مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره 4، زمستان 1392، صفحات 258-247

تشخیص اگزوتوکسین باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* توسط روش پتانسیومتری در مقایسه با طیف سنجی مبتنی برنانوذرات اصلاح شده(متصل به پادتن)

حامد اهری[1]، ودود رضویلر[2]، بهروز اکبری [3]، عباسعلی مطلبی[2]، امیرعلی انوار[4]، نیما محمدی[5]

1- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، پست الکترونیکی:Dr.H.Ahari@Gmail.com
2- استاد گروه بهداشت، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
3- دانشیار مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت درمان وآموزش پزشکی، تهران، ایران
4- مربی گروه بهداشت، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
5- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 92/4/7 تاریخ پذیرش: 92/7/25

چکیده

سابقه و هدف: با پیشرفت تکنولوژی نانو، طراحی حسگرهای انتخابی و هوشمند یکی از بزرگترین انقلاب‌های صنعت کنترل کیفی مواد غذایی محسوب می‌شود که هم در زمانی کوتاه و هم با دقتی بسیار بالا می‌تواند تشخیص سم باکتری را انجام دهد، در این تحقیق با طراحی حسگرزیستی به تشخیص اگزوتوکسین باکتری استافیلوکوکوس ارئوس پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از مونومرهای متااکریلیک اسید برای تهیه قالب ملکولی و تهیه پلیمر استفاده گردیده و در مرحله دوم حسگر ی بر پایه اتصال آنتی بادی باکتری به نانو ذره استفاده شد، سوسپانسیون حاصل از نانوسیلیکای عامل دار متصل به آنتی بادی باکتری را در مجاورت نمونه‌های آب مقطر آلوده به سم باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* با غلظت 10^{-3} مولار قرار داده شد تا در صورت وجود سم باکتری در نمونه، اتصال بین آنتی‌ژن سم با آنتی بادی انجام گیرد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده حاکی از آن است که تا رقت 10^{-3}مولار توسط حسگر پلی مر قالب ملکولی قابل تشخیص بوده و رقت‌های رقیق‌تر قابل ردیابی نمی باشد اما در حسگر طراحی شده به روش نانو سیلیکا، تا رقت 10^{-4} قابل ردیابی می‌باشد، حساسیت تا 60 روز ارزیابی شد. حسگر مبتنی بر پلیمر قالب ملکولی تا 28 روز و حسگر نانوسیلیکا تا 56 روز مورد تایید بوده و بعد از زمان مذکور رو به کاهش قرار گرفت.

نتیجه‌گیری: نانوحسگرهای زیستی کاربردی در مقایسه با روش‌های بیوتکنولوژیک مرسوم همچون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و حتی روش‌های کشت میکروبی، از دقت و حساسیت منحصر به فردی برخوردار بوده و به عبارتی دیگر زمان تشخیص را از چند ساعت به چند دقیقه تقلیل می‌دهد.

واژگان کلیدی: نانوبیو حسگر، اگزوتوکسین *استافیلوکوکوس ارئوس*، پتانسیومتری، طیف سنجی

• مقدمه

سالانه معادل میلیاردها دلار هزینه دور ریز و خروج مواد غذایی فساد یافته از چرخه صنعت غذا می‌باشد که به دلایل متعددی همچون نقل و انتقالات طولانی جاده ای و هوایی و یا دیرکرد جواب غیرقطعی آزمون‌های کنترل کیفی آزمایشگاه‌های همکار و مرجع صورت می گیرد(1) ، این دیرکرد خود به دلیل استفاده از روش‌های استاندارد مرسوم و نیز جواب‌های منفی کاذب ایجاد می‌شود. در بسیاری از موارد ازجمله زمانی که جرم میکروب از بین رفته و سم باکتری در نمونه باقی است، در مواردی همچون بلایای طبیعی و واردات و صادرات درحجم انبوه فرآورده‌های شیری و گوشتی به کشورها در شرایط طبیعی و یا در شرایط غیرطبیعی همچون جنگ‌های انسانی و در برخی موارد در جنگ‌های بیوتروریسم بصورت عمد میلیون‌ها نفر از انسانهای

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

بی گناه گریبان گیر و قربانی مقاصد شوم این عوامل می‌گردند(3).

با توجه به زمان مورد نیاز جهت رویت نتایج حاصل از کشت میکروبی در مبحث کنترل کیفی مواد غذایی قطع بر یقین مدت زمان معادل 48 ساعت و در خصوص برخی از سوش‌ها که نیاز به پیش غنی‌سازی و غنی‌سازی دارند همچون سالمونلا به یک هفته هم نیازمند می‌باشد تا در نهایت نتایج تشخیص اولیه حاصل گردد. استفاده از بیوسنسورها و نانوبیو حسگرها بسیار ارزشمند می‌باشد، زیرا در بسیاری از کارخانجات مواد غذایی در بخش تحقیقات و توسعه و نیز بخش کنترل کیفی زمان لازم برای نگهداری مواد و اعلام نتایج آزمون جهت عدم تأیید و یا تأیید محصول برای عرضه به مصرف کننده بسیار طولانی است. این موضوع سبب کاهش زمان ماندگاری و از طرفی بصورت غیر مستقیم سبب خسارت وارده به تولید کننده می‌گردد (3، 1).

تولید ماده غذایی سالم یکی از مهم‌ترین دغدغه‌های موجود در صنعت غذاست. امروزه مصرف کنندگان خواهان غذایی هستند که حداقل فرآوری روی آن انجام شده باشد و عاری از انواع میکروارگانیسم، ماده افزودنی و مواد نگهدارنده بوده و در عین حال زمان ماندگاری بیشتری را داشته باشد که این مهم به کمک بیو حسگرها ممکن گردیده است(4).

از مهم‌ترین بخش‌های صنعت تمام کشورها که با صنایع غذایی در ارتباط است امنیت غذایی می‌باشد. استفاده از فناوری‌های نوین در این بخش رویکرد جدیدی است که بسیار مورد توجه قرار می‌گیرد. همگرایی فناوری نانو و علم غذا منجر به بروز قابلیت‌های فراوانی می‌شود که همین امر باعث شده که حدود 200 شرکت بزرگ در سراسر دنیا در این زمینه سرمایه‌گذاری کلان نموده و محصولاتی را نیز به بازار عرضه کنند. با توجه به پتانسیل فوق‌العاده کار برد فناوری نانو در صنایع غذایی انتظار می‌رود طی دو دهه آینده انقلاب بزرگی در زمینه محصولات غذایی و کشاورزی پدید آید، به گونه‌ای که اثرات آن بسیار فراتر از کشاورزی مکانیزه و انقلاب Green Revolution خواهد بود (5).

حسگرهای مبتنی به روش پلیمر قالب ملکولی از نوین ترین روشهای طراحی و ساخت زیستگرهای حسی در تشخیص میکروبی مواد غذایی می‌باشند ولیکن بیشتر در بعد شیمی مواد غذایی (پیگیری آنزیمی، خواص حسی و غیره) کاربری داشته و کمتر در تشخیص میکروبی استفاده شده است(6) .

براساس مطالعات و مرورمتون انجام یافته در خصوص سم باکتری مورد نظر نانوحسگری طراحی نشده ولی حسگرهای متعددی از نانوذرات طلا و گرافیت و کربن شبیه سازی شده که بر اساس بررسی Campbell و همکاران درسال 2011 و Ghosh و همکاران درسال 2006سنسورها زمان تشخیص بیشتر و حساسیت کمتری در مقایسه با نانو حسگرها دارا می‌باشند.

هدف از اجرای این تحقیق تشخیص اگزوتوکسین باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* به عنوان یکی از شایع‌ترین عوامل مسمومیت‌های غذایی به دوروش پتانسیومتری و طیف‌سنجی به کمک نانوذرات اصلاح شده هدفمند می‌باشد. هدف اختصاصی طراحی حسگری با کاربری فن آوری نانو بوده تا با حساسیت و دقت زیادی بتواند در زمانی کمتر از 30دقیقه سم حاصل از *استافیلوکوکوس ارئوس* که یکی از شایعترین عوامل مسمویت‌های غذایی می‌باشد را شناسایی نماید.

• مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده عبارتند از: سم باکتری استافیلوکوکوس از سیگما، آنتی‌بادی سم *استافیلوکوکوس ارئوس*، ذرات نانوسیلکا- برند نوترینو وبا سایز 10 نانومتر، استیک اسید تهیه شده از کمپانی مرک، حلال DMF تهیه شده از کمپانی مرک،

تترااتوکسی سیلان تهیه شده از کمپانی سیگما، هیدروکسید آمونیوم تهیه شده از کمپانی مرک،

واکنشگر APTES تهیه شده از کمپانی سیگما، سوکسینیک انیدرید، تری اتیل آمین.

کلیه مواد کاربردی در این تحقیق دارای درجه خلوص تجزیه ای بوده و در تهیه محلول‌ها از آب دوبار تقطیر استفاده شده است).

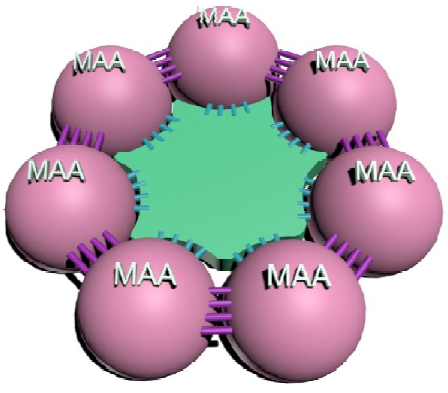
پتانسیومتری مبتنی بر پلیمرقالب ملکولی: به منظور ساخت الگوی‌های مقاوم از نظر فیزیکی و شیمیایی برای اگزوتوکسین استافیلوکوک ابتدا باید محلول مناسبی از این حسگر از محلول خالص آن تهیه شود. برای این منظور از محلول خالص عرضه شده توسط کمپانی سیگما با رقیق سازی مناسب با آب مقطر خالص محلول با غلظت 1×10^{-5} مولار از آن تهیه گردید و در تمام مراحل کار با سم شرایط دمایی استاندارد رعایت گردید و محلول‌ها به صورت روزانه تهیه شدند و در مراحل مختلف آزمایش در دمای 25 °C انجام یافت (7).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

ابتدا غلظت 10^{-5}مولار از اگزوتوکسن *استافیلوکوکوس ارئوس* تیپ A تهیه شده از کمپانی سیگما را بوسیله آب مقطر دوبار تقطیر تهیه شد. در روش پلیمرقالب ملکولی از مونومر متا اکریلیک اسید در دوزهای متعدد استفاده گردید. در این بررسی از نسبت‌های مونومر به سم مختلف شامل نسبت‌های 2، 4، 6، 8، 10 و 12 استفاده شد که در نهایت بعد از بررسی‌های انجام شده نسبت ده به یک از مونومر متا اکریلیک اسید به اگزوتوکسین به عنوان نسبت مناسب برای تولید قالب انتخاب شد (6). جهت تشکیل الگوی مناسب پلی مری در اطراف اگزوتوکسن و برای توزیع حلال پوشی مناسب از حجم حلال بیشتری استفاده گردید.

در روش پلی مرازاسیون رسوبی بر خلاف روش توده‌ای، ازحجم حلال بیشتری استفاده می‌شود که با ایجاد فرصت هسته زایی منجر به تولید ذرات در ابعاد نانو می‌گردد. (در این روش معادل 38ml استفاده گردید) وسپس محلول به آرامی هم زده شد و از عامل پیوند دهنده عرضی اتیلن گلایکول متا کریلات به مقدار 11.32ml استفاده شد و همچنین به عنوان آغازگر واکنش پلی مرازاسیون، از آزوبیس ایزو بوتیرو نتیریل به مقدار 10 میلی‌گرم استفاده شد. بلافاصله بعد از افزودن آغازگر از پرتودهی ماورابنفش برای تسریع واکنش پلی مرازاسیون استفاده شد.استفاده از اشعه ماورابنفش تشکیل رادیکال‌های آزاد وشروع پلی‌مرازسیون را به دنبال دارد.

در نهایت بعد از انجام واکنش، پیوند کووالانسی بین مونومرهای متااکریلیک اسید تشکیل شده و ذرات پلیمری سفید طیف حاصل گردید. همچنین پیوند هیدرونی بین اسید آمینه اگزوتوکسین و متااکریلیک اسید بوجود می‌آید که عامل جذب انتخابی آن خواهد بود (شکل 1).



شکل1. نمایش پیوندهای کووالانسی بین مونومرهای متااکریلیک اسید وبرهمکنش اگزوتوکسین با قالب ملکولی

الگوی پلیمری تشکیل شده در اطراف مولکول‌های اگزوتوکسین با پیوندهای هیدروژنی به عوامل اسیدهای آمینه موجود در ساختار سم پیوند داده و از اینرو برای خارج کردن مولکول سم از محلول رقیق اسید استفاده شد و الگوی پلیمری بجا مانده جهت بکارگیری در حسگر پتانسیومتری وارد مرحله بعدی آزمایش گردید.

(8-10).

از محلول 1 به 10 از متانول و اسید استیک به عنوان محلول اسیدی الکل استفاده شد تا ملکول اگزوتوکسین را از درون پلی‌مر تشکیل شده خارج نماید. مکانسیم این عمل از طریق حذف پیوندهای هیدروژنی بین اسید آمینه‌ها و متااکریلیک اسید به عنوان واحدهای مونومر در پلی مر نشان داده شده است(11).

به منظور تعیین خصوصیت نانوذرات پلیمری تولیدی و تعیین مورفولوژی و اندازه این ذرات از تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی SEM استفاده گردید.

جهت آماده‌سازی نمونه‌های میکروسکوپ الکترونی، ابتدا آماده سازی ذرات پلیمریMIP (Molecularly imprinted polymer) و NIP (Non-imprinted polymer) از طریق تهیه سوسپانسون در حلال استونیتریل درون فالکون‌های آزمایشگاهی انجام گردیده و مقدار 3 ml از محلول حاصله را روی پایه دارای چسب گذارده تا حلال تبخیر گردد و سپس در دستگاه اسپاترکوتر (Spotter Coater) که حاوی گاز آرگون می‌باشد به منظور تثبیت روکش آب طلا (به روی نمونه‌های موجود برپایه) انتقال داده تا بعد از 10 دقیقه نمونه‌ها به محفظه دستگاه میکروسکوپ انتقال یابند و در نهایت بعد از تنظیم میکروسکوپ SEM (**scanning electron microscope**)به روی بزرگنمایی X 10 تصاویر نمونه بر روی مانتیور ظاهر گردیده که در بخش نتایج رویت می‌گردد.

ساخت میکروالکترود غشایی با اصلاحگر پلیمرقالب ملکولی: از دو جنس گرافیت و طلا جهت ساخت بدنه میکروالکترود می‌توان استفاده نمود که در این پروژه باتوجه به محدودیت‌های موجود از الکترود گرافیت استفاده گردید. این میکرو الکترود در غلافی از لوله کاپیلاری به شکل یک میکروواپر محبوس گردید و لوله شیشه ای کاپیلاری محتوی میکروالکترود گرافیت بصورت عمود بر سطح مقطع برش داده شد و بعد از برش سطح مقطع کوچکی از گرافیت رویت

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

گردید که جهت تهیه غشا نازک پلی مری متصل روی سرالکترود ، استفاده گردیده شد(6).

تهیه غشا نازک پلی مری روی سطح مقطع الکترود: مقدار 50mg پودر پلی ونیل کلراید را با مقدار 50 mg از یونوفور و مقدارمعینی از افزودنی KTPCIPB (پتاسیم تتراکیس پاراکلروفنیل بورات) به همراه 75میلی گرم پلاستی سایزر مخلوط نموده و مخلوط حاصله را در حجم 5 ml حلال تتراهیدروفوران در بشر شیشه ای 25 ml حل نموده و در فضای آزمایشگاه جهت تبخیر حلال به مدت 20 دقیقه باقی می‌گذاریم تا محلول غلیظ روغنی همگن حاصل گردید برای تسریع در حصول این محلول از حرارت غیرمستقیم استفاده شد تا زمان کاهش یابد ولی نکته قابل توجه آن است که حرارت باید به نحوی باشد تا از به جوش آمدن محلول جلوگیری گردد (12).

برای ایجاد غشا نازک پلی مری روی سطح الکترود: نوک غشا برش زده شده را در محلول غلیظ روغنی بالا به صورت لحظه‌ای فرو برده و خارج نموده در نهایت غشای تشکیل شده در سرالکترود را به مدت 24 ساعت در مجاور هوای آزمایشگاه خشک نموده و به مدت 48 ساعت در محلول 10^{-3}مولار سم *استافیلوکوکوس ارئوس* گذارده تا اگزوتوکسین به جایگاه طراحی شده قبلی اتصال یابد و بعد از گذشت این زمان و انجام اتصال به وسیله روش پتانسیومتری و بررسی شیب نرست به ادامه آزمون طراحی پرداخته شد(13).

اساس روش بر اساس سازوکار الکتروشمیایی می‌باشد که در این واکنش پلیمرقالب ملکولی به عنوان یک اصلاحگر جهت بهبود خواص الکتروشمیایی غشایی پلی ونیل کلراید بکار رفته است تا سم باکتری مربوطه را شناسایی نماید. جهت تشخیص اختلاف پتانسیل حاصل از وجود و یا عدم وجود سم باکتری از دستگاه pH/mVمترمدل 827 ساخت سوئیس استفاده شد، علت استفاده از این دستگاه، پتاسیم تتراکیس پاراکلروفنیل بورات اندازه گیری پتانسیل الکترود یون گزین طراحی شده می‌باشد این دستگاه دارای الکترود مرجع Ag/AgCl اشباع شده با کلرید پتاسیم 3 مولار است که این الکترود خود دارای پتانسیل معادل0/222 ولت می‌باشدکه این عدد هم تابعی از غلظت کلرید پتاسیم درون الکترود می‌باشد که به عنوان اشباع کننده الکترود هست، در نهایت اختلاف پتانسیل الکترود Ag/AgCl با الکترود PVC عددی می‌باشد که در نتایج به عنوان پاسخ حسگر ناشی از وجود یا عدم وجود اگزوتوکسین باکتری مطرح گردیده است (14).

بررسی حساسیت حسگر: براساس مندرجات برگه آنالیز محلول اگزوتوکسین A باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* تهیه شده از کمپانی سیگما به ازای هر میکرولیتر حاوی 2 میلی گرم سم که در حجم ویال 200 میکرولیتری تهیه شده معادل 400 میلی‌گرم وزن سم می‌باشد. جهت محاسبه جرم ملکولی سم تجاری براساس مندرجات برگه آنالیز، هر یک میلی‌مول از سم دارای جرم ملکولی 202 میلی گرم بوده که در وزن محاسبه شده قبلی ویال، مقدار 2میلی مول وجود دارد . براساس تعریف مولار،2 میلی مول محلول حاصله را در 1 ml حل کرده و بدین ترتیب سم 1مولار تهیه شده (7)، سم 1مولار به دست آمده جهت حداقل رقتی که حسگر تفکیک می‌نماید به کار می‌رود.

با استفاده از آب مقطر دوبار تقطیر 1 ml از سم 1 مولار را با 9 ml آب مقطر دوبار تقطیر مخلوط شد و تا رقت 0/1 سم به دست می‌آید در ادامه مجددا 1 ml از رقت قبلی را با 9 ml آب مقطر دوبار تقطیر ترکیب و رقت 0/01 به دست آمد و به همین ترتیب تا رقت 0/000001 تهیه گردید. لازم به ذکراست که جهت سهولت در کاربری حسگر و ورود الکترود به درون محفظه برای تهیه این رقت‌ها از پلیت الایزا استفاده شده است.

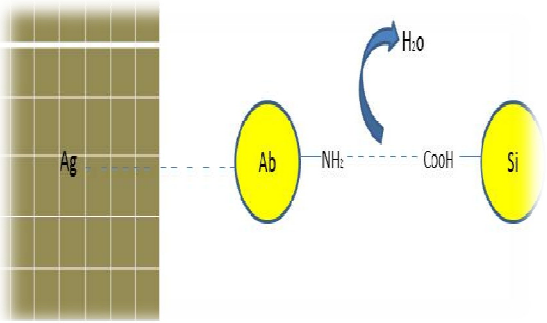
سپس با استفاده از پتانسیومتر هر رقت توسط الکترود دستگاه سنجیده، سپس در دستگاه اختلاف پتانسیل هر رقت ثبت گردید چنانچه با ورود میکروالکترود از رقت اولیه به رقت بعدی میزان اختلاف پتانسیل 59 میلی ولت باشد طبق تعریف از رابطه نرست تبعیت می‌کند و پاسخ الکترود در رقت بعدی قابل قبول بوده و بیشتر می‌شود ولی اگر هر رقتی با رقت رقیق شده بعدی دارای اختلاف پتانسیل 59 میلی ولت پر دیکید باشد طبق تعریف رابطه استاندارد شیب نرست یعنی حسگر به وجود اگزوتوکسین در آن رقت پاسخ داده است ولی اگر اختلاف پتانسیل هر رقتی با رقت قبلی یعنی رقت غلیظ تر خود کمتر از 59 میلی ولت باشد یعنی حسگر به آن رقت حساس نبوده و به عبارتی نتوانسته آن رقت را تشخیص بدهد(6).

طراحی نانوبیو حسگر مبتنی برروش طیف سنجی: در این تحقیق از نانو ذرات سیلیکای با سایز متوسط 10 نانومتر (براساس برگه راهنمای کمپانی نوترینو) برای تشخیص سم باکتری استفاده شده است. به منظور تشخیص اگزوتوکسین

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

از پیوند دهی نانو ذرات با آنتی بادی به عنوان مبنـای عامـل تشخیصی استفاده گردید. علت استفاده از ذرات نانوسـیلیکا، عوامل هیدروکسیل درسطح ذرات این پارتیکل می‌باشند (به عبارتی بهتر به علت سطح اصلاح شونده‌ای که دارا هسـتند). بعد از اصلاح به روش استروبر می‌توان، عامل هیدروکسیل را به عامل آمین و متعاقب آن به کربوکسیل تبـدیل کـرد کـه پودر جامد نانوسیلیکا بعد از اصلاح به صـورت مـایع تبـدیل می‌شود و بعد خشک گردیده و جهت اتصال بـه آنتـی بـادی استفاده می‌گردد(8).

برای پیوند نانو ذرات با آنتی بـادی از روش اصـلاح سـطح نانو ذرات سیلیکا استفاده شـده اسـت. بـدین ترتیـب کـه از تثبیت مستقیم آنتی بادی روی نانو ذرات سیلیکای عامل دار شـده بـا کربوکسـیلیک اسـید اسـتفاده شـده و در واقـع مجموعه‌ای از اتصال نانو ذره اصلاح شده به آنتی بادی ارائـه شده است. این بیو حسگر از مزایـایی همچـون کوتـاه بـودن زمان آنالیز و حساسیت در تشـخیص سـم برخـوردار اسـت، همچنین از روش اصـلاح شـده اسـتوبر (17-15-10) بـرای تهیه نانو ذرات سیلیکای اصلاح شـده اسـتفاده شـده اسـت. براساس این روش نانو ذرات سیلیکای حاوی عامل آمـین بـه عنوان پیش ماده استفاده شده و تولید نانو ذرات مورد نظر با گروه عاملی کربوکسیلیک اسـید در بسـتری از حـلال DMF (دی متیل فرمامید) انجـام گرفتـه اسـت. بررسـی‌هـا نشـان می‌دهد که نانو ذرات از ویژگـی‌هـای منحصـر بـه فـردی در کاربردهای بیوآنالیز و بیوتکنولوژی برخوردارنـد. روش نـوین اصلاح نانو ذرات توصیف شده در این تحقیق به تشکیل یـک پیوند آمیدی بین نانو ذره و پروتئین آنتی بادی منجـر شـده است. این پیوند از طریق یک واکنش فعال استری بین گـروه آمینی زنجیره آنتی‌بادی و عامل کربوکسیلیک اسید صـورت می‌گیرد، مراحل مربوطه در شـکل 3 و 2 نمـایش داده شـده است (12).



شکل2. نمای شماتیک اتصال آنتی بادی متصل شده به نانوسیلیکای اصلاح شده

(TEOS) (4 ml) + mixture [ammonium hydroxide (3.3 ml) +ethanol (47 ml)] Stirring reaction was continued 24 h silica colloidal dispersion vigorously stirring +APTES (0.3 ml) mixture was stirred overnight. nanoparticle was purified by centrifuga-tion and redispersion in ethanol. (repeated three times).

.

شکل3. فرمولاسیون روش استوربر جهت اصلاح کردن نانوسیلیکای مصرفی در حسگر

روش اصلاح شده استوربر: مطابق شکل شماتیک 3 ، ابتدا 4ml از تترااتوکسـی سـیلان بـه مخلـوطی شـامل 3/3ml هیدروکسید آمونیم و 47ml اتـانول افـزوده شـده و محـیط واکنش در دمای آزمایشگاه طی 24 ساعت روی یـک همـزن مغناطیسی بهم زده شـد بـه طـوری کـه مخلـوط کلوئیـدی سیلیکا در پایان قابل مشاهده است. سپس ml 0/3 واکنشگر APTES به محیط واکنش افزوده شد و به مدت یـک شـبانه روز عمل اختلاط روی همـزن در دمـای 25°C انجـام شـد. بدین ترتیب سطح نانو ذرات سیلیکای تولیدی به گروه آمین تغییر می‌یابد و اصطلاحا آمین دار می‌شود. برای تغییر گـروه آمینی به گروه اسـید کربوکسـیلیک، یـک گـرم از نـانوذرات سیلیکای آمین دار شده در حلال ml 50 از حلال دی متیـل فرم آمید در داخل فلاسک دیسپرس گردید. سپس نیم گـرم سوکسینیک انیدرید و ml 5 تـری اتیـل آمـین بـه فلاسـک مذکور افزوده شد. این مخلوط در داخـل یـک همـزن تحـت دمای 70°C به مدت 20 ساعت بهم زده شد. بدین ترتیـب سطح نـانو ذرات تولیـدی بـه شـکل اصـلاح شـده بـا عامـل کربوکسیلیک اسید در خواهد آمـد. ایـن ذرات بایسـتی طـی چند مرتبه دیسپرس شـدن (درمعـرض سـونیکیتور باکمـک امواج ماوراصوت) در حلال دی متیـل فرمامیـد و سـانتریفوژ شدن به طور کامل شسته شوند (19-18-11).

بررسی حساسیت حسگر: جهت بررسی حساسیت حسگر مقدار گرم نانوسیلیکا و نیـز غلظـت آنتـی‌بـادی و در نهایـت آنتـی‌ژن تغییـر یافتـه و بـه بررسـی افـزایش و یـا کـاهش حساسیت حسگر در هر یک از مراحل مذکور پرداخته شد در ابتدا نانوذرات عامـل دارشـده تولیـدی در مرحلـه قبـل کـه مستعد اتصال به آنتی‌بـادی هسـتند، در معـرض رقـت‌هـای متفاوت آنتی بادی قرار گرفتند. اتصال گروه گروبوکسیلیک از نانوذرات به گروه آمینی از پایانه آمینی آنتـی بـادی در ایـن مرحله مدنظر است. بدین منظور 5 میلـی گـرم از نـانوذرات

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

اصلاح شده در داخل 5 ml از رقت‌های مختلف آنتی بادی قرارگرفت و عملیات اختلاط آرام به مدت 10 دقیقه انجام شد. از رقت‌های 1/5 ، 1/10 ، 1/20 و 1/40 آنتی بادی استفاده گردید. پس از پایان عملیات اتصال، به هرکدام از محلول‌های فوق، محلول 10^{-3} مولار سم افزوده شد و پس از یک اختلاط آرام یک دقیقه ای در داخل لوله آزمایش، محلول کروموژن به آن افزوده شد و شدت تغییر طیف هر یک در طول موج 520 نانومتر (باتوجه به طیف رنگی قرمز و نارنجی از طیف هفت رنگ در این طول موج بررسی گردید) دنبال گردید.

به منظور افزایش میزان حساسیت حسگر، مقدار گرم پودر نانوسیلیکای مصرفی افزایش داده شد بدین ترتیب که مقدار 6 و 8 و10 میلی‌گرم نانوسیلیکای عامل دار به روش استوربر تهیه و مطابق مراحل بالا آماده اتصال به آنتی بادی گردید سپس سوسپانسیون حاصل از نانوسیلیکای عامل دار متصل به آنتی بادی باکتری را در مجاورت نمونه‌های آب مقطر آلوده به سم باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* با غلظت 10^{-3} قرار داده تا در صورت وجود سم در نمونه، اتصال بین آنتی‌ژن سم با آنتی بادی انجام گیرد در نهایت در مرحله بعد بوسیله اسپکتروفتومتری نتایج حاصل از جذب نوری ناشی از ماده کروموژن در حسگرهای حاوی گرم‌های متفاوت از نانوسیلیکا بررسی گردید (13).

در پایان به منظور بررسی آخرین پارامتر احتمالی در طراحی این حسگر به بررسی رقت‌های متفاوت سم پرداخته شد یعنی در این بخش مقدار گرم معین از نانوسیلیکا که متصل شده با مقدار ایده آل به دست آمده از آنتی بادی در مرحله قبل می‌باشد در معرض رقت‌های متفاوت سم باکتری قرار داده شد تا حداقل مقدار قابل تشخیص این حسگر با مقدار نانوسیلیکا و آنتی بادی به دست آمده تعیین گردد.

تعیین طول عمر حسگر: منظور از تعیین طول عمر حسگر این است که هر یک از حسگرهای مبتنی بر پلیمرقالب ملکولی و یا حسگر حاصل از اتصال آنتی بادی باکتری به نانوسیلیکا تا طول عمر حسگر (Life Time) چه محدوده‌ای از زمان خصوصیات تشخیصی خود را حفظ می‌نمایند یا به عبارتی بهتر توانایی تشخیص سم را دارند که این مهم به مدت 2 ماه هر 4 روز یکبار انجام یافت(14).

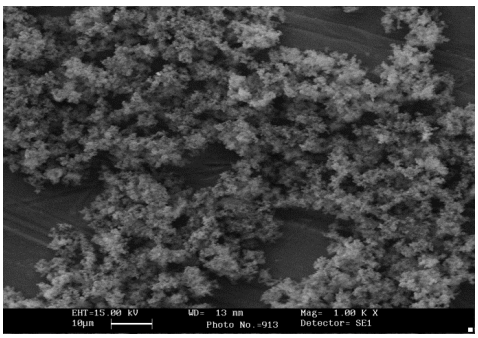
• یافته‌ها

نتایج حساسیت حسگر پلیمرقالب ملکولی: همان گونه که در جدول 1 مشاهده می‌گردد در رقت‌های 2- و 3- مولار، اختلاف عددی 59 میلی ولت مشهود بوده ولی از رقت 3- به بعد تفاضل اختلاف پتانسیل معادل 59 میلی ولت نمی باشد و حسگر قادر به تفکیک این رقت از رقت‌های رقیق تر نیست. لذا براساس نتایج حاصله رقت 3- حداقل رقت می‌باشد که نانو حسگر در آب مقطر قادر به تشخیص سم می‌باشد.

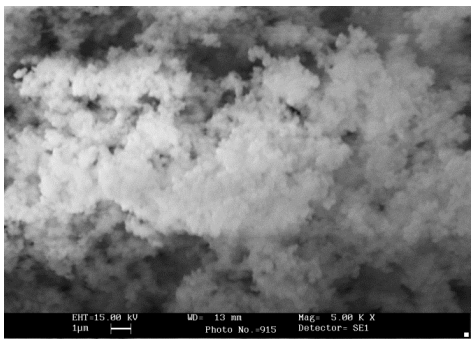
جدول 1. اختلاف پتانسیل‌های حاصل در رقت‌های متعدد از سم باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس*

ردیف	ولتاژ 107mV	رقت ها 10^{-1}
1	166mV	10^{-2}
2	226mV	10^{-3}
3	269mV	10^{-4}
4	338mV	10^{-5}
5	365 mV	10^{-6}

نتایج تصاویر بزرگنمایی حاصل از میکروسکوپ: تصاویرمیکروسکوپ الکترونی ذرات پلیمرقالب ملکولی در شکل‌های 4 تا 7 مشاهده می‌شود.

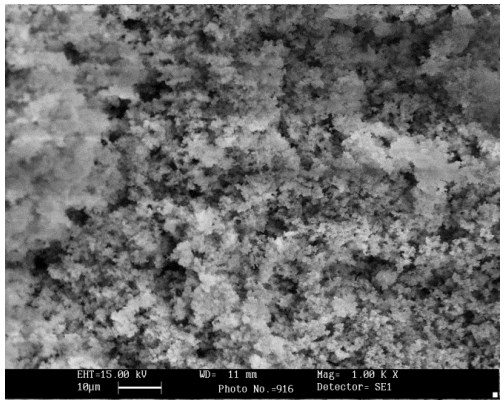


شکل4. تصویرمیکروسکوپ الکترونی ذرات پلیمرقالب ملکولی (MIPMolecularly imprinted polymer) با بزرگنمایی 1/00 KX با قطرذرات 10میکرومتر در مقیاس نشان داده شده

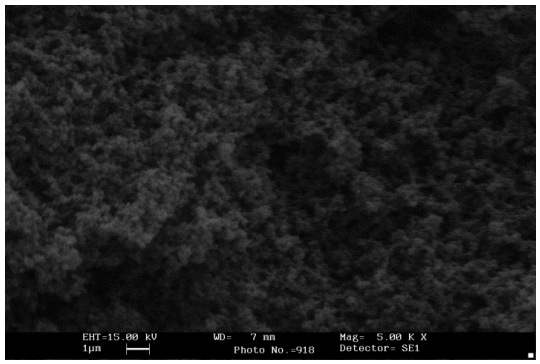


شکل5. تصویرمیکروسکوپ الکترونی ذرات پلیمرقالب ملکولی (NIPMolecularly imprinted polymer) با بزرگنمایی 1/00 KX با قطر ذرات 10میکرومتر در مقیاس نشان داده شده

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]



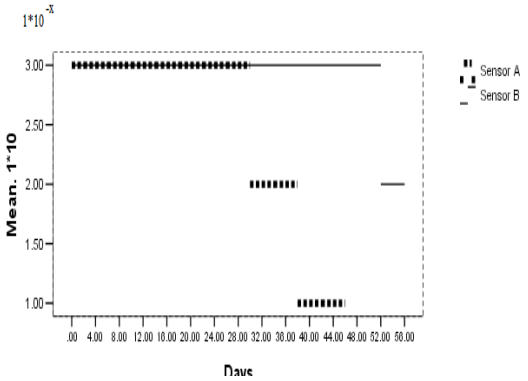
شکل6. تصویرمیکروسکوپ الکترونی ذرات پلیمرقالب ملکولی (MIPMolecularly imprinted polymer) با بزرگنمایی KX 1/00 با قطر ذرات 10میکرومتر در مقیاس نشان داده شده



شکل7. تصویر میکروسکوپ الکترونی ذرات پلیمرغیر قالب ملکولیNIP NIP:Non-imprinted polymer با بزرگنمائیKX 5/00با قطر ذرات 2میکرومتر

نتایج مربوط به پایداری حساسیت حسگرها: نتایج حاصل از بخش دوم پروژه در خصوص تحلیل میزان حفظ حساسیت حسگر براساس گذشت زمان حاکی از آن است که حسگر در روز 30 به بعد نسبت به پاسخ نسبت به اتصال به آنتی‌ژن رو به کاهش رفته در حالی که حسگر دوم (با درصد بالاتر از مونومرهای متااکریلیک اسید) تا 52 روزگی نسبت به تشخیص سم پاسخ مثبت داده و بعد از این زمان به مرور رو به کاهش رفته است، لذا نتایج مذکور حاکی از آن است که حسگر دوم دارای زمان مصرف بیشتری نسبت به حسگر نوع اول می‌باشد (شکل 8).

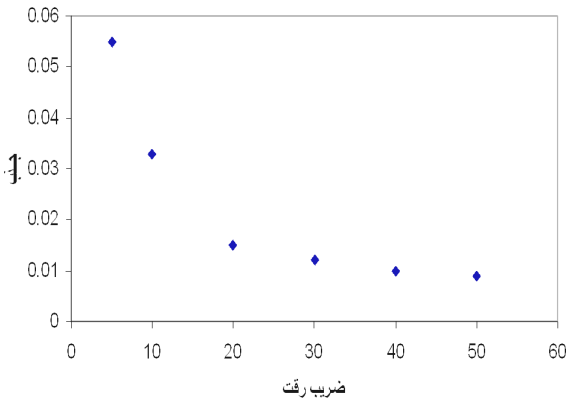
نتایج حاصل از حساسیت حسگر طیف‌سنجی بر اساس مقدار پارامتر نانوسیلیکا: براساس نتایج به دست آمده مقدار 8 میلی‌گرم از پودر نانوسیلیکا دارای اتصال بیشتر با عامل آمین آنتی‌بادی بوده که خروج ملکول‌های آب به دست آمده از واکنش استری بین گروه آمین و کربوکسیل بیانگر این رخداد می‌باشد لذا براساس 8 سی سی از آب به دست آمده از واکنش، مقدار پودر مصرفی 8 گرم بوده و بیشتر از این مقدار تاثیری در واکنش استری فی ما بین نخواهد داشت.



شکل 8. مقایسه کمترین حد جداسازی شده در حسگر بر اساس گذشت زمان طول عمر

نتایج حاصل از حساسیت حسگر دوم بر اساس پارامتر آنتی‌بادی: نتایج حاکی از آن است که مقدار جذب نوری در محور عمودی از رقت 1/20 به بعد کاهش داشته و از0/01 تقلیل می‌یابد و کاهش مقدار جذب حاکی از عدم اتصال آنتی‌بادی در رقت‌های رقیق‌تر می‌باشد.

شکل9 زیر تغییرات شدت جذب را بر حسب رقت‌های مختلف آنتی بادی نشان می‌دهد. همانطور که در این شکل ملاحظه می‌شود تا رقت 1/20 منحنی جذب به صورت خطی است و حداکثر ظرفیت نانوذرات اصلاحی برای اتصال به آنتی بادی در رقت 1/20 دیده می‌شود (شکل 9).

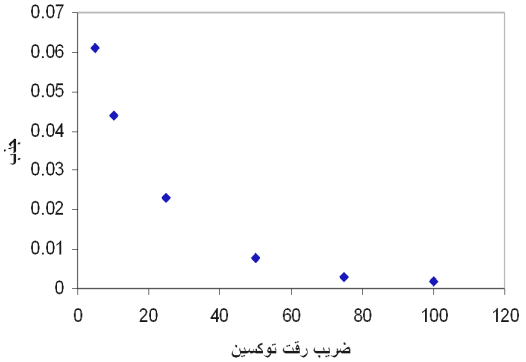


شکل 9. تغییرات جذب سیستم تشخیصی سم در حضور نانوذرات اصلاح شده بر حسب ضریب رقت آنتی بادی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

نتایج حاصل از حساسیت حسگر دوم بر اساس پارامتر آنتی‌ژن: باتوجه به نتایج بـه دسـت آمـده در مرحلـه قبـل، آزمایشات تشخیص سم در رقت 1/20 ثابت اتصال آنتی بادی به نانوذره ادامه یافت و رقـت‌هـای مختلـف سـم شـامل1/5، 1/10 ، 1/25 ، 1/50 ، 1/75 و 1/100 در تمـاس بـا محـیط ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

به عبارتی با حفظ مقدار 8گرم نانوسیلیکای اصلاح شـده و متصـل بـه رقـت 1/20 آنتـی بـادی، رقـت‌هـای متفـاوت اگزوتوکسین تحلیل گردید، همـان طـور کـه در ایـن شـکل ملاحظه می‌شود سامانه تشخیصی حسگر قادر به ردیابی سم تا رقت 1/78 با دقت بالا می‌باشد و رقت‌هـای بیشـتر پاسـخ جذب معنی داری را ایجاد نمی کند (شکل 10).



شکل 10. تغییرات جذب سیستم تشخیصی سم در حضور نانوذرات اصلاح شده بر حسب ضریب رقت سم

بر اساس جدول شماره 2 چنین بنظر می‌رسد که احتمـال شناسـایی سـم توسـط حسـگر پتانسـیومتری بـه میـزان 84/38±36/89 برابر به مراتب کمتر از حسگر طیف سـنجی به میزان 93/75±24/59 برابر بر اساس (انحراف از معیـار ± میانگین) می‌باشد (6).

بر اساس نتایج جـدول شـماره 3 و از آنجـایی کـه تعـداد نمونه‌های مثبت جدا شـده سـم در حسـگر پتانسـیومتری و طیف‌سنجی به ترتیب 27 و 30 از 32 نمونه کل بوده است ، مقدار حد معنی داری برای حسگر اول P=0/211 و موییـد آن است که احتمال شناسایی سم توسط حسـگر پتانسـیومتریاز مقدار مفـروض 90% کمتـر اسـت و فـرض صـفر دلالـت بـر کوچک بودن این نسبت از مقدار 0/9 دارد.

از طرفی حد معنی داری برای حسگر طیف سنجی P=0/0 بوده و فرض صفر دلالت بر بزرگ یا حداقل مساوی بودن این نسبت از مقدار 0/9 دارد. لذا چنین نتیجه‌گیری می‌کنیم که حسگر طیف‌سنجی احتمال جداسازی سم را در حداقل 90% موارد خواهد داشت.

جدول 2. آماره‌های توصیفی در خصوص مقایسه دو حسگر پتانسیومتری و طیف‌سنجی

GROUP	Mean	Standard deviation	minimum	maximum	N
Sensor A	.8438	.36890	.00	1.00	32
Sensor B	.9375	.24593	00	1.00	32

جدول 3. بررسی نتایج آزمون Binominal در دو حسگر پتانسیومتری و طیف‌سنجی

Binomial Test

GROUP			Category	N	Observed Prop.	Test Prop.	Asymp. Sig. (1-tailed)
Sensor A	S	Group 1	YES	27	.8	.9	.211[a]
		Group 2	NO	5	.2		
		Total		32	1.0		
Sensor B	S	Group 1	NO	2	.1	.9	.000
		Group 2	YES	30	.9		
		Total		32	1.0		

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

• بحث

امروزه استفاده از تکنیک‌های سریع و حساس تشخیص پاتوژن‌های منتقله از طریق مواد غذایی از اهمیت خاصی برخوردارند. از آنجا که در مورد بسیاری از عوامل بیماریزای منتقله از طریق مواد غذایی با غلظت‌های بسیار کم آلودگی مواجه هستیم، بنابراین برای اطمینان از سلامت مواد غذایی به روش‌های سریع و حساس تشخیص نیازمندیم(7).

روش‌های تشخیص سم در مواد غذایی نیاز به آماده سازی مقدماتی نمونه‌ها و استخراج سم بوده که بسیار خسته کننده و زمان بر هستند در حالی که استفاده از بیو حسگرها هم حساسیت آزمون را افزایش داده و هم زمان تشخیص را کاهش می‌دهد و این در حالی است که از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشند (12).

یکی از مزایای بسیار مهم این روش می‌توان به پایش مستقیم نتایج بصورت آنلاین در سیستم‌های مدیریت کنترل کیفیت غذا اشاره نمود، لذا در زمان به عنوان فاکتور تعیین کننده در کیفیت محصول صرفه جویی می‌گردد (8) .

در بسیاری از موارد جرم باکتری که به وسیله روش‌های مذکور و قدیمی قابل تشخیص است، به علت رقابت پاتوژن‌های دیگر و یا عوامل محیطی همچون دما و محیط اسیدی و غیره از بین می‌رود و سم باکتری که ممکن است به دما مقاوم باشد باقی می‌ماند که حسگر توانایی تشخیص در این موارد را به تنهایی داشته و کمک بسزایی به محققین و متخصصان کنترل کیفیت در سیستم‌های مدیریت ایمنی غذا می‌نماید. در جمع بندی موارد مذکور سرعت و دقت و شرایط تشخیص از جمله عوامل مهم در برتری حسگرها نسبت به روش‌های پیشین و مرسوم در کنترل کیفیت صنایع غذایی می‌باشد (2، 1).

براساس مطالعه Wu S, Zhang L, و همکاران در سال 2011 برای تشخیص سموم ارگانوفسفره در پساب فاضلاب‌های صنعتی با استفاده از سنسورمبتنی بر نانوذرات سیلیکا توانستند در مدت زمان کمتر از 8 دقیقه با شیب خطی 10^{-9} را تفکیک نمایند، این در حالی است که در مقایسه با سنسور دوم تحقیق مذکور از شیب معنی‌دارتری برخوردار بوده و زمان تشخیص نیز بسیار کمتر می‌باشد که می‌توان با استفاده از سایز پایین تر نانوذرات میزان سرعت رسانش را افزایش داد.

در مطالعه دیگری توسط Ghosh G در سال 2006 بیوسنسور نوری جهت تشخیص سم آلفا باکتری استافیلوکوکوس ارئوس طراحی شد که از نظر نوع سنسور متفاوت با سنسورهای کاربردی در این تحقیق می‌باشد ولیکن از لحاظ جرم باکتری استاف متشابه تحقیق انجام شده می‌باشد و لازم به ذکر است که مدت زمان تشخیص کمتر از 30 دقیقه بوده که در مقایسه با نتایج حاصله زمان تشخیص هر دوسنسور یکسان می‌باشد ولیکن طول عمر سنسور دوماه بوده که در مقایسه باسنسور پلیمرقالب ملکولی زمان بیشتری قابل استفاده بوده ولی درمقایسه با سنور نانوسیلیکا برابر می‌باشد.

در کل درخصوص تعداد 32 نمونه آب مقطر آلوده به سم باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* تیپ A بوسیله حسگر پلیمرقالب ملکولی تعداد 27 نمونه تشخیص کیفی داده شد ولی در خصوص حسگر مبتنی بر اتصال آنتی‌بادی به نانوسیلیکا از تعداد32 نمونه مذکور تعداد30 نمونه با حداقل غلظت قابل تشخیص معادل 10^{-3}مولار تشخیص کمی و کیفی داده شد.

در این طرح، بررسی‌ها به طور کلی نشان می‌دهد که نانو ذرات از ویژگی‌های منحصر به فردی در کاربردهای بیوآنالیز و بیوتکنولوژی برخوردارند. روش نوین اصلاح نانو ذرات توصیف شده در روش اتصال آتی بادی به نانو پارتیکل به تشکیل یک پیوند آمیدی بین نانو ذره و اگزوتوکسین پروتئین منجر شده است. این پیوند از طریق یک واکنش فعال استری بین گروه آمینی زنجیره اگزوتوکسین و عامل کربوکسیلیک اسید صورت می‌گیرد.

این نانوبیو حسگر از مزایایی همچون کوتاه بودن زمان آنالیز و حساسیت بیشتر در تشخیص سم برخوردار است، ولیکن از جمله معایب این متد طراحی می‌توان به مورد زیر اشاره نمود که دربرخی مواقع که به دلیل از دست رفتن توانایی برخی آنتی بادی‌ها برای پیوند با آنتی‌ژن به دلیل درگیر بودن با نانو ذرات سیلیکا مقدار حساسیت سامانه تشخیصی با محدودیت مواجه است در اینجا فاکتور تعیین کننده در حساسیت حسگر خود آنتی بادی است نه غلظت اگزوتوکسین در شرایطی که آنتی بادی به میزان کمتر از مقدار ذکر شده در طراحی استفاده گردد با نانو سیلیکای اصلاح شده باند می‌شود ولی توانایی اتصال به آنتی‌ژن یا همان سم بعلت درگیری با نانو سیلیکا کاهش می‌یابد (12) که در این زمان سبب کاهش میزان حساسیت حسگر می‌گردد. در اکثر مواقع که مشکلی از لحاظ وجود آنتی بادی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

نداشته باشیم میزان حساسیت این نوع حسگر در مقایسه با حسگر پلیمر قالب ملکولی بسیار بالاتر ودقیق تر می‌باشد، در بخش دوم مقایسه می‌توان به هزینه تمام شده حسگر با در نظر داشتن خصوصیات میکروبی حسگر اشاره نمود. حسگر پلیمر قالب ملکولی هزینه بسیار زیادی جهت طراحی اولیه نیاز دارد ولی در شبیه سازی آن و در نهایت تولید انبوه این نقیصه مرتفع می‌گردد. ولی هزینه تمام شده حسگر طراحی شده براساس اتصال آنتی بادی به نانو ذره به مراتب ایده آل تر بوده و تابعی از نوع نانو پارتیکل استفاده شده و نوع آنتی‌ژن و آنتی‌بادی مصرفی از باکتری و یا هر نوع سوش پاتوژن می‌باشد.

ساخت حسگرهای پتانسیومتری مبتنی بر پلیمرهای قالب مولکولی از نظر دستگاهی کاملا مقرون به صرفه و ارزان است ، پس از ساخت حسگر، به کمک یک دستگاه پتانسیومتر ساده می‌توان آزمایش مورد نظر را انجام داد به عبارتی دیگر ترکیبات لازم برای ساخت حسگر گران قیمت ولی دستگاه لازم جهت تشخیص و اعلام نتایج بسیار ساده و قابل دسترس می‌باشد ، اما مواد شیمیایی مورد استفاده در ساخت حسگر اغلب خطرناک بوده و آلاینده محیط زیست محسوب می‌شوند که از بعد سازمان جهانی محیط زیست EPAترکیبات بکار رفته در حسگر آنتی بادی متصل به نانوذره برخلاف حسگر پلیمرقالب مولکولی دوستار محیط زیست بوده و ترکیبات شیمیایی کمتری مصرف می‌گردد در مقایسه با ترکیبات حسگر روش اول، ضمن این که مواد مورد استفاده در ساخت اجزای تشکیل دهنده حسگر اول بسیار گران قیمت بوده و هزینه ساخت آن را بالا می‌برند. از معایب دیگر این نوع بیو حسگر می‌توان به کوتاه بودن عمر آنها و از دست رفتن حساسیت آنها اشاره نمود این امر در خصوص هر دو نوع حسگر صادق است ولی کاهش حساسیت در حسگر نوع پتانسیومتری به مراتب مشهود تر ازنوع نانوسیلیکا براساس گذشت زمان می‌باشد لذا براساس تحقیقات انجام شده و مرور متون علمی معتبر حسگر طراحی شده براساس اتصال آنتی بادی به نانوذره دارای حساسیت بالاتر و قیمت تمام شده کمتر و طول عمر بیشتر و ترکیبات مخرب کمتر از لحاظ محیط زیست و سلامت انسان می‌باشد ولی مقدار و نوع خلوص آنتی بادی در تعیین حساسیت و طول مصرف حسگر بسیار حائز اهمیت می‌باشد (14، 13).

به طور کلی ساخت بیو حسگر هایی که مبتنی بر استفاده از اتصال آنتی بادی به نانوذره هستند نیاز به دانش فنی و نیروی متخصص برای اتصال هدفمند آنها به آنتی بادی است. تولید نانوذرات مصرفی هم بسیار فنی و تخصصی است که البته در این تحقیق بصورت آماده و تجاری استفاده گردیده شد و خرید آنها مستلزم صرف هزینه زیادی بر اساس نوع آن می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان کمال تشکر و قدردانی را از بخش بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران و اداره کل آزمایشگاههای مرجع وزارت بهداشت (آزمایشگاه فرآورده‌های نانو) ، آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم وتحقیقات تهران به جهت مساعدت‌های لازم در جهت اجرای این پروژه اعلام می‌دارند.

• References

1. Campbell K, Rawn DF, Niedzwiadek B, Elliott CT. Paralytic shellfish poisoning (PSP) toxin binders for optical biosensor technology: problems and possibilities for the future: a review. Food additives & contaminants Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment. 2011;28(6):711-25.
2. Chen H, Hu QY, Yue Z, Jiang JH, Shen GL, Yu RQ. Construction of supported lipid membrane modified piezoelectric biosensor for sensitive assay of cholera toxin based on surface-agglutination of ganglioside-bearing liposomes. Analytica chimica acta. 2010;657(2):204-9.
3. Chen H, Zheng Y, Jiang JH, Wu HL, Shen GL, Yu RQ. An ultrasensitive chemiluminescence biosensor for cholera toxin based on ganglioside-functionalized supported lipid membrane and liposome. Biosensors & bioelectronics. 2008;24(4):684-9.
4. Ghosh G, Bachas LG, Anderson KW. Biosensor incorporating cell barrier architectures for detecting Staphylococcus aureus alpha toxin. Analytical and bioanalytical chemistry. 2007;387(2):567-74.
5. Chilton M, Black MM, Berkowitz C, Casey PH, Cook J, Cutts D, et al. Food insecurity and risk of poor health among US-born children of immigrants. American journal of public health. 2009;99(3):556-62.
6. Mashhadizadeh MH, Talemi RP. Used gold nano-particles as an on/off switch for response of a

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

potentiometric sensor to Al(III) or Cu(II) metal ions. Analytica chimica acta. 2011;692(1-2):109-15.

7. Xu G, Xia JH, Zhou H, Yu CZ, Zhang Y, Zuo KJ, et al. Interleukin-6 is essential for Staphylococcal exotoxin B-induced T regulatory cell insufficiency in nasal polyps. Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology. 2009;39(6):829-37.
8. Ferro Y, Perullini M, Jobbagy M, Bilmes SA, Durrieu C. Development of a biosensor for environmental monitoring based on microalgae immobilized in silica hydrogels. Sensors. 2012;12(12):16879-91.
9. Wu S, Zhang L, Qi L, Tao S, Lan X, Liu Z, et al. Ultra-sensitive biosensor based on mesocellular silica foam for organophosphorous pesticide detection. Biosensors & bioelectronics. 2011;26(6):2864-9.
10. Murphy-Perez E, Arya SK, Bhansali S. Vapor-liquid-solid grown silica nanowire based electrochemical glucose biosensor. The Analyst. 2011;136(8):1686-9.
11. Shimomura T, Sumiya T, Ono M, Ito T, Hanaoka TA. Amperometric L-lactate biosensor based on screen-printed carbon electrode containing cobalt phthalocyanine, coated with lactate oxidase-mesoporous silica conjugate layer. Analytica chimica acta. 2012;714:114-20.
12. Babu E, Mareeswaran PM, Rajagopal S. Highly sensitive optical biosensor for thrombin based on structure switching aptamer-luminescent silica nanoparticles. Journal of fluorescence. 2013;23(1):137-46. Epub 2012/09/12.
13. Shen J, Yang X, Zhu Y, Kang H, Cao H, Li C. Gold-coated silica-fiber hybrid materials for application in a novel hydrogen peroxide biosensor. Biosensors & bioelectronics. 2012;34(1):132-6.
14. Li Y, Zhang L, Li M, Pan Z, Li D. A disposable biosensor based on immobilization of laccase with silica spheres on the MWCNTs-doped screen-printed electrode. Chemistry Central journal. 2012;6(1):103.
15. Shimomura T, Sumiya T, Ono M, Ito T, Hanaoka TA. A novel, disposable, screen-printed amperometric biosensor for ketone 3-beta-hydroxybutyrate fabricated using a 3-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase-mesoporous silica conjugate. Analytical and bioanalytical chemistry. 2013;405(1):297-305.
16. Kell AJ, Page L, Tan S, Charlebois I, Boissinot M, Leclerc M, et al. The development of a silica nanoparticle-based label-free DNA biosensor. Nanoscale. 2011;3(9):3747-54.
17. Chung SH, Son SJ, Min J. Nano barcoding cell-based biosensor using fluorophor-embedded silica nanotubes. Journal of nanoscience and nanotechnology. 2011;11(5):4419-23.
18. Choi O, Kim BC, An JH, Min K, Kim YH, Um Y, et al. A biosensor based on the self-entrapment of glucose oxidase within biomimetic silica nanoparticles induced by a fusion enzyme. Enzyme and microbial technology. 2011;49(5):441-5.
19. Yu J, Ge L, Dai P, Ge S, Liu S. A novel enzyme biosensor for glucose based on rhodanine derivative chemiluminescence system and mesoporous hollow silica microspheres receptor. Biosensors & bioelectronics. 2010;25(9):2065-70.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]

Comparison of potentiometry and spectroscopy-based modified nanoparticles linked to antibodies for detection of *Staphylococcus aureus* exotoxin

Ahari H[*1], *Razavilar V*[2], *Akbari B*[3], *Motallebi AA*[2], *Anvar A*[4], *Mohammadi N*[5]

1- Corresponding Athur:Assistant Prof, Dept.of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email: Dr.H.Ahari@Gmail.com*

2- Prof, Dept.of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- Associate prof, Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Organization, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

4- Lecturer, Dept.of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

5- M.Sc in Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received 28 Jun, 2013 **Accepted 17 Oct, 2013**

Background and Objective: With the advent of nanotechnology, selective and smart sensors have revolutionized quality control of food products. They can identify the volume and toxicity of the bacteria in moments with very high precision. The present study designed a new nano-biosensor to detect *Staphylococcus aureus* exotoxin.

Material and Methods: In the new technique, a molecular framework and polymer were produced using meta-acrylic acid monomers. The sensor was then used based on the bacterial antibody connection to the nanoparticle. The suspension produced from agent-linked nanosilica connected to bacterial antibodies was positioned near samples of distilled water contaminated with *Staphylococcus aureus* bacterial toxin with a density of 10^{-3}. When toxin was detected in the sample, a connection formed between the toxin antigen and antibody.

Results: The results indicate that the molecular framework polymer sensor was capable of detecting a minimum density of 10^{-3}. The nano silica sensor was sensitive to a minimum sensitivity of 10^{-4}. The sensitivity of the sensors was examined for 60 d; the first sensor confirmed the results at 28 d and the second sensor at 56 d and began to decrease thereafter.

Conclusion: Compared to conventional methods, such as cultures, and biotechnical methods, such as polymerase chain reaction, practical nano-biosensory is accurate, sensitive and unique. It decreases detection time from hours to 30 min.

Keywords: Nanobiosensor, *Staphylococcus aureus* exotoxin, Potentiometry, Spectroscopy

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-08]