

## Determination of Serum Glucose Samples Using Biosensor Based on Copper Oxide Nanoparticles

Shamsazar A\*<sup>1</sup>, Asadi A<sup>2</sup>, Shamsazar F<sup>3</sup>

1. Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

2. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

3. Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, Iran

\*Corresponding author. Tel: +989143533289 Fax: +984533515145 E-mail: Ali.shamsazar@yahoo.com

Received: Mar 14, 2015 Accepted: May 28, 2015

### ABSTRACT

**Background & Objectives:** Maintain of fixed amount of glucose in blood has always been valuable. Especially in diabetic patients it is important to determine accurate amount of it. In this study we are trying to find a method to determination of the amount of serum glucose.

**Methods:** First a biosensor was prepared using carbon paste electrode modified with Copper Oxide nanoparticles for determination of serum glucose. The synthesized Copper Oxide nanoparticles were studied by using a variety of chemical spectrum UV-Vis, XRD, SEM and TEM. XRD confirmed that our synthesized are Copper Oxide nanoparticles. By measuring of the oxidation currents in the several levels of glucose, the accuracy and efficiency of biosensor was studied.

**Results:** Based on a increase of the electrocatalytic response of the oxidized form of GOD to dissolved oxygen, the proposed biosensor exhibits a linear response to glucose concentrations ranging from 0 to 15 mM with a detection limit (defined as the concentration that could be detected at the signal-to-noise ratio of 3) of 9  $\mu$ M at an applied potential of 0.44 V which has better biosensing properties than those from other biosensors. This biosensor retained 89% of its initial response after 30 days storage at pH=7.

**Conclusion:** Carbon paste electrode and Copper Oxide nanoparticles offer excellent catalytic activity toward hydrogen peroxide generation in enzymatic reaction between glucose oxidase and glucose, which would enable sensitive determination of glucose. This biosensor exhibited good stability, reproducibility and low interferences. It has been used to diagnose diabetes very fast and sensitively and to determine the glucose concentrations in serum samples with satisfactory results.

**Keywords:** Biosensor; Copper Oxide Nanoparticles; Serum Glucose.

# تعیین گلوکز نمونه سرم با استفاده از زیست حسگر طراحی شده با نانوذرات اکسید مس

علی شمس آذر<sup>۱\*</sup>، اسداله اسدی<sup>۲</sup>، فاطمه شمس آذر<sup>۳</sup>

۱. گروه زیست شناسی، مرکز تهران شرق، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران ۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران ۳. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران  
\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۴۳۵۳۳۲۸۹. فاکس: ۰۴۵۳۳۵۱۵۱۴۵. پست الکترونیک: Ali.shamsazar@yahoo.com

## چکیده

**زمینه و هدف:** همیشه حفظ اندازه ثابت گلوکز در بدن انسان با ارزش بوده و مخصوصاً تعیین اندازه دقیق آن در بیماران دیابتی مهم بوده است. در این تحقیق روشی برای تعیین مقدار گلوکز سرم ارائه شد.

**روش کار:** در این مطالعه زیست حسگری با استفاده از الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات اکسید مس برای تعیین مقدار گلوکز سرم تهیه شد. نانوذرات اکسید مسی که در آزمایشگاه به روش شیمیایی سنتز شده بود، با استفاده از طیف UV-vis، XRD، SEM و TEM مورد مطالعه قرار گرفت و تأیید شد. با استفاده از زیست حسگر تهیه شده و اندازه گیری جریان‌های اکسایش در مقادیر مختلف گلوکز دقت و کارایی زیست حسگر مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** با توجه به افزایش پاسخ الکترو کاتالیستی شکل اکسیده گلوکوز اکسیداز در حضور اکسیژن محلول، زیست حسگر تهیه شده یک پاسخ خطی به غلظت‌های مختلف گلوکوز از ۰ تا ۱۵ میلی مولار و حد تشخیص ۹ میکرومولار (با نسبت سیگنال به نویز برابر ۳) را در پتانسیل اعمال شده ۰/۴۴ ولت از خود نشان داد که نشانگر قدرت بالای تشخیص توسط این زیست حسگر نسبت به سایر روش‌ها بود. زیست حسگر تهیه شده ۸۹ درصد از فعالیت اولیه خود را پس از ۳۰ روز ذخیره سازی در pH=۷ حفظ کرد.

**نتیجه گیری:** الکتروود خمیر کربن و نانو ذرات اکسید مس فعالیت کاتالیتیکی بسیار مؤثری را در قبال پراکسید هیدروژن تولید شده در واکنش آنزیمی بین گلوکوز اکسیداز و گلوکوز که تعیین دقیق مقدار گلوکوز را ممکن می سازد از خود نشان دادند. این زیست حسگر ثبات و پایداری خوب، تکرارپذیری بالا و تداخل بسیار اندکی داشت که در تشخیص سریع و دقیق دیابت و تعیین غلظت گلوکوز نمونه سرم با نتایج رضایت بخش استفاده شد.

**واژه های کلیدی:** زیست حسگر، نانو ذرات اکسید مس، گلوکز سرم

دریافت: ۹۳/۱۲/۲۳ پذیرش: ۹۴/۳/۷

## مقدمه

است [۱]. نانوذرات فلزات و اکسیدهای فلزی در سال‌های اخیر به صورت گسترده مورد بررسی قرار گرفته است [۲]. به دلیل برخی خواص مهم، نانوذرات تا حد زیادی متفاوت از مواد هم جنس خود با اندازه بزرگتر می‌باشند [۳]. اگرچه خوشه‌های بسیار کوچک (۵۰ اتم فلزی) نیز مانند مولکول‌های بزرگ عمل می‌کنند، ولی اتم‌های فلزی بزرگتر (۳۰۰ اتم) خاصیت فلزات بزرگ را بروز می‌دهند [۴]. مواد در اندازه‌های نانومتری خواص نوری، الکترونیکی و

زیست‌حسگر<sup>۱</sup> دستگاهی است که عنصر بیولوژیکی را که مستقیماً یا بوسیله یک مبدل به آن وصل است، تشخیص و سنجش می‌کند. در دو دهه اخیر استفاده از زیست‌حسگرها برای تشخیص آنالیت (ماده مورد تجزیه) زیستی در علوم پزشکی و صنعت بدلیل راحتی استفاده و هزینه پایین و دقت زیاد در مقایسه با روش‌های رایج در سنجش آنالیت‌ها رواج یافته

<sup>۱</sup> Biosensor

را باعث شود. در حضور گلوکوز واکنش الکتروکاتالیتیک به علت واکنش کاتالیزی بین شکل اکسیده گلوکوز اکسیداز و گلوکوز محدود است، که نتیجه آن کاهش پاسخ الکتروکاتالیتیکی است. لذا بر اساس این کاهش، روش جدید برای تعیین گلوکوز ارائه شد [۱۲].

### روش کار

$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (استات مس مونوهیدرات)،  $\text{NaOH}$  (سدیم هیدروکسید)،  $\text{NaCl}$  (سدیم کلرید)، گلوکوز اکسیداز (EC 1.1.3.4)، بتا-دی- (+) گلوکوز از شرکت سیگما (G9010) خریداری شد و  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (استیک اسید) ساخت ایران می باشد. برای ساختن تمام محلول‌ها از آب دو بار تقطیر استفاده شد. بافر فسفات (0.1M, PBS) با ترکیب مقادیر استاندارد از  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  و  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  و تنظیم pH برابر ۷ با  $\text{H}_3\text{PO}_4$  یا سود ( $\text{NaOH}$ ) تهیه شد.

### اصلاح سطح الکتروود با نانوذرات تهیه شده

برای تهیه نانوذرات اکسید مس ابتدا ۱۰ cc از محلول ۰/۲ مولار استات مس مونوهیدرات  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu} \cdot \text{H}_2\text{O}$  در یک بالن ته گرد ریخته شده و ۵ cc استیک اسید ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) به محلول فوق اضافه گشته و بالن ته گرد روی هیتز قرار گرفت، یک همزن مغناطیسی در بالن ته گرد قرار داده شد تا محلول بطور ملایم هم زده شود و دماسنج نیز در بالن ته گرد قرار داده شد تا دمای محلول سنجش گردد. یک فویل آلومینیومی بر روی بالن ته گرد کشیده شد و موقعی که حرارت به ۱۰۰ درجه سانتی گراد رسید، ۳۰ cc از محلول ۳ مولار  $\text{NaOH}$  به محتویات بالن ته گرد اضافه شد، بلافاصله مقدار زیادی رسوب سیاه رنگ تشکیل شد، که این رسوب ۳ تا ۴ بار سانتریفوژ شده و ۳ تا ۴ بار با آب دیونیزه شسته شد و رسوب از لوله خارج شده و در پلیت ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در هوای اتاق قرار داده شد تا خشک شود، نانوذرات بدست آمده

شیمیایی وابسته به اندازه خود را نشان می‌دهند. نانوذرات می‌توانند در بسیاری از زمینه‌ها، مانند دستگاه‌های نوری، ابزارهای الکترونیکی، کاتالیز، تکنولوژی سنسور، برچسب بیومولکولی و غیره مورد استفاده باشند [۶،۵]. همچنین در سال‌های اخیر برنامه‌های استفاده از نانومواد، از جمله نانوذره‌ها در طراحی زیست‌حسگرها پیشرفت کرده است. اکسید مس یک نیمه‌رسانای نوع P با ساختار شبکه تک میلی دارای باند انرژی ۱/۷-۱/۲ eV در دمای اتاق می‌باشد [۷]. این نانوذرات دارای ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردی می‌باشند که ناشی از اندازه کوانتومی آن‌ها می‌باشد. نانوذره اکسید مس بدلیل سازگاری زیستی، انتقال سریع الکترون، غیرسمی بودن و تهیه آسان، امروزه استفاده وسیعی برای تثبیت بیومولکول مورد نظر در ساخت زیست‌حسگر دارد [۸]. گلوکوز مبنی اصلی قند خون را تشکیل می‌دهد و تامین کننده اصلی انرژی برای بسیاری از سلول‌های بدن، از جمله سلول‌های مغز است. بنابراین کاهش یا افزایش غلظت آن، نقش مهمی در متابولیسم عمومی بدن دارد؛ از جمله در بیماران دیابتی که وابستگی شدیدی به ثبات میزان گلوکوز موجود در خون دارند [۹]. آنزیم‌ها به عنوان دسته‌ای از کاتالیزورهای زیستی کاربردهای فراوانی در صنایع شیمیایی و ساخت سنسورها دارند. اهمیت این دسته از مواد به خاطر انجام فرایند واکنش در شرایط ملایم و انتخاب پذیری چه از نظر ساختاری و چه از نظر شیمیایی می‌باشد. آنزیم گلوکوز اکسیداز با اکسید نمودن گلوکوز، آب اکسیژنه ایجاد می‌کند [۱۰]. گلوکوز اکسیداز تثبیت شده بر روی الکتروود، با توجه به وجود جفت ردوکس  $\text{FAD}/\text{FADH}_2$  (فلاوین آدنین دی نوکلئوتید) در ساختار خود ویژگی بالایی در واکنش‌های الکتروشیمیایی از خود نشان می‌دهد [۱۱]. شکل کاهش یافته (غیراکسیده) گلوکوز اکسیداز می‌تواند الکتروکاتالیز کاهش اکسیژن محلول

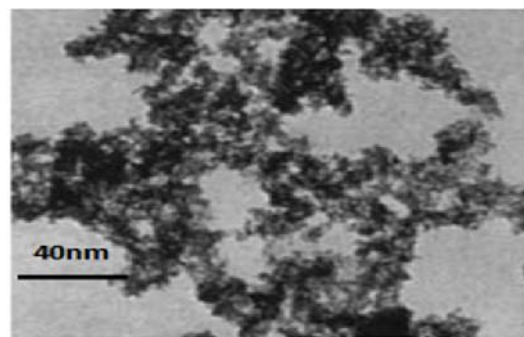
### یافته‌ها

#### تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نانوذرات اکسید مس

شکل ۱ تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) از نانوذرات اکسید مس آماده شده است که نشان می‌دهد نانوذرات سنتز شده از لحاظ مورفولوژیکی به شکل کره‌ای می‌باشند و شکل ۲ تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) از نانوذرات اکسید مس آماده شده می‌باشد که اندازه نانوذرات سنتزی مطالعه حاضر را ۴۰-۲۰ nm نشان داد که هماهنگی خوبی را با فرمول Debye-Scherrer که در XRD بکار رفته نشان می‌دهد.



شکل ۱. تصویر SEM از نانوذرات اکسید مس آماده شده



شکل ۲ - تصویر TEM از نانوذرات اکسید مس آماده شده

#### نمونه انکسار پرتو X برای نانوذرات اکسید مس (XRD)

الگوی XRD (شکل ۳) از نانوذرات آماده شده یک فاز منفرد با ساختار مونوکلینیک (تک شیب) را نشان داده و هیچ پیکی از ناخالصی‌ها دیده نشد و پیک بدست آمده نشان می‌دهد که اندازه کریستال،

اکسید مس بود. در تهیه الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات اکسید مس، ابتدا پودر کربن با ۱۰ میلی گرم از نانوذرات اکسید مس تهیه شده در مراحل قبل و با روغن سیلیکون در یک هاون چینی با هم مخلوط شد تا یک خمیر کربن همگن بدست آمد [۱۳]. بقیه مراحل در تهیه الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات اکسید مس، مشابه مراحل تهیه الکتروود خام خمیر کربن بود.

#### دستگاه‌ها و اندازه‌گیری

نانوذرات اکسید مسی که سنتز شد، با تفرق اشعه X (XRD) با استفاده از دستگاه مدل PW1800 مارک Philips با تابش  $K\alpha$  ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ) و جریان ۲۵۰mA و ولتاژ عمل ۴۰kV آزمایش شدند. طیف Uv-vis با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (OPTIZEN 2120 UV) برای نانوذرات در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به دست آمد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) به ترتیب با میکروسکوپ‌های مدل DSM 960A و CEM 902A گرفته شد. اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی بوسیله دستگاه پتانسیواستات کالوانواستات<sup>۴</sup> انجام شد، که این دستگاه ساخت هلند و با مارک پالم سنس<sup>۵</sup> می‌باشد. در حین تمام آزمایشات الکتروشیمیایی از سیستم سه الکتروودی استفاده شد که الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات اکسید مس به عنوان الکتروود کار، الکتروود نقره/نقره کلرید (Ag/AgCl) به عنوان الکتروود مرجع و الکتروود پلاتین به عنوان الکتروود شمارنده به کار رفت. تشخیص گلوکز در محلول اشباع هوا انجام شد. همه آزمایشات در دمای آزمایشگاه انجام شد.

<sup>1</sup> X-Ray Diffraction

<sup>2</sup> Scanning Electron Microscopy

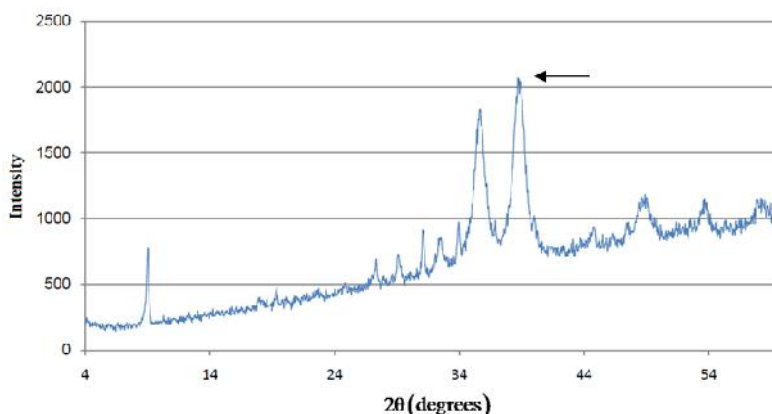
<sup>3</sup> Transmission Electron Microscopy

<sup>4</sup> Potentiostat/ Galvanostat

<sup>5</sup> Palm-Sens

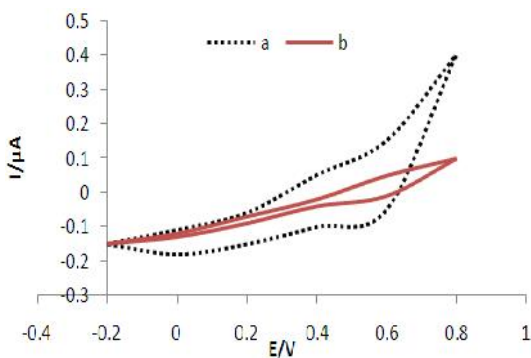
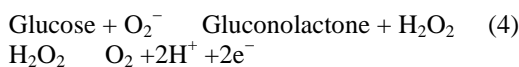
اندازه دانه با استفاده از نسبت شدت پیک (۱۲۲) که در شکل ۳ با پیکان نشان داده شده است، تخمین زده می‌شود. برای نانوذرات اکسید مس اندازه ذرات همانطور که گفته شد ۳۰ nm یافت می‌شود و افزایش در تیزی پیک‌های XRD نشان می‌دهد که ذرات در ماهیت بلورین هستند. انعکاس‌هایی که به وضوح دیده می‌شوند، به طور نزدیک با الگوهای مرجع اکسید مس مطابقت می‌کند.

کوچک است. میانگین اندازه نانوذرات بر طبق فرمول Debye-Scherrer، ۳۰ nm تخمین زده می‌شود. پیک‌های برجسته برای تخمین اندازه دانه‌های نمونه با استفاده از معادله  $D = K / (\cos \theta)$  (Debye-Scherrer) به کار گرفته می‌شوند که در این معادله K ثابت است و برابر ۰/۹ می‌باشد. طول موج است و  $(\text{Cu K } \lambda = 1.5418 \text{ \AA})$ ، تمام پهنای نیمه ماکزیم خط است و زاویه پراش است.



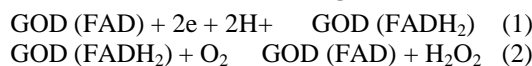
شکل ۳. نمونه الگوی پراش پرتوی ایکس (XRD) نانوذرات اکسید مس سنتزی

$\text{H}_2\text{O}_2$  می‌باشد [۱۶] که در واکنش ۴ توضیح داده شده است:

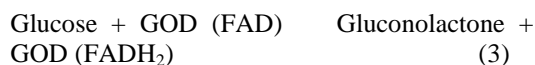


شکل ۴. ولتاموگرام چرخه ای الکترود گلوکوز اکسیداز اصلاح شده با نانوذره اکسید مس در حضور (a) و در غیاب (b) ۱ میلی مول گلوکوز در بافر فسفات

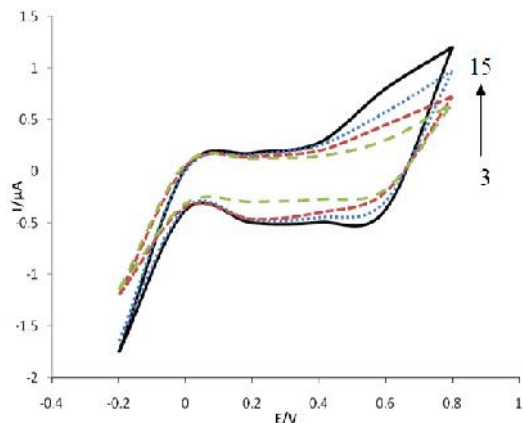
گلوکوز اکسیداز اکسیداسیون گلوکوز را توسط اکسیژن برای تولید گلوکونو لاکتون و پراکسید هیدروژن کاتالیز می‌کند، و اکسیژن به عنوان پذیرنده الکترون استفاده می‌شود [۱۴]. روند پروسه الکتروکاتالیز به شرح زیر می‌باشد:



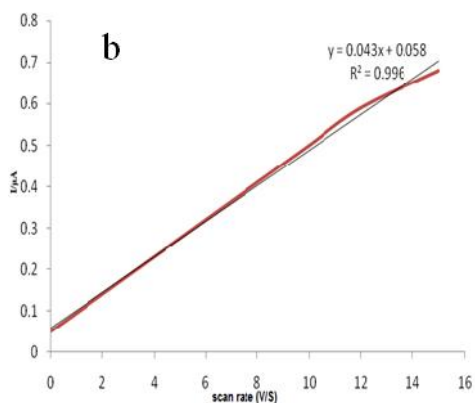
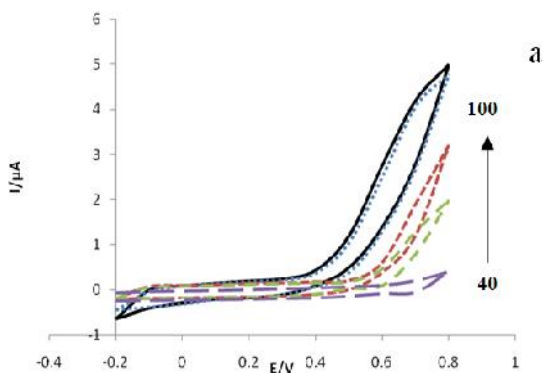
پس از اضافه کردن گلوکوز واکنش الکتروکاتالیتیک بالا به علت واکنش کاتالیز آنزیمی بین شکل اکسید گلوکوز اکسیداز و گلوکوز مهار می‌شود [۱۵].



در حضور اکسیژن محلول همانطور که در شکل ۴ (b) نشان داده شده است، هیچ پیکی مشاهده نمی‌شود، اما پس از اضافه کردن گلوکوز بصورت محسوس پیک جریان در ۰/۴۴ ولت افزایش می‌یابد. شکل ۴ (a) این افزایش جریان ناشی از اکسیداسیون



شکل ۵. منحنی‌های ولتاموگرام چرخه‌ای بدست آمده از الکتروود گلوکز اکسیداز اصلاح شده با نانوذره اکسید مس در محلول‌های گلوکز با غلظت‌های به ترتیب ۳، ۶، ۱۰، ۱۵ میلی مولار



شکل ۶. افزایش جریان آندیک در محلول گلوکز با غلظت ۳ میلی مول با افزایش سرعت روبش (که با پیکان نشان داده شده است). b نشان دهنده رابطه خطی افزایش جریان با افزایش سرعت روبش

مولکول گلوکز بوسیله گلوکز اکسیداز اکسیده می‌شود و دو الکترون آزاد می‌شود که آنها نیز منجر به افزایش جریان می‌شوند [۱۷]. غلظت گلوکز را می‌توان با اندازه‌گیری جریان بدست آمده از واکنش الکتروشیمیایی  $H_2O_2$  بدست آورد [۱۸].

در شکل ۵ منحنی‌های ولتامتری چرخه‌ای گلوکز اکسیداز تثبیت شده روی الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات اکسید مس مشاهده می‌شود که در غلظت‌های مختلف (۳، ۶، ۱۰، ۱۵ میلی مولار) گلوکز محلول الگوی مشابه با شکل ۵ (a) را نشان می‌دهند. بزرگترین جریان اکسیداسیون در بیشترین غلظت گلوکز دیده می‌شود [۱۹]. همانطور که به وضوح دیده می‌شود پیک جریان ردوکس با افزایش میزان گلوکز افزایش می‌یابد و در محدوده ۱۰ الی ۱۵ میلی مولار بحالت اشباع در می‌آید که سازگار با گزارش ۱۳ میلی مولار می‌باشد [۲۰].

در شکل ۶ (a) نیز پیک‌های ولتامتری چرخه‌ای در سرعت‌های روبش<sup>۱</sup> مختلف ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه در حضور ۳ میلی مول گلوکز برای بررسی کینتیک و ویژگی‌های انتقالی الکتروود گلوکز اکسیداز/ اکسید مس مشاهده می‌گردد که می‌تواند نشانگر این موضوع باشد که پتانسیل پیک‌های اکسیداسیون برای  $H_2O_2$  با افزایش سرعت روبش به سمت مثبت سوق پیدا می‌کند، این اتفاق نیز موید یک کنترل کینتیک در طول پروسه ردوکس در جایگاه فعال الکتروود گلوکز اکسیداز/ اکسید مس می‌باشد. جریان آندیک اغلب در مقابل مجذور سرعت روبش به صورت خطی افزایش پیدا می‌کند (ضریب همبستگی = ۰/۹۹۶)، که نشان می‌دهد فرایند انتشار سطحی، ردوکس  $H_2O_2$  را روی الکتروود کنترل می‌کند (شکل ۶ (b)).

<sup>1</sup> Scan Rate

### ثبات و پایداری زیست‌حسگر گلوکوز اکسیداز / اکسید مس

الکتروود اصلاح شده با نانوذرات اکسید مس پس از بیش از ۵۰ بار اندازه‌گیری پی در پی، تنها ۴٪ از فعالیت خود را از دست داد که نشان از موفقیت‌آمیز بودن فرایند تثبیت آنزیم بر روی الکتروود داشت. زیست‌حسگر پس از ذخیره‌سازی در بافر فسفات ۰/۱ مولار در pH=۷ در یک دوره یک ماهه تنها ۱۱٪ از فعالیت خود را از دست داد که نشانگر پایداری خیلی خوب این زیست‌حسگر بود.

### تعیین گلوکوز در نمونه سرم

رابطه بین افزایش پیک اکسایش و افزایش غلظت گلوکوز مورد بررسی قرار گرفت. افزایش جریان پیک اکسایش در ۰/۴۴ ولت با غلظت گلوکوز در محدوده ۰ تا ۱۵ میلی مولار نسبت خطی دارد. طبق معادله  $-\Delta ip(\sim A) = 0.01 + 3.0C (mM)$  با ضریب همبستگی ۰/۹۹۶، حد آشکارسازی به دست آمده برابر با ۹ میکرومولار با یک نسبت سیگنال به نویز برابر ۳ بود (جدول ۱)، که بسیار نزدیک به مقدار ۸/۸۹ میکرومولار است که توسط اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شده بود، که نشانگر دقت بالای زیست‌حسگر می‌باشد. این زیست‌حسگر دقت خوبی با انحراف معیار نسبی حدود ۴/۱ در هنگام تعیین ۱ میلی‌مولار گلوکوز که ۱۰ بار به

صورت پی در پی اندازه‌گیری شد، از خود نشان داد. شایان ذکر است که انحراف معیار نسبی ۴/۴ از اندازه‌گیری‌های یک میلی‌مولار گلوکوز که با استفاده از زیست‌حسگرهای متفاوتی که به همان روش تهیه شده بودند، حاصل شده بود. زیست‌حسگری که تهیه شد وقتی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شد، پس از ۱ ماه هنگام استفاده در سنجش و اندازه‌گیری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، فقط ۱۱ فعالیت خود را از دست داده بود، که نشان‌دهنده پایداری بالای آن می‌باشد. اثرات تداخل گونه‌هایی مثل اسیداسکوربیک و اسیداوریک در تهیه گلوکوز در غلظت ۱ میلی‌مولار گلوکوز مورد بررسی قرار گرفت که هیچ کدام از این موارد بیشتر از ۵ نتوانستند باعث تغییر پاسخ زیست‌حسگر شوند، که نشان دهنده این است که این مواد توانایی تداخل موثر در پاسخ سنسورهای زیستی ندارند. زیست‌حسگر تهیه شده برای تعیین گلوکوز در نمونه سرم انسانی با استفاده از روش اضافه کردن نمونه استاندارد بر روی حسگر به کار برده شد. ۴ محلول ۱۰ میکرولیتری بتا-دی (+) گلوکوز ۵ میلی‌مولار برای تعیین پی در پی به سیستم اضافه شد که ارزش ریکاوری یا بازیابی انجام شده برای سنجش گلوکوز ۹۳ تا ۱۰۱ بود (جدول ۲).

جدول ۱. مقایسه زیست‌حسگر تهیه شده در تحقیق حاضر با دیگر زیست‌حسگرهای مشابه در حد آشکارسازی تعیین گلوکوز

شماره منابع	ماتریکس	پایداری	حد آشکارسازی	زیست‌حسگر
۲۱	سرم	۵ هفته	۵ $\mu M$	زیست‌حسگر سیتوزن هیدروژن بر روی نانوذره طلا
۲۲	نمونه خون	۲ هفته	۱۸۰ $\mu M$	زیست‌حسگر مبتنی بر الکتروود طلا اصلاح شده با نانوذره طلا
۲۳	نمونه خون	۱ ماه	۱۰ $\mu M$	زیست‌حسگر اصلاح شده با نانوذرات پلاتینیوم
۲۴	سرم	۱ هفته	۰/۲ mM	زیست‌حسگر مبتنی بر نانو تیوب کربن
تحقیق حاضر	سرم	۱ ماه	۹ $\mu M$	زیست‌حسگر اصلاح شده با نانوذره اکسید مس

جدول ۲. ریکاوری‌های به دست آمده در نمونه‌های پی در پی تعیین گلوکوز سرم

ریکاوری ( )	گلوکوز اندازه‌گیری شده (mM)	گلوکوز اضافه شده (mM)	نمونه
۱۰۱	۵/۳	۵	A
۹۸	۵/۱	۵	B
۹۶	۴/۹	۵	C
۹۳	۴/۸	۵	D

**بحث**

در این پژوهش از نانوذرات اکسید مس در تهیه زیست‌حسگر آنزیمی برای اندازه‌گیری گلوکز استفاده شد. روشی که به کار برده شد منجر به نتایج مطلوبی در تعیین مقدار گلوکز سرم گردید. از مزایای این زیست‌حسگر که در این تحقیق تهیه شد، دقت بالای آن در تعیین سطح گلوکز نمونه، سرعت اندازه‌گیری بالا و در دسترس بودن آن بود، که با تغییراتی در نحوه تثبیت آنزیم بر روی الکتروود یا

استفاده از نانوذرات یا ساختارهای متنوع برای تسهیل انتقال الکترون، می‌توان به نتایج مطلوبتری نیز رسید.

**تشکر و قدردانی**

این طرح تحقیقاتی در دانشکده علوم دانشگاه محقق اردبیلی انجام شده است، لذا نویسندگان بر خود لازم می‌دانند بدین وسیله از کلیه مسئولین مرکز مربوطه تشکر و قدردانی نمایند.

**References**

- 1- Wang Y, Ma X, Wen Y, Xing Y, Zhang Z, Yang H. Direct electrochemistry and bioelectrocatalysis of horseradish peroxidase based on gold nano-seeds dotted TiO<sub>2</sub> nanocomposite. *Biosens Bioelectron.* 2010 Jul; 25(11): 2442-6.
- 2- Kamaya H, Ueda I, Eyring H. Progress in anesthesiology. In: Fink B.R, editor. *Molecular Mechanisms of Anesthesia.* 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press, 1980:429.
- 3- Yoshida T, Okabayashi H, Takahashi K, Ueda I. A proton nuclear magnetic resonance study on the release of bound water by inhalation anesthetic in water-in-oil emulsion. *Biochim Biophys Acta.* 1984 Dec; 772(1): 102-107.
- 4- Hostetler MJ, Wingate JE, Zhong CJ, Harris JE, Vachet RW, Clark MR, et al. Alkanethiolate gold cluster molecules with core diameters from 1.5 to 5.2 nm: core and monolayer properties as a function of core size. *Langmuir.* 1998 Oct; 14: 17-30.
- 5- Ribrioux S, Kleymann G, Haase W, Heitmann K, Ostermeier C, Michel H. Use of nanogold and fluorescent-labeled antibody Fv fragments in immune cytochemistry. *J Histochem Cytochem.* 1996 Sep; 44(3): 207-213.
- 6- Hainfeld JF, Furuya FR. A 1.4-nm gold cluster covalently attached to antibodies improves immunolabeling. *J Histochem Cytochem.* 1992 Feb; 40(2): 177-184.
- 7- Armelao L, Barreca D, Bertapelle M, Bottaro G, Sada C. A sol-gel approach to nanophasic copper oxide thin films. *Thin solid films.* 2003 Oct; 442(1-2): 48-52.
- 8- Lanje A, Sharma S, Pode R, Ninghoujam R. Synthesis and optical characterization of copper oxide nanoparticles. *Adv Appl Sci Res.* 2010 Sep; 1(2): 36-40.
- 9- Zhao Z, Chen X, Tay B, Chen J, Han Z, Khor K. A novel amperometric biosensor based on ZnO:Co nanoclusters for biosensing glucose. *Biosens Bioelectron.* 2007 Aug; 23(1): 135-139.
- 10- Zhu X, Yuri I, Gan X, Suzuki I, Li G. Electrochemical study of the effect of nano-zinc oxide on microperoxidase and its application to more sensitive hydrogen peroxide biosensor preparation. *Biosens Bioelectron.* 2007 Mar; 22(8): 1600-4.
- 11- Kang X, Wang J, Wu H, Aksay I, Liu J, Lin Y. Glucose Oxidase-graphene-chitosan modified electrode for direct electrochemistry and glucose sensing. *Biosens Bioelectron.* 2009 Dec; 25(4): 901-905.
- 12- Nenkova R, Ivanova D, Vladimirova J, Godjevargova TZ. New amperometric glucose biosensor based on cross-linking of glucose oxidase on silica gel/multiwalled carbon nanotubes/polyacrylonitrile nanocomposite film. *Sensor Actuat B-Chem.* 2010 Jun; 148(1): 59-65.
- 13- Liu SQ, Ju HX. Reagentless glucose biosensor based on direct electron transfer of glucose oxidase immobilized on colloidal gold modified carbon paste electrode. *Biosens Bioelectron.* 2003 May; 19(1): 177-183.



- 14- Guascito MR , Malitesta C, Mazzotta E, Turco A. Inhibitive determination of metal ions by an amperometric glucose oxidase biosensor Study of the effect of hydrogen peroxide decomposition. *Sensor Actuat B-Chem.* 2007 Dec; 131: 394-402.
- 15- Kumar SA, Cheng HW , Chen SM, Wang SF. Preparation and characterization of copper nanoparticles/zinc oxide composite modified electrode and its application to glucose sensing. *Mat Sci Eng C.* 2010 Jan; 30(1): 86–91.
- 16- Mani V, Devadas B, Chen SM. Direct electrochemistry of glucose oxidase at electrochemically reduced graphene oxide-multiwalled carbon nanotubes hybrid material modified electrode for glucose biosensor. *Biosens Bioelectron.* 2012 Aug; 41: 309-315.
- 17- Jiang L, Liu H, Liu J, Yang Q, Cai X. A sensitive biosensor based on Os-complex mediator and glucose oxidase for low concentration glucose determination. *J Ele Chem.* 2008 Jul; 619–620: 11–16.
- 18- Zhao S, Zhang K, Bai Y, Yang W, Sun C. Glucose oxidase/colloidal gold nanoparticles immobilized in Nafion film on glassy carbon electrode: Direct electron transfer and electrocatalysis. *bioelectrochemistry.* 2006 Oct; 69(2): 158–163.
- 19- Peng B, Lu J, Balijepalli AS, Major TC, Cohan BE, Meyerhoff ME. Evaluation of enzyme-based tear glucose electrochemical sensors over a wide range of blood glucose concentrations. *Biosens Bioelectron.* 2013 May; 49(3): 204–209.
- 20- Wang J, Sun X, Wei A, Lei Y, Cai X, Li C, et al. Zinc oxide nanocomb biosensor for glucose detection. *Appl Phys Lett.* 2006 Jul; 88: 233106-233108.
- 21- Luo Xi, Xu J, Du Y, Chen H. A glucose biosensor based on chitosan–glucose oxidase–gold nanoparticles biocomposite formed by one-step electrodeposition. *Anal Biochem.* 2011 Dec; 334(2): 284-289.
- 22- Shan C, Yang H, Han D, Zhang Q, Ivaska A, Niu L. Graphene/AuNPs/chitosan nanocomposites film for glucose biosensing. *Biosens Bioelectron.* 2010 Jan; 25(5): 1070-4.
- 23- Xiaochen C, Bohua W, Chunhui X, Xiaohua Zh, Jinhua Ch. A new amperometric glucose biosensor based on platinum nanoparticles/polymerized ionic liquid-carbon nanotubes nanocomposites. *Electrochimica Acta.* 2010 Mar; 55(8): 2848-2852.
- 24- Wang J, Musameh M. Carbon nanotubes doped polypyrrole glucose biosensor. *Anal Chim Acta.* 2005 May; 539(1-2): 209-213.