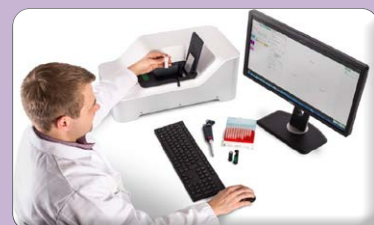


ریسک در بی طرفی آزمایشگاه

یازدهمین نشست سراسری مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی



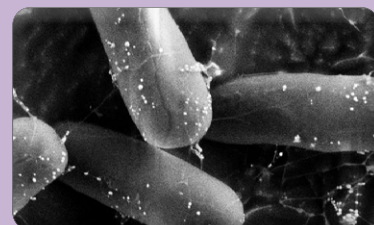
محصولات تراریخته: دوست یا دشمن



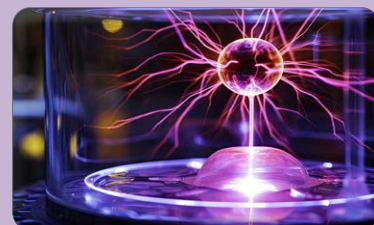
اندازه‌گیری وزن مولکولی ملکول‌های زیستی
با استفاده از تجهیزات تفريق نور پویا



ارزیابی خطر ناشی از فلزات سنگین
کادمیوم و سرب نمونه‌های گندم وارداتی در
استان خراسان



کاربرد میکروسکوپ Cryo-FIB-SEM برای
آماده‌سازی لاملا میکروسکوپ الکترونی
عبوری کرایو از نمونه‌های زیستی منجمد



کاربرد پلاسمای سرد در کشاورزی و مواد غذایی



ولادت حضرت فاطمه
(علیها السلام)
و روز مادر و روز زن بر شما مبارک





فصلنامه دانش آزمایشگاهی ایران

سال دوازدهم ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۴۰۳ ■ شماره پیاپی ۴۷

ISSN 2538-3450

صاحب امتیاز: ستاد ویژه توسعه فناوری نانو معاونت علمی
و فناوری ریاست جمهوری

سردبیر: علیرضا بدیعی

مدیر مسئول: مجتبی نسب

مدیریت اجرایی: شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

دبیر مقالات: داود قزایلو

همکاران این شماره: فریده گلبابایی، ساناز شبیکه
مریم احمدی، خسرو آقایی پور، مرجان عزتیان، حامد فراچی
هما حبیبی، دریاناز فرهنگد بروجنی، اسما گلیمکانی
فهیمة محمودی، افسون دارویی، سید احمد ظهیر میردامادی

طراحی و صفحه آرایی: سیمین رفیع پور لنگرودی

ویراستار: زینب زرینچه

نشانی: تهران - صندوق پستی ۳۴۴-۱۴۵۶۵

تلفن: ۰۲۱ ۶۶۹۴۱۰۸۵

پایگاه اینترنتی: www.IJLK.ir

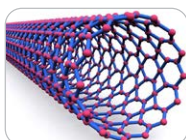
پست الکترونیکی: info@ijlk.ir



فهرست مطالب

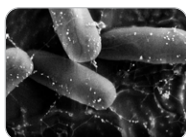
یازدهمین نشست سراسری مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی
فناوری های راهبردی برگزار شد

۲ <



فناوری نانو- مشخصه یابی هواسل های نانولوله
کربنی و نانولیف کربنی برای استفاده در
آزمون های سمیت استنشاقی
استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۴۴۳

۸ <



کاربرد میکروسکوپ Cryo-FIB-SEM برای
آماده سازی لاملا میکروسکوپ الکترونی عبوری
کرایو از نمونه های زیستی منجمد

۹ <



محصولات تراریخته: دوست یا دشمن

۲۰ <



ارزیابی خطر ناشی از فلزات سنگین کادمیوم
و سرب نمونه های گندم وارداتی در استان
خراسان

۲۶ <



اندازه گیری وزن مولکولی مولکول های زیستی با
استفاده از تجهیزات تفرق نور پویا

۳۳ <



کاربرد پلاسمای سرد در کشاورزی و مواد غذایی

۴۱ <



ریسک در بی طرفی آزمایشگاه

۴۷ <

اخبار

استاندارد

مقالات



یازدهمین نشست سراسری مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی برگزار شد

در یازدهمین نشست مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی از ۲۵ مرکز آزمایشگاهی برتر، ۱۷ مرکز آزمایشگاهی دارای بیش‌ترین رشد، ۲۵ رابط برتر و ۲۲ کارشناس منتخب تقدیر به عمل آمد.

به گزارش پایگاه خبری شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، هم‌زمان با دهمین سالگرد فعالیت شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی و بیستمین سالگرد تشکیل شبکه آزمایشگاهی فناوری‌نانو از مراکز آزمایشگاهی برتر، رشد یافته، رابطین برتر و کارشناسان منتخب تقدیر شد.

الگوی موفق استفاده حداکثری از ظرفیت‌های آزمایشگاهی کشور

شبکه آزمایشگاهی در حوزه نانو و پس از آن توسعه فعالیت به همه حوزه‌های فناوری با حمایت معاونت علمی ریاست جمهوری، در قالب شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی است.

اسدی‌فرد با اشاره به این‌که شبکه آزمایشگاهی در هر دو دوره فعالیت خود، یک مسیر رو به تعالی را در شبکه‌سازی و ایجاد زیرساختی از همه آزمایشگاه‌های توانمند در سراسر کشور طی کرده است، افزود: شبکه آزمایشگاهی در طول این دو دهه، همچون رودخانه‌ای همواره جاری، تلاش کرده است با

رضا اسدی‌فرد، مدیر شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، در مراسم یازدهمین نشست مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، عنوان کرد: این نشست که امسال یازدهمین دوره آن برگزار می‌شود و میزبان مدیران برترین مراکز عضو است، از یک جهت تمایز دارد، این‌که شبکه آزمایشگاهی از آغاز راه خود در قالب شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های نانو، اکنون دو دهه را پشت سر گذاشته و بیست ساله شده‌است. بر همین اساس مراسم امسال را با عنوان ده به‌علاوه ده نامگذاری کردیم که حاکی از ده سال فعالیت موفق

و تجهیزات آزمایشگاهی گفت: توسعه اقتصاد دانش‌بنیان و فرهنگ‌سازی آن، نگاه و رویکردها را نسبت به مسائل حوزه علم، فناوری و کسب و کار متحول کرد، به طوری که راه‌اندازی یک کسب و کار دانش‌بنیان توسط یک عضو هیئت علمی دانشگاه، تا همین چند سال اخیر امری پذیرفته و پسندیده تلقی نمی‌شد و اگر استاد دانشگاهی وارد عرصه کسب و کار می‌شد مورد نکوهش نیز قرار می‌گرفت، اما امروز این رویکرد متحول شده‌است و شاهد شکل‌گیری و رونق هسته‌های فناوری و دانش‌بنیان با محوریت استادان دانشگاه هستیم.

اسدی‌فرد ادامه داد: به همین ترتیب، رویکرد به امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی مستقر در یک دانشگاه، آزمایشگاه یا پژوهشگاه نیز متحول شده‌است و اگر تعداد تجهیز آزمایشگاهی در اختیار استاد دانشگاه قرار داشت و کارایی و استفاده بهینه از این سرمایه، چندان ملاک نبود، امروز اما میزان کارآمدی و بهره‌مندی از ظرفیت‌های آزمایشگاهی، به یک ارزش تبدیل شده‌است.

وی همچنین، تلاش مراکز آزمایشگاهی و پژوهشی برای استقرار استانداردها و اخذ گواهی‌های معتبر تایید صلاحیت آزمایشگاه را یکی دیگر از زمینه‌های تحول به کمک شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی دانست و ادامه داد: تا چند سال اخیر، آزمایشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی، با توجه به موانع متعددی که برای دریافت استانداردهای آزمایشگاهی بر سر راه خود می‌دیدند یا ضرورتی برای اخذ این تأییدیه‌ها احساس نمی‌کردند، چندان به اقدام برای دریافت استانداردها تمایل نداشتند، اما فضای پویا و ارزش آفرین شبکه آزمایشگاهی ضمن حمایت‌ها و تسهیلاتی که برای استقرار این استانداردها ارائه می‌دهد، فضا را به سمت و سویی سوق داده است که امروزه آزمایشگاه‌ها استقرار این استانداردها را یک ارزش برای خود می‌دانند و به‌صورت خودانگیخته برای اخذ آن‌ها تلاش می‌کنند.

الگوی قابل اجرای شبکه آزمایشگاهی در عرصه حکمرانی

مدیر شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، با بیان این‌که نیازمند پیاده‌سازی و اجرای الگوهای مطلوب ارائه خدمات مردمی در قالب ساختارهای چابک و کارآمد هستیم، افزود: شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی از این حیث یک الگوی مطلوب برای حکمرانی نیز به شمار می‌رود. چرا که این مجموعه با وجودی که خدمات، تجهیزات و امکانات بیش از ۱۸۰۰ مجموعه آزمایشگاهی اعم از دولتی و خصوصی در سراسر کشور را به اشتراک گذاشته، زمینه‌ساز ارائه بیش از سه میلیون خدمت آزمایشگاهی در سال شده است، در حالی که با یک ساختار کوچک و چابک اداره می‌شود.

اسدی‌فرد ادامه داد: شاید تصور اولیه از شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی به‌عنوان گرداننده این ساختار، یک



شور و نشاط به حرکت رو به جلوی خود ادامه دهد و بستری برای توسعه پژوهش‌های کاربردی، توسعه و عمق‌بخشی به فناوری‌های راهبردی و جریان‌ساز فرهنگ تعامل و شبکه‌سازی در زیرساخت‌های فناوری باشد.

وی با بیان این‌که مسیر شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی و رشد طی این دو دهه، روندی مثال‌زدنی است، ادامه داد: این شبکه در ابتدا با ۳۰ مجموعه آزمایشگاهی که به‌طور عمده کوچک بودند قدم در راه گذاشت و این نگاه نوآورانه، مشتاقانه و پرشور به تدریج راه خود را هموار کرد. شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، فرهنگ و رویکرد تازه‌ای را در هم‌رسانی، به اشتراک‌گذاری امکانات موجود و تعامل را منادی شد که شاید در ابتدای راه، به دلیل شناخت کم‌تر مراکز آزمایشگاهی و تحقیقاتی بزرگ، چندان مورد استقبال قرار نگرفت اما به تدریج با پیشرفت در کار شبکه آزمایشگاهی و امتداد فعالیت‌ها امروز با استقبال مجموعه‌های بزرگ آزمایشگاهی اعم از دولتی و خصوصی مواجه شده و خوشبختانه کمتر شهری در کشور داریم که مرکز آزمایشگاهی عضوی از شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی نداشته باشد.

مدیر شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، با اشاره به تحول در فرهنگ و باور عمومی نسبت به کسب و کار یک عضو هیئت علمی دانشگاه و همچنین خرید و استفاده از زیرساخت‌ها

شده، به دلیل این است که خودش را خیلی بزرگ نکرده و به‌طور عمده روی عملکرد تمرکز داشته است.

وی با اشاره به ضرورت پیاده‌سازی رویکردهای تحولی در دهه سوم فعالیت شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی عنوان کرد: ایده‌های نوآورانه و تحولاتی که در شبکه اتفاق افتاده همگی توسط اعضای همین شبکه، اعضای کارگروه‌های تخصصی و کارشناسان مراکز عضو ارائه و پیاده‌سازی شده‌است و از اعضای جدید تقاضا می‌کنم که با ارائه ایده‌های جدید، زمینه‌ساز تحولات جدید و رو به جلوی دیگری در شبکه آزمایشگاهی باشند.

اسدی‌فرد، با تأکید بر ضرورت توجه به ایجاد زیرساخت‌های آزمایشگاهی منطبق با ابعاد و استانداردهای جهانی گفت: یکی از نقاطی که جای کار داریم، توجه به ارائه خدمات آزمایشگاهی مطلوب با زیرساخت آزمایشگاهی در سطح جهانی است و باید در حوزه‌های مختلفی که می‌تواند مزیت فناورانه کشور باشند یا با موضوع اقتدار و امنیت کشور مرتبط است به طور جدی کار کنیم. وی افزود: در حوزه توسعه فناوری جزء برترین‌های منطقه و دنیا هستیم و این ظرفیت را داریم با همکاری یکدیگر، این کار را در ابعاد بین‌المللی انجام دهیم و در این حوزه آزمایشگاه‌های بخش خصوصی می‌توانند نقش آفرینی اثربخشی داشته باشند.

سازمان عریض و طویل با تعداد زیادی نیروی انسانی باشد، اما این مجموعه همچنان پس از دو دهه فعالیت و پنجاه برابر شدن حجم فعالیت‌ها، اعضا و خدمات خود، در قالب یک ساختار بسیار کوچک و چابک اداره می‌شود.

وی با بیان این که ساختار چابک و رویکرد هم‌افزای شبکه آزمایشگاهی، الگوی مطلوبی برای حکمرانی است ادامه داد: کار شبکه آزمایشگاهی طی این دو دهه علیرغم کوچکی و چابکی، یک نوآوری مثال زدنی در عرصه سازمانی و حکمرانی به شمار می‌رود بر این باوریم آن بخشی از کارها که امکان انجام آنها توسط بخش خصوصی وجود دارد باید توسط این بخش و به کمک مجموعه‌های خصوصی انجام شود. بر همین اساس، بخش قابل توجهی از خدمات شبکه آزمایشگاهی از جمله تعمیر و احیای تجهیزات آزمایشگاهی، تأمین مواد مرجع، استقرار سامانه‌ها و نرم‌افزارهای آزمایشگاهی و غیره، با همراهی بخش خصوصی است. مدیر شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی ادامه داد: اگر چنین نگرشی در دولت و سایر بخش‌ها نیز حاکم شود، می‌توان کارهای بزرگ و تحول‌آفرین را در دل یک ساختار کوچک به ثمر رساند. هیچ وقت به این فکر نیفتادیم که یک زیرساخت را از صفر توسعه دهیم زیرا بر این باوریم که بخش خصوصی دارای تخصص و توانمندی‌های بیش‌تری است و کار را بهتر انجام می‌دهد. این که شبکه آزمایشگاهی بیست ساله

تقدیر از برترین‌ها

آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، علی بیت‌اللهی، مشاور ارشد ستاد توسعه فناوری‌نانو، محمد زندی، مدیر آزمایشگاه مرکزی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، از ۲۵ آزمایشگاه برتر و ۱۷ مرکز رشد یافته، قدردانی و لوح تقدیر ۲۵ رابط برتر و ۲۲ کارشناس منتخب به نمایندگان مراکز حاضر در این برنامه تحویل داده شد.

در دهمین دوره ارزیابی شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی از مراکز عضو، عملکرد ۶۵۳ مرکز آزمایشگاهی (شامل ۹۷۰ آزمایشگاه) مورد ارزیابی قرار گرفت و رتبه‌بندی آنها انجام شد.

در این مراسم با حضور عماد احمدوند، دبیر ستاد توسعه فناوری‌های نانو و میکرو، رضا اسدی‌فرد، مدیر شبکه



پیاده سازی الگوی نوآورانه تعامل و شبکه سازی



قابل توجهی برسیم باید نگاهی فراگیر داشته باشیم و برای درگیر کردن کل کشور در نانو، رویکرد تعامل، هم افزایی و شبکه سازی را پیاده سازی کردیم.

پیشکسوت حوزه نانو فناوری ادامه داد: در ابتدای راه، هیچ یک از مراکز تحقیقاتی و دانشگاهی این موضوع را جدی نگرفتند اما در سایه یک طراحی هوشمندانه و نوآورانه در ستاد توسعه فناوری نانو، امروز این درخت تناور شکل گرفته است. باید بر این باور باشیم که وقتی ظرفیت های موجود کشور را با سیاست های نرم به کار بندیم، کار به نتیجه مطلوب خواهد رسید. امیدوارم این جریان در مسیر پیش رو، با قوت به جلو برود و این الگو بتواند در سایر حوزه ها نیز پیاده شود.

در بخش دیگری از این مراسم، دکتر علی بیت اللهی، پیشکسوت و مدیر اسبق کارگروه روابط بین الملل ستاد ویژه توسعه فناوری نانو و میکرو، با اشاره به پیاده سازی الگوی نوآورانه تعامل و همکاری در شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو و پس از آن در شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی، عنوان کرد: آن چه امروز در شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی به ثمر نشسته است، جز با تلاش های دست اندرکاران شبکه محقق نشده است و من نیز جزء کوچکی از این مجموعه برای توسعه زیرساخت های نانو فناوری بودم. خوشبختانه پس از دو دهه تلاش، امروز شاهد دستاوردهای این شبکه گسترده در عرصه پژوهش و فناوری هستیم.

دکتر بیت اللهی ادامه داد: خوشبختانه توانمندی های آزمایشگاهی ما به قدری توسعه یافته اند که جای خود را در سراسر ایران باز کرده است و در مسیر کمک به پژوهش ها و توسعه فناوری های پیشرفته کار می کند. امروز ایران یکی از سرآمدان پژوهش، تجهیزات آزمایشگاهی و فناوری در عرصه جهانی است.

وی با اشاره به پیاده سازی یک الگوی نوین در شبکه سازی در قالب ستاد توسعه فناوری نانو و نیز ایجاد شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی گفت: در راهبری ستاد توسعه فناوری نانو و نیز برای تشکیل این شبکه آزمایشگاهی نانو بسیار مطالعه کردیم و به این نتیجه رسیدیم اگر می خواهیم در نانو فناوری به پیشرفت

مسیر رو به تعالی شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی



و اصلاحات بسیاری در روند فعالیت شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی انجام شده و مسیر این شبکه رو به تعالی است، افزود: پژوهشگاه فناوری های نوین نیز با تمامی امکانات، توانمندی ها و زیرساخت های خود این آمادگی را دارد که خدمات متنوع را در مسیر توسعه فناوری های پیشرفته، تولید علم نافع و پژوهش های کاربردی بر بستر شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی ارائه بدهد.

در این مراسم، سهیلا شکراله زاده، رئیس پژوهشگاه فناوری های نوین سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، ضمن خیر مقدم به مدیران مراکز آزمایشگاهی حاضر در نشست، نقش آفرینی شبکه آزمایشگاهی در حمایت از پژوهش های کاربردی و کمک به فعالیت دانشجویان، اعضای هیئت علمی و پژوهشگران را پررنگ و اثربخش دانست و گفت: شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی در مسیر پیش روی خود یک جریان بسیار خوب را در فعالیت های پژوهشی ایجاد کرده است و من به عنوان یک پژوهشگر از خدمات شبکه آزمایشگاهی استفاده می کنم.

وی با اشاره به این که شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی در مسیر تعامل و شبکه سازی آزمایشگاه ها، مراکز تحقیقاتی و دانشگاهی سراسر کشور مسیر پرفراز و نشیبی را پیموده است عنوان کرد: با توجه به این که شبکه سازی، امری بسیار دشوار است و موانع متعددی هم بر سر راه آن وجود دارد، تلاش زیادی انجام شده است و آن چه که امروز در شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی به ثمر رسیده، حاصل استمرار، فرهنگ سازی و عزم بسیار خوب مدیران و دست اندرکاران و اعضای این شبکه آزمایشگاهی است. شکراله زاده، با تأکید بر این که خوشبختانه بهبودها

تقدیر از کارشناس شبکه آزمایشگاهی

به تسهیل دریافت خدمات، تسهیلات و توانمندسازی آزمایشگاه‌ها قدردانی شد. مهندس دارابی از سال ۱۳۹۳ به مدت نه سال با شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی همکاری داشته است.

در بخش دیگری از این مراسم از مهندس حامد دارابی، کارشناس سابق شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، به پاس تلاش‌های مستمر و فعالیت‌های اثربخش در عرصه ایجاد تعامل و همراهی با مراکز آزمایشگاهی عضو، کمک



گرامیداشت بیست سالگی شبکه آزمایشگاهی



در بخش دیگری از یازدهمین نشست مدیران مراکز آزمایشگاهی عضو، مراسم ویژه گرامیداشت بیست سال فعالیت شبکه آزمایشگاهی با شعار «۱۰ به علاوه ۱۰» برگزار شد. به این مناسبت ده سال فعالیت شبکه آزمایشگاهی در حوزه نانو و در ادامه، ده سال فعالیت با پوشش‌دهی تمامی حوزه‌های آزمایشگاهی در قالب شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی و قرار گرفتن این شبکه در آستانه ۲۱ سالگی، گرامی داشته شد. همچنین متن‌های یادگاری و امضای شرکت‌کنندگان در این رویداد بر صفحه لوح یادبود ۱۰+۱۰ سالگی شبکه آزمایشگاهی نقش بست.

معرفی خدمات کارگزارهای شبکه آزمایشگاهی، مشاوره های امور گمرکی و اعتبار مالیاتی



در حاشیه این مراسم، در قالب میز ارائه خدمت، مراکز حامی (ارائه کننده مواد آزمایشگاهی مرجع)، نوتا (ارائه کننده خدمات تعمیر، نگهداری و نوسازی تجهیزات آزمایشگاهی)، مهامکس (تبادل کننده خدمات آزمایشگاهی)، مشاوره و تحلیل نتایج آنالیز) و همچنین مشاورین امور گمرکی و اعتبار مالیاتی، پاسخگوی مراکز حاضر در این برنامه بودند.

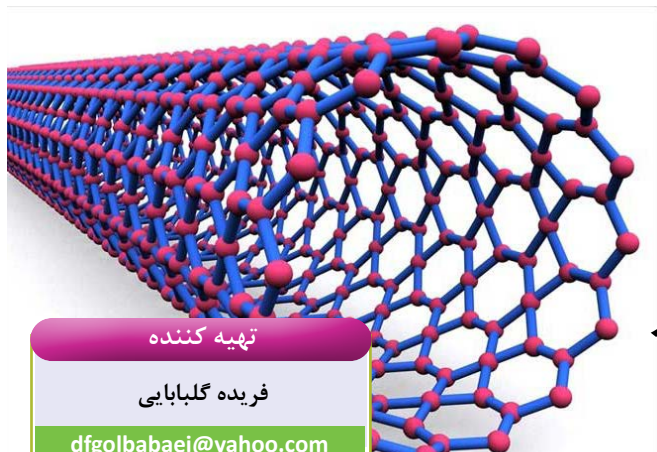
بازدید از آزمایشگاه‌ها و آشنایی با ظرفیت و توانمندی‌های آنها

در ادامه یازدهمین نشست سراسری مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی که به میزبانی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران برگزار شد، شرکت‌کنندگان از مجموعه آزمایشگاه‌های پژوهشکده زیست فناوری، شرکت دانش‌بنیان بهینه‌فرآیند آزما (فعال در زمینه خدمات تخصصی آزمایشگاهی کالیراسیون) و همچنین مرکز صنعتی‌سازی نانو فناوری کاربردی (ICAN) بازدید کردند.



بستری برای شناخت برترین‌ها در کنار تعامل و هم‌افزایی مدیران مراکز آزمایشگاهی

شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی با هدف ایجاد هم‌افزایی، اشتراک‌گذاری تجربیات و دستاوردها، ارتقای توانمندی‌ها و بیان دیدگاه‌ها در مسیر توسعه زیست‌بوم تجهیزات و خدمات آزمایشگاهی کشور، هر ساله در قالب این نشست با میزبانی یکی از مراکز آزمایشگاهی عضو، میزبان مدیران مراکز آزمایشگاهی است و بستری فراهم می‌سازد تا ضمن شناسایی و تقدیر از برترین آزمایشگاه‌ها، زمینه همکاری‌های آتی و آشنایی با زیرساخت‌ها و توانمندی‌های مراکز میزبان فراهم شود.



تهیه کننده

فریده گلبابی

dfgolbabaei@yahoo.com

دکتری بهداشت حرفه‌ای؛ عضو هیئت علمی
دانشگاه علوم پزشکی تهران

فناوری نانو - مشخصه‌یابی هواسل‌های نانولوله کربنی و نانولیف کربنی برای استفاده در آزمون‌های سمیت استنشاقی

استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۴۴۳

فیزیکوشیمیایی (به عنوان مثال، اندازه، توزیع اندازه، کلوخگی یا انبوهش و شکل) و اندازه‌گیری غلظت (به عنوان مثال جرم، تعداد، مساحت سطح و حجم) است. این پارامترها را می‌توان با روش‌های مستقیم (برخط) یا غیرمستقیم (برون خط^{۱۲}) اندازه‌گیری کرد و هریک به روش‌های اجرایی نمونه‌برداری خاصی نیاز دارد. اگرچه مواجهه استنشاقی در محل کار و مراکز تحقیقاتی که در حال استفاده از CNT و CNF هستند، بسیار محتمل است، اما فناوری‌های محدود در تولید و مشخصه‌یابی نانوالیاف، انجام مطالعات سمیت استنشاقی را دشوار ساخته است. در این خصوص، این استاندارد وضعیت فعلی مشخصه‌یابی‌های هواسل CNT و CNF مورد استفاده در آزمون‌های سمیت استنشاقی و همچنین خواص فیزیکوشیمیایی CNTs و CNFs و رابطه آن‌ها با نقاط پایانی سمیت را فراهم می‌کند.

این استاندارد مکمل کار سایر سازمان‌های بین‌المللی از جمله سازمان همکاری و توسعه اقتصادی (OECD) است که رهنمون‌ها و راهنمایی‌هایی را درباره عملکرد مطالعات سمیت استنشاقی منتشر کرده است. این استاندارد با استاندارد ISO 10808 متفاوت بوده و بر انواع دیگر نانومواد (نانولوله‌ها و نانوالیاف) تمرکز دارد، زیرا بسیاری از روش‌های مشخصه‌یابی و عوامل فیزیکوشیمیایی مهم مرتبط با سمیت CNT و CNF با نانوذرات متفاوت است (استاندارد ISO 10808 مشخصه‌یابی نانوذرات را در محفظه‌های مواجهه استنشاقی برای آزمون سمیت استنشاقی توصیف کرده است). همچنین در این استاندارد توصیه‌ها و رهنمودهایی برای کمک به پژوهشگران در انتخاب مناسب برای مشخصه‌یابی هواسل‌های CNT و CNF ارائه شده است.

استنشاق، مسیر اصلی مواجهه با نانولوله‌های کربنی (CNTs)^۱ و نانوالیاف کربنی (CNFs^۲) هواسل شده است. مواجهه با CNTs یا CNFs می‌تواند در محیط مصرف و همچنین در محیط شغلی رخ دهد. مواجهه شغلی با CNTs یا CNFs می‌تواند در تمام مراحل ساخت، کار^۳ و فرمول بندی مواد در محصولات نهایی رخ دهد. مصرف‌کنندگان به طور بالقوه در معرض رهایش CNTs یا CNFs هستند که به عنوان محصولات حاصل از تخریب، هوازدهی یا فرآیندهای مکانیکی (مانند خردایش^۴ یا جلاکاری^۵) از محصولات مصرفی که حاوی CNT یا CNF تعبیه شده در یک ماتریس^۶ هستند، منتشر می‌شوند.

مشابه سایر نانومواد، خواص فیزیکوشیمیایی CNTs یا CNFs از نظر قطر، طول، شکل، آرایش اتم‌های کربن، شیمی سطح، نقص‌ها^۷ و ناخالصی‌ها بسیار متنوع است. مشخصه‌های مختلف فیزیکوشیمیایی آنها عامل خواص عملکردی متفاوت مانند خواص مکانیکی، الکتریکی، نوری و گرمایی است. بسیاری از مطالعات قبلی در مورد سمیت استنشاقی هواسل‌های CNT و CNF، مخاطرات مختلفی از التهاب حاد تا سرطان‌زایی را گزارش کرده‌اند و پاسخ‌های توکسیکولوژیکی به هواسل‌های CNT و CNF برحسب مشخصه‌های فیزیکوشیمیایی آنها متفاوت است.

چارچوب مشخصه‌یابی مواد برای مطالعات استنشاقی، شامل: (۱) مشخصه‌یابی مواد تامین شده^۸ یا تازه تولیدشده^۹ (دست نخورده^{۱۰})؛ (۲) مشخصه‌یابی مواد به‌کارگرفته شده^{۱۱}؛ (۳) مشخصه‌یابی مواد پس از به‌کارگرفته شدن؛ و (۴) مشخصه‌یابی مواجهه انسانی، است. این استاندارد بر دو نیاز اول در مشخصه‌یابی تمرکز دارد که شامل خواص

1. Carbon nanotube
2. Carbon nanofibre
3. Handling
4. Grinding

5. Polishing
6. Matrix
7. Defects
8. Supplied material

9. As-produced
10. Pristine
11. Administered material
12. Off-line

نویسنده

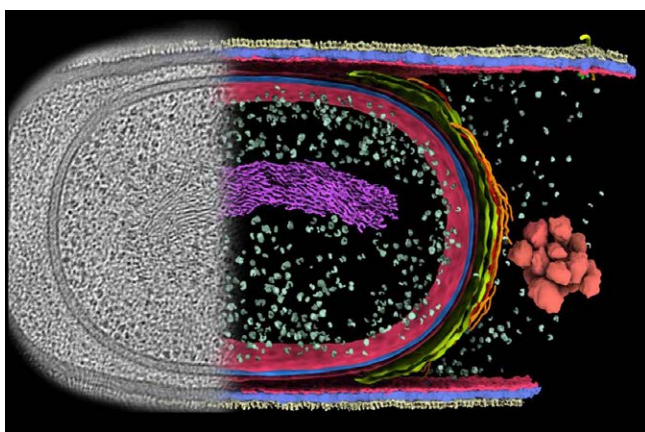
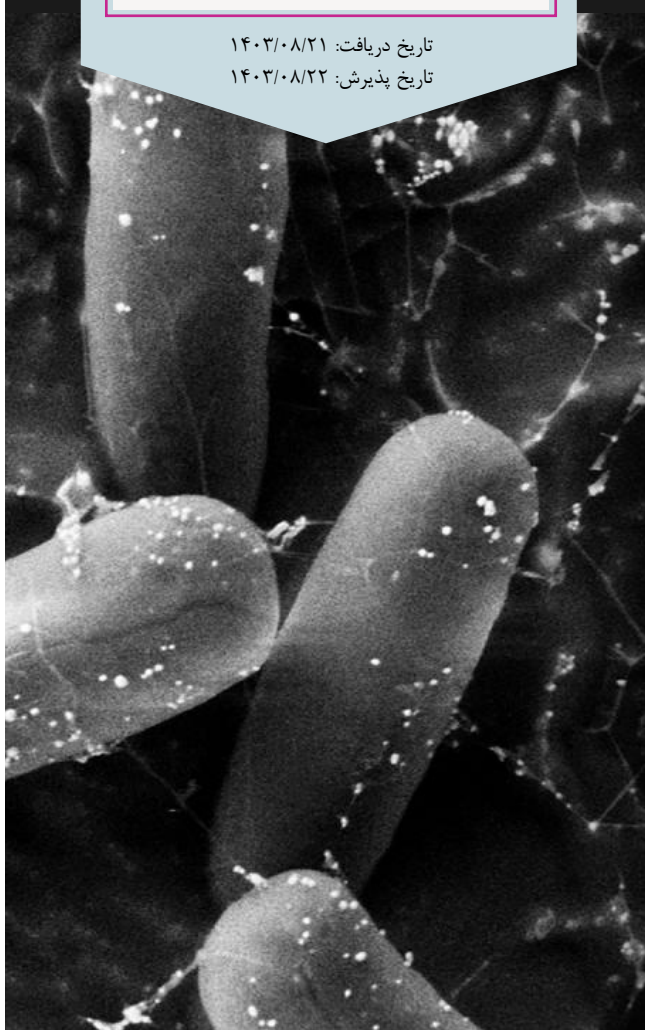
ساناز شبیکه^{*۱}

۱. کارشناس آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری دانشگاه شیراز
۲. عضو کارگروه تخصصی ملی میکروسکوپ الکترونی عبوری

*researchers4u@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲



واژه‌های کلیدی

میکروسکوپ الکترونی روبشی کرایو دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز، لاملا، میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو.

کاربرد میکروسکوپ Cryo-FIB-SEM برای آماده‌سازی لاملا میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو از نمونه‌های زیستی منجمد

چکیده

در سال‌های اخیر، میکروسکوپ الکترونی روبشی دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز، کاربرد قابل توجهی در تحقیقات زیستی داشته است. این دستگاه دربرگیرنده میکروسکوپ الکترونی روبشی و سیستم تولیدکننده پرتو یون متمرکز درون یک ستون است. در نتیجه، می‌توان هر دو پرتو مذکور حاوی الکترون و یون را به‌طور هم‌زمان روی یک نقطه یکسان از نمونه متمرکز نمود. استفاده از دستگاه کرایو-اولترامیکروتوم در حوزه تهیه مقاطع نازک (با ضخامتی کمتر از ۲۰۰ نانومتر) از نمونه‌های زیستی منجمد برای تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی عبوری به‌عنوان روشی مرسوم محسوب می‌شود. اما به دلیل برخی معایب و محدودیت‌ها، محققان همیشه به دنبال روشی مطلوب‌تر بوده که کمتر مستعد به خطا باشد. آنها پس از آزمودن روش‌های مختلف به این نتیجه رسیدند که استفاده از پرتو یونی متمرکز، دقت و سرعت عملیات تهیه مقاطع مورد نظر را به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهد. در ضمن، انتخاب مکان مورد نظر در نمونه زیستی به دلیل حضور ویژگی تفکیک‌پذیری نانومتری در پرتو یونی متمرکز امکان‌پذیر است. با توجه به تعاریف فوق، این دستگاه هم‌اکنون یکی از مهمترین کاربردهای دستگاه تولیدکننده پرتو یونی متمرکز آماده‌سازی نمونه‌های زیستی منجمد برای مشاهده با میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو به شمار می‌آید. در این دستگاه، به‌منظور نفوذ مطلوب پرتو الکترونی از نمونه‌های زیستی منجمد به‌صورت یکنواخت مقاطعی بسیار نازک (لاملا) تهیه می‌شود. در این مقاله، روش نوین و بهینه آماده‌سازی مقاطع نازک به نام لاملا از نمونه‌های زیستی منجمد با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی کرایو دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز برای تصویربرداری درون میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو شرح داده شده‌است.

از زمان اختراع نخستین میکروسکوپ نوری توسط رابرت هوک^۱ در سال ۱۶۶۵، محققان با دستیابی دنیای شگفت‌انگیز میکروسکوپی، تمایل زیادی به مشاهده سطوح ریزتر با بزرگنمایی و قدرت تفکیک‌پذیری بالاتر داشته‌اند. کشف محدودیت پراش^۲ در سال ۱۸۹۶ منجر شد دانشمندان با دیدگاهی واقع‌گرایانه‌تر به موضوع دستیابی به تصاویری با جزئیات دقیق در مقیاس‌های بسیار پایین‌تر بنگرند. لازم به ذکر است، اشعه ایکس نیز در سال ۱۸۹۵ توسط ویلهلم کنراد رونتگن^۳ کشف شد. در سال ۱۸۹۷ جوزف جان تامسون^۴ الکترون‌ها و همچنین منشاء نامعلوم اشعه‌های ایکس که شباهت زیادی به نور دارند را کشف نمود. اولین میکروسکوپ الکترونی عبوری^۵ در سال ۱۹۴۰ اختراع و به‌کارگیری الکترون‌ها در فرآیند مشاهده و تصویربرداری منجر به کاهش قابل توجه محدودیت پراش نوری شد. درون دستگاه TEM به‌منظور دستیابی به قدرت تفکیک‌پذیری بسیار فراتر از نور، از منبع تولیدکننده الکترون استفاده می‌شود. برخلاف میکروسکوپ‌های نوری، تمام تجهیزات اصلی میکروسکوپ الکترونی عبوری درون خلاء فوق‌العاده بالا قرار گرفته است. تنها با استفاده از این نوع خلاء می‌توان الکترون‌ها را کنترل کرد. در این شرایط، از طریق اعمال قوانین فیزیک، دستیابی به تصویر نهایی با بزرگنمایی بسیار بالا و جزئیات کاملاً واضح امکان‌پذیر است. بیشتر نمونه‌های زیستی حاوی آب بوده و یا به‌صورت مایع در طبیعت و محیط‌زیست موجود هستند. در روش مرسوم آماده‌سازی نمونه‌های زیستی برای TEM، ابتدا عملیات پایدارسازی با استفاده از مواد شیمیایی برای آنها انجام و سپس عملیاتی نظیر: آبگیری، نفوذدهی با حلال، نفوذدهی با رزین، قالب‌گیری، تهیه برش‌های بسیار نازک و رنگ‌آمیزی با فلزات سنگین اجرا می‌شوند. در مرحله نفوذدهی با رزین، نمونه عاری از آب درون رزین تعبیه می‌شود. در این مرحله، رزین، جایگزین آب موجود درون نمونه‌های مذکور شده است. لازم به ذکر است، الکترون‌ها تنها قادرند از سطحی بسیار نازک عبور کرده و تصویر نهایی را تشکیل دهند. با توجه به این امر، از اولترامیکروتوم برای تهیه برش‌هایی بسیار نازک با قابلیت عبور دادن پرتو الکترونی استفاده می‌شود. به‌منظور بالا بردن کنتراست تصویر نهایی نمونه از فلزات سنگین برای رنگ‌آمیزی برش‌های نازک به‌دست آمده از اولترامیکروتوم استفاده می‌شود. همان‌طور که پیش‌تر نیز ذکر شد، به دلیل وجود خلاء بسیار بالا درون ستون TEM مرسوم و قسمت نگهدارنده نمونه آن نمی‌توان از نمونه‌های حاوی آب و نمونه‌های مایع به‌صورت عادی تصویربرداری کرد. باید توجه داشت که آبگیری نمونه‌های زیستی و همچنین استفاده از مواد شیمیایی و رنگ‌آمیزی با فلزات سنگین علاوه‌بر خارج کردن نمونه‌های مذکور از محیط طبیعی‌شان منجر به تخریب جزئی اما قابل توجه ساختار نانومتری آنها و همچنین ایجاد آسیب می‌شود. دانشمندان پس از تحقیقات فراوان و انجام دستکاری محدود درون ساختار نگهدارنده نمونه میکروسکوپ الکترونی عبوری مرسوم موفق به ارائه دستگاهی با عنوان میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو^۶ شدند. مشاهده نمونه‌های زیستی در این نوع میکروسکوپ بدون نیاز به آبگیری و رنگ‌آمیزی با فلزات سنگین تنها با استفاده از دستگاه‌های مخصوص و نیترژن مایع منجمد انجام‌پذیر است. برای این منظور از دستگاه کرایو-اولترامیکروتوم برای تهیه لایه‌هایی بسیار نازک از نمونه‌های زیستی منجمد و مشاهده و تصویربرداری آنها درون Cryo-TEM استفاده می‌شود. پس از گذشت مدتی، محققان به معایب استفاده از دستگاه کرایو-اولترامیکروتوم پی بردند. آنها از دیرباز و هم‌اکنون نیز معتقد هستند که انجماد، بهترین روش برای آماده‌سازی نمونه‌های زیستی با هدف تصویربرداری درون TEM است. لذا باید روشی را برای تهیه لایه‌های بسیار نازک و به نسبت ایده‌آل از نمونه‌های منجمد زیستی نیز پیدا کنند. محققان پس از آزمودن روش‌های مختلف برای دستیابی به شرایطی نزدیک به ایده‌آل به‌منظور تهیه لایه‌های بسیار نازک از نمونه‌های زیستی منجمد برای مشاهده و تصویربرداری درون Cryo-TEM، دریافتند که بهترین روش با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی کرایو دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز حاصل می‌شود. آنها به‌منظور تمیز دادن بین لایه‌های فوق‌العاده نازک حاصل شده از این روش و لایه‌های بسیار نازک با استفاده از دستگاه کرایو-اولترامیکروتوم، لایه‌های فوق‌العاده نازک به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی کرایو دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز^۷ را «لاملا» نامیدند. در این مقاله، علاوه‌بر چگونگی آماده‌سازی نمونه‌های زیستی TEM با استفاده از روش انجماد و شرح مختصری از ساختار درونی Cryo-FIB-SEM، روش آماده‌سازی لاملا از نمونه‌های زیستی منجمد با استفاده از میکروسکوپ FIB-SEM به‌منظور مشاهده و تصویربرداری در میکروسکوپ TEM به‌طور جامع شرح داده شده است.

یک از روش‌های تثبیت کرایو، به نگهدارنده نمونه TEM مجهز به کنترل دما نیاز است. میکروسکوپ‌های الکترونی عبوری مجهز به این نوع نگهدارنده‌ها «Cryo-TEM» نامیده می‌شوند. همانند روش تثبیت با مواد شیمیایی که برای مشاهده و تصویربرداری از نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اولترامیکروتوم برش‌های بسیار نازک از نمونه‌های مورد نظر تهیه می‌شود، در روش تثبیت کرایو نیز برای امکان‌پذیر بودن مشاهده و تصویربرداری از نمونه‌ها درون Cryo-TEM، نمونه‌ها باید ضخامتی فوق‌العاده نازک داشته باشند. در صورت آماده‌سازی نمونه‌های سوسپانسیون می‌توان ضخامت را با استفاده از روش فروبری سریع تعیین نمود. اما هنگام آماده‌سازی نمونه‌های بافتی، به‌منظور حفظ حالت انجماد نمونه‌ها در روش تثبیت کرایو حتی در مرحله تهیه برش‌های بسیار نازک نیز باید از دستگاهی با عنوان «کرایو اولترامیکروتوم» استفاده کرد. استفاده از کرایو اولترامیکروتوم منجر به وقوع آسیب‌هایی نظیر: اثر چاقو، خطوط افقی، چروکیدگی و شکاف‌های عمودی روی برش‌های بسیار نازک نهایی از نمونه می‌شود. باید توجه داشت که برش‌های نهایی تهیه شده با کرایو اولترامیکروتوم بدون رنگ‌آمیزی درون Cryo-TEM مشاهده و تصویربرداری می‌شوند. در این صورت، کنتراست تصویر تهیه شده در مقایسه با نمونه‌های آماده شده با استفاده از روش تثبیت با مواد شیمیایی کاهش می‌یابد. علاوه بر این امر، وقوع آرتیفکت‌ها در هنگام تهیه برش‌های بسیار نازک از نمونه‌های منجمد نیز منجر به افت شدید قدرت تفکیک‌پذیری می‌شوند. پژوهشگران به‌منظور از بین بردن آرتیفکت‌های مذکور در هنگام تهیه برش از نمونه‌های منجمد از روش جایگزین میکروسکوپ الکترونی روبشی دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز به جای کرایو اولترامیکروتوم استفاده می‌کنند. در دو بخش بعدی، به‌منظور آشنایی هر چه بیشتر خواننده محترم میکروسکوپ الکترونی روبشی دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز تشریح و پیکربندی و ساختار درونی آن تعریف شده‌است.

معرفی میکروسکوپ Cryo-FIB-SEM

نخستین سیستم تجاری پرتو یونی متمرکز مبتنی بر فناوری نشر/گسیل میدانی توسط لوی-ستی^{۱۱} و اورلاف-سوانسون^{۱۲} با به‌کارگیری منابع یونیزاسیون میدان گازی^{۱۳} در سال ۱۹۷۵ ساخته شد. سپس سلیگر^{۱۴} و همکارانش در سال ۱۹۷۸ پیشنهاد استفاده از منبع یون فلز مایع^{۱۵} درون دستگاه FIB را ارائه نمودند. این منبع مزایای زیادی از جمله: چگالی جریان بالا، روشنایی بالا و پخش انرژی یون پایین را فراهم می‌آورد. در سال‌های اخیر فرآیند آماده‌سازی نمونه‌های مختلف TEM نظیر: نیمه هادی‌ها، فلزات، سرامیک‌ها، پلیمرها، بافت‌ها و نمونه‌های زیستی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز رشد قابل توجهی داشته‌است. در این مقاله،

آماده‌سازی نمونه‌های زیستی TEM با روش انجماد

همان‌طور که پیش‌تر نیز ذکر شد، مرسوم‌ترین روش برای آماده‌سازی نمونه‌های زیستی TEM، استفاده از مواد شیمیایی خاص است. هدف نهایی روش مذکور، تثبیت نمونه‌ها به‌گونه‌ای است که حداقل تغییر ممکن در حجم و ریخت‌شناسی آنها رخ دهد. لازم به ذکر است که مرحله‌ی نظیر: تثبیت شیمیایی، آبگیری، تعبیه درون رزین، رنگ‌آمیزی با فلزات سنگین و تهیه برش‌های بسیار نازک با اولترامیکروتوم منجر به وقوع آسیب‌هایی درون نمونه می‌شوند. به‌عنوان مثال، استفاده از ماده شیمیایی گلو تار آلدئید برای مرحله تثبیت، منجر به وقوع پدیده شبکه‌ای شدن می‌شود. این پدیده به نوبه خود منجر به تجمع پروتئین‌ها، افت شدید گلیکان‌ها^{۱۶} و از بین رفتن لیپیدها می‌شود. تعبیه درون رزین و پخت آن نیز به‌منظور ارائه حالتی جامد و انعطاف‌پذیر به نمونه برای تهیه برش‌های بسیار نازک که قابلیت عبور دادن الکترون‌ها را دارند، الزامی است. اما همین مرحله در ریخت‌شناسی نمونه نسبت به حالت زنده‌اش تغییراتی را ایجاد می‌کند. رنگ‌آمیزی با فلزات سنگین نیز آسیب‌هایی از نوع رسوبات را درون نمونه ایجاد می‌کند. هنگام تهیه برش‌های بسیار نازک از نمونه تعبیه شده درون رزین نیز احتمال اعمال آسیب توسط دستگاه مذکور و شرایط محیط وجود دارد. وقوع آسیب‌ها قدرت تفکیک‌پذیری نهایی تصویر تهیه شده از نمونه را به شدت کاهش می‌دهند. لازم به ذکر است که میکروسکوپ‌های الکترونی عبوری پیشرفته، دربرگیرنده تفنگ الکترونی نشر/گسیل میدانی در زمینه تصویربرداری قدرت تفکیک‌پذیری زیر آنگستروم را ارائه می‌دهند. به همین دلیل پژوهشگران در صورت استفاده از روش آماده‌سازی نمونه‌ها با استفاده از مواد شیمیایی، از نظر قدرت تفکیک‌پذیری با محدودیت زیادی روبرو خواهند شد. از این نظر، دستیابی به روش نزدیک به ایده‌آل برای آماده‌سازی نمونه‌ها با هدف رفع محدودیت قدرت تفکیک‌پذیری به یکی از چالش‌های اصلی محققان تبدیل شده‌است. آنها پس از تحقیقات فراوان به این نتیجه رسیدند که با استفاده از روش انجماد می‌توان آب درون سلول‌های نمونه را حفظ کرد. آنها این روش را «تثبیت کرایو» نامیدند. در روش تثبیت کرایو، دیگر نیازی به اعمال مرحله‌ی نظیر: تثبیت شیمیایی، آبگیری، تعبیه درون رزین و رنگ‌آمیزی با فلزات سنگین وجود ندارد. در این روش، آب درون نمونه به سرعت به حالت جامد آمورف یا همان غیربلوری همچون شیشه به‌طور کامل شفاف تبدیل می‌شود. به دلیل خارج کردن سریع گرما از نمونه، مولکول‌های آب فرصت بلوری شدن ندارند. روش‌های متغیری برای انجماد نمونه‌های مختلف زیستی وجود دارد. برخی از این روش‌ها عبارتند از: انجماد با اعمال فشار زیاد^۹ برای آماده‌سازی نمونه‌های بافتی و انجماد از طریق فروبری سریع^{۱۰} برای آماده‌سازی نمونه‌های سوسپانسیون. در صورت استفاده از هر

ساختار SEM در ابعاد نانو به‌عنوان چاقوی جراحی برای آشکار ساختن جزئیات مکان خاصی از سطح زیرین ریزساختارها استفاده کرد. استفاده از دو ستون تولید کننده الکترون و یون درون میکروسکوپ الکترونی روبشی قابلیت دستیابی هم‌زمان به تصاویر SEM با تفکیک‌پذیری بسیار بالا توسط پرتو الکترون و همچنین انجام اصلاحات مورد نیاز روی نمونه با به‌کارگیری پرتو یونی را فراهم می‌کند. در صورت به‌کارگیری ستون‌های تولید کننده الکترون و یون درون میکروسکوپ الکترونی روبشی می‌توان هم‌زمان عملیات اصلاح نمونه‌های زیستی با پرتو یونی را اجرا و با استفاده از پرتو الکترونی و قدرت تفکیک‌پذیری بالا به‌صورت زنده شاهد آن عملیات بود. در این صورت، برخلاف اولترامیکروتوم و کرایو-اولترامیکروتوم می‌توان در هر لحظه به‌طور بلادرنگ از وقوع آسیب، نقص و یا خطا در عملیات تهیه مقاطع فوق‌العاده نازک اطلاع پیدا کرد. این امر به نوبه خود مزیتی بزرگ محسوب می‌شود. کاربردهای معمول این نوع میکروسکوپ دو پرتویی عبارتند از: تهیه سطح مقطع، آماده‌سازی لایه فوق‌العاده نازک به نام «لاملا» از نمونه میکروسکوپ الکترونی عبوری، بازسازی حجمی سه‌بعدی نمونه و لیتوگرافی یونی و الکترونی. از طرف دیگر، هنگامی که نیازی به استفاده از ستون FIB نباشد، می‌توان از این میکروسکوپ تنها به‌عنوان یک میکروسکوپ الکترونی روبشی میدانی معمولی نیز استفاده کرد.

□ پیکربندی و اصول عملکرد میکروسکوپ الکترونی روبشی کرایو دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز

دستگاه‌های تولید کننده پرتوهای یونی متمرکز (FIB) به‌عنوان یک فناوری بسیار مهم در نظر گرفته می‌شوند. امروزه، FIB‌های مختلف نظیر: سیستم‌های FIB مستقل، میکروسکوپ‌های الکترونی روبشی دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز با منبع گالیوم^{۱۹}، میکروسکوپ‌های FIB-SEM با منبع پلاسما و میکروسکوپ‌های FIB-SEM با منبع هلیوم برای دستیابی به پاسخ‌های تحقیقاتی و انجام عملیات نوساخت به‌عنوان ابزاری کلیدی محسوب می‌شوند. در سال ۱۹۵۹ ریچارد فینمن بیان کرد که روزی در دنیای میکروسکوپی فناوری معرفی خواهد شد که به‌عنوان چشمان و دستان محققان، عملیات‌های فوق‌العاده ریز را انجام می‌دهد. ۴۰ سال پس از این سخنان، نخستین میکروسکوپ الکترونی روبشی دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز (FIB-SEM) به‌طور تجاری در اختیار همگان قرار گرفت. با استفاده از این دستگاه می‌توان مکان معینی از طیف گسترده‌ای از مواد را با دقت نانومتری برش داد. به دلیل استفاده از فقط یون‌ها درون FIB می‌توان این گونه بیان کرد که سیستم مذکور تنها مواد اضافی از اطراف نمونه مورد نظر را حذف می‌کند. لذا به‌منظور دسترسی به سیستمی که قابلیت افزودن مواد

آماده‌سازی نمونه‌های زیستی منجمد با روشی بهینه مورد بررسی قرار می‌گیرد. دانشمندان حوزه زیستی به‌طور مرسوم از اولترامیکروتوم^{۱۶} و کرایو-اولترامیکروتوم^{۱۷} به ترتیب برای آماده‌سازی نمونه‌های زیستی و زیستی منجمد استفاده کردند. در صورت فراهم بودن شرایط ایده‌آل، اولترامیکروتوم و کرایو-اولترامیکروتوم لایه‌های فوق نازک بسیار مطلوبی را از نمونه ارائه می‌دهند. اما فراهم آوردن شرایط به‌طور کامل ایده‌آل امکان‌پذیر نبوده و همیشه نقایصی در روند آماده‌سازی وجود خواهد داشت. یکی دیگر از معایب استفاده از این دو دستگاه برای آماده‌سازی لایه‌های فوق نازک از نمونه‌های زیستی، عدم آشکار شدن نقایص تعبیه شده تا زمان مشاهده زیر میکروسکوپ الکترونی عبوری است. محققان این حوزه اخیراً به‌منظور آماده‌سازی نمونه‌های زیستی منجمد با حداقل آسیب و همچنین مشاهده هم‌زمان فرآیند آماده‌سازی و نتیجه نهایی پیش از تصویربرداری درون TEM به‌طور موفقیت‌آمیزی از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی کرایو دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز استفاده کردند. در میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) الکترون‌هایی با جرم به نسبت پایین به‌صورت غیر مخرب با سطح نمونه برخورد نموده و منجر به تولید الکترون‌های ثانویه می‌شوند. در صورت جمع‌آوری این الکترون‌ها، دستیابی به تصویری با کیفیت و با قدرت تفکیک‌پذیری زیر نانومتری امکان‌پذیر می‌شود. پس از مدتی، دانشمندان برای افزایش کارایی میکروسکوپ SEM از دو پرتو درون آن استفاده کردند. آنها این میکروسکوپ را میکروسکوپ الکترونی روبشی دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز (FIB-SEM) نامیدند. پس از ایجاد تغییراتی در محفظه نگهدارنده نمونه این نوع میکروسکوپ، محققان موفق به دستیابی به Cryo-FIB-SEM برای آماده‌سازی نمونه‌های زیستی و دیگر نمونه‌های مورد نیاز در حالت انجماد شدند. در حال حاضر، کاربردهای Cryo-FIB-SEM در حوزه علوم زیستی عبارتند از:

(الف): آماده‌سازی لایه بسیار نازک لاملا برای تحلیل درون TEM؛

(ب): مکان‌نگاری نمونه‌های تعبیه شده درون ماتریکس؛

(ج): فرزکاری مکانی معین با استفاده از FIB و تصویربرداری با طیفی گسترده از بزرگنمایی‌ها با SEM.

FIB مشابه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بوده، اما به جای الکترون از پرتوی یون‌های گالیوم^{۱۸} (Ga+) استفاده می‌کند. یون‌های (Ga+) برابر سنگین‌تر از الکترون‌ها است، به همین دلیل برخورد آنها با سطح نمونه به‌طور قابل توجهی اثری قوی‌تر بر جای می‌گذارد. لازم به ذکر است که سطح نفوذ این یون‌ها پایین‌تر است. بنابراین، یون‌های مورد نظر پیوندهای شیمیایی را شکسته و منجر به یونیزاسیون اتم‌های زیرلایه می‌شوند. از آنجایی که پرتو یونی قابل تمرکز و کنترل‌پذیر بوده، لذا می‌توان از این ویژگی‌ها برای اصلاح کردن ساختار نمونه در مقیاس نانومتری استفاده کرد. به عبارت دیگر، می‌توان از پرتو یونی متمرکز (FIB) تعبیه شده درون

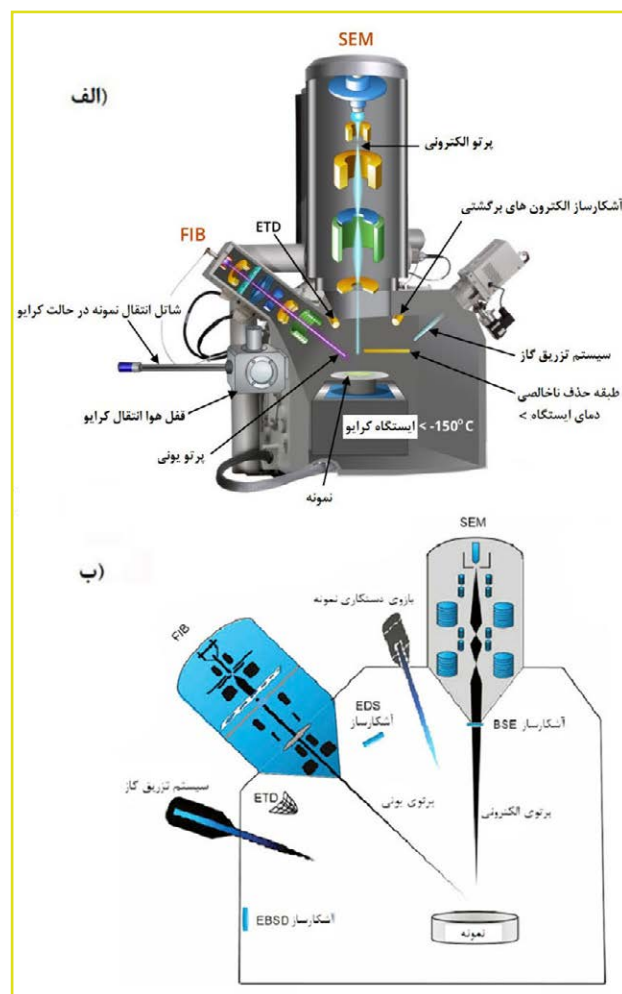
آن است؛ زیرا درنهایت، ارزیابی سیستم‌های پرتو یونی متمرکز براساس کیفیت پرتوی برخورد کننده با نمونه انجام می‌شود. پرتوی یونی نهایی تحت تاثیر بسیاری از جوانب قرار گرفته که مهمترین آنها عبارتند از: منبع یونی و ستون دستگاه (شکل (۲)).



شکل (۲): نمایی از ستون FIB. (الف): ستون FIB دربرگیرنده منبع یونی (LIMS) و (ب): ستون FIB دربرگیرنده منبع یونی پلاسما [۳].

سال‌های متمادی، گالیوم به دلیل ارائه مزایایی نظیر: نقطه ذوب پایین ($29/8^{\circ}\text{C}$)، فرایت و بی‌ثباتی پایین، فشار تبخیر پایین، انرژی آزاد سطح پایین، مشخصات انتشار و ویژگی‌های خلاء مناسب به‌عنوان منبع یون محبوب برای دستگاه FIB مورد استفاده قرار گرفته است. گالیوم به اندازه کافی سنگین بوده و قابلیت کندوپاشی طیف گسترده‌ای از مواد مختلف را دربر دارد. البته لازم به ذکر است که پرتوی متمرکزی از یون‌های گالیوم مشکلات مهمی را هنگام پردازش برخی مواد ایجاد می‌کند. این امر هنگام در نظر گرفتن برهم‌کنش‌های یون-جامد به وضوح قابل مشاهده است. پرتو یونی مورد نظر به نمونه برخورد کرده و در نتیجه، یون‌های بکار رفته به روش‌های مختلف با اتم‌های نمونه برهم‌کنش می‌کنند. یون‌ها (هر نوع یونی) در زمان برخورد با اتم‌های نمونه، انرژی خود را از دست می‌دهند. در هنگام وقوع هر یک از برهم‌کنش‌های مذکور، انرژی در طول این فرآیند آماری منتقل (و یا اتلاف)

روی سطح نمونه درون دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی را نیز داشته باشد، باید از سیستم تزریق گاز^{۲۰} استفاده کرد. سیستمی است که به‌طور محلی، گاز آلی فلزی را روی نمونه اضافه می‌کند. علاوه بر این، با استفاده از گاز واکنشی مناسب می‌توان نرخ زدایش را ارتقاء بخشید و یا حتی فرآیند لایه‌نشانی/رسوب‌دهی بخار شیمیایی^{۲۱} را در مناطقی معین اجرا کرد. در فرآیند لایه‌نشانی/رسوب‌دهی، الکترون‌های ثانویه تولید شده توسط پرتو یون اصلی، موفق به شکستن گازهای پیش‌ماده هیدروکربن شده و منجر به رسوب‌دهی/لایه‌نشانی یک ماده رسانا (نظیر: تنگستن، پلاتینیوم، کربن و غیره) یا عایق (همانند: مونوکسید سیلیکون^{۲۲}) می‌شوند. علاوه بر به‌کارگیری سیستم GIS، از طریق تعبیه یک ریزبازوی مکانیکی دستکاری نمونه (برای برداشتن و حرکت دادن نمونه‌ها و یا برش‌هایی از نمونه‌ها با دقت نانومتری) درون محفظه اصلی میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز می‌توان FIB را به یک واحد نانوساخت پیشرفته تبدیل نمود (شکل (۱)).



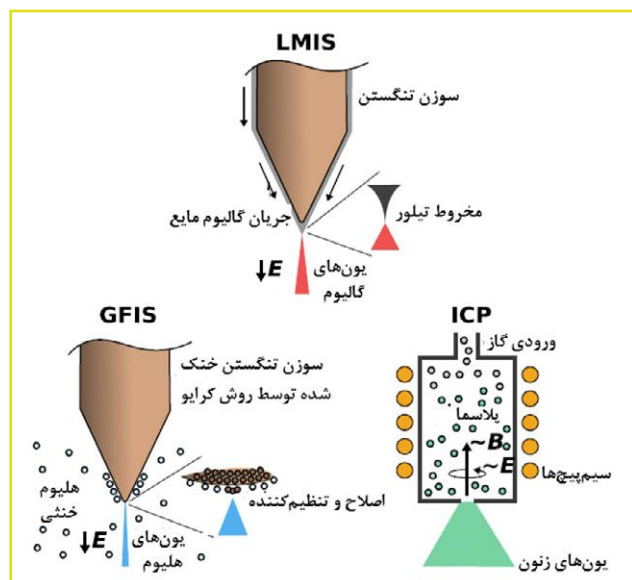
شکل (۱): (الف): سطح مقطعی از پیکربندی دستگاه تجاری دنیای واقعی Cryo-FIB-SEM. (ب): نمایی از میکروسکوپ الکترونی روبشی دربرگیرنده پرتو یونی متمرکز (FIB-SEM) مجهز به سیستم GIS و ریزبازوی مکانیکی [۲].

مهمترین قسمت دستگاه FIB، منبع تولید کننده پرتوی یونی

و یک عیب هستند که به ترتیب عبارتند از: جریان بالا و روشنایی پایین. اخیراً دانشمندان منبع پلاسمای جفت شده القایی^{۲۳} روشنی را ساخته اند که همزمان با بالا نگاه داشتن جریان، قدرت تفکیک پذیری بالایی را نیز ارائه می دهد. این نوع منبع، یون های زنون سنگین و ساکن را تولید می کند. به منظور مقایسه منابع با یکدیگر و انتخاب بهترین منبع برای کارکردهای مختلف به جدول (۱) مراجعه نمایید.

می شود. اتلاف انرژی مورد نظر در بیشتر مواقع ناشی از اتلاف های انرژی هسته (الاستیکی) $[dE/dx]_{nuct}$ و اتلاف های انرژی الکترونیکی (غیرالاستیکی) $[dE/dx]_{elec}$ به وقوع می پیوندد (رابطه (۱)):

$$dE/dx = [dE/dx]_{nuct} + [dE/dx]_{elec} \quad \text{رابطه ۱}$$

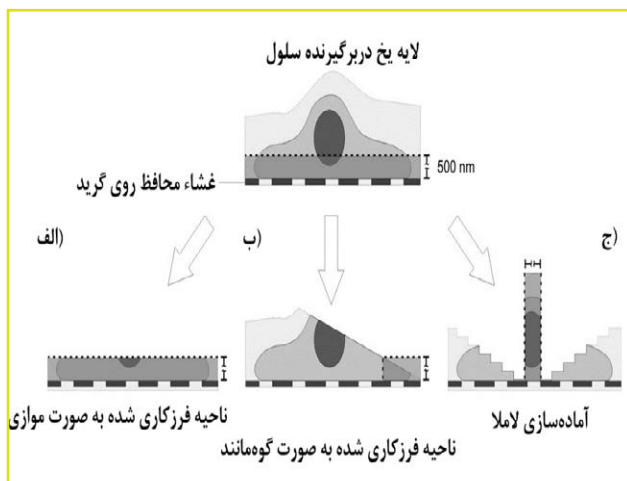


شکل (۳): سه منبع پر کاربرد برای تولید یون در ساختار دستگاه FIB. اشکال سمت چپ، میانی و سمت راست به ترتیب نمایانگر منبع تولید کننده یون های گالیوم، منبع تولید کننده یون های هلیوم و منبع تولید کننده یون های زنون هستند [۴].

همان طور که در شکل (۳) مشاهده می شود، منبع تولید کننده پرتوی یون هلیوم (منبع یونیزاسیون میدان گازی - GFIS) به دلیل استفاده از نوک تیز و یونیزاسیون میدانی از لحاظ تئوری با منبع یون فلزی مایع قابل مقایسه بوده اما لازم به ذکر است که اتم های هلیوم خنثی در انتظار تبدیل شدن به یون به جای جاری شدن در سرتاسر سوزن درون حالت خلاء حول نوک سوزن به سیستم وارد می شوند. هنگام رسیدن اتم هلیوم به نوک سوزن مورد نظر این امکان وجود دارد که به دلیل وجود میدانی قوی در سطح نوک مذکور، این اتم یونیزه شود. دستکاری انتهای نوک سوزن مورد نظر به گونه ای که در نهایت شکل آن به صورت یک هرم سه طرفه تغییر پیدا کند، منجر به حصول عملکرد عالی می شود. با وجودی که در برخی موارد، عملکرد هلیوم بهتر از گالیوم بوده اما باید در نظر داشت که این نوع منبع یونی دارای معایبی همچون: بهره کندی پاشی پایین و جریان کل پایین است. یکی دیگر از منابع تولید کننده یون، منابع یونی مبتنی بر پلازما هستند. منابع یونی مبتنی بر پلازما دربر گیرنده یک مزیت

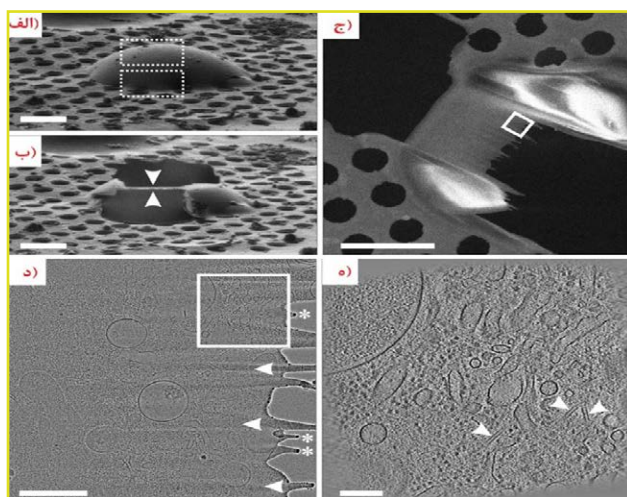
جدول (۱): مقایسه منابع یونی تجاری به همراه مشخصات مهم آنها [۴].

واحد سنجش	ICP	GFIS	LMIS	
A/m ² srV	$9/1 \times 10^2$	1×10^9	6×10^5	روشنایی
eV	۶/۷	≤ ۱	۵	توزیع انرژی fwhm
nm	$7/2 \times 10^2$	≤ ۰/۲۵	۳۸	اندازه مجازی منبع
nA	۲۵۰	۰/۱	۳۰	بیشینه مقدار جریان پرتو
	Xe	He	Ga	گونه های اصلی یونی
	H, He, Ne, Ar, O ₂ , ...	Ne	B, Be, Si, Sn, Au, ...	گونه های سازگار



شکل (۴): نمایش روش‌های موجود فرزکاری نمونه‌های سلولی منجمد با FIB. (الف): روش فرزکاری موازی: در این روش، زاویه برخورد پرتو یونی موازی با سطح گرید میکروسکوپ الکترونی عبوری است. (ب): فرزکاری گوه‌مانند: در این روش، فرزکاری با استفاده از تاباندن پرتو یونی با زاویه منفرد روی نمونه سلولی منجمد انجام می‌شود. (ج): آماده‌سازی کرایو لاملا: در این روش، نمونه منجمد برای دستیابی به لاملای باریک فرزکاری شده که در این صورت مشخصات سلولی آن در امتداد محور Z به‌طور بهینه حفظ می‌شود [۵].

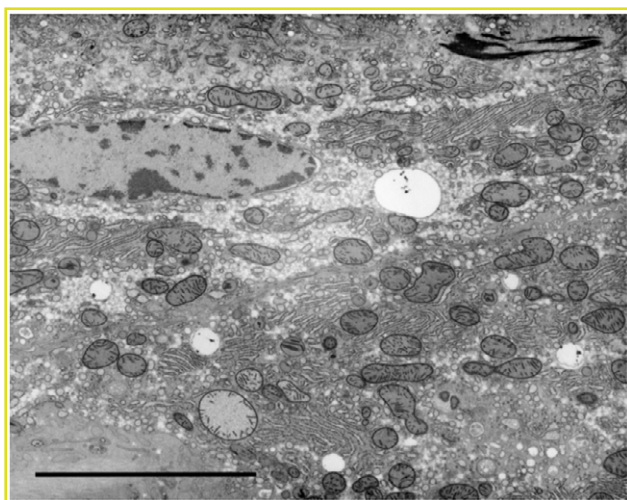
سلول یوکاریوتی^{۲۵} و دیگر سلول‌های هم شکل و هم اندازه آن، درون یک غشاء مستقل فرزکاری می‌شوند. در طول این فرآیند ابتدا ناحیه مورد نظری از نمونه مشخص می‌شود و سپس بخش بالایی و پایینی ناحیه مذکور به‌صورت مستطیل شکل بریده شده که در نهایت، منجر به حصول یک غشاء بسیار نازک معروف به «لاملا» می‌شود (شکل (۵)).



شکل (۵): نمایش فرآیند فرزکاری سلول *D. discoideum*. (الف): تصویری از سلول مذکور تعبیه شده درون لایه‌ای نازک از یخ و چسبیده به گرید میکروسکوپ الکترونی عبوری. (ب): فرزکاری نواحی بالایی و پایینی نمونه برای دستیابی به لاملا باریک نهایی. (ج): نمایشی با زاویه مختلف از لاملا نهایی تهیه شده. (د): پس از انتقال لاملا نهایی درون TEM این تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از مربع سفید واقع درون شکل (ج) تهیه شده‌است. در این تصویر، سیتوپلاسم سلول مذکور مشهود است (ستاره‌های سفید نماینده قطرات برجسته گالیوم و سر پیکان‌های سفید نیز نمایش دهنده آسیب پرده‌ای است). (ه): تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از مربع سفید رنگ واقع درون شکل (د) [۶].

□ رویه تهیه مقاطع بسیار نازک معروف به لاملا از نمونه‌های زیستی منجمد با استفاده از میکروسکوپ Cryo-FIB-SEM

دانشمندان پس از تحقیقات فراوان اثبات کردند که استفاده از روش فرزکاری با دستگاه FIB برای آماده‌سازی نمونه‌های زیستی منجمد بسیار کاربردی است. در روش فرزکاری نمونه منجمد، از یک لایه بسیار نازک از یون‌ها (به‌طور معمول گالیوم) به‌منظور ایجاد برش در سطح نمونه از طریق فرآیند کندوپاشی استفاده می‌شود. به‌منظور حصول اطمینان از آماده‌سازی نمونه‌ای بهینه، تمام رویه ذکر شده با استفاده از سیستم SEM موجود درون دستگاه Cryo-FIB-SEM مورد نظارت قرار می‌گیرد. به دلیل احتمال صدمه دیدن نمونه باید حتماً برهم‌کنش مستقیم بین یون‌ها و نمونه منجمد در نظر گرفته شود. لازم به ذکر است، به‌کارگیری یون گالیوم با مشخصاتی نظیر: جریان ۱۰ pA و ولتاژ ۳۰ kV منجر به خارج شدن نمونه از حالت انجماد نمی‌شود. علاوه‌بر این، برهم‌کنش یون‌های FIB با نمونه منجمد منجر به ایجاد لایه‌ای یونی با ضخامتی بین ۵ تا ۲۰ نانومتر روی سطح در حال فرآیند فرزکاری می‌شود. به عبارت دیگر، می‌توان بیان نمود که ضخامت لایه یونی ایجاد شده در شرایط وجود نمونه‌های منجمدی با ضخامت تقریبی ۱۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر را می‌توان نادیده گرفت. گذشته از این، لایه یونی مذکور در مقایسه با شکاف‌های یافت شده درون برش‌های منجمد، دارای ضخامتی بسیار نازک‌تر است. ریزماشین کاری FIB از نمونه‌های منجمد، به‌صورت تقریبی روشی نوین بوده که در سال‌های اخیر برای آماده‌سازی نمونه‌های سلولی فراوان روی گریدهای میکروسکوپ الکترونی عبوری بکار برده شده‌است. به این صورت که سلول‌ها ابتدا روی گریدهای میکروسکوپ الکترونی عبوری تعبیه شده و سپس با روش انجماد از طریق فروبری سریع منجمد می‌شوند. پس از مرحله انجماد، نمونه‌های منجمد برای انجام مرحله تهیه برش‌های بسیار نازک با دقتی در محدوده ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر به دستگاه Cryo-FIB-SEM منتقل می‌شوند. در این مرحله، استفاده از روش‌های فرزکاری متفاوتی با استفاده از FIB برای آماده‌سازی نمونه‌های سلولی منجمد مذکور امکان‌پذیر است. به‌عنوان مثال، شکل هندسی بهینه برای سلول‌های کوچک پروکاریوتی^{۲۴} گوه‌مانند بوده که برای این منظور، ماده منجمد با زاویه باز (منفرجه) (به‌طور تقریبی ۱۰ درجه) نسبت به سطح گرید مورد نظر بریده می‌شوند. از ماده منجمد گوه‌مانند می‌توان با طول شفافیت تا ۳ um و شیب ضخامتی کمتر از ۴۰۰ نانومتر تصویربرداری کرد (شکل (۴)).

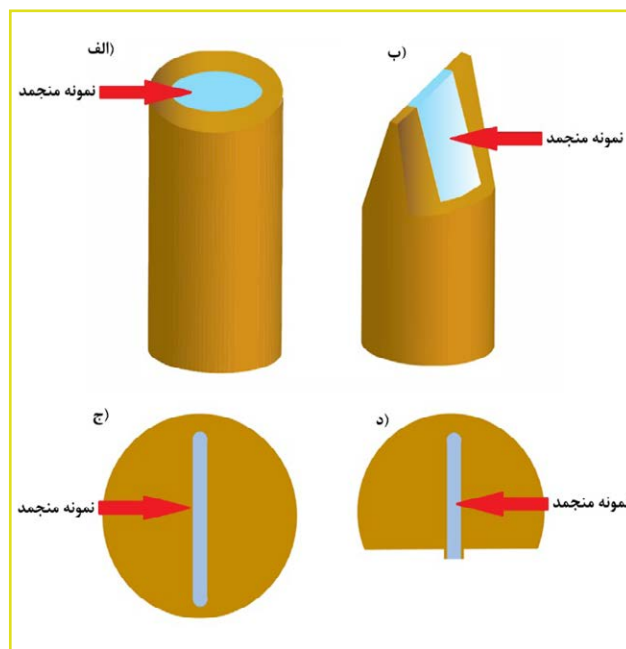


شکل (۷): تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از بافت کبد موش آماده شده به روش انجماد با اعمال فشار زیاد که برش نهایی از آن برای تصویربرداری درون میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو توسط Cryo-FIB-SEM تهیه شده است [۸].

این نوع نمونه‌ها ابتدا در مرحله پیش اصلاح با استفاده از کرایو-اولترامیکروتوم برش داده می‌شوند. متعاقباً، نمونه منجمد به درون دستگاه Cryo-FIB-SEM انتقال یافته و مطابق با روش قالب H فرزکاری روی آن انجام می‌گیرد. در نهایت، لاملا مورد نظر با ضخامت بهینه از نمونه اصلی تهیه می‌شود. سپس لاملا برای تصویربرداری در حالت دوز پایین درون میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو قرار می‌گیرد. نکته مهم در مراحل تشریح شده، انجام هر یک از آنها در دمای انجمادزدایی و به حداقل رسانیدن فرآیند تشکیل برفک در طول مراحل انتقال نمونه بین دستگاه‌ها است. همین امر، استفاده از تجهیزات سفارشی و مخصوص را برای هر یک از دستگاه‌های تجاری موجود الزامی می‌سازد. برای نمونه‌های منجمد شده با روش فروبری سریع ایستگاه‌های انتقال FIB کرایو و ابزار جابجایی FIB کرایو (اشکال (۸) و (۹)) موجود بوده، در حالی که نمونه‌های منجمد شده با استفاده از روش انجماد با اعمال فشار زیاد به سیستم‌های انتقال پیشرفته و پیچیده‌ای نظیر سیستم میز نانو کرایو یا نگهدارنده نمونه میانی (شکل (۱۰)) نیازمند هستند.

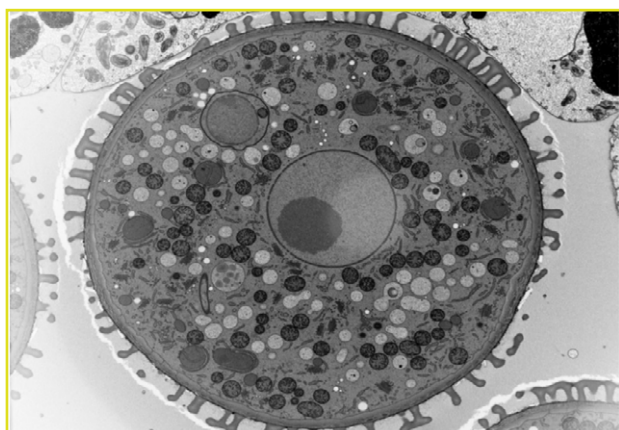
روش آماده‌سازی نمونه با تجهیزات Cryo-FIB-SEM دسترسی قابل کنترل به ساختارهای ابرمولکولی خاص دفن شده درون سلول مورد نظر را فراهم می‌آورد. علاوه بر این، بیشتر کمپلکس‌های درشت مولکولی موجود در تعداد کمی پایین را می‌توان با استفاده از روش درون محیط سلولی طبیعی خود بررسی کرد. دلیل این امر، قابلیت آماده‌سازی لاملاهایی با محیطی بیشتر از $100\mu\text{m}^2$ است. البته توان عملیاتی این روش آماده‌سازی به چندین دلیل پایین است. همان‌طور که پیش‌تر نیز ذکر شد، پرتو یونی تابیده شده باید تا حد امکان دوز پایینی داشته باشد؛ زیرا علاوه بر اینکه هر چه زاویه فرزکاری کوچکتر باشد ناحیه مشاهده بزرگتری به دست می‌آید، این امر اثر لایه‌نشانی نمونه فرزکاری شده را نیز به حداقل می‌رساند. مورد دوم ذکر شده رابطه متقابلی با جریان‌های فرزکاری یا دیگر عوامل در طول فرآیند نازک‌سازی نمونه ندارد. ترکیبات ناهمگن و متغیر نمونه‌های منجمد

یکی دیگر از گزینه‌ها برای دستیابی به لاملا، روش مرسوم به بیرون کشیدن FIB است. لازم به ذکر است تا مدتی پیش به دلیل دشواری لایه‌نشانی پلاتینیوم در دماهای انجماد، این روش غیر ممکن محسوب می‌شد. در این روش، ابتدا ناحیه مورد نظر با استفاده از SEM شناسایی می‌شود. سپس نمونه با استفاده از پلاتینیوم (Pt) در فضای کرایو لایه‌نشانی شده و دو شیار در دو طرف لاملا مورد نظر فرزکاری می‌شود. این امر به منظور استخراج لاملا انجام می‌شود. در مراحل بعدی، اطراف و پایین لاملا بریده شده و سپس لاملا با استفاده از ریزبازوی مکانیکی دستکاری نمونه کرایو در مقیاس نانو بیرون کشیده می‌شود. در مرحله بعدی، لاملا بیرون کشیده شده با لایه‌نشانی پلاتینیوم به گرید TEM چسبانده می‌شود. در مرحله نهایی نیز لاملا چسبیده به گرید آنقدر نازک شده تا الکترون‌ها در TEM بتوانند از آن عبور کرده و در نتیجه، تصویر واضح و شفاف به دست آید. روش تهیه لاملا از نمونه نسبت به روش برش گوه‌مانند بهتر است؛ زیرا در روش برش گوه‌مانند، هندسه برش ساده اجازه یافتن و هدف قرار دادن ساختارهای مورد نظر تعبیه شده در اعماق حجم سلولی را نمی‌دهد. لازم به ذکر است، نمونه‌های ضخیم و سوسپانسیون سلول‌ها و همچنین نمونه‌های بافتی درون لوله مسی یا درون صفحات مدور تخت فلزی به روش انجماد با اعمال فشار زیاد آماده می‌شوند (اشکال (۶) و (۷)).

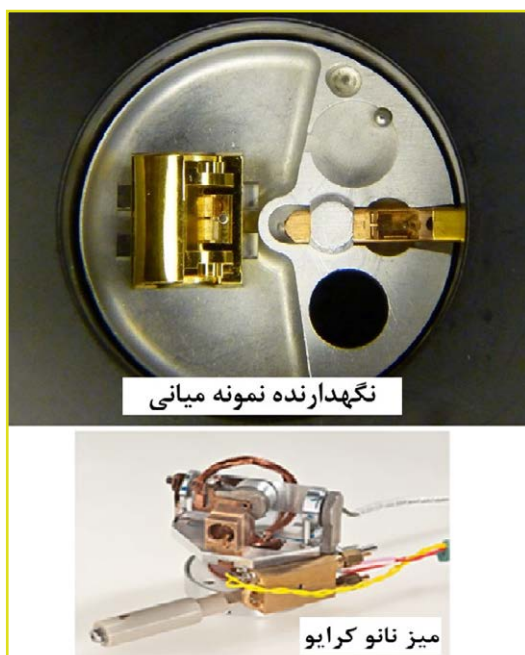


شکل (۶): نمایی از برش دادن نمونه‌های منجمد شده با اعمال فشار زیاد درون کرایو-اولترامیکروتوم. (الف) و (ب): نمونه‌های منجمد شده درون لوله‌های مسی. فلز اضافی با استفاده از کرایو-اولترامیکروتوم حذف شده و تنها سطحی گوه‌مانند (همانند سقف منزل) بر جای گذاشته که این امر فرآیند فرزکاری درون Cryo-FIB-SEM را تسهیل می‌کند. (ج) و (د): نمایش دهنده نمونه‌های منجمد و تعبیه شده درون صفحات تخت آلومینیومی استاندارد (همانند کلاه). در اینجا نیز به‌طور مشابه فلز اضافی حذف شده و سپس ضخامت نمونه آشکار شده به $20\mu\text{m}$ کاهش می‌یابد [۷].

غلبه بر این محدودیت می‌توان برای یافتن منطقه مورد نظر در نمونه منجمد تا حد امکان مناطق مجاور را فرزکاری کرد یا از روش‌های همبسته میکروسکوپ الکترونی و نوری استفاده کرد. بدین صورت که پیش از مرحله انجماد سلول‌ها، روی گریدهای میکروسکوپ الکترونی عبوری رشد داده شده و سپس تصاویر میکروسکوپ نوری از آنها تهیه می‌شود. در ادامه، براساس همین تصاویر، مناطق مورد نظر برای انجام فرآیند فرزکاری Cryo-FIB-SEM انتخاب می‌شوند. درنهایت، پیش از آماده‌سازی نمونه با استفاده از Cryo-FIB-SEM، از نمونه منجمد مورد نظر با استفاده از میکروسکوپ کرایو فلورسانس برای انجام تحلیل‌های بیشتر تصویربرداری به عمل می‌آید.

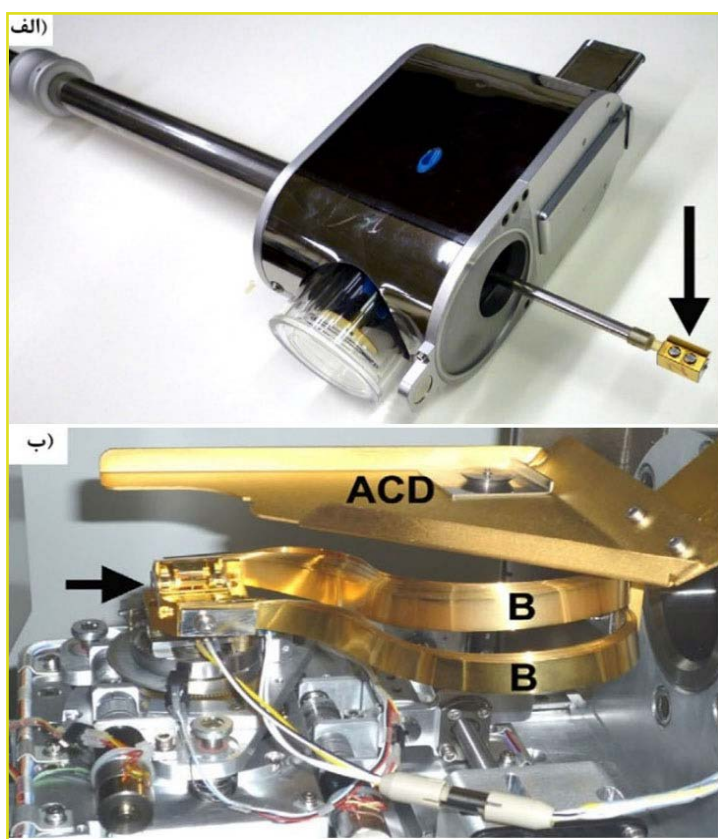


شکل (۹): تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از دانه گرده گیاه آرابیدوپسیس (رشادی گوش‌موشی) آماده شده به روش انجماد از طریق فروبری سریع که برش نهایی ۱۰ نانومتری از آن برای تصویربرداری درون میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو با Cryo-FIB-SEM تهیه شده است [۸].



شکل (۱۰): (الف): نگهدارنده نمونه میانی برای انتقال نمونه‌های منجمد شده با استفاده از روش انجماد با اعمال فشار زیاد درون ایستگاه کاری [۷]. (ب): سیستم پیشرفته و پیچیده میز نانو کرایو برای انتقال نمونه‌های منجمد شده با استفاده از روش انجماد با اعمال فشار زیاد [۹].

دلیل وقوع یکی از عیوب اصلی این روش آماده‌سازی به نام حالت پرده‌ای هستند. درنهایت، حالت پرده‌ای منجر به حصول ناهمگنی شدید در ضخامت لاملاها می‌شود. این اثرات را می‌توان به‌طور قابل توجهی از طریق لایه‌نشانی پلاتینیوم آلی فلزی با استفاده از سیستم تزریق گاز (بدون ساطع نمودن پرتو الکترونی یا یونی) روی نمونه مورد نظر پیش از آماده‌سازی لاملا به حداقل رسانید. یکی دیگر از مسائل، میزان اطلاعات به‌دست آمده از نمونه‌های آماده شده در طول فرآیند توموگرافی الکترونی کرایو است. در طول فرآیند فرزکاری با Cryo-FIB-SEM بخشی از نمونه منجمد در امتداد تمام محورها به‌طور فیزیکی نابود می‌شود. به‌منظور رفع این مسئله، پس از حصول یک سری از برش‌های متوالی از نمونه منجمد در شرایط کرایو، بیشتر اطلاعات در امتداد محورهای مذکور (به‌خصوص محور Z) بازیابی می‌شوند. مسئله دیگر، زمان مورد نیاز برای آماده‌سازی نمونه پیش از مرحله تصویربرداری و مشاهده است. به‌عنوان مثال، به دلیل اندازه بزرگ‌تر سلول‌های یوکاریوتی در مقایسه با نمونه‌های پروکاریوتی، زمان فرزکاری آنها نیز بیشتر خواهد بود. یکی دیگر از مسائل مربوط به اندازه نمونه‌های منجمد، شناسایی و هدف‌گیری مناطق خاص در آنها است. به‌عنوان مثال، باسیل اشرشیاکلی^{۲۶} دربرگیرنده اندازه کوچک بوده لذا تشخیص آن از یخ منجمد شفاف آسان است. در مقابل، سلول‌های یوکاریوتی به دلیل اندازه‌شان، با یخ ضخیم احاطه شده و در نتیجه، شناسایی منطقه مورد نظر در آنها آسان نیست. به‌منظور



شکل (۸): ابزار جابجایی نمونه‌های منجمد شده با روش فروبری سریع بین کرایو اولترامیکروتوم، Cryo-FIB-SEM و میکروسکوپ الکترونی عبوری. (الف): این شکل نشان‌دهنده شاتل جابجایی نمونه‌های منجمد شده با استفاده از روش فروبری سریع (پیکان مشکی) است. (ب): این شکل نیز نمایش دهنده ایستگاه پذیرش نمونه منجمد شده با روش فروبری سریع (پیکان مشکی) درون Cryo-FIB-SEM است [۷].

آماده‌سازی نمونه‌های زیستی برای تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی عبوری به‌طور مرسوم از طریق به‌کارگیری مواد شیمیایی، فلزات سنگین و اولترامیکروتوم انجام می‌پذیرد. لازم به ذکر است، هر یک از موارد مذکور به نوعی آسیب روی نمونه‌های زیستی بر جای گذاشته و در نتیجه منجر به افت کیفیت و کاهش شدید تفکیک‌پذیری تصاویر نهایی TEM می‌شوند. به همین منظور، آماده‌سازی و برش‌برداری از نمونه‌های زیستی باید به‌گونه‌ای انجام شود که میزان وقوع آسیب به حداقل رسیده و در نهایت، تصاویر TEM با کیفیت و تفکیک‌پذیری بالایی حاصل شوند. دانشمندان برای تحقق این امر، روش‌های مختلفی را بررسی نموده و به این نتیجه رسیدند که در صورت منجمد ساختن نمونه‌های زیستی و برش‌برداری از آنها در همان حالت انجماد می‌توان آنها را در نزدیک‌ترین حالت به حالت طبیعی‌شان نگاه داشت. در این صورت، تصاویر TEM تهیه شده از چنین نمونه‌هایی حاوی بیشترین اطلاعات ممکن از حالت طبیعی حفظ شده خواهد بود. آنها ابتدا موانع مربوط به آماده‌سازی انجمادی نمونه‌های زیستی را رفع کرده و سپس به عیوب موجود مربوط به مرحله تهیه مقاطع بسیار نازک از نمونه‌های مذکور با استفاده از کرایو-اولترامیکروتوم پرداختند. پس از تحقیقات فراوان به این نتیجه رسیدند که استفاده از میکروسکوپ Cryo-FIB-SEM بهترین نتایج را ارائه می‌کند. این دستگاه دربرگیرنده میکروسکوپ الکترونی روبشی و سیستم تولیدکننده پرتو یون متمرکز درون یک ستون است. در نتیجه می‌توان هر دو پرتو مذکور حاوی الکترون و یون را به‌طور هم‌زمان روی یک نقطه یکسان از نمونه متمرکز نمود. بدین معنی که در این دستگاه، هنگام تهیه مقاطع بسیار نازک معروف به (لاملا) از نمونه‌های زیستی منجمد در حالت کرایو با سیستم پرتو یونی متمرکز (FIB) می‌توان به‌طور واضح و بلادرنگ عملیات مربوطه را از طریق سیستم میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشاهده و هدایت کرد، که این امر به نوبه خود، مزیتی بسیار مطلوب محسوب می‌شود. در این مقاله، دستگاه Cryo-FIB-SEM معرفی و نیازمندی شدید محققان فعال در این حوزه به آن نیز شرح داده شده‌است. همچنین رویه تهیه مقاطع بسیار نازک معروف به لاملا از نمونه‌های زیستی منجمد نیز به‌طور تفصیلی توضیح داده شده‌است.

پی‌نوشت

1. Robert Hooke
2. Diffraction Limit
3. Wilhelm Conrad Röntgen
4. Joseph John Thomson
5. Transmission Electron Microscope (TEM)
6. Transmission electron cryomicroscopy (CryoTEM)
7. Cryogenic focused ion beam and scanning electron microscopy (cryo-FIB/SEM)
8. Glycan
9. High-pressure freezing (HPF)
10. Plunge freezing (PF)
11. Levi-Setti
12. Orloff and Swanson
13. Gas Field Ionization Sources (GFISs)
14. Seliger
15. Liquid Metal Ion Source (LMIS)
16. Ultramicrotome
17. Cryo-Ultramicrotome
18. Gallium (Ga⁺)
19. Focused ion beam scanning electron microscopy (FIB-SEM)
20. Gas Injection System (GIS)
21. Chemical Vapor Deposition (CVD)
22. SiO_x
23. The inductively coupled plasma (ICP)
24. prokaryotic
25. Eukaryotic
26. Escherichia coli

مراجع

- [1] https://myscope.training/CRYO_Introducing_cryo_FIB.
- [2] Wolff A. Focused ion beams: An overview of the technology and its capabilities. Wiley Analytical Science. (2020).
- [3] <http://www.orsayphysics.com/what-is-fib>.
- [4] Kouwen L.V. Introduction to focused ion beams, ion sources, and the nano-aperture ion source. In: Advances in Imaging and Electron Physics Including Proceedings CPO-10; 2019, pp. 181-216.
- [5] Rigort A, Bäuerlein F.J.B, Leis A, Gruska M, Hoffmann C, Laugks T, et al. Micromachining tools and correlative approaches for cellular cryo-electron tomography. Elsevier, Journal of Structural Biology 172 (2010) 169–179.
- [6] Rigort A, Bäuerlein F.J.B, Villa E, Eibauer M, Laugks T, Baumeister W, et al. Focused ion beam micromachining of eukaryotic cells for cryoelectron tomography. PNAS, March 20, 2012, vol. 109, no. 12, 4449–4454.
- [7] De Winter D.A.M, Hsieh C, Marko M, Hayles M.F. Cryo-FIB preparation of whole cells and tissue for cryo-TEM: use of high-pressure frozen specimens in tubes and planchets. Journal of Microscopy, Vol. 281, Issue 2 2021, pp. 125–137.
- [8] Kizilyaprak C, Stierhof Y.D, Humbel B.M. Volume microscopy in biology: FIB-SEM tomography. Elsevier, Tissue and Cell. (2018).
- [9] Hayles M.F, De Winter D.A.M, Schneijdenberg C.T.W.M, Meeldijk J.D, Luecken U, Persoon H, et al. The making of frozen-hydrated, vitreous lamellas from cells for cryo-electron microscopy. Elsevier, Journal of Structural Biology 172 (2010) 180–190.

نویسندگان

مریم احمدی^{۱*}خسرو آقایی پور^۲

۱- مسئول بخش بیوتکنولوژی مجتمع آزمایشگاهی بهشت آئین

۲- مدیریت و مدیر فنی مجتمع آزمایشگاهی بهشت آئین

*Maryam.ahmadi3836@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۱

محصولات تراریخته:
دوست یا دشمن

واژه‌های کلیدی

محصولات تراریخته، پروتئین‌های خارجی، برچسب‌گذاری، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.

چکیده

ارگانسیم‌های تغییر یافته ژنتیکی یا تراریخته‌ها^۱ محصولاتی هستند که DNA^۲ آنها با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک تغییر پیدا کرده است و به‌طور عمومی با اضافه کردن یک یا تعداد بیشتری ژن در آزمایشگاه تولید می‌شوند. تراریخته کردن گیاهان مزایایی مانند: بهبود طول عمر گیاه، عملکرد و کیفیت بالا، مقاومت به آفات، گرما، سرما، خشکی، تنش‌های زیستی و غیر زیستی و بیان پروتئین‌های خارجی با ارزش دارویی (انسولین، هورمون رشد و غیره) و صنعتی دارند. نگرانی‌هایی راجع به اینکه محصولات تراریخته چه تاثیری روی سلامتی انسان‌ها و محیط‌زیست دارند وجود دارد. اگرچه تاکنون اثرات زیان‌آور محصولات تراریخته از نقطه نظر علمی برای انسان‌ها و حیوانات به اثبات نرسیده است ولی با توجه به احتمالات خطرات ممکن در آینده، باید حقوق مشتری از نظر دانستن اینکه کالای مصرفی تراریخته یا طبیعی است، رعایت شود. الزامات ردیابی و برچسب‌گذاری، اطلاعات مربوط به تراریخته‌ها را برای مصرف‌کنندگان در دسترس قرار می‌دهند. انجام آزمون‌های شناسایی تراریختگی محصولات با روش‌های مختلفی همچون سنجش ایمونوسوربنت مرتبط با آنزیم^۳ و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز^۴ انجام می‌شود. از بین این روش‌ها، روش PCR حساس‌ترین و دقیق‌ترین روش سنجش تراریختگی است که با استفاده از دستگاه ترموسایکلر^۵ برای تکثیر قطعات DNA هدف در محیط آزمایشگاه انجام می‌شود و امروزه برای مطالعات مولکولی از جمله تعیین محصولات تراریخته به کار می‌رود.

محصولات تراریخته محصولاتی هستند که DNA آنها با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک تغییر پیدا کرده است. این کار با هدف معرفی صفت جدید به محصول است که به‌طور طبیعی در آن وجود ندارد. یک موجود تراریخت دارای ژن و یا ژن‌هایی است که به‌صورت مصنوعی وارد آنها شده‌اند. ژنی که وارد می‌شود می‌تواند از یک موجود غیرمرتبط و یا از یک گونه کاملاً متفاوت باشد. هدف از وارد کردن ترکیبی از ژن‌ها به یک محصول این است که تا حد امکان آن محصول را مقاوم، سودمند و پربازده کنند [۱].

از اوایل دهه ۱۹۹۰، گیاهان دستکاری شده ژنتیکی به‌صورت تجاری در دسترس بوده‌اند [۲]. حیوانات اصلاح شده ژنتیکی (تراریخته) کاربردهای زیادی دارند. موجودات ساده‌ای مانند مگس میوه برای مطالعه اثرات تغییرات ژنتیکی در طول نسل‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. موش‌های تراریخته، بیشتر برای مطالعه پاسخ‌های سلولی و بافتی خاص به بیماری استفاده می‌شوند [۳]. گاوها و بزهای تراریخته نیز برای بیان انواع محصولات مفید زیستی توسعه یافته‌اند. از جمله اولین آنها گاو «هرمن» بود که در سال ۱۹۹۰ با توالی ژن انسان در حالی که به شکل جنین بود برای تولید لاکتوفرین که یک پروتئین سیستم ایمنی است تغییر ژنتیکی یافت [۴]. به دنبال آن یک بز تراریخته که پروتئین‌های ابریشم را بیان می‌کرد (شبیه به ابریشم عنکبوت) توسط شرکت کانادایی نکسی^۷ با نام تجاری «بایواستیل تی ام»^۸ توسعه یافت [۵]. در ۶ فوریه سال ۲۰۰۹، اداره غذا و داروی ایالات متحده، اولین داروی زیستی انسان را تأیید کرد که از شیر بز استخراج شده است. داروی آترین^۹ یک ضد انعقاد است که احتمال لخته شدن خون را در حین جراحی یا زایمان کاهش می‌دهد [۳].

گیاهان تراریخته

گیاهان مهندسی ژنتیکی شده به‌طور عمومی با اضافه کردن یک یا تعداد بیشتری ژن در آزمایشگاه تولید می‌شوند. هسته سلول گیاهی هدف DNA جدید است. بیشتر گیاهان تراریخته با روش بیولیستیک (تفنگ ژنی) یا انتقال به واسطه آگروباکتریوم تولید شده‌اند. ژنی که به گیاه تراریخته وارد می‌شود، می‌تواند از ژنوم هر موجود زنده دیگری از قبیل جانور، گیاه، باکتری و یا ویروس باشد [۱].

مزیت‌های گیاه تراریخته

گیاهان تراریخته به اصطلاح «نسل اول» برای ویژگی‌هایی مهندسی شده‌اند که عملکرد کشاورزی را افزایش می‌دهند. چنین ویژگی‌هایی شامل مقاومت در برابر آفات، علف‌کش‌ها، آب و هوای شدید و همچنین بهبود ماندگاری محصول است. به‌عنوان مثال، از زمانی که اولین کشت آنها در سال ۱۹۹۶ تجاری شد، گیاهان برای مقاومت به علف‌کش‌های گلوبوسینات^{۱۰} و گلایفوسیت^{۱۱} دستکاری ژنتیکی شدند. در «نسل دوم» مهندسی گیاهان با هدف افزایش رضایت مصرف کننده از طریق بهبود طعم و مزه، بافت و ظاهر محصول انجام می‌شود [۳].

تراریخته کردن گیاهان مزایایی مانند: بهبود طول عمر، عملکرد بالا، بالا بردن کیفیت، مقاومت به آفات، گرما، سرما، خشکی، تنش‌های زیستی و غیر زیستی دارد. همچنین گیاهان تراریخته می‌توانند راهی برای بیان پروتئین‌های خارجی با ارزش دارویی و صنعتی باشند. اولین گیاهان تراریخته در سال

۱۹۸۳ گزارش شدند. از آن به بعد، بسیاری از پروتئین‌های نوترکیب در چندین گونه گیاه زراعی مهم مانند: تنباکو، ذرت، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، موز، یونجه و کانولا بیان شدند. گیاه تنباکو به‌طور عمومی برای تولید واکسن انسانی استفاده شده است [۱].

از آنجایی که جمعیت جهان در حال افزایش است، غذا به‌عنوان یک مشکل جهانی مطرح شده است. غذاهای تغییر ژنتیکی یافته به واسطه بهبود عملکرد، کاهش هزینه‌های حمل و نقل و افزایش محتوای مواد مغذی منافع قابل توجهی دارند. وارپته‌هایی تجاری در آمریکا و کانادا تولید شده‌اند که مقاوم به حشرات، آفات، ویروس‌ها و علف‌کش‌های خاصی هستند. در موارد محدودی، قیمت پایین این محصولات مربوط به کاهش هزینه‌ها و تولید راحت آنها است. مهمترین مزیت گیاهان تراریخته، افزایش توانایی مقاومت به حمل و نقل در مسافت‌های طولانی است. گیاهان تراریخته زمانی که هنوز سبز هستند، چیده می‌شوند و در حین حمل و نقل می‌رسند؛ بنابراین، ماندگاری بیشتری دارند. حتی با حمل دریایی و زمان ذخیره طولانی مدت، محصول بدون خراب شدن به مقصد می‌رسد. بنابراین، گیاهان تراریخته باعث افزایش عملکرد و کاهش هزینه‌ها می‌شوند [۱]. گیاهان تراریخته دارای مزایای زیادی از جمله کاهش استفاده از آفت‌کش‌ها، افزایش محتوای ویتامین‌ها، افزایش عملکرد هستند و این پتانسیل را دارند که در آینده مزیت‌های بیشتری نیز داشته باشند [۶].

باکتری‌های اصلاح شده ژنتیکی به‌طور معمول به‌عنوان وسیله‌ای برای تولید مقادیر زیادی از پروتئین‌های خالص انسانی برای استفاده در پزشکی استفاده می‌شوند. به‌عنوان مثال، می‌توان به تولید انسولین برای درمان دیابت، عوامل انعقادی برای درمان هموفیلی و هورمون رشد انسانی برای

درمان اشکال مختلف کوتاهی قد اشاره کرد [۳].

مضرات گیاهان تراریخته

ارزیابی تهدید بالقوه ناشی از پیشرفت در زیست فناوری به ویژه از نظر ارگانوسم‌های تغییر ژنتیکی یافته و زیست‌شناسی مصنوعی همچنان موضوعی بحث برانگیز است [۳]. استفاده از گیاهان تراریخته نگرانی‌هایی را ایجاد کرده است که این نگرانی‌ها به دو گروه تقسیم می‌شوند:

◆ نگرانی راجع به اینکه مواد تغییر یافته ژنتیکی چه تاثیری روی سلامتی انسان‌ها دارند. به‌عنوان مثال، گیاهان تراریخته باعث ایجاد آلرژی در برخی از افراد می‌شوند؛ اگرچه این موضوع ثابت نشده است اما ممکن است گیاهان تراریخته منبع ایجاد این آلرژی باشند و انسان‌ها با خوردن گیاهانی که بخشی از DNA آنها از منابع دیگر مانند باکتری‌ها و ویروس‌ها نشأت گرفته‌اند، احساس ناخوشایندی پیدا کنند. ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک که در این گیاهان قرار می‌گیرند، ممکن است باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین موجب به وجود آمدن میکروب‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها شوند که با تیمار آنتی‌بیوتیکی از بین نمی‌روند [۱] و می‌توانند دُز خوراکی آنتی‌بیوتیک‌ها را غیرفعال کنند [۷]. امکان آلودگی گیاهان تراریخته و تولیدات آنها با مایکوتوکسین‌ها، آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها وجود دارد [۱].

◆ نگرانی دیگر این است که آیا گیاهان تغییر یافته ژنتیکی به محیط‌زیست طبیعی آسیب می‌زنند. به‌عنوان مثال، پخش شدن گرده‌های گیاه تراریخته که قابلیت کشتن لاورهای پروانه موناچ^{۱۲} را دارند. نشان داده شده‌است که هیبرید ذرت در گرده خود، سم باکتریایی دارد که بیشتر از ۶۰ متر می‌تواند توسط باد حرکت کند؛ بنابراین، این سم روی گیاهانی که در نزدیکی این ذرت‌ها کشت شده‌اند، رسوب می‌کند که می‌تواند با ارگانوسم‌های غیرهدف مانند پروانه موناچ خورده شده و منجر به مرگ آنها شود [۱]. ممکن است گیاهان تراریخته در اکوسیستم طبیعی پخش شوند و باعث اثرات غیرمستقیم روی تنوع گیاهان، جریان ژنی در طی انتقال گرده و یا در طی انتقال افقی ژن با میکروارگانوسم‌ها و توسعه مقاومت در ارگانوسم‌های هدف شوند [۷]. ممکن است ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک که در گیاهان تراریخته وجود دارد به پاتوژن‌های دستگاه گوارش و خاک منتقل شود و آنها را مقاوم به آنتی‌بیوتیک کند [۸]. میکروارگانوسم‌ها در همه جای طبیعت هستند؛ خیلی از آنها بی‌ضرر بوده و بیشتر آنها هم‌زیست‌های مفیدی هستند که ما را از گسترش عوامل بیماری‌زا حفظ و ویتامین‌ها را تولید می‌کنند و در عملکرد مناسب روده شرکت دارند. مشاهداتی مبنی بر اینکه DNA گیاهان تراریخته به میکروارگانوسم‌های

خاک انتقال یافته‌اند، پیدا نشده‌است [۷].

برچسب‌زنی محصولات تراریخته

بحث برچسب‌زنی مواد غذایی تراریخته تقریباً الزامی جهانی است که اخیراً در بیشتر کشورها از جمله ایران به آن توجه زیادی شده‌است. تحولات در مهندسی ژنتیک مواد غذایی توسط موافقان، تشویق و توسط مخالفان، نکوهش شده‌است. گیاهان تراریخته در ایالات متحده حساسیت و توجه عمومی به نسبت کمی را به خود جلب کرده‌اند اما در اروپا به شدت مورد بحث و مقاومت قرار گرفته است. در پاسخ به ترس عمومی در اروپا، اتحادیه اروپا تلاش کرده است که رشد و واردات محصولات تراریخته را ممنوع و یا به شدت محدود کند، اما ایالات متحده، کانادا و آرژانتین با موفقیت این ممنوعیت را در سازمان تجارت جهانی^{۱۳} به چالش کشیدند. WTO حکم داد که ممنوعیت تراریخته در اتحادیه اروپا ناقض موافقتنامه اعمال اقدامات بهداشتی و گیاهی^{۱۴} است. برای کنترل واردات و رشد داخلی تراریخته‌ها، اتحادیه اروپا فرایندهای تاییدی سختگیرانه‌ای را همراه با یک سیستم برچسب‌گذاری واضح در نظر گرفته است. نگرش ضد تراریختگی اتحادیه اروپا به کشورهای دیگر از جمله استرالیا، نیوزلند، ژاپن، اندونزی و کره جنوبی گسترش یافته است که همگی در حال حاضر، نوعی قانون برچسب‌گذاری تراریختگی را دارند [۶].

همچنین در آفریقا، این ترس وجود دارد که در صورت کشت و صادرات محصولات تراریخته، اتحادیه اروپا به خطر بیفتد؛ بنابراین، مخالفت شدیدی با کاشت محصولات تراریخته ایجاد شده‌است. این ترس، برخی از دولت‌های آفریقایی را وادار کرده است که محموله‌های کمک‌های غذایی تراریخته را رد کنند و این امر منجر به گرسنگی بیشتر این کشورها شده‌است. طرفداران برچسب‌گذاری در این کشورها و سایرین استدلال می‌کنند که مصرف کننده «حق دارد بداند» که آیا غذای او تراریخته است یا خیر [۹].

با این حال، سازمان غذا و داروی ایالات متحده^{۱۵}، این دیدگاه را رد و بیان می‌کند که «حق دانستن» مصرف‌کننده، توجیه کافی برای برچسب‌گذاری اجباری براساس قوانین موجود نیست. موضع FDA این است که با دست‌ورزی ژنتیکی، محصولی تولید نشده‌است که از نظر مواد موجود با محصولات مشابه تولید شده با استفاده از روش‌های متداول کشاورزی تفاوت داشته باشد؛ بنابراین، محصولات تراریخته نیاز به برچسب‌گذاری ندارند. FDA بسیاری از انواع گیاهان تراریخته را برای فروش تجاری تایید کرده است. در ایالات متحده با توجه به موضع FDA، تولیدکنندگان مواد غذایی ملزم به افشای وجود مواد تراریخته با برچسب زدن محصولات خود نیستند با این حال، برخی از برچسب‌گذاری‌ها مجاز است. به‌عنوان مثال، FDA به تولیدکنندگان اجازه می‌دهد که برچسب محصولات خود را «غیرتراریخته»^{۱۶} بگذارند و برچسب

و ویژگی‌های خاص، الزامات مربوط به بسته‌بندی با اطلاعات بیشتری ذکر شود. اعضای این شیوه‌نامه باید تضمین کنند که توسعه، حمل و نقل، کاربرد، دست‌ورزی، جابجایی و رهاسازی سازواره‌های تغییر یافته زنده به‌گونه‌ای انجام شود که زیان‌آور نبوده و یا خطرات آن را برای تنوع زیستی کاهش دهد و همچنین مخاطرات آن برای سلامت انسان را مد نظر داشته باشند. اعضا باید ترغیب شوند تا در صورت لزوم متخصصین، تخصص و ابزارها و عملیاتی را به کار گیرند که در محدوده جهانی، خطراتی را برای سلامت انسان به همراه نداشته باشد [۱۰].

قانون اتحادیه اروپا^{۱۸} در رابطه با محصولات تراریخته

قانون اتحادیه اروپا در مورد ارگانیسم‌های اصلاح شده ژنتیکی، سطح بالایی از حفاظت را برای انسان، حیوان، بهداشت محیط و بازار داخلی اتحادیه اروپا برقرار می‌کند. وجود این چارچوب، انتشار تراریخته‌ها در محیط زیست و استفاده از آنها به‌عنوان غذا را تنظیم می‌کند. این قانون سه رکن اصلی دارد: مجوز قبل از تجارت، قابلیت ردیابی و برچسب‌گذاری. در این چارچوب قانونی، مجوزی خاص توسط مقررات کمیسیون اروپا^{۱۹} به شماره ۱۸۲۹/۲۰۰۳ در مورد غذا و خوراک تراریخته تعیین شده‌است. فقط در مواردی مجوز داده می‌شود که براساس ارزیابی‌های یک نهاد ارزیابی خطر، هیچ خطری برای سلامت انسان یا محیط زیست وجود نداشته باشد [۱۱].

در سطح اتحادیه اروپا، ارزیابی خطرات بر عهده سازمان ایمنی غذای اروپا^{۲۰} است. مجوز تراریختگی تنها زمانی اعطا می‌شود که براساس نتیجه ارزیابی خطر، هیچ گونه اثرات نامطلوب بهداشتی یا زیست محیطی شناسایی نشده باشد. علاوه بر این، چارچوب قانونی اتحادیه اروپا سطح بالایی از شفافیت رویه مجوز را تضمین می‌کند. الزامات ردیابی و برچسب‌گذاری تضمین می‌کند که اطلاعات مربوط به تراریخته‌ها برای مصرف‌کنندگان در دسترس است. مقررات (EC) به شماره ۲۰۰۳/۱۸۳۰ به برچسب زدن تراریخته‌ها و قابلیت ردیابی آنها در مواد غذایی می‌پردازد، در حالی که مقررات (EC) به شماره ۲۰۰۳/۱۸۲۹ الزامات مربوط به برچسب زدن مواد غذایی تراریخته را مشخص می‌کند. تراریخته‌های مجاز و مواد غذایی که درصد تراریختگی آنها بیشتر از ۰/۹ درصد باشد باید برچسب‌گذاری شوند. در کنفرانس کمیسیون اروپا در سپتامبر ۲۰۱۷، درباره تحولات جدید فناوری‌های زیستی مدرن گفتگو شد. پیام‌های کلیدی کنفرانس این بود که روش‌های جدید، در حالی که نوآوری را در اتحادیه اروپا تقویت می‌کنند نباید سطح بالای ایمنی اتحادیه اروپا را به خطر بیندازد. هر چند نوآوری به تنهایی، به ویژه در فناوری زیستی، کافی نیست؛ باید نیازها، پذیرش و اعتماد جامعه مدنی را در نظر گرفت. این نکته اخیر در اتحادیه اروپا از اهمیت بالایی برخوردار است:

«ارگانیک^{۱۷} نشان می‌دهد که غذا عاری از تراریخته‌ها است. از سوی دیگر، اتحادیه اروپا، بیشتر انواع محصولات تراریخته را برای فروش تجاری تایید نکرده است. برای چند مورد که تایید کرده است، نیاز است که محصولات با بیش از ۰/۹ درصد محتوای اصلاح شده ژنتیکی با عنوان «تغییر یافته ژنتیکی» برچسب‌گذاری شوند [۶].

شیوه‌نامه جهانی ایمنی زیستی کارتاها

تاکنون اثرات زیان‌آور محصولات مهندسی ژنتیک و زیست فناوری از نقطه نظر علمی به اثبات نرسیده است؛ اما نکته قابل تعمق و تأمل در این زمینه، آثار منفی احتمالی این محصولات بر محیط زیست و بهداشت انسانی است که موجب نگرانی‌هایی نیز شده‌است. در طول تاریخ اهداف سودجویانه و برتری‌طلبانه انسانی به‌منظور نیل به اهداف تجاری و مقاصد اقتصادی صورت گرفته، موجب شده‌است تا ابعاد ایمنی، معیارهای انسانی و منافع عمومی نادیده گرفته شود. احتمال چنین بهره‌برداری سوء از فناوری زیستی نیز بعید به نظر نمی‌رسد؛ بنابراین، هدف این شیوه‌نامه آن است که در زمینه انتقال، دست‌ورزی و کاربرد سازواره‌های تغییر یافته زنده که حاصل زیست فناوری جدید هستند و ممکن است اثرات زیان‌آوری بر حفظ و پایداری تنوع زیستی داشته باشند، اصول ایمنی و حفاظتی به‌طور کافی مراعات و مخاطرات آنها برای سلامت انسان در نظر گرفته شود و نقل و انتقالات بین مرزی با دقت بیشتری صورت گیرد. این شیوه‌نامه باید در نقل و انتقال بین مرزی، جابجایی، بکارگیری و استفاده از کلیه سازواره‌های تغییر یافته زنده که ممکن است اثرات گوناگونی بر منابع طبیعی، تنوع زیستی و سلامتی انسان داشته باشند، به کار گرفته شود [۱۰].

در این شیوه‌نامه به این نکته اشاره شده‌است که در محموله‌های صادراتی کالاهای کشاورزی که احتمال حضور سازواره‌های زنده اصلاح شده (تراریخته) وجود داشته باشد، باید به وضوح در اسناد ارسالی به این مسئله اشاره شود و کشورهای وارد کننده قادر خواهند بود براساس رویکرد احتیاطی درخصوص صدور مجوز یا امتناع از واردات محصولات تراریخته تصمیم‌گیری نمایند [۱۰].

در حالی که بخش اعظم اجلاس‌ها و شیوه‌نامه‌های محیط زیست با توجه به تهدیدات یا مخاطرات، مورد مذاکره قرار گرفته و براساس یقین علمی نیز به تصویب رسیده‌اند، شیوه‌نامه ایمنی زیستی به‌عنوان یک معاهده نوین بین‌المللی و علیرغم عدم یقین علمی، تمهیدات احتیاطی را به کار می‌برد [۱۰].

یکی از موارد مهم اشاره شده در شیوه‌نامه کارتاها، کاربرد، حمل و نقل و بسته‌بندی سازواره‌های اصلاح شده در شرایط ایمن است به طوری که به روشنی قابل شناسایی بوده و در اسناد همراه، سازواره‌های زنده تغییر یافته هویت

نتیجه گیری

تاکنون عواقب جبران ناپذیر در مورد محصولات تراریخته معرفی نشده است. با این حال، باید به این موضوع دقت کرد که آیا محصولات تراریخته در مقایسه با محصولات رایج کنونی آسیب زیست محیطی بیشتری دارند؟ تا به امروز، هیچ چارچوب قابل قبولی در مورد اینکه چه مجموعه‌ای از آزمایش‌ها می‌تواند تمامی خطرات تراریخته‌ها را ارزیابی کند، وجود ندارد. نسل آینده محصولات تراریخته، برای محیط زیست‌های خشن، افزایش محتوای مواد مغذی، تولید مواد دارویی، تولید انرژی زیستی و سوخت زیستی مناسب هستند. محققان امیدوارند که در آینده، واکسن‌ها و داروهای بیشتری را در محصولات تراریخته تولید کنند که بتوانند آنها را در کشورهای در حال توسعه راحت‌تر در اختیار مردم قرار دهند. داروهایی که به این طریق تولید می‌شوند حمل و نقل و ذخیره‌سازی راحت‌تری نسبت به داروهای مرسوم دارند. گیاهان تراریخته روش جدیدی برای تولید آنتی‌بادی‌های انسانی است. استفاده از مهندسی ژنتیک برای تولید داروهایی مانند انسولین شناخته شده است. برای تشخیص محصولات تراریخته می‌توان از آزمون PCR و دستگاه ترموسایکلر استفاده کرد و براساس نتایج به دست آمده و قوانین دولتی، اقدام به برچسب‌گذاری محصولات تراریخته نمود و به مصرف کنندگان قدرت انتخاب اینکه از محصولات تراریخته استفاده کنند یا خیر را داد.

تاکنون حدود ۱۱۸ محصول تراریخته در اتحادیه اروپا مجاز شناخته شده است که بیشتر آنها برای تغذیه حیوانات استفاده می‌شوند و تعداد بسیار کمی از آنها برای مصارف انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. تاکنون به طور تقریبی، هیچ بازاری برای مواد غذایی تراریخته در اروپا وجود ندارد و دلیل این امر آن است که مصرف کنندگان هیچ مزیتی در محصولات تراریخته نمی‌بینند و بنابراین، به آزادی انتخاب اهمیت زیادی می‌دهند [۱۲].

شناسایی محصولات تراریخته با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

همان‌طور که اشاره شد، محصولات تراریخته دارای DNA خارجی در ژنوم خود هستند؛ اگر روشی برای شناسایی DNA خارجی در این محصولات وجود داشته باشد به راحتی می‌توان آنها را از محصولات غیرتراریخته متمایز کرد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) روش مطمئنی برای تکثیر قطعات DNA مشخص در محیط آزمایشگاه است که در زیست‌شناسی مولکولی و تعیین گیاهان تراریخته استفاده می‌شود. این روش نسبت به دیگر روش‌های تشخیص تراریختگی، روشی سریع (بیشینه مقدار زمان ۴ تا ۵ ساعت)، راحت، به نسبت ایمن (بدون مواد رادیواکتیو) و مقرون به صرفه است. مزیت دیگر، تجزیه و تحلیل مقدار زیادی نمونه در زمانی کوتاه است [۱۳]. برای انجام PCR از دستگاه ترموسایکلر استفاده می‌شود که کار تکثیر DNA را انجام می‌دهد و در عرض چند ساعت، هزاران کپی از ژن مورد نظر (ژنی که در تراریخته‌ها وارد شده است) را تکثیر کرده و آن را با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز قابل رویت می‌کند.

پی‌نوشت

1. Genetically Modified Organism (GMO)
2. Deoxyribonucleic acid (DNA)
3. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
4. The polymerase chain reaction (PCR)
5. Thermal cycler
6. Herman
7. Nexia
8. BioSteel TM
9. Atryn
10. Glufosinate
11. Glyphosate
12. Monarch
13. World Trade Organization (WTO)
14. Sanitary and Phytosanitary (SPS)
15. Food and Drug Administration (FDA)
16. GMO-free
17. USDA-Organic
18. European Union (EU)
19. European Commission (EC)
20. The European Food Safety Authority (EFSA)

مراجع

- [1] S. Jhansi Rani, R.Usha, Transgenic plants: types, benefits, public concerns and future. Journal of pharmacy research, 6 (2013) 879-883.
- [2] Hails, Rosie S, "Genetically modified plants – the debate continues", Institute of Virology and Environmental Microbiology, Tree, 15 (1) (2000) 14-18.
- [3] Jerry Warner, James Ramsbotham, Ewelina Tunia and James J. Valdes, Analysis of the Threat of Genetically Modified Organisms for Biological Warfare. Center for Technology and National Security Policy National Defense University, (2011) 1-37.
- [4] M.F. Brink, M. D. Bishop and F. R, Pieper. Developing efficient strategies for the generation of transgenic cattle which produce biopharmaceuticals in milk. Theriogenology, An International Journal of animal Reproduction, 53 (1) (2000) 139-148.
- [5] Vendrely, Charlotte. Thomas, Scheibel. Biotechnological Production of Spider-Silk Proteins Enables New Applications, Macromolecular Biosciences, 7 (4) (2007) 401-409.
- [6] Valery Federici, Genetically Modified Food and Informed Consumer Choice: Comparing U.S. and E.U. Labeling Laws, 35 (2) (2010) 514-561.
- [7] Alfred O. Ubalua. Transgenic plants: Successes and controversies. Biotechnology and Molecular Biology Reviews, 4 (6) (2009) 118-127.
- [8] Daniell H, Muthukumar B, Lee S.B, Marker free transgenic plants: Engineering the chloroplast genome without the use of antibiotic selection, Curr. Gene, 37 (2001) 109-116.
- [9] Arthur E. Appleton, The Labeling of GMO Products Pursuant to International Trade Rules, 8 (2000) 566-578.
- [10] CARTAGENA PROTOCOL ON BIOSAFETY TO THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, Montreal, (2000) 1-30.
- [11] Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed, OJ L 268, (2003) 1-23.
- [12] Chantal Bruetschy. The EU regulatory framework on genetically modified organisms (GMOs). Springer Nature Transgenic Res, 28 (2019) 169-174.
- [13] S., Ari, K., Bajrovic, N., Gozukirmizi. Determination of transgenic plants using polymerase chain reaction. Turkish Journal of Biology. 19 (1995) 331-335.

نویسندگان

مرجان عزتیان^{۱*}حامد فراچی^۱، هما حبیبی^۱

۱. موسسه علوم تحقیقاتی امین آزماي شرق، مشهد، ایران

*ezatiyan.m90@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۵

واژه‌های کلیدی

ارزیابی خطر، شاخص خطر، پتانسیل سرطان‌زایی، فلزات سنگین.

ارزیابی خطر ناشی از فلزات سنگین کادمیوم و سرب نمونه‌های گندم وارداتی در استان خراسان

چکیده

این تحقیق با هدف اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین سرب و کادمیوم در گندم وارداتی انجام و سپس با استفاده از شاخص خطر^۱، خطر مربوط به مصرف این گندم ارزیابی شده‌است. این شاخص خطر به‌منظور تعیین اثرات زیان‌آور فلزات سنگین بر سلامت انسان و محیط‌زیست استفاده می‌شود و نتایج تحقیق می‌تواند به‌منظور ارائه پیشنهادات و راه‌کارهای مناسب برای کاهش خطر مصرف فلزات سنگین در گندم مورد استفاده قرار گیرد. در این تجربه، ابتدا نمونه‌برداری به‌صورت تصادفی از گندم وارداتی صورت گرفت. سپس، غلظت سرب و کادمیوم با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. مقادیر مصرف روزانه برای گروه‌های مختلف جمعیت از جمله کودکان و بزرگسالان را تخمین زده و سپس با راهنمای سلامت مقایسه شد. میزان غلظت سرب و کادمیوم در نمونه‌های گندم در مقایسه با حد مجاز استاندارد ملی کمتری مشاهده شد. میانگین غلظت فلزات در گندم‌های وارداتی به ترتیب در سال ۱۴۰۱ برای سرب و کادمیوم 0.068 ± 0.009 ، 0.10 ± 0.002 ، در سال ۱۴۰۲ به ترتیب 0.104 ± 0.008 و 0.13 ± 0.003 میلی‌گرم بر کیلوگرم است. مصرف گندم آلوده به کادمیوم و سرب باعث افزایش شاخص‌های خطرپذیری بیماری‌های سرطانی^۲ و شاخص خطرپذیری کامل در هر دو گروه سنی بزرگسال و کودکان می‌شود. خطر سرطان حاصل از مصرف گندم در استان خراسان در سال ۱۴۰۲ بیشتر از ۱۴۰۱ است.

مقدمه

روند رو به رشد فعالیت‌های صنعتی و تولید بیش از حد فاضلاب‌های شهری، استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و احتراق سوخت‌های فسیلی مانند زغال‌سنگ باعث افزایش آلودگی فلزات سنگین در محیط‌زیست شده‌است [۱]. گیاهان که دارای خاصیت جذب فلزات سنگین هستند، می‌توانند این فلزات را از خاک، آب و هوای آلوده جذب کرده و در اندام‌های خود تجمع دهند. زمانی که انسان محصولات کشاورزی حاوی این فلزات را مصرف می‌کند، ممکن است به مقادیر بالایی از فلزات خطرناک مانند سرب، جیوه و کادمیوم برخورد کند که بیشترین تأثیرات آسیب‌رسان را بر سلامت انسان دارند [۲]. در بین فلزات سنگین، عنصری مانند سرب و کادمیوم برای

متابولیسم بدن مورد نیاز نیستند، این عناصر در محیط‌زیست به‌صورت طبیعی یا در اثر فعالیت انسان به سرعت رو به گسترش هستند [۳]. علاوه‌بر فرآیندهای طبیعی، فلزات می‌توانند از طریق آبیاری با فاضلاب وارد چرخه خاک، گیاه، حیوان و انسان شده که با ورود به چرخه غذایی به سلامت جامعه صدمه می‌زنند [۴]. کادمیوم از فلزات سمی، خطرناک و سرطان‌زا در محیط‌زیست است. این فلز بر بافت‌های مختلف از جمله ریه، کبد و کلیه حیوانات و انسان‌ها تاثیر سوء دارد و موجب بروز ناراحتی‌هایی همچون استخوان درد، برونشیت، کاهش تولید مثل، سیروز کبد و در برخی موارد مرگ می‌شود [۳]. میزان دریافت مجاز هفتگی برای کادمیوم در گندم توسط سازمان بهداشت جهانی و سازمان کشاورزی خواربار ملل متحد ۰/۰۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن برآورد شده‌است، ولی در ایران این مقدار چند برابر سختگیرانه‌تر از استاندارد جهانی است [۲].

سرب باعث آسیب‌های بسیار شدید مغزی مانند عقب ماندگی ذهنی، اختلال رفتاری و تغییرات خلق خوی و همچنین موجب افزایش فشار خون و بروز انواع سرطان‌ها در افراد می‌شود [۵]. بیشینه میزان قابل تحمل سرب در هفته برای کشورهای مختلف و استانداردهای منطقه‌ای متفاوت است به‌عنوان مثال، اروپا و چین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، استرالیا و کانادا ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن تعیین شده‌است. در کشور ما بیشینه مقدار مجاز مصرف هفتگی سرب طبق استاندارد اروپا لحاظ می‌شود [۲].

در سال‌های اخیر، توجه سازمان استاندارد جهانی و ارگان‌های مهم بهداشتی و تولیدی غذا به تضمین کیفیت آن معطوف شده‌است؛ چندین مطالعه در زمینه بررسی محتوی فلزات سنگین در محصول گندم در ایران و همچنین تعیین مخاطره سلامت مصرف این محصولات انجام شده و تاکنون نتایج متناقضی به‌دست آمده است.

برنج، ذرت و گندم از مهمترین غلات هستند و جزء اصلی‌ترین منابع غذایی بشر محسوب می‌شوند. غلات به‌عنوان یک منبع اصلی انرژی و مواد مغذی برای بسیاری از مردم در سراسر جهان، نقش بسیار مهمی در تأمین غذای روزانه آنها دارند. اما درصد دقیق تأمین غذای مردم از طریق غلات بستگی به عوامل مختلفی از جمله نوع غذا، سبک زندگی، فرهنگ غذایی و نیازهای غذایی فردی دارد [۶]. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی ارزیابی خطر فلزات سنگین (سرب، کادمیوم) برای سلامت انسان در گندم مصرفی شهرستان مشهد انجام شد.

بررسی عوارض ناشی از یک تهدید برای سلامت انسان را ارزیابی خطر می‌نامند. در این نوع مطالعات، ارزیابی خطر با هدف بررسی اثر سرطان‌زایی همراه می‌شود. در این مطالعه، برای ارزیابی احتمال خطر مواجهه با فلزات سنگین از داده‌های سازمان حفاظت از محیط زیست آمریکا^۳ استفاده شده‌است [۷].

در سطح جهان، مطالعات گسترده‌ای درباره ارزیابی خطر فلزات سنگین انجام شده‌است. از جمله، سپانلو و همکاران در بررسی میزان برخی عناصر سنگین در خاک و گیاه کلزا در مزارعی که با پساب صنعتی آبیاری انجام می‌شود، نشان دادند که آبیاری با پساب صنعتی باعث افزایش شاخص خطر در گیاه کلزا شده و در نتیجه، کادمیوم تجمع یافته در دانه‌های این گیاه به سطحی خطرناک رسیده است [۸].

میکروزیمس با تهیه شده‌است. اندازه‌گیری فلزات سرب و کادمیوم طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲۶۶ به شرح زیر انجام شد:

۱۰ گرم از نمونه را با ترازوی سه صفر توزین و پس از سوزاندن، به‌منظور خاکسترسازی، داخل کوره الکتریکی با دمای ۵۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. برای اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین ۵۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ مولار را روی هیتر به‌طور کامل حل می‌کنیم، پس از آن ۳۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۰/۱ مولار افزوده و به حجم رسانده تا محلولی همگن حاصل شود.

میزان فلزات سنگین در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی، با استفاده از لامپ کاتد توخالی مجهز

در این مطالعه، خطر فلزات سنگین (سرب و کادمیوم) در گندم وارداتی مورد ارزیابی قرار گرفت که در آن نمونه‌برداری به‌صورت کاملاً تصادفی از ۳۸ نمونه گندم (۱۹ نمونه در سال ۱۴۰۱ و ۱۹ نمونه در سال ۱۴۰۲) در استان خراسان رضوی انجام و برای محموله‌های بیشتر از ۱۵ تن، ۵ نمونه ۱ کیلوگرمی از نقاط مختلف تهیه و جمعیت شد.

تمام مواد شیمیایی و استانداردهای مرجع مورد استفاده در این مطالعه از مرجع معتبر خریداری شده‌است. به‌منظور رفع آلودگی احتمالی وسایل آزمایشگاهی شستشوی تجهیزات و ظروف با اسید نیتریک ۱۰ درصد انجام می‌شود. آب مورد استفاده از مون اندازه‌گیری فلزات سنگین از گرید دو بار تقطیر یون‌زدایی، با هدایت الکتریکی کمتر از ۰/۰۵

$$DIM = CF \times IR$$

رابطه ۴

که در آن:

(CF)^{۱۵}: نرخ خورده شدن و $IR(kg\ person^{-1}day^{-1})$ ^{۱۶}: غلظت آلاینده دریافت شده است ($m\ kg^{-1}$).
(FI)^{۱۷}: مقدار آلاینده‌ای است که از طریق ماده دریافت شده جذب بدن می‌شود (بدون واحد). میانگین این ضریب بین ۰/۲۵ تا ۰/۴ متغیر است که در این مطالعه برای محاسبه خطرپذیری از ضریب ۰/۴ که نشان‌دهنده احتمال خطر بیش از ۹۵ درصد است، استفاده شد [۹]. (EF)^{۱۸}: مقدار زمان مصرف در سال (مقدار دریافت شده در سال)، (ED)^{۱۹}: تعداد سال‌هایی که از این ماده خوراکی استفاده می‌شود. این عامل در محاسبه احتمال خطرپذیری بیماری‌های غیرسرطانی در کودکان و بزرگسالان به ترتیب ۶ و ۳۰ سال در نظر گرفته شده است، (BW): وزن بدن بر حسب کیلوگرم و (AT)^{۲۰}: میانگین محاسباتی دوره زمانی که فرد در طول حیات خود در معرض آلاینده‌ها قرار می‌گیرد که از رابطه (۵) به دست می‌آید:

$$AT = ED(y) \times 365(d\ y - 1)$$

رابطه ۵

● شاخص خطرپذیری

مجموع شاخص خطر بیماری غیرسرطانی فلزات سنگین با (HI)^{۲۱} نشان داده می‌شود، در صورتی که (HI) کوچکتر از ۱ باشد، نشان‌دهنده بی‌خطر بودن فلزات سنگین است و در مقابل اگر (HI) بزرگتر از ۱ باشد، احتمال بروز بیماری‌های غیرسرطانی بیشتر می‌شود که از رابطه (۶) محاسبه می‌شود [۱۰]:

$$HI = \sum_{i=1}^n THQ \rightarrow (THQ_{Cd} + THQ_{Pb})$$

احتمال افزایش ابتلاء به سرطان در طول عمر یک فرد با (CR)^{۲۲} نشان داده می‌شود که از رابطه (۷) به دست می‌آید:

$$CR = EDI \times SF$$

رابطه ۷

که در آن:

(EDI): میزان دریافت روزانه هر فلز و (SF)^{۲۳} عامل شیب سرطان است و خطر سرطان (CRt) از رابطه (۸) برای مجموع فلزات سرب و کادمیوم به دست می‌آید. [۷]:

$$CR(t) = CR(Pb) + CR(Cd)$$

رابطه ۸

به تصحیح پس زمینه دوتریم با روش کوره‌ای در موسسه علوم تحقیقاتی امین آزمای شرق اندازه‌گیری شد. پس از تزریق استانداردهای کاری با غلظت‌های مشخص از آنالیت مورد نظر (سرب، کادمیوم) نمودار کالیبراسیون تهیه و نمونه‌های آماده‌سازی شده به دستگاه تزریق و غلظت‌نمایی با استفاده از معادله خط و ضرایب رقت تعیین شده است. طول موج‌های مورد نظر برای اندازه‌گیری سرب و کادمیوم به ترتیب ۲۸۳/۳ و ۲۲۸/۸ نانومتر و حد تشخیص^۴ برای سرب ۰/۰۰۳ و کادمیوم ۰/۰۰۱ میلی گرم بر کیلوگرم محاسبه شده است، تجزیه و تحلیل داده‌های آماری به کمک نرم‌افزار مینی‌تب^۵ و ویرایش ۲۰۲۰ انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

همچنین در این پژوهش از مقادیر ارزیابی خطر سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا^۶ استفاده شد. برای این منظور میانگین برآورد جذب روزانه^۷ و جذب هفتگی^۸ از طریق روابط (۱) و (۲) محاسبه شده است [۴]:

$$EDI = \frac{FIR_D \times C}{BW}$$

رابطه ۱

$$EWI = \frac{FIR_W \times C}{BW}$$

رابطه ۲

که در آن:

(C)^۹: مقدار میانگین غلظت هر عنصر در گندم مورد مطالعه بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم، (FIR)^{۱۰}: میانگین مصرف گندم بر حسب گرم در روز یا هفته، (BW)^{۱۱}: وزن بدن براساس کیلوگرم است که در این مطالعه برای کودکان و بزرگسالان به ترتیب ۱۴/۵ و ۷۰ کیلوگرم استفاده شد.

برای محاسبه احتمال خطرپذیری^{۱۲} از نسبت غلظت آلاینده مورد نظر به یک دوز رفرنس استاندارد^{۱۳} که در واقع بیشینه مقدار غلظتی از عنصر مورد نظر است که برای هر فرد بی‌خطر بوده استفاده می‌شود. اگر سهم خطر HQ کمتر از یک باشد، مصرف کننده از اثرات سوء بیماری‌های غیرسرطانی در محدوده امن قرار دارد و در غیر این صورت، احتمالاً تأثیرات بیماری غیرسرطانی با افزایش HQ، افزایش پیدا می‌کند که از رابطه (۳) محاسبه می‌شود [۷].

$$THQ = \frac{DIM \times FI \times EF \times ED}{RFD \times BW \times AT}$$

رابطه ۳

که در آن:

(DIM)^{۱۴}: به میزان فلزی اشاره دارد که فرد روزانه از طریق مصرف مواد غذایی وارد بدن می‌کند که از رابطه (۴) به دست می‌آید ($\mu g\ kg^{-1}day^{-1}$):

جدول (۲): برآورد جذب قابل تحمل روزانه و هفتگی فلزات مورد مطالعه در این تحقیق (بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم) در گندم وارداتی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲.

عامل	EDI		EWI	
	۱۴۰۱	۱۴۰۲	۱۴۰۱	۱۴۰۲
بزرگسالان (سرب)	۰/۲۹۶	۰/۴۴۷	۲/۰۷۸	۳/۱۴۲
بزرگسالان (کادمیوم)	۰/۰۴۱	۰/۰۵۷	۰/۲۹۴	۰/۴۰۵
کودکان (سرب)	۱/۴۲۹	۱۰/۰۳۵	۲/۱۶۱	۱۵/۱۷۲
کودکان (کادمیوم)	۰/۲۰۲	۱/۴۰۵	۰/۲۷۸	۱/۹۵۷

● ارزیابی خطر

بر این اساس THQ برای فلزات سرب و کادمیوم در دو سال ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ از مقدار مجاز بیشتر است و خطر ایجاد بیماری غیر سرطانی در مصرف کننده را افزایش می دهد. همچنین وانگ و همکاران در تیانجین چین، به بررسی ارزیابی خطر عناصر سنگین از طریق مصرف سبزیجات و ماهی پرداخته و گزارش کردند که مقدار شاخص خطر به صورت تقریبی در کودکان ۱/۵ تا ۳/۵ برابر بزرگتر از بزرگسالان است [۹]. در این تحقیق نیز شاخص THQ در کودکان بیشتر از بزرگسالان بوده و خطر مصرف گندم براساس شاخص THQ در سال ۱۴۰۲ نسبت به ۱۴۰۱ در دو فلز سرب و کادمیوم بیشتر است (جدول (۳)).

جدول (۳): میزان سهم خطر (THQ)، فلزات سنگین سرب و کادمیوم (میلی گرم بر کیلوگرم) به دست آمده در این تحقیق در نمونه های گندم براساس سال های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲.

عامل	سرب		کادمیوم	
	۱۴۰۱	۱۴۰۲	۱۴۰۱	۱۴۰۲
کودکان	۱۴۲/۹۲۷	۲۱۶/۱۵۴	۸۰/۹۴۸	۱۱۱/۵۷۸
بزرگسالان	۲۶/۶۱۵	۴۴/۷۷۴	۱۶/۷۶۷	۲۳/۱۱۲

در این مطالعه به بررسی نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل غلظت فلزات سنگین به ویژه سرب و کادمیوم در نمونه های گندم وارداتی در سال ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ پرداخته شده است. براساس داده های به دست آمده، در جدول (۱) مشخص شد که غلظت این فلزات سنگین در نمونه های گندم مورد بررسی از توزیع نرمال برخوردار است. این امر نشان دهنده یکنواختی و عدم وجود انحراف شدید در توزیع غلظت ها است که می توان به عنوان نشانه ای از کنترل کیفی مناسب در فرآیند واردات و فرآوری گندم تلقی شود. علاوه بر این، میانگین غلظت تمامی فلزات سنگین اندازه گیری شده در گندم به طور قابل توجهی کمتر از بیشینه مقدار غلظت مجاز تعیین شده توسط سازمان ملی استاندارد ایران است.

جدول (۱): میانگین غلظت سرب و کادمیوم به دست آمده در این مطالعه براساس سال های ۱۴۰۱-۱۴۰۲.

حد مجاز مصرف	میانگین	واحد	عامل
۰/۱۵	$0/009 \pm 0/068$	mg/kg	سرب (۱۴۰۱)
۰/۱۵	$0/008 \pm 0/104$	mg/kg	سرب (۱۴۰۲)
۰/۰۳	$0/002 \pm 0/010$	mg/kg	کادمیوم (۱۴۰۱)
۰/۰۳	$0/003 \pm 0/013$	mg/kg	کادمیوم (۱۴۰۲)

برآورد جذب روزانه و هفتگی برای گندم که ارزش اقتصادی و مصرف خوراکی بالایی دارد، بسیار حائز اهمیت است. تعیین جذب موقت روزانه و هفتگی در گندم توسط کمینه مشترک سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا انجام می شود. جذب مجاز گندم به میزان دوره مصرف و مقدار آن توسط مصرف کننده غذا وابسته است.

براساس داده های به دست آمده از ارزیابی سطح سرب و کادمیوم در گندم وارداتی به استان خراسان و با توجه به میانگین دریافت روزانه و هفتگی این عناصر که در جدول (۲) ارائه شده است، نتایج مطالعه نشان می دهد که میزان جذب آلاینده ها در کودکان به طور قابل توجهی بیشتر از بزرگسالان است. در سال ۱۴۰۲، بالاترین سطح خطر برای کودکان با مقدار ۱۵/۱۷۲ میلی گرم بر کیلوگرم در هفته ثبت شده است که این امر نشان دهنده قرار گرفتن بیشتر کودکان در معرض خطر نسبت به بزرگسالان است.

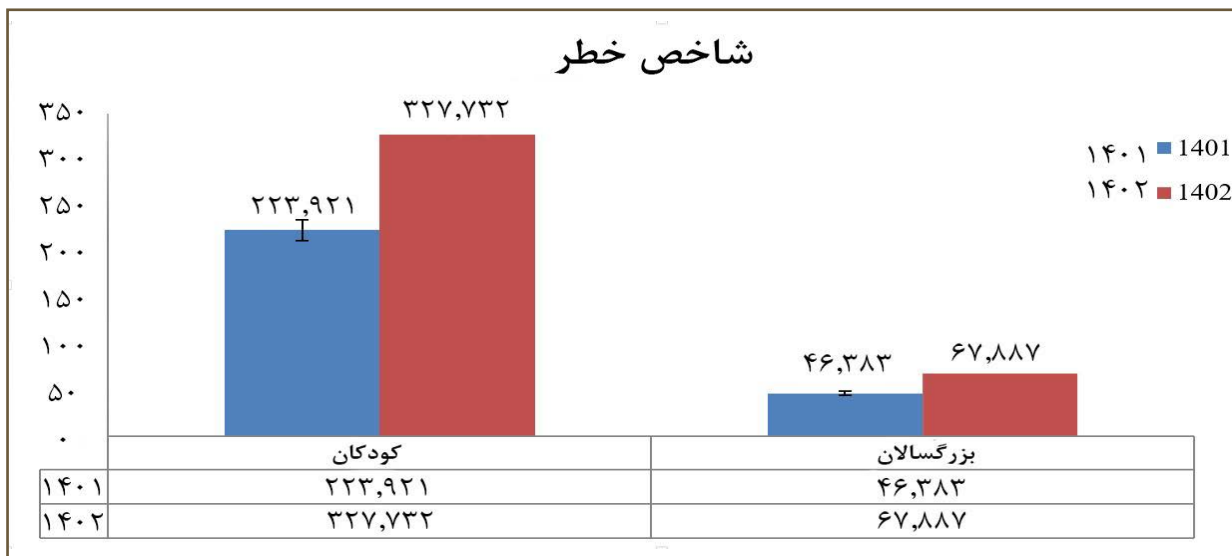
● شاخص خطرپذیری

قرار گرفتن در معرض دو یا چند آلاینده، ممکن است منجر به افزایش خطرپذیری شود. به‌طور کلی، سطح ایمن HI یک یا بالاتر از یک نشان‌دهنده احتمال خطرپذیری است که در این مطالعه با توجه به (شکل ۱) مصرف گندم وارداتی به استان خراسان، خطر غیرسرطان‌زایی برای انسان دارد و می‌تواند احتمال خطر ناشی از عناصر مورد مطالعه از طریق خوردن گندم برای هر دو گروه سنی به‌طور جدی وجود داشته باشد. در این پژوهش مقدار HI در کودکان ۵ برابر بیشتر از بزرگسالان است که نشان می‌دهد کودکان در معرض خطر بیشتری نسبت به بزرگسالان قرار دارند. مطالعه زانگ و همکاران در بررسی خطر سلامت جمعیت در شهر صنعتی هولادو^{۲۴} چین نشان می‌دهد که مقدار HI در هر دو گروه سنی کودک و بزرگسال، بالاتر از یک است، در این مطالعه نشان داده شد غلات و سبزیجات مهمترین منبع عناصر سنگین در بزرگسالان و کودکان بوده و میوه، شیر، گوشت و تخم‌مرغ منابع ثانویه دریافت فلزات سنگین هستند [۱۱] که نتایج این مطالعه را تایید می‌کنند.

گندم یکی از اصلی‌ترین غلات در سراسر جهان است که جزء مهمترین اقلام مصرفی سبد غذایی مردم ایران به شمار می‌رود. با توجه به اینکه تجمع‌پذیری چند آلاینده با هم می‌تواند در بدن باعث سرطان‌زایی شود، در جدول (۴) خطرپذیری بیماری‌های سرطانی (CR)، سرب، کادمیوم و همچنین خطر کل سرطانی (CRt) برای کودکان و بزرگسالان نشان داده شده‌است. اگر مقدار خطر کل سرطانی کمتر از 1×10^{-6} (احتمال سرطان یک نفر از یک میلیون نفر) باشد اثرات قابل توجهی بر سلامت انسان ندارد و می‌توان آن را نادیده گرفت در حالی که خطر کل سرطانی بیشتر از 1×10^{-4} غیر قابل قبول

و در محدوده غیر ایمن قرار می‌گیرد و برای سلامت انسان خطرناک است. مقدار خطر کل سرطانی بین محدوده 1×10^{-6} و 1×10^{-4} نشان‌دهنده این است که شرایط تحت کنترل است. در این پژوهش، بالاترین خطر سرطان‌زایی مربوط به کودکان برای فلز سرب در نمونه‌های گندم در سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ به ترتیب مقدار 1×10^{-2} و 1×10^{-2} و 1×10^{-2} به‌دست آمد، به دلیل این که کودکان عملکرد سم‌زدایی و سیستم ایمنی ضعیف‌تری نسبت به بزرگسالان دارند و از طرفی کودکان نسبت به وزن‌شان غذای بیشتری مصرف می‌کنند، بنابراین جذب فلزات بیشتری دارند.

یکی از مهم‌ترین عوامل به خطر افتادن سلامت انسان، قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین است؛ بر این اساس، مصرف گندم به‌عنوان قوت غالب مردم می‌تواند نقش مهمی در ابتلا به بیماری‌ها داشته باشد. طبق نتایج به‌دست آمده، غلظت فلزات در نمونه‌های گندم وارداتی در استان خراسان در مقایسه با حد مجاز استاندارد ملی ایران کمتر مشاهده شد. با توجه به ارزیابی شاخص‌های خطر (THQ-HI-CRt) و نتایج به‌دست آمده، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که خطرپذیری برای سرب و کادمیوم در گندم‌های آلوده، رو به افزایش است. زمانی این موضوع نگران‌کننده‌تر می‌شود که با وجود کمتر بودن ۱۰ برابری میزان خطر سرطان (CRt) در بزرگسالان نسبت به کودکان، همچنان خطر ابتلا به سرطان ناشی از مصرف گندم آلوده به فلزات سنگین قابل توجه و جدی است. بر این اساس، کنترل و پایش کیفیت گندم مصرفی (وارداتی و داخلی) و ارزیابی دوره‌ای میزان فلزات سنگین در کارخانجات آرد به شدت توصیه می‌شود و همچنین توجه به فرآیند واردات گندم از کشورهای در حال توسعه و توانمند در زمینه کنترل آلودگی فلزات سنگین ضروری است.



شکل (۱): مجموع شاخص خطرپذیری کل (HI) ناشی از مصرف گندم در استان خراسان ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲.

جدول (۴): میزان (CR) و (CRt) در فلزات سنگین سرب و کادمیوم به دست آمده برای کودکان و بزرگسالان ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲.

عامل	بزرگسالان		کودک	
	۱۴۰۱	۱۴۰۲	۱۴۰۱	۱۴۰۲
CR سرب	$2/517 \times 10^{-3}$	$3/805 \times 10^{-3}$	$1/214 \times 10^{-2}$	$1/836 \times 10^{-2}$
CR کادیوم	$2/560 \times 10^{-4}$	$3/520 \times 10^{-4}$	$1/234 \times 10^{-3}$	$1/701 \times 10^{-3}$
CRt	$2/772 \times 10^{-3}$	$4/157 \times 10^{-3}$	$1/338 \times 10^{-2}$	$2/007 \times 10^{-2}$

پی نوشت

1. Hazard Quotient (HQ)
2. cancer risk index (CR)
3. United States Environmental Protection Agency (USEPA)
4. Limit of Detection (LOQ)
5. Minitab
6. Environmental Protection Agency (EPA)
7. Estimated Daily Intake (EDI)
8. Estimated Weekly Intake (EWI)
9. Concentration (C)
10. Food Ingestion Rate (FIR)
11. Body Weight (BW)
12. Target Hazard Quotient (THQ)
13. Oral Reference Dose (RFD)
14. Daily Intake Metal (DIM)
15. Conversion Factor (CF)
16. Ingestion rate
17. Factor Intake (FI)
18. Exposure frequency (EF)
19. Exposure duration (ED)
20. Averaging Time (AT)
21. Hazardous Index (HI)
22. Consumption Rate Limit (CR)
23. Slope Factor (SF)
24. Huludao

نتیجه گیری

میزان فلزات سرب و کادمیوم دانه گندم در دو سال متوالی در استان خراسان مورد مطالعه قرار گرفت. براساس نتایج آماری، داده‌های غلظت سرب و کادمیوم در دو سال مورد مطالعه از توزیع نرمال برخوردار بود. میزان تجمع فلز سرب نسبت به کادمیوم بیشتر بوده که در تحقیقات عثمان و همکاران در سال ۲۰۱۲ با مقایسه فلزات سنگین سرب و کادمیوم در بخش‌های مختلف گندم (ریشه، برها و دان‌ها) جمع‌آوری شده در چندین منطقه پاکستان به این نتیجه رسیدند که میزان تجمع فلز سرب نسبت به کادمیوم بیشتر بود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت [۱۲]. در این پژوهش میانگین غلظت همه فلزات سنگین در گندم کمتر از بیشینه مقدار غلظت مجاز توصیه شده توسط سازمان ملی ایران است. با این وجود، میانگین فلزات سرب و کادمیوم به منظور محاسبه THQ و HI مورد استفاده قرار گرفت. در این راستا می‌توان به تحقیقات طبری و همکارانش اشاره کرد [۶]. یافته‌های حاصل از مقایسه عناصر سرب و کادمیوم دانه گندم بیشتر از حد مجاز استاندارد است، ولی با توجه به ارزیابی خطر (HQ) مشخص شد که میزان دریافت روزانه این فلز در حد مجاز است و یافته‌ها پتانسیل سرطان‌زایی برای انسان ندارند.

مراجع

- [1] Jawad, I. and Allafaji, S.H. 2012. The levels of trace metals contaminants in Wheat Grains, Flours and Breads in Iraq. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(10) 88-92.
- [2] FAO/WHO, 2011. Evaluation of certain food additives and contaminants. 73rd report of the joint FAO/WHO Expert committee on Food Additives
- [3] Brahman, k. D. Kazi, T. G. Afridi, H. I. Naseem, S. Arain, S.S. 2013. Evaluation of high levels of fluoride, arsenic species and other physicochemical parameters in underground water of two sub districts of Tharparkar, Pakistan: A. multivariate study. *Water research*, 47(3), 1005-20.
- [4] Calderon, R. J. Gaecia-Hernandez ... G. Valenzuela. 2023. Heavy metals and metalloids in organic and conventional vegetables from Chile and Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis*.
- [5] Toxicology, 1995. Simmons, J E. Chemical mixtures, challenge for toxicology and risk assessment. 105(3) 111-119.
- [6] Tabari Kochaksaraee, M. Salehi, A. 2011. Investigating effect of Irrigation urban sewage on the accumulation of heavy metals in Soil. *Journal of Environmental Science and Technology*. 13 (4) 49-59.
- [7] United States Environmental Protection Agency (USEPA), 2011. Risk Assessment Guidance for Superfund (Part E, Part F), EPA, Washington, DC, USA.
- [8] Ghajar Sepanlo, M. Sayadmanesh, M. Bahmanyar, M. A. 2016. Investigation of some heavy metals in soil and rapeseed plant in field under irrigation of Amol industrial complex waste water. *Water research in agriculture*, 29, 141-155.
- [9] Wang, X. T. Sato, B. Xing and S. Tao, 2005. Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish, *Sci. Total. Environ*, 350 (3) 28- 37.
- [10] Rasha, S. Ahmad and Mohamad, E. Abuarab, Ali Mokhtar. 2023. Assessment of environmental and toxicity impacts and potential hazards of heavy metals pollution of agricultural drainage adjacent to industrial zones in Egypt. *Chemosphere*, 137872.
- [11] Zheng, N. Q. Wang and D. Zheng. 2007. Health risk of Hg, Pb, Cd, Zn, and Cu to the inhabitants around Huludao Zinc Plant in China via consumption of vegetables, *Sci. Total Environ*, 383(3) 81-89.
- [12] Al-Othman, Z. A. Ali, R. Al-Othman, A. M. Ali, J. and Habila, M. A. 2012. Assessment of toxic metals in wheat crops grown on selected soils, irrigated by different water sources. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, 1555-1562.

نویسنده

دریاناز فرهمند بروجنی^{۱*}

۱. آزمایشگاه مرکزی دانشگاه اصفهان - اصفهان
 ۲. عضو کارگروه زیست فناوری و کارگروه فنی اندازه ذرات

*dfarahmand@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۰

اندازه‌گیری وزن مولکولی مولکول‌های زیستی با استفاده از تجهیزات تفرق نور پویا



واژه‌های کلیدی

مولکول‌های زیستی، تفرق نور پویا، وزن مولکولی، شعاع هیدرودینامیکی.

چکیده

پراکندگی نور پویا^۱ یک روش غیرتهاجمی رایج بین آزمایشگاه‌های دانشگاهی و صنعتی است که به سرعت، به بررسی کیفیت دقیق و قابل تکراری برای مطالعه مولکول‌های زیستی و غیر زیستی که به مقادیر بسیار کمی از نمونه نیاز دارد، می‌پردازد. این روش که با نام طیف‌سنجی همبستگی فوتون^۲ نیز شناخته می‌شود، ابزار بسیار قدرتمندی برای مطالعه رفتار انتشار مولکول‌های زیستی در محلول است. دستگاه تفرق نور پویا، ابزاری ساده و سریع برای تعیین وزن مولکولی است. این روش می‌تواند از روی شعاع هیدرودینامیکی نمونه‌های مختلف، وزن مولکولی آنها را مشخص کند و با استفاده از پراش ایستایی نور و همچنین به‌کارگیری نمونه‌های آماده‌سازی شده در غلظت‌های مختلف، فرآیند تعیین وزن مولکولی را انجام دهد. در این روش، یک محاسبه‌گر دمای تک زاویه‌ای وجود دارد که به کمک آن می‌توان اثرات زاویه‌ای را با استفاده از محاسبات ریاضی انجام داد. تعیین وزن مولکولی با استفاده از این تجهیز با سل مخصوص و استفاده از تولوئن به‌عنوان نمونه استاندارد قابل انجام است. روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری یا تخمین وزن مولکولی مولکول‌های زیستی در دسترس محققان است. با این حال، مهم است که بدانید آنها چگونه کار می‌کنند و کدام ابزار برای برنامه شما مفیدتر است. هدف از این مقاله، ارائه یک دید کلی به خواننده برای تعیین وزن مولکولی مولکول‌های زیستی با دستگاه تفرق نور پویا است.

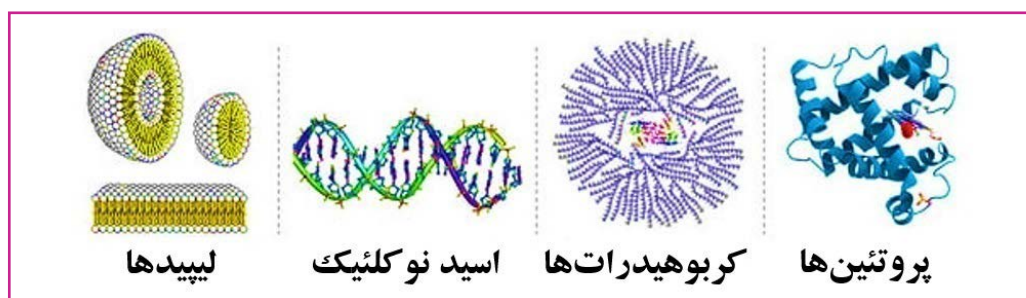
مولکول‌های زیستی^۳ در واقع مولکول‌هایی هستند که توسط موجودات زنده تولید می‌شوند. آنها ضروری‌ترین مولکول‌های آلی هستند که در فرآیندهای بقا و متابولیک موجودات زنده نقش دارند. مولکول‌های زیستی دارای طیف وسیعی از اندازه‌ها و ساختارها هستند، آنها از مولکول‌های کوچک مانند متابولیت‌های اولیه و ثانویه و هورمون‌ها تا درشت مولکول‌های بزرگ زیستی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها را شامل می‌شوند (شکل (۱)). این دسته از ترکیبات به استثنای لیپیدها، دارای وزن مولکولی در محدوده ده هزار دالتون و بالاتر هستند (جدول (۱)). به همین دلیل، مولکول‌های زیستی، یعنی ترکیبات شیمیایی موجود در موجودات زنده به دو دسته تقسیم می‌شوند، دسته اول آنهایی که وزن مولکولی کمتر از یک هزار دالتون دارند و به‌طور معمول به‌عنوان میکرومولکول یا به زبان ساده مولکول زیستی نامیده می‌شوند؛ در حالی که دسته دوم آنهایی هستند که ماکرومولکول یا ماکرومولکول زیستی نامیده می‌شوند.

وزن مولکولی^۴ یک مولکول زیستی ارتباط نزدیکی با خواص زیستی، فیزیکی و شیمیایی آن دارد و این بدان معنی است که اندازه‌گیری وزن مولکولی یکی از عوامل کلیدی برای تعیین ویژگی‌های مولکول‌های زیستی و توصیف آنها است. روش‌های پراکندگی نور غیرتهاجمی، به ویژه روش‌های نوری مانند تفرق نور پویا و تفرق نور استاتیک^۵ داده‌هایی را در مورد مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، پلی ساکاریدها، الیگونوکلوئیدها، آنتی‌بادی‌ها و همچنین مجموعه‌ها و موجودات بزرگ‌تر متشکل از آنها، ارائه می‌کنند که امروزه تکمیل کننده روش‌های دیگری برای تخمین و یا تعیین وزن مولکولی مانند کروماتوگرافی ژل تراوایی^۶، الکتروفورز ژل، طیف‌سنجی جرمی زمان پرواز^۷ و سانتریفیوژ اولترا است [۱].

بیشتر اوقات، مولکول‌های زیستی بزرگ به‌عنوان تابعی از دما، pH، قدرت یونی و غلظت تجمع می‌یابند. این اثرات باعث تغییراتی ساختاری در ساختار مولکول می‌شود که می‌تواند عملکرد زیست مولکول‌ها را تغییر دهد. درک این بینش‌ها در تحقیق، توسعه، تولید فرآیند و کنترل کیفیت زیست مولکول‌های امروزی اساسی است [۲].

جدول (۱): انواع ملکول‌های زیستی و وزن ملکولی آنها [۱].

ردیف	نوع	محدوده وزن ملکولی
۱	آمینو اسیدها	۱۰۰-۲۰۰ دالتون
۲	لیپیدها	۷۵۰-۱۵۰۰
۳	پلی ساکاریدها	در حدود میلیون
۴	کربوهیدرات‌های کوچک	۱۰۰-۲۰۰
۵	پروتئین‌ها	چندین هزار تا بیش از یک میلیون
۶	نوکلوئیدها	چند صد دالتون
۷	اسیدهای نوکلئیک (DNA-RNA)	بیش از چند بلیون
۸	میوگلوبین	در حدود ۱۶/۷۰۰ دالتون
۹	آمیلوپکتین	بیش از ۱۰۰ میلیون
۱۰	اشرشیاکلی	$۲/۵ \times ۱۰^۶$



شکل (۱): انواع مولکول‌های زیستی [۱۴].

فناوری پراکندگی نور

تئوری پراکندگی ثابت شدت نور

پراکندگی نور پویا تحقیقی جدید و ابزار کنترل کیفیت برای توصیف فناوری‌های زیست مولکولی در قرن ۲۱ است [۱]. اندازه‌گیری وزن ملکولی و اندازه مولکول‌ها مهم است چرا که در کاربردهای صنعتی، برای کنترل کیفیت و ارزیابی همگنی نمونه، تعیین اندازه ذرات، بررسی اثر تیمارهای فیزیکی و شیمیایی، بررسی اتصال لیگاندها، مطالعه برهم‌کنش‌های بین مولکول‌های زیستی، کنترل سرعت رهاسازی و تخریب پلیمرهای مورد استفاده در دارورسانی، بهبود حس چشایی پلی‌ساکاریدها در محصولات غذایی، هم برای صنایع مصرفی و هم برای طراحی و تولید صنعتی، دانستن اندازه مولکولی و وزن مواد می‌تواند تأثیر عمیقی بر طراحی و ساخت محصولات جدید و موجود داشته باشد.

پراکندگی نور پویا روشی غیرتهاجمی [۱] و رایج بین آزمایشگاه‌های دانشگاهی و صنعتی است که به سرعت، به بررسی کیفیت دقیق و قابل تکرار برای مطالعه مولکول‌های زیستی و غیر زیستی که به مقادیر بسیار کمی از نمونه نیاز دارد، می‌پردازد. این روش که با نام طیف‌سنجی همبستگی فوتون نیز شناخته می‌شود، ابزار بسیار قدرتمندی برای مطالعه رفتار انتشار مولکول‌های زیستی در محلول است. ضریب انتشار و در نتیجه، شعاع هیدرودینامیکی محاسبه شده از آن، به اندازه و شکل مولکول‌ها بستگی دارد [۳]. این دستگاه می‌تواند از روی شعاع هیدرودینامیکی نمونه‌های مختلف، وزن مولکولی آنها را مشخص کند و با استفاده از پراش ایستایی نور و همچنین به‌کارگیری نمونه‌های آماده‌سازی شده در غلظت‌های مختلف، فرآیند تعیین وزن مولکولی انجام می‌شود. در این دستگاه یک محاسبه‌گر دبی تک زاویه‌ای نیز وجود دارد که به کمک آن می‌توان اثرات زاویه‌ای را با استفاده از محاسبات ریاضی انجام داد.

هنگامی که یک پرتو لیزر پلاریزه و مونوکروم از یک حلال حاوی مولکول‌های زیستی عبور می‌کند، بسته به عوامل نوری سیستم، بخشی از نور، پراکنده خواهد شد. این نور پراکنده ممکن است چه از نظر شدت و چه از نظر نوسانات آن مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد. نور اضافی پراکنده شده توسط مولکول‌ها با زاویه نسبت به پرتو پراکنده شده توسط حلال به تنهایی به‌طور مستقیم متناسب با وزن مولکولی برابر با غلظت زیست مولکول است [۱].

برای بیشتر مولکول‌های زیستی، زاویه جمع‌آوری منفرد ۹۰ درجه، تنها چیزی است که برای تعیین وزن مولکولی دقیق ضروری است؛ به شرطی که غلظت و ضریب شکست مشخص باشد. برای مولکول‌های بسیار بزرگ که به‌طور عمومی بزرگ‌تر از ۸۰۰ کیلو دالتون وزن دارند، جمع‌آوری نور لیزر پراکنده در دو زاویه ۹۰ و ۱۵ درجه، وزن مولکولی دقیق و محاسبه شعاع ژیراسیون^۸ را فراهم می‌کند [۱].

تعیین وزن مولکولی با سل یا کوت مخصوص آزمایش که می‌تواند از جنس شیشه‌ای و یا کوارتزی باشد، قابل انجام است و در بیشتر مواقع از تولوئن به‌عنوان نمونه استاندارد، برای انجام این آزمایش استفاده می‌شود.

در روش تفرق نور پویا و یا DLS برای تعیین وزن مولکولی نمونه، از روشی به نام پراکندگی ثابت شدت نور استفاده می‌شود. نور مرئی از منبع تابش به نمونه که نانوذرات معلق موجود در سوسپانسیون هستند، برخورد می‌کند و بعد از برخورد، از سطح ذرات متفرق می‌شود. به‌دلیل وجود حرکت براونی نانوذرات معلق در سوسپانسیون و جابجایی آنها به‌طور پیوسته، میزان پراکندگی ثابت شدت نور که با شناساگرهای دستگاه ثبت شده، در هر زمان متغیر است. لازم به ذکر است شدت پراکندگی متغیر نور، همان عاملی است که این دستگاه با استفاده از آن می‌تواند توزیع اندازه نانوذرات سوسپانسیون مورد آزمایش را نیز اندازه‌گیری کند. به میانگین شدت پراکندگی متغیر نور در یک بازه زمانی (به‌عنوان مثال، ۶۰ ثانیه‌ای)، شدت پراکندگی ثابت نور گفته می‌شود که برای تعیین وزن مولکولی و ضریب ویرال در روش تفرق نور پویا مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴].

اما چگونه پراکندگی نور با اندازه و وزن مولکولی نمونه مرتبط است؟ با استفاده از پراکندگی ثابت شدت نور در غلظت‌های مختلف سوسپانسیون حاوی نانوذرات مورد آزمایش، می‌توان وزن مولکولی آنها را با استفاده از معادله ریلی محاسبه نمود [۵]. معادله ریلی^۹ در واقع به ما می‌گوید که چگونه شدت و زاویه نور پراکنده با اندازه و وزن یک مولکول مرتبط است. مولکول‌هایی که اندازه بزرگ‌تر و یا وزن مولکولی بالاتری دارند نسبت به مولکول‌های سبک‌تر و یا کوچک‌تر، نور بیشتری را پراکنده می‌کنند. علاوه‌بر این، یک رابطه خطی بین شدت نور پراکنده شده، افزایش وزن مولکولی و یک رابطه غیرخطی با اندازه یک مولکول وجود دارد. بنابراین، از نظر ریاضی، اگر همه عوامل معادله ریلی (رابطه (۱)) را بدانیم، می‌توانیم شدت نور پراکنده را برای محاسبه وزن مولکولی نمونه اندازه‌گیری کنیم:

$$\frac{KC}{R_{\theta}} = \left(\frac{1}{M_w} + 2A_2C \right) \frac{1}{P_{\theta}} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در آن:

(R_{θ}): نسبت ریلی (نسبت نور پراکنده شده به نور ساطع شده)، (M): وزن مولکولی نانوذرات، (A_2): ضریب دوم ویرال، (C): غلظت، (P_{θ}): وابستگی شدت پراکندگی نور متفرق شده از نمونه آزمایشی به زاویه تابشی فوتون و (K): ثابت اپتیکی است که تابعی به‌صورت رابطه (۲) برای آن تعریف شده‌است:

$$K = \frac{4\pi^2}{\lambda_0^4 N_A} \left(n_0 \frac{dn}{dc} \right)^2 \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در آن:

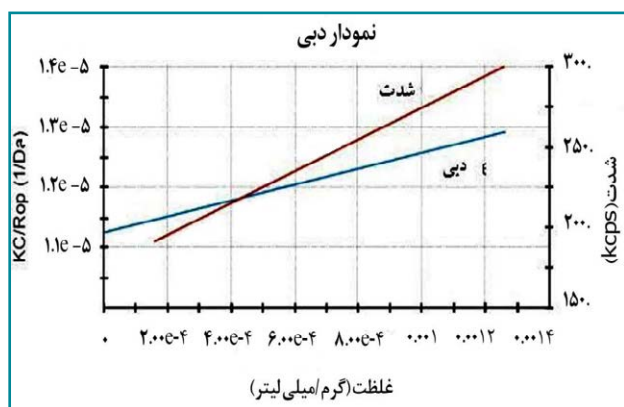
(N_A): ثابت آووگادرو، (λ_0): طول موج نور متفرق شده، (n_0): ضریب شکست دیسپرسانت و ($\frac{dn}{dc}$): تغییرات ضریب شکست به تغییرات غلظت است.

یک است و می‌توان از آن در معادله ریلی، صرف نظر کرد. برای نمونه‌هایی با اندازه ذرات کوچک، معادله ریلی به صورت رابطه (۴) ساده شده و در واقع، شدت پراکندگی تقریبی، جایگزین شدت پراکندگی ریلی می‌شود.

$$R_{\theta} = \frac{I_A n_0^2}{I_T n_T^2} R_T \quad \text{رابطه (۴)}$$

نمودار دبی^{۱۱}

شدت پراکندگی نور متفرق شده از نمونه آزمایشی، با غلظت سوسپانسیون نمونه مورد آزمایش و همچنین وزن مولکولی آن تناسب دارد. در این روش برای به دست آوردن وزن مولکولی نمونه، شدت پراکندگی نور متفرق شده در غلظت‌های مختلف از نمونه مورد نظر و در یک زاویه اندازه‌گیری می‌شود. سپس تغییرات شدت پراکندگی نور در غلظت‌های مختلف با شدت پراکندگی نور متفرق شده از نمونه استاندارد تولوئن مقایسه می‌شود. با توجه به نتایج به دست آمده، می‌توانیم وزن مولکولی نمونه را تعیین کنیم. نمودار حاصل از این مقایسه را نمودار دبی می‌نامند که در شکل (۳) نشان داده شده است [۴].



شکل (۳): نمودار دبی غلظت بر شدت پراکندگی نور [۴].

آماده‌سازی نمونه

یکی از اصلی‌ترین و مهم‌ترین مراحل انجام آزمون با روش تفوق نور پویا، آماده‌سازی نمونه است؛ برای استفاده از این آزمون، تعیین وزن مولکولی هم دارای نکات ویژه‌ای است که به آن اشاره می‌کنیم. به دلیل این که نتایج به دست آمده در آزمون اندازه‌گیری وزن مولکولی به شدت نسبت به گرد و غبار و آلودگی حساس هستند، یکی از سخت‌ترین کارها در این آزمون، مراقبت از نمونه تهیه شده در برابر آلودگی است و نیاز به تهیه نمونه‌های تمیز و عاری از گرد و غبار است [۶]. علاوه بر این، در این آزمون، به هیچ وجه نباید از کووت‌های یکبار مصرف پلی استایرنی که به آسانی روی سطح آنها خش ایجاد می‌شود، استفاده نمود.

نسبت ریلی یا R_{θ}

برای تعیین نسبت ریلی، نمونه استاندارد مورد نیاز است و به‌طور معمول برای اندازه‌گیری وزن مولکولی از طریق روش تفوق نور پویا، از تولوئن که تغییرات ناچیزی به نسبت ریلی، در دماها و طول موج‌های مختلف دارد، به عنوان نمونه استاندارد استفاده می‌شود. با داشتن نسبت ریلی نمونه استاندارد و با استفاده از رابطه (۳) می‌توان ضریب ریلی نانوذرات مورد آزمایش را به دست آورد:

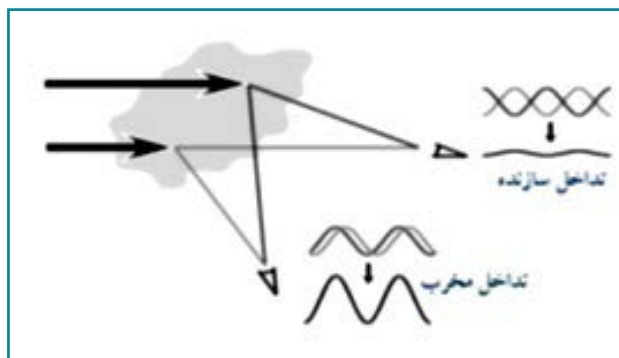
$$R_{\theta} = \frac{I_A n_0^2}{I_T n_T^2} R_T \quad \text{رابطه (۳)}$$

که در آن:

(I_A) : شدت پراکندگی نور باقیمانده، (I_T) : شدت پراکندگی نور در تولوئن، (n_0) : ضریب شکست دیسپرسانت، (n_T) : ضریب شکست تولوئن و (R_T) : ضریب ریلی تولوئن است.

وابستگی زاویه‌ای شدت پراکندگی ریلی یا R_{θ}

اندازه شدت پراکندگی نور به زاویه‌ای که شناساگر به امتداد تابش نور دارد، وابسته است. برطبق شکل (۲)، با بررسی شدت پراکندگی فوتون‌های متفرق شده، می‌توان به این مطلب پی برد که اندازه شدت پراکندگی این ذره از دو زاویه مختلف با هم تفاوت دارد و جواب به دست آمده برای اندازه شدت پراکندگی، دو اندازه مختلف است. از یک زاویه، شدت تفوق فوتون‌های برخورد کننده با ذره با هم جمع می‌شوند و از زاویه دیگر، باعث خنثی شدن یکدیگر شده‌اند. به این پدیده که موجب تغییر در شدت پراکندگی نور فوتون‌های متفرق شده از نمونه آزمایش در زوایای مختلف می‌شود، پراکندگی می^{۱۰} گفته می‌شود و زمانی که اندازه ذرات به قدری بزرگ باشند که فوتون‌های متعددی با این ذره برخورد کنند، اتفاق می‌افتد.

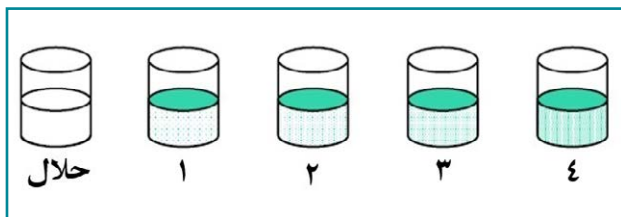


شکل (۲): محل قرارگیری شناساگر در دو زاویه مختلف [۴].

در صورتی که ذرات موجود در سوسپانسیون خیلی کوچک باشند، وابستگی زاویه‌ای شدت پراکندگی نور نزدیک به عدد

روش کار دستگاه DLS برای اندازه‌گیری وزن ملکولی

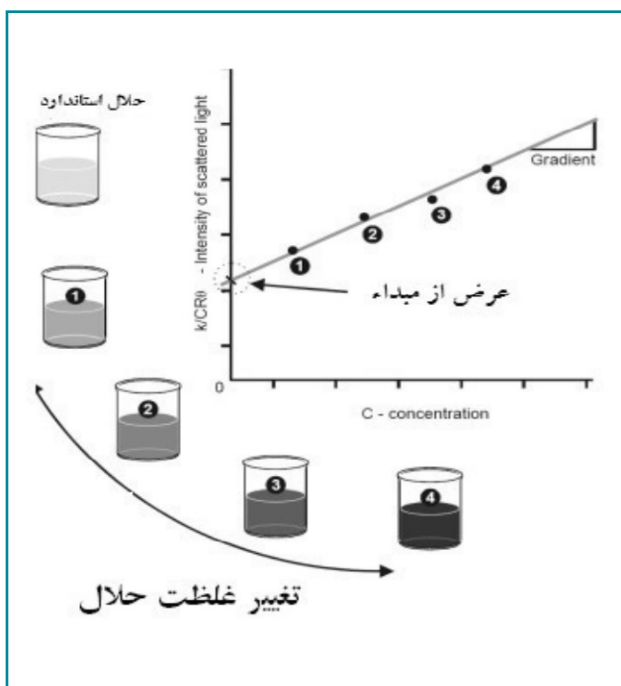
برای به‌دست آوردن وزن مولکولی با دستگاه، نیاز به تهیه سوسپانسیون‌هایی با غلظت‌هایی بر حسب گرم بر میلی‌لیتر از نمونه است (شکل (۴)). همان‌طور که قبلاً اشاره شد، می‌توان برای افزایش اطمینان از نتیجه به‌دست آمده، سوسپانسیون‌هایی با غلظت‌های بالاتر هم تهیه نمود.



شکل (۴): آماده‌سازی غلظت‌های مناسب [۱۳].

با توجه به شکل (۵) می‌توان نتیجه گرفت که غلظت سوسپانسیون با شدت پراکندگی نور رابطه مستقیم دارد و همچنین با افزایش غلظت شدت پراکندگی نور در نمونه زیاد می‌شود، چنانچه شدت پراکندگی نور تنها از یک زاویه ثبت شود، نسبت به غلظت باید به‌صورت خطی باشد.

درنهایت، با داشتن نسبت (K_C/R_9) ، نمودار اندازه شدت پراکندگی نور در غلظت صفر که به کمک نمودار دبی قابل محاسبه است و نقطه تلاقی نمودار دبی با محور y ها و استفاده از معادله ریلی، می‌توان وزن مولکولی نمونه مورد نظر را محاسبه کرد. لازم به ذکر است که ضریب ویریل نیز از روی شیب نمودار دبی قابل محاسبه است [۴].



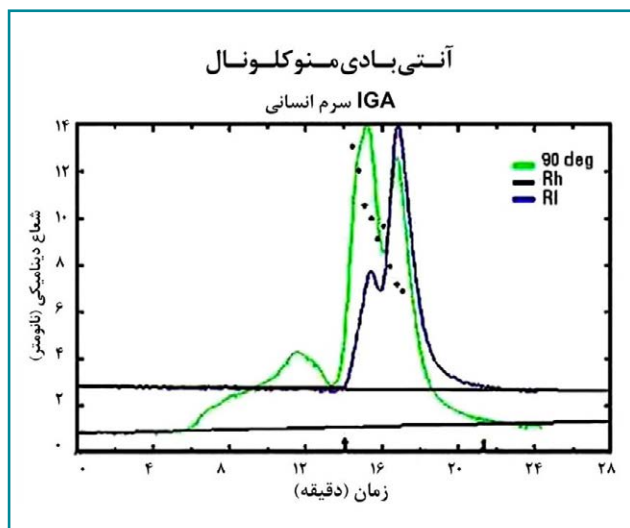
شکل (۵): تصویر نمودار دبی نمونه مورد آزمایش در آزمون وزن مولکولی [۴].

غلظت نمونه آماده‌سازی شده برای انجام آزمون‌های مختلفی که با این دستگاه انجام می‌شود، دارای محدودیت‌هایی است که بیشتر و یا کمتر بودن آن نسبت به محدوده غلظت تعیین شده، می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در نتایج به‌دست آمده از دستگاه داشته باشد و بهتر است در چندین غلظت مختلف تهیه شود. فراموش نکنید که محدوده غلظت در نمونه‌های آماده‌سازی شده برای آزمون تعیین وزن مولکولی، با توجه به عواملی که قبلاً به آنها اشاره شد، یعنی نرخ پرتوهای تفرق یافته تعیین می‌شود. نرخ پرتوهای تفرق یافته نمونه‌های تهیه شده در پایین‌ترین غلظت برای انجام این آزمون، باید حداقل ۳۰ درصد بیشتر از نرخ پرتوهای تفرق یافته محیط، بدون وجود ماده مورد بررسی، یعنی دیسپرسانت و یا حلال خالص باشد [۷]؛ بنابراین، ترجیحاً دانستن حداقل غلظت زیست ملکول‌های مورد نیاز برای اندازه‌گیری DLS مفید است. همچنین در صورت نیاز، اندازه‌گیری‌های DLS می‌توانند در غلظت‌های بالاتر تکرار شوند [۸]؛ غلظت‌های پیشنهاد شده به‌طور معمول بین ۱-۰/۲۵ گرم بر لیتر است. مورد مهم بعدی، دیسپرس شدگی یکنواخت ذرات موجود در دیسپرسانت، برای انجام آزمون، از اهمیت زیادی برخوردار است. تجهیزاتی نظیر ترازو، دستگاه اولتراسونیک و همزن برقی می‌توانند به کاربر در تهیه نمونه‌ای با کیفیت بالا کمک کنند. سعی کنید دیسپرسانت و حلال را قبل از آزمون و با استفاده از غشاهایی با اندازه $0.1 \mu m$ فیلتر کنید [۹]؛ این امر برای برطرف شدن آلودگی‌های احتمالی موجود در آنها ضروری است. رعایت نکردن حذف آلودگی نمونه آماده‌سازی شده، می‌تواند در نتایج به‌دست آمده موثر باشد.

از تولوئن با درجه اسپکتروفتومتری استفاده نمایید. در ابتدا کووت را با تولوئن شستشو دهید و در صورت امکان از یک اشاره‌گر لیزری برای جستجوی لکه‌های گرد و غبار استفاده کنید. اگر آنها آشکار باشند، تولوئن باید فیلتر شود [۹].

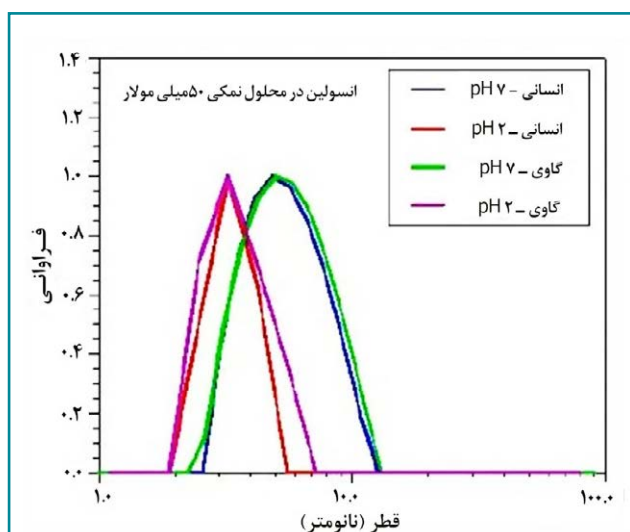
برای تهیه یک نمونه آزمایشی مناسب، رعایت تمام نکات مهم در مرحله آماده‌سازی و به‌کارگیری دقت زیاد در تمامی مراحل، امری لازم و ضروری است و هر اشتباهی در مرحله آماده‌سازی می‌تواند سبب به وجود آمدن خطا در نتایج آزمون انجام شده شود. در پایان باید به این نکته اشاره کرد که تجربه کاربری ماهر، می‌تواند مشکلات به وجود آمده در این مرحله که متناسب با نمونه مورد آزمایش است، را به خوبی برطرف کند. توجه داشته باشید که برای وزن مولکولی کاملاً ناشناخته، انتخاب غلظت، کاملاً نادرست است. اگر سیگنال خیلی ضعیف است، با غلظت‌های بالاتر تکرار کنید. اگر سیگنال بیش از حد قوی است، با غلظت‌های پایین‌تر تکرار کنید. توجه داشته باشید که مقدار dn/dc در محاسبات ضروری است. از پیش فرض‌های نرم‌افزار استفاده نکنید. اگر لازم است، بدانید که 0.15 برای پلیمرهای مصنوعی در حلال آلی و 0.185 برای مولکول‌های زیستی (به‌عنوان مثال، پروتئین) در آب استفاده کنید. مقدار dn/dc به جفت پلیمر/حلال برای یک طول موج خاص بستگی دارد (به راهنمای دستگاه خود مراجعه کنید) [۹].

مثالی کاربردی در زیست فناوری



شکل (۶): آنتی‌بادی مونوکلونال انسانی [۱].

مثال خوب دیگر برای نشان دادن ارزش تخمین‌های وزن مولکولی مبتنی بر DLS، ارزیابی ساختار چهارتایی انسولین است که در شکل (۷) نشان داده شده است. در pH (۲)، انسولین ساختار دیمری با وزن مولکولی شناخته شده ۱۱/۴ kDa دارد. شعاع هیدرودینامیک در pH (۲) برابر با ۱/۷ نانومتر است که با وزن مولکولی ۱۲/۱ کیلو دالتون با استفاده از منحنی کالیراسیون پروتئین کروی سازگار است. در pH (۷)، انسولین ساختار چهارتایی هگزامر با وزن مولکولی شناخته شده ۳۴/۲ kDa دارد. شعاع در pH (۷) برابر ۲/۷ نانومتر است که با وزن مولکولی تخمین زده شده ۳۴/۱ کیلو دالتون، به‌طور تقریبی با مقدار شناخته شده یکسان است.



شکل (۷): توزیع اندازه انسولین انسانی و گاوی در pH (۲) و (۷). اندازه‌گیری شده با سیستم نانوازار مالورن [۱۲].

حوزه زیست فناوری برای تعیین وزن مولکولی به سرعت افزایش یافته است و الزامات برای یک تصویر کامل از رفتار زیست‌مولکول‌ها در محلول، نه تنها برای درک آکادمیک، بلکه از دیدگاه نظارتی برای ایمنی و کارایی حیاتی است. به‌عنوان مثال، داروهای زیستی مانند اینترفرون که در درمان هپاتیت مزمن استفاده می‌شود، لازم است که توده‌های مولی بالاتر از توده‌های کلیوی باشند تا نیمه عمر و در نتیجه کارایی دارو افزایش یابد. در صنعت داروسازی حوزه بزرگی از علاقه‌مندی‌ها به سمت درمان و تشخیص‌های پروتئین‌هایی مانند آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و mAb سوق دارد که می‌توان برای اهداف خاصی همچون درمان و کاهش بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان و یا حتی آرتروز، از آنها کمک گرفت [۱۰].

از دستگاهی با قابلیت تفوق نور، برای شناسایی و تعیین کمی الیگومرها و تجمع آنها هنگام مطالعه زیست‌مولکول‌های محلول حیاتی مانند پروتئین‌ها، پلی پپتیدهای بزرگ، پلی ساکاریدها، الیگونوکلوئیدها و آنتی‌بادی‌هایی که وزن مولکولی آنها به‌طور عمومی بیشتر از ۱۰ کیلو دالتون است، می‌توان استفاده نمود [۱].

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال یکی از مولکول‌های مهم زیستی است که به دلیل پیچیدگی و تغییرات ظریف در فعالیت زیستی به‌عنوان تابعی از تغییرات همساز قلمداد می‌شوند. تغییرات ساختاری ساده ناشی از تغییرات گلیکوزیل‌اسیون می‌تواند اثرات دارویی و ایمنی‌زایی قابل توجهی ایجاد کند. استفاده از روش پراکندگی نور پویا، برای مشخص کردن آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، امکان محاسبه «بلادرنگ» شعاع هیدرودینامیک را می‌دهد و توزیع وزن مولکولی آنتی‌بادی مونوکلونال را فراهم می‌کند. شکل (۶) یک آنتی‌بادی مونوکلونال انسانی را نشان می‌دهد که با استفاده از کروماتوگرافی اندازه طردی^{۱۲} با الوتاسیون مستقیم به یک آشکارساز پراکندگی نور دینامیک جدا شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود DLS حساسیت بالاتری نسبت به مولفه وزن مولکولی بزرگ‌تر با مقادیر مرتبط Rh دارد. تغییرات Rh به‌عنوان تابعی از شرایط مختلف (pH، دما، غلظت و غیره) به محققان اجازه می‌دهد تا فعالیت دارویی را بهتر درک کنند و به قسمت‌های کنترل کیفیت اجازه می‌دهد تا سازگاری محصول یا فرآیند خود را برای ارائه‌های نظارتی تضمین کنند [۱].

وزن ملکولی زیست ملکول‌ها را می‌توان با دستگاه DLS تخمین زد، اما به‌عنوان یک برآوردگر وزن ملکولی توصیه نمی‌شود و باید از این روش با احتیاط استفاده شود [۸]. روش پراکندگی نور پویا را می‌توان به راحتی به ابزارهایی نظیر کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^{۱۳}، کروماتوگرافی مایع پروتئینی سریع^{۱۴} و کروماتوگرافی ژل تراوایی^{۱۵} که در حال حاضر تعیین وزن ملکولی زیست ملکول‌ها را انجام می‌دهند، اضافه کرد تا این تشخیص با حساسیت بالا همراه با تعیین شعاع هیدرودینامیک^{۱۶}، بینش‌های جدیدی را در مورد ترکیب و سازگاری زیست ملکول‌های مدرن فراهم کند. استفاده از ترکیب پراکندگی نور استاتیک و دینامیک در یک سلول، ابزار جدیدی برای به‌دست آوردن اطلاعاتی برای زیست ملکول‌ها فراهم می‌کند. این بینش‌ها به بخش‌های تحقیقاتی برای توسعه ترکیبات فعال دارویی بهبود یافته و بخش‌های کنترل کیفیت برای کنترل بهتر سازگاری محصول تجاری شده کمک خواهد کرد [۱].

با دستگاه آنالایزر نانوذرات مدل SZ-۱۰۰ از برند هوربیا می‌توان وزن ملکولی متوسط را با استفاده از روش DLS یا تفرق نور پویا اندازه‌گیری کرد. فراموش نکنید برای این آزمون از زاویه ۹۰ درجه شناساگر و کووت‌های چهار طرف شفاف استفاده کنید. باید نمونه با غلظت‌های مختلف را تهیه نموده و به همراه یک نمونه استاندارد برای آزمون استفاده کنید. ماده استاندارد تولوئن با ضریب شکست ۱/۴۹۶ و نسبت ریلی $RT = 1/35 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ است. در این دستگاه با استفاده از معادله ریلی، وزن ملکولی و ضریب دوم ویریا محاسبه می‌شود [۴]. اندازه‌گیری در محدوده 1×10^3 تا 2×10^7 گرم بر مول یا دالتون و با دقت ± 10 درصد قابل دستیابی است.

پی‌نوشت

1. Dynamic light scattering (DLS)
2. Photon correlation spectroscopy (PCS)
3. Biomolecules
4. Molecular Weight
5. Static Light Scattering (SLS)
6. Gel permeation chromatography (GPC)
7. MALDI coupled to time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)
8. Radius of gyration (Rg)
9. Rayleigh theory
10. Mie theory
11. Debye plot
12. Size exclusion chromatography (SEC)
13. High-performance liquid chromatography (HPLC)
14. Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC)
15. Gel Permutation Chromatography (GPC)
16. Hydrodynamic radius (RH)

مراجع

- [1] J. P. Helfrich, Precision Detectors Inc, Static And Dynamic Light Scattering for Determining Absolute Molecular Weight And Hydrodynamic Radius Of Biomolecules. Pharmaceuticalonline, 1999.
- [2] S.E. Harding, Determination of Diffusion Coefficients of Biological Macromolecules by Dynamic Light Scattering, Methods in molecular biology, 22(1994),97-108.
- [3] C. Rochas, E.Geissler, Measurement of Dynamic Light Scattering Intensity in Gels. Macromolecules, American Chemical Society, 2014, Macromolecules, 47 (22), pp.6. 10.1021.
- [4] D.Gharailou, S.Moraddeh, Determination of molecular weight by Dynamic Light Scattering (DLS), Iranian journal of Laboratory Knowledge Volume 3, Issue 2, summer 2015, No.10.
- [5] How to measure molecular weight and size using light scattering detectors, Bimolecular Science-Guide, Sep 2017.
- [6] B.Lorber, Analytical light scattering methods in molecular and structural biology: Experimental aspects and results, doi.org/10.48550/arXiv:1810.00611.
- [7] D.Gharailou, S.Moraddeh, Sample preparation techniques in DLS , Iranian journal of Laboratory Knowledge Volume 3 , Issue 3 ,Fall 2015 , No.11.
- [8] G. E. O. Borgstahl , How to Use Dynamic Light Scattering to Improve the Likelihood of Growing Macromolecular Crystals, Methods Mol Biol, 2007:363:109-29.
- [9] Molecular weight measurement using Dynamic Light Scattering equipment, Technical note, NT01-Molecular Weight_EN_V01.
- [10] B.MacCreath, G.Cleaver, and G.Saunders, SEC-Light Scattering for Biomolecular Characterisation, Chromatography Today, 2011.
- [11] D. w louda, Overview of biomolecules, College of Medicine, Florida Atlantic University, 2012.
- [12] Can The MW Be Measured With Dynamic Light Scattering? frequently asked question, Malvern Instruments.
- [13] U. Nobbmann, Protein sizing by light scattering, molecular weight and polydispersity, www.malvern.co.uk/proteins.
- [14] <https://byjus.com/biology/biomolecules/>

نویسندگان

اسما گلماکانی^{۱*}، فهیمه محمودی^۱^۱. کارشناس آزمایشگاه مرکزی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد

*asmagolmakani@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۴



واژه‌های کلیدی

پلاسمای سرد، مواد غذایی، محصولات کشاورزی، بار میکروبی.

کاربرد پلاسمای سرد در کشاورزی و مواد غذایی

چکیده

مدیریت ایمنی و کیفیت محصولات غذایی در سراسر زنجیره غذایی برای جلوگیری از فساد و افزایش تولید ضروری است. پیشرفت‌های فوق‌العاده در بخش کشاورزی و فرآوری مواد غذایی برای برآوردن نیازهای غذایی انجام شده که بعضی از فرآورده‌های شیمیایی و حرارتی فوری مورد استفاده برای تضمین بهداشت و ایمنی محصولات دارای معایبی هستند. پلاسمای سرد، جایگزینی مناسب برای بیشتر مسائل از جمله آلودگی خاک، آب، فساد میکروبی، هجوم حشرات و خواب طولانی مدت بذر، ماندگاری مواد غذایی و غیره است. پلاسمای سرد از نظر حفظ کیفیت و ایمنی محصولات، افزایش جوانه‌زنی، افزایش کارایی استخراج، افزایش رشد گیاه، حذف آلاینده‌های خطرناک از آب، خاک و محصولات کشاورزی به‌طور قابل توجهی بر زنجیره کشاورزی غذایی تأثیرگذار است. برهم‌کنش پلاسمای سرد با محصولات غذایی، میکروب‌ها، آلرژن‌ها، سموم، آنتی‌بیوتیک‌ها بسته به نوع، رقم، رطوبت و ماهیت آفت‌کش‌ها، میکروب‌ها، آلاینده‌های شیمیایی و غلظت اولیه آنها متفاوت است. ترکیب گاز، سرعت جریان گاز، سطح توان، فرکانس، زمان مواجهه با پلاسمای سرد و نوع محفظه پلاسمای بسته به نوع محصول متغیر است. مزایای بالقوه از قبیل طبیعت غیرسمی، هزینه‌های عملیاتی پایین، کاهش قابل توجه مصرف آب طی فرآیندهای ضدعفونی، امکان کاربرد آن برای محصولات غذایی متنوع، تولید در محل، فرآیند پلاسمای را پایدارتر و توجه زیادی را به خود جلب کرده است.

با افزایش علاقه به تغذیه سالم و رژیم‌های غذایی، تقاضا برای غذای فرآوری نشده افزایش یافته است. همان‌طور که می‌دانیم غذاها سریع از طریق انواع میکروارگانیسم‌هایی که فاقد ایمنی میکروبیولوژیکی باشند آلوده می‌شود که همین امر موجب ایجاد بیماری‌های متفاوت می‌شود [۱]. روش‌های غیرفعال‌سازی حرارتی از جمله پاستوریزه کردن، اتوکلاو کردن، گرمایش اهمی، کنسرو کردن و استریل کردن با بخار برای از بین بردن انواع باکتری‌ها، پاتوژن‌ها و قارچ‌ها استفاده می‌شوند [۲]. در حالی که همه این روش‌ها موفقیت‌آمیز و کارآمد هستند، معایب آنها شامل از دست دادن ارزش تغذیه‌ای، تغییر کیفیت حسی و کاهش کیفیت عملکردی مواد غذایی است [۳]. فرآیندهای جدید پردازش سرد و یا فرآیندهای غیر حرارتی از جمله اوزن، اشعه ماوراء بنفش، میدان الکتریکی پالس، فشار هیدرواستاتیک بالا، تابش، اولتراسوند و غیره برای غلبه بر مشکلات ذکر شده معرفی شده‌اند اما این فناوری‌ها نیز دارای معایبی همچون تجهیزات گران قیمت، تخصصی و کارکنان حرفه‌ای هستند [۴].

فرآیندهای غیر حرارتی در صنایع غذایی به مجموعه‌ای از روش‌ها اطلاق می‌شود که بدون استفاده از حرارت، به حفظ و یا بهبود کیفیت مواد غذایی کمک می‌کنند. این فرآیندها به‌عنوان جایگزین و یا مکمل روش‌های حرارتی سنتی مانند پاستوریزاسیون و یا استریلیزاسیون به‌کار می‌روند. این مزایا منجر به افزایش علاقه به روش‌های جایگزین برای فرآوری مواد غذایی شده‌است. یکی از این روش‌های جایگزین نسل جدید، فناوری پلاسمای سرد است [۵]. روش جدید فرآوری مواد غذایی به نام فناوری پلاسمای سرد، کاربردهای گسترده‌ای به ویژه در صنایع غذایی دارد. برای اطمینان از ایمنی و ماندگاری مواد غذایی مصرف کننده، پلاسمای سرد تأثیرات بهتری بر ضد آلودگی میکروبی انواع محصولات غذایی دارد [۶ و ۷].

تعریف پلاسما

پلاسما پس از جامد، مایع و گاز به‌عنوان حالت چهارم ماده نامیده می‌شود [۸]. اصطلاح پلاسما به گازهایی اطلاق می‌شود که به‌صورت جزئی و یا کلی یونیزه شده باشند و باید از فوتون‌ها، یون‌ها و الکترون‌های آزاد و همچنین اتم‌ها در حالت‌های پایه یا برانگیخته خود تشکیل شوند و قادر به غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها هستند [۹]. گازهای مورد استفاده در تولید پلاسما می‌تواند نیتروژن، اکسیژن، هلیوم و یا آرگون باشد. گونه‌های واکنش‌گر در پلاسما به شرایط عملیات، نوع گاز، نوع و توان پلاسما بستگی دارند [۱۰]. پلاسما دارای بار خالص و خنثی است؛ زیرا تعداد بارهای مثبت و منفی که حمل می‌کند با هم برابر هستند. الکترون‌ها و فوتون‌های موجود در گازها بیشتر با عنوان گونه‌های سبک و بقیه اجزاء به‌عنوان گونه‌های سنگین نامیده شده‌اند. پلاسما شامل طیف گسترده‌ای از گونه‌های شیمیایی با واکنش‌پذیری بالا شامل N_2 ، O_2 ، O_3 ، H_2O_2 ، الکترون‌ها، یون‌ها، O^+ ، H_3O^+ ، H^- ، O^- ، OH^- ، N_2^+ ، O^+ ، H^+ ، OH^+ ، NO^+ ، رادیکال‌ها O^{\bullet} ، H^{\bullet} ، OH^{\bullet} است که دارای انرژی بالایی هستند [۱۱].

تولید پلاسما با استفاده از یک سری تغییرات و افزایش سطوح انرژی در یک ماده آغاز می‌شود و روند پیشرفت آن از جامد به مایع و سپس به گاز گسترش یافته و به شکل گاز یونیزه مشخصی به اوج می‌رسد. پلاسما را می‌توان براساس شرایط تولید آن به‌عنوان کم‌اتمسفر یا پر فشار طبقه‌بندی کرد. به‌طور کلی، پلاسما را می‌توان به پلاسمای تعادلی (حرارتی) و غیرتعادلی (دمای پائین) تقسیم‌بندی نمود. اگر گازی که برای دستیابی به یونیزاسیون مورد استفاده قرار می‌گیرد به اندازه کافی در دمای بالا (به‌طور معمول به میزان ۲۰۰۰۰ کلوین) گرم شود، از آن به‌عنوان پلاسمای حرارتی یاد می‌شود. در پلاسمای حرارتی همه گونه‌های شیمیایی تشکیل دهنده، الکترون‌ها، یون‌ها در تعادل دمایی ترمودینامیکی هستند. پلاسمای دمای پائین

را می‌توان به دو دسته پلاسمای شبه تعادلی (به‌طور معمول ۱۵۰-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) و پلاسمای غیرتعادلی (کمتر از ۶۰ درجه سانتی‌گراد) طبقه‌بندی نمود. در نوع اول، تعادل ترمودینامیکی موضعی در بین گونه‌ها وجود دارد در حالی که در نوع دوم، خنک‌سازی یون‌ها و مولکول‌های بدون بار موثرتر از انتقال انرژی از الکترون‌ها است و گاز در دمای پائین باقی می‌ماند، به همین دلیل به پلاسمای غیرتعادلی، پلاسمای سرد نیز گفته می‌شود. به‌طور معمول، پلاسماهای غیرتعادلی از تخلیه الکتریکی در گازها حاصل می‌شود [۱۰]. پلاسمای سرد یا همان پلاسمای اتمسفری و غیرحرارتی نوعی از پلاسما است که کمی یونیزه است (کمتر از ۱ درصد). این پلاسما می‌تواند در دمای اتاق (۲۹۰ تا ۳۰۰ کلوین) تشکیل شود که این خود مانع از تخریب حرارتی مواد حساس به دما خواهد شد. این نوع پلاسما نیز انواع مختلفی دارد که شامل موارد ذیل است:

- پلاسمای تخلیه تابش اتمسفری^۱؛
- پلاسمای تخلیه تابش کرونا^۲؛
- پلاسمای تخلیه الکتریکی کرونا^۳؛
- پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک^۴؛
- جت پلاسما فشار اتمسفری^۵؛
- پلاسمای تخلیه میکروکاتد توخالی^۶؛
- پلاسمای فرکانس رادیویی^۷؛
- پلاسمای به هم پیوسته القایی^۸؛
- پلاسمای ناشی از میکروویو^۹؛
- تخلیه قوس گلایدینگ^{۱۰} [۸، ۱۰ تا ۱۲].

از این میان، جت پلاسما و پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک به دلیل ساختار ساده و کاربرد آسان و ارزان در تحقیقات صنایع غذایی بسیار مورد توجه و استفاده قرار می‌گیرند و از نظر تجاری در دسترس‌تر هستند. از این نوع پلاسما در صنایع غذایی به‌خصوص برای از بین بردن آلاینده‌های مواد غذایی خام، زیاد استفاده شده‌است.

■ حذف مواد شیمیایی و سموم

برهم کنش آفت کش ها با گونه های فعال پلاسما منجر به اکسیداسیون این ترکیبات شیمیایی و تخریب آنها می شود. جدای از اکسیداسیون، فرآیندهای میانی دیگری نیز در حین تخریب اتفاق می افتند و در نهایت، منجر به کانی سازی می شوند. حذف آفت کش ها و سایر آلاینده های آلی یا معدنی مسیرهای مختلفی را دنبال می کند و در نهایت، آلاینده ها به اجزای ساده غیرسمی مانند CO_2 و H_2O تبدیل می شوند که براساس زمان تصفیه و طبیعت گونه های فعال کربن ها و سایر اجزای آلی یا معدنی اکسیداسیون، ایزومریزاسیون و حذف CO_2 ، H_2O و یا برخی از واکنش های ضروری اتفاق می افتد [۲۰].

■ مرگ و میر حشرات

اثر سم عصبی ناشی از گونه های فعال اکسیژن^{۱۱} پلاسما بر سیستم عصبی عضلانی حشرات باعث مرگ و میر آنها می شود. این گونه ها از طریق مسیر تنفسی حشرات وارد می شوند و بر رفتار حشرات و سیستم ایمنی و گردش خون تأثیر می گذارند. سازوکارهای مرگ و میر حشرات با توجه به مراحل زندگی آنها متفاوت است. رامانان و همکاران، سازوکارهای مختلفی را در مرگ و میر حشره در مراحل تخم، لارو و بالغ گزارش کردند [۲۱].

■ جوانه زنی بذر

عوامل زیادی بر سرعت جوانه زنی بذرهای تیمار شده با پلاسما تأثیر می گذارند اما دلایل دقیق آن مشخص نیست. با این حال، چند دلیل قابل قبول عبارتند از: اچ کردن، باز شدن لایه های بذر، افزایش ترشوندگی بذر، رسوب مولکول های زیست فعال کوچک بر پوسته بذر و آلودگی زدایی از میکروب های سطح دانه اتفاق می افتد [۲۲].

■ اصلاح عملکرد مواد غذایی

پلاسما ماهیت مواد تشکیل دهنده غذا و خواص آنها را تغییر می دهد. گونه های اکسیژن فعال با سولفور و آمینو اسیدهای آروماتیک موجود در پروتئین واکنش می دهد و در نتیجه، اکسیده می شود. گاهی اکسیداسیون (کربونیلاسیون) نیز به غیرفعال شدن آنزیم کمک می کند و همچنین ساختار ثانویه پروتئین ها و عملکرد آنها را تغییر می دهد. گونه های اکسیژن فعال به گروه های متیل در نزدیکی مناطق پیوند دوگانه حمله نموده و آنها را در لیپیدها اکسید می کند. در همین حال، کربوهیدرات ها، آلدوز و کتوز در طی اکسیداسیون اسید فرمیک را تشکیل می دهند [۲۳].

■ تصفیه آب با پلاسما

آب یکی از منابع حیاتی برای فعالیت های کشاورزی است و به طور معمول توسط میکروب ها، فلزات سنگین و ترکیبات دارویی آلوده می شود. حذف این آلاینده ها می تواند کیفیت محصولات کشاورزی و تولید کلی را بهبود بخشد. گونه های فعال موجود در پلاسما می توانند اکسید شوند و آلاینده ها را از آب یا پساب حذف کنند. آب در طی تصفیه پلاسما و تولید آب فعال شده پلاسما^{۱۲}

■ فناوری پلاسمای سرد در صنایع غذایی

پلاسما سرد با اعمال میدان الکتریکی به گاز و به طور معمول هوا، اکسیژن، نیتروژن یا آرگون تولید می شود. این فرآیند، مولکول های گاز را یونیزه می کند و مخلوطی از ذرات باردار ایجاد می نماید. پس از تولید، پلاسما سرد به سمت سطح غذا هدایت می شود، جایی که با هر گونه میکروارگانیسم موجود، از جمله باکتری ها، ویروس ها و قارچ ها تعامل می کند. اجزای فعال پلاسما سرد، مانند رادیکال های اتمی و مولکولی، یک سری واکنش های شیمیایی را در سلول های میکروبی آغاز می کنند. این امر منجر به از هم گسیختگی غشای سلولی، دنا توره شدن پروتئین ها و در نهایت، غیرفعال شدن عوامل بیماری زا می شود. برخلاف روش های سنتی، استریل سازی که بر دمای بالا متکی است، پلاسما سرد کیفیت و یکپارچگی محصولات غذایی را حفظ می کند، آسیب حرارتی ایجاد نمی کند، ویژگی های حسی غذا را تغییر نمی دهد و باعث حفظ طعم محصول می شود. با کاهش موثر آلودگی میکروبی، پلاسما سرد به افزایش عمر ماندگاری غذاهای فاسد شدنی کمک می کند. این امر نه تنها ضایعات مواد غذایی را کاهش می دهد، بلکه ایمنی مواد غذایی را در سراسر زنجیره تامین، از تولید تا مصرف، افزایش می دهد [۱۳ تا ۱۸].

■ کاربردهای پلاسما در کشاورزی و صنایع غذایی

از کاربردهای پلاسما در کشاورزی و صنایع غذایی می توان به غیرفعال سازی میکروبی با استفاده از اچ کردن سطح و اصلاح DNA، حذف شیمیایی با اکسیداسیون، حذف آلرژن ها با اصلاح عملکرد پروتئین و لیپید، جوانه زنی با اصلاح سطح (ترشوندگی و اچ کردن سطح)، تحمل بذر با استفاده از شوک حرارتی، تولید پروتئین، ضد عفونی شدن با اثر سم عصبی، استخراج بیشتر اسانس با آسیب غدد روغنی، تاخیر قهوه ای شدن در اثر تغییر در ساختار ثانویه پروتئین ها و اصلاح زنجیره جانبی اسید آمینه و غیره را نام برد.

■ تخریب میکروبی و غیرفعال سازی

واکنش های مختلف شیمیایی در طول تولید پلاسما شکل می گیرد. O_3 ، O^+ و OH^- گونه های اولیه مسئول غیرفعال سازی میکروبی هستند. پیوندهایی مانند C-O، C-N و C-C توسط گونه های اکسیژن فعال از بین می روند و بمباران شدید رادیکال ها باعث ایجاد ضایعات سطحی شده که منجر به اچ می شود و به شدت بر باکتری های گرم منفی تأثیر می گذارد. در مرحله اول، گونه های فعال لیپیدها، آنزیم ها و پروتئین ها، اسکلت سلولی را در غشا اکسید می کند و باعث تخریب دیواره سلولی می شود. DNA توسط فوتون های پر انرژی ماوراء بنفش که از اتم ها و یا مولکول های برانگیخته در ۲۲۰ تا ۲۸۰ نانومتر آزاد می شوند، تخریب شده و باعث تشکیل دایمرهای تیمین می شود و رشته های تک و دو رشته DNA پلاسمید را می شکنند که بر تکثیر سلولی و سایر عملکردها تأثیر گذار هستند [۱۹].

براساس ماهیت گونه‌های فعال متفاوت است [۲۴].

■ اصلاح خاک

پسماندهای صنعتی و کشاورزی مانند فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها، نفت و فرآورده‌های آن باعث آلودگی خاک می‌شوند که می‌تواند بر انسان و اکوسیستم تأثیرگذار باشد. غلظت این آلاینده‌ها در خاک باید کاهش یابد تا از تلفات در تولید و آلودگی متقابل جلوگیری شود. در اصلاح خاک با استفاده از پلاسما، ولتاژ، فرکانس و سرعت جریان هوا، ضخامت خاک و نوع آن تأثیرگذار هستند. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که فناوری پلاسما باعث کاهش قابل توجه رطوبت و افزایش کارایی خاک، حذف رنگ اسکارلت اسیدی از خاک و کاهش تخریب رنگ می‌شود [۲۵].

■ اصلاح بذر گیاهان

بهبود سرعت جوانه‌زنی و عملکرد کشاورزی نگرانی اصلی در افزایش تولید مواد غذایی است. با تغییر سرعت جوانه‌زنی و پتانسیل جوانه‌زنی به کمک پلاسما سرد دو جنبه از فرآوری کشاورزی را بهبود می‌بخشد. پلاسما سرد باعث افزایش جذب آب، زاویه تماس بیشتر، ترشوندگی و تحمل رشد بذر می‌شود که در شرایط بهینه فرآیند، این تغییرات می‌توانند بر تولید کلی محصولات غذایی با حمایت از رشد بذر و گیاه تأثیرگذار باشند [۲۶].

■ جوانه‌زنی و رشد گیاه

جوانه‌زنی عاملی مهم در تصمیم‌گیری کیفیت بذر است. استفاده از فناوری پلاسما باعث کاهش بار میکروبی روی سطح بذر، افزایش سرعت جوانه‌زنی و رشد، افزایش جذب آب، افزایش طول ریشه، طول جوانه، افزایش وزن ریشه، نسبت ریشه به اندام هوایی، ارتفاع بوته، قطر ساقه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، سطح، ضخامت، آب و محتوای نیتروژن شده‌است. پلاسما همچنین توانایی تغییر مواد معدنی، رنگدانه‌ها، آنزیم‌ها و سایر ترکیبات تغذیه‌ای بذر را دارد. به‌عنوان مثال، در دانه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با پلاسما جفت شده خازنی^{۱۳}، محتوای کلسیم (۷/۷۳ درصد) و بور (۱۱/۵۳ درصد) افزایش یافت؛ در حالی که در سویا، بخش‌های مغذی مانند پروتئین محلول و قند محلول و آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز افزایش یافت. فعالیت‌های فنیل آلانین آمونیاک لیاز پس از تیمار با پلاسما جریان مستقیم جت پلاسما^{۱۴} افزایش یافت. در گندم تیمار شده با پلاسما هلیوم، محتوای کلروفیل ۹/۸ درصد بیشتر از شاهد بود [۲۷].

■ کاهش آلودگی سبزیجات

تعامل گونه‌های پلاسما با میکروب‌ها باعث غیرفعال شدن سطح می‌شود، در حالی که آسیب‌های DNA ناشی از فوتون‌های UV این اثر را بیشتر می‌کند. بنابراین، آلودگی میکروبی روی برگ‌های تازه برداشت شده را می‌توان با تیمار پلاسما کاهش داد. به‌منظور بهبود کارایی غیرفعال‌سازی، مخلوط‌های گازی مختلفی پیشنهاد شده که مخلوط گاز $Ar-O_2$ یکی از آنهاست. در کاهوی رومی، مخلوط گاز Ar و O_2 بدون تغییر در بافت محصول، کارایی آلودگی‌زدایی بهتری را به همراه داشت. به‌عنوان مثال، میزان اشیرشیا کلی، کلیفرم، مخمر و کپک در

چای سیاه و سبز با پلاسما جت آرگون در حدود دقیقه ۳ حذف شد و میزان پلی فنل کل نیز به میزان قابل توجهی افزایش یافت [۲۸].

■ آجیل و خشکبار

آجیل جزء منابع غذایی مهم بوده که در برابر آلودگی میکروبی بسیار حساس است. حذف آلاینده‌ها از سطح، باید بدون افت کیفیت قابل توجه انجام شود. پلاسما قادر است آلودگی سطحی را بدون تغییر کیفیت و یا حداقل تغییر انجام دهد. در بادام‌های پوست گرفته، پلاسما هوا باعث افزایش غیرفعال شدن سالمونلا و حذف میکروبی بیشتر می‌شود. مطالعاتی که روی فندق‌ها انجام شد نشان داد که گونه‌های آسپرژیلوسیس حتی پس از ۳۰ روز نگهداری کاهش پیدا کرد، همچنین حذف میکروبی در گردو به دلیل فعالیت آبی کم، رطوبت و بافت ناهموار گردو اتفاق افتاد [۲۹].

■ ادویه

پلاسما باعث کاهش قابل توجه بار میکروبی، کاهش رطوبت بدون ایجاد تغییرات و خواص حسی محصول می‌شود. با این حال، مسائل خاص، مانند تغییر رنگ، کاهش وزن و کاهش کیفیت زیست فعال، باید با انتخاب ویژگی‌های پلاسما مناسب و زمان مورد توجه قرار گیرد. اعمال پلاسما کاهش قابل توجه بار میکروبی در بیشتر محصولات کشاورزی و افزایش اجزای زیست فعال را نشان داده است. اعمال پلاسما روی فلفل سیاه باعث کاهش اسپورهای باسیلیسوس سوبیتلیس، اشیرشیا کلی، سالمونلا غیر تیفوئیدی با حداقل آسیب سطحی و از دست دادن رطوبت و کاهش میزان پیرین^{۱۵} انجام شده‌است. امینی و همکاران گزارش کردند که پلاسما سرد باعث افزایش سافرانال و افزایش قدرت رنگی در زعفران شده‌است [۳۰].

■ کیفیت محصولات و میوه‌های فرآوری شده و کم فرآوری شده

پلاسما به‌عنوان پردازش غیرحرارتی می‌تواند به کاهش قهوه‌ای شدن و فعالیت میکروبی بدون افزودن مواد نگهدارنده کمک کند و کیفیت محصول را حفظ نماید. همراه با کنترل قهوه‌ای شدن، عوامل دیگری مانند جامدات محلول، ماده خشک، اسیدیت، سفتی و قدرت گسیختگی نیز افزایش می‌یابد. قهوه‌ای شدن در سطح میوه‌های بریده شده مشکل اصلی نگهداری است. در مورد سیب با اعمال پلاسما، ناحیه قهوه‌ای شده به دلیل فعالیت کمتر، باقیمانده پلی فنل اکسیداز کاهش یافت که به دلیل تغییرات در ساختار ثانویه پروتئین‌ها و اصلاح زنجیره جانبی اسید آمینه آنزیم‌ها است [۳۱].

■ استخراج اسانس

اسانس‌ها به‌طور طبیعی دارای خواص ضد باکتریایی هستند. قرار گرفتن در معرض فناوری پلاسما می‌تواند خواص آنها را به دلیل اکسیداسیون بالاتر افزایش دهد. اسانس‌های به‌دست آمده از گیاهان تیمار شده با پلاسما، فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری با محتوای اوژنول بالاتر تولید کرد، به غیر از بهبود کیفیت اسانس، بازده استخراج نیز حدود ۳ برابر افزایش یافت [۳۲ و ۳۳].

همان‌طور که ما آینده نگهداری مواد غذایی را تصور می‌کنیم، پلاسما سرد با توانایی بی‌نظیر خود در مبارزه با عوامل بیماری‌زا و در عین حال، حفظ کیفیت و یکپارچگی محصولات غذایی موثر ظاهر می‌شود. فناوری پلاسما سرد نشان‌دهنده یک نیروی دگرگون‌کننده در صنایع غذایی است. از افزایش عمر مفید و کاهش ضایعات مواد غذایی گرفته تا افزایش ایمنی مواد غذایی در سراسر زنجیره تامین، مزایای بالقوه بسیار زیادی است. با این حال، مانند هر فناوری در حال ظهور، پلاسما سرد نیز چالش‌ها و ملاحظات دارد. از موانع نظارتی گرفته تا مقرون به صرفه بودن و مقیاس‌پذیری، عواملی هستند که در پذیرش گسترده آن تاثیر می‌گذارند. همان‌طور که محققان به کشف پتانسیل کامل آن ادامه می‌دهند و صنایع از قابلیت‌های آن استقبال می‌کنند، با آینده‌ای مواجه هستیم که در آن غذا برای مدت طولانی‌تر، ایمن‌تر و پایدارتر باقی بماند. در نتیجه، فناوری پلاسما سرد در آینده می‌تواند یک تغییر بازی در دنیای فناوری مواد غذایی باشد. توانایی آن در مبارزه با عوامل بیماری‌زا در حالی که کیفیت و ماندگاری محصولات غذایی را حفظ می‌کند، آن را به ابزاری ارزشمند برای تولید کنندگان، پردازشگرها و مصرف کنندگان مواد غذایی تبدیل خواهد نمود.

پی‌نوشت

1. Atmospheric Glow discharge
2. Corona glow discharges
3. Corona electrical discharge (CED)
4. Dielectric barrier discharge
5. Atmospheric pressure plasma jet
6. Micro hollow cathode discharge
7. Radio frequency plasma
8. Inductively coupled plasma
9. Microwave Induced plasma
10. Gliding Arc Discharge
11. Reactive Nitrogen Species (ROS)
12. Plasma activated water (PAW)
13. Capacitive coupled plasma (CCP)
14. Direct Current Plasma-Plasma Jet (CDPJ)
15. Piperine

مراجع

- [1] S.T. Meurer, A. C. S. Lope, F. A. Almeida, R.D. D. Mendonça, T.R B. Benedetti, Effectiveness of the VAMOS strategy for increasing physical activity and healthy dietary habits: a randomized controlled community trial. *Health Education & Behavior* 46(3), 406-416(2019)
- [2] M. Gallo, L. Ferrara, A. Calogero, D. Montesano, D. Naviglio Relationships between food and diseases: what to know to ensure food safety. *Food Res. Int.* 137, 109414(2020)
- [3] H. C. Roopith, G. Madhavi, K. N. Hanumantharaju, Ch. Gurikar, P. Anbumathi, A.C. Lokesh, Application of Novel Technologies in Shelf-Life enhancement of Fruits and Vegetables. *Europ. Chem. Bull.* 12(3), 633-648(2023).
- [4] K.N. Hanumantharaj, K. Thangavel, D. Amirtham, K. Rajamani Physical properties and optimization of bio film prepared with corn starch and Justicia adhatoda leaf extract. *Medicinal Plants-Int. J. Phytomed. Related Indust.* 11(3), 313- 320(2019).
- [5] P. Butz, B. Tauscher, Emerging technologies: chemical aspects. *Food Res. Int.* 35(2-3), 279-284(2002).
- [6] C. M. G Charoux, A. Patange, S. Lamba, C.P.O'Donnell, B. K. Tiwari, A.G. M. Scannell, Applications of nonthermal plasma technology on safety and quality of dried food ingredients. *J. Appl. Microbiol.* 130(2), 325-340(2021)
- [7] S.A.Mir, M.W. Siddiqui, B.N. Dar, M.A. Shah, M.H. Wani, S. Roohinejad A. Ali, Promising applications of cold plasma for microbial safety, chemical decontamination and quality enhancement in fruits. *J. Appl. Microbiol.* 129(3), 474-485(2020).
- [8] A. Fridman, *Plasma chemistry*, Cambridge University Press, (2008).
- [9] C. Tendero, C. Tixier, P. Tristant, J. Desmaison, & P. Leprince, Atmospheric pressure plasmas: A review, 61 (2006) 2-30.
- [10] N.N. Misra, O. Schlüter, & P. J. Cullen, *Cold plasma in food and agriculture: Fundamentals and applications*. Academic Press, (2016).
- [11] M. Laroussi, & F. Leipold, Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactiva-

tion of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure, *International Journal of Mass Spectrometry*, 233(1-3) (2004) 81-86.

[12] Lu, X., Laroussi, M. & Puech, V. On atmospheric-pressure non-equilibrium plasma jets and plasma bullets. *Plasma Sources Science and Technology*, 21(3) (2012).

[13] E. Moreau, N. Benard, J. D.Lan-Sun-Luk, & J. Chabert, Electrohydrodynamic force produced by a wire-to-cylinder dc corona discharge in air at atmospheric pressure, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 46(47) (2013).

[14] B. A. Niemira, Cold plasma decontamination of foods, *Annual review of food science and technology*, 3(2012) 125-142.

[15] N. N. Misra, B. K. Tiwari, K. S. M. S Raghavarao, & P. J. Cullen, Nonthermal Plasma Inactivation of Food-Borne Pathogens. *Food Engineering Reviews*, 3 (3-4) (2011) 159-170.

[16] S. K. Pankaj, C. Bueno-Ferrer, N. N. Misra, V. Milosavljević, C. P. O'Donnell, P. Bourke, K. M. Keener, & P. J. Cullen, Applications of cold plasma technology in food packaging, *Trends in Food Science & Technology*, 35(1) (2014) 5-17.

[17] O. Schlüter, J. Ehlbeck, C. Hertel, M. Habermeyer, A. Roth, K. H. Engel, T. Holzhauser, D. Knorr, & G. Eisenbrand, Opinion on the use of plasma processes for treatment of foods, *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5) (2013) 920-927.

[18] P. Bourke, D. Ziuzina, D. Boehm, P. J. Cullen, & K. Keener. The Potential of Cold Plasma for Safe and Sustainable Food Production, *Trends in Biotechnology*, 36(6) (2018) 615-626.

[19] B. A. Niemira, Cold plasma decontamination of foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3 (2012) 125-142.

[20] M. Laroussi, Low temperature plasma-based sterilization, overview and state-of-the-art, *Plasma processes and polymers*, 2(5) (2005) 391-400.

[21] B. Jiang, J. Zheng, S. Qiu, M. Wu, Q. Zhang, Z. Yan, & Q. Xue,. Review on electrical discharge plasma technology for wastewater remediation, *Chemical Engineering Journal*, 236 (2014) 348-368.

[22] R. N. Ramanan, T. K. Thiagarajan, & L. Sivachandiran, Cold plasma technology for insect pest control. *Trends in Food Science & Technology*, 79 (2018) 143-151.

[23] L. Ling, J. Jiafeng, L. Jiangang, S. Minchong, H. Xin, S. Hanliang, & D. Yuanhua, Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. *Scientific reports*, 4(1) (2014) 1-7.

[24] S. K. Pankaj, C. Bueno-Ferrer, N. N. Misra, V. Milosavljević, C. P. O'Donnell, P. Bourke, & P. J. Cullen, Applications of cold plasma technology in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 35(1) (2014) 5-17.

[25] M. A. Malik, A. Ghaffar, & S. A. Malik, Water purification by electrical discharges, *Plasma Sources Science and Technology*, 10(1) (2001) 82.

[26] S. Zhang, A. Rousseau, & T. Dufour, Promoting lentil germination and stem growth by plasma activated tap water, demineralized water and liquid fertilizer, *RSC advances*, 7(50) (2017) 31244-31251.

[27] A. Será, M. Šerý, V. Štranák, P. Špatenka, & M. Tichý, Does cold plasma affect breaking dormancy and seed germination? A study on seeds of Lamb's Quarters (*Chenopodium album* agg, *Plasma Science and Technology*, 11(6) (2009) 750.

[28] A. Mitra, Y. F. Li, T. G. Klämpfl, T. Shimizu, J. Jeon, G. E. Morfill, & J. L. Zimmermann, Inactivation of surface-borne microorganisms and increased germination of seed specimen by cold atmospheric plasma, *Food and Bioprocess Technology*, 7(3) (2014) 645-653.

[29] Lacombe, B. A. Niemira, J. B. Gurtler, X. Fan, J. Sites, G. Boyd, & H. Chen, Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes, *Food Microbiology*, 46 (2015) 479-484.

[30] Hertwig, K. Reineke, J. Ehlbeck, D. Knorr, & O. Schlüter, Decontamination of whole black pepper using different cold atmospheric pressure plasma applications, *Food Control*, 55 (2015) 221-229.

[31] M. Amini, M. Ghoranneviss, & S. Abdijadid, Effect of cold plasma on crocin esters and volatile compounds of saffron, *Food chemistry*, 235 (2017) 290-293.

[32] S. Tappi, A. Berardinelli, L. Ragni, M. Dalla Rosa, A. Guarneri, & P. Rocculi, Atmospheric gas plasma treatment of fresh-cut apples, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 21, (2014) 114-122.

[33] M. Gavahian, Y. H. Chu, & A. M. Khaneghah, Recent advances in orange oil extraction: An opportunity for the valorisation of orange peel waste a review, *International Journal of Food Science & Technology*, 53(8) (2018) 1770-1780.

نویسندگان

افسون دارویی^{۱ و ۲*}سید احمد ظهیر میردامادی^{۲ و ۳}۱. سازمان زمین‌شناسی و اکتشافات معدنی کشور،
شعبه مشهد

۲. پژوهشگاه مواد و انرژی

۳. عضو کارگروه استاندارد و کالیبراسیون

*aa.narooie7792@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۲

ریسک در بی‌طرفی
آزمایشگاه

واژه‌های کلیدی

ریسک، آزمایشگاه، استاندارد.

چکیده

بی‌طرفی در آزمایشگاه‌ها یکی از اصول مهم در زمینه تحقیق و توسعه علمی است. این اصل تضمین می‌کند که نتایج حاصل از آزمایش‌ها و تحقیقات علمی، خالص و بدون تأثیر از تعصبات شخصی یا خارجی باشند. با این حال، وجود خطرهای مختلف می‌تواند این بی‌طرفی را تحت تأثیر قرار دهد.

در این مقاله به بررسی انواع خطرهایی که بی‌طرفی آزمایشگاه را تهدید می‌کنند، خواهیم پرداخت و راهکارهایی برای کاهش این خطرها ارائه خواهیم داد.

مقدمه

در دنیای علمی امروز، بی‌طرفی و دقت در آزمایشگاه‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. با این حال، خطراتی که ممکن است بر بی‌طرفی آزمایشگاه‌ها تأثیر بگذارند، از جمله تعصبات فردی، فشارهای مالی و تأثیرات خارجی همچنان وجود دارند که به راهکارهایی برای کاهش این خطرات و ارتقای بی‌طرفی در فرآیندهای آزمایشگاهی اشاره می‌شود. این موضوع برای اطمینان از صحت و قابلیت اعتماد نتایج علمی حیاتی است و نقش مهمی در پیشرفت علمی و فناوری دارد.

انواع ریسک در بی‌طرفی آزمایشگاه

۱. ریسک اقتصادی

یکی از مهمترین ریسک‌هایی که می‌تواند بی‌طرفی آزمایشگاه‌ها را تهدید کند، فشارهای مالی است. وابستگی مالی به نهادهای خاص، مانند شرکت‌های تجاری و یا دولت‌ها، می‌تواند باعث شود که نتایج تحقیقات به نفع این

تعریف ریسک

ریسک به معنای احتمال وقوع یک حادثه ناگوار و برای بعضی مواقع ضرر به شمار می‌رود. در بی‌طرفی آزمایشگاه، ریسک به عنوان احتمال وجود عاملی بد از آزمایش‌ها در حین اجرای آنها تعریف می‌شود.

متنوعی داشته باشند تا وابستگی به یک منبع خاص کاهش یابد. این مورد می‌تواند شامل دریافت بودجه از نهادهای دولتی، خصوصی و غیردولتی باشد.

۲. رعایت اصول اخلاقی

ایجاد چارچوب‌های اخلاقی قوی و آموزش مداوم پژوهشگران در زمینه اصول اخلاقی می‌تواند به کاهش ریسک‌های اخلاقی کمک کند. نظارت مستمر بر اجرای این اصول نیز ضروری است.

۳. بهبود فناوری و روش‌ها

سرمایه‌گذاری در تجهیزات پیشرفته و به‌روزرسانی مداوم روش‌های آزمایشی می‌تواند به کاهش خطاهای روش کمک کند. همچنین برگزاری دوره‌های آموزشی برای استفاده صحیح از این تجهیزات و روش‌ها بسیار مهم است.

۴. مدیریت منابع انسانی

استخدام پژوهشگران با تجربه و متعهد و ارائه آموزش‌های لازم به آنها می‌تواند به کاهش ریسک‌های انسانی کمک کند. همچنین ایجاد یک سیستم نظارتی قوی برای ارزیابی عملکرد کارکنان ضروری است [۳].

راهکارهای مدیریت خطر برای حفظ بی‌طرفی آزمایشگاه

مدیریت ریسک‌های بی‌طرفی در آزمایشگاه‌ها نیازمند رویکردی نظام‌مند و جامع است. برخی از روش‌ها و اقدامات کلیدی برای مدیریت موثر این ریسک‌ها شامل موارد ذیل هستند که با اجرای این سیاست‌ها آزمایشگاه می‌تواند اعتماد مشتریان و ذینفعان را جلب کرده و کیفیت و اعتبار خدمات خود را تضمین کند.

۱. تعهد به بی‌طرفی

■ بیانیه تعهد

آزمایشگاه باید یک بیانیه رسمی از تعهد خود به بی‌طرفی و عدم تأثیرپذیری از فشارهای داخلی و خارجی منتشر کند.

■ پشتیبانی مدیریت

مدیریت ارشد باید به صراحت از سیاست‌های بی‌طرفی حمایت کند و به کارکنان در اجرای آنها کمک کند.

۲. شناسایی ریسک‌های موجود در آزمایشگاه

- شناسایی ریسک‌های مختلف از جمله ریسک‌های اطلاعاتی، فنی، انسانی و اقتصادی.
- تحلیل فرآیندها شامل بررسی تمامی فرآیندهای آزمایشگاه و شناسایی نقاط تأثیرگذار بر بی‌طرفی آزمایشگاه.
- بررسی روابط: شناسایی هرگونه تضاد بالقوه از طریق بررسی

نهادهای تنظیم شوند. در واقع این ریسک شامل احتمال ابهام در تعیین هزینه آزمایش‌ها به دلیل نقص در برنامه‌ریزی و بودجه است.

۲. ریسک‌های اخلاقی

ریسک‌های اخلاقی زمانی بروز می‌کنند که پژوهشگران به دلیل منافع شخصی، شهرت و یا فشارهای اجتماعی نتایج تحقیقات خود را تغییر دهند. این ریسک‌ها می‌توانند به شدت به اعتبار علمی آزمایشگاه‌ها آسیب برسانند.

۳. ریسک اطلاعاتی

این نوع ریسک شامل اختلاف‌ها در اطلاعات اساسی آزمایش‌ها است که می‌تواند اشکال مختلفی از خطاها و نقص‌ها را در فرآیند آزمایشگاهی سوء داشته باشند.

۴. ریسک فنی و روشی

خطاهای روشی و نواقص در روش‌های آزمایشی نیز می‌توانند به نتایج نادرست منجر شوند، در واقع شامل احتمال ابهام در فرآیند آزمایشگاهی به دلیل ابهام در تعریف فرآیند، تجهیزات یا مواد اساسی است. استفاده از تجهیزات ناکارآمد و یا روش‌های آزمایشی نادرست می‌تواند بی‌طرفی نتایج را زیر سوال ببرد.

۵. ریسک مرتبط با منابع انسانی

احتمال ابهام در انجام آزمایش‌ها، به دلیل عدم آشنایی کافی با فرآیند آزمایشگاهی وجود دارد. به‌طور کلی، انتخاب نامناسب کارکنان و پژوهشگران، عدم آموزش کافی و نبود نظارت کافی می‌تواند به بروز تعصبات شخصی و خطاهای انسانی منجر شود و بر بی‌طرفی تأثیر منفی بگذارد [۱ و ۲].

چرا باید ریسک در بی‌طرفی آزمایشگاه را بررسی کرد؟

در بی‌طرفی آزمایشگاه، ریسک‌ها می‌توانند عوامل بسیار خطرناکی همچون اتلاف و تخریب داده‌ها، تخریب ابزارهای آزمایشی و آسیب به سلامت کارمندان باشند؛ بنابراین، بررسی ریسک‌ها در بی‌طرفی آزمایشگاه بسیار حائز اهمیت بوده و شامل چندین بخش است.

راهکارهای کاهش ریسک

۱. تامین مالی متنوع

برای کاهش فشارهای مالی، آزمایشگاه‌ها باید منابع مالی

روابط کاری و تجاری آزمایشگاه با مشتریان و سایر ذی نفعان.

۳. ارزیابی دقیق ریسک‌های موجود

■ **ارزیابی تاثیر:** تحلیل تاثیر هر ریسک بر بی طرفی نتایج آزمون‌ها و کالیبراسیون.

■ **اولویت‌بندی ریسک‌ها:** اولویت‌بندی ریسک‌ها براساس احتمال وقوع و شدت تاثیرشان.

۴. طراحی و اجرای اقدامات کنترلی و کاهش ریسک

■ اقدامات پیشگیرانه مانند استفاده از تجهیزات مناسب و آموزش کارکنان.

■ اقدامات اصلاحی برای کاهش ریسک‌های موجود.

۵. مدیریت تضاد منافع

■ **افشاء و ثبت تضاد منافع:** ایجاد سیستمی برای افشاء و ثبت تضاد منافع بالقوه و بالفعل، به گونه‌ای که آزمایشگاه‌ها باید تضادهای منافع احتمالی را شناسایی کرده و روش‌هایی برای مدیریت آنها تدوین کنند.

■ **جداسازی وظایف:** جداسازی وظایف و مسئولیت‌ها به گونه‌ای که تضاد منافع کاهش یابد.

۶. گزارش‌دهی تضاد منافع

■ ایجاد فرآیندی برای گزارش‌دهی تضاد منافع توسط کارکنان و مدیریت آنها.

۷. بهبود مستمر

■ **بازبینی دوره‌ای:** بازبینی منظم سیاست‌ها و رویه‌ها برای اطمینان از کارآمدی و به روزرسانی آنها براساس تغییرات محیطی و سازمانی.

■ **بازخورد و اصلاحات:** جمع‌آوری بازخورد از کارکنان و مشتریان و اعمال اصلاحات لازم برای بهبود سیستم بی طرفی.

۸. پیاده‌سازی استانداردهای مرتبط با مدیریت ریسک و بی طرفی آزمایشگاه

■ استفاده از استانداردهایی مانند ISO/IEC 17025 که الزامات مربوط به مدیریت ریسک را تعریف می‌کنند و شامل کنترل و کاهش ریسک‌های شناسایی شده باشند.

۹. ایجاد فرهنگ ایمنی و بی طرفی در آزمایشگاه

■ آموزش و آگاه‌سازی کارکنان در زمینه مدیریت ریسک و اهمیت بی طرفی.

۱۰. آموزش کارکنان

■ آموزش مداوم کارکنان در رابطه با اهمیت بی طرفی و روش‌های جلوگیری از تاثیرات خارجی بر نتایج آزمون‌ها و کالیبراسیون‌ها ضروری است.

۱۱. آگاهی بخشی

■ ایجاد فرهنگ سازمانی که در آن بی طرفی و اخلاق حرفه‌ای از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشند، می‌تواند به کاهش تاثیرات منفی عوامل خارجی کمک کند.

۱۲. برنامه‌ریزی و مدیریت صحیح منابع آزمایشگاهی

۱۳. تخصیص بهینه تجهیزات، مواد و نیروی انسانی برای کاهش ریسک‌ها

۱۴. مستندسازی و گزارش‌دهی

۱۵. **ثبت و نگهداری مستندات:** نگهداری دقیق مستندات مربوط به خطرهای شناسایی شده، ارزیابی‌ها و اقدامات کنترلی

۱۶. **گزارش‌دهی منظم:** گزارش‌دهی منظم به مدیریت ارشد در مورد وضعیت بی طرفی و ریسک‌های مرتبط

۱۷. ممیزی داخلی و خارجی

■ ممیزی داخلی:

انجام ممیزی‌های داخلی منظم برای ارزیابی رعایت سیاست‌ها، رویه‌ها و شناسایی نقاط ضعف.

■ ممیزی خارجی:

استفاده از ممیزی‌های خارجی برای کسب اطمینان از رعایت استانداردهای بی طرفی و کنترل عوامل خارجی.

۱۸. حفظ استقلال

■ اطمینان از استقلال آزمایشگاه در تصمیم‌گیری‌ها و فرآیندهای آزمایش و کالیبراسیون.

۱۹. تعامل با مشتریان و ذی نفعان

■ اطلاع رسانی به مشتریان:

اطلاع‌رسانی به مشتریان درباره تعهدات بی طرفی آزمایشگاه و روش‌های تضمین آن.

■ بازخورد و شکایات:

ایجاد سیستمی برای دریافت بازخورد و شکایات از مشتریان و ذی نفعان و رسیدگی به آنها به گونه‌ای که تاثیری بر بی طرفی نداشته باشد. در مجموع، اتخاذ رویکرد جامع و نظام‌مند در مدیریت ریسک‌ها می‌تواند به حفظ بی طرفی آزمایشگاه و دستیابی به نتایج قابل اعتماد و کالیبراسیون‌های معتبر کمک کند [۴ تا ۶].

استاندارد ISO/IEC FDIS 17025: 2017 در بی طرفی

این استاندارد شامل الزامات برای فرآیندها و مدیریت

نتیجه گیری

بی طرفی آزمایشگاه‌ها یکی از اصول اساسی در حفظ اعتبار و دقت نتایج علمی است. با شناسایی و مدیریت ریسک‌های مختلف، می‌توان از تأثیرات منفی این ریسک‌ها بر بی طرفی جلوگیری کرد. تامین منابع مالی متنوع، رعایت اصول اخلاقی، بهبود فناوری و روش‌ها و مدیریت صحیح منابع انسانی از جمله راهکارهای موثر در کاهش این خطرها هستند.

مراجع

- [1] Ensuring neutrality and managing risk in laboratory testing: best practices and ethical considerations, Emily Thompson, Michael Green, Sarah Brown, International journal of laboratory quality and safety, 2021, 10(2), 123-135.
- [2] Examining the Risks Associated with Neutrality in Clinical Diagnostic Laboratories: Challenges and Solutions," by Dr. Ali Rezaei, Dr. Maryam Ahmadi, Journal of Health and Safety, 2020, 10(3), 45-55.
- [3] Challenges in maintaining impartiality in laboratory testing: A risk perspective, Michael Brown, Sarah Johnson, International journal of quality assurance, 2022, 25(3), 78-95.
- [4] Risk management and neutrality in laboratory testing: challenges and strategies, John Doe, Jane Smith, Journal of laboratory science and practice, 2022, 15(3), 245-260.
- [5] Risk assessment and neutrality in clinical laboratories, Emily Davis, Robert Wilson, Clinical laboratory management review, 2021, 1(4), 101-120.
- [6] Neutrality and risk management in scientific laboratories, William Martinez, Anna Lee, Science and research integrity journal, 2021, 10(2), 55-73.

کیفیت در آزمایشگاه‌ها است و به‌طور خاص به موضوع خطر در بی طرفی آزمایشگاه می‌پردازد. همچنین این استاندارد به الزامات عمومی برای صلاحیت آزمایشگاه‌های آزمون و کالیبراسیون می‌پردازد و تأکید ویژه‌ای بر خطرهای مرتبط با بی طرفی آزمایشگاه دارد.

برخی از نکات کلیدی این استاندارد در رابطه با ریسک‌های بی طرفی آزمایشگاه عبارتند از:

مدیریت ریسک‌های بی طرفی

بند های ۱، ۵ و ۸ به بررسی ریسک‌ها و فرصت‌ها اشاره دارد و بیان می‌کند که آزمایشگاه باید ریسک‌های بالقوه بی طرفی را شناسایی و اقدامات مناسبی برای مدیریت آنها انجام دهد. این شامل شناسایی منابع بالقوه ریسک و ارزیابی تأثیر آنها بر بی طرفی نتایج آزمون و کالیبراسیون است. بنابراین، آزمایشگاه‌ها باید ریسک‌های مرتبط با بی طرفی و اثرات آنها بر فعالیت‌های خود را شناسایی و مدیریت کنند.

بی طرفی

بند های ۱، ۴ و ۱۰ استاندارد ISO/IEC 17025 بیان می‌کند که آزمایشگاه باید بی طرفی خود را حفظ کند. برای این منظور آزمایشگاه باید هر گونه ریسکی که می‌تواند بر بی طرفی تأثیرگذار باشد را شناسایی و مدیریت کند. این ریسک‌ها می‌توانند از فعالیت‌های خود آزمایشگاه و یا از روابط آن با دیگران ناشی شوند. به‌طور کلی، آزمایشگاه‌ها باید از هر گونه فشار داخلی و خارجی که ممکن است بر کیفیت کار آنها تأثیرگذار باشد، دوری کنند.

یادآوری

رابطه‌ای که بی طرفی آزمایشگاه را تهدید می‌کند، می‌تواند مبتنی بر مالکیت، حاکمیت، مدیریت، کارکنان، منابع مشترک، تامین مالی، قراردادهای بازاریابی (از جمله نشان تجاری) پرداخت کارمزد فروش و یا سایر محرک‌ها برای ارجاع کارفرمایان جدید و همانند اینها باشد.

تضاد منافع

بندهای ۱، ۴ و ۵ تأکید می‌کند که آزمایشگاه باید از هر گونه تضاد منافع که می‌تواند بر بی طرفی تأثیرگذار باشد، اجتناب کند. آزمایشگاه باید از تضاد منافع آگاه باشد و در صورت بروز، آن را به‌گونه‌ای مناسب مدیریت کند تا بی طرفی تحت تأثیر قرار نگیرد.

به‌طور کلی، استاندارد ISO/IEC 17025:2017 از آزمایشگاه می‌خواهد که رویکردی نظام‌مند برای شناسایی، ارزیابی و مدیریت ریسک‌های مرتبط با بی طرفی داشته باشد. این رویکرد باید به‌گونه‌ای باشد که اطمینان حاصل شود نتایج آزمون و کالیبراسیون، معتبر و بی طرفانه هستند.

Authors

Afsoon Narooi^{1,3*}Seyed ahmad Zahir mirdamadi^{2,3}[*aa.narooie7792@gmail.com](mailto:aa.narooie7792@gmail.com)

1. The laboratory of the General Department of Geology and Mineral Exploration of the Northeast Region
2. Material and Energy Research Center (M.E.R.C)
3. Calibration and Standard Experts work group

Risk in Third-Party Experiment

Abstract

Impartiality in laboratories is one of the important principles in the field of scientific research and development. This principle guarantees that the results of experiments and scientific researches are pure and not influenced by personal or external biases. However, the presence of various risks can affect this impartiality.

In this article, we will investigate the types of risks that threaten the impartiality of the laboratory, and provide some solutions for reducing those risks.

Keywords

risk, lab, standard



Authors

Asma golmakani^{1*}
fahimeh mahmoodi¹

*asmagolmakani@gmail.com

1. Laboratory Technician, Research
Institute of Food Science and
Technology (RIFST), Mashhad

Application of cold plasma in agriculture and food

Abstract

Management of safety and quality of food products throughout the food chain is essential to prevent spoilage and increase food production. Extraordinary progress has been made in agriculture and food production to meet food needs, and some of the chemical and thermal processes used to ensure the health and safety of products are defective. Cold plasma is a suitable alternative for most issues such as soil pollution, water pollution, microbial contamination, long-term insect infestation, food preservation, etc.

Plasma significantly affects the agricultural food chain in terms of product quality and safety, increased yield, increased extraction rate, increased plant growth, removal of hazardous pollutants from water, soil, and agricultural products. The interaction of plasma with food products, microorganisms, allergens, toxins, enzymes, etc. varies depending on the type, cultivar, moisture content, and the initial concentration of fungi, microorganisms, and chemical pollutants. The gas composition, gas flow rate, power level, frequency, exposure time to plasma, and the type of plasma reactor vary depending on the type of product. The enormous benefits of plasma, such as its non-toxic nature, low operating costs, significant water savings in disinfection processes, and the possibility of using it for various food products, locally produced, have made the plasma process more sustainable and attracted much attention.

Keywords

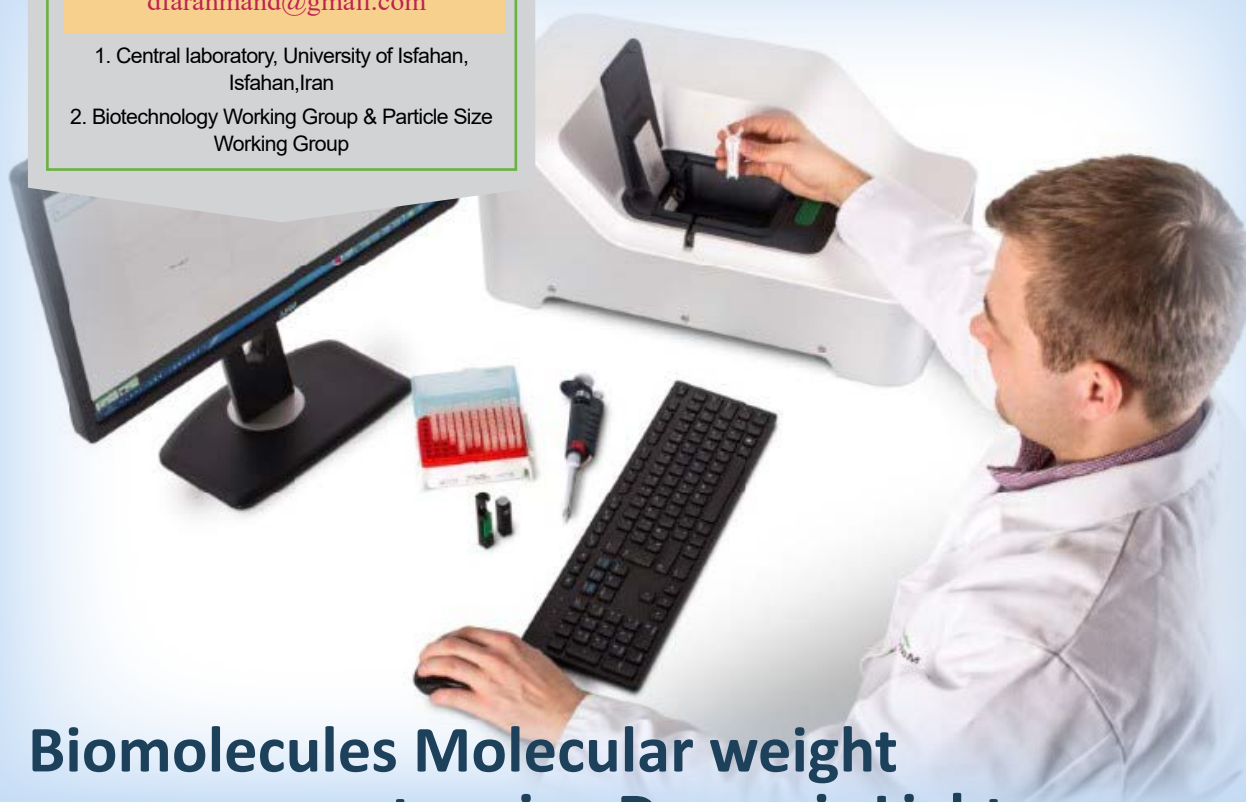
cold plasma, food, agricultural products, microbial bar.

Author

Daryanaz Farahmand Broujeni^{1,2*}

*dfarahmand@gmail.com

1. Central laboratory, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2. Biotechnology Working Group & Particle Size Working Group



Biomolecules Molecular weight measurements using Dynamic Light Scattering equipments

Abstract

Dynamic light scattering is a non-invasive method common among academic and industrial laboratories that provides rapid, accurate and reproducible quality assurance for the study of biological and non-biological molecules that requires very small amounts of sample. This method, also known as photon correlation spectroscopy (PCS), is a very powerful tool for studying the diffusion behavior of biomolecules in solution. The dynamic light scattering device is a simple and fast tool for molecular weight determination. This method can determine the molecular weight of different samples based on the hydrodynamic radius and perform the process of determining the molecular weight by using static light diffraction and using samples prepared in different concentrations. In this method, there is a single-angle Debye calculator that can be used to calculate angular effects using mathematical calculations. Determination of molecular weight can be done using this equipment with special cell and using toluene as a standard sample. Various methods are available to researchers to measure or estimate the molecular weight of biological molecules. However, it's important to know how they work and which tool is most useful for your application. The purpose of this article is to provide an overview to the reader for determining the molecular weight of biomolecules with dynamic light scattering.

Keywords

Biomolecules, Dynamic light scattering, Molecular Weight, Hydrodynamic radius



Authors

Marjan Ezatiyan^{1*}
Hamed Faraji¹, Homa Habibi¹

*ezatiyan.m90@gmail.com

1. Amin Azma Shargh Institute of
Research Sciences, Mashhad, Iran

Aprossessment of the risk caused by heavy metals cadmium and lead in imported wheat samples in khorasan vince

Abstract

This research was conducted with the aim of measuring the concentration of lead and cadmium heavy metals in imported wheat, and then using the HQ risk index, the risk related to the consumption of this wheat was evaluated. This risk index is used to determine the harmful effects of heavy metals on human health and the environment, and the research results can be used to provide appropriate suggestions and solutions to reduce the risk of heavy metal consumption in wheat. In this experiment, first, random sampling of imported wheat was done. Then, the concentration of lead and cadmium was measured using an atomic absorption device. The daily consumption amounts for different population groups, including children and adults, were estimated and then compared with the health guide. The concentration of lead and cadmium in wheat samples was lower compared to the permissible limit of the national standard. The average concentration of metals in imported wheats was 0.068 ± 0.009 , 0.010 ± 0.002 , 0.010 ± 0.002 in 1401, 0.104 ± 0.008 , 0.13 ± 0.003 in 1402 respectively. 0.0 mg/kg . Consumption of wheat contaminated with cadmium and lead increases HI and CR indices in both adults and children. The risk of cancer from consuming wheat in Khorasan province in 1402 is higher than in 1401.

Keywords

Risk Assessment, Risk index, Carcinogenic potential, Heavy metals.

Authors

Maryam Ahmadi^{1*}Khosrow Aghaeipour²

*Maryam.ahmadi3836@gmail.com

1. Biotechnology Department of Behesht Aein Laboratory Complex, Tehran, Iran.

2. Management and technical manager of Behesht Aein Laboratory Complex, Tehran, Iran.



Transgenic products: friend or enemy

Abstract

Genetically modified organisms or transgenics (GMO) organisms are Organism that their DNA are altered via genetic engineering techniques and are generally produced by adding one or more genes in the laboratory. Transgenic plants have advantages such as: improved plant life span, high performance and quality, resistance to pests, heat, cold, drought, biotic and abiotic stresses, and also the expression of foreign proteins with medicinal and industrial value (insulin, growth hormone, etc.). There are concerns about the impact of transgenic products on the environment and human health. Although from a scientific point of view no harmful effects for humans and animals have not been proven from currently certified transgenic products, but because of the considering possible future risks, it is the customer's rights to know whether the consuming product is transgenic or natural. Thus, it should be respected the possibility of tracking by labeling products to make clear either it is GM or not. Testing for transgenic products is done by different methods such as ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent assay) and polymerase chain reaction (PCR). Among these, the PCR method is the most sensitive and accurate method of measuring transgenicity, which is performed by a thermocycler to replicate target DNA fragments in a proper laboratory. It is used for many kinds of molecular studies, including the determination of transgenic products.

Keywords

transgenic products, foreign proteins, labeling, polymerase chain reaction.

Author

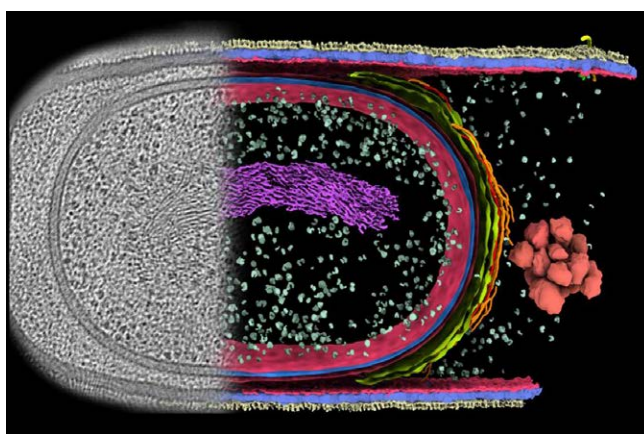
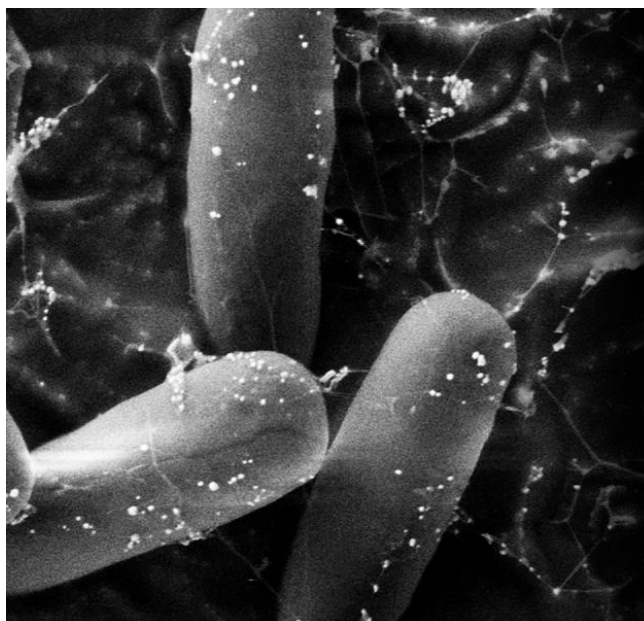
Sanaz Shobikeh^{1,2*}

*researchers4u@gmail.com

1. Shiraz University Transmission Electron Microscope Laboratory Specialist

2. Member of National TEM Experts work group

Application of Cryo-FIB-SEM for Cryo-TEM lamella preparation from frozen biological specimen



Abstract

In recent years, Cryo-Focused Ion Beam Scanning Electron Microscope (Cryo-FIB-SEM) has been used extensively in biological specimen preparation filed. This device is actually comprising of a Scanning Electron Microscope and a Focused Ion Beam system generating Gallium ions both integrated inside one column. As a result, it can focus both beams containing electrons and ions on one coincident point. Using Cryo-Ultramicrotome to prepare thin sections (less than 200nm thick) of frozen biological specimen for imaging inside Cryo-Transmission Electron Microscope (Cryo-TEM) is considered a routine procedure in many TEM laboratories across the world. Due to presence of some artifacts in this procedure, researchers looked for other possible options that are less prone to errors. After experimenting with some options, they are convinced that using Cryo-FIB-SEM for preparation of thin sections from frozen biological specimen is the best way to minimize the artifacts associated with this method. It is also should be noted that FIB offers nanometer resolution, and therefore it is possible to select a specific location of frozen biological specimen and apply sectioning procedure on that very spot. FIB uses ion beam instead of electrons to prepare uniformly thin sections (called: lamella) of samples. In this article, detailed preparation process of aforementioned lamella from frozen biological specimen for viewing inside Cryo-TEM using FIB has been depicted.

Keywords

Cryo Focused Ion Beam Scanning Electron Microscope, lamella, Cryo Transmission Electron Microscope.



Iranian Journal of Laboratory Knowledge

Volume 12 ■ Issue 3 ■ Fall 2024 ■ No.47

ISSN 2538-3450

Concessionaire:

Iran Nanotechnology Innovation Council

Managing Editor: Alireza Badiei

Editor in Chief: Mojtaba Nasab

Executive Management: Iran Nanotechnology
Laboratory Network (INLN)

Article Editor: Davoud Gharailou

Authors:

Daryanaz Farahmand Broujeni, Asma golmakani
fahimeh mahmoodi, Marjan Ezatiyan
Hamed Faraji, Homa Habibi, Maryam Ahmadi
Khosrow Aghaeipour, Sanaz Shobikeh,
Afsoon Narooi, Seyed ahmad Zahir mirdamadi

Designer : Simin Rafipour Langroudi

Editor: Zeinab Zarincheh

Iran, Tehran, Po.Box: 14565-344

www.IJLK.ir

Email : info@ijlk.ir



Contents

Articles



Risk in Third-Party
Experiment

>51



Application of cold plasma in
agriculture and food

>52



Biomolecules Molecular weight
measurements using Dynamic Light
Scattering equipments

>53



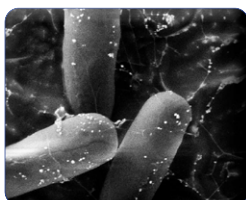
Aprossessment of the risk caused by
heavy metals cadmium and lead in
imported wheat samples in khorasan
vince

>54



Transgenic products:
friend or enemy

>55

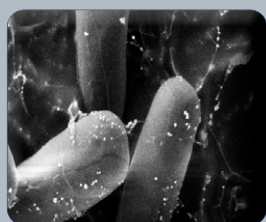


Application of Cryo-FIB-SEM for
Cryo-TEM lamella preparation
from frozen biological specimen

>56



Risk in Third-Party Experiment



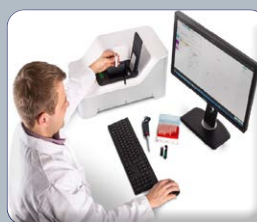
Application of Cryo-FIB-SEM for Cryo-TEM lamella preparation from frozen biological specimen



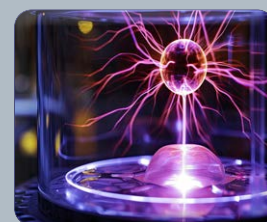
Transgenic products:
friend or enemy



Aprossessment of the risk caused
by heavy metals cadmium and
lead in imported wheat samples
in khorasan vince



Biomolecules Molecular
weight measurements using
Dynamic Light Scattering
equipments



Application of cold plasma in
agriculture and food