لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹٤، دوره ۱۲، شماره ۱ و ۲، صفحات: ۱۵-۱۰ .

مقاله پژوهشی

ساخت حسگر زیستی پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی بر پایهٔ نانوساختارهای متخلخل نقرهٔ رشدیافته برروی بستر شیشه و استفاده از آن برای آشکارسازی مولکول Lysine در غلظت‌های کم

راحله ابوالتمن [۱]
رسول ملک‌فر [۱]

۱. *دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ علوم پایه، بخش فیزیک، گروه فیزیک اتمی و مولکولی*

خلاصه

مقدمه: در این پژوهش با رشد نانوساختارهای متخلخل نقره برروی بسترهای شیشه‌ای معمولی و حکاکی‌شده موفق به ساخت حسگری مبتنی بر اثر پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS) شده‌ایم که با دقت و حساسیت بالا توانایی آشکارسازی آنالیت‌های بیولوژیکی در مقادیر بسیار کم را دارا می‌باشد. در این پژوهش منظور از حسگر زیستی SERS، حسگری ساخته‌شده بر پایهٔ اثر پراکندگی رامان است که با استفاده از نانوساختارهای متخلخل از فلز نقره، سیگنال رامان ضعیف هدف بیولوژیکی جذب‌شده برروی نانوساختارها را ارتقاء می‌بخشد. درنتیجه این حسگر قادر به آشکارسازی غلظت‌های بسیار کم و حتی تک‌مولکول از مادهٔ هدف است. روش معرفی‌شده می‌تواند به‌عنوان روشی جدید، ساده و ارزان با قابلیت آشکارسازی بالا برای غلظت‌های کم جهت تشخیص زودهنگام برخی بیماری‌های متابولیکی مدنظر قرار گیرد.

روش بررسی: روش بررسی مبتنی بر اثر پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS) با استفاده از طول موج لیزری ۵۳۲ نانومتر می‌باشد.

یافته‌ها: زمانی‌که اتصال جزیره‌ای نانوذرات نقرهٔ متخلخل به‌طور کامل اتفاق نمی‌افتد و سطح نانوذرات نقره یکنواخت نمی‌باشد و در حدفاصل جزیره‌ها دره‌هایی وجود دارد، شدت سیگنال افزایش می‌یابد. درصورتی‌که سطح نمونهٔ نانوذرات متخلخل یکنواختی ایجاد گردد، شدت سیگنال به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد و ضریب ارتقاء به‌مراتب بیشتری در سیگنال‌های رامان مشاهده خواهد شد. نتایج طیف‌سنجی UV/Vis/NIR بر نمونه‌های مختلف نشان‌دهندهٔ وابستگی کامل طول موج بیشینهٔ جذب به میزان غلظت محلول نقره و کیفیت همواری زیرلایه می‌باشد. درادامه، از این حسگر برای شناسایی آمینواسید لایزین در غلظت‌های بسیار کم تا حد 10^{-6} مولار استفاده شده است. آمینواسید لایزین یکی از پارامترهای مهم در شناسایی احتمال وجود بیماری‌های متابولیک در نوزادان است.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که همواری سطح شیشه و نانوساختار متخلخل نقره بر آن در آشکارسازی غلظت‌های کم آنالیت تأثیر به‌سزایی دارد.

واژه‌های کلیدی: حسگر زیستی، پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS)، نانوساختارهای متخلخل، بیماری متابولیک نوزادان

نویسندهٔ مسئول: رسول ملک‌فر، تلفن: ۰۲۱-۸۲۸۸۳۴۴۰
پست الکترونیک: Malekfar@Modares.ac.ir

مقدمه

در سال ۱۹۲۸، سی. وی رامان نوعی از پراکندگی موسوم به اثر رامان را تشریح نمود. پیش از ارائهٔ موفقیت‌آمیز رامان، این اثر در سال ۱۹۲۳ از نظر نظریه توسط اسمکال پیش‌بینی شده بود و بنابراین گاهی‌اوقات در منابع آلمانی از آن به‌عنوان اثر اسمکال- رامان نام برده‌می‌شود. اندرکنش امواج الکترومغناطیسی یا فوتون‌ها با یک دستگاه اتمی و مولکولی به صورت‌های زیر امکان‌پذیر است:

۱. فوتون‌های تابیده‌شده می‌توانند از سطح ماده بازتاب کنند.

۲. فوتون‌ها می‌توانند از جسم عبور کنند.

۳. همچنین فوتون‌ها می‌توانند جذب مولکول‌ها شوند.

۴. و حتی امکان دارد فوتون‌های رسیده به ماده از سطح آن پراکنده شوند.

پراکندگی فوتون‌ها از ماده در اثر برخورد کشسان یا ناکشسان به‌وقوع می‌پیوندد که در اثر برخورد کشسان هیچ انرژی میان فوتون‌ها و ذرات ماده مبادله نمی‌شود و تنها مسیر حرکت فوتون تغییر می‌کند و این در حالی است که برخورد ناکشسان باعث انتقال انرژی بین فوتون‌های فرودی و ماده می‌شود. درنتیجه می‌توان گفت که اثر رامان، ناشی از پراکندگی ناکشسان نور از مولکول‌های مواد است. درنتیجه می‌توان با استفاده از این پراکندگی، طیف ارتعاشی مولکول را به‌دست آورد. این اثر به‌عنوان یکی از ویژگی‌های منحصربه‌فرد ماده شناخته می‌شود و دقیقاً مانند اثر انگشتی از مواد مختلف است و می‌توان با استفاده از آن اطلاعات بسیار جزئی در مورد ساختار مولکولی مواد به‌دست آورد. متأسفانه سیگنال مربوط به پراکندگی رامان به‌طور ذاتی ضعیف است و گاهی توسط نوفه و اثر فلورسانس پوشیده می‌شود. درنتیجه توسط این روش، مطالعهٔ مولکول‌ها با غلظت کم امکان‌پذیر نیست و لزوم تقویت سیگنال پراکندگی رامان به‌وضوح احساس می‌شود. . یکی از روش‌های کارآمد برای مطالعهٔ غلظت‌های پایین و حتی تک‌مولکولی، روش پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی (SERS) است. در این روش از نانوذرات فلزی برای ارتقاء سیگنال پراکندگی رامان استفاده می‌شود. درواقع، SERS یک روش حساس و انتخابی است که در آن پراکندگی رامان برای مولکول‌هایی که بر روی نانوذرات فلزی جذب سطحی شده‌اند، افزایش می‌یابد. با استفاده از این روش می‌توان علاوه بر تحلیل ساختارهای مولکولی، اطلاعاتی راجع به جهت جذب مولکول و فرآیند برهم‌کنش مولکول با سطح زیرلایه به‌دست آورد[۱].

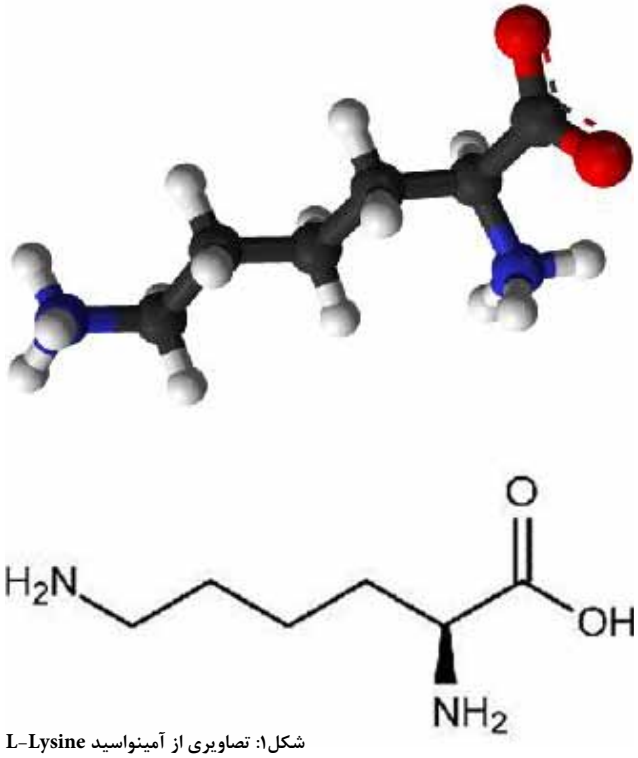
ازآنجاکه شدت پراکندگی رامان متناسب با مربع ممان دوقطبی القایی است، ارتقاء این فرآیند به دو روش امکان‌پذیر است: ارتقاء میدان الکتریکی و ارتقاء قطبش‌پذیری[۲]. هنگامی‌که مولکول در نزدیکی سطح فلز قرار می‌گیرد یا به‌عبارتی به‌طور فیزیکی جذب نانوذرهٔ فلزی می‌شود، به‌علت برهم‌کنش مولکول و پلاسمون‌های سطحی (حرکت دسته‌جمعی الکترون‌های رسانش تحت تأثیر میدان نوسانی موج فرودی) افزایش شدتی در سیگنال رامان روی می‌دهد که به اثر الکترومغناطیسی معروف است. در حالت دیگر، مولکول به‌طور شیمیایی جذب نانوذرات فلزی می‌شود و در اثر انتقال الکترون‌ها از فلز به مولکول و بازگشت دوبارهٔ آن‌ها به فلز، شدت سیگنال رامان افزایش می‌یابد. فلزاتی از قبیل نقره، طلا، مس و پلاتین جهت مشاهدهٔ پدیدهٔ پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی در آزمایش‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در میان فلزات نام‌برده‌شده نقره به‌علت داشتن تشدید پلاسمونی پهن در ناحیهٔ مرئی و فروسرخ نزدیک (Vis-NIR)، پایداری بالا و روش تهیهٔ آسان بیشترین استفاده را داشته است[۳].

در این پژوهش منظور از حسگر زیستی SERS، حسگری ساخته‌شده بر پایهٔ اثر پراکندگی رامان است که با استفاده از نانوساختارهای متخلخل از فلز نقره، سیگنال رامان ضعیف هدف بیولوژیکی جذب‌شده برروی نانوساختارها را ارتقاء می‌بخشد. درنتیجه این حسگر قادر به آشکارسازی غلظت‌های بسیارکم و حتی تک‌مولکول از مادهٔ هدف است.

پراکندگی رامان از سطوح صاف و یکنواخت، پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی نیست[۴]. غیر یکنواختی سطح یا همان زبری برای بروز این پدیده ضروری است. در ساخت سطوح فعال در پدیدهٔ SERS باید داشتن فاکتور ارتقاء بالا، کم‌هزینه‌بودن، تکرارپذیری و آسان بودن فرآیند ساخت را درنظر بگیریم. ساختارهای نانویی مؤثر در ارتقاء سیگنال رامان، می‌توانند یا به‌صورت محلول باشند و یا برروی یک بستر جامد قرار گیرند. برای کاربرد در حسگرها زیرلایه‌های جامد به‌علت پایداری بالا، قابلیت تکرارپذیری و بالا بودن دقت آشکارسازی از اهمیت بیشتری برخوردارند.

روش پراکندگی رامان ارتقاءیافتهٔ سطحی به‌علت حساسیت بالا و قدرت تفکیک طیفی مناسب و به‌عنوان یک روش غیر مخرب اخیراً به یک روش بسیار جذاب در تجزیه‌وتحلیل مولکول‌های تشکیل‌دهندهٔ یک نمونهٔ زیستی و پزشکی تبدیل شده است[۷-۵]. بیماری‌های متابولیک به‌علت ناشناخته بودن، برای مدت‌زمان طولانی نادیده‌گرفته می‌شدند. متولد شدن نوزادانی با نقص جسمی مانند میکروسفالی (کوچکی غیر طبیعی سر)، هیدروسفالی (بزرگی غیر طبیعی سر)، نوزادانی که در ماه‌های اولیه دچار حملات قلبی شدید و سکته‌های مغزی منجر به مرگ می‌شدند، کودکانی که در ماه‌های اولیه طبیعی بودند ولی به‌مرور دچار فلج و ناهنجاری‌های حرکتی می‌شدند و کودکان و نوزادانی که ناگهانی می‌مردند، همگی دانشمندان علم پزشکی را مشکوک به وجود بیماری‌هایی کرد که به‌صورت نهان فرد را مبتلا می‌کنند پس از مطالعات فراوان به نقص‌های آنزیمی پی‌بردند و ازآنجا بیماری‌های متابولیک شناخته شدند. نکتهٔ مهمی که در ارتباط با بیماری‌های متابولیک وجود دارد، این‌است که درصورت تشخیص به‌موقع این بیماری‌ها می‌توان با رژیم‌درمانی و

جایگزین کردن آنزیم‌های ازدست‌رفته و هورمون‌درمانی همچنین با خارج‌سازی توکسیک‌ها از بدن مبتلایان، تا حد زیادی از بروز عوارض فاجعه‌بار این بیماری‌ها جلوگیری کرد. وجود مقادیر بسیار کم لایزین ($C_6H_{14}N_2O_2$) در خون نوزادان نشانی از نقص در سیستم سوخت‌وساز بدن آن‌ها است. درنتیجه توانایی آشکارسازی این ماده در مقادیر کم و تشخیص زودهنگام بیماری متابولیک از اهمیت بسیاری برخوردار است. ازجمله روش‌های مورد استفاده برای تشخیص بیماری‌های متابولیک می‌توان به GC-MS[1] [۸]، TMS(MS/MS)[2] [۹] و HPLC[3] [۱۰] اشاره کرد. تمامی این روش‌ها در کارکرد آزمایشگاهی درمقایسه با روش SERS از حساسیت کمتری برخوردار هستند و استفاده از آن‌ها منوط به پرداخت هزینهٔ گزاف از طرف متقاضیان می‌باشد. ما در حسگر زیستی SERS با روشی ساده توانسته‌ایم زیرلایه‌هایی تولید کنیم که با استفاده از آن‌ها تا غلظت 10^{-6} مولار آمینواسید لایزین را به‌راحتی و با صرف هزینهٔ اندک می‌توان آشکارسازی کرد. آمینواسید به گروهی از مولکول‌های ارگانیکی که شامل گروه آمینو ($-NH_2$) و گروه اسیدی کربوکسیل ($-COO^-$) و گروه R هستند، اطلاق می‌شود. تفاوت آمینواسیدها ناشی از تفاوت در ساختمان گروه R در آن‌ها است. در آمینواسید Lysine گروه R شامل ($-(CH_2)_4NH_2$) است



شکل۱: تصاویری از آمینواسید L-Lysine

روش کار

۱) تجهیزات آزمایشگاهی مورد استفاده

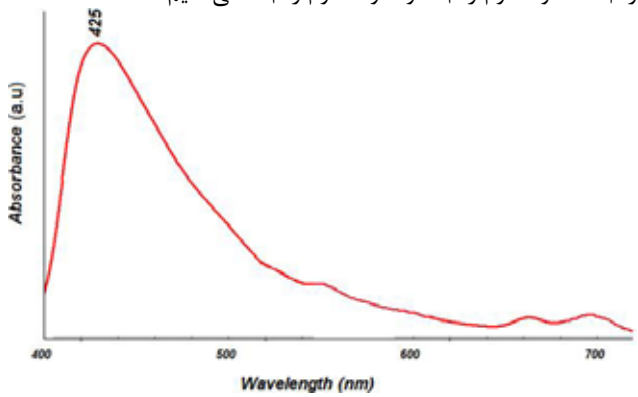
دستگاه طیف‌سنجی رامان مورد استفاده در این آزمایش‌ها از نوع طیف‌سنجی پس از پراکندگی است، بدین‌معنی‌که نور پراکنده‌شده درخلاف جهت نور فرودی با قطبشی درراستای قطبش نور فرودی مورد بررسی قرار می‌گیرد. این دستگاه مجهز به نور لیزر Nd: YLF است که دارای طول موجی برابر ۱۰۶۴ نانومتر می‌باشد که توسط یک دوبرابرکنندهٔ بسامد به طول موج ۵۳۲ نانومتر و توان خروجی قابل تنظیم چندده میلی‌وات و توان نهایی یک‌صد میلی‌وات می‌رسد. این دستگاه ساخت شرکت Thermo Nicolet است. درمورد طیف‌های حاصل از دستگاه طیف‌سنج رامان می‌توان گفت که طیف به‌دست‌آمده درواقع نشان‌دهندهٔ اختلاف بسامدی است که نور پس‌پراکنده با نور فرودی پیدا کرده است. این اختلاف اغلب برحسب واحد cm^{-1} بیان می‌شود و توسط یک نرم‌افزار رایانه‌ای تحت عنوان OMNIC که قادر است شدت نور پراکنده‌شده را برحسب این اختلاف به‌صورت یک طیف رسم کند، محاسبه می‌گردد.

همچنین برای داشتن طیف ماوراء بنفش، نمونه‌های شیشه‌ای پوشیده‌شده از نانوساختارهای نقره از دستگاه دانشگاه تربیت مدرس با نام T80+ UV/VIS Spectrometer ساخت شرکت P.G. Instruments استفاده شده‌است و سامانهٔ فوق قابلیت طیف‌سنجی به‌صورت عبوری و جذبی را دارا می‌باشد.

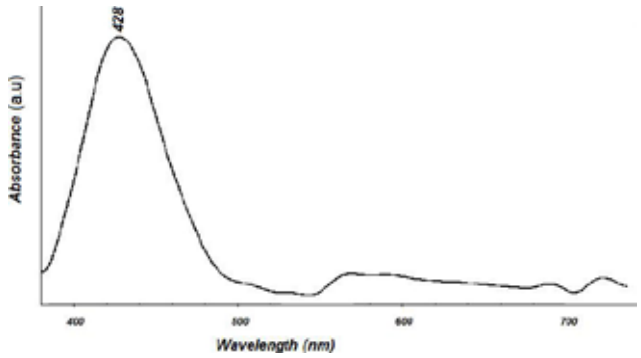
۲) روش ساخت زیرلایه‌های شیشه‌ای در این پژوهش از شیشه‌های لام به‌عنوان بستر استفاده شده‌است. شیشه‌ها در ابعاد $2\times2\ cm^2$ برش داده می‌شوند و قبل از استفاده توسط محلول شامل آب و مایع شوینده، استون و اتانول هرکدام به‌مدت ۱۰ دقیقه و در دستگاه تمیزکنندهٔ اولتراسونیک شستشو داده و در معرض هوا خشک می‌شوند. پس از شستشو، توسط HF ۲۰ درصد روی نمونه‌ها حکاکی[4] انجام می‌شود تا جهت افزایش سطح و افزایش چسبندگی پوشش در سطح خلل‌وفرج ایجاد گردد. برای پوشش‌دهی نقره از محلول کلوئیدی نقرهٔ ساخته‌شده توسط شرکت نانوپوشش‌فلز و حاوی نیترات‌نقره، مادهٔ احیاءکنندهٔ سدیم‌بوروهیدرات و پایدارکنندهٔ PVP استفاده شده است. این محلول در حجم نهایی ppm ۴۰۰۰ ساخته شده‌است. برروی هرکدام از نمونه‌ها مقداری از این محلول کلوئیدی را توسط قطره‌چکان می‌ریزیم و نمونه‌ها را در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد در آون قرار می‌دهیم تا آب موجود در محلول لایه‌نشانی‌شده تبخیر شود. برای نمونهٔ اول ۲ سی‌سی و برای نمونهٔ دوم ۴ سی‌سی از محلول ppm ۴۰۰۰ برمی‌داریم. مدت‌زمان حرارت‌دهی نمونه‌ها به حجم آب موجود در آن‌ها بستگی دارد

1. Gas Chromatography Mass Spectrometry
2. Tandem Mass Spectrometry
3. High Performance Liquid Chromatography
4. Etching

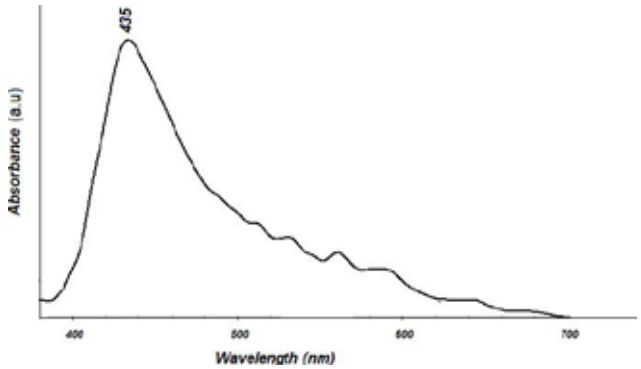
به‌طوری‌که نمونهٔ دوم نسبت به نمونهٔ اول به زمان حرارت‌دهی بیشتری احتیاج دارد. حرارت‌دهی به نمونه‌ها تا تبخیر کل آب موجود در آن‌ها باید ادامه یابد. سپس نمونه‌های نهایی را به‌مدت ۶۰ دقیقه و در دمای ۲۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار می‌دهیم تا هم پوشش پلیمری پایدارکنندهٔ اولیه از بین برود و هم نانوذرات به‌هم جوش بخورند. درنهایت، دو نمونه با پوشش‌های مختلف ازنظر ضخامت یا مقدار نانوذرات برروی سطح شیشه داریم. در نمونهٔ بعدی از یک لام بدون حکاکی استفاده می‌کنیم و ۴ سی‌سی از محلول کلوئیدی را برروی آن می‌چکانیم. فرآیند حرارت‌دهی دقیقاً مانند روش توضیح داده‌شده در بالا است. برای سادگی، نمونهٔ اول را H_1، نمونهٔ دوم را H_2 و نمونهٔ سوم را N_2 می‌نامیم.



شکل۲: تصویر طیف جذبی نمونهٔ H_1 با قلهٔ تشدید پلاسمونی در ۴۲۵ نانومتر

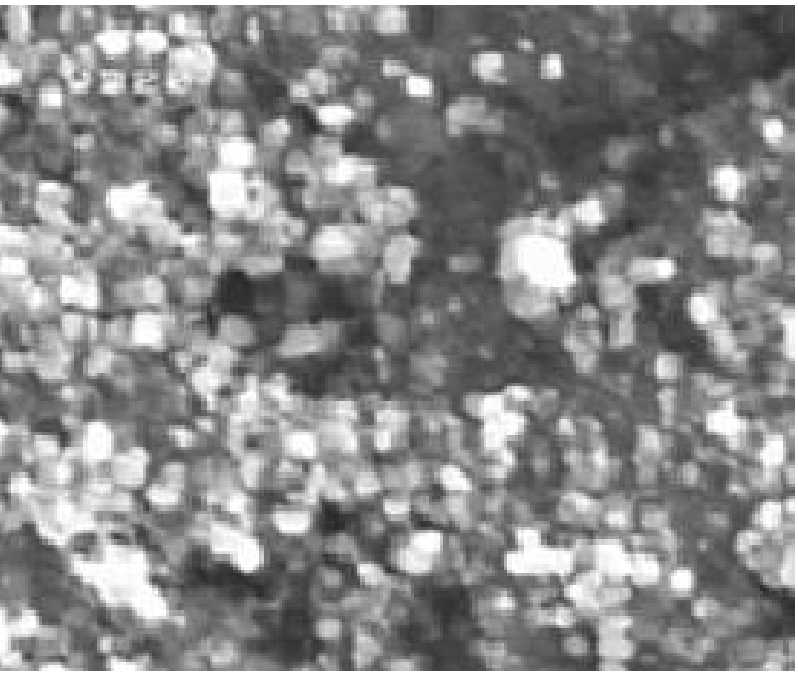


شکل۳: تصویر طیف جذبی نمونهٔ H_2 با قلهٔ تشدید پلاسمونی در ۴۲۸ نانومتر



شکل۴: تصویر طیف جذبی نمونهٔ N_2 با قلهٔ تشدید پلاسمونی در ۴۳۵ نانومتر

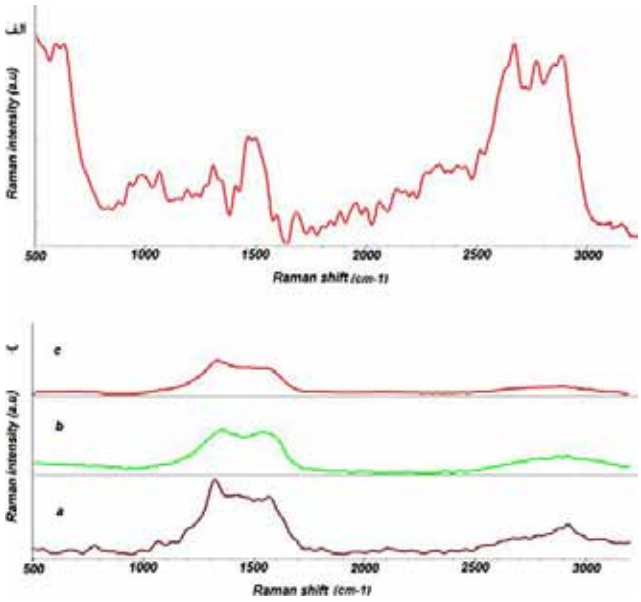
با توجه به شکل‌های ۲، ۳ و ۴ و محل قلهٔ تشدید پلاسمون‌های سطحی نشان‌داده‌شده در آن‌ها به‌وضوح حضور فلز نقره برروی سطح دیده می‌شود زیرا قلهٔ تشدید پلاسمون‌های سطحی فلز نقره تقریباً در محدودهٔ ۴۳۵-۴۲۵ نانومتر است. این‌طور به‌نظر می‌رسد که تفاوت در محل قله‌ها ناشی از افزایش اندازهٔ نانوذرات و چسبیدن آن‌ها به‌هم و تشکیل جزیره است که در اثر فرآیند حرارت‌دهی به‌وقوع می‌پیوندد. از دیگر عوامل این تفاوت می‌توان به فاصلهٔ نانوذرات و شکل آن‌ها اشاره نمود. ازآنجاکه در این حالت از روش قطره‌چکانی استفاده شده است، پیش‌بینی می‌شود که سطح شیشه‌ها پوشیده از نانوساختارهای جزیره‌ای نقره باشد و به‌علت فرآیند تبخیر آب و PVP سراسر سطح دارای خلل‌وفرج یا پستی و بلندی باشد.



شکل۵: ساختار متخلخل نقره برروی شیشهٔ حکاکی‌نشده (نمونهٔ N_2) در مقیاس۱میکرومتر

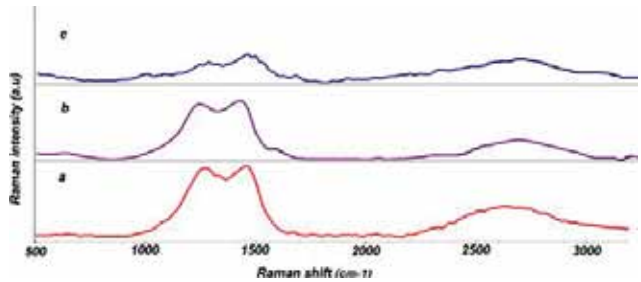
یافته‌ها

در این روش برای آشکارسازی مادهٔ هدف، ابتدا محلول پایه از مادهٔ مورد نظر را در غلظت ۰/۱ مولار ساختیم و سپس از این محلول پایه برای ساخت غلظت‌های مختلف (10^{-4}، 10^{-5}و10^{-6}) مولار استفاده می‌کنیم. درادامه، مقدار ۳ µl از هرکدام از غلظت‌های نام‌برده‌شده را جداگانه برروی بسترهایی که ساختیم، می‌چکانیم و اجازه می‌دهیم در معرض هوا خشک شوند. سپس توسط دستگاه رامان، طیف SERS آن‌ها را می‌گیریم. نتایج به‌دست‌آمده به‌صورت طیف ارتعاشی مادهٔ مورد نظر ارائه می‌شود و این بدین معنی است که حسگر حضور ماده را در این غلظت‌های کم احساس کرده است.



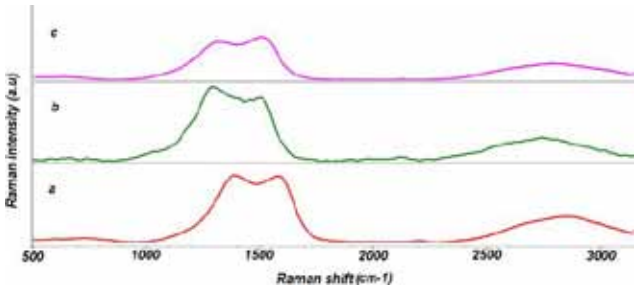
شکل۶: الف) طیف رامان زیرلایهٔ شیشه با پوششی از نقره بدون حضور مولکول Lysine. ب) طیف SERS مولکول Lysine جذب‌شده برروی نمونهٔ H_1: a) 10^{-4}مولار، b) 10^{-5}مولار و c) 10^{-6}مولار.

باتوجه به نتایج SERS به‌دست‌آمده بااستفاده از این زیرلایه دیده می‌شود که در غلظت 10^{-4}مولار نوارهای ارتعاشی مربوط به مولکول Lysine به‌خوبی نمایش داده می‌شوند و با کاهش غلظت از شدت سیگنال رامان ارتعاشات کاسته می‌شود. ارتعاش C-H در $2925\ cm^{-1}$ کشش متقارن گروه کربوکسیل در $1581\ cm^{-1}$، مدهای ارتعاشی گروه آمین و کربوکسیل در $1439-1500\ cm^{-1}$، مدهای خمش NH_2 در ناحیهٔ $1351\ cm^{-1}$- ۱۱۴۴ و ارتعاشات آلیفاتیک C-C و C-N در $948\ cm^{-1}$ روی می‌دهند که این ارتعاشات تا غلظت 10^{-6} مولار نیز دیده می‌شوند.



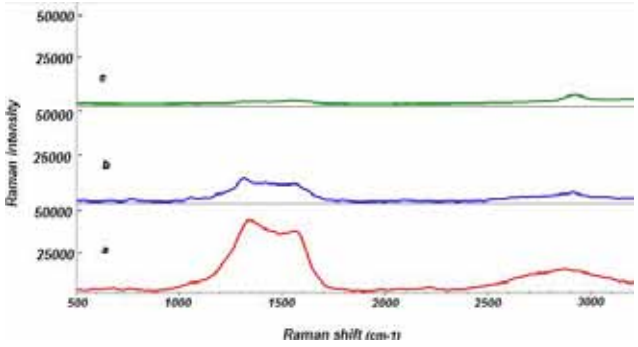
شکل۷: طیف SERS مولکول Lysine جذب‌شده برروی نمونهٔ H_2: a) 10^{-4}مولار، b) 10^{-5}مولار و c) 10^{-6}مولار.

از شکل۷ دیده می‌شود که طیف SERS به‌دست‌آمده با استفاده از نمونهٔ H_2 برای مولکول Lysine در غلظت 10^{-6} مولار دارای شدت بسیار کمتر از طیف به‌دست‌آمده در غلظت‌های دیگر است همچنین در مقایسه با نمونهٔ H_1 تعداد ارتعاشات محدودتری آشکارسازی می‌شوند.



شکل۸: طیف SERS مولکول Lysine جذب‌شده برروی نمونهٔ N_2: a) 10^{-4}مولار، b) 10^{-5}مولار و c) 10^{-6}مولار.

توسط حسگر SERS ساخته‌شده توسط نمونهٔ N_2 نیز به‌راحتی می‌توان تا غلظت 10^{-6} مولار را آشکارسازی کرد. در شکل ۹ مقایسه‌ای بین شدت طیف‌های SERS مولکول Lysine با غلظت 10^{-4} مولار جذب‌شده برروی نمونه‌های H_1، H_2 و N_2 انجام‌شده‌است.



شکل۹: طیف SERS مولکول Lysine جذب‌شده برروی نمونهٔ N_2: a) 10^{-4}مولار، b) 10^{-5}مولار و c) 10^{-6}مولار.

آنچه که از شکل ۹ استنباط می‌شود این است که طیف SERS مولکول Lysine جذب‌شده بر نمونه و N_2 نسبت به نمونه‌های دیگر از شدت بیشتری برخوردار است و همچنین این شدت برای نمونهٔ H_1 از نمونهٔ H_2 بیشتر است.

بحث و نتیجه‌گیری:

در میان نمونه‌های حکاکی‌شدهٔ H_1 و H_2 که خود دارای پستی و بلندی‌های اولیه‌ای هستند، نمونهٔ اول دارای غلظت نقرهٔ کمتری است (۲ سی‌سی از محلول کلوئیدی) درنتیجه شاید بتوان این‌طور استدلال کرد که در این نمونه به‌علت غلظت کم در زمان حرارت‌دهی و رشد جزیره‌ای ذرات نقره، اتصال جزیره‌ای به‌طور کامل اتفاق نمی‌افتد و حدفاصل این جزیره‌ها دره‌هایی پدید می‌آید که مادهٔ هدف با قرارگرفتن در این دره‌ها دراحاطهٔ کامل ذرات نقره قرار می‌گیرد و شدت سیگنال رامان به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. ازآنجاکه تعداد این دره‌ها به‌علت عدم اتصال کامل جزیره‌ها در نمونهٔ H_1 بیشتر از نمونهٔ H_2 است، ارتقاء بیشتری در سیگنال رامان ایجاد می‌شود. در نمونهٔ N_2 و به‌علت تبخیر آب و PVP

در اثر حرارت، خلل‌وفرجی برروی سـطح ایجاد می‌شود و ازآنجاکه سطح این نمونه برعکس نمونه‌های قبلی دارای ناهمواری‌های اولیه با شکل‌های تصادفی نیسـت، در اثر حرارت‌دهی سـاختار متخلخل تقریباً یکنواختی برروی سـطح ایجـاد می‌گردد. امکان دارد این پدیده باعث ارتقاء شـدت سـیگنال در این نمونه باشـد. اگر هدف، یافتن ارتعاشـات مولکولی باشد اسـتفاده از نمونهٔ H_1 در حسـگر SERS بهتر اسـت ولی اگر هدف تنها آشکارسازی مولکول باشد، نمونهٔ N_2 به‌علت ایجاد ارتقاء بیشتر مطلوب‌تر است.

طیـف UV/Vis/NIR مربـوط بـه کلوئید نقـره نشـان می‌دهد که طول‌موج بیشـینهٔ جـذب در ۴۳۰ نانومتر رخ می‌دهـد. همچنین نتایج طیف UV/Vis/NIR مربوط به زیرلایه‌های شیشـه‌ای پوشش داده‌شده با نانوسـاختارهای متخلخل نقره نشـان می‌دهد که بیشـینهٔ جذب آن‌ها بسـته به میزان غلظت محلول نقرهٔ لایه‌نشانی‌شده و سطح اولیهٔ شیشه‌ها (سطح حکاکی‌شـده و سـطح طبیعی) مقادیر متغیری دارد. به‌طوری‌که برای نمونهٔ H_1 بیشینهٔ جذب در ۴۲۵ نانومتر و برای نمونهٔ H_2 در ۴۲۸ نانومتـر و برای نمونهٔ N_2 در ۴۳۵ نانومتر اتفاق می‌افتد. همچنین تفاوت در بیشـینهٔ جذب ذرات نقره در محلول کلوئیدی و در حالتی‌که به‌صورت یک پوشش برروی شیشه قرار دارند، به‌خوبی دیده می‌شود. که این پدیده نشان‌دهندهٔ تأثیر فرآیند حرارت‌دهی برروی اندازهٔ ذرات نقره است. نتایج ارائه‌شـده باتوجه به داده‌های دریافت‌شدهٔ طیفی و انجام مکرر آزمایش‌ها تنظیم گردیده اسـت و قابلیت تکرارپذیری مناسبی را دراین زمینه تأیید می‌نماید.

بـا درنظرگرفتن داده‌های ارائه‌شـده در این تحقیـق، می‌توان به جرأت ادعـا نمود که اسـتفاده از حسـگرهای زیسـتیSERS ساخته‌شـده از نانوسـاختارهای متخلخل رشـدیافته برروی بسـترهای شیشه‌ای به‌علت سـادگی فرآیند سـاخت، کم‌هزینه‌بـودن و قابلیت آشکارسـازی مواد با غلظت‌هـای کـم، روش نوینـی برای تشـخیص زودهنـگام بیماری‌های متابولیکی ارائه می‌دهد. پیش‌بینی می‌گردد که روش ارائه‌شـده می‌تواند بـرای شناسـایی و تجزیه‌وتحلیل نمونه‌ها و بیماری‌های دیگر زیسـتی و پزشکی که در آن‌ها مولکول‌هایی در غلظت‌های کم وجود دارند و یا ایجاد می‌شوند با حساسیت زیاد به‌کار گرفته‌شود.

References:

1. Wang LR, Fang Y. Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Spctrochimica Acta Part A, 2006; 63: 614-8.

2. Vo-Dinh T.Surface-enhanced Raman spectroscopy using metallic nanostructures, Trends in Analytical Chemistry, 1998; 17: 557.

3. Canamares MV, Ramos JVG., Sanchez S, Cortes SS, Castillejo M, Qujja 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.

4. Aroca R. Surface-Enhanced vibrational Spectroscopy, John Wiley, England 2006.

5. Lin CC. A filter-likeAuNPs@ MSSERSsubstratefor Staphylococcus aureus detection, Biosensorsand Bioelectronics. 2014; 53: 519-27.

6. McAughtrie S, Faulds K., Graham, D. Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS): Potential applications for disease detection and treatment, Journal of Photochemistry and Photochemistry, 2014; 21: 40-53.

7. Wu Z. A simple and universal “turn-on” detection platform for proteases based on surface enhanced Raman scattering (SERS), Biosensorsand Bioelectronics, 2015; 65: 375-81.

8. Shotelersuk V. Establishing gas chromatography-mass spectrometry to diagnose organic acidemias in Thailand, Souteheast Asian J Trop MED Public Health, 2000; 31(3): 566-70.

9. Banta-Wright AS, Steiner R, Robert DS. Tandem Mass Spectrometry in Newborn Screening, A Primer for Neonatal and Perinatal Nurses, Journal of Perinatal and Neonatal Nursing, 2004; 18(1): 41-58.

10. Skoog DA, West Holt DM, Principle of Instrumental Analysis, Saunders College Publishing, Sixth edition, 1994.