

بیوسنسورهای نانوانزیمی در بسته‌بندی هوشمند مواد غذایی

سوگند نخچی^۱، عباس عابدفر^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

چکیده

نانوانزیم‌ها، به عنوان نسل جدیدی از کاتالیست‌های شبه‌آنزیمی، برای ایجاد تحول در زمینه بسته‌بندی هوشمند، پتانسیل بالایی دارند. با این وجود، فاصله قابل توجهی بین موفقیت آزمایشگاهی و کاربرد عملی این فناوری در استفاده صنعتی وجود دارد. این مقاله مروری، با بهره‌گیری از یک چارچوب نظام‌مند، به بررسی مکانیسم‌های عملکردی (شبه‌پراکسیداز، کاتالاز، اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز)، دسته‌بندی ساختاری (فلزات، اکسیدهای فلزی، MOF، COF، پلیمرهای قالب‌مولکولی و نانومواد کربنی) و همچنین انواع حسگرهای نانوانزیمی (رنگ‌سنجی، فلورسانس، فوتوترمال، الکتروشیمیایی و چندحالتی) می‌پردازد. کاربرد این حسگرها در پایش تازگی گوشت و آبزیان (با بررسی شاخص هیپوگزانتین)، میوه و سبزیجات (ظرفیت آنتی‌اکسیدانی)، تشخیص آلاینده‌هایی مانند آفلاتوکسین، بیس‌فنول A، گوشت خوک و پاتوژن‌هایی نظیر *E. coli*، به صورت تحلیلی مورد بررسی قرار گرفته است. این مقاله، به طور ویژه به تحلیل شکاف‌های تحقیقاتی از جمله محدودیت تشخیص تک‌هدفه در ماتریس‌های پیچیده، نادیده گرفته شدن مواد غذایی جامد، ضعف در انتخاب‌پذیری و چالش‌های مهاجرت، سمیت و خلأهای قانونی پرداخته است. به منظور عبور از موانع تجاری‌سازی، راهکارهایی نظیر سنتز سبز (با رویکرد اقتصاد چرخشی)، مهندسی سطح با استفاده از زیست‌لیگاندها، توسعه سیستم‌های چندحالتی و یکپارچه‌سازی با هوش مصنوعی و فناوری ارتباطی پیشرفته ارائه شده است. انتظار می‌رود که با وجود چالش‌های اساسی موجود در مسیر صنعتی‌سازی، بکارگیری این نانوانزیم‌ها در بسته‌بندی‌های هوشمند، ایمن و پایدار، به شرط رعایت اصول طراحی ایمن و تدوین چارچوب‌های نظارتی شفاف، چشم‌اندازی امیدوارکننده داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: نانوانزیم، بسته‌بندی هوشمند، حسگر زیستی، تازگی مواد غذایی، آلاینده‌های غذایی، فعالیت شبه‌آنزیمی

ایمیل نویسنده مسئول: a.abedfar@guilan.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۰۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۳/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۱/۲۹

۱-مقدمه

تحلیلی سریع و کارآمد، برای سنجش ایمنی و کیفیت مواد غذایی ضروری است (۲).

از آنزیم‌های طبیعی به دلیل خواص کاتالیزری بالا و عملکرد اختصاصی در شرایط محیطی ملایم، در صنعت غذا استفاده می‌کنند. استفاده از این ترکیبات، از نظر صنعتی، به دلیل هزینه بالا استخراج و خالص‌سازی، ناپایداری در شرایط محیطی متغیر و حساسیت به تغییرات دما و pH، با محدودیت‌هایی همراه است. در نتیجه این عوامل، نانوانزیم‌هایی تولید شدند که با داشتن عملکرد شبه‌آنزیمی و ویژگی‌هایی هم‌چون پایداری ساختاری بالا، قابلیت استفاده مجدد و فرآیند تولید ساده و مقرون به صرفه،

در سال‌های اخیر، افزایش استانداردهای زندگی، سبب شده است که مواد غذایی علاوه بر داشتن تازگی و طعم مطلوب، از استانداردهای ایمنی و کیفیتی نیز برخوردار باشند. روش‌های سنتی تشخیص ترکیبات مواد غذایی، مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS)، اگرچه از حساسیت بالایی برخوردار هستند، اما به تجهیزات پیچیده، زمان پردازش طولانی و هزینه بالا نیاز دارند (۱). به این منظور توسعه سیستم‌های

توانستند بر بسیاری از محدودیت‌های آنزیم‌های طبیعی و سنتزی غلبه کنند (۱، ۲).

نانوآنزیم‌ها در مقایسه با آنزیم‌های طبیعی متناظر خود، خواص انتخاب‌پذیری و کاتالیزری پایین‌تری دارند. وجود ویژگی‌هایی هم‌چون خواص سطحی قابل تنظیم، قابلیت اصلاح شیمیایی این امکان را فراهم می‌کند که برهمکنش با سوبستراها در شرایط بهینه صورت بگیرد و فعالیت آنزیمی این ترکیبات قابل کنترل و تنظیم باشد (۲، ۳). از سوی دیگر، مقاومت حرارتی بالا، پایداری در شرایط اکسیداتیو و pH شدید، آن‌ها را به گزینه‌ای مناسب برای سیستم‌های پایش در مواد غذایی تبدیل می‌کند. این ویژگی‌ها سبب می‌شود که نانوآنزیم‌ها نقش کلیدی را در حسگرهای زیستی برای تشخیص سریع و دقیق مواد مغذی، آلاینده‌ها، سموم و پاتوژن‌ها ایفا کنند و همزمان به بهبود کیفیت و افزایش ماندگاری مواد غذایی کمک کنند (۲).

بسته‌بندی‌های مرسوم مواد غذایی، عمدتاً از پلیمرهایی بر پایه نفت تولید می‌شوند که علاوه بر ایجاد آلودگی زیست محیطی، توانایی پایش لحظه‌ای کیفیت مواد غذایی را نداشته و صرفاً به عنوان محافظ فیزیکی برای مواد غذایی عمل می‌کنند. در نتیجه امروزه، ایجاد یک سیستم بسته‌بندی هوشمند، برای ارزیابی لحظه‌ای مواد غذایی، به عنوان امری ضروری تلقی می‌شود (۴). به این منظور، نانوحسگرها، با داشتن توانایی ایجاد قابلیت‌هایی هم‌چون فعالیت ضد میکروبی، بهبود خواص ممانعت‌کنندگی گازی، پاسخ دهی به تغییرات محیطی و ثبت و گزارش اطلاعات کیفی، توانستند به گزینه‌ای بسیار مناسب برای هوشمندسازی بسته‌بندی‌های مواد غذایی تبدیل شوند. استفاده از این نانومواد در ادغام با حسگرهای رنگ‌سنجی، فلوسانس، فوتوترمال و الکتروشیمیایی، سبب می‌شود که امکان تشخیص سریع فساد، پایش تازگی، اندازه‌گیری ترکیبات فرار و ردیابی زنجیره تامین، به صورت غیرمخرب، ارزان و سریع فراهم شود و پایش مواد غذایی از حالت آزمایشگاهی به سمت نظارت در محل و بدون نیاز به تجهیزات پیشرفته هدایت شود (۴).

با وجود پیشرفت‌های اخیر، مرور ادبیات نشان می‌دهد که با وجود پتانسیل بالا، شکاف عمیقی در بین موفقیت‌های آزمایشگاهی (عمدتاً در محلول‌های بافری ساده) و کاربرد عملی این حسگرها در ماتریس‌های غذایی واقعی و بسته‌بندی هوشمند وجود دارد. اکثر مطالعات بر روی نمونه‌های مایع نظیر شیر و آبمیوه صورت گرفته است و توجه کافی به مواد غذایی جامد با ساختار پیچیده‌تر نشده است. در کنار این موارد، تمرکز بیش از اندازه به فعالیت شبه‌پراکسیدازی، باعث نادیده گرفته شدن سایر فعالیت‌های آنزیمی و تشخیص چندهدفه شده است (۱). در کنار این موارد،

چالش‌های اساسی نظیر انتخاب‌پذیری پایین این نانوآنزیم‌ها در ماتریس‌های پیچیده (به دلیل وجود عوامل مداخله‌کننده مانند چربی‌ها، پروتئین‌ها و عوامل کاهنده)، مهاجرت احتمالی نانوذرات به ماده غذایی و عدم وجود چارچوب‌های قانونی اختصاصی به منظور ارزیابی ریسک نانومواد، از موانع جدی تجاری‌سازی این فناوری به حساب می‌آیند (۴-۶).

این مقاله مروری تحلیلی، با هدف پر کردن خلاء موجود، به بررسی تمامی جنبه‌های نانوآنزیم‌ها در بسته‌بندی هوشمند می‌پردازد. در این مقاله، علاوه بر بررسی مکانیسم‌ها و کاربردهای این ترکیبات، به طور ویژه به تحلیل موانع انتقال از مقیاس آزمایشگاهی به صنعتی، موضوعات ایمنی و سم‌شناسی، الزامات قانونی پرداخته شده و در نهایت چشم‌اندازی مبتنی بر روش‌های نوین مانند سنتز سبز، مهندسی سطح و ترکیب با فناوری‌های دیجیتال به منظور رفع چالش‌های موجود، ارائه می‌شود.

۲- نانوآنزیم‌ها

نانوآنزیم‌ها، دسته‌ای جدید از نانومواد هستند که فعالیت شبه‌آنزیمی دارند. این ترکیبات به سبب داشتن خواص فیزیکوشیمیایی خاص، محدودیت‌های آنزیم‌های طبیعی و سنتزی را نداشته و فعالیت خود را به شکل پایدار، در دما بالا و دامنه pH وسیع حفظ می‌کنند. در مقایسه با آنزیم‌ها، هزینه تولید پایین‌تری داشته و پایداری و قابلیت استفاده مجدد بالاتری از خود نشان می‌دهند (۲).

این ترکیبات در مقایسه با آنزیم‌های طبیعی، انتخاب‌پذیری و عملکرد اختصاصی ضعیف‌تری دارند. در مواد غذایی پیچیده، ترکیبات مداخله‌کننده‌ای نظیر چربی‌ها (از طریق مسدود کردن مکان‌های فعال)، پروتئین‌ها و عوامل کاهنده وجود دارد که هر کدام با مکانیسم بخصوصی، سبب مهار فعالیت این نانومواد می‌شوند. چربی‌ها از طریق مسدود کردن مکان‌های فعال، پروتئین‌ها از طریق برهمکنش الکترواستاتیکی با سطح و عوامل کاهنده از طریق رقابت با گونه‌های فعال اکسیژن، در عملکرد نانوآنزیم‌ها خطا ایجاد می‌کنند (۵). قابلیت طراحی این نانومواد به صورت هیبریدی، به همراه استفاده از اثرات هم‌افزایی و ویژگی سطحی قابل تنظیم، تاحدی می‌تواند گزینش‌پذیری آن‌ها را بهبود ببخشد (۲، ۳).

خواص کاتالیزری این ترکیبات، تحت تاثیر عواملی هم‌چون سطح ویژه، خواص مورفولوژی و ماهیت نانومواد تشکیل‌دهنده قرار دارد که با بهبود دسترسی سوبسترا به جایگاه فعال، فعالیت نانوآنزیم‌ها را بهبود می‌بخشد (۵).

۱-۲- مکانیسم عملکردی نانوانزیم‌ها

۱-۱-۲- شبه پراکسیدازی (POD) Peroxidase like
نانوانزیم‌های POD، فعالیت آنزیم پراکسیداز طبیعی را تقلید می‌کنند. طی اکسیداسیون شاخص مورد بررسی در ماده غذایی، H_2O_2 تولید می‌شود که این ترکیب، در حضور نانوانزیم POD، سبب اکسیداسیون معرف رنگی موجود در حسگر شده و سیگنال رنگی قابل اندازه‌گیری تولید می‌کند (۷).

۲-۱-۵- فعالیت چندآنزیمی

نانوانزیم‌های چند آنزیمی به واسطه داشتن ویژگی‌های اکسایش-کاهش سطحی و مراکز فعال چندگانه، قادر هستند به طور همزمان فعالیت‌های SOD، POD، OX و CAT را داشته باشند. این عملکرد چندگانه سبب می‌شود که کارایی و انعطاف‌پذیری حسگرها رنگی و فوتوالکتروشیمیایی افزایش یابد (۱۱).

۲-۲- انواع نانوانزیم‌ها بر اساس ساختار

۱-۲-۲- نانوانزیم‌های مبتنی بر فلزات، فلزات نجیب و اکسیدهای فلزی
نانوانزیم‌های مبتنی بر فلز، شامل نانوذرات تک فلزی (پلاتین، نقره، طلا و پلادیم) و نانوکامپوزیت‌های دوتایی یا چند تایی (آلیاژها، هسته-پوسته) هستند. این نانوانزیم‌ها دارای فعالیت شبه‌اکسیدازی و پراکسیدازی هستند (۱۲).
نانوانزیم‌های اکسید فلزی به دلیل داشتن سمیت پایین، فرآیند تولید ساده، پایداری بالا و هزینه کم، به عنوان جایگزینی مناسب، برای کاربردهای زیستی و غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. از نمونه این نانوانزیم‌ها به MnO_2 ، CeO_2 ، Cu_2O ، CuO ، Fe_3O_4 ، NiO و Co_3O_4 می‌توان اشاره نمود (۵).

این نانومواد، فعالیت‌های شبه‌پراکسیداز، اکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از خود نشان داده و می‌توانند در تشخیص سریع ترکیباتی هم‌چون آفت کش و ملامین در مواد غذایی مفید واقع شوند (۱۲). به منظور افزایش پایداری و تقویت فعالیت نانوانزیم‌ها، می‌توان از تثبیت این نانوذرات در بستر پلی لاکتیک اسید استفاده کرد. در نانوکامپوزیت‌های دوتایی مانند Pt-Au، Pt-Pd یا $Au-Fe_3O_4$ ، به علت اثرات هم‌افزایی موجود در بین فلزات، فعالیت کاتالیزری در نانوانزیم نهایی افزایش می‌یابد (۱۳).

۲-۲-۲- نانوانزیم‌های دارای چارچوب فلزی-آلی (metalorganic framework (MOF))

این ترکیبات، نانوساختارهای کریستالی متخلخلی هستند که از اتصال یون‌های فلزی به لیگاندهای آلی تشکیل می‌شوند. به

۲-۱-۲- شبه کاتالازی (CAT) catalase like

طی اکسیداسیون شاخص مورد بررسی در ماده غذایی، H_2O_2 تولید می‌شود که این ترکیب، در حضور نانوانزیم CAT، به آب و اکسیژن تجزیه می‌شود. طی این فرآیند، به سبب کاهش میزان H_2O_2 ، میزان اکسیداسیون معرف رنگی کاهش پیدا کرده و در نتیجه در میزان سیگنال رنگی، تغییر ایجاد می‌شود. از این نانوانزیم به عنوان تنظیم کننده غیر مستقیم سیگنال در حسگرهای دوانزیمی یا cascade استفاده می‌شود. در حسگرهای رنگی، این نانوانزیم سبب کاهش سیگنال و در حسگرهای فوتوالکتروشیمیایی، به سبب تولید اکسیژن، موجب تقویت سیگنال می‌شوند (۸).

۲-۱-۳- شبه اکسیدازی (OX) oxidase like

در این نانوانزیم‌ها، مولکول اکسیژن به عنوان پذیرنده الکترون عمل کرده و موجب اکسیداسیون معرف رنگی و تولید سیگنال رنگی می‌شود (۹).

۲-۱-۴- شبه سوپراکسید دیسموتاز (SOD) superoxide dismutase like

این نانوانزیم‌ها قادر هستند رادیکال‌های سوپراکسید را خنثی کرده و به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل کنند. در نتیجه کاهش رادیکال سوپراکسید، فرآیند اکسیداسیون، با شرایط کنترل شده‌تری صورت گرفته و از آسیب اکسیداتیو نمونه جلوگیری می‌شود. در حسگرهای حاوی SOD، سیگنال ناشی از رادیکال‌های سوپراکسید، کاهش پیدا کرده و سیگنال خروجی، به صورت غیرمستقیم تنظیم می‌شود (۱۰).

۲-۲-۵- نانوانزیم‌های دارای چارچوب آلی-کوالانسی COF Covalent Organic Frameworks این نانوساختارها، دسته‌ای از پلیمرهای متخلخل کریستالی هستند که از تشکیل پیوندهای کوالانسی بین مولکول‌های آلی تولید می‌شوند. این مواد از ویژگی‌هایی هم‌چون ساختار منافذ منظم، قابلیت مهندسی و پایداری حرارتی و شیمیایی بالا برخوردار هستند. سطح ویژه و انتخاب‌پذیری اختصاصی آن‌ها، تولید COF‌هایی با فعالیت شبه‌آنزیمی و انتخاب‌پذیری بالا را امکان‌پذیر می‌کند (۵).

۳- طراحی حسگرهای نانوانزیمی

۱-۳- بر اساس تعداد فعالیت آنزیمی

۳-۱-۱- تک آنزیمی: فقط یک نوع فعالیت شبه‌آنزیمی در حسگر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰).
 ۳-۱-۲- دو آنزیمی: ترکیبی از دو نوع فعالیت آنزیمی استفاده می‌شود. در سیستم این حسگرها می‌توان از ترکیب نانوانزیم و آنزیم طبیعی یا دو نانوانزیم استفاده نمود (۱۵). نمونه بارز آن، سیستم تشخیص هیپوگزانتین با استفاده از XOD و نانوانزیم NiPt است که در آن، XOD هیپوگزانتین را به H_2O_2 تبدیل کرده و سپس نانوانزیم، H_2O_2 را به سیگنال رنگی تبدیل می‌کند (۱۶).

۳-۲- بر اساس مکانیسم خروجی

۳-۲-۱- رنگ‌سنجی

در سیستم این حسگر، آنالیت‌ها، طی واکنش اکسیداسیون، H_2O_2 تولید می‌کنند که در ادامه، H_2O_2 تولیدی، در حضور نانوانزیم‌ها، سبب اکسیداسیون ترکیب‌های رنگی و تولید سیگنال رنگی می‌شود. سیگنال رنگی تولیدی توسط چشم یا تصویر برداری ثبت شده و سپس با RGB دیجیتال از نظر کمی تحلیل می‌شود (۱۷، ۱۸).

- مزایا: ساده و کم هزینه، پاسخ دهی سریع در کمتر از ۳۰ دقیقه، امکان پایش با چشم غیر مسلح یا گوشی هوشمند
- معایب: حسایت محدود نسبت به برخی آنالیت‌ها، نیاز به طراحی اختصاصی برای نوع ماده غذایی

دلیل داشتن سطح ویژه بالا، تخلخل قابل کنترل (در مقیاس نانومتری) و پایداری شیمیایی مناسب، به عنوان حسگرهای زیستی رنگ‌سنجی، الکتروشیمیایی و کمی لومینسانسی (نوردهی شیمیایی) مورد استفاده قرار می‌گیرند. اصلاح شیمیایی جایگاه‌های فعال در MOF‌ها، فعالیت شبه‌پراکسیدازی را افزایش داده و انتخاب‌پذیری نانوانزیم را در تشخیص سوبسترا زیستی بهبود می‌بخشد (۱۳، ۱۴). با این حال، استفاده از این نانوانزیم‌ها در بسته‌بندی مواد غذایی، به دلیل پایداری هیدرولیتیکی پایین در محیط‌های اسیدی و نشت یون‌های فلزی، با چالش‌های جدی روبرو است (۶).

۲-۲-۳- نانوانزیم‌های مبتنی بر پلیمر و قالب مولکولی (molecular imprinted polymer)

این نانوساختارها از واکنش پلیمریزاسیون مونومرها در اطراف مولکول هدف یا سوبسترا تولید می‌شوند. پس از حذف شدن مولکول الگو، جایگاه‌های فعال خاصی مطابق با مولکول هدف شکل می‌گیرد که منجر به افزایش ویژگی انتخاب‌پذیری و عملکرد اختصاصی نانوانزیم‌ها می‌شود. این نانوساختارها، در برابر عوامل خارجی از جمله دمای بالا، فشار مکانیکی و عوامل شیمیایی، مقاومت بالایی از خود نشان داده و جایگاه فعال آن‌ها قابل بازسازی می‌باشد؛ در نتیجه از این نانوانزیم‌ها در دفعات متعدد می‌توان استفاده نمود (۱۳).

۲-۲-۴- نانوانزیم بر پایه کربن

این نانوکربن‌ها در اشکال مختلفی از جمله نانولوله‌های کربنی تک جداره و چند جداره، نقاط کربنی (CD)، نقاط گرافنی (GD) و نقاط کوانتومی (QD) تولید می‌شوند. این نانوساختارها صفر بعدی بوده و از خاصیت فلورسانس بالا، پایداری شیمیایی بالا و سمیت سلولی پایین برخوردار هستند. فلورسانس بالا و قابلیت اصلاح سطحی در این ترکیبات، آن‌ها را به گزینه‌ای مناسب برای کاربرد حسگری و تصویر برداری بیوشیمیایی تبدیل می‌کند (۱۳). فعالیت شبه‌آنزیمی این نانوساختارها به گروه‌های سطحی و ساختار الکترونیکی آن‌ها بستگی دارد (۵). این ترکیبات، به دلیل ویژگی‌های مطرح شده، به عنوان گزینه‌ای سبز و ایمن برای استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی محسوب می‌شوند (۵، ۱۳).

- معایب: نیاز به ابزار اندازه‌گیری دما و منبع تابش لیزر اختصاصی که پیچیدگی و هزینه را افزایش می‌دهد، هزینه بالا برخی نانومواد فوتوترمال مثل فلزات نجیب، چالش در یکنواخت سازی پوشش و اصلاح سطوح نانومواد

۳-۲-۴- الکتروشیمیایی

در این حسگرها، قرارگیری نانوذرات بر سطح الکترودها، انتقال الکترون و فعالیت کاتالیتیکی را در آن ناحیه افزایش می‌دهد. به سبب این طراحی، طی واکنش آنزیمی و یا جذب مستقیم آنالیت‌ها بر سطح الکترودها، تغییرات الکتروشیمیایی در سطح ایجاد می‌شوند. این تغییرات ولتاژ، تبدیل به سیگنال الکتریکی می‌شوند که توسط ولتامتر و آمپرمتر قابل اندازه‌گیری هستند. این سنسور در ترکیب با دستگاه‌های قابل حمل برای ارزیابی در محل قابل استفاده هستند (۱۸، ۲۰).

- مزایا: حساسیت بالا و حد تشخیص پایین، پاسخ سریع و تکرارپذیری خوب، امکان افزایش انتخاب‌پذیری با اصلاح سطح الکترودها به وسیله آنتی بادی، قابلیت کم حجم سازی و ساخت سنسورهای قابل حمل
- معایب: نیاز به کنترل دقیق شرایط محیطی و محلول‌ها برای دقت بالا، پیچیدگی در ساخت الکترودها و هزینه بالا نسبت به روش‌های ساده‌تر، کاهش فعالیت نانوانزیم‌ها به مرور زمان در اثر شسته شدن سطح الکترودها

۳-۲-۵- چند حالتی

در سیستم این سنسورها، از ترکیب دو یا چند مکانیسم انتقال سیگنال استفاده می‌شود که در نتیجه آن، محدودیت‌های روش تک‌حالتی بر طرف می‌شود (۲۱) ترکیب دو یا چند مکانیسم خروجی (مانند رنگ‌سنجی/فوتوترمال یا رنگ‌سنجی/فلورسانس) با فراهم کردن امکان خود-کالیبراسیونی و صحت‌سنجی متقاطع، دقت و اطمینان تشخیص را افزایش می‌دهد. به عنوان نمونه، سیستم تشخیص هیپوگلیسمی بر پایه نانوانزیم $\text{Fe-MoO}_3\text{-x}$ با ارائه همزمان سیگنال رنگ‌سنجی و فوتوترمال، بدلیل داشتن قابلیت خود-کالیبراسیون، تأثیر تداخلات ماتریکس را به حداقل می‌رساند (۲۲).

۳-۲-۲- فلورسانس / لومینسانس

در سیستم این حسگر، آنالیت‌ها طی واکنش شیمیایی و یا توسط یک آنزیم، H_2O_2 تولید می‌کنند که این ترکیب با نانوذرات فلورسانس واکنش می‌دهد. طی این واکنش، شدت فلورسانس تولیدی تغییر و یا خاموش می‌شود. برای تحلیل پاسخ خروجی در این سیستم‌ها، از اسپکتروفتومتر و دستگاه‌های قابل حمل، روش‌های نسبتی (برای افزایش دقت و کاهش تاثیر عوامل محیطی) و آنالیز تصویری داده‌ها با تلفن هوشمند استفاده می‌شود (۴، ۱۸).

- مزایا: حساسیت بالا و حد تشخیص پایین، پاسخ سریع، قابلیت طراحی به صورت نسبی برای کاهش اثر عوامل محیطی، امکان ترکیب با سنسورها قابل حمل در محل
- معایب: نیاز به محیط در شرایط کنترل شده، پیچیدگی ساخت، هزینه بالا نسبت به روش رنگ‌سنجی، امکان تولید سیگنال غیراختصاصی

۳-۲-۳- فوتوترمال

در سیستم این حسگرها، نانومواد پس از تابش امواج با طول موج مشخص، فوتون‌ها را جذب کرده و انرژی جذب شده را به صورت حرارت خارج می‌کنند. از آن جایی که میزان افزایش دما با شدت و زمان تابش لیزر رابطه مستقیم دارد؛ در نتیجه با اندازه‌گیری تغییرات دما توسط دستگاه اندازه‌گیری حرارت از جمله دوربین‌های حرارتی، سنسورهای IR، ترموکوپل‌ها، می‌توان سیگنال فوتوترمال را کمی سازی کرد. در حسگرها به منظور اختصاصی کردن شناسایی، از مولکول‌هایی مانند آنتی بادی و آپتامر برای اصلاح سطوح نانومواد استفاده می‌شود. از این سنسورها در قالب‌های مختلف مانند نوارهای ایمنی و حسگرهای نقطه ای قابل حمل می‌توان استفاده نمود (۱۹).

- مزایا: حساسیت بالا به دلیل قابلیت تشخیص تغییرات حرارتی در حد میلی درجه، مقاومت در برابر عوامل مداخله‌کننده محیطی، امکان تشخیص بدون نیاز به سیگنال ثانویه یا برچسب رنگی، سازگاری با مواد مختلف از نانوذرات تا نانومواد کربنی

- مزایا: افزایش حساسیت سیگنال خروجی و کاهش تداخل ماتریکس نمونه در شناسایی آنالیت، خود-کالیبراسیونی داخلی، صحت‌سنجی متقابل سیگنال‌ها، دارای قابلیت تولید به صورت سنسورهای قابل حمل سریع و کم‌هزینه
- معایب: ساختار پیچیده‌تر و پرهزینه‌تری نسبت به تک‌حالت، نیازمند کالیبراسیون همه سیگنال‌های خروجی و مدت زمان تحلیل طولانی‌تر

۴- کاربرد حسگرها نانوانزیمی در مواد غذایی

۴-۱- سنجش تازگی مواد غذایی

۴-۱-۱- بررسی تازگی گوشت و آبزیان - هیپوگزانتین
گوشت و آبزیان به عنوان منابع پروتئین، اسیدهای چرب و ویتامین‌ها، نقش بسیار مهمی را در رژیم غذایی روزانه ایفا می‌کنند. این محصولات، به دلیل داشتن محتوای بالای پروتئین و آب، در طی فرآیند تولید، حمل و نقل و نگهداری به شدت در معرض فساد هستند. فساد این محصولات، منجر به تولید متابولیت‌های متنوعی از جمله TVB-N، تری‌متیل‌آمین و TBA می‌شود که به عنوان شاخص تازگی گوشت و آبزیان مورد پایش قرار می‌گیرند. پایش این ترکیبات، به منظور اطمینان از ایمنی مصرف‌کننده و کاهش ضایعات اقتصادی، امری ضروری به شمار می‌آید (۱۸).

پس از مرگ حیوانات، تولید ATP در بدن حیوان متوقف شده و آنزیم‌های تجزیه‌کننده ATP فعال می‌شوند. طی فعالیت این آنزیم‌ها، ATP به ADP، AMP و IMP و در نهایت به Hypoxanthine و Xanthine تبدیل می‌شود. این ترکیبات به ویژه Hypoxanthine و Xanthine، به عنوان شاخص تازگی گوشت و آبزیان شناخته شده و برای تشخیص مراحل اولیه فساد مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۸). انباشت مقادیر بالا هیپوگزانتین در محصولات غذایی آبرزی، خطر ابتلا به بیماری‌هایی همچون نقرس و سنگ کلیه را به همراه دارد (۱۱).

Wenhui Don و همکاران به منظور پایش تازگی میگو، از حسگرهای زیستی کاغذی مبتنی بر سیستم دوگانه گزانتین

اکسیداز و نانوانزیم NiPt استفاده کردند. هیپوگزانتین در حضور XOD اکسید شده و H_2O_2 تولید می‌کند. سپس در حضور نانوانزیم NiPt، H_2O_2 به رادیکال هیدروکسیل تبدیل شده و موجب اکسیداسیون معرف رنگی- $(3,3',5,5')$ TMB (tetramethylbenzidine) (بی‌رنگ) به oxTMB (آبی رنگ) می‌شود. تغییرات سیگنال رنگی (رنگ آبی) تولید شده بر روی کاغذ اصلاح شده با کیتوزان به وسیله تلفن همراه به صورت نیمه کمی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. حد تشخیص این حسگر $9.67 \mu M$ میکرومول و بازده بازیابی آن 116.4% درصد با انحراف کمتر از 7.7% درصد گزارش شده است. نقطه قوت این روش، استفاده از کیتوزان به منظور ایجاد شرایط اسیدی، توزیع یکنواخت مواد بر روی کاغذ و بهبود انتقال الکترون است. در مقایسه با روش HPLC، این حسگر کارایی بالایی داشته و قادر است با حساسیت بالا، اختصاصی و به صورت نیمه کمی، برای ارزیابی شاخص تازگی در مواد غذایی گوشتی و آبرزی مورد استفاده قرار بگیرد. چالش اصلی این روش، نیاز نمونه به آماده‌سازی (همگن‌سازی و استخراج) است که کاربرد مستقیم آن را به عنوان برچسب تماسی در بسته‌بندی مواد غذایی محدود می‌کند (۱۶).

Yuan Mei Ling و همکاران، از نانوانزیم $Fe-MoO_3-x$ برای سنجش میزان هیپوگزانتین با روش مبتنی بر تشخیص دوحالتی رنگ‌سنجی / فوتوترمال استفاده کردند. این نانوذرات به دلیل ویژگی‌های پلاسمون سطحی محلی (local surface plasmon resonance LSPR) و توانایی بالا در تبدیل فوتوترمال، می‌توانند به صورت همزمان، پاسخ‌های رنگ‌سنجی و فوتوترمال را ایجاد کنند. در این سیستم، H_2O_2 تولیدی از اکسیداسیون هیپوگزانتین توسط XOD، در حضور نانوانزیم $Fe-MoO_3-x$ OPD (o-phenylenediamine) بی‌رنگ را به DAP (۲ و ۳ آمینو فنازین) زرد رنگ اکسید کرده و و همزمان نانوانزیم آبی‌رنگ را به فرم بی‌رنگ تبدیل می‌کند. طی این فرآیند علاوه بر خروج سیگنال رنگی، به دلیل تغییر رنگ نانوانزیم، سیگنال فوتوترمال (LSPR) نیز کاهش پیدا کرده و امکان اعتبارسنجی متقابل دو پاسخ نهایی فراهم می‌شود. حد تشخیص در این روش تقریباً 1.3 تا $1.6 \mu M$ میکرومول و بازده بازیابی آن $93-107.6\%$ درصد با انحراف معیار کمتر از 7.4% درصد گزارش شده است. مزیت اصلی این روش، قابلیت صحت‌سنجی متقابل دو سیگنال مستقل (رنگ و دما)

آنتی اکسیدانی آن است که طی دوره نگهداری از مقدار آن کاسته می‌شود. از آنتی اکسیدان‌های مورد ارزیابی برای سنجش تازگی در حسگرهای میوه و سبزیجات می‌توان به آسکوربیک اسید، فرولیک اسید و اپی گالا کاته چین گالات اشاره کرد (۲۳). در یکی از مطالعات انجام شده، از نانوانزیم‌های آلایزی ۵ عنصری به عنوان حسگر استفاده کردند. این نانوانزیم دارای ساختار پروتئین هیدروکسیدی بوده و از ترکیب عناصر Cu, Zn, Co, Ni و Fe تشکیل می‌شود. نسبت به نمونه‌های تک فلزی، به دلیل توزیع یکنواخت عناصر، تعداد بالای سایت‌های فعال سطحی و نسبت بیشتر یون‌ها Cu^{2+} ، فعالیت شبه‌پراکسیدازی قوی‌تری از خود نشان داده است. بار سطحی منفی بالا و تعامل الکترواستاتیکی موثر با TMB در این نانوانزیم، سبب می‌شود که حسگر از حساسیت بالایی برخوردار بوده و با سرعت بالایی سیگنال رنگی تولید کند. طی پایش انجام شده، این حسگر نانوانزیمی توانست به طور دقیق تفاوت میوه‌های رسیده طبیعی و مصنوعی را تشخیص دهد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را تعیین کند. وجود اثرات هم‌افزایی، میان عناصر مختلف تشکیل‌دهنده در این نانوالیازهای با آنروپی بالا، منجر به عملکرد کاتالیزوری مطلوب این ترکیبات می‌شود؛ اما درک مکانیسم دقیق کاتالیزوری، در سطح مولکولی این آلیاز، از چالش‌هایی است که وجود دارد و برای تشخیص دقیق آن، به تکنیک‌های پیشرفته مشخصه‌یابی نیاز است. در کنار این موارد، بدلیل احتمال مهاجرت عناصر تشکیل‌دهنده این نانوانزیم‌ها (مانند Ni و Co) به مواد غذایی، بررسی‌های دقیق سم‌شناسی، قبل از بکارگیری این حسگرها در بسته‌بندی مواد غذایی، الزامی است (۲۳).

۴-۲- سنجش آلودگی و ترکیبات مضر
وجود افزودنی‌های غیر مجاز، ترکیبات زیان‌آور و آلودگی‌های پروتئینی در مواد غذایی، علاوه بر خطرات سلامتی، پیامدهای اقتصادی، بهداشتی و اخلاقی را نیز به همراه دارد. افزودن مواد ارزان قیمت، استفاده از گوشت غیرمجاز و آلودگی در خط تولید از مواردی هستند که ایمنی مواد غذایی را کاهش می‌دهند. در نتیجه به سبب تقاضا بازار به عرضه مواد غذایی سالم، طبیعی و

است که دقت تشخیص را افزایش می‌دهد. با این وجود، وابستگی آن به تجهیزات پیشرفته مانند لیزر ۸۰۸ نانومتر و دوربین حرارتی و نیاز به استخراج نمونه، بکاربردن آن را در بسته‌بندی هوشمند با چالش جدی روبرو می‌کند. هزینه بالا و پیچیدگی عملیاتی در این روش، آن را به یک ابزار آزمایشگاهی با پتانسیل بالا تبدیل کرده است که با الزامات کاربرد در بسته‌بندی هوشمند (نیاز به سادگی، هزینه پایین و قابلیت استفاده در محل) هم‌خوانی ندارد (۲۲).

Lui و همکاران، از نانوانزیم Fe-Cu-MOF برای پایش هیپوگزانتین با حسگر کاغذی استفاده کردند. این نانوذره هیبریدی Fe/Cu، دارای فعالیت پراکسیدازی بوده و با نسبت مولی ۰/۵، بالاترین سطح کاتالیزوری را دارد. این نانوانزیم با داشتن فعالیت اکسایش-کاهش بالا و انتقال الکترون سریع، H_2O_2 تولید شده توسط واکنش اکسیداسون هیپوگزانتین توسط XOD را به طور موثر، به اکسید TMB تبدیل کرده و سیگنال رنگی تولید می‌کند. حد تشخیص در این روش ۰/۳۷ میکرومول گزارش شده است. این حسگرها از حد تشخیص بسیار پایین برخوردار هستند و به دلیل ساختار کاغذی، قابلیت حمل بالایی دارند. با این وجود، از چالش‌های اساسی آن می‌توان به پایداری هیدرولیتیکی پایین MOF‌ها در محیط‌های اسیدی و خطرات ناشی از نشت یون‌های فلزی Fe و Cu به ماده غذایی اشاره کرد. این محدودیت‌ها استفاده از این حسگرها را در بسته‌بندی هوشمند با چالش روبرو کرده و نیازمند مطالعات سم‌شناسی دقیق و ایجاد پوشش‌های محافظ قبل از تجاری‌سازی است (۱۴).

۴-۱-۲- بررسی تازگی میوه و سبزیجات- محتوای آنتی‌اکسیدانی

میوه‌ها و سبزیجات با داشتن منابع مهم تغذیه‌ای از جمله ویتامین، مواد معدنی و ترکیبات فیتوشیمیایی، طی دوره نگهداری، در معرض تغییرات بیوشیمیایی قرار می‌گیرند که منجر به کاهش محتوای این ترکیبات و اثر بخشی آن‌ها می‌شود. در نتیجه به عنوان یکی از شاخص‌های تازگی، شناسایی این ترکیبات، می‌تواند ارزش غذایی و تازگی محصول را برای مصرف کننده تضمین کرده و از شیوع بیماری‌های جلوگیری کند. نمونه شاخص تازگی در میوه‌ها و سبزیجات ارزیابی تغییرات محتویات

بدون مواد شیمیایی مضر، وجود یک سیستم تشخیص سریع و کارآمد ضروری است (۲۴).

۴-۲-۱- تشخیص آلودگی به گوشت خوک

طی مطالعه ای از حسگری بر پایه ICR (Immunochromatographic Analysis) برای تشخیص افزودنی غیر مجاز گوشت خوک در محصولات گوشتی استفاده کردند. در این پژوهش، از نانوانزیم Au@Pt با فعالیت پراکسیدازی بالا، به عنوان برجسب استفاده کرده و برای شناسایی اختصاصی میوگلوبین گوشت خوک، آنتی بادی ضد-MG را در ساختار نانوانزیم بکار بردند. این نانوانزیم با کاتالیز واکنش اکسیداسیون معرف TMB، تولید سیگنال رنگی را تقویت کرده و قادر است مقادیر ناچیز گوشت خوک را نیز تا ۰,۰۰۵ درصد در ترکیب با گوشت‌های دیگر تشخیص دهد. حد تشخیص نهایی ۰,۱۵ ng/mL گزارش شده است که از تست‌های ICR مبتنی بر نانوذرات طلا، حدود ۳۰ برابر حساس‌تر است. این روش، به عنوان یکی از حساس‌ترین روش‌های تشخیص تقلب در فرآورده‌های گوشتی به حساب می‌آید؛ اما بکارگیری آن در بسته‌بندی هوشمند مناسب نیست. ارزیابی نمونه به وسیله این حسگرها، به فرایندهای پیچیده آماده‌سازی نظیر استخراج پروتئین، تیمار با امواج فراصوت و سانترفیوژ نیاز دارد که زمان زیادی می‌برند. در نتیجه استفاده از این سیستم، به عنوان کیت تشخیص آزمایشگاهی یا بازرسی میدانی، نسبت به استفاده به عنوان حسگر تماسی بسته‌بندی هوشمند، کاربرد بیشتری خواهد داشت (۲۴).

۴-۲-۲- تشخیص آلودگی به آفلاتوکسین

در پژوهشی به منظور تشخیص آفلاتوکسین در محصولات آبی، حسگرهایی دوحالته شامل سیستم‌های رنگ‌سنجی و فلورسانس تولید کردند که مبتنی بر نانوانزیم آلکوکسید آهن و سیستم mesoporous silica nanoparticles (MSNs) بود. در سیستم MSN، ذرات سیلیکایی با تخلخل بالا، معرف TMB را درون خود نگه داشته و aptamerها مانند دروازه اختصاصی برای آن عمل کردند. در صورت حضور مولکول هدف (آفلاتوکسین) در ماده غذایی، آپتامرها باز شده و معرف را آزاد می‌کنند. در ادامه، نانوانزیم آهن به عنوان کاتالیزگر واکنش اکسیداسیون معرف

رنگی عمل کرده و منجر به تولید سیگنال رنگی و فلورسانس می‌شود. این حسگر توانایی اندازه‌گیری آفلاتوکسین در مقادیر ۰,۱ تا ۱۰۰۰ $\mu\text{g/kg}$ به صورت فلورسانس و ۰,۳ تا ۱۰۰۰ $\mu\text{g/kg}$ به صورت رنگ‌سنجی با حد تشخیص ۰,۰۴۸ و ۰,۱۶۵ $\mu\text{g/kg}$ داشته و در نمونه‌های واقعی کارایی و بازده بالایی را از خود نشان داده است. از چالش‌های استفاده از این حسگر در بسته‌بندی هوشمند، می‌توان به مراحل پیش‌تیمار پیچیده مانند همگن‌سازی، استخراج با استونیتریل و سانترفیوژ، پایداری طولانی مدت آپتامرها در شرایط واقعی بسته‌بندی و احتمال دناوره شدن آن‌ها اشاره کرد که استفاده از آن‌ها در کاربرد عملی با مشکل روبرو می‌کند (۲۵).

۴-۲-۳- تشخیص آلودگی به نمک فلزی حاوی گوگرد (SCM (sulfur-containing metal salts

به منظور تشخیص سریع و همزمان نمک‌های گوگرددار در نمونه‌های مختلف، حسگرهای رنگ‌سنجی را طراحی و تولید کردند که در آن، نانوانزیم تک اتمی کبالت (CoN4-G) در داخل گرافن نیتروژن‌دار تعبیه شده است. این نانوانزیم، با داشتن فعالیت شبه‌پراکسیدازی بالا، بدون نیاز به هیدروژن پر اکسید، با استفاده از اکسیژن، اکسیداسیون TMB را کاتالیز می‌کند که در نهایت منجر به ایجاد سیگنال رنگی ویژه برای هر نوع ترکیب SCM می‌شود. محدوده خطی این حسگر ۱,۶-۳۲۰ μM و حد تشخیص آن ۰,۰۷۷۸-۰,۲۱۸ μM گزارش شده است. از مزیت‌های این روش می‌توان به تشخیص همزمان چند آنالیت و قابلیت تحلیل با تلفن همراه اشاره کرد. این نانوانزیم‌ها، به دلیل ساختار یکنواخت و مکان‌های فعال مشخص، از قدرت انتخاب‌پذیری بالایی برخوردار هستند. با این وجود، تجاری‌سازی این حسگرها، با چالش‌هایی نظیر سمیت کبالت و گرافن و احتمال مهاجرت آن‌ها به مواد غذایی و تولید انبوه این نانوانزیم‌ها با کیفیت و کارایی یکسان در مقیاس صنعتی، روبرو است (۲۶).

۴-۲-۴- تشخیص آلودگی به بیس فنول

بیس فنول‌ها (BPA) به عنوان یک اختلال‌گر غده درون ریز، می‌تواند عملکرد سیستم‌های متابولیکی مانند تیروئید و دستگاه

مورد CuAsp) و سمیت گرافین و نانومواد تک‌اتمی وجود دارد که به بررسی‌های دقیق‌تر، قبل از تجاری‌سازی، نیاز دارد (۲۷).

۳-۴- اندازه‌گیری اسید فنولیک

در پژوهشی به منظور اندازه‌گیری شش فنولیک اسید در آب‌میوه و تفکیک آن‌ها از یکدیگر، از حسگر فلورسانس مبتنی بر نانوذرات طلا استفاده کردند. در این سامانه، اتصال الکترواستاتیکی نانوذرات طلا به رنگ‌ها، موجب خاموشی فلورسانس می‌شود. با افزودن اسیدهای فنولیک، به دلیل رقابت برای اتصال به نانوذرات، بخشی از رنگ‌ها آزاد شده و بازیابی فلورسانس رخ می‌دهد. تفاوت در میزان رقابت هر اسیدفنولیک، سبب ایجاد الگوهای فلورسانسی مختلف می‌شود که امکان شناسایی اسیدها را تا غلظت $1 \mu\text{M}$ را فراهم می‌کند. این حسگر به دلیل هزینه پایین و پاسخ سریع، روشی مناسب برای آنالیز ترکیبات فنولی محسوب می‌شود. استفاده از این حسگرها، به دلیل نیاز به آنالیز پیچیده داده‌ها و حساسیت به ماتریس نمونه، بیشتر برای کاربردهای آزمایشگاهی مناسب است. در کنار این موارد، هزینه بالا نانوذرات طلا و چالش‌های مربوط به پایداری طولانی‌مدت آن‌ها، بکارگیری آن‌ها را در بسته‌بندی هوشمند و حجم انبوه، با محدودیت روبرو می‌کند (۳۰).

۴-۴- تشخیص آلودگی به E Coli

در مطالعه‌ای از حسگری مبنی بر نانوذرات طلا و آپتامر برای تشخیص اشرشیا کولی استفاده کردند. در این سیستم، جذب شدن آپتامر بر سطح نانوانزیم‌ها، سبب مهار فعالیت پراکسیدازی آن‌ها می‌شود. در حضور باکتری اشرشیاکولی، آپتامر از سطح جدا شده و به باکتری هدف متصل می‌شود که این عمل، منجر به آزاد شدن نانوانزیم و اکسیداسیون TBM و در نهایت تولید سیگنال رنگی می‌شود. این روش حساسیت بالایی داشته و حد تشخیص آن 10 cfu/ml گزارش شده است. عملکرد این حسگر در نمونه واقعی مانند آب‌میوه، نیز از پایداری کافی برخوردار است. از چالش‌های این حسگر می‌توان به نیاز به آماده‌سازی نمونه، تداخل ماتریس‌های پیچیده غذایی در تشخیص، حفظ پایداری طولانی‌مدت آپتامرها در شرایط محیطی مختلف و نیاز به تبدیل

عصبی تحت تاثیر قرار دهد. این ترکیبات به طور گسترده در بسته‌بندی‌های غذایی پلاستیکی مخصوصا محصولات غذایی مورد استفاده نوزادان و کودکان وجود دارد. در نتیجه از آن جایی که سیستم آنزیمی نوزادان برای هیدرولیز این ترکیبات ضعیف است، وجود سیستم پایش دقیق و حساسیت بالا ضروری است (۲۷).

به این منظور از نانوانزیم‌های CuAsp که با گالیک اسید اصلاح شده‌اند استفاده کردند. این نانوانزیم‌ها فعالیت شبه‌لاکازی داشته و با اکسیداسیون BPA در حضور ۴-aminoantipyrine (4-AP)، تغییر رنگ از بی رنگ به صورتی را ایجاد می‌کنند. اصلاح شدن توسط گالیک اسید سبب می‌شود که خواص پراکسیدازی نانوانزیم مهار و انتخاب‌پذیری آن نسبت به BPA افزایش یابد. این نانوانزیم دارای پایداری بالا در گستره pH و دما و مقاومت بالا در برابر نمک و یون‌ها بوده و بعد از ۱۵ روز نگهداری بیش از ۸۵ درصد فعالیت خود را حفظ می‌کند. حد تشخیص بیس فنول توسط این نانوانزیم، $0.75 \mu\text{M}$ و دقت آن در نمونه واقعی بطری آب و بسته‌بندی مواد غذایی نوزادان ۹۶-۱۰۸٪ با RSD کمتر از ۷.۵٪ گزارش شده است (۲۷).

در پژوهش‌های دیگری، از نانوانزیم‌های تک اتمی منگنز بر پایه گرافین و نانوانزیم تک‌اتمی مس برای تشخیص بیس فنول استفاده کردند. نانوانزیم منگنز با فعالیت پراکسیدازی و مکانیسم مبتنی بر مهار کاتالیزوری توسط بیس فنول‌ها، توانست به طور همزمان انواع مختلف این ترکیبات را (با حد تشخیص 0.277 ، 0.443 میکرومولار) تشخیص دهد (۲۸). نانوانزیم تک‌اتمی مس نیز توانست سطوح بسیار پایین انواع بیسفنول را (50 nM : BPS، 110 nM : BPAF) تشخیص داده و عملکردی بهتر نسبت به آنزیم‌های طبیعی از خود نشان دهد (۲۹).

نانوانزیم‌های اصلاح شده با گالیک‌اسید و نانوانزیم‌های تک‌اتمی، راهکارهای موثری را برای تشخیص بیس فنول‌ها با قدرت انتخاب‌پذیری بالا ارائه می‌دهند. داشتن پایداری بالا در شرایط محیطی مختلف، این حسگرها را نسبت به سایر حسگرها، برای بکارگیری در بسته‌بندی مواد غذایی، مناسب‌تر می‌کند؛ با این حال، چالش‌هایی نظیر کاهش فعالیت در pH‌های اسیدی (در

این سیستم به یک حسگر تماسی اشاره کرد که استفاده از این حسگر را در بسته‌بندی هوشمند با محدودیت روبرو می‌کند (۳۱).

جدول ۱- خلاصه‌ای از انواع حسگرها در بسته‌بندی هوشمند

مواد غذایی

کاربرد	حسگر	فعالیت آنزیمی	پاسخ‌گویی	چالش استفاده در بسته‌بندی	کاربرد در بسته‌بندی هوشمند
تازگی گوشت و آبزیان	NiPt+XOD	پراکسیداز	رنگ‌سنجی + تلفن همراه	نیاز به آماده‌سازی نمونه	✓ (۱۶)
	FeMoO _{3-x}	پراکسیداز	رنگ‌سنجی / فوتوترمال	نیاز به تجهیزات جانبی	✗ (۲۲)
	MOF FeCu	پراکسیداز	رنگ‌سنجی	نشت یون فلزی و پایداری هیدرولیتیک	✓ (۱۴)
	CuZnCoNiFeHE-alloy	پراکسیداز	رنگ‌سنجی + RGB تلفن همراه	پیچیدگی مکانیسم کاتالیزوری و سمیت عناصر	✓ (۲۳)
آلودگی به گوشت خوک	AuPt	پراکسیداز	رنگ‌سنجی	نیاز به آماده‌سازی نمونه	✓ (۲۴)
آلودگی به آفاتوکسین	Fe-alkoxide + MSNs	پراکسیداز	رنگ‌سنجی / فلورسانس	نیاز به پیش‌تیمار استخراجی	✗ (۲۵)
آلودگی به نمک‌های SCM	CoN4-G	پراکسیداز	رنگ‌سنجی	سمیت کبالت و گرافن، تولید انبوه	✓ (۲۶)

		نانوآزمایش‌ها			
		ی تک‌اتمی با کیفیت یکسان			
	✓ (۲۷)	کاهش فعالیت در pH اسیدی	رنگ‌سنجی	لاکاز	CuAsp + گالیک اسید
	✓ (۲۸) (۲۹)	سمیت گرافین	رنگ‌سنجی	پراکسیداز	Mn تک‌اتمی / گرافین فن
	✗ (۳۰)	نیاز به آنالیز پیچیده داده‌ها، حساسیت به تداخل ماتریس نمونه و هزینه بالای نانوذرات طلا	فلورسانس	پراکسیداز	AuNPs
	✓ (۳۱)	تداخل ماتریس‌های پیچیده غذایی، پایداری طولانی مدت آپتامرها	رنگ‌سنجی	پراکسیداز	AuNPs + آپتامر

پژوهش‌های انجام شده وجود دارد که از آن‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

(۱) تمرکز بر نمونه‌های مایع: در اکثر پژوهش‌های انجام شده در این زمینه، آزمایشات بر نمونه‌های غذایی مایع مانند شیر و آبمیوه انجام شده است و به مواد غذایی جامد با ساختار پیچیده‌تر توجه کمتری شده است (۱).

(۲) کمبود مطالعات بر روی افزودنی‌های غذایی: در زمینه تشخیص افزودنی‌های مجاز و غیرمجاز مانند شیرین‌کننده‌ها، رنگ‌های خوراکی و نگهدارنده‌ها، توسط حسگرهای نانوانزیمی، توجه بسیار کمی شده است (۱).

(۳) محدود شدن پژوهش‌ها به یک نوع آنزیم: در اکثر مطالعات، تمرکز اصلی بر شبیه‌سازی آنزیم پراکسیداز بوده است که به سبب آن سایر فعالیت‌های آنزیمی نادیده گرفته شده و دامنه کاربرد این نانوانزیم‌ها محدود شده است (۱).

(۴) نبود استانداردهای جهانی: کمبود پروتکل‌های استاندارد بین‌المللی در زمینه سنتز، مشخصه‌یابی، ارزیابی تکرارپذیری نانوانزیم‌ها در مقیاس صنعتی و سنجش میزان سمیت و مهاجرت نانومواد، سبب می‌شود که تجاری‌سازی این ترکیبات و استفاده از آن‌ها در بسته‌بندی هوشمند با محدودیت روبرو شود (۲).

۶- چشم‌انداز آینده راهکارهای گذر از موانع تجاری‌سازی

۶-۱- توسعه سنتز سبز و پایدار: بهره‌گیری از روش‌های سنتز سبز و استفاده از پیش‌سازهای زیستی (مانند ضایعات کشاورزی و عصاره‌های گیاهی) و حلال‌های سبز (مانند آب، حلال‌های یوتکتیک عمیق)، علاوه بر کاهش سمیت و جلب اعتماد مصرف‌کننده، به اقتصاد چرخشی نیز کمک می‌کند. به این سبب، با تبدیل ضایعات زیست‌توده به نانوانزیم‌هایی با ارزش افزوده، علاوه بر کاهش هزینه (۶۰-۸۰٪)، پایداری محیط زیست را نیز افزایش می‌دهیم (۳۲).

۶-۲- مهندسی سطح و افزایش انتخاب‌پذیری: استفاده از روش‌های پیشرفته‌ای نظیر اصلاح سطح با زیست‌لیگاند‌های ایمن (آمینواسید و پپتیدها)، پلیمرهای قالب مولکولی و آبتامرها، می‌تواند انتخاب‌پذیری نانوانزیم‌ها را در مقادیر زیادی افزایش

۵- چالش‌های استفاده از حسگرهای نانوانزیمی در بسته‌بندی هوشمند

۵-۱- انتخاب‌پذیری پایین: نانوانزیم‌ها نسبت به آنزیم‌های طبیعی از انتخاب‌پذیری پایین‌تری برخوردار هستند. در ماتریس مواد غذایی، به سبب وجود ترکیباتی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها و عوامل کاهنده، فعالیت کاتالیزری این نانوانزیم‌ها به طور قابل توجهی مهار می‌شود (۵). علاوه بر این موارد، اکثر سیستم‌های نانوانزیمی فعلی، تنها قادر به تشخیص یک ماده هدف هستند و آنالیز همزمان مخلوطی از آلاینده‌ها برای آن‌ها امکان‌پذیر نیست (۱).

۵-۲- توزیع یکنواخت نانوانزیم‌ها: عدم یکنواختی توزیع نانوانزیم‌ها در ماتریس پلیمری، منجر به تغییرات موضعی سیگنال خروجی شده و اطمینان به سیستم پایش را کاهش می‌دهد (۴).

۵-۳- مهاجرت احتمالی نانومواد به داخل مواد غذایی: احتمال مهاجرت نانومواد از بسته‌بندی به مواد غذایی، یکی از نگرانی‌های جدی برای ایمنی مصرف‌کننده به حساب می‌آید. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهند که نانوذرات با ابعاد کوچک‌تر از ۱۰ نانومتر، به راحتی می‌توانند به سلول‌ها نفوذ کنند (۴). در نانوانزیم‌های حاوی ساختار MOF، ۴ مکانیسم اصلی سمیت شناسایی شده است که از آن‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد (۶):

(۱) نشت یون‌های فلزی سمی مانند Cu^{2+} و Ag^{+} به ویژه در محیط‌های اسیدی با pH پایین و در حضور عوامل شلاته‌کننده طبیعی مانند اسید سیتریک

(۲) تجزیه لیگاند‌های آلی و تشکیل ترکیبات واسطه سمی

(۳) رهاسازی ناگهانی ترکیبات فعال کپسوله شده

(۴) حلال‌های سمی باقی‌مانده از فرآیند سنتز

در نتیجه یافته‌های بدست آمده، انجام مطالعات سم‌شناسی دقیق و بلندمدت، قبل از بکارگیری این ترکیبات در بسته‌بندی مواد غذایی و تجاری‌سازی آن، الزامی است (۴، ۶).

۵-۴- شکاف‌های تحقیقاتی و محدودیت‌های روش‌شناختی: جدا از چالش‌های فنی موجود در تولید و بکارگیری نانوانزیم‌ها در بسته‌بندی مواد غذایی، شکاف‌های تحقیقاتی ساختاری نیز در

دهد (۵، ۶). در کنار این موارد، بکارگیری مدل سازی نظری، یادگیری ماشین و شبیه سازی های دینامیک مولکولی، می تواند امکان تولید نانومواد با فعالیت های اختصاصی تر را بسته به هدف مورد نظر، فراهم کند (۵).

۳-۶- طراحی ایمن و تدوین چارچوب های قانونی: از راهکارهای کلیدی در این زمینه، می توان به استفاده از یون های فلزی ضروری و زیست سازگار (مانند روی، آهن، کلسیم و منیزیم)، لیگاند های طبیعی (مانند سیکلودکسترین) در ساخت MOF ها و سایر نانوساختارها، ایجاد پوشش های محافظ (مانند کیتوزان) برای جلوگیری از مهاجرت نانوذرات اشاره کرد (۶). در کنار این موارد، تدوین استانداردهای نانو توسط نهادهای نظارتی (FDA، EFSA)، ارزیابی چرخه حیات (LCA) و استفاده از مدل های سم شناسی بر پایه فیزیولوژی، از مواردی هستند که برای ارزیابی دقیق ریسک این ترکیبات وجود آن ها الزامی است (۳۲).

۴-۶- ترکیب با فناوری دیجیتال (هوش مصنوعی و اینترنت): ترکیب حسگرهای نانوانزیمی با الگوریتم های هوش مصنوعی، به منظور تحلیل دقیق تر داده های رنگی و پیش بینی زمان ماندگاری، در کنار اتصال آن ها به سیستم های ارتباطی پیشرفته، می تواند زمینه ردیابی و پایش لحظه ای کل زنجیره تامین ماده غذایی را فراهم آورده و چشم انداز روشنی برای بسته بندی هوشمند نسل آینده ترسیم کند (۳۳).

۷- نتیجه گیری

نانوانزیم ها به عنوان نسل جدیدی از کاتالیست های شبه آنزیمی، چشم انداز جدیدی را در زمینه توسعه حسگرهای زیستی مواد غذایی فراهم آورده اند. پایداری ساختاری بالا، هزینه تولید نسبتاً پایین، قابلیت طراحی و اصلاح سطح و عملکرد قابل قبول آن ها در شرایط واقعی نگهداری ماده غذایی، این نانومواد را به گزینه ای مناسب، برای پایش غیرمخرب و لحظه ای کیفی و ایمنی مواد غذایی تبدیل کرده است. با این حال، علی رغم پیشرفت های چشمگیر در سطح آزمایشگاهی، فاصله عمیقی بین تحقیقات دانشگاهی و کاربرد عملی این حسگرها در بسته بندی هوشمند وجود دارد. از چالش های اساسی تجاری سازی این حسگرها می توان به انتخاب پذیری پایین در ماتریس غذاهای پیچیده، عدم وجود روش های آنالیز چند هدفه، احتمال مهاجرت و

سمیت نانو مواد به ویژه در MOF ها و نبود چارچوب قانونی و استاندارد اشاره کرد. غلبه بر این موانع، نیازمند روش های نوین و بین رشته ای مانند سنتر سبز با در نظر گرفتن اقتصاد چرخشی، مهندسی سطح هوشمند با استفاده از زیست لیگاندها و فناوری قالب مولکولی، طراحی ایمن با بکارگیری مواد زیست سازگار، ادغام این حسگرها با فناوری های دیجیتال و در نهایت تدوین استانداردهای بین المللی است. انتظار می رود که با پیشرفت پژوهش های بین رشته ای و همکاری صنعت با دانشگاه و نهادهای قانون گذار، نانوانزیم ها در آینده ای نزدیک به یکی از ارکان اصلی در بسته بندی هوشمند، ایمن و پایدار تبدیل شوند.

۸- تعارض منافع

نویسندگان متعهد می گردند که نتایج حاصل از پژوهش مذکور را در مجله ای دیگری ارسال نکرده و در این راستا منافع تجاری وجود نداشته و در قبال ارائه اثر خود وجهی دریافت ننموده است.

۹- منابع

- Huang Y, Mu X, Wang J, Wang Y, Xie J, Ying R, et al. *The recent development of nanozymes for food quality and safety detection*. Journal of Materials Chemistry B. 2022;10(9):1359-68.
DOI: 10.1039/d1tb02667d
- Chi Y, Cheng H, Sun DW, Huang L, He Q, Shi B. *Food Nanozymology: Nanozyme Engineering Toward Future Food*. Advanced Materials. 2025;2505552.
DOI: 10.1002/adma.202505552
- Lang Y, Zhang B, Cai D, Tu W, Zhang J, Shentu X, et al. *Determination methods of the risk factors in food based on nanozymes: A review*. Biosensors. 2022;13(1):69.
DOI: 10.3390/bios13010069
- Muthu A, Nguyen DH, Neji C, TörÖs G, Ferroudj A, Atieh R, et al. *Nanomaterials for smart and sustainable food packaging: Nano-Sensing mechanisms, and regulatory perspectives*. Foods. 2025;14(15):2657.
DOI: 10.3390/foods14152657
- Yang R, Liu Z, Chen H, Zhang X, Sun Q, El-Mesery HS, et al. *Advances in nanozyme catalysis for food safety detection: A comprehensive review on progress and challenges*. Foods. 2025;14(15):2580.
DOI: 10.3390/foods14152580
- Zhao K, Shuaibu A, Fu Z, Xie J, Ding Z. *A critical review of the toxicity, safety, and regulatory landscape of*



16. Dong W, Feng R, Pang J, Wei K, Li J, Sun J, et al. *An intelligent colorimetric paper-based hypoxanthine biosensor enabled by smartphone and dual-enzyme system for efficient shrimp freshness monitoring*. Food Chemistry. 2025;491:145112.
DOI: 10.1016/j.foodchem.2025.145112
17. Mazur F, Han Z, Tjandra AD, Chandrawati R. *Digitalization of colorimetric sensor technologies for food safety*. Advanced Materials. 2024;36(42):2404274.
DOI: 10.1002/adma.202404274
18. Duan X, Li Z, Wang L, Lin H, Wang K. *Engineered nanomaterials-based sensing systems for assessing the freshness of meat and aquatic products: A state-of-the-art review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2023;22(1):430–50.
DOI: 10.1111/1541-4337.13074
19. Wang Z, Wang M, Wang X, Hao Z, Han S, Wang T, et al. *Photothermal-based nanomaterials and photothermal-sensing: An overview*. Biosensors and Bioelectronics. 2023;220:114883.
DOI: 10.1016/j.bios.2022.114883
20. Singh A, Sharma A, Ahmed A, Sundramoorthy AK, Furukawa H, Arya S, et al. *Recent advances in electrochemical biosensors: Applications, challenges, and future scope*. Biosensors. 2021;11(9):336.
DOI: 10.3390/bios11090336
21. Patil PD, Karvekar A, Salokhe S, Tiwari MS, Nadar SS. *When nanozymes meet enzyme: Unlocking the dual-activity potential of integrated biocomposites*. International Journal of Biological Macromolecules. 2024;271:132357.
DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.132357
22. Ling YM, Jiang ZW, Gong X, Wang Y. *Plasmonic Fe-MoO_{3-x} Nanozyme for Dual-Mode Sensing of Hypoxanthine in Meat to Judge Freshness*. ACS Applied Nano Materials. 2025;8(18):9570–8.
DOI: 10.1021/acsanm.5c01625
23. Liu Y, Zhang J, Xia W, Chen Y, Huan G, Li C, et al. *Portable colorimetric probe based on high-entropy alloy nanozyme for rapid detection of fruit freshness*. Food Chemistry. 2025;483:144345.
DOI: 10.1016/j.foodchem.2025.144345
24. Hendrickson OD, Zvereva EA, Pridvorova SM, Dzantiev BB, Zherdev AV. *The use of Au@Pt nanozyme to perform ultrasensitive immunochromatographic detection of banned pork additives in meat products*. Food Control. 2023;154:110013.
DOI: 10.1016/j.foodcont.2023.110013
- metal-organic frameworks in food packaging*. Coordination Chemistry Reviews. 2026;556:217689.
DOI: 10.1016/j.ccr.2026.217689
7. Li Y, Sun J, Huang L, Liu S, Wang S, Zhang D, et al. *Nanozyme-encoded luminescent detection for food safety analysis: An overview of mechanisms and recent applications*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2022;21(6):5077–108.
DOI: 10.1111/1541-4337.13055
8. Xu D, Wu L, Yao H, Zhao L. *Catalase-like nanozymes: Classification, catalytic mechanisms, and their applications*. Small. 2022;18(37):2203400.
DOI: 10.1002/smll.202203400
9. Wu W, Huang L, Zhu X, Chen J, Chao D, Li M, et al. *Reversible inhibition of the oxidase-like activity of Fe single-atom nanozymes for drug detection*. Chemical Science. 2022;13(16):4566–72.
DOI: 10.1039/d2sc00212d
10. Hamed EM, Fung FM, Li SF. *Bimetallic Cu/Zn Single-Atom Nanozyme with Superoxide Dismutase-Like Activity*. Small. 2025;21(36):e03879.
DOI: 10.1002/smll.202503879
11. Jin Z, Liu Z, Wang Z, Yang Y, Shi H, Fan C, et al. *Real-time food freshness monitoring with AI assisted colorimetric and fluorescent dual-mode paper-based sensors: Harnessing size-dependent effects of mesoporous Cu₂O*. Chemical Engineering Journal. 2025:170581.
DOI: 10.1016/j.ccej.2025.170581
12. Wang T, Lai L, Huang Y, Su E. *Nanozyme: An emerging tool for food packaging*. Food Control. 2024;155:110104.
DOI: 10.1016/j.foodcont.2023.110104
13. Payal A, Krishnamoorthy S, Elumalai A, Moses J, Anandharamakrishnan C. *A review on recent developments and applications of nanozymes in food safety and quality analysis*. Food analytical methods. 2021;14(8):1537–58.
DOI: 10.1007/s12161-021-01983-9
14. Liu Z, Feng Y, Cui Y, Wang Y, Fu Z, Li H, et al. *A portable strip sensing platform based on bimetal-organic framework nanozyme for freshness assessment of aquatic products*. Food Control. 2025;175:111297.
DOI: 10.1016/j.foodcont.2025.111297
15. Fu B, Che R, Wang H, Luo Y, Feng D, Wu J, et al. *Hybrid nanozyme-natural enzyme catalytic system-based self-powered biosensing platform with dual-signal output for trace-level monitoring of pathogens*. Chemical Engineering Journal. 2025:172096.
DOI: 10.1016/j.ccej.2025.172096

detection of *Escherichia coli* in fruit juice. *Sensing and Bio-Sensing Research*. 2020;27:100313.

DOI: 10.1016/j.sbsr.2019.100313

32. Nayak S, Malik GC, Singh B, Giri AK, Pandit E, Parhi PK. *Sustainable Nanozymes from Industrial Biomass: Emerging Mechanisms and Smart Integration for Combating Understudied Foodborne Pathogens*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2026;123526.

DOI: 10.1016/j.jece.2026.123526

33. Sonika M, Balakrishnan M, Ramalakshmi A, Thirupathi V, Rammohan S. *Modern Nanobiosensor Approaches for Intelligent Food Packaging: A Review*. *Journal of Food Process Engineering*. 2026;49(6):e70641.

DOI: 10.1111/jfpe.70641

25. Ding X, Ahmad W, Rong Y, Wu J, Ouyang Q, Chen Q. *A dual-mode fluorescence and colorimetric sensing platform for efficient detection of ofloxacin in aquatic products using iron alkoxide nanozyme*. *Food Chemistry*. 2024;442:138417.

DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.138417

26. Wang H, Wu F, Wu L, Guan J, Niu X. *Nanozyme colorimetric sensor array based on monatomic cobalt for the discrimination of sulfur-containing metal salts*. *Journal of Hazardous Materials*. 2023;456:131643.

DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.131643

27. Wang L, Li J, Lei L, Li Y, Huang H. *Modulation of the enzyme-like activity of CuAsp nanozyme by gallic acid and the selective detection of bisphenol A in infant food packaging*. *Analytical Methods*, 2024. 16(5): p. 751–758.

DOI: 10.1039/D3AY01930F

28. Xia J, Fu R, Li Z, Ding Y, Zhao H, Ye D. *Graphyne-supported manganese single-atom nanozyme sensor array for bisphenol identification*. *Talanta*. 2025;285:127326.

DOI: 10.1016/j.talanta.2024.127326

29. Zhang M, Wang G, Chen J, Lu X. *Single atom nanozyme sensing platform for simultaneous rapid detection of multiple bisphenols*. *Analytica Chimica Acta*. 2024;1307:342628.

DOI: 10.1016/j.aca.2024.342628

30. Jing W, Yang Y, Shi Q, Xu J, Xing G, Dai Y, et al. *Nanozymes sensor array for discrimination and intelligent sensing of phenolic acids in food*. *Food Chemistry*. 2024;450:139326.

DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.139326

31. Das R, Chatterjee B, Kapil A, Sharma TK. *Aptamer-NanoZyme mediated sensing platform for the rapid*