

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده داروسازی

پایان نامه جهت دریافت دکتری عمومی داروسازی

عنوان

بررسی اکسیداسیون گلوکز بر روی الکتروود اصلاح شده
به روش غیر آنزیمی

استاد راهنما:

دکتر محمد جوهری

دکتر عزیز باباپور

استاد مشاور:

دکتر پری کرمی

نگارش:

مهدیه شوقی بنام

شماره پایان نامه:

د ۱۰۰ - ۱۴۰۰/۹

آذر ۱۴۰۰

بسمه تعالی



دانشگاه فراه و
خدمات بهداشتی و درمانی استان فراه

سوگند نامه

اینک که برای پرداختن به پیشه داروسازی آماده هستم با ایمانی کامل و اعتقادی محکم به آفریننده بزرگ جهان هستی و کتاب آسمانی خود سوگند یاد میکنم و در پیشگاه با عظمت او پیمان می بندم و خداوند را در عهد و میثاق پایدار خود شاهد و گواه می گیرم که در این امر خطیر همواره در راه راست و درست انسانی گام بردارم و عزت و حرمت طبابت و مصلحت بیماران و رنجوران را بر هر چیزی برتر بدانم و در برابر فریب هوای نفس از جاده صلاح منحرف نشوم و به هرکاری که با راه و رسم الهی و آئین پرهیزکاری و شرافت انسانی و پزشکی مغایرت دارد دست نیازم. قسم یاد میکنم اسرار بیماران را محفوظ و هرگز داروهایی که موجب مرگ انسان ها و یا سقط جنین می گردد در اختیار افراد جامعه نگذارم. همواره خواهم کوشید بخاطر مسائل مادی بیماران را از خدمات پزشکی و دارویی محروم نسازم تا با روی گشاده و وجدانی آزاد در پیشگاه خداوند بلند مرتبه حاضر شوم.

امضای دانشجوی فارغ التحصیل

گواهی می شود که خانم / آقای

آئین تحلیف را در حضور اینجانبان

دانشجوی سال آخر دانشکده داروسازی در تاریخ

هیت ممتحن (امضا کنندگان نیز) به عمل آورده و سوگند نامه را امضا نمود.


محل امضا

استاد راهنما
معاونت آموزشی
دانشگاه فراه
۱۴۰۲/۰۹/۱۲

گواهی صحت و اصالت پایان نامه

بدینوسیله گواهی می‌نمایم کلیه نتایج آرایه شده در این پایان نامه حاصل کار اینجانب بوده و با رعایت کلیه اصول علمی و اخلاقی نگارش شده است. تمام یا قسمتی از آن توسط فرد یا مرکز علمی دیگر به هیچ صورتی آرایه یا ثبت نشده است. موارد استفاده شده از آثار دیگران با مشخصات کامل منبع ذکر گردیده است، و همچنین پاسخگویی و مسئولیت در قبال نتایج به عهده اینجانب خواهد بود.

کلیه حقوق مادی و معنوی این اثر متعلق به دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل می‌باشد و هر گونه بهره برداری یا تکثیر بخشهایی یا کل آن با مجوز دانشکده مجاز است.



۱۴۰۰، ۹، ۲

تاریخ و امضاء:

دکتر محمد همدانی

نام و نام خانوادگی استاد راهنما:

شماره دانشجویی: ۹۲۲۴۳۸۰۵



تاریخ و امضاء: ۱۴۰۰، ۹، ۲

نام و نام خانوادگی دانشجو:

تقدیم:

ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به پروردگار بخشنده ای که همواره سخاوتمندانه مرا مورد عطف و مرحمت خویش قرار داد و تقدیم به آنان که مرا همچون اولین روشنای سحرگاه در آسمان تاریک نخستین صبح بهار امید بخشیدند به پدر، مادر عزیزم.

تشکر:

سپاس بی پایان شایسته پروردگاریست که انسان را آفرید و به او قدرت اندیشیدن داده و توانایی های بالقوه را در وجود انسان قرار داده است. پس از ارادت خاضعانه به درگاه پروردگار بی همتا تشکر قلبی و لسانی خود را از استادان عالی قدر جناب آقای دکتر محمد جوهری اهر و جناب آقای دکتر عزیز باباپور که زحمت راهنمایی این پایان نامه را عهده دار گردیدند و در تمامی مراحل انجام رساله از راهنمایی های مدبرانه شان استفاده نمودم ابراز می دارم و توفیقات روز افزون را توأم با صحت و سعادت برایشان خواستارم.

از سرکار خانم دکتر پری کرمی که در امر مشاوره این رساله مساعدت نمودند و در این امر نهایت مراقبت، توجه و دقت خود را مبذول فرموده اند کمال تشکر را دارم
برخود فرض مسلم می دانم که خالصانه ترین سپاس خود را نثار پدر و مادر عزیزم سازم که وجود مقدسشان همیشه دوران مایه ی پشتگرمی و آرامش بخش روح و روانم بوده است و لحظه های سرافرازیم همیشه مدیون دست های پر مهر آنان است. از خواهر مهربانم که با محبت بی دریغش خستگی های این راه را به امید و روشنایی تبدیل کرد از صمیم قلب سپاسگزارم.

چکیده

مقدمه: اندازه گیری دقیق گلوکز خون برای ارزیابی بیماری دیابت و همچنین تنظیم دوز انسولین و داروهای پایین آورنده قند خون امری ضروری است. بنابراین وجود روش های ساده، سریع و ارزان برای اندازه گیری کردن گلوکز خون از نیاز های ضروری بشر می باشد. تاکنون روش های مختلفی برای اندازه گیری گلوکز خون انسان معرفی شده است ولی غالب این روش ها گران بوده و نیازمند اصلاح سطح الکتروود با آنزیم گلوکز اکسیداز است. بنابراین ابداع روش جدید برای اندازه گیری مستقیم گلوکز بدون حضور آنزیم می تواند از قیمت محصول تمام شده بکاهد. هدف از این پروژه طراحی یک سنسور الکتروشیمیایی بدون استفاده از آنزیم گلوکز اکسیداز برای اندازه غلظت گلوکز خون در pH بیولوژیکی ۷/۴ است.

روش کار: بدین منظور ابتدا نانوذرات مس (Cu) به صورت الکتروشیمیایی بر روی الکتروود صفحه چاپی پلاتین (PtSPE) ترسیب گردید. در ادامه از نانولوله های چند دیواره کربنی (MW) برای اصلاح سطح Cu-PtSPE استفاده گردید. در پایان کار پلیمر قالب مولکولی (MIP) مخصوص گلوکز بر روی Mw-Cu-PtSPE ترسیب گردید. MIP همانند یک آنتی بادی مصنوعی عمل می کند و فقط به گلوکز اجازه نزدیک شدن به سطح الکتروود را می دهد. در نتیجه انتخاب پذیری الکتروود افزایش می یابد.

یافته ها: با ترسیب Cu بر روی PtSPE، ویژگی های الکتروکاتالیستی مس با ویژگی های منحصر به فرد پلاتین برای اکسیداسیون گلوکز ترکیب شده و یک سیگنال قابل قبولی برای اکسیداسیون گلوکز در pH = ۷/۴ نشان می دهد. MW نیز باعث بهبود سیگنال و افزایش هدایت پذیری سطح الکتروود می شود. در پایان، MIP همانند یک آنتی بادی مصنوعی عمل می کند و فقط به گلوکز اجازه نزدیک شدن به سطح الکتروود را می دهد. در نتیجه انتخاب پذیری سنسور MIP-Mw-Cu-PtSPE افزایش می یابد.

نتیجه گیری: سنسور طراحی شده MIP-Mw-Cu-PtSPE در محدوده وسیع غلظت $0.1 \mu\text{M}$ تا 50 mM متناسب با غلظت گلوکز می باشد و حد تشخیص آن، $0.05 \mu\text{M}$ بدست آمد. این بیوسنسور علاوه بر سادگی که دارد، یک گزینه قابل اعتماد، با حساسیت و انتخاب پذیری بالا را برای تعیین کمی گلوکز در نمونه طبیعی خون را فراهم می کند و می تواند برنامه های کاربردی بالقوه جدیدی را در زمینه های پزشکی و درمان ارائه دهد.

کلیدواژه ها: گلوکز، سنسور الکتروشیمیایی، بدون آنزیم، نانوذرات مس، پلیمر قالب مولکولی، نانولوله-های کربنی چند دیواره

فهرست مطالب

ا	چکیده.....
ب	فهرست مطالب.....
ث	فهرست جداول.....
ج	فهرست شکل‌ها.....
د	فهرست اختصارات.....
۱	۱- فصل اول: مقدمه.....
۱	۱- ۱- بیان مسئله و اهمیت موضوع.....
۱	۱- ۲- بررسی متون:.....
۱	۱- ۲- ۱- دیابت.....
۳	۱- ۲- ۲- اصول سنسورهای الکتروشیمیایی گلوکز.....
۴	۱- ۲- ۳- تاریخچه ای از سنسورهای الکتروشیمیایی گلوکز بر پایه آنزیم.....
۶	۱- ۲- ۴- معایب تشخیص گلوکز با استفاده از آنزیم.....
۸	۱- ۲- ۵- سنسورهای گلوکز غیر آنزیمی (نسل چهارم).....
۱۵	۱- ۲- ۶- کاربرد نانومواد در سنسورهای الکتروشیمیایی غیر آنزیمی گلوکز.....
۲۰	۱- ۲- ۷- پلیمر قالب مولکولی (MIP).....
۲۲	۱- ۲- ۸- الکتروود صفحه چاپی SPE.....
۲۴	۱- ۲- ۹- تکنیک کروئوآمپرومتری.....
۲۵	۱- ۳- اهداف پروژه حاضر.....
۲۷	۲- فصل دوم: مواد و روش‌ها.....
۲۷	۲- ۱- معرف‌ها و مواد شیمیایی.....
۲۸	۲- ۲- دستگاہوری.....
۲۹	۲- ۳- تهیه Cu-PtSPE.....
۲۹	۲- ۴- تهیه MW-Cu-PtSPE.....
۳۰	۲- ۵- تهیه MIP-MW-Cu-PtSPE.....
۳۱	۲- ۶- اندازه گیری گلوکز توسط سنسور MIP-MW-Cu-PtSPE.....
۳۱	۲- ۷- طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS).....
۳۲	۲- ۸- آماده‌سازی نمونه‌های حقیقی.....

۳۱	۹-۲-ملاحظات اخلاقی.....
۳۳	۳-فصل سوم: نتایج و بحث.....
۳۶	۳- ۱- بررسی رفتار گلوکز بر روی سنسور مورد نظر به روش ولتامتری چرخه‌ای.....
۴۰	۳- ۲- مطالعه تاثیر سرعت روبش پتانسیل بر رفتار ولتامتری چرخه‌ای اکسیداسیون گلوکز.....
۴۳	۳- ۳- مطالعه رفتار اسپکتروسکوپی امیدانس الکتروشیمیایی (EIS) سنسور طراحی شده.....
۴۵	۳- ۴- بررسی رفتار کروئوآمپرومتری و مطالعه اثر گونه‌های مزاحم در سنسور مورد نظر.....
۴۷	۳- ۵- ریخت شناسی سنسور مورد نظر توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM).....
۵۰	۳- ۶- بهینه‌سازی پارامترهای مختلف.....
۵۱	۳- ۶- ۱- بهینه‌سازی مدت زمان ترسیب Cu بر روی PtSPE.....
۵۳	۳- ۶- ۲- بهینه‌سازی مقدار MW ترسیب شده بر روی Cu-PtSPE.....
۵۵	۳- ۶- ۳- بهینه‌سازی تعداد چرخه‌های پلیمریزاسیون برای ترسیب MIP بر روی MW-Cu-PtSPE.....
۵۸	۳- ۶- ۴- بهینه‌سازی مدت زمان برهمکنش گلوکز با سنسور MIP-MW-Cu-PtSPE.....
۶۰	۳- ۷- نمودار معیارگیری و تعیین حد تشخیص گلوکز توسط MIP-MW-Cu-PtSPE.....
۶۴	۳- ۸- اندازه‌گیری گلوکز در نمونه‌های حقیقی توسط سنسور MIP-MW-Cu-PtSPE.....
۶۶	۳- ۹- مقایسه سنسور گزارش شده با سنسور مورد مطالعه.....
۶۶	۳- ۱۰- نتیجه‌گیری.....
۶۷	۳- ۱۱- پیشنهادات.....
۶۸	منابع.....
i	Abstract.....

فهرست جداول

- جدول ۱-۱: برخی از سنسور های الکتروشیمیایی غیر آنزیمی گزارش شده ابرای سنجش گلوکز در pH بیولوژیکی..... ۱۹
- جدول ۱-۲: مشخصات مواد شیمیایی به کار رفته..... ۲۷
- جدول ۱-۳: داده‌های حاصل از آنالیز گلوکز در نمونه ی خون موش صحرایی توسط سنسور MIP-MW-Cu-PtSPE..... ۶۴
- جدول ۲-۳: داده‌های حاصل از آنالیز گلوکز در نمونه‌های خون انسان های سالم داوطلب توسط سنسور MIP-MW-Cu-PtSPE و دستگاه تجاری سنجش قند خون..... ۶۵
- جدول ۲-۳: مقایسه برخی سنسور های گلوکز غیر آنزیمی مبتنی بر مس با سنسور طراحی شده MIP-MW-Cu-PtSPE..... ۶۵

فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۱: شماتیکی از قسمت‌ها (a) و نسل‌های (b) مختلف سنسورهای الکتروشیمیایی گلوکز [۱]..... ۳
- شکل ۲-۱: نخستین سنسور الکتروشیمیایی گلوکز بر پایه Pt اصلاح شده با GOx [۹]..... ۴
- شکل ۳-۱: شماتیکی از سنسورهای گلوکز آنزیمی متعلق به نسل اول [۱۱]..... ۵
- شکل ۴-۱: شماتیکی از سنسورهای گلوکز آنزیمی متعلق به نسل دوم [۱۱]..... ۵
- شکل ۵-۱: نمونه‌ای از سنسورهای گلوکز آنزیمی متعلق به نسل سوم. نحوه طراحی کونژوگه الکترو-آنزیم برای اکسیداسیون مستقیم گلوکز [۱۷]..... ۶
- شکل ۶-۱: تعادل حالت‌های مختلف گلوکز در یک محلول آبی و مسیرهای انتقال الکترون در واکنش‌های الکتروشیمیایی آن [۲۴]..... ۱۲
- شکل ۷-۱: مراحل ساخت الکتروود کربن اصلاح شده نانوذرات هسته-پوسته Au@Pt برای تشخیص غیر آنزیمی گلوکز [۶۵]..... ۱۷
- شکل ۸-۱: دستگاه MOMSense (A) و روش ساخت Pt/CuO/Pt [۶۶]..... ۱۸
- شکل ۹-۱: شماتیک کلی از نحوه سنتز MIP..... ۲۱
- شکل ۱۰-۱: شماتیک کلی از یک سنسور گلوکز بر پایه MIP [۹۳]..... ۲۱
- شکل ۱۶-۱: اجزای یک SPE سه الکترودی (B) ساختار یک SPE با الکترودهای مرجع و کمکی و ۱۶ الکتروود کار (C) SPE سه الکترودی با جنس‌های مختلفی (طلا، کربن، نقره) از الکتروود کار (D) SPE با الکترودهای مرجع و کمکی و ۲ الکتروود کار (سمت راست) SPE با یک الکتروود کمکی و ۸ الکتروود کار (سمت چپ) (E) مقایسه اندازه SPE ای متعارف با اندازه سکه (F) نمونه‌های دیگر از SPE های تجاری در اشکال، اندازه‌ها و تعداد الکترودهای مختلف..... ۲۳
- شکل ۱۲-۱: اصول کلی کرومپرومتری: اعمال پتانسیل (نمودار چپ) و سیگنال خروجی (نمودار راست) [۹۸]..... ۲۴
- شکل ۱-۳: شمایی مراحل ساخت سنسور غیر آنزیمی گلوکز و نحوه عملکرد آن..... ۳۵
- شکل ۲-۳: ولتاموگرام‌های چرخه‌ای PtSPE محلول ۰/۰۱ M PBS با pH = ۷/۴، با سرعت روبش ۱۰۰ mV/s در غیاب (a) و در حضور (b) ۱ mM گلوکز..... ۳۷
- شکل ۳-۳: مکانیسم واکنش اکسیداسیون الکتروشیمیایی گلوکز در سطح پلاتین در محیط خنثی (۷/۴) (pH = در محدوده پتانسیل ۰/۱۵ تا ۰/۳ V [۱۱]..... ۳۷

- شکل ۳-۴: ولتاموگرام‌های چرخه‌ای Cu-PtSPE محلول ۰/۰۱ M PBS با $\text{pH} = 7/4$ ، با سرعت روبش 100 mV/s در غیاب (a) و در حضور (b) 1 mM گلوکز..... ۳۸
- شکل ۳-۵: ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MW-Cu-PtSPE محلول ۰/۰۱ M PBS با $\text{pH} = 7/4$ ، با سرعت روبش 100 mV/s در غیاب (a) و در حضور (b) 1 mM گلوکز..... ۳۹
- شکل ۳-۶: ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MIP-MW-Cu-PtSPE محلول ۰/۰۱ M PBS با $\text{pH} = 7/4$ ، با سرعت روبش 100 mV/s در غیاب (a) و در حضور (b) 1 mM گلوکز..... ۴۰
- شکل ۳-۷: (A) ولتاموگرام چرخه‌ای محلول 1 mM گلوکز و $0/01 \text{ M}$ PBS با $\text{pH} = 7/4$ ، در سطح الکتروود MIP-MW-Cu-PtSPE و در سرعت‌های روبش پتانسیل مختلف از 40 mV/s تا 150 mV/s (B) نمودار تغییرات جریان پیک آندی برحسب سرعت روبش (B) و جذر سرعت روبش (C)..... ۴۲
- شکل ۳-۸: (A) ولتاموگرام چرخه‌ای محلول 1 mM گلوکز و $0/01 \text{ M}$ PBS با $\text{pH} = 7/4$ ، در سطح الکتروود MIP-MIP-MW-Cu-PtSPE و در سرعت‌های روبش پتانسیل مختلف از 40 mV/s تا 150 mV/s (B) نمودار تغییرات جریان پیک آندی برحسب سرعت روبش (B) و جذر سرعت روبش (C)..... ۴۳
- شکل ۳-۹: نمودار نایکوئیست حاصل از آنالیز EIS برای PtSPE (a)، Cu-PtSPE (b)، MW-Cu-PtSPE (c) و MIP-MW-Cu-PtSPE (d)..... ۴۵
- شکل ۳-۱۰: آمپروگرام و اثر مزاحمت 5 mM آسکروبیک اسید (AA)، یوریک اسید (UA)، استامیدوفنول (AP)، ساکاروز (Suc)، مالتوز (Mal)، لاکتوز (Lac) و فروکتوز (Fruc) (b) و 1 mM گلوکز (a) بر روی PtSPE (A)، Cu-PtSPE (B)، MW-Cu-PtSPE (C) و MIP-MW-Cu-PtSPE (D) در پتانسیل ثابت $0/4 \text{ V}$ ۴۷
- شکل ۳-۱۱: تصویر SEM برای PtSPE..... ۴۸
- شکل ۳-۱۲: تصویر SEM برای Cu-PtSPE..... ۴۹
- شکل ۳-۱۳: تصویر SEM برای MW-Cu-PtSPE..... ۴۹
- شکل ۳-۱۴: تصویر SEM برای MIP-MW-Cu-PtSPE..... ۵۰
- شکل ۳-۱۵: (A) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای PtSPE محلول حاوی 1 mM گلوکز و $0/01 \text{ M}$ PBS با $\text{pH} = 7/4$ ، با سرعت روبش 100 mV/s در زمان‌های مختلف اعمال شده (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و 210 s) برای ترسیب Cu. (B) نمودار تغییرات جریان پیک آندی برحسب زمان‌های مختلف اعمال شده برای ترسیب Cu (تعداد تکرار = ۳)..... ۵۲

شکل ۳-۱۶: (A) آمپروگرام‌های Cu-PtSPE اصلاح شده با مقادیر مختلف از اصلاح‌گر MW (ترسیب ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۲۴ و ۲۷ μL از سوسپانسیون MW با غلظت 1 mg mL^{-1}) برای محلول حاوی ۱ mM گلوکز و ۰/۰۱ M PBS با $\text{pH} = 7/4$ در پتانسیل ثابت ۰/۴ V. (B) نمودار تغییرات جریان برحسب مقادیر مختلف MW ترسیب شده (تعداد تکرار = ۳) ۵۴.

شکل ۳-۱۷: ولتاموگرام‌های چرخه ای ثبت شده در طول انجام فرآیند پلیمریزاسیون MIP بر روی MW-Cu-PtSPE..... ۵۶.

شکل ۳-۱۸: آمپروگرام‌های محلول آنالیت (۱ mM گلوکز) (a) و محلول گونه‌های مزاحم (۵ mM AA، UA، AP، Suc، Mal، Lac و Fruc) (b) برای (A) ۰، (B) ۵، (C) ۱۰، (D) ۱۵، (E) ۲۰ و (F) ۲۵ بار اعمال چرخه برای ترسیب MIP بر روی MW-Cu-PtSPE..... ۵۷.

شکل ۳-۱۹: (A) آمپروگرام‌های MIP-MW-Cu-PtSPE برای محلول حاوی ۱ mM گلوکز و ۰/۰۱ M PBS با $\text{pH} = 7/4$ با زمان‌های مختلف انکوباسیون (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، و ۳۰ min) در پتانسیل ثابت ۰/۴ V. (B) نمودار تغییرات جریان برحسب زمان‌های مختلف انکوباسیون (تعداد تکرار = ۳)..... ۵۹.

شکل ۳-۲۰: (A) آمپروگرام‌های MIP-MW-Cu-PtSPE برای محلول حاوی ۰/۰۱ M PBS با $\text{pH} = 7/4$ و گلوکز با غلظت مختلف (۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۵، ۱۰ و ۵۰ mM) با مدت زمان انکوباسیون ۲۰ min در پتانسیل ثابت ۰/۴ V. (B) تغییرات جریان نسبت غلظت گلوکز (تعداد تکرار = ۳)..... ۶۲.

فهرست اختصارات

نام اختصار	معادل انگلیسی	معادل فارسی
AA	Ascorbic acid	آسکروبیک اسید
AP	Acetamidophenol	استامیدوفنول
CA	Chronoamperometry	کرونوآمپرومتری
C _{dl}	Double-layer capacitance	ظرفیت لایه دوگانه الکتریکی
Cu	Copper nanoparticles	نانوذرات مس
CV	Cyclic voltammetry	ولتامتری چرخه ای
EIS	Electrochemical impedance spectroscopy	طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمی
Fruc	Fructose	فروکتوز
Glc	Glucose	گلوکز
Lac	Lactose	لاکتوز
Mal	Maltose	مالتوز
MW	Multi-walled carbon nanotubes	نانولوله‌های کربنی چند دیواره
PBS	Phosphate buffered saline	بافر فسفات
PtSPE	Platinum screen printed electrode	الکتروود صفحه چاپی پلاتین
R _{CT}	Charge transfer resistance	مقاومت انتقال بار
R _s	Solution resistance	مقاومت محلول
SPE	Screen-Printed Electrode	الکتروود صفحه چاپی
Suc	Sucrose	ساکاروز
UA	Uric acid	یوریک اسید
Zw	Warburg impedance	امپدانس واربرگ