

نانو حسگر زیستی جدید جهت تشخیص و اندازه‌گیری L-سیستین بر پایه الکتروود سرامیک کربنی اصلاح یافته با نانوذرات طلا

معصومه عمادی^{۱*}، محمدعلی زارع^۱، عمران مرادلو^۲، مریم ایرانپور^۳

۱- گروه شیمی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

۲- گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

۳- گروه شیمی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

چکیده

در این تحقیق الکتروود کربن سرامیک توسط روش سل-ژل که در آن از متیل تری متوکسی سیلان به‌عنوان آغازگر استفاده شده است و در مرحله ژل شدن میکروذرات گرافیت اضافه گردید آماده شد. کربن سرامیک ساخته شده به‌روش الکتروشیمیایی توسط نانوذرات طلا اصلاح شد. رفتار الکتروشیمیایی L-سیستین بر سطح الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده بررسی شد. الکتروود اصلاح شده فعالیت کاتالیتیکی خوبی برای کاهش L-سیستین نشان داد. بنابراین این الکتروود به‌طور موفقیت‌آمیزی به‌منظور اندازه‌گیری L-سیستین به‌روش آمپرومتری بکار برده شد. در شرایط بهینه دامنه خطی منحنی درجه‌بندی در محدوده ۰/۱۶۵ تا ۲/۶۴ میلی مولار خطی می‌باشد. حد تشخیص و حساسیت به‌ترتیب ۰/۰۵۳ میلی مولار و ۱/۷۶۹ میلی آمپر بر میلی مولار نشان داده شد.

کلیدواژگان: نانو حسگر زیستی، L-سیستین، الکتروود کربن سرامیک، نانوذرات طلا

الکتروشیمیایی L-سیستین و اندازه‌گیری این گونه با روش‌های الکتروشیمیایی دارای اهمیت می‌باشد. متأسفانه اکسیداسیون L-سیستین در الکترودهای متداول مانند پلاتین، طلا، گرافیت و... آهسته است این نوع الکترودها در اندازه‌گیری ترکیبات سولفیددار دارای حساسیت و تکرارپذیری کم و همچنین پایداری کم در محیط‌های مختلف می‌باشند [۳]. الکترودهای اصلاح شده به‌روش شیمیایی برای بهبود اکسیداسیون و تشخیص سیستین گزارش شده است [۴، ۵، ۶]. الکترودهای کربن سرامیک از طریق فرآیند سل-ژل تهیه می‌شوند. از جمله مزایای این نوع الکترودها نسبت به الکتروودهای خمیر کربنی می‌توان به پایداری بالای آن اشاره کرد این الکترودها به‌صورت توده‌ای به‌هدف

مقدمه

نام شیمیایی L-سیستین، (R) -۲- آمینو-۳- مرکاپتوپروپیونیک اسید می‌باشد. این آمینو اسید سولفیددار با توجه به نقش حیاتی که در سیستم‌های بیولوژیکی بازی می‌کند دارای اهمیت ویژه‌ای است. به‌عنوان مثال این اسید آمینه می‌تواند به‌عنوان محافظ در مقابل تابش و یا شناسایی سرطان‌ها به‌کار برده شود. بنابراین شناسایی و اندازه‌گیری این آمینواسید یک چالش می‌باشد. در مقایسه با انتخاب‌های دیگر اندازه‌گیری، روش‌های الکتروشیمیایی دارای مزایای ذاتی مانند سادگی، آسانی کوچک‌کردن، حساسیت بالا و قیمت نسبتاً پایین ارجح می‌باشد [۱، ۲]. بنابراین بررسی رفتار

* ایمیل نویسنده مسئول: m.emadi90@gmail.com

پلاتینی به عنوان الکترود کمکی و از الکترود KCl (Sat.) به عنوان الکترود مرجع استفاده شد. تمام پتانسیل‌ها در این طرح در مقابل الکترود مرجع Ag/AgCl (KCl Sat.) و در دمای محیط (20 ± 2 °C) انجام شده است.

تهیه الکترود کربن سرامیک

الکترود کربن سرامیک طبق پروسه لو و همکارانش تهیه شد [۷]. ۲۰۰ میکرو لیتر متانول (مرک)، ۱۰۰ میکرو لیتر متیل تری متوکسی سیلان (مرک)، و ۲۰ میکرو لیتر هیدروکلریدریک اسید (۱۲ مولار) کاتالیست برای مدت ۲ دقیقه مخلوط شدند سپس ۰/۱ گرم پودر کربن اضافه شد و مخلوط را به مدت یک دقیقه به هم می‌زنیم. یک لوله به قطر ۲ میلی‌متر را تا ارتفاع ۵ میلی‌متر از مخلوط کربن سل-ژل پر می‌کنیم، مخلوط به مدت یک شب در شرایط محیطی خشک شد (۲۵ درجه سانتیگراد). الکترود تهیه شده را توسط سنباده پولیش داده و قبل از استفاده با یک برگ کاغذ پاک شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد.

اصلاح کردن الکترود کربن سرامیک

برای اصلاح الکترود کربن سرامیک، الکترود در محلول شامل تترا کلرو آئوریک (III) اسید ($2,5 \times 10^{-3}$ مولار)، پتاسیم کلرات (۰/۱ مولار) و سدیم کربنات (۰/۱ مولار) غوطه‌ور شد. سپس بازه پتانسیل ۰/۹ تا -۰/۶ ولت در برابر الکترود رفرنس Ag/AgCl به صورت رفت و برگشت با ۱۵ سیکل به سطح الکترود کار اعمال شد [۷]. با این کار نانو ذرات طلا به روش رسوب گذاری الکتروشیمیایی روی سطح الکترود کربن سرامیک رسوب می‌کند. آنگاه الکترود با آب مقطر دوبار تقطیر شستشو داده، سپس از آن به عنوان الکترود کار استفاده می‌شود.

کاربردهای الکتروآنالیتیکی و الکتروکاتالیتیکی اصلاح می‌گردند. اصلاح این نوع الکترودها برای افزایش کارایی آنها از نظر حساسیت و گزینش‌پذیری و نیز کاربرد وسیع‌تر و اختصاصی‌تر آنها در اندازه‌گیری گونه‌های مختلف و همچنین برای افزایش سرعت انتقال الکترون گونه‌ها بر روی آنها از جمله موضوعات تحقیقاتی نوین در این زمینه می‌باشد.

در این پروژه از تلفیق الکترود کربن سرامیک و نانو ذرات طلا در اندازه‌گیری سیستمین به عنوان یک اسید آمینه سولفید دار استفاده شده است. با توجه به مزایای گفته شده در مورد الکترودهای توده‌ای کربن سرامیک و همچنین مزایای اصلاح الکترود به کمک نانوذرات با کمک اصلاح الکترود کربن سرامیک با نانو ذرات نقره و طلا می‌توان از مزایای هر دو روش استفاده کرد و الکترودی با امکان ساخت ساده، سطح زیاد، سرعت انتقال الکترون بالا، قابلیت تجدیدپذیری مناسب تهیه کرد. این الکترود به‌طور مؤثر در اندازه‌گیری الکتروکاتالیستی L- سیستمین به کار گرفته می‌شود.

کارهای آزمایشگاهی

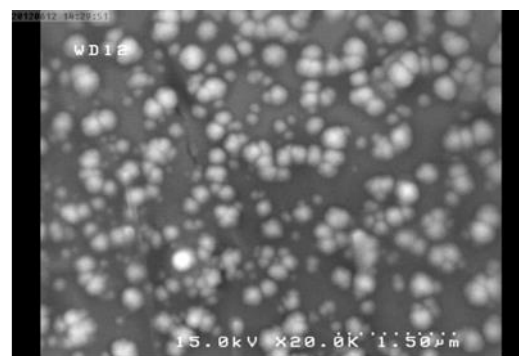
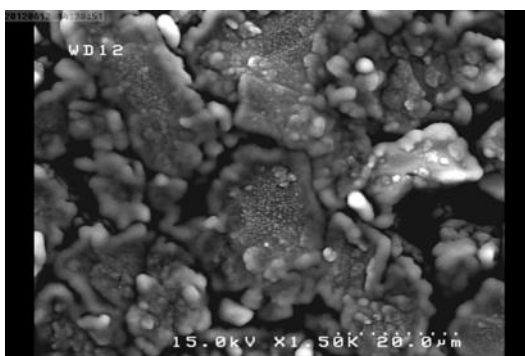
محلول ۱٪ تترا کلرو آئوریک (III) اسید (HAuCl_4) از انحلال ۱/۰ گرم تترا کلرو آئوریک (III) اسید (مرک) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر تهیه شد برای تهیه محلول‌های با غلظت کمتر از رقیق‌سازی این محلول‌ها توسط آب دوبار تقطیر تهیه شدند. همه مواد شیمیایی با درجه تجزیه‌ای و بدون خالص سازی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند.

یک سیستم پتانسیواستات Autolab سه الکترودی (302N) برای کنترل پتانسیل الکترود کار به کار گرفته شد. سل الکتروشیمیایی شامل یک سیستم سه الکترودی است که الکترود کربن سرامیک اصلاح شده با نانو ذرات نقره به عنوان الکترود کار، و از یک میله

با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورفولوژی سطح الکتروود اصلاح یافته بررسی شد. تصاویر SEM (شکل ۱)، سطح الکتروود اصلاح شده با نانو ذرات طلا را نشان می‌دهد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های نانو ذرات طلای نشانیده شده بر روی نانو الکتروود کربن سرامیک

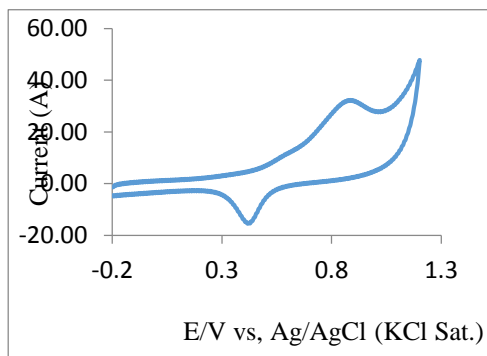


شکل ۱. تصاویر SEM، نانو ذرات طلای نشانیده شده بر سطح الکتروود کربن سرامیک.

مطالعه الکتروشیمیایی:

اکسیداسیون الکتروشیمیایی L-سیستئین بر روی الکتروود کربن سرامیک

L-سیستئین بر روی الکتروودهای جامد مختلفی مانند پلاتین و الکتروود کربن در پتانسیل‌های بالا حدود ۱٫۰ ولت اکسید می‌شود. اکسیداسیون L-سیستئین روی الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده، در پتانسیل ۰٫۸۴ ولت به شکل یک پیک اکسیداسیون انجام می‌شود. این نتایج را در شکل ۲ می‌توان مشاهده کرد.



بررسی رفتار الکتروود اصلاح شده کربن سرامیک / نانو ذرات طلا با اندازه‌گیری ولتامتری چرخه‌ای

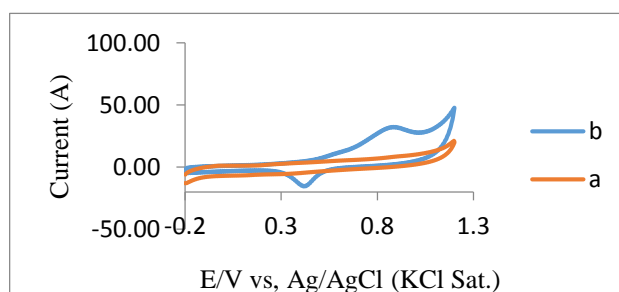
رفتار الکتروشیمی نانو ذرات طلا ثابت شده روی فیلم الکتروود اصلاح شده در pH=7.0 با سرعت اسکن 0.1Vs^{-1} ، به وسیله ولتامتری چرخه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت. شکل ۳ ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده از

شکل ۲. ولتامتری چرخه‌ای (CV) از الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با نانو ذرات طلا با سرعت اسکن 0.1Vs^{-1} در محلولی شامل بافر فسفاتی pH7.0، L-سیستئین $8.25 \times 10^{-4} \text{mM}$

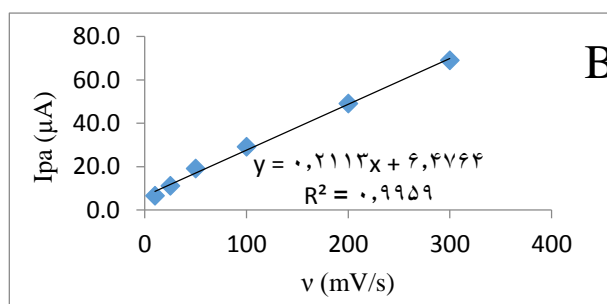
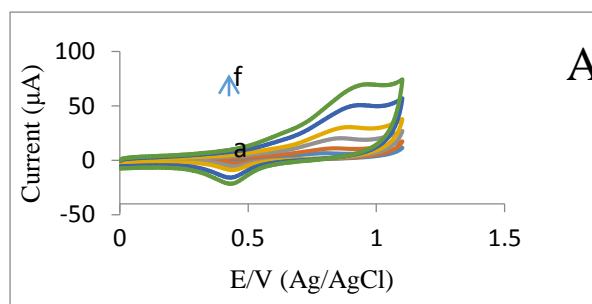
طبق مطالعه اثر سرعت اسکن بر روی کاهش L-سیستین بر روی الکتروود کربن-سرامیک اصلاح شده، سرعت‌های اسکن متفاوت از $10-300 \text{ mVs}^{-1}$ انتخاب شد. شکل ۴ پاسخ ولتامتری الکتروود کربن-سرامیک/نانو ذرات طلا را در محلول بافر فسفات 0.5 مولار (pH 7.0) با غلظت $8.25 \times 10^{-1} \text{ mM}$ L-سیستین را نشان می‌دهد. مشخص شد که جریان‌های کاتدی با افزایش سرعت اسکن، افزایش می‌یابند. منحنی مقدار جریان پیک برای کاهش L-سیستین به صورت تابعی از سرعت اسکن (v) در سطح الکتروود کربن-سرامیک/نانو ذرات طلا رسم شد، که منحنی یک رابطه خطی با $R^2=0.995$ در گستره $10-300 \text{ mVs}^{-1}$ را نشان می‌دهد. این رفتار نشان می‌دهد که واکنش الکتروود توسط فرآیند جذب سطحی کنترل می‌شود.

الکتروود کربن-سرامیک عریان و الکتروود اصلاح شده کربن-سرامیک با نانو ذرات طلا در حضور L-سیستین ($8.25 \times 10^{-1} \text{ mM}$) را نشان می‌دهد، هیچ پیک اکسایشی بر روی الکتروود کربن-سرامیک (منحنی a) در شکل ۳ مشاهده نمی‌شود، که این نشان می‌دهد، L-سیستین بر روی سطح این الکتروود به راحتی انتقال الکترون ندارد و سرعت انتقال الکترون بسیار پایین است. اما اکسایش L-سیستین بر روی الکتروود کربن-سرامیک اصلاح شده با نانوذرات طلا با افزایش پیک اکسایش نانوذرات طلا در پتانسیل حدود 0.85 ولت همراه است (منحنی b در شکل ۳). نتایج نشان می‌دهد که انتقال مستقیم الکترون بین نانو ذرات طلا و الکتروود کربن-سرامیک حاصل می‌گردد.

مطالعه اثر سرعت اسکن



شکل ۳. ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده (a) الکتروود کربن-سرامیک عریان (b) الکتروود اصلاح شده کربن-سرامیک با نانو ذرات طلا در حضور L-سیستین ($8.25 \times 10^{-1} \text{ mM}$)، pH 7.0، سرعت پویش 0.1 Vs^{-1} .



شکل ۴. (A) ولتاگرام‌های الکتروکربن سرامیک اصلاح شده با نانو ذرات طلا را در محلول بافر فسفات ۰/۵ مولار (pH7.0) با غلظت $8.25 \times 10^{-1} \text{ mM}$ - سیستین، در سرعت‌های اسکن از (a-f) $10, 20, 50, 100, 200, 300 \text{ mVs}^{-1}$: (B) منحنی جریان پیک در برابر سرعت اسکن.

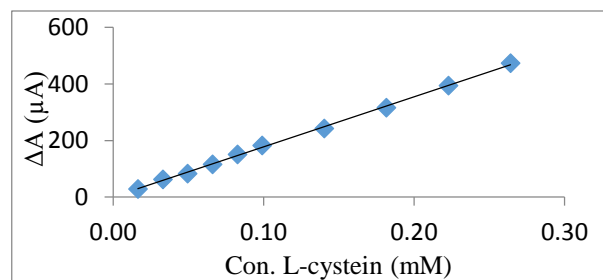
مراحل قبل در شرایط بهینه پارامترهای بررسی شده در مقادیر مختلفی از L-سیستین به ظرف نمونه اضافه شده و مقدار جریان اندازه گیری می‌شود.

حد تشخیص

جهت به دست آوردن حد تشخیص، از جریان‌های محلول شاهد استفاده شد. بر اساس سیگنال‌های حاصل از محلول شاهد، حد تشخیص در این آزمایش برابر $5.32 \times 10^{-2} \text{ mM}$ محاسبه شده است.

رسم منحنی کالیبراسیون

برای به دست آوردن مقادیر تجربی جذب (سیگنال) و سپس محاسبه شیب، عرض از مبدأ و ضریب همبستگی معادله به این صورت عمل می‌کنیم، که طبق



شکل ۵. منحنی جریان‌های کروآمپرومتری در برابر غلظت‌های مختلف L-سیستین.

گیری L-سیستین در نمونه‌های شیمیایی و بیولوژیکی استفاده کرد.

سرامیک اصلاح شده فعال می‌باشد، در صورتی که در حضور الکتروکربن هیچ فعالیتی نشان نمی‌دهد. (۴) بر اساس زمان پاسخ کوتاه، حساسیت بالا، و حد تشخیص پایین این الکتروکربن اصلاح شده، می‌توان از آن برای اندازه گیری L-سیستین در نمونه‌های شیمیایی و بیولوژیکی استفاده کرد.

قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت جهت کمک‌های مالی و همکاری بی‌دریغ ایشان کمال تشکر را دارد.

منابع

نتیجه گیری

نتایج تجربی گزارش شده در بالا نشان می‌دهد که: (۱) یک سنسور الکتروشیمیایی بر پایه الکتروکربن سرامیکی اصلاح شده با نانو ذرات طلا تهیه شده و به‌طور موفقیت آمیزی جهت اندازه‌گیری L-سیستین مورد استفاده قرار گرفت. (۲) الکتروکربن سرامیکی را می‌توان توسط نانو ذرات طلا، با استفاده از روش الکتروشیمیایی به‌صورتی پایدار و محکم اصلاح کرد. (۳) گونه L-سیستین در حضور الکتروکربن سرامیک اصلاح شده فعال می‌باشد، در صورتی که در حضور الکتروکربن هیچ فعالیتی نشان نمی‌دهد. (۴) بر اساس زمان پاسخ کوتاه، حساسیت بالا، و حد تشخیص پایین این الکتروکربن اصلاح شده، می‌توان از آن برای اندازه

- [1] N. Olga, S.L. Nathan, R.G. Compton, 2003. Analytical determination of homocysteine: a review. *Talanta* 60 (2003) 1085-1095.
- [2] N. Olga, S.L. Nathan, R.G. Compton, Selective Electroanalytical Assay for Cysteine at a Boron Doped Diamond Electrode. *Electroanalysis* 16 (2004) 1285-1291.
- [3] A. Salimi, M. Roushani, Electrocatalytic Oxidation of Sulfur Containing Amino Acids at Renewable Ni-Powder Doped Carbon Ceramic Electrode: Application to Amperometric Detection L-Cystine, L-Cysteine and L-Methionine. *Electroanalysis* 18 (2006) 2129-2136.
- [4] A.S. Kumar, J.M. Zen, J.C. Chen, Electrocatalytic Oxidation and Sensitive Detection of Cysteine on a Lead Ruthenate Pyrochlore Modified Electrode. *Analytical Chemistry* 73 (2001) 1169-1175.
- [5] I. Takayo, J.R. Kirchoff, Electrochemical Detection of Thiols with a Coenzyme Pyrroloquinoline Quinone Modified Electrode. *Analytical Chemistry* 72 (2000) 5755-5760.
- [6] S. Shahrokhian, M. Karimi, Voltammetric studies of a cobalt (II)-4-methylsalophen modified carbon-paste electrode and its application for the simultaneous determination of cysteine and ascorbic acid. *Electrochim. Acta* 50 (2004) 77-84.
- [7] M. Tsionsky, G. Gun, V. Giezer, O. Lev, Sol-gel-derived ceramic-carbon composite electrodes—Introduction and scope of applications. *Analytical Chemistry* 66 (1994) 1747-1753.