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

Downloaded from opsi.ir at 0:13 +0330 on Saturday November 17th 2018

آشکارسازی و شمارش ذرات زیستی با استفاده از لیزر ۳۷۲ نانومتر

م. عرب سرخی[۱]، ا. بحرودی[۱]، م. بنجخی[۱]، ع. عجمی[۱]، س. م. برزین[۱]

[۱] مرکز خدمات تخصصی اپتیک، سازمان جهاد دانشگاهی صنعتی شریف، تهران

چکیده– در این مقاله جهت آشکارسازی ذرات زیستی از پدیده پراکندگی و فلورسانس استفاده شد. در این روش با استفاده از لیزر نیمه‌هادی ۳۷۲ نانومتر ضمن تحریک فلوئورسانس دو عامل زیستی NADH و ریبوفلاوین و اندازه‌گیری اثر پراکندگی، تعداد ذرات آئروسل و زیستی در دو کانال مجزا شمارش و نسبت ذرات زیستی بر حسب درصد اعلام گردید. استفاده از این طول‌موج امکان تحریک دو عامل زیستی و در نتیجه افزایش صحت پاسخ سیستم را میسر ساخت. با استفاده از محلول ذرات ساکارومایسس با غلظت‌های مشخص حداکثر خطای اندازه‌گیری ذرات ۴,۷۶ ٪ بدست آمد که برای دستگاه‌های هشداردهنده مطلوب است.

کلید واژه- هشدار دهنده ذرات زیستی، لیزر ۳۷۲ نانومتر، فلوئورسانس، ریبوفلاوین، NADH

Bio-particles detection and counting by laser at ۳۷۲ nm

M. arabsorkhi ۱, E. Behroodi ۱, M. Bonjakhi ۱, A. Ajami ۱ and S. M. Barzin ۱

[۱] Iranian Academic Center for Education, Culture, & Research- Sharif Branch- Tehran

Abstract- In detection of bio-particles, the number of aerosol and bio-particles has been measured separately through two different channels and percentage of them has been reported. We have used a semiconductor laser at ۳۷۲ nm providing the ability of excitation of riboflavin and NADH and scattering measurement of biological and non-biological aerosols. By use of one source in both channels validity of the system response has been enhanced via simultaneous excitation of the two mentioned agents. The system was tested by nebulizing the specific concentration of Saccharomyces solution. Maximum measurement error was ۴,۷۶٪ which shows very good operation capability of design.

Keywords: Biological particle warning, ۳۷۲nm laser, fluorescence, riboflavin, NADH

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

Downloaded from opsi.ir at 0:13 +0330 on Saturday November 17th 2018

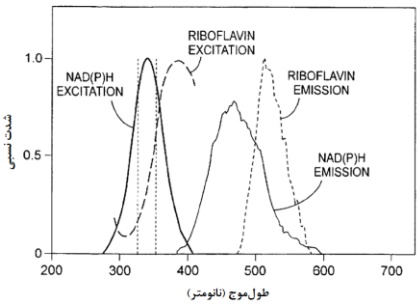
۱- مقدمه

آشکارسازی بلادرنگ ذرات زیستی به منظور هشدار و جلوگیری از ابتلای افراد به بیماری در کاربری‌های مختلفی مانند آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی، اتاق‌های تمیز، بیمارستان‌ها و اماکن عمومی و استراتژیک حائز اهمیت است. روش‌های شناسایی ذرات زیستی در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی روش‌های دقیق و در عین حال زمان‌بر هستند[۱]. از این‌رو استفاده از دستگاه‌های هشداردهنده حضور ذرات زیستی که پاسخ سریعی به حضور عوامل زیستی دارند بسیار کاراست. از میان انواع دستگاه‌های هشداردهنده حضور ذرات زیستی، سیستم‌های لیزری از امتیازاتی چون زمان راه‌اندازی کوتاه، پاسخ لحظه‌ای، اعتبار بالا، طول عمر زیاد، ابعاد و قیمت قابل قبول برخوردارند. در این مقاله از پدیده‌های پراکندگی و فلورسانس ذرات زیستی جهت آشکارسازی و شمارش استفاده شده است.

۲- مبانی نظری

در سیستم‌های لیزری جهت آشکارسازی ذرات زیستی از خصوصیت ذاتی فلوئورسانس آنها استفاده می‌شود. در پدیده فلوئورسانس مولکولی در مرحله اول نور تابش شده توسط مولکول جذب می‌شود. مولکول انرژی دریافتی را صرف برانگیختن الکترون به تراز بالاتر می‌نماید. انرژی اضافی می‌تواند به طرق مختلف آزاد شود. یکی از این روش‌ها فلوئورسانس است. فلوئورسانس هنگامی رخ می‌دهد که مولکول انرژی باقی مانده را آزاد کرده و به تراز پایه برگردد. معمولاً انرژی آزاد شده کمتر از انرژی دریافتی است، زیرا بخشی از انرژی در اثر ارتعاشات مولکولی که در فرآیند جذب و انتشار رخ داده هدر می‌رود. در آشکارسازی دقیق ذرات زیستی از منبع نوری استفاده می‌شود که علاوه بر تحریک عوامل زیستی، امکان شمارش ذرات آئروسل را نیز بر اساس پراکندگی مای فراهم آورد. در طرح‌های مشابه از دو لیزر مجزا برای این دو منظور استفاده نموده‌اند که در این طراحی تنها از یک منبع برای فلوئورسانس و پراکندگی استفاده می‌شود [۲]. در میان بیوپلیمرهای موجود در ذرات زیستی پروتئین‌ها خصوصیت فلوئورسانسی ذاتی بالائی دارند. فلوئورسانس لیپیدها، غشای‌سلولی و DNA بسیار ضعیف است. بنابراین تنها ماده‌ای که در پروتئین‌ها فلوئورسانس می‌دهد اسیدهای آمینه هستند.

از ۲۰ اسید آمینه موجود در پروتئین‌ها تنها تریپتوفان، تایروزین و فنیل آلانین خاصیت فلوئورسانس دارند و مقدار بسیار کمی در حدود ۱ مول درصد در پروتئین یافت می‌شوند. ریبوفلاوین و NADH نیز آمینو اسید نیستند ولی به مقدار زیاد در سلول‌ها یافت می‌شوند و خاصیت فلوئورسانس ذاتی خوبی دارند. به دلیل میزان دسترسی بیشتر به تریپتوفان، ریبوفلاوین و NADH و بالا بودن سطح مقطع تحریک آنها نسبت به دیگر عوامل مورد توجه ویژه هستند. بنابراین طول‌موج لیزر باید به گونه‌ای انتخاب شود که حداقل یکی از سه عامل زیستی مذکور را تحریک کند. حداکثر طول‌موج تحریک تریپتوفان در ۲۸۰nm می‌باشد. به علت یونیزه شدن ذرات آئروسل در این طول‌موج و وجود عوامل محیطی فراوانی همچون گازهای حاصل از احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی که در این طول‌موج تحریک می‌شوند، احتمال هشدار خطا در آن بالاست [۳]. طول‌موج پیشنهادی در این مقاله ضمن رفع معایب فوق حداکثر تحریک را در هر دو عامل ریبوفلاوین و NADH داراست. مطابق شکل ۱ طول‌موج ۳۷۲ nm انطباق بسیار خوبی با هر دو فلوفور، ریبوفلاوین و NADH، دارد.[۴].



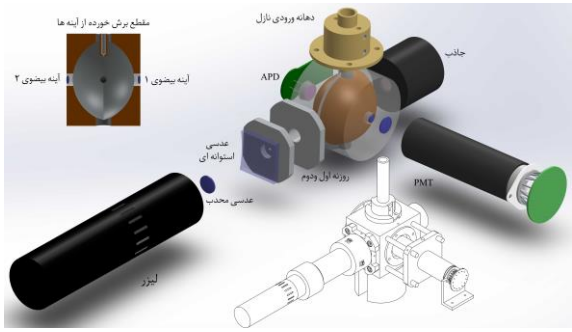
شکل ۱: طول‌موج‌های تحریک و پاسخ NADH و ریبوفلاوین

۳- چیدمان تجربی

در چیدمان پیشنهادی شکل ۲ پس از برهمکنش ذرات با پرتو لیزر، تعداد ذرات آئروسل و زیستی در دو کانال مجزا اندازه‌گیری می‌شود. در کانال اول شمارش ذرات بر اساس تعداد پالس‌های پراکندگی ایجاد شده صورت می‌گیرد و از آنجایی که شدت نور پراکنده شده توسط ذره با اندازه ذره متناسب است، با کالیبراسیون مقدار پراکندگی بر حسب

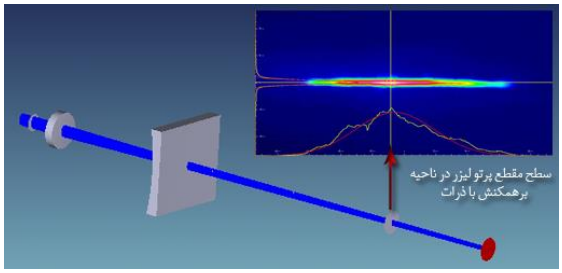
Downloaded from opsi.ir at 0:13 +0330 on Saturday November 17th 2018

ابعاد ذرات، می‌توان ذرات عبوری از مقابل پرتو لیزر را در اندازه‌های مختلف دسته‌بندی کرد. در کانال دوم به ازای هر ذره زیستی عبوری از محل پرتو ضمن آشکارسازی شدت پراکندگی در کانال ۱، فلوئورسانس ناشی از حضور عوامل مذکور در بازه طول موج ۴۲۰ تا ۵۸۰ نانومتر نیز ثبت می‌گردد و نهایتاً درصد تعدا ذرات زیستی به کل ذرات آئروسل در خروجی بیان می‌شود.



شکل ۲: چیدمان اپتیکی طرح

منبع نور استفاده شده یک لیزر دیود با توان ۱۶ میلی‌واتی است. این لیزر ضمن دارا بودن پروفایل مناسب، عمر کاری بهتری نسبت به منابع لامپی و ... داشته و در عین حال کم حجم بوده و نیاز به سردکننده ندارد. خروجی لیزر تک مد و با واگرائی ناچیز است. این لیزر دارای مقطع بیضوی (۲/۵*۴ میلی‌متر) است که مقطع آن در ناحیه برهم‌کنش باید به ۱۱۰۰*۶۰ میکرون برسد. عرض پرتو با توجه به مقطع باریکه سیال در محل برهم‌کنش که ۷۰۰ میکرون است، تعیین می‌گردد تا ذرات عبوری شدت یکسانی را دریافت کنند. ۶۰ میکرون نیز با توجه به دبی و سرعت ذرات در محل برهمکنش و مشخصه‌های الکترونیک انتخاب شده است تا ذرات از هم قابل تفکیک باشند. برای رسیدن به این قطر لکه، شبیه‌سازی در نرم‌افزار Zemax صورت گرفته است و از یک عدسی کروی با دهانه موثر ۱۱ میلی‌متر و فاصله کانونی ۱۵۰ میلی‌متر و یک عدسی استوانه‌ای با فاصله کانونی ۱۵۰- میلی‌متر به همراه یک دیافراگم استفاده گردیده است. در شکل ۳ چیدمان اپتیک طراحی شده برای کوچک سازی پرتو لیزر به همراه سطح مقطع لکه لیزر بعد از عبور از چیدمان نشان داده شده است.



شکل ۳: چیدمان اپتیک طراحی شده برای کوچک سازی پرتو لیزر به همراه سطح مقطع لکه لیزر بعد از عبور از چیدمان

برای اینکه نور لیزر پس از عبور از ناحیه برهم‌کنش دوباره به محیط برنگردد از یک جاذب نور استفاده شده است. نور پراکنده شده از ذرات در یک کانال توسط یک آینه بیضوی که محل برهمکنش، یکی از کانونهای آن است جمع‌آوری و به سمت آشکارساز هدایت می‌شود. در این مسیر از یک عدسی کروی با قطر ۵ میلی‌متر و فاصله کانونی ۴/۵ میلی‌متر، برای انتقال انرژی پراکنده شده به سطح آشکارساز استفاده شده است. نور فلوئورسانس نیز در کانال دیگر توسط آینه بیضوی دیگر که محل برهمکنش، یکی از کانون‌های آن است جمع‌آوری و به سمت آشکارساز هدایت می‌شود. در این مسیر نیز از یک عدسی کروی با قطر ۵ میلی‌متر و فاصله کانونی ۴/۵ میلی‌متر و نیز یک عدسی اسفریک با قطر ۱۲ میلی‌متر و فاصله کانونی ۸ میلی‌متر برای انتقال انرژی پراکنده شده به سطح آشکارساز استفاده شده است. شدت سیگنال پراکندگی ۴ مرتبه از سیگنال فلوئورسانس بیشتر است، از این رو از یک فیلتر اپتیکی پایین‌گذر در مقابل آشکارساز فلوئورسانس استفاده می‌شود تا از ورود سیگنال پراکندگی به این آشکارساز جلوگیری نماید. آشکارساز استفاده شده در کانال ۱ APD و در کانال ۲ PMT است.

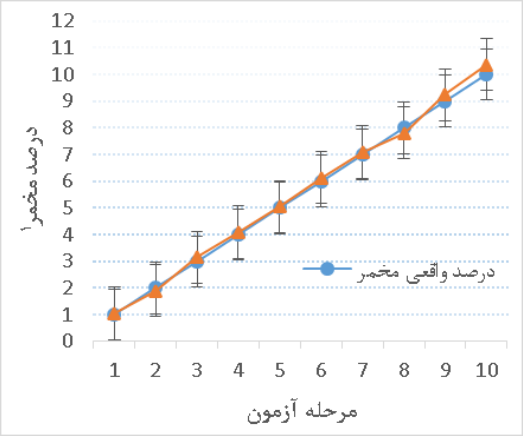
ذرات کمتر از ۱ میکرون توسط دستگاه تنفسی و مکانیزم عملکرد شش‌ها به بیرون رانده شده و ذرات بزرگتر از ۱۰ میکرون نیز توسط بخش‌های فوقانی دستگاه تنفسی حذف می‌شوند. از این رو در شمارش و دسته‌بندی، ذرات ۱-۱۰ میکرونی در نظر گرفته شده است[۳].

۴- بررسی نتایج

برای آزمون سیستم از مخمر نان (باکتری ساکارومایسس

Downloaded from opsi.ir at 0:13 +0330 on Saturday November 17th 2018

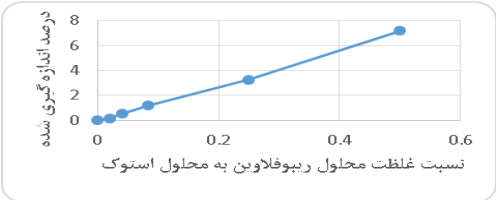
سرویزیه[۱]) که ضمن دارا بودن خواص زیستی، مخمری بی‌ضرر است استفاده می‌شود. نتایج شمارش این ذرات در غلظت‌های مختلف و مقایسه آن با غلظت‌های واقعی در نمودار شکل ۴ آورده شده است.



شکل ۴: نمودار مقایسه درصد واقعی و اندازه‌گیری شده
۱- تعداد ذرات در یک لیتر حجم هوا *۱۰۰

حداکثر خطای اندازه‌گیری در این آزمایش ۴٫۷۶٪ می‌باشد که خطایی قابل قبول و مطلوب است.

علاوه بر این، آزمایش مذکور با استفاده از محلول ریبوفلاوین تهیه شده به صورت پودرات (riboflavin Merk-٪۹۸) نیز انجام شده است. بدین ترتیب که یک محلول استوک از ریبوفلاوین تهیه شده و سپس سریال رقت آن آماده گردید. آزمون سیستم در هر غلظت ۵ مرتبه تکرار و نتایج آن مطابق نمودار شکل ۵ رسم شده است. این نمودار بیانگر پاسخ خطی طرح به محلول مرجع است.



شکل ۵: پاسخ خطی طرح به افزایش غلظت محلول ریبوفلاوین

۵- جمع بندی

در این مقاله چیدمان اپتیکی سیستم آشکارساز و شمارنده لیزری ذرات زیستی مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج اندازه‌گیری‌های بدست آمده نشان می‌دهند که چیدمان اپتیکی طراحی شده توانسته است با دقت مطلوبی حضور ذرات زیستی را به صورت محلی[۲] اعلام نماید. با توجه به این که شمارش ذرات با استفاده از یک منبع نور لیزر در دو کانال به طور همزمان انجام شده، چیدمانی کم‌حجم و ارزان قیمت حاصل شده است. ضمن این‌که تحریک همزمان دو عامل ریبوفلاوین و NADH با طول موج مورد استفاده در این چیدمان موجب گردیده که درصد خطای طرح نسبت به نمونه‌های مشابه خود کاهش یابد.

مراجع

[۱] ۱. B. J. Hindson, M. T. McBrid, A. J. Makarewicz, B. D. Henderer, T. R. Metz, S. W. Farrow, B. W. Colston, Jr.and J. M. Dzenitis (۲۰۰۵) "Autonomous Detection of Aerosolized Biological Agents by Multiplexed Immunoassay with Polymerase Chain Reaction Confirmation". Analytical Chemistry, Vol. ۷۷, No. ۱

[۲] ۲. P. H. Kaye, W. R. Stanley and E. Hirst, E.V. Foot, K. L. Baxter and S. J. Barrington (۲۰۰۵) "Single particle multichannel bio-aerosol Fluorescence sensor "OPTICS EXPRESS ۳۵۸۳. Vol. ۱۳, No. ۱۰

[۳] ۳. Charles A. Primmerman (۲۰۰۰) "Detection of Biological Agents". LINCOLN LABORATORY JOURNAL. VOLUME ۱۲, NUMBER ۱

[٤] ٤. Avishai Ben-David (۲۰۰۳) "remote detection of biological aerosols at a distance of ۳ km with a passive Fourier transform infrared (FTIR) sensor". OPTICS EXPRESS ٤۱۸. Vol. ۱۱, No. ٥

[۱] Saccharomyces cerevisiae

[۲] Local