

استفاده از زیست‌حسگرهای مبتنی بر پایه نانوساختارهای پلی‌آنیلین برای تشخیص گلوکوز و کلسترول

صدیف آزادمرد دمیرچی^{۱*}، محمد براتی^۲، حسن خلیفه^۱

۱- تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، آزمایشگاه تجزیه مواد غذایی

۲- تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده شیمی، گروه شیمی کاربردی، آزمایشگاه چندانسازهای بسپاری

پیام نگار: s-azadmard@tabrizu.ac.ir

چکیده

اندازه‌گیری کیفی و کمی اجزای مواد غذایی به دلیل هزینه بالای روش‌های مرسوم، همچنین، تمایل برای تشخیص دقیق‌تر و حساس‌تر این اجزا، از اهمیت زیادی برخوردار است. از ترکیباتی که اندازه‌گیری آنها بسیار متداول است می‌توان گلوکوز و کلسترول را برشمرد. روش‌های بسیاری تا کنون به منظور تشخیص این دو عنصر غذایی به کار گرفته شده است. لیکن لزوم اندازه‌گیری‌های دقیق با حساسیت بالای این دو ترکیب به ویژه در امر سلامتی مواد غذایی، سبب گسترش روش‌های زیست‌شناختی مخصوصاً زیست‌حسگرها شده است. از این میان، زیست‌حسگرهای مبتنی بر نانوساختارهای بسپارهای هادی، خصوصاً پلی‌آنیلین، به خاطر ویژگی‌های منحصر به فرد آنها، اخیراً مورد توجه واقع شده‌اند. آنچه در ادامه می‌آید تلاشی به منظور معرفی و بررسی مطالعات انجام شده بر روی زیست‌حسگرهای مبتنی بر پلی‌آنیلین برای تشخیص گلوکوز و کلسترول است.

کلمات کلیدی: زیست‌حسگر، کلسترول، گلوکوز، نانوالیاف پلی‌آنیلین، نانولوله‌های پلی‌آنیلین

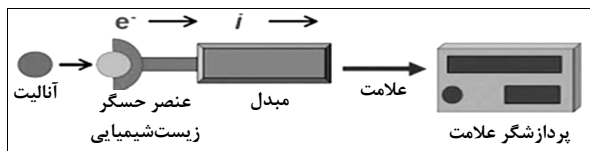
۱- مقدمه

تجهیزات گران قیمت و مواد شیمیایی با خلوص بالا هستند. بسیاری از این موانع و مشکلات با به‌کارگیری آنالیزهای آنزیمی از بین می‌رود. به هر حال، صنایع غذایی نوین نیازمند دستگاه‌های آنالیز کوچکی است که بتوانند در نمونه‌های غیرمحلوس به آسانی مورد استفاده قرار بگیرند و قادر باشند به طور برخط یک یا چند ویژگی را طی تولید یا فراوری مواد غذایی به طور همزمان کنترل نمایند. اغلب این نیازمندی‌ها را می‌توان با استفاده از الکترودهای آنزیمی به طور قابل قبولی پاسخ داد که در نتیجه سبب افزایش بازدهی و بهینه‌سازی فرایند و کیفیت محصول تولیدی می‌گردد. هرچند خود این الکترودهای آنزیمی نیز باید ارزان، قابل اعتماد و مستحکم، و در

امروزه در صنایع غذایی تشخیص ترکیب مواد غذایی در آزمون‌های کنترل کیفی از اهمیت بسیاری برخوردار است. هزینه بالای روش‌های مرسوم و نیز نیاز به اندازه‌گیری‌های هر چه دقیق‌تر و حساس‌تر، اهمیت این موضوع را آشکارتر می‌کند. به همین دلیل یافتن و یا بهبود روش‌های اندازه‌گیری سریع‌تر، دقیق‌تر، حساس‌تر و البته ارزان‌تر همواره مورد توجه محققین و تولیدکنندگان مواد غذایی بوده است [۱-۳].

وسایل آنالیز رایج در صنایع غذایی نیاز به مهارت کاربر دارد و زمان‌بر می‌باشند. این وسایل اغلب نیازمند جداسازی‌های طولانی،

این نوع از حسگرها، عنصر تشخیص دهنده یک ترکیب زیستی مانند پروتئین، آنزیم، پادتن، اسید نوکلئیک، سلول، بافت و یا گیرنده می باشد که به صورت انتخابی با آنالیت هدف واکنش می دهد و پاسخی ایجاد می کند. این پاسخ در مبدل به یک علامت الکتریکی تبدیل می شود و پس از پردازش، مقدار این سیگنال به صورت ولتاژ، جریان و یا مقاومت ظاهری مشاهده می گردد. مقدار این علامت به غلظت آنالیت ارتباط داده می شود. با توجه به اینکه عملکرد عناصر تشخیص دهنده زیستی کاملاً اختصاصی است (به عنوان نمونه آنزیم گلوکوز اکسیداز فقط گلوکوز را اکسید می کند)، زیست حسگرها علاوه بر ارزیابی کیفی و آگاهی از حضور یا عدم حضور آنالیت، ارزیابی کمی و تعیین غلظت آن را نیز ممکن می سازد [۸]. شکل (۱) نمای اجمالی یک زیست حسگر را نشان می دهد.



شکل ۱- تصویر اجمالی یک زیست حسگر [۸]

عناصر تشخیص دهنده زیستی مذکور در محلول های آبی بر روی سطوح مبدل ماندگاری کمی دارند در نتیجه برای ماندگاری بیشتر، این مواد باید به طریقی بر روی سطوح مبدل تثبیت شوند. جذب سطحی این ترکیبات بر سطح مبدل، گیرافتادن در یک ماتریس در حین پوشاندن سطح مبدل با این ماتریس و نیز تشکیل پیوند کووالانسی بین این مواد و سطح مبدل، از جمله روش هایی است که بدین منظور از آنها استفاده می شود. در بین تمامی روش ها، مؤثرترین و متداول ترین روش، روش گیرافتادن در ماتریس است. این ماتریس ها عمدتاً شامل غشاءها، ژل در خمیر کربن، گرافیت، سیلیس و یا فیلم های نازک بسپاری است. بدون شک در این میان ماتریس های بر پایه نانوساختارهای بسپارهای رسانا، بویژه پلی آنیلین و پلی پیروول، به دلیل سازگاری با اجزای زیستی، توانایی انتقال سریع الکترون، سطح مؤثر فوق العاده بالا و چسبندگی مناسب جزو کارآمدترین و مؤثرترین ماتریس ها به شمار می روند. در این مطالعه به کاربردهای نانوزیست حسگرهای بر پایه پلی آنیلین در اندازه گیری گلوکوز و کلسترول پرداخته می شود.

مقایسه با روش های موجود، برتری آشکاری داشته باشند [۴]. یکی از مهم ترین علل بروز بیماری های قلبی در سال های اخیر بالا بودن میزان کلسترول در خون است. کلسترول در محصولات لبنی و زرده تخم مرغ به وفور یافت می شود و مقدار آن را می توان به کمک روش های کروماتوگرافی مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و کروماتوگرافی گازی (GC) که از حساسیت و انتخاب پذیری مناسبی برخوردارند، تعیین نمود. اما به دلیل زمان بر بودن و گران بودن این روش ها، بهره گیری از روش های سریع و کارآمد از اهمیت بسزایی برخوردار است. در نتیجه روش های آنزیمی مانند استفاده از کلسترول استراز و کلسترول اکسیداز به دلیل سادگی، سریع بودن و مؤثر بودن می توانند به طور عملی جایگزین روش های کروماتوگرافی مرسوم شوند [۵].

گلوکوز یکی دیگر از اجزاء مهم مواد غذایی است که اندازه گیری آن در کنترل کیفی فرایندهای تولید مواد غذایی بسیار مهم و متداول است. تاکنون برای تشخیص گلوکوز روش های متعدد طیف سنجی مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، بویژه در فرایند تخمیر شربت ها، به کار گرفته شده است. لیکن امروزه روش های آنزیمی بدین منظور بسیار گسترش پیدا کرده است [۶].

تمایل محققین در عرصه صنایع غذایی برای اندازه گیری این ترکیبات، با تکرار پذیری، انتخابگری و سرعت بالا در غلظت های بسیار پایین در محیط زنده منجر به توسعه ابزارهایی تحت عنوان زیست حسگرها شده به گونه ای که ۸۵ درصد از زیست حسگرهای رایج برای اندازه گیری گلوکوز به کار می رود [۷ و ۲].

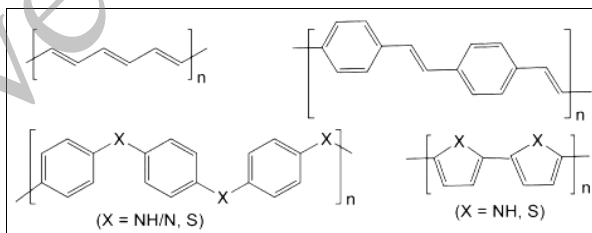
به طور کلی حسگرها وسایلی هستند که یک تغییر شیمیایی، فیزیکی و یا زیست شناختی را درک کرده و آن را به یک سیگنال قابل اندازه گیری تبدیل می کنند. یک حسگر شامل یک عنصر تشخیص دهنده است که قادر به ایجاد یک پاسخ به حضور یک آنالیت خاص یا گروهی از آنالیت ها می باشد. بخش مهم دیگر یک حسگر مبدل است که پاسخ ایجاد شده را به یک علامت تبدیل می کند. بخش سوم یک حسگر، پردازشگر سیگنال است که سیگنال دریافتی از مبدل را جمع آوری کرده و پس از تقویت آن، نهایتاً به نمایش می گذارد.

زیست حسگرها زیرگروهی از حسگرهای شیمیایی هستند که عملکردی کاملاً اختصاصی در فرایندهای تشخیص زیستی دارند. در

۲- بسپارهای رسانا

بسپارهای رسانا دسته‌ای از مواد آلی هستند که دارای خاصیت رسانش الکتریکی می‌باشند. این چنین تصور می‌شود که فلزات، دارای رسانش الکتریکی و مواد آلی عایق الکتریسیته اند در حالی که بسپارهای رسانا دارای هر دو ویژگی هستند. از دیگر مزایای بسپارهای رسانا، فرایندپذیر بودن آنهاست بدین معنی که این مواد قابلیت انحلال و یا ذوب شدن را دارا می‌باشند.

این ویژگی سبب می‌شود که این بسپارها در اشکال مختلف و به روش‌های گوناگون تهیه شده و به کار گرفته شوند. به علاوه این بسپارها به دلیل ماهیت پلاستیکی‌شان، دارای قابلیت انعطاف‌پذیری می‌باشند. از دیگر ویژگی‌های منحصر بفرد این بسپارها می‌توان به تنظیم قابلیت هدایت الکتریکی آنها اشاره کرد [۹]. دلیل هدایت الکتریکی این مواد، ساختار پیوندی مزدوج آنهاست. بدین معنی که الکترون‌های موجود در پیوندهای π این ساختارها می‌توانند در طول زنجیره بسپاری جابجا شوند و جریان الکتریکی را انتقال دهند. شکل (۲) ساختار مزدوج برخی بسپارهای رسانا را نشان می‌دهد.



شکل ۲- برخی از انواع بسپارهای هادی. پلی فنیلین ونیلین،

پلی استیلین، پلی تایوفن ($x=s$) و پلی پیرول ($x=NH$)

پلی آنیلین ($x=N, NH$) و پلی فنیلین سولفید ($x=S$) [۹]

در بین بسپارهای رسانا، پلی آنیلین به دلیل هدایت الکتریکی بالا، ساده بودن روش تولید، پایداری محیطی خوب و ماهیت شیمیایی (اکسایش/کاهش) منحصر بفرد، بیش از دیگر بسپارهای رسانا مورد توجه محققین بوده است. پژوهش‌های انجام شده در سال‌های اخیر برای تهیه پلی آنیلین در مقیاس نانو موجب شده است که مهم‌ترین ویژگی قابل توجه این بسپار یعنی هدایت الکتریکی، به طور فزاینده‌ای بهبود یابد. علاوه بر این، افزایش سطح مؤثر بسپار موجب بهبود خواص فرایندپذیری آن شده است و در نتیجه کاربرد این

بسپار را در علوم مختلف به خصوص صنایع غذایی افزایش داده است [۱۰]. تاکنون انواع مختلفی از نانوساختارهای پلی آنیلین تهیه شده است. نانوذرات، نانوالیاف‌ها، نانولوله‌ها، نانوسیم‌ها، نانومیله‌ها و نانوبلت‌ها از جمله این ساختارها هستند.

ویژگی‌های یادشده از نانوساختارهای بسپارهای رسانا باعث شده است که به این مواد به‌عنوان یکی از جذاب‌ترین گزینه‌ها برای ماتریس تثبیت کننده عنصر تشخیص دهنده زیستی بر روی مبدل زیست‌حسگر، توجه شود. از بین نانوساختارهای تهیه شده از پلی آنیلین، نانوذرات، نانوالیاف‌ها، و نانولوله‌های این ماده تاکنون در زیست‌حسگرها به کار گرفته شده‌اند [۸].

در ادامه به نحوه به‌کارگیری این مواد در ساختار زیست‌حسگرها و همچنین نحوه اندازه‌گیری قندها، پروتئین‌ها و چربی‌ها با استفاده از آنها پرداخته می‌شود.

۳- زیست حسگرها

همان طور که اشاره شد زیست حسگرها دسته‌ای از حسگرها هستند که عملکرد فوق‌العاده اختصاصی در حضور عوامل مداخله‌گر دارند. تثبیت هر یک از عملگرهای زیستی بر روی مبدل زیست‌حسگر باعث ایجاد پاسخ کاملاً اختصاصی آن به آنالیت می‌شود. لذا از نظر انتخاب‌گری، زیست حسگرها، ابزارهای فوق‌العاده‌ای هستند.

به طور کلی در یک زیست حسگر برهم‌کنش بین آنالیت و عنصر تشخیص زیستی سبب ایجاد تغییر در یک پارامتر می‌گردد. این تغییر در مبدل به یک پیام الکتریکی تبدیل شده و پس از پردازش، به نمایش گذاشته می‌شود [۸].

۳-۱ روش‌های تثبیت عناصر زیستی

تاکنون روش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی برای تثبیت عناصر زیستی ارائه شده است. لیکن تثبیت این مواد باید به گونه‌ای باشد که جایگاه‌های فعال آنها بلوکه نشود و تغییری در شکل هندسی آنها ایجاد نگردد. علاوه بر این باید ارتباط بین عنصر تشخیص دهنده زیستی و سطح حساس مبدل برقرار باشد [۸].

از روش‌های معمول تثبیت آزنیم به‌عنوان یکی از متداول‌ترین عناصر تشخیص، می‌توان به گیر افتادن آزنیم در یک ماتریکس مثلاً یک فیلم الکترو بسپارشی، اشاره کرد. روش دیگر، ایجاد پیوند کووالانسی

زیست حسگرهای مورد نظر ما بر وقوع یک واکنش الکتروشیمیایی استوار است، لذا تکنیک ولتامتری چرخه‌ای روش بسیار مناسبی برای تشخیص حضور آنالیت در محلول می‌باشد. بدین منظور مبدل زیست حسگر به عنوان الکتروود کار در این روش مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش ۳ الکتروود کار، کمکی و شاهد مورد استفاده قرار می‌گیرند. الکتروود شاهد دارای پتانسیل ثابت در جریان‌های مختلف است. معمولاً از الکتروود شاهد (نقره/ کلرید)، نقره استفاده می‌شود. الکتروود کمکی معمولاً الکتروود پلاتین معمولی است و الکتروود کار شامل مبدل و روکش بسپاری حاوی عنصر تشخیص‌دهنده است.

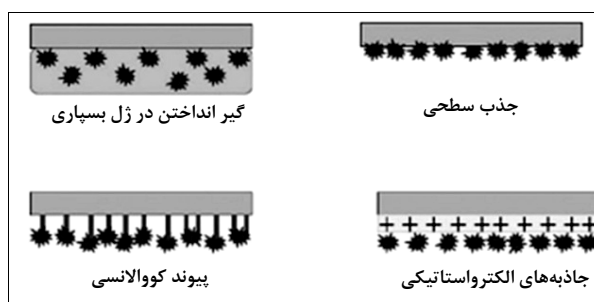
پس از قراردادن این سه الکتروود در محلول، به دو الکتروود کار و شاهد پتانسیل، بین دو مقدار مشخص به صورت رفت و برگشت اعمال می‌شود و از دو الکتروود کار و کمکی جریان‌های به دست آمده به ازای هر پتانسیل رسم می‌شود. در نتیجه، آن چه به دست می‌آید یک نمودار جریان بر حسب پتانسیل خواهد بود. در این نمودار هرگاه پتانسیل به مقداری برسد که یک گونه الکتروفعال بتواند اکسید شود، جریان افزایش می‌یابد و یک پیک را در نمودار ولتامتری چرخه‌ای به دست می‌دهد.

وقتی روبش پتانسیل در جهت عکس اعمال می‌شود، یعنی از میزان بالاتر به پایین‌تر، گونه‌های الکتروفعال که قابلیت احیا دارند، احیا شده و یک پیک را در جریان بوجود می‌آورند. از آن جایی که هر ماده ای پتانسیل (اکسایش-کاهش) ویژه خود را داراست، لذا تشخیص آنالیت از این طریق امکان‌پذیر است [۱۱]. در نتیجه روش ولتامتری چرخه‌ای به عنوان مهم‌ترین آزمون عملکرد مبدل و ناحیه حسگر زیست حسگر مورد استفاده قرار می‌گیرد. شکل (۴) نمایش اجمالی یک دستگاه ولتامتری چرخه‌ای، نحوه اعمال پتانسیل و نمودار ولتامتری چرخه‌ای حاصل از آن را نشان می‌دهد.

بین پروتئین و سطح مبدل است که در این روش پایداری عنصر تشخیص بسیار بالا خواهد بود. این اتصالات از طریق گروه‌های عاملی عنصر تشخیص مثل NH_2 , COOH , OH , SH که برای انجام واکنش زیست‌شناختی مورد نیاز نیستند، انجام می‌گیرد.

جذب سطحی روش دیگری است که اساس آن نیروی جاذبه بین عنصر تشخیص و سطح مبدل است و به منظور تثبیت عناصر تشخیص به کار گرفته می‌شود. طول عمر زیست حسگر حاصل از این روش بسیار محدود است. با این حال جذب سطحی، بسیار ساده است زیرا به هیچ واکنشگری نیاز ندارد و آرزیم کمتر دچار تخریب می‌شود. اتصال عناصر تشخیص زیست‌شناختی از طریق جاذبه‌های الکتروستاتیکی روش دیگری به منظور تثبیت این ترکیبات به شمار می‌رود. در این روش از طریق اعمال پتانسیل، بار مثبت یا منفی بر روی سطح مبدل القا می‌شود و به دنبال آن عنصر تشخیص زیست‌شناختی از طریق القای الکتریکی به سطح جذب می‌شود. شکل (۳) چهار نوع از متداول‌ترین روش‌های تثبیت عنصر حسگر زیست‌شناختی را نشان می‌دهد.

نانوساختارهای بسپارهای رسانا از جمله موادی هستند که به خاطر ویژگی‌هایی مانند رسانش الکتریکی، سازگاری با مواد زنده، پایداری محیطی، سطح تماس بالا، قابلیت استفاده به عنوان عامل تثبیت‌کننده عناصر تشخیص زیستی دارند.

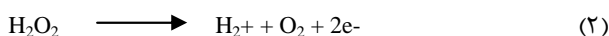
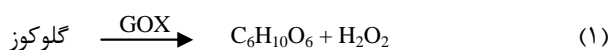


شکل ۳- چند روش متداول تثبیت عناصر

حسگر زیست‌شناختی [۸]

۵- تشخیص گلوکوز

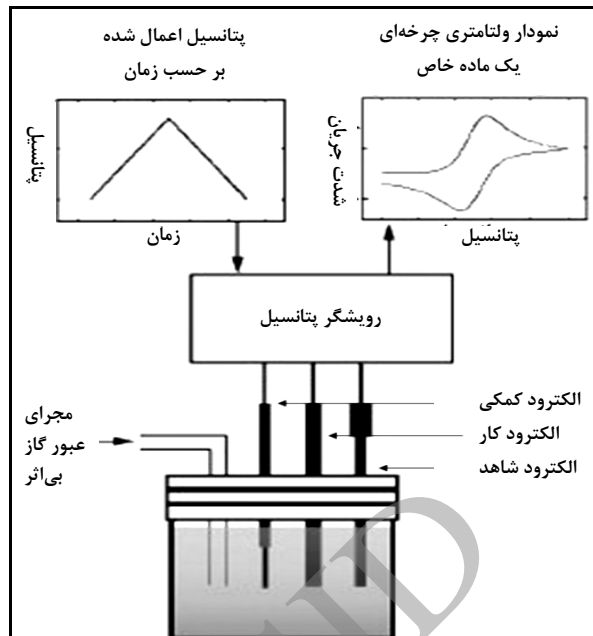
در زیست حسگرهای تشخیص گلوکوز واکنش‌های انجام شده بر روی زیست‌الکتروود (الکتروود کار) به شرح زیر است:



۴- ولتامتری چرخه‌ای

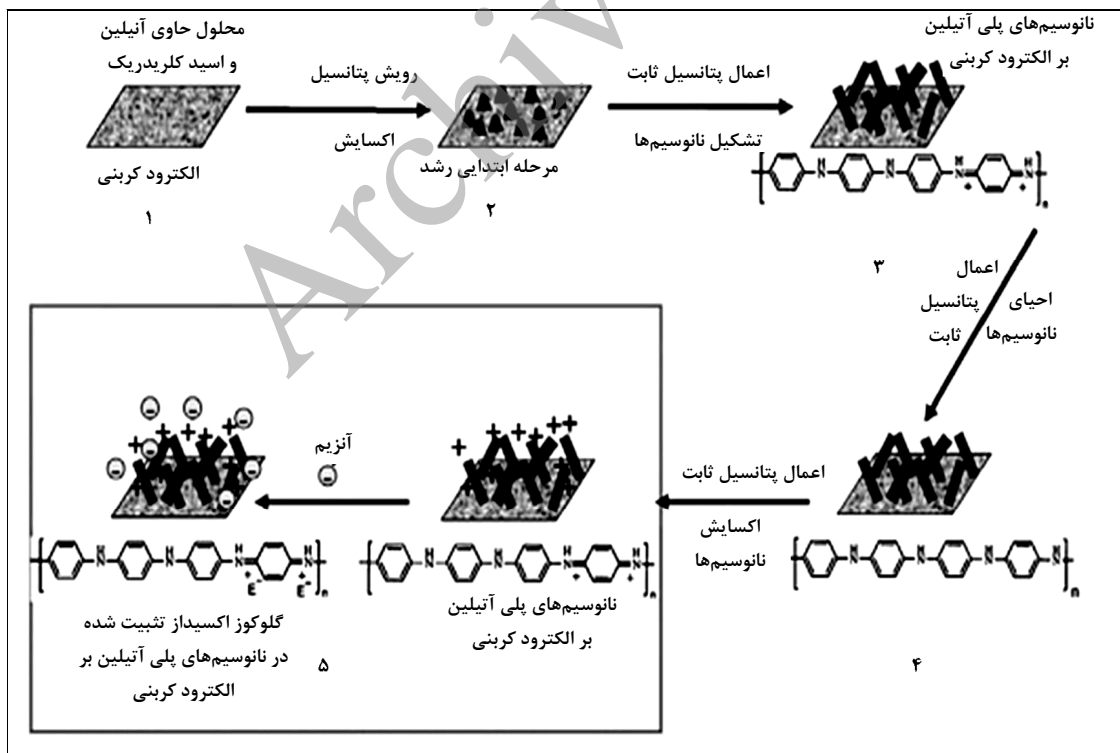
ولتامتری چرخه‌ای یک روش الکتروشیمیایی است که به منظور تشخیص حضور اجزای الکتروفعال اجرایی که توانایی تبادل الکترون در یک واکنش الکتروشیمیایی در محیط آبی را دارند- در یک محلول به کار گرفته می‌شود. از آن جایی که مبنای کار

نانوسیم‌های پلی‌آنیلین پرداختند. در این روش ابتدا مونومرهای آنیلین در یک محصول حاوی اکسیدکننده آمونیم پروکسی دی‌سولفات بسیار شده و به‌صورت فیلم بر روی یک الکتروود کربن رسوب می‌کند. در مرحله‌ای که ذرات پلی‌آنیلین در حال رشد بودند بسیار آنیلین با استفاده از اعمال پتانسیل ادامه پیدا می‌کند. سپس با اعمال جریان ثابت به الکتروود کربنی، نانوسیم‌های پلی‌آنیلین بوجود می‌آیند. پس از آن این الکتروود در یک محلول بافر فسفات (pH=7/2) قرار داده می‌شود و با اعمال پتانسیل ثابت، نانوسیم‌های پلی‌آنیلین احیاء می‌گردد. این عمل باعث پاک شدن آنیون‌ها از سطح پلی‌آنیلین شده و شرایط را برای جذب سطحی گلوکوز اکسیداز آماده می‌کند. سپس الکتروود در یک محلول بافر فسفات حاوی 2/5 میلی‌گرم بر لیتر گلوکوز اکسیداز قرار داده می‌شود و با اعمال پتانسیل 0/25 ولت، بار مثبت بر روی نانوسیم‌های پلی‌آنیلین القا می‌گردد. این بار مثبت باعث جذب الکتروستاتیکی گلوکوز اکسیداز که حاصل بارهای سطحی منفی است، می‌گردد شکل (5) طرح اجمالی فعالیت انجام شده را نشان می‌دهد.



شکل ۴- طرح اجمالی یک دستگاه ولتامتری چرخه‌ای، نمودار پتانسیل زمان اعمال شده و نمودار ولتامتری چرخه‌ای اخذ شده [۱۱]

هورنگ و همکاران [۱۲]، در پژوهشی به بررسی زیست‌حسگر تشخیص دهنده گلوکوز بر مبنای تثبیت گلوکوز اکسیداز در

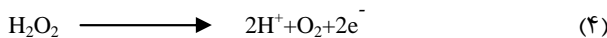
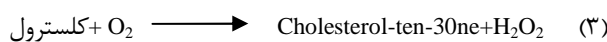


شکل ۵- طرح اجمالی مطالعه هورنگ و همکاران [۱۲]

جذب الکتروستاتیکی گلوکوزاکسیداز، نانولوله‌های پلی آنیلین این بار در محلول بافر فسفات حاوی ۷ میلی‌گرم بر لیتر گلوکوزاکسیداز، تحت پتانسیل ۷۵۰ میلی‌ولت اکسید شد. در طول اکسایش گلوکوزاکسیداز که حاوی بار منفی است در جداره داخلی نانولوله‌های پلی آنیلین جذب می‌شود و گیر می‌افتد. سپس به‌منظور حذف آنزیم‌هایی که به خوبی جذب جداره داخلی نانولوله‌ها نشده‌اند، الکتروده به وسیله آب مقطر شستشو داده شد. به‌منظور بررسی عملکرد الکتروده تهیه شده از ولتامتری چرخه‌ای استفاده شد.

۶- تشخیص کلسترول

در زیست حسگرهای تشخیص کلسترول، واکنش‌هایی که بر روی زیست‌الکتروده اتفاق می‌افتد به شرح زیر است:



دهند و همکاران [۱۴]، از نانولوله‌های پلی آنیلین به‌منظور تثبیت آنزیم لیپاز در زیست حسگر تشخیص کلسترول استفاده کردند. در این روش همان‌طور که در شکل (۷) می‌بینید ابتدا نانولوله‌های پلی آنیلین (PANI-NT) از طریق واکنش بسپارش شیمیایی تهیه شد. سپس این نانولوله‌ها به روش الکتروفوریتیک به سطح الکتروده (ایندیوم-قلع) اکسید به‌صورت فیلم ترسیب داده شد. پس از آن، الکتروده تهیه شده در محلول حاوی گلوکوز آلدئید (GLU) قرار داده شد. دلیل استفاده از گلوکوز آلدئید این است که این ترکیب در دو سر انتهایی خود حاوی گروه کربونیل است. از یک انتهای خود می‌تواند با نیتروژن‌های فیلم پلی آنیلین روی سطح (ایندیوم-قلع اکسید)، پیوند تشکیل دهد و از انتهای دیگر به گروه‌های نیتروژن لیپاز متصل گردد. در نتیجه باعث تثبیت کووالانسی لیپاز بر سطح فیلم پلی آنیلین می‌شود. پس از اتصال گلوکوز آلدئید به سطح فیلم، الکتروده خشک شده وارد محلول لیپاز می‌گردد و پس از مدتی الکتروده خشک می‌شود.

در این بررسی نیز معیار سنجش عملکرد الکتروده تهیه شده ولتامتری چرخه‌ای بوده است. در این مطالعه، سه نوع الکتروده، ((PANI-NT)/ITO)) (الکتروده پوشش داده شده با نانولوله‌های کربنی

به‌منظور بررسی عملکرد الکتروده تهیه شده، از روش ولتامتری چرخه‌ای استفاده شده است. الکتروده تهیه شده در محلول‌های با و بدون گلوکوز مورد بررسی قرار گرفت. نمودار ولتامتری حاصله نشان داد که در حالت تثبیت گلوکوز اکسیداز پیک‌های اکسیدی مربوطه ظاهر شده است، در حالی که در حالت بدون آنزیم پیک‌های اکسیدی ظاهر نشده اند (شکل (۶)). این مشاهده به‌منظور عملکرد درست زیست حسگر تهیه شده است.

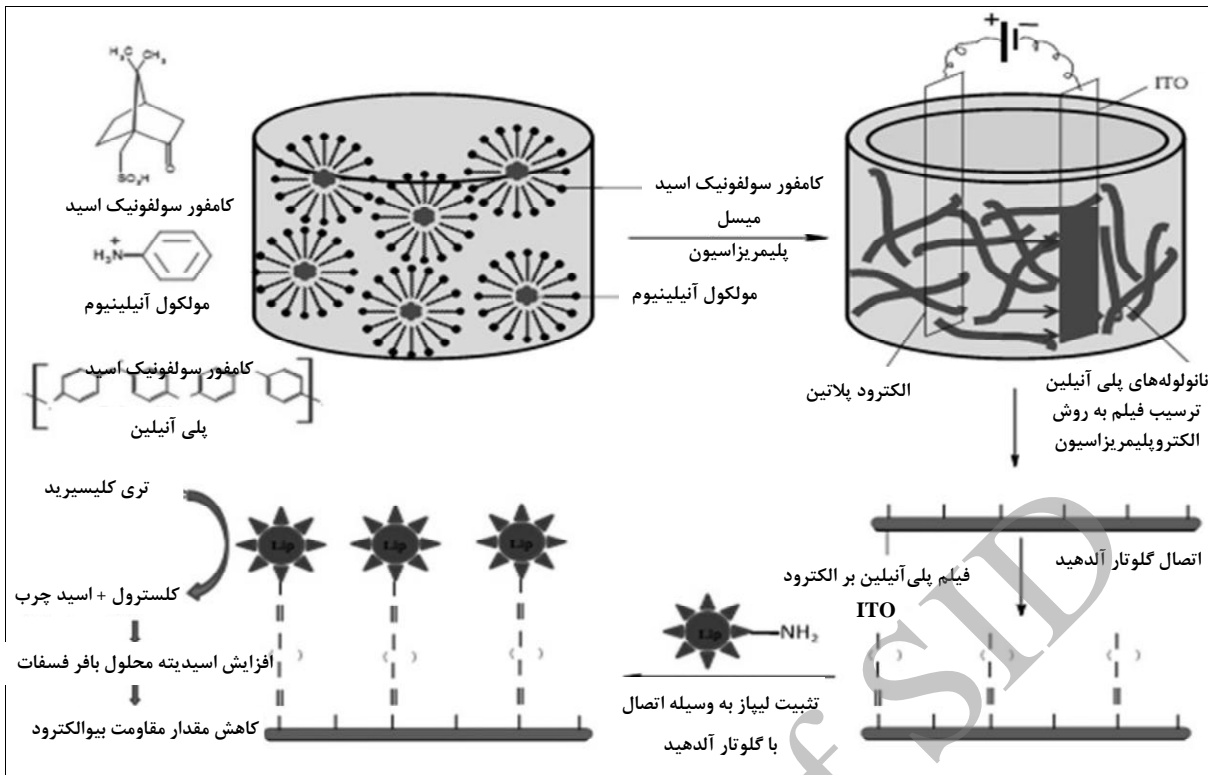


شکل ۶- ولتامتری چرخه‌ای حاصل از مطالعه هورنگ و همکاران [۱۲]

در بررسی دیگری که توسط وانگ و همکاران [۱۳]، انجام شد از نانولوله‌های پلی آنیلین به‌منظور تثبیت گلوکوز اکسیداز استفاده شد. در این مطالعه غشاء آلومینیم اکسید آندی (AAO) با قطر بیرونی حفرات ۲۰۰ تا ۲۵۰ نانومتر و قطر درونی حفرات ۱۰۰ نانومتر به‌منظور سنتز نانولوله‌های پلی آنیلین به کار گرفته شد.

ابتدا یک طرف آلومینیم اکسید آندی با پلاتین از طریق تبخیر در خلأ به ضخامت ۱۰ نانومتر پوشش داده شد. سپس به پلاتین یک سیم مسی به‌منظور انتقال جریان الکتریکی متصل شد. پس از عایق‌سازی سیم مسی و قسمت پشتی پلاتین به‌منظور جلوگیری از برخورد آن‌ها با محلول حاوی نمونه، الکتروده تهیه‌شده در محلول ۰/۵ مولار اسید سولفوریک و ۰/۲ مولار مونومر آنیلین قرار داده شد. با اعمال پتانسیل روبشی، بسپارش آنیلین و ترسیب پلی آنیلین در حفرات آلومینیم اکسید آندی انجام شد و نانولوله‌های پلی آنیلین تهیه گردید.

به‌منظور تثبیت گلوکوز اکسیداز از ابتدا نانولوله‌های پلی آنیلین در محلول بافر فسفات با اعمال ولتاژ ۲۵۰ میلی‌ولت احیاء شد تا آنیون‌های اطراف نانولوله‌های پلی آنیلین حذف گردد. سپس به‌منظور



شکل ۷- طرح اجمالی مطالعه دهند و همکاران [۱۴]

روی سطح فیلم پلی آنیلین پخش گردید و اجازه داده شد تا سطح الکتروود خشک شود. سپس بر روی سطح خشک شده الکتروود، کلسترول استراز پخش گردید و پس از خشک شدن، کلسترول اکسیداز پخش و خشک شد. سپس این مجموعه (آنزیمی - بسیاری) به منظور حذف اولیگومرها و آنزیمهای تثبیت نشده، با آب مقطر شستشو داده شد. نتایج ولتامتری چرخه‌ای، حضور کلسترول و کلسترول اولئات را تأیید کرد.

۷- نتیجه‌گیری

تشخیص گلوکوز و کلسترول در آزمون‌های کنترل کیفی فرایندهای تولید مواد غذایی از اهمیت بسیاری برخوردار است. در حالی که روش‌های مورد استفاده برای آنالیز این ترکیبات باید سریع، دقیق، حساس و البته ارزان باشند، اما روش‌های رایج نیاز به مهارت کاربر دارد و زمان‌بر است. برای حل این مشکل می‌توان از دسته‌ای از حسگرهای شیمیایی به نام زیست‌حسگرها که عملکردی کاملاً اختصاصی در فرایندهای تشخیص زیستی دارند، استفاده کرد. زیست‌حسگرهای مبتنی بر بسپارهای رسانا مخصوصاً بسپارهای

بدون گلو تار آلدهید و یا لیپاز)، (PANI/GLU/ITO) و ((LIP/GLU/PANI)-(NI/ITO)) در محیط‌های با و بدون کلسترول با یکدیگر مقایسه شدند. مشاهده پیک‌های مربوط به واکنش لیپاز و کلسترول موجود در ظرف نمونه برای الکتروود و عدم مشاهده آنها در دو حالت دیگر دلیلی بر صحت عملکرد الکتروود است.

در مطالعه‌ای مشابه، خان و همکارانش [۱۵]، اقدام به تهیه زیست‌حسگر تشخیص کلسترول بر پایه فیلم پلی آنیلین پوشش داده شده بر روی الکتروود (ایندیوم- قلع اکسید) به روش الکتروشیمیایی نموده‌اند.

در این مطالعه ابتدا پلی آنیلین به روش بسپارش الکتروشیمیایی بر روی الکتروود (ایندیوم- قلع اکسید) پوشش داده شد و سپس تمام مراحل مطالعه دهند و همکاران تکرار شد.

در مطالعه‌ای دیگر سینگ و همکاران [۱۶]، به منظور تهیه زیست‌حسگر کلسترول از تثبیت همزمان کلسترول اکسیداز و کلسترول استراز بر روی فیلم پلی آنیلین بهره بردند. در این روش ابتدا پلی آنیلین از طریق بسپارش الکتروشیمیایی بر روی الکتروود (ایندیوم- قلع اکسید) پوشش داده شد. سپس گلو تار آلدهید ۱٪ بر

- [8] Ronkainen, N. J., Halsall, H. B., Heineman, W. R., "Electrochemical Biosensors" Chemical Society Reviews, 39, 1747-1763 (2010).
- [9] Gerard, M., Chanbey, A., Malhotra, B. D., "Application of conducting polymers to biosensors" Biosensors and Bioelectrodes, 17, 345-359 (2002).
- [10] kumar, G., Sivashanmugam, A., Muniyandi, N., Dhawan, S., Trivedi, D., "Polyaniline as an electrode material for magnesium reserve battery" synthetic metals, 80, 279-282 (1996).
- [11] Allen, B., Faulkner, L. R., Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications (2 ed), Wiley, ISBN 0471043729 (2000).
- [12] Horng, Y. Y., Hsu, Y. K., Ganguly, A., C. C. Chen, L. C. Chen, K. H. Chen, "Direct-growth of polyaniline nanowires for enzyme-immobilization and glucose detection" Electrochemistry Communications, 11, 850-853 (2009).
- [13] Wang, Z., Liu, S., Wu, P. R., Cai, C., "Detection of glucose based on direct electron transfer reaction of glucose oxidase immobilized on highly ordered polyaniline nanotubes" Analytical Chemistry, 81, 1638-1645 (2009).
- [14] Dhand, C., Solanki, P. R., Sood, Datta, K. N., M., Malhorta, B. D., "Polyaniline nanotubes for impedimetric triglyceride detection" Electrochemistry Communications, 11, 1482-1486 (2009).
- [15] Khan, R., Solanki, P. R., Kanshik, A., "Cholesterol biosensor based on electrochemically prepared polyaniline conducting polymer film in presence of a nonionic surfactant" J. Polymer Res, 16, 363-373 (2009).
- [16] Singh, S., Solanki, P. R., Pandey, M. K., Malhorta, B. D., "Potentiometric studies in oxidation-reduction reactions: Reduction with ferrous ethylenediamine sulphate ceric sulphate method" Analytica Chimica Acta, 568, 126-132 (2006).

آنیلینی به دلیل ویژگی‌های منحصر بفرد مانند هدایت الکتریکی بالا، سطح تماس بالا و ساده بودن روش تهیه، به شدت مورد توجه محققین قرار گرفته است. عملکرد مناسب مشاهده شده از طرف این زیست حسگرها، آنها را به عنوان مهم‌ترین ابزارهای اندازه‌گیری به بازار معرفی کرده است.

مراجع

- [1] Pal, P., Nandy, D., Misra, T. N., "Immobilization of alcohol dehydrogenase enzyme in a Langmuir-Blodgett film of stearic acid: its application as an ethanol sensor" Thin Solid Films, 239, 138-143 (1994).
- [2] Stephens, S. K., Cullen, D. C., Warner, P. J., "Biosensors for novel rapid assay methods in the food industry" New Food, 1, 47-51 (1998).
- [3] Stredansky, M., Pizzariello, A., Stredanska, A., Miertus, S., "Determination of D-fructose in foodstuffs by an improved amperometric biosensor based on a solid binding matrix" Anal. Commun, 36, 57-61 (1999).
- [4] Maines, A., Shworth, D. A., Vadgaman, P., "Enzyme Electrodes for Food Analysis" Food. Technol. Biotechnol, 34, 31-36 (1996).
- [5] Basu, A. K., Chattopadhyay, P., Roychoudhuri, U., Chakraborty, R., "Development of cholesterol biosensor based on immobilized cholesterol esterase and cholesterol oxidase on oxygen electrode for the determination of total cholesterol in food samples" Bioelectrochemistry, 70, 375-379 (2007).
- [6] Shi, R., Stein, K., Schwedt, G., "Spectrophotometric determination of glucose in foods by flow injection analysis with an immobilized glucose oxidase reactor" Z Lebensm Unters Forish A, 204, 99-102 (1997).
- [7] Nenkova, R., Ivanova, D., Valdimirova, j., Gadjevargova, T., "New amperometric glucose biosensor based on cross-linking of glucose oxidase on silica gel/multiwalled carbon nanotubes/polyacrylonitrile nanocomposite film" Sensors and Actuators, 148, 59-65 (2010).