بیست و هشتمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و چهاردهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه شهید چمران اهواز،
خوزستان، ایران.
۱۴-۱۲ بهمن ۱۴۰۰

بررسی تشخیص باکتری E. coli با استفاده از ترکیب کریستال مایع با نانوکامپوزیت‌های اکسید آهن-گرافن

فاطمه دادفر[۱]، نرگس انصاری[۱]، محمد محمدی مسعودی[۲]، محبوبه اسماعیل پور[۲]،مرضیه خدایی[۲]

[۱]گروه فیزیک، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

[۲]آزمایشگاه نانوبیوفوتونیک، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

n.ansari@alzahra.ac.ir

چکیده - تعامل بین کریستال‌های مایع و نانوکامپوزیت‌های بر پایه‌ی گرافن برای استفاده در حسگرهای زیستی مورد توجه می‌باشد. در این پژوهش با استفاده از ترکیب کریستال مایع و نانوکامپوزیت‌های اکسید آهن- گرافن، به تشخیص باکتری E. coli پرداخته شده است. نانوکامپوزیت‌ها به روش الکتروشیمیایی تهیه شده و دارای مغناطش اشباع ۴۴/۸۸ emu/g و ساختار آن شامل نانوذرات گرافن و اکسید آهن (Fe_2O_3) می‌باشد. از ترکیب نانوکامپوزیت ها با کریستال مایع به عنوان سیستم سنجش استفاده می‌شود و با قرار دادن باکتری E. coli بر روی آن، با استفاده از تغییرات کریستال مایع می‌توان باکتری را تشخیص داد. این تشخیص با استفاده از میکروسکوپ نوری قطبی (POM) ثبت شده است. الگوها و تصاویر ثبت شده به خوبی نشان داد که سیستم سنجش طراحی شده در مدت زمان کوتاه و با دقت بالا می‌تواند باکتری را تشخیص دهد.

کلید واژه- باکتری E. coli، حسگر زیستی، سیستم‌های سنجش، کریستال مایع، نانوکامپوزیت اکسید آهن-گرافن

The study of identifying E.coli bacteria using a combination of liquid crystal and graphene- iron oxide nanocomposites

Fatemeh Dadfar, Narges Ansari, Mohammad Mohammadimasoudi, Mahboube Esmailpour, Marzieh Khodayi

Department of Physics, Alzahra University, Tehran, Iran

Nano-bio-photonics Laboratory, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract- The interaction between liquid crystals and graphene-based nanocomposites is of interest for use in biosensors. In this study, E. coli was detected using a combination of liquid crystals and graphene-iron oxide nanocomposites. The nanocomposites are electrochemically prepared and have a saturation magnetization of ۴۴,۸۸ □□□/□ □□□ □□□ □□□□□□□□□□ □□□□□□□□□ □□□□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□ □□□ □□□□□ □□□□□□ (□□۲□۳). □□□ □□□□□□□□□□□□□ □□ nanocomposites with liquid crystal is used as a sensing system, and by placing E. coli bacteria on it, the bacterium can be detected using liquid crystal changes. This detection was recorded using a polarized light microscope

[Downloaded from opsi.ir on 2024-11-24]

(POM). The recorded patterns and images showed well that the designed sensing system could detect bacteria in a short time and with high accuracy.

Keywords: Biosensor, E. coli bacteria, Graphene-Iron Oxide Nanocomposite, Liquid Crystal, Sensing Systems

[Downloaded from opsi.ir on 2024-11-24]

مقدمه

در طراحی حسگرهای زیستی واکنش نشان دادن به یک ماده‌ی خاص از اهمیت زیادی برخوردار است، که این واکنش به صورت پیام‌هایی در یک «ریزپردازنده» تحلیل می‌شود. اولین نسل حسگرهای زیستی توسط کلارک و لیونز برای اندازه‌گیری غلظت اکسیژن حل شده در خون معرفی شد [۱].

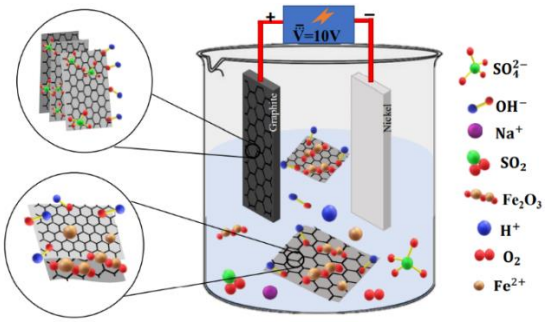
در دهه‌های گذشته در زمینه‌های حسگرهای زیستی و رویدادهای بیوشیمیایی استفاده از کریستال‌های مایع (LCs[۱]) به دلیل زیست سازگاری و حساسیت بالا توسعه یافته است [۵-۲]، زیرا LCs موادی هستند که بر اساس نوع سطح بالا و پائین خود، جهت خود را تنظیم نموده و به همین علت برای مطالعات سطحی مورد توجه قرار می‌گیرند. یکی از انواع کریستال‌های مایع، کریستال مایع نماتیک است که مولکول‌های آن ناهمسانگرد و دارای آزادی حرکت هستند و برهمین اساس، خواص و کاربردهای اپتیکی فراوانی دارند.

از سوی دیگر ماده‌ی دو بعدی گرافن به دلیل ویژگی‌هایی نظیر نسبت سطح به حجم بالا و قابلیت اتصال به مولکول‌های زیستی، باعث افزایش دقت و حساسیت در حسگرهای زیستی می‌شود و به همین دلیل در ساخت سیستم های سنجش به کار برده شده است[۶].

با ترکیب نانوساختارهای گرافن با نانو ذرات فلزی به صورت نانوکامپوزیت می‌توان خواص شیمیایی و فیزیکی آن‌ها را بهبود بخشید. این نانوکامپوزیت‌ها دارای ویژگی هدایت با میدان مغناطیسی، سوپرپارامغناطیس بودن، سطح ویژه بالا، زیست سازگاری مناسب و قابلیت برقراری پیوند با گروه‌های عاملی، شیمیایی و فیزیکی می‌باشند، که این قابلیت‌ها باعث کاربری این نانوکامپوزیت‌ها در زمینه‌های مختلف از جمله حسگرهای زیستی و درمان‌های ضدباکتری می‌شود[۱۰-۷]. مهم‌ترین چالش در حسگرهای زیستی مبتنی بر LC، توامان کردن دقت و قابلیت کاربری آسان می‌باشد. هدف از این پژوهش استفاده از نانوکامپوزیت اکسید آهن _ گرافن (G/IONC[۲]) برای رفع این چالش می‌باشد. این سیستم‌های سنجش به دلیل ساختار سه بعدی از حساسیت بالایی برخوردار هستند و به کمک آن‌ها باکتری E .coli به راحتی تشخیص داده شده است.

روش تهیه‌ی نمونه‌ها

برای تهیه‌ی G/IONC از چیدمان الکتروشیمیایی متشکل از دو الکترود استفاده شده است، که الکترود نیکل به عنوان کاتد، الکترود گرافیت به عنوان آند و الکترولیت محلول ۰/۱مولارسولفات آهن۷ آبه ($Fe_2SO_4.7H_2O$) انتخاب شده است. pH الکترولیت با استفاده از نمک NaOH روی ۱۲ ثابت می‌شود. چیدمان به مدت ۳ ساعت تحت اختلاف پتانسیل مستقیم ۱۰ ولت قرار می‌گیرد. پس از اتمام سنتز، فاز مغناطیسی نمونه توسط آهنربا جدا شده و این فاز سه مرتبه با آب مقطر شست‌وشو داده می‌شود. طرح واره‌ای از چیدمان و نمونه‌ی سنتز شده در شکل ۱ نشان داده شده است.



[۱] Liquid Crystals
[۲] Graphene/Iron Oxid Nanocomposite

[Downloaded from opsi.ir on 2024-11-24]

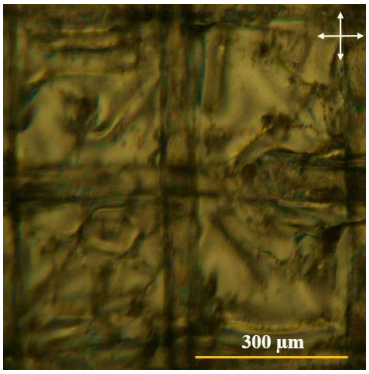
شکل ۱: طرح واره چیدمان سنتز G/IONC

در فرآیند الکتروشیمیایی سنتز نمونه، با اعمال ولتاژ بین دو سر الکترود، سولفات آهن و آب به یون‌های تشکیل دهنده‌ی خود تجزیه می‌شوند و نمک NaOH اضافه شده به محلول نیز تجزیه می‌شود. آب موجود در محلول یونیزه شده و به H^+ و OH^- تبدیل می‌شود. پس از حل شدن نمک الکترولیت در آب، یون‌های SO_4^{2-} و Fe^{2+} به دست می‌آیند. همچنین نمک NaOH به Na^+ و OH^- تجزیه شده و با اعمال ولتاژ یون‌های مثبت به سمت کاتد و یون‌های منفی به سمت آند حرکت می‌کنند. پس از ورود یون‌ها به داخل صفحات گرافیتی فرآیند کاهش اتفاق افتاده و یون‌های SO_4^{2-} به گازهای SO_2 و O_2 تبدیل می‌شود. این گازها نیرویی را به ورقه‌های گرافیت وارد کرده و در نتیجه گرافن ورقه شده به دست می‌آید. با اضافه کردن نمک NaOH تعداد یون‌های OH^- زیاد شده و لبه‌ها و مرزهای گرافیت بیشتر اکسید می‌شوند.

نمونه‌ی سنتز شده با استفاده از پراش پرتو ایکس (XRD) و مغناطیس سنج ارتعاشی (VSM) مشخصه‌یابی شد. نتایج XRD و VSM نشان می‌دهد نمونه از گرافن و اکسید آهن مگمایت (Fe_2O_3) تشکیل شده و دارای مغناطش اشباع (M_s) و میدان وادارندگی (Hc) برابر با ۴۴/۸۸ emu/g و ۵۳ Oe است که بیانگر سوپرپارامغناطیس بودن نمونه است.

در مرحله‌ی بعد برای ترکیب G/IONC با LC ، به مدت ۳۰ دقیقه نانوذرات G/IONC پراکنده شده در متانول در حمام آلتراسونیک قرار داده می شود. سپس حجم مشخصی از محلول حاوی نانوذرات به کریستال مایع E^7 که در فاز آیزوتروپیک قرار دارد، اضافه شده و به مدت ۱۲ ساعت روی هیتر قرار می‌گیرد تا متانول به طور کامل تبخیر شود. طی این مدت با استفاده از یک چیدمان همزن الکتریکی ذرات در داخل ترکیب همزده می‌شوند. سپس با توجه به این که قسمت عمده‌ای از زنجیره‌های مغناطیسی در مرز انتقال از فاز ایزوتروپیک به نماتیک رخ می‌دهد، ظرف حاوی ذرات به یک باره در حمام آب یخ قرارداده می‌شود که تاحد ممکن این انتقال فاز سریع رخ دهد و ذرات فرصت کافی برای ایجاد تجمع نداشته باشند. غلظت نهایی ذرات مغناطیسی در داخل LC، ۰/۵ درصد وزنی می‌باشد و آزمایش‌های موردنظر در فاز نماتیک انجام می‌شود. سپس مقدار μL ۰/۰۲ از ترکیب G/IONC با LCs روی حسگر زیستی ریخته می‌شود.

حسگر زیستی طراحی شده بر روی میکروسکوپ نوری قطبی که بین دو قطبشگر متعامد است، قرار می‌گیرد. هنگامی که LCs به صورت مسطح و یا کمی کج قرار بگیرند، نور ورودی بخاطر خاصیت دو شکستی بودن LC دچار اختلاف فاز می‌شود. در نتیجه از قطبشگر دوم عبور کرده و در زیر میکروسکوپ نوری یک تصویر رنگی در خروجی مشاهده می‌شود. تصویر نمونه G/IONC با LC که توسط میکروسکوپ نوری قطبی مشاهده شده است، در شکل ۲ نشان داده شده است.

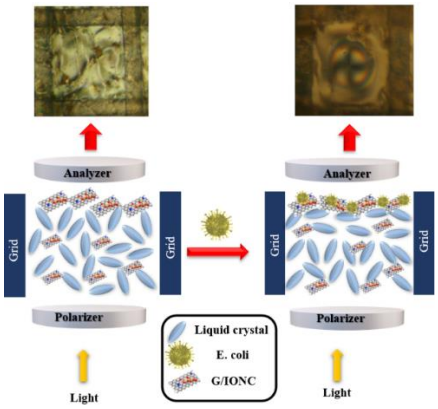


شکل ۲: تصویر میکروسکوپ پلاریزه از G/IONC و LCs بدون ماده زیستی

در مرحله بعد، مقدار μL ۰/۱ از ماده‌ی زیستی مورد نظر با رقت cfu/mL $۱/۰۲ \times ۱۰^۸$روی ترکیب G/IONC با LCs ریخته می‌شود. با توجه به تغییرات در تصاویر زیر میکروسکوپ برای مواد زیستی مختلف می‌توان نوع ماده‌ی زیستی را تشخیص داد. ماده‌ی زیستی مورد بررسی در این پژوهش باکتری E .coli می‌باشد و از محیط کشت Enrichment Brot(Gn) Gn به عنوان کنترل استفاده می‌شود. در شکل ۳ طرح‌واره‌ای از نحوه‌ی تشخیص باکتری به وسیله‌ی سیستم سنجش LC، به همراه

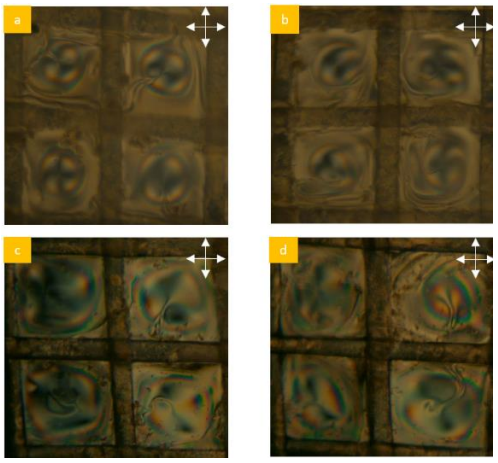
[Downloaded from opsi.ir on 2024-11-24]

تصاویر مشاهده شده از باکتری و G/IONC با LCs نشان داده شده است.



شکل ۳:طرح واره سیستم سنجش باکتری به وسیله‌یG/IONC با LCs به همراه تصویر ثبت شده حاوی ماده زیستی

پایه‌ی آزمایشات ما در انجام مکرر تست‌ها بود و مدت زمان هر تست ۱۵ دقیقه بود که در زمان ۵ دقیقه باکتری‌ها به روش کیفی تشخیص داده شدند. به طور مثال تصویری از پیکسل‌ها از تست باکتری E .coli و محیط کشت در شکل ۴ آورده شده است. همان‌طور که در تصاویر مشاهده می‌شود الگوهای ایجاد شده ناشی از تغییر جهت‌گیری LCs است و تشخیص باکتری Ecoli و محیط کنترل با چشم غیر مسلح و با میکروسکوپ ساده، با دقت بالا انجام می‌شود.



شکل ۴: تصاویر میکروسکوپ پلاریزه از G/IONC و LCs در حسگر زیستی با (a,b) باکتری Ecoli به عنوان ماده زیستی (c,d) محیط کشت به عنوان ماده زیستی

نتیجه گیری

در این پژوهش از ترکیب G/IONC با LCs برای تشخیص باکتری E. coli استفاده شده است. تغییر در جهت گیری LCs باعث، تفاوت در تصاویر نمونه‌ی حاوی باکتری و محیط کنترل شده است. این روش تشخیص می‌تواند بستری برای تشخیص پزشکی سریع انواع باکتری‌ها و ویروس‌ها را فراهم کند.

مرجع‌ها

[۱] LC. Clark Jr, C. Lyons, “Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery”, Ann. N. Y. Acad. Sci, Vol. ۱۰۲, □□. ۱, □□. ۲۹-۴۵, ۱۹۶۲.

[۲] RJ. Carlton, JT. Hunter, DS. Miller, R. Abbasi, PC. Mushenheim, LN. Tan, NL. Abbott, “Chemical and biological sensing using liquid crystals”, Liq. Cryst. Rev., Vol. ۱, No. ۱, pp. ۲۹-۵۱, ۲۰۱۳.

[۳] P. Popov, EK. Mann, A. Jákli, “Thermotropic liquid crystal films for biosensors and beyond”, J Mater Chem B, Vol. ۵, No. ۲۶, □□. ۵۰۶۱-۵۰۷۸, ۲۰۱۷

[٤] Z. Hussain, F. Qazi, MI. Ahmed, A. Usman, A. Riaz, AD. Abbasi, “Liquid crystals based sensing platform-technological aspects”, Biosens. Bioelectron., Vol. ۸۵, pp. ۱۱۰-۱۲۷, ۲۰۱٦.

[۵] CJ. Woolverton Corresponding author, E. Gustely. L. Li, OD. Lavrentovich, “ Liquid crystal effects on bacterial viability ”, Liq. Cryst., Vol. ۳۲, No. ۴, □□. ۴۱۷-۴۲۳, ۲۰۰۵

[٦] CIL. Justino, AR. Gomes, AC. Freitas, AC. Duarte, TR. Santos, “Graphene based sensors and biosensors”, Trends Analyt Chem, Vol. ۹۱, pp. ۵۳-٦٦, ۲۰۱۷.

[۷] A. Singh, G. Sinsinbar, M. Choudhary, V. Kumar, R. Pasricha, HN. Verma, SP. Singh, K. Aroraa, “Graphene oxide-chitosan nanocomposite based electrochemical DNA biosensor for detection of typhoid”, Sens. Actuators B Chem, Vol. ۱۸۵, pp. ۶۷۵-۶۸۴, ۲۰۱۳.

[۸] K. Yang, L. Feng, H. Hong, W. Cai, Z. Liu, “Preparation and functionalization of graphene nanocomposites for biomedical applications”, Nat. Protoc., Vol. ۸, No. ۱۲, pp. ۲۳۹۲-۲۴۰۳, ۲۰۱۳.

[۹] L. Zhong, K. Yun, “Graphene oxide-modified ZnO particles: synthesis, characterization, and antibacterial properties”, Int. J. Nanomedicine, Vol. ۱۰, □□. ۷۹-۹۲, ۲۰۱۵.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-11-24]

[۱۰] Y. Wei, CH. Jang, “Liquid crystal as sensing platforms for determining the effect of graphene oxide-based materials on phospholipid membranes and monitoring antibacterial activity”, Sens. Actuators B Chem., Vol. ۲۵٤, pp. ۷۲-۸۰, ۲۰۱۸.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-11-24]