لیزر در پزشکی ۱۴۰۰/ دوره ۱۸ / شماره (۱) / صفحات ۲۲-۱۴.

مقاله پژوهشی

مطالعه ارتعاشات مولکولی سروتونین با استفاده از طیف‌سنجی رامان و بسترهای نقره‌اندود ساخته‌شده به روش الکترونهشت

وحید اسکندری[۱]
نفیسه شریفی[۲*]

۱- فارغ‌التحصیل، کارشناسی ارشد، پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان ۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳، کاشان،ایران.

۲- استادیار، گروه فوتونیک و پلاسما، دانشکده فیزیک،دانشگاه کاشان۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳،کاشان،ایران.

نویسندهٔ‌مسئول: نفیسه شریفی
آدرس پستی: پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان ۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳، کاشان، ایران
پست الکترونیکی:
sharifi@kashanu.ac.ir
شماره تماس: ۰۳۱۵۵۹۱۳۲۲۰

چکیده

مقدمه: سروتونین (Serotonin) یا هیدروکسی تریپتامین نوعی انتقال‌دهنده‌های عصبی از نوع مونوآمینه اسیدبیوژنیک محسوب می‌شود که از لحاظ بیوشیمی از مشتقات تریپتوفان است. کمبود سروتونین در بدن، باعث اختلالاتی از جمله: افسردگی، اضطراب، ترس، بی‌خوابی و وسواس فکری و عملی می‌شود. با قرارگرفتن گونه‌های مختلف در نزدیکی سطح فلز و جذب فیزیکی آن‌ها روی سطح فلزی، به علت برهم‌کنش میان پلاسمون‌های سطحی فلز و ارتعاش‌های مولکولی گونه‌ها، شدت سیگنال رامان افزایش می‌یابد که در این مقاله، برای شناسایی سروتونین از بسترهای نقره‌اندود که سیگنال رامان را افزایش داده‌اند؛ استفاده شده است.

روش بررسی: با استفاده از نمک نقره و عامل کاهنده ساکاروز، نانوذرات نقره به روش ساده شیمیایی ساخته شده و به روش الکترونهشت و با اعمال ولتاژ، بسترهای شیشه‌ای رسانا (FTO) با نانوذرات نقره پوشش داده شده که با تغییر زمان لایه‌نشانی در زمان‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه، بسترهای گوناگون SERS ساخته شدند. در نهایت، با استفاده از این بسترهای SERS و طیف‌سنجی رامان، بهبود سیگنال رامان ارتعاش‌های مولکولی سروتونین بررسی شدند.

یافته‌ها: نانوذرات نقره ساخته شده، نانوذراتی کروی و شبه‌کروی با اندازه بین ۵ تا ۶۰ نانومتر هستند که مشاهده قله تشدید پلاسمونی در ۴۲۸ نانومتر و ساختار FCC، تشکیل نانوذرات نقره را تأیید می‌کند. پلاسمون‌های سطحی نانوذرات با ایجاد میدان‌های الکتریکی قوی در مناطق کوچکی در اطراف خود، باعث می‌شوند که این شدت میدان الکتریکی قوی با ارتعاشات مولکولی سروتونین‌هایی که در این محدوده قرار گرفته‌اند؛ برهم‌کنش کند و مولکول سروتونین قطبیده‌تر شوند. با افزایش زمان لایه‌نشانی، به دلیل کلوخه‌شدن نانوذرات یا رشد نانوذرات، ذرات بزرگ‌تری روی بسترهای SERS شکل می‌گیرد که سطح را زبرتر کرده و باعث می‌شوند پراکندگی نور لیزر فرودی از آن‌ها افزایش یابد که سبب بهبود سیگنال رامان سروتونین می‌شوند.

نتیجه‌گیری: تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات نقره و پراکندگی نور از ذرات نقره بزرگ‌تر، سیگنال رامان ارتعاش‌های مولکولی سروتونین را تقویت می‌کنند. با کاهش غلظت سروتونین حکاکی‌شده روی بسترهای SERS، به دلیل کاهش تعداد ارتعاش‌های مولکولی، سیگنال رامان نیز تضعیف می‌شود که با افزایش میزان زبری سطح بسترهای SERS، می‌توان سیگنال رامان را به دلیل افزایش میزان پراکندگی نور از مراکز زبر افزایش داد. این مراکز زبر، همان ذرات بزرگ‌تری هستند که در حین لایه‌نشانی به روش الکترونهشت ایجاد شده و با افزایش زمان لایه‌نشانی، اندازه آن‌ها نیز افزایش می‌یابد و در نتیجه با افزایش میزان پراکندگی نور از خود، منجر به بهبود سیگنال می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، الکترونهشت، بسترهای SERS، طیف‌سنجی رامان بهبودیافته سطحی (SERS[۱])، سروتونین.

1 Surface-enhanced Raman Spectroscopy (SERS)

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]

مقدمه

سروتونین (Serotonin) یا هیدروکسی تریپتامین با فرمول مولکولی $C_{10}H_{12}N_2O$، از انتقال‌دهنده‌های عصبی از نوع مونوآمینو اسیدبیوژنیک محسوب می‌شود که به سلول‌های عصبی کمک کرده تا با یکدیگر ارتباط شیمیایی برقرار و اطلاعات خود را با هم مبادله کنند. از لحاظ بیوشیمی نیز از مشتقات تریپتوفان است[۳-۱]. سروتونین به طور اهم در دستگاه گوارش، پلاکت‌ها و سیستم عصبی مرکزی انسان و حیوانات یافت می‌شود و موجب ایجاد تحرک و انرژی در بدن گردیده و حس خوب در انسان را تقویت می‌کند. کاهش سطح سروتونین مغز، از علل اصلی افسردگی است. سروتونین بر روی بسیاری از فعالیت‌های بدن ازجمله حالت‌های روحی، اشتها، خواب، انقباض عضلانی، عملکردهای فیزیولوژیکی مثل انعقاد خون و انقباض عروقی و نیز برخی عملکردهای‌شناختی مانند یادگیری و حافظه اثر می‌گذارد. سروتونین، از تبدیل آمینواسید تریپتوفان در مغز تولید می‌شود. تریپتوفان نیز یک آمینواسید ضروری است که بدن قادر به ساختن آن نیست. بهترین منابع غذایی تریپتوفان عبارتند از: غذاهای دریایی و ماهی، مرغ و تخم‌مرغ، گوشت کم‌چرب، شیر، شکلات، موز، انبه، آجیل، کنجد و تخمه کدو که البته تریپتوفان به شکل مکمل در داروخانه‌ها نیز به فروش می‌رسد. مطالعات نشان داده که تریپتوفان برای تولید سروتونین نیاز به کربوهیدرات دارد. کمبود سروتونین در بدن باعث اختلالاتی چون افسردگی، اضطراب، ترس، احساس ناراحتی در ذهن که با بی‌تابی همراه است، وسواس، تمایل به خودکشی، افکار تکراری، اعتماد به نفس پایین، عصبانیت و پرخاشگری، بی‌خوابی، اختلال وسواس فکری عملی، اختلال اضطراب اجتماعی، اختلال اضطراب فراگیر و اختلال تنش‌زای می‌شود[۸-٤]. تکنیک‌های مختلفی مانند HPLC[1] [۹]، TMS (MS/MS)[2] [۱۰]، GC-MS[3] [۱۱]، آمپرمتری[4] [۱۲]. کروماتوگرافی[5] [۱۳]، طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی (MRS[6]) [۱٤] و SERS برای شناسایی سروتونین به کار گرفته می‌شوند[٤]. روش SERS در مقایسه با بقیه روش‌های نام برده، از حساسیت بالاتری برخوردار است. طیف‌سنجی رامان روش مناسبی برای شناسایی ترکیبات مواد گوناگون از جمله گونه‌های زیستی است؛ اما سیگنال رامان گونه‌های زیستی به خصوص در غلظت‌های پایین، بسیار اندک است[۱٦-۱۵]. در روش SERS، با قرار گرفتن گونه‌های بیولوژیکی و شیمیایی مختلف در نزدیکی و یا جذب فیزیکی آن‌ها روی سطح حاوی نانوذرات فلزی، به علت برهم‌کنش میان پلاسمون‌های سطحی فلز و گونه‌ها، شدت سیگنال رامان افزایش یافته و بدین ترتیب SERS می‌تواند برای تشخیص سریع و دقیق گونه‌های بیولوژیکی نیز استفاده شود[۱۷].

امروزه، لایه‌های متشکل از نانوذرات فلزات نجیب مانند طلا و نقره به دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی و خواص نوری مورد توجه قرار گرفته‌اند. در واقع نوسان‌های الکترون‌های رسانش نانوذرات فلزات نجیب با تابش نور به آن‌ها، سبب افزایش چگالی انرژی میدان‌های الکتریکی یا همان نور تابش‌شده، می‌شود که در حسگرهای زیستی[۱۹-۱۸]، سلول‌های خورشیدی[۲۰] و SERS [۲۱] کاربرد دارند. با توجه به خواص نوری فوق‌العاده این نانوذرات، روش‌های گوناگونی برای ساخت لایه‌ها متشکل از نانوذرات فلزی ارائه شده است[۲۲] که می‌توان به لیتوگرافی با استفاده از پرتو الکترونی[۲٤-۲۳] اشاره کرد. این روش نیاز به تجهیزات پیچیده و گران‌قیمت داشته و برای ساخت نمونه‌هایی با اندازه کوچک کاربرد دارد. در مقابل، روش رسوب الکتروشیمیایی، روشی ساده است که برای ساخت نمونه‌هایی با اندازه‌هایی با مقیاس بزرگ کاربرد فراوانی دارد[۲٦ -۲۵]. پراکندگی رامان نتیجه پراکندگی ناکشسان نور از ماده است و با استفاده از این اثر می‌توان اطلاعات بسیار جزئی در مورد ساختار یک مولکول به دست آورد. طیف‌سنجی IR به دلیل فعال‌بودن ارتعاشات مولکولی آب، شناسایی گونه‌های زیستی را دشوار کرده و حساسیت آشکارسازهای آن نیز پایین است. طیف‌سنج‌های مبتنی بر الکترون و یون نیز نیاز به خلأ بالا دارند، بنابراین، طیف‌سنجی رامان نه تنها امکان مطالعه مولکول در شرایط عادی را فراهم کرده بلکه با آن می‌توان فرایندهای کاتالیستی و فرایندهایی که در فصل مشترک فلز - الکترولیت رخ می‌دهد؛ را نیز بررسی کرد[۲۷]. اما سیگنال مربوط به پراکندگی رامان به طور ذاتی ضعیف است و آشکارسازی را دشوار می‌کند[۲۸]. یکی از روش‌هایی که می‌توان سیگنال رامان را بهبود داد استفاده از نانوساختارهای فلزی است که به دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی می‌توانند سیگنال پراکندگی را به طور گسترده بهبود دهند. این روش SERS نام دارد که یک روش حساس و انتخابی است و نتیجه آن بهبود پراکندگی رامان مولکول‌هایی است که بر روی ساختارهای

1. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
2. Tandem Mass Spectrometry (TMS)
3. Gas Chromatography Mass Spectrometry (GS-MS)
4. Amperometry
5. Chromatography
6. magnetic resonance spectroscopy

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]

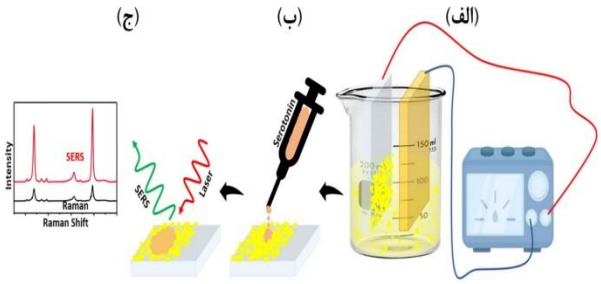
فلزی جذب سطحی شده‌اند[۲۹]. این پدیده برای اولین بار در سال ۱۹۷٤، برای مولکول پیرادین جذب‌شده بر روی سطح الکترودهای نقره رشد داده شده به روش الکتروشیمیایی مشاهده شد. سیگنال بهبودیافته رامان، فقط بعد از قرارگرفتن الکترود نقره در چرخه اکسایش - کاهش یا فعال‌سازی مشاهده می‌شد و برای یک سطح صاف و صیقلی، هیچ سیگنال بهبودیافته‌ای را نشان نمی‌داد. در ابتدا بهبود سیگنال را براساس افزایش تعداد مولکول‌های مورد مطالعه به دلیل افزایش مساحت سطحی که زبر شده است؛ توصیف کردند اما بهبود سیگنال رامان دلیلی غیر از افزایش مساحت سطح داشت که در سال ۱۹۷۷، بهبود سیگنال رامان را به برهم‌کنش مولکول با سطح فلز زبر نسبت دادند[۳۰]. فلزاتی مانند طلا، نقره، مس و پلاتین جهت مشاهده این پدیده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. ویژگی‌های فلز مانند نوع، شکل، اندازه و چگونگی کنار هم قرارگرفتن آن‌ها بر پراکندگی رامان مولکول مورد بررسی اثر می‌گذارد. از میان فلزات گوناگون، نقره و طلا به علت داشتن تشدید پلاسمونی در ناحیه مرئی و زیرقرمز، پایداری بیش‌تر و روش‌های ساخت آسان، بیش‌تر مورد توجه بوده‌اند تا گونه‌های زیستی و مواد بیولوژیکی شناسایی شوند[۳۱]. در این مطالعه، با استفاده از روش آسان الکترونهشت، نانوذرات نقره بر روی بسترهای شیشه‌ای FTO با قدرت چسبندگی مکانیکی بالا، سریع، کم‌هزینه و در دمای اتاق پوشش داده شدند تا از آن‌ها به عنوان بسترهای SERS، برای شناسایی مولکول سروتونین در غلظت‌های پایین استفاده شود.

روش بررسی

۱- روش‌های ساخت و شناسایی

۱-۱- روش ساخت بسترهای SERS

شیشه‌های رسانا که شیشه پوشش داده‌شده با اکسید قلع آلاییده‌شده با فلوئور (FTO)[1] است؛ با ابعاد ۲/۵cm×۱cm به عنوان زیرلایه برش داده شدند. پس از شستشو با آب و صابون، استون و اتانول، نمونه‌ها در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در کوره حرارت‌دهی شدند تا آلودگی‌های مواد آلی از سطح شیشه‌ها حذف شوند و در واقع برای نقره‌اندودکردن شیشه‌ها، سطوحی آب‌دوست داشته باشیم. محلول کلوئیدی نانوذرات نقره به روش شیمیایی تولنز تهیه شده است. در این روش کمپلکس نقره با استفاه از یک کاهنده ضعیف کاهیده می‌شوند که در این روش از محلول ۱ شامل ۱۲ میلی‌لیتر محلول نقره نیترات ۰/۱ مولار، محلول ۲ متشکل از ۲۰ میلی‌لیتر محلول پتاس ۰/۰۵ مولار و محلول ۳ نیز متشکل از ۱۰ میلی‌لیتر محلول ساکاروز ۰/۰۷ مولار استفاده می‌شود. تمام محلول‌ها با آب بدون یون آماده شده‌اند. ابتدا، با استفاده از محلول ۲،۱ و محلول آمونیاك، کمپلکس آمونیاکی نقره ساخته می‌شود. سپس محلول ۳ به آن اضافه می‌گردد. با قرارگیری در حمام گرمایی با دمای ۵۰±۵ درجه سانتی‌گراد، نانوذرات نقره در داخل محیط آبی تشکیل می‌شود[۳۲]. سپس، با استفاده از روش الکترونهشت، نانوذرات نقره داخل محلول کلوئیدی نقره بر روی زیرلایه‌های FTO نشانده می‌شوند. برای این منظور، FTO به کاتد یا قطب منفی منبع تغذیه و ورقه مسی به عنوان آند به قطب مثبت منبع تغذیه وصل می‌شوند و داخل محلول کلوئیدی نقره قرار می‌گیرند. نشست الکترودی نانوذرات نقره بر روی زیرلایه‌های FTO، با اعمال ولتاژ DC برابر با ۱/۵ ولت در زمان‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه انجام شده تا به ترتیب سه نوع بستر SERS داشته باشیم. فاصله کاتد و آند یک سانتی‌متر در نظر گرفته شده و بسترهای SERS شسته و سپس در دمای آزمایشگاه خشک شدند. برای آشکارسازی سروتونین، غلظت‌های $۱۰^{-۲}$، $۱۰^{-۳}$، $۱۰^{-۴}$، $۱۰^{-۵}$، $۱۰^{-۶}$ و $۱۰^{-۷}$ مولار از آن تهیه شده و به صورت جداگانه و به روش قطره‌افشان، ۱۰ میکرولیتر از هرکدام از غلظت‌های تهیه‌شده بر روی بسترهای SERS قرار گرفته است و پس از خشک‌شدن در معرض هوا، طیف رامان سروتونین نشانده‌شده روی شیشه و طیف رامان بهبودیافته سطحی سروتونین نشانده‌شده روی بسترهای SERS، اندازه‌گیری و تحلیل و بررسی شدند.



شکل ۱: طرحواره (الف) ساخت بسترهای SERS با نشاندن نانوذرات نقره داخل محلول کلوئیدی نقره بر روی زیرلایه‌های FTO با اعمال ولتاژ ۱/۵ ولت به روش الکترونهشت. (ب) قطره‌افشان‌کردن سروتونین روی بستر SERS به هدف آشکارسازی آن. (ج) سیگنال رامان و SERS سروتونین نشانده‌شده بر روی شیشه و بستر SERS که با تابش نور لیزر به آن‌ها اندازه‌گیری و ثبت می‌شود.

[1]. Fluorine-doped tin oxide (FTO)

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]

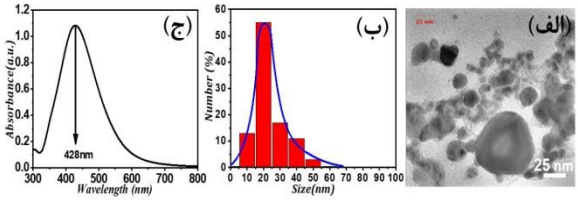
۱-۲- مشخصه‌یابی

با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، زایس مدل EM900 ، اندازه و شکل نانوذرات نقره به تصویر کشیده شدند، طیف‌سنجی UV-Vis و الگوی پراش پرتو X پوشش نقره به ترتیب به وسیله دستگاه Perkin-Elmer مدل Lambda25 و دستگاه X Pert -Pro ساخت شرکت Panalytical کشور هلند، با پرتو تک‌فام Cu Kα و با طول‌موج ۰/۱۵۴ نانومتر، جریان ۴۰ میلی‌آمپر و ولتاژ ۴۰ کیلوولت در دمای اتاق انجام شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FE-SEM) به وسیله دستگاه Hitachi مدل S4160 تهیه شد. دستگاه طیف‌سنجی رامان Takram مدل P50C0R10 ساخت شرکت تکسان با تابش نور لیزر Nd:YAG، با طول‌موج ۵۳۲ نانومتر و توان خروجی قابل تنظیم ۷۵ میلی‌وات برای اندازه‌گیری طیف رامان و طیف SERS نمونه‌ها استفاده شد.

نتایج وبحث

۱. تصویر TEM، توزیع اندازه و طیف جذب نانوذرات محلول کلوئیدی نقره

شکل ۲- الف) تصویر TEMنانوذرات نقره ساخته‌شده با استفاده از عامل کاهنده ساکاروز را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان می‌دهد که نانوذراتی کروی و شبه‌کروی هستند. توزیع اندازه نانوذرات (شکل ۲- ب) که با استفاده از تصویر ۲- الف) ترسیم شده است؛ بین ۵ تا ٦٠ نانومتر است و تعداد زیادی از ذرات اندازه ۲۰ نانومتر دارند. قله تشدید پلاسمونی در ٤٢٨ نانومتر در طیف جذب محلول کلوئیدی از نانوذرات نقره که در شکل ۲-ج) مشاهده می‌شود؛ تشکیل نانوذرات نقره را تائید می‌کند[۳۲].

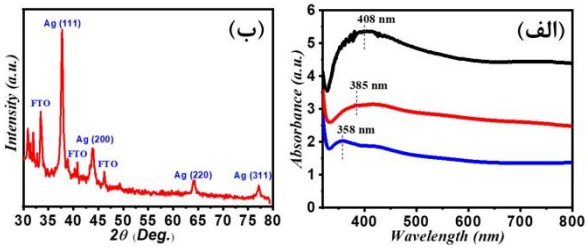


شکل ۲: (الف) تصویر TEM نانوذرات نقره ساخته‌شده به روش شیمیایی تولنز، (ب)، توزیع اندازه نانوذرات نقره نمایش داده‌شده که اندازه‌های ۵ تا ۶۰ نانومتر دارند و (ج) طیف جذب محلول کلوئیدی نقره با بیشینه جذب در طول‌موج ۴۲۸ نانومتر

۲- طیف خاموشی و XRD بسترهای SERS

شکل۳- الف) طیف خاموشی (جذب + پراکندگی) بسترهای SERS که لایه‌نشانی آن‌ها در مدت زمان ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه انجام شده است را نشان می‌دهد. در هر سه طیف، بیشینه خاموشی مشاهده‌شده حول ۴۰۰ نانومتر بیانگر حضور نانوذرات نقره بر روی بسترهای SERS است. با افزایش مدت زمان لایه‌نشانی و نشست ذرات بیش‌تر، از کنار هم قرارگرفتن ذرات کنار یکدیگر، ذرات بزرگ‌تر بر روی بسترهای SERS ساخته می‌شود که جابجاشدن قله پلاسمونی به سمت طول موج‌های بالاتر تشکیل ذرات بزرگ‌تر را تأیید می‌کند. از طرفی با افزایش مدت زمان لایه‌نشانی، شدت طیف خاموشی بسترهای SERS نیز افزایش می‌یابد که ناشی از افزایش تعداد نانوذرات نقره نشانده‌شده روی شیشه FTO است که هم به دلیل افزایش تعداد نانوذرات و هم به دلیل تشکیل ذرات بزرگ‌تر، به ترتیب، میزان جذب به وسیله ذرات کوچک‌تر و میزان پراکندگی از ذرات بزرگ‌تر افزایش یافته است[۳۴ -۳۳]. طیف جذب محلول کلوئیدی نقره (شکل ۲- ج) متفاوت از طیف خاموشی مشاهده‌شده در شکل ۳- الف می‌باشد که ناشی از تغییر محیط دربردارنده نانوذرات نقره است و از آب به شیشه و هوا می‌باشد. در واقع ضریب شکست محیط دربردارنده نانوذرات تغییر کرده است[۳۵]. برخلاف محلول کلوئیدی پایدار از نانوذرات نقره که نانوذرات در داخل محلول آبی پراکنده هستند و به فاصله‌های یکسانی از یکدیگر قرار دارند؛ با قرارگرفتن نانوذرات نقره روی بسترهای شیشه‌ای FTO ، حین خشک‌شدن، ذرات در مجاورت یکدیگر قرار می‌گیرند و کلوخه‌هایی متشکل از چندین نانوذره روی شیشه FTO شکل می‌گیرد؛ به گونه‌ای که می‌توان این کلوخه‌ها را ذرات بزرگ‌تری در نظر گرفت که منجر به افزایش پهنای طیف می‌شود و این پهن‌شدگی برای بستر SERS ساخته شده در زمان لایه‌نشانی ۲۰ دقیقه در مقایسه با سایر بسترهای SERS مشاهده می‌شود[۳۵]. این که زمینه طیف خاموشی (طیف جذب + طیف پراکندگی) بسترهای SERS، در مقایسه با طیف جذب محلول کلوئیدی نقره در مقادیر بالاتری رخ داده ناشی از بازتاب و پراکندگی نور از سطح شیشه FTO است. (شکل ۳- ب) الگوی پراش اشعه ایکس بستر SERS را نشان می‌دهد. با مشاهده بزرگ‌ترین و اصلی‌ترین قله‌ها در زاویه 2θ برابر با ۳۸/۳۸، ۴۴/۸۷، ۶۴/۸۵ و ۷۴/۸۶ درجه که به ترتیب مربوط به صفحات بلوری (۱۱۱)، (۲۰۰) ، (۲۲۰) و (۳۱۱) است؛ تشکیل ساختار FCC نقره تأیید می‌شود. قله‌های اضافه ظاهرشده مربوط به شیشه‌ای رسانای FTO است[۳۶].

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]

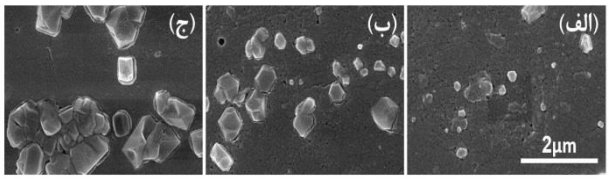


شکل ۳: (الف) طیف خاموشی (پراکندگی + جذب) بسترهای SERS با زمان‌های لایه‌نشانی ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه به روش الکترونهشت بر روی شیشه FTO که با افزایش زمان لایه‌نشانی، بیشینه خاموشی به ترتیب در طول موج‌های ۳۵۸، ۳۸۵ و ۴۰۸ نانومتر ظاهر می‌شود که تاییدی بر تشکیل نانوذرات نقره است. (ب) الگوی پراش اشعه ایکس بستر SERS.

۳- تصاویر FE-SEM بسترهای SERS

شکل ٤، تصاویر FE-SEM بسترهای SERS را در زمان‌های (الف) ۵، (ب) ۱۰ و (ج) ۲۰ دقیقه لایه‌نشانی نشان می‌دهد. در هر سه نمونه، سطح زیرلایه FTO، با نانوذرات و ذرات بزرگ‌تر پوشیده شده است. ذرات ریزتر به رنگ تیره‌تر در پس‌زمینه تصاویر مشاهده می‌شوند که اندازه تقریبی ۵۰ نانومتر دارند و نشان می‌دهد با اعمال ولتاژ و تحت شرایط لایه‌نشانی، نانوذرات نقره داخل محلول کلوئیدی، بعد از نشست روی زیرلایه FTO، به صورت ذرات بزرگ‌تری روی سطح قرار می‌گیرند. پوشش حاوی نانوذرات نقره تقریباً به طور همگن و یکنواخت سطح FTO را پوشانده‌اند. شکاف و ترک‌هایی در این پوشش تقریباً همگن مشاهده می‌شود که با افزایش زمان لایه‌نشانی، تعداد ترک یا شکاف‌ها کاهش می‌یابد. ذرات درشت‌تر به رنگ روشن‌تر و سفیدتر دیده می‌شوند. همان‌طور که در شکل ۳- الف) با افزایش زمان لایه‌نشانی، نه تنها تعداد این ذرات درشت‌تر، افزایش می‌یابد که در اندازه آن‌ها نیز شاهد افزایش هستیم. به نظر می‌آید با افزایش زمان لایه‌نشانی، تعداد بیش‌تری از ذرات روی پوشش که قرار بگیرند؛ از کنار هم قرارگرفتن ذرات، کلوخه‌شدن ذرات اتفاق می‌افتد و ذرات بزرگ‌تری روی زیرلایه‌ها شکل می‌گیرد. در ضمن، در محلول کلوئیدی نقره، یون‌های نقره که در طی فرایند ساخت کلوئید هنوز کاهیده نشده‌اند نیز می‌توانند با اعمال ولتاژ، الکترون دریافت کنند و بر روی زیرلایه به نقره تبدیل شوند؛ این یون‌های نقره نیز می‌توانند باعث رشد ذرات از قبل تشکیل شده شوند و منجر به شکل‌گیری ذرات درشت‌تر شوند و یا خود منشا جوانه‌زنی و تشکیل نانوذرات جدید باشند.

نانوذرات کوچک‌تر نقره، میدان‌های الکتریکی نزدیک قابل توجهی در اطراف خود ایجاد می‌کنند که حاصل تشدید پلاسمون‌های سطحی نقره است و چنان‌چه گونه‌های زیستی در این موقعیت‌ها قرار داده شوند؛ در معرض تابش میدان‌های الکتریکی نزدیک قرار می‌گیرند. ذرات بزرگ‌تر، میدان‌های الکتریکی نزدیکِ ناچیزی دارند و نور تابیده‌شده به آن‌ها، از سطح آن‌ها پراکنده می‌شود یا میدان الکتریکی دور را تقویت می‌کنند**[۳۷ - ۳۸]**. بنابراین، با افزایش زمان لایه‌نشانی، به دلیل تشکیل ذرات بزرگ‌تر، اثر پراکندگی از سطح ذرات درشت‌تر در مقایسه با اثر میدان نزدیک، بیش‌تر است.



شکل ۴: تصاویر FE-SEM بسترهای SERS که به روش الکترونهشت با اعمال ولتاژ ۱/۵ ولت و فاصله کاتد و آند برابر با یک سانتی‌متر در زمان‌های (الف) ۵، (ب) ۱۰، (ج) ۲۰ دقیقه ساخته شده‌اند.

۴- طیف رامان و آشکارسازی سروتونین

در شکل ۵- الف) (منحنی آبی) طیف رامان بستر SERS، (منحنی قرمز) طیف رامان سروتونین با غلظت $۱۰^{-۲}$ مولار قرار داده شده بر روی بستر شیشه‌ای FTO و (منحنی مشکی) طیف SERS سروتونین با غلظت $۱۰^{-۲}$ مولار قرار داده شده بر روی بستر SERS ساخته‌شده با زمان لایه‌نشانی ۲۰ دقیقه مشاهده می‌شوند. در طیف رامان مولکول سروتونین که روی بستر شیشه رسانای FTO قرار داده شده است (منحنی قرمز)؛ ارتعاشات مولکولی مربوط به سروتونین حتی در بالاترین غلظت آن یعنی $۱۰^{-۲}$ مولار نیز مشاهده نمی‌شود. بنابراین عملاً شناسایی سروتونین با غلظت $۱۰^{-۲}$ مولار و با استفاده از طیف‌سنجی رامان و به کار نگرفتن بسترهای SERS امکان‌پذیر نمی‌باشد. ارتعاشات مولکولی سروتونین بر روی منحنی مشکی در شکل ۵- الف نمایش داده شده است. ارتعاشات کششی C-O، خمشی C-C و CH_2، خمشی NH_2، خمشی NH و خمشی H-N-C به ترتیب در 726، 1260، 1363، ۱۵۳۰ و ۱۵۹۰ cm^{-1} ظاهر می‌شوند[٤]. ارتعاشاتی که در طیف‌ها ظاهر شده‌اند؛ با خط‌چین‌های آبی و ارتعاشاتی که در طیف‌ها ظاهر نشده‌اند؛ با خط‌چین‌های قرمز نمایش داده شده است. بنابراین، با قرار دادن سروتونین با غلظت $۱۰^{-۲}$ مولار بر روی بستر SERS، ارتعاشات

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]

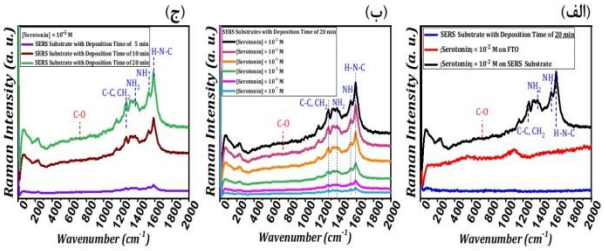
مولکولی سروتونین ظاهر می‌شوند. معمولاً در دماهای پایین، با ازبین‌رفتن افت‌وخیزهای حرارتی، ارتعاشاتی که به‌خصوص در عدد موج‌های کم‌تر اتفاق می‌افتند؛ قابل آشکارسازی می‌شوند[۳۹]. بنابراین، به این دلیل که طیف‌سنجی در دمای اتاق انجام شده است؛ ارتعاشات مولکولی که با خط‌چین قرمز نمایش داده شده؛ در طیف SERS ظاهر نشده‌اند. بهبود طیف رامان و مشاهده ارتعاشات مولکولی سروتونین به دلیل اثر میدان الکتریکی قوی در اطراف نانوذرات و پراکندگی نور از ذرات بزرگ‌تر که به صورت مراکز زبر بر روی سطح بستر مشاهده می‌شوند؛ می‌باشد.

تشدید پلاسمون‌های سطحی که در فصل مشترک رسانا و نارسانا ایجاد می‌شود؛ میدان‌های الکتریکی قوی اطراف نانوذرات ایجاد می‌کنند. بنابراین نانوذرات به مانند لنز نوری عمل کرده و نور لیزر فرودی را در فضای کوچک اطراف خود متمرکز می‌کنند. همچنین شدت میدان الکتریکی در نزدیکی نانوذرات افزایش‌یافته و با قرارگیری مولکول‌های سروتونین در اطراف نانوذرات، شدت میدان الکتریکی قوی را تجربه می‌کنند و قطبیده‌تر می‌شوند و در نتیجه ارتعاش‌های مولکولی آن‌ها تقویت گشته و شاهد سیگنال‌های ارتعاشی با شدت بالاتر خواهیم بود[۴۱ -۴۰].

با انتخاب بستر SERS ساخته‌شده در زمان ۲۰ دقیقه و قراردادن سروتونین با غلظت‌های مختلف بر روی آن‌ها، همان‌طور که در (شکل ۵- ب) مشاهده می‌شود، انتظار می‌رود به دلیل کاهش تعداد مولکول‌های سروتونین و در نتیجه کاهش تعداد ارتعاشات مولکولی؛ با کاهش غلظت سروتونین از شدت سیگنال‌های ارتعاشات مولکولی آن کاسته شود؛ به گونه‌ای که در غلظت‌های کم‌تر از 10^{-5} مولار، فقط ارتعاشات خمشی NH به راحتی قابل مشاهده نیستند. بنابراین بستر SERS ساخته شده می‌تواند تا غلظت 10^{-5} مولار از سروتونین را شناسایی کند. هرچند این غلظت نسبت به غلظت 10^{-10} مولار سروتونین که در مقاله[۴۲] قابل شناسایی است کم‌تر است اما باید این نکته را در نظر داشت که در این مقاله، ساخت حسگرزیستی SERS، به روش نانولیتوگرافی انجام شده که به معنی افزایش هزینه‌ها برای ساخت آن است؛ در صورتی که در بستر SERS معرفی شده در این تحقیق، با استفاده از تجهیزات ارزان قیمت، ساخت سریع، آسان و کم‌هزینه‌ای داریم.

در (شکل ۵-ج) مشاهده می‌شود که با قرار دادن غلظت 10^{-5} مولار سروتونین بر روی بسترهای SERS مختلف با زمان‌های لایه‌نشانی (منحنی بنفش) ۵، (منحنی زرشکی) ۱۰ و (منحنی سبز) ۲۰ دقیقه، با افزایش زمان لایه‌نشانی، ارتعاشات مولکولی سروتونین شدت بیش‌تری پیدا کرده و سیگنال بهتری را از خود نشان می‌دهند که به دلیل افزایش زبری سطح بستر SERS است. همان‌طور که در شکل ٤ مشاهده و گفته شد این افزایش زبری نیز به دلیل افزایش اندازه ذرات، بزرگ‌تر است و با افزایش زمان لایه‌نشانی، شاهد رشد یا کلوخه‌شدن آن‌ها هستیم. بنابراین، در بین بسترهای SERS ساخته شده، بستر با زمان لایه‌نشانی ۲۰ دقیقه، بیش‌ترین اثر را در بهبود سیگنال رامان سروتونین دارد.

بنابراین، با شناسایی سروتونین تا غلظت 10^{-5} مولار، هدف حسگرهای SERS که شناسایی تک‌مولکول سروتونین می‌باشد، محقق نمی‌شود و مزیت این بسترهای SERS ساخت ارزان و ساده آن است و فقط با طیف‌سنجی رامان بهبودیافته با سوزن[1] که روشی گران‌تر محسوب می‌شود، می‌توان تک‌مولکول را شناسایی کرد.



شکل ۵: (الف. منحنی آبی) طیف رامان بستر SERS با زمان لایه‌نشانی ۲۰ دقیقه. (الف. منحنی قرمز) طیف رامان سروتونین با غلظت ۲-۱۰ قرار داده شده بر روی (منحنی قرمز) شیشه رسانای FTO و (الف. منحنی مشکی) طیف SERS سروتونین با غلظت ۲-۱۰ قرار داده شده بر روی بستر SERS با زمان لایه‌نشانی ۲۰ دقیقه. (ب) طیف SERS سروتونین قرار داده شده بر روی بستر SERS با زمان لایه‌نشانی ۲۰ دقیقه برای غلظت‌های (منحنی مشکی) ۲-۱۰ مولار، (منحنی صورتی پررنگ) ۳-۱۰ مولار، (منحنی نارنجی) ۴-۱۰ مولار، (منحنی سبز) ۵-۱۰ مولار، (منحنی صورتی کم‌رنگ) ۶-۱۰ مولار و (منحنی آبی) ۷-۱۰ مولار از سروتونین. (ج) طیف SERS سروتونین با غلظت ۵-۱۰ قرار داده شده بر روی بستر SERS با زمان لایه‌نشانی (منحنی بنفش) ۵ دقیقه، (منحنی زرشکی) ۱۰ دقیقه و (منحنی سبز) ۲۰ دقیقه. ارتعاشات مولکولی که در طیف SERS ظاهر شده‌اند؛ با خط‌چین آبی و ارتعاشات مولکولی که ظاهر نشده‌اند؛ با خط‌چین قرمز مشخص شده است.

[1]. Tip-enhanced Raman spectroscopy (TERS)

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]

نتیجه‌گیـــری

به منظور شناسایی و کنترل بیماری‌های متعدد عصبی که ناشی از کمبود مولکول سروتونین در بدن می‌باشد، آشکارسازی این مولکول دارای اهمیت است. روش طیف‌سنجی رامان روشی غیرمخرب برای شناسایی مولکول‌هاست؛ اما به دلیل ضعیف‌بودن سیگنال رامان، عملاً شناسایی غلظت‌های اندک از مولکول‌ها امکان‌پذیر نیست. با قراردادن مولکول سروتونین 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 تولنز و کاهش شیمیایی یون‌های نقره، نانوذرات نقره با اندازه تقریبی ۲۰ نانومتر ساخته‌شده و در ادامه با به‌کارگیری روش الکترونهشت که روشی ساده، سریع و ارزان است؛ در دمای اتاق، نانوذرات نقره بر روی بسترهای شیشه‌ای FTO با اعمال ولتاژ ۱/۵ ولت در زمان‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه لایه‌نشانی شدند و این بسترها به عنوان بستر SERS جهت آشکارسازی مولکول سروتونین استفاده شدند. با قرار دادن سروتونین بر روی بسترهای SERS، در تمامی نمونه‌ها با زمان‌های لایه‌نشانی مختلف و غلظت‌های مختلف سروتونین، سیگنال رامان آن بهبود می‌یابد که ناشی از تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذراتی است که در روش الکترونهشت از محلول بر روی سطح FTO نشانده شده‌اند که با دریافت نور لیزر فرودی، نور آن را در منطقه کوچکی در اطراف خود متمرکز می‌کنند و با قرارگیری مولکول سروتونین در این مناطق، به دلیل دریافت میدان الکتریکی قوی‌تر، مولکول سروتونین قطبیده‌تر می‌شود و در نتیجه ارتعاشات شدیدتری دارد. در ضمن، با افزایش زمان لایه‌نشانی، به دلیل افزایش اندازه ذرات بزرگ‌تر و افزایش زبری سطح، پراکندگی نور از این ذرات افزایش می‌یابد که نتیجه آن بهبود بیش‌تر سیگنال رامان سروتونین است.

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]

References:

1. Fuente-Fernandez R, Ruth T, Sossi V, Schulzer M, Calne DB, toessl AJ. Expectation and Dopamine Release: Mechanism of the Placebo Effect in Parkinson's Disease. Sci 2001; 293: 1164-6.

2. Fox SH, Chuang R, Brotchie JM. Reviews Serotonin and Parkinsons Disease: On Movement, Mood, and Madness: Movement Disorders 2009; 24: 1255-66.

3. Cechova S, Venton J. Transient adenosine efflux in the rat caudate–putamen: JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY 2008; 105: 1253-63.

4. Bennet B, Tomshine J, Hara S, Ciubuc J. Ultrasensitive detection of neurotransmitters by surface enhanced raman spectroscopy for biosensing applications: Bulletin of the American Physical Society 2017; 7: 1921-8.

5. Sekine Y, Ouchi Y, Takei N, Yoshikawa E, Nakamura K, Futatsubashi M, et al. Brain Serotonin Transporter Density and Aggression in Abstinent Methamphetamine Abusers: Arch Gen Psychiatry 2006;63:90-101.

6. O'dell SJ, Galvez BA, Ball AJ, Marshall JF. Running Wheel Exercise Ameliorates Methamphetamine-Induced Damage to Dopamine and Serotonin Terminals: SYNAPSE 2012;66:71-80.

7. Miszkiel J, Filip M, Przegaliñski E. Review Role of serotonin (5-HT) 1B receptors in psychostimulant addiction: Pharmacological Reports 2011;63:1310-5.

8. Langfort j, Baran czuk E, Pawlak D, Chalimoniuk M, Lukacˇova N, Marsˇala J, Gorski J. The Effect of Endurance Training on Regional Serotonin Metabolism in the Brain During Early Stage of Detraining Period in the Female Rat: Cellular and Molecular Neurobiology 2006;26,1325-41.

9. Cheng M L, Tsai BC, Yang J. Silver nanoparticle-treated filter paper as a highly sensitive surface-enhanced Raman scattering (SERS) substrate for detection of tyrosine in aqueous solution: Analytica. Chimica. Acta 2011;708:89-96.

10. B anta-wright S, Steiner R. Tandem Mass Spectrometry in Newborn Screening Tandem Mass Spectrometry in Newborn Screening: A. Primer. for. Neonatal. and. Nurses 2004; 18: 41-7.

11. Escobar-Morreale HF, Samino S, Insenser M, Vinaixa M, Luque-Ramı´rez M, Lasuncion, MA, Correig X. Metabolic Heterogeneity in Polycystic Ovary Syndrome Is Determined by Obesity: Plasma Metabolomic Approach Using GC-MS: Clinical. Chemistry 2012; 58: 999-1005.

12. Njagi J, Chernov MM, Leiter JC, Andreescu S. Amperometric Detection of Dopamine in Vivo with an Enzyme Based Carbon Fiber Microbiosensor: American Chemical Society- Analytical Chemistry 2010;82:989-97.

13. Phillips TM. Measurement of Bioactive Neuropeptides Using a Chromatographic Immunosensor Cartridge: BIOMEDICAL CHROMATOGRAPHY 1996;10:331-6.

14. Kondo DG, Hellem TL, Sung YH, Kim N, Jeong EK, DelMastro K, et al. Review:Magnetic Resonance Spectroscopy Studies of PediatricMajor Depressive Disorder: Hindawi Publishing Corporation Depression Research and Treatment 2011; 14: 13.

15. Wang C, Meloni MM, Wu X, Zhuo M, He T, Wang J, Dong P. Magnetic plasmonic particles for SERS-based bacteria sensing A review: A.I.P. Advances 2019; 9: 010701.

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

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

18. Shrivastava S, Dash D. Label-free colorimetric estimation of proteins using nanoparticles of silver: NANO-Micro Letters 2010; 2: 164-8.

19. Krasteva N, Besnard I, Guse B, E. Bauer R, Mullen K, Yasuda A, et al. Self-Assembled Gold Nanoparticle/ Dendrimer Composite Films for Vapor Sensing Applications: NANO Letters 2002; 2: 551-5.

20. Wu J, Mangham SC, Reddy VR, Manasreh MO, Weaver BD. Surface plasmon enhanced intermediate-band based quantum dots solar cell: Solar Energy Materials & Solar Cells 2012;102:44-9.

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]

21. McLellan MJ, Li ZY, Andrew RS, Xia Y. The SERS Activity of a Supported Ag Nanocube Strongly Depends on Its Orientation Relative to Laser Polarization: NANO Letters 2007; 4: 1013-7.

22. Yu X, Wang L, Di J. Electrochemical Deposition of High Density Gold Nanoparticles on Indium/Tin Oxide Electrode for Fabrication of Biosensors: Nanoscience and Nanotechnology 2011; 11: 11084-8.

23. Berkovitch N, Ginzburg P, Orenstein M. Concave Plasmonic Particles: Broad-Band Geometrical Tunability in the Near-Infrared. ACS NANO 2010; 10: 1405-9.

24. By Brandon DL, Kim JS, Chin C, Guo LJ. Nanoimprint Lithography Based Approach for the Fabrication of Large-Area, Uniformly Oriented Plasmonic Arrays: ADVANCED MATERIALS 2008; 20: 1129-35.

25. Zhang XY, Hu A, Zhang T, Lei W, Xue XJ, Zhou Y, Duley W. Self-Assembly of Large-Scale and Ultrathin Silver Nanoplate Films with Tunable Plasmon Resonance Properties: ACS NANO 2011; 5: 9082-93.

26. Liang C L, Zhong K, Liu M, Jiang L, Liu SK, Xing DD, et al. Synthesis of morphology-controlled silver nanostructures by electrodeposition: NANO-MICRO LETTERS 2010; 2: 6-11.

27. Cyrankiewicz M, wybranowski T, Kruszewski S. Study of SERS efficiency of metallic colloidal systems: Journal Physics 2007; 79: 012013.

28. 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.

29. Wang LR, Fang Y. IR-SERS study and theoretical analogue on the adsorption behavior of pyridine carboxylic acid on silver nanoparticles: Spectrochim. Acta. Part. A. Mol. Biomol. Spectrosc 2006; 63(3): 614-8.

30. Jing C, Fang Y. Simple method for electrochemical preparation of silver dendrites used as active and stable SERS substrate: Journal of Colloid and Interface. Science 2007; 314: 46-51.

31. Cañamares MV, Garcia-Ramos J V, 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: J. Colloid. Interface. Sci 2008; 326: 103-9.

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

33. António M, Nogueira J, Vitorino R, Daniel-da-Silva A. Functionalized Gold Nanoparticles for the Detection of C-Reactive Protein: Nanomaterials (Basel) 2018; 8 (4): 200.

34. Mandke MV, Han SH, Pathan HM. Growth of silver dendritic nanostructures via electrochemical route: The Royal Society of Chemistry 2012; 14: 86.

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

36. Liu L, Xu X, Ye Y, Ma M, Liu Y, Lei J, Yin N. Electrolysis synthetic silver nanoparticles enhanced light emission from CdSe quantum dots: Thin Solid Films 2012; 526: 127-32.

37. 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.

38. 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.

39. Surovtsev NV, Adichtchev SV, Malinovsky VK, Ogienko AG, Drebushchak VA, Manakov AYu, Ancharov AI, Yunoshev AS, Boldyreva EV. Glycine phases formed from frozen aqueous solutions: Revisited: THE. JOURNAL.OF. CHEMICAL. PHYSICS 2012: 137: 065103.

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

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

42. Wang P, Xia M, Liang O, Sun K, F. Cipriano A, Schroeder T, Liu H, Xie YH. Label Free SERS Selective Detection of Dopamine and Serotonin Using Graphene-Au Nanopyramid Heterostructure. American Chemical Society Analytical Chemistry: 2015; 87(20): 10255-61.

[Downloaded from icml.ir on 2025-07-05]