

سنسور بدون آنزیم برای آشکار سازی گلوکوز مبتنی بر نانو لوله های کربنی عمودی

آنوشا خمسوی^۱، یاسر عبدی^{۱*}، محمدرضا زمانی میمیان^۲

^۱آزمایشگاه نانو فیزیک دانشکده فیزیک دانشگاه تهران

^۲دانشکده فیزیک دانشگاه علم و صنعت ایران

چکیده

در این مقاله به ارایه سنسور بدون آنزیمی مبتنی بر نانو لوله های کربنی عمودی برای آشکار سازی گلوکوز پرداخته ایم. نانو لوله ها با طول ۱,۵ الی ۳ میکرون و قطر ۴۰ الی ۱۴۰ نانومتر توسط روش لایه نشانی شیمیایی بهبود یافته (PECVD) بر روی بستری از Si/SiO_2 و استفاده از نیکل به عنوان دانه های رشد تشکیل شده اند. برخلاف سنسور های معمول الکتروشیمیایی، سنسور معرفی شده نیازمند الکتروود مرجع و چینش سه الکتروودی نمی باشد. فاصله الکتروود های دندان شانه ای به کار رفته در این مطالعه ۱۲ میکرون می باشند. این فاصله سبب مشاهده نسبت سیگنال به نویز بالا حتی در آب مقطر می گردد و بنابراین، نیازی به استفاده از محلول های غلیظ $NaOH$ که در سنسور های الکتروشیمیایی دیگر (برای رسانا کردن محلول) به کار می رود نمی باشد. استفاده از آب مقطر سبب عدم تخریب سنسور و تکرار پذیری آزمایش ها می گردد. در پایان رابطه خطی بین جریان و غلظت گلوکوز ارایه داده شده است.

Nonenzymatic Glucose Sensor Based On Carbon Nano-Tubes

Anousha Khamsavi^{1,2}, Yaser Abdi¹, Mohammadreza Zamani²

¹Nanophysics laboratory, Department of physics, University of Tehran

²Department of physics, Iran University of science and technology

Abstract

In this paper, we report the fabrication of a non-enzymatic two-electrode electrochemical glucose sensor based on nickel nanoparticles (NiNPs) and multi-wall carbon nanotubes (MWCNT) on a Si/SiO_2 substrate. MWCNTs were synthesized by plasma enhanced chemical vapor deposition (PECVD) with lengths and diameters ranging from 1.5-3 μm and 40nm-140nm respectively. Contrary to usual electrochemical sensors, the sensor presented here does not require a three-electrode potentiostat setup due to the small separation distance between the interdigit electrodes (12 μm). This small separation also yields excellent signal to noise ratio in DI water, again contrasting usual sensors which rely on concentrated $NaOH$ solutions to obtain measurable currents. Since the presented sensor relies on DI water, it will not be oxidized and remains intact even after several glucose measurements. Finally, the linear relation of current vs. glucose concentration is presented.

PACS No. 87.85.fk

سطح به حجم بالا و مهم تر، تغییر و طراحی خواص شیمیایی سطح آن ها با پیوند دادن با ساختار های گوناگون می باشد. برای مثال، با تغییر دادن سطح نانولوله ها توسط پیوند کووالانسی با آنزیم های حساس به مولکول بیولوژیک مورد نظر، می توان حساسیت این نانوساختار ها را به آن مولکول افزایش داد. در سال های اخیر، آشکار سازی دقیق گلوکوز با حساس کردن سطح نانولوله ها با آنزیم گلوکوز اکسیداز بسیار مورد توجه قرار گرفته است. آشکار سازی گلوکوز موجود در خون برای افراد دیابتیک در کمترین زمان و دقیق

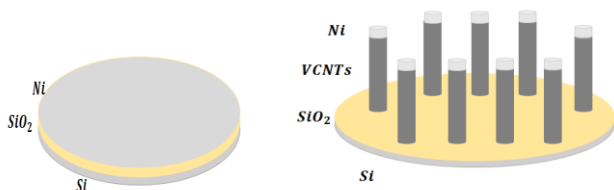
مقدمه

نانولوله های کربنی به دلیل ویژگی های منحصر به فرد مکانیکی، شیمیایی و الکتریکی خود مورد توجه روز افزون جامعه علمی قرار دارند. مطالعات تازه پیرامون این نانوساختار های جذاب نشان داده است که آن ها هم چنین از خاصیت الکتروکاتالیستی قابل توجهی در برابر برخی مولکول های بیولوژیک مانند دوپامین^[۱]، اپینفرین^[۱]، اسید اوریک^[۲] و اسید اسکریک^[۳] برخوردارند. برتری نانولوله های کربنی جهت استفاده در بیوسنسور ها در ابعاد نانومتری آن ها، نسبت

در ادامه به شرح ساخت سنسوری غیر آنزیمی برای گلوگوز می پردازیم. اساس کار این سنسور دو الکترودی می باشد که در آب مقطر (که نماینده بسیار بهتری از محلول غلیظ سدیم هیدروکسید برای خون می باشد) به خوبی پاسخ می دهد. به دلیل استفاده از آب مقطر به عنوان محیط آزمایش، سنسور عملا با خطر اکسید شدن مواجه نیست و بازیابی آن به راحتی صورت می گیرد.

آماده سازی

سنسور ارایه داده شده، سنسوری دو الکترودی با طرح دندان شانه ای می باشد که در ادامه به شرح مختصری از روند آماده سازی آن می پردازیم. در ابتدا زیر لایه سیلیکون را با روش RCA شست و شو می دهیم^[۸]. سپس زیر لایه را در کوره ای به دمای ۱۰۰۰ درجه به مدت ۱۵ دقیقه تحت شار اکسیژن قرار می دهیم. در پایان، اکسیدی روی سیلیکون تشکیل می شود. در مرحله بعد، لایه ای ۱۰ نانومتری از نیکل را با لایه نشانی فیزیکی در خلا (PVD) بر روی بستر Si/SiO_2 می نشانیم. سپس با فوتولیتوگرافی کرده و طرح الکتروود دندان شانه ای با فاصله خطوط ۱۰ میکرومتر را ایجاد می کنیم. در مرحله بعد، با استفاده از لایه نشانی شیمیایی بهبود یافته توسط پلاسما (PECVD) به رشد نانو لوله های کربنی عمودی چند دیواره ای (MWCNT) به طول ۱٫۵ الی ۳ میکرون و قطر ۴۰ الی ۱۴۰ نانومتر پرداخته ایم. در فرآیند رشد نانو لوله ها در PECVD، از نیکل به عنوان دانه های رشد اولیه استفاده می شود. پس از اتمام فرآیند رشد، نانوذرات نیکل در انتهای نانو لوله ها باقی می ماند. در عکس های میکرو سکوپ الکترونی روبشی (SEM) (شکل ۲)، طرح دندان شانه ای، نانو لوله های کربنی و نانوذرات نیکل انتهای آن ها نشان داده شده اند. می توان با به کار گیری حلال نیکل، نانوذرات نیکل باقی مانده در انتهای لوله ها را پاک کرد. در ادامه، پاسخ این سنسور به غلظت های مختلف گلوگوز، با و بدون نانوذرات نیکل، آورده شده است.



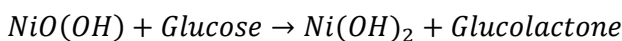
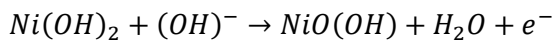
ترین مقدار امری ضروری می باشد. طبق تحقیقات صورت گرفته، بیش از ۵ درصد از مردم جهان تا سال ۲۰۳۰ در معرض تاثیرات بیماری دیابت خواهند بود^[۴] و این امر، تقاضا برای شیوه های سریع تر و بهتر برای مانیتورینگ سطح گلوگوز خون را بالا برده است. همان طوری که بدان اشاره شد، معمولا در روند آشکارسازی گلوگوز از آنزیمی به نام گلوگوز اکسیداز^[۵] استفاده می گردد. حساسیت قابل توجه این آنزیم به گلوگوز، گزینشی بودن سنسور را به دنبال دارد. این آنزیم همچنین در محیط هایی با PH های متغیر به راحتی کار می کند. اما از عمده مشکلات آن می توان به پایداری محدود آن و حساسیت متغیر آن با توجه به مشکلاتی که در بازسازی خود دارد اشاره کرد. این امر موجب می شود تا به دنبال سنسور هایی باشیم که از آنزیم برای شناسایی استفاده نکنند، در محیط های مختلف عمل کرده و از همه مهم تر، به راحتی بازیابی شوند. قابل ذکر است که ساده ترین (از جهت استفاده) و به صرفه ترین سنسور های بیولوژیک مبتنی بر سنجش صرف تغییرات جریان تحت اعمال اختلاف ولتاژ ثابتی می باشند. تمامی سنسور های بیولوژیکی که بر این پایه کار می کنند را می توان سنسور های الکتروشیمیایی نامید که در آن فعل و انفعالات شیمیایی (بالاخص فرآیند های اکسایش و کاهش) به صورت سیگنال الکتریکی (جریان) ظاهر می شوند. مشکل عمده تمامی این سنسور ها، در نیاز داشتن الکتروود مرجع در محلول و سیستم پتانسیوستات سه الکترودی است. با توجه به این که فعل و انفعالات اکسایش و کاهش در پتانسیل مطلق خاصی نسبت به محلول صورت می گیرد، سیستم پتانسیوستات وظیفه ثابت نگاه داشتن ولتاژ الکتروود متصل به سنسور را نسبت به الکتروود مرجع با تغییر دادن جریان از الکتروود سومی را دارد.

چنین سیستمی پیچیده ای، استفاده ساده از سنسور های الکتروشیمیایی را به شدت محدود می کند. علاوه بر این، به دلیل فاصله داشتن الکتروود ها از یک دیگر در چنین سیستمی، محلول مورد استفاده غالبا محلول غلیظ سدیم هیدروکسید (NaOH)^[۶] است تا رسانایی لازم برای انتقال جریان بین الکتروود ها حاصل شود. چنین محلولی سبب اکسید شدن شدید سنسور می شود و بلااستفاده شدن آن پس از چند تست را به دنبال دارد. این محدودیت ها، انگیزه اصلی ساخت سنسور معرفی شده در این گزارش را شکل می دهند.



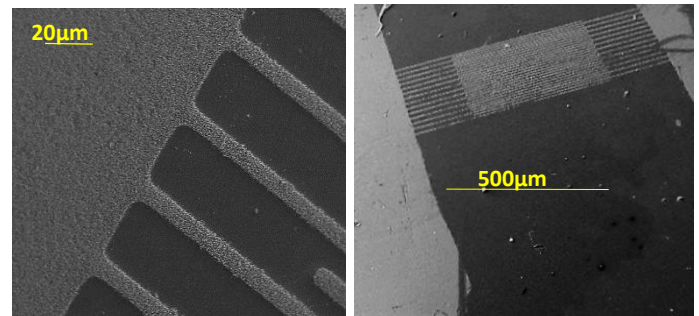
شکل ۱: شماتیکی کلی از سنسور

جریان واضحی را نشان می دهد. به همین دلیل و بر خلاف سنسور های معمولی که بیشتر به آن ها اشاره شد، در این روش نیازی به سه الکترودی بودن تست ها و استفاده از الکتروود مرجع Ag/AgCl نمی باشد، زیرا عملا اختلاف جریان تمام اطلاعات کافی برای به دست آوردن غلظت محلول را به دست می دهد. شکل ۳، نشان می دهد که وجود نیکل در سنسور حساسیت آن را به صورت محسوسی افزایش داده است. این پدیده با توجه به روابط زیر قابل توجیه می باشد [۱۱][۱۰][۹]



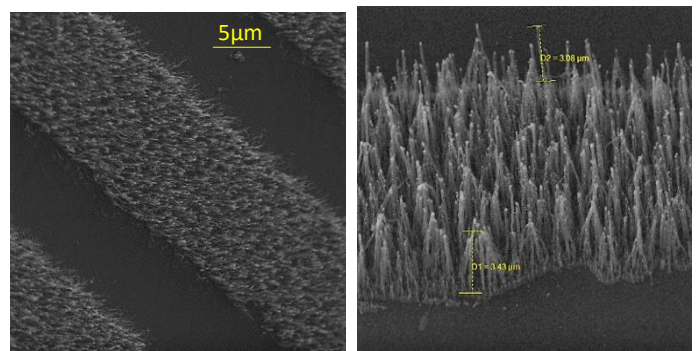
آنچنان که در روابط بالا مشاهده می گردد، در واکنش نیکل با گلوکوز که شامل اکسایش گلوکوز می باشد، نیکل به عنوان کاتالیزوری عمل می کند، که نتیجه آن تولید الکترون و در نتیجه افزایش جریان با توجه به افزایش غلظت گلوکوز می باشد.

در شکل ۵، رابطه تقریبا خطی بین جریان بهنجار شده و غلظت گلوکوز در محیط نمایش داده شده است. این رابطه خطی سبب آسان تر شدن کار با این سنسور شده و نشان دهنده کارایی آن است. شکل ۶، نشان دهنده نمودار های جریان بر حسب ولتاژ نمونه نیکل دار در آب مقطر، پس از چندین بار آزمایش با غلظت های مختلف گلوکوز است. هم پوشانی این نمودار ها بیانگر اکسید نشدن و احیا شدن نمونه در آب مقطر است. اکسید نشدن نمونه در برابر سایر سنسور های فعال در NaOH مزیت بزرگ دیگر سنسور ارایه داده شده می باشد.



a

b



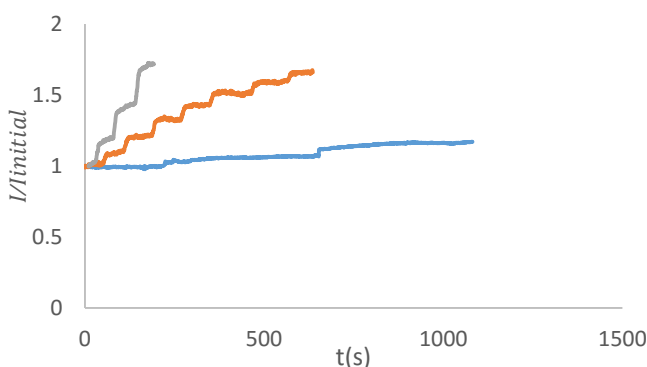
c

d

شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نانولوله های کربنی رشد داده شده بر روی طرح الکتروودهای دندان شانه ای

جدولها، شکلها و روابط ریاضی

جهت تست کارایی سنسور ساخته شده، پاسخ آن به غلظت های مختلف گلوکوز و همچنین با وجود نیکل و در عدم وجود نیکل امتحان نموده ایم. همانگونه که در شکل های ۳ و ۴ نشان داده شده است، سنسور ساخته شده به مقادیر مختلف گلوکوز و اسید اسکوربیک تغییر جریان های مختلفی از خود نشان می دهد که این خود دال بر حساسیت سنسور و تمییز پذیری آن می باشد. یکی از مزیت های این سنسور به مابقی سنسورهای بیولوژیک این است که به دلیل بسیار نزدیک بودن الکتروود های لیتوگرافی شده، نیازمند محلول الکترولیتی مانند سدیم هیدروکسید برای رسانا کردن محیط نمی باشد و در آب مقطر با نسبت بالای سیگنال به نویز، تغییرات

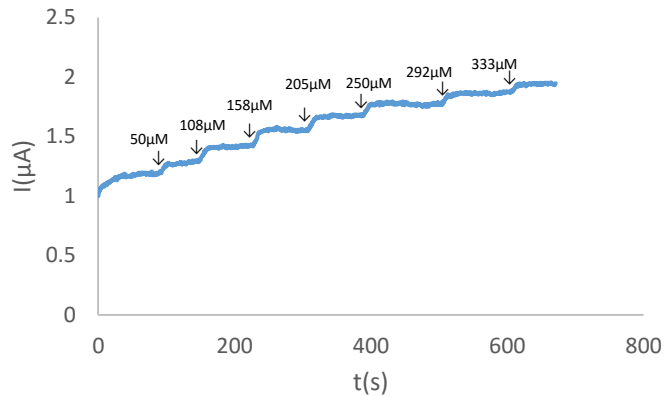


شکل ۳: مقایسه ی تفاوت آشکارسازی برای (۱) نانولوله های کربنی به گلوکوز (آبی)، (۲) نانولوله های کربنی و نیکل به گلوکوز (نارنجی) (۳) نانولوله های کربنی و نیکل به اسید اسکوربیک (طوسی). تمام تست ها در ولتاژ ۲ ولت صورت گرفته است.

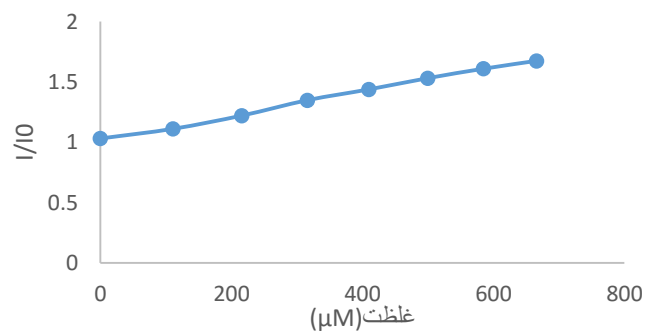
توسط روش لایه نشانی شیمیایی بهبود یافته توسط پلاسما رشد داده شده اند. فاصله الکترودها ۱۲ میکرون می باشند. این فاصله سبب مشاهده نسبت سیگنال به نویز بالا حتی در آب مقطر می گردد و بنابراین، نیازی به استفاده از محلول های غلیظ NaOH که در سنسور های الکتروشیمیایی دیگر (برای رسانا کردن محلول) به کار می رود نمی باشد. رابطه خطی بین جریان و غلظت گلوکوز مشاهده و ارایه داده شده است. استفاده از آب مقطر، که نماینده بهتری از NaOH برای خون می باشد، سبب اکسید نشدن سنسور پس از تست های متوالی می گردد. هم پوشانی نمودار های جریان بر حسب ولتاژ در آب مقطر، پس از آزمایش های متعدد، نشانی از کارا ماندن سنسور دارد.

مرجع ها

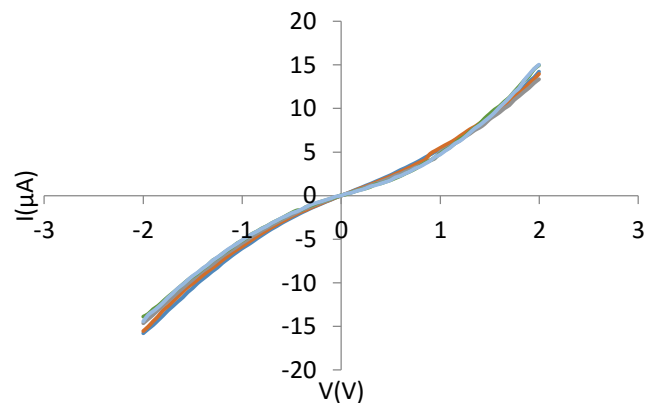
- [۱] Luo, Hongxia, et al. "Investigation of the electrochemical and electrocatalytic behavior of single-wall carbon nanotube film on a glassy carbon electrode." *Analytical Chemistry* **73.5** (2001): 915-920.
- [۲] Wang, Jianxiu, et al. "Investigation of the electrocatalytic behavior of single-wall carbon nanotube films on an Au electrode." *Microchemical Journal* **73.3** (2002): 325-333.
- [۳] Wang, Zonghua, et al. "Carbon nanotube-modified electrodes for the simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid." *Analyst* **127.5** (2002): 653-658.
- [۴] WHO factsheet No. 312, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/> November 20th, 2009.
- [۵] Toghiani, Kathryn E., et al. "The non-enzymatic determination of glucose using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron-doped diamond electrode or nickel foil electrode." *Sensors and Actuators B: Chemical* **147.2** (2010): 642-652.
- [۶] *Electrically conducting polymers. Immobilisation of glucose oxidase in polypyrrole and its application in amperometric glucose sensors.* *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases* **82.4** (1986): 1259-1264.
- [۷] Kim, Wan-Sun, et al. "A flexible, nonenzymatic glucose biosensor based on ni-coordinated, vertically aligned carbon nanotube arrays." *RSC Advances* **4.89** (2014): 48310-48316.
- [۸] Abdi, Yaser, et al. "Embedded vertically grown carbon nanotubes for field emission applications." *Journal of Vacuum Science & Technology B* **25.3** (2007): 822-828.
- [۹] Nie, Huagui, et al. "Nonenzymatic electrochemical detection of glucose using well-distributed nickel nanoparticles on straight multi-walled carbon nanotubes." *Biosensors and Bioelectronics* **30.1** (2011): 28-34.
- [۱۰] Mu, Ying, et al. "Nano nickel oxide modified non-enzymatic glucose sensors with enhanced sensitivity through an electrochemical process strategy at high potential." *Biosensors and Bioelectronics* **26.6** (2011): 2948-2952.
- [۱۱] Nie, Huagui, et al. "Nonenzymatic electrochemical detection of glucose using well-distributed nickel nanoparticles on straight multi-walled carbon nanotubes." *Biosensors and Bioelectronics* **30.1** (2011): 28-34.



شکل ۴: نانولوله های کربنی و نیکل و آشکارسازی



شکل ۵: رابطه خطی موجود میان غلظت گلوکوز محلول و جریان بهنجار شده به جریان اولیه



شکل ۶: تکرار پذیری نمودار جریان بر حسب ولتاژ برای یک نمونه

نتایج

در این مقاله به معرفی سنسور الکتروشیمیایی دو الکترودی بدون آنزیمی گلوکوز پرداخته ایم. این سنسور، مبتنی بر طرح الکترودها نداشتن شانه ای می باشد که بر روی آن ها نانولوله های کربنی عمودی