



بیست و ششمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و دوازدهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه خوارزمی،
تهران، ایران.
بهمن ۱۳۹۸ ۱۵-۱۶



طیف‌سنجی کلسترول در غلظت‌های مختلف

زهرا زارع، پرویز پروین*، امیر جعفرقلی، شیرین غلامی و مژگان زارعی فرانی

دانشکده فیزیک دانشگاه صنعتی امیرکبیر

*parvin@aut.ac.ir

چکیده - در این مقاله که هدف استفاده از سیستم طیف‌سنجی نوری برای کاربردهای پزشکی است، به بررسی طیف کلسترول در غلظت‌های مختلف با استفاده از طیف‌سنجی‌های جذبی، فوتولومینسانس و فلورسانس القایی لیزری پرداخته شده است. در طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری اثر غلظت کلسترول بر رنگینه‌هایی همچون رودامین ۶G، رودامین B و متیلن بلو بررسی شد. آنچه که مشاهده شد افزایش جذب کلسترول با افزایش غلظت آن بود و همچنین در طیف فوتولومینسانس با افزایش غلظت کلسترول شدت فوتولومینسانس آن کاهش پیدا کرد و طول موج انتشار با افزایش غلظت کلسترول جابجایی طیفی قرمز (Red Shift) داشته است. در بررسی اثر غلظت کلسترول بر طول موج انتشار رودامین ۶G، افزایش غلظت کلسترول در این رنگینه سبب جابجایی طیفی قرمز و در دو رنگینه دیگر جابجایی طول موج مشاهده نشد که می‌توان نتیجه گرفت کلسترول با این دو رنگینه واکنش مستقیمی ندارد.

کلید واژه- جابجایی طیفی قرمز، طیف‌سنجی جذبی، طیف‌سنجی فوتولومینسانس، طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری، کلسترول

Cholesterol Spectroscopy at Different Concentrations

Z.Zare, P.Parvin*, A.Jafargholi, Sh.Gholami, and M.Zarei Farani

Department of physics , Amirkabir University of Technology(Tehran Polytechnic)

parvin@aut.ac.ir*

Abstract- In this paper, optical spectroscopy could uses for medical devices, UV-Vis, photoluminescence(PL) and laser induced fluorescence spectroscopy(LIF) are employed to investigate different concentration of cholesterol(CH). The effect of CH concentration on the emission wavelength of dyes(RdB,Rd6G, Methylene Blue) was investigated by using LIF. It is shown that increasing in CH concentration leads to decrease in the photoluminescence spectrum and increase in the emission wavelength (Red Shif). In the study of the effect of CH concentration on the emission wavelength of Rhodamine6G, increasing in CH concentration in this dye caused red spectral shift and in the two other dyes the spectral shift have not been observed, it could find cholesterol has no direct reaction with these dyes.

Keywords: Cholesterol, Laser Induced Fluorescence(LIF), Potoluminescence(PL), Red Shift, UV-Vis

مقدمه

فوتولومینسانس که یکی از پرکاربردترین انواع لومینسانس است، برانگیختگی توسط فوتون انجام می‌شود. در تکنیک طیف‌سنجی فوتولومینسانس، نور در حین انتشار در محیط توسط مولکول‌های درون محلول جذب شده و سبب برانگیختگی الکترون‌ها می‌شود و در پی آن نور گسیل می‌شود [2]. همچنین طیف‌سنجی فلورسانس که بر پایه‌ی جذب نور در طول‌موج‌های کوتاه‌تر و تابش آن در طول‌موج‌های بلندتر استوار است در طول ۳۰ سال گذشته رشد قابل توجهی داشته است و بعلاوه حساسیت بسیار بالای آن جزء ابزارهای اولیه تحقیق در بیوشیمی و بیوفیزیک، بیوتکنولوژی، تشخیص‌های پزشکی، ترکیب‌بندی دی‌ان‌ای، علوم جنایی، تحلیل ژنتیکی و... می‌باشد [۳].

هدف از این مطالعه بررسی رفتار طیفی کلسترول در غلظت‌های مختلف با استفاده از تکنیک‌های طیف‌سنجی است.

آزمایش‌ها و نتایج

در انجام این پژوهش از دستگاه‌های طیف‌سنج فلورسانس مدل LS55 (PerkinElmer, USA) مجهز به لامپ زنون با ناحیه طول‌موجی ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر برای طیف‌سنجی فوتولومینسانس و از دستگاه طیف‌سنج جذبی UV-Vis مدل V-550 استفاده شده است. در این طیف‌سنج از لامپ دوتریوم برای طول‌موج‌های پایین و لامپ تنگستن برای طول‌موج‌های بلند، استفاده شده است؛ که ناحیه طیفی بین ۱۹۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر را پوشش می‌دهند. برای بررسی طیف فلورسانس القایی لیزری نیز از دستگاه طیف‌سنج نوری مدل AvaSpec-2048 استفاده شده است. برای انجام آزمایش‌ها، غلظت‌های مختلف کلسترول با توجه به رابطه (۲) آماده شد

امروزه بیماری‌های قلبی-عروقی یکی از علل عمده مرگ‌ومیر در جهان می‌باشد، تشخیص زودهنگام عوامل موثر بر این بیماری‌ها می‌تواند مانع بروز بیماری شود. ارتباط مستقیمی بین کلسترول تام و بیماری‌های قلب و عروق وجود دارد، در سال ۱۹۳۰ این بیماری به عنوان یکی از علت‌های مرگ در لیست آنژیوگرافی بین المللی اضافه شد [۱]. گرفتگی عروق یا آترواسکلروزیس^۱ نام یک بیماری در رگ‌ها است که با رسوب لیپید و کلسترول بر روی دیواره داخلی رگ‌ها سبب گرفتگی آن‌ها می‌شود که یکی از دلایل اصلی حمله‌های قلبی، سکته و بیماری‌های عروقی محیطی است.

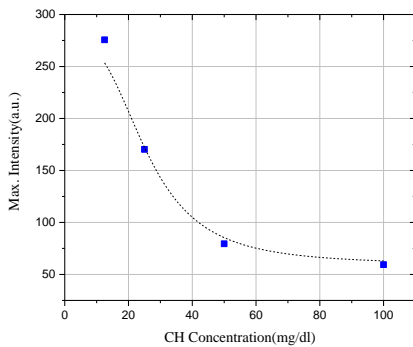
طیف‌سنجی نوری از جمله روش‌های نوین تشخیص بیماری‌ها است که به دلیل غیرمخرب بودن آن از اهمیت بسیاری برخوردار است. از جمله روش‌های طیف‌سنجی می‌توان به طیف‌سنجی جذبی، فوتولومینسانس و فلورسانس القایی لیزری اشاره کرد. در طیف‌سنجی جذبی که براساس جذب تابش الکترومغناطیسی و برانگیختگی الکترون‌ها است، میزان جذب یک پرتوی نوری، در محدوده طیفی مرئی و فرابنفش با عبور از درون نمونه اندازه‌گیری می‌شود. رابطه بین جذب و غلظت ارائه شده توسط لامبرت-بیر، بیان می‌کند که بین این دو کمیت رابطه‌ای خطی به صورت زیر برقرار است:

$$A = \log(I_0/I_T) \alpha Cl \quad (1)$$

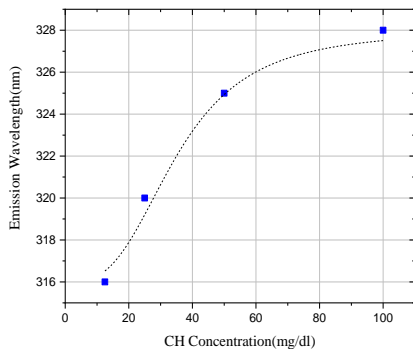
که در آن پارامترهای I_0 ، I_T ، C ، α و l به ترتیب بیانگر شدت نور فرودی، شدت نور عبوری، غلظت، ضریب جذب و ضخامت کووت می‌باشند [۲].

¹ Atherosclerosis

طیف فوتولومینسانس کلسترول در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۵ و ۱۲٫۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در شکل شماره (۲) قابل مشاهده است. با توجه به طیف فوتولومینسانس ارائه شده، کاهش شدت فوتولومینسانس و همچنین افزایش طول‌موج (جابجایی طیفی قرمز) با افزایش غلظت کلسترول قابل رؤیت است که این نتایج به ترتیب در شکل‌های شماره (۳) و (۴) مشاهده می‌شود.



شکل ۳: منحنی شدت بیشینه طیف فوتولومینسانس کلسترول بر حسب غلظت.



شکل ۴: منحنی طول‌موج انتشار طیف فوتولومینسانس کلسترول بر حسب غلظت.

۳. طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری

برای بررسی بیشتر، اثر غلظت کلسترول را بوسیله طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری بررسی کردیم. برای این کار از سه رنگینه رودامین ۶G، رودامین B و متیلن‌بلو با غلظت ۰٫۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شده است. برای انجام طیف‌سنجی از آرایه زاویه قائم و برای برانگیختن دو

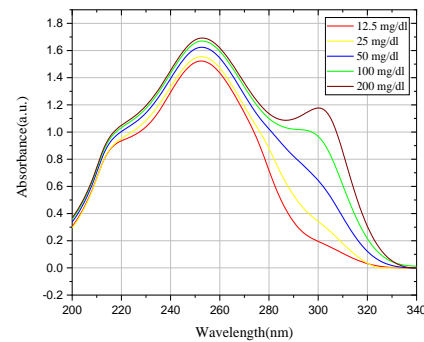
که در این رابطه $C_1V_1 = C_2V_2$ غلظت و حجم محلول اولیه و C_2V_2 غلظت و حجم محلول ثانویه است.

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (2)$$

برای تهیه‌ی طیف‌های فلورسانس، از سه رنگینه متیلن‌بلو، رودامین B و رودامین ۶G استفاده شده است که تهیه‌ی غلظت‌های این رنگینه‌ها نیز با استفاده از رابطه‌ی (۲) انجام شده است.

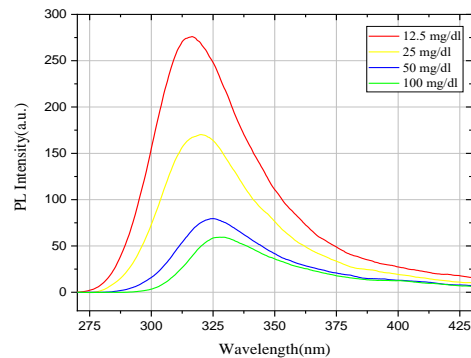
۱. طیف‌سنجی جذبی

شکل (۱) طیف جذب کلسترول در پنج غلظت ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲٫۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر را نشان می‌دهد. در این طیف که از ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر گرفته شده است، کلسترول فقط در محدوده فرابنفش مشاهده شده است.



شکل ۱: طیف جذب کلسترول در غلظت‌ها مختلف.

۲. طیف‌سنجی فوتولومینسانس



شکل ۲: طیف فوتولومینسانس کلسترول.

تحلیل نتایج و نتیجه گیری

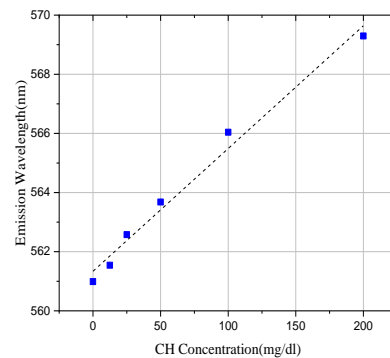
با توجه به طیف جذب ارائه شده در شکل (۱)، مشاهده می شود که افزایش غلظت کلاسترول باعث افزایش جذب آن می شود که با رابطه لمبرت-بیرر مطابقت دارد. در شکل (۲) مشاهده می شود که با افزایش غلظت کلاسترول شدت فوتولومینسانس کاهش می یابد و همچنین جابجایی طول موجی قرمز نیز مشاهده می شود. در نمودار شکل (۵) که توسط طیفسنجی فلورسانس القایی بدست آمده است، واکنش کلاسترول با رودامین ۶G را نمایش می دهد که افزایش کلاسترول در این رنگینه سبب جابجایی طول موجی قرمز شده است. در شکل (۶) مشاهده می شود که کلاسترول با دو رنگینه رودامین B و متیلن بلو واکنش مستقیمی ندارد.

در این مقاله با هدف یافتن روشی حساس بر تغییر غلظت کلاسترول به بررسی رفتار طیفی آن با استفاده از طیفسنجی نوری پرداخته شده است و همچنین طیفسنجی فلورسانس القایی لیزری به منظور کاهش هزینه هایی همچون استفاده از دستگاه های گران قیمت نظیر فوتولومینسانس، پیشنهاد شده است. اگرچه رنگینه های سازگار با بدن متعددی نیز وجود دارد، اما مواد شیمیایی حساس به نور ممکن است در فرایند درمان بالینی از نظر ایمنی بیمار عاملی محدود کننده بشمار آیند.

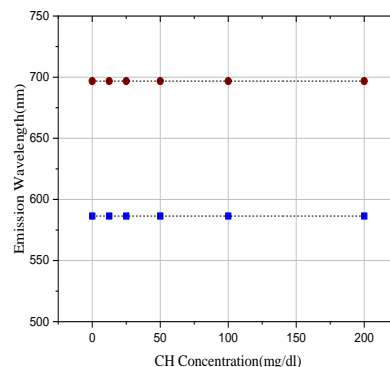
مرجع ها

- [1] Stallones RA (1980) The rise and fall of ischaemic heart disease. *Sci Am*, 243: 43-49.
- [2] Swinehart, D. F. (1962). The beer-lambert law. *Journal of chemical education*, 39(7), 333.
- [3] Khaledi, Shiler, and Shamseddin Ahmadi. "Amyloid Beta and Tau: from Physiology to Pathology in Alzheimer's Disease." *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam* 4.4 (2016): 67-88.

محلول رودامین از لیزر ۵۳۲ نانومتر و برای برانگیختن محلول متیلن بلو از لیزر ۶۶۰ نانومتر با توان ۱۰ میلی وات استفاده شده است. شکل (۵) منحنی تغییرات بدست آمده از تغییر طول موج رنگینه رودامین ۶G با افزایش غلظت کلاسترول در آن را نشان می دهد. این منحنی نشان می دهد که افزایش غلظت کلاسترول سبب جابجایی طیفی بیشتر (قرمز) می شود. شکل (۶) منحنی طول موج دو رنگینه رودامین B و متیلن بلو را در غلظت های مختلف کلاسترول نشان می دهد. همانگونه که قابل مشاهده است کلاسترول با این دو رنگینه واکنش مستقیمی ندارد و تغییر طول موجی رخ نمی دهد.



شکل ۵: نمودار خطی طول موج انتشار رودامین ۶G بر حسب غلظت کلاسترول.



شکل ۶: نمودار طول موج انتشار رودامین B (■) و متیلن بلو (●) بر حسب غلظت کلاسترول.