

## مقایسه دو روش کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا جهت تشخیص آفلاتوکسین B<sub>1</sub>

علیرضا کلارستاقی<sup>۱</sup>، منصور بیات<sup>۲</sup>، سید جمال هاشمی<sup>۳</sup>، ودود رضوی<sup>۴</sup>

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[dr\\_mansour\\_bayat@yahoo.com](mailto:dr_mansour_bayat@yahoo.com)

۳. مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

۴. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۴

### چکیده

هدف از این مطالعه، مقایسه دو روش کوانتوم دات، کادمیوم تلوریوم و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا جهت سنجش آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بر اساس انتقال انرژی رزونانس فلورسانس<sup>۱</sup> از کوانتوم دات به رودامین ۱۲۳ می‌باشد. کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم از طریق روش رفلکس در فاز آبی، دمای بالا، pH قلیایی و تحت جریان گاز ازت سنتز شد. از تایو گلیکولیک اسید به عنوان پایدارکننده و پوشش دار کننده استفاده شده است. پس از سنتز کوانتوم دات، ایموبیلیزاسیون آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> خریداری شده روی آن انجام شد. متعاقباً هسته - پوسته مگنت - سیلیکا با استفاده از کلرید آهن سه ظرفیتی و سولفات آهن تحت جریان گاز ازت و pH قلیایی و افزودن محلول TEOS سنتز شد. بیو کونژوگه آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین نیز پس از تهیه با رودامین ۱۲۳ نشان دار شده است. واکنش ایمونولوژیک اختصاصی بین آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> موجود در سطح کوانتوم دات و آفلاتوکسین B<sub>1</sub> نشان دار شده سبب می‌شود که فلوروفور رودامین ۱۲۳ (پذیرنده) و کوانتوم دات (دهنده) در مجاورت فضایی موجب ایجاد پدیده انتقال انرژی رزونانس فلورسانس به محض تهییج نوری کوانتوم دات شوند. در غیاب آفلاتوکسین B<sub>1</sub> نشان دار نشده، کمپلکس آنتی‌ژن - آنتی‌بادی پایدار بوده و نشر قوی کوانتوم دات مشاهده می‌شود. در حضور آفلاتوکسین B<sub>1</sub> آزاد، این آفلاتوکسین با آفلاتوکسین - آلبومین نشان دار شده جهت باند شدن به آنتی‌بادی کونژوگه شده با کوانتوم دات رقابت نموده به نحوی که پدیده انتقال انرژی رزونانس فلورسانس به طور فزاینده‌ای مهار می‌شود. یک ارتباط خطی بین کاهش شدت فلورسانس رودامین با افزایش غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه در محدوده ۰/۰۱ تا ۰/۰۶ μM/ml وجود دارد. استفاده از هسته - پوسته مگنت - سیلیکا به عنوان تشدیدکننده سیگنال سبب می‌شود حساسیت سیستم از ۱۱-۲×۱۰ به ۱۲-۲×۱۰ μM/ml افزایش پیدا کند.

**واژه‌های کلیدی:** کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم، آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، هسته - پوسته مگنت - سیلیکا، انتقال انرژی رزونانس

فلورسانس

<sup>1</sup> FRET

## مقدمه

آفلاتوکسین متصل به آنتی‌بادی شود و سبب خطاهایی در تشخیص شود (۷، ۸).

با استفاده از روش نانو بیوسنسور تمام روش کار در یک مرحله، سریع‌تر و دقیق‌تر انجام خواهد شد؛ بنابراین با توجه به اثرات آفلاتوکسین و به خصوص آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بر سلامتی انسان، اندازه‌گیری آن توسط نانوبیوسنسورهای اختصاصی آفلاتوکسین ضروری به نظر می‌رسد. استفاده از نانو ذرات به واسطه سایز کم ماده مصرفی (در مقیاس نانو)، ایمونوژن بودن ضعیف، انحلال نسبتاً بالا (در روش مذکور عدم نیاز به دستگاه‌های ویژه و هزینه بالا)، انعطاف‌پذیری بالا (اشکال دارویی یا ماده ضد میکروبی) و همچنین توجه ویژه جهانی نسبت به روش‌های تشخیص معمول از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. هدف از این روش پژوهش مقایسه دو روش کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا جهت تشخیص آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بر پایه انتقال انرژی رزونانس فلورسانس می‌باشد که کدام یک می‌تواند حساسیت سنجش را نسبت به روش‌های متداول افزایش دهد؟ در این مطالعه، از نانوذره نقاط کوانتومی جهت اتصال آنتی‌بادی ویژه آفلاتوکسین به آن و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا به عنوان یک ترکیب تشدیدکننده سیگنال که موجب حساس‌تر شدن سیستم تشخیص و اندازه‌گیری به میزان قابل توجهی می‌گردد استفاده شده است.

## مواد و روش‌ها

آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، کونژوگه آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین، آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، کادمیوم کلراید، سدیم بوروهیدرید، پودر تلوریوم، EDC (۱- ایتیل - ۳ - دی متیل آمینو پروپیل (کربودی‌مید هیدرو کلراید)، NHS - هیدروکسی سوکسینامید همگی از شرکت سیگما خریداری شد. تایوگلیکولیک اسید، سولفات آهن، کلرید آهن سه ظرفیتی، تترا ایتیل ارتوسیلیکات<sup>۳</sup> از شرکت مرک تهیه شد.

آفلاتوکسین‌ها مهم‌ترین گروه متابولیت‌های قارچی‌اند. آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، سمی‌ترین نوع آفلاتوکسین است که از عوامل ترانوژنیک، موتاژنیک و سرطان‌زای انسانی در گونه‌های مختلف حیوانات و انسان می‌باشند. این متابولیت‌ها به‌طور معمول توسط گروهی از گونه‌های قارچی جنس آسپرژیلوس به‌ویژه آسپرژیلوس فلاووس<sup>۱</sup> و آسپرژیلوس پارازیتیکوس<sup>۲</sup> تولید می‌شوند که در هوا و خاک تمامی مناطق دنیا یافت می‌شوند (۱). از آنجائی که جلوگیری از رشد قارچ‌ها در مواد غذایی آسان نیست لذا در حال حاضر پیشگیری و خنثی کردن این توکسین در خوراک دام و انسان از مسائل مهمی است که صنایع غذایی دنیا با آن روبرو است. با توجه به آثار مرگبار آفلاتوکسین‌ها و به خصوص آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بر سلامتی انسان و حیوان، اندازه‌گیری این مایکوتوکسین با روشی که حساسیت و اختصاصیت بالایی داشته و درعین حال ساده، سریع و کم‌هزینه باشد ضروری است.

از جمله روش‌هایی که به‌طور معمول جهت جداسازی و شناسایی آفلاتوکسین در مواد غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرد روش TLC، GC، RIA، الایزا و HPLC است (۲-۴). در حال حاضر علاقه به استفاده از کیت‌های الایزا به دلیل نیاز به حجم کم و روش ساده‌تر تخلیص نمونه نسبت به روش‌های مرسوم مانند TLC و HPLC بیشتر می‌باشد. همچنین از نظر اقتصادی مقرون‌به‌صرفه بوده و به دلیل دسترسی سریع و مناسب به آن کاربردی‌تر است (۵، ۶). از آنجا که آنتی‌بادی‌های تولیدشده اغلب با ترکیبات مشابه مایکوتوکسین‌ها واکنش متقاطع نشان می‌دهند و ممکن است گاهی اوقات در مقایسه با روش‌های کروماتوگرافی، مقادیر بالاتری را نشان دهند می‌تواند سبب خطاهایی در تشخیص گردد. به‌علاوه شستشو هم در الایزا یک روش تخلیص محسوب می‌شود و ممکن است باعث حذف

<sup>1</sup> *Aspergillus flavus*

<sup>2</sup> *Aspergillus parasiticus*

<sup>3</sup> TEOS

## ساخت نانوذره نقاط کوانتومی

مدت ۱۵ min نگهداری شد. سپس ۱۰ ml محلول هیدروکسید آمونیوم تحت هوادهی نیتروژن اضافه گردید. نانوذرات مگنت تهیه شده با استفاده از میله مگنت جمع آوری گردید. سپس ۱۰۰ ml از سیترات تری ناتریوم ۱۰۰۰ mg/l به عنوان محلول تثبیت کننده اضافه شد. محلول نانوذرات مگنت تثبیت شده با سیترات به مدت ۲۰ min سونیکت شد. ۵۰ μl آمونیاک جهت نگهداری محلول در pH ۹ تا ۱۰ اضافه شد. متعاقباً ۲ ml محلول تترا اتیل ارتوسیلیکات اضافه گردید و برای سه ساعت در این شرایط نگهداری شد. هسته - پوسته مگنت - سیلیکا یک مورفولوژی کروی با سایز متوسط حدود ۷۰ nm و پایداری نوری بالایی داشته و مانند یک نانوآینه و نانوالماس به عنوان تشدید کننده سیگنال عمل می کند و سبب می شود سیگنال بیشتری تولید شود.

## ایموبیلیزاسیون آنتی بادی روی سطح کوانتوم دات

برای آماده سازی نانوبیو کونژوگه کوانتوم دات نشان دار شده با آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، ۱ ml محلول کوانتوم دات تهیه شده با ۱ mg در ۱/۵ ml و ۲ mg در ۲/۵ ml محلول NHS در pH=۶ مخلوط شد و به مدت ۱ h در حرارت اتاق در تاریکی انکوبه گردید. در مرحله بعد ۱۰ μl آنتی بادی ضد آفلاتوکسین خریداری شده از شرکت سیگما با ۱ ml بافر PBS رقیق شد و به ترکیب فوق اضافه گردید که گروه های آمینی آنتی بادی به گروه های کربوکسیل تایو گلیکولیک اسید که روی کوانتوم دات قرار گرفته متصل گردید. به منظور توصیف تشکیل نانوبیو کونژوگه آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - کوانتوم دات، دانسیته نوری آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - کوانتوم دات در طول موج ۲۸۰ nm قبل و بعد از سانتیفریژ با چرخش ۱۰۰۰۰ g به مدت ۲۰ min در ۴ °C با اسپکتروفتومتر ثبت شده است.

کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم در آزمایشگاه از طریق روش رفلکس در فاز آبی در دمای بالا (۱۰۰ °C و ۸۰ °C) و pH قلیایی تحت جریان گاز ازت سنتز شد. از تایو گلیکولیک اسید به عنوان پایدار کننده و پوشش دار کننده استفاده شده است. اندازه های مختلف کوانتوم دات با طولانی کردن زمان رفلکس ایجاد شده است. با افزایش اندازه کوانتوم دات رنگ و پایداری آن نیز تغییر پیدا کرد. ابتدا ۲۶ mg پودر تلوریوم را برداشته و در ۲ ml آب مقطر حل، سپس ۱۰۰ mg سدیم بوروهیدرید روی به آن اضافه شد و با کپسول گاز ازت، هوازی آن حذف گردید. سپس در بن ماری ۵۰ °C به مدت ۲ تا ۱ h قرار گرفت. در این مرحله پودر تلوریوم احیاء شده و محلول به رنگ بنفش در آمد. در مرحله بعدی به ۲۹ mg پودر کادمیوم کلراید ۲۷ μl تایو گلیکولیک اسید اضافه و محلول در زیر هود به شدت تکان داده شد. به محض ریختن تایو گلیکولیک اسید محلول غیر شفاف شد. سپس pH محلول با استفاده از هیدروکسید سدیم ۱ به ۱۱ M رسانده شد و محلول شفاف شد. سپس محلول به هم زده و محتوی بشر را به ظرف مخصوص رفلاکس (ظرف سه دهانه) ریخته و به مدت نیم ساعت تحت جریان گاز ازت قرار گرفت. در حالی که محلول تکان داده می شد، بلافاصله تلوریوم احیاء شده از دهانه دیگر ظرف رفلاکس اضافه گردید. در نتیجه تلوریوم با کادمیوم کلراید ترکیب شد و کادمیوم تلوریوم ایجاد شد. با افزودن تلوریوم احیاء شده محلول زرد رنگ مشاهده شد. تغییر رنگ محلول نشان دهنده تشکیل کوانتوم دات بود. دمای محلول را به دمای ۱۰۰ °C رسانده و سپس رفلاکس برقرار شد. بعد از ۹۰ min محلول از رنگ زرد به رنگ نارنجی تغییر رنگ داد که حاکی از بزرگ شدن اندازه کوانتوم دات بود.

## سنتز هسته - پوسته مگنت - سیلیکا

برای سنتز نانوذرات مگنت، کلرید آهن سه ظرفیتی و سولفات آهن به نسبت مولی ۲ به ۱ در ۲۵۰ ml آب مقطر دو بار تقطیر شده حل شده است. محلول تحت جریان گاز نیتروژن به

## نشان دار کردن بیوکونژوگه آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین با رودامین ۱۲۳

۱ mg رودامین ۱۲۳ پس از حل شدن در ۱ ml محلول بافر فسفات با pH=۶ به ۲ ml محلول بافر فسفات حاوی ۱ mg آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین اضافه شد. پس از اضافه نمودن ۱ mg در ۲/۵ ml محلول EDC و ۱ mg در ۲/۵ ml محلول NHS در pH=۶ و انکوباسیون به مدت ۱ h در ۴ °C در تاریکی، مخلوط تهیه شده در برابر ۱×۲ L از بافر فسفات با pH=۷/۴ جهت حذف مواد اضافه دیالیز شد. به منظور توصیف اتصال رودامین با آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین، دانسیته نوری مخلوط دیالیز شده با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۰ nm اندازه گیری شد. محلول آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین به عنوان بلانک در نظر گرفته شد.

### آزمایش فلورومتريک

خواص اپتیکی کوانتوم دات کادمیوم - تلوریوم سنتز شده و نانوبیوسنسور طراحی شده در دستگاه اسپکتروفلوریمتری شیمادزو در ۳۷۵ nm مطالعه شد. طول موج تهییج کوانتوم دات تنظیم شد و طیف نشری رودامین ۱۲۳ در طول موج های بین ۴۰۰ - ۶۴۰ nm یادداشت شد.

### ساختار و ارزیابی نانوبیوسنسور

برای ارزیابی توانایی و حساسیت نانوبیوسنسور طراحی شده جهت سنجش آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، مخلوط بیوکونژوگه آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین - رودامین و آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - کوانتوم دات تهیه شده در بافر PBS بعد از انکوباسیون جهت اطمینان از تشکیل کمپلکس ایمنی بیوکونژوگه آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین - رودامین و آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - کوانتوم دات در ۳۷۵ nm برانگیخته شد. طیف نشری در محدوده ۴۵۰ تا ۶۲۰ nm با اسپکتروفلوریمتر ثبت شده است. پهنای باند برانگیختگی و نشری به ترتیب در ۱۰ و ۱۵ nm انتخاب شده است. برای ارزیابی اثر تشدید کنندگی هسته - پوسته مگنت - سیلیکا، هسته - پوسته مگنت - سیلیکا

تهیه شده به طور متوالی تا یک غلظت نهایی ۱۰ تا ۱۰۰ mg/l به مخلوط تهیه شده فوق اضافه گردید و طیف نشری با اسپکتروفلوریمتر ثبت شده است. برای ارزیابی توانایی سیستم جهت سنجش آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه، یک محلول ذخیره از آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در بافر PBS تهیه شده و به طور متوالی به مخلوط اضافه گردید که بعد از انکوباسیون در حرارت اتاق طیف نشری نمونه ها با اسپکتروفلوریمتر ثبت شده است.

### نتایج

#### نتایج حاصل از سنتز نانوکریستال های نیمه هادی کوانتوم دات

کوانتوم دات های سنتز شده دارای پایداری زیادی بودند. تغییر رنگ ها و پیک های نشری و شدت فلورسانس نانو ذرات، نشان دهنده تشکیل کوانتوم دات ها بود. کوانتوم دات های سنتز شده در لحظه اول سبز کم رنگ بودند با گذشت زمان و افزایش دما رنگ محلول به زرد و سپس نارنجی تغییر یافت. با گذشت زمان اندازه کوانتوم دات نیز افزایش یافت و در نتیجه احتمال تجمع نانو ذرات و ناپایداری آن نیز افزایش یافت. کوانتوم دات های سنتز شده از نوع هسته کادمیوم - تلوریوم<sup>۱</sup> بودند.

#### خصوصیات کوانتوم دات کادمیوم - تلوریوم تهیه شده

کوانتوم دات های سنتز شده با یک طول موج ۳۷۵ nm برانگیخته شد و طول موج نشری که توسط دستگاه اسپکتروفلوریمتری داده شد ۶۰۰ - ۴۰۰ nm بود. با تغییر اندازه کوانتوم دات ها طیف نشری آن از ۵۱۰ تا ۶۸۰ nm افزایش یافت.

طیف جذبی و نشری محلول خالص به دست آمده از کوانتوم دات کادمیوم - تلوریوم و رودامین ۱۲۳ در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان طوری که ملاحظه می شود نتایج نشان می دهد که زمانی که ماکزیمم جذب و پیک نشری رودامین ۱۲۳ به ترتیب حدود ۵۱۰ و ۵۸۰ nm است ماکزیمم پیک نشری

<sup>۱</sup> CdTe

## نتایج مربوط به تثبیت آنتی‌بادی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بر روی کوانتوم دات‌ها

آنتی‌بادی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> به کوانتوم دات‌های سنتز شده از طریق پیوند کووالانسی بین گروه‌های کربوکسیل تایوگلیکولیک اسید<sup>۱</sup> که روی کوانتوم دات قرار گرفته و گروه‌های آمینی آنتی‌بادی اتصال می‌یابد. ایموبیلیزاسیون آنتی‌بادی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> روی کوانتوم دات آماده شده طیف نشری آن را تغییر نمی‌دهد. کاهش شدت نوری محلول نانویو کونژوگه کوانتوم دات - آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در طول موج ۲۸۰ nm بعد از قرار گرفتن در سانتریفوژ با سرعت بالا وجود پیوند کووالانسی بین آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و کوانتوم دات را تأیید کرد.

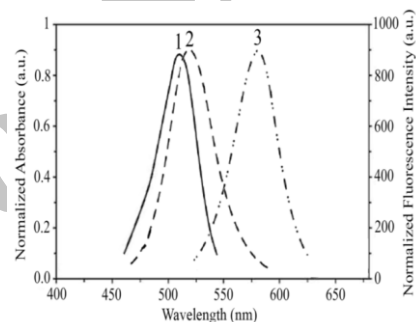
## نشان دار کردن آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین با رودامین ۱۲۳

جهت تأیید نشان دار کردن آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین با رودامین ۱۲۳، چگالی نوری مخلوط دیالیز شده آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین رودامین ۱۲۳ با اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. در طول موج ۵۱۰ nm رودامین ۱۲۳ ماکزیم جذب را دارد. یک جذب قوی در ۵۱۰ nm حضور رودامین ۱۲۳ را در نمونه نشان داد.

## خصوصیات هسته - پوسته مگنت - سیلیکا

همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده تصاویر TEM از نانو ذرات مگنت و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا تهیه شده نشان می‌دهد که نانوذرات مگنت یک ساختار کروی با اندازه متوسط ۱۰ تا ۱۵ nm و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا یک مورفولوژی کروی با اندازه متوسط حدود ۷۰ nm و پراکندگی<sup>۲</sup> خوب دارد. ضخامت پوسته سیلیکا ۵۰ تا ۵۵ nm تخمین زده شد. هسته - پوسته مگنت - سیلیکا پراکنده شده در بافر فسفات با pH= ۷/۴

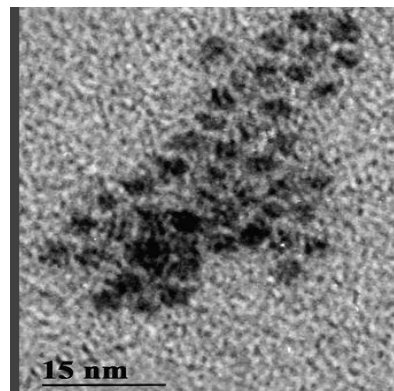
کوانتوم دات در طول موج ۵۰۵ nm می‌باشد. پهنای کامل در نیمه ماکزیم طیف نشری FWHM کوانتوم دات حدود ۳۵۰ nm است که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر سیستم است. طول موج نشری کوانتوم دات‌ها و طول موج جذبی رودامین ۱۲۳، حداکثر طیف همپوشانی را نشان می‌دهد که برای به دست آوردن میزان اپتیمم پدیده انتقال انرژی رزونانس فلورسانس بسیار مهم می‌باشد. در طول موج ۳۷۵ nm کوانتوم دات حداکثر جذب را داشته در صورتی که رودامین ۱۲۳ با این طول موج تهیج نمی‌شود و تمام نوری که کوانتوم دات منتشر می‌کند رودامین آن را جذب می‌کند و حداکثر همپوشانی را دارند که در این حالت ماکزیم انتقال انرژی رزونانس فلورسانس ایجاد می‌شود.



شکل ۱- شماتیک طیف نشری و جذبی کوانتوم دات و رودامین

## عکس میکروسکوپ الکترونی TEM از کوانتوم دات

عکس میکروسکوپ الکترونی از کوانتوم دات کادمیوم - تلوریوم پوشیده شده با تایوگلیکولیک اسید که با بزرگنمایی ۲۴۰۰۰۰X گرفته شده نشان می‌دهد که هسته - پوسته دارای مورفولوژی کروی با سایز حدود ۳ nm می‌باشد و به صورت منفرد پراکنده شده‌اند.

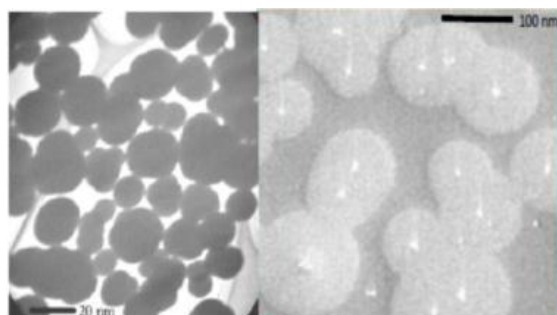


شکل ۲- عکس میکروسکوپ الکترونی از کوانتوم دات

<sup>1</sup> TGA

<sup>2</sup> Monodispersity

پایداری نوری بالایی داشته بدون این که چسبندگی قابل ملاحظه‌ایی به همدیگر داشته باشند.



شکل ۳ - عکس TEM از نانو ذرات مگنت (چپ) و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا (راست)

### انتقال انرژی ما بین کوانتوم دات‌ها و رودامین ۱۲۳

یک سیستم انتقال انرژی رزونانس فلورسانس به طور واضح می‌تواند زمانی که یک واکنش ایمنولوژیکی بین کوانتوم دات نشان‌دار شده با آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده با آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین اتفاق می‌افتد را نشان دهد. این حالت زمانی است که از هسته - پوسته مگنت سیلیکا به‌عنوان تشدید کننده سیگنال استفاده نشده است.

اما یک سیستم تشدید شده انتقال انرژی رزونانس فلورسانس در حضور هسته - پوسته مگنت - سیلیکا مشاهده می‌شود زمانی که یک واکنش ایمنولوژیکی بین کوانتوم دات نشان‌دار شده با آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین اتفاق می‌افتد. در این حالت از هسته - پوسته مگنت - سیلیکا به‌عنوان تشدید کننده سیگنال استفاده شده است. در این مطالعه غلظت نهایی هسته - پوسته مگنت - سیلیکا در محیط واکنش ۱۰۰ mg/ml تنظیم شد که ماکزیم سیگنال تشدید کننده را ایجاد می‌کند.

شدت فلورسانس رودامین ۱۲۳ در ۵۸۰ nm به‌طور متوالی با افزودن محلولی که شامل رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین بود از میزان ۰/۰۱ تا ۰/۰۶ μmol/ml در مدت‌زمان مخصوصی افزایش یافت. تغییرات مشاهده شده در شدت نشر رودامین ۱۲۳ به‌طور مستقیم متناسب با غلظت نهایی

رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین بود تا زمانی که تمام ظرفیت‌های آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> جهت باند شدن به آنتی‌ژن توسط رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین اشغال شود ولی با افزایش بیشتر غلظت رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین، افزایش معنی‌داری در پیک نشری رودامین ۱۲۳ مشاهده نشد.

جهت به دست آوردن حداکثر سیگنال انتقال انرژی رزونانس فلورسانس بین کوانتوم دات و رودامین ۱۲۳ غلظت‌های متفاوت رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین و کوانتوم دات نشان‌دار شده با آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> مورد آزمایش قرار گرفته است. جهت آماده‌سازی نانوبیوسنسور، واکنش ایمنولوژیکی مطلوب بین رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین و کوانتوم دات نشان‌دار شده با آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نسبت مولی ۲ به ۱ ایجاد شده است. در این نسبت واکنش ایمنولوژیکی دو مولکول از آفلاتوکسین B<sub>1</sub> با یک مولکول از آنتی‌بادی قابل پیش‌بینی است. در نسبت‌های مولی کمتر یا بیشتر، یا آنتی‌بادی اضافه داریم یا رودامین ۱۲۳ اضافی که در هر دو صورت تخمین میزان آفلاتوکسین کمتر از حد واقعی است. اگر آنتی‌بادی اضافه باشد آفلاتوکسینی که اضافه می‌کنیم به آنتی‌بادی آزاد می‌چسبد و سنجش نمی‌شود. اگر رودامین ۱۲۳ اضافه باشد باز هم آفلاتوکسینی که اضافه می‌شود با رودامین ۱۲۳ جهت اتصال به آنتی‌بادی رقابت می‌کند بنابراین یا آفلاتوکسین یا رودامین ۱۲۳ جایگزین می‌شود که اینجا هم آفلاتوکسین درست سنجش نمی‌شود.

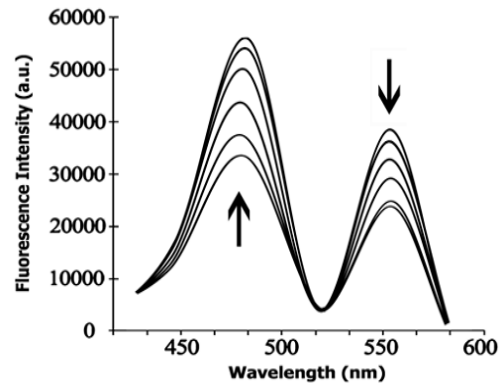
با افزودن نمونه‌ای که شامل آفلاتوکسین B<sub>1</sub> است رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین می‌تواند به‌صورت رقابتی توسط آفلاتوکسین B<sub>1</sub> جایگزین شود که می‌تواند در شدت فلورسانس سیستم کاهش ایجاد نماید.

به آثار مرگبار آفاتوکسین ها و به خصوص آفاتوکسین B<sub>1</sub> بر سلامتی انسان و حیوان اندازه گیری این مایکوتوکسین با روشی که حساسیت و اختصاصیت بالایی داشته و درعین حال ساده، سریع و کم هزینه باشد ضروری است. از جمله روش هایی که به طور معمول جهت جداسازی و شناسایی آفاتوکسین در مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد روش TLC، GC، RIA، الایزا و HPLC است (۲-۴).

در بین این روش ها، الایزا و HPLC از اهمیت ویژه ای برخوردار است. HPLC در حال حاضر تنها روش مورد قبول آزمایشگاه رفرنس بین المللی برای اندازه گیری دقیق سموم در مواد و جیره غذایی است و روش استاندارد طلایی است. ویژگی مهم HPLC حساسیت و اختصاصیت بالاتر در تشخیص میزان آفاتوکسین در مقایسه با روش الایزا است و مقادیر اندک آفاتوکسین را در رژیم غذایی سنجش می کند. با این وجود یک تکنیک بسیار گران قیمت و وقت گیر است و نیروی متخصص و آموزش دیده همه جا وجود ندارد بنابراین همه جا قابل انجام نیست (۶).

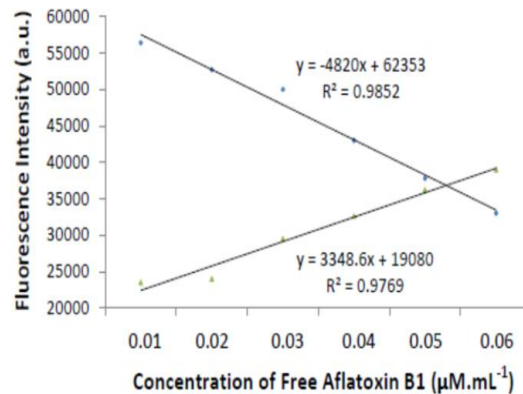
روش الایزا به دلیل نیاز به حجم کم و روش ساده تر تخلیص نمونه نسبت به روش های مرسوم مانند TLC و HPLC کاربردی تر و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است. از آنجا که آنتی بادی های تولید شده اغلب با ترکیبات مشابه مایکوتوکسین ها واکنش متقاطع نشان می دهند و ممکن است گاهی اوقات در مقایسه با روش کروماتوگرافی، مقادیر بالاتری را نشان دهند می تواند سبب خطاهایی در تشخیص گردد. به علاوه شستشو هم یک روش تخلیص محسوب می شود و ممکن است باعث حذف آفاتوکسین متصل به آنتی بادی شود و سبب خطاهایی در تشخیص شود (۷، ۸).

بیوسنسور سیستمی با اندازه بسیار کوچک و حساسیت بسیار بالا است که قابل حمل بوده و می تواند آنالیت مورد نظر را در غلظت های کم در نمونه های بیولوژیکی شناسایی کند. استفاده از بیوسنسور به دلیل عدم نیاز به وسایل پیشرفته و صرف زمان و



شکل ۴- نمودار حاصل از اسپکتروفتومتری به دنبال افزودن آفاتوکسین B<sub>1</sub>

شکل ۴ کاهش شدت فلورسانس رودامین ۱۲۳ در طول موج ۵۸۰ nm با افزایش غلظت آفاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه وجود دارد. زمانی که از هسته - پوسته مگنت سیلیکا استفاده می شود سیگنال بیشتری تولید می شود و حساسیت تشخیص بالاتر می رود و مقادیر بسیار کم آفاتوکسین در نمونه قابل سنجش است و میزان LOD در این روش  $2 \times 10^{-11}$  تخمین زده شد. زمانی که از هسته - پوسته مگنت سیلیکا به عنوان تشدید کننده سیگنال استفاده نمی شود حساسیت تشخیص پایین تر است و میزان LOD در این روش  $2 \times 10^{-11}$  تخمین زده می شود.



شکل ۵- نمودار حاصل از اسپکتروفتومتری به دنبال افزودن آفاتوکسین B<sub>1</sub>

## بحث

آفاتوکسین ها، متابولیت های ثانویه قارچ ها هستند که به شدت سمی و سرطان زا بوده و عمدتاً به وسیله اسپریژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس تولید می شوند. در بین آفاتوکسین ها، آفاتوکسین B<sub>1</sub> سمی ترین نوع آفاتوکسین است که از عوامل تراژونیک، موتاژنیک و سرطان زای انسانی است (۱). با توجه

طول موج برانگیختگی برای سیستم انتقال انرژی رزونانس فلورسانس انتخاب شد.

### ارزش اسپکتروفلوریمتری

در اسپکتروفلوریمتری، خاصیت فلورسانس نمونه‌های مورد مطالعه بررسی می‌شوند در این تکنیک از یک اشعه نورانی با شدت مشخص، برای تحریک الکترون‌ها استفاده می‌شود. در نتیجه الکترون‌ها به سطوح بالاتر انرژی منتقل می‌شوند و در حین بازگشت الکترون‌ها به سطح انرژی اولیه، تشعشع فلورسانس ایجاد می‌شود. با اندازه‌گیری شدت نور فلورسانس حاصله می‌توان غلظت، خواص یا برهم‌کنش مولکول‌ها را مورد مطالعه قرارداد. به کمک اندازه‌گیری شدت فلورسانس، غلظت‌های بسیار کمی از آفلاتوکسین B<sub>1</sub> را می‌توان اندازه گرفت. حساسیت روش فلورسانس بیشتر از روش جذب است و ما می‌توانیم غلظت‌های بسیار کم در حدود ppm را با این روش اندازه بگیریم.

اندازه‌گیری شدت فلورسانس کوانتوم دات کادمیوم - تلوریوم توسط دستگاه اسپکتروفلوریمتری در دمای اتاق انجام شد. طول موج برانگیختگی برای همه نمونه‌ها ۳۷۵ nm و طول موج نشری ۶۰۰-۴۰۰ nm می‌باشد. علت اینکه کوانتوم دات‌ها با یک طول موج برانگیخته می‌شوند این است که از خاموش شدن فلورسانس مرکز جلوگیری کرده و باعث افزایش محصول کوانتومی می‌شود. معیارهای اساسی برای تشخیص فلورسانس شامل شدت فلورسانس پایدار و نیمه‌عمر بالا و طول موج تحریکی پهن تر می‌باشد.

در مطالعه کروز<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۲) با عنوان کاربردهای تشخیصی ایمونوسنسور، نشان داده شد که حساسیت و اختصاصیت ایمونوسنسورها بالاتر از روش‌های متداول مانند الایزا می‌باشد اگرچه امروزه روش الایزا کاربرد بیشتری دارد (۹).

هزینه زیاد در مراکز کوچک و مراکز با امکانات کم و حتی منازل کاربرد دارد. همچنین در این روش، نمونه نیاز به تخلیص، تغلیظ و مدیفیکاسیون شیمیایی ندارد و در یک مرحله قابل انجام است. در طراحی نانوبیوسنسور زمانی که از هسته - پوسته مگنت - سیلیکا به عنوان تشدید کننده سیگنال استفاده می‌شود حساسیت نانوبیوسنسور طراحی شده نسبت به حالتی که فقط از کوانتوم دات نشان‌دار شده با آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> استفاده شده است بیشتر است. نور پس از برخورد به مگنت سیلیکا تشدید شده و به کوانتوم دات منتقل می‌شود.

در این تحقیق دو روش کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا جهت تشخیص آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بر پایه انتقال انرژی رزونانس فلورسانس با هم مقایسه شده‌اند. نتایج نشان می‌دهد که حساسیت تشخیص زمانی که از هسته - پوسته مگنت - سیلیکا استفاده می‌شود بالاتر است. هسته - پوسته مگنت - سیلیکا در مخلوط واکنش به‌عنوان نانوآینه عمل کرده که می‌تواند به‌طور قابل توجهی سیگنال نوری به‌دست آمده از پدیده انتقال انرژی رزونانس فلورسانس را بزرگ‌تر کند که منجر به حساسیت بالاتر سیستم می‌شود و می‌تواند حتی میزان جزئی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه را شناسایی کند.

در این مطالعه از کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا به خاطر حلالیت در آب، پایداری نوری و پراکندگی بالا بر پایه انتقال انرژی رزونانس فلورسانس استفاده شد و به‌عنوان یک تکنیک دقیق، حساس و سریع برای تعیین آفلاتوکسین‌ها به کار رفت. با استفاده از اسپکتروفتومتر، اسپکتروفلوریمتر، TEM و DLS تأیید شد که نانوذرات سنتز شده برای طراحی نانوبیوسنسور مناسب هستند. از آنجایی که طیف نشری کوانتوم دات سنتز شده و طول موج برانگیختگی رودامین ۱۲۳ یک همپوشانی مناسب را نشان داده‌اند به ترتیب به‌عنوان دهنده و پذیرنده انتخاب شدند. از آنجایی که رودامین ۱۲۳ نشان‌دار شده به آفلاتوکسین - آلبومین شدت فلورسانس معنی‌داری را در طول موج نشری ۳۷۵ nm نشان نداد به‌عنوان

<sup>1</sup> Cruz



(۱۲). در مقایسه با نانوذره طلای خالص، استفاده از نانوذره هسته - پوسته نقره - طلا در این روش حساسیت سیستم را افزایش می‌دهد. علاوه بر این ساده بوده و در زمان کمتری قابل انجام است.

در مطالعه ژولان<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۶) از روش ایمونوکروماتوگرافیک اسی جهت سنجش آفلاتو کسین B<sub>1</sub> استفاده شده است که در مقایسه با دیگر روش‌های ایمونولوژیک حساسیت بالا داشته و ساده، سریع و کم هزینه است (۱۳). LOD به دست آمده با این روش ۰/۰۵ تا ۰/۱ PPb و محدوده سنجش خطی ۵۰-۲ PPb می‌باشد. با توجه به اینکه الیزا و HPLC عمدتاً برای سنجش آفلاتو کسین B<sub>1</sub> استفاده می‌شود و LOD به دست آمده با این روش ۰/۰۱ تا ۰/۱ PPb است ولی این روش‌ها زمان‌بر و نیازمند تجهیزات گران هستند.

در مطالعه بچر<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۲) از روش ایمونوسنور Impedimetric جهت سنجش آفلاتو کسین B<sub>1</sub> استفاده شده است (۱۴). در این روش از یک برچسب حاوی سیم نقره استفاده شده است. LOD به دست آمده با این روش ۱ Pg/ml و محدوده سنجش خطی ۶/۲۵ تا ۱۰۰ تشخیص داده شده است.

در مطالعه ذکاوتی و همکاران (۲۰۱۳) ایمونوسنور بر پایه سیستم انتقال انرژی رزونانس فلورسانس طراحی شده و از کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم که به آنتی‌بادی اختصاصی آفلاتو کسین B<sub>1</sub> متصل شده استفاده شده است LOD به دست آمده با این روش  $2 \times 10^{-11}$  M و محدوده سنجش خطی است (۱۵).

در مطالعه حاضر ایمونوسنور بر پایه سیستم انتقال انرژی رزونانس فلورسانس طراحی شده و از کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم که به آنتی‌بادی اختصاصی آفلاتو کسین B<sub>1</sub> متصل شده و هسته - پوسته مگنت - سیلیکا به عنوان تشدید کننده سیگنال استفاده شده است و با روشی که فقط از کوانتوم دات نشان‌دار شده با آنتی‌بادی ضد آفلاتو کسین B<sub>1</sub> استفاده شده است مقایسه

در مطالعه پیرستانی و همکاران (۲۰۱۱) جهت سنجش آفلاتو کسین در شیر و خوراک دام، دو روش HPLC و الیزا با هم مقایسه شدند. نتایج نشان می‌دهد که اگرچه حساسیت و اختصاصیت سیستم HPLC بیشتر از الیزا است ولی اختلاف معنی‌داری بین این دو روش در این مطالعه وجود نداشت (۱۰). با این وجود روش الیزا علاوه بر نیاز به حجم کم و روش ساده‌تر تخلیص نمونه، ارزان‌تر و ساده‌تر از سیستم HPLC است و کاربردی‌تر است.

در مطالعه حاضر از کونژوگه آفلاتو کسین - آلبومین متصل به رودامین ۱۲۳، آنتی‌بادی اختصاصی آفلاتو کسین B<sub>1</sub> متصل به کوانتوم دات و هسته پوسته مگنت سیلیکا استفاده شده و با هم مقایسه شده‌اند که هسته پوسته مگنت سیلیکا به عنوان تشدید کننده سیگنال بوده و سبب می‌شود سیگنال بیشتری تولید شود و حساسیت تشخیص بالاتر رود. همچنین حساسیت تشخیص نسبت به حالتی که فقط از کوانتوم دات نشان‌دار شده با آنتی‌بادی ضد آفلاتو کسین B<sub>1</sub> استفاده شده است بیشتر است.

در مطالعه ژولان<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۵) که از روش ایمونوکروماتوگرافیک اسی جهت سنجش آفلاتو کسین B<sub>1</sub> استفاده شد آنتی‌بادی پلی کلونال به نانوذره طلا جهت تشکیل کونژوگه اضافه گردید (۱۱). در این روش محل‌های فعال مولکول آنتی‌بادی با نانو ذرات طلا بلوکه نشده و پایداری آن به حرارت بالا نسبت به آنتی‌بادی آزاد افزایش یافت. در این روش LOD آفلاتو کسین B<sub>1</sub>، ۵/۲ ng/ml تعیین شده است و محدوده سنجش خطی نامشخص است. هم‌چنین زمان سنجش ۱۰ min تعیین شده که نسبت به الیزا<sup>۲</sup> ۶ تا ۱۰ min کاهش داشت.

در مطالعه لیائو<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۰) که از روش Lateral Flow Immunodipstick جهت سنجش آفلاتو کسین B<sub>1</sub> استفاده شد آنتی‌بادی مونو کلونال به هسته - پوسته نقره - طلا متصل شده است LOD آفلاتو کسین B<sub>1</sub> در این روش ۱ ng/ml تعیین شده است و محدوده سنجش خطی نامشخص است

<sup>1</sup> Xiulan  
<sup>2</sup> Liao

<sup>3</sup> Bacher

شده است. LOD به دست آمده با این روش  $2 \times 10^{-12}$  M و محدوده سنجش خطی است که خیلی نزدیک به تحقیقات مشابه دیگر است.

از یک طرف بیومولکولهای آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین که به ترتیب به کوانتوم دات و رودامین ۱۲۳ نشان دار شده اند منجر به انتقال انرژی قابل ملاحظه بین کوانتوم دات و رودامین ۱۲۳ می شود و از طرف دیگر حضور هسته - پوسته مگنت - سیلیکا که به نوبه خود سیگنال نوری نانویوسنسور طراحی شده را تشدید می کند سبب می شود نانویوسنسور طراحی شده حساسیت بیشتر را در مقایسه با روشی

که فقط از کوانتوم دات کادمیوم تلوریوم نشان دار شده با آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و بیوکونژوگه آفلاتوکسین B<sub>1</sub> - آلبومین نشان دار شده با رودامین ۱۲۳ استفاده شده است، نشان دهد. در این حالت حتی میزان بسیار کم آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه را می توان شناسایی کرد.

یک ارتباط خطی بین کاهش شدت فلورسانس رودامین با افزایش غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه در محدوده ۰/۰۱ تا  $0.06 \mu\text{M/ml}$  وجود دارد. استفاده از هسته - پوسته مگنت - سیلیکا به عنوان تشدید کننده سیگنال سبب می شود حساسیت سیستم از  $2 \times 10^{-11}$  به  $2 \times 10^{-12} \mu\text{M/ml}$  افزایش پیدا کند.

Archive of SID

1. Khodadadi M, Khosravi R, Allahresani A, Khaksar Y, Rafati L, Barikbin B. Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurized and traditional cheese marketed in southern Khorasan, Iran. *مجله کیفیت و کنترل مخاطرات مواد غذایی*. 77:(3)1;2014: p. 68-74.
2. Zheng Z, Hanneken J, Houchins D, King RS, Lee P, Richard JL. Validation of an ELISA test kit for the detection of ochratoxin A in several food commodities by comparison with HPLC. *Mycopathologia*. 2005;159(2): p. 165-175.
3. Iqbal J, Asghar MA, Ahmed A, Khan MA, Jamil K. Aflatoxins contamination in Pakistani brown rice: a comparison of TLC, HPLC, LC-MS/MS and ELISA techniques. *Toxicology mechanisms and methods*. 2014;24(8): p. 544-558.
4. Nielsen KF, Thrane U. Fast methods for screening of trichothecenes in fungal cultures using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2001;929(1): p. 75-88.
5. Owino JH, Arotiba OA, Hendricks N, Songa EA, Jahed N, Waryo TT, Ngece RF, Baker PG, Iwuoha EI. Electrochemical immunosensor based on polythionine/gold nanoparticles for the determination of aflatoxin B1. *Sensors*. 2008;8(12): p. 82-98.
6. Wacoo AP, Wendi D, Vuzi PC, Hawumba JF. Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food Crops. *Journal of Applied Chemistry*. 2014;421(7): p. 129-148.
7. El Zanaty K, El Maraghy S, Abd El Motelb T, Salem B. Effect of aflatoxins on Newcastle disease vaccination in broiler chickens [Egypt]. *Assiut Veterinary Medical Journal*. 1989;318(9): p. 211-221.
8. Belli N, Marin S, Sanchis V, Ramos A. Review: ochratoxin A (OTA) in wines, musts and grape juices: occurrence, regulations and methods of analysis. *Food Science and Technology International*. 2002;8(6): p. 325-348.
9. Cruz HJ, Rosa CC, Oliva AG. Immunosensors for diagnostic applications. *Parasitology research*. 2002;88(1): p. 185-198.
10. Pirestani A, Tabatabaei SN, Fazeli MH, Antikchi M, Baabaei M. Comparison of HPLC and ELISA for determination of aflatoxin concentration in the milk and feeds of dairy cattle. *Journal of Research in Agricultural Science*. 2011;7(1): p. 71-88.
11. Xiulan S, Xiaolian Z, Jian T, Zhou J, Chu F. Preparation of gold-labeled antibody probe and its use in immunochromatography assay for detection of aflatoxin B1. *International journal of food microbiology*. 2005;99(2): p. 185-193.
12. Liao J-Y, Li H. Lateral flow immunodipstick for visual detection of aflatoxin B1 in food using immuno-nanoparticles composed of a silver core and a gold shell. *Microchimica Acta*. 2010;171(3-4): p. 289-297.
13. Xiulan S, Xiaolian Z, Jian T, Xiaohong G, Jun Z, Chu F. Development of an immunochromatographic assay for detection of aflatoxin B 1 in foods. *Food Control*. 256:(4)17;2006;121(8): p. 224-265.
14. Bacher G, Pal S, Kanungo L, Bhand S. A label-free silver wire based impedimetric immunosensor for detection of aflatoxin M1 in milk. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2012;168(4): p. 456-463.
15. Zekavati R, Safi S, Hashemi SJ, Rahmani-Cherati T, Tabatabaei M, Mohsenifar A, Bayat M. Highly sensitive FRET-based fluorescence immunoassay for aflatoxin B1 using cadmium telluride quantum dots. *Microchimica Acta*. 2013;180(13-14): p. 1217-1224.

## Comparison methods of cadmium telluride quantum dot and magnetic silica core shell for detection of aflatoxin B<sub>1</sub>

Kalarestaghi Ali reza<sup>1</sup>, **Bayat Mansour**<sup>2</sup>, Hashemi Seyed Jamal<sup>3</sup>, Razavilar Vadood<sup>4</sup>.

1. Department of Pathobiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of Pathobiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[dr\\_mansour\\_bayat@yahoo.com](mailto:dr_mansour_bayat@yahoo.com)

3. Food Microbiology Research center. Tehran University of Medical Sciences.

4. Department of Food Higiene, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received:1393/08/06

Accepted:1393/10/24

### Abstract

The purpose of research is comparison methods of cadmium telluride quantum dot and magnetic silica core shell for detection of aflatoxin B<sub>1</sub> based on fluorescence resonance energy transfer (FRET) from cadmium telluride quantum dot to Rho123. Cadmium telluride quantum dot was synthesized by reflux method aquatic phase, high temperature, alkalin pH and under nitrogen flow. The thioglycolic acid is used as a stabilizing and capping agent. After quantum dot synthesis, boughthen anti aflatoxin B<sub>1</sub> antibody immobilized on the surface of quantum dot. Subsequently, magnetic silica core shell by using FeCl<sub>3</sub> and FeSO<sub>4</sub> synthesized under nitrogen flow and alkalin pH and to increase TEOS solution. After preparation aflatoxin B<sub>1</sub>-albumin bioconjugate is labeled with Rho 123. The specific immune-reaction between the anti-aflatoxin B<sub>1</sub> antibody on the quantum dot and the labeled-aflatoxin B<sub>1</sub> brings the Rho 123 fluorophore (the acceptor), and the quantum dot (the donor (in close spatial proximity and causes FRET to occur upon photo-excitation of the quantum dot. In the absence of unlabeled aflatoxin B<sub>1</sub>, the antigen-antibody complex is stable and strong emission of quantum dot observe. In the presence of free aflatoxin B<sub>1</sub>, it will compete with the labeled aflatoxin B<sub>1</sub>-albumin complex for binding to the antibody- quantum dot conjugate so that FRET increasingly suppressed. There is a linear relationship between the decreased fluorescence intensity of Rho 123 with increasing concentration of aflatoxin B<sub>1</sub> in the range of 0.01-0.06  $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ . By using the magnetic silica core shell as a signal intensifier brings sensitivity of the system increased from  $2 \times 10^{-11}$  to  $2 \times 10^{-12}$   $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ .

**Keywords:** Cadmium telluride quantum dot, Aflatoxin B<sub>1</sub>, Nanobiosensor, Magnetic Silica Core shell