

تشخیص ارتعاشات مولکولی داروی سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin) با استفاده از بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به عنوان حسگر رامن بهبودیافته سطحی (SERS)

چکیده

معصومه مظفری^۱
وحید اسکندری^۲
امین هادی^{۳*}

مقدمه: سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin (CIP)) یک آنتی‌بیوتیک نسل سوم فلوروکینولون بسیار فعال با طیف گسترده‌ای از فعالیت ضدباکتریایی است که برای کاربردهای مربوط به پزشکی انسانی و هم دامپزشکی تولید و مصرف می‌شود. مقدار زیادی از CIP از طریق ادرار دفع می‌شود، به همین دلیل از طریق فاضلاب شهری، صنایع داروسازی، فعالیت‌های دامداری و فاضلاب کشاورزی وارد محیط زیست می‌شود و اثرات مخربی را به همراه دارد. بنابراین، تشخیص سریع و دقیق داروی CIP در بسیاری از زمینه‌ها مخصوصاً برای سلامتی انسان بسیار مهم است.

روش بررسی: برای شناسایی داروی CIP جهت کنترل بیماری‌های ناشی از آن از زیرلایه‌های کاغذی فیلتری پوشش داده‌شده با نانوذرات نقره به عنوان حسگر زیستی طیف‌سنجی رامن بهبودیافته سطحی (SERS) استفاده شد. ابتدا نانوذرات نقره با استفاده از روش شیمیایی تولنز تهیه شدند و سپس به روش غوطه‌وری بروی زیرلایه‌های کاغذی فیلتری پوشش داده شدند تا بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به عنوان حسگر زیستی SERS، در جهت شناسایی ارتعاشات مولکولی داروی CIP ساخته شوند. از آنالیزهای طیف‌سنجی فرابنفش مرئی (UV-Vis)، پراش اشعه ایکس (XRD)، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) و پراکندگی دینامیکی نور (DLS)، مشخصه‌های نانوذرات نقره ساخته‌شده بررسی شدند.

یافته‌ها: حد تشخیص بسترهای پلاسمونیک SERS، برای شناسایی داروی CIP ۷-۱۰ مولار به دست آمد. میانگین انحراف استاندارد نسبی (RSD)، برای شش اندازه‌گیری مکرر ۴/۳۸ درصد محاسبه شد. با کاهش غلظت محلول به ۷-۱۰ مولار، شدت مدهای رامن بسیار کاهش یافت به نحوی که تنها برخی قله‌ها مشخص هستند. فاکتور بهبود بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS برای شناسایی ارتعاشات مولکولی داروی CIP به صورت تجربی ۱۰۷*۱/۴۶۰ محاسبه گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج رامن به دست آمده نشان می‌دهد که بسترهای پلاسمونیک فعال SERS تهیه‌شده از نانوذرات نقره برای تشخیص داروی CIP با روش‌های توسعه یافته نتایج امیدوارکننده‌ای را برای مطالعات مبتنی بر SERS نشان می‌دهد و می‌تواند منجر به توسعه حسگرهای نانویی می‌شوند. همچنین بسترهای پلاسمونیک فعال SERS، قابلیت بازیافت، تکرارپذیری و پایداری شیمیایی قابل توجهی را دارا هستند. در نتیجه، نانوذرات نقره را می‌توان به عنوان یک بستر بالقوه SERS برای تشخیص داروی CIP در غلظت بسیار کم استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، زیرلایه‌های کاغذی فیلتری، داروی سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin (CIP))، طیف‌سنجی رامن بهبودیافته سطحی (SERS)، بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS.

- ۱- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
- ۲- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
- ۳- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

نویسنده مسئول: امین هادی
پست الکترونیک:

amin.hadi@yums.ac.ir

۰۹۱۲۸۹۲۰۳۴۱

شماره تماس:

مقدمه

یکی از روش‌های کارآمد برای مطالعه غلظت‌های پایین و تشخیص حتی تک‌مولکول، روش پراکندگی رامان بهبودیافته سطحی (SERS)^۱ است [۱]. SERS به دلیل حساسیت فوق‌العاده بالا (تک‌مولکولی)، اختصاصیت منحصر به فرد «اثر انگشت» و آنالیز غیر مخرب در سنجش مولکولی به یکی از تکنیک‌های تحلیلی همه‌کاره و قدرتمند تبدیل شده است [۲]. این مزیت‌های منحصر به فرد، SERS را به ابزاری امیدوارکننده در شاخه‌های مختلف علوم تحلیلی، مانند نظارت بر محیط زیست، آنالیز مواد غذایی، آنالیز سطح، تشخیص بیماری و غیره تبدیل می‌کند [۲-۴]. این مساله کاملاً بدیهی شده است که بهبود کارآمد زیرلایه‌های SERS نقش حیاتی در دستیابی به این کاربردهای پیشرفته ایفا می‌کنند. تاکنون انبوهی از زیرلایه‌ها با اجزاء، ساختارها و آرایش‌های مختلف ساخته شده‌اند که این مطالعات در حال انجام هستند و ادامه دارند. جستجوی مواد جدید (نیمه‌رسانا) [۵]، گرافن [۶]، چارچوب آلی فلزی [۷] و غیره برای دستیابی به افزایش سیگنال رامان همیشه موضوع مهمی در تحقیقات SERS است و چندین بررسی عالی در مورد این موضوع منتشر شده است [۸-۱۰]. اگرچه بسیاری از میکرونانوساختارهای پیشرفته Au/Ag یا ترکیبی از آنها با مواد دیگر برای آنالیز SERS توسعه یافته‌اند، اکثر آنها فقط نمونه اولیه هستند که در آنالیز آزمایشگاهی استفاده می‌شوند. ساخت این زیرلایه‌ها اغلب به تجهیزات پیچیده یا مهارت‌های بالا یا هزینه زیادی نیاز دارد که تولید انبوه را سخت می‌کند و بنابراین برای آنالیز عملی در دسترس نیست. علاوه بر اکتشاف مواد تشکیل دهنده جدید، توسعه زیرلایه‌های انعطاف‌پذیر و آسان آماده در سال‌های اخیر به یک روند جدید در تقاضای آنالیز عملی تبدیل شده است [۱۱-۱۳]. پیرامون این موضوع، زیرلایه SERS مبتنی بر کاغذهای فیلتری توجه زیادی را به خود جلب کرده است. نانوذرات طلا یا نقره که با سنتز شیمیایی تهیه می‌شوند، می‌توانند بر روی ماتریس انعطاف‌پذیر جذب‌شده یا روی آن مونتاژ شوند تا زیرلایه انعطاف‌پذیر را تشکیل دهند. این زیرلایه دارای مقاومت مکانیکی خوبی است، کارایی بالایی در جذب و شناسایی هدف در سطوح ناهموار نشان می‌دهد و می‌تواند به اندازه و شکل دلخواه برش داده شود و به راحتی با سایر ساختارها یا دستگاه‌ها

ادغام شود. به همین دلیل است که زیرلایه‌های انعطاف‌پذیر برای پیشبرد کاربردهای دنیای واقعی فناوری SERS حائز اهمیت هستند. در حال حاضر، زیرلایه‌های انعطاف‌پذیر SERS عمدتاً از جنس کاغذهای فیلتری [۱۴-۱۵]، پلیمرهای انعطاف‌پذیر [۱۶]، نانولوله‌های کربنی و مواد گرافنی [۱۷] هستند. زیرلایه‌های انعطاف‌پذیر SERS به طور گسترده توسعه داده شده‌اند و پیشرفت آنها با چندین مطالعه مروری خوب منتشر شده در سال‌های اخیر خلاصه شده است [۱۱-۱۳، ۱۹، ۱۸]. در مقایسه با کاغذهای فیلتری از نظر اجزای تشکیل دهنده و ساختار متنوع‌تر، از نظر مکانیزم قوی‌تر، با فیلتراسیون سریع و با حجم زیاد کارآمدتر است [۲۰]. علاوه بر این، می‌توان از فیلتراسیون برای دستیابی به مونتاژ سریع و یکنواخت ذرات پلاسمونیک روی کاغذهای فیلتری یا ماتریس دیگر استفاده کرد. این ویژگی‌ها تضمینی برای به دست آوردن سیگنال SERS بسیار حساس و تکرارپذیر است که برای آنالیز کمی و عملی اهمیت دارد. بنابراین، زیرلایه SERS مبتنی بر کاغذهای فیلتری با آینده‌نگری فوق‌العاده‌ای توسعه یافته است و توجه محققان بسیاری را به این حوزه جلب کرده است. این سیستم‌ها در نظارت بر محیط زیست، آنالیز مواد غذایی و غیره امیدوارکننده به نظر می‌رسند [۲۰]. سیروفلوکساسین

(Ciprofloxacin (CIP)) یک آنتی‌بیوتیک نسل سوم فلوروکینولون بسیار فعال با طیف گسترده‌ای از فعالیت ضدباکتریایی است که برای اولین بار در سال ۱۹۸۷ معرفی شد و هم برای کاربردهای مربوط به پزشکی انسانی و هم دامپزشکی تولید و مصرف می‌شود [۲۱-۲۲]. به دلیل هزینه کم، سهولت استفاده و اثربخشی درمانی بالا، CIP به طور گسترده برای درمان بیماری‌های گوارشی ناشی از باسیل‌های گرم منفی و گرم مثبت در حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۳]. به عنوان یک آنتی‌بیوتیک سنتزی رایج، CIP در برابر طیف وسیعی از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعال است [۲۴]. به دنبال سوءمصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، CIP نیز به ویژه در اروپا به شدت مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۵]. به عنوان مثال، مصرف سالانه CIP آلمان ۳۳ تن در سال ۲۰۰۹ بود [۲۶]. مقدار بیشتری از CIP در انسان از طریق ادرار دفع می‌شود، به همین دلیل از طریق فاضلاب شهری، صنایع داروسازی، فعالیت‌های دامداری و فاضلاب کشاورزی وارد محیط زیست می‌شود [۲۷]. تجزیه زیستی

² C₁₇H₁₈FN₃O₃

¹ Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)

۱- بخش تجربی

۱-۱- مواد شیمیایی

جدول ۱-، لیست مواد شیمیایی استفاده شده در این پژوهش را نشان می دهد.

جدول ۱. مواد شیمیایی مورد استفاده در تحقیق حاضر.

مواد	فرمول شیمیایی	جرم مولی (g/mol)	درصد خلوص (%)	شرکت
نیتрат نقره	AgNO ₃	169.87	≥ 99.95	سیگما آلدريج
ساکاروز	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.30	≥ 99.98	سیگما آلدريج
پتاسیم هیدروکسید	KOH	56.100	≥ 99.98	سیگما آلدريج
آمونیا	NH ₄ OH	17.031	≥ 99.99	سیگما آلدريج
نیتريك اسید	HNO ₃	63.01	≥ 99.99	سیگما آلدريج
سیپروفلوکساسین	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	365.4	≥ 99.99	سیگما آلدريج
استون	CH ₃ COCH ₃	58.090	≥ 99.95	مرک
اتانول	C ₂ H ₅ OH	46.069	≥ 99.95	مرک
هیدروژن فلورید	HF	20.01	≥ 99.96	مرک
کاغذ فیلتری (اندازه ۲-۳ میکرون)	---	---	---	شرکت واتمن

۲-۱- روش سنتز نانوذرات نقره و نحوه تهیه بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری SERS

پروسه تولنز شامل سه محلول آبی است: ۲۰ میلی لیتر محلول نقره نیترات ۰/۲ مولار، محلول فعال کننده: ۲۰ میلی لیتر محلول پتاس ۰/۵ مولار و محلول کاهنده: ۴۰ میلی لیتر محلول سوکروز ۰/۷ مولار که با ۱۶ قطره اسید نیتريك، اسیدی می شود. این محلول باید حرارت ببیند تا حجم آن نصف شود. به محلول نیترات نقره به آرامی و قطره قطره آمونیا اضافه می شود که ابتدا رنگ محلول را قهوه ای می کند و با اضافه کردن آمونیایی بیشتر دوباره رنگ محلول بی رنگ و شفاف می شود که نشان دهنده تشکیل کمپلکس $Ag(NH_3)_2^+$ است. این کمپلکس احیا نقره را آسان تر می کند. سرعت احیای نقره به PH محلول بستگی دارد و برای تنظیم PH و قلیایی کردن محیط واکنش به آرامی و قطره قطره محلول پتاس به محلول آمونیایی نقره

CIP در سیستم آبی فرآیند دشواری است [۲۸] و باعث می شود که CIP در محیط زیست و در سطح بالایی باقی بماند [۲۹]. با توجه به مقادیر زیاد از CIP در محیط زیست و اثرات سمی آن [۳۰] روی انسان، حیوانات، گیاهان و باکتری ها [۳۱]، اتحادیه اروپا و بسیاری از کشورها قبلاً استانداردهایی را برای حداکثر مقدار باقیمانده CIP (MRLs)^۱ در آب های محیطی تدوین کرده اند [۳۲]. با توجه به خطر بالقوه CIP برای محیط زیست و انسان ها، تشخیص و آنالیز CIP در محیط زیست به امری ضروری تبدیل شده است. بنابراین، در راستای این هدف، توسعه و استفاده از روش های شناسایی ارزان، ساده و تایید شده برای شناسایی CIP در محیط زیست بسیار حائز اهمیت می باشد [۳۳]. علیرغم حساسیت بالای این روش ها در آشکارسازی مقادیر بسیار اندک از آلاینده ها، این تکنیک ها به فرآیندهای پیچیده آماده سازی نمونه و همچنین اپراتورهای متخصص و آموزش دیده نیاز دارند که استفاده گسترده از آنها را محدود می سازد [۳۴]. در این مطالعه برای حل این مشکلات و غلبه بر معایب ذکر شده در بالا، نانوذرات نقره تهیه شده به صورت ماده فعال در جهت ساخت بسترهای پلاسمونیک فعال SERS به عنوان یک جایگزین بومی برای سیستم های کروماتوگرافی برای تشخیص سریع و آسان آنتی بیوتیک ها استفاده شد. نانوذرات نقره به عنوان ماده فعال SERS در این مطالعه انتخاب شدند. ابتدا، نانوذرات نقره سنتز شدند و با استفاده از آنالیزهای طیف سنجی فرابنفش - مرئی (UV-Vis)، پراش اشعه ایکس (XRD)، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) و پراکندگی دینامیکی نور (DLS)، مشخصه های نانوذرات نقره ساخته شده بررسی شدند. در ادامه، با استفاده از روش غوطه وری نانوذرات نقره بر روی بسترهای کاغذی فیلتری لایه نشانی شدند و در نتیجه بسترهای پلاسمونیک فعال SERS با قدرت چسبندگی مکانیکی بالا، سریع و کم هزینه تهیه شدند تا از آنها برای شناسایی ارتعاشات مولکولی داروی CIP در غلظت های پایین استفاده شود. حساسیت بسترهای پلاسمونیک فعال SERS تهیه شده از نانو ساختارهای نانوذرات نقره برای داروی CIP 10^{-7} مولار است.

¹ Maximum Residue Limits

اشعه ایکس مدل Philips X'pert Pro ساخت کشور هلند با منبع لامپ آند مسی Cu K α با طول موج $\lambda=1.5406 \text{ \AA}$ استفاده شد. مورفولوژی و ریخت‌شناسی نانوذرات نقره سنتز شده و نانوذرات نقره لایه‌نشانی شده روی زیرلایه کاغذی فیلتری توسط دستگاه Field Emission Scanning Electron Microscopes (FE-SEM) مدل Mira-Xmu مورد بررسی قرار گرفت برای آماده‌سازی نمونه تصویر برداری، پودر نانوذرات نقره و بسترهای کاغذی فیلتری پوشش داده شده با نانوذرات نقره با لایه بسیار نازکی از طلا پوشش داده می‌شود تا باعث رسانای سطحی شده طوری که مسیر باریکه‌های الکترونی برگشتی را تغییر ندهد همچنین پودر نانوذرات نقره بایستی روی یک سطح هادی که بیشتر از جنس آلومینیوم است پخش شده باشد. برای تعیین اندازه و توزیع پراکندگی نانوذرات نقره سنتز شده، از دستگاه TEM) Transmission electron microscopy (مدل LEO-912AB با ولتاژ اعمالی 120 kV برای گسیل اشعه الکترونی استفاده شد. تصاویر Atomic force microscopy (AFM) بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS نیز با استفاده از دستگاه AFM مدل FemtoScan ساخت کشور روسیه بررسی شد. از آنالیز پراکندگی دینامیکی نور (DLS) برای توزیع اندازه نانوذرات نقره در کلونید استفاده شد که این عمل با استفاده از دستگاه Zetasizer Nano-ZS ساخت شرکت مالورن انگلستان تعیین گردید. اندازه‌گیری‌ها در دمای اتاق و با طول موج ۶۳۳ نانومتر لیزر He-Ne صورت گرفت. از دستگاه طیف‌سنجی رامان کانفوکال اسپکترومیکروسکوپی (Confocal Raman Spectroscopy)، مدل Lab Ram HR ساخت شرکت Horiba-ژاپن با تابش نور لیزر، با طول موج ۶۳۳ نانومتر و توان خروجی ۱۷ میلی‌وات برای اندازه‌گیری طیف رامان و طیف SERS نمونه‌ها استفاده شد.

اضافه می‌شود که باعث کدر شدن محلول می‌شود و نشان‌دهنده تشکیل رسوب اکسید نقره است. دوباره به آن قطره‌قطره آمونیا اضافه می‌شود تا رسوبات حاصل، حل شده و محلول شفاف و بی‌رنگ شود. این محلول به‌دست آمده خاصیت انفجاری دارد و نباید مدت زیادی از تهیه آن بگذرد. با قراردادن نمونه‌های مورد نظر کاغذهای فیلتری در این محلول آماده‌شده و اضافه کردن محلول کاهنده، نقره روی سطح کاغذهای فیلتری احیا می‌شود و لایه نازک و یکنواختی از نقره روی کاغذهای فیلتری و ظرف محلول تشکیل می‌شود. در محلول رسوبات اکسید نقره نیز داریم که در لایه‌لایه کاغذهای فیلتری نفوذ کرده‌اند و با اولتراسونیک می‌توان به راحتی آنها را از میان و سطح کاغذهای فیلتری جدا کرد. در این تحقیق از آب DI، $18/2 \text{ M}\Omega$ استفاده شده است. پروسه تولنز باید در تاریکی انجام شود [۳۵]. همچنین تمیزی سطوحی که روی آنها لایه‌نشانی صورت می‌گیرد حائز اهمیت است. پس، برای تمیز کردن الیاف کاغذهای فیلتری از اسید هیدروژن فلورید، استون و اتانول، استفاده شد. برای آشکارسازی داروی CIP، غلظت‌های 10^{-1} تا 10^{-7} مولار از آن با محلول آب DI تهیه شد. به‌صورت جداگانه هر کدام از غلظت‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه میکروپیپت به حجم ۱۰ میکرولیتر به روش قطره‌افشان، بروی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS لایه‌نشانی شد. پس از خشک شدن داروی CIP، لایه‌نشانی شده به روی بستر کاغذهای فیلتری و بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS در حضور هوا، طیف رامان و طیف SERS داروی CIP، اندازه‌گیری و تحلیل و بررسی شدند.

۳-۱- مشخصه‌یابی

طیف جذبی نانوذرات نقره سنتز شده به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر جذب Ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) از نوع Scan Drop محصول شرکت analyticgena کشور آلمان انجام شد. برای تعیین فازهای بلورین (کریستالی) نانوذرات نقره سنتز شده، همچنین اندازه‌گیری ثابت‌های کریستالی نانوذرات نقره و محاسبه سایز بلورک‌ها از الگوی پراش اشعه ایکس، X-ray Powder Diffraction (XRD) نمونه‌ها استفاده شد. برای تهیه الگوی پراش اشعه ایکس از دستگاه پراش‌سنج پودری

نتایج و بحث

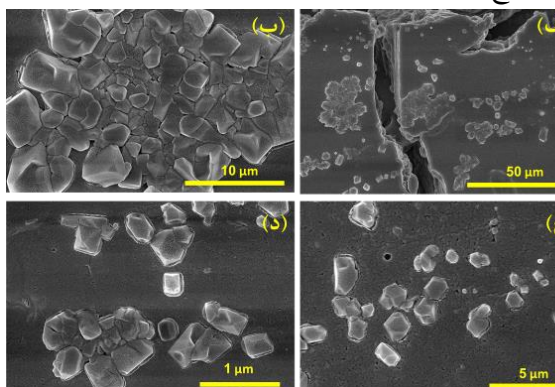
طیف‌سنجی اسپکتروفتومتری UV-Vis، آنالیز DLS، ارزیابی طیف XRD و تصویر TEM نانوذرات نقره سنتز شده و بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS

در اثر احیای یون‌های نقره و تولید نانوذرات نقره، رنگ نمونه‌ها از زرد کم‌رنگ به سبز تیره تبدیل شد که با منابع هم‌خوانی داشت و نشان‌دهنده تولید سوسپانسیون کلونیدی نانوذرات نقره بود. جهت اثبات وجود نانوذرات نقره در نمونه‌ها، طیف UV-Vis، از آنها تهیه شد. یکی از جالب‌ترین ویژگی‌های نانوذرات فلزی خواص نوری آنها بوده، که متناسب با شکل و اندازه نانوذرات تغییر می‌کند. در نانوذرات فلزی تشدید پلاسمون سطحی مسئول خواص نوری منحصر به فرد آنهاست که تحت فاکتورهایی از قبیل اندازه نانوذرات، شکل نانوذرات، فاصله آنها از همدیگر و ضریب شکست محیط پیرامون تغییر می‌کند [۳۶]. با توجه به اینکه نانوذرات نقره بین ۴۰ تا ۵۰ نانومتر جذب نور دارند، شکل ۱ (الف) نشان می‌دهد که مشخصه باند جذب تشدید پلاسمون سطحی در ۴۴۲ نانومتر برای نانوذرات نقره رخ داده است. بنابراین وجود پیک در این محدوده که با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش تشخیص آن وجود دارد گامی در جهت ثابت کردن سنتز شدن نانوذرات نقره می‌باشد. جابه‌جاشدن پیک‌ها و تغییر در شدت آنها و ایجاد تغییرات در رنگ‌های مشاهده شده عواملی هستند که به اندازه نانوذرات وابسته‌اند. به بیان دیگر ویژگی‌های نوری نانوذرات نقره به شدت وابسته به قطر نانوذرات است. در طیف UV-Vis قله موجود در ناحیه ۴۴۲ نانومتر با جذب بالا دیده می‌شود که خواص نانوذرات نقره می‌باشد. همچنین رنگ سبز تیره بسته به شدت رنگ و اندازه نانوذرات نقره در محیط به وجود آمده است [۳۶-۳۷]. مشاهده یک قله جذبی در طیف‌های جذبی نانوذرات پلاسمونیک مانند طلا و نقره بیانگر کروی یا شبه‌کروی بودن نانوذرات است [۳۸]. طیف‌سنجی UV-Vis، می‌تواند روشی ساده و قابل اعتماد برای نظارت بر پایداری محلول‌های نانوذرات مورد استفاده قرار گیرد. اما زمانی که نانوذرات بی‌ثبات شوند پیک اصلی به دلیل تخلیه نانوذرات پایدار به شدت کاهش می‌یابد. طیف پراکندگی دینامیکی نور (DLS) نشان‌دهنده توزیع اندازه ذرات می‌باشد. آنالیز DLS برای اندازه‌گیری اندازه نانوذرات نقره در محیط مایع مورد استفاده

قرار گرفت [۳۹-۴۰]. این روش برای تعیین اندازه ذرات در محدوده چند نانومتر تا میکرون به کار می‌رود. در شکل ۱ (ب)، با توجه به نمودار پراکندگی اندازه ذرات، محدوده اندازه تمام ذرات بین ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر است که ۱۰۰ درصد از این نانوذرات زیر ۱۰۰ نانومتر هستند. با توجه به شکل ۱ (ب)، بیشترین توزیع فراوانی اندازه نانوذرات نقره ۴۰ تا ۵۰ نانومتر هستند. قطر به‌دست‌آمده با این روش، مربوط به کره‌ای با ضریب انتقالی معادل ذره مورد اندازه‌گیری است. ضریب نفوذ انتقالی به اندازه ذره، ساختار سطحی، غلظت و نوع یون‌های موجود در محیط بستگی دارد. این بدین معناست که اندازه به‌دست‌آمده با این روش می‌تواند بزرگ‌تر از مقدار حاصل از روش میکروسکوپ الکترونی باشد. آنالیز XRD، برای تعیین ساختار اتمی، تعیین بلورینگی، اندازه حوزه کریستالی مواد استفاده می‌شود که برای بررسی تشکیل شدن و نوع فاز جامدات روشی مطمئن و قابل اعتماد است. شکل ۱ (ه)، الگوی XRD، کاغذ فیلتری به‌عنوان زیرلایه‌های SERS است همان‌طور که مشاهده می‌شود پیکی که در زاویه ۱۵/۹۸ مشاهده می‌شود تشکیل ساختار کاغذ فیلتری را نشان می‌دهد [۴۱]. شکل ۱ (د)، الگوی XRD، نانوذرات نقره سنتز شده را نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۱ (د)، پیک‌هایی در زوایای ۲θ برابر با ۳۸/۲۲، ۴۴/۳۸، ۶۴/۵۸ و ۷۷/۴۹ درجه به ترتیب مربوط به صفحات بلوری تشکیل شده (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱)، که با فاز نقره فلزی مطابقت داشته و نشان‌دهنده تولید نانوذرات نقره با ساختار کروی با وجوه پر است. الگوی XRD، به‌وضوح نشان می‌دهد که نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی به‌صورت کریستال وجود دارند. شماره صفحات این الگو ساختار FCC نانوذرات نقره را نشان می‌دهند. از شکل ۱ (د)، می‌توان متوجه شد که شاخه‌های مرکزی طولانی به‌صورت واضح در جهت محور (۱۱۱)، رشد یافته‌اند. شکل ۱ (د)، همچنین بیان می‌کند که نانوذرات نقره از بلورینگی بالایی برخوردار است. شکل ۱ (ج)، الگوی XRD، بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS را نشان می‌دهد. از شکل ۱ (ج)، می‌توان متوجه شد که همه نانوذرات نقره یک قالب و ساختار دارند. شکل ۱ (ج)، همچنین بیان می‌کند که بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS از بلورینگی بالایی برخوردار است. با توجه به شماره صفحات

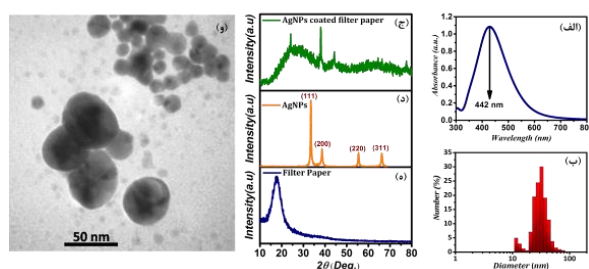
تصویر FE-EM نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی (تولنز) و با عامل کاهنده ساکاروز

از تصاویر FE-SEM، می توان برای تعیین اندازه، ریخت شناسی و مورفولوژی ذرات استفاده کرد. شکل ۲- (الف)، شکل ۲- (ب)، شکل ۲- (ج) و شکل ۲- (د)، به ترتیب تصاویر FE-SEM، نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی (تولنز) با عامل کاهنده ساکاروز را در اسکیل بار ۵۰ میکرومتر، ۱۰ میکرومتر، ۵ میکرومتر و ۱ میکرومتر، نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود نانوذرات نقره دارای ساختار کروی به صورت یکنواخت، غیر یکنواخت و به هم چسبیده هستند. از آنجاکه نانوذرات نقره به صورت محلول کلوییدی هستند در نتیجه برای رسوب گیری از آن به تجهیزات گران قیمت و زمان زیادی احتیاج بود. برای حل این مشکل و بررسی دقیق تر خواص، ویژگی ها، مورفولوژی و شکل نانوذرات نقره از دستگاه TEM هم در این پژوهش استفاده گردید. بسیاری از واکنش های ساخت نانوذرات نقره به روش شیمیایی در مقیاس آزمایشگاهی، به راحتی قابل ارتقاء به سطح تولید انبوه اقتصادی هستند و نیازی به تجهیزات پیشرفته ندارند. هر چند در عین سادگی، نیازمند دقت، زمان و نبوغ پژوهشگر است تا بتواند نانوذرات نقره کاملاً هم شکل و با توزیع اندازه کوچک و یکسان به دست آورد. نانوذرات نقره بسیار به تغییر شرایط آزمایش حساس می باشند. تغییرات بسیار اندک در دمای آزمایش، غلظت محلول های اولیه و نوع عامل کاهنده می توانند عامل ایجاد اشکال مختلفی غیر از کروی باشند. در این مقاله سعی بر ساخت نانوذرات نقره کاملاً هم شکل و با توزیع اندازه کوچک و یکسان شده است.



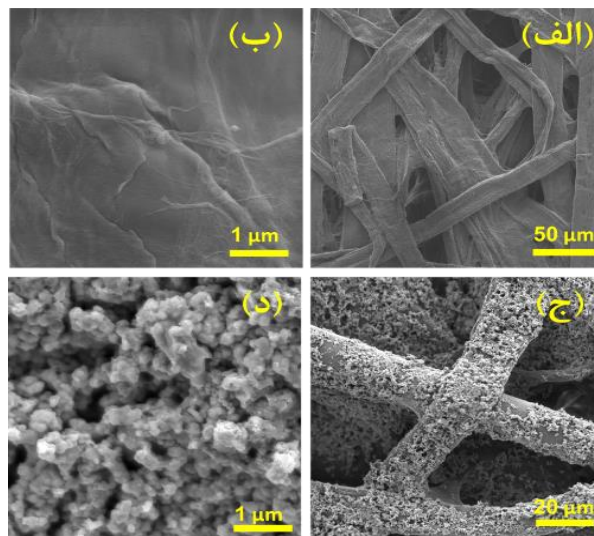
شکل ۲: (الف)، (ب)، (ج) و (د)، به ترتیب تصاویر FE-SEM، نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی (تولنز) با عامل کاهنده ساکاروز را در اسکیل بار ۵۰ میکرومتر، ۱۰ میکرومتر، ۵ میکرومتر، ۱ میکرومتر، نشان می دهد.

مشخص شد که نانوذرات نقره تشکیل شده بر روی کاغذهای فیلتری ساختار FCC دارند. متوسط اندازه دانه های واقع در صفحه (۱۱۱) با استفاده از رابطه ۱ (دبی- شرر)، $d_{XRD} = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos \theta}$ حدود ± 1 ۵۸ نانومتر به دست آمد. زاویه 2θ مربوط به صفحه (۱۱۱) برابر $38/21$ درجه با پهنای قله در نیمه ارتفاع (FWHM) 0.413 است. بزرگترین و اصلی ترین قله ها در زاویه با $38/21$ ، $44/51$ ، $64/43$ و $77/48$ ظاهر شد که به ترتیب مربوط به صفحات بلوری (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) است. صفحات بلوری ظاهر شده روی کاغذی فیلتری حضور نانوذرات نقره را تأیید می کند. همان طور که مشاهده می شود پیکی که در زاویه $15/98$ ظاهر شده است حضور ساختار کاغذ فیلتری به عنوان زیرلایه SERS را نشان می دهد [۴۱-۴۲]. شکل ۱ (و)، تصویر TEM نانوذرات نقره، که با عامل کاهنده ساکاروز، به روش شیمیایی (تولنز) ساخته شده است در اسکیل بار ۵۰ نانومتر را نشان می دهد. همان طوری که در شکل ۱ (و)، مشخص است نانوذرات نقره به شکل کروی و شبه کروی هستند. اندازه نانوذرات نقره با استفاده از نرم افزار (Digimizer)، اندازه گیری شد. توزیع اندازه های آن بین ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر بود. تعداد نانوذرات نقره با توزیع اندازه ۴۰-۵۰ نانومتر بیشتر از سایر اندازه های نانوذرات نقره است که به طور متوسط نانوذرات نقره سنتز شده اندازه ۴۰-۵۰ نانومتر دارند.



شکل ۱: (الف)، طیف جذبی UV-Vis، نانوذرات نقره سنتز با بیشینه جذب در طول موج ۴۴۲ نانومتر، (ب)، نمودار DLS، نانوذرات نقره سنتز شده، (ه)، طیف الگوی XRD، کاغذ فیلتری، (د)، طیف الگوی XRD، نانوذرات نقره سنتز شده، (ج)، طیف الگوی XRD بسترهای فعال انحطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به عنوان حسگر SERS، (و)، تصویر TEM نانوذرات نقره، ساخته شده به روش شیمیایی (تولنز) و با عامل کاهنده ساکاروز را نشان می دهد.

به عنوان حسگر SERS وجود دارد که برای اثر SERS افزایش یافته مفید خواهد بود.



شکل ۳: (الف) و (ب)، به ترتیب تصاویر FE-SEM، بستر کاغذی فیلتری در اسکیل بار ۵۰ میکرومتر و ۱ میکرومتر و (ج) و (د)، به ترتیب تصاویر FE-SEM، بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذی فیلتری به عنوان حسگر SERS در اسکیل بار ۲۰ میکرومتر و ۱ میکرومتر را نشان می دهد.

تصاویر AFM بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذی فیلتری به عنوان حسگر SERS

از آنالیز AFM، برای تشخیص رافنس (زبری) و توپوگرافی سطح بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذی فیلتری به عنوان حسگر SERS استفاده شد. از جمله کاربردها و مزیت های استفاده از AFM در تعیین ویژگی های نانوساختارهای جامد، عدم نیاز به تجهیزات گران قیمت برای آماده سازی نمونه و همچنین عدم نیاز به پمپ های گران قیمت جهت درست کردن خلا در زمان تصویربرداری است. از سوی دیگر میکروسکوپ نیروی اتمی که بررسی سه بعدی نانوساختارها را ممکن ساخته، می تواند مکمل مناسبی برای میکروسکوپ الکترونی باشد [۴۵]. شکل ۴- (الف) و شکل ۴- (ب)، به ترتیب تصویر AFM دوبعدی و سه بعدی و شکل ۴- (ج)، نمودار رافنس بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذی فیلتری به عنوان حسگر SERS را نشان می دهد. تجزیه و تحلیل آنالیز AFM همچنین حضور نانوذرات نقره بروی کاغذ فیلتری را به صورت خوشه ای نشان می دهد. با کشیدن خط سبز از قطر شکل ۴- (الف)، مشخصات مربوط به رافنس سطح بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذی فیلتری

تصاویر FE-EM بستر کاغذی فیلتری و بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذی فیلتری به عنوان حسگر SERS

شکل ۳- (الف) و شکل ۳- (ب)، به ترتیب تصاویر FE-SEM، بستر کاغذی فیلتری در اسکیل بار ۵۰ میکرومتر و ۱ میکرومتر را نشان می دهد. همان طور که به وضوح در شکل ۳- (الف) و شکل ۳- (ب)، مشخص است بسترهای کاغذی فیلتری دارای سطوح زبری و دارای شیارهای بزرگ و کوچکی هستند. از طرفی چون بسترهای کاغذی فیلتری زیست تخریب ناپذیرند و در طبیعت به راحتی تجزیه می شوند و از همه مهمتر به خاطر سطوح غیر یکنواخت زیر لایه ای مناسبی جهت ساخت حسگرهای پلاسمونیک SERS محسوب می شود. شکل ۳- (ج) و شکل ۳- (د)، به ترتیب تصاویر FE-SEM، بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذی فیلتری به عنوان حسگر SERS در اسکیل بار ۲۰ میکرومتر و ۱ میکرومتر را نشان می دهد. ساخت بستر فعال SERS، یکی از فرآیندهای مهم و کلیدی جهت استفاده در تجزیه و تحلیل مواد بیولوژیکی و مواد شیمیایی محسوب می شود. کاغذی فیلتری به دلیل جامد بودن، کم هزینه، قابلیت حمل، جذب خوب، به عنوان بستری مناسب جهت لایه نشانی نانوذرات به عنوان حسگر زیستی SERS محسوب می شود [۴۳]. همان طور که شکل ۳- (ج) و شکل ۳- (د)، مشخص است مقدار زیادی از نانوذرات نقره به طور یکنواخت روی بستر کاغذی فیلتری پراکنده شده اند تا جذب متراکم نسبتاً بالایی از نانوذرات نقره روی سطح بستر کاغذی فیلتری داشته باشند. شکل ۳- (د)، نشان می دهد که نانوذرات نقره در سطح بستر کاغذی فیلتری پراکنده و جذب شده و نقاط داغ را تشکیل می دهند، که نشان می دهد حتی اگر کاغذ دارای یک سطح با بار منفی ضعیف است (گروه های هیدروکسیل سلولز)، نانوذرات نقره را می توان بر روی سطح بستر کاغذی فیلتری توسط نیروی واندرواسی حفظ کرد [۴۴]. نانوذرات نقره تمایل به تجمع در سطح بستر کاغذی فیلتری دارند همان طور که در شکل ۳- (د)، با بزرگنمایی بیشتر دیده می شود. تصویر FE-SEM با بزرگنمایی بالا، خوشه ای از نانوذرات نقره را نشان می دهد (شکل ۳- (د))، که رزونانس پلاسمون سطح موضعی را منشا می گیرد و به نوبه خود باعث افزایش شدت SERS زیاد به دلیل تشکیل نقاط داغ می شود. به نظر می رسد که شکاف های بیشتری بین نانوذرات نقره در بستر بسترهای فعال انعطاف پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذی فیلتری

طیف رامان، طیف SERS، انحراف استاندارد نسبی (RSD) و منحنی کالیبراسیون تغییرات شدت SERS، بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS در جهت شناسایی ارتعاشات مولکولی داروی CIP

طیف رامان نانوذرات نقره پوشش داده‌شده روی کاغذهای فیلتری به عنوان حسگر SERS (منحنی سبز رنگ)، طیف SERS محلول ۰/۰۱ مولار از داروی CIP، لایه‌نشانی‌شده روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS (منحنی آبی رنگ) و طیف رامان داروی CIP، لایه‌نشانی‌شده روی کاغذهای فیلتری (منحنی قرمز رنگ) در شکل ۵-الف) نشان داده شده است. در طیف رامان داروی CIP، لایه‌نشانی‌شده روی کاغذهای فیلتری (منحنی قرمز رنگ) هیچ نوع ارتعاشی برای داروی CIP، دیده نشده است. بنابراین شناسایی این‌گونه شیمیایی حتی با طیف‌سنجی رامان در غلظت کمتر از ۰/۰۱ مولار ممکن نیست. با لایه‌نشانی‌کردن محلول داروی CIP، روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS ارتعاشات داروی CIP، مشاهده شده است [۴۷-۴۸]. ارتعاشات مولکولی داروی CIP و مقادیر جابه‌جایی (شیفت) رامان در طیف SERS این داروی CIP، در جدول ۳-۳ گزارش شده است.

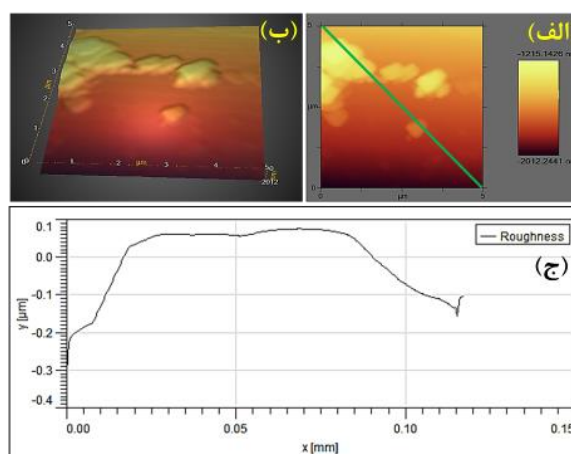
جدول ۳-۳ ارتعاشات مولکولی داروی CIP و مقادیر جابه‌جایی (شیفت) رامان در طیف SERS این داروی CIP.

ارتعاشات مولکولی	رامان شیفت (cm^{-1})
C-C stretch	۶۳۵
C-N stretch	۷۴۰
C-F bending	۸۹۲
O-C-O stretch	۹۴۴
C-C-O bending	۱۰۵۷
N-H bending	۱۰۹۹
C-F stretch	۱۱۲۸
CH ₃ bending	۱۲۹۴
C-C-O bending and methylene	۱۴۳۷
C=O stretch	۱۴۶۰
H-N-H bending	۱۶۰۸

به‌عنوان حسگر SERS با استفاده از نرم‌افزار Image Plus، (نسخه ۲/۹) محاسبه شد. پارامترهای توپوگرافی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS در جدول ۲-۲، مشاهده می‌شوند. پارامترهای جدول ۲-۲، تأیید می‌کند که زیرلایه‌های کاغذهای فیلتری با نانوذرات نقره تزئین شده‌اند. زبری سطحی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS ایجاد شده است؛ می‌تواند مراکز برای پراکندگی نور باشد و باعث تقویت سیگنال رامان شود [۴۶].

جدول ۲: مشخصات آنالیز AFM بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS را نشان می‌دهد.

میانگین عمیق‌ترین زبری	میانگین مرتفع‌ترین زبری	ریشه میانگین زبری مربع	میانگین زبری
Average maximum roughness valley depth	Average maximum height of the roughness	Root mean square roughness	Roughness Average
(R _{vm} , nm)	(R _{tm} , nm)	(R _q , nm)	(R _a , nm)
213.8	519.6	49.8	38.9



شکل ۴: (الف) و (ب)، به ترتیب تصویر AFM دوبعدی و سه‌بعدی و (ج)، نمودار رافنس سطح بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS را نشان می‌دهد.

داروی CIP، در غلظت ۷-۱۰ مولار با هم همخوانی دارند و تفاوت و جابجایی در پیک‌ها مشاهده نمی‌شود. به منظور ارزیابی تکرارپذیری آزمایش بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، در پیک‌ها با اعداد موجی ۱-۱۰۵۷ cm⁻¹ و ۱-۱۲۹۴ cm⁻¹، از انحراف استاندارد نسبی (RSD)، طبق رابطه ۳ استفاده شد [۵۲].

$$RSD = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (I_i - I)^2 / (n-1)}}{I}$$

(۳)

در رابطه ۳، n تعداد طیف‌های رامان بررسی شده است که برابر با ۶ است، I_i شدت سیگنال رامان در هر پیک و همچنین I متوسط شدت سیگنال رامان در پیک‌های مشخص شده است. باتوجه به شکل ۵-د)، تغییرات منحنی مربوط به ۶ آزمایش تکرار شده از غلظت ۷-۱۰ مولار در پیک‌های مشخص در اعداد موجی ۱-۱۰۵۷ cm⁻¹ و ۱-۱۲۹۴ cm⁻¹، مقدار انحراف استاندارد نسبی به ترتیب برابر ۴/۷۲٪، ۳/۱۱٪ و ۵/۳۲٪ است. علاوه بر این، شکل ۵-ه)، نمودار میله‌ای تغییرات RSD را برای هر عدد موجی نشان می‌دهد. متوسط انحراف استاندارد نسبی برابر با ۴/۳۸٪ است که نشان می‌دهد روش استفاده شده برای تعیین غلظت داروی CIP، از نظر آماری بازدهی بالایی دارد. روش‌های تجزیه‌ای متنوعی مانند: کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) (chromatographi chigh-performance liquid) [۵۲]، طیف‌سنجی جرمی کروماتوگرافی مایع (LC-MS) chromatography-mass spectrometry [۵۲]، برای تعیین غلظت داروی CIP، در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. معمولاً این روش‌ها (LOD) limit of detection کمی دارند و از طرف دیگر آماده‌سازی نمونه و زمان تست طولانی است که باعث می‌شود هزینه تست هم افزایش پیدا کند.

با بکاربردن بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، به دلیل پراکندگی نور از نقاط زیر روی بستر، سیگنال طیف رامان تقویت شده است. ذرات بزرگتر نقره در شکل شکل ۳-ج)، با پراکندگی نور لیزر برخورد کرده به داروی CIP، باعث تقویت سیگنال رامان شده‌اند. میدان الکتریکی قوی که اطراف نانوذرات نقره وجود دارد دلیل دیگری برای تقویت سیگنال رامان است. در واقع نانوذرات نقره در شکل ۳-ج)، مشابه یک لنز نوری عمل می‌کنند که نور لیزر تابیده‌شده را متمرکز می‌کنند. بنابراین شدت میدان الکتریکی اطراف نانوذرات افزایش پیدا می‌کند و داروی CIP که اطراف این نانوذرات قرار می‌گیرند میدان الکتریکی قوی را تجربه می‌کنند و بیشتر قطبیده می‌شوند و در نتیجه ارتعاشات مولکولی و سیگنال رامان تقویت خواهد شد [۴۹-۵۰]. طیف رامان داروی CIP لایه‌نشانی‌شده روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، را در غلظت بین ۱۰^{-۲} تا ۱۰^{-۷} مولار در شکل ۵-ب) نشان داده شده است. با کاهش غلظت داروی CIP با توجه به این که تعداد مولکول‌ها کم می‌شود، ارتعاشات مولکولی و شدت پیک نیز کاهش می‌یابد. بنابراین با کاهش غلظت، ارتعاشات کاهش می‌یابد و ارتعاشات مولکولی داروی CIP در غلظت کمتر از ۱۰^{-۷} مولار قابل شناسایی نیست. بنابراین بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، قابلیت شناسایی تا غلظت ۱۰^{-۷} مولار را دارند. شکل ۵-ج) منحنی کالیبراسیون شدت پیک برحسب غلظت داروی CIP را نشان می‌دهد که بهترین منحنی برازش‌شده برای این نمودار در رابطه ۲ داده شده است که ضریب همگرایی این رابطه برابر با ۰/۹۹۲۶۹ است.

$$I = 777.8 C + 5776.5 \quad (R^2 = 0.993) \quad (۲)$$

در ادامه برای ارزیابی تکرارپذیری آزمایش با بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، غلظت ۷-۱۰ مولار داروی CIP، ۶ مرتبه در یک روز تکرار شد. شکل ۵-د)، طیف رامان داروی CIP، در غلظت ۷-۱۰ مولار و حجم ۱۰ میکرولیتر در ۶ تکرار روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، را نشان می‌دهد. همان‌طور که نشان داده‌شده همه طیف‌های

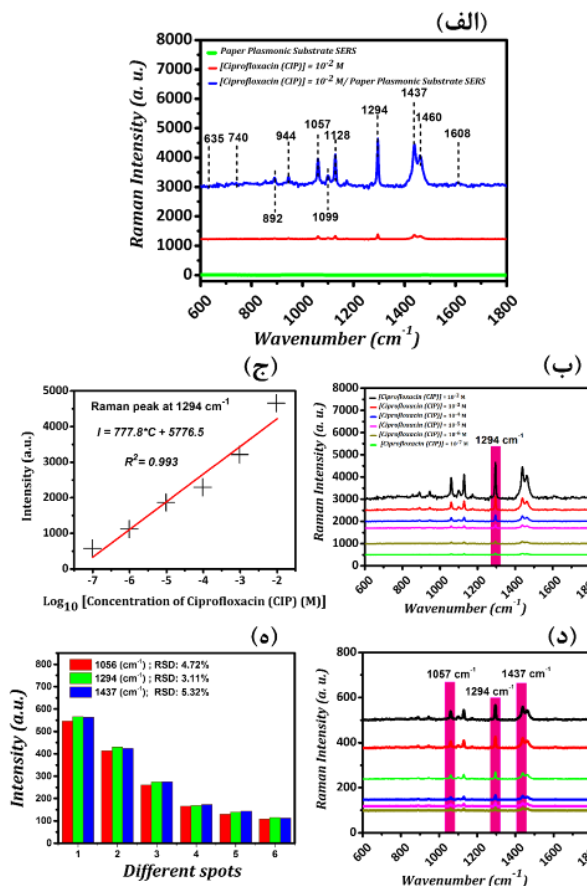
محاسبات آزمایشگاهی فاکتور تشدید بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، یک سنسور است که ارتعاشات مولکولی داروی CIP، لایه‌نشانی شده روی نانوذرات نقره پوشش داده‌شده روی کاغذهای فیلتری را ارزیابی می‌کند. این نوع بسترهای پوشش داده‌شده با نانوذرات برای محاسبه فاکتور تشدید (EF) طبق رابطه ۴ مورد استفاده قرار می‌گیرند [۵۳]:

$$EF_{exp} = \left(\frac{I_{SERS}}{I_{RS}} \right) \left(\frac{C_{RS}}{C_{SERS}} \right) \quad (۴)$$

که در این رابطه، ISERS شدت پیک SERS، IRS شدت پیک رامان معمولی، CRS غلظت داروی CIP، در تست رامان معمولی و CSERS غلظت داروی CIP، روی بستر SERS را نشان می‌دهد. در این مطالعه مقدار ISERS برای عدد موجی 1355 cm^{-1} و غلظت 10^{-6} مولار برابر با $1805/627$ است. مقدار IRS در غلظت 10^{-2} مولار برابر با $1236/250$ است. با استفاده از رابطه ۴ مقدار EF برابر با $1/460 \times 10^7$ است.

نتیجه‌گیری

با توجه به خطر بالقوه داروی CIP برای محیط زیست و انسان‌ها، تشخیص و آنالیز داروی CIP در محیط زیست به امری ضروری تبدیل شده است. بنابراین، در راستای این هدف، توسعه و استفاده از روش‌های شناسایی ارزان، ساده و تاییدشده برای شناسایی داروی CIP در محیط زیست بسیار حائز اهمیت می‌باشد. به‌منظور شناسایی و کنترل بیماری‌های متعدد که ناشی از داروی CIP، آشکارسازی این مولکول دارای اهمیت است. طیف‌سنجی رامان روشی غیرمخرب برای شناسایی و تشخیص گونه‌های مهم بیوشیمیایی (به‌ویژه پزشکی و زیستی) است. ساخت زیرلایه‌های فعال SERS، به‌علت سادگی فرآیند ساخت، کم‌هزینه‌بودن و قابلیت آشکارسازی مواد با غلظت‌های کم روش نوینی برای تشخیص مواد سمی، مواد مخدر، مواد شیمیایی سمی صنعتی، آنالیت‌های بیولوژیکی تجزیه‌وتحلیل گونه‌های زیستی و غیرزیستی دیگر در غلظت‌های کم است. توسعه زیرلایه جدید SERS همیشه یک موضوع داغ در تحقیقات SERS است. علاوه‌بر پیگیری ساختار اجزا و مونتاژ آنها، توسعه زیرلایه SERS انعطاف‌پذیر با عملکرد



شکل ۵: (الف)، طیف رامان نانوذرات نقره پوشش داده‌شده روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، (منحنی سبزرنگ)، طیف رامان محلول 10^{-2} مولار از داروی CIP، لایه‌نشانی‌شده روی کاغذهای فیلتری (منحنی قرمزنگ)، طیف رامان محلول 10^{-2} مولار از داروی CIP، لایه‌نشانی‌شده روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، (منحنی آبی‌نگ). (ب) - طیف رامان داروی CIP، در غلظت‌های مختلف روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS. (ج) - منحنی کالیبراسیون تغییرات شدت پیک مطابق با ارتعاشات مولکولی داروی CIP، لایه‌نشانی‌شده روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS، در عدد موجی 1294 cm^{-1} . (د) - طیف رامان ۶ نقطه تکرار شده از داروی CIP، در غلظت 10^{-7} مولار و حجم 10 میکرولیتر که RSD در اعداد موجی عدد موجی 1056 cm^{-1} ، 1294 cm^{-1} و 1437 cm^{-1} مقدار انحراف استاندارد نسبی به‌ترتیب برابر 4.72% ، 3.11% و 5.32% است. (ه) - نمودار میله‌ای تغییرات RSD داروی CIP، لایه‌نشانی‌شده روی بسترهای فعال انعطاف‌پذیر پلاسمونیک مبتنی بر کاغذهای فیلتری به‌عنوان حسگر SERS نسبت به تغییرات غلظت بین 10^{-2} تا 10^{-7} مولار.

چندگانه یک روند جدید در سال‌های اخیر بوده است. به‌طور خلاصه ما در این مقاله موفق به ساخت بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS مبتنی بر کاغذهای فیلتری با چندین ویژگی جذاب مانند آماده‌سازی ساده، عملیات آسان، هزینه کم، راندمان بالا در غلظت و جداسازی و زمان تشخیص کوتاه را از خود نشان می‌دهند شده‌ایم. با قراردادن داروی CIP در معرض تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات فلزی مانند نقره و پراکندگی نور از ذرات بزرگ فلزی، می‌توان سیگنال رامان را بهبود داد. بنابراین، ابتدا با استفاده از روش کاهش شیمیایی، نانوذرات نقره ساخته شد. با استفاده از روش غوطه‌وری نانوذرات نقره بر روی زیرلایه‌های کاغذی فیلتری لایه‌نشانی شدند. با قراردادن داروی CIP بر روی بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS مبتنی بر کاغذهای فیلتری و با تابش لیزر رامان سیگنال رامان به‌دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات نقره که در روش شیمیایی، از محلول بر روی سطح کاغذهای فیلتری، نشانده شده‌اند بهبود می‌یابد و موجب شناسایی ارتعاشات مولکولی داروی CIP شد. با مشاهده قله تشدید پلاسمونی محلول کلوییدی فاز آبی در ۴۴۲ نانومتر حضور نانوذرات نقره در محلول کلوییدی فاز آبی تایید شد. مورفولوژی و ریخت‌شناسی نانوذرات نقره سنتز شده و نانوذرات نقره لایه‌نشانی شده روی زیرلایه کاغذی فیلتری با استفاده از تصویر FE-SEM، مشخص گردید. با مشاهده تصاویر FE-SEM، نانوذرات نقره سنتز شده به شکل نانوذرات کروی غیریکنواخت هستند. در ادامه با مشاهده تصاویر FE-SEM، بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS مبتنی بر کاغذهای فیلتری نانوذرات کروی به‌صورت غیریکنواخت بروی زیرلایه‌های کاغذی فیلتری زبر و غیریکنواخت لایه‌نشانی شده‌اند. با استفاده از آنالیز XRD فازهای بلورین

(کریستالی) و همچنین ساختار FCC نانوذرات نقره سنتز شده و همچنین لایه‌نشانی شده بروی زیرلایه‌های کاغذی فیلتری به‌عنوان بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS تایید شد. تصاویر دوبعدی و سه‌بعدی بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS با استفاده از آنالیز AFM مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز AFM نشان داد که نانوذرات کروی نقره به‌صورت کروی غیریکنواخت بر روی کاغذ فیلتری با رافنس (زبری) زیاد قرار گرفته‌اند. حد تشخیص بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS برای شناسایی ارتعاشات مولکولی داروی CIP ۷-۱۰ مولار به‌دست آمد. میانگین انحراف استاندارد نسبی (RSD)، برای ۱۰ اندازه‌گیری از داروی CIP در غلظت ۷-۱۰ مولار ۴/۳۸ درصد محاسبه شد. فاکتور بهبود بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS برای شناسایی ارتعاشات مولکولی داروی CIP به‌صورت تجربی $107 \pm 1/46$ محاسبه گردید. در نتیجه، مشاهده گردید که با استفاده از بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS می‌توان انواع داروها را از جمله: داروی CIP را با حساسیت خیلی زیاد در غلظت‌های خیلی اندک تشخیص داد و روش SERS در مقایسه با روش‌هایی مانند MRLs روش ساده‌تر، سریع‌تر و ارزان‌تر است. بنابراین نتایج رامان به‌دست آمده نشان می‌دهد که بستر انعطاف‌پذیر پلاسمونیک فعال SERS به هدف تشخیص داروی CIP، با روش‌های توسعه یافته نتایج امیدوارکننده‌ای را برای مطالعات مبتنی بر SERS نشان می‌دهد و می‌تواند منجر به توسعه حسگرهای نانویی می‌شوند.

References:

1. Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman spectroscopy using metallic nanostructures, *Trends in Analytical Chemistry*, 1998; 17:557.
2. Fan MK, Andrade GFS, Brolo AG. A review on recent advances in the applications of surface-enhanced Raman scattering in analytical chemistry. *Anal Chim Acta*. 2020; 1097:1-29.
3. Schlücker S. Surface-enhanced Raman spectroscopy: concepts and chemical applications. *Angew Chem Int Ed*. 2014; 53(7):4756-95.
4. Wallace GQ, Masson J-F. From single cells to complex tissues in applications of surface-enhanced Raman scattering. *Analyst*. 2020; 145 (22):7162-85.
5. Yang B, Jin SL, Guo S, Yeonju P, Chen L, Zhao B, et al. Recent development of SERS technology: semiconductor-based study. *ACS Omega*. 2019; 4:20101-8.
6. Xu FG, Xie S, Cao RT, Feng YN, Ren CJ, Wang L. Prepare poly-dopamine coated graphene@silver nanohybrid for improved surface enhanced Raman scattering detection of dyes. *Sens Actuators B-Chem*. 2017; 243:609-16.
7. Lai HS, Shang WJ, Yun YY, Chen DJ, Wu LQ, Xu FG. Uniform arrangement of gold nanoparticles on magnetic core particles with a metal-organic framework shell as a substrate for sensitive and reproducible SERS based assays: Application to the quantitation of Malachite Green and thiram. *Microchim Acta*. 2019; 186:144.
8. Han XX, Ji W, Zhao B, Ozaki Y. Semiconductor-enhanced Raman scattering: active nanomaterials and applications. *Nanoscale*. 2017; 9 (15):4847-61.
9. Lai HS, Xu FG, Zhang Y, Wang L. Recent progress on graphene-based substrates for surface-enhanced Raman scattering applications. *J Mater Chem B*. 2018; 6:4008-28.
10. Lai HS, Li GK, Xu FG, Zhang ZM. Metal-organic frameworks: opportunities and challenges for surface-enhanced Raman scattering-a review. *J. Mater. Chem. C*. 2020; 8:2952-63.
11. Xu KC, Zhou R, Takei K, Hong MH. Toward flexible surface-enhanced Raman scattering (SERS) sensors for point-of-care diagnostics. *Adv Sci*. 2019; 6(16):1900925.
12. Restaino SM, White IM, A critical review of flexible and porous SERS sensors for analytical chemistry at the point-of-sample. *Anal Chim Acta*. 2019; 1060:17-29.
13. Tay L-L, Poirier S, Ghaemi A, Hulse J, Wang S, Paper-based surface-enhanced Raman spectroscopy sensors for field applications. *J Raman Spec*. 2021; 52:563-72.
14. Ying HN, Li D, George PS, Gil G. Gold nanoparticle-paper as a three-dimensional surface. *Langmuir*. 2012; 28:8782-90.
15. Zhao B, Lu Y, Zhang CY, Fu YZ, Moeendarbari S, Shelke SR, et al. Silver dendrites decorated filter membrane as highly sensitive and reproducible three dimensional surface enhanced Raman scattering substrates. *Appl Surf Sci*. 2016; 387(30):431-6.
16. Kong LS, Dong NX, Tian GF, Qi SL, Wu DZ. Highly enhanced Raman scattering with good reproducibility observed on a flexible PI nanofabric substrate decorated by silver nanoparticles with controlled size. *Appl Surf Sci*. 2020; 511:145443.
17. Dong J, Zhao X, Cao E, Han QY, Liu L, Zhang WW, et al. Flexible and transparent Au nanoparticle/graphene/Au nanoparticle 'sandwich' substrate for surface-enhanced Raman scattering. *Mater Today Nano*. 2020; 9:100067.
18. Huang CC, Cheng CY, Lai YS. Paper-based flexible surface enhanced Raman scattering platforms and their applications to food safety. *Trends Food Sci Tech*. 2020; 100: 349-58.
19. Ogundare SA, Zyl WEV. A review of cellulose-based substrates for SERS: fundamentals, design principles, applications. *Cellulose*. 2019; 26(11):6489-528.

20. Yu WW, White IM. A simple filter-based approach to surface enhanced Raman spectroscopy for trace chemical detection. *Analyst*. 2012; 137(5):1168-73.
21. Barry, A.L. and P.C. Fuchs, Anti-staphylococcal activity of temafloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin and enoxacin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1991. 28(5): p. 695-699.
22. Kümmerer, K., Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I . *Chemosphere*, 2009. 75(4): p. 417-434.
23. Thu, V.T., et al., Trace detection of ciprofloxacin antibiotic using surface-enhanced Raman scattering coupled with silver nanostars. *Optik*, 2022. 260: p. 169043.
24. Turiel, E., G. Bordin, and A.R. Rodríguez, Trace enrichment of (fluoro)quinolone antibiotics in surface waters by solid-phase extraction and their determination by liquid chromatography–ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*, 2003. 1008(2): p. 145-155.
25. Ferech, M., et al., European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006. 58(2): p. 401-407.
26. Ebert, I., et al., Toxicity of the fluoroquinolone antibiotics enrofloxacin and ciprofloxacin to photoautotrophic aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011. 30(12): p. 2786-2792.
27. Girardi, C., et al., Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *Journal of Hazardous Materials*, 2011. 199: p. 22-30.
28. Al-Ahmad, A., F.D. Daschner, and K. Kümmerer, Biodegradability of Cefotiam, Ciprofloxacin, Meropenem, Penicillin G, and Sulfamethoxazole and Inhibition of Waste Water Bacteria. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1999. 36(2): p. 158-163.
29. Davies, J. and D. Davies, Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2010. 74(3): p. 417-433.
30. Stahlmann, R. and H. Lode, Toxicity of Quinolones. *Drugs*, 1999. 58(2): p. 37-42.
31. Halling-Sørensen, B., et al., Environmental risk assessment of antibiotics: comparison of mecillinam, trimethoprim and ciprofloxacin. (1460-2091 (Electronic)).
32. Liu, X., J.C. Steele, and X.-Z. Meng, Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review. *Environmental Pollution*, 2017. 223: p. 161-169.
33. Huang, W., et al., Colorimetric detection of ciprofloxacin in aqueous solution based on an unmodified aptamer and the aggregation of gold nanoparticles. *Analytical Methods*, 2021. 13(1): p. 90-98.
34. W. Ji, L. Wang, H. Qian, W. Yao, Quantitative Analysis of Amoxicillin Residues in Foods by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, *Spectrosc. Lett.* 47(6)(2014)451–457.
35. Y. Yin, Z.-Y. Li, Z. Zhong, B. Gates, Y. Xia, and S. Venkateswaran, "Synthesis and characterization of stable aqueous dispersions of silver nanoparticles through the Tollens process," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 12, pp. 522-527, 2002.
36. Yin, H., Langford, R., and Burrell, R. (1999) Comparative evaluation of the antimicrobial activity of ACTICOAT antimicrobial barrier dressing, *The Journal of burn care & rehabilitation*. 20, 195.
37. N. A. Begum, S. Mondal, S. Basu, R. A. Laskar and D. Mandal. "Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2009; 71: 113-118.
38. Tarik Baytekin H, Baytekin B, Huda S, et al. Mechanochemical Activation and Patterning of an Adhesive Surface toward Nanoparticle

- Deposition. Journal of the American Chemical Society. 2015; 137: 1726-9.
39. S. Jafarirad, M. Mehrabi, B. Divband and M. Kosari-Nasab. "Biofabrication of zinc oxid nanoparticles using fruit extract of rosa canina and their toxic potential against bacteria: a mechanistic approach" Materials Science and Engineering: C 2016; 59, 296–302.
40. S. Jafarirad and S. Poorgholi. "Application of CuO nanoparticles which synthesized using Fumaria officinalis plant extract in preparing hair color to enhance health". Nanomaterials 2015; 7: 95-103.
41. Beyene D, Chae M, Dai J, Danumah C, Tosto F, Demesa AG, Bressler DC. Characterization of cellulase-treated fibers and resulting cellulose nanocrystals generated through acid hydrolysis. Materials. 2018 Aug; 11(8):1272.
42. Singh H, Du J, Singh P, Yi TH. Ecofriendly synthesis of silver and gold nanoparticles by Euphrasia officinalis leaf extract and its biomedical applications. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. 2018 Aug 18; 46(6):1163-70.
43. Wei W, Huang Q. Rapid fabrication of silver nanoparticle-coated filter paper as SERS substrate for low-abundance molecules detection. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2017 May 15; 179:211-5.
44. Villa JE, Santos DP, Poppi RJ. Fabrication of gold nanoparticle-coated paper and its use as a sensitive substrate for quantitative SERS analysis. Microchimica Acta. 2016 Oct; 183(10):2745-52.
45. Wei W, Huang Q. Rapid fabrication of silver nanoparticle-coated filter paper as SERS substrate for low-abundance molecules detection. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2017 May 15; 179:211-5.
46. 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.
47. Yang L, Qin X, Jiang X, Gong M, Yin D, Zhang Y, Zhao B. SERS investigation of ciprofloxacin drug molecules on TiO₂ nanoparticles. Physical Chemistry Chemical Physics. 2015;17(27):17809-15.
48. Sahoo SU, Chakraborti CK, Behera PK. FTIR and Raman spectroscopic investigations of a controlled release Ciprofloxacin/Carbopol940 mucoadhesive suspension. Asian J. Pharm. Clin. Res. 2012;5(1):125-30.
49. H.Y. Chen, M.H. Lin, C.Y. Wang, Y.M. Chang, S. Gwo. Large-scale hot spot engineering for quantitative SERS at the single-molecule scale. Journal of the American Chemical Society. 2015; 42: 13698-705.
50. J.H. Granger, N.E. Schlotter, A.C. Crawford, M.D. Porter. Prospects for point-of-care pathogen diagnostics using surface-enhanced Raman scattering (SERS). Chemical Society Reviews. 2016; 45: 3865-82.
51. H.M. Parsons, D.R. Ekman, T.W. Collette, M.R. Viant. Spectral relative standard deviation: a practical benchmark in metabolomics. Analyst. 2009; 134:478–85.
52. Thu VT, Cuong NM, Cao DT, Hung LT, Ngan LT. Trace detection of ciprofloxacin antibiotic using surface-enhanced Raman scattering coupled with silver nanostars. Optik. 2022 Jun 1; 260:169043.
53. T. Liyanage et al., "Optimization of electromagnetic hot spots in surface-enhanced Raman scattering substrates for an ultrasensitive drug assay of emergency department patients' plasma," Analyst, vol. 145, no. 23, pp. 7662–7672, 2020, doi:10.1039/D0AN01372B.