

استفاده از فناوری نانو به منظور شناسایی باکتری‌های بیماری‌زا و توکسین‌ها در مواد غذایی

حامد عزیزنیا*^۱ و محبوبه سرابی جماب^۲

۱- دانشجوی دکتری گروه زیست فناوری پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد، مشهد، ایران

۲- استادیار گروه زیست فناوری پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد، مشهد، ایران

h.aziznia@gmail.com

چکیده

بیماری‌های غذایی ناشی از بیماری‌زها، توکسین‌ها و دیگر آلاینده‌ها، خطری جدی برای سلامتی انسان محسوب می‌شود. روش‌های مرسوم شناسایی باکتری‌های بیماری‌زا و توکسین‌ها زمان‌بر و به طور نسبی سخت هستند که نیاز به تجهیزات مخصوص آزمایشگاهی و افراد مجرب دارند. مواد نانو شامل اکسید فلزات و همچنین نانوذرات فلزی، نانو لوله‌های کربنی، نقاط کوانتومی و دیگر موارد که در این پژوهش به آن‌ها پرداخته شده است، نقش بسزایی در طراحی سنسورها و بیوسنسورها به منظور آنالیز مواد غذایی دارند. در این مطالعه سنسورهای مختلف مبتنی بر مواد نانو که در پژوهش‌های مختلف در اقصی نقاط جهان به منظور شناسایی باکتری‌های بیماری‌زای مواد غذایی و همچنین توکسین‌ها به صورت خلاصه‌ای از اصول کار، مزایا و محدودیت‌ها، حساسیت و توانایی استفاده به منظور شناسایی آلاینده‌ها، به صورت خلاصه ذکر شده است.

کلمات کلیدی: بیماری‌زا، توکسین، نانو، سنسور، شناسایی

مقدمه

که به منظور شناسایی بیماری‌زها استفاده می‌شوند، علاوه بر ساختار متراکم و فشرده باید حساس، اختصاصی و سریع باشند تا حتی در مناطق دور افتاده و روستایی هم بتوان شناسایی بیماری‌زها را تسهیل نمود (۲ و ۳). محققین با توجه به ویژگی‌های یاد شده از روش‌های جدیدی با استفاده از خواص منحصر به فرد مواد نانو در طراحی سنسورهای مختلف، به منظور شناسایی عوامل آلوده کننده حتی در محیط‌های پیچیده مانند خون بهره می‌برند (۴ و ۵). از نانو ذرات طلا و خاصیت تغییرات پلاسمونیک آن‌ها تا نانوذرات اکسید آهن و تغییرات در خواص مغناطیسی، به منظور شناسایی بیماری‌زها، سم‌ها، آنتی‌ژن‌ها و نوکلئیک

بیماری‌های عفونی، حساسیت‌ها و مسمومیت‌های غذایی از مسائل بسیار مهم بهداشتی هستند. عوامل عفونی از آلودگی مواد غذایی و آلودگی آب گرفته تا بیماری‌های واگیر و بیمارستانی، توان ایجاد بیماری دارند (۱). علی‌رغم پیشرفت‌های زیاد در زمینه شناسایی بیماری‌زها، بسیاری از روش‌های مورد استفاده با محدودیت‌هایی مواجه‌اند که شامل سختی تهیه نمونه اولیه، استفاده از تجهیزات زیاد و زمان‌بر بودن هستند. امروزه از سنسورهای مختلف به منظور حل مشکلات سایر روش‌ها از جمله زمان‌بر بودن و نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی فراوان استفاده می‌گردد. سنسورهایی

لوله‌های کربن به طور وسیعی بکار گرفته می‌شوند. شناسایی DNA و استفاده در روش‌های ایمونولوژیکی به منظور شناسایی باکتری‌ها و توکسین‌ها از موارد کاربرد آن‌ها هستند (۸).

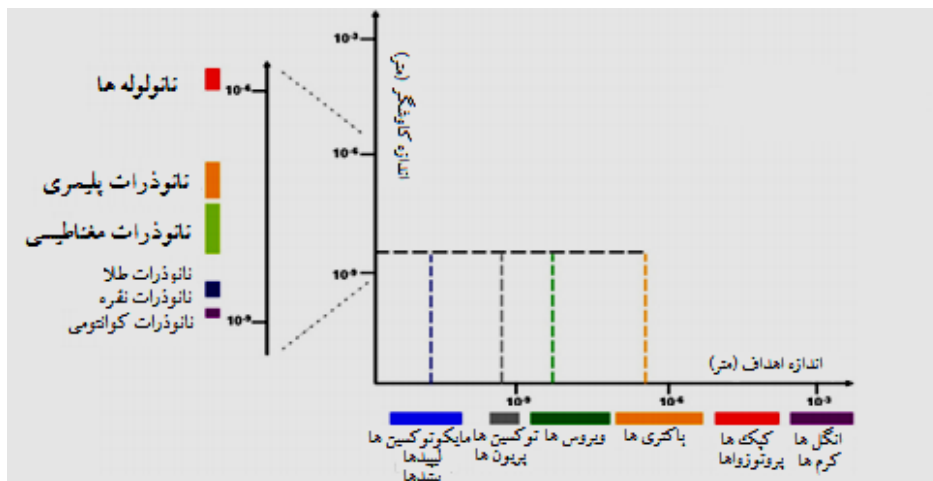
خصوصیات مواد نانو که برای شناسایی بیماری‌زها به کار گرفته می‌شوند را می‌توان با تغییر در اندازه، شکل، ترکیب و تغییر در سطح آن‌ها طراحی کرد. خواص الکترونی، طیف سنجی (جذب، نشر)، پراکنش نور و رسانایی مواد نانو را می‌توان توسط ابزارهای مهندسی یاد شده تغییر داد و یا اصلاح کرد (۶). در سال‌های اخیر پژوهش‌های بسیاری در زمینه طراحی مواد در مقیاس نانو به منظور شناسایی باکتری‌های بیماری‌زا صورت گرفته است که عمده‌ترین آن‌ها در ادامه توضیح داده شده‌اند. باید یادآور شد که یک سیستم نانو خاص به عنوان مثال نانوذرات با اندازه 100nm (شامل قسمت پوشاننده و لیگاند) را می‌توان به منظور حساسیت نسبت به اهداف با اندازه کوچکتر (مثلا لیپیدها)، بزرگتر (مثلا باکتری‌ها) و حتی برابر (ویروس‌ها) با اندازه نانوذرات طراحی کرد (شکل ۱). بنابراین انتظار می‌رود که این نانوذرات که با سیستم‌های مهندسی و مواد اولیه مختلف شکل گرفته‌اند، توانایی برهمکنش با اهداف مختلف دارای اندازه مختلف را داشته باشند که نتیجه آن الگوهایی با پاسخ متفاوت است. هر کدام از این پاسخ‌های خاص محصول برهمکنش نانوذرات مختلف است که در معرض باکتری‌های بیماری‌زا قرار گرفته‌اند (۶ و ۹).

اسیدها به کار گرفته می‌شوند (۶). علاوه بر این موارد، با تکیه بر روش‌های نانو می‌توان مقاومت و یا حساسیت یک باکتری خاص را به مواد دارویی و آنتی‌بیوتیک‌ها، توسط روش‌های نوین مبتنی بر نانو مانند آمپرومتری و سکون مغناطیسی تعیین کرد (۶ و ۷). تمامی موارد یاد شده اشاره به سازگاری روش‌های مبتنی بر نانو جهت شناسایی عوامل ایجاد کننده بیماری، توکسین‌ها و آفلاتوکسین‌های تولید شده توسط باکتری‌ها و کپک‌ها دارد که بسیاری از آن‌ها با مواد غذایی در ارتباط هستند. هدف از این مطالعه بررسی روش‌های مختلف مبتنی بر نانو به منظور شناسایی آلودگی مواد غذایی به باکتری‌های بیماری‌زا و توکسین‌های حاصل از آن‌ها می‌باشد.

۲- انواع فناوری‌های نانو مورد استفاده برای شناسایی بیماری‌زها و باکتری‌های غذازاد

فناوری نانو پیشرفت‌های چشم‌گیری در زمینه شناسایی بیماری‌زها داشته است. استفاده از نانو ذرات به عنوان نشانگر در اتصالات و با روش‌های نوین شناسایی، عامل پیشرفت‌هایی در افزایش حساسیت شناسایی و ظرفیت‌های شناسایی میکروب‌ها شده است (۴ و ۵). نانوذرات فلزی که از طلا یا نقره تشکیل شده‌اند، از ویژگی‌های بصری و الکترونیکی بسیاری برخوردارند که بستگی به اندازه و ترکیب آن‌ها دارد. از آنجایی که این مواد از میل جذبی بالا به منظور ایجاد پیوند با ملکول‌های زیستی برخوردارند، می‌توان از آن‌ها به منظور ایجاد سنسورهای شیمیایی بهره برد. دیگر نانو ذرات مانند نقاط کوانتومی فلئورسنت و نانو

"عزینیا و سرابی، استفاده از فناوری نانو به منظور شناسایی..."



شکل ۱- توزیع اندازه ذرات برخی از سیستم‌های نانو پرکاربرد در مقایسه با عوامل آلوده کننده و بیماری‌زای مختلف. یک نانوذره خاص (که با نقطه چین مشکی افقی نشان داده شده است) توان اتصال با اهداف مختلف دارای اندازه‌های متفاوت دارد. مانند پپتیدها، توکسین‌ها، ویروس‌ها و باکتری‌ها (بترتیب نقطه‌چین‌های عمودی آبی، سبز و نارنجی). همان‌طور که در شکل نشان داده شده است، نانوذرات با اندازه ۱۰۰ nm می‌تواند از فاکتور بیماری‌زا و نشانگر بیماری کوچکتر (مانند لیپیدها، پپتیدها، DNA و توکسین‌ها) یا برابر با اندازه بیماری‌زا (مانند بسیاری از ویروس‌ها) و یا بزرگتر از نانوذرات (مانند باکتری‌ها، کپک‌ها و ...) باشد (۶).

۱-۲- نانوذرات طلا

می‌تواند توسط ملکول‌های دارای گروه‌های عاملی تیوله شده، اتصال با پروب‌های مختلف شامل آنتی‌بادی‌ها و نوکلئیک اسیدها انجام داد. تشکیل مناسب نانوذرات طلا در ارتباط با وجود گروه پلاسمون سطحی با پروفایل جذب مرئی / فرابنفش است. گروه پلاسمون سطحی از تجمع الکترون‌های متصل شده به گروه رسانا با توجه به اندازه کوچک ذرات ناشی می‌شود. تغییر در گروه پلاسمون سطحی به اندازه ذرات، مواد شیمیایی اطراف آن، ظرفیت جذب سطح ذرات و ثابت دی‌الکتریک آن‌ها بستگی دارد. تغییرات موضعی در جریان دی‌الکتریک نانوذرات، توسط جذب بیومولکول‌ها و یا القای نشانگرهای زیستی نانوذرات، سبب تغییرات در گروه‌های پلاسمونی می‌شود. این خصوصیات منحصر به فرد طلا و همچنین نقره، به نانوذرات اجازه می‌دهد تا با استفاده از تغییرات در گروه پلاسمون سطحی، برای چند نوع مختلف فرآیند شناسایی

نانوذرات طلا را می‌توان در محیط آبی و آلی تولید کرد. از روش‌های متداول به منظور تولید این نانو ذرات در محیط آبی احیا کلرید طلا ($AuCl_3$) با تری‌سدیم سیترات و در ادامه افزودن عوامل تثبیت کننده به منظور تثبیت نانوذرات طلا توسط اعمال نیروی دافعه الکترواستاتیک مناسب بین هر یک از ذرات است که سبب پراکندگی مناسب ذرات در محیط می‌شود. کنترل فرایند در نانوذرات تولید شده بر پایه مواد آلی بهتر و همچنین ذرات تولیدی اندازه یکنواخت‌تر دارند. مواد شیمیایی واقع در سطح نانو ذرات را می‌توان توسط عوامل آلی ایجاد کننده پیوند مانند ملکول‌های تیول یا پلی‌مرهای حاوی تیول کنترل نمود، که نتیجه این عمل میل ترکیبی بالای ذرات به ایجاد پیوند با گروه‌های سولفیدریل (که عامل تشکیل پیوندهای کوالانسی نسبتاً قوی هستند) می‌شود. اصلاح بیشتر سطح نانوذرات طلا

که بیشترین جذب را در 422nm نشان می‌دهد که از آن‌ها می‌توان به منظور تشخیص توسط رنگ‌سنجی و تعیین مقدار (کمی) اهداف استفاده کرد. همچنین این نانوذرات، به منظور شناسایی اهداف مورد نظر توسط میکروسکوپ‌های STEM, HAADF و همچنین روش‌های الکتروشیمیایی به کار گرفته می‌شوند (۱۱).

۳-۲- نانوذرات پلیمری فلئورسنت

این ذرات را می‌توان با استفاده از پلیمرهای خطی و یا شاخه‌دار توسط پوشینه‌دارکردن ذرات فلئورسنت درون حفرات آن‌ها و یا بین ریزشاخه‌های این پلیمرها ایجاد کرد. از چندین روش سنتزی به منظور پایدارکردن این نانوذرات مونودیسپرس در محیط‌های آبی استفاده می‌شود. نانوذرات حاصل مانند سیلیس فلئورسنت را می‌توان فیلتر و جمع‌آوری کرد. وجود پوشش پلیمری در اطراف مواد فلئورسنت سبب پایداری این نانوذرات در شرایط مختلف می‌شود. به علاوه وجود گروه‌های عاملی مختلف در پوشش‌های پلیمری مانند آمین‌ها، اسیدهای کربوکسیلیک و استرها سبب سهولت اتصال به پروب‌ها می‌گردد. عوامل فعال سطحی موجود در این نانوذرات با استفاده از اتصالات شیمیایی مختلف به اهداف مورد نظر متصل می‌شود (۱۳) و (۱۴). شناسایی نانوذرات پلیمری فلئورسنت در آزمون‌های مختلف معمولاً توسط اسپکترومتر فلئورسنت و فلوسیترومتری صورت می‌گیرد (۱۵).

۴-۲- نانوذرات مغناطیسی

مدت طولانی است که از نانوذرات مغناطیسی در آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی ملکولی استفاده شده است. نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن که متشکل از یک هسته مغناطیسی هستند به عنوان عامل ایجاد کننده تضاد در تصویر برداری رزونانس مغناطیسی (MRI) استفاده می‌شود. همچنین از نانوذرات مغناطیسی متصل به آنتی‌بادی‌ها به

به کار روند. به این صورت که هر تغییر، سبب تغییر در جذب اسپکتروم حاصل از اشعه مرئی / فرابنفش می‌شود. بجز جذب، نانوذرات طلا به عنوان شناساگر برای تشخیص و تعیین اهداف متعدد با استفاده از فلورسانس، پراکندگی رامان، هدایت الکتریکی، اتمی و تکنیک‌های نیروی مغناطیسی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰ و ۱۱).

۲-۲- نانوذرات نقره

در ابتدا از نانوذرات نقره به عنوان نسل جدیدی از عوامل ضد میکروبی، برای جلوگیری از عفونت استفاده می‌شد. به طور کلی این نانوذرات به صورت کروی، کشیده شده (میله مانند) و کوتاه (مثلثی) ساخته می‌شوند. در ابتدا ذرات نقره با تزریق سریع هیدروکسی بورات سدیم (NaBH_4) به محلول آبی نترات نقره (AgNO_3) و سترات سدیم و سپس نگهداری به مدت یک ساعت و نیم تهیه می‌شوند. نانوذرات کروی نقره را با احیا محلول آبی نترات نقره توسط افزودن محلول ذرات نقره و محلول آبی سترات، همراه با جوشیدن تا زمان تغییر رنگ محلول به سبز-زرد می‌توان تهیه کرد. نانوذرات میله مانند و مثلثی به طور مشابه با افزودن ذرات نقره، آسکوربیک اسید، CTAB و محلول هیدروکسید سدیم به محلول نترات نقره تا رسیدن به اندازه ذرات دلخواه تهیه می‌شود (۱۲). عوامل احیاکننده کوچک مانند سترات سدیم و هیدرازین هیدرات، پلی‌مرهای دارای گروه‌های عاملی شامل پلی (آکریلونیتریل)، پلی (ان-وینیل پیرولیدن)، پلی (وینیل الکل)، پلی آکریلیک اسید و پلی آکریل آمید به عنوان عوامل احیاکننده و پوشاننده سطح یون‌های نقره استفاده می‌شوند. از این رو این گروه‌های عاملی به نانوذرات توانایی برقراری اتصالات شیمیایی و ایجاد لیگاند با پروتئین‌ها، آنتی‌بادی‌ها، پپتیدها، آلیگونوکلتونیدها و ملکول‌های کوچک را می‌دهند. نانوذرات نقره کروی دارای گروه پلاسمون سطحی هستند

"عزیزنیا و سرابی، استفاده از فناوری نانو به منظور شناسایی..."

بر روی لایه‌های سیلیکون تثبیت شده‌اند به منظور شناسایی توکسین‌ها و آنتی‌بادی‌ها استفاده می‌گردد. با توجه به اندازه کوچک و استفاده از وسایل و تجهیزات موجود، نانوچیپ‌ها توان شناسایی نمونه‌ها با دقت بالا در حجم بسیار کم نمونه دارند. علاوه بر تعیین مقدار اهداف، نانوچیپ‌ها توان تشخیص واکنش‌های مختلف پروتئین‌ها مانند واکنش‌های پروتئولیتیک، فسفریله شدن هستند که این امر توسط MALDI-TOF-MS امکان‌پذیر است (۴ و ۵).

۶-۲- حسگرهای زیستی مبتنی بر فیبر نوری

به منظور شناسایی سریع آنالیت‌ها، محققان با استفاده از انجام تغییراتی در پلیت‌های آزمون ELISA در حال توسعه سیستم ساندویچی شکل مبتنی بر فیبر نوری هستند (۱۷). تثبیت بخش گیرنده (آنتی‌بادی، آپتامر و لیگاند) بر روی فیبر نوری یا لوله موئین سبب گرفتن ملکول‌های خاص که تمایل برقراری اتصال با آن‌ها را دارند و یا پروب ثانویه (مثلا آنتی‌بادی) متصل به بخش فلئورسنت به منظور شناسایی و یا تقویت شناسایی می‌گردد. تهییج بخش فلئورسنت سبب ساطع شدن نور می‌شود که توسط یک سیستم ثبت می‌شود که با بر اساس شدت فلئورسانس (میزان نور ساطع شده) می‌توان مقدار کمی هدف‌های مورد نظر را تعیین نمود (۱۷).

۴-۲- نقاط کوانتومی (Qdots)

نقاط کوانتومی، ترکیبات نیمه رسانایی هستند که دارای ویژگی‌های نوری منحصر به‌فردند. ساخت این ذرات، مستلزم تجهیزات و روش‌های پیچیده می‌باشد (۵). ذرات کوانتومی، نوری با طول موج‌های مختلف هنگام تهییج ساطع می‌کنند که کاربردهای زیادی دارند. به عنوان مثال تغییر در سائز نقاط کوانتومی سبب تسطیح با طول موج‌های مختلف، از فرابنفش تا نزدیک ناحیه مادون قرمز می‌گردد.

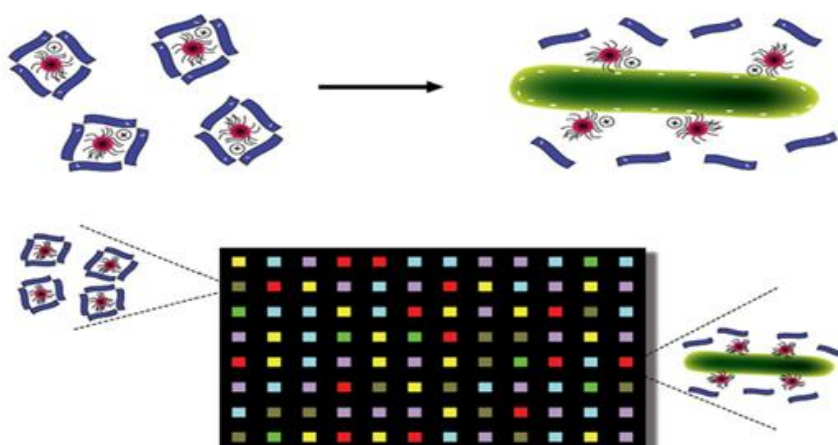
منظور جداسازی ایمنومگنتیک نوکلئیک اسیدها، پروتئین‌ها، ویروس‌ها، باکتری‌ها و سلول‌ها استفاده می‌شود (۶ و ۷). نانوذرات اکسید آهن از مهمترین نانوذرات مغناطیسی هستند که به طور عمده از روش‌های مبتنی بر آب ساخته شده و شامل ترسیب قلیایی نمک‌های آهن است. به منظور بهبود پایداری در آب و افزودن عوامل فعال سطحی در آن‌ها معمولا هسته مرکزی اکسید آهن توسط مواد پلیمری مانند دکستران، پلی‌آکرلیک اسید و سیلیس پوشش داده می‌شود. طراحی شکل و خاصیت مغناطیسی این نانوذرات از روش‌های مختلفی مانند زمان افزودن پلیمر به آن‌ها، استفاده از دماهای بالاتر و استفاده از عوامل پوشش‌دهنده مختلف امکان‌پذیر است. خاصیت سطحی نانوذرات مغناطیسی توسط افزودن گروه‌های عاملی مانند آمینو و کربوکسیلیک اسید و متصل کردن را پس از ساخت می‌توان تغییر داد. از این رو نانوذرات اکسید آهن توان ایجاد لیگاندهای گوناگون با اهداف مختلف مانند پتیدها، ملکول‌های کوچک، پروتئین‌ها، آنتی‌بادی‌ها و اسیدهای نوکلئیک را دارا هستند. بنابراین می‌توان از این نانوذرات به منظور شناسایی چندین هدف از جمله DNA، mRNA، ویروس‌ها، باکتری‌ها و سلول‌ها استفاده کرد. علاوه بر این از این نانوذرات به منظوره مشاهده فعالیت‌های متابولیکی مختلف می‌توان استفاده نمود (۱۶ و ۶). به منظور شناسایی نانوذرات مغناطیسی از ماگنومترها (مغناطیس‌سنج‌ها) یا SQUID استفاده می‌شود که تغییرات مغناطیسی ذرات درگیر واکنش‌های ملکولی با هدف را ثبت می‌کنند. همچنین به منظور شناسایی و سنجش کمی از MRI می‌توان استفاده کرد (۱۳ و ۶).

۵-۲- نانوچیپ‌ها

از نانوچیپ‌ها به منظور شناسایی سریع ملکول‌های زیستی استفاده می‌شود. با استفاده از نانوذرات طلا و یا سیلیس که

استفاده از نانوسنورها

در شکل شماره ۲ به منظور درک بیشتر یکی از مکانیسم‌های استفاده از فناوری‌های مختلف شناسایی میکروارگانیسم‌ها با استفاده از فناوری نانو نشان داده شده است (۱۹).



شکل ۲- شناسایی باکتری با استفاده از نانوذرات طلا کنژوگه با مواد فلئورسنتی یونی که توسط مواد پلیمری پوشانده شده‌اند. در حضور باکتری نانوذرات کنژوگه با مواد فلئورسنتی بردار به باکتری متصل شده و نور با طول موج خاص از خود ساطع می‌کنند (۱۹).

جدا از قابل تنظیم بودن طول موج ساطع شده از نقاط کوانتومی، روشنایی بالا و ثبات بسیار خوب، سبب کاربرد آن‌ها به منظور شناسایی نشانگرهای زیستی شمال آنتی‌ژن‌ها و بیماری‌زها در بافت‌ها و سلول‌های مختلف می‌شود (۱۸).

۳- شناسایی باکتری‌های بیماری‌زا مواد غذایی بر پایه

۳-۱- شناسایی /شرشیا کلی

شرشیا کلی سویه O157:H7 مهم‌ترین سروتیپ در بین سویه‌های مختلف /شرشیا کلی است. توجه بسیار به این سروتیپ به دلیل تولید توکسین و ایجاد بیماری در دوز کمتر از ۱۰۰ سلول است (۷). این باکتری بطور عمده قابلیت انتقال به انسان از طریق مصرف غذاهای خام و یا محصولاتی که به صورت مناسب پخته نشده‌اند (مخصوصاً فرآورده‌های گوشتی و شیری) را دارد (۲۰). به علاوه محصولاتی که دارای آلودگی مدفوعی هستند هم توانایی انتقال این باکتری به بدن را دارند. در رابطه با شناسایی باکتری /شرشیا کلی سویه O157:H7 توسط روش‌های مبتنی بر نانوذرات، Mao و همکاران (۲۰۰۶) از سنسورهای QCM DNA متصل به نانوذرات مغناطیسی

به منظور افزایش قدرت سیگنال تولیدی در زمان اتصال با ژن eaeA باکتری /شرشیا کلی استفاده کردند. حد تشخیص توسط روش آن‌ها $2/67 \times 10^2$ CFU/mL گزارش شد (۲۱). همچنین Kalele و همکاران (۲۰۰۶) از آنتی‌بادی ایمونوگلوبین نوع G (IgG) خرگوش که به نانوذرات نقره متصل بود به منظور شناسایی این سویه از باکتری /شرشیا کلی استفاده کردند، که حد تشخیص برای شناسایی این باکتری‌های توسط این روش CFU/mL 10^9-5 گزارش شد (۲۲).

۳-۲- شناسایی سالمونلا

سالمونلوزیس یکی از بیماری‌های با اهمیت ایجاد شده توسط باکتری است که به طور عمده توسط گونه‌هایی از باکتری سالمونلا مانند سالمونلا /نتریتیدیس و سالمونلا

"عزیزنیا و سرابی، استفاده از فناوری نانو به منظور شناسایی..."

مغناطیسی از محلول به منظور آنالیز نانوکریستال‌های اکسید تیتانیوم که اتصال برقرار نکرده‌اند، توسط اسپکترومتری مرئی/ فرابنفش صورت گرفت. حد تشخیص توسط این روش 100 CFU/mL سالمونلا در شیر گزارش شد (۲۵).

۳-۳- شناسایی لیستریا مونوسایتوژنز

لیستریا مونوسایتوژنز یک باکتری گرم مثبت است که سبب بیماری عفونی لیستریوزیس می‌شود. این باکتری به شدت بیماری‌زاست و سومین باکتری عامل مرگ در بین باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد است. به منظور شناسایی این باکتری Grossman و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهش خود روش جالبی مبتنی بر مشاهده اتصال بین آنتی‌بادی متصل به نانوذرات مغناطیسی و باکتری‌ها با استفاده از اعمال درجه حرارت با انتقال بالا توسط دستگاه SQUID به کار بردند. نانوذرات سوپر پارامغناطیس با اندازه ۵۰ نانومتر که توسط آنتی‌بادی پوشش داده شده‌اند، به نمونه‌های حاوی لیستریا مونوسایتوژنز افزوده و در ادامه میدان مغناطیسی پالسی اعمال می‌شود. تحت اثر این میدان با چرخش براونی نانوذرات مغناطیسی آزاد سریعاً به باکتری لیستریا مونوسایتوژنز اتصال می‌یابد. این اتصالات شار مغناطیسی پدید می‌آورند که توسط دستگاه SQUID قابل تشخیص است. محدودیت شناسایی در این روش $5/6 \times 10^6$ سلول لیستریا مونوسایتوژنز در 20 میکرولیتر نمونه تعیین شد (۲۶).

۳-۴- شناسایی مایکوباکتریوم آویوم

مایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوسیس عامل بیماری یون (Johne's Disease) در گوسفندان و گاو است. علت اصلی شیوع این بیماری نهفته در موانع مربوط به شناسایی این باکتری در غلظت کم می‌باشد (۶). پیشرفت‌های اخیر در بکارگیری نانوسنسورها راه حل

تایفی موریوم ایجاد می‌شود. آمار ارائه شده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) از ابتلای ده‌ها میلیون نفر به سالمونلوزیس در سال و مرگ سالانه ۱۰۰ هزار نفر در اثر ابتلا به این بیماری خبر می‌دهد (۲۰ و ۷). Dungchai و همکاران (۲۰۰۸) از روش ایمونولوژیکی-الکتروشیمیایی به منظور شناسایی باکتری سالمونلا تایفی موریوم استفاده کردند. آن‌ها با تثبیت آنتی‌بادی مونوکلونال بر روی پلی‌استایرن به منظور جذب (گرفتن) باکتری‌ها و به دنبال آن افزودن آنتی‌بادی پلی‌کلونال-نانوذرات طلا به منظور اتصال با باکتری‌ها در حضور محلول بهبود دهنده-مس و آسکوربیک اسید، زمینه را برای شناسایی باکتری سالمونلا تایفی موریوم فراهم کردند. دقت این روش به منظور شناسایی $98/9 \text{ CFU/mL}$ گزارش شد (۲۳). در مطالعه بعدی به بررسی ایمونوسنسور خازنی قابل استفاده مجدد شامل اتیلن دی‌آمید و نانوذرات طلا متصل شده به الکترود کربن شیشه‌ای به منظور تشخیص و شناسایی گونه‌های مختلف سالمونلا در گوشت خوک پرداخته شد. واکنش بین آنتی‌بادی مونوکلونال-نانوذرات طلا با گونه‌های مختلف سالمونلا را می‌توان مستقیماً توسط اسپکتروسکوپی مقاومت الکتروشیمیایی با حد تشخیص $1 \times 10^2 \text{ CFU/mL}$ محاسبه کرد (۲۴). استفاده از نانوذرات و پروب‌های نانوکریستال نوری به منظور شناسایی باکتری سالمونلا در شیر توسط Joo و همکاران (۲۰۱۲) مطالعه شد. به این صورت که باکتری در شیر توسط آنتی‌بادی-نانوذرات مغناطیسی جذب شده و در ادامه به منظور جداسازی باکتری متصل به پروب از یک میدان مغناطیسی خارجی استفاده شده است. در ادامه آنتی‌بادی تثبیت شده، به منظور جذب اشعه فرابنفش، بر روی نانوکریستال‌های اکسید تیتانیوم قرار داده شده و سپس جداسازی نانوذرات مغناطیسی-سالمونلا-اکسید تیتانیوم، توسط میدان

نانولوله‌های طلا، علاوه بر شناسایی آن‌ها، بیش از ۷۵ درصد از قابلیت زنده‌مانی باکتری‌ها کاسته شده بود (۲۷).

۳-۶- شناسایی ویبریو پاراهمولیتیکوس

مسمومیت غذایی در ارتباط با ویبریو پاراهمولیتیکوس در بین افراد مصرف کننده محصولات خام و یا دارای عدم کفایت حرارتی شایع است. با پیشرفت در زمینه نانوتکنولوژی تحلیلی، Zhao و همکاران (۲۰۰۷) یک ایمنوسنسور آنزیمی یکبار مصرف طراحی کردند که مبتنی بر یک الکتروود قرار گرفته بر روی یک صفحه بود. این الکتروود توسط نانوذرات طلای متصل به آگاروز پوشانده شده بود و به منظور شناسایی باکتری یاد شده به کار رفت. نانوذرات طلا یک مسیر رسانای کوتاه را برای هدایت انتقال الکترون (که به دلیل احیاء شدید در فاصله بین جایگاه فعال و الکتروود ایجاد می‌شود) را فراهم می‌آورند. این محققان توان انتخابی بالا این سنسور در شناسایی ویبریو پاراهمولیتیکوس در بین باکتری‌های اشریشیا کلی، سالمونلا پولوروم و استافیلوکوکوس اورئوس اثبات کردند. اما متاسفانه در رابطه با تایید این باکتری در نمونه‌های واقعی غذا ناکام ماندند (۲۸).

۳-۷- تشخیص چندگانه باکتری‌های بیماری‌زا با استفاده از فناوری نانو

روش مبتنی بر توانایی تشخیص همزمان چند باکتری بیماری‌زا مورد توجه بسیاری از روش‌های شناسایی میکروارگانیسم‌ها از جمله روش‌های شناسایی مبتنی بر روش نانو بوده است. Zhao و همکاران (۲۰۰۴) برای تشخیص اشریشیا کلی سویه O157:H7، سالمونلا تایفی موریم و باسیلوس سرئوس، از آنتی‌بادی متصل با رنگ‌های تثبیت شده بر روی نانوذرات سیلس استفاده کردند. به این صورت که باکتری‌ها در حضور این نانوذرات گرم‌خانه گذاری شده، در ادامه نانوذراتی که اتصال برقرار نکرده‌اند توسط سانتریفوژ حذف شدند. در

مناسبی برای تشخیص سریع آنالیت‌ها با دقت بالا فراهم آورده است. Kaitanis و همکاران (۲۰۰۷) روش یک مرحله‌ای بر اساس نانوذرات به منظور شناسایی باکتری در شیر و خون توسط نانوذرات سوپرمغناطیسی اکسید آهن معرفی کردند. به منظور شناسایی مایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوسیس، نانوذرات سوپرمغناطیسی اکسید آهن، با آنتی‌بادی آنتی- مایکوباکتریوم آویوم پاراتوبرکلوسیس توسط پروتئین G متصل شده که این نانوذرات بر اساس غلظت باکتری پاسخ می‌دهند. این محققین بهترین غلظت اولیه از نانوذرات مغناطیسی برای شناسایی این گونه از باکتری را $2 \mu\text{g Fe}/\mu\text{L}$ تشخیص دادند. حد تشخیص توسط این روش $5-15/775$ CFU باکتری گزارش شد (۶).

۳-۵- شناسایی سودوموناس آئروجینوزا

باکتری گرم منفی سودوموناس آئروجینوزا به ایجاد التهاب و سپتیسمی مشهور است. مهمتر از آن ایجاد کلنی در اندام‌های مهم و حیاتی مانند ریه، مجاری ادرار و کلیه توسط این باکتری است که حتی می‌تواند منجر به مرگ شود. توانایی نانولوله‌های طلا به منظور از بین بردن انتخابی سودوموناس آئروجینوزا توسط Norman و همکاران (۲۰۰۸) مطرح شد. نانولوله‌های دارای انتهای آمین توسط پیوند کوالانسی با کربوکسیلیک اسید آنتی‌بادی‌های اولیه آنتی-سودوموناس آئروجینوزا در حضور ۱-انیل-۳-(۳-دی متیل آمینوپروپیل) کربودی‌آمید متصل می‌شوند. سپس سوسپانسیون حاوی آنتی‌بادی- نانولوله و باکتری با مادون قرمز نزدیک (NIR) با طول موج ۷۵۰ نانومتر و توان ۵۰ میلی وات به مدت ۱۰ دقیقه پرتودهی شده و در ادامه رنگ‌آمیزی با رنگ مرده (قرمز)/ زنده (سبز) و شمارش سلول‌های زنده و یا مرده صورت می‌گیرد. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که در اثر قرار گرفتن باکتری سودوموناس آئروجینوزا در برابر

مثبت نانوذرات مغناطیسی دارای گروه عاملی آمین (در نتیجه بار مثبت گروه آمین) و بار منفی بخش‌هایی از سطح این باکتری‌ها گزارش شد. مقدار این نانوذرات، pH بافر فسفات و تعادل یونی از عوامل موثر بر این اتصال‌ها ذکر شدند. از مزایای این روش می‌توان زمان گرمخانه‌گذاری کم و میزان اتصال بالا به باکتری‌ها را نام برد. با این حال نقص عمده این روش عدم اختصاصی بودن و انتخابی بودن در مقایسه با روش‌های مشابه که از آنتی‌بادی‌های کنژوگه به نانوذرات استفاده شده است گزارش شد (۳۰).

۴- سنسورهای مبتنی بر نانوذرات به منظور شناسایی توکسین‌های باکتریایی

در این قسمت مجموعه‌ای از چندین مطالعه در رابطه با استفاده از سنسورهای ساخته شده با مواد نانو به منظور شناسایی توکسین‌های باکتریایی ذکر شده است.

۱-۴- کلرا توکسین

کلراتوکسین یک ترکیب پروتئینی است که توسط باکتری ویبریو کلرا تولید می‌شود و سبب ایجاد اسهال آبکی در بیماری کلرا می‌شود. این توکسین ساختار پیچیده آلیگومری دارد که از شش واحد پروتئینی ساخته شده است (یک واحد پروتئینی A و ۵ واحد پروتئینی B) (۷). Viswanathan و همکاران (۲۰۰۶) ایمونوسنسور الکتروشیمیایی توسط اتصال آنتی بادی مونوکلونال آنتی-کلرا توکسین-واحد B با پلی (۳-اتیلن دی اکسی تیوفن) که بر روی الکترود کربن شیشه‌ای تثبیت شده بود را به منظور شناسایی کلرا توکسین طراحی کردند. شناسایی توکسین بر اساس نوع برقراری اتصال از نوع ساندویچی بود که شامل اتصال آنتی بادی آنتی-کلراتوکسین با لیپوزوم دارای گروه عاملی گانگلوzyd صورت می‌گرفت. شناسایی بر اساس جذب فروسیانات

نهایت شناسایی باکتری‌ها توسط روش شمارش صفحه‌ای صورت گرفت. این روش فقط ۲۰ دقیقه زمان برد و به علاوه توانایی تشخیص ۴۰۰-۱ سلول باکتری اشریشیاکلی سویه O157:H7 در نمونه‌های گوشت گاو را داراست. توانایی تشخیص باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به صورت همزمان در دامنه زمانی بسیار کم از مزیت‌های این روش محسوب می‌شود. روش مرسوم شمارش صفحه‌ای استاندارد، در مقایسه با این روش زمان بسیار بیشتری نیاز دارد (۱۶ ساعت)، در حالی که هر دو روش نتیجه مشابه‌ای می‌دهند. به علاوه این روش قابلیت شناسایی حتی یک سلول باکتریایی را داراست که می‌توان از این روش به عنوان یک روش فوق حساس به منظور شناسایی باکتری‌های بیماری‌زا استفاده کرد (۲۸). در مطالعه‌ای مشابه از نانوذرات طلا متصل به پلیمر پلی (پارا-فنیلن اتیلن) به منظور مثبت تشخیص دادن ۱۲ سویه مختلف باکتریایی در عرض چند دقیقه استفاده شد. با واکنش بین نانوذرات-باکتری ترکیب فلئورسنت موجود در پلی‌مر، در اثر اتصال از خود نور فلئورسنت ساطع می‌کند. بار منفی موجود در غشای باکتریایی می‌تواند با پیوند بین نانوذرات طلا و پلیمر جایگزین شود و سبب تشدید ساطع شدن نورهای فلئورسنت گردد (۲۹). اخیراً Huang و همکاران (۲۰۱۰) نانوذرات مغناطیسی دارای گروه عاملی آمین را ساخته‌اند که تمایل برقراری اتصال بالا (۵/۱-۸۸/۹۹ درصد) با باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در مواد غذایی، آب و اوره را از خود نشان داده است. میل جذبی بالا در ۸ باکتری سارسینا لوته‌آ، استفیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا، سودوموناس و لگاریس و سودوموناس آنروجینوزا مشاهده شد. دلیل این آفینیتته جذبی بالا برهمکنش الکترواستاتیک بین بار

گرفته شد، که حدود ۶ تا ۸ برابر سیگنال قوی تر نسبت به روش های معمول ایمونولوژیکی ایجاد می کنند. حد تشخیص انتروتوکسین استافیلوکوکی توسط این روش 0.1 ng/mL تعیین شد. البته باید یادآور شد کاربرد این روش در نمونه های واقعی مواد غذایی مانند شیر سویا، آب سیب، گوشت و غذای کودک، نیازمند مراحل اضافی خالص سازی می باشد. در مطالعه ای دیگر از نانوذرات طلا که آنتی بادی آنتی-انتروتوکسین استافیلوکوکی بر سطح آن ها قرار گرفته بود استفاده شد. حساسیت این روش هم 0.1 ng/mL گزارش شد. حساسیت روش های مذکور نسبت به روش الیزا ۱۰ برابر بیشتر است (۳۳).

۳-۴- شینگا توکسین

شینگاتوکسین و توکسین مشابه شینگاتوکسین که توسط /شریشیاکلی مخصوصا سویه غذازاد O157:H7 تولید می شود. این توکسین ها دارای زیرواحد B هستند که به طور خاص گلوبوتریوز مربوط به آنتی ژن های گروه های خونی که از تری ساکارید متشکل از دو واحد گالاتوز و یک واحد گلوکز است را شناسایی می کند. هر زیر واحد B دارای ۳ جایگاه اتصال به این واحدهای قندی است. با استفاده از این اطلاعات Chien و همکاران (۲۰۰۸) آزمون رقابت رزونانس پلاسمون سطحی را به منظور شناسایی توکسین مشابه شینگاتوکسین طراحی کردند. برای این منظور از نانوذرات قندی به منظور اتصال گلوبوتریوز به نانوذرات طلا با اندازه های متفاوت (۴، ۱۳ و ۲۰ نانومتر) استفاده شد. نتایج نشان داد که نانوذرات با اندازه بزرگتر دارای آفینیتیه بیشتر به منظور اتصال بخش گلوبوتریوز بود که نتیجه آن اتصال بهتر به توکسین مشابه شینگاتوکسین شد. نتیجه پژوهش آن شد که بهترین شناسایی توسط نانوذرات با اندازه بزرگتر متصل به گلوبوتریوز حاصل شد که از حساسیت بالاتری به منظور تشخیص توکسین برخوردار بود (۳۴). Nagy و همکاران

پتاسیم آزاد شده لیپوزوم ها توسط الکتروود ساخته شده انجام گرفت که با سنجش اختلاف پتانسیل ایجاد شده توسط الکتروود در اثر اتصال صورت می پذیرد. حد تشخیص کلرا توکسین توسط این روش 10^{-16} g/mL محاسبه شد (۳۱). در مطالعه دیگر از نانوذرات طلا که در دو طرف گانگلوپزید حاوی لیپید متصل شده بود، به منظور شناسایی کلرا توکسین بکار رفت. این روش با حد تشخیص 10 pM - 100 pM ، حدود ۱۰۰ برابر حساسیت بالاتر از روش های ایمنی سنجی فلئورسنت معمولی با حد تشخیص 5 nM دارد (۳۲).

۲-۴- انتروتوکسین استافیلوکوکی

در بین ۲۱ توکسین مقاوم به حرارت تولید شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین استافیلوکوکی سمی مهم در رابطه با بیماری های غذازاد است که در اثر مصرف غذاهای آلوده ایجاد می شود. حتی در مقادیر بسیار کم (20 ng - 100 ng) سبب ایجاد مسمومیت در افراد می شود. این توکسین علاوه بر بی اشتهایی، حالت تهوع اسهال و استفراغ، می تواند سبب آگزما، آرتريت روماتوئید و سندروم شوک توکسیک گردد. روش های شناسایی مانند ELISA و دیگر روش های ایمونولوژیکی از سرعت مناسب به منظور شناسایی برخوردارند. اما از حساسیت کافی در برخی از موارد برخوردار نیستند (۲۴ و ۳۳). به این منظور Yang و همکاران (۲۰۰۹)، ایمونوسنسورهای نوری بکار بردند. به این صورت که آنتی-آنتی بادی اولیه انتروتوکسین استافیلوکوکی و آنتی بادی ثانویه نشان دار شده انتروتوکسین استافیلوکوکی که به آنزیم پراکسیداز ترب کوهی متصل شده بود را بر روی نانولوله های کربن تثبیت کردند. در نهایت با استفاده از سنجش فلئورسنس ایجاد شده حاصل از فعالیت پراکسیداز ترب کوهی، شناسایی را انجام دادند. در این ایمونوسنسور، حالت ساندویچی به منظور تقویت سیگنال ایجاد شده به کار

"عزینیا و سرابی، استفاده از فناوری نانو به منظور شناسایی..."

دقت بالا قادر به شناسایی توکسین‌های یاد شده بود (۳۶). تنها مشکل و البته مانع بزرگ این روش احتمال وقوع برهمکنش‌های نامطلوب است. البته پژوهشگران راه حل این مشکل را نهایت دقت عمل حین این آزمون، بهینه سازی مطلوب آنتی‌بادی‌ها و انتخاب آنتی‌بادی مناسب با مقدار کافی دانسته‌اند (۳۷).

۵- نتیجه‌گیری

امروزه فناوری نانو جایگاه ویژه و مهمی در علوم مختلف از جمله میکروبی‌شناسی دارد. با توجه به سرعت و دقت بالای روش‌های مبتنی بر نانو به منظور شناسایی باکتری‌های بیماری‌زا و توکسین‌های حاصل از آن‌ها، می‌توان از این فناوری در حوزه سلامت مواد غذایی به بهترین شکل ممکن بهره برد. امید است با اهتمام به مطالب این پژوهش توسط پژوهشگران عزیز در حوزه میکروبی‌شناسی، پژوهش و بکارگیری هرچه بیشتر این روش‌ها را در میهن عزیزمان شاهد باشیم.

(۲۰۰۸) سنسور رنگی بر پایه گلوبوتریوز تثبیت شده بر روی نانوذرات گلیکوپلی‌دی استیلن طراحی کردند که در حضور توکسین در عرض ۵ دقیقه از بنفش به رنگ قهوه‌ای تغییر رنگ می‌داد و در صورت عدم وجود توکسین بنفش باقی می‌ماند. این روش از حساسیت و انتخابی بودن بسیار بالا و سرعت تشخیص مناسب برخوردار است. محدودیت شناسایی توسط این روش $1200 \text{ U}/\mu\text{L}$ گزارش شد (۳۵).

۴-۴- تشخیص چندگانه توکسین‌های باکتریایی با استفاده از فناوری نانو

در یک مطالعه به منظور تشخیص همزمان چند نوع توکسین مختلف، از روش ایمنی سنجی فلئورسنتی چندگانه استفاده شد. به این صورت که نانوکریستال‌های نیمه‌رسانا به شدت فلئورسنت (نقاط کوانتومی CdSe-ZnS) با آنتی‌بادی‌های مربوط به شیگاتوکسین، ریسین، توکسین مشابه شیگاتوکسین و انتروتوکسین استافیلوکوکی را کنترل کردند. این آزمون ایمونولوژیکی ساندویچی با

References

- 1- **G. Taubes, (2008).** The bacteria fight back, *Science* 321, 356-361.
- 2- **Batt, C. A. (2007).** Food pathogen detection. *Science*, 316(5831), 1579-1580.
- 3- **Martínez, J. L. (2008).** Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science*, 321(5887), 365-367.
- 4- **Jain, K. K. (2005).** Nanotechnology in clinical laboratory diagnostics. *Clinica chimica acta*, 358(1), 37-54.
- 5- **Rosi, N. L., & Mirkin, C. A. (2005).** Nanostructures in biodiagnostics. *Chemical reviews*, 105(4), 1547-1562.
- 6- **Kaittanis, C., Santra, S., & Perez, J. M. (2010).** Emerging nanotechnology-based strategies for the identification of microbial pathogenesis. *Advanced drug delivery reviews*, 62(4), 408-423.
- 7- **Sonawane, S. K., Arya, S. S., LeBlanc, J. G., & Jha, N. (2014).** Use of Nanomaterials in the Detection of Food Contaminants. *European Journal of Nutrition and Food Safety*, 4, 301-317.
- 8- **Edgar, R., McKinstry, M., Hwang, J., Oppenheim, A. B., Fekete, R. A., Giulian, G., ... & Adhya, S. (2006).** High-sensitivity bacterial detection using biotin-tagged phage and quantum-dot

فهرست منابع

- nanocomplexes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103(13), 4841-4845.
- 9- **Kayal, S., & Charbit, A. (2006).** Listeriolysin O: a key protein of *Listeria monocytogenes* with multiple functions. FEMS microbiology reviews, 30(4), 514-529.
 - 10- **Daniel, M. C., & Astruc, D. (2004).** Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. Chemical reviews, 104(1), 293-346.
 - 11- **Sun, Y., & Xia, Y. (2002).** Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. Science, 298(5601), 2176-2179.
 - 12- **Schaller, M., Laude, J., Bodewaldt, H., Hamm, G., & Korting, H. C. (2004).** Toxicity and antimicrobial activity of a hydrocolloid dressing containing silver particles in an ex vivo model of cutaneous infection. Skin pharmacology and physiology, 17(1), 31-36.
 - 13- **Qin, D., He, X., Wang, K., & Tan, W. (2008).** Using fluorescent nanoparticles and SYBR Green I based two-color flow cytometry to determine *Mycobacterium tuberculosis* avoiding false positives. Biosensors and Bioelectronics, 24(4), 626-631.
 - 14- **McCarthy, J. R., Perez, J. M., Brückner, C., & Weissleder, R. (2005).** Polymeric nanoparticle preparation that eradicates tumors. Nano letters, 5(12), 2552-2556.
 - 15- **Santra, S., Kaittanis, C., Grimm, J., & Perez, J. M. (2009).** Drug/Dye-Loaded, Multifunctional Iron Oxide Nanoparticles for Combined Targeted Cancer Therapy and Dual Optical/Magnetic Resonance Imaging. small, 5(16), 1862-1868.
 - 16- **Nath, S., Kaittanis, C., Ramachandran, V., Dalal, N. S., & Perez, J. M. (2009).** Synthesis, magnetic characterization, and sensing applications of novel dextran-coated iron oxide nanorods. Chemistry of Materials, 21(8), 1761-1767.
 - 17- **Lim, D. V., Simpson, J. M., Kearns, E. A., & Kramer, M. F. (2005).** Current and developing technologies for monitoring agents of bioterrorism and biowarfare. Clinical microbiology reviews, 18(4), 583-607.
 - 18- **Tully, E., Hearty, S., Leonard, P., & O'Kennedy, R. (2006).** The development of rapid fluorescence-based immunoassays, using quantum dot-labelled antibodies for the detection of *Listeria monocytogenes* cell surface proteins. International journal of biological macromolecules, 39(1), 127-134.
 - 19- **Phillips, R. L., Miranda, O. R., You, C. C., Rotello, V. M., & Bunz, U. H. (2008).** Rapid and Efficient Identification of Bacteria Using Gold-Nanoparticle-Poly (para-phenyleneethynylene) Constructs. Angewandte Chemie International Edition, 47(14), 2590-2594.
 - 20- **Pérez-López, B., & Merkoçi, A. (2011).** Nanomaterials based biosensors for food analysis applications. Trends in Food Science & Technology, 22(11), 625-639.
 - 21- **Mao, X., Yang, L., Su, X. L., & Li, Y. (2006).** A nanoparticle amplification based quartz crystal microbalance DNA sensor for detection of *Escherichia coli* O157: H7. Biosensors and Bioelectronics, 21(7), 1178-1185.
 - 22- **Kalele, S. A., Kundu, A. A., Gosavi, S. W., Deobagkar, D. N., Deobagkar, D. D., & Kulkarni, S. K. (2006).** Rapid detection of *escherichia coli* by using antibody-conjugated silver nanoshells. Small, 2(3), 335-338.
 - 23- **Dungchai, W., Siangproh, W., Chaicumpa, W., Tongtawe, P., & Chailapakul, O. (2008).** *Salmonella typhi* determination using voltammetric amplification of nanoparticles: a highly sensitive strategy for metalloimmunoassay based on a copper-enhanced gold label. Talanta, 77(2), 727-732.
 - 24- **Yang, G. J., Huang, J. L., Meng, W. J., Shen, M., & Jiao, X. A. (2009).** A reusable capacitive immunosensor for detection of *Salmonella spp.* based on grafted ethylene diamine and self-assembled gold nanoparticle monolayers. Analytica chimica acta, 647(2), 159-166.

- 25- Joo, J., Yim, C., Kwon, D., Lee, J., Shin, H. H., Cha, H. J., & Jeon, S. (2012). A facile and sensitive detection of pathogenic bacteria using magnetic nanoparticles and optical nanocrystal probes. *Analyst*, 137(16), 3609-3612.
- 26- Grossman, H. L., Myers, W. R., Vreeland, V. J., Bruehl, R., Alper, M. D., Bertozzi, C. R., & Clarke, J. (2004). Detection of bacteria in suspension by using a superconducting quantum interference device. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(1), 129-134.
- 27- Norman, R. S., Stone, J. W., Gole, A., Murphy, C. J., & Sabo-Attwood, T. L. (2008). Targeted photothermal lysis of the pathogenic bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, with gold nanorods. *Nano letters*, 8(1), 302-306.
- 28- Zhao, G., Xing, F., & Deng, S. (2007). A disposable amperometric enzyme immunosensor for rapid detection of *Vibrio parahaemolyticus* in food based on agarose/nano-Au membrane and screen-printed electrode. *Electrochemistry communications*, 9(6), 1263-1268.
- 29- Phillips, R. L., Miranda, O. R., You, C. C., Rotello, V. M., & Bunz, U. H. (2008). Rapid and Efficient Identification of Bacteria Using Gold-Nanoparticle-Poly (para-phenyleneethynylene) Constructs. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(14), 2590-2594.
- 30- Huang, Y. F., Wang, Y. F., & Yan, X. P. (2010). Amine-functionalized magnetic nanoparticles for rapid capture and removal of bacterial pathogens. *Environmental science & technology*, 44(20), 7908-7913.
- 31- Viswanathan, S., Wu, L. C., Huang, M. R., & Ho, J. A. A. (2006). Electrochemical immunosensor for cholera toxin using liposomes and poly (3, 4-ethylenedioxythiophene)-coated carbon nanotubes. *Analytical chemistry*, 78(4), 1115-1121.
- 32- Minke, W. E., Roach, C., Hol, W. G., & Verlinde, C. L. (1999). Structure-based exploration of the ganglioside GM1 binding sites of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin and cholera toxin for the discovery of receptor antagonists. *Biochemistry*, 38(18), 5684-5692.
- 33- Yang, M., Kostov, Y., Bruck, H. A., & Rasooly, A. (2009). Gold nanoparticle-based enhanced chemiluminescence immunosensor for detection of Staphylococcal Enterotoxin B (SEB) in food. *International journal of food microbiology*, 133(3), 265-271.
- 34- Chien, Y. Y., Jan, M. D., Adak, A. K., Tzeng, H. C., Lin, Y. P., Chen, Y. J., ... & Lin, C. C. (2008). Globotriose-functionalized gold nanoparticles as multivalent probes for Shiga-like toxin. *ChemBioChem*, 9(7), 1100-1109.
- 35- Nagy, J. O., Zhang, Y., Yi, W., Liu, X., Motari, E., Song, J. C., ... & Wang, P. G. (2008). Glycopolymers as a chromatic biosensor to detect Shiga-like toxin producing *Escherichia coli O157: H7*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18(2), 700-703.
- 36- Goldman, E. R., Clapp, A. R., Anderson, G. P., Uyeda, H. T., Mauro, J. M., Medintz, I. L., & Mattoussi, H. (2004). Multiplexed toxin analysis using four colors of quantum dot fluororeagents. *Analytical Chemistry*, 76(3), 684-688.
- 37- Branen, J. R., Hass, M. J., Douthit, E. R., Maki, W. C., & Branen, A. L. (2007). Detection of *Escherichia coli O157*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, and staphylococcal enterotoxin B in a single sample using enzymatic bio-nanotransduction. *Journal of food protection*, 70(4), 841-850.

Use of Nanotechnology to Identify Pathogenic Bacteria and Toxins in Food

Hamed Aziznia^{1*}, Mahboobe Sarabi Jamab²

1- Ph.D. student of Biotechnology Department, Mashhad Institute of Food Science & Technology, Mashhad, Iran
2- Assistant Professor of Biotechnology, Mashhad Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

h.aziznia@gmail.com

Abstract

Foodborne illnesses associated with pathogens, toxins, and other contaminants pose serious threat to human health. Conventional detection methods for bacterial pathogens and toxins are time consuming and laborious, requiring certain sophisticated instruments and trained personnel. Nanomaterials including metal oxide and metal nanoparticles, carbon nanotubes, quantum dots, and other nano-based materials are gaining a prominent role in the design of sensors and biosensors for food analysis. In this review, various nanomaterial-based sensors reported in the literature for detection of several foodborne bacterial pathogens and toxins are summarized highlighting their principles, advantages, and limitations in terms of simplicity, sensitivity, and multiplex detection capability.

Key Words: Pathogen, Toxin, Nano, Sensor, Detection.