

طراحی و توسعه حسگرهای شیمیایی زیست‌سازگار مبتنی بر گرافن برای پایش بیومارکرهای بیماری

شیرین احمدی^۱

^۱گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

چکیده

رشد شتابان پزشکی شخصی‌سازی‌شده، پایش مستمر سلامت و تشخیص زودهنگام بیماری‌ها، نیاز به توسعه حسگرهای شیمیایی پیشرفته‌ای را افزایش داده است که بتوانند بیومارکرهای زیستی را با حساسیت بالا، گزینش‌پذیری مناسب، زمان پاسخ کوتاه و کمترین اثر نامطلوب زیستی شناسایی کنند. در این میان، گرافن و مشتقات آن به دلیل ویژگی‌هایی مانند سطح ویژه بالا، هدایت الکتریکی ممتاز، قابلیت عاملی‌سازی شیمیایی، پایداری مکانیکی و امکان برهم‌کنش مؤثر با گونه‌های زیستی، به‌عنوان یکی از امیدبخش‌ترین بسترها برای طراحی حسگرهای شیمیایی زیست‌سازگار مطرح شده‌اند. هدف این مقاله، تحلیل نظام‌مند مبانی طراحی و توسعه حسگرهای شیمیایی زیست‌سازگار مبتنی بر گرافن برای پایش بیومارکرهای بیماری و ارزیابی ظرفیت این سامانه‌ها برای کاربردهای تشخیصی و پایش بالینی است. روش پژوهش از نوع مروری - تحلیلی با جهت‌گیری کاربردی است و با تکیه بر منابع علمی معتبر منتشرشده بین سال‌های ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۶، ابعاد اصلی مرتبط با انتخاب ماده، اصلاح سطح، سازوکار آشکارسازی، الزامات زیست‌سازگاری، و شاخص‌های عملکردی حسگرها بررسی شده است. همچنین، برای حفظ انسجام ساختاری مقاله، یک الگوی روش‌شناسی تجربی و مجموعه‌ای از داده‌های نمونه علمی برای تحلیل عملکرد یک حسگر مبتنی بر اکسید گرافن کاهش‌یافته در شناسایی یک بیومارکر بیماری ارائه شده است. یافته‌های تحلیلی نشان می‌دهد که ترکیب گرافن با نانوذرات فلزی، پلیمرهای زیست‌سازگار و لیگاندهای زیست‌شناختی می‌تواند به‌طور هم‌زمان حساسیت، حد تشخیص، سرعت پاسخ و پایداری عملکردی حسگر را بهبود بخشد، هرچند چالش‌هایی مانند تجمع نانومواد، سمیت وابسته به دوز، تکرارپذیری ساخت و انتقال‌پذیری بالینی همچنان پابرجاست. در مجموع، نتایج این مقاله نشان می‌دهد که حسگرهای شیمیایی زیست‌سازگار مبتنی بر گرافن، در صورت بهینه‌سازی طراحی سطح، کنترل زیست‌سازگاری و استانداردسازی فرایند ساخت، ظرفیت بالایی برای تبدیل شدن به نسل آینده سامانه‌های پایش بیومارکرهای بیماری در پزشکی تشخیصی و مراقبت هوشمند سلامت دارند.

واژه‌های کلیدی: حسگرهای شیمیایی، زیست‌سازگاری، گرافن، بیومارکرهای بیماری، پایش زیستی، نانوزیست‌حسگر، تشخیص پزشکی

مقدمه

تحول در نظام های تشخیص، پایش و مداخله درمانی در دهه اخیر، به طور مستقیم با گسترش فناوری های پیوند خورده است که بتوانند اطلاعات زیستی را با دقت بالا، در زمان کوتاه، با حداقل تهاجم و در بسترهای پیچیده زیستی استخراج و تفسیر کنند. در این میان، بیومارکرهای بیماری به عنوان شاخص های عینی و قابل اندازه گیری از وضعیت فیزیولوژیک، پاتولوژیک یا پاسخ بدن به مداخله درمانی، جایگاهی محوری در پزشکی دقیق، تشخیص زودهنگام، پایش روند پیشرفت بیماری، ارزیابی پاسخ به درمان و حتی پیش بینی پیامدهای بالینی پیدا کرده اند. بیومارکرها می توانند شامل پروتئین ها، آنزیم ها، اسیدهای نوکلئیک، متابولیت ها، سیتوکین ها، هورمون ها، یون ها یا مولکول های کوچک زیستی باشند که در خون، بزاق، ادرار، عرق، مایع میان بافتی یا سایر ماتریس های زیستی قابل ردیابی اند و تغییر در غلظت، حضور یا الگوی برهم کنش آن ها با بروز یا پیشرفت بیماری های گوناگون ارتباط دارد. افزایش شیوع بیماری های مزمن، سرطان ها، اختلالات متابولیک، بیماری های قلبی-عروقی، بیماری های عصبی و عفونت های نوپدید، نیاز به سامانه های آشکارسازی حساسی را افزایش داده است که فراتر از روش های سنتی، امکان سنجش سریع، کم هزینه، قابل حمل و نزدیک به محل مراقبت را فراهم آورند؛ نیازی که در اسناد و مطالعات اخیر در حوزه زیست حسگرها و نانوفناوری پزشکی به طور مکرر مورد تأکید قرار گرفته است (ترنر، ۲۰۱۵؛ پینگ و همکاران، ۲۰۱۸؛ توصیف نیا و همکاران، ۱۴۰۱).

اگرچه روش های کلاسیک آزمایشگاهی مانند کروماتوگرافی، طیف سنجی جرمی، الایزا، PCR و روش های مبتنی بر تصویربرداری همچنان به عنوان استانداردهای مهم در تشخیص پزشکی شناخته می شوند، اما این روش ها در بسیاری از موارد با محدودیت هایی چون نیاز به تجهیزات پیچیده و گران قیمت، زمان آماده سازی نسبتاً طولانی، نیاز به نیروی انسانی متخصص، دشواری استفاده در محیط های خارج از آزمایشگاه و محدودیت در پایش پیوسته یا لحظه ای همراه اند. این محدودیت ها به ویژه در شرایطی که تصمیم گیری بالینی باید سریع، مکرر و متناسب با تغییرات پویا در وضعیت بیمار انجام شود، برجسته تر می شوند. از این منظر، حسگرهای شیمیایی و زیستی به عنوان ابزارهایی که می توانند یک سیگنال شیمیایی یا زیستی را به یک پاسخ قابل اندازه گیری الکتریکی، نوری، الکتروشیمیایی یا جرمی تبدیل کنند، نه تنها مکمل روش های مرسوم، بلکه در بسیاری از کاربردها بستر تحول آفرین نسل جدید تشخیص و پایش تلقی می شوند (جاستینو و همکاران، ۲۰۱۶؛ بهادری و همکاران، ۱۴۰۰). در بین انواع مختلف حسگرها، حسگرهای شیمیایی برای آشکارسازی گونه های هدف از طریق برهم کنش های سطحی، انتقال بار، تغییر مقاومت، پاسخ الکتروشیمیایی یا تغییرات نوری، از ظرفیت بالایی برای کوچک سازی، یکپارچه سازی و توسعه در قالب ابزارهای پوشیدنی، کاشتنی یا قابل حمل برخوردارند؛ با این حال، کارایی عملی آن ها به شدت وابسته به انتخاب ماده فعال، کیفیت سطح، پایداری ساختاری، گزینش پذیری و تکرارپذیری و سازگاری با محیط زیستی است (رونک و همکاران، ۲۰۱۸؛ آریا و همکاران، ۱۴۰۲).

در این چارچوب، مفهوم زیست سازگاری جایگاهی فراتر از یک ویژگی جانبی دارد و به یکی از ارکان اصلی طراحی حسگرهای شیمیایی برای کاربردهای پزشکی تبدیل شده است. حسگری که قرار است در تماس مستقیم یا غیرمستقیم با نمونه های زیستی، بافت زنده، مایعات بدن یا محیط های فیزیولوژیک عمل کند، نمی تواند صرفاً بر مبنای شاخص های تحلیلی مانند حساسیت و حد تشخیص ارزیابی شود، بلکه باید در برابر پاسخ های التهابی، سمیت سلولی، جذب غیراختصاصی پروتئین ها، تخریب در محیط زیستی، تغییر عملکرد در حضور ماتریس های پیچیده و افت پایداری در استفاده طولانی مدت نیز مقاوم باشد. از این رو، زیست سازگاری در توسعه حسگرهای شیمیایی نه فقط به معنای «بی ضرر بودن» ماده، بلکه به معنای قابلیت عملکرد پایدار، دقیق و کم مداخله در بستر زیستی است. مطالعات سال های اخیر نشان داده اند که عدم توجه کافی به این بعد، یکی از مهم ترین دلایل فاصله میان عملکرد امیدوارکننده بسیاری از نانو ساختارهای آزمایشگاهی و کاربرد واقعی آن ها در سامانه های بالینی و پوشیدنی است (ما و همکاران، ۲۰۱۹؛ ری و همکاران، ۲۰۲۱؛ حسینی و همکاران، ۱۴۰۲). بنابراین، هرگونه تلاش

برای توسعه حسگرهای پیشرفته بیومارکری، ناگزیر باید در تلاقی علم مواد، شیمی سطح، مهندسی پزشکی، نانوالکترونیک و زیست‌شناسی مولکولی قرار گیرد.

در میان مواد نوظهور برای طراحی حسگرهای شیمیایی، گرافن و خانواده مشتقات آن شامل اکسید گرافن، اکسید گرافن کاهش‌یافته، نقاط کوانتومی گرافنی و نانوکامپوزیت‌های گرافنی، به دلیل مجموعه‌ای کم‌نظیر از ویژگی‌های ساختاری، الکترونیکی و سطحی، توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده‌اند. گرافن به‌عنوان یک لایه دوبعدی از اتم‌های کربن با آرایش شش‌ضلعی، از هدایت الکتریکی بسیار بالا، تحرک الکترونی چشمگیر، استحکام مکانیکی قابل توجه، ضخامت اتمی، انعطاف‌پذیری و سطح ویژه گسترده برخوردار است. این ویژگی‌ها موجب می‌شوند که کوچک‌ترین تغییرات ناشی از جذب مولکول‌های هدف، برهم‌کنش‌های سطحی یا اصلاح شیمیایی سطح، به تغییرات قابل اندازه‌گیری در پاسخ حسگر منجر شوند. افزون بر آن، امکان عاملی‌سازی کنترل‌شده سطح گرافن با گروه‌های عاملی، پلیمرها، فلزات، آنزیم‌ها، آپتامرها و آنتی‌بادی‌ها، بستر مناسبی برای بهبود گزینش‌پذیری و زیست‌سازگاری فراهم می‌کند (نووسلف و همکاران، ۲۰۱۶؛ آمینه و همکاران، ۲۰۱۸؛ جیا و همکاران، ۲۰۲۳). به همین دلیل، گرافن نه‌تنها به‌عنوان یک ماده رسانا، بلکه به‌عنوان یک سکوی چندمنظوره در طراحی حسگرهای شیمیایی برای سنجش گلوکز، لاکتات، اسیداوریک، دوپامین، کراتینین، نشانگرهای التهابی، نشانگرهای سرطانی و حتی اسیدهای نوکلئیک مورد توجه قرار گرفته است (وانگ و همکاران، ۲۰۱۹؛ کیم و همکاران، ۲۰۲۲؛ نصیری و همکاران، ۱۴۰۱).

با وجود این ظرفیت‌ها، استفاده از گرافن در حسگرهای شیمیایی پزشکی با چالش‌های مفهومی و اجرایی مهمی همراه است. نخست آنکه، خود واژه «گرافن» در ادبیات پژوهشی اغلب به خانواده‌ای از مواد با ویژگی‌های سطحی و ساختاری متفاوت اطلاق می‌شود و عملکرد حسگری، زیست‌سازگاری و قابلیت تولید انبوه آن‌ها الزاماً یکسان نیست. برای مثال، اکسید گرافن به دلیل دارا بودن گروه‌های اکسیژنه و آب‌دوستی بیشتر، برای عاملی‌سازی زیستی مناسب‌تر است، اما از نظر هدایت الکتریکی نسبت به گرافن بکر و اکسید گرافن کاهش‌یافته ضعیف‌تر عمل می‌کند؛ در مقابل، اکسید گرافن کاهش‌یافته هدایت بهتری دارد، اما کنترل نقص‌های ساختاری، یکنواختی سطح و سازگاری آن با سامانه‌های زیستی نیازمند بهینه‌سازی بیشتر است (په و همکاران، ۲۰۱۷؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۲۰). دوم آنکه، یکی از مسائل اساسی در طراحی این حسگرها، ایجاد تعادل میان حساسیت تحلیلی و زیست‌سازگاری عملکردی است. در بسیاری از موارد، راهبردهایی که به افزایش انتقال الکترون، تراکم جایگاه‌های فعال یا تقویت پاسخ سیگنال منجر می‌شوند، ممکن است هم‌زمان احتمال سمیت، ناپایداری در محیط‌های فیزیولوژیک یا برهم‌کنش‌های ناخواسته سطحی را افزایش دهند. سوم آنکه، بسیاری از گزارش‌های موجود در ادبیات بر شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی متمرکزند و انتقال نتایج به ماتریس‌های واقعی زیستی، مانند سرم، پلاسما، بزاق یا عرق انسان، با چالش کاهش گزینش‌پذیری، تداخل مولکولی، آلودگی سطحی و افت پاسخ همراه است (کومار و همکاران، ۲۰۲۱؛ رحمانی و همکاران، ۱۴۰۰).

از منظر بالینی نیز، پایش بیومارکرها صرفاً زمانی ارزش کاربردی دارد که حسگر بتواند در محدوده‌های غلظتی واقعی، با دقت، صحت، پایداری و تکرارپذیری کافی عمل کند. بسیاری از بیومارکرها بیماری در غلظت‌های بسیار پایین، گاه در مقیاس نانومولار، پیکومولار یا حتی فمتومولار حضور دارند و محیط زیستی اطراف آن‌ها آکنده از ترکیبات مشابه، پروتئین‌های مزاحم، نمک‌ها و تغییرات pH است. بنابراین، طراحی حسگرهای گرافنی برای این کاربردها مستلزم توجه هم‌زمان به معماری سطح، شیمی اتصال زیست‌مولکول‌های شناسگر، مهندسی انتقال بار، کنترل نویز زمینه، حفاظت در برابر آلودگی زیستی و بهینه‌سازی پاسخ در برابر تداخل‌هاست (احمد و همکاران، ۲۰۲۰؛ لو و همکاران، ۲۰۲۴). افزون بر این، در کاربردهای پوشیدنی و کاشتنی، عواملی مانند انعطاف‌پذیری مکانیکی، پایداری در خم‌شدگی، دوام در تماس طولانی‌مدت با مایعات بدن، و ایمنی مواد به‌کاررفته اهمیت دوچندان می‌یابد. مطالعات اخیر بر این نکته تأکید دارند که نسل آینده حسگرهای پایش سلامت، به‌ویژه در

قالب سامانه های هوشمند و پزشکی از راه دور، نیازمند موادی هستند که نه تنها پاسخ تحلیلی قوی، بلکه امکان ادغام با زیرلایه های نرم، زیست سازگار و حتی تجزیه پذیر را داشته باشند (گاو و همکاران، ۲۰۲۲؛ مارتینز و همکاران، ۲۰۲۵).

اهمیت پژوهش حاضر دقیقاً از همین نقطه ناشی می شود؛ یعنی از ضرورت بازاندیشی در طراحی حسگرهای شیمیایی گرافنی، نه فقط به عنوان ابزارهای آشکارسازی آزمایشگاهی، بلکه به عنوان سامانه های زیست سازگار قابل توسعه برای پایش واقعی بیومارکرهای بیماری. در فضای پژوهشی موجود، حجم قابل توجهی از مطالعات به معرفی ساختارهای نو، نانوکامپوزیت های هیبریدی و بهبود شاخص های حساسیت اختصاص یافته است، اما بخش مهمی از این ادبیات یا بر یک جنبه خاص مانند پاسخ الکتروشیمیایی تمرکز دارد، یا زیست سازگاری را به صورت محدود و غیرنظام مند بررسی می کند، یا از تحلیل مقایسه ای میان ساختار ماده، نوع عاملی سازی، محیط اندازه گیری و قابلیت ترجمه به کاربردهای بالینی غفلت می ورزد. به بیان دیگر، شکاف دانشی مهمی میان «ساخت ماده و ثبت سیگنال» از یک سو و «طراحی مهندسی شده یک حسگر شیمیایی زیست سازگار و قابل اعتماد برای کاربرد پزشکی» از سوی دیگر وجود دارد. این شکاف وقتی برجسته تر می شود که در نظر بگیریم بسیاری از حسگرهای گزارش شده در مقالات، اگرچه از نظر حد تشخیص و حساسیت نتایج جذابی نشان می دهند، اما در زمینه هایی چون تکرارپذیری ساخت، پایداری بلندمدت، سمیت، عملکرد در نمونه واقعی، قابلیت استریلیزاسیون و سازگاری با تولید نیمه صنعتی داده های کافی ارائه نمی کنند (شی و همکاران، ۲۰۱۹؛ سان و همکاران، ۲۰۲۳؛ مرادی و همکاران، ۱۴۰۲).

از سوی دیگر، در ادبیات فارسی نیز اگرچه پژوهش هایی در زمینه نانوحسگرها، مواد کربنی و سامانه های تشخیص زیستی انجام شده است، اما مطالعاتی که به طور یکپارچه و تحلیلی به پیوند میان گرافن، زیست سازگاری، طراحی حسگر شیمیایی و پایش بیومارکرهای بیماری بپردازند، همچنان محدود هستند. این وضعیت نشان می دهد که نیاز به تدوین یک چارچوب جامع برای فهم مبانی طراحی، ارزیابی مزایا و محدودیت ها، و بررسی ابعاد عملکردی و ترجمه پذیری این حسگرها وجود دارد. چنین چارچوبی می تواند هم برای پژوهشگران حوزه مهندسی مواد و نانو، هم برای متخصصان مهندسی پزشکی و شیمی تجزیه، و هم برای توسعه دهندگان فناوری های سلامت دیجیتال مفید باشد؛ زیرا تصمیم گیری درباره انتخاب نوع گرافن، روش اصلاح سطح، سازوکار آشکارسازی، زیرلایه مناسب و معیارهای اعتبارسنجی زیستی بدون نگاه تلفیقی و مبتنی بر شواهد دشوار است (صالحی و همکاران، ۱۴۰۰؛ یوسفی و همکاران، ۱۴۰۳).

بر همین اساس، مسئله اصلی این پژوهش آن است که چگونه می توان با بهره گیری از قابلیت های منحصربه فرد گرافن و مشتقات آن، حسگرهای شیمیایی زیست سازگاری طراحی و توسعه داد که در عین برخورداری از حساسیت و گزینش پذیری بالا، از پایداری، ایمنی، قابلیت اعتماد و ظرفیت کاربرد در پایش بیومارکرهای بیماری نیز برخوردار باشند. پاسخ به این مسئله مستلزم توجه به چند پرسش بنیادین است: کدام ویژگی های ساختاری و الکترونیکی گرافن بیشترین نقش را در عملکرد حسگری ایفا می کنند؟ چه نوع اصلاحات سطحی می توانند هم زمان گزینش پذیری و زیست سازگاری را افزایش دهند؟ مهم ترین عوامل محدود کننده در انتقال این حسگرها از محیط آزمایشگاهی به کاربرد واقعی کدام اند؟ و در نهایت، چه الگوی طراحی ای می تواند تعادل مناسبی میان عملکرد تحلیلی، پایداری زیستی و امکان توسعه فناوریانه ایجاد کند؟ این پرسش ها صرفاً جنبه نظری ندارند، بلکه به طور مستقیم با آینده سامانه های تشخیصی سریع، ابزارهای پوشیدنی پزشکی، پلتفرم های پایش مستمر سلامت و حتی مدل های نوین مراقبت شخصی سازی شده مرتبط اند (لی و همکاران، ۲۰۲۴؛ عباسی و همکاران، ۱۴۰۲).

هدف این مقاله، ارائه یک تحلیل علمی-پژوهشی منسجم از طراحی و توسعه حسگرهای شیمیایی زیست سازگار مبتنی بر گرافن برای پایش بیومارکرهای بیماری است؛ تحلیلی که در آن هم ابعاد نظری و موادشناختی موضوع، هم وضعیت مطالعات پیشین، هم الگوهای روش شناختی مناسب برای ارزیابی عملکرد، و هم چشم اندازهای کاربردی و محدودیت های موجود مورد بررسی قرار گیرد. به طور مشخص، این مقاله می کوشد نخست، مبانی نظری مرتبط با حسگرهای شیمیایی، زیست سازگاری و

ویژگی های عملکردی گرافن را تبیین کند؛ دوم، روندهای اصلی پژوهش های انجام شده در سال های اخیر را نقد و مقایسه نماید؛ سوم، یک چارچوب روش شناختی قابل قبول برای مطالعه تجربی این حسگرها ارائه دهد؛ و چهارم، با تحلیل داده ها و نتایج گزارش شده یا نمونه سازی شده، نشان دهد که کدام پیکربندی های طراحی بیشترین ظرفیت را برای پایش مؤثر بیومارکرهای بیماری دارند. در این مسیر، رویکرد مقاله نه تبلیغ یک فناوری خاص، بلکه ارزیابی انتقادی ظرفیت ها و محدودیت های آن بر پایه شواهد علمی است؛ زیرا تنها از رهگذر چنین رویکردی می توان فاصله میان نوآوری آزمایشگاهی و کاربرد بالینی را کاهش داد و به توسعه حسگرهایی دست یافت که از نظر علمی معتبر، از نظر فناوریانه عملی و از نظر پزشکی ارزشمند باشند (کاتارینو و همکاران، ۲۰۱۸؛ ژو و همکاران، ۲۰۲۵).

در مجموع، می توان گفت که مسئله پایش بیومارکرهای بیماری در جهان امروز، صرفاً یک مسئله تحلیلی یا آزمایشگاهی نیست، بلکه بخشی از تحول بزرگ تر در جهت مراقبت های سلامت هوشمند، پیشگیرانه، شخصی سازی شده و داده محور است. در چنین بستری، حسگرهای شیمیایی زیست سازگار مبتنی بر گرافن این قابلیت را دارند که به حلقه واسطی میان نانومواد پیشرفته، تشخیص مولکولی و نظام های نوین سلامت تبدیل شوند. با این حال، تحقق این ظرفیت نیازمند فهم عمیق تر از روابط میان ساختار ماده، رفتار سطحی، پاسخ زیستی، سازوکار آشکارسازی و شرایط واقعی کاربرد است. پژوهش حاضر در پی آن است که با تمرکز بر این روابط و با نگاهی تحلیلی، انتقادی و مبتنی بر داده، سهمی در روشن سازی این مسیر ایفا کند.

مبانی نظری

حسگرهای شیمیایی در ساده ترین تعریف، سامانه هایی هستند که یک رویداد شیمیایی را به سیگنالی قابل اندازه گیری تبدیل می کنند، اما در سطح نظری و کاربردی، این تعریف بسیار فراتر از یک تبدیل ساده است و به شبکه ای از مفاهیم مرتبط با شیمی سطح، انتقال جرم، انتقال بار، ترمودینامیک جذب، سینتیک واکنش، مهندسی مواد و پردازش سیگنال گسترش می یابد. در یک حسگر شیمیایی، عملکرد نهایی نه تنها تابع وجود یک جزء شناسگر و یک مبدل سیگنال است، بلکه به نحوه برهم کنش ماده فعال با آنالیت، ویژگی های فیزیکوشیمیایی سطح، میزان دسترس پذیری جایگاه های فعال، مقاومت در برابر تداخل، پایداری در ماتریس واقعی و ظرفیت بازیابی سیگنال نیز وابسته است. به همین دلیل، تحلیل نظری حسگرهای شیمیایی، به ویژه زمانی که برای پایش بیومارکرهای بیماری طراحی می شوند، مستلزم درک هم زمان از رفتار مولکولی گونه هدف، محدودیت های محیط زیستی، منطق انتخاب مواد و سازوکار تبدیل سیگنال است (ترنر، ۲۰۱۵؛ روناگ و همکاران، ۲۰۱۸). در کاربردهای پزشکی، این حسگرها باید بتوانند مولکول هایی را شناسایی کنند که اغلب در غلظت های بسیار پایین و در حضور هزاران مولکول مزاحم دیگر قرار دارند؛ از این رو، معیارهایی مانند حساسیت، گزینش پذیری، حد تشخیص، زمان پاسخ، پایداری، صحت و تکرارپذیری به مؤلفه های بنیادین ارزیابی عملکرد تبدیل می شوند. حساسیت به توانایی حسگر در ایجاد تغییر سیگنال در برابر تغییر غلظت آنالیت اشاره دارد، در حالی که گزینش پذیری نشان می دهد این پاسخ تا چه حد در حضور ترکیبات مشابه یا مزاحم اختصاصی باقی می ماند. حد تشخیص نیز کمترین غلظتی است که به طور آماری از نویز زمینه قابل تفکیک باشد و در حوزه پایش بیومارکرها، این شاخص اهمیت ویژه ای دارد، زیرا بسیاری از نشانگرهای بیماری در مراحل اولیه بروز در غلظت های بسیار ناچیز ظاهر می شوند (احمد و همکاران، ۲۰۲۰؛ لو و همکاران، ۲۰۲۴).

از حیث طبقه بندی، حسگرهای شیمیایی بر اساس نوع مبدل سیگنال می توانند الکتروشیمیایی، مقاومتی، خازنی، نوری، گرمی، حرارتی یا مبتنی بر اثر میدانی باشند. در سال های اخیر، حسگرهای الکتروشیمیایی و الکترونیکی مبتنی بر نانومواد، به دلیل قابلیت کوچک سازی، هزینه نسبتاً پایین، مصرف نمونه اندک و امکان یکپارچه سازی با سامانه های قابل حمل و پوشیدنی، توجه

بیشتری را به خود اختصاص داده‌اند. مبنای نظری این سامانه‌ها آن است که برهم‌کنش گونه هدف با سطح ماده فعال می‌تواند از طریق انتقال الکترون، تغییر در چگالی حامل‌ها، تغییر مقاومت سطحی، تغییر امپدانس یا تعدیل پتانسیل الکتروشیمیایی به سیگنال تبدیل شود. هنگامی که این منطق با مواد دوبعدی مانند گرافن ترکیب می‌شود، به دلیل نسبت بالای سطح به حجم و حساسیت شدید خواص الکترونیکی به رخدادهای سطحی، توان آشکارسازی به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد (نوسلف و همکاران، ۲۰۱۶؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۹). با این حال، بهره‌گیری از این مزیت ذاتی به شرطی امکان‌پذیر است که سطح حسگر از نظر شیمیایی به‌درستی مهندسی شود؛ زیرا افزایش تعداد جایگاه‌های فعال بدون کنترل برهم‌کنش‌های غیراختصاصی، می‌تواند هم‌زمان به افزایش نویز، آلودگی سطحی و افت قابلیت اعتماد منجر شود.

در حوزه پایش بیومارکرهای بیماری، مفهوم «بیومارکر» خود نیازمند تبیین نظری دقیق است. بیومارکر یک شاخص زیستی اندازه‌پذیر است که می‌تواند وجود بیماری، مرحله پیشرفت آن، احتمال بروز، شدت آسیب، پاسخ به درمان یا تغییرات فیزیولوژیک را بازتاب دهد. بیومارکرها بسته به ماهیت‌شان ممکن است پروتئینی، ژنتیکی، متابولیکی، التهابی یا هورمونی باشند و هر دسته، ویژگی‌های تحلیلی متفاوتی را به حسگر تحمیل می‌کند. برای نمونه، آشکارسازی متابولیت‌های کوچک مانند گلوکز، لاکتات یا اسیداوریک بیش از هر چیز به پایداری آنزیم یا بستر کاتالیتیکی و مقاومت در برابر تداخل نیاز دارد، در حالی که شناسایی پروتئین‌های اختصاصی بیماری یا اسیدهای نوکلئیک مستلزم طراحی لایه‌های شناسگر مولکولی با گزینش‌پذیری بالا، شیمی اتصال کنترل‌شده و حد تشخیص بسیار پایین است (پینگ و همکاران، ۲۰۱۸؛ کیم و همکاران، ۲۰۲۲). در نتیجه، مبنای نظری طراحی حسگر برای بیومارکرها نمی‌تواند مستقل از نوع مولکول هدف باشد. هرچه پیچیدگی ساختار بیومارکر و محیط حضور آن بیشتر باشد، نیاز به کنترل دقیق‌تر شیمی سطح، معماری نانو، فاصله انتقال بار و پایداری زیستی نیز بیشتر می‌شود. از همین رو، توسعه حسگرهای شیمیایی برای کاربردهای پزشکی، در عمل به یک مسئله مهندسی چندمتغیره تبدیل می‌شود که باید در آن میان عملکرد تحلیلی، سازگاری زیستی و امکان ساخت تعادل برقرار شود.

در این میان، گرافن به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مواد دوبعدی، پایه نظری بسیار نیرومندی برای طراحی حسگرهای نسل جدید فراهم کرده است. ساختار شبکه‌ای $2\pi \times 2\pi$ در گرافن، موجب ایجاد سامانه‌ای از الکترون‌های π مزدوج می‌شود که تحرک الکترونی بالا و رسانایی چشمگیر را امکان‌پذیر می‌کند. این ویژگی سبب می‌شود که هرگونه برهم‌کنش مولکولی در سطح، از جمله جذب فیزیکی، جذب شیمیایی، اتصال کووالانسی یا برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی، بتواند به تغییرات محسوسی در خواص الکترونیکی ماده بینجامد. از نظر تئوریک، این حساسیت سطحی ناشی از آن است که تقریباً تمام اتم‌های گرافن در سطح قرار دارند و برخلاف مواد حجیم، رخدادهای سطحی در آن نقش تعیین‌کننده‌ای در رفتار کل ماده دارند. علاوه بر این، سطح ویژه بالا، انعطاف‌پذیری مکانیکی، ضخامت اتمی و امکان انتقال مؤثر بار، گرافن را برای ساخت حسگرهای فوق‌حساس، انعطاف‌پذیر و حتی شفاف مناسب می‌سازد (آمینو و همکاران، ۲۰۱۸؛ گاو و همکاران، ۲۰۲۲). با وجود این، گرافن ایده‌آل و بدون نقص که در مدل‌های نظری بررسی می‌شود، با گرافنی که در محیط آزمایشگاهی یا صنعتی تولید می‌شود تفاوت دارد. نقص‌های شبکه، ناخالصی‌ها، بقایای فرایند تولید، نواحی عاملی‌شده و ناهمگنی سطح می‌توانند هم فرصت و هم تهدید باشند: از یک‌سو، وجود نقص‌ها می‌تواند جایگاه‌های فعال جدید برای جذب یا اتصال ایجاد کند؛ از سوی دیگر، همین نقص‌ها ممکن است منجر به ناپایداری، افزایش نویز، کاهش تکرارپذیری یا تغییرات پیش‌بینی‌ناپذیر در پاسخ حسگر شوند (په و همکاران، ۲۰۱۷؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۲۰).

برای فهم بهتر ظرفیت گرافن در طراحی حسگر، باید میان انواع مختلف مواد گرافنی تمایز قائل شد. گرافن بکر، به دلیل رسانایی بسیار بالا و ساختار نسبتاً منظم، برای کاربردهایی که انتقال سریع بار اهمیت دارد مناسب است، اما از نظر پراکنش‌پذیری در محیط‌های آبی و قابلیت عاملی‌سازی مستقیم محدودیت دارد. اکسید گرافن، به واسطه حضور گروه‌های عاملی اکسیژنه مانند هیدروکسیل، اپوکسی و کربوکسیل، رفتار آب‌دوست‌تری دارد و به‌راحتی با مولکول‌های زیستی، پلیمرها و

نانوذرات دیگر ترکیب می‌شود؛ این ویژگی آن را برای ساخت سطوح زیست‌فعال و زیست‌سازگار مطلوب می‌کند، هرچند رسانایی الکتریکی آن در مقایسه با گرافن بکر کمتر است. اکسید گرافن کاهش‌یافته در نقطه میانی این طیف قرار می‌گیرد و می‌کوشد بخشی از رسانایی ازدست‌رفته را بازیابی کند، در حالی که هنوز تعداد مناسبی از جایگاه‌های فعال برای اصلاح سطح را حفظ کرده است. نقاط کوانتومی گرافنی نیز به دلیل رفتار نوری خاص، در حسگرهای فلورسانسی و فوتولومینسانسی جایگاه مهمی یافته‌اند (جیا و همکاران، ۲۰۲۳؛ سان و همکاران، ۲۰۲۳). بنابراین، انتخاب نوع ماده گرافنی خود یک تصمیم نظری-مهندسی کلیدی است و باید بر اساس نوع بیومارکر، سازوکار حسگر، محیط کاربرد و الزامات زیست‌سازگاری انجام شود.

یکی از بنیادی‌ترین مفاهیم در توسعه حسگرهای گرافنی، «عاملی‌سازی سطح» است. عاملی‌سازی به مجموعه راهبردهایی اطلاق می‌شود که از طریق آن‌ها، سطح گرافن با گروه‌های شیمیایی، نانوذرات، پلیمرها، مولکول‌های شناسگر یا زیست‌مولکول‌ها اصلاح می‌شود تا رفتار حسگری، گزینش‌پذیری، پراکنش‌پذیری و زیست‌سازگاری آن بهبود یابد. از منظر نظری، عاملی‌سازی می‌تواند به دو صورت کووالانسی و غیرکووالانسی انجام شود. در عاملی‌سازی کووالانسی، پیوندهای شیمیایی جدیدی روی سطح شکل می‌گیرند که پایداری بالایی فراهم می‌کنند، اما ممکن است ساختار مزدوج گرافن را مختل و رسانایی آن را کاهش دهند. در مقابل، عاملی‌سازی غیرکووالانسی، نیروهای واندروالسی یا برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک، معمولاً ساختار الکترونیکی گرافن را کمتر دگرگون می‌کند، اما پایداری اتصال ممکن است در محیط‌های پیچیده زیستی کاهش یابد (کومار و همکاران، ۲۰۲۱؛ ژو و همکاران، ۲۰۲۵). انتخاب میان این دو رویکرد به این بستگی دارد که در طراحی حسگر، پایداری اتصال مهم‌تر است یا حفظ بیشینه رسانایی و پاسخ سریع. در عمل، بسیاری از سامانه‌های پیشرفته از راهبردهای هیبریدی بهره می‌گیرند تا میان این دو هدف تعادل ایجاد شود.

از منظر شناسایی مولکولی، حسگرهای مبتنی بر گرافن غالباً با عناصری مانند آنزیم‌ها، آنتی‌بادی‌ها، آپتامرها، پلیمرهای قالب‌مولکولی یا نانوذرات فلزی ترکیب می‌شوند. هر یک از این عناصر، منطق نظری متفاوتی به سامانه می‌افزایند. آنزیم‌ها به دلیل اختصاصیت زیستی بالا، برای آشکارسازی متابولیت‌ها و سوبستراهای مشخص مناسب‌اند، اما پایداری‌شان در برابر دما، pH و زمان محدود است. آنتی‌بادی‌ها برای شناسایی پروتئین‌ها و آنتی‌ژن‌های اختصاصی استفاده می‌شوند و حساسیت خوبی ارائه می‌کنند، ولی هزینه و شرایط نگهداری آن‌ها چالش‌برانگیز است. آپتامرها به‌عنوان الیگونوکلوئیدهای مصنوعی با توانایی اتصال اختصاصی، در سال‌های اخیر به‌عنوان جایگزین‌های پایداری برای آنتی‌بادی‌ها مطرح شده‌اند و با بسترهای گرافنی سازگاری خوبی نشان داده‌اند (ری و همکاران، ۲۰۲۱؛ لو و همکاران، ۲۰۲۴). پلیمرهای قالب‌مولکولی نیز با تقلید از جایگاه‌های اتصال اختصاصی، امکان ساخت حسگرهای مقاوم‌تر و ارزان‌تر را فراهم می‌کنند. در این میان، نانوذرات فلزی مانند طلا، نقره، پلاتین یا اکسیدهای فلزی، اغلب برای افزایش انتقال الکترون، ایجاد اثرات کاتالیزوری، تقویت سطح فعال و تسهیل تثبیت زیست‌مولکول‌ها به سامانه افزوده می‌شوند. از این منظر، گرافن به‌تنهایی کمتر به‌عنوان یک حسگر کامل و بیشتر به‌عنوان سکوی مرکزی یک معماری چندجزئی درک می‌شود.

مفهوم زیست‌سازگاری در این حوزه، یکی از پیچیده‌ترین و در عین حال حیاتی‌ترین مفاهیم مبنایی است. زیست‌سازگاری صرفاً به معنای نبود سمیت حاد نیست، بلکه شامل توانایی یک ماده یا سامانه در انجام عملکرد مورد انتظار در تماس با محیط زیستی بدون ایجاد پاسخ نامطلوب موضعی یا سیستمیک و بدون از دست دادن عملکرد خود است. در حسگرهای شیمیایی پزشکی، زیست‌سازگاری را می‌توان در چند سطح بررسی کرد: زیست‌سازگاری ماده پایه، زیست‌سازگاری لایه‌های عاملی‌شده، پایداری در تماس با پروتئین‌ها و سلول‌ها، مقاومت در برابر تشکیل لایه‌های زیستی ناخواسته، عدم ایجاد التهاب یا استرس اکسیداتیو، و نیز سازگاری عملکردی در شرایط فیزیولوژیک (ما و همکاران، ۲۰۱۹؛ مارتینز و همکاران، ۲۰۲۵). در مورد گرافن و مشتقات آن، نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که زیست‌سازگاری به‌شدت تابع عواملی مانند اندازه ورقه‌ها، میزان اکسایش، نوع عامل‌دارسازی، غلظت، زمان تماس، مسیر ورود به سیستم زیستی و ماهیت سلول یا بافت هدف است. به همین علت، نمی‌توان

درباره زیست‌سازگاری «گرافن» به صورت کلی و مطلق حکم داد. برخی اشکال و غلظت‌ها ممکن است در شرایط معین ایمن و حتی مناسب برای کاربردهای زیستی باشند، در حالی که در شرایط دیگر همان مواد موجب آسیب غشایی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، اختلال عملکرد میتوکندری یا تحریک پاسخ التهابی شوند (شی و همکاران، ۲۰۱۹؛ حسینی و همکاران، ۱۴۰۲). بنابراین، در طراحی حسگرهای زیست‌سازگار، زیست‌سازگاری باید به عنوان متغیری طراحی‌پذیر و قابل مهندسی در نظر گرفته شود، نه یک فرض اولیه.

در سطح مهندسی سامانه، زیست‌سازگاری با مفاهیم دیگری مانند ضدآلودگی زیستی، پایداری شیمیایی، تجزیه‌پذیری، انعطاف‌پذیری مکانیکی و سازگاری با زیرلایه‌های نرم پیوند می‌خورد. برای مثال، در حسگرهای پوشیدنی که از عرق یا مایع میان‌بافتی نمونه‌برداری می‌کنند، سطح ماده باید در برابر جذب غیراختصاصی پروتئین‌ها، نمک‌ها و چربی‌ها مقاوم باشد و در عین حال در خم‌شدگی‌های مکرر دچار افت عملکرد نشود. در حسگرهای کاشتنی، مسئله پیچیده‌تر است، زیرا تماس طولانی مدت با بافت زنده، احتمال تشکیل کپسول فیبروتیک، التهاب مزمن یا افت سیگنال ناشی از پاسخ ایمنی را افزایش می‌دهد. از این رو، توسعه حسگرهای گرافنی برای چنین کاربردهایی اغلب با استفاده از پوشش‌های پلیمری زیست‌سازگار، هیدروژل‌ها، لایه‌های ضدجذب پروتئین و معماری‌های نرم-هیبرید همراه می‌شود (گاو و همکاران، ۲۰۲۲؛ لی و همکاران، ۲۰۲۴). این موضوع نشان می‌دهد که حسگرهای زیست‌سازگار مبتنی بر گرافن را نمی‌توان صرفاً از دید ماده فعال تحلیل کرد، بلکه باید کل سامانه، شامل زیرلایه، لایه واسط، روش تثبیت، نوع تماس با نمونه و شیوه خوانش سیگنال را در نظر گرفت.

از منظر نظریه عملکرد حسگر، یکی از مسائل کلیدی نسبت سیگنال به نویز است. هرچه سطح حسگر حساس‌تر باشد، احتمال پاسخ به نویزهای محیطی، تغییرات دما، تغییرات pH، یون‌های مزاحم یا نوسانات زمینه نیز افزایش می‌یابد. در مواد گرافنی، به دلیل حساسیت بالای الکترونیکی، این مسئله حتی پررنگ‌تر است. بنابراین، راهبردهای طراحی باید در کنار افزایش حساسیت، نویز را نیز مهار کنند. این کار می‌تواند از طریق مهندسی نقص‌ها، کنترل زبری سطح، انتخاب مناسب لایه‌های میانجی، طراحی مدارات خوانش، و استفاده از پوشش‌های گزینش‌پذیر انجام شود. همچنین در حسگرهای الکتروشیمیایی، پارامترهایی مانند مقاومت انتقال بار، ظرفیت لایه دوگانه، سینتیک اکسایش-کاهش و نفوذپذیری سطحی نقش مهمی در شکل‌گیری پاسخ نهایی دارند (وانگ و همکاران، ۲۰۱۹؛ کاتارینو و همکاران، ۲۰۱۸). از این منظر، حسگر موفق فقط حسگری نیست که سیگنال بزرگی تولید کند، بلکه حسگری است که سیگنال پایدار، قابل تکرار و قابل تفسیر تولید کند.

وجه دیگری از مبانی نظری این موضوع، مسئله ترجمه‌پذیری بالینی و فناوری است. بسیاری از ساختارهای حسگری در سطح مقاله علمی، عملکرد بسیار خوبی نشان می‌دهند، اما در گذار به نمونه اولیه یا محصول با شکست مواجه می‌شوند. دلیل این امر آن است که معیارهای دانشگاهی غالباً بر دستیابی به حد تشخیص پایین‌تر یا حساسیت بالاتر متمرکزند، در حالی که در کاربرد واقعی معیارهایی مانند پایداری تولید، تکرارپذیری بین‌سری، هزینه ساخت، سهولت کالیبراسیون، عمر قفسه‌ای، قابلیت استریل‌سازی، سازگاری با الکترونیک همراه و استانداردهای ایمنی نیز تعیین‌کننده‌اند (جاستینو و همکاران، ۲۰۱۶؛ سان و همکاران، ۲۰۲۳). بنابراین، درک نظری حسگرهای مبتنی بر گرافن باید از ابتدا با نگاه سامانه‌ای همراه باشد. به بیان دیگر، ماده‌ای که از نظر آزمایشگاهی عملکرد عالی دارد ولی تولید آن پیچیده، ناپایدار یا پرهزینه است، لزوماً گزینه بهینه برای توسعه فناوری نیست. اینجاست که مفاهیمی چون مقیاس‌پذیری، استانداردپذیری و قابلیت ادغام در طراحی نظری نیز وارد می‌شوند.

در نهایت، مبانی نظری طراحی و توسعه حسگرهای شیمیایی زیست‌سازگار مبتنی بر گرافن بر این استوار است که عملکرد مطلوب زمانی حاصل می‌شود که سه لایه اصلی به‌طور هم‌افزا عمل کنند: لایه نخست، ویژگی‌های ذاتی ماده شامل ساختار، رسانایی، نقص‌ها و قابلیت اصلاح؛ لایه دوم، معماری شناسایی شامل نوع زیست‌مولکول یا عامل گزینش‌گر، نحوه تثبیت و منطق برهم‌کنش با آنالیت؛ و لایه سوم، شرایط کاربرد شامل محیط زیستی، نوع نمونه، مدت تماس، نیاز بالینی و

محدودیت‌های مهندسی سامانه. اگر هر یک از این لایه‌ها جداگانه و بدون توجه به لایه‌های دیگر طراحی شوند، احتمال بروز عدم تعادل میان حساسیت، گزینش‌پذیری، زیست‌سازگاری و پایداری افزایش می‌یابد. به همین دلیل، رویکرد نظری غالب در مطالعات جدید به سمت طراحی چندمقیاسی و میان‌رشته‌ای حرکت کرده است؛ رویکردی که در آن شیمی سطح، نانومهندسی، زیست‌پزشکی و تحلیل داده به‌صورت یکپارچه دیده می‌شوند (ژو و همکاران، ۲۰۲۵؛ یوسفی و همکاران، ۱۴۰۳). بر این اساس، حسگرهای شیمیایی زیست‌سازگار مبتنی بر گرافن را باید نه به‌عنوان یک ماده یا یک ابزار منفرد، بلکه به‌عنوان یک سامانه مهندسی‌شده هوشمند در نظر گرفت که موفقیت آن در پایش بیومارکرهای بیماری، به کیفیت هم‌افزایی میان اجزای مادی، زیستی و تحلیلی وابسته است.

پیشینه پژوهش

پژوهش درباره حسگرهای شیمیایی و زیستی مبتنی بر گرافن، از زمان گسترش مطالعات مواد دوبعدی در دهه گذشته، به یکی از محورهای فعال در نانوفناوری پزشکی، شیمی تجزیه، مهندسی زیست‌پزشکی و فناوری‌های پایش سلامت تبدیل شده است. مرور مطالعات پیشین نشان می‌دهد که مسیر تکامل این حوزه از تمرکز اولیه بر خواص الکترونیکی و سطحی گرافن به سمت طراحی سامانه‌های هیبریدی، زیست‌سازگار، قابل‌انعطاف و مناسب برای تشخیص بیومارکرها در محیط‌های واقعی زیستی حرکت کرده است. در نخستین موج از مطالعات، گرافن عمدتاً به‌عنوان ماده‌ای با رسانایی بالا و سطح ویژه گسترده برای افزایش پاسخ الکتروشیمیایی حسگرها به کار گرفته شد. پژوهشگران نشان دادند که قرارگیری مولکول‌های هدف روی سطح گرافن، به دلیل حساسیت بالای ساختار الکترونی این ماده به پدیده‌های سطحی، می‌تواند تغییرات قابل اندازه‌گیری در جریان، ولتاژ، مقاومت یا امپدانس ایجاد کند. این یافته‌ها زمینه‌ای فراهم کرد تا گرافن به‌عنوان یکی از بسترهای اصلی در توسعه زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی مطرح شود (جاستینو و همکاران، ۲۰۱۶؛ نووسلف و همکاران، ۲۰۱۶). با این حال، در همان مراحل اولیه نیز مشخص شد که استفاده از گرافن به‌صورت خام و اصلاح‌نشده برای کاربردهای زیستی کافی نیست، زیرا نبود گروه‌های عاملی مناسب، پراکندگی ضعیف در محیط‌های آبی، تجمع ورقه‌ها، پاسخ‌های غیراختصاصی و ابهام در زیست‌سازگاری، مانع استفاده مستقیم از آن در محیط‌های پیچیده زیستی می‌شود (په و همکاران، ۲۰۱۷).

در ادامه، بخش مهمی از پژوهش‌ها بر اصلاح سطح گرافن و مشتقات آن متمرکز شد. اکسید گرافن به دلیل دارا بودن گروه‌های اکسیژنه و امکان اتصال به مولکول‌های زیستی، به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای توسعه سامانه‌های تشخیصی مورد توجه قرار گرفت. مطالعات نشان دادند که اکسید گرافن می‌تواند بستری مؤثر برای تثبیت آنزیم‌ها، آپتامرها، آنتی‌بادی‌ها و نانوذرات فلزی فراهم کند، اما رسانایی پایین‌تر آن در مقایسه با گرافن بکر، محدودیت‌هایی در حسگرهای الکتروشیمیایی ایجاد می‌کند. به همین دلیل، اکسید گرافن کاهش‌یافته به‌عنوان راه‌حلی میانی مطرح شد که می‌تواند بخشی از رسانایی را بازیابی کند و در عین حال، برخی جایگاه‌های عاملی لازم برای اتصال زیستی را حفظ نماید (ژانگ و همکاران، ۲۰۲۰؛ جیا و همکاران، ۲۰۲۳). وانگ و همکاران در مروری بر حسگرهای الکتروشیمیایی گرافنی نشان دادند که ساختارهای مبتنی بر اکسید گرافن کاهش‌یافته، به‌ویژه هنگامی که با نانوذرات طلا، پلاتین یا پلیمرهای رسانا ترکیب می‌شوند، عملکرد مطلوبی در شناسایی متابولیت‌ها و بیومارکرهای بیماری دارند (وانگ و همکاران، ۲۰۱۹). با این حال، نویسندگان تأکید کردند که تفاوت در روش‌های سنتز، کاهش و عامل‌دارسازی موجب ناهمگنی زیاد در نتایج شده و مقایسه مستقیم میان مطالعات را دشوار می‌کند.

مطالعات انجام‌شده در حوزه حسگرهای گرافنی برای شناسایی متابولیت‌ها، یکی از پرکارترین شاخه‌های این زمینه بوده است. گلوکز، لاکتات، اسیداوریک، کراتینین و دوپامین از جمله مولکول‌هایی هستند که به‌طور گسترده در پژوهش‌های حسگری

مبتنی بر گرافن بررسی شده‌اند. در بسیاری از این مطالعات، گرافن نقش افزایش‌دهنده انتقال الکترون و فراهم‌کننده سطح فعال را بر عهده داشته و آنزیم‌ها یا نانوذرات کاتالیتیکی، اختصاصیت یا فعالیت واکنشی را تأمین کرده‌اند. برای نمونه، حسگرهای گلوکز مبتنی بر گرافن و گلوکز اکسیداز، به دلیل توانایی آنزیم در واکنش اختصاصی با گلوکز و توان گرافن در تسهیل انتقال الکترون، حساسیت مناسبی نشان داده‌اند؛ هرچند پایداری آنزیم، وابستگی به شرایط محیطی و کاهش فعالیت در استفاده طولانی‌مدت از چالش‌های اصلی این گروه از حسگرها باقی مانده است (پینگ و همکاران، ۲۰۱۸؛ کیم و همکاران، ۲۰۲۲). در مقابل، حسگرهای غیرآنزیمی با استفاده از نانوذرات فلزی یا اکسیدهای فلزی روی بستر گرافنی توسعه یافته‌اند تا محدودیت پایداری آنزیم‌ها کاهش یابد. این رویکرد اگرچه از نظر دوام عملیاتی مزیت‌هایی دارد، اما اغلب با مسئله کاهش گزینش‌پذیری در نمونه‌های واقعی مواجه است (احمد و همکاران، ۲۰۲۰).

شاخه مهم دیگری از پژوهش‌ها به شناسایی بیومارکرهای پروتئینی و مولکولی بیماری اختصاص دارد. بیومارکرهایی مانند آنتی‌ژن اختصاصی پروستات، تروپونین قلبی، پروتئین واکنشی C، سیتوکین‌های التهابی، نشانگرهای سرطانی و توالی‌های خاص DNA یا RNA، به دلیل اهمیت بالینی بالا، هدف بسیاری از زیست‌حسگرهای گرافنی بوده‌اند. در این حوزه، استفاده از آنتی‌بادی‌ها و آپتامرها برای ایجاد شناسایی اختصاصی بسیار رایج است. آپتامرها به دلیل پایداری بیشتر، امکان سنتز شیمیایی، هزینه پایین‌تر و قابلیت طراحی برای اهداف متنوع، در سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در حسگرهای گرافنی پیدا کرده‌اند (ری و همکاران، ۲۰۲۱؛ لو و همکاران، ۲۰۲۴). مطالعات گزارش کرده‌اند که ترکیب آپتامرها با اکسید گرافن کاهش‌یافته یا گرافن عامل‌دار شده می‌تواند حد تشخیص بسیار پایین و پاسخ سریع برای برخی بیومارکرهای بیماری فراهم کند. با این حال، در بسیاری از این گزارش‌ها، آزمون‌ها در محلول‌های بافر یا نمونه‌های ساده‌شده انجام شده و تنها تعداد محدودی از آن‌ها عملکرد حسگر را در نمونه‌های واقعی مانند سرم، پلاسما، بزاق یا عرق انسان ارزیابی کرده‌اند. این مسئله نشان می‌دهد که یکی از شکاف‌های اصلی پژوهش‌های موجود، فاصله میان عملکرد آزمایشگاهی و عملکرد در ماتریس‌های واقعی زیستی است (کومار و همکاران، ۲۰۲۱؛ سان و همکاران، ۲۰۲۳).

در حوزه حسگرهای پوشیدنی و قابل‌حمل، پژوهش‌های مبتنی بر گرافن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده‌اند. روند رو به رشد پزشکی دیجیتال، پایش لحظه‌ای سلامت و ابزارهای مراقبت از راه دور، موجب شده است که حسگرهایی با ویژگی‌هایی مانند انعطاف‌پذیری، وزن کم، پایداری مکانیکی و امکان اتصال به الکترونیک همراه مورد توجه قرار گیرند. گرافن به دلیل انعطاف‌پذیری، رسانایی و امکان چاپ یا پوشش‌دهی روی زیرلایه‌های نرم، در این زمینه بسیار امیدبخش است. گاو و همکاران نشان دادند که حسگرهای گرافنی قابل‌پوشیدن می‌توانند برای پایش ترکیبات موجود در عرق، از جمله گلوکز، لاکتات، یون‌ها و نشانگرهای استرس، به کار گرفته شوند و امکان پیوند میان مواد دوبعدی و سامانه‌های دیجیتال سلامت را فراهم کنند (گاو و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعات جدیدتر، حسگرهای گرافنی با هیدروژل‌ها، الاستومرها و پلیمرهای زیست‌سازگار ترکیب شده‌اند تا هم تماس مناسب با پوست ایجاد شود و هم پایداری سیگنال در برابر حرکت بدن و تغییرات محیطی افزایش یابد (مارتینز و همکاران، ۲۰۲۵). با وجود این، چالش‌هایی مانند کالیبراسیون مکرر، اختلاف میان غلظت بیومارکر در عرق و خون، اثر تعریق، تغییر دما، آلودگی سطحی و پایداری بلندمدت هنوز مانع کاربرد بالینی گسترده این سامانه‌هاست.

زیست‌سازگاری گرافن و مشتقات آن نیز در ادبیات پژوهشی جایگاه مهمی داشته، اما نتایج موجود در این زمینه یکدست و قطعی نیست. برخی مطالعات نشان داده‌اند که گرافن عامل‌دار شده یا اکسید گرافن در غلظت‌های کنترل‌شده می‌تواند زیست‌سازگاری قابل‌قبولی داشته باشد و حتی در برخی کاربردهای زیستی مانند دارورسانی، مهندسی بافت و زیست‌حسگری مفید باشد. در مقابل، گزارش‌هایی نیز وجود دارد که به سمیت وابسته به دوز، آسیب غشایی، استرس اکسیداتیو، التهاب و اختلال در عملکرد سلولی اشاره کرده‌اند (ما و همکاران، ۲۰۱۹؛ شی و همکاران، ۲۰۱۹). این دوگانگی نشان می‌دهد که زیست‌سازگاری گرافن نه یک ویژگی ثابت، بلکه تابعی از ویژگی‌های ماده و شرایط کاربرد است. اندازه ورقه‌ها، تعداد لایه‌ها،

میزان اکسایش، نوع گروه های عاملی، بار سطحی، غلظت، زمان تماس و نوع سلول یا بافت هدف، همگی در تعیین پاسخ زیستی نقش دارند. بر همین اساس، پژوهش های جدیدتر بر استفاده از پوشش های پلیمری، PEG، کیتوسان، هیدروژل ها و مولکول های زیست فعال برای کاهش برهم کنش های نامطلوب و افزایش سازگاری زیستی حسگرهای گرافنی تمرکز کرده اند (لی و همکاران، ۲۰۲۴؛ ژو و همکاران، ۲۰۲۵). با این حال، بسیاری از مطالعات زیست سازگاری هنوز در سطح آزمون های کوتاه مدت سلولی باقی مانده اند و داده های کافی درباره پاسخ های بلندمدت، ایمنی درون تنی و اثرات تجمعی وجود ندارد.

در ادبیات داخلی نیز پژوهش هایی در حوزه نانوحسگرها، گرافن و کاربردهای زیست پزشکی آن انجام شده است. برای نمونه، برخی مطالعات ایرانی به بررسی کاربرد نانومواد کربنی در افزایش حساسیت حسگرهای الکتروشیمیایی پرداخته اند و نشان داده اند که ترکیب گرافن با نانوذرات فلزی یا پلیمرهای رسانا می تواند پاسخ حسگر را نسبت به گونه های زیستی بهبود دهد (بهادری و همکاران، ۱۴۰۰؛ نصیری و همکاران، ۱۴۰۱). همچنین، پژوهش هایی درباره زیست سازگاری و سمیت نانوساختارهای کربنی در محیط های زیستی انجام شده و بر ضرورت کنترل غلظت، اصلاح سطح و ارزیابی دقیق سمیت سلولی تأکید شده است (حسینی و همکاران، ۱۴۰۲). با این حال، مرور منابع فارسی نشان می دهد که بسیاری از پژوهش ها یا به جنبه مواد و سنتز نانوکامپوزیت ها محدود مانده اند، یا عملکرد حسگری را بدون تحلیل کافی از زیست سازگاری و قابلیت کاربرد بالینی بررسی کرده اند. در نتیجه، ادبیات داخلی همچنان به مطالعاتی نیاز دارد که بتوانند میان طراحی ماده، عملکرد حسگر، پاسخ زیستی و نیازهای پایش بیماری پیوند تحلیلی برقرار کنند (صالحی و همکاران، ۱۴۰۰؛ یوسفی و همکاران، ۱۴۰۳).

از منظر روش شناختی، یکی از ضعف های تکرار شونده در مطالعات پیشین، نبود استانداردهای مشترک برای گزارش عملکرد حسگرهاست. برخی مطالعات تنها حساسیت و حد تشخیص را گزارش می کنند، در حالی که پارامترهایی مانند پایداری در زمان، تکرارپذیری بین الکترودها، بازیابی در نمونه واقعی، اثر مزاحمت ها، تغییرات pH، قابلیت بازتولید ساخت، و زیست سازگاری به صورت محدود یا پراکنده بررسی می شود. این مسئله باعث می شود مقایسه نتایج و ارزیابی آمادگی فناوری برای کاربرد بالینی دشوار شود. افزون بر این، بسیاری از حسگرهای گزارش شده در شرایط آزمایشگاهی ایده آل و با غلظت های مشخص آنالیت آزمون شده اند، در حالی که نمونه های واقعی زیستی، دارای پیچیدگی های فراوانی مانند ویسکوزیته، پروتئین های مزاحم، یون ها، متابولیت های مشابه و تغییرات فردی هستند (کاتارینو و همکاران، ۲۰۱۸؛ سان و همکاران، ۲۰۲۳). بنابراین، شکاف میان «اثبات مفهوم» و «کاربرد واقعی» همچنان یکی از چالش های اصلی این حوزه است. عبور از این شکاف مستلزم طراحی مطالعاتی است که از ابتدا معیارهای کاربردی، زیست سازگاری، پایداری و مقیاس پذیری را در کنار شاخص های تحلیلی مدنظر قرار دهند.

مرور انتقادی پژوهش های پیشین نشان می دهد که در سال های اخیر، گرایش از حسگرهای تک جزئی به سمت سامانه های چند جزئی و هیبریدی افزایش یافته است. در این سامانه ها، گرافن معمولاً نقش بستر رسانا و تقویت کننده سیگنال را دارد، نانوذرات فلزی یا اکسیدهای فلزی نقش کاتالیتیکی یا افزایش دهنده سطح فعال را ایفا می کنند، و مولکول های زیستی یا پلیمرهای اختصاصی مسئول شناسایی هدف هستند. چنین معماری هایی می توانند مزایای هر جزء را ترکیب کنند، اما هم زمان پیچیدگی ساخت، کنترل کیفیت و تکرارپذیری را دشوارتر می سازند. برای مثال، افزودن نانوذرات طلا می تواند انتقال الکترون و تثبیت آپتامر را بهبود دهد، اما اگر توزیع ذرات یکنواخت نباشد، پاسخ حسگر دچار ناهمگنی می شود. همچنین استفاده از پلیمرهای زیست سازگار می تواند سمیت و جذب غیراختصاصی را کاهش دهد، اما ممکن است انتقال جرم یا انتقال الکترون را محدود کند. بنابراین، بهینه سازی چنین سامانه هایی نیازمند رویکرد طراحی چندمعیاره است که در آن حساسیت، زیست سازگاری، پایداری، هزینه و امکان تولید به طور هم زمان ارزیابی شوند (کومار و همکاران، ۲۰۲۱؛ ژو و همکاران، ۲۰۲۵).

در مجموع، مطالعات پیشین تصویری دوگانه از حسگرهای شیمیایی زیست سازگار مبتنی بر گرافن ارائه می کنند. از یک سو، شواهد گسترده ای وجود دارد که نشان می دهد گرافن و مشتقات آن می توانند عملکرد حسگرها را به طور قابل توجهی ارتقا دهند و امکان شناسایی بیومارکرهای بیماری را با حساسیت بالا، زمان پاسخ کوتاه و قابلیت کوچک سازی فراهم سازند. از سوی دیگر، چالش هایی مانند زیست سازگاری وابسته به شرایط، عدم یکنواختی مواد، محدودیت در آزمون نمونه های واقعی، تکرارپذیری ساخت، پایداری بلندمدت، استانداردسازی روش ها و ترجمه بالینی همچنان پابرجاست. بنابراین، شکاف اصلی ادبیات نه در نبود ایده های فناورانه، بلکه در نبود چارچوب های یکپارچه ای است که بتوانند هم زمان عملکرد تحلیلی، ایمنی زیستی، قابلیت ساخت و نیازهای بالینی را در طراحی حسگر لحاظ کنند. پژوهش حاضر با تمرکز بر این شکاف، تلاش می کند طراحی و توسعه حسگرهای شیمیایی زیست سازگار مبتنی بر گرافن را از منظر یک سامانه کامل بررسی کند؛ سامانه ای که موفقیت آن نه فقط به ماده فعال، بلکه به معماری سطح، نوع عامل شناسگر، شرایط کاربرد، پایداری زیستی و قابلیت ترجمه به محیط واقعی پایش بیماری وابسته است.

روش شناسی پژوهش

این پژوهش از نظر هدف، در دسته تحقیقات کاربردی-توسعه ای قرار می گیرد و از نظر روش جمع آوری و تحلیل داده ها، یک مطالعه آزمایشگاهی-تجربی و کمی است که در آن، اثر متغیرهای مستقل شامل نوع فرمولاسیون نانوکامپوزیت گرافنی و درصد پوشش پلیمری زیست سازگار بر متغیرهای وابسته شامل رسانایی الکتریکی، حساسیت حسگر، پایداری مکانیکی و زیست سازگاری سلولی مورد ارزیابی قرار می گیرد. فرآیند اجرای پژوهش با آماده سازی بستر حسگر آغاز شد؛ بدین منظور، ابتدا گرافن تک لایه با کیفیت بالا به روش رسوب دهی شیمیایی بخار (CVD) روی فویل مس سنتز گردید و پس از آن، انتقال گرافن به زیرلایه های پلیمری انعطاف پذیر از جنس پلی اتیلن ترفتالات (PET) با استفاده از روش انتقال مرطوب به کمک پلی متیل متاکریلات (PMMA) به عنوان لایه محافظ انجام شد. در سناریوی موازی و به منظور مقایسه عملکرد بسترهای مختلف، نمونه های اکسید گرافن کاهش یافته (rGO) به روش شیمیایی بر پایه روش اصلاح شده هامر تهیه شدند؛ به این صورت که ابتدا پودر گرافیت طبیعی در حضور اسید سولفوریک غلیظ، پرمگنات پتاسیم و پراکسید هیدروژن اکسید شد تا اکسید گرافن (GO) با پراکنش پذیری مناسب در آب به دست آید و سپس، کاهش جزئی آن با استفاده از عامل کاهنده زیست سازگار اسید اسکوربیک در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت صورت گرفت تا تعادل بهینه ای میان رسانایی الکتریکی و وجود گروه های عاملی اکسیژنه جهت عاملی سازی بعدی برقرار شود.

مرحله دوم فرآیند آزمایشگاهی به مهندسی سطح و عاملی سازی نانوکامپوزیت ها اختصاص یافت؛ در این مرحله، سطوح گرافن و اکسید گرافن کاهش یافته با هدف بهبود زیست سازگاری و مهار پدیده های نامطلوب مانند جذب غیراختصاصی پروتئین ها (آلودگی زیستی)، با استفاده از محلول های آبی پلیمرهای زیست سازگار شامل پلی اتیلن گلیکول (PEG) با وزن مولکولی مشخص و کیتوسان اصلاح شدند. اتصال PEG به سطح گرافن از طریق عاملی سازی غیر کووالانسی و به کمک برهم کنش های آب گریز پایدار انجام شد، در حالی که در نمونه های rGO، پیوند کووالانسی میان گروه های کربوکسیل باقی مانده روی بستر و گروه های عاملی فعال سازی شده با استفاده از واکنش گرهای کربودی ایمید (EDC/NHS) برقرار گردید. جهت دستیابی به گزینش پذیری بالا و توانایی پایش بیومارکرهای هدف، آپتامرهای اختصاصی نشانگر بیماری (مانند آپتامر تروپونین قلبی و یا آپتامر اختصاصی گلوکز) که در انتهای خود مجهز به گروه عاملی آمین یا تیول بودند، با غلظت های بهینه روی بسترهای عاملی شده تثبیت شدند. به منظور ارزیابی ساختاری، ریخت شناسی و شیمیایی نمونه های ساخته شده در مراحل مختلف، ابزارهای مشخصه یابی پیشرفته به کار گرفته شدند؛ تصاویر ریخت شناسی سطح و ارزیابی توزیع یکنواخت پوشش ها توسط

میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) ثبت شد و تغییرات گروه های عاملی سطحی و موفقیت آمیز بودن فرآیند پیونددهی شیمیایی با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) در محدوده عدد موجی ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ سانتی متر معکوس مورد تایید قرار گرفت. همچنین، ساختار بلوری، فاصله صفحات شبکه ای و کیفیت کاهش اکسید گرافن با روش پراش پرتو ایکس (XRD) سنجیده شد.

ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و عملکرد کارکردی حسگرها شامل سه بخش آزمون های مکانیکی، پایداری ساختاری و پاسخ تحلیلی بود؛ ویژگی های مکانیکی نمونه ها شامل استحکام کششی، کرنش تا حد پارگی و مقاومت در برابر خم شدگی های مکرر (تا ۱۰۰۰ چرخه خمشی با زاویه ۹۰ درجه) با استفاده از دستگاه تست کشش اونیورسال اندازه گیری شد تا دوام مکانیکی حسگر در کاربردهای پوشیدنی شبیه سازی شود. پایداری ساختاری از طریق آزمون درصد جذب آب در محلول بافر فسفات (PBS) با اسیدهای مختلف و همچنین آزمون نرخ تخریب جرم در بازه های زمانی معین (۱ تا ۲۸ روز) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس سنجیده شد. پایش تغییرات pH محیط پس از غوطه وری نمونه ها برای بررسی هرگونه رهائش ترکیبات اسیدی یا قلیایی مخرب با استفاده از pH متر دیجیتال کالیبره شده به طور منظم ثبت گردید. بخش کلیدی ارزیابی های الکتروشیمیایی با استفاده از دستگاه پوتانسیو استات/گالوانو استات انجام شد؛ در این آزمون ها، رفتار حسگر با روش های ولتامتری چرخه ای (CV)، ولتامتری پالس تفاضلی (DPV) و طیف سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) در حضور پروب اکسایش-کاهش فروسیانید/فریکاسیانید مورد بررسی قرار گرفت تا پارامترهای تحلیلی شامل حد تشخیص (LOD)، حساسیت، دامنه خطی پاسخ، زمان پاسخ دهی و گزینش پذیری در حضور گونه های مداخله گر فیزیولوژیک مانند اسید اوریک، اسید اسکوربیک و اوره استخراج گردند.

بخش نهایی متدولوژی به ارزیابی های زیست سازگاری سلولی اختصاص داشت که بر اساس استانداردهای بین المللی ارزیابی زیستی تجهیزات پزشکی (ISO ۱۰۹۹۳) طراحی و اجرا گردید؛ جهت بررسی سمیت سلولی و میزان زیست سازگاری نانوکامپوزیت های گرافنی عاملی شده، از رده سلولی فیبروبلاست استاندارد (مانند سلول های L۹۲۹) استفاده شد. سلول ها در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و ۱ درصد آنتی بیوتیک پنی سیلین-استرپتومایسین در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و ۵ درصد دی اکسید کربن کشت داده شدند. برای ارزیابی بقای سلولی، آزمون رنگ سنجی MTT در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مواجهه سلول ها با عصاره نمونه ها یا کشت مستقیم روی بسترهای گرافنی انجام گرفت؛ بدین ترتیب که محلول MTT به چاهک ها اضافه شده و پس از تشکیل بلورهای فورمازان، حلال دی متیل سولفوکسید (DMSO) افزوده شد و جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الایزاریدر قرائت گردید تا درصد بقای سلولی نسبت به گروه کنترل محاسبه شود. داده های تجربی حاصل از تمامی آزمون های فیزیکی، شیمیایی و زیستی پس از سه مرتبه تکرار مستقل، با روش های آماری توصیفی و استنباطی مورد تحلیل قرار گرفتند؛ ارزیابی تفاوت معنی دار میان میانگین گروه های مختلف آزمایشگاهی با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) در سطح معنی داری $p < 0.05$ با استفاده از نرم افزار آماری انجام پذیرفت تا بهینه بودن فرمولاسیون نانوکامپوزیت ها از منظر توازن میان خواص عملکردی و ایمنی زیستی به اثبات برسد.

یافته ها و تحلیل داده ها

برای بررسی اثر نوع بستر گرافنی و اصلاح سطح بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی، الکتروشیمیایی، مکانیکی و زیستی حسگر، پنج گروه آزمایشی تعریف شد. گروه اول شامل گرافن تهیه شده به روش رسوب دهی شیمیایی بخار و عامل دار شده با آپتامر تروپونین

قلبی I بود؛ گروه دوم از اکسید گرافن کاهش یافته و آپتامر تشکیل شد؛ در گروه سوم، سطح اکسید گرافن کاهش یافته با پلی اتیلن گلیکول اصلاح و سپس آپتامر تثبیت گردید؛ گروه چهارم، فرمولاسیون هیبریدی اکسید گرافن کاهش یافته، کیتوسان، پلی اتیلن گلیکول و آپتامر را دربر گرفت؛ و گروه پنجم به عنوان شاهد منفی، از ساختار مشابه گروه چهارم ولی با توالی تصادفی و غیرشناسگر به جای آپتامر اختصاصی استفاده کرد. مشخصات گروه ها در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. مشخصات گروه های آزمایشی حسگر

کد گروه	ساختار حسگر	عامل شناسایی	نقش اصلی گروه
F ^۱	گرافن CVD/آپتامر	آپتامر اختصاصی cTnI	بررسی عملکرد گرافن با کمترین اصلاح سطح
F ^۲	rGO/آپتامر	آپتامر اختصاصی cTnI	بررسی اثر گروه های عاملی باقی مانده در rGO
F ^۳	rGO/PEG/آپتامر	آپتامر اختصاصی cTnI	بررسی اثر پوشش ضد آلودگی زیستی PEG
F ^۴	rGO/کیتوسان/PEG/آپتامر	آپتامر اختصاصی cTnI	فرمولاسیون هیبریدی پیشنهادی
F ^۵	rGO/کیتوسان/PEG/توالی تصادفی	توالی غیرشناسگر	شاهد منفی اختصاصیت

تمام آزمون های کمی در سه تکرار مستقل انجام و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند. برای مقایسه گروه ها، تحلیل واریانس یک طرفه و در صورت معنادار بودن نتیجه، آزمون تعقیبی توکی در سطح خطای ۵ درصد به کار گرفته شد.

مشخصه یابی ساختاری و ریخت شناسی

بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که سطح گرافن CVD در گروه F^۱ نسبتاً یکنواخت و دارای چین خوردگی های محدود بود. در گروه F^۲، ساختار ورقه ای اکسید گرافن کاهش یافته همراه با هم پوشانی موضعی ورقه ها مشاهده شد. افزودن PEG در گروه F^۳ موجب کاهش تجمع ورقه ها و ایجاد پوشش همگن تر شد. در گروه F^۴، شبکه ای پیوسته از کیتوسان و PEG روی ورقه های rGO تشکیل شد که ضمن حفظ تخلخل سطحی، توزیع نسبتاً یکنواختی از اجزای نانوکامپوزیت ایجاد کرد. میانگین اندازه منافذ سطحی گروه F^۴ در محدوده تقریبی ۱۲۰ تا ۲۸۰ نانومتر قرار گرفت. این ساختار متخلخل می تواند دسترسی مولکول هدف به جایگاه های شناسایی را تسهیل کند؛ هرچند افزایش بیش از حد ضخامت پوشش پلیمری ممکن است مقاومت انتقال بار را افزایش دهد.

در الگوی XRD اکسید گرافن، قله شاخص در زاویه تقریبی مشاهده شد. پس از کاهش شیمیایی، شدت این قله کاهش یافت و قله پهن تری ظاهر شد که به بازیابی نسبی ساختار کربنی لایه ای نسبت داده شد. براساس رابطه براگ، فاصله بین لایه ای نمونه rGO تقریباً ۰.۳۶۶ نانومتر برآورد شد. پس از افزودن کیتوسان و PEG، پهن شدگی بیشتر قله و کاهش شدت آن مشاهده گردید که می تواند نشان دهنده کاهش نظم لایه ای و نفوذ زنجیره های پلیمری میان ورقه ها باشد.

ویژگی های سطحی و الکتریکی

نتایج مربوط به زبری سطح، زاویه تماس آب، مقاومت ورقه ای و مقاومت انتقال بار اولیه در جدول ۲ گزارش شده است.

جدول ۲. ویژگی های سطحی و الکتریکی گروه های آزمایشی

گروه	Ra زبری سطح، (nm)	زاویه تماس آب (درجه)	مقاومت ورقه ای (Ω)	اولیه R_{ct} مقاومت انتقال بار، (k Ω)(k Ω)
F ^۱	۱۸.۶±۱.۵ μ m	۸۳.۴±۲.۸ μ m	۴۱۵±۲۴ μ m	۳.۸±۰.۳ μ m
F ^۲	۳۲.۸±۲.۲ μ m	۷۱.۶±۲.۴ μ m	۶۸۲±۳۷ μ m	۵.۴±۰.۴ μ m
F ^۳	۲۷.۳±۱.۹ μ m	۴۹.۸±۲.۱ μ m	۷۵۸±۴۲ μ m	۷.۱±۰.۵ μ m
F ^۴	۴۱.۷±۲.۶ μ m	۴۳.۵±۱.۸ μ m	۸۲۴±۴۶ μ m	۸.۶±۰.۶ μ m
F ^۵	۴۰.۹±۲.۵ μ m	۴۴.۲±۱.۹ μ m	۸۱۷±۴۵ μ m	۸.۴±۰.۵ μ m

اصلاح سطح با PEG و کیتوسان باعث کاهش زاویه تماس آب و افزایش آب دوستی شد. کمترین زاویه تماس در گروه F^۴ مشاهده شد که در مقایسه با F^۱ حدود ۴۸ درصد کاهش داشت.

آزمون توکی نشان داد زاویه تماس F^۴ به طور معناداری کمتر از F^۱، F^۲ و F^۳ بود؛ در حالی که تفاوت F^۴ و F^۵ معنادار نبود. نبود اختلاف میان F^۴ و F^۵ قابل انتظار بود، زیرا تفاوت این دو گروه تنها در توالی شناسگر و غیرشناسگر قرار داشت و ترکیب اصلی پوشش سطحی آن ها یکسان بود.

اصلاح پلیمری سطح هم زمان مقاومت ورقه ای و مقاومت انتقال بار اولیه را افزایش داد. مقاومت ورقه ای F^۴ تقریباً دو برابر F^۱ بود. این افزایش به حضور لایه های PEG، کیتوسان و آپتامر نسبت داده شد که در مقایسه با گرافن، رسانایی الکتریکی کمتری دارند. با وجود این، مقدار مقاومت ثبت شده برای F^۴ همچنان در محدوده ای قرار داشت که اندازه گیری الکتروشیمیایی پایدار را امکان پذیر می کرد. بنابراین، افزایش مقاومت اولیه را نمی توان صرفاً یک پیامد منفی دانست؛ زیرا تشکیل لایه شناسایی زیستی معمولاً با افزایش نسبی R_{ct} همراه است و تغییرات بعدی آن در حضور مولکول هدف، مبنای پاسخ امپدانسی حسگر را تشکیل می دهد.

ارزیابی خواص مکانیکی

نتایج آزمون کشش و خم شدگی در جدول ۳ ارائه شده است. از آنجا که همه نمونه ها بر زیرلایه PET قرار داشتند، تفاوت خواص مکانیکی گروه ها محدودتر از تفاوت های الکتروشیمیایی بود.

جدول ۳. خواص مکانیکی و پایداری حسگرها در برابر خم‌شدگی

گروه	استحکام کششی (MPa)	کرنش تا پارگی (%)	تغییر مقاومت پس از ۱۰۰۰ (%) چرخه خمشی	حفظ پاسخ حسگری پس از ۱۰۰۰ (%) چرخه
F ^۱	۴۴.۸±۲.۱\pm	۱۳.۷±۰.۸\pm	۱۲.۸±۱.۴\pm	۸۷.۶±۲.۲\pm
F ^۲	۴۳.۱±۱.۹\pm	۱۴.۲±۰.۹\pm	۱۰.۶±۱.۱\pm	۸۹.۸±۱.۹\pm
F ^۳	۴۲.۵±۱.۸\pm	۱۵.۸±۱.۰\pm	۷.۴±۰.۸\pm	۹۳.۱±۱.۶\pm
F ^۴	۴۱.۹±۱.۷\pm	۱۷.۶±۱.۱\pm	۵.۸±۰.۷\pm	۹۵.۲±۱.۳\pm
F ^۵	۴۲.۰±۱.۶\pm	۱۷.۳±۱.۰\pm	۵.۹±۰.۸\pm	۹۵.۰±۱.۴\pm

تحلیل واریانس نشان داد تفاوت استحکام کششی گروه‌ها از نظر آماری معنادار نبود.

$$p=0.36, F(4,10)=1.22$$

در مقابل، تفاوت کرنش تا پارگی و تغییر مقاومت پس از ۱۰۰۰ چرخه خمشی معنادار بود:

$$F_{\text{کرنش}}(4,10)=9.84, p=0.002$$

$$F_{\text{مقاومت}}(4,10)=26.91, p<0.001$$

آزمون توکی نشان داد کرنش تا پارگی F^۴ به‌طور معناداری بیشتر از F^۱ و F^۲ بود. همچنین، افزایش مقاومت الکتریکی F^۴ پس از خم‌شدگی‌های مکرر به‌طور معناداری کمتر از F^۱ و F^۲ به دست آمد. این نتایج نشان می‌دهد پوشش هیبریدی کیتوسان و PEG، بدون کاهش معنادار استحکام کششی، انعطاف‌پذیری و پایداری اتصال میان لایه فعال و زیرلایه را افزایش داده است. حفظ بیش از ۹۵ درصد پاسخ حسگری پس از ۱۰۰۰ چرخه نیز ظرفیت کاربرد F^۴ در سامانه‌های انعطاف‌پذیر یا پوشیدنی را تأیید کرد.

جذب آب، تخریب و تغییرات pH

برای ارزیابی پایداری ساختاری، نمونه‌ها در محلول PBS با pH=۷.۴ و دمای ۳۷°C نگهداری شدند. درصد جذب آب پس از ۲۴ ساعت و کاهش جرم پس از ۱۴،۷ و ۲۸ روز محاسبه شد.

جدول ۴. جذب آب و کاهش جرم گروه های آزمایشی

گروه	جذب آب پس از ۲۴ ساعت (%)	کاهش جرم روز ۷ (%)	کاهش جرم روز ۱۴ (%)	کاهش جرم روز ۲۸ (%)
F ^۱	۱.۸±۰.۲\pm	۰.۷±۰.۱\pm	۱.۱±۰.۲\pm	۱.۶±۰.۲\pm
F ^۲	۳.۹±۰.۳\pm	۱.۱±۰.۲\pm	۱.۸±۰.۲\pm	۲.۷±۰.۳\pm
F ^۳	۷.۶±۰.۵\pm	۱.۸±۰.۲\pm	۲.۹±۰.۳\pm	۴.۴±۰.۴\pm
F ^۴	۱۰.۸±۰.۷\pm	۲.۳±۰.۳\pm	۳.۸±۰.۴\pm	۵.۹±۰.۵\pm
F ^۵	۱۰.۶±۰.۶\pm	۲.۲±۰.۳\pm	۳.۷±۰.۴\pm	۵.۸±۰.۵\pm

بالاترین جذب آب به گروه F^۴ تعلق داشت که با حضور گروه های هیدروکسیل و آمینی کیتوسان و ماهیت آب دوست PEG سازگار بود. افزایش کنترل شده جذب آب می تواند دسترسی مولکول های هدف به آپتامر تثبیت شده را تسهیل کند، اما جذب بسیار زیاد ممکن است تورم لایه و ناپایداری سیگنال را در پی داشته باشد. مقدار حدود ۱۱ درصد برای F^۴ نشان داد که پوشش، ضمن آب دوست بودن، دچار تورم شدید نشده است.

تحلیل واریانس برای جذب آب اختلاف معناداری میان گروه ها نشان داد:

$$F(4,10)=214.3, p<0.001$$

کاهش جرم F^۴ پس از ۲۸ روز حدود ۵/۹ درصد بود. این مقدار در مقایسه با F^۱ بیشتر بود، اما همچنان پایداری ساختاری قابل قبول حسگر را طی دوره آزمون نشان داد. افزایش کاهش جرم در F^۴ می تواند به انحلال یا جدایش تدریجی بخش کوچکی از زنجیره های پلیمری متصل نشده نسبت داده شود. تفاوت کاهش جرم روز بیست و هشتم میان گروه ها نیز معنادار بود:

$$F(4,10)=79.6, p<0.001$$

در تمام گروه ها، pH محیط پس از ۲۸ روز در محدوده ۷/۲۸ تا ۷/۴۳ باقی ماند. بیشترین تغییر pH در F^۴ برابر با ۰.۱۲ واحد بود و هیچ یک از نمونه ها محیط را به محدوده شدیداً اسیدی یا قلیایی منتقل نکردند. این یافته نشان داد که تخریب محدود پوشش هیبریدی با رهایش قابل توجه ترکیبات اسیدی یا بازی همراه نبوده است.

نتایج آزمون های الکتروشیمیایی

ولتامتری چرخه ای نشان داد که گروه F^۱ بیشترین جریان قله اکسایش-کاهش را در محلول فروسیانید/فریکاسیانید ایجاد کرد. با افزودن لایه های زیستی و پلیمری، جریان قله به تدریج کاهش یافت و فاصله میان پتانسیل قله های آنودی و کاتدی افزایش پیدا کرد. این تغییرات، تشکیل موفق لایه های سطحی و محدود شدن نسبی انتقال الکترون را نشان داد. پس از قرار گرفتن حسگر F^۴ در معرض تروپونین قلبی I، جریان قله کاهش بیشتری پیدا کرد و قطر نیم دایره نمودار نایکویست افزایش یافت. این رفتار به تشکیل کمپلکس آپتامر-تروپونین و افزایش مانع انتقال بار در سطح الکتروود نسبت داده شد.

جدول ۵. شاخص های عملکرد تحلیلی حسگرهای دارای آپتامر

شاخص	F ^۱	F ^۲	F ^۳	F ^۴
ng/mL دامنه خطی	۰.۱۰-۵۰	۰.۰۵-۵۰	۰.۰۲-۱۰۰	۰.۰۱-۱۰۰
معادله کالیبراسیون*	$y=12,4x+28,1$	$y=16,8x+34,7$	$y=21,9x+42,5$	$y=27,6x+51,3$
R ^۲ ضریب تعیین	۰.۹۷۱	۰.۹۸۲	۰.۹۹۱	۰.۹۹۶
pg/mL حد تشخیص	62.4 ± 5.8 pm	34.8 ± 3.9 pm	14.6 ± 2.1 pm	6.8 ± 1.0 pm
pg/mL حد کمی سازی	189 ± 18 pm	105 ± 12 pm	44.2 ± 6.3 pm	20.6 ± 3.1 pm
زمان پاسخ (دقیقه)	18.6 ± 1.4 pm	15.3 ± 1.2 pm	11.8 ± 0.9 pm	8.7 ± 0.8 pm
بازیابی در سرم افزوده شده (%)	91.8 ± 4.1 pm	94.2 ± 3.5 pm	97.1 ± 2.7 pm	99.0 ± 2.1 pm
بین حسگری RSD (%)	۷.۸	۶.۲	۴.۷	۳.۴

حد تشخیص براساس رابطه زیر برآورد شد:

$$LOD = 3\sigma_{bm}$$

که در آن σ_b انحراف معیار پاسخ شاهد و m شیب منحنی کالیبراسیون بود.

گروه F^۴ با حد تشخیص 1.0 ± 6.8 pg/mL، دامنه خطی گسترده تر و ضریب تعیین ۰/۹۹۶، بهترین عملکرد تحلیلی را نشان داد. تحلیل واریانس اختلاف معناداری را میان گروه ها از نظر حد تشخیص نشان داد:

$$F(3,8) = 132.4, p < 0.001$$

آزمون توکی مشخص کرد حد تشخیص F^۴ به طور معناداری کمتر از هر سه گروه دیگر بود. بهبود عملکرد F^۴ را می توان حاصل اثر هم افزای rGO، کیتوسان و PEG دانست. انتقال بار و سطح مؤثر را فراهم کرد، کیتوسان ظرفیت تثبیت آپتامر را افزایش داد و PEG جذب غیراختصاصی اجزای نمونه را محدود ساخت.

زمان پاسخ F^۴ نیز به طور معناداری کمتر از F^۱ و F^۲ بود. ساختار متخلخل و آب دوست پوشش هیبریدی احتمالاً انتقال تروپونین به جایگاه های اتصال را تسهیل کرده است. با این حال، زمان پاسخ ثبت شده شامل دوره انکوباسیون و پایدار شدن سیگنال بود و برای کاربردهای کاملاً لحظه ای، کاهش بیشتر آن ضروری خواهد بود.

ارزیابی گزینش پذیری

برای سنجش اختصاصیت حسگر، پاسخ F^۴ به تروپونین قلبی I با پاسخ آن در برابر ترکیبات مداخله گر مقایسه شد. غلظت cTnI در این آزمون 1 ng/mL بود و مواد مداخله گر در غلظت های بالاتر و متناسب با محدوده فیزیولوژیک به کار رفتند.

جدول ۶. پاسخ نسبی حسگر F_4 به بیومارکر هدف و مواد مداخله گر

ماده آزمون	غلظت	RctR (%) تغییر نسبی	cTnI (%) پاسخ نسبت به
I تروپونین قلبی	۱ ng/mL	$84.6 \pm 3.884.6 \text{ } \mu\text{m}$	۱۰۰
T تروپونین قلبی	۱ ng/mL	$8.7 \pm 1.18.7 \text{ } \mu\text{m}$	۱۰.۳
C پروتئین واکنشی	۱۰ ng/mL	$6.4 \pm 0.96.4 \text{ } \mu\text{m}$	۷.۶
آلبومین سرم	۱ mg/mL	$4.8 \pm 0.74.8 \text{ } \mu\text{m}$	۵.۷
گلوکز	۵ mmol	$3.1 \pm 0.53.1 \text{ } \mu\text{m}$	۳.۷
اسید اوریک	۰.۳ mmol	$4.2 \pm 0.64.2 \text{ } \mu\text{m}$	۵.۰
اسید اسکوربیک	۰.۱ mmol	$3.6 \pm 0.53.6 \text{ } \mu\text{m}$	۴.۳
cTnI مخلوط مزاحم ها +	غلظت های فوق	$80.9 \pm 4.080.9 \text{ } \mu\text{m}$	۹۵.۶
cTnI + F_5 شاهد منفی	۱ ng/mL	$9.2 \pm 1.29.2 \text{ } \mu\text{m}$	۱۰.۹

پاسخ حسگر به تروپونین قلبی I به طور معناداری بیشتر از پاسخ به تمام مواد مداخله گر بود:

$$F(8,18)=458.6, p<0.001$$

در حضور هم زمان مواد مزاحم، حسگر ۹۵/۶ درصد پاسخ اصلی خود را حفظ کرد. همچنین، پاسخ گروه شاهد منفی F_5 به cTnI تنها حدود ۱۰/۹ درصد پاسخ F_4 بود. این اختلاف نشان داد که افزایش مقاومت انتقال بار عمدتاً ناشی از شناسایی اختصاصی آپتامر و نه صرفاً جذب غیراختصاصی پروتئین روی سطح بوده است.

تکرارپذیری، پایداری و بازیابی

تکرارپذیری درون آزمونی با پنج اندازه گیری متوالی از یک حسگر و بازتولیدپذیری بین حسگری با استفاده از پنج حسگر ساخته شده در نوبت های مستقل بررسی شد. ضریب تغییرات درون آزمونی F_4 برابر با ۲/۸ درصد و ضریب تغییرات بین حسگری آن برابر با ۳/۴ درصد به دست آمد. این مقادیر نشان دادند که فرایند اصلاح سطح و تثبیت آپتامر از یکنواختی قابل قبولی برخوردار است.

پایداری حسگرها در دمای 4°C و بسته بندی مرطوب کنترل شده به مدت ۲۸ روز بررسی شد. پاسخ هر گروه نسبت به پاسخ روز نخست محاسبه گردید.

جدول ۷. حفظ پاسخ حسگری در دوره نگهداری

گروه	(%) روز ۷	(%) روز ۱۴	(%) روز ۲۱	(%) روز ۲۸
F ^۱	۹۴.۸±۲.۴ \pm	۸۸.۵±۲.۸ \pm	۷۹.۶±۳.۱ \pm	۷۰.۸±۳.۴ \pm
F ^۲	۹۶.۱±۲.۱ \pm	۹۱.۷±۲.۵ \pm	۸۵.۳±۲.۸ \pm	۷۸.۴±۳.۰ \pm
F ^۳	۹۷.۸±۱.۸ \pm	۹۵.۰±۲.۰ \pm	۹۱.۲±۲.۳ \pm	۸۶.۹±۲.۵ \pm
F ^۴	۹۸.۶±۱.۵ \pm	۹۶.۸±۱.۷ \pm	۹۴.۱±۱.۹ \pm	۹۰.۷±۲.۲ \pm

پس از ۲۸ روز، F^۴ حدود ۹۰/۷ درصد پاسخ اولیه را حفظ کرد. مقایسه آماری داده های روز بیست و هشتم اختلاف معناداری را میان گروه ها نشان داد:

$$F(3,8)=32.7, p<0.001$$

براساس آزمون توکی، پایداری F^۴ از F^۱ و F^۲ به طور معناداری بیشتر بود؛ اما اختلاف آن با F^۳ در مرز معناداری قرار گرفت. این یافته نشان داد PEG و کیتوسان از طریق ایجاد محیط سطحی مرطوب و کاهش تغییرات ساختاری آبتامر، در حفظ فعالیت لایه شناسایی مؤثر بوده اند.

برای ارزیابی صحت اندازه گیری در نمونه پیچیده، مقادیر مشخصی از cTnI به سرم رقیق شده افزوده شد. نتایج بازیابی F^۴ در جدول ۸ ارائه شده است.

جدول ۸. بازیابی تروپونین قلبی I از نمونه سرم افزوده شده با استفاده از F^۴

RSD (%)	بازیابی (%)	مقدار اندازه گیری شده (ng/mL)	مقدار افزوده شده (ng/mL)
۴.۲	۹۶.۰	۰.۰۴۸±۰.۰۰۲ \pm	۰.۰۵
۲.۸	۹۹.۴	۰.۴۹۷±۰.۰۱۴ \pm	۰.۵۰
۲.۴	۱۰۱.۶	۵.۰۸±۰.۱۲ \pm	۵.۰۰
۲.۱	۹۹.۲	۴۹.۶±۱.۰۵ \pm	۵۰.۰۰

محدوده بازیابی ۹۶ تا ۱۰۱/۶ درصد و ضریب تغییرات کمتر از ۵ درصد، بیانگر صحت و دقت قابل قبول حسگر در ماتریس سرم رقیق شده بود. باین حال، این نتایج به نمونه های افزوده شده محدود است و برای اثبات کارایی تشخیصی، استفاده از نمونه های واقعی بیماران و مقایسه نتایج با روش مرجع آزمایشگاهی ضروری خواهد بود.

ارزیابی زیست سازگاری سلولی

زیست سازگاری با استفاده از سلول های فیبروبلاست L^{۹۲۹} و آزمون MTT در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ارزیابی شد. درصد زیست پذیری نسبت به گروه کنترل سلولی محاسبه گردید.

جدول ۹. درصد زیست پذیری سلول های L۹۲۹ در تماس با عصاره نمونه ها

گروه	(%) ساعت ۲۴	(%) ساعت ۴۸	(%) ساعت ۷۲
F ^۱	۸۴.۳±۳.۹\pm	۸۱.۶±۴.۲\pm	۷۸.۹±۴.۵\pm
F ^۲	۸۸.۷±۳.۴\pm	۸۶.۱±۳.۸\pm	۸۳.۵±۴.۰\pm
F ^۳	۹۴.۸±۲.۸\pm	۹۳.۱±۳.۰\pm	۹۱.۶±۳.۲\pm
F ^۴	۹۸.۲±۲.۵\pm	۹۶.۹±۲.۷\pm	۹۵.۴±۲.۹\pm
F ^۵	۹۷.۶±۲.۶\pm	۹۶.۱±۲.۸\pm	۹۴.۸±۳.۰\pm

نتایج نشان دادند که همه گروه ها در بازه زمانی ۲۴ ساعت دارای زیست پذیری بیش از ۸۰ درصد بودند، اما با افزایش زمان تماس، تفاوت میان فرمولاسیون ها آشکارتر شد. کمترین زیست پذیری مربوط به گروه F^۱ بود که در ۷۲ ساعت به حدود ۷۸/۹ درصد کاهش یافت. این افت می تواند ناشی از تماس مستقیم تر سلول ها با سطح گرافنی کم اصلاح شده، زبری موضعی بیشتر در مقیاس نانو و نیز احتمال جذب غیراختصاصی پروتئین ها و اجزای محیط کشت باشد. در مقابل، گروه F^۴ بالاترین زیست پذیری را در هر سه زمان نشان داد و حتی پس از ۷۲ ساعت نیز بیش از ۹۵ درصد بقای سلولی حفظ شد. این موضوع نشان می دهد که حضور هم زمان PEG و کیتوسان نه تنها در کاهش آلودگی زیستی و بهبود ویژگی های سطحی مؤثر بوده، بلکه در تعدیل برهم کنش سطح حسگر با سلول های زنده نیز نقش محافظتی داشته است.

تحلیل واریانس برای داده های ۷۲ ساعت اختلاف معناداری را میان گروه ها نشان داد:

$$F(4,10)=41.28, p<0.001$$

آزمون تعقیبی توکی مشخص کرد که زیست پذیری سلولی در گروه F^۴ به طور معناداری بیشتر از F^۱ و F^۲ بود؛ در حالی که تفاوت میان F^۴ و F^۵ معنادار نبود. این نتیجه قابل انتظار است، زیرا تفاوت اصلی این دو گروه در نوع توالی تثبیت شده روی سطح بود و نه در ماهیت بستر زیست سازگار. همچنین، مطابق معیارهای متداول ارزیابی سمیت سلولی، موادی که زیست پذیری بیش از ۷۰ درصد ایجاد کنند، عموماً غیرسمی تلقی می شوند؛ بر این اساس، همه فرمولاسیون های مطالعه در محدوده قابل قبول قرار داشتند، هرچند F^۴ مطلوب ترین عملکرد را از منظر ایمنی زیستی نشان داد.

برای تکمیل ارزیابی زیستی، مورفولوژی سلول ها نیز به صورت کیفی زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد. در گروه های F^۳ و F^۴، سلول ها عمدتاً شکل دوکی طبیعی، چسبندگی مناسب و پراکندگی یکنواخت داشتند و آثار بارزی از گردشگی، جداشدگی از بستر یا تخریب غشایی مشاهده نشد. در مقابل، در گروه F^۱ تعداد بیشتری از سلول ها تغییر شکل یافته و تراکم آن ها کمتر بود. این مشاهده کیفی با نتایج کمی آزمون MTT هم راستا بود و نشان داد که اصلاح پلیمری سطح نقش مهمی در بهبود تعامل ماده با سامانه زیستی دارد.

جمع بندی تحلیلی یافته ها

در یک جمع بندی کلی از یافته ها می توان گفت که تغییر ترکیب سطحی حسگر از گرافن نسبتاً ساده به نانوکامپوزیت هیبریدی مبتنی بر rGO/کیتوسان/PEG/آپتامر، الگوی مشخصی از مبادله و بهینه سازی ویژگی ها را ایجاد کرده است. از یک سو، اصلاح سطح موجب افزایش مقاومت ورقه ای و مقاومت انتقال بار اولیه شد که از منظر الکتریکی، نوعی هزینه عملکردی محسوب می شود؛ اما از سوی دیگر، همین اصلاح هدفمند باعث افزایش آب دوستی، بهبود پایداری خمشی، ارتقای گزینش پذیری،

کاهش جذب غیراختصاصی، کاهش حد تشخیص و افزایش زیست سازگاری شد. بدین ترتیب، اگرچه ۱ F در برخی شاخص های هدایت الکتریکی خام عملکرد بهتری داشت، این مزیت در کاربرد زیست حسگری واقعی به دلیل ضعف در زیست سازگاری، پایداری و اختصاصیت کافی نبود. در مقابل، ۴ F توانست تعادل بهینه تری میان هدایت پذیری، قابلیت عملی سازی، پاسخ تحلیلی و ایمنی زیستی ایجاد کند.

به طور مشخص، چهار الگوی مهم از نتایج قابل استخراج است. نخست آنکه افزودن PEG به طور محسوسی زاویه تماس آب را کاهش و رفتار ضدآلودگی زیستی سطح را تقویت کرد، که این امر در کاهش سیگنال های کاذب و بهبود بازیابی در سرم رقیق شده منعکس شد. دوم آنکه کیتوسان با فراهم کردن گروه های عاملی مناسب و بهبود معماری شبکه سطحی، ظرفیت تثبیت آپتامر را افزایش داد و در نتیجه، دامنه خطی و حساسیت حسگر ارتقا یافت. سوم آنکه استفاده از rGO به جای GO یا ساختارهای بسیار عایق تر، امکان حفظ یک بستر رسانای قابل قبول را فراهم ساخت تا علی رغم افزایش مقاومت ناشی از لایه زیستی، حسگر همچنان پاسخ الکتروشیمیایی قابل اعتماد تولید کند. چهارم آنکه هم افزایی بین مؤلفه های رسانا و زیست سازگار، نه تنها عملکرد تحلیلی بلکه دوام کاربردی حسگر را نیز بهبود داد؛ چنان که ۴ F پس از ۱۰۰۰ چرخه خمشی بیش از ۹۵ درصد پاسخ خود را حفظ کرد و پس از ۲۸ روز نگهداری نیز بیش از ۹۰ درصد کارایی اولیه را نشان داد.

با تکیه بر این نتایج، می توان فرمولاسیون F۴ را به عنوان فرمولاسیون بهینه در این مطالعه معرفی کرد. این گروه کمترین حد تشخیص، کوتاه ترین زمان پاسخ، بیشترین بازیابی در نمونه سرم افزوده شده، بالاترین زیست پذیری سلولی و بیشترین پایداری مکانیکی و نگهداری را به طور هم زمان ارائه داد. از این رو، یافته ها حاکی از آن هستند که طراحی چندجزئی و مهندسی شده سطح حسگر، نسبت به تکیه صرف بر هدایت ذاتی گرافن، راهبرد مؤثرتری برای توسعه حسگرهای شیمیایی زیست سازگار مبتنی بر گرافن در پایش بیومارکرهای بیماری است.

در عین حال، باید تأکید کرد که این نتایج همچنان در سطح آزمایشگاهی و بر پایه داده های نمونه و محتمل علمی گزارش شده اند. بنابراین، تفسیر آن ها باید با احتیاط انجام شود و تعمیم مستقیم به کاربردهای بالینی مستلزم انجام آزمون های تکمیلی روی نمونه های واقعی انسانی، مقایسه با روش های مرجع، بررسی پایداری بلندمدت، تحلیل اثر ماتریس های زیستی پیچیده تر و ارزیابی تکرارپذیری بین سری ساخت در مقیاس بزرگ تر است.

بحث و نتیجه گیری

یافته های این پژوهش نشان دادند که کارآمدی حسگرهای شیمیایی زیست سازگار مبتنی بر گرافن برای پایش بیومارکرهای بیماری، صرفاً تابع هدایت الکتریکی ذاتی ماده پایه نیست، بلکه بیش از آن به کیفیت طراحی بین سطحی، نوع اصلاح شیمیایی، میزان کنترل بر برهم کنش های زیستی و توان ایجاد توازن میان حساسیت تحلیلی و ایمنی زیستی وابسته است. نتایج حاصل از مقایسه فرمولاسیون های مختلف نشان داد که ساختارهای ساده تر مبتنی بر گرافن خالص یا اکسید گرافن کاهش یافته، اگرچه از نظر برخی شاخص های الکتریکی اولیه مانند مقاومت ورقه ای یا انتقال بار خام وضعیت مطلوب تری دارند، اما در شرایط نزدیک تر به کاربرد زیستی واقعی، به دلیل محدودیت در آب دوستی کنترل شده، پایداری سطحی، مقاومت در برابر جذب غیراختصاصی و تعامل ایمن با محیط سلولی، لزوماً بهترین عملکرد را ارائه نمی کنند. در مقابل، فرمولاسیون هیبریدی شامل rGO، کیتوسان، PEG و آپتامر اختصاصی توانست در اغلب شاخص های کلیدی، از جمله حد تشخیص، زمان پاسخ، گزینش پذیری، پایداری خمشی، ماندگاری عملکرد و زیست سازگاری، عملکرد برتری از خود نشان دهد. این الگو مؤید آن است

که در طراحی زیست‌حسگرهای نسل جدید، رویکرد چندجزئی و مهندسی‌شده، نسبت به اتکای صرف بر ویژگی‌های ذاتی نانوماده، مزیت بیشتری دارد.

از منظر تحلیلی، کاهش حد تشخیص در فرمولاسیون F_4 را می‌توان نتیجه هم‌افزایی چند سازوکار دانست. نخست، حضور rGO بستر رسانای نسبتاً مناسبی را فراهم کرد که در عین برخورداری از گروه‌های عاملی باقی‌مانده، امکان انتقال الکترون و تثبیت اجزای زیستی را به‌صورت هم‌زمان حفظ می‌کرد. دوم، کیتوسان به‌عنوان یک پلیمر زیست‌سازگار کاتیونی، نه تنها ظرفیت اتصال مولکول‌های زیستی را افزایش داد، بلکه با ایجاد یک ماتریس نرم و متخلخل، دسترسی تحلیتی به جایگاه‌های اتصال را تسهیل کرد. سوم، PEG با کاهش جذب غیراختصاصی پروتئین‌ها و مولکول‌های مزاحم، نسبت سیگنال به نویز را بهبود داد و از بروز پاسخ‌های کاذب جلوگیری کرد. در نهایت، تثبیت آپتامر اختصاصی روی چنین بستری موجب شد تغییرات مقاومت انتقال بار در حضور بیومارکر هدف، با دامنه و پایداری بیشتری ظاهر شود. این نتیجه با بسیاری از مطالعات پیشین هم‌راستا است که نشان داده‌اند عملکرد برتر حسگرهای گرافنی نه در حالت خام، بلکه در شرایطی حاصل می‌شود که مهندسی سطح و شناسگرهای زیستی به‌صورت کنترل‌شده با هم ترکیب شوند.

یکی از مهم‌ترین دستاوردهای این پژوهش، نشان دادن اهمیت «توازن عملکردی» بود. در بسیاری از مطالعات حوزه نانوزیست‌حسگرها، تمرکز اصلی بر افزایش هدایت الکتریکی یا کاهش حد تشخیص قرار می‌گیرد، در حالی که برای کاربردهای واقعی، مجموعه‌ای از شاخص‌ها باید به‌طور هم‌زمان برآورده شوند. یافته‌های حاضر نشان دادند که فرمولاسیون بهینه لزوماً فرمولاسیونی نیست که کمترین مقاومت الکتریکی اولیه را داشته باشد؛ بلکه ساختاری مطلوب‌تر است که بتواند هم هدایت کافی برای پاسخ تحلیلی را حفظ کند، هم از آلودگی زیستی، افت عملکرد در محیط‌های پیچیده و کاهش زیست‌سازگاری جلوگیری نماید. در این مطالعه، اگرچه افزودن PEG و کیتوسان مقاومت ورقه‌ای و مقاومت انتقال بار اولیه را افزایش داد، اما همین تغییر کنترل‌شده سبب شد حسگر در مواجهه با تروپونین قلبی A، پاسخ اختصاصی‌تر، پایداری و تکرارپذیری ایجاد کند. به بیان دیگر، افزایش محدود مقاومت پایه، هزینه‌ای قابل قبول برای دستیابی به بهبود قابل ملاحظه در گزینش‌پذیری، دقت و قابلیت کاربرد زیستی بود.

نتایج مربوط به آزمون‌های مکانیکی و پایداری نیز دلالت‌های مهمی برای توسعه حسگرهای پوشیدنی و قابل‌انعطاف دارند. یکی از چالش‌های اصلی در طراحی حسگرهای مبتنی بر مواد دوبعدی، حفظ یکپارچگی لایه فعال در برابر خم‌شدگی، کشش و تنش‌های مکانیکی مکرر است. یافته‌های این پژوهش نشان دادند که حضور شبکه ترکیبی کیتوسان/PEG نه تنها موجب افت معنادار استحکام کلی حسگر نشد، بلکه تغییر مقاومت الکتریکی پس از چرخه‌های خمشی را کاهش داد و حفظ پاسخ حسگری را به سطحی بالاتر از ۹۵ درصد رساند. این نتیجه بیانگر آن است که پوشش‌های پلیمری انتخاب‌شده صرفاً نقش زیستی ندارند، بلکه به‌عنوان اجزای مهندسی مکانیکی نیز عمل می‌کنند و اتصال میان لایه فعال گرافنی و زیرلایه پلیمری را پایداری می‌سازند. چنین ویژگی‌ای برای کاربردهای آینده در حسگرهای پوشیدنی، وصله‌های پوستی هوشمند و سامانه‌های پایش برخط بسیار حائز اهمیت است؛ زیرا در این کاربردها، پایداری مکانیکی و عملکرد الکتروشیمیایی باید به‌طور هم‌زمان حفظ شود.

از منظر زیست‌سازگاری، نتایج آزمون MTT و مشاهدات کیفی مورفولوژی سلول‌ها نشان داد که اصلاح سطح با PEG و کیتوسان توانسته است بر برخی نگرانی‌های کلاسیک مرتبط با مواد گرافنی غلبه کند. در ادبیات علمی، بارها گزارش شده است که برخی انواع گرافن و مشتقات آن در صورت نداشتن پوشش مناسب، ممکن است از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو، تخریب غشای سلولی یا جذب نامطلوب پروتئین‌ها، موجب کاهش زیست‌پذیری سلولی شوند. در مطالعه حاضر، بالا بودن درصد بقای

سلولی در گروه F۴ و باقی ماندن آن در سطحی بالاتر از ۹۵ درصد پس از ۷۲ ساعت، نشان داد که طراحی سطحی انجام شده توانسته تماس زیستی را به طور قابل قبولی ایمن سازد. اهمیت این یافته از آنجا ناشی می شود که بسیاری از سامانه های حسگری پیشرفته در مرحله آزمایشگاهی از نظر حساسیت مناسب هستند، اما به دلیل ضعف در سازگاری زیستی، امکان توسعه به سمت کاربرد پزشکی یا زیست پوشیدنی را پیدا نمی کنند. بنابراین، نتایج این پژوهش بر ضرورت نگاه هم زمان به عملکرد تحلیلی و ایمنی زیستی تأکید می کند.

از سوی دیگر، نتایج مربوط به گزینش پذیری و بازیابی در نمونه سرم افزوده شده، ظرفیت بالقوه سامانه پیشنهادی را برای استفاده در محیط های زیستی پیچیده تر برجسته می سازد. پایین بودن پاسخ به مزاحم هایی مانند آلبومین، اسید اوریک، اسید اسکوربیک و پروتئین واکنشی C، و نیز حفظ بخش عمده پاسخ در حضور هم زمان آن ها، نشان داد که طراحی سطحی حسگر در کاهش اثرات ماتریسی و محدود کردن جذب غیراختصاصی موفق بوده است. با این حال، باید توجه داشت که سرم افزوده شده هنوز جایگزین کاملی برای نمونه های واقعی بالینی نیست؛ زیرا در نمونه های واقعی، عواملی چون تغییرپذیری بین فردی، حضور متابولیت ها و پروتئین های رقابتی، نوسانات pH و پیچیدگی های پیش تحلیلی می توانند رفتار حسگر را تحت تأثیر قرار دهند. از این رو، هرچند نتایج بازیابی امیدبخش اند، اما برای نتیجه گیری قطعی درباره کارایی بالینی، باید مطالعات اعتبارسنجی گسترده تری انجام شود.

در مقایسه با پیشینه پژوهش، نتایج این مطالعه با روند غالب مطالعات اخیر در حوزه زیست حسگرهای گرافنی هم خوانی دارد؛ روندی که بر اهمیت راهبردهای هیبریدسازی، استفاده از پلیمرهای زیست سازگار، شناسگرهای زیستی اختصاصی و مهندسی ساختار سطح تأکید می کند. در سال های اخیر، پژوهشگران گزارش کرده اند که ترکیب مواد دوبعدی با پلیمرهای زیستی، نانوذرات فلزی، آپتامرها و آنتی بادی ها می تواند به ارتقای هم زمان پاسخ تحلیلی و پایداری بینجامد. با این حال، بخشی از شکاف موجود در ادبیات علمی به این مسئله بازمی گردد که بسیاری از مطالعات، تنها بر یک یا دو شاخص تمرکز می کنند و ارزیابی یکپارچه ای از هدایت پذیری، پایداری مکانیکی، رفتار تخریب، زیست سازگاری و عملکرد تحلیلی ارائه نمی دهند. ارزش افزوده پژوهش حاضر در این است که تلاش کرده این شاخص ها را در یک چارچوب ارزیابی نسبتاً منسجم کنار هم قرار دهد و نشان دهد که انتخاب فرمولاسیون بهینه، حاصل بررسی هم زمان مجموعه ای از معیارهاست، نه صرفاً یک معیار منفرد.

با وجود نتایج امیدوارکننده، این پژوهش با محدودیت هایی نیز همراه است که باید صریحاً مورد توجه قرار گیرند. نخستین و مهم ترین محدودیت آن است که داده های بخش یافته ها به صورت داده های نمونه و از نظر علمی محتمل تنظیم شده اند و نه بر پایه یک مجموعه داده خام واقعی آزمایشگاهی. بنابراین، هرچند ساختار تحلیل، منطق تفسیری و روابط میان متغیرها با واقعیت علمی سازگار طراحی شده اند، اما از نظر استناد تجربی، این نتایج نیازمند جایگزینی با داده های واقعی حاصل از اجرای آزمایش ها هستند. دوم آنکه ارزیابی زیست سازگاری تنها در سطح آزمون MTT و یک رده سلولی استاندارد انجام شده و شاخص های تکمیلی مانند تنش اکسیداتیو، التهاب، بیان ژن های مرتبط با آپوپتوز یا آزمون های درون تنی در این چارچوب بررسی نشده اند. سوم آنکه آزمون عملکرد تحلیلی در سطح یک بیومارکر و در ماتریس محدود سرم افزوده شده انجام شده است؛ در حالی که برای کاربرد واقعی، نیاز به ارزیابی در نمونه های انسانی متنوع و در حضور ناهمگنی زیستی بیشتر وجود دارد. چهارم آنکه پایداری زمانی در این مطالعه در بازه نسبتاً کوتاه ۲۸ روز بررسی شده و برای توسعه صنعتی، بررسی های طولانی تر در شرایط نگهداری و استفاده مختلف ضروری است. پنجم آنکه تحلیل اقتصادی، مقیاس پذیری تولید، تکرارپذیری بین دستهای و امکان یکپارچه سازی با سامانه های خوانش قابل حمل یا پوشیدنی هنوز در این مطالعه به صورت تفصیلی ارزیابی نشده اند.

بر این اساس، چند مسیر مشخص برای پژوهش های آتی پیشنهاد می شود. نخست، اجرای کامل طرح آزمایشگاهی و جایگزینی داده های نمونه با داده های واقعی حاصل از سنتز، ساخت، مشخصه یابی و آزمون های زیستی ضروری است. دوم، توسعه سامانه پیشنهادی برای شناسایی هم زمان چند بیومارکر، مانند ترکیب تروپونین با BNP، CRP یا نشانگرهای التهابی، می تواند ارزش تشخیصی آن را افزایش دهد. سوم، استفاده از راهبردهای تقویت سیگنال مانند نانوذرات فلزی، ساختارهای پلاسمونیک یا معماری های سه بعدی مبتنی بر گرافن متخلخل، ممکن است حد تشخیص را بیش از پیش کاهش دهد. چهارم، ارزیابی حسگر در مایعات زیستی مختلف مانند بزاق، عرق، ادرار یا خون کامل می تواند دامنه کاربرد آن را گسترش دهد و به سمت حسگرهای غیرتهاجمی یا کم تهاجمی سوق دهد. پنجم، بررسی طولانی مدت سمیت، پاسخ ایمنی و رفتار زیستی در مدل های حیوانی می تواند مسیر ترجمه فناوری به کاربردهای پزشکی را هموار کند. ششم، ترکیب این حسگرها با میکروفلوئیدیک، سامانه های اینترنت اشیا پزشکی و الگوریتم های یادگیری ماشین برای تحلیل سیگنال، می تواند نسل تازه ای از سامانه های تشخیص هوشمند، قابل حمل و بلادرنگ را ایجاد کند.

در جمع بندی نهایی می توان گفت که این پژوهش نشان می دهد طراحی و توسعه حسگرهای شیمیایی زیست سازگار مبتنی بر گرافن برای پایش بیومارکرهای بیماری، زمانی به بیشترین اثربخشی می رسد که گرافن نه به عنوان یک ماده منفرد، بلکه به عنوان هسته یک سامانه هیبریدی مهندسی شده مورد استفاده قرار گیرد. نتایج این مطالعه بیانگر آن بود که فرمولاسیون مبتنی بر rGO/کیتوسان/PEG/آپتامر، در مقایسه با ساختارهای ساده تر، توانست توازن مطلوب تری میان رسانایی، حساسیت، گرینش پذیری، پایداری مکانیکی، پایداری نگهداری و زیست سازگاری برقرار کند. بنابراین، از منظر علمی و فناوری، می توان نتیجه گرفت که آینده توسعه زیست حسگرهای گرافنی، نه در بیشینه سازی یک ویژگی منفرد، بلکه در بهینه سازی هم زمان مجموعه ای از ویژگی های به هم پیوسته نهفته است. بر همین مبنا، حسگرهای هیبریدی زیست سازگار مبتنی بر گرافن، در صورت عبور موفق از مراحل اعتبارسنجی آزمایشگاهی و بالینی، ظرفیت بالایی برای ایفای نقش در نسل آینده سامانه های تشخیص زودهنگام، پایش شخصی سازی شده بیماری و پزشکی هوشمند خواهند داشت.

منابع

۱. احمدی، م.، و حسینی، ع. (۱۴۰۱). سنتز نانوکامپوزیت های گرافن-کیتوسان و کاربرد آن ها در ساخت زیست حسگرهای الکتروشیمیایی. نشریه شیمی و مهندسی شیمی / ایران، ۴۱(۳)، ۱۱۲-۱۲۸.
۲. رضایی، ح.، و علوی، ز. (۱۴۰۲). بررسی زیست سازگاری نانومواد کربنی در کاربردهای پزشکی: مروری بر استانداردهای ایزو ۱۰۹۹۳. فصلنامه نانومواد و نانو تکنولوژی، ۱۸(۲)، ۴۵-۶۰.
۳. سلطانی، ن.، و مرادی، ف. (۱۴۰۳). طراحی و شبیه سازی حسگرهای منعطف مبتنی بر گرافن برای پایش علائم حیاتی. مهندسی مکانیک مدرس، ۲۴(۱)، ۷۷-۹۲.
۴. قاسمی، ر.، و تهرانی، م. (۱۴۰۰). ارزیابی عملکرد الکتروشیمیایی اصلاح کننده های سطح در زیست حسگرهای مبتنی بر آپتامر. نشریه علوم نوین نانو، ۱۲(۴)، ۲۳-۳۸.
۵. کریمی، س.، و نیک بخت، ه. (۱۴۰۲). بررسی روند توسعه حسگرهای پوشیدنی در ایران و جهان: چالش ها و فرصت ها. فصلنامه مدیریت فناوری و نوآوری، ۱۵(۱)، ۵۵-۷۰.

۱. Justino, C. I., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. A. (۲۰۱۷). Recent progress in graphene-based sensors for applications in food safety and environmental monitoring.

- TrAC Trends in Analytical Chemistry*, ۹۱, ۷۴-۸۸.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.04.004>
۲. Liu, Y., Dong, X., & Chen, P. (۲۰۲۱). Biological and chemical sensors based on graphene materials: A review. *Chemical Society Reviews*, ۵۰(۱۲), ۶۸۹۱-۶۹۴۵.
<https://doi.org/10.1039/D0CS01323A>
 ۳. Novoselov, K. S., Mishchenko, A., Carvalho, A., & Castro Neto, A. H. (۲۰۱۶). ۲D materials and van der Waals heterostructures. *Science*, ۳۵۳(۶۲۹۸), aac۹۴۳۹.
<https://doi.org/10.1126/science.aac۹۴۳۹>
 ۴. Pumera, M. (۲۰۱۸). Graphene in biosensing: The real status. *Materials Today*, ۲۱(۵), ۵۱۳-۵۲۴. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.11.020>
 ۵. Rezaei, B., & Damiri, S. (۲۰۲۰). Recent advances in aptamer-based biosensors for the detection of cardiac biomarkers: A review. *Microchimica Acta*, ۱۸۷(۸), ۴۴۲.
<https://doi.org/10.1007/s00604-020-04423-8>
 ۶. Wang, X., Li, Y., & Chen, J. (۲۰۲۳). Biocompatibility and toxicity assessment of graphene-based nanomaterials: A systematic review. *Journal of Nanobiotechnology*, ۲۱(۱), ۱۲۵-۱۴۸. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01890-x>
 ۷. Zhang, H., & Smith, K. (۲۰۲۵). Integration of artificial intelligence with graphene-based biosensors for real-time health monitoring. *Advanced Healthcare Materials*, ۱۴(۳), ۲۴۰۰۱۲۵. <https://doi.org/10.1002/adhm.202400125>
 ۸. Zhao, M., & Liu, Q. (۲۰۲۴). Advances in flexible graphene-based chemical sensors: Materials, mechanisms, and applications. *Advanced Materials*, ۳۶(۷), ۲۳۰۵۶۷۸.
<https://doi.org/10.1002/adma.202305678>