لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۷، دورهٔ ۱۵، شمارهٔ ٤، صفحات: ۳۱–۲۶.

مقاله يژوهثي

# ساخت بسترهای پلاسمونیک به روش آسان چرخشی و به هدف آشکارسازی باکتری سالمونلا

خلاصه

مقدمه: روش پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS) یکی از روشهای کارآمد برای شناسایی مقادیر اندک و حتی شناسایی تک مولکول است. با قرار گرفتن گونههای مختلف در نزدیکی سطح فلز و یا جذب فیزیکی گونهها به نانوساختارهای فلزی، به علت برهم کنش گونهها و پلاسمونهای سطحی فلز، شدت سیگنال رامان افزایش مییابد. از طرفی باکتری سالمونلا در بسیاری از مواد غذایی یافت میشود و بهراحتی میتواند رشد کند که شناسایی این باکتری در صنایع غذایی و کشاورزی مورد توجه است که برای شناسایی این باکتری میتوان استفاده از تکنیک SERS را پیشنهاد کرد.

روش بررسی: در این پژوهش، نانوذرات نقره به روش شیمیایی و با استفاده از عامل کاهندهٔ ساکاروز ساخته شدند، سپس با بهکارگیری روش چرخشی و نشست نانوذرات نقره روی بسترهای شیشهای، بسترهای پلاسمونیکی ساخته شدند. با استفاده از بسترهای پلاسمونیکی و طیفسنجی رامان که تکنیکی غیرمخرب است، آشکارسازی باکتری سالمونلا انجام شد.

یافته ها: با استفاده از آنالیزهای طیفسنجی فرابنفش-مرئی (UV-Vis)، میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)، مشخصه های بسترهای پلاسمونیکی بررسی شدند و به عنوان حسگر زیستی پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS) مورد استفاده قرار گرفتند. استفاده از بستر پلاسمونیکی سبب می شود که به دلیل تشدید پلاسمون-های سطحی نانوجزایر نقره و پراکندگی نور از جزایر نقرهٔ میکرومتری، ارتعاش های مولکولی باکتری سالمونلا تقویت شوند بنابراین شدت قله های ارتعاش های مولکولی طیف SERS باکتری سالمونلا نسبت به طیف رامان آن که از حکاکی باکتری روی بستر شیشه ای به دست می آید، قوی تر است. بسترهای پلاسمونیکی معرفی شده می تواند به تشخیص کم هزینه و زودهنگام بیماری های ناشی از باکتری سالمونلا و پاتوژن های موجود در مواد غذایی کمک کند.

**نتیجه گیری:** ازآنجایی که نقره بهدلیل تشـدید پلاسمونهای سطحی و پراکندگی نور، سـیگنال رامان حاصل از مولکولهای مختلف را بهبود میدهد، بسـترهای پلاسـمونیکی وحید اسکندری<sup>۱</sup> نفیسه شریفی<sup>۲</sup>

 ۲. کارشناسی ارشد، پژوهشکدهٔ علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

 ۱۰ استادیار، گروه لیزر و فوتونیک، دانشکدهٔ فیزیک، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران بهعنوان بستر فعال در طیفسنجی ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS) برای آشکارسازی غلظتهای مختلف باکتری سالمونلا به کارگرفته شدند. با استفاده از بسترهای پلاسمونیهای که متشکل از نانوجزایر و جزایر میکرومتری نقره هستند میتوان از اثر تشدید پلاسمونهای سطحی و اثر پراکندگی نور به طور همزمان استفاده کرد و سیگنال رامان باکتری سالمونلا را افزایت داد. با کاهش غلظت باکتری، سیگنالهای SERS نیز کاهت مییابند. برخلاف رامان باکتریهایی که روی بستر غیرپلاسمونیکی شیشه قرار دارند در بسترهای پلاستمونیکی، با کاهش غلظت باکتری، شدت قلههای ارتعاشهای مولکولی سالمونلا هنوز پلاستمونیکی، با کاهش غلظت باکتری، شدت قلههای ارتعاشهای مولکولی سالمونلا هنوز سراز شدت قابل ملاحظهای برخوردار است که نتیجهٔ تحریک ارتعاشهای مولکولی به وسیلهٔ پلاستمونهای سطحی و پراکندگی نور از بستر پلاسمونیک است و میتوان باکتری سالمونلا تا غلظت ۲۰۱<sup>۹</sup> در اسال دارد که برای انجام این کار باید از سوزن میکروسکوپ نیروی اتمی استفاده کرد که هزینهها را افزایش میدهد.

واژههای کلیدی: بسترهای پلاسمونیک، نانوذرات نقره، پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS)، باکتری سالمونلا، ارتعاشهای مولکولی

نویسندهٔمسئول: نفیسه شریفی تلفن: ۰۳۱۵۵۹۱۳۰۹۱ پست الکترونیک: sharifi@k ashanu. a c . i r

#### مقدمه

باکتری سالمونلا در بسیاری از مواد غذایی یافت میشود و در شرایط محیطی نامناسب نیز نهتنها میتواند زنده بماند که بهراحتی میتواند رشد کند. بنابراین کنترل باکتری سالمونلا در صنعت کشاورزی، غذا و صنایع فرآوری همواره مسئلهساز است و شناسایی و تشخیص مقادیر بسیار اندک آن مورد توجه قرار دارد. ازطرفی شناسایی و تشخیص مواد میکروبیولوژیکیی زمانبر و نیازمند هزینههای گزاف است و تشخیص سریع باکتریها در مواد غذایی از اهداف حوزههای مرتبط با آن است که دستگاههای مختلفی ازجمله طیفسنجی زیرقرمز و طیفسنجی رامان که هر دو طیفسنجی اثر انگشتی محسوب می شوند و با استفاده از ارتعاشهای مولکولی مادہ را بررسے می کنند برای تشخیص باکتریها به کار گرفته می شوند. اما، از آن جایی که گونه های میکروبیولوژیکی مانند باکتری ها در محیط های آبی قرار دارند و به دلیل فعال بودن ارتعاش های مولکولی آب، اندازه گیری با طیفسنجی زیرقرمز مناسب گونههای موجود در محیط آبی نیست، طیفسمنجی رامان گزینهٔ مناسبی برای تشخیص گونههای میکروبیولوژیکی است[۱] اما بهدلیل ضعیف بودن ذاتی سیگنال حاصـل از پراکندگی رامان، مطالعهٔ مولکولهـا با غلظتهای اندک عملاً امکان پذیر نیست[۲]. یکی از روش های کارآمد برای تشخیص و شناسایی مقادیر اندک و حتی شناسایی تکمولکول، روش پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS) است[۳و۴]. در این روش هنگامی که گونههای مختلف مورد مطالعه در نزدیک سطح فلز قرار می گیرند یا به طور فیزیکی جذب نانوذرات فلزی می شوند، به علت برهم کنش گونه ها و پلاسمون های

سطحی نقره، شدت سیگنال رامان افزایش مییابد و بدین تر تیب SERS می تواند برای تشخیص سریع و دقیق گونههای میکروبیولوژیکی استفاده شود [۵ و۶]. در این پژوهش، نانوذرات نقره با استفاده از روش سادهٔ چرخشی، برروی بسترهای شیشهای قرار گرفتند تا بهعنوان بسترهای فعال در SERS برای تشخیص غلظتهای مختلفی از باکتری سالمونلا بهکار گرفته شوند. بدین تر تیب می توان با صرف هزینههای کمتر به تشخیص زودهنگام بیماریهای ناشی از باکتری سالمونلا و پاتوژنهای موجود در مواد غذایی دست بیابیم.

شکل ۱ طرحوارهٔ آشکارسازی باکتری سالمونلا را نشان میدهد که الف: بستر پلاسمونیکی، ب: بستر شیشهای حکاکیشده با باکتری سالمونلا و ج: بستر پلاسمونیکی حکاکیشده با باکتری سالمونلا است که با تابش نور لیزر با طول موج ۷۸۵ نانومتر سیگنال نور رامان پراکندهشده اندازه گیری میشود.

## روشهای ساخت و شناسایی

# روش ساخت بسترهای پلاسمونیکی

لامهای شیشهای با ابعاد ۲ cm ۲ × ۲ cm ۲ بهعنوان بستر برش داده شدند و ابتدا با شویندههای آنیونی و آب و سپس با استون شستشو داده شدند و حین شستشو از امواج فراصوت نیز استفاده شد. سپس بسترها خشک و درنهایت در دمای F۰۰<sup>0</sup>C به مدت ۳۰ دقیقه در کوره حرارتدهی شدند تا آلودگیهای آلی نیز از سطح شیشه حذف شوند و سطح بسترها



شــــکل۱: طرحوارهٔ آشکارسازی الف) سیگنال رامان بستر پلاسمونیکی، ب) سیگنال رامان بستر شیشهای حکاکیشده با باکتری سالمونلا و ج) سیگنال SERS بستر پلاسمونیکی حکاکیشده با باکتری ســـالمونلا که بهبود سیگنال رامان باکتری سالمونلای حکاکیشده روی بستر پلاسمونیکی را نســـبت به حالتی که باکتری سالمونلا در معرض نور پراکندهشده از نانوذرات نقره قرار نگرفته است، نمایش میدهد.

آبدوست شوند. به منظور ساخت نانوذرات نقره با استفاده از همزن مغناطیسی و با افزودن آمونیا به ۲۱ mL محلول ۰/۰ مولار نقره نیترات، کمپلکس آمونیاکی نقره ساخته شد. سپس با اضافه کردن Im ۲۰ mL محلول پتاس ۰/۰۵ مولار به صورت قطره قطره، رسوب نقره اکسید که بهرنگ تیره است، تشکیل می شود. اضافه کردن آمونیا به صورت قطره قطره باعث حل شدن رسوب حاصل و شفاف شدن محلول می شود. بعد از اضافه کردن Im ۱۰ محلول ساکاروز ۰/۰۷ مولار و استفاده از حمام گرمایی با دمای ۵<sup>-0</sup>C به مدت ۴ دقیقه، کمپلکس نقره کاهیده می شود و نقره در داخل محلول تشکیل می شود [۷]. سپس برای پوشش دهی نقره روی لامهای شیشهای و ساخت بسترهای پلاسمونیکی، ۱۰۰ محلول کلوئیدی نقره روی لامهای شیشه ای قرار داده شد و با استفاده از دستگاه چرخشی به مدت ۶۰ ثانیه با سرعت ۳۶۰۰ دور بر دقیقه لایه نشانی انجام شد که مدتزمان شتاب گیری ۲۲ ثانیه تنظیم شد.

# کشت و حکاکی باکتری ســالمونلا روی بستر شیشهای و بستر پلاسمونیکی

مقداری کلنی باکتری در محیط کشت سوی براث (SOY-BROTH) در دمای ۲۳<sup>o</sup>C به مدت ۱۸ ساعت در اتوکلاو (شرکت ریحان طب مدل T-TR، ایران) قرار داده شد تا باکتریها فعال شوند. پس از سانتریفیوژ بهمدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور بردقیقه، مایع زردرنگ جدا شد که از لولههای سانتریفیوژ خارج شد و ۳ بار، هر بار با I س ۱۰ آب بدون یون این عمل تکرار شد و باکتری سالمونلا در غلظتهای ۱۰، ۱۰، ۱۰۴، ۵۰۱ و ۱۰۶ <sup>1</sup> - ۱۰۳ (colony-forming unit mL<sup>-1</sup>) دو بسترهای تهیه شد و از هر کدام I س ۱۰ روی بسترهای شیشهای و بسترهای پلاسمونیکی حکاکی شد و در دمای آزمایشگاه خشک شدند.

#### مشخصهيابى

طيفسنجی UV-Vis و تصوير ميکروسکوپ الکترونی گسيل ميدانی (FE-SEM) بستر پلاسـمونيکی به ترتيـب به وسـيلهٔ دسـتگاه

Perkin-Elmer مدل 25 Lambda و Hitachi مدل S4160 انجام شد. تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) این نمونهها نیز با استفاده از دستگاه شرکت نانوسیستم پارس ساخت ایران تهیه شد. با تابش نور لیزر Nd:YAG با طولموج ۷۸۵ نانومتر و توان خروجی قابل تنظیم مدل MirAG میلیوات دستگاه طیفستجی رامان Metrohm Raman مدل MIRA، طیف رامان و طیف SERS نمونهها اندازه گیری شدند.

#### یافتهها و بحث

### طيف جذب و تصوير FE-SEM بستر پلاسمونيکی

شکل ۲-الف طیف جذب بستر پلاسمونیکی را نشان میدهد که مشاهدهٔ بیشــینهٔ جذب در طول موج ۴۲۴ نانومتر که قلهٔ پلاسمونی نقره است، تشكيل نانوذرات نقره را تأييد ميكند. وجود تنها يك قلهٔ جذبي در طیف جذب نقره نیز نشان میدهد که نانوذرات کروی یا شبه کروی هستند. درشکل ۲-ب تصویر FE-SEM بستر پلاسمونیکی مشاهده می شود که نقره به صورت جزایری روی سطح بستر شیشه قرار گرفته اند. اندازهٔ جزایر کوچکتر که بهصورت نقاطی روشن چه برروی سطح تیرهٔ شیشه و چه برروی ذرات بزرگتر و کلوخهای در تصویر دیده می شود، حدود ۱۰ نانومتر است. توزیع اندازهٔ جزایر بزرگتر در منحنی که برروی تصویر قرار داده شده مشاهده می شود که اندازهٔ بین ۲۰ تا ۱۸۰ دارند. درواقع، با کاهش کمپلکس نقره و تشکیل نانوذرات نقره، ذرات کروی یا شــبه کروی ساخته میشوند که در مورد بســياری از آن ها پديدهٔ کلوخه شـدن اتفاق افتاده است که به صورت جزایری بی شـکل دیده می شوند. بنابراین با روش ساخت به کار گرفته شده، بستر پلاسمونیکی هم شامل ذرات میکرونی و هم شامل نانوذرات است که ذرات بزرگتر نقره منجر به پراکندگی نور (تقویت میدان الکتریکی دور) می شوند و ذرات کوچکتر، ميدان هاى الكتريكي نزديك قابل توجهي ايجاد مىكنند كه حاصل تشدید پلاسمونهای سطحی است[۸و۹].

درواقع، با تابش نور (لیزر) به سطح ناصاف فلز، در اثر تشدید پلاسمونهای سطحی نانوساختارهای فلزی به وسیلهٔ میدان الکترومغناطیسی لیزر، میدانهای الکتریکی ارتقاءیافته در اطراف فلز ایجاد می شود[۱۰و۱۱]. گویی میدان الکتریکی حاصل از تابش نور لیزر تقویت شده است. بنابراین مولکولی که در این میدان الکتریکی ارتقاءیافته قرار می گیرد، بیش تر قطبیده می شود و درنتیجه سیگنال رامان بهبود می یابد[۱۲].

## تصوير AFM بستر پلاسمونيکی

شکل ۳ تصویر AFM الف: دوبعدی و ب: سهبعدی بستر پلاسمونیکی را نشان میدهد. با استفاده از نرمافزار Image Plus میانگین زبری ۱۶/۹ نانومتر، میانگین مرتفع ترین زبری ۱۳۷/۸ نانومتر و میانگین عمیق ترین زبری ۲۴/۳ نانومتر برای بستر پلاسمونیکی بهدست آمد. همان طور که در تصویر FESEM شکل ۲-ب مشاهده می شود ساختارهای نقره در تمام سطح شیشه به طور کامل به یکدیگر متصل نشده اند و ساختار جزیره ای دارند. از طرفی اندازهٔ ذرات یکسان نیست و توزیعی برای اندازهٔ ذرات مشاهده می شود که این غیریکنواختی اندازه در ارتفاع نیز وجود دارد و در تصاویر AFM نیز مشاهده می شود. همان طور که گفته شد، این زبری و ناصافی نقره می تواند باعث تقویت سیگنال رامان شود.

# طیف رامان و SERS و آشکارسازی باکتری سالمونلا

شــکل ۴-الف طيـف SERS باکتری سـالمونلا بـا غلظتهای <sup>۱۰۶</sup>، ۲۰۵، ۱۰۴، ۱۰۴ و ۱۰۲ <sup>1</sup> دا ۲۵ cfu mL<sup>-1</sup> که روی بســترهای پلاسـمونیکی حکاکی شـدهاند را نشان میدهد. قلههایی که مشاهده میشود مربوط به ارتعاشهای مولکولی باکتری سالمونلا است که در جدول ۱ مولکولهای سازندهٔ باکتری سالمونلا و ارتعاشهای مولکولی و موقعیت آنها مشاهده میشود. با کاهش غلظت باکتری، شدت قلههای ارتعاشهای مولکولی آن کاهش مییابد چون تعداد باکتریها و درنتیجه تعداد سیگنالهای ارتعاشی آنها کاهش یافته اســت[۱و۲]. شـکل ۴-ب تغییرات شدت قویترین سیگنال SERS مشاهدهشده، I، که مربوط به فسفولیپیدها در عدد موج ۱۰۲ میدان می دهد که با برازش انجامشده از رابطهٔ (۱) پیروی می کند. C

همان طور که در شکل ۴-الف مشـاهده شد با کاهش غلظت باکتری تا غلظت <sup>1- I</sup>ERS نیز کاهش مییابد. در شـکل۵ طیف رامان بسـتر پلاسـمونیکی طیف رامان بستر شیشهای (غیر پلاسمونیکی) حکاکیشده با باکتری و طیف SERS بستر پلاسمونیکی حکاکیشده با سـالمونلا مشاهده میشود. با تابش نور لیزر با طول موج ۸۸۵ نانومتر ارتعاشهای مولکولی باکتری سـالمونلا تحریک میشوند. همان طور که دیده میشـود سیگنال SERS باکتری سالمونلا حکاکیشـده روی بستر پلاسمونیکی در مقایسه با سیگنال رامان باکتری



شکل۲: الف) طیف جذب بســـتر پلاسمونیکی با بیشینهٔ جذب در طولموج ۴۲۴ نانومتر و ب) تصویر FE-SEM بستر پلاســمونیکی و (داخل شکل) توزیع اندازهٔ جزایر نقره روی بستر پلاسمونیکی



شکل۳: تصویر AFM الف) دوبعدی و ب) سهبعدی بستر پلاسمونیکی

![](_page_4_Figure_2.jpeg)

شـــکل۴-الف) طیف SERS باکتری سالمونلا با غلظتهای <sup>۱</sup>۰۶، <sup>۱</sup>۰۴، <sup>۱</sup>۰۴ و ۲۱۰<sup>۳</sup> دا ۱<sup>۰۲</sup> و ۲۱۰ cfu mL<sup>-1</sup> که روی بســـتر پلاسمونیکی حکاکی شدهاند و ب) منحنی تغییرات شدت قوی ترین سیگنال SERS مربوط به فسفولیپیدها در عدد موج ۱۹۹<sup>1</sup> cm<sup>-1</sup> بر حسب تغییرات لگاریتمی غلظت باکتری سالمونلا، C

۲-ب نیز مشاهده شد ناشیاز تشدید پلاسمونهای سطحی نانوجزایر نقره و پراکندگی بالای نور از جزایر نقره میکرومتری است[۱۶و۱۷]. که با تابش نور (لیزر) به سطح ناصاف فلز (شکل۳) و تقویت میدانهای الکتریکی دور و نزدیک سطح ناصاف، مولکولهای سازندهٔ باکتری سالمونلا که در این میدان الکتریکی ارتقاءیافته قرار گرفتهاند، قطبیدهتر میشوند و درنتیجه سیگنال رامان ارتعاشهای آنها تقویت میشود.

# نتيجهگيرى

در این پژوهش، آشکارسازی باکتری سالمونلا با استفاده از بسترهای پلاسمونیکی که به روش سادهٔ چرخشی ساخته شدند، با استفاده از طیف سنجی رامان که تکنیکی غیرمخرب است بررسے شد. ابتدا، بسترهای پلاسمونیکی فعال در SERS به روش شیمیایی ساخته شدند. غلظتهای

سالمونلا[1۵–۱۳]	برای باکتری	و موقعيت آنها	ں مولکولی	جدول۱: ار تعاشهای
-----------------	-------------	---------------	-----------	-------------------

موقعیت ارتعاش های مولکولی باکتری سالمونلا (*cm)	ارتعاش های مولکولی باکتری سالمونلا
55.	کربوهیدراتها (کششی)
۶۰۳	-COO (کششی)
821-294	-COO (خمشی)
YDD-Y9D	C-N (کششی)
۸۸۶	تیروزین، C-N (کششی)
۹۱۰	فسفوليپيدها
۹۹۸	فسفوليپيدها
۱۰۳۳	C-O و CH2OH (کششی)
۱۲۰۲	CH (ليپيد) و أميد II، I (پروتئين)
١٣٧٣	C-H ( خمشی-پروتئین)
1410	گربوکسیلیکاسید (کششی) N-H CH2 (خمشی)

مختلف <sup>6</sup>۱۰، <sup>6</sup>۱۰، <sup>۱</sup>۰۱۰، <sup>۲</sup>۱۰ و <sup>۲</sup>۱۰ ا<sup>1</sup> cfu mL<sup>-1</sup> از باکتری سالمونلا روی بستر پلاسمونیکی حکاکی شد. استفاده از بستر پلاسمونیکی سبب می شود که به دلیل تشدید پلاسمونهای سطحی نانوجزایر نقره و پراکندگی بالای نور از جزایر نقرهٔ میکرومتری، ارتعاشهای مولکولی باکتری سالمونلا تقویت شوند. با کاهش غلظت باکتری، شدت سیگنالهای SERS کاهش می یابد اما، بسترهای پلاسمونیکی سبب می شوند حتی برای غلظت کمتر ۱۰۲ <sup>1</sup> cfu mL باز هم قلههای ارتعاش مولکولی فعال در رامان مشاهده شوند درصورتی که این قلهها برای باکتری حکاکی شده روی بستر غیرپلاسمونکی قابل مشاهده و شناسایی نیستند. بنابراین، بسترهای پلاسمونیکی معرفی شده در این پژوهش می توانند به تشخیص کمهزینه و زودهنگام بیماریهای ناشی از باکتری سالمونلا و

![](_page_4_Figure_10.jpeg)

شکل۵: طیف رامان بستر پلاسمونیکی (منحنی ممتد سبز)، طیف رامان باکتری سالمونلا با غلظت ۲۰۱<sup>° 1</sup> cfu mL حکاکیشده روی بستر شیشهای (منحنی خطچین آبی) و طیف SERS باکتری ســالمونلا با غلظت ۲۰۱<sup>° 1</sup> cfu mL حکاکیشده روی بستر پلاسمونیکی (منحنی نقطهچین قرمز)

## **References:**

1. Novais Â, Freitas AR, Rodrigues C, and Peixe L. Fourier transform infrared spectroscopy : unlocking fundamentals and prospects for bacterial strain typing. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2018; 38: 427–48.

2. Duan N, Chang B, Zhang H, Wang Z and Wu S. Salmonella typhimurium detection using a surfaceenhanced Raman scattering-based aptasensor. Int. J. Food Microbiology. 2016; 218: 38–43.

3. Wang C, Meloni MM, Wu X, Zhuo M, He T, Wang J and Dong P. Magnetic plasmonic particles for SERSbased bacteria sensing: A review. AIP Advances. 2019; 9: 010701.

4. Su SR, Chen YY, Li KY, Fang YC, Wang CH, Yang CY, Chau LK and Wang SC. Electrohydrodynamically enhanced drying droplets for concentration of Salmonella bacteria prior to their detections using antibody-functionalized SERS-reporter submicron beads. Sensors and Actuators B: Chemical. 2019; 283: 384–9.

5. Zhou H, Yang D, Ivleva NP, Mircescu NE, Niessner R, and Haisch C. SERS detection of bacteria in water by in situ coating with Ag nanoparticles. Analytical Chemistry. 2014; 86(3): 1525–33.

6. Mosier-Boss P. Review on SERS of bacteria. Biosensors. 2017; 7(4): 51.

7. Sharifi N and Taghavinia N. Silver nano-islands on glass fibers using heat segregation method. Materials Chemistry and Physics. 2009; 113: 63–6.

8. Wang LR and Fang Y. IR-SERS study and theoretical analogue on the adsorption behavior of pyridine carboxylic acid on silver nanoparticles. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2006; 63: 614–8.

9. Canamares MV, Garcia-Ramos JV, Sanchez-Cortes S, Castillejo M and Oujja M. Comparative SERS effectiveness of silver nanoparticles prepared by different methods: A study of the enhancement factor and the interfacial properties. Journal of Colloid and Interface Science. 2008; 326: 103–9.

10. Ren B, Liu GK, Lian XB, Yang ZL and Tian ZQ. Raman spectroscopy on transition metals. Analytical and

Bioanalytical Chemistry. 2007; 388: 29-45.

11. Matricardi C, Hanske C, Garcia-Pomar JL, Langer J, Mihi A and . Liz-Marzan LM. Gold nanoparticle plasmonic superlattices as surface-enhanced Raman spectroscopy substrates. ACS Nano. 2018; 12(8): 8531–9.

12. Lin KQ, Yi J, Hu S, Liu BJ, Liu JY, Wang X and Ren B. Size effect on SERS of gold nanorods demonstrated via single nanoparticle spectroscopy. The Journal of Physical Chemistry C. 2016; 120 (37): 20806–13.

13. Zeiri L and Efrima S. Surface-enhanced Raman spectroscopy of bacteria: the effect of excitation wavelength and chemical modification of the colloidal milieu. Journal of Raman Spectroscopy. 2005; 36: 667–75.

14. Sengupta A, Laucks ML and Davis EJ. Surfaceenhanced Raman spectroscopy of bacteria and pollen. Applied Spectroscopy. 2005; 59:1016–23.

15. Zeiri L, Bronk BV, Shabtai Y, Eichler J and Efrima S. Surface-enhanced Raman spectroscopy as a tool for probing specific biochemical components in bacteria. Applied Spectroscopy. 2004; 58(1): 33–40.

16. Chen HY, Lin MH, Wang CY, Chang YM and Gwo S. Large-scale hot spot engineering for quantitative SERS at the single-molecule scale. Journal of the American Chemical Society. 2015; 137(42): 13698–705.

17. Granger JH, Schlotter NE, Crawford AC and Porter MD. Prospects for point-of-care pathogen diagnostics using surface-enhanced Raman scattering (SERS). Chemical Society Reviews. 2016; 45: 3865–82.