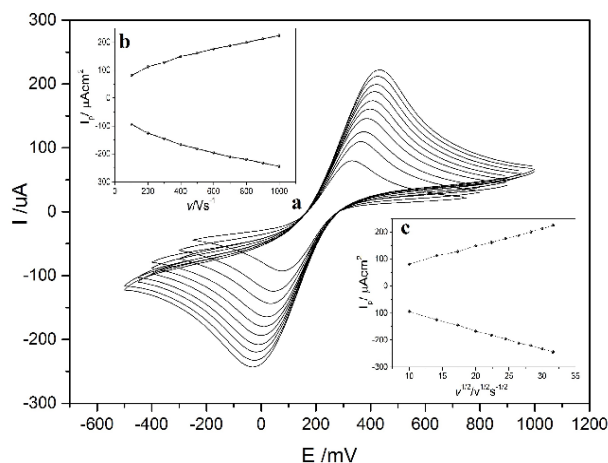
حدود ۲۱۰ نانومتر و ۲۲۰ نانومتر (ویژه ساختار ثانویه پروتئین α -مارپیچ) نشان می‌دهد [۲۹]، که تثبیت موفقیت‌آمیز آنزیم بر روی سطح الکتروکاتالیست را تأیید می‌کند.

طیف ولتامتری چرخه ای الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح نشده، الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلیمر اشباع از گوانین و الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر در شکل ۶ (I) ارائه شده است. تمامی بررسی‌های الکتروشیمیایی در محلول ۱۰ میلی مولار $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ و ۰٫۱ مولار KCl

برهمکنش ماکرومولکول‌های زیستی به صورت خاص پروتئین‌ها و آنزیم‌ها قابل بررسی و مطالعه است. شکل ۵ طیف دورنگ نمایی دورانی الکتروکاتالیست گرافن/پلیمر بدون آنزیم و اصلاح شده با آنزیم گلوکز اکسیداز (آبی)، کلسترول استراز (قرمز) و لاکاز (صورتی) را نشان می‌دهد. با توجه به طیف‌های دورنگ نمایی دورانی الکتروکاتالیست‌های اصلاح شده با آنزیم‌های مختلف، پیک‌های جذب جدیدی را در



شکل ۷ - نمودار نایکوئیست الکتروکربن شیشه‌ای (مشکی)، الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلیمر و الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با الکتروکاتالیست‌های نانوکامپوزیتی گرافن/ پلیمر به همراه مدار معادل.



شکل ۸ - (a) طیف ولتامتری چرخه ای الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده به وسیله نانوکامپوزیت های خودآرایی شده مبتنی بر گرافن متخلخل و پلیمر اشباع از گوآنین در سرعت های ۱۰ تا ۱۰۰۰ میلی ولت بر ثانیه (b) نمودار نسبت جریان پیک اکسایش و کاهش به سرعت روبش پتانسیل (c) نمودار نسبت جریان پیک اکسایش و کاهش نسبت به مجذور سرعت روبش پتانسیل.

نشان داده شده است. بر این اساس ولتامتری چرخه‌ای (CV) با سرعت جاروب پتانسیل در محدوده ۱۰-۱۰۰۰ mV/s ارزیابی شد. نتایج نشان می‌دهد که جریان‌های پیک آندی و کاتدی به سرعت جاروب پتانسیل رفت و برگشت وابسته است [۳۱]. همبستگی خطی میان جریان پیک اکسایش و کاهش نسبت به مجذور سرعت روبش پتانسیل در شکل ۸ c نشان داده شده است که وابستگی واکنش به انتشار را تأیید می‌کند.

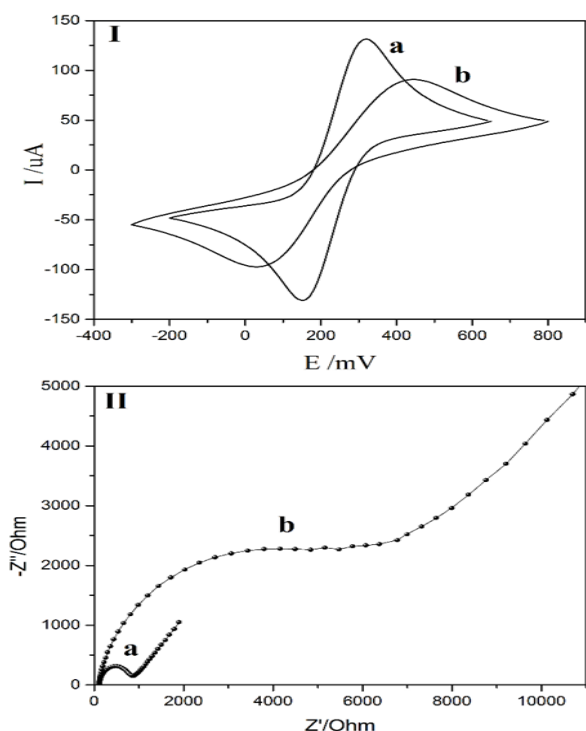
شکل ۹ بررسی زاویه تماس قطره آب بر روی الکتروکاتالیست نانوکامپوزیتی گرافن/پلیمر را نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۹ زاویه

در پتانسیل‌های مختلف انجام شد. محلول $10 \text{ mM Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ و ۰٫۱ مولار KCl به عنوان پروب مورد استفاده قرار گرفت. پروب انتخاب شده یعنی $\text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ به منظور دنبال کردن سرعت انتقال الکترون در محیط آبی استفاده می‌شود [۷]. در نمودارهای ولتامتری چرخه‌ای مجموعه‌ای از اشکال کلاسیک سیگموئیدی را مشاهده می‌شود، که بسته به سرعت جنبشی فرآیند انتقال الکترون [۳۰] پیک‌های اکسایش و احیاء به صورت تفکیک شده و متفاوت به ثبت می‌رسند. ولتاموگرام‌ها برای همه الکترودها نشان‌دهنده پیک‌های اکسایش و احیاء مستقل هستند که نشان‌دهنده سینتیک انتقال سریع الکترون است. الکتروکاتالیست اصلاح شده با پلیمرهای غنی از G مقدار ΔE_p کمی باریکتر در مقایسه با الکتروکاتالیست اصلاح شده با مجموعه گرافن/ پلیمر نشان داده است. پس از هر فرآیند اصلاح، با توجه به کاهش انتشار پروب $\text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ بر روی سطح الکتروکاتالیست، جریان‌های پیک آندی و کاتدی کاهش می‌یابد. نمودار ولتامتری خطی هر سه الکتروکاتالیست در شکل ۶ (II) تفاوت سرعت انتقال الکترون در الکتروکاتالیست‌ها دیده شده نسبت به الکتروکاتالیست فاقد پوشش را با دقت بیشتری نشان می‌دهد.

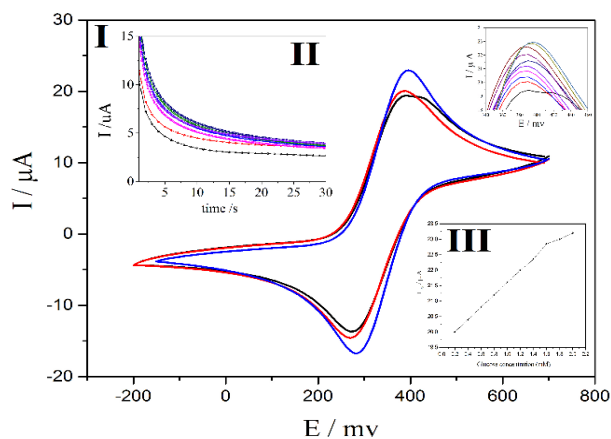
خواص انتقال الکترون الکتروکاتالیست‌های مختلف با طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) مشخص شد. تمام داده‌های امپدانس توسط نرم افزار Z view پردازش شدند. نمودارهای نایکوئیست دارای بخش‌های خطی و نیمه‌دایره‌ای به ترتیب در فرکانس پایین و بالاتر هستند. این نیمه‌دایره‌ها در ناحیه فرکانس بالا ظاهر شدند و مقاومت انتقال بار را در فرکانس‌های پایین‌تر نشان دادند در حالی که بخش خطی یک فرآیند کنترل‌شده با انتشار را نشان داد، که هر دو در یک زمان اتفاق می‌افتند.

شکل ۷ نمودارهای نایکوئیست الکتروکربن شیشه‌ای (مشکی)، الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با پلیمر و الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با الکتروکاتالیست‌های نانوکامپوزیتی گرافن/ پلیمر را به همراه مدار معادل آن نشان می‌دهد. افزایش مقاومت انتقال بار در سطح الکتروکاتالیست پوشش داده شده با نانوکامپوزیت تشکیل این لایه بر سطح الکتروکاتالیست را اثبات می‌کند. مدار معادل مربوط به واکنش اکسایش و کاهش فرو و فری سیانید بر روی سطح هر سه الکتروکاتالیست مورد بررسی از یک الگو پیروی می‌کند. R_s بیانگر مقاومت محلول، R_{ct} مقاومت انتقال بار، Q_{dl} ظرفیت خازنی لایه دوگانه و W بیانگر مقاومت انتقال بار یا واربرگ را نشان می‌دهد.

اثر سرعت جاروب پتانسیل برای محاسبه میزان سطح فعال کاتالیستی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل ۸

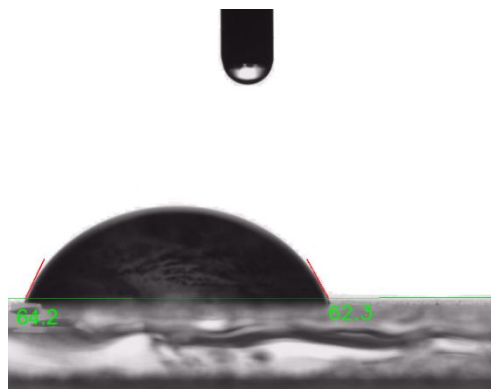


شکل ۱۰- (I) طیف ولتامتری چرخه‌ای و نمودار نایکوئیست (II) نمودار نایکوئیست الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر (a) الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر/آنزیم (b) الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر/آنزیم گلوکز اکسیداز



شکل ۱۱- (I) طیف ولتامتری چرخه‌ای با سرعت ۵۰ میلی ولت بر ثانیه (II) نمودار آمپرومتری الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده به وسیله نانوکامپوزیت‌های خودآرایی شده مبتنی بر گرافن/پلیمر/آنزیم گلوکز اکسیداز در غلظت‌های مختلف گلوکز (III) نسبت جریان پیک اکسایش گلوکز و غلظت‌های مختلف گلوکز .

واسط اکسیداسیون گلوکز مورد استفاده قرار گرفت. شکل ۱۱ (III) نسبت جریان پیک آندی به غلظت‌های مختلف گلوکز را نشان می‌دهد.



شکل ۹- تصویر زاویه تماس قطره آب با الکتروکاتالیست‌های نانوکامپوزیتی گرافن / پلیمر

تماس قطره آب با الکتروکاتالیست نانوکامپوزیتی مبتنی بر گرافن/پلیمر برابر با ۶۲٫۳ و ۶۴٫۲ درجه می‌باشد. نظر به اینکه گرافن متخلخل کاملاً آبگریز بوده و در محیط آبی توزیع نمی‌شود، با افزوده شدن پلیمر و تشکیل نانوکامپوزیت میزان ترشوندگی به میزان قابل قبولی افزایش یافته است.

ولتامتری چرخه‌ای و نمودارهای نایکوئیست الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلیمر/آنزیم گلوکز اکسیداز در شکل ۱۰ نشان داده شده است.

اکسیداسیون گلوکز کاتالیز شده توسط آنزیم گلوکز اکسیداز به عنوان مدل واکنش بیوالکتروکاتالیستی برای بررسی و مطالعه الکتروکاتالیست نانوکامپوزیتی ساخته شده استفاده شد. همانطور که قبلاً بحث شد، معیار اصلی برای انتخاب پلیمرهای غنی از گوانین مبتنی بر آکریل آمید، برهمکنش‌های غیرقطبی و π - π بالقوه آن با گرافن متخلخل برای بهبود سازگاری با آب و ارتقاء فعالیت الکتریکی بوده است. علاوه بر این، گروه‌های قطبی در زنجیره پلیمری نقش مهمی برای تثبیت موثر آنزیم گلوکز اکسیداز از طریق برهمکنش‌های آبدوست و الکترواستاتیک دارند [۷، ۹ و ۱۲].

استقرار آنزیم گلوکز اکسیداز بر روی لایه الکتروکاتالیستی موجب کاهش جریان پیک در ولتامتری چرخه‌ای و افزایش مقاومت انتقال بار در نمودارهای نایکوئیست شده است.

فعالیت الکتروکاتالیستی نانوکامپوزیت طراحی شده در غلظت‌های ۰٫۲ تا ۲ میلی مولار گلوکز به روش‌های ولتامتری چرخه‌ای و آمپرومتری به ترتیب در شکل ۱۱ (I) و (II) نشان داده شده است. داده‌های آمپرومتری در پتانسیل اکسایش گلوکز نشان می‌دهد که با افزایش غلظت گلوکز میزان جریان تولید شده ناشی از اکسیداسیون گلوکز افزایش یابد. فروسین با غلظت ۱۰ میلی مولار به عنوان حد

و به صورت خاص آنزیم گلوکز اکسیداز به میزان قابل قبولی بر روی الکتروکاتالیست استقرار یافته است. در فرآیند ساخت الکتروکاتالیست، یک رویکرد لایه به لایه برای اصلاح سطح گرافن متخلخل و برای بهبود سازگاری با آب در حالی که فعالیت الکتریکی و سطح فعال بالای آن حفظ شود، دنبال شد. الکتروکاتالیست زیستی ایجاد شده برای بیوالکتروکاتالیز گلوکز رفتار خطی را نشان می‌دهد و حد تشخیص گلوکز به میزان 0.086 میکرومولار به دست آمد. نتایج به طور کلی نشان می‌دهد نانوکامپوزیت الکتروکاتالیستی مبتنی بر گرافن متخلخل برای طیف متنوعی از کاربردها در طراحی و ساخت حسگرهای زیستی و بیوالکترونیک قابل استفاده و بهره برداری است.

همانطور که انتظار می‌رود جریان آندی با افزایش غلظت گلوکز افزایش یافت. حساسیت الکتروکاتالیست 0.092 میکروآمپر/میکرومولار/سانتی متر مربع و حد تشخیص الکتروکاتالیست 0.086 میکرومولار محاسبه شد. عملکرد الکتروکاتالیستی الکتروکاتالیست نانوکامپوزیتی نشان می‌دهد که نه تنها برای حسگرهای زیستی ولتامتری، بلکه برای طراحی نسل جدید سیستم‌های الکتروشیمیایی و بیوالکترونیک نیز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری

با توجه به داده‌های تجربی ارائه شده نتیجه می‌شود که، الکتروکاتالیست نانوکامپوزیتی مبتنی بر گرافن متخلخل و پلیمرهای غنی از گوانین به عنوان یک حدواسط کاتالیستی زیستی برای کاربردهای الکتروشیمیایی و بیوالکترونیکی استفاده شد. حدواسط نانوکامپوزیتی طراحی و ساخته شده سطح قابل دسترس مناسب و در دسترس برای تثبیت آنزیم را فراهم نمود. بررسی و مطالعه دورنگ نمایی دورانی به خوبی نشان می‌دهد که آنزیم‌های مختلف

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۲

مراجع

- [1] Park S., Vosguerichian M. Zhenan Bao, [A Review of Fabrication and Applications of Carbon Nanotube Film-Based Flexible Electronics](#), *Nanoscale*, **5**: 1727 (2013).
- [2] Avouris Ph., Dimitrakopoulos Ch., [Graphene: Synthesis and Applications](#), *materials today*, **15(3)**: 86-97 (2012).
- [3] Li N., Zhang Q., Gao S., Song Q., Huang R., Wang L., Liu L., Dai J., Tang M., Cheng G., [Three-Dimensional Graphene foam as a Biocompatible and Conductive Scaffold for Neural Stem Cells](#), *Scientific reports*, **3**: 1604 (2013).
- [4] Zhao Ch., Xua X., Chena J., Wang G., Yang F., [Highly Effective Antifouling Performance of PVDF/Graphene Oxide Composite Membrane in Membrane Bioreactor \(MBR\) System](#), *Desalination*, **340**: 59-66 (2014).
- [5] Goenka S., Santa V., Sant Sh., [Review Graphene-Based Nanomaterials for Drug Delivery and Tissue Engineering](#), *Journal of Controlled Release*, **173**: 75-88 (2014).
- [6] Parlak O., Seshadri P., Lundström I., Turner A.P.F., Tiwari A., [Two-dimensional gold-tungsten Disulphide Bio-Interface for High-Throughput Electrocatalytic Nano-Bioreactors](#), *Advanced Materials Interfaces*, **1(6)**: (2014).
- [7] Parlak O., Tiwari A., Turner A.P.F., Tiwari A., [Template-Directed Hierarchical Self-Assembly of Graphene Based Hybrid Structure for Electrochemical Biosensing](#), *Biosensors and Bioelectronics*, **49**: 53-62, 2013.

- [8] Yan W., Seifermann S. M., Pierrat Ph., Bräse S., [Synthesis of Highly Functionalized C60 Fullerene Derivatives and Their Applications in Material and Life Sciences](#), *Org. Biomol. Chem*, **13**: 25-54 (2015).
- [9] Chen Z., Ren W., Gao L., Liu B., Pei S., Cheng H.-M., [Three-Dimensional Flexible and Conductive Interconnected Graphene Networks Grown by Chemical Vapor Deposition](#), *Nat. Mater*, **10(1)**: (2011).
- [10] Mecklenburg M., Schuchardt A., Kumar Mishra Y., Kaps S., Adelung R., Lotnyk A., Kienle L., Schulte K., [Aerographite: Ultra Lightweight, Flexible Nanowall, Carbon Microtube Material with Outstanding Mechanical Performance](#), *Adv. Mater*, **24**: 3486-3490 (2012).
- [11] Xia1 X.H., Chao1 D.L., Zhang Y.Q., Shen Z.X., Fan H.J., [Three-Dimensional Graphene and Their Integrated Electrodes](#), *Nano Today*, **9**: 785-807 (2014).
- [12] Cao X., Yin Z., Zhang H., [Three-Dimensional Graphene Materials: Preparation, Structures and Application in Supercapacitors](#), *Energy Environ. Sci*, **7**: 1850 (2014).
- [13] Fang a,b Q., Shen a,c Y., Chen B., [Synthesis, Decoration and Properties of Three-Dimensional Graphene-Based Macrostructures](#), *Chemical Engineering Journal*, **264**: 753-771 (2015).
- [14] Yang Z.J., Cao Y., Li J., Jian Z.Q., Zhang Y.C., Hu X.Y., [Platinum Nanoparticles Functionalized Nitrogen Doped Graphene Platform for Sensitive Electrochemical Glucose Biosensing](#), *Anal. Chim. Acta*, **871**: 35-42 (2015).
- [15] Liu Z.G., Guo Y.J., Dong C., [A High Performance Nonenzymatic Electrochemical Glucose Sensor Based on Polyvinylpyrrolidone-Graphene Nanosheets-Nickel Nanoparticles-Chitosan Nanocomposite](#), *Talanta*, vol. 137, pp. 87-93 (2015).
- [16] Zhan B.B., Liu C.B., Chen H.P., Shi H.X., Wang L.H., Chen P., Huang W., Dong X.C., [Free-Standing Electrochemical Electrode Based on Ni\(OH\)\(2\)/3D Graphene foam for Nonenzymatic Glucose Detection](#), *Nanoscale*, **6(13)**: 7424-7429 (2014).
- [17] Alwarappan S., Liu Ch., Kumar A., Li Ch.Z., [Enzyme-Doped Graphene Nanosheets for Enhanced Glucose Biosensing](#), *J. Phys. Chem. C*, **114**: 30 (2010).
- [18] Nie H., Yao Z., Zhou X., Yang Z., Huang S., [Nonenzymatic Electrochemical Detection of Glucose Using Well-Distributed Nickel Nanoparticles on Straight Multi-Walled Carbon Nanotubes](#), *Biosens. Bioelectron.* **30**: 28-34 (2011).
- [19] Chen J., Zhang W.D., Ye J.S., [Nonenzymatic Electrochemical Glucose Sensor Based on MnO2/MWNTs Nanocomposite](#), *Electrochem. Commun.* **10**: 1268-1271 (2008).
- [20] Yang J., Zhang W.D., Gunasekaran S., [An Amperometric Non-Enzymatic Glucose Sensor by Electrodepositing Copper Nanocubes onto Vertically Well-Aligned Multi-Walled Carbon Nanotube Arrays](#), *Biosens. Bioelectron.* **26**: 279-284 (2010).
- [21] Lin Y.H., Lu F., Tu Y., Ren Z.F., [Glucose Biosensors Based on Carbon Nanotube Nanoelectrode Ensembles](#), *Nano Lett.* **4**: 191-195 (2004).

- [22] Lim S.H., Wei J., Lin J.Y., Li Q.T., Kuayou J.A., [glucose Biosensor Based on Electrodeposition of Palladium Nanoparticles and Glucose Oxidase onto Nafion-Solubilized Carbon Nanotube Electrode](#), *Biosens Bioelectron.* **20**: 2341–2346 (2005).
- [23] Tang W., Li L., Wu L., Gong J., Zeng X., [Glucose Biosensor Based on a Glassy Carbon Electrode Modified with Polythionine and Multiwalled Carbon Nanotubes](#), *PLoS ONE*, 9(5): (2014).
- [24] Valentini F., Fernandez G., Tamburri E., Palleschi G., [Single Walled Carbon Nanotubes/Polypyrrole–GOx Composite Films to Modify Gold Microelectrodes for Glucose Biosensors: Study of the Extended Linearity](#), *Biosens Bioelectron.* **43**: 75-78, (2013).
- [25] Raicopol M., Pruna A., Damian C., Pilan L., [Functionalized Single-Walled Carbon Nanotubes/Polypyrrole Composites for Amperometric Glucose Biosensors](#), *Nanoscale Res Lett.* **8(1)**: 316 (2013).
- [26] Konios D., Minas Stylianakis M., Stratakis E., Kymakis E., [Dispersion Behavior of Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide](#), *Journal of Colloid and Interface Science*, **430**: 108–112, (2014).
- [27] Das B., Prasad K.E., Ramamurty U., Rao C.N.R., [Nano-Indentation Studies on Polymer Matrix Composites Reinforced by Few-Layer Graphene](#), *Nanotechnology*, **20(12)**: (2009).
- [28] Gauglitz G., [Analytical Evaluation of Sensor Measurements](#), *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **410(1)**: 5-13 (2018).
- [29] Ranjbar B., Gill P., [Circular Dichroism Techniques: Biomolecular and Nanostructural Analyses-A Review](#), *Chem. Biol. Drug Des.* **74**: 101 (2009).
- [30] Bard A.J., Faulkner L.R., [Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications](#), Wiley, (2000).
- [31] Danaee I., Jafarian M., Mirzapoor A., Gobal F., Mahjani M.G., [Electrooxidation of Methanol on NiMn Alloy Modified Graphite Electrode](#), *Electrochimica. Acta.* **55**: 2093–2100, (2010).