بیست و ششمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و دوازدهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه خوارزمی،
تهران، ایران.
۱۶-۱۵ بهمن ۱۳۹۸

امکان بررسی نمونه‌های باکتری با بهره‌گیری از طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری

احمد ناصری[۱]، جواد خلیل‌زاده[۱]، عبدالله اسلامی‌مجد[۲]،سید محمدرضا دربانی[۲]، مرضیه همتی[۲] ، محمدرضا اکبری[۳] و شاهین فریدفر[۳]

۱.مرکز علم و فناوری لیزر اپتیک، دانشگاه جامع امام حسین(ع). ۲.پژوهشکده علوم و فناوری اپتیک و لیزر، دانشگاه صنعتی مالک اشتر.
۳.مرکز علم و فناوری زیست‌شناسی، دانشگاه جامع امام حسین(ع).

چکیده – در این مقاله با بهره‌گیری از طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری(LIBS) نمونه‌های باکتری بررسی شده است. باکتری‌های مطالعه شده شامل، نمونه‌های غیر بیماری‌زا از باکتری Escherichia Coli و Bacillus Cereus ا ست. نمونه‌های باکتری در سه حالت قرصی شکل، پودری و لایه نازک بر روی زیرلایه شیشه آماده شده است. طیف نمونه باکتری با طیف زیرلایه شیشه‌ای مقایسه شده و عناصر کلسیم، منیزیم، فسفر، گوگرد، کلر، آهن، منگنز، مس، هیدروژن و پیوند مولکولی CN در طیف نمونه‌ها مشاهده شده است. نتایج حا صل از برر سی طیف‌های بد ست آمده ن شان می‌دهد، طیف سنجی فرو شک ست القایی لیزری قابلیت شنا سایی و تفکیک نمونه‌های باکتری را دارد.

کلید واژه- طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری، باکتری، غیر بیماری‌زا، پیوند مولکولی.

Possibility of Investigation bacterial samples using laser induced Breakdown spectroscopy

Ahmad Naseri [1], Javad Khalilzadeh[1], Abdollah Eslamimajd[2], Seyyed Mohammad Reza Darbani[2] , Marziyeh Hemmati [2], Mohammad Reza Akbari[3] and Shahin Faridfar[3]

[1]Center of Science and Technology Laser Optics, University of Emam Hossein
Institute of Optics and Laser Science and Technology, University of Maleke Ashtar[2]
Center of Science and Technology Biology, University of Emam Hossein[3]

Abstract- In this paper, bacterial samples were investigated using Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). The bacteria studied include non-pathogenic Escherichia Coli and Bacillus Cereus. Bacterial samples were prepared on three form: tablet, powder and thin film on glass substrate. Bacteria samples spectrum were compared with glass substrate spectrum and elements of calcium, magnesium, , phosphorus, sulfur, chlorine, iron, manganese, copper, hydrogen, and CN molecular bonding were observed in the spectra of samples. The results of the spectroscopy investigation show that laser Induced Breakdown Spectroscopy is capable of identification and discrimination bacterial samples.

Keywords: Laser Induced Breakdown Spectroscopy, Bacteria, non-pathogenic, Molecular bond.

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

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-18]

مقدمه

روش طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری[۱] که با نام‌های دیگری همچون طیف‌سنجی پلاسمای القایی لیزری[۲]، طیف‌سنجی کندوسوز لیزری[۳] و ... نام‌گذاری شده‌است به طور گسترده‌ای برای کشف، شناسایی و تفکیک مواد مختلفی همچون هوا، مواد شیمیایی، منفجره و ... استفاده شده است[۱و۲]. اساس این روش مبتنی بر تحلیل طیف گسیلی از تابش پلاسمای تولیده شده از پالس لیزری با چگالی توان بالا است. طیف LIBS نمونه، حاصل از بازترکیب الکترون‌ها و یون‌ها در مرحله سردشدن پلاسما است. فیزیک این روش در مرجع [۳] تبیین شده است. با توجه به اهمیت روزافزون مسائل مبتلابه بیولوژیک در سالهای اخیر، مسئله شناسایی و تفکیک نمونه‌های باکتری با سرعت و دقت بالا بسیار مورد توجه پژوهشگران قرارگرفته است. پژوهش‌های مختلفی در زمینه‌ی کاربرد روش طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری برای مطالعه نمونه‌های باکتری انجام شده‌است. در مرجع [۴] مطالعه کاملی از کارهای صورت گرفته در این زمینه ارائه شده است. در این مقاله و برای اولین بار در کشور، نمونه‌های باکتری غیربیماری‌زای Escherichia Coli (E. Coli) و Bacillus Cereus (B. Cereus) با بهره‌گیری از طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری بررسی شده است. هدف ما در این بررسی مطالعه و مقایسه عناصر تشکیل دهنده این دو نمونه باکتری بوده است. شناسایی و تفکیک نمونه‌های باکتری با این روش در کارهای بعدی انجام خواهد شد.

آماده‌سازی نمونه‌های باکتری

دو نمونه باکتری غیربیماری‌زا به نام‌های Escherichia Coli (نمونه ۱) و Bacillus Cereus (نمونه ۲)، که در آزمایش‌ها بکار گرفته شدند، به روش زیر تهیه و آماده شد:۱-ابتدا باکتری‌ها در سطح آگار[۴] رشد داده شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در گرم‌خانه کشت داده شد.۲- باکتری‌ها بعد از کشت از لحاظ خلوص میکروبی بررسی شدند تا آلوده به میکروبهای دیگر نباشند. در صورت خلوص باکتری، دوباره در محیط براث[۵] کشت داده شده و بعد از ۲۴ ساعت توسط سانتریفوژ با شتاب g ۵۰۰۰ در مدت ۵ دقیقه جمع‌آوری شد. ۳- باکتری‌ها در آب مقطر حل شده و دوباره در سانتریفوژ قرار گرفتند. ۴- سپس باکتری‌های جمع‌آوری شده در فریزدرای[۶] و در دمای ۹۰- درجه سانتی‌گراد به پودر خشک اسفنجی شکل تبدیل شد. ۵-در نهایت توسط دستگاه قرص ساز و تحت فشار بالا تبدیل به قرص دایره‌ای شکل شد.

باکتری E. Coli با طی تمامی موارد فوق به شکل پودر و قرص در آزمایش‌ها بکار رفته است. اما باکتری B. Cereus به صورت لایه نازکی از مایع بر روی زیر لایه شیشه پوشانده شد.

چیدمان آزمایش

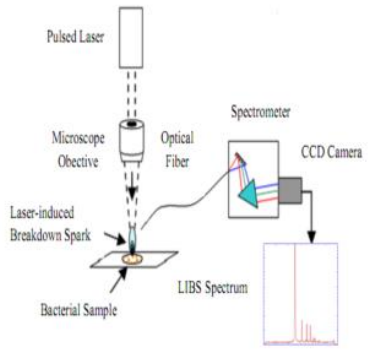
طرحواره چیدمان آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است.

---

۱ Laser Induced Breakdown Spectroscopy
۲ Laser Induced Plasma Spectroscopy
۳ Laser Ablation Spectroscopy
۴ Agar
۵ Broth
۶ Freezdry

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

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-18]

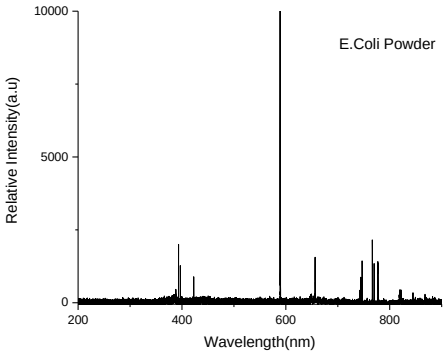


شکل ۱: طرحواره نوعی از چیدمان آزمایش [۵].

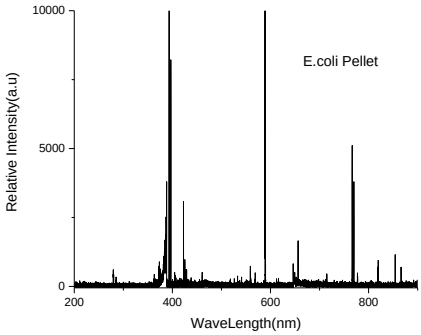
آزمایش‌ها با چیدمان طیف‌سنجی LIBSCAN100 انجام شده است. در این چیدمان که طرحواره آن در شکل ۱ نشان داده شده، از لیزر Nd:YAG متعلق به شرکت Quantel با طول موج ۱۰۶۴nm، انرژی ۱۰۰ میلی‌ژول، نرخ تکرار ۱۰هرتز و پهنای زمانی ۷ns استفاده شده است. از یک طیف‌سنج ۸ کاناله که قابلیت پوشش طول‌موجی ۱۸۲ تا ۱۰۵۷ نانومتر را با دقت ۰/۰۴ نانومتر دارد ، استفاده شده‌است. آشکارساز از نوع CCD با مدار تاخیرانداز با تاخیر زمانی ۱/۲۷ میکروثانیه و زمان نورگیری ۱/۱ میلی ثانیه بود. قبل از انجام آزمایش‌های اصلی سیستم مطابق با مرجع [۶] و براساس طیف‌های مس کالیبره شد.

نتایج

طیف نمونه ۱ در دو حالت پودری و قرص شده به ترتیب در شکل‌های ۲ و ۳ ارائه شده است. عناصر موجود در نمونه ۱ در حالت پودر و قرص با طیف حاصل از مرجع [۷] مقایسه و در جدول ۱ نشان داده شده است.



شکل ۲: طیف LIBS نمونه پودر E.coli.



شکل ۳: طیف LIBS نمونه قرص E.coli.

در جدول ۱، عناصر اصلی تشکیل‌دهنده باکتری E. Coli در مقایسه با طیف و اطلاعات گزارش شده این باکتری در مرجع [۷] آورده شده است. بر اساس اطلاعات استراج شده از جدول مشخص می‌شود که در نمونه آزمایش‌شده، عناصر سدیم، پتاسیم، کلر، آلومینیوم در مقایسه با عناصر گزارش شده در مرجع [۷] مشاهده نشده است. علت این امر ناشی از روش آماده‌سازی متفاوت نمونه و همچنین این نکته است که نمونه باکتری E. Coli دارای گونه‌های متفاوتی است و نمونه استفاده شده در این آزمایش با نمونه مرجع [۷] متفاوت است.

در ادامه طیف LIBS دو نمونه باکتری بکار رفته در آزمایش از نظر عناصر تشکیل‌دهنده مقایسه شده است. در شکل ۴ طیف LIBS همزمان دو نمونه باکتری E. Coli وB. Cereus در بازه طول‌موجی ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر نشان داده‌شده‌است.

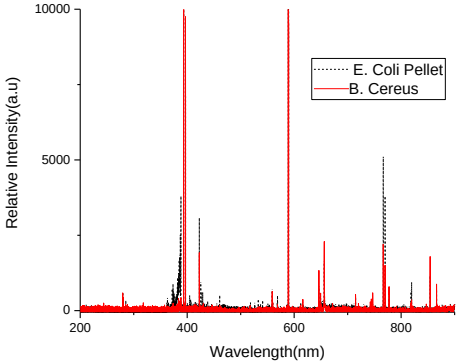
جدول ۱:مقایسه عناصر تشکیل دهنده E.coli پودری و قرصی شکل با مرجع[۵].

ردی ف	عنصر	طولموج nm [۷]	طیف حاصل از E.coli آزمایش		زیر لایه شیشه
			پودر	قرص	
۱	کلسیم	۳۹۶/۸۴۷	۳۹۶/۸۱۶	۳۹۶/۸۱۶	ندارد
۲	منیزیم	۲۸۰/۲۷	ندارد	۲۸۰/۳۰۵	ندارد
۳	سدیم	۵۶۳/۲۶۳	ندارد	ندارد	ندارد
۴	پتاسیم	۳۴۴/۶۳۷	ندارد	ندارد	ندارد
۶	فسفر	۴۱۵/۰۳۳ و ۸۵۶/۸۷۵	ندارد	۸۵۴/۲۱۱ ۴۱۵/۱۶۹	ندارد
۷	گوگرد	۳۹۳/۳۲۶	۳۹۳/۳۵۹	۳۹۳/۳۵۹	ندارد

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

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-18]

۸	کلر	۸۳۷/۵۹۶	ندارد	ندارد	ندارد
۹	آهن	۳۸۳/۹۲۶	ندارد	۳۸۳/۹۲۲	ندارد
۱۰	آلومینیوم	۶۶۲/۸۸۴	ندارد	ندارد	ندارد
۱۱	منگنز	۵۵۰/۵۸۷	ندارد	۵۵۰/۷۶۵	ندارد
۱۲	مس	۶۶۶/۰۷ ۵۷۰/۶, ۴۲۲/۷۹۳	ندارد ۵۶۸/۸۴۹ ۴۲۲/۶۹۸	۶۶۶/۰۲۶ ۵۶۸/۸۴۹ ۴۲۲/۶۹۸	ندارد
۱۳	کربن	۲۴۵/۸۸ ۱۹۳/۰۲	۲۴۷/۸۵۶ [۵]	۲۴۷/۸۵۶ [۵]	ندارد
۱۴	هیدروژن	۶۵۶/۲۸	۶۵۶/۳۹۶	۶۵۶/۳۹۶	دارد
۱۵	پیوند مولکولی CN	۳۸۳ ۳۸۳/۴۰ ۳۸۳/۷۵	ندارد	۳۸۳/۸۱۶ ۳۸۳/۲۳۱ ندارد	ندارد



شکل ۴: طیف LIBS همزمان نمونه قرصی شکل E.coli (رنگ مشکی-نقطه‌ای) و نمونه B.Cereus (رنگ قرمز-خط ممتد).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از طیف LIBS نمونه شماره ۱ در دو حالت پودر و قرص که در جدول ۱ جمع‌بندی شده است، عناصر تشکیل‌دهنده باکتری E. Coli استخراج شده است. این عناصر به جز در چند مورد سدیم، پتاسیم، آلومینیوم، کلر با عناصر گزارش‌شده در مرجع [۷] یکسان است. همچنین با توجه به بررسی هم‌زمان طیف نمونه‌های شماره ۱ و ۲ (شکل ۴) نشان داده شد که بعضی از عناصر، همانند منیزیم، هیدروژن به صورت مشترک و برخی از عناصر همانند فسفر، منگنز تنها در نمونه شماره ۱ وجود دارد. بنابراین بر اساس بررسی‌های صورت گرفته در این مقاله و همچنین بهره‌گیری از روش‌های شیمی‌سنجی و آماری، طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری امکان و قابلیت شناسایی و تفکیک نمونه‌های باکتری را خواهد داشت.

مراجع

[1] J. L. Gottfried, F. C. Delucla, JR., Chase A. Munson, A. W. Miziolek “Standoff Detection of Chemical and Biological Threats Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy”, App1. Spec, Vol 62, No 4, pp. 353-363, 2008.

[2] L. D. Ph. Adam, J. Amouroux, “Time-resolved laser-induced breakdown spectroscopy: application for fluorine, chlorine, sulfur, and carbon in air,” Appl. Spec,Vol 52, pp 1321–1327 ,1998.

[3] L. J. Radziemski, “From LASER to LIBS, the path of technology development,” Spectrochim. Acta Part B 57, pp 1109–1113, 2002.

[4] S. J. Rehse, “A review of the use of laser-induced breakdown spectroscopy for bacterial classification, quantification, and identification”, Spectrochim. Acta Part B 57, 2019.

[5] Q. Mohaidat,” Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): An innovative tool for studying bacteria “Thesis 2011.

[6] www.NIST.com.

[7] W. A. Farooq, M. Atif1, W. Tawfik, M. S. Alaslhi,Z. A. Alahmed, M. Sarfaraz, J. P. Singh,” Study of Bacterial Samples Using Laser Induced Breakdown Spectroscopy’, Plasma Science and Technology, Vol.16, No.12, Dec. 2014.

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

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-18]