لیزر در پزشکی ۱۴۰۱/ دوره ۱۹ / شماره (۱) / صفحات ۳۲-۲۵.

مقاله پژوهشی

حسگر پلاسمونیکی برای شناسایی و تعیین غلظت باکتری بیماری‌زای اشریشیا کلی

وحید اسکندری[۱]
نفیسه شریفی[۲]*

۱. کارشناس ارشد، پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان ۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳ کاشان، ایران

۲- استادیار، گروه فوتونیک و پلاسما، دانشکده فیزیک و پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان ۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳ کاشان، ایران

.
.

نویسندهٔ‌مسئول: نفیسه شریفی
پست الکترونیکی:
sharifi@kashanu.ac.ir

شماره تماس: ۰۳۱۵۵۹۱۳۲۲۰

خلاصه

مقدمه: روش طیف‌سنجی رامان بهبود یافته سطحی (SERS)، یکی از روش‌های کارآمد برای شناسایی مقادیر اندک و حتی شناسایی تک مولکول است. با قرارگرفتن گونه‌های مختلف در نزدیکی سطح فلز و یا جذب فیزیکی گونه‌ها بر روی نانوساختارهای فلزی، به علت برهم‌کنش گونه‌ها و پلاسمون‌های سطحی نقره، شدت سیگنال رامان افزایش می‌یابد. باکتری اشریشیا کلی، در بسیاری از مواد غذایی یافت می‌شود و به راحتی می‌تواند رشد کند. بنابراین، کنترل باکتری اشریشیا کلی در صنایع غذایی و کشاورزی مورد توجه است که برای شناسایی این باکتری می‌توان استفاده از تکنیک SERS را که نسبت‌به سایر تکنیک‌هایی به‌کار گرفته می‌شوند؛ ساده و ارزان است؛ پیشنهاد کرد. ازآن‌جایی‌که نانوساختارهای نقره به‌دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی و پراکندگی نور، سیگنال رامان حاصل از مولکول‌های مختلف را بهبود می‌دهد؛ در این تحقیق، بسترهای نقره‌اندود به هدف ساخت حسگر پلاسمونیکی برای آشکارسازی غلظت‌های مختلف باکتری اشریشیا کلی ساخته و مطالعه شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، به هدف ساخت حسگر پلاسمونیکی، بسترهای نقره‌اندود به روش ساده شیمیایی ساخته شدند و با استفاده از بسترهای نقره‌اندود و طیف‌سنجی رامان که تکنیکی غیرمخرب است، آشکارسازی باکتری اشریشیا کلی انجام شد.

یافته‌ها: قله پلاسمونی حدود۴۱۰ نانومتر تشکیل نانوذرات نقره را تایید کرد. براساس تصویر میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FESEM)، تعداد زیادی از ذرات بسترهای نقره‌اندود، اندازه بین ۱۴۰۰ تا ۱۵۰۰ نانومتر دارند. هرچند ذرات کوچکتر تا اندازه حدود ۱۰۰ نانومتر و ذرات بزرگتر تا اندازه حدود ۱۷۰۰ نیز در تصویر FESEM مشاهده می‌شود. زبری بسترهای نقره‌اندود که حاصل از یکنواخت‌نبودن پوشش نقره است منجربه پراکندگی نور از بستر نقره‌اندود می‌شود. تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات نقره و پراکندگی نور از ذرات نقره کلوخه‌شده بزرگتر، ارتعاش‌های مولکولی باکتری اشریشیا کلی را تقویت می‌کنند. با کالیبراسیون شدت ارتعاش‌های مولکولی برحسب غلظت باکتری، رابطه خطی به دست آمد که از روی آن می‌توان با اندازه‌گیری طیف SERS باکتری به غلظت آن پی برد.

نتیجه‌گیری: در طیف‌سنجی رامان به دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات نقره و پراکندگی نور از ذرات نقره بزرگتر سیگنال رامان حاصل از باکتری اشریشیا کلی بهبود می‌یابد. با کاهش غلظت باکتری، به‌دلیل کاهش تعداد ارتعاش‌های مولکولی سیگنال‌های SERS نیز تضعیف می‌شود که با استفاده از این بسترهای نقره‌اندود، شناسایی، آشکارسازی سریع و راحت باکتری اشریشیا کلی تا غلظت 10^{2} $cfumL^{-1}$ قابل انجام است.درضمن، با کالیبراسیون، استفاده از بسترهای نقره‌اندود و طیف سنجی رامان، می توان غلظت باکتری اشریشیا کلی را به‌دست آورد.

واژه‌های کلیدی: باکتری اشریشیا کلی، نانوذرات نقره، بسترهای نقره‌اندود، حسگر پلاسمونیکی، طیف‌سنجی رامان.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-25]

مقدمه

باکتری اشریشیا کلی (Escherichia coli) در بسیاری از مواد غذایی یافت می‌شود و در شرایط محیطی نامناسب نیز نه تنها می‌تواند زنده بماند که به راحتی می‌تواند رشد کند .بنابراین کنترل باکتری اشریشیا کلی در صنعت کشاورزی، غذا و صنایع فرآوری همواره مسئله‌ساز است و شناسایی و تشخیص مقادیر بسیار اندک آن مورد توجه قرار دارد [۲،۱]. درحال‌حاضر، برای تعیین مقدار باکتری اشریشیا کلی روش‌های متعددی مانند PCR[1] [1] ، ELISA[2] [1]، کروماتوگرافی گازی[3] و اسپکترومتری جرم[4] [٤-۳]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [(HPLC[5])۵] و طیف‌سنجی تبدیل فوریه رامان (FT-Raman[6]) [٦، ۷، ۸] به‌کار برده می‌شود. این روش‌ها، روش‌هایی مخرب، دشوار، آلاینده، درون آزمایشگاهی، و نیازمند آماده‌سازی نمونه، نیروی متخصص آموزش‌دیده، آزمایشگاه‌های مجهز و صرف وقت و هزینه بسیار هستند. از این‌رو، توسعه یک روش غیرمخرب، با کاربری ساده، سریع، کم‌هزینه، ناآلاینده، با قابلیت حمل و کاربرد خارج از محیط آزمایشگاه و آماده‌سازی سریع‌تر نمونه بسیار ضروری است. از طرفی شناسایی و تشخیص مقادیر بسیار اندک از باکتری اشریشیا کلی نیز مورد توجه 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 را شناسایی کرد [۹، ۱۰]. در طیف‌سنجی زیرقرمز به دلیل فعال‌بودن ارتعاش‌های مولکولی آب، شناسایی باکتری اشریشیا کلی دشوار است و حساسیت آشکارسازهای آن نیز پایین است. در طیف‌سنجی رامان نیز به‌دلیل ضعیف‌بودن ذاتی سیگنال حاصل از پراکندگی رامان، مطالعه مولکول‌ها با غلظت‌های اندک، عملاً امکان‌پذیر نیست [۱۱]. یکی از روش‌هایی که می‌توان سیگنال رامان را بهبود داد استفاده از نانوساختارهای فلزی است که به‌دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی می‌توانند میدان الکتریکی قوی را در نزدیک نانوساختارها ایجاد کنند یا با افزایش میزان پراکندگی نور از این نانوساختارها، سیگنال پراکندگی را به‌طور موثر بهبود می‌دهند که به‌دنبال آن ارتعاش‌های مولکولی با سیگنال بهتر و بیشتری مشاهده خواهند شد. این روش طیف‌سنجی رامان بهبود یافته سطحی (SERS[7]) 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 [۱۲]. درواقع با تابش نور (لیزر) به سطح ناصاف فلزی، در اثر تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوساختارهای فلزی به‌وسیله میدان الکترومغناطیسی لیزر، میدان‌های الکتریکی بهبودیافته در اطراف فلز ایجاد می‌شود [۱۳، ۱٤]، گویی میدان الکتریکی حاصل از تابش نور لیزر تقویت شده است. بنابراین، مولکولی که در این میدان الکتریکی بهبودیافته قرار می‌گیرد؛ بیشتر قطبیده می‌شود و درنتیجه سیگنال رامان آن بهبود می‌یابد [۱۵].در این روش، هنگامی که آنالیت‌های بیولوژیکی مورد مطالعه در نزدیک سطح فلز قرار می‌گیرند یا به‌طور فیزیکی جذب نانوذرات فلزی می‌شوند، به علت برهم‌کنش آنالیت‌های بیولوژیکی و پلاسمون‌های سطحی فلز، شدت سیگنال رامان افزایش می‌یابد و بدین‌ترتیب SERS می‌تواند برای تشخیص سریع و دقیق آنالیت‌های بیولوژیکی استفاده شود. در این مطالعه به هدف طراحی و ساخت حسگر ساده با سرعت تشخیص بالا، حساسیت، گزینش‌پذیری، تکرارپذیری و عدم‌نیاز به تجهیزات پیچیده، ابتدا نانوذرات نقره با عامل کاهنده ساکاروز، با استفاده از روش ساده شیمیایی، بر روی زیرلایه‌های شیشه‌ای پوشش داده شدند تا بسترهای نقره‌اندود برای تشخیص و تعیین غیرمخرب باکتری اشریشیا کلی در غلظت‌های مختلف استفاده شود.

[1] Polymerase Chain Reaction
[2] Enzyme Linked Immunosorbent Assay
[3] Gas Chromatography
[4] Mass Spectroscopy
[5] High-performance Liquid Chromatography
[6] Fourier Transform Raman Methods (FT-Raman)
[7] Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-25]

روش بررسی

مواد و روش‌ها

۱- روش‌های ساخت و شناسایی

۱-۱-روش ساخت بسترهای نقره‌اندود

ابتدا قطعات شیشه‌ای با ابعاد۱cm×۲/۵cm پس از شستشو با شوینده و آب، با استون شستشو داده‌شدند که هم‌زمان از امواج فراصوت نیز برای تمیزکردن آنها استفاده شد. پس از خشک‌شدن این قطعات شیشه‌ای، در دمای ۴۰۰^{o}C به‌مدت۳۰ دقیقه در کوره حرارت‌دهی داده‌شدند تا آلودگی‌های آلی نیز از سطح شیشه حذف شوند و سطح آنها آب‌دوست شوند. در ادامه به‌منظور ساخت نانوذرات نقره، از روش شیمیایی تولنز استفاده شد که در روش تولنز از سه محلول آبی شامل (۱) ۱۲ میلی‌لیتر محلول نقره نیترات ۰/۱ مولار، (۲)۲۰ میلی‌لیتر محلول پتاس ۰/۰۵ مولار و (۳) ۱۰ میلی‌لیتر محلول ساکاروز ۰/۰۷ مولار استفاده می‌شود[۱۶]، با افزودن محلول ساکاروز بر روی محلول آمونیاکی نقره نیترات و پتاس با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد حاوی زیرلایه‌های شیشه‌ای در داخل ظرف حاوی محلول نانوذرات نقره، پس از گذشت حدود ۴ دقیقه، شیشه‌های نقره اندودشده داریم که در دمای آزمایشگاه خشک شدند و به‌عنوان بسترهای نقره‌اندود برای تشخیص و تعیین غلظت باکتری اشریشیاکلی استفاده شدند.

۱-۲- کشت و قراردادن باکتری اشریشیاکلی روی زیرلایه شیشه‌ای و بستر نقره‌اندود

بعد از کشت باکتری اشریشیا، جهت فعال‌سازی باکتری اشریشیا کلی ابتدا پودر نوترینت آگار (شرکت مرک آلمان) با آب بدون یون (DI) مخلوط‌شده و در دمای ۱۲۰^{0}C به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (شرکت ریحان طب مدل RT-۲) قرار داده شد تا باکتری‌ها فعال شوند. در ادامه مقداری کلنی باکتری در محیط کشت لیوفیلیزه در محیط TSB در دمای ۳۷^{0}C به مدت ۲۴ ساعت در اتوکلاو(شرکت ریحان طب مدل RT-۲) قرار داده شد تا باکتری‌ها رشد کنند. سپس با گلیسیرین استریل مخلوط و در لوله‌های اپندرف استریل در در دمای ۲۰^{0}C- نگهداری شدند. از کشت مادر، کشت ذخیره تهیه‌شده و در مراحل بعدی از کشت ذخیره باکتری اشریشیا کلی در غلظت‌های 10^{2}، 10^{3}، 10^{4}، 10^{5} و 10^{6} cfu mL^{-1} (colony-forming unit mL^{-1}) تهیه شد و از هرکدام ۱۰ mL روی زیرلایه‌های شیشه‌ای و بسترهای نقره‌اندود لایه‌نشانی شد و در دمای آزمایشگاه خشک شدند و در ادامه طیف رامان باکتری اشریشیا کلی، لایه‌نشانی‌شده روی زیرلایه‌های شیشه‌ای و طیفSERS باکتری اشریشیا کلی، لایه‌نشانی شده روی بسترهای نقره‌اندود اندازه‌گیری شدند.

۱-۳- مشخصه‌یابی

طیف‌سنجی UV-Vis محلول کلوئیدی نقره و بستر نقره‌اندود به‌وسیله دستگاه Perkin-Elmer مدلLambda25 در دمای اتاق انجام شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FESEM) به‌وسیله دستگاهHitachi مدل S4160 و تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) نمونه‌ها نیز با استفاده از دستگاه شرکت نانو سیستم پارس ساخت ایران بررسی شد. دستگاه طیف‌سنجی رامان دستگاه رامان Metrohm Raman مدل MIRA ساخت شرکت متروم با تابش نور لیزر Nd:YAG، با طول موج ۷۸۵ نانومتر و توان خروجی قابل تنظیم ۷۵ میلی‌وات برای اندازه‌گیری طیف رامان و طیف SERS نمونه‌ها استفاده شد.

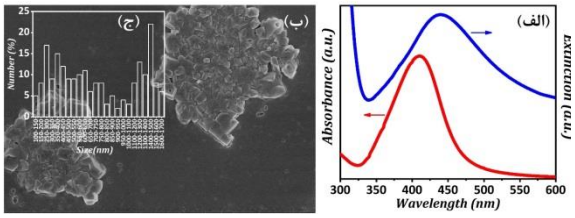
نتایج و بحث

۱- طیف جذب محلول کلوئیدی نقره؛ طیف خاموشی و تصویر SEM بسترهای نقره‌اندود

شکل ۱-الف (منحنی قرمز)، طیف جذب نانوذرات نقره ساخته‌شده به روش شیمیایی تولنز با عامل کاهنده ساکاروز را نشان می‌دهد. ظاهرشدن قله تشدید پلاسمونی در ۴۱۰ نانومتر تشکیل نانوذرات نقره را تائید می‌کند[۱۷]، مشاهده یک قله جذبی در طیف‌های جذبی نانوذراتی مانند نقره بیانگر شکل کروی یا شبه‌کروی نانوذرات است[۱۸]. شکل ۱-الف (منحنی آبی) طیف خاموشی بستر نقره‌اندود را نشان می‌دهد. همان‌طورکه مشاهده می‌شود با نشاندن نانوذرات نقره بر روی زیرلایه شیشه‌ای، قله تشدید پلاسمونی در ۴۳۹ نانومتر ظاهر می‌شود

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-25]

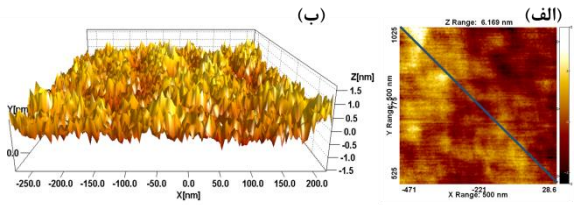
که نشان کلوخه‌شدن ذرات روی زیرلایه شیشه‌ای و تشکیل ذرات بزرگتر است. قله پلاسمونی به ضریب شکست محیط دربردارنده آنها وابسته است[۱۹]؛ پس با تغییر محیط در بردارنده نانوذرات نقره از آب به روی شیشه و داخل هوا؛ جابه‌جایی در طول موج قله پلاسمونی رخ می‌دهد و ارتفاع آن کاهش و پهنای قله نیز افزایش می‌یابد که به‌معنای افزایش توزیع اندازه ذرات است. برخلاف محلول کلوئیدی پایدار که نانوذرات در داخل محلول آبی پراکنده هستند و به فاصله‌های مشخصی از یکدیگر قرار دارند؛ با قرارگرفتن نانوذرات نقره روی زیرلایه‌های شیشه‌ای، حین خشک‌شدن، ذرات در مجاورت یکدیگر قرار می‌گیرند و کلوخه‌هایی متشکل از چندین نانوذره روی زیرلایه‌ها شکل می‌گیرد به‌گونه‌ای که می‌توان این کلوخه‌ها را ذرات بزرگتری در نظر گرفت که منجربه افزایش پهنای طیف می‌شود[۱۹]، کاهش شدت قله نیز ناشی از پراکندگی نور از ذرات کلوخه شده است[۱۹]. زمینه طیف خاموشی (طیف جذب + طیف پراکندگی) بسترهای نقره‌اندود، در مقایسه با طیف جذب محلول کلوئیدی در مقادیر بالاتری رخ داده است که ناشی از بازتاب و پراکندگی نور از سطح شیشه است. در شکل ۱- ب، تصویر FE-SEM بستر نقره‌اندود و شکل ۱- ج توزیع اندازه ساختارهای نقره مشاهده می‌شود. پوشش نقره ایجادشده بر روی زیرلایه‌های شیشه‌ای به‌صورت یکپارچه و یکنواخت نیست و مجموعه‌ای از ذرات کروی یا شبه‌کروی در بخش‌های مختلف مشاهده می‌شود. ذرات نقره مشاهده‌شده در شکل ۱- ب، اندازه‌های بین ۱۰۰ تا ۱۷۰۰ نانومتر دارند و تعداد زیادی از ذرات با اندازه ۱۴۰۰ تا ۱۵۰۰ نانومتر مشاهده می‌شود. نانوذرات کوچکتر، میدان‌های الکتریکی نزدیک قابل توجهی در اطراف خود ایجاد می‌کنند که حاصل تشدید پلاسمون‌های سطحی نقره است و چنانچه گونه‌های زیستی در میدان‌های الکتریکی قوی قرار بگیرند؛ قطبیده‌تر می‌شوند و اثر پراکندگی رامان آنها بهبود می‌یابد. ذرات بزرگتر، میدان‌های الکتریکی نزدیکِ ناچیزی دارند و نور تابیده‌شده به آنها، از سطح آنها پراکنده می‌شود یا میدان الکتریکی دور را تقویت می‌کنند[۲۱-۲۰].



شکل ۱: (الف)، (منحنی قرمز) طیف جذب کلوئید حاوی نانوذرات نقره که به‌روش شیمیایی تولنز ساخته شده است و با بیشینه جذب در طول‌موج ۴۱۰ نانومتر؛ (منحنی آبی) طیف خاموشی بستر نقره‌اندود با بیشینه خاموشی در طول موج ۴۳۹ نانومتر و (ب) تصویر FE-SEM بستر نقره‌اندود که (ج) توزیع اندازه ساختارهای نقره روی این بستر را نشان می‌دهد که اندازه‌های بین ۱۰۰ تا ۱۷۰۰ نانومتر دارند.

۲-تصاویر AFM بسترهای نقره‌اندود

شکل ۲- تصاویر AFM (الف) دو بعدی و (ب) سه بعدی بسترهای نقره‌اندود را نشان می‌دهد. با استفاده از نرم‌افزار Image Plus، (نسخه۹/۲) میانگین زبری ۵۸/۶ نانومتر، میانگین مرتفع‌ترین زبری ۲۵۷/۵ نانومتر و میانگین عمیق‌ترین زبری ۱۴۷/۳ به دست آمد. زبری سطحی بسترهای نقره‌اندود می‌توانند مراکزی برای پراکندگی نور باشند و باعث تقویت سیگنال رامان شوند[۲۲].



شکل۲: تصاویر AFM، تصویر (الف) دو بعدی و (ب) سه بعدی بسترهای نقره‌اندود.

۳- طیف رامان و آشکارسازی باکتری اشریشیا کلی

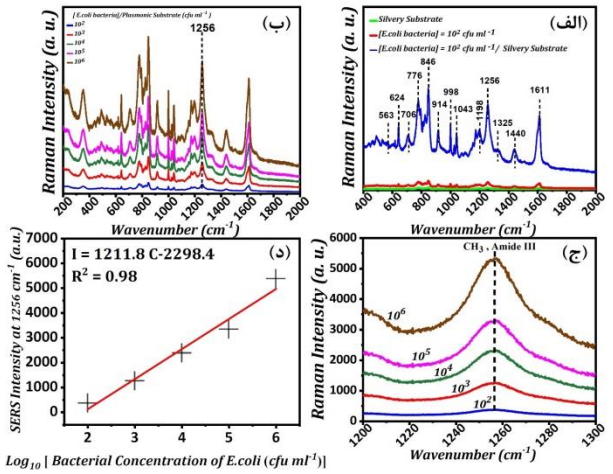
در شکل ۳، منحنی سبز، طیف رامان بستر نقره‌اندود، منحنی قرمز، طیف رامان باکتری با غلظت cfu ml-1 ۱۰۲ قرار داده شده بر روی زیرلایه شیشه‌ای و منحنی آبی، طیف SERS مربوط به غلظت cfu ml-1 ۱۰۲ باکتری اشریشیا کلی قرار داده‌شده بر روی بستر نقره‌اندود را نشان می‌دهد. همان‌طورکه مشاهده می‌شود چنانچه باکتری اشریشیا کلی بر روی زیرلایه شیشه‌ای قرار داده شود، ارتعاشات مولکولی باکتری اشریشیا کلی با شدت ضعیفی مشاهده می‌شود. بنابراین عملاً شناسایی این‌گونه حتی با غلظت cfu ml-1 ۱۰۲ و با استفاده از

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-25]

طیف‌سنجی رامان امکان‌پذیر نیست. با قرار دادن باکتری اشریشیا کلی با غلظت ۱۰۲ cfu ml-1 بر روی بسترهای نقره‌اندود، ارتعاشات مولکولی باکتری اشریشیا کلی (شکل ۳-الف) ظاهر می‌شوند. ارتعاشات مولکولی باکتری اشریشیا کلی به‌صورت خط‌چین‌هایی بر روی طیف‌های مولکولی باکتری اشریشیا کلی در شکل ۳-الف نمایش داده شده است. ارتعاشات کربوهیدرات‌ها، ارتعاشات کششی -COO، پروتیین، تیروزین، کششی C-N، کششی C-N، کششی C-N، کششی C-N، Amide III، کششی H-C-H و Amide III، کششی H-N-H، خمشی H-C-H و لیپیدها، کششی C-N و Amide II و کششی N-H به ترتیب در ۵۶۳، ۶۲۴، ۷۰۶، ۷۷۶، ۸۴۶، ۹۱۴، ۹۹۸، ۱۰۴۳، ۱۱۹۸، ۱۲۵۶، ۱۳۲۵، ۱۴۴۰و ۱۶۱۱ cm-1 ظاهر می‌شوند [۲۳]. بنابراین، استفاده از نانوذرات نقره در ساخت بستر نقره‌اندود منجربه بهبود ارتعاشات مولکولی باکتری اشریشیا کلی در حسگر پلاسمونیکی معرفی شده می‌شود.

شکل ۳- ب، طیف‌های SERS باکتری اشریشیا کلی با غلظت‌های ۱۰۲، ۱۰۳، ۱۰۴، ۱۰۵، ۱۰۶ cfu ml-1 قرار داده‌شده بر روی بستر نقره‌اندود را نشان می‌دهد. با کاهش غلظت باکتری اشریشیا کلی، شدت قله‌های ارتعاش‌های مولکولی آن کاهش می‌یابد که به‌دلیل کاهش تعداد باکتری اشریشیا کلی و درنتیجه کاهش تعداد ارتعاش‌های مولکولی آن است به گونه‌ای که در غلظت‌های کمتر از ۱۰۲ cfu ml-1، ارتعاش‌های کششی H-C-H و Amide III، به‌راحتی قابل مشاهده نیستند. بنابراین بستر نقره‌اندود معرفی‌شده می‌تواند تا غلظت ۱۰۲ cfu ml-1 از باکتری اشریشیا کلی را شناسایی کند.

ارتعاش‌های مولکولی کششی H-C-H و Amide III در عدد موج ۱۲۵۶cm-1 برای غلظت‌های مختلف در محدوده ۱۳۰۰ cm-1- ۱۲۰۰ در شکل ۳- ج نمایش داده شده است. منحنی کالیبراسیون که منحنی تغییرات شدت سیگنال SERS مربوط به ارتعاش‌های مولکولی کششی H-C-H و Amide III برحسب تغییرات لگاریتمی غلظت باکتری اشریشیا کلی، C، است در شکل ۳- د نشان داده شده است که با برازش انجام‌شده از رابطه I = 1211.8 C - 2298.4 (R2=0.98) پیروی می‌کند. رابطه به‌دست‌آمده خطی است و ضریب رگراسیون (R2) آن برابر با ۰/۹۸ است. ازآن‌جاکه هدف از ساخت حسگر پلاسمونیکی، آشکارسازی غلظت‌های بسیار پایین از نمونه‌های بیولوژیکی و محیطی است، خطی‌بودن منحنی کالیبراسیون غلظت‌های پایین از اهمیت بیشتری برخوردار است که در این مطالعه، چنین رابطه خطی به‌دست‌آمد و می‌توان با استفاده از این نمودار با مشاهده شدت قله ارتعاش‌های مولکولی کششی H-C-H و Amide III در عدد موج ۱۲۵۶cm-1در طیف رامان، غلظت باکتری اشریشیا کلی را به‌دست آورد.



شکل ۳: (الف) طیف رامان بستر نقره‌اندود (منحنی سبز)، طیف رامان باکتری اشریشیا کلی با غلظت ۱۰۲ cfu ml-1 قرار داده شده بر روی زیرلایه شیشه‌ای (منحنی قرمز) و طیف SERS باکتری اشریشیا کلی با غلظت ۱۰۲ cfu ml-1 قرارداده‌شده بر روی بستر نقره‌اندود (منحنی آبی). (ب) طیف SERS باکتری اشریشیا کلی با غلظت‌های cfu ml-1 ۱۰۲، ۱۰۳، ۱۰۴، ۱۰۵ و ۱۰۶ قرار داده‌شده بر روی بستر نقره‌اندود. (ج) نمایش ارتعاش‌های مولکولی کششی H-C-H و Amide III در عدد موج ۱۲۵۶ cm-1 برای غلظت‌های (منحنی آبی) ۱۰۲ cfu ml-1، (منحنی قرمز) ۱۰۳، (منحنی سبز) ۱۰۴، (منحنی صورتی) ۱۰۵ و (منحنی قهوه‌ای) ۱۰۶ از باکتری اشریشیا کلی قرار داده شده بر روی بستر نقره‌اندود است که فقط در بازه ۱۳۰۰-۱۲۰۰ cm-1 نمایش داده شده است. (د) تغییرات شدت I ، برای قوی‌ترین سیگنال SERS مربوط به ارتعاش‌های مولکولی کششی H-C-H و Amide III در عدد موج ۱۲۵۶ cm-1 برحسب تغییرات لگاریتمی غلظت باکتری اشریشیا کلی، C که برگرفته از شکل (ج) است.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-25]

نتیجه‌گیری

به‌منظور شناسایی و کنترل بیماری‌های متعدد ناشی از باکتری اشریشیا کلی، تشخیص این باکتری دارای اهمیت است. روش طیف‌سنجی رامان روشی غیرمخرب برای شناسایی مولکول‌ها است اما به دلیل ضعیف‌بودن سیگنال رامان، عملا شناسایی غلظت‌های اندک از مولکول‌ها امکان‌پذیر نیست. با قرار دادن باکتری اشریشیا کلی، در معرض تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات فلزی مانند نقره و همچنین نور پراکنده‌شده از ذرات بزرگ فلزی، می‌توان سیگنال رامان را بهبود داد. بنابراین، ابتدا نانوذرات نقره با استفاده از روش شیمیایی که روشی ساده، سریع و ارزان است از کاهش شیمیایی نمک نقره ساخته شدند و در ادامه نانوذرات نقره بر روی زیرلایه‌های شیشه‌ای لایه‌نشانی شدند و بسترهای نقره‌اندود جهت آشکارسازی باکتری اشریشیا کلی استفاده شدند. با کاهش غلظت باکتری اشریشیا کلی، سیگنال رامان آن نیز کاهش می‌یابد که بسترهای نقره‌اندود معرفی‌شده قادر به شناسایی باکتری اشریشیا کلی، تا غلظت 10^2 cfu ml^{-1} هستند. بهبود سیگنال رامان باکتری اشریشیا کلی، ناشی از تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات نقره است که با دریافت نور لیزر فرودی، نور را در منطقه کوچکی در اطراف خود متمرکز می‌کنند و با قرارگیری باکتری اشریشیا کلی، در این مناطق و درنتیجه به‌دلیل دریافت میدان الکتریکی قوی‌تر، و یا رسیدن نور حاصل از پراکندگی از نقاط زبر بستر نقره‌اندود، مولکول‌های سازنده باکتری اشریشیا کلی، قطبیده‌تر می‌شوند و درنتیجه ارتعاش‌های مولکولی با شدت قوی‌تری ظاهر می‌شوند. درصورت ظاهرشدن ارتعاش‌های مولکولی کششی H–C–H و Amide III، با استفاده از رابطه خطی که از کالیبراسیون غلظت باکتری اشریشیا کلی باشدت این ارتعاش مولکولی به‌دست آمده است؛ می‌توان غلظت باکتری اشریشیا کلی را تعیین کرد. از مزایای بستر نقره‌اندود معرفی شده، استفاده آسان و توانایی تشخیص سریع غلظت‌های اندک است که برای ساخت آن نیز هزینه چندانی صرف نمی‌شود.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-25]

References:

1- Pamela A, Mosier B. Review on SERS of Bacteria. Biosensors. 2017; 7(4): 51-77.

2- Cowcher DP, XU Y, Goodacre R. Portable, Quantitative Detection of Bacillus Bacterial Spores Using Surface-Enhanced Raman Scattering. American Chemical Society (ACS). 2013; 85(6): 3297-3302.

3. 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. 1998; 740: 83-98.

4. 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.

5. 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.

6. Skoulika SG, Georgiou CA .Univariate and Multivariate Calibration for the Quantitative Determination of Methyl-parathion in Pesticide Formulations by FT-Raman Spectroscopy. Applied Spectroscopy. 2000; 54: 747-52.

7. Sato-Berru RY, Medina-Valtierra J, Medina Gutierrez C, Frausto-Reyes C. Quantitative NIR–Raman analysis of methyl-parathion pesticide microdroplets on aluminum substrates. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and BiomolecularSpectroscopy.2004;60:2231-4.

8. Alak-Ala M, Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman spectrometry of organo phosphorus chemical agents. ACS Publication Analytical Chemistry.1987; 59: 2149-53.

9. Ivanov AN, Evtyugin GA, Brainina KZ, Budnikov GK, Stenina LE. Cholinesterase Sensors Based on Thick-Film Graphite Electrodes for the Flow-Injection Determination of Organophosphorus Pesticides. Journal of Analytical Chemistry. 2002; 57: 1042-8.

10. Alizadeh T. High Selective Parathion Voltammetric Sensor Development by Using an Acrylic Based Molecularly Imprinted Polymer-Carbon Paste Electrode. Electroanalysis. 2009; 21: 1490-8.

11. Duan N, Chang B, Zhang H, Wang Z, Wu S. Salmonella typhimurium detection using a surface-enhanced Raman scattering-based aptasensor. International Journal Food Microbiology. 2016; 218: 38-43.

12. 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 BiomolecularSpectroscopy.2006;63:614-8.

13. Ren B, Liu GK, Lian XB, Yang ZL, Tian ZQ. Raman spectroscopy on transition metals. Analytical and bioanalytical chemistry. 2007; 388: 29-45.

14. Matricardi C, Hanske C, Garcia-Pomar JL, Langer J, Mihi A, Liz-Marzan LM. Gold Nanoparticle Plasmonic Superlattices as Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Substrates. ACS Nano. 2018; vol. 12: 8531-9.

15. Lin KQ, Yi J, Hu S, Liu BJ, Liu JY, Wang X, Ren B. Size effect on SERS of gold nanorods demonstrated via single nanoparticle spectroscopy. The Journal of Physical Chemistry C. 2016; 120: 20806-3.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-25]

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

17. 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.

18. Tarik Baytekin H , Baytekin B, Huda S, Yavuz Z, Grzybowski BA. Mechanochemical Activation and Patterning of an Adhesive Surface toward Nanoparticle Deposition. Journal of the American Chemical Society. 2015; 137: 1726-9.

19. Bohren CF, Huffman DR. Absorption and Scattering of Light by Small Particles. Wiley. New York. 1983; 306: 625.

20. 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.

21. Canamares MV, Garcia-Ramos JV, Sanchez-Cortes S, Castillejo M, 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.

22. Tarik Baytekin H, Baytekin B, Huda S, Yavuz Z, Grzybowski BA. Mechanochemical Activation and Patterning of an Adhesive Surface toward Nanoparticle Deposition. Journal of the American Chemical Society. 2015; 137: 1726-9.

23. Zhou H, Yang D, Lvleva N, Mircescu N, Niessner R, Haisch Ch. SERS Detection of Bacteria in Water by in Situ Coating with Ag Nanoparticles. American Chemical Society Analytical Chemistry. 2014; 86 (3): 1525-33.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-25]