استفاده از پدیده نشر نور زیست‌شناختی در طراحی حسگرهای زیست‌شناختی جهت ردیابی آلودگی‌های آبی

محمد حسین صحرایی، سهیلا یغمایی*

تهران، دانشگاه صنعتی شریف، دانشکده مهندسی شیمی و نفت

پیام نگار: **yaghmaei@sharif.edu**

چکیده

امروزه به ردیابی آلاینده‌های محیط زیستی توجه فزاینده‌ای شده است. با توجه به استفاده روز افزون آب در صنایع مختلف و کاهش ذخایر آب‌های زیرزمینی، نیاز به بررسی و تصفیه فاضلاب‌های صنعتی بیش از گذشته احساس شده است. استفاده از روش‌های زیستی برای اندازه‌گیری و ردیابی غلظت آلاینده‌ها از روش‌های نوین در بررسی آلودگی آب می‌باشد. بهره‌گیری از پدیده نشر نور زیست‌شناختی (زیست‌نورتابی) در موجودات زنده برای ردیابی آلاینده‌های صنعتی و نحوه استفاده از آن در یک حسگر زیست‌شناختی هدف اصلی این مقاله می‌باشد. در ابتدا پدیده نشر نور زیست‌شناختی و در ادامه نحوهٔ استفاده از این پدیده در یک حسگر زیست‌شناختی و چگونگی ردیابی آلاینده‌ها در فاضلاب‌های صنعتی مورد بررسی قرار می‌گیرد. نتایج به‌دست آمده امکان استفاده از این پدیده برای ردیابی آلودگی‌های آبی را نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: حسگر زیست‌شناختی، نشر نور زیست‌شناختی (زیست‌نورتابی)، ردیابی فاضلاب‌های صنعتی

Archive of SID

۱- مقدمه

نیاز روز افزون بشر برای کنترل آلاینده‌ها و استفاده از روش‌های دقیق و همچنین کافی نبودن آنالیز شیمیایی، توسعهٔ نوع جدیدی از حسگرهای زیست‌شناختی را به همراه داشته است. در اینگونه حسگرها از سازواره‌های مختلفی از جمله ماهی‌ها، باکتری‌ها، جلبک‌ها و بی مهرگان استفاده می‌شود. هر چند روش ردیابی آلاینده‌ها با استفاده از حسگرهای زیست‌شناختی می‌تواند گران، وقت گیر و نیازمند نمونه‌های بسیار زیاد برای درجه‌بندی حسگر باشد، لیکن باید تحقیقات زیادی برای پیدا کردن سازواره و عامل مورد اندازه‌گیری در آنها انجام گیرد تا راهکاری برای اقتصادی نمودن این فناوری نوین با توجه به دقت آن بدست آید.

استفاده از پدیدهٔ زیست نورتابی در حسگرهای زیست‌شناختی برای کنترل آلاینده‌ها در خاک، هوا و آب کاربرد دارد. با توجه به گسترش علوم ژنتیک و زیست فناوری این حسگرها پیشرفته تر نیز می‌شوند و می‌توان ژنی را که عامل نشر نور می‌باشد در ریزسازواره‌ها قرار داد. استفاده از این پدیده برای ردیابی به علت سرعت و هزینه مناسب، معمولاً اولین گزینه استفاده از موجودات زنده در حسگرهای زیستی می‌باشد. برای این کار نیاز به سازواره‌هایی با خاصیت نشر نوراست.

در این مقاله سعی شده است تا امکان استفاده از پدیده زیست نورتابی در یک حسگر زیستی جهت اندازه‌گیری آلودگی آب بررسی شود. بنابراین ابتدا به معرفی پدیده نشر نور زیست‌شناختی پرداخته شده و سپس جزئیات مورد نیاز از جمله مکانیزم به‌طور کامل بیان شده است. با بررسی حسگرهای زیستی به بیان نحوه استفاده از پدیده نشر نور زیست‌شناختی در آن‌ها و نحوهٔ اندازه‌گیری نور

www.SID.ir

پرداخته شده است. درانتها به بررسی موجودات زنده دارای خاصیت نشر نور برای اندازه‌گیری آلودگی آب پرداخته و استفاده از آنها برای ردیابی آلاینده‌ها در انواع فاضلاب‌ها، آب‌های زمینی و آب‌های تصفیه شده بررسی شده است.

۲- پدیده نشر نور زیست‌شناختی

نور نوعی انرژی است که برای نشر آن دو راه وجود دارد. راه اول افروختگی نام دارد که به این صورت است که به جسم مورد نظر حرارت لازم را می‌دهند تا به دمای بالایی برسد و از خود نور ساطع کند. نشر نور در خورشید و ستارگان نمونه ای از افروختگی می‌باشد. راه دوم استفاده از پدیده نورتابی است. اصطلاح نورتابی از واژه لاتین لومن به معنای نور گرفته شده و به پدیدهٔ تابش فوتون‌های فرا بنفش، مرئی و فروسرخ از یک نمونه تحریک شده توسط الکترون‌ها در دمای پایین می‌گویند. این پدیده می‌تواند توسط واکنش شیمیایی، زیست‌شناختی، انرژی الکتریکی و حرکت‌های درون اتمی رخ دهد. نشر نور (نورتابی) را پدیده ای همراه با تولید نور و بدون تولید گرما می‌شناسند. این پدیده به علت حرکت الکترون‌ها از لایه‌های با انرژی بیشتر به لایه‌های با انرژی کمتر که نشر نور را به همراه دارد رخ می‌دهد.

نورتابی که واکنش شیمیایی آن در موجودات زنده انجام می‌شود، زیست نورتابی نام دارد. ۹۰ درصد از موجودات زنده که در ته دریا زندگی می‌کنند به نوعی از این پدیده بهره مند هستند اما به علت اینکه رنگ قرمز قبل از رسیدن به سطح دریا جذب می‌شود، اغلب رنگ‌ها آبی و سبز هستند. موجوداتی نظیر قارچ‌ها، جلبک‌ها، حیوانات ریز و باکتری‌ها این پدیده را دارند که در باکتری و قارچ نشر نور به صورت پیوسته است اما در جلبک و حیوانات به صورت لحظه ای می‌باشد. کرم شب تاب بهترین گزینه برای تشریح این پدیده است. مواد شیمیایی لوسفرین و لوسیفراز با آدنوزین تری فسفات[1] واکنش می‌دهد و ترکیب پیچیدهٔ سه گانه‌ای را به وجود می‌آورد که انرژی مورد نیاز برای فرایندهای سلولی را ایجاد می‌کند. این ترکیب پیچیده از حالت برانگیخته به پایا منتقل می‌شود و نور ایجاد می‌کند [۱].

زیست نورتابی در موجودات مختلف با اشکال ظاهری متنوع و با مکانیسم‌های مختلف انجام می‌شود. برخی جانوران اندام‌های نورانی پیچیده‌ای دارند که مانند چشم است، در این جانوران انتشار نور تحت کنترل سیستم عصبی است و نور بر اساس نیاز یا با تحریک عصبی آزاد می‌شود. از جمله این جانوران می‌توان به ماهی‌های منوّر و اختاپوسهای نورافشان اشاره کرد. در برخی دیگر یک سلول منفرد همهٔ دستگاه‌های مورد نیاز برای نشر نور را دارد و نور به‌طور ممتد نشر می‌شود (باکتری‌ها و قارچ‌های منور از این دسته هستند). بسیاری از گروه‌های دیگر موجودات نورتاب حد واسط این دو گروه هستند.

پدیده زیست نورتابی در موجوداتی که از این ویژگی بهرمندند دارای اهمیت تکاملی است و می‌توان کاربردهایی مانند وسیله‌ای برای استتار، به عنوان وسیلهٔ دفاعی، جلب طعمه، جلب جفت و برای برقراری ارتباط برای آن برشمرد. تعداد زیادی از موجودات منتشرکنندهٔ نور ساکن دریا هستند با این حال تعداد معدودی از آنها در خشکی و زیستگاه‌های آب شیرین نیز یافت می‌شوند. موجودات زیست نورتاب همزیست با موجودات دیگر نیز جزء این گروه محسوب می‌شوند. زیست نورتابی در هر جانداری از نظر طول موج نور، مدت تابش، تناوب و دفعات تابش منحصر به فرد است.

۲-۱ مکانیزم زیست نورتابی

هرگاه الکترون، اوربیتال خود را تغییر دهد فوتونی جذب یا خارج می‌شود. برای ایجاد نور، ارگان (عضو) مربوطه باید تلاش کند و محرکی داشته باشد. تولید نور با یک واکنش آنزیمی تسریع می‌یابد تمام واکنش‌های آنزیمی به سوبسترا و آنزیم نیاز دارند. جزء مورد عملی که در واکنش زیست‌نورتابی از خود نور منتشر می‌کند، لوسفرین نام دارد و آنزیم آن لوسیفراز می‌باشد که به انرژی نیاز دارد تا لوسفرین را به حالت برانگیخته ببرد.

لوسفرین مورد بررسی لوسیفراز منحصر به خود را دارد و معمولاً نمی‌توان از آن برای لوسیفراز دیگر استفاده کرد و این نشانه متفاوت بودن تکامل تدریجی انتشار نور برای هر گونه است. در اواخر قرن ۲۰ حدود ۳۰ نوع مختلف از انتشار نور در پدیده زیست نورتابی عنوان شد. با وجود انواع مختلفی از لوسیفرین و لوسیفراز، می‌توان یک مکانیزم عمومی برای آن‌ها تعریف کرد [۲].

لوسیفرین‌ها بسیار فلوئورسان هستند و ترکیباتی آروماتیک

1. Adenosine Triphosphate

Archive of SID
www.SID.ir

می‌باشند. لازم به تذکر است طیف نوری زیست نورتابی با فلوئورسانس یکسان است.

این واقعیت که طیف نوری زیست نورتابی و فلوئورسانس یکسان هستند بیان می‌کند که زیست نورتابی هنگامی رخ می‌دهد که الکترون در یک مولکول انتقال یابد و آنرا برانگیخته کند. در فلوئورسانس تراز برانگیخته S1 وقتی به وجود می‌آید که نور، مولکول را برانگیخته می‌کند اما در زیست نورتابی انرژی شیمیایی عامل برانگیختگی است.

انرژی زیادی برای تولید نور مورد نیاز است. میزان انرژی در سلول را با ATP[1] بیان می‌کنند. هنگامی که ATP آبکافت شود (cal/mol)۷ انرژی می‌دهد. پس انرژی مورد نیاز برای تولید نور از ATPها به‌دست می‌آید. برای تولید این انرژی اکسیژن مورد نیاز است. این واکنش در رابطه (۱) آمده است:

(۱) واکنش تولید نور آب + محصول لوسفرین ← لوسفرین + اکسیژن

برای ایجاد زیست نورتابی باید فلوئورسانس لوسیفرین با بازدهی نزدیک داشته باشد. به عبارتی دیگر اگر مدت زمان عبور به حالت سه گانه زیاد باشد از شدت زیست نورتابی کم می‌شود پس نباید الکترون‌ها به حالت سه گانه انتقال یابند. اگر لوسفرین دارای حالت‌های سه گانهٔ زیادی باشد مناسب نیست زیرا هر قدر مدت این حالت طولانی باشد، احتمال واکنش آن با مواد دیگر بیشتر و بازدهی آن کمتر می‌شود و شدت نور کاهش می‌یابد.

۳- حسگر زیست‌شناختی

موجودات دریایی، مدل‌های مناسبی را جهت توسعهٔ حسگرهای زیستی، ردیاب‌های زیستی، کیت‌های تشخیص طبی، آبزی‌پروری و ردیابی محیطی به‌وجود آورده‌اند. نوعی از این حسگرهای زیستی، آنزیم‌های درگیر در زیست نورتابی هستند. ژن‌های لوکس[2] که کدکنندهٔ این آنزیم‌ها هستند، از باکتری‌های دریایی همچون ویبریو فیشری[3] جدا شده و به طیفی از گیاهان و باکتری‌های دیگر منتقل شده‌اند. ژن‌های lux در یک توالی ژنی یا اپرون درج می‌شوند و تنها زمانی عمل می‌کنند که در یک شرایط محیطی تعریف شده قرار گیرند. مثلاً اگر این ژن در اپرون درگیر در تجزیهٔ تولوئن درج شود، هنگامی که این باکتری‌های مهندسی شده، در محیط حاوی تولوئن قرار می‌گیرند، به‌صورت (زرد- سبز) دیده می‌شوند و این بدان مفهوم است که باکتری، در حال تجزیه‌کردن تولوئن است. از این خاصیت می‌توان جهت ردیابی این مواد استفاده کرد.

یک حسگر زیست‌شناختی وسیله ی تحلیلی است که یک پاسخ زیست‌شناختی را به یک سیگنال الکتریکی تبدیل می‌کند. کلمه حسگر زیست‌شناختی برای حسگرهایی استفاده می‌شود که می‌توانند غلظت مواد ویا سایر خواص زیست‌شناختی را که با روش‌های مستقیم قابل اندازه‌گیری نیستند اندازه‌گیری کند. حسگر زیست‌شناختی وسیله‌ای تحلیلی است که یک عنصر حساس از نظر زیست‌شناختی را با یک ترانسدیوسر فیزیکی یا شیمیائی ترکیب می‌کند تا به صورت کمی و انتخابی وجود یک ترکیب خاص در یک محیط خارجی داده شده را تشخیص دهد.

یک حسگر زیست‌شناختی در حقیقت شامل یک حسگر کوچک و مادهٔ زیست‌شناختی تثبیت شده بر آن می‌باشد. از آنجا که حسگرهای زیست‌شناختی ابزاری توانمند جهت شناسایی مولکول‌های زیستی می‌باشند، امروزه از آنها در علوم مختلف پزشکی، صنایع شیمیایی، صنایع غذایی، نمایش محیط زیست، تولید محصولات دارویی، بهداشتی و غیره بهره می‌گیرند. در واقع این حسگرها ابزاری توانمند جهت شناسایی مولکول‌های زیستی می‌باشند. حواس بویایی و چشایی انسان که به شناسایی بوها و طعم‌های مختلف می‌پردازد و یا سیستم ایمنی بدن که میلیونها نوع مولکول مختلف را شناسایی می‌کند، نمونه‌هایی از حسگر زیست‌شناختی طبیعی می‌باشند. در حقیقت حسگر زیست‌شناختی ابزارهای تحلیلی بشمار می‌روند که می‌توانند با بهره‌گیری از هوشمندی مواد زیست‌شناختی، ترکیب یا ترکیباتی را شناسایی کنند، با آنها واکنش دهند، و بدین ترتیب یک پیام شیمیایی، نوری و یا الکتریکی ایجاد نمایند. جزئیات یک حسگر زیست‌شناختی در شکل (۱) آمده است [۳و۴].

الف- زیست کاتالیزگر مادهٔ واکنش‌دهنده را به محصول تبدیل می‌کند.

ب- مبدل خروجی این واکنش را به یک سیگنال الکتریکی تبدیل می‌کند.

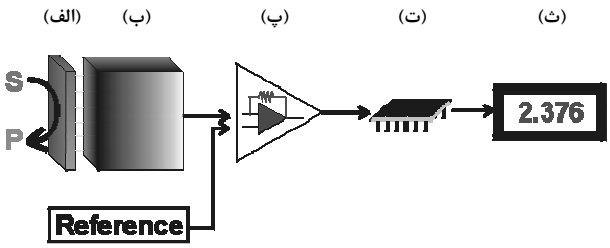
1. Adenosine Tri-Phosphate
2. Lux
3. Vibiro Fischeri

Archive of SID
www.SID.ir

پ- خروجی از مبدل توسط تقویت‌کننده تقویت می‌شود.

ت- توسط پردازشگر پردازش می‌شود.

ث- توسط مونیتور نمایش داده می‌شود.



شکل ۱- طرح اجمالی حسگر زیست‌شناختی [۴]

۴- موجودات زیست نورتابی برای ردیابی آلاینده ها

اندازه‌گیری آلودگی آب در سال‌های اخیر پیشرفت قابل توجهی داشته است. در گذشته برای اندازه‌گیری آلودگی از پارامترهایی نظیر مقدار آلودگی مواد آلی[1] و میزان اکسیژن مورد نیاز شیمیایی[2] استفاده می‌شد که برای آلودگی‌های متنوع کافی نیست. برای همین استفاده از روش‌های جدید تجزیه با قیمت، زمان و دقت مناسب، بیش از پیش مورد توجه قرار گرفت. به همین علت روش‌های زیست‌شناختی با استفاده از خواص زیستی موجودات دریایی به وجود آمد. این روش‌ها مبتنی بر خصوصیات زیستی انواعی از میکروسازواره‌ها، ماهی‌ها و گیاهان است. در ادامه به توصیف استفاده از زیست نورتابی در اندازه‌گیری آلودگی‌های آب پرداخته شده و جداولی که از موجودات مختلف به‌دست آمده است ارائه می‌شود.

برای تشخیص ماده اصلی آلاینده در آب از ترکیب روش‌های زیست‌شناختی با آنالیز شیمیایی و نتایج به‌دست آمده، استفاده می‌شود. پاسخ زیست‌شناختی ارگان‌های مختلف نسبت به ماده شیمیایی متفاوت، و به میزان حساسیت نسبت به ماده مورد نظر وابسته است. دسته بندی ارگان‌ها در اندازه‌گیری‌های زیست‌شناختی با توجه به ساختار زیست‌شناختی صورت می‌گیرد. سنجش زیست‌شناختی از مواردی که در ادامه آمده، بررسی شده‌اند:

۴-۱ ماهی‌ها

در این روش ماهی باید با محیط آلوده به مدت حداقل ۹۶ ساعت در تماس باشد. دو نوع آزمون سمیت به فرم تعادلی و دینامیکی انجام می‌شود. انتخاب هر یک به هدف اندازه‌گیری وابسته است. در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی برای جایگزینی آزمون سمیت با روش سنجش از طریق کشت سلولی انجام شده است. به‌طور کلی این روش از حساسیت مناسب و تجزیه و تحلیل در زمان واقعی برخوردار است ولی از لحاظ استاندارد کردن با مشکل مواجه است و نیاز به تجهیزات و متصدیانی با مهارت کافی دارد.

۴-۲ بی مهرگان

استفاده از بی مهرگان ماکرو مانند گونه‌های دافینا[3] و سریودافینا[4]، برای اندازه‌گیری آلودگی از روش‌های نوین می‌باشد و آزمون‌ها در شرایط کنترل شده بر روی این گونه‌ها انجام می‌شود.

جدول‌های (۱) و (۲) انواع مهره داران از جمله ماهی‌ها و بی مهرگان مورد استفاده در آب شیرین و آب دریا را نشان می‌دهد.

۴-۳ گیاهان

اگرچه استفاده از گیاهان برای اندازه‌گیری آلودگی به ندرت انجام گرفته اما گیاهانی مانند جو و کلم چینی از لحاظ هزینه، ارزیابی نقطه پایانی و فعال شدن سریع با آلاینده‌ها مزیت‌های قابل توجهی دارند.

زمان زیادی برای اندازه‌گیری آلودگی از طریق ریشه‌های گیاهان لازم است. جدول (۳) گیاهان مورد استفاده در این زمینه را نشان می‌دهد.

۴-۴ باکتری‌ها

با بررسی تأثیر آلودگی‌ها بر فعالیت متابولیکی باکتری‌ها، روش‌هایی برای اندازه‌گیری آلاینده‌ها به‌دست آمده است. بیشترین روش سنجش آلودگی در مهار زیست نورتابی یک باکتری به نام ویبریو فیشری است. مکانیزم این باکتری همان واکنش زیست‌نورتابی و نشر نور از آن می‌باشد. میزان نشر نور به حالت متابولیکی سلول وابسته است که با توجه به میزان آلودگی متفاوت است. میزان آلودگی نشر نور را کاهش می‌دهد. استفاده از سنجش باکتری‌های زیست نورتابی مزیت‌های نظیر تجدید پذیر بودن، حساسیت بالا و سریع بودن را دارد. جدول (۴) باکتری‌های مورد استفاده در این زمینه را نشان می‌دهد.

1. Total Organic Carbon
2. Chemical Oxygen Demand
3. Daphina
4. Ceriodaphnia

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- ماهی‌ها و بی مهرگان مورد استفاده در سنجش زیست‌شناختی مواد آلوده و میزان عمرمفید آن‌ها در آب شیرین [۵]

بی مهرگان	مهره داران							
آب سرد	آب گرم		آب سرد			آب گرم		
عمر	موجود زنده	عمر	موجود زنده	عمر	موجود زنده	عمر	موجود زنده
دوره نوجوانی	کرای فیش[1]	دوره نوجوانی	کرای فیش ارکنکتس	(۹۰-۳۰) روز	کوهو سالمن انکورهینکوس	(۹۰-۱) روز	چانل کت فیش تالوروس
دوره نوزادی	استون فلایز ترونارکیس[2]	دوره نوزادی	میدگو چینتموس	(۹۰-۳۰) روز	رینبو تروت سالمو	(۹۰-۱) روز	فاتد مینو پیمپهالیس
		دوره نوجوانی	آمفیپودس	(۹۰-۳۰) روز	بروک تروت سالوینوس	(۹۰-۱) روز	بلوگیل لئوپومیس

جدول ۲- ماهی‌ها و بی مهرگان مورد استفاده در سنجش زیست‌شناختی مواد آلوده و میزان عمرمفید آن‌ها در آب دریا [۵]

بی مهرگان	مهره داران							
آب سرد	آب گرم		آب سرد			آب گرم		
عمر	موجود زنده	عمر	موجود زنده	عمر	موجود زنده	عمر	موجود زنده
دورهٔ نوزادی	اشنیک شریمپ پانادالوس	دوره نوزادی	بلو راب کالینکتس ساپودوس	(۹۰-۱) روز	سول پارفیری وتولوس انگلیسی	(۹۰-۱) روز	مومیچگ فاندولوس هتروکلیتوس
دوره نوزادی	دنگینس کنسر ماجیستر	(۱۰-۱) روز	گراس شریمو پالامونتز			(۹۰-۱) روز	پینگ فیش لاگوفون
(جنین/ سلول)	سند دولار دندراستر اکسنتریکوس	پس از تولد	سند شریمپ کرانجن			(۹۰-۱) روز	شیپ هد مینو
		پس از تولد	پاسیفیک اویستر کراسوسترا			(۹۰-۱) روز	سیپتینودون وریگیتز سیلور
		(جنین / پس از تولد)	آمریکن اویستر کراسوسترا ویرجینیکا			(۹۰-۱) روز	اسات لیوستوموس

1. Cryfish Pacifastus Leniuschlus
2. Stonefiles Pteronarcys Spp

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳- گیاهان و پارامترهای اندازه‌گیری جهت بررسی آلودگی آب [۵]

پارامتر اندازه گیری	موجود زنده
جلوگیری از رشد	جلبک سبز سلنستروم کاپریکورنوتوم دونالیلا ترتیولکتا اسکلتونما کاستاتوم
جوانه زدن	کلم چینی براسیگا کامپستریس جو صحرایی آوینا ساتیوا کلم
کشیدگی ریشه	لاکتوکا ساتیوا

جدول ۴- باکتری‌ها و پارامترهای اندازه‌گیری جهت بررسی آلودگی آب [۵]

پارامتر اندازه گیری	موجود زنده
زیست نورتابی	ویبرویو فیشری
زیست نورتابی	فوتوباکتریم فسفورنیوم
وضعیت متابولیکی	اشریریچا کولی
وضعیت متابولیکی	سدوموناس یوتیدا
جلوگیری از (رشد/ زیست نورتابی)	سدوموناس فلوئورسنس
جنبندگی	اسپریلیوم وولاتانتا
فعالیت فتوسنتز	سیناباکتر سینچیکوس
رشد	لجن فعال
رشد	استافیلوکوکوس آیوروس
فعالیت متابولیکی	ساکارومیسیز سرویسایی

۵- کاربرد زیست حسگرها در کنترل محیط زیست

آلودگی‌های محیط زیستی تاثیر مستقیم بر روی سلامت انسان می‌گذارند. بنابراین می‌توان این عامل را به‌طور مستقیم در ارتباط با کیفیت در نظر گرفت. بسته به هدف مورد نظر، روش‌های حساس و انتخاب پذیری برای تعیین کمی و کیفی هدف، مورد نیاز می‌باشند. در هر حال هیچ روش تجزیه ای به تنهایی تاکنون قابل تامین کلیهٔ نیازهای موجود در بازار برای قیمت‌های پایین تر،زمان کوتاه آنالیز، حساسیت و سادگی، انتخاب پذیری پایداری و قابل اطمینان بودن به تنهایی نبوده است. تکنیک‌هایی که بر اساس یک عامل تشخیص دهندهٔ زیستی عمل می‌کنند، کاندیداهای مستعدی هستند که قادر به برآورده ساختن بسیاری از نیازهای بالا می‌باشند. ویژگی‌های برتر این تکنیک‌ها،انتخاب پذیری بالا، حساسیت و سرعت واکنش بین جزء زیستی و هدف می‌باشد.

زیست حسگرهای متنوعی برای تعیین ترکیبات آلاینده موجود در محیط زیست مانند فنول‌ها،آمین‌های حلقوی، آفت کش‌ها، فلزات و غیره توسعه یافته است. از آنجایی که غلظت فلزهای سنگین محیطی کاهش یافته، روش‌های تجزیه ای حساستر بیشتری برای کنترل توزیع این مواد مورد نیاز خواهند بود. با این پیش زمینه زیست‌حسگرها ابزار تجزیه‌ای توانمندی هستند، به دلیل اینکه این ابزار قادر هستند ماده در دسترس زیست‌شناختی فلزات سنگین را شناسایی کنند. این ماده قسمتی از فلزات سنگین موجود در محیط است که با ماده تشخیص‌دهندهٔ زیست‌شناختی واکنش می‌دهد و بنابراین برای سلامتی مضر می‌باشد.

یون‌های فلزی سنگین پایدار شده (برای مثال از طریق تشکیل کمپلکس‌های فلزی) با جزء تشخیص دهندهٔ زیست‌شناختی واکنش نمی دهند و بنابراین تا زمانی که در شکل ترکیبی خود هستند به موجودات زنده نیازی نخواهند داشت. فلزات، نقش اساسی را در فرایندهای حیاتی موجودات زنده ایفا می‌کنند. بعضی از فلزات از قبیل کلسیم، کبالت، کروم، مس، آهن، پتاسیم، سدیم، نیکل و روی جزو مواد معدنی ضروری هستند. درحالیکه سایر فلزات مانند آلومینیم، کادمیم، طلا، سرب و جیوه نقش زیستی سودمندی ندارند [۶].

Archive of SID

www.SID.ir

۶- نحوه استفاده از حسگر زیست‌شناختی زیست نورتابی برای بررسی آلودگی آب

ایجاد آلاینده‌های نظیر $ZnSO_4$، $CuSO_4$ $NaNO_3$, و $HgCl_2$ موجب نگرانی‌های شدیدی در مورد سلامت آب‌های آشامیدنی شده است. وجود مس، روی و نیترات در آب آشامیدنی باعث ایجاد بیماری‌های معده و مرگ کودکان می‌شود. پس ردیابی این آلاینده‌ها از ضروریات مهم برای سلامت آب‌ها می‌باشد. شدت نور منتشر شده در موجوداتی که دارای خاصیت زیست نورتابی هستند در مقابل آلودگی تغییر می‌کند. شدت نور، سالم بودن ارگانیسم را نشان می‌دهد و واکنش زیست نورتابی به مواد سمی و آلاینده حساس است. این حساسیت باعث شده است استفاده از این پدیده برای مشخص کردن و ردیابی آلاینده‌های زیست محیطی رایج شود.

اساس کار یک زیست‌حسگر در یک پدیده زیست نورتابی این است که ابتدا نشر نور در ظروف با غلظت معین اندازه‌گیری می‌شود و زیست‌حسگر از این طریق کالیبره می‌شود و سپس از آن برای اندازه‌گیری آلاینده‌ها در فاضلاب‌های صنعتی و غیره استفاده می‌شود و با توجه به نشر نور در فاضلاب و مقایسه آن با نمونه‌هایی که غلظت معین دارند، میزان آلودگی مشخص و ردیابی می‌شود [۷].

بعضی از باکتری‌های طبیعی زیست نورتابی برای ردیابی آلاینده‌ها بسیار حساس هستند و در هر شرایط عملیاتی نمی‌توانند آلاینده‌ها را ردیابی کنند. در بعضی از فاضلاب‌های صنعتی، غلظت آلاینده تا حدی زیاد است که باکتری نمی تواند زنده بماند و نشر نور کند. باکتری‌هایی که از لجن فعال منزوی شده باشند دارای پایداری بیشتری در مقابل مواد سمی فاضلاب هستند و می‌توانند نسبت به افزایش غلظت یک ماده سمی عکس العمل نشان دهند.

یک مثال مهم از این روش سیستم پیوسته نمایش فاضلاب‌هاست و بر اساس باکتری زیست نورتابی ش.ک ۱[1] است که یک باکتری میله‌ای اصلاح شده همراه با ژن‌های لوکس می‌باشد. این باکتری میله‌ای به‌صورت منزوی نسبت به لجن فعال به‌کار می‌رود. این باکتری خاصیت نشر نور دارد و برای آلاینده‌هایی نظیر مس، روی، کادمیم و نیکل به‌کار می‌رود. جذب این فلزات توسط لجن فعال عامل دگرگونی در ارگان نشر نور می‌باشد. جذب مس از بقیه فلزات بر روی لجن بیشتر و کاهش شدت نشر نور نیز محسوس‌تر است.

تحقیقات بر روی این روش جهت جایگزینی آن برای ردیابی در فاضلاب‌ها با مقایسه داده‌های آن با دو روش استفاده از ویبریو فیشری و هوادهی لجن فعال نشان داد که میزان سمیت اندازه‌گیری شده توسط روش ویبریو فیشری بیشتر از روش ش.ک ۱ می‌باشد و داده‌های این روش به روش هوادهی لجن فعال نزدیک‌تر است پس این روش برای ردیابی آلاینده‌های سمی در لجن‌ها بسیار مناسب می‌باشد. در غلظت‌های بالا این سازواره نسبت به مواد سمی حساس می‌شود که کاهش نشر نور را به همراه دارد. سینتیک تأثیر آلاینده‌های سمی بر این سازواره می‌تواند به صورت ریاضی همانند بحث بازداری غیر رقابتی آنزیم‌ها و محاسبه ضریب بازدارنده k1 توضیح داده شود. از این باکتری، زیست حسگرهایی جهت ردیابی فاضلاب‌های صنعتی ساخته شده است [۸].

می‌توان از چند باکتری زیست نورتابی برای اندازه‌گیری آلاینده‌ها در یک زیست‌حسگر استفاده کرد. به‌طوری که زیست‌حسگر را چند کاناله می‌سازند و در هر کانال یک نوع خاص باکتری برای اندازه‌گیری آلایندهٔ خاص استفاده می‌شود که نسبت به آن آلاینده حساسیت بیشتری دارد. اینگونه زیست‌حسگرها بیشتر در فاضلاب‌های نیروگاه‌های هسته ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای فاضلاب‌های بیمارستان در کنار شاخص‌های COD[2]، BOD[3] و TOC[4] از زیست‌حسگری که دارای باکتری ویبریو فیشری می‌باشد برای حصول دقت بیشتر در تشخیص آلاینده‌ها استفاده می‌شود [۹]. کاربرد باکتری‌های زیست نورتابی در ردیابی و آنالیز نمونه‌های آب دریا بسیار کمتر از کاربرد آن‌ها در فاضلاب‌ها می‌باشد. در دریاها با توجه به اینکه گستردگی بیشتر است و غلظت در عمق‌های مختلف متفاوت است از این روش کمتر استفاده می‌شود. استفاده از باکتری‌های هتروتروپیک برای ردیابی آهن به صورت نشر نور از این معدود نمونه‌ها است. نشر نور با توجه به غلظت آهن تغییر می‌کند و با توجه به تغییرات شدت نور میزان آهن اندازه‌گیری می‌شود [۸].

آب تازه و تصفیه شده دارای آلاینده‌های سمی اندکی هستند و باید از روش‌های حساسی برای رد یابی استفاده کرد و در این مورد از

1. Shk1

2. Chemical Oxygen Demand
3. Biological Oxygen Demand
4. Total Organic Carbon

Archive of SID
www.SID.ir

باکتری‌های زیست نورتابی دریایی استفاده می‌شود اگرچه آب تازه و تصفیه شده که حاوی نمک نیست محیط خوبی برای زیستن باکتری‌های زیست نورتابی دریایی نمی باشد و به نمک با غلظتی که در دریا وجود دارد نیازمند است. برای حل این مشکل باکتری‌های زیست نورتابی را در محیط‌هایی منزوی می‌کنند و به صورت ژنتیکی تغییراتی در آن‌ها می‌دهند و ژن‌های نورتابی را در آن‌ها قرار می‌دهند تا بتوان باکتری مناسب را جهت ردیابی پرورش داد.

از آزمایش‌های زیست نورتابی شامل باکتری نورانی و از آنزیم‌ها دوتایی و سه‌تایی برای تشخیص کیفیت آب در برکه‌های کوچک و اکوسیستم‌های آزمایشگاهی جهت ردیابی بنزوکینون استفاده می‌شود. عملکرد این روش‌ها با تغییر طبیعی و فصلی مرداب، تغییر نمی کند اما با تغییر مقدار آلودگی می‌توان به عنوان هشداردهنده از آنها بهره جست [۸].

برای اندازه‌گیری و ردیابی آلاینده‌ها در آب‌های زمینی نزدیک شهرها از باکتری ش.ک ۱ استفاده شده است. اما به تنهایی نمی توان از آزمون‌های زیست‌شناختی به اطلاعات مورد نیاز دست یافت و به آنالیز شیمیایی نیاز داریم. با آنالیز جی سی- ام اس[1] تعداد زیادی آلاینده و همچنین غلظت هر کدام رد یابی می‌شود. با استفاده از باکتری زیست نورتابی ای‌کولی و اسپکتروسکوپی جذب اتمی آرسنیک موجود در آب‌ها را اندازه‌گیری می‌کنند. پروتوکل‌هایی جهت ممانعت کردن تاثیر یون‌های آهن بر آرسنیک توسعه یافته‌اند. با استفاده از این باکتری‌ها میزان دقت به‌طور قابل ملاحظه ای افزایش می‌یابد [۸].

برای اندازه‌گیری و ردیابی تولوئن در آب‌های سطحی زمین در نزدیکی پالاشگاه‌ها و چاه‌های نفتی از یک زیست‌حسگر بر اساس یون سدوموناس یوتیدا[2] استفاده می‌شود. کنترل لحظه ای آب‌های آشامیدنی نیز در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. کنترل کیفیت آب برای مصارف انسان بسیار مهم است و باید در مقایسه باسایر کنترل آب‌ها از حساسیت، اعتماد و دقت بیشتری برخوردار باشد و باید مصرف‌کننده را از عدم وجود مادهٔ مضر بیش از حد مجاز مطمئن سازد. پس نیاز به حسگرهای تمام وقت برای کنترل لحظه‌ای می‌باشد [۸و۶].

۷- پژوهش‌های صورت گرفته در داخل کشور

در باره چگونگی و طراحی حسگر زیست‌شناختی با استفاده از پدیده زیست نورتابی در ایران تحقیقات وسیعی صورت نگرفته است بلکه بیشتر در باره ساختار و خصوصیات سینتیکی ژن‌هایی نظیر لوسیفراز که خاصیت نورتابی دارند پژوهش‌هایی انجام شده است. آنزیم لوسیفراز واکنش تولید نور را در زیست نورتابی کاتالیزوری انجام می‌دهد و با آنالیز فیلوژنتیکی و توالی مشخص شد که این گونه به زیر خانواده لامپیرانی[3] متعلق است. [۱۰] با مطالعات زیست اطلاعاتی مکان‌ها، موتیف‌ها و دمین‌ها، عملکرد توالی آمینو اسید بالقوه لوسیفراز مشخص شده است [۱۰]. با پایدار کردن آنزیم لوسیفراز و تثبیت آن می‌توان اثرات منفی ناشی از فعالیت توسط مهار آنزیمی را خنثی کرد. خصوصیات سینتیکی آنزیم تثبیت شده بر بسترهای آبگریز آلکیل سفارز بررسی شده است [۱۱]. مطالعه ساختار به وسیله نورتابی نشان می‌دهد که جایگزینی تعدادی از اسیدهای آمینه سبب افزایش مشخصی در عملکرد نورتابی ذاتی لوسیفراز می‌شود [۱۲].

۸- نتیجه‌گیری

با توجه به توضیحات داده شده امکان استفاده از این پدیده در زیست‌حسگر وجود دارد و پیشرفت‌های قابل توجهی در اندازه‌گیری آلاینده‌های مختلف از این روش به‌دست آمده است. نه تنها در آلودگی آب بلکه در آلودگی خاک و هوا نیز از آنها استفاده می‌شود و در هر جایی که تغییرات غلظت آلاینده رخ دهد این حسگرها عمل می‌کنند. حساسیت بالا، کاربرد آسان، انعطاف‌پذیری، سرعت بالا و قیمت پایین استفاده از حسگرهایی را که بر اساس باکتری‌های زیست نورتابی عمل می‌کنند نسبت به سایر روش‌های زیست‌شناختی ردیابی آلاینده‌ها در مقام بالاتری قرار داده است. با توجه به باکتری قرار گرفته، زیست‌حسگر می‌توانند برای ردیابی یک آلاینده مشخص و یا کل مواد آلاینده استفاده شوند. با توجه به میزان تغییرات شدت نور در اثر تغییر غلظت آلاینده، می‌توان ردیابی و اندازه‌گیری را انجام داد. مکانیزم و عملکرد زیست حسگرها شباهت بسیار زیادی به یکدیگر دارند و تنها تفاوت در نوع باکتری است.

1. GC-MS
2. Pseudomonas Putida
3. Lampyrinae

Archive of SID
www.SID.ir

مراجع

[1] Vanderkooei, J. M., "Light Emission Mechanism: bioluminescence", International Journal of Nanotechnology and Application, ISSN 08213-271Y Volume 3 Number 5 (2006).

[2] Vishwakarma, K., Ramrakhiani M and Chandra B.P, "Luminescence and Its Application", International Journal of Nanotechnology and Applications, ISSN 0973-631X Volume 1 Number 2 (2007).

[3] Mulchandani, A., Chen W, Yu Lei, "Microbial Biosensor", Analytica Chimica Acta 568 200–210 (2006).

[4] Turner, A. P.F, Karube I., Wilson G.S. (Eds.), "Biosensors: Fundamentals and Applications", Mir Publishers, Moscow, (1992).

[5] Farre´, M, Barcelo, D., "Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis", Trends in Analytical Chemistry, Vol. 22, No. 5, page 216 (2003).

[6] Tecon, R., Roelof J., Van der Meer, "Bacterial Biosensors for Measuring Availability of Environmental Pollutants", Sensors, 8, 4062-4080; DOI: 10.3390/s8074062 (2008).

[7] Sharma M.K., Goel K. and Rao V.K., "Immunological biosensor for detection of Vibrio cholerae O1 in environmental water samples", World J Microbiol Biotechnol 22:1155–1159 (2006).

[8] Spencer, M., Steinberg, E., Poziomek,W., EngelmannKim, J.H., Rogers, R., "A review of environmental applications of bioluminescence measurements", Volume 30, Issue 11, June 1995, Pages 2155-2197 (1995).

[9] Boynton, Li., "Using Bioluminescent Bacteria to Detect Water Contaminant", Journal of the U.S Chemical Engineering. SJWP 10.2175/SJWP (2009).

[۱۰] سید علیپور، باقر "کلونینگ و تعیین توالی ژن لوسیفراز در گونه لامپریس ترکستانیک" دانشگاه تربیت مدرس، ۷، ۱۵ و ۳۰ (۱۳۸۳).

[۱۱] ریاحی مدار، علی، " تثبیت ساختارهای طبیعی و حدواسط آنزیم‌های لوسیفراز، کربنیک انیدراز و گلوکزاکسیداز بربسترهای هیدروفوبیک" دانشگاه تربیت مدرس، ۷و ۲۱، (۱۳۸۳).

Archive of SID

www.SID.ir