Journal of Combat Medicine
2023; 6(2): 107-115
10.30491/JCM.2024.413940.1017
Narrative Review

Detection of Bioterrorism Agents Using the Technique of Laser-induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)

Mohammad Ebrahim Minaei [1*], Seyyed Mohammad Javad Raissadat [1]

[1] *Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein Comprehension University, Tehran, Iran*

Received: 29 October 2023 **Accepted:** 21 November 2023

Abstract

Background and Aim: The aim of this study was the evaluate using of techniques LIBS (laser-induced breakdown spectroscopy) to detect biological agents in bioterrorism threat. Remote and real-time identification of biological agents is now one of the key needs for defense and security dimensions in the world.

Methods: In this study, has been used a descriptive method that after collecting the literature and the internet search.

Results: LIBS technique based on laser-induced plasma spectroscopy can lead to determining of amount various elements in the microorganisms. In this method, in place of laser focus was evaporate a small amount of the target surface and on the impacts of successive molecules in the vapor phase, was break the molecular bonds which the atoms and ions excited were create laser induced plasmas.

Conclusion: Detection of bioterrorism threats by means of light and simple at the online and distant is very important. According to the results of the research showed that LIBS technique is used to detect bioterrorism threats and its utilizations is being rapidly developed for the detection of biological agents.

Keywords: Detection, Bioterrorism, Laser Induced break down Spectroscopy.

*** Corresponding Author:** Mohammad Ebrahim Minaei
Address: Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein Comprehension University, Tehran, Iran.
E-mail: mminaii@ihu.ac.ir

OPEN ACCESS
Copyright© 2023. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.
Downloaded from: http:// www.jmedbehrazm.ir

نشریه بهداری رزمی دفاع مقدس و مقاومت
۱۴۰۲، دوره ۶، شماره ۲، صفحات: ۱۱۵-۱۰۷
10.30491/JCM.2024.413940.1017
مروری روایتی

تشخیص عوامل بیوتروریستی با استفاده از روش طیف‌سنجی تخلیه القایی لیزری (LIBS)

محمد ابراهیم مینایی[1*]، سید محمد جواد رئیس‌السادات[1]

[1] دانشکده علوم پایه، دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۰۷ **پذیرش مقاله:** ۱۴۰۲/۰۸/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه، بررسی کاربرد روش LIBS (طیف‌سنجی تخلیه القای لیزری) برای تشخیص عوامل بیولوژیک در تهدیدات بیوتروریستی است. شناسایی از راه دور و در لحظه (زمان واقعی) عوامل بیولوژیکی هم‌اکنون یکی از نیازهای کلیدی ابعاد دفاعی و امنیتی در جهان است.

روش‌ها: در این تحقیق، از روش توصیفی و تحلیلی استفاده شده که پس از جمع‌آوری مطالعات کتابخانه‌ای و جستجوی اینترنتی، نتایج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است.

یافته‌ها: روش LIBS بر اساس طیف‌سنجی پلاسمای القا شده توسط لیزر می‌تواند منجر به تعیین مقدار عناصر مختلف در میکروارگانیسم‌ها شود. در این روش، در محل تمرکز لیزر مقدار کمی از ماده سطح هدف تبخیر و بر اثر برخوردهای متوالی مولکول‌ها در فاز بخار، پیوندهای مولکولی آن‌ها شکسته می‌شود که اتم و یون‌های برانگیخته شده، پلاسمای القای لیزری را بوجود می‌آورند.

نتیجه‌گیری: آشکارسازی تهدیدات بیوتروریستی با ابزاری سبک و ساده که در لحظه و با فاصله بتواند عامل بیولوژیک را تشخیص دهد، بسیار اهمیت دارد. با توجه به نتایج حاصل از گزارشات محققان، مشخص می‌شود که روش LIBS جهت تشخیص تهدیدات بیوتروریستی کاربرد دارد و استفاده از آن برای آشکارسازی عوامل بیولوژیک به سرعت در حال توسعه است.

کلیدواژه‌ها: آشکارسازی، بیوتروریسم، روش طیف‌سنجی تخلیه القایی لیزری.

*** نویسنده مسئول:** محمد ابراهیم مینایی
آدرس: دانشکده علوم پایه، دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران، ایران.
ایمیل: mminaii@ihu.ac.ir

همه حقوق مادی و معنوی این اثر به موسسه بهداری رزمی دفاع مقدس و مقاومت تعلق دارد.

مقدمه

یکی از اصول اساسی مقابله با تهدیدات بیوتروریستی، توانایی اجتناب از آلودگی و آشکارسازی سریع عامل بیولوژیک است. برای دفاع در برابر عوامل بیولوژیک مدل‌ها و طرح‌های متعددی ارائه شده است. برای شناسایی باکتری‌ها آزمایش‌هایی نظیر مشاهده مستقیم و بررسی میکروسکوپی نمونه، رنگ آمیزی، کشت و بررسی کلونی‌ها، کشت در محیط‌های اختصاصی و افتراقی و ...، نیازمندی‌های تغذیه‌ای رشد، منبع کربن مورد استفاده، تلقیح در محیط کشت اختصاصی، انجام آزمایشات سرولوژیک و روش‌های ژنتیکی وجود دارد. روش‌های متداول قدیمی دقت و سرعت شناسایی مطلوبی ندارند. روش‌های ژنتیکی مانند PCR، دارای حساسیت و ویژگی مطلوبی هستند، اما دارای پیچیدگی و دشواری در انجام آزمایشات می‌باشند. لذا تشخیص عوامل بیولوژیک با روش‌های آسان، سریع و دقیق به ویژه برای جنبه‌های دفاعی و امنیتی یک چالش اساسی است. سیستم‌های آشکارسازی کشورهای پیشرفته قادر به تشخیص عوامل بیولوژیک در زمان کمتر از بیست دقیقه می‌باشند که به صورت نقطه‌ای عمل می‌کنند. روند توسعه سیستم‌های آشکارساز به سمت تولید سامانه‌های سبک و ساده با کاهش زمان تا حد «زمان واقعی» می‌باشند که بتوان آن‌ها را با هم به صورت یک شبکه یکپارچه متصل نمود. یک ابزار کلیدی برای دفاع و امنیت در برابر تهدیدات زیستی برای کشورهای مختلف دستیابی به تکنولوژی آشکارسازی عوامل بیولوژیک از راه دور است. در حال حاضر، در بین تکنولوژی‌های توسعه یافته برای تشخیص دورایستای عوامل بیولوژیک هیچ یک به تنهایی قادر به شناسایی دقیق و مؤثر این تهدیدات نیستند (۱).

تشخیص اولیه وقوع حمله بیوتروریستی دشوار است، زیرا عوامل بیولوژیک بر خلاف عوامل شیمیایی فاقد رنگ، بو و مشخصات ظاهری قابل تشخیص می‌باشند، به طوری که افراد با حواس پنج‌گانه خود متوجه آلودگی نمی‌شوند. علاوه بر این گسترش بیماری و قدرت انتشار آن به حدی سریع است که فرصت تشخیص برای کسی باقی نمی‌ماند. در صورتی که امکان تشخیص سریع و به موقع حملات بیولوژیک یا بیوتروریستی وجود داشته باشد، با طراحی روش مناسب درمانی می‌توان از شیوع بیماری عفونی جلوگیری کرد (۲).

روش‌های متعدد و متفاوتی جهت شناسایی عوامل بیولوژیک وجود دارد که می‌توان این روش‌ها را در ۲ گروه کلی طبقه‌بندی کرد:

- شناسایی با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی و تجهیزات رومیزی و دستی
- شناسایی از فاصله دور

روش‌های آزمایشگاهی متداول، مانند تشخیص میکروب‌ها با استفاده از انواع کیت‌های تشخیصی، روش‌های غیرابزاری مانند آگلوتیناسیون با لاتکس و روش‌های دستگاهی پیشرفته مانند کیت Bactec که بر اساس خواص بیوشیمیایی به طور خودکار به تشخیص میکروب‌ها می‌پردازند، به دلیل محدودیت‌هایی که دارند برای اهداف مورد نظر در مناطق جنگی و تهدیدات بیوتروریستی مناسب نبوده و قادر به تفکیک عوامل بیولوژیک دستکاری شده با روش‌های مهندسی ژنتیک و عوامل عفونی عادی نیستند. متأسفانه کاربردهای غیرصلح‌آمیز از روش‌های مهندسی ژنتیک می‌تواند یک میکروب بیماریزا را به عاملی بسیار کشنده تبدیل کند.

در حال حاضر، شناسایی از راه دور و در لحظه‌ی (زمان واقعی) عوامل بیولوژیکی، یکی از نیازهای کلیدی صنایع دفاعی و امنیتی در جهان است. هرچند روش‌های مختلفی در حال تحقیق و توسعه وجود دارند، که می‌تواند به این چالش پاسخ دهند. اما هیچ کدام از این روش‌ها قادر به فراهم کردن شرایط مطلوب و حفاظت در مقابل چنین تهدیداتی نیستند.

تکنولوژی لیدار (Light detection and ranging [LIDAR] technologie)، که مبتنی بر ارسال پالس لیزر و تجزیه و تحلیل سیگنال برگشتی است، توانسته قابلیت‌های مؤثری در شناسایی توده آئروسل حاصل از عوامل بیولوژیکی از فاصله‌ی دور داشته باشد. اما همچنان سامانه‌های تشخیص و شناسایی از راه دور عوامل بیولوژیکی به حساسیت بیشتر و هشدارهای نادرست کم‌تر نیاز دارند، تا بتوانند کاراتر و مؤثرتر واقع شوند. هر چه حساسیت سیستم بیشتر باشد، می‌توان غلظت‌های کم را بهتر شناسایی نمود و هر چه هشدارهای نادرست کم‌تر باشد، دقت تشخیص عوامل بیولوژیک از غیر آن بالاتر می‌رود. لیدارهای تک طول‌موجی که از روش پراکندگی کشسان فوتونی استفاده می‌کنند، قابلیت مؤثری در نقشه‌برداری از توده آئروسل میکروبی و شناسایی عوامل بیولوژیکی با غلظت بسیار کم از فاصله دور دارند. با این‌حال، این‌گونه لیدارها چند عامل بیولوژیکی متفاوت با ابعاد یکسان را نمی‌توانند از یکدیگر متمایز داده و شناسایی کنند. چندین روش برای رفع این مشکل پیشنهاد شده که عبارتند از:

- طیف‌سنجی مادون قرمز فعال؛
- لیدار حساس به قطبش؛
- پراکندگی کشسان تفاضلی؛
- طیف‌سنجی فلوروسانس القایی لیزری (Laser Induced Fluorescence [LIF])؛
- طیف‌سنجی تخلیه القایی لیزری (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy [LIBS])؛

در این مقاله، پس از معرفی روش LIBS، به بررسی و توانایی این روش در شناسایی عوامل بیولوژیکی از راه دور پرداخته می‌شود. مطالعات محققان مختلف در زمینه بکارگیری روش LIBS مربوط به تشخیص تهدیدات بیوتروریستی جمع‌آوری و نتایج به دست آمده از این تحقیقات مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. تشخیص سریع و دقیق تهدیدات زیستی موجب کاهش آسیب‌پذیری، ارتقای پایداری ملی، تسهیل مدیریت بحران و پدافند غیر عامل زیستی می‌شود.

روش‌ها

در این تحقیق از روش توصیفی و تحلیلی استفاده شده است و جهت گردآوری اطلاعات نیز از مطالعات کتابخانه‌ای و اینترنتی کمک گرفته شده است.

نتایج و بحث

روش طیف‌سنجی تخلیه القایی لیزری (LIBS)

طیف‌سنجی تخلیه القائی لیزری، روشی برای تعیین عناصر موجود در جامدات، مایعات و گازها می‌باشد. اساس طیف‌سنجی تخلیه القای لیزری بر طیف‌سنجی پلاسمای القاء شده توسط لیزر استوار است. در این روش باریکه لیزر، روی نمونه کانونی می‌شود. در محل تمرکز لیزر با چگالی توان بالا، مقدار کمی از ماده سطح هدف تبخیر گردیده و در محیط اطراف پخش می‌شود. بر اثر برخوردهای متوالی مولکول‌ها در فاز بخار، پیوندهای مولکولی آن‌ها شکسته شده و اتم و یون برانگیخته حاصل می‌گردد. این بخار متشکل از الکترون، یون و ذرات خنثی، پلاسمای القایی در آن نقطه را حاصل می‌کند. چنین پلاسمایی، پلاسمای القای لیزری نامیده می‌شود (۱).

وقتی این پلاسما در طیف‌سنجی گسیل اتمی استفاده شود، با نام طیف‌سنجی تخلیه القایی لیزری (LIBS) شناخته می‌شود. از آنجا که ترازهای انرژی برای هر عنصر تشکیل دهنده نمونه، یگانه است، طیف گسیل شده می‌تواند برای شناسایی عناصر در تحلیل کیفی استفاده شود و شدت‌های گسیل شده برای تهیه اطلاعات کمی به‌کار می‌رود. با استفاده از طیف پلاسما می‌توان پارامترهای مختلف پلاسما همانند چگالی الکترون، دمای پلاسما و ... را به دست آورد (۳).

سادگی نسبی روش LIBS سبب شده است تا این روش روشی جذاب برای بسیاری از کاربردها باشد (۱). اولین استفاده از لیزر برای ایجاد پلاسما بر روی سطوح جهت اندازه‌گیری تحلیلی در سال‌های ۶۴-۱۹۶۳ انجام شده است (۳). تا دهه ۸۰ میلادی از لیزرها برای نمونه‌برداری جهت تحریک توسط منبع انرژی دیگر استفاده می‌شد، به عنوان مثال از لیزر جهت تبخیر مقدار بسیار کمی از نمونه برای تحلیل توسط منبع دیگری مثل الکترود جرقه زن (Electrode Spark) استفاده می‌شده است (۴). با پیشرفت فناوری تجهیزات آشکارسازی پلاسما در دهه ۷۰ میلادی آشکارسازهایی ساخته شد که امکان افزایش شدت سیگنال میانگین حاصل از پلاسما را فراهم می‌نمود (۵). در اوایل دهه ۸۰ میلادی لیزرهایی ساخته شد علاوه بر اینکه کوچک و کم‌حجم‌تر نسبت به لیزرهای متداول آن روزگار بوده‌اند، انرژی بسیار بالاتری نیز داشتند. اینگونه لیزرها همراه با پیشرفت فناوری آشکارسازی پلاسما سبب شدند تا روش LIBS به روشی ارزان تبدیل شود که به تبع آن کاربردهای این روش گسترش و رواج بیشتری یافت (۶).

تاکنون در مقالات و تحقیقات متعددی پیش‌زمینه نظری روش LIBS بررسی شده است. Hahn و همکاران در بخش اول مرورشان موضوعات و روش‌های مختلفی که برای توصیف ویژگی‌های پلاسما استفاده می‌شود را بررسی کرده‌اند (۷). رهیافت تشخیص در چنین روش‌هایی مبتنی بر اندازه‌گیری گسیل‌های اتمی و یونی، جذب و فلوروسانس، انواع پراکندگی و همچنین بررسی نظری شدت سیگنال حاصل از پلاسما (مانند اندازه‌گیری شدت خطوط، پروفایل خطوط، اندازه‌گیری نسبت شدت در حالت یون به حالت خنثی در طیف حاصل از پلاسما) می‌باشد. با استفاده از بررسی نظری، شدت سیگنال حاصل از طیف پلاسما را می‌توان از طریق چگالی جمعیت الکترونی و دمای پلاسما اندازه‌گیری کرد. با انجام این مطالعات آن‌ها به این نتیجه رسیده‌اند که زمان انتشار گرما (از پلاسما به ذره) و جرم (از ذره به پلاسما) وابسته به شرایط کلی پلاسما است. در بخش دوم، Hahn و همکاران بر روی تحلیل کمی روش LIBS تمرکز کرده‌اند (۷). این دانشمندان در این گزارش انواع روش‌های کالیبراسیون را به همراه محاسبات ریاضی با توجه به ماتریس‌های تداخل متعدد مطالعه و بررسی کرده‌اند.

Tognoni و همکاران به مطالعه کمی روش LIBS به صورت تجربی پرداخته‌اند (۸). در این تحقیق نویسندگان به همراه جزئیات اثر توان، طول موج، پهنای زمانی پالس و پروفایل باریکه لیزری و همچنین انتخاب هندسه نمونه، گازهای پیرامونی و نقش آشکارساز در بهبود دقت این روش پرداخته‌اند. Pasquini و همکاران مبانی، تجهیزات مورد نیاز روش LIBS، کاربردهای مختلف و آینده پیش روی این روش را بررسی کرده‌اند (۹). Pasquini به همراه همکاران روش LIBS کمی بدون نیاز به کالیبراسیون (CF-LIBS) را معرفی کرده است (۸). اساس این روش اندازه‌گیری شدت خطوط، چگالی جمعیت الکترونی و دمای پلاسما با فرض دانستن جمعیت بولتزمن در یک تراز برانگیخته است. بخش اول این گزارش بسیار مهم به معرفی و بیان کاربردهای CF-LIBS می‌پردازد. نتایج کمی نوشته شده در گزارش که از تحلیل مواد مختلف تحت شرایط آزمایشگاهی متعدد و متفاوت به دست آمده است، با تأکید بر مقادیر جزئی ترکیب گزارش شده است.

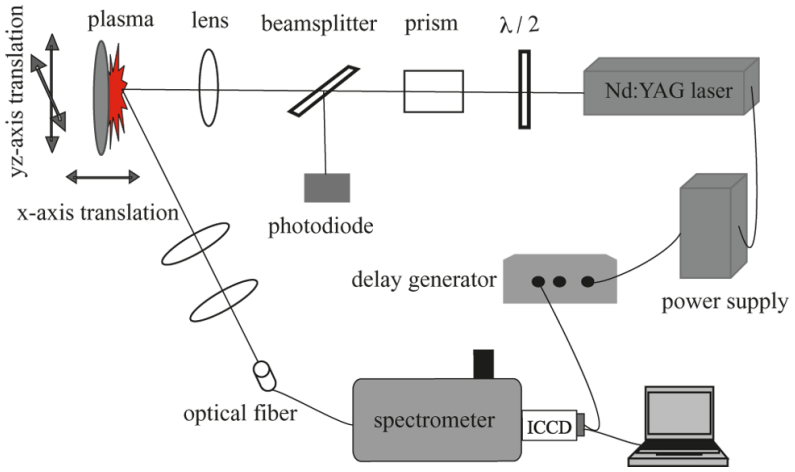
Singh و همکاران ظرفیت به‌کارگیری روش LIBS را در حوزه پزشکی شامل تشخیص و شناسایی بیوآئروسل، پوست و تجزیه و تحلیل معدنی عناصر موجود در بدن انسان بررسی کرده‌اند (۱۰). Cremers و همکاران انواع روش‌های LIBS را به عنوان یک روش تحلیلی بررسی کرده و مزایا و معایب این روش را به همراه حد تشخیص (Limit of detection) به صورت کامل بیان کرده است (۱۱). Gaudiuso و همکاران امکان استفاده از روش LIBS را در تجزیه و تحلیل انواع اثرهای هنری و سفال‌های قدیمی به‌کار برده است (۱۲). آخرین پیشرفت‌ها و کاربردهای صنعتی روش LIBS به صورت خلاصه توسط Bol'shakov و

همکاران بیان شده است (۱۳). چیدمان LIBS به طور شماتیک در شکل ۱ نشان داده شده است. عناصر مختلف چیدمان LIBS عبارت از لیزر، قطعات اپتیکی، فیبر نوری، طیف‌سنج و سیستم آشکارسازی است (۱۴). البته ممکن است با توجه به کاربردهای خاص قطعات دیگری (مانند محفظه) نیز به چیدمان اضافه شود.

لیزر باید پالس‌هایی با شدت کافی برای تولید پلاسما ایجاد نماید. برای این منظور انرژی حدود چند ده میلی ژول و پهنای پالس نانوثانیه است و با کانونی کردن باریکه لیزر روی نمونه با قطر حدود چند میکرون، شدت تابش از مرتبه 10^{10} W/cm^2 تا 10^{12} حاصل خواهد شد. این شدت تابش، برای تولید پلاسما روی سطح نمونه‌های جامد کافی است (۱).

از یک عدسی برای متمرکز کردن پرتو لیزر استفاده می‌شود. عدسی باید طوری انتخاب شود که با متمرکز کردن باریکه لیزر روی هدف شار انرژی مورد نیاز برای فروشکست هدف فراهم شود. از فیبر نوری در چیدمان LIBS برای هدایت تابش پلاسما به داخل طیف‌سنج و در مواردی که LIBS برای فاصله‌های دور استفاده می‌شود، برای انتقال باریکه لیزر بر روی هدف استفاده می‌شود (۱).

یک مزیت مهم LIBS قابلیت تحلیل همزمان چندین عنصر یا چندین خط مربوط به یک عنصر است. برای دستیابی به این هدف، طیف‌سنج مورد استفاده باید پهنای طیفی وسیعی داشته باشند. به همین دلیل، معمولاً در طیف‌سنجی LIBS از طیف‌سنج اشل (Echelle) استفاده می‌شود. در طیف‌سنج‌ها معمولا از توری برای تفکیک طول موج‌ها استفاده می‌گردد. در طیف‌سنج اشل از توری با تعداد خطوط کم ولیکن در مرتبه پراش بالا استفاده می‌شود. قدرت جداکنندگی طیف‌سنج اشل ده مرتبه بالاتر از طیف سنج معمولی است (۱).



شکل-۱. شماتیکی از چیدمان LIBS، باریکه لیزر روی هدف کانونی می‌شود و در نقطه کانون پلاسما تشکیل می‌گردد. نور حاصل از پلاسما به طیف‌سنج وارد شده و بوسیله آشکارساز مناسب، طیف نمایش داده می‌شود.

آشکارسازهایی که در LIBS اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرند، عبارتند از: تحلیل‌گرهای چند کاناله اپتیکی (Optical multichannel analyzer)، آشکارسازهای آرایه فوتودیودی (Photodiode Array [PDA])، تیوپ‌های افزاینده فوتون (Photomultiplier Tube [PMT])، CCDهای خطی و دوبُعدی، آرایه‌های CCD تقویت شده (ICCD).

می‌توان گفت بیشترین کاربرد ICCDها در آزمایش‌های LIBS است. برای انتخاب آشکارساز مناسب برای آزمایشات LIBS باید فاکتورهای زیادی مثل نرخ نمونه‌برداری، نوع تحلیل سیگنال (تک شات یا متوسط‌گیری)، حساسیت مورد نیاز، پهنای خط طیفی و قیمت سیستم را مورد توجه قرار داد. مزیت ICCD برCCD ها این است که نسبت سیگنال به نویز درICCD به اندازه ۱ تا ۳ مرتبه بزرگی، بیشتر است. همچنین ICCDها می‌توانند گسیل پلاسما را با تأخیر زمانی مشخص و قابل کنترل ثبت نمایند. از سوی دیگر پنجره زمانی ICCD در مرتبه نانوثانیه است که برای عکسبرداری و طیف‌سنجی از فرآیندهای سریع و گذرا همانند پلاسما بسیار مناسب است. به طور کلی با توجه به نوع کاربرد و حساسیت کار و قیمت آشکارساز مورد نظر می‌توان از CCD یا ICCD ها استفاده کرد. بزرگترین ایراد ICCD قیمت بالای آن در مقایسه با CCD می‌باشد (۳).

توانایی LIBS در تشخیص عوامل بیولوژیک

در حالت کلی استفاده از روش LIBS در شناسایی عوامل بیوتروریسم امری نامرسوم و غیرمعمول است و همچنان این روش در مرز دانش قرار دارد؛ اما به جهت مزایای فراوانی که دارد استفاده از آن رو به گسترش است. از روش LIBS معمولاً برای تشخیص کمی و کیفی عناصر مختلف موجود در میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. با توجه به نوع، مقدار و نسبت عناصر مختلف موجود در میکرو ارگانیسم‌ها نسبت به هم می‌توان گونه‌های مختلفی از میکروارگانیسم‌ها را در مدت زمان کوتاهی شناسایی کرد. چندین گروه تحقیقاتی تاکنون از روش LIBS جهت شناسایی گونه‌های

مختلف میکروارگانیسم‌ها استفاده کرده‌اند.

تشخیص سلول، اجزای سلولی و میکروارگانیسم‌ها با روش‌های نوری به سطح بالایی از تفکیک‌پذیری نیاز دارد. دانشمندی به نام میور و همکارانش روشی برای تشخیص و تعیین کمیت اسیدهای نوکلئیک بدون برچسب توسط تناسب استوکیومتری (Stoichiometric) فسفر در اسکلت اسید نوکلئیک با استفاده از روش LIBS توسعه دادند (۱۵). گزارش آنها در مورد نتایج کمی با حد تشخیص 10^{5} نوکلئوتید در میکرومتر مربع (به عنوان مثال 2×10^{13} اتم فسفر در سانتی متر مربع) مستند شده است. تجزیه و تحلیل میکروآرایه اولیه نتایج دلگرم‌کننده به همراه داشت که به توسعه راه‌های جدیدی از کمی‌شدن هیبریداسیون اسیدهای نوکلئیک منجر شد (۱۵).

به طور کلی، روش LIBS برای تعیین مقدار عناصر مختلف در میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. نتایج به‌دست آمده از این تحقیقات از نظر آماری جهت یافتن راهی برای تمایز بین گونه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها بر اساس محتوای عناصر هدف پردازش شده است. از سوی دیگر، برخی از محققان نشان دادند که روش LIBS می‌تواند برای اندازه‌گیری سریع عناصر خاص برای پیدا کردن حضور میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

چنین کاربردی از روش LIBS برای اولین بار در سال ۲۰۰۳ توسط مورل و همکارانش و ساموئلز و همکاران گزارش شد. گروه اول، شش گونه باکتری و دو گونه اسپور در فرم پلت را تجزیه و تحلیل نمودند. نسبت شدت به عنوان یک معیار کمی به دلیل خطی بودن و تکرارپذیری آن بهینه سازی شده بود. تحت شرایط آزمایشگاهی بر اساس گزارشات منتشر شده، روش LIBS توانایی خوبی برای افتراق بین تمام گونه‌های میکروبی نشان داد. گروه دوم روش LIBS را برای افتراق بین گونه‌های باکتریایی، اسپورها، قارچ‌ها و پروتئین‌ها استفاده کرد. نمونه‌های زیستی آماده و روی بسترهای متخلخل نقره رسوب داده شده بودند. داده‌های LIBS از شات‌های لیزری به‌وسیله تجزیه و تحلیل اجزای اصلی مورد بررسی قرار گرفت و حاوی اطلاعات کافی برای تمایز در بین عوامل زیستی متفاوت بود (۱۶،۱۷).

یک سال پس از انتشار اولین تجزیه و تحلیل نمونه‌های باکتریایی توسط روش LIBS، کار دیگری گزارش شد که در آن نویسنده از روش LIBS برای ثبت طیف حاصل از نشر پلاسمای کلونی‌های سلول‌های رویشی یا اسپورهای پنج سویه باکتریایی استفاده نمود. این باکتری‌ها شامل باسیلوس تورنجینسیس T34، اشریشیا کولی IHII/pHT315، باسیلوس سوبتیلیس 168، باسیلوس مگاتریوم QM B1551 و باسیلوس مگاتریوم PV361 بودند (۱۸).

عناصر اصلی غیرآلی در این نمونه‌های باکتریایی عمدتاً کلسیم، پتاسیم، سدیم، آهن، منگنز و فسفات هستند که در طیف نمونه‌ها به خوبی دیده شده‌اند. این نویسندگان همچنین توانایی روش LIBS برای تشخیص سویه‌های باکتریایی بر اساس تجمع‌های مختلف عناصر متفاوت را نشان دادند.

در سال ۲۰۰۶ بودلت و همکارانش سه مقاله در رابطه با استفاده از روش LIBS جهت تجزیه و تحلیل نمونه‌های باکتریایی ارائه نمودند. در اولین مقاله آن‌ها با استفاده از روش LIBS و با استفاده از منبع لیزری فمتوثانیه توانایی این روش را در شناسایی دقیق دو گونه‌ی باکتری اشریشیاکولی و باسیلوس سوبتیلیس نشان دادند. آن‌ها در این مقاله نشان داده‌اند طیف‌های حاصل از پالس‌های فمتوثانیه در مقایسه با طیف‌های حاصل از طیف‌های پالس‌های نانوثانیه اطلاعات بیشتری در اختیار کاربر قرار می‌دهد. همین ویژگی باعث جذاب‌تر شدن روش LIBS برای تجزیه و تحلیل نمونه‌های زیستی می‌شود (۲۱-۱۹). طیف‌های حاصل از پالس‌های فمتوثانیه از چند جهت بهتر از طیف‌های حاصل از پالس‌های نانوثانیه هستند:

- به دلیل دمای پایین پلاسمای طیف‌های حاصل از پالس فمتوثانیه طیف‌های نیتروژن و اکسیژن موجود در جو در طیف نمونه ظاهر نمی‌شود و طیف حاصل نویز محیطی کمتری خواهد داشت.
- رژیم ساییدگی خاص که انتشار پیوندهای درون مولکولی را با توجه به انتشار اتمی حمایت می‌کند.

یک مطالعه سینتیکی دقیق روی شدت سر باند مولکولی شرایط را برای محققان جهت تشخیص سهم پیوندهای CN آزاد شده توسط نمونه با توجه به نوترکیبی کربن با نیتروژن اتمسفر فراهم کرد. در مقالات دیگر با عمق بیشتر که توسط همین گروه منتشر شده این پدیده مطالعه و تأیید شد. در نهایت، آن‌ها توانایی استفاده از روش LIBS به عنوان یک ابزار تشخیصی گونه‌های باکتریایی بر اساس تجزیه و تحلیل پنج گونه مختلف عوامل بیولوژیک را تأیید کردند. در این مطالعات مشخص شد که ویژگی‌های غلظت عناصر امکان تمایز دقیق باکتری‌های مختلف را بوجود می‌آورد (۲۱-۱۹).

Diedrich و همکاران مزایای به‌کارگیری روش LIBS در تجزیه و تحلیل سویه‌های بیماری‌زای باکتری‌ها را نشان دادند. آن‌ها باکتری اشریشیا کولی سویه O157:H7 را مورد بررسی قرار دادند و نتایج به دست‌آمده را با سه گونه باکتری غیر بیماری‌زای اشریشیا کولی مقایسه کردند. تجزیه و تحلیل تابع تفکیک (DFA) در طیف LIBS به دست آمده از کلونی‌های زنده برای هر چهار گونه انجام شد. با استفاده از شدت نشر یونی و اتمی ۱۹ که از ردیابی عناصر غیر آلی منتقل می‌شود، تجزیه و تحلیل تابع تشخیص، تفاوت معنی‌داری بین سویه‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا را نشان می‌دهد و امکان شناسایی و تمایز گونه‌های بیماری‌زا از گونه‌های محیطی معمولی (فلور طبیعی محیط) را فراهم می‌کند (۲۲). همین محققین طیف‌های مختلف مربوط به سویه‌های باکتری را نیز مشخص کردند که آن‌ها را قادر به تمایز بین سویه‌های اشریشیا کولی و یک سویه از قارچ محیطی و

همچنین یک سویه از مخمر کاندیدا آلبیکنس می‌کند (۲۲). به منظور یافتن تأثیر ترکیبات مختلف محیط استفاده شده برای کشت باکتری‌ها، روش LIBS برای تجزیه و تحلیل کلونی باکتری سودوموناس آئروژینوزا کشت شده در محیط کشت تریپتی کیس سوی آگار (TSA)، محیط کشت آگار خون‌دار، محیط کشت انتخابی برای القاء تغییرات غشای باکتریایی و محیط کشت مک کانگی آگار حاوی نمک‌های صفراوی انجام شد (۲۳).

نتایج حاصل از مطالعات قبلی در مقاله‌ای که توسط Rehse و همکاران گزارش شده است تأیید و توسعه داده شد (۲۴). او نیز روش LIBS را برای تمایز بین دو جنس مختلف باکتری‌های گرم منفی و همچنین بین چند سویه از باکتری اشریشیا کولی بر اساس غلظت نسبی عناصر غیرآلی در باکتری مورد استفاده قرار داد. از نقطه نظر حد تشخیص (LOD) بر اساس تعداد سلول‌ها، همین محققان نشان دادند که نمونه‌ها با تعداد سلول‌های باکتریایی کم (حدود ۲۵۰۰ باکتری) با دقت ۱۰۰ درصد تشخیص داده شدند (۲۵). روش LIBS همچنین با موفقیت بر روی نمونه‌های مشکوک باکتری‌های پاتوژن مورد آزمایش قرار گرفت (۲۶). داده‌های LIBS جمع‌آوری و توسط گروه دیگری از مجموعه محققان مورد بررسی قرار گرفت. محققان گروه دوم هیچ اطلاعی از هویت نمونه‌ها نداشتند: (الف) پنج نمونه اول از پانزده نمونه منحصر به فرد بود (بدون تکرار) و (ب) ده نمونه باقی مانده شامل دو تکرار از هر یک از پنج نمونه اول بود. تنها با استفاده از تجزیه و تحلیل کمومتری داده‌های LIBS، نتایج ده نمونه باکتریایی تکراری با موفقیت به هر یک از پنج نمونه اول مطابق شدند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که افتراق عفونت‌های اشریشیا کولی، سه سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم در برابر متیسیلین (MRSA) و یک سویه نامربوط با استفاده از روش LIBS امکان‌پذیر است (۲۶).

از روش LIBS جهت تجزیه و تحلیل نمونه‌های مختلف از فواصل متفاوت و در محیط طبیعی استفاده شده‌است. گروه تحقیقاتی دیگری یک سامانه LIBS دورایستا با استفاده از روش دو پالسی ساخته‌اند که قادر است چندین ماده خطرناک و سمی را از فاصله ده متری شناسایی کند (۲۷،۲۸). دیگر گروه تحقیقاتی توانسته با یک چیدمان آزمایشگاهی از فاصله ۲۰ متری باسیلوس گلوبیجی و عوامل شیمیایی را شناسایی کند. لویس و همکارانش با استفاده از روش LIBS و با استفاده از لیزر فمتوثانیه توانسته‌اند انواع باکتری‌ها را از خاک شناسایی کنند. عمده عناصری که در بررسی آن‌ها مدنظر قرار گرفت خطوط کلسیم، منیزیم، پتاسیم، سدیم و روی بوده است (۲۹).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از گزارش‌های محققان مختلف، مشخص می‌شود که از روش LIBS جهت تشخیص میکروارگانیسم‌های استفاده شده و به‌کارگیری این روش برای آشکارسازی عوامل بیولوژیک در حال توسعه است. اگرچه، استفاده از روش LIBS برای تشخیص نمونه‌های باکتریایی هنوز هم معمول نیست ولی، مزایای استفاده از روش LIBS در تشخیص عوامل بیولوژیک، به‌کارگیری وسیع‌تر این روش را به دنبال خواهد داشت. گسترش روش‌های نوری نظیر روش LIBS برای تشخیص عوامل بیولوژیک به‌دلیل مزایای این روش‌ها از جمله سادگی کار توسط کاربر، سبک بودن، تشخیص سریع و با فاصله از نمونه‌های مشکوک می‌باشد. همچنین توسعه و پیشرفت در تکنولوژی لیزر، کاربرد روش LIBS را در تشخیص تهدیدات بیوتروریستی افزایش داده از جمله اینکه محققان نشان داده‌اند طیف‌های حاصل از پالس‌های فمتوثانیه در مقایسه با طیف‌های حاصل از طیف‌های پالس‌های نانوثانیه اطلاعات بیشتری در اختیار کاربر قرار می‌دهد.

گروه‌های تحقیقاتی به طور موفقیت‌آمیزی تمایز و افتراق جنس، گونه و سویه‌های مختلف باکتریایی با استفاده از روش LIBS را گزارش کرده‌اند. بر طبق نتایج محققان، روش LIBS توانایی تجزیه و تحلیل نمونه‌های مجهول عوامل بیولوژیک را دارد و قادر است سویه‌های بیماری‌زا را در بین سویه‌های غیر بیماری‌زا تشخیص دهد. در حال حاضر، تحقیقات زیادی در زمینه بهینه‌سازی معیار کمی و حد تشخیص (LOD) بر اساس تعداد سلول‌ها، تکرارپذیری، دامنه خطی تشخیص و افزایش فاصله آشکارسازی برای روش LIBS جهت تشخیص عوامل بیولوژیک انجام شده و نتایج مطلوبی به‌دست آمده‌است. فن‌آوری‌های تشخیص سریع، دقیق و حساس برای باکتری‌های بیماری‌زا در تشخیص بالینی، کنترل بیماری، پایش محیط زیست، ایمنی مواد غذایی و در حوزه‌های دفاعی و امنیتی اهمیت بسیار زیادی دارند. با توجه به گزارشات محققان، روش LIBS می‌تواند در تشخیص اولیه تهدیدات بیوتروریستی کاربرد داشته باشد.

تضاد منافع: بدین وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Cremers DA, Radziemski LJ. Handbook of laser-induced breakdown spectroscopy. John Wiley & Sons; 2013.
2. Dolgin B, Chen Y, Bulatov V, Schechter I. Use of LIBS for rapid characterization of parchment. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2006;386: 1535-41. doi:10.1007/s00216-006-0676-y
3. Galiová M, Kaiser J, Novotný K, Samek O, Reale L, Malina R, et al. Utilization of laser induced breakdown spectroscopy for investigation of the metal accumulation in vegetal tissues. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy.

2007;62(12):1597-605. doi:10.1016/j.sab.2007.10.040
4. Galiová M, Kaiser J, Novotný K, Novotný J, Vaculovič T, Liška M, et al. Investigation of heavy-metal accumulation in selected plant samples using laser induced breakdown spectroscopy and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. Applied Physics A. 2008;93:917-22. doi:10.1007/s00339-008-4747-0
5. Rehan K, Rehan I, Sultana S, Khan MZ, Farooq Z, Mateen A, et al. Determination of Metals Present in Textile Dyes Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy and Cross-Validation Using Inductively Coupled Plasma/Atomic Emission Spectroscopy. International Journal of Spectroscopy. 2017;2017(1): 1614654. doi:10.1155/2017/1614654
6. Peng J, Song K, Zhu H, Kong W, Liu F, Shen T, He Y. Fast detection of tobacco mosaic virus infected tobacco using laser-induced breakdown spectroscopy. Scientific Reports. 2017;7(1):44551. doi:10.1038/srep44551
7. Hahn DW, Omenetto N. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part I: review of basic diagnostics and plasma–particle interactions: still-challenging issues within the analytical plasma community. Applied Spectroscopy. 2010;64(12): 335A-66A.
8. Tognoni E, Cristoforetti G, Legnaioli S, Palleschi V. Calibration-free laser-induced breakdown spectroscopy: state of the art. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. 2010;65(1):1-4. doi:10.1016/j.sab.2009.11.006
9. Pasquini C, Cortez J, Silva L, Gonzaga FB. Laser induced breakdown spectroscopy. Journal of the Brazilian Chemical Society. 2007;18:463-512. doi:10.1590/S0103-50532007000300002
10. Singh VK, Sharma J, Pathak AK, Ghany CT, Gondal MA. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS): a novel technology for identifying microbes causing infectious diseases. Biophysical Reviews. 2018;10(5):1221-39. doi:10.1007/s12551-018-0465-9
11. Cremers DA, Chinni RC. Laser-induced breakdown spectroscopy—capabilities and limitations. Applied Spectroscopy Reviews. 2009;44(6):457-506. doi:10.1080/05704920903058755
12. Gaudiuso R, Dell'Aglio M, De Pascale O, Senesi GS, De Giacomo A. Laser induced breakdown spectroscopy for elemental analysis in environmental, cultural heritage and space applications: a review of methods and results. Sensors. 2010;10(8):7434-68. doi:10.3390/s100807434
13. Bol'Shakov AA, Yoo JH, Liu C, Plumer JR, Russo RE. Laser-induced breakdown spectroscopy in industrial and security applications. Applied Optics. 2010;49(13):C132-42. doi:10.1364/AO.49.00C132
14. Hosseinimakarem Z, Tavassoli SH. Analysis of human nails by laser-induced breakdown spectroscopy. Journal of Biomedical Optics. 2011;16(5):057002. doi:10.1117/1.3574757
15. Le Meur J, Menut D, Wodling P, Salmon L, Thro PY, Chevillard S, et al. First improvements in the detection and quantification of label-free nucleic acids by laser-induced breakdown spectroscopy: Application to the deoxyribonucleic acid micro-array technology. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. 2008;63(4):465-73. doi:10.1016/j.sab.2007.12.011
16. Morel S, Leone N, Adam P, Amouroux J. Detection of bacteria by time-resolved laser-induced breakdown spectroscopy. Applied Optics. 2003;42 (30):6184-91. doi:10.1364/AO.42.006184
17. Samuels AC, DeLucia Jr FC, McNesby KL, Miziolek AW. Laser-induced breakdown spectroscopy of bacterial spores, molds, pollens, and protein: initial studies of discrimination potential. Applied Optics. 2003;42(30):6205-9. doi:10.1364/AO.42.006205
18. Kim T, Specht ZG, Vary PS, Lin CT. Spectral fingerprints of bacterial strains by laser-induced breakdown spectroscopy. The Journal of Physical Chemistry B. 2004;108(17):5477-82.
19. Baudelet M, Yu J, Bossu M, Jovelet J, Wolf JP, Amodeo T, et al. Discrimination of microbiological samples using femtosecond laser-induced breakdown spectroscopy. Applied Physics Letters. 2006;89(16). doi:10.1063/1.2361270
20. Baudelet M, Guyon L, Yu J, Wolf JP, Amodeo T, Fréjafon E, et al. Femtosecond time-resolved laser-induced breakdown spectroscopy for detection and identification of bacteria: A comparison to the nanosecond regime. Journal of Applied Physics. 2006;99(8). doi:10.1063/1.2187107
21. Baudelet M, Guyon L, Yu J, Wolf JP, Amodeo T, Fréjafon E, et al. Spectral signature of native CN bonds for bacterium detection and identification using femtosecond laser-induced breakdown spectroscopy. Applied Physics Letters. 2006;88(6). doi:10.1063/1.2170437
22. Diedrich J, Rehse SJ, Palchaudhuri S. *Escherichia coli* identification and strain discrimination using nanosecond laser-induced breakdown spectroscopy. Applied Physics Letters. 2007;90(16). doi:10.1063/1.2723659
23. Rehse SJ, Diedrich J, Palchaudhuri S. Identification and discrimination of Pseudomonas aeruginosa bacteria grown in blood and bile by laser-induced breakdown spectroscopy. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. 2007;62(10): 1169-76. doi:10.1016/j.sab.2007.07.008
24. Rehse SJ, Jeyasingham N, Diedrich J, Palchaudhuri S. A membrane basis for bacterial identification and discrimination using laser-induced breakdown spectroscopy. Journal of Applied Physics. 2009;105(10). doi:10.1063/1.3116141
25. Rehse SJ, Mohaidat QI, Palchaudhuri S. Towards the clinical application of laser-induced breakdown spectroscopy for rapid pathogen diagnosis: the effect of mixed cultures and sample dilution on bacterial identification. Applied Optics. 2010;49(13):C27-35. doi:10.1364/AO.49.000C27
26. Multari RA, Cremers DA, Dupre JM, Gustafson JE. The use of laser-induced breakdown spectroscopy for distinguishing between bacterial pathogen species and strains. Applied Spectroscopy. 2010;64(7):750-9. doi:10.1366/000370210791666183
27. Gottfried JL, De Lucia FC, Munson CA, Miziolek

AW. Laser-induced breakdown spectroscopy for detection of explosives residues: a review of recent advances, challenges, and future prospects. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2009;395: 283-300. doi:10.1007/s00216-009-2802-0
28. Gottfried JL, De Lucia Jr FC, Munson CA, Miziolek AW. Strategies for residue explosives detection using laser-induced breakdown spectroscopy. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2008;23(2):205-16. doi:10.1039/B703891G
29. Michel AP. Applications of single-shot laser-induced breakdown spectroscopy. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. 2010;65(3):185-91. doi:10.1016/j.sab.2010.01.006