مهدی درگاهی
دانش آموخته مقطع کارشناسی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
mahdi74.dargahi74@gmail.com

مروری اجمالی بر کاربردهای بیوسنسور در علوم مختلف و کشاورزی

A Brief Overview of Biosensor Applications in Various Sciences and Agriculture

چکیده

بیوسنسور یا حسگر زیستی، عبارت است از ابزار ردیابی که یک عضو حسگر بیولوژیکی (bioreceptor) را با یک القاگر (transducer) ترکیب می‌کند. bioreceptor از یک دریافت‌کننده زیستی و مولکول بیولوژیکی مثل بافت، میکروارگانیسم، اندام‌ها، دریافت‌کننده‌های سلولی، آنتی‌بادی، آنزیم و نوکلئیک اسید تشکیل‌شده که مولکول هدف (analyte) را تشخیص می‌دهد و القاگر آن را به سیگنال‌های قابل‌اندازه‌گیری تبدیل می‌کند. این ترکیب قادر است ماده هدف را بدون کاربرد معرف‌ها شناسایی کند. Transducer یا القاگر قادر است که تشخیص زیستی را به یک سیگنال قابل‌اندازه‌گیری تبدیل کند که به‌طور مشخص این عمل به‌وسیله اندازه‌گیری تغییراتی که در bioreceptor اتفاق می‌افتد انجام می‌شود. اولین بیوسنسور، الکترودهای آنزیمی بود که برای تشخیص غلظت گلوکز به کار رفت. گلوکز به خاطر نقش آن در پروسه متابولیکی انسان اهمیت خاصی دارد. اندازه‌گیری سطح گلوکز در خون بیماران دیابتی ضروری است. در بیوسنسورهای رایج گلوکز امروزی بیمار خودش می‌تواند چند قطره از خون خود را گرفته با فروبردن بیوسنسور در آن غلظت گلوکز در ظرف یک دقیقه اندازه‌گیری کند. از کاربردهای مهم بیوسنسور می‌توان موارد ذیل را ذکر نمود: تشخیص پزشکی مثل دیابت، آنالیز DNA بیماران سرطانی، داروسازی، کشاورزی، باغبانی و دامپزشکی (ردیابی بقایای قارچ‌کش‌ها)، کنترل پروسه تولید و کنترل تخمیر، میکروبیولوژی و ردیابی ویروس‌ها و باکتری‌ها، کنترل آلودگی و ردیابی آن همچون ردیابی مولکول‌های سمی هوا و یا بیوسنسوری D که برای ردیابی شایع‌ترین داروهای غیرقانونی مانند کوکائین، هروئین و اکستازی، ردیابی مناطق مین‌گذاری، گازهای سمی و صنعتی، مواد منفجره، مواد معدنی و سلاح‌های بیوشیمیایی به کار می‌رود.

واژه‌های کلیدی: حسگر، بیومارکر، سیگنال

مقدمه

حسگر زیستی یا بیوسنسور (Biosensor) نام گروهی از حسگرها است که به‌گونه‌ای طراحی شده‌اند تا بتوانند تنها با یک ماده خاص واکنش نشان دهند. نتیجهٔ این واکنش به‌صورت پیام‌های درمی‌آید که یک ریزپردازنده می‌تواند آن‌ها را تحلیل کند. این حسگرها مختلف‌اند اما جدای از نوعشان، همگی دارای سازوکاری مشترک‌اند و در مسیر سال‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در عرصه‌های گوناگون داشته‌اند. طبق تعریف اتحادیه بین‌المللی شیمی کاربردی و اتحادیه بین‌المللی شیمی محض، حسگر زیستی عبارت است از مجموعه ابزارهایی که با استفاده از واکنش‌های بیوشیمیایی خاصی، به واسطه آنزیم‌های ایزوله، بافت‌ها، سلول‌ها یا هر عنصر شیمیایی ماده موردنظر را، معمولا به‌صورت الکتریکی، اپتیکی و یا گرمایی آشکارسازی می‌کند.

تاریخچه

نخستین بار مفهوم حسگرهای زیستی، توسط دکتر لیلاند سی. کلارک در اوایل سال ۱۹۶۰ با استفاده از آنزیم الکترود جهت اندازه‌گیری غلظت گلوکز برای بیماران دیابتی، توسط آنزیم گلوکز اکسیداز معرفی شد. امروزه نیز بیشترین کاربرد حسگرهای زیستی، در زمینه اندازه‌گیری گلوکوز است اما با پیشرفت‌هایی که در زمینه میکرو الکتریک و میکرو مکانیک رخداده، تمرکز زیادی بر روی سیستم‌های مبتنی بر این دو قرار گرفته است. با توجه به دقیق بودن این‌گونه ابزارها، انتخاب مبدل مناسب و روش مناسب تثبیت دریافتگر زیستی در سطح جامد، موجب افزایش حساسیت و پایداری آن می‌گردد.

خصوصیات حسگرها

یک حسگر ایده‌آل بایستی خصوصیات زیر را داشته باشد:

۱- سیگنال خروجی باید متناسب با نوع و میزان گونه‌ی هدف باشد.
۲- بسیار اختصاصی نسبت به گونه موردنظر عمل کند.
۳- قدرت تفکیک و گزینش پذیری بالایی داشته باشد.
۴- تکرارپذیری و صحت بالایی داشته باشد.
۵- سرعت پاسخ‌دهی بالایی داشته باشد (در حد میلی‌ثانیه).
۶- عدم پاسخ‌دهی به عوامل مزاحم محیطی مانند دما، قدرت یونی محیط و... .

اجزای اصلی بیوسنسورها شامل گیرنده‌های زیستی (بیورسپتورها)، مبدل زیستی یا عنصر شناساگر، پردازشگر سیگنال و خروجی است.

گیرنده‌های زیستی

یک گیرنده زیستی ماده‌ای است که با آنالیت تحت مطالعه واکنش می‌دهد. بیوسنسورها می‌توانند مطابق با انواع رایج فعل و انفعالات بیورسپتور طبقه‌بندی شوند.

تقسیم‌بندی بیوسنسورها بر اساس گیرنده‌های زیستی

۱- بیوسنسور آنزیمی

غالباً آنزیم‌های اکسیدوردوکتازها به‌کار می‌روند. آنزیم‌ها در سطح مبدل توسط جذب سطحی، چسبندگی کووالانسی، به دام افتادن در ژل یا پلیمر تولید شده به‌صورت الکتروشیمیایی در غشاهای بی لیپید (bilipid) یا در محلول پشت غشای انتخابی ساکن می‌شوند.

۲- بیوسنسور بر مبنای آنتی‌بادی

آنتی‌بادی‌ها معمولاً بر روی سطح مبدل توسط اتصال کووالانسی در مجاورت گروه‌های آمینو، کربوکسیل، آلدئید یا سولفیدریل بی‌حرکت می‌شوند. سطح مبدل باید با گروه‌های آمینو، کربوکسیل، هیدروکسیل و غیره عملگر شود این رویدادهای پیوندی منجر به تغییر فیزیکی و شیمیایی می‌شوند که در ترکیب با یک ردیاب همچون مولکول‌های فلورسنت، آنزیم‌ها یا رادیو ایزوتوپ‌ها می‌توانند یک سیگنال تولید کنند.

۳- بیوسنسور بر مبنای میکروب

استفاده از میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان عناصر بیولوژیکی در بیوسنسورها بر اساس سنجش متابولیسم آن‌ها است که در بسیاری از موارد از طریق مصرف اکسیژن و دی‌اکسید کربن انجام می‌شود و در اکثر موارد، به‌صورت الکتروشیمیایی اندازه‌گیری می‌شود.

۴- بیوسنسور بر مبنای هیبرید شدن اسید نوکلئیک

فرایند شناختی بر مبنای اصل جفت شدن بازهای آلی مکمل: آدنین-تیمین و سیتوزین-گوانین در DNA است. اگر توالی هدف اسید نوکلئیک شناخته شده باشد، توالی‌های مکمل می‌توانند سنتز شده و نشانه‌دار شوند و سپس روی سنسور ساکن شوند. کاوشگر هیبرادیسیون می‌تواند با توالی‌های هدف جفت شده و یک سیگنال نوری تولید کند. اصل تبدیل مطلوب به کاررفته در این نوع سنسور شناسایی نوری است.

۵- بیوسنسورها بر مبنای ارگانل‌ها

ارگانل‌ها اتاقک‌های جداگانه‌ای را داخل سلول‌ها تشکیل می‌دهند و معمولاً عملکرد مستقلی را انجام می‌دهند. ارگانل‌هایی که معمولاً استفاده می‌شوند شامل لیزوزیم، کلروپلاست ومیتوکندری می‌باشند. میتوکندری برای شناسایی آلودگی آب مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۶- بیوسنسور بر مبنای سلول‌ها

سلول‌ها غالباً به‌عنوان بیورسپتور استفاده می‌شوند، زیرا آن‌ها نسبت به محیط اطراف حساس هستند و می‌توانند به تمام انواع محرک‌ها واکنش دهند. سلول‌ها تمایل دارند به سطح بچسبند بنابراین می‌توانند به‌آسانی ساکن شوند. بهترین مزیت این سیستم این است که می‌تواند سلول‌های زنده را تشخیص دهد.

مبدل‌زیستی

سیگنال بیولوژیکی را به سیگنال دیگری تبدیل می‌کند که می‌تواند به‌آسانی اندازه‌گیری شود.

تقسیم‌بندی بیوسنورها بر اساس مبدل زیستی

الکتروشیمیایی

مبدل‌های پوتنتومتریک یا پتانسیل‌سنج (Potentiometric)، آمپرومتریک یا جریان سنج (Amperomet) و سنجش مقاومت (Impedimetric)، رایج ترین مبدل‌های الکتروشیمیایی به کار رفته هستند. ایمونوحسگر الکتروشیمیایی برای شناسایی سم کلرا)وبا) با استفاده از نانولوله‌های کربنی پوشش داده شده با پلی (۳ و ۴ اتیلن دی اکسی تیوفن)ساخته شده است.

مبدل‌های آمپرومتریک

این روش شاید معمول‌ترین روش الکتروشیمیایی به کار رفته در بیوسنسورها باشد که بر اساس رابطه خطی موجود بین غلظت آنالیت و شدت جریان عمل می‌کند.

روش سنجش پتانسیل

از یک غشاء با نفوذپذیری انتخابی نسبت به یون و برخی مواد بیواکتیو مانند آنزیم تشکیل شده است. در طی واکنشی که توسط آنزیم کاتالیز می‌شود، موادی مصرف یا تولید می‌گردد که به‌وسیله الکترود تشخیص داده می‌شوند. با استفاده از این سنسور می‌توان تغییرات خیلی کوچک از غلظت را نیز تشخیص داد.

روش سنجش مقاومت

اساس این روش اندازه‌گیری قابلیت هدایت مواد هست و در ابتدا برای تعیین کمّی بیومس یا جرم بیولوژیکی در یک نمونه استفاده می‌گردید.

بیوسنسور نوری (اپتیکی)

اساس کار این نوع بیوسنسورها، اندازه‌گیری تغییرات ضریب

شکستی است که از تغییر ساختاری لایه نازکی از سطح فلزی ناشی می‌شود. این بیوسنسورها به‌طور موفقیت آمیزی در تشخیص باکتری‌های بیماری‌زا به‌کار رفته است. مثلاً نانو ذرات طلا به‌عنوان کلاس جدیدی از مواد فلورسانس برای توسعه بیوحسگرهای نوری برای تشخیص و شناسایی توالی‌های منحصربه‌فرد DNA به‌کار می‌روند. حسگرهای نوری که دارای نقاط کوانتومی در ساختمان خود هستند، می‌توانند به‌منظور اندازه‌گیری عوامل بیماری‌زا مانند کلراتاکسین در آب به‌کار روند.

بیوسنسور موج اکوستیک

شناساگرهای حساس جرم هستند که بر اساس بلور نوسانی عمل می‌کنند که در فرکانس اصلی تشدید می‌شوند. تحقیق بر روی استفاده از دستگاه موج آکوستیک سطحی با کانال دوگانه برای شناسایی Legionella و E.coli گزارش شد.

بیوسنسور کالری‌متریک

مبدل‌های کالری‌متریک، حرارت واکنش بیوشیمیایی را در عنصر حسی اندازه‌گیری می‌کنند.

بیوسنسور پیزوالکتریک

این حسگرها بر پایه‌ی اندازه‌گیری تغییر فرکانس، استوار هستند. بیوحسگرهای پیزوالکتریک وسیله‌ی ایده‌آلی برای تشخیص بیماری‌های حیوانی می‌باشند. SU و همکاران، ایمونوحسگر پیزوالکتریکی را گزارش کردند که به‌منظور تشخیص ویروس سندرم تنفسی و تناسلی خوک، به‌کارمی رود. سیستم‌های بیوحسگری برای تشخیص بیماری‌های عفونی در بندرها و موقعیت های صحرایی، بدون نیاز به پشتیبانی دامپزشکی به‌کار می‌روند.

بیوسنسور پتانسیومتریک

در این نوع مبدل، اختلاف پتانسیل بین یک نمایشگر و یک الکترود مرجع یا دو الکترود مجزا (هنگامی‌که جریانی بین آن‌ها برقرار نباشد)، اندازه‌گیری می‌شود.

بیوسنسور مغناطیسی

نانو ذرات مغناطیسی ابزارهای تشخیصی قدرتمندی درزمینه علوم زیستی و پزشکی می‌باشند. نانو ذرات مغناطیسی می‌توانند برای جدا ساختن آنالیت‌ها به‌کار روند که این کار را با اتصال به عنصر زیستی در حسگر و تقویت سیگنال انجام می‌دهد. نانو حسگرهای حاوی ذرات مغناطیسی جهت آشکارسازی سموم مصرفی کشاورزی، با به‌کار بردن نانو ذرات مغناطیسی عامل‌دار شده با آنتی‌بادی‌ها، به‌کار می‌رود.

پردازشگر سیگنال

این بخش، سیگنال الکترونیکی را تقویت و فیلتر می‌کند و بر روی آن کار می‌کند تا یک سیگنال الکتریکی تولید کند که قادر باشد دستگاه‌های خروجی را به‌کار اندازد یا قابل نمایش باشد.

خروجی

تبدیل سیگنال‌های پردازش‌شده الکتریکی به شکلی است که افرادی که این ابزار را به‌کار می‌برند، بتوانند آن را مشاهده نموده یا در برخی موارد، اطلاعات را برای مشاهدات و تحلیل‌هایی در آینده ذخیره نمایند.

کاربردهای اخیر بیوسنسور در کشاورزی

بیوسنسورها در صنعت غذا

بیوسنسورهای آنزیمی در صنایع غذایی برای تعیین تازگی محصولات به‌کار می‌روند. با فرض اینکه شناسایی آنزیم‌ها، ترکیبات معطر و طعم‌هایی که از مرحله پژمردگی محصول منشأ می‌گیرند، امکان‌پذیر باشد.

از بیوسنسورها برای شناسایی باکتری‌ها در غذا به دو صورت مستقیم و غیرمستقیم بهره گرفته می‌شود:

شناسایی مستقیم

بیوسنسور نوری: این بیوسنسورها برای شناسایی مستقیم باکتری‌ها استفاده می‌شوند.

بیوسنسور بیولومینسانس: استفاده از فوتون‌ها به‌عنوان محصول جانبی واکنش برای سنسور تحلیلی زیستی منجر به بیوسنسور بیولومینسانس می‌شود که ممکن است برای شناسایی حضور یا حالت فیزیکی سلول به‌کار رود.

بیوسنسور آمپدانس الکتریکی: در این نوع بیوسنسور متابولیسم میکروبیال در ظرفیت الکتریکی یا رسانایی الکتریکی افزایش می یابد و از این‌رو منجر به کاهش آمپدانس می‌گردد.

شناسایی غیرمستقیم

بیوسنسورهای طبقه‌بندی شده با فلورسانس: اساس این روش بر مبنای نور ساطع شده از یک الکترون تحریک شده در اثر جذب نور می‌باشد؛ مانند استفاده از یک آنتی‌بادی برای پروتئین حفاظتی با توکسین آنتراکس

بیوسنسورهای بر مبنای متابولیسم میکروبیال: میکروارگانیسم قادر به تبدیل واکنش متابولیکی Redox خود و تعیین میزان سیگنال‌های الکتریکی با استفاده از واکنش ردوکتاز اکسید و یک واسطه هستند. با استفاده از باکتری‌ها محققان می‌توانند آلاینده‌ها را در نمونه‌ها شناسایی کنند.

کاربردهای بیوسنسور در صنایع غذایی

- طراوت و تازگی مواد غذایی
- بسته‌بندی مواد غذایی
- ایمنی مواد غذایی
- کیفیت مواد غذایی و کنترل فرآیند
- شناسایی پاتوژن‌ها
- اندازه‌گیری میزان فولیک اسید بیوتین و ویتامین B۱۲ و پانتوتنیک اسید به‌صورت تناوبی در آزمایش‌های میکروبیولوژی
- تشخیص پسماندهای دارو در غذا مانند آنتی‌بیوتیک‌ها خصوصاً در مواد گوشتی و عسل

بیوسنسور ردیاب (Esch erichia coli)

بیوسنسور ردیاب که ردیابی آن سبب آلودگی انواع غذاها می‌شود برای تولیدکنندگان مواد غذایی حائز اهمیت است. مولکول‌های خاصی که در سطح این سویه قرار دارد، ردیابی آن را ممکن می‌سازد. به عبارتی امکان طراحی حسگرهای زیستی جهت بررسی مواد خارجی در محصولات غذایی نظیر آفت‌کش‌ها، کودها، بقایای دی اکسین، اجزای باقی‌مانده آب و خاک (که به طور غیرعمدی که به چرخه غذا وارد شدند)، موجودات ترا ریخته، میکروارگانیسم‌های پاتوژن و سموم حاصل از آنها، اجزای غذایی نظیر ضد مغذی‌ها، آلرژن‌ها، داروها، افزودنی‌ها و هیدروکربن‌ها فراهم آمده است. همچنین حسگرهای زیستی در فراورده‌های غنی شده با ترکیباتی نظیر ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی اکسیدان‌ها قابل به‌کارگیری هستند. این حسگرها کمیت ترکیبات غذایی مختلف را برای ارزیابی تندی، رسیدگی، خراب شدگی، عمر انباری و تشخیص ترکیبات مورداستفاده به‌عنوان شاخص‌های تازگی مواد غذایی تعیین می‌کنند.

کاربردهای بیوسنسور در تعیین و اندازه‌گیری آلودگی‌های زیستی

۱- کاربردهای محیطی مانند شناسایی آفت‌کش‌ها و آلودگی های آب‌های رودخانه‌ها
۲- پاک‌سازی محیط از باکتری‌های هوازی
۳- ناسایی و تشخیص فسفات‌های زیستی

کاربرد بیوسنسور در تشخیص پاتوژن‌های خاکزی

فدر این بیوسنسور فعالیت ارگانیسم مفید و غیرمفید خاک تخمین زده می‌شود بر این اساس که مقدار مصرف اکسیژن در ارتباط با این دو متفاوت است. این بیوسنسورها قبل از شیوع بیماری اهمیت دارند.

کاربردهای بیوسنسورها در دامپروری

۱- بیوسنسور هشدار خطرات
۲- بیوسنسور فاصله یاب لیزری
۳- تکنولوژی جدید بیوسنسورها در تشخیص کتوز در گاوهای شیر (کتون‌متر)

کتوز

کتوز در گاوهای شیرده پر تولید در خلال شش هفته اول زایمان روی می‌دهد که در سه هفته اول بخصوص در ۴۸ ساعت اول بسیار مهم است. مبنای بروز این عارضه تغییرات در روند سوخت‌وساز است که به‌طور عمده محور آن‌ها کاهش گلوکز خون و افزایش تولید اجسام کتونی در خون است. این ترکیبات فرآورده‌های واسطه متابولیکی ناشی از جابجا شدن چربی‌های ذخیره‌ای بدن است که عمدتاً استواستات و استون است (BHBA شامل بتاهیدروکسی بوتیرات) عارضه فوق به دلیل تجمع اجسام کتونی در خون و ادرار گاو کتوز نامیده می‌شود. بروز این عارضه در زمان تغییرات مهم در هنگام زایمان و آغاز دوران شیردهی از لحاظ توان و قدرت دام و همچنین میزان تولید شیر و تولید شیر باکیفیت در طول دوران شیردهی از اهمیت بسزایی برخوردار است. علائم این بیماری کتوز می‌توان به بی‌اشتهایی و عدم رغبت غذا و علائم عصبی همچون لیس زدن غیرطبیعی، رفتار و حرکات غیرطبیعی هنگام راه رفتن و سایر علائم مشابه اشاره نمود.

تشخیص کتوزیس با دستگاه کتون متر نواوت

۱- اندازه‌گیری BHBA و تشخیص کتوز تحت بالینی توسط این دستگاه تنها در ۱۰ ثانیه انجام می‌شود.
۲- مقدار حجم خون موردنیاز کمتر از ۸/۰ میکرولیتر است.
۳- این دستگاه به کالیبراسیون نیاز ندارد و مخصوص هماتوکریت گاوهای شیری کالیبره شده است.
۴- حافظه‌ی داخلی دستگاه توانایی ذخیره ۴۰۰ آزمایش را همراه با تاریخ، روز و ساعت دقیق را داراست.

فواید استفاده از دستگاه کتون متر

۱- پوشش رنج وسیعی از هماتوکریت دام برای دستیابی به جوابی دقیق و قابل اعتماد
۲- حذف ذرات اضافی خون در هنگام خون‌گیری توسط دستگاه
۳- تصحیح جواب در رنج پایین هماتوکریت و آنمی‌ها
۴- دارای مایع مخصوص کنترل کیفیت و کالیبراسیون
۵- اندازه‌گیری گلوکز خون با نوار مخصوص

مزایای استفاده از دستگاه کتون متر در هر دامداری شیری

۱- کاهش هزینه در ارسال و انجام آزمایش

۲- تشخیص سریع و به‌موقع در مرحله تحت کلینیکی و درمان فوری گله

۳- کاهش هزینه درمانی و عمل جراحی

۴- مراقبت و مدیریت بیشتر از گله و حفظ ارزش گله

۵- حفظ تولید حجم و کیفیت شیر

۶- عدم نیاز به کاربر متخصص و کاربری آسان

شکل ۱- دستگاه کتون کتر نواوت

نتیجه‌گیری

نانو بیوحسگرها باید در بیوچیپ‌های کوچک ادغام شوند که این روش، به‌طور فزآینده‌ای قابلیت عملکردی آن‌ها را افزایش می‌دهد؛ در نتیجه این ابزارهای کوچک دارای ویژگی قابلیت حمل، استفاده آسان، هزینهٔ پایین و به صورت یک‌بار مصرف است. لذا قابل‌ذکر است، تحقیقاتی که در مورد استفاده از نانوبیوحسگرها در کشورمان کمتر صورت گرفته است بسترهای مناسبی جهت تحقیق و توسعه در این زمینه به کمک مراکزی نظیر پژوهشکده‌ی بیوتکنولوژی کشاورزی فراهم می‌باشد که می‌توان در جنبه‌های مختلف آن فعالیت نمود.

منابع

1. Ferrari, M. (2007). "BioMEMS and Biomedical Nanotechnology: Volume IV: Biomolecular Sensing, Processing and Analysis." Springer Science & Business Media, Berlin, Germany.

2. Carrascosa, L. G., Moreno, M., Alvarez, M., and Lechuga, L. M. (2006). "Nanomechanical biosensors: a new sensing tool." *TrAC trends in analytical chemistry*, 25(3), 196-206.

3. Salimi, A., Noorbakhsh, A., and Ghadermarzi, M. (2007). "Amperometric detection of nitrite, iodate and periodate at glassy carbon electrode modified with catalase and multi-wall carbon nanotubes." *Sensors and Actuators B: Chemical*, 123(1), 530-537.

4. Yang, H. and Zhu, Y. (2005). "A high performance glucose biosensor enhanced via nanosized SiO2." *Analytica Chimica Acta*, 554(1-2), 92-97.

5. Eggins, B.R., (2008). "Chemical sensors and biosensors." *John Wiley & Sons, New Jersey, United States.*