

ISSN: 2821-157X		https://www.jasd.khadu.ir	
	Journal of Aerospace Defense Volume 3, Issue 2 Summer P.P. 24-41		
Research Paper; 			
Electrochemical Aptasensor modified for Tetracycline Detection: A step towards defense and security applications Zeinab Charooseh¹, Mohammad Reza Baezzat², Sedigheh Kamran³ 1. Department of Chemistry Payame Noor University Tehran Iran., email: zeinab.charooseh@student.pnu.ac.ir 2. Department of Chemistry Payame Noor University Tehran Iran., email: mrbaezzat@pnu.ac.ir 3. Department of Chemistry Payame Noor University Tehran Iran., email: s_kamran@pnu.ac.ir			
Article Information		Abstract	
Accepted: 2024/05/03 Received: 2024/09/05 Keywords:		Tetracyclines are a group of antibiotics widely known for their use in treating bacterial infections in both animals and humans. Therefore, accurate and rapid measurement of tetracycline levels is crucial for ensuring the safety of materials. This laboratory study presents an electrochemical aptasensor method for measuring tetracycline, which is based on the formation of a nucleic acid aptamer complex for detecting tetracycline on the electrode surface. This aptamer structure enhances sensitivity and accuracy in tetracycline measurement and it is prepared using cyclic voltammetry and square wave electrochemical techniques. The developed aptasensor in this study can potentially be used for detecting tetracycline in pharmaceutical preparations, contaminated food products, and drinking water. In addition to medical and food applications, this optosensor can be used as a potential tool for identifying chemical and biological agents in defense and military environments. The concentrations of tetracycline used in this experiment range from 10 μM to 10 mM, and they are analyzed using CV, impedance, and DPV graphs within a voltage range of -0.2 V to 0.4 V, a scan rate of 20 mV/s, a step potential of 2 mV, and a current range of 1.6 × 10⁻⁶ to 0 A. The results indicate significant improvement in detection limits and linear range. Additionally, this sensor features high sensitivity, stability, and reusability. This study presents significant improvements in tetracycline measurement and provides high efficiency in various applications of the drug.	
Aptasensor Tetracycline aptamer			
Corresponding Author: Email: mrbaezzat@pnu.ac.ir			
Charoose, Zeinab; Baezzat, Mohammad Reza and Kamran, Sedighe. Journal of Aerospace Defense, Vol. 3, No2. 2024			



فصلنامه علمی دفاع هوافضایی

دوره ۳، شماره ۲

تابستان

صص ۴۱-۲۴

مجله مقالات



مقاله پژوهشی؛

اپتاسنسور الکتروشیمیایی بهینه شده برای تشخیص تتراسایکلین : گامی به سوی کاربردهای دفاعی و امنیتی

زینب چاروسه^۱، محمدرضا باعزت^۲، صدیقه کامران^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران رایانامه: zeinab.charoosheh@student.pnu.ac.ir

۲. گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، رایانامه: mrbaezzat@pnu.ac.ir

۳. گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، رایانامه: s_kamran@pnu.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

این مطالعه آزمایشگاهی، یک روش اپتاسنسوری الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری تتراسایکلین ارائه می‌دهد؛ که بر اساس تشکیل یک فراوردهٔ اپتامر اسید نوکلئیکی برای تشخیص تتراسایکلین بر روی سطح الکترودی که در آزمایشگاه ساخته شده، می‌باشد و این ساختار اپتامر، باعث افزایش حساسیت و دقت در اندازه‌گیری تتراسایکلین خواهد شد و با استفاده از تکنیک الکتروشیمیایی سیکلی و موج مربعی تهیه می‌شود. علاوه بر کاربردهای پزشکی و غذایی، این اپتاسنسور می‌تواند به‌عنوان یک ابزار بالقوه برای شناسایی و پایش عوامل شیمیایی و بیولوژیکی در محیط‌های دفاعی و نظامی به کار گرفته شود. غلظت‌های تتراسایکلین استفاده شده در این آزمایش از ۱۰ میکرو مولار تا ۱۰ میلی مولار می‌باشد و با استفاده از نمودارهای ولتامتری چرخه‌ای و امپدانس و ولتامتر پالس دیفرانسیلی در محدوده ولتاژ ۰/۲- تا ۰/۴ ولت و سرعت اسکن ۲۰ mV/s و پتانسیل پله‌ای ۲ میلی ولت و شدت جریان در محدوده ۰ تا ۱۰^{-۶} ۱/۶× مورد تحلیل قرار گرفته شد. نتایج نشان می‌دهند که این روش بهبود قابل توجهی در حد تشخیص و محدوده خطی دارد. همچنین، این سنسور از ویژگی‌هایی مانند حساسیت بالا، پایداری و قابلیت استفاده مجدد برخوردار است. این مطالعه بهبودهای مهمی در زمینه اندازه‌گیری تتراسایکلین ارائه می‌دهد و بازدهی بالایی در کاربردهای مختلف این دارو را فراهم می‌کند.

تاریخ دریافت:

۱۴۰۳/۰۲/۱۴

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۳/۰۶/۱۵

کلیدواژه‌ها:

اپتاسنسور

تتراسایکلین

اپتامر

نویسنده مسئول:

ایمیل:

mrbaezzat@pnu.ac.ir

استناد: چاروسه، زینب؛ باعزت، محمدرضا و کامران، صدیقه. اپتاسنسور الکتروشیمیایی برای تشخیص تتراسایکلین. مجله علمی پژوهشی دفاع هوافضایی. دوره ۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳.

۱- مقدمه

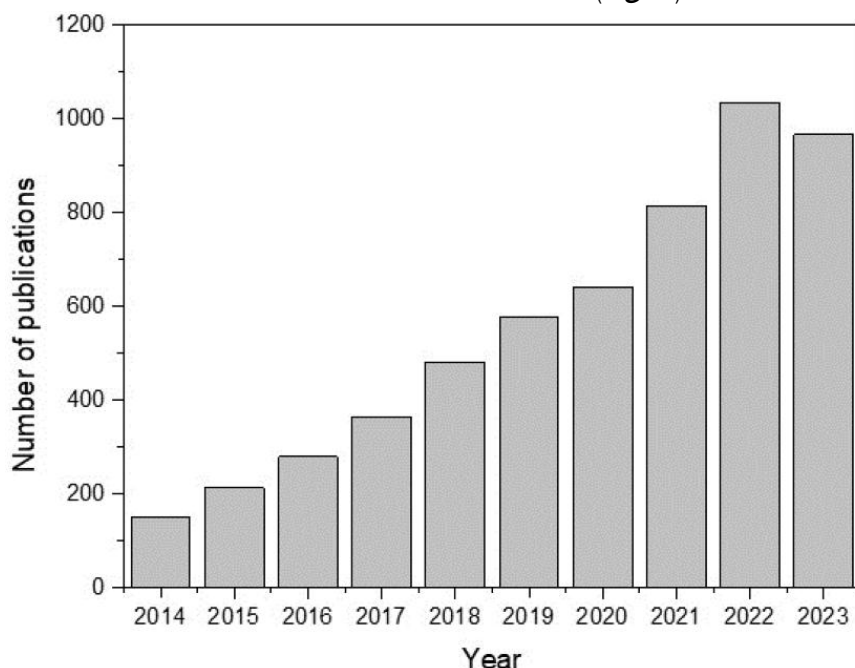
تتراسایکلین‌ها به عنوان یکی از مهم‌ترین گروه‌های آنتی‌بیوتیکی، نقشی حیاتی در درمان بیماری‌های انسان و دام دارند. با این حال، استفاده بی‌رویه از آن‌ها باعث بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی شده که یک مشکل جدی در حوزه سلامت عمومی به شمار می‌آید [1]. تتراسایکلین به دلیل خواص ضد باکتریایی مناسب و هزینه پایین، به طور گسترده در درمان بیماری‌های انسانی و حیوانی به کار رفته است [2]. با این وجود، اثرات مخرب تتراسایکلین در غلظت‌های بالا بر سلامت انسان، به ویژه از نظر سمیت کبدی و خطرات احتمالی برای زنان باردار، نیازمند ایجاد رویکردهای سریع، حساس و اختصاصی برای تشخیص آن در نمونه‌های غذایی است. بقایای تتراسایکلین در محصولات غذایی مانند گوشت، شیر، عسل و تخم‌مرغ مشاهده شده است. بنابراین، توسعه روش‌هایی برای تشخیص سریع و دقیق این آنتی‌بیوتیک‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [4,5].

روش‌های متداولی مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و آزمون‌های ایمنوسرولوژیکی (ELISA) برای شناسایی آنتی‌بیوتیک‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با این حال، این روش‌ها به دلیل نیاز به تجهیزات گران قیمت، فرایندهای پیچیده و وقت‌گیر برای آماده‌سازی نمونه‌ها و نیاز به اپراتورهای متخصص، محدودیت‌هایی دارند. در مقابل، حسگرها و زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی به دلیل سرعت بالا، حساسیت زیاد و هزینه کمتر توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. یکی از پیشرفت‌های مهم در این زمینه، استفاده از آپتامرها به عنوان عنصر تشخیصی در آپتاسنسورها است [6-8].

آپتامرها توالی‌های کوتاه از RNA یا DNA تک‌ رشته‌ای هستند که به واسطه فرایند SELEX توسعه یافته و با هدف‌های مختلفی مانند پروتئین‌ها، یون‌های فلزی، ویتامین‌ها، بیومارکرها و آنتی‌بیوتیک‌ها با حساسیت بالا ترکیب می‌شوند. مزایای آپتامرها شامل ساختار پایدار با هدف، سنتز ارزان، پایداری حرارتی، قابلیت اصلاح آسان و سمیت پایین است [9,27-29]. همچنین، آپتاسنسورهای الکتروشیمیایی به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد آپتامرها، شامل حساسیت بالا، انتخاب‌پذیری مناسب و امکان تقویت سیگنال، به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند [10,32].

به دلیل امکان سنتز در شرایط آزمایشگاهی و توانایی بالای اتصال به اهداف خاص، آپتامرها در بسیاری از تحقیقات مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این مولکول‌ها برای شناسایی انواع مختلفی از مواد مانند ترکیبات آلی، یون‌های فلزی، سلول‌ها و پروتئین‌ها به کار می‌روند. طراحی انعطاف‌پذیر و کم‌هزینه آپتامرها باعث شده که در روش‌های مختلف تجزیه و تحلیل

با کارایی بالا استفاده شوند [11-14,20]. این روش‌های تشخیصی شامل تکنیک‌های رنگ‌سنجی، فلورسانس، رزونانس پلاسمون سطحی، نورتایی شیمیایی و همچنین تکنیک‌های الکتروشیمیایی هستند. مطالعات بسیاری در حال بررسی و توسعه حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی مبتنی بر آپتامرها هستند که به خوبی در ادبیات علمی قابل مشاهده است [15,21-24]. (شکل ۱)



شکل ۱: تعداد مقالات چاپ شده در موضوع آپتاسنسورهای الکتروشیمیایی در سال‌های اخیر؛ منبع

در سال‌های اخیر، آپتامرهای متعددی برای شناسایی باقیمانده‌های آنتی‌بیوتیک‌ها مورد استفاده قرار گرفته و آپتاسنسورهای الکتروشیمیایی متنوعی برای شناسایی تتراسایکلین در مواد مختلف توسعه یافته‌اند Shi و همکارانش آپتاسنسوری را که توسط مایع یونی و Fe_3O_4 اصلاح شده بود برای شناسایی تتراسایکلین توسعه دادند [16]. Tang و همکاران از الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکامپوزیت $\text{MoS}_2\text{-M}$ و آپتامر برای شناسایی تتراسایکلین استفاده کردند [17]. Zhang و همکاران از نانوکامپوزیت ZnO CdS@Au برای ساخت آپتاسنسوری جهت تعیین تتراسایکلین استفاده کردند [18]. Zhan و همکاران آپتاسنسوری با استفاده از الکتروود صفحه‌ای کربن اصلاح شده با گرافن اکسید کاهشی و نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4) برای شناسایی تتراسایکلین توسعه دادند [19].

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد و عامل‌های مصرفی

در این پژوهش از مواد مختلفی برای آماده‌سازی و اصلاح الکترودها استفاده شد. مایع یونی ۱-بوتیل-۳-متیل ایمیدازولیوم تترافلوروبورات با خلوص ۹۹٪ از شرکت Sigma-Aldrich به‌عنوان یکی از اجزای اصلی استفاده شد. برای افزودن خواص مغناطیسی و بهبود عملکرد حسگر، از نانو ذرات Fe_3O_4 با اندازه ذرات ۵۰ نانومتر و خلوص ۹۸٪ از شرکت US Research Nanomaterials Inc. استفاده گردید. پارافین مایع با خلوص بالا از شرکت Merck به‌عنوان بخش اتصال‌دهنده به کار رفت و پودر گرافیت با خلوص ۹۹.۵٪ از شرکت Alfa Aesar جهت اصلاح الکترودها به کار گرفته شد.

برای انجام آزمایش‌های الکتروشیمیایی از محلول ۵ میلی مولار پتاسیم فروسیانید ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$) و پتاسیم فری سیانید ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$)، هر دو با خلوص ۹۹٪ از شرکت Sigma-Aldrich استفاده شد. همچنین، پتاسیم کلرید (KCl) با خلوص ۹۹.۵٪ از شرکت Merck برای ایجاد محیط یونی مناسب به کار رفت. نانو ذرات طلا با خلوص ۹۹.۹٪ و قطر متوسط ۲۰ نانومتر از شرکت Sigma-Aldrich جهت اصلاح نهایی سطح الکترودها به کار گرفته شدند. در مراحل تمیز کردن الکترودها و بهینه‌سازی سطح، از اسیدسولفوریک (H_2SO_4) با خلوص ۹۸٪ از شرکت Merck و اسید تیوگلیکولیک (TGA) با خلوص ۹۸٪ از شرکت Sigma-Aldrich استفاده گردید. این مواد برای انجام ولتامتری چرخه‌ای (CV) و طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) به منظور ارزیابی عملکرد الکترودهای اصلاح‌شده مورد استفاده قرار گرفتند.

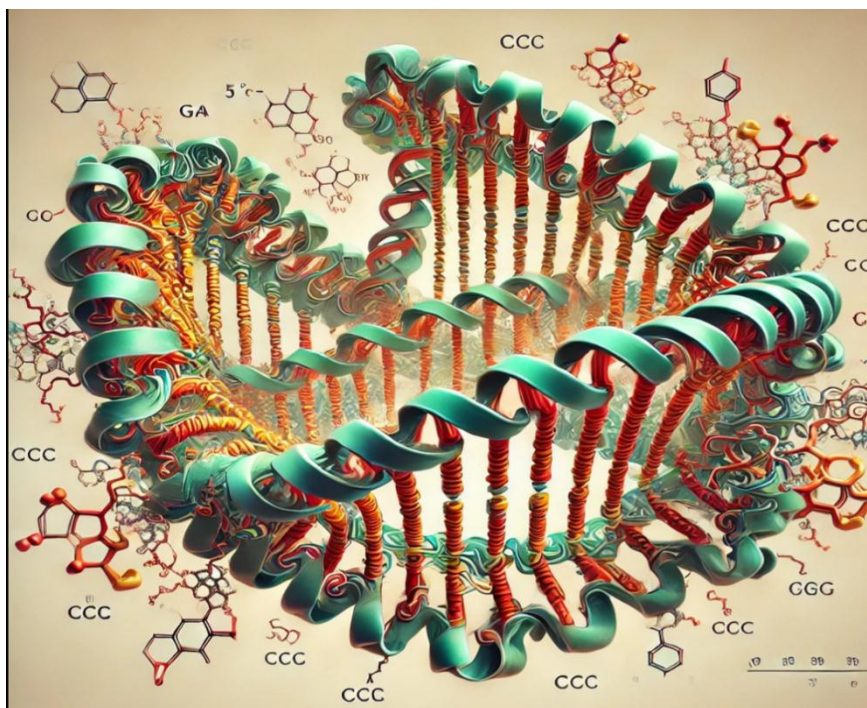
۲-۲ روش‌ها

تجزیه و تحلیل الکتروشیمیایی دستگاه در دمای اتاق با استفاده از یک آنالیزور الکتروشیمیایی AUTOLAB انجام شد. الکترودهای طلای چاپ شده روی صفحه شامل الکترودهای کار و مرجع و کمکی هستند.

توالی اپتامر SSDNA اصلاح‌شده با TET به شرح زیر است:

5'-CGT ACG GAA TTC GCT AGC CCC CCG GCA GGC CAC GGC
TTG GGT TGG TCC CAC TGC GCG TGG ATC CGA GCT CCA CGT
G-3'

شکل ۲ نشان‌دهنده ساختار اپتامر SSDNA متصل به TET می‌باشد.



شکل ۲- ساختار آپتامر SSDNA متصل به TET

۲-۲ اصلاح الکتروود و نحوه انجام تست

آماده سازی الکتروودها (الکتروود Bare و الکتروود شامل ۰/۰۱ گرم مایع یونی و ۰/۰۴ گرم نانوذره Fe_3O_4 و ۰/۷ میلی لیتر پارافین و ۰/۹۵ گرم پودر گرافیت) در محلول ۵ میلی مولار پتاسیم فروسیانید ($\text{C}_6\text{N}_6\text{FeK}_4$) و پتاسیم فری سیانید ($\text{C}_6\text{N}_6\text{FeK}_3$) و ۰/۱ مولار پتاسیم کلرید (KCL) یک CV و امپدانس گرفته شد. روی الکتروودها نانوذره طلا نشانداده شد. برای تمیز کردن سطح الکتروودها از طلای اضافی الکتروودها را درون محلول ۰/۱ مولار سولفوریک اسید (H_2SO_4) در محدوده پتانسیل ۰/۱ تا ۱/۵ ولت قرار داده شد و پیک گرفته شد. و سپس دوباره از الکتروودهای اصلاح شده CV و امپدانس گرفته شد. سپس الکتروودها را به مدت ۲۴ ساعت درون محلول اسید تیوگلیکولیک (TGA) قرار داده و با آب شستشو داده تا خشک شوند. سپس دوباره از آن ها پیک گرفته شد که جریان پایینی تری نشان داده شد. و در امپدانس مقاومت بالاتری را نشان داد.

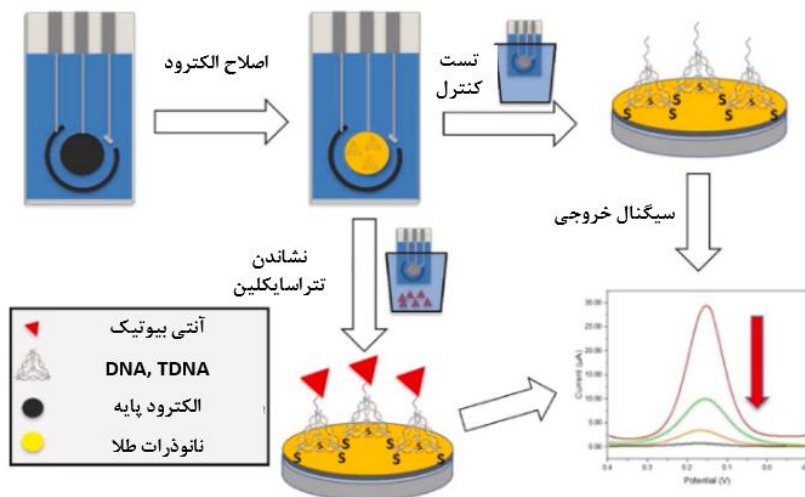
محلول ان هیدروکسی سوکسینیمید (NHS) ۰/۱ مولار و محلول اتیلن دی کلراید (EDC) ۰/۱ مولار ساخته شد و سپس الکترودها درون مخلوط NHS/EDC قرار داده شد و در دستگاه انکوباتور قرار داده شد.

برای ساخت محلول ۱۰۰ میکرومولار اپتامر از ۱۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با PH:7/4 استفاده شد و سپس محلول اپتامر حاصل درون فریزر نگهداری شد.

سپس ۵ میکرولیتر از محلول اپتامر روی سطح الکترودها ریخته شد و الکترودها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و سپس در یخچال نگه داشته شدند.

محلول ۰/۱ درصد وزنی آلبومین سرم گاوی (BSA) ساخته شد و سپس الکترودها را به مدت دو ساعت در محلول BSA قرار داده شدند و سپس دوباره از الکترودها درون محلول فری سیانید و فرو سیانید و کلرید پتاسیم در محدوده پتانسیل ۰/۲- تا ۰/۴ ولت CV و امپدانس گرفته شد. که با افزایش مقاومت همراه بود.

سپس غلظت‌های مختلفی از محلول تتراسایکلین ساخته شد و روی الکترودها قرار داده شد و پس از خشک شدن CV و امپدانس و DPV گرفته شد.



شکل ۳- شماتیک اصلاح الکتروود و تشخیص تتراسایکلین

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی الکتروشیمیایی

برای بررسی رفتار الکتروشیمیایی الکتروکدکاری در مراحل مختلف ساخت، از تکنیک‌های ولتامتری چرخه‌ای (CV) و طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) استفاده شد. نتایج CV و EIS در شکل‌های شکل ۴ الف) و ب) به ترتیب نشان داده شده‌اند.

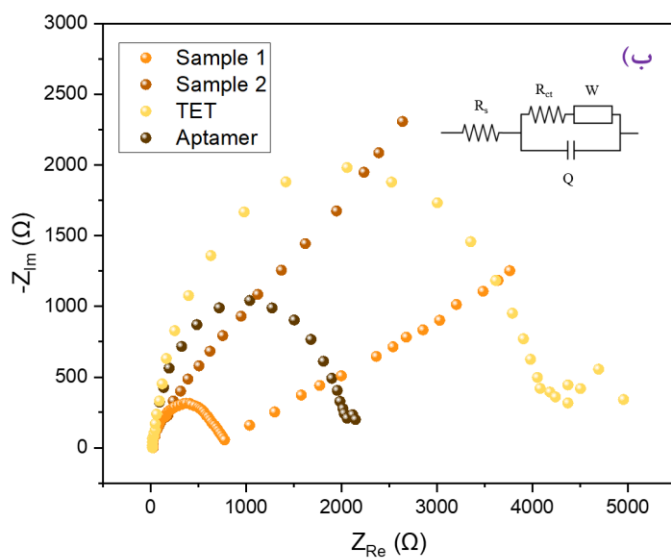
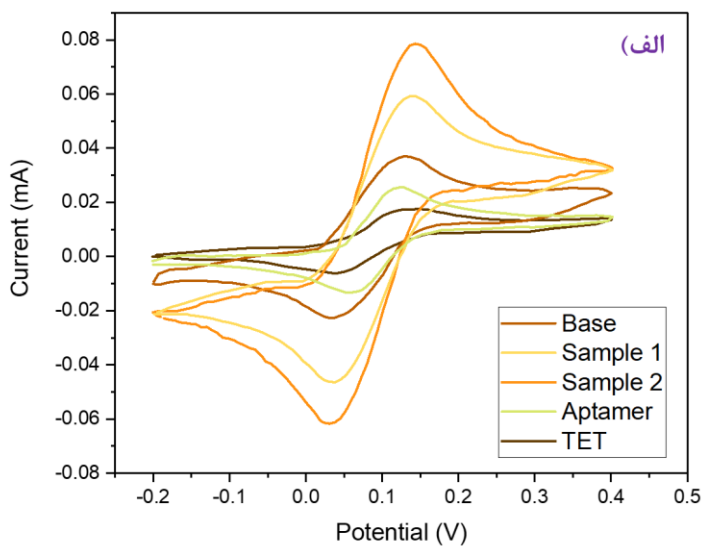
مطابق شکل ۴ الف) با تثبیت نانو ذرات مغناطیسی بر روی سطح الکتروکد اصلاح شده، فرآیند انتقال الکترون نسبت به مرحله قبلی افزایش یافت که منجر به افزایش قله جریان شد. پس از تثبیت نانو ذرات طلا بر روی الکتروکد اصلاح شده با نانو ذرات مغناطیسی، قله جریان بیشتر افزایش یافت. این افزایش جریان می‌تواند به خواص هدایت الکتریکی بالای نانو ذرات الکترومغناطیس و نانو ذرات طلا نسبت داده شود. پس از تثبیت اپتامر تیولدار بر روی الکتروکد اصلاح شده، قله جریان در مقایسه با مرحله قبلی کاهش یافت. همچنین، با تثبیت تتراسایکلین (TET) بر روی الکتروکد نهایی، قله جریان بیشتر کاهش پیدا کرد و در نتیجه، فرآیند انتقال الکترون کاهش یافت. این کاهش به دلیل تشکیل کمپلکس اختصاصی بین اپتامر و آنتی‌بیوتیک است که انتقال الکترون را محدود می‌کند.

تکنیک EIS یک روش کاربردی مؤثر برای ردیابی تغییرات سطح الکتروکد در مطالعات الکتروشیمیایی است (شکل ۴ ب)). بخش نیم‌دایره‌ای در نمودار Nyquist به فرآیند انتقال الکترون در فرکانس‌های بالا مربوط است و در فرکانس‌های پایین، بخش خطی به فرآیند انتشار ارتباط دارد. برای برازش داده‌های EIS، مدار Randles استفاده شد که در آن، Q ، W ، R_s و R_{ct} به ترتیب نشان‌دهنده ظرفیت لایه دوتایی، مقاومت واربرگ، مقاومت الکتروولیت و مقاومت انتقال بار هستند.

با اصلاح الکتروکد base به کمک نانو ذرات مغناطیسی و نانو ذرات طلا، مقدار R_{ct} به دلیل هدایت الکتریکی و افزایش نرخ انتقال الکترون به‌طور قابل‌توجهی در مقایسه با الکتروکد base ساده کاهش یافت. با افزودن اپتامر و نانو ذرات طلا، یک لایه مقاوم منفی بر روی سطح الکتروکد تشکیل شد که باعث افزایش R_{ct} در مقایسه با الکتروکد حاوی نانو ذرات مغناطیسی و طلا شد. زمانی که آنالیت TET به اپتامر اختصاصی خود متصل شد، مقدار R_{ct} به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. این امر به دلیل قرار گرفتن TET در نواحی فعال واکنش بر روی سطح الکتروکد رخ داد.

به‌طور کلی، نتایج به‌دست‌آمده از CV و EIS تأیید کردند که نانو ذرات مغناطیسی، نانو ذرات

طلا، اپتامر و TET به درستی بر روی سطح الکتروود قرار گرفته‌اند و نتایج CV و EIS مکمل یکدیگر بودند.



شکل ۴- الف) CV و ب) EIS الکتروودهای اصلاح شده

۳-۲- آزمون بهینه سازی

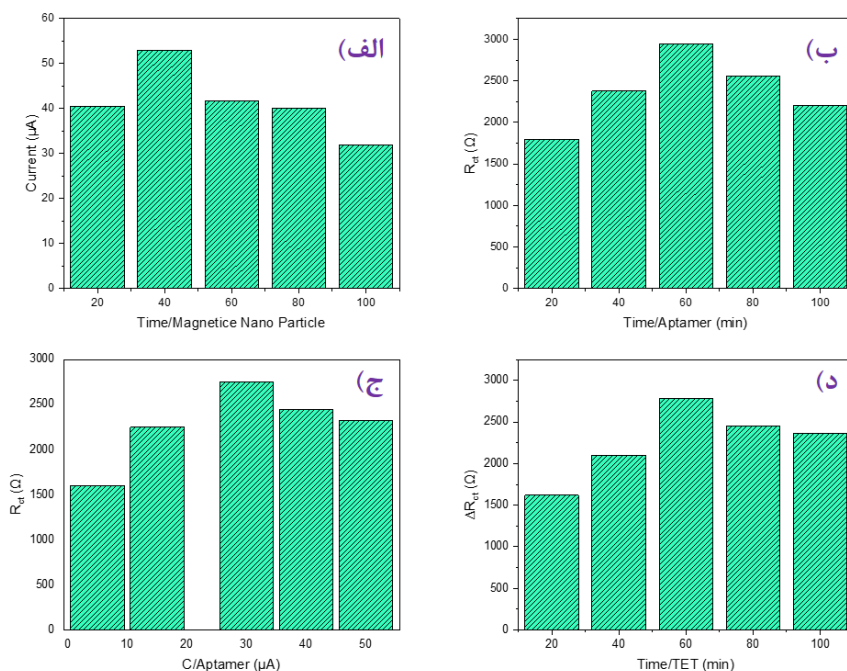
برای دستیابی به بهترین عملکرد اپتاسنسور، نیاز بود تا برخی پارامترهای تجربی مانند زمان تثبیت نانو ذرات مغناطیسی ، زمان تثبیت اپتامر، غلظت اپتامر و زمان انکوباسیون تتراسایکلین بهینه‌سازی شوند.

برای تعیین زمان بهینه تثبیت نانو ذرات مغناطیسی، الکتروود کاری در محلول نانو ذرات مغناطیسی برای زمان‌های مختلف (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ دقیقه) قرار داده شد و سپس ولتاژتری چرخه‌ای (CV) در محلول ۵ میلی‌مولار پتاسیم فروسیانید و پتاسیم فری‌سیانید با ۰/۱ مولار کلرید پتاسیم انجام شد. همان‌طور که در شکل ۵ الف) نشان داده شده است، مقدار بیشینه جریان پیک در زمان ۴۰ دقیقه به دست آمد. پس از ۴۰ دقیقه، جریان پیک کاهش یافت. بنابراین، زمان ۴۰ دقیقه به‌عنوان زمان بهینه برای تثبیت نانو ذرات مغناطیسی انتخاب شد.

برای یافتن زمان بهینه تثبیت اپتامر، الکتروود اصلاح‌شده با نانو ذرات طلا و مغناطیسی در محلول اپتامر برای زمان‌های مختلف (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ دقیقه) قرار داده شد و طیف امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) ثبت گردید. نتایج مقاومت انتقال بار (R_{ct}) نشان داد که مقدار R_{ct} تا زمان ۶۰ دقیقه افزایش‌یافته و پس از آن تغییر قابل توجهی مشاهده نشد (شکل ۵ ب). این موضوع به این دلیل است که پس از ۶۰ دقیقه، تمام نواحی فعال سطح الکتروود با رشته‌های اپتامر پر شده‌اند. بنابراین، زمان ۶۰ دقیقه به‌عنوان زمان بهینه برای تثبیت اپتامر انتخاب شد.

پس از بهینه‌سازی زمان تثبیت اپتامر، غلظت اپتامر نیز بهینه‌سازی شد. به این منظور، الکتروودهای اصلاح‌شده با نانو ذرات مغناطیسی و طلا در محلول‌های اپتامر با غلظت‌های مختلف (۵، ۱۵، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکرومولار) به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شدند و سپس طیف‌های امپدانس با استفاده از تکنیک EIS ثبت شد. بر اساس شکل ۵ ج)، با افزایش غلظت اپتامر از ۵ تا ۳۰ میکرومولار، مقدار R_{ct} افزایش یافت. در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میکرومولار، تغییر قابل توجهی در R_{ct} مشاهده نشد. بنابراین، غلظت ۳۰ میکرومولار به‌عنوان غلظت بهینه اپتامر انتخاب شد.

برای انتخاب زمان بهینه انکوباسیون TET ، الکتروود اصلاح‌شده که با اپتامر با غلظت بهینه ۳۰ میکرومولار و زمان تثبیت ۶۰ دقیقه آماده شده بود، در زمان‌های مختلف (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ دقیقه) قرار داده شد و تغییر مقاومت انتقال بار (ΔR_{ct}) قبل و بعد از تثبیت TET با استفاده از تکنیک EIS ثبت گردید (شکل ۵ د) نتایج نشان داد که مقدار ΔR_{ct} تا زمان ۶۰ دقیقه افزایش یافت و در زمان‌های بیشتر از ۶۰ دقیقه کاهش‌یافته و به حالت ثابت نزدیک شد. بنابراین، زمان ۶۰ دقیقه به‌عنوان زمان بهینه انکوباسیون TET بر روی سطح الکتروود انتخاب شد.



شکل ۴- آزمون‌های بهینه‌سازی آبتامر

۳-۳- مشخصه‌های عملکردی

تشخیص تتراسایکلین در بخش قبل با استفاده از پارامترهای بهینه انجام شد. برای این منظور، اپتاسنسور ساخته شده در محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (TET از ۱۰ میکرومولار تا ۱۰ میکرومولار) قرار گرفت و سپس طیف‌های امپدانس الکتروشیمیایی ثبت شدند. همان‌طور که در شکل ۵ الف) مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت TET، بخش نیم‌دایره‌ای نمودار نایکوئیست که به مقاومت انتقال بار (R_{ct}) مرتبط است، بزرگ‌تر می‌شود. شکل ۵ ب) منحنی کالیراسیون را با نمایش داده‌های ΔR_{ct} (تغییرات مقاومت انتقال بار قبل و بعد از تثبیت TET) بر حسب لگاریتم غلظت TET نشان می‌دهد. با افزایش غلظت TET از ۱/۱۰ نانومولار تا ۱۰ میکرومولار، مقدار ΔR_{ct} به صورت خطی افزایش یافت و رابطه زیر برقرار شد:

$$\Delta R_{ct} = 299.88x + 4185.5 \quad (R^2 = 0.9850)$$

که در آن، x نشان‌دهنده لگاریتم غلظت TET است.

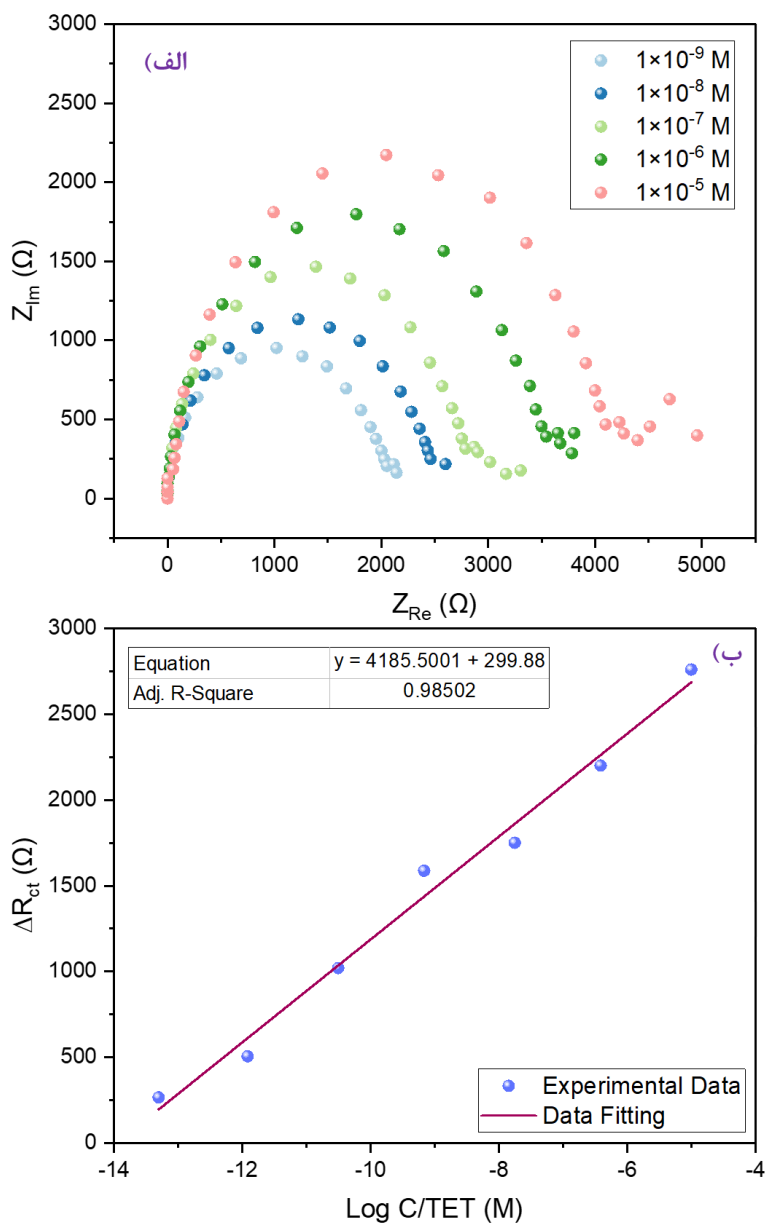
همچنین حد تشخیص (LOD) اپتاسنسور طراحی شده به صورت سه برابر انحراف معیار (SD) اندازه گیری های نمونه های خالی تعریف شد. بنابراین، LOD به مقدار بسیار پایین 0.03 نانومولار تعیین شد.

در جدول ۱، اپتاسنسورهای مختلف از نظر حد تشخیص و محدوده خطی با اپتاسنسور این پژوهش مقایسه شده اند. بر اساس این جدول، اپتاسنسور مبتنی بر نانو ذرات مغناطیسی و نانو ذرات طلا در مقایسه با سایر اپتاسنسورها دارای محدوده خطی گسترده تر و LOD پایین تری است.

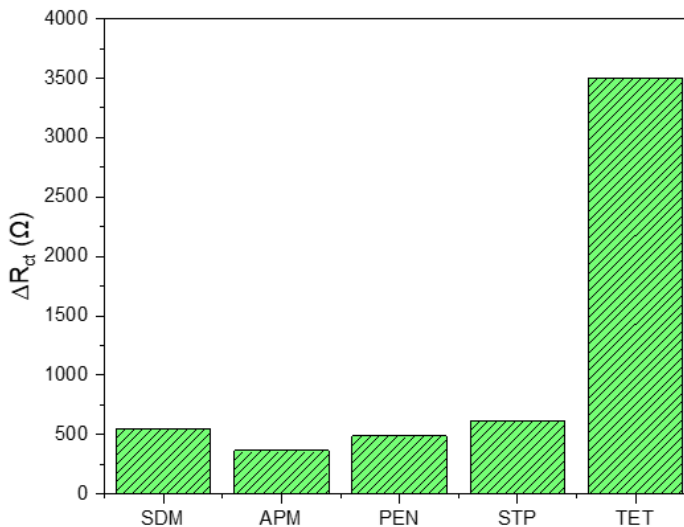
برای ارزیابی قابلیت تکرارپذیری سنسور، پنج اپتاسنسور به طور جداگانه و تحت شرایط یکسان ساخته شدند. سپس داده های ΔR_{ct} (قبل و بعد از تثبیت TET) با استفاده از EIS ثبت شد. انحراف استاندارد نسبی (RSD) برای ΔR_{ct} برابر با $5/9\%$ به دست آمد که نشان دهنده تکرارپذیری قابل قبول اپتاسنسور است.

برای بررسی پایداری بلندمدت اپتاسنسور، پنج اپتاسنسور تحت شرایط بهینه ساخته شده و در دمای 4 درجه سانتی گراد به مدت 2 هفته ذخیره شدند. پس از ثبت داده های R_{ct} مشخص شد که پس از 2 هفته، به طور میانگین 95% از پاسخ اولیه اپتاسنسور حفظ شده است که نشان دهنده پایداری مطلوب اپتاسنسور است.

برای بررسی گزینش پذیری اپتاسنسور ساخته شده، چهار آنتی بیوتیک دیگر شامل سولفادیازین (SDM)، آمپی سیلین (AMP)، پنی سیلین (PEN) و استرپتومایسین (STP) به عنوان مزاحمت های احتمالی در نظر گرفته شده و به جای TET بر روی سطح الکتروود تثبیت شدند (شکل ۶). سپس داده های ΔR_{ct} قبل و بعد از تثبیت این آنتی بیوتیک ها ثبت و با ΔR_{ct} مربوط به TET مقایسه شد. همان طور که انتظار می رفت، اپتاسنسور پاسخ کمی به سایر آنتی بیوتیک ها نشان داد که نشان دهنده گزینش پذیری آن نسبت به TET است.



شکل ۵- الف) امپدانس الکتروشیمیایی آپتاسنسور ساخته شده در غلظت های مختلف TET ب) منحنی کالبراسیون



شکل ۴- نمودار انتخاب پذیری اپتاسنسور ساخته شده

۵- تشکر و قدردانی

به مراتب تشکر و قدردانی خود را از حامیان تحقیق که به صورت غیرمستقیم در پیشبرد آن نقش داشته‌اند، دارم.

۶- تعارض منافع

نویسنده(گان) اعلام می‌دارند که در مورد انتشار این مقاله تضاد منافع وجود ندارد. علاوه بر این، موضوعات اخلاقی شامل سرقت ادبی، رضایت آگاهانه، سوء رفتار، جعل داده‌ها، انتشار و ارسال مجدد و مکرر توسط نویسندگان رعایت شده است.

۷- دسترسی آزاد

این نشریه دارای دسترسی باز است و اجازه اشتراک (تکثیر و بازآرایی محتوا به هر شکل) و انطباق (بازترکیب، تغییر شکل و بازسازی بر اساس محتوا) را می‌دهد.

۸- بحث و نتیجه‌گیری

خلاصه‌ای از نتایج به دست آمده و ارائه پیشنهادات برای کارهای آتی در این زمینه. نمونه‌ای از مواردی که در این بخش مورد بررسی قرار می‌گیرد عبارت‌اند از:

یک بیوسنسور الکتروشیمیایی مبتنی بر اپتامر برای تشخیص تتراسایکلین ساخته شد و تجزیه و تحلیل الکتروشیمیایی توسط آنالیز ولتامتری سیکلی و ولتامتری موج مربعی انجام شد. نتایج ما نشان داد که اپتاسنسور الکتروشیمیایی حساسیت و گزینش مناسبی نسبت به تتراسایکلین با محدوده تشخیص ۱/۰ نانومولار تا ۱۰ میکرومولار نشان داد.

اپتاسنسور توسعه یافته در این مطالعه می‌تواند برای تشخیص ردیابی به سطوح بالاتر آلودگی تتراسایکلین در محصولات غذایی مانند شیر، مرغ، تخم‌مرغ، آماده‌سازی‌های دارویی و نوشیدنی مورد استفاده قرار گیرد. این مطالعه نشان داد که اپتاسنسور الکتروشیمیایی توسعه یافته با استفاده از اپتامرهای خاص و نانو ذرات طلا، حساسیت و دقت بالایی در تشخیص تتراسایکلین از خود نشان می‌دهد. نتایج ما حاکی از آن است که این سنسور نه تنها در محدوده وسیعی از غلظت‌ها عمل می‌کند، بلکه از پایداری و قابلیت استفاده مجدد بالایی نیز برخوردار است.

این پژوهش نشان داد که اپتاسنسور الکتروشیمیایی مبتنی بر اپتامر، به دلیل حساسیت بالا و زمان پاسخ‌دهی سریع، می‌تواند به عنوان یک ابزار دقیق و کارآمد در تشخیص تتراسایکلین مورد استفاده قرار گیرد. نتایج به دست آمده، کاربردهای بالقوه این سنسور را در حوزه‌های پزشکی، محیط‌زیست و صنایع غذایی برجسته می‌سازد. این پژوهش نشان داد که اپتاسنسور الکتروشیمیایی بر پایه اپتامرهای خاص و نانو ذرات طلا توانایی بالایی در تشخیص دقیق تتراسایکلین دارد. این سنسور به دلیل ویژگی‌هایی مانند حساسیت بالا، پایداری و قابلیت استفاده مجدد، می‌تواند در حوزه‌های مختلفی از جمله صنایع غذایی، دارویی و زیست‌محیطی مورد استفاده قرار گیرد. نتایج این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که این سنسور پتانسیل بالایی برای توسعه و بهبود در تحقیقات آینده دارد.

منابع:

1. Fang, P.; Qu, H.; Mao, Y.; Zheng, L. Aptamers for mycotoxin recognition in food: Recent advances and future considerations. *Adv. Agrochem* **2023**, 2, 213–220.
2. Uğurlu, O.; Man, E.; Gök, O.; Ülker, G.; Soytürk, H.; Özyurt, C.; Evran, S. A review of aptamer-conjugated nanomaterials for analytical sample preparation: Classification according to the utilized nanomaterials. *Anal. Chim. Acta* **2023**, 342001.
3. Di Mauro, V.; Lauta, F.C.; Modica, J.; Appleton, S.L.; De Franciscis, V.; Catalucci, D. Diagnostic and Therapeutic Aptamers: A Promising Pathway to Improved Cardiovascular Disease Management. *JACC Basic Transl. Sci.* **2023**.

4. Wang, L.; Peng, X.; Fu, H.; Huang, C.; Li, Y.; Liu, Z. Recent advances in the development of electrochemical aptasensors for detection of heavy metals in food. *Biosens. Bioelectron.* **2020**, *147*, 111777.
5. Torres-Vázquez, B.; de Lucas, A.M.; García-Crespo, C.; García-Martín, J.A.; Fragoso, A.; Fernández-Algar, M.; Perales, C.; Domingo, E.; Moreno, M.; Briones, C. In vitro Selection of High Affinity DNA and RNA Aptamers that Detect Hepatitis C Virus Core Protein of Genotypes 1 to 4 and Inhibit Virus Production in Cell Culture. *J. Mol. Biol.* **2022**, *434*, 167501.
6. Khan, S.; Hussain, A.; Fahimi, H.; Aliakbari, F.; Bloukh, S.H.; Edis, Z.; Babadaei, M.M.N.; Izadi, Z.; Varnamkhasti, B.S.; Jahanshahi, F.; et al. A review on the therapeutic applications of aptamers and aptamer-conjugated nanoparticles in cancer, inflammatory and viral diseases. *Arab. J. Chem.* **2022**, *15*, 103626.
7. Nur, Y.; Gaffar, S.; Hartati, Y.W.; Subroto, T. Applications of electrochemical biosensor of aptamers-based (APTASENSOR) for the detection of leukemia biomarker. *Sens. Bio-Sens. Res.* **2021**, *32*, 100416.
8. Yu, H.; Alkhamis, O.; Canoura, J.; Liu, Y.; Xiao, Y. Advances and Challenges in Small-Molecule DNA Aptamer Isolation. *Charact. Sens. Dev. Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2021**, *60*, 16800–16823.
9. Alkhamis, O.; Canoura, J.; Yu, H.; Liu, Y.; Xiao, Y. Innovative engineering and sensing strategies for aptamer-based small-molecule detection. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2019**, *121*, 115699.
10. Lin, X.; Sun, X.; Luo, S.; Liu, B.; Yang, C. Development of DNA-based signal amplification and microfluidic technology for protein assay: A review. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2016**, *80*, 132–148.
11. Xie, Y.; Huang, Y.; Li, J.; Wu, J. A trigger-based aggregation of aptamer-functionalized gold nanoparticles for colorimetry An example on detection of Escherichia coli O157:H7. *Sens. Actuators B Chem.* **2021**, *339*, 129865.
12. Yu, H.; Zhao, Q. Competitive fluorescence assay for Cd²⁺ based on aptamer structure-switching. *Microchem. J.* **2023**, *194*, 109348.
13. Yang, J.; Liu, H.; Huang, Y.; Li, L.; Zhu, X.; Ding, Y. One-step hydrothermal synthesis of near-infrared emission carbon quantum dots as fluorescence aptamer sensor for cortisol sensing and imaging. *Talanta* **2023**, *260*, 124637.
14. Lee, S.H.; Back, H.; Joo, H.J.; Lim, D.-S.; Lee, J.E.; Lee, H.J. Simultaneous detection method for two cardiac disease protein biomarkers on a single chip modified with mixed aptamers using surface plasmon resonance. *Talanta* **2024**, *267*, 125232.
15. Gupta, R.; Prakash, N.; Paul, D.; Mukherji, S. Anti-nucleolin aptamer mediated specific detection of cancer cells by Localized Surface Plasmon Resonance-based U-bent optical fiber. *Biosens. Bioelectron. X* **2023**, *13*, 100318.
16. Zhao, S.; Huang, J.; Li, D.; Yang, L. Aptamer-based chemiluminescent optical fiber immunosensor with enhanced signal amplification for ultrasensitive detection of tumor biomarkers. *Biosens. Bioelectron.* **2022**, *214*, 114505.
17. Meng, X.; Li, J.; Wu, Y.; Cao, X.; Zhang, Z. Rational design of hairpin aptamer using intrinsic disorder mechanism to enhance sensitivity of aptamer folding-based electrochemical sensor for tobramycin. *Sens. Actuators B Chem.* **2023**, *394*, 134354.

18. Kim, E.R.; Dang, T.T.-T.; Lee, S.J.; Nguyen, T.T.-Q.; Park, J.-W.; Gu, M.B. A highly sensitive sandwich-type electrochemical aptasensor using a pair of novel truncated aptamers for the detection of vaspin. *Chem. Eng. J.* **2023**, *477*, 147002.
19. Khan, R.; Deshpande, A.S.; Proteasa, G.; Andreescu, S. Aptamer-based electrochemical biosensor with S protein binding affinity for COVID-19 detection: Integrating computational design with experimental validation of S protein binding affinity. *Sens. Actuators B Chem.* **2024**, *399*, 134775.
20. Zhang, L.; Guo, W.; Lv, C.; Liu, X.; Yang, M.; Guo, M.; Fu, Q. Electrochemical biosensors represent promising detection tools in medical field. *Adv. Sens. Energy Mater.* **2023**, *2*, 100081.
21. Zhong, S.; Chen, L.; Shi, X.; Chen, G.; Sun, D.; Zhang, L. Recent advances in electrochemical aptasensors for detecting cardiac biomarkers: A review. *Microchem. J.* **2023**, *193*, 109063.
22. Azzouz, A.; Hejji, L.; Kumar, V.; Kim, K.-H. Nanomaterials-based aptasensors: An efficient detection tool for heavy-metal and metalloid ions in environmental and biological samples. *Environ. Res.* **2023**, *238 Pt 1*, 117170.
23. Ikebukuro, K.; Kiyohara, C.; Sode, K. Electrochemical detection of protein using a double aptamer sandwich. *Anal. Lett.* **2004**, *37*, 2901–2909. Zhang, Y.; Chen, S.; Ma, J.; Zhou, X.; Sun, X.; Jing, H.; Lin, M.; Zhou, C. Enzyme-catalyzed electrochemical aptasensor for ultrasensitive detection of soluble PD-L1 in breast cancer based on decorated covalent organic frameworks and carbon nanotubes. *Anal. Chim. Acta* **2023**, *1282*, 341927.
24. Li, G.; Li, H.; Li, X.; Huang, H.; Bian, H.; Liang, J.; Zhou, Z. A label-free electrochemical aptasensor for low-density lipoprotein detection using MoS₂-Au-Fc nanosheets as a high-performance redox indicator. *Microchem. J.* **2023**, *193*, 109068.
25. Chen, K.; Zhao, H.; Wang, Z.; Zhou, F.; Lan, M. Sandwich-type electrochemical aptasensor based on polydopamine-Au-metal ions as signal label and coraloid Au-conductive carbon architecture-modified electrode for the simultaneous detection of cardiac troponin I and myoglobin. *Sens. Actuators B Chem.* **2023**, *390*, 134044.
26. Chen, Y.; Gu, Y.; Yi, X.; Huang, H.; Li, Y.; Yang, B.; Guo, S.; Bai, L. Conductive nano-gold self-assembled MXene@hemin with high catalytic activity achieved by strong metal-support interactions: A powerful nanozyme for development of electrochemical aptasensor in tuberculosis diagnosis. *Chem. Eng. J.* **2023**, *466*, 143112.
27. Li, L.; Ma, R.; Wang, W.; Zhang, L.; Li, J.; Eltzov, E.; Wang, S.; Mao, X. Group-targeting aptamers and aptasensors for simultaneous identification of multiple targets in foods. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2023**, *166*, 117169.
28. Melinte, G.; Hosu, O.; Cristea, C.; Marrazza, G. Ara H1 peanut allergen detection using a labelled electrochemical aptasensor based on GO-COOH@bimetallic composite platform. *Food Chem.* **2023**, *400*, 134074.
29. Kang, M.; Yao, Y.; Yuan, B.; Zhang, S.; Oderinde, O.; Zhang, Z. A sensitive bimetallic copper/bismuth metal-organic frameworks-based aptasensors for zearalenone detection in foodstuffs. *Food Chem.* **2024**, *437 Pt 1*, 137827.

30. Lai, Z.; Mahdavi, B.; Baghayeri, M. Label-free and sensitive determination of toxic Cd(II) in environmental waters using a Fe₃O₄-PEI-Au based electrochemical aptasensor. *Alex. Eng. J.* 2023, **83**, 251–256.
31. GO/NiFe₂O₄ MnFe₂O₄CoFe₂O₄ anode material: Toward high performance hybrid supercapacitors. *Microscopy Research and Technique*, 87(10), 2459-2474
32. Zhang, Z.; Karimi-Maleh, H. In situ synthesis of label-free electrochemical aptasensor-based sandwich-like AuNPs/PPy/Ti₃C₂Tx for ultrasensitive detection of lead ions as hazardous pollutants in environmental fluids. *Chemosphere* 2023, **324**, 138302.