

آشکارسازی آسان و سریع آفت کش متیل پاراتیون به وسیله بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک

خلاصه

وحید اسکندری^۱
نفیسه شریفی^۲

مقدمه: به منظور جلوگیری از کاهش تولید محصولات کشاورزی استفاده از آفت کش هایی مانند متیل پاراتیون رو به رشد است. باقیمانده متیل پاراتیون بر روی محصولات کشاورزی نگرانی هایی را به دنبال دارد. بنابراین شناسایی و تعیین مقدار متیل-پاراتیون باقیمانده بر روی محصولات کشاورزی ضروری است. در این مطالعه بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک با استفاده از نانوذرات طلا ساخته شدند تا به راحتی با چسبیدن متیل پاراتیون باقیمانده روی محصولات کشاورزی (سیب) بر روی آن ها و با استفاده از طیف سنج رامان شناسایی و تعیین غلظت آن ها را انجام داد.

روش بررسی: با استفاده از نمک طلا و عامل کاهنده تری سدیم سترات دوآبه، نانوذرات طلا به روش ساده شیمیایی ساخته شدند و به روش قطره افشانی با چکاندن محلول کلوئیدی طلا بر روی چسب دوطرفه، بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک ساخته شدند. با استفاده از این بسترها و طیف سنجی رامان، ارتعاش های مولکولی آفت کش متیل پاراتیون باقیمانده بر روی سطح میوه های سیب اندازه گیری و بررسی شدند.

یافته ها: در این مطالعه تجربی، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان می دهد تعداد زیادی از ذرات طلا اندازه ۱۵ نانومتر دارند. داده طیف پراکندگی دینامیکی نور (DLS) نشان می دهد که ذرات کوچک تر تا اندازه حدود ۵ نانومتر و ذرات بزرگ تر تا اندازه حدود ۳۰ نانومتر نیز ساخته شده اند. با مشاهده قله پلاسمونی ذرات ساخته شده در حدود ۵۱۹ نانومتر و مشاهده ساختار FCC در مشخصه یابی XRD، ساخت نانوذرات طلا تأیید شد. تصویر میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FESEM) بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک نشان می دهد که ترک ها می توانند مرکزی برای پراکندگی نور باشند. زبری که برای بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک در تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) مشاهده می شود، به پراکندگی نور از نقاط زبر کمک می کند. با چسباندن بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک بر روی میوه سیب، باقیمانده آفت کش متیل پاراتیون روی میوه سیب به بستر پلاسمونیک منتقل می شود که در نتیجه طیف رامان ارتعاشات مولکولی متیل پاراتیون به دلیل تشدید پلاسمون های سطحی نانوذرات کوچک تر و پراکندگی نور از نقاط زبر و ترک های روی بستر

۱. کارشناسی ارشد، پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران
۲. استادیار، گروه فوتونیک و پلاسما، دانشکده فیزیک، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

انعطاف‌پذیر پلاسمونیک تقویت می‌شوند و شدت طیف SERS در مقایسه با شدت طیف رامان آن‌ها افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد.

نتیجه‌گیری: بسترهای انعطاف‌پذیر پلاسمونیک ساخته‌شده به وسیله چسب دوطرفه و محلول کلئیدی طلا، به دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات طلا و پراکندگی نور از ترک‌های ایجادشده روی بستر و زبری لایه ایجادشده، سیگنال رامان ارتعاش‌های مولکولی آفت‌کش متیل‌پاراتیون باقیمانده بر روی میوه سیب را تقویت می‌کند. بنابراین، با استفاده از این بسترها به راحتی آفت‌کش متیل‌پاراتیون از سطح محصول کشاورزی به سطح بستر منتقل می‌شود و آشکارسازی سریع و راحت غلظت‌های مختلف قابل انجام است. از طرفی با کالیبراسیون انجام‌شده، با اندازه‌گیری طیف SERS، می‌توان غلظت متیل‌پاراتیون باقیمانده بر روی محصول کشاورزی را با استفاده از شدت سیگنال رامان به دست آورد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات طلا، متیل‌پاراتیون، طیف‌سنجی رامان بهبود یافته سطحی (SERS)، روش قطره‌افشان، بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک

نویسنده مسئول: نفیسه شریفی، تلفن: ۰۳۱۵۵۹۱۳۳۲۰
پست الکترونیک: sharifi@kashanu.ac.ir

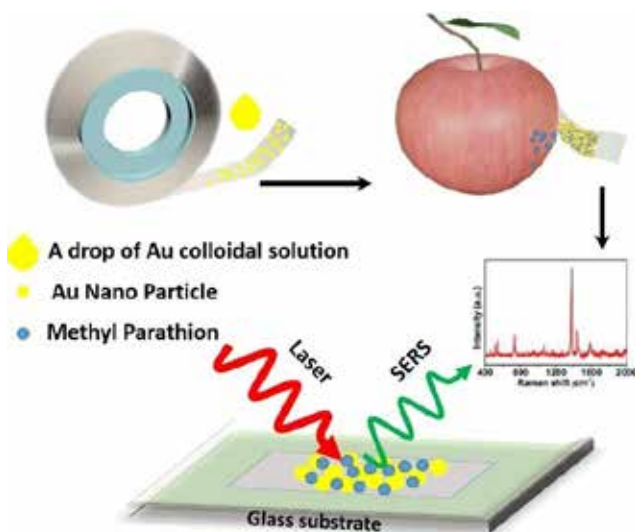
1. Surface-enhanced Raman Spectroscopy

مقدمه

به علت سمیت زیاد برای انسان و حیوانات اهلی به خصوص زنبور عسل محدود گردیده است اما، این حشره‌کش برای مبارزه با شته‌ها به خصوص آن‌هایی که پیچیدگی در برگ‌ها ایجاد می‌کنند، بسیار مناسب است. تحقیقات نشان داده است که می‌تواند باعث بروز بیماری‌های مختلفی از جمله سردرد، تنگی نفس و مسمومیت شدید شود [۲]. آفت‌کش متیل‌پاراتیون به صورت محلول در آب و به صورت اسپری روی محصولات کشاورزی پاشیده می‌شود و به مدت دو هفته می‌تواند بر روی محصولات کشاورزی باقی بماند. کنترل باقیمانده سموم در مواد غذایی به دلایل پیامدهای بهداشتی و اقتصادی ضرورت دارد تا بقایای سموم در مواد غذایی پایش شود. در حال حاضر، برای تعیین بقایای آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی روش‌های متعددی [۲] مانند کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرم (GC/MS) [۳ و ۴]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) [۵]، اسپکترومتری [۶]، الکتروشیمیایی [۷] و طیف‌سنجی تبدیل فوریه رامان (FT-Raman) [۸-۱۰] به کار برده می‌شود. این روش‌ها، روش‌هایی مخرب، دشوار، آلاینده، درون‌آزمایشگاهی، و نیازمند آماده‌سازی نمونه، نیروی متخصص آموزش دیده، آزمایشگاه‌های مجهز و صرف وقت و هزینه بسیار هستند. طیف‌سنج‌های مبتنی بر الکترون و یون نیز به‌خلاف بالا نیاز دارند. از این رو، توسعه یک روش غیرمخرب با کاربری ساده، سریع، کم‌هزینه، ناآلاینده، با قابلیت حمل و کاربرد خارج از محیط آزمایشگاه و نیاز به آماده‌سازی کم‌تر نمونه بسیار ضروری است. از طرفی شناسایی و تشخیص مقادیر بسیار اندک از سموم نیز مورد توجه

امروزه، به منظور دفع آفات گیاهی، تأمین غذا و جلوگیری از کاهش تولید، مصرف سموم شیمیایی که از مهم‌ترین علت‌های آلودگی مواد غذایی و محیط زیست است، افزایش یافته است. ایجاد آفات با نژادهای مقاوم در برابر آفت‌کش‌های شیمیایی، از بین رفتن حشرات مفید و دشمنان طبیعی آفات، اثر مخرب بر روی موجودات زنده و افرادی که در تماس مستقیم با آن‌ها هستند، کاهش تنوع زیستی و مصرف انرژی در تولید و مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی از جمله مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی ناشی از وابستگی کشاورزی به آفت‌کش‌های شیمیایی است. سم‌پاشی‌های مکرر، استفاده نابجا و بیش از حد آفت‌کش‌ها، به کارگیری سموم غیر مجاز، عدم توجه به دوره سموم، برداشت زودهنگام محصولات سم‌پاشی شده و ارائه آن‌ها به بازار و مصرف این محصولات در مدت‌زمان کوتاهی پس از سم‌پاشی، منجر به افزایش باقی‌مانده سموم در آن‌ها می‌شود که مخاطرات جدی برای سلامت مصرف‌کننده در پی دارد. از یک طرف مزارع، باغات، سبزیجات و میوه‌جات به‌طور مداوم در معرض خطر آفات و بیماری‌ها و علف‌های هرز مختلف قرار دارند که مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی مختلف را امری اجتناب‌ناپذیر می‌نماید اما، به دلیل مشکلات زیست‌محیطی و تبعات ناشی از بقایای سموم در غذای مصرف‌کنندگان، کاهش استفاده از سموم مورد توجه قرار گرفته است. آفت‌کش متیل‌پاراتیون (C₈H₁₀NO₅PS) یکی از سموم گروه ارگانوفسفره است که به‌عنوان حشره‌کش در مزارع کشاورزی استفاده می‌شود [۱ و ۲]. هرچند در ایران، مصرف متیل‌پاراتیون چند سالی است

اضافه شد که کلونید ارغوانی رنگ نهایی حاوی نانوذرات طلا است. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول کلونیدی بر روی بسترهای چسب دو طرفه شفاف که همان بستر انعطاف پذیر است، پخش و در دمای آزمایشگاه خشک شدند. در ادامه، قطعات شیشه‌ای با ابعاد $2\text{cm} \times 2\text{cm}$ پس از شستشو با شوینده و آب، با استون شستشو داده شدند که هم‌زمان از امواج فراصوت نیز استفاده شد. پس از خشک شدن این قطعات شیشه‌ای، در دمای 400 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه در کوره حرارت‌دهی شدند تا آلودگی‌های آلی نیز از سطح شیشه حذف و سطح آن‌ها آب‌دوست شوند. بسترهای انعطاف پذیر به وسیله چسبی که دارند، بر روی بسترهای شیشه‌ای جهت اندازه‌گیری و حمل راحت‌تر چسبانده شدند تا حسگر زیستی SERS آماده شود. به هدف آشکار سازی آفت کش متیل پاراتیون، ابتدا غلظت 1 M از آن با استفاده از با حلال آب بدون یون (DI) ساخته شد و سپس غلظت‌های 10^{-2} ، 10^{-3} ، 10^{-4} و 10^{-6} مولار با استفاده از آن تهیه شد. جهت تشخیص متیل پاراتیون روی میوه سیب (خریداری شده از سوپرمارکت محل)، ابتدا میوه‌های سیب به صورت کامل با آب DI شسته شدند. سپس در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند تا به صورت کامل خشک شوند. در ادامه، غلظت‌های مختلف تهیه شده از آفت کش متیل پاراتیون به صورت جداگانه روی هر کدام از میوه‌ها با استفاده از دستگاه اسپری پخش شد و به مدت 1 ساعت در محیط آزمایشگاه خشک شدند، پس از خشک شدن، قطعه کوچکی با حدود $2\text{cm} \times 2\text{cm}$ از پوست نمونه‌ها برش داده شد و به مدت 10 ثانیه روی حسگر زیستی SERS فشار داده شدند و در ادامه طیف رامان و SERS نمونه‌های ساخته شده بررسی شدند. (شکل ۱) طرح‌واره‌ای از بستر



شکل ۱: طرح‌واره‌ای از ساخت بستر انعطاف پذیر پلاسما مونیکی فعال در SERS با پوشش دهی چسب دو طرفه با نانوذرات طلای ساخته شده و نحوه قرار دادن آفت کش متیل پاراتیون از سطح پوست میوه (سیب) با چسباندن بستر انعطاف پذیر پلاسما مونیکی روی محصول آغشته به متیل پاراتیون جهت آشکار سازی آن

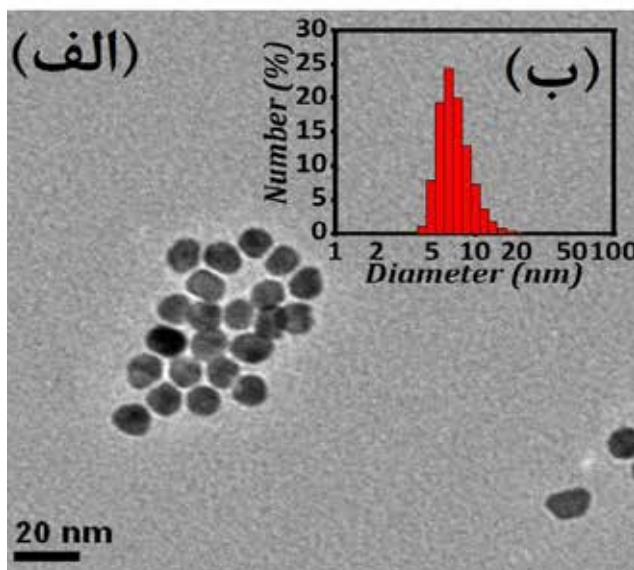
است. با استفاده از طیف‌سنجی زیرقرمز و طیف‌سنجی رامان که هر دو طیف‌سنجی اثر انگشتی محسوب می‌شوند و ارتعاش‌های مولکولی ماده را بررسی می‌کنند، می‌توان مواد و آنالیت‌های بیولوژیکی و سموم را شناسایی کرد [۱۱ و ۱۲]. در طیف‌سنجی زیرقرمز به دلیل فعال بودن ارتعاش‌های مولکولی آب، شناسایی گونه‌های زیستی دشوار است و حساسیت آشکار سازی‌های آن نیز پایین است. در طیف‌سنجی رامان نیز به دلیل ضعیف بودن ذاتی سیگنال حاصل از پراکندگی رامان، مطالعه مولکول‌ها با غلظت‌های اندک عملاً امکان پذیر نیست [۱۳]. یکی از روش‌هایی که می‌توان سیگنال رامان را بهبود داد، استفاده از نانو ساختارهای فلزی است که به دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی می‌توانند میدان الکتریکی قوی را در نزدیک نانو ساختارها ایجاد کنند یا با افزایش میزان پراکندگی نور از این نانو ساختارها، سیگنال پراکندگی را به طور مؤثر بهبود می‌دهند که به دنبال آن ارتعاش‌های مولکولی با سیگنال بهتر و بیشتری مشاهده خواهند شد. این روش طیف‌سنجی رامان بهبود یافته سطحی (SERS) نام دارد که یک روش حساس و انتخابی است که نتیجه آن بهبود پراکندگی رامان مولکول‌هایی است که بر روی ساختارهای فلزی جذب سطحی شده‌اند [۱۴]. در واقع، با تابش نور (لیزر) به سطح ناصاف فلزی، در اثر تشدید پلاسمون‌های سطحی نانو ساختارهای فلزی به وسیله میدان الکترومغناطیسی لیزر، میدان‌های الکتریکی بهبود یافته در اطراف فلز ایجاد می‌شود [۱۵ و ۱۶]، گویی میدان الکتریکی حاصل از تابش نور لیزر تقویت شده است. بنابراین، مولکولی که در این میدان الکتریکی بهبود یافته قرار می‌گیرد، بیشتر قطبیده می‌شود و در نتیجه سیگنال رامان آن بهبود می‌یابد [۱۷]. در این روش، هنگامی که آنالیت‌های مورد مطالعه در نزدیک سطح فلز قرار می‌گیرند یا به طور فیزیکی جذب نانوذرات فلزی می‌شوند، به علت برهم کنش آنالیت‌ها و پلاسمون‌های سطحی فلز، شدت سیگنال رامان افزایش می‌یابد و بدین ترتیب SERS می‌تواند برای تشخیص سریع و دقیق آنالیت‌های میکروبیولوژیکی و آفت کش‌ها استفاده شود. در این مطالعه به هدف طراحی و ساخت حسگر ساده با سرعت تشخیص بالا، حساسیت، گزینش پذیری، تکرار پذیری و عدم نیاز به تجهیزات پیچیده، ابتدا نانوذرات طلا با استفاده از روش ساده شیمیایی با عامل کاهنده تری سدیم سیترات ساخته شدند و سپس بر روی بسترهای چسب‌های دوطرفه قرار گرفتند تا بسترهای انعطاف پذیر پوشش داده شده با طلا به عنوان بسترهای فعال در SERS برای تشخیص و تعیین غیرمخرب باقی ماندن سم متیل پاراتیون موجود محصولات کشاورزی استفاده شود.

روش بررسی

روش ساخت بسترهای انعطاف پذیر پلاسما مونیکی

ابتدا به منظور ساخت نانوذرات طلا به 20 میلی لیتر محلول 1 mM نمک طلای HAuCl_4 در حال جوش و هم‌خوردن، 2 میلی لیتر محلول $38/8\text{ mM}$ از محلول تری سدیم سیترات دوآبه ($\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)

را نشان می‌دهد. قله تشدید پلاسمونی در طول موج ۶۲۳ نانومتر حضور نانو ساختارهای طلا را بر روی بسترهای انعطاف‌پذیر چسب دوطرفه شفاف نشان می‌دهد. مشاهده یک قله جذبی در طیف‌های جذبی نانوذرات پلاسمونیک مانند طلا و نقره بیانگر کروی یا شبه کروی بودن نانوذرات است [۱۹] که در تصاویر TEM نیز کروی بودن ذرات مشاهده شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با نشان دادن نانوذرات طلا بر روی بسترهای انعطاف‌پذیر، با تغییر محیط دربردارنده این ذرات که از آب به فصل مشترک هوا و چسب، قله پلاسمونی جابه‌جایی را تجربه می‌کند و ارتفاع آن کاهش و پهنای قله نیز افزایش می‌یابد. افزایش پهنای قله پلاسمونی می‌تواند به دلیل تجمع نانوذرات و تشکیل ذرات بزرگ‌تر بر روی سطح باشد [۲۰]. برخلاف محلول کلئیدی پایدار که نانوذرات طلا در داخل محلول آبی پراکنده هستند و به فاصله‌های مشخصی از یکدیگر قرار دارند، با قرار گرفتن نانوذرات طلا روی سطح، حین خشک شدن، ذرات در مجاورت یکدیگر قرار می‌گیرند و کلوخه‌هایی متشکل از چندین نانوذره روی سطح شکل می‌گیرد به گونه‌ای که می‌توان این کلوخه‌ها را ذرات بزرگ‌تری در نظر گرفت که منجر به افزایش پهنای طیف می‌شود [۲۰]. این که زمینه طیف خاموشی (طیف جذب + طیف پراکندگی) بستر پلاسمونیک در مقایسه با طیف جذب محلول کلئیدی در مقادیر بالاتری رخ داده است، ناشی از بازتاب و پراکندگی نور از سطح بسترهای انعطاف‌پذیر است. شکل ۳-ج، الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات طلا است که با مشاهده بزرگ‌ترین و اصلی‌ترین قله‌ها در زاویه 2θ برابر با 38.38° ، 45.52° ، 64.89° و 77.83° درجه که به ترتیب مربوط به صفحات بلوری (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) است، ساختار FCC طلا را تأیید می‌کند.



شکل ۴: (الف)، تصویر TEM نانوذرات طلا، ساخته شده به روش شیمیایی و با عامل کاهنده محلول تری سدیم سیترات دوآبه و (ب)، نمودار توزیع اندازه نانوذرات طلا که با استفاده از DLS اندازه‌گیری شده است.

انعطاف‌پذیر پلاسمونیک زیستی SERS و نحوه خارج‌سازی آفت‌کش متیل‌پاراتیون از سطح پوست میوه (سیب) جهت آشکارسازی ماده آفت‌کش متیل‌پاراتیون را نشان می‌دهد که با تابش نور لیزر با طول موج ۷۸۵ نانومتر، سیگنال نور رامان پراکنده شده اندازه‌گیری می‌شود. در ادامه، روش ساخت حسگر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک زیستی، قرار دادن آفت‌کش متیل‌پاراتیون روی آن و نتایج طیف رامان ارائه می‌شود.

مشخصه‌یابی

دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، زایس مدل EM900، دستگاه پراکندگی دینامیکی نور (DLS)، مدل Zetasizer Nano-ZS ساخت شرکت مالورن-انگلستان، طیف‌سنجی UV-Vis و الگوی پراش پرتوی X پودر طلا به ترتیب به وسیله دستگاه Perkin-Elmer مدل Lambda25 و دستگاه X Pert-Pro ساخت شرکت Panalytical کشور هلند، با پرتوی تک‌فام Cu K α با طول موج 0.154 نانومتر، جریان 40 میلی‌آمپر و با ولتاژ 40 کیلوولت در دمای اتاق انجام شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FESEM) به وسیله دستگاه Hitachi مدل S4160 و تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) نمونه‌ها نیز با استفاده از دستگاه شرکت نانوسیستم پارس ساخت ایران بررسی شد. دستگاه طیف‌سنجی رامان دستگاه رمان Metrohm Raman مدل MIRA ساخت شرکت متروم با تابش نور لیزر Nd:YAG، با طول موج ۷۸۵ نانومتر و توان خروجی قابل تنظیم 75 میلی‌وات برای اندازه‌گیری طیف رامان و طیف SERS نمونه‌ها استفاده شد.

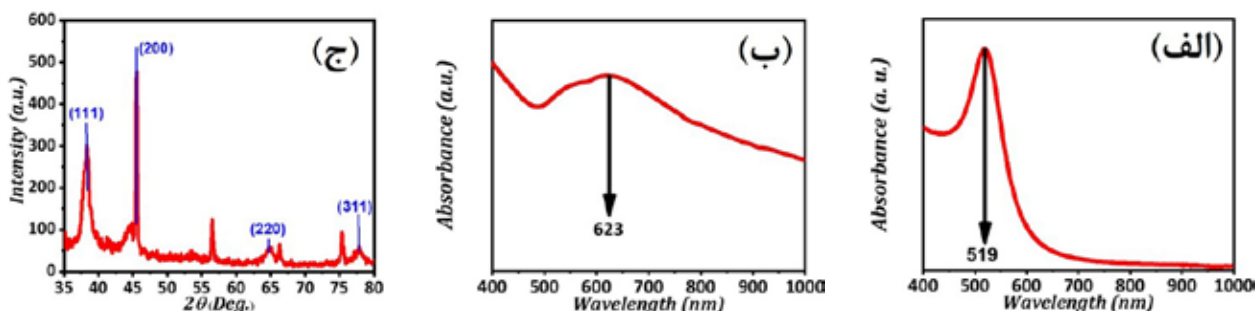
یافته‌ها

تصویر TEM و توزیع اندازه نانوذرات طلا اندازه‌گیری شده به وسیله آنالیز DLS

شکل ۲-الف، تصویر نانوذرات طلا ساخته شده در حضور عامل کاهنده تری سدیم سیترات دوآبه را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان می‌دهد. همان‌طور که در تصویر مشخص است، نانوذرات طلا به شکل کروی و شبه کروی هستند که به طور متوسط اندازه 15 نانومتر دارند. شکل ۲-ب، توزیع اندازه ذرات طلا را نشان می‌دهد که اندازه‌های بین 4 تا 30 نانومتر دارند و تعداد ذرات با اندازه 6 و 7 نانومتر بیشتر از سایر اندازه‌های نانوذرات است.

طیف جذب محلول کلئیدی طلا، طیف خاموشی بستر پلاسمونیک و الگوی XRD نانوذرات طلا

شکل ۳-الف، طیف جذب نانوذرات طلا ساخته شده به روش شیمیایی با عامل کاهنده تری سدیم سیترات دوآبه را نشان می‌دهد. ظاهر شدن قله تشدید پلاسمونی در 519 نانومتر، تشکیل نانوذرات طلا را تأیید می‌کند [۱۸]. شکل ۳-ب، طیف جذب بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک



شکل ۲: (الف)، طیف جذب محلول کلونیدی شامل نانوذرات طلا با بیشینه جذب در طول موج ۵۱۹ نانومتر، (ب)، طیف خاموشی بستر انعطاف پذیر پلاسماونیک با بیشینه جذب در طول موج ۶۲۳ نانومتر و (ج)، الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات طلا

تصویر FESEM بستر انعطاف پذیر پلاسماونیک

در شکل ۴-الف تصویر FESEM بسترهای انعطاف پذیر (چسب دوطرفه) مشاهده می شود که پوششی یکنواخت روی آن مشاهده می شود. شکل ۴-ب، تصویر بسترهای انعطاف پذیر پلاسماونیک را نشان می دهد. ترک هایی که مشاهده می شود ناشی از خشک شدن لایه ای است که به روش قطره چکانی روی چسب دوطرفه قرار داده شده است که به علت فرآیند تبخیر آب ایجاد می شوند. در مرز ترک ها، نانوساختارهای طلا که به صورت کلوخه هایی از نانوذرات طلا هستند، مشاهده می شود. ترک ها می توانند مراکز برای پراکندگی نور باشند. نانوذرات پلاسماونیک کوچک تر میدان های الکتریکی نزدیک قابل توجهی ایجاد می کنند که حاصل تشدید پلاسماون های سطحی طلا است و نانوذرات بزرگ تر، میدان های الکتریکی نزدیک ناچیز دارند و نور تابیده شده به آن ها از سطح آن ها پراکنده می شود یا میدان الکتریکی دور را تقویت می کنند [۲۱ و ۲۲].

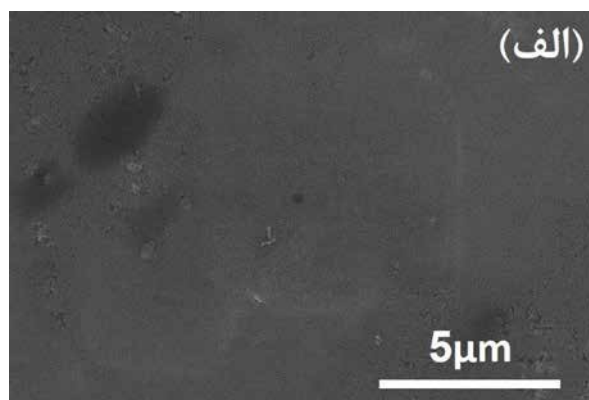
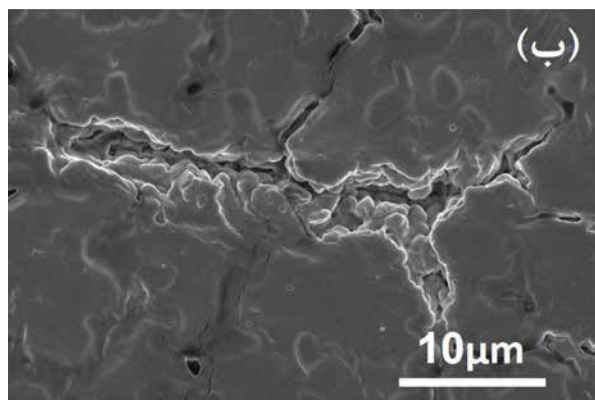
تصویر AFM بستر انعطاف پذیر پلاسماونیک

شکل ۵-الف و ب، به ترتیب تصویر AFM دوبعدی و سه بعدی بسترهای انعطاف پذیر پلاسماونیک را نشان می دهد. با استفاده از نرم افزار Image Plus، (نسخه ۲.۹) میانگین زبری ۲۳/۶ نانومتر، میانگین مرتفع ترین زبری ۸۸/۸ نانومتر و میانگین عمیق ترین زبری ۱۶/۹ به دست

آمد. زبری سطحی که به وسیله نانوذرات طلا روی بسترهای انعطاف پذیر ایجاد شده است، می تواند مرکزی برای پراکندگی نور باشد و باعث تقویت سیگنال رامان شود [۱۹].

طیف رامان و آشکارسازی آفت کش متیل پاراتیون

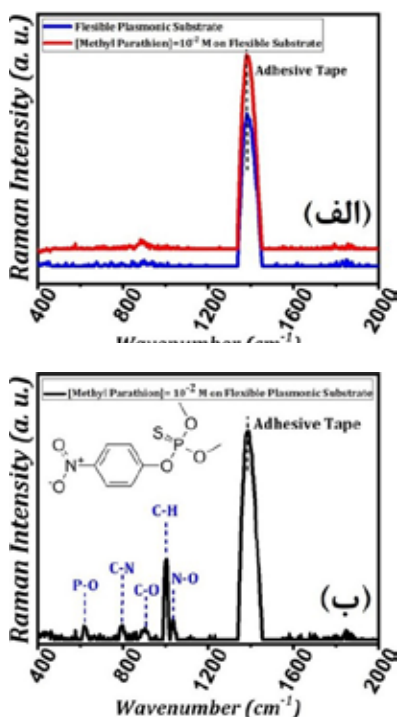
طیف رامان بستر انعطاف پذیر پلاسماونیک (چسب دوطرفه پوشیده شده با نانوذرات طلا (و طیف رامان آفت کش متیل پاراتیون با غلظت ۱۰^{-۲} مولار بر روی بستر انعطاف پذیر (چسب دوطرفه بدون پوشش طلا) به ترتیب با منحنی آبی و قرمز در شکل ۶-الف مشاهده می شوند. در هر دو منحنی، قله تیز و بزرگی که در حدود ۱۴۰۰ cm^{-1} مشاهده می شود مربوط به ارتعاش های مولکولی مواد سازنده چسب است. از آن جایی که برای شناسایی غلظت های مختلف متیل پاراتیون، بسترهای انعطاف پذیر پلاسماونیک (منحنی آبی) به کار برده می شود، این منحنی به صورت پس زمینه در طیف SERS غلظت های مختلف متیل پاراتیون مشاهده خواهد شد. چنانچه متیل پاراتیون بر روی بستر انعطاف پذیر غیر پلاسماونیک قرار داده شود، در طیف رامان آن (منحنی قرمز شکل ۶-الف)، ارتعاش های مولکولی واضحی مشاهده نمی شود اما، با قرار دادن ۱۰^{-۲} مولار متیل پاراتیون بر روی بستر انعطاف پذیر پلاسماونیک، ارتعاش های مولکولی آن در طیف SERS مشاهده می شود (شکل ۶-ب). بنابراین عملاً شناسایی آفت کش



شکل ۴: تصویر FESEM (الف) بسترهای انعطاف پذیر (چسب دوطرفه شفاف) و (ب) بستر انعطاف پذیر پلاسماونیک که به روش قطره چکانی محلول کلونیدی نقره بر روی چسب دوطرفه ساخته شده اند.

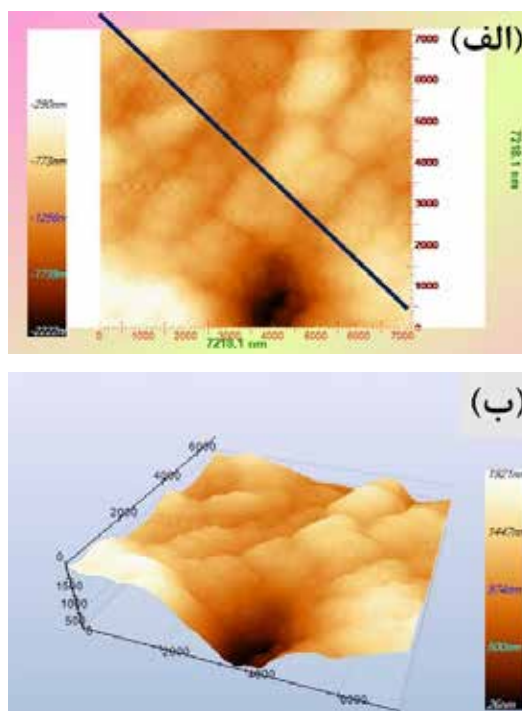
شکل ۷، طیف SERS، آفت کش متیل پاراتیون با غلظت های ۱۰^{-۳}، ۱۰^{-۴}، ۱۰^{-۵} و ۱۰^{-۶} مولار لایه نشانی بر روی بستر انعطاف پذیر پلاسمونیک را نشان می دهد. با کاهش غلظت آفت کش متیل پاراتیون، شدت قله های ارتعاش های مولکولی آن کاهش می یابد که به دلیل کاهش تعداد مولکول های آفت کش متیل پاراتیون و در نتیجه کاهش تعداد ارتعاش های مولکولی آن است به گونه ای که در غلظت های کمتر از ۱۰^{-۵} مولار، ارتعاش های خمشی C-H به راحتی قابل مشاهده نیستند. بنابراین بستر انعطاف پذیر پلاسمونیک معرفی شده می تواند تا غلظت ۱۰^{-۵} مولار از آفت کش متیل پاراتیون را شناسایی کند.

شکل ۸، منحنی کالیبراسیون است که منحنی تغییرات شدت قوی ترین سیگنال SERS یعنی ارتعاش مولکولی C-H در عدد موج ۱۰۰۱ cm⁻¹ را بر حسب تغییرات لگاریتمی غلظت متیل پاراتیون، C، نشان می دهد که با برازش انجام شده از رابطه $I = ۸۵۱/۶ C + ۵۰۵۷/۲$ ($R^2 = ۰/۹۷$) پیروی می کند رابطه خطی است و ضریب رگرسیون (R^2) آن برابر با ۰/۹۷ است. از آنجا که هدف از ساخت حسگر زیستی SERS، آشکارسازی غلظت بسیار پایین در نمونه های بیولوژیکی و محیطی است، خطی بودن منحنی کالیبراسیون غلظت های پایین از اهمیت بیشتری برخوردار است که در این مطالعه قابل مشاهده است و می توان با استفاده از این نمودار با مشاهده شدت قله ارتعاشی مولکول C-H در طیف رامان، غلظت آن را به دست آورد.



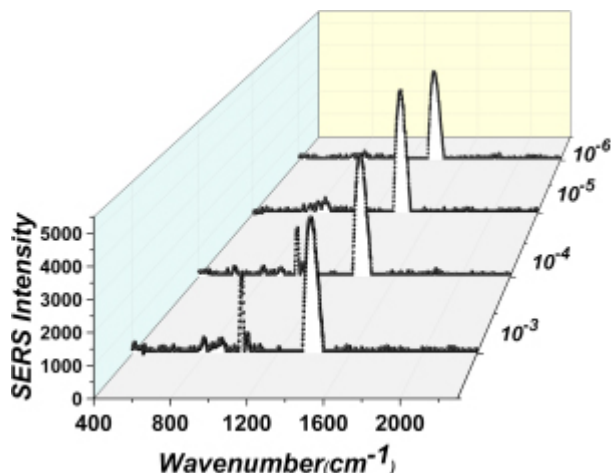
شکل ۶: طیف رامان (الف)، بستر انعطاف پذیر پلاسمونیک و آفت کش متیل پاراتیون با غلظت ۱۰^{-۲} مولار لایه نشانی شده بر روی بستر انعطاف پذیر غیر پلاسمونیک، (ب)، آفت کش متیل پاراتیون با غلظت ۱۰^{-۲} مولار لایه نشانی بر روی بستر انعطاف پذیر پلاسمونیک

متیل پاراتیون با غلظت ۱۰^{-۲} مولار و با استفاده از طیف سنجی رامان و به کار نگرفتن بسترهای پلاسمونیک امکان پذیر نیست. ارتعاش های مولکولی و ساختار مولکولی آفت کش متیل پاراتیون نیز در شکل ۶-ب نمایش داده شده است. ارتعاش های کششی P-O، خمشی C-N، کششی C-O، خمشی C-H و کششی N-O به ترتیب در ۶۱۹، ۷۹۷، ۹۰۵، ۱۰۰۱ و ۱۰۳۵ cm⁻¹ ظاهر می شوند [۲۳]. معمولاً در دماهای پایین، با از بین رفتن افت و خیزهای حرارتی، ارتعاش هایی که به خصوص در عدد موج های کمتر اتفاق می افتند نیز قابل آشکارسازی می شوند [۲۴]. بنابراین به این دلیل که طیف سنجی در دمای اتاق انجام شده است، بهبود طیف رامان و در نتیجه مشاهده ارتعاش های مولکولی آفت کش متیل پاراتیون به دلیل اثر میدان الکتریکی قوی در اطراف نانوذرات و پراکندگی نور از ترک ها و زبری که روی پوشش طلا ایجاد شده است، می باشد. با تابش نور لیزر، تشدید پلاسمون های سطحی اتفاق می افتد و نوسان الکترون های آزاد فلز، میدان های الکتریکی قوی در نواحی کوچکی در اطراف نانوذرات ایجاد می کند. بنابراین نانوذرات به مانند لنز نوری عمل می کنند و نور لیزر فرودی را در فضای کوچکی اطراف خود متمرکز می کنند و شدت میدان الکتریکی در نزدیکی نانوذرات افزایش می یابد و با قرارگیری آفت کش متیل پاراتیون در اطراف نانوذرات، این ماده چگالی انرژی الکتریکی بسیاری را دریافت می کند و قطبیده تر می شود و در نتیجه ارتعاش های مولکولی آن تقویت می شود و شاهد سیگنال های ارتعاشی با شدت بالاتر هستیم [۲۵ و ۲۶].

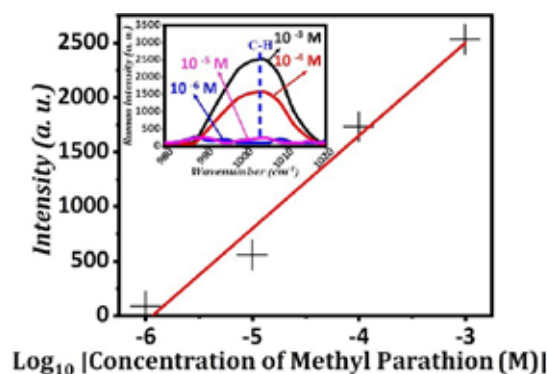


شکل ۵: تصاویر AFM، (الف)، دوبعدی و (ب)، سه بعدی بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک

طلا بر روی بسترهای انعطاف پذیر یا همان چسب دوطرفه شفاف لایه نشانی شدند و این بسترها به عنوان بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک جهت آشکارسازی آفت کش متیل پاراتیون بر روی سطوح میوه سیب استفاده شدند. از ویژگی این بسترها این است که برداشت سموم و قرار دادن آن بر روی بستر انعطاف پذیر پلاسمونیک به طور هم زمان انجام می شود. با کاهش غلظت آفت کش متیل پاراتیون قرارداده شده بر روی میوه سیب، سیگنال رامان آن نیز کاهش می یابد که بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک قادر به شناسایی متیل پاراتیون تا غلظت 10^{-6} مولار هستند. بهبود سیگنال رامان متیل پاراتیون ناشی از تشدید پلاسمون های سطحی نانوذرات طلا که با دریافت نور لیزر فرودی، نور را در منطقه کوچکی در اطراف خود متمرکز می کنند و با قرارگیری آفت کش متیل پاراتیون در این مناطق و در نتیجه به دلیل دریافت میدان الکتریکی قوی تر و یا رسیدن نور حاصل از پراکندگی از نقاط زبر پوشش طلا یا ترک های این پوشش، مولکول های سازنده متیل پاراتیون قطبیده تر می شوند و در نتیجه ارتعاش های شدیدتری ظاهر می شوند. هر چند بسترهای انعطاف پذیر توانایی شناسایی از مزایای بستر انعطاف پذیر پلاسمونیک معرفی شده، استفاده آسان و توانایی تشخیص سریع غلظت های اندک است که برای ساخت آن نیز هزینه چندان کمی نیست و با آن ها می توان انواع سموم، پاتوژن های موجود در مواد غذایی و مواد بیولوژیکی را شناسایی کرد.



شکل ۷: طیف SERS آفت کش متیل پاراتیون با غلظت های 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-5} ، 10^{-6} و 10^{-6} مولار لایه نشانی بر روی بستر انعطاف پذیر پلاسمونیک



شکل ۸: منحنی کالیبراسیون تغییرات شدت، A. قوی ترین سیگنال SERS مربوط به ارتعاش C-H در عدد موج 1001 cm^{-1} ، برحسب تغییرات لگاریتمی غلظت آفت کش متیل پاراتیون، C. داخل شکل همان طیف SERS نمایش داده شده در شکل ۷ برای غلظت های مختلف (منحنی مشکی) 10^{-3} مولار، (منحنی قرمز) 10^{-4} مولار، (منحنی صورتی) 10^{-5} مولار و (منحنی آبی) 10^{-6} مولار از آفت کش متیل پاراتیون قرارداده شده بر روی بستر انعطاف پذیر پلاسمونیک است که فقط در بازه $980-1020 \text{ cm}^{-1}$ نمایش داده شده است.

نتیجه گیری

به منظور شناسایی و کنترل بیماری های متعدد ناشی از آفت کش متیل پاراتیون، تشخیص آفت کش متیل پاراتیون بر روی سطوح محصولات کشاورزی دارای اهمیت است. روش طیف سنجی رامان روشی غیرمخرب برای شناسایی مولکول ها است اما به دلیل ضعیف بودن سیگنال رامان، عملاً شناسایی غلظت های اندک از مولکول ها امکان پذیر نیست. با قرار دادن آفت کش متیل پاراتیون در معرض تشدید پلاسمون های سطحی نانوذرات فلزی مانند طلا و همچنین نور پراکنده شده از ذرات بزرگ فلزی، می توان سیگنال رامان را بهبود داد. بنابراین ابتدا نانوذرات طلا با استفاده از احیای شیمیایی نمک طلا ساخته شدند و در ادامه با به کارگیری روش قطره چکان که روشی ساده، سریع و ارزان است، در دمای اتاق، نانوذرات

References:

- Pablos Espada MC, Arrebola-Liebnas FJ, Garrido-Frenich A. Analysis of Pesticides in Water Samples Using GC-ECD and GC-MS/MS Techniques. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 1999; 75: 165-79.
- Lee D, Lee S, Seong GH. Quantitative Analysis of Methyl Parathion Pesticides in a Polydimethylsiloxane Microfluidic Channel Using Confocal Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*. 2006; 60: 373-7.
- Patsias J, Papadopoulou-Mourkidou EJ. Rapid method for the analysis of a variety of chemical classes of pesticides in surface and ground waters by off-line solid-phase extraction and gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 1996; 740: 83-98.
- Goncalves C, Alpendurada MF. Solid-phase micro-extraction–gaschromatography–(tandem) mass spectrometry as a tool for pesticide residue analysis in water samples at high sensitivity and selectivity with confirmation capabilities. *Journal of Chromatography*. 2004; 1020: 239-50.
- Papadopoulou-Mourkidou E, Patsias JJ. Development of asemi-automated high-performance liquid chromatographic-diode array detection system for screening pesticides at trace levels in aquatic systems of the Axios River basin. *Journal of Chromatography*. 1996; 726: 99-113.
- Naidu UV, Gangaiah T, Ramadevi P. Photometric determination of malathion with molybdenum. *Talanta*. 1990; 37: 761-2.
- Hart AL, Collier WA, Janssen D. The response of screen-printed enzyme electrodes containing cholinesterases to organophosphates in solution and from commercial formulations. *Biosensors and Bioelectronics*. 1997; 12: 645-54.
- Skoulika SG, Georgiou CA. Univariate and Multivariate Calibration for the Quantitative Determination of Methylparathion in Pesticide Formulations by FT-Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*. 2000; 54: 747-52.
- Sato-Berru RY, Medina-Valtierra J, Medina Gutierrez C. Quantitative NIR–Raman analysis of methyl-parathion pesticide microdroplets on aluminum substrates. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2004; 60: 2231-4.
- Alak-Ala M, Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman spectrometry of organo phosphorus chemical agents. *ACS Publication Analytical Chemistry*. 1987; 59: 2149-53.
- Ivanov AN, Evtugin GA, Brainina KZ. Cholinesterase Sensors Based on Thick-Film Graphite Electrodes for the Flow-Injection Determination of Organophosphorus Pesticides *Journal of Analytical Chemistry*. 2002; 57: 1042-8.
- Alizadeh T. High Selective Parathion Voltammetric Sensor Development by Using an Acrylic Based Molecularly Imprinted Polymer-Carbon Paste Electrode. *Electroanalysis*. 2009; 21: 1490-8.
- Duan N, Chang B, Zhang H. Salmonella typhimurium detection using a surface-enhanced Raman scattering-based aptasensor. *International Journal Food Microbiology*. 2016; 218: 38-43.
- Wang LR, 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.
- Ren B, Liu GK, Lian XB. Raman spectroscopy on transition metals. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2007; 388: 29-45.
- Matricardi C, Hanske C, Garcia-Pomar JL. Gold Nanoparticle Plasmonic Superlattices as Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Substrates. *ACS Nano*. 2018; 12: 8531-9.
- Lin KQ, Yi J, Hu S, Liu BJ. Size effect on SERS of gold nanorods demonstrated via single nanoparticle spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2016; 120: 20806-13.
- Ngumbi PK, Mugo SW, Ngaruiya JM. Determination of Gold Nanoparticles Sizes via Surface Plasmon Resonance. *IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*. 2018; 11: 25–9.
- Tarik Baytekin H, Baytekin B, Huda S. Mechanochemical Activation and Patterning of an Adhesive Surface toward Nanoparticle Deposition. *Journal of the American Chemical Society*. 2015; 137: 1726-9.
- Bohren CF, Huffman DR. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, 306. Wiley: New York. 1983: 625.
- Wang LR, 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.
- Canameres MV, Garcia-Ramos JV, Sanchez-Cortes S. 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.
- Lee D, Lee S, Seong G. Quantitative Analysis of Methyl Parathion Pesticides in a Polydimethylsiloxane Microfluidic Channel Using Confocal Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *APPLIED SPECTROSCOPY*. 2006; 60: 373-7.
- Surovtsev NV, Adichtchev SV, Malinovsky VK. Glycine phases formed from frozen aqueous solutions: Revisited. *THE JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS*. 2012; 137: 065103.
- Chen HY, Lin MH, Wang CY. Large-scale hot spot engineering for quantitative SERS at the single-molecule scale. *Journal of the American Chemical Society*. 2015; 137: 13698-705.
- Granger JH, Schlotter NE, Crawford AC. Prospects for point-of-care pathogen diagnostics using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Chemical Society Reviews*. 2016; 45: 3665-82.