بیست و یکمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و هفتمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۲۳ تا ۲۵ دی ماه ۱۳۹۳، دانشگاه شهید بهشتی

ساخت زیست حسگر لومینسانس الکتروشیمیایی با نانوکامپوزیت Ru-Si@Au

هادی افشاران[۱و۲]، حبیب تجلی[۳]، محمدرضا رشیدی[۴]، محمود ملاباشی[۲] و فرزانه نوایی پور[۲]

[۱]مرکز نانوبیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز ، تبریز

[۲]دانشکده فیزیک، دانشگاه علم و صنعت ایران ، تهران

[۳] قطب علمی فوتونیک ، پژوهشکده فیزیک کاربردی و ستاره شناسی دانشگاه تبریز ، تبریز

[۴]دانشکده داروسازی ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ، تبریز

چکیده - در این مقاله، اولین مرحله برای به کارگیری $Ru(bpy)_3^{2+}$ به عنوان لومینوفر در ساخت زیست حسگر لومینسانس الکتروشیمیایی - یعنی افزایش حساسیت زیست حسگر از طریق ساخت نانوکامپوزیت *Ru-Si@Au* واستفاده از آن به جای $Ru(bpy)_3^{2+}$ برای اندازه گیری زیست مولکولها- مورد بررسی قرار گرفته است. همینطور به بهینه سازی غلظتهای *TPrA* و نانو کامپوزیت *Ru-Si@Au* به عنوان دو ماده اصلی و تاثیرگذار در میزان شدت لومینسانس برای اندازه گیری زیست مولکولها پرداخته شده است تا بیشترین حساسیت فراهم آید . بدین منظور غلظتهای مختلف دو ماده تهیه و بدون حضور زیست مولکول، گسیل فوتونها بررسی شد .

کلید واژه- زیست حسگر، لومینسانس الکتروشیمیایی ، نانو کامپوزیت Ru-Si@Au ، فتومولتی پلایر ، نانوذرات طلا

Fabrication of Electrochemiluminescece biosensor using Ru-Si@Au nanocomposite

Hadi Afsharan[1,2] , Habib Tajalli[3] , M.Reza Rashidi[4] , Mahmood mollabashi[2] , Farzaneh NavaeiPour[2]

[1]Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology ,Tabriz University of Medical Sciences ,Tabriz

[2]Faculty of physics , Iran University of Science and Technology , Tehran

[3]Research Institute for Applied Physics and Astronomy, University of Tabriz, Tabriz

[4]Faculty of pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences ,Tabriz

Abstract- In this paper, first step to using of $Ru(bpy)_3^{2+}$ as a luminophore in fabrication of an ElectroChemiLuminescence biosensor for detection of biomolecules,which is,increasing of the sensitivity of the biosensor by using of Ru-Si @ Au nanocomposites instead of $Ru(bpy)_3^{2+}$, has been investigated. Also optimization of concentrations of Ru-Si @ Au nanocomposite and TPrA as the main and effective materials for detection of biomolecules has been discussed. So different concentrations of these materials without presence of biomolecules produced ,and emitted photons were measured.

Keywords: biosensor, ElectroChemiLuminescence (ECL) ,Ru-Si@Au nanocomposite , photomultiplier (PMT) , Au nanoparticles

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-03]

۱- مقدمه

زیست حسگرها ، سیستمهایی برای اندازه گیری غلظت زیست مولکولها، از قبیل پروتئین ها ، آنزیم ها ، نوکلوئیدها و ... هستند که در ساخت آنها بسته به نوع زیست حسگر و زیست مولکول از روش ها و مواد مختلف بهره گرفته می شود. در روش نوری لومینسانس الکتروشیمیایی ((Electrochemiluminescence(ECL) ، یک لومینوفر، در حضور ماده فعال کننده ، در نتیجه اعمال پتانسیل الکتریکی برانگیخته می شود و فوتون گسیل می کند. در زیست حسگر نوری ECL ، با بهره گیری از این روش و تثبیت لومینوفر روی زیست مولکولها ، می توان غلظت آنها را اندازه گرفت. به عبارت دیگر، زیست مولکولها نقش حامل پتانسیل الکتریکی را به لومینوفر بر عهده می گیرند . پس ، با تغییر غلظت زیست مولکولها ، پتانسیل اعمالی به لومینوفر تغییر کرده و در نتیجه، شدت فوتونهای گسیلی تغییر می کند[۱]. از مزایای بهره گیری از روش ECL در مقایسه با سایر روش های نوری می توان به :۱) عدم نیاز به منبع برانگیختگی و در نتیجه کاهش تداخلات نوری ۲) برخورداری از قدرت تفکیک زمانی و مکانی ۳) سادگی، کم هزینه بودن ، سرعت بالا و زمان کم اندازه گیری، اشاره کرد[۲].

در زیست حسگر نوری ساخته شده، به عنوان اولین نمونه ساخته شده در کشور ، از $Ru(bpy)_3^{2+}$ ، که با داشتن بازده کوانتومی بالا و کوچکی اندازه مولکول، یکی از پرکاربردترین لومینوفرهای به کار گرفته شده در ساخت زیست حسگرهای لومینسانس الکتروشیمیایی ، تبدیل شده است ، استفاده شد. کوچک بودن مولکول $Ru(bpy)_3^{2+}$ موجب می شود براحتی با زیست مولکولها کونژوگه شده و حداقل اختلال را در سیستم ایمنی زیست مولکولها ایجاد کند[۳] .در حسگر نوری ساخته شده از TPrA (TriPropylAmine) به عنوان ماده فعال کننده $Ru(bpy)_3^{2+}$ استفاده شده است.

از اساسی ترین مستلزمات یک زیست حسگر ، به حساسیت بالای آن اشاره می شود. حساسیت یک زیست حسگر، به حداقل میزان تشخیص غلظت زیست مولکولها گفته می شود. با توجه به تعریف اخیر ، افزایش حساسیت زیست حسگر ساخته شده ، متناسب با افزایش شدت فوتونهای گسیلی از ماده لومینوفر می باشد . لذا ، برای این منظور،از نانوکامپوزیت Ru-Si@Au استفاده شد.

نانوذرات SiO_2 و طلا به دلیل وجود چندین مزیت، موجبات افزایش شدت فوتونها را فراهم می کنند. نانو ذرات دو بار یونیده SiO_2 به علت دارا بودن بار منفی، به راحتی یونهای $Ru(bpy)_3^{2+}$ را محبوس می سازند و با توجه به خاصیت نوری خود ، پایداری نوری $Ru(bpy)_3^{2+}$ را افزایش می دهند. از طرفی چون این مولکول ها سطح فعال بزرگی دارند ، توانایی بارگذاری (محبوس کردن) مقادیر زیادی از مولکولهای $Ru(bpy)_3^{2+}$ را دارا هستند. اما نانوذرات Ru-Si را به تنهایی نمی توان روی زیست مولکولهایی چون آنتی بادی ها تثبیت کرد، لذا از ذرات طلا در اندازه نانو بهره گرفته می شود [۴].

نانوذرات طلای تولید شده ، به علت نوع ساخت، دارای بار منفی روی سطح خود هستند و لذا به راحتی می توانند گروه های عاملی با بار مثبت (نظیر گروه آمینی) را به خود جذب کنند. بسیاری از زیست مولکولها نیز دارای گروه های عاملی دارای بار مثبت هستند. برای نشاندن ذرات نانوطلا با بار منفی بر روی Ru-Si از لایه های با بار مثبت نظیر گروه آمینی استفاده می شود . به علت کوچکی اندازه نانوذرات ، تعداد زیادی از آنها روی Ru-Si قرار می گیرند (شکل ۱) . علاوه بر این، با توجه به این که نانوذرات طلا ، رسانای الکتریکی قوی ای هستند، روند انتقال الکترونی (پتانسیل الکتریکی) را به $Ru(bpy)_3^{2+}$ محبوس در داخل SiO_2 افزایش می دهند[۴].



شکل ۱: نمایش شماتیک نانوکامپوزیت Ru-Si@Au.

در این کار تجربی، ضمن تهیه نمونه ها و ساخت دستگاه حسگر به بررسی اثر غلظت نانو کامپوزیتها پرداخته شده است. با توجه به این که ضرورت دارد هیچ گونه اختلالی در ساختار ماده $Ru(bpy)_3^{2+}$ ایجاد نشود، در این مورد نیز در تهیه نمونه های مورد نظر و به کارگیری در سیستم الکتروشیمیایی، این موضوع مورد توجه و بررسی قرار گرفت.

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-03]

۲- مواد و روش

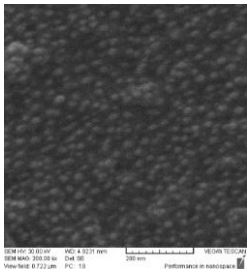
TriPropylAmine (TPrA) ، $Ru(bpy)_3Cl_2$ و $HAuCl_4$ از شرکت sigma-Aldrich تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این کار از طرف مرکز نانوبایوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تامین شدند.

برای تهیه نانوذرات طلا با سطح با بار منفی، $HAuCl_4$ به آب در حال جوش اضافه شده و با افزودن عامل کاهنده trisodium citrate به محلول جوشان ، ساخته شدند [۵]. نانوکامپوزیت Ru-Si@Au ، با تهیه مخلوطی از TX-100 و cyxlohexane ، hexanol و $Ru(bpy)_3Cl_2$ براساس روش به کار گرفته در مقاله [۶] تهیه شد و سپس دو ماده TEOS (tetra ethyl ortosylat) و NH_3 به محلول اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت هم زده شد تا نانوذرات Ru-Si بوجود آیند. سپس به این نانوذرات ، APTES اضافه و ۳۰ دقیقه هم زده شد. این کار موجب ایجاد گروه عاملی با بار مثبت آمینی روی نانوذرات Ru-Si گردید و در نهایت با افزودن نانوذرات Au تهیه شده با بار منفی، و پس از ۱ساعت هم زدن، نانوذرات طلا جذب Ru-Si شدند و نانوکامپوزیت Ru-Si@Au ساخته شد.

در مرحله بعدی، نمونه های ساخته شده فوق با مقادیر و غلظت های مختلف، با استفاده از Graphene oxide (GO) بر روی الکترودهای GCE نشانده شد. GO به منظور تثبیت نمونه بر روی الکترود از طریق ایجاد پیوندهای π-π بین اجزای نمونه ساخته شده و الکترود و همینطور تسریع انتقال الکترونی بین آنها به کار گرفته شده است. سپس مجموعه تهیه شده در داخل محلولی شامل TPrA قرار گرفت و با اعمال اختلاف پتانسیل الکتریکی لازم بین این الکترود و الکترود مرجع و شمارنده مورد استفاده در سیستم الکتروشیمیایی، گسیل نوری از ماده به عمل آمد و مورد اندازه گیری قرار گرفت.آشکارسازی فوتونهای گسیل شده توسط تکثیرکننده فوتونی از نوع Hamamatsu ip21 انجام گرفت .

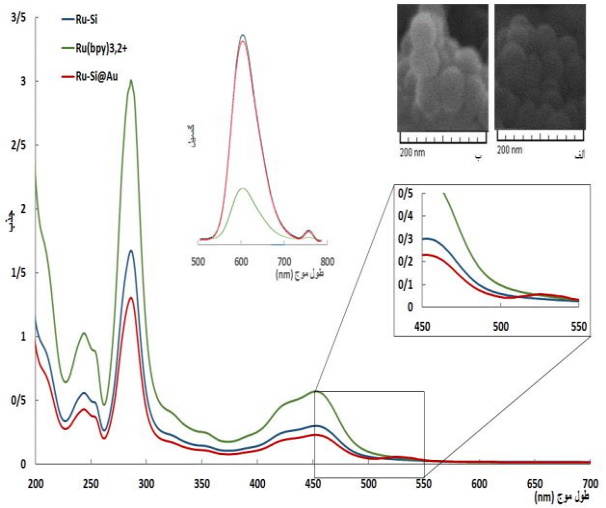
۳- داده ها و نتایج

به منظور شناخت اندازه نانوذرات طلای ساخت شده از تصویربرداری SEM استفاده شد. شکل ۲ نمونه ای از تصاویر SEM تهیه شده از ذرات طلا را نشان میدهد. بر این اساس، اندازه متوسط این ذرات بین ۱۵ تا ۲۰ نانومتر اندازه گیری شد. شکل های۳(الف) و ۳(ب) نیز به ترتیب تصاویر SEM برای Ru-Si و Ru-Si@Au را نشان می دهند. حدود ابعاد این نانوذرات به طور متوسط در حدود ۵۰ نانو متر بودند. با مقایسه ابعاد بدست آمده ، مشخص گردید که نانوذرات Ru-Si توانایی بارگذاری تعداد زیادی از نانوذرات طلا را دارا هستند.



شکل ۲: تصویر SEM نانوذرات طلای ساخته شده

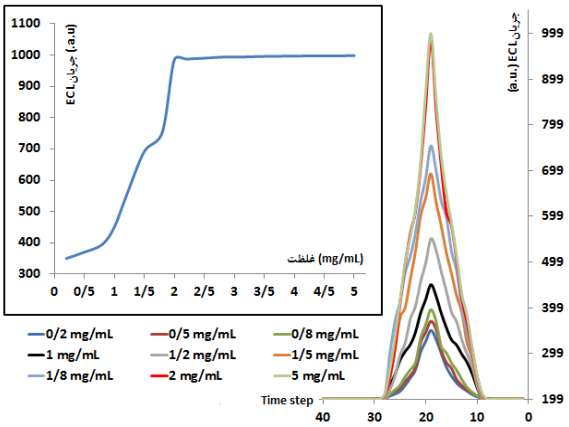
شکل ۳ نمودار جذبی و گسیلی Ru ، Ru-Si و نانوکامپوزیت Ru-Si@Au را نشان می دهد. مقایسه منحنی های جذبی نشاندهنده شیفت 5nm طول موج در طیف Ru-Si در 450nm می باشد که نشاندهنده محبوس شدن $Ru(bpy)_3^{2+}$ داخل SiO_2 می باشد. ضمنا حضور نانوذرات طلا در نانوکامپوزیت Ru-Si@Au با ایجاد جذب اندکی در 525nm مشهود است. علاوه بر این، با توجه به منحنی گسیل، تهیه نانوکامپوزیت، طیف گسیلی Ru و ماهیت لومینسانسی آن را تغییر نداده است، و افزایش شدت گسیلی در نانوکامپوزیت نشاندهنده محبوس شدن تعداد زیاد مولکولهای $Ru(bpy)_3^{2+}$ است.



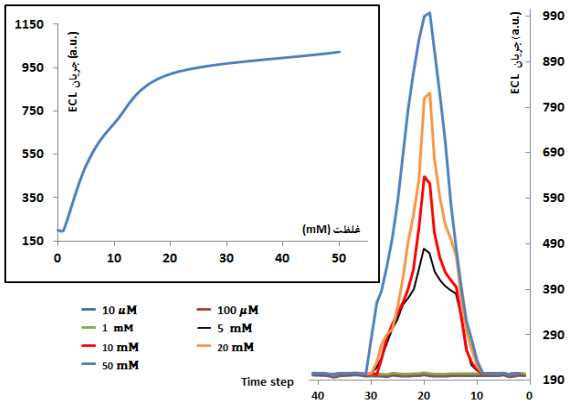
شکل۳: نمودارهای مقایسه ای جذب UV-visible و طیف گسیلی ، برای Ru، Ru-Si و Ru-Si@Au (شکل داخل نشاندهنده تصاویر SEM الف . Ru-Si و ب . Ru-Si@Au می باشد.)

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-03]

با توجه به اینکه تابش گسیلی از نمونه ها به منظور به کارگیری در اثرگذاری بر روی زیست مولکولها است لذا قبل از به کارگیری لومینسانس بر روی زیست مولکولها ، مقدار آن از طریق انتخاب بهینه غلظت نانو کامپوزیت بر روی نمونه های تهیه شده و غلظت حلال TPrA مورد نیاز اندازه گیری شد. برای این منظور ابتدا برای رسیدن به بهینه غلظت نانوکامپوزیت در نمونه های تهیه شده برای یک غلظت ثابت از حلال، شدت لومینسانس نمونه ها در حلالها با غلطتهای مختلف اندازه گیری شد که شکل ۴ منحنی این تغییرات را نشان می دهد. از روی این آزمایش بهینه مقدار نانوکامپوزیت Ru-Si@Au 2 mg/mL تعیین شد و سپس نمونه های با بهینه غلظت نانوکامپوزیت در غلظت های مختلف حلال TPrA آزمایش شد و مجددا بهینه لومینسانس بدست آمده 20 mM تعیین شد. شکل ۵ نشاندهنده این مقدار بهینه می باشد.



شکل ۴: میزان گسیل فوتونها برای غلظت های مختلف نانوکامپوزیت (شکل داخل: نمودار بهینه سازی غلظت نانوکامپوزیتRu-Si@Au) .



شکل۵: میزان گسیل فوتونها برای غلظت های مختلف TPrA (شکل داخل : نمودار بهینه سازی غلظت TPrA) .

۴- نتیجه گیری

با توجه به اینکه ساخت زیست حسگر لومینسانس الکتروشیمیایی برای اولین بار در کشور انجام پذیرفته است ، لازم می بود قبل از هرگونه اندازه گیری، شرایط مناسب از قبیل بالا بودن حساسیت و بهینه سازی عوامل دخیل در اندازه گیری زیست مولکولها ایجاد گردد. عدم ایجاد این شرایط، منجر به ایجاد خسارت به زیست مولکولها و یا هدر رفتن آنها می گردد.

سپاسگزاری

از آقایان دکتر نقش آرا ، خلیل زاده و جوهری که ما را در انجام این پروژه یاری نمودند، تشکر می کنیم.

مراجع

[1] Hui M., Wang E., Electrochemiluminescence of tris(2,2′-bipyridyl)ruthenium and its applications in bioanalysis: a review, **Luminescence.** 26 (2011) 77–85.

[2] Zhou X., Zhu D., Liao Y., Liu W., Liu H., Ma Z., Xing D., Synthesis, labeling and bioanalytical applications of a tris(2,2′-bipyridyl)ruthenium(II)-based electrochemiluminescence probe, **nature protocols.** 9 (2014) 1146-1159.

[3] Yuan S., Ruo Y., Yaqin C., Li M., Xia Y., Yali Y., Huan N., Sandwich-type electrochemiluminescence immunosensor based on Ru-silica@Aucomposite nanoparticles labeled anti-AFP, **Talanta.** 82 (2010) 1468–1471.

[4] Ning G., Jianguo H., Futao H,, Yuting C., Tianhua L., Zhiyong G., Jun ., A Renewable and Ultrasensitive Electrochemiluminescence Immunosenor Based on Magnetic RuL@SiO Au~RuL-Ab2Sandwich-Type Nano-Immunocomplexes**, Sensors.** (2011) 11 7749-7762.

[5] Jing Q., Zhenxian Z., Xiaodong C., Songqin L., Electrochemiluminescence immunosensor for ultrasensitive detection ofbiomarker using Ru(bpy)32+-encapsulated silica nanosphere labels, **Analytica Chimica Acta.** 665 (2010) 32–38**.**

[6] Jing Z., Ning G., Futao H., Tianhua L., Hankun Z., Xing L., Lei Z., A single antibody sandwich electrochemiluminescence immunosensor based on protein magnetic molecularly imprinted polymers mimicking capture probes, **Sensors and Actuators.** B 186 (2013) 300– 307.

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-03]