



بیست و پنجمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران و یازدهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. ۹-۱۱ بهمن ۱۳۹۷



مطالعه و بررسی ژلاتین با استفاده از حسگر زیستی مبتنی بر طیفسنجی رامان ارتقاء یافته‌ی سطحی (SERS)

نفیسه شریفی^{۱*}، وحید اسکندری^۲

^۱ گروه لیزر و فوتونیک، دانشکده فیزیک، دانشگاه کاشان، کاشان ۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳، ایران

^۲ پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان، کاشان ۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳، ایران

*sharifi@kashanu.ac.ir

چکیده- در این پژوهش، با استفاده از روش شیمیایی با عامل کاهنده‌ی ساکروز، نانوذرات نقره در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد ساخته شد. در ادامه، با استفاده از روش قطره‌افشان، نانوذرات نقره روی زیرلایه‌های شیشه‌ای لایه‌نشانی شد تا زیرلایه‌های فعال SERS ساخته شود. با استفاده از آنالیزهای مختلف طیفسنجی فرابنفش-مرئی (UV-Vis)، پراش اشعه‌ایکس (XRD)، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) و طیفسنجی انرژی پخش اشعه ایکس (EDS)، مشخصه‌های نانوذرات نقره روی زیرلایه‌ها که به روش قطره‌افشان ساخته شدند، بررسی شد. از آنجا که طیف رامان مولکول‌هایی که بر روی نانوساختارهای نقره‌ای جذب سطحی شده‌اند؛ به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد؛ می‌توان از حسگرهای مبتنی بر طیف سنجی رامان ارتقاء یافته‌ی سطحی (SERS) ساخته شده بر پایه این نانوساختارها برای آشکارسازی مقادیر بسیار کم مولکول‌ها و مواد زیستی استفاده کرد. سپس این زیرلایه‌ها به عنوان زیرلایه فعال SERS برای آشکارسازی ژلاتین با غلظت 10^{-2} مولار استفاده شد. در این مقاله با حکاکی ژلاتین بر روی زیرلایه نقره اندود به روش فیزیکی در غلظت 10^{-2} مولار به دلیل تشدید پلاسمونی نانوذرات نقره باعث افزایش شدت سیگنال SERS شد. در مقایسه با طیف FT-IR زیرلایه SERS یک روش آسان برای تشخیص مولکول ژلاتین محسوب می‌شود.

کلیدواژه- حسگر زیستی SERS، نانوذرات نقره، ژلاتین، طیف FT-IR

Investigation of Gelatine Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)

Nafiseh Sharifi^{1,*} and Vahid Eskandari²

¹ Laser and photonic group, Department Physics, University of Kashan, Kashan 8731753153, Iran

² Nanoscience and nanotechnology research center, University of Kashan, Kashan 8731753153, Iran

*sharifi@kashanu.ac.ir

Abstract- In this study, silver nanoparticles were synthesized using a chemical method with a reducing agent of sucrose at a temperature of 50°C. Subsequently, the silver nanoparticles were deposited on glass substrates using drop-coating to build active SERS substrates. Different analyses including UV-Vis spectroscopy (UV-Vis), X-ray diffraction (XRD), field emission scanning electron microscopy (FESEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) were obtained to investigate the characterizations of silver nanoparticles. Since silvery substrates could enhance the Raman signal of molecules, these silvery substrates were used to investigate the molecular and biological detection. The active SERS substrates were obtained to detect 10^{-2} M of gelatine. In this paper, by carving gelatine in 10^{-2} M on silvery substrates by a physical method. The silver nanoparticles plasmonic resonance cause of an increase of SERS intensity. In compare with FT-IR spectrum, SERS substrates is an easy way to obtain gelatine.

Keywords: SERS Biological Sensor, Silver Nanoparticles, gelatine, FT-IR spectrum.

مقدمه

تجزیه و تحلیل مولکولی تشکیل دهنده‌ی یک نمونه‌ی زیستی و پزشکی تبدیل شده است [۴]. در نتیجه آشکارسازی این ماده در مقادیر کم و تشخیص زود هنگام این ماده از اهمیت زیادی برخوردار است روش‌های مختلفی برای آشکارسازی این ماده وجود دارد که نیازمند هزینه بالای تجهیزات و نیاز به تکنسین‌های متخصص از معایب این روش است [۵]. در این پژوهش سعی بر ساخت بستر فعال SERS با روشی ساده و ارزان شده که با استفاده از آن می‌توان مولکول ژلاتین را به راحتی و با صرف هزینه‌ی کم‌تر آشکارسازی کرد.

روش ساخت

لام‌های شیشه‌ای با ابعاد $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm} \times 2/5$ به عنوان زیرلایه برش داده شد. برای ساخت نانوذرات نقره از روش شیمیایی استفاده شد. در این روش یون‌های نقره به روش کاهنده‌ی ضعیف احیاء می‌شوند. در ادامه بر روی زیرلایه‌ی شیشه‌ای مقداری از محلول ساخته شده را با قطره چکان می‌ریزیم و نمونه را در دمای 80°C درجه‌ی سانتی‌گراد در آن قرار می‌دهیم تا آب موجود در محلول لایه‌نشانی شده و تبخیر شود. برای آشکارسازی ماده هدف مولکول ژلاتین را با غلظت 10^{-2} مولار استفاده شد. در ادامه، مقداری از غلظت تهیه شده به صورت جداگانه بر روی زیرلایه‌ی های نقره‌اندود شده قرار گرفت و در معرض هوا خشک شد.

نتایج و نمودارها

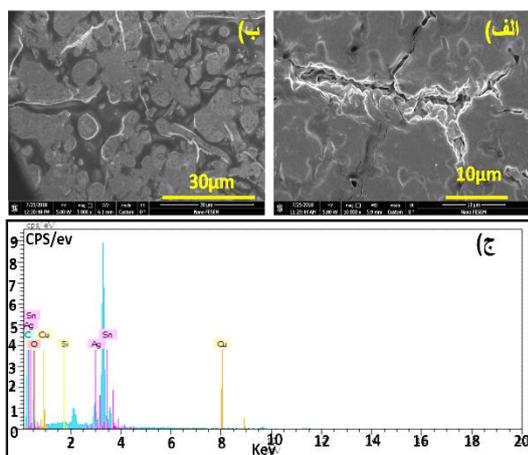
شکل ۱، طیف جذب نانوذرات نقره‌ی ساخته شده در دمای 50°C درجه‌ی سانتی‌گراد با گذشت ۴ دقیقه را نشان می‌دهد. شکل ۱، طیف جذب نانوذرات نقره با قله تشدید پلاسمونی 439 نانومتر است که در آن به وضوح حضور فلز نقره بر روی زیرلایه‌ی شیشه‌ای مشخص است.

در صنایع غذایی ژلاتین، در تهیه ژله‌ها، پاستیل‌ها، شیرینیجات و بستنی‌ها به کار می‌رود. ژلاتین در بدن به آسانی جذب شده و با تشکیل امولسیون با چربی‌ها به هضم سایر مواد غذایی کمک می‌نماید. از آنجا که ژلاتین یک پروتئین می‌باشد و میزان بعضی اسیدهای آمینه ضروری آن مثل لیزین بالاست، بر اساس قوانین اتحادیه اروپا، ژلاتین به عنوان یک ماده غذایی محسوب می‌شود، اما به دلیل فقدان تریپتوفان، یک منبع پروتئینی کامل نیست. ژلاتین با پروتئین شیر سازگار است و یک تثبیت کننده عالی برای محصولات لبنی به حساب می‌آید. ژلاتین به علت جذب دائمی آب و عدم وجود چربی و کربوهیدرات، از نظر کالری نسبتاً ضعیف است و بنابراین در رژیم غذایی نیز تجویز می‌شود. همچنین به علت جایگزین شدن ژلاتین به بیماری‌هایی که نباید نمک مصرف کنند، کمک شایانی می‌کند. ژلاتین همچنین به علت ایجاد لخته مصنوعی و قدرت جذب خون، از خونریزی جلوگیری می‌کند. علاوه بر کاربردهای غذایی ژلاتین، می‌توان به کاربردهای غیرغذایی آن در ریز کپسول کردن مواد دارویی، ایفای نقش به عنوان یک عامل اتصال دهنده‌ی اجزاء مختلف در تهیه قرص، ساخت چسب‌های پزشکی، ساخت دستکش‌های جراحی و همچنین در صنایعی نظیر صنایع عکاسی و نساجی اشاره کرد [۱]. طلا و نقره به دلیل رزونانس پلاسمون سطحی زیاد (SPR) و ویژگی‌های منحصربه‌فردی در صنعت بسیار مورد استفاده واقع می‌شوند [۲]. یکی از کاربردهای اساسی نانوذرات طلا و نقره ساخت زیرلایه‌ی فعال SERS و استفاده از آن‌ها به عنوان حسگر زیستی است. منظور از حسگر زیستی SERS،

حسگر ساخته شده بر پایه اثر پراکندگی رامان که با استفاده

از پوشش‌دهی نانوذرات نقره بر روی بستر شیشه‌ای ساخته شده که باعث بهبود سیگنال رامان ضعیف هدف زیستی جذب شده بر روی بستر می‌شود [۳]. روش پراکندگی رامان ارتقاء یافته سطحی به علت حساسیت بالا و قدرت تفکیک طیفی مناسب به عنوان یک روش غیرمخرب، اخیراً به یک روش بسیار جذاب در

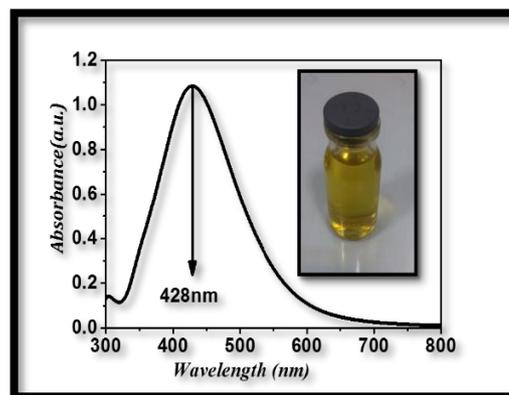
به وقوع می‌پیوندد. از آنجا که در این حالت از روش قطره‌افشان استفاده شده است سطح شیشه پوشیده از نانوساختارهای جزیره‌ای نقره است و به علت فرآیند تبخیر سطح دارای پستی بلندی یا خلع وفرج‌هایی است. شکل ۳-ب، مربوط به نانوذرات نقره بر روی زیرلایه شیشه‌ای و ملکول ژلاتین حکاکی شده روی آن است که در این تصویر نانوذرات نقره به صورت کروی و بیضوی شکل مشاهده می‌شوند و ملکول ژلاتین به صورت لایه‌های ابرگونه روی نانوذرات نقره مشاهده می‌شود. شکل ۳-ج، طیف EDS زیرلایه‌ی شیشه‌ای پوشیده شده از نانوذرات نقره را نشان می‌دهد که به وضوح حضور نقره را تایید می‌کند.



شکل ۳: الف) نانوذرات نقره ساخته شده در دمای ساخت ۵۰ درجه-ی سانتی‌گراد و عامل کاهنده‌ی ساکاروز و روی زیرلایه‌ی شیشه‌ای، ب) نانوذرات نقره و ملکول ژلاتین، ج) طیف EDX نانوذرات حکاکی شده روی زیرلایه‌ی شیشه‌ای.

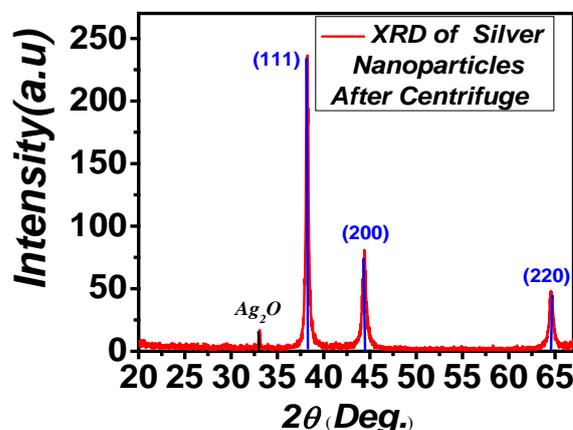
شکل ۴-الف طیف عبور FTIR از مولکول ژلاتین جامد را نشان می‌دهد که ارتعاشات ظاهر شده در جدول ۱-آمده است. شکل ۴-ب طیف SERS محلولی از مولکول ژلاتین ساخته شده در غلظت 10^{-2} مولار را نشان می‌دهد که ارتعاشات ظاهر شده در جدول ۱-آمده است. که ارتعاشات ظاهر شده در هر دو طیف شباهت نزدیکی به هم دارند. پس از استفاده از نانوذرات نقره تهیه شده به عنوان زیرلایه SERS و ثبت طیف رامان ارتقاء یافته، افزایش در شدت قله‌ها به وضوح دیده می‌شود که با محاسبه فاکتور ارتقاء (EF) از طریق رابطه‌ی زیر می‌توان به مقدار آن دست یافت.

$$EF = \frac{N_{vol} \times I_{surf}}{N_{surf} \times I_{vol}}$$



شکل ۱: طیف جذب نانوذرات نقره‌ی ساخته شده با قله‌ی تشدید پلاسمونی ۴۲۸ نانومتر.

شکل ۲، الگوی پراش اشعه‌ایکس مربوط به نانوذرات نقره حکاکی شده روی زیرلایه شیشه‌ای با ساختار FCC را نشان می‌دهد. اصلی‌ترین قله‌ها در زاویه‌ی $38/4$ ، $38/4$ و $64/8$ درجه و صفحات بلوری تشکیل شده‌ی صفحات به ترتیب (۱۱۱)، (۲۰۰) و (۲۲۰) واقع شده است، صفحات بلوری ظاهر شده روی بستر شیشه‌ای حضور نانوذرات نقره را تایید می‌کند. اکسیدنقره ظاهر شده در نمودار XRD به خاطر قرارگیری زیرلایه‌ها در دمای ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد است.



شکل ۲: الگوی XRD از نانوذرات نقره در دمای ساخت ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و عامل کاهنده‌ی ساکاروز حکاکی شده روی زیرلایه‌ی شیشه‌ای.

شکل ۳-الف، تصویر FESEM ریخت یا مورفولوژی نانوذرات نقره، شکل ۳-ب، نانوذرات نقره و مولکول ژلاتین حکاکی شده روی زیرلایه شیشه‌ای پوشش داده شده با نانوذرات نقره مشاهده می‌شود. شکل ۳-الف، نشان می‌دهد که نانوذرات نقره به هم چسبیده و تشکیل جزیره را داده‌اند که در اثر فرآیند حرارت‌دهی

نتیجه‌گیری

رابطه Nvol و Nsurf به ترتیب تعداد مولکول‌های مولکول ژلاتین و بروی زیرلایه‌ی SERS است. Ivsurf و Ivol نیز شدت طیف رامان و طیف ارتقاء یافته رامان (SERS) است. با جایگذاری داده‌های مربوطه در این رابطه، مقدار $10^4 \times 9/74$ بدست می‌آید.

بر روی زیرلایه‌های شیشه‌ای با روش قطره‌افشان به علت سادگی فرایند ساخت، کم‌هزینه بودن و قابلیت آشکارسازی مواد با غلظت‌های کم روش نوینی برای تشخیص زود هنگام مولکول ژلاتین است. استفاده از سیگنال‌های SERS در مقایسه با سایر روش‌ها از جمله روش FT-IR سریع‌تر و کم‌هزینه‌تر است. پیش-بینی می‌گردد که روش ارائه شده می‌تواند برای شناسایی، تجزیه و تحلیل نمونه‌ها و بیماری‌های دیگر زیستی و پزشکی که مولکول‌هایی در غلظت‌های کم و با حساسیت زیاد به کار گرفته شود.

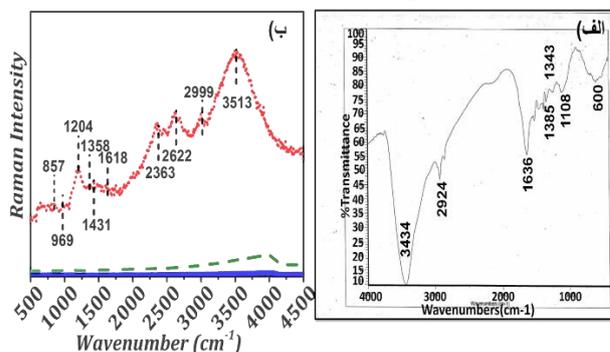
مرجع‌ها

- [1] Farahnaky A, Majzoobi M, Mesbahi Gh. Characteristics and applications of hydrocolloids in foods and pharmaceuticals. Iranian J Agriculture Science Publication 2009; 21-28 [in Persian].
- [2] M-Nidya, M. Umadevi, P. Sankar, R. Philip, B.J. Rajkumar, L-Phenylalanine functionalized silver nanoparticles: photocatalytic and nonlinear optical applications, Optical Materials 42 (2015) 152-159.
- [3] C.-C. Lin, Y.-M. Yang, P.-H. Liao, D.-W. Chen, H.-P. Lin, H.-C. Chang, A filter-like AuNPs@ MS SERS substrate for Staphylococcus aureus detection, Biosensors and Bioelectronics 53 (2014) 519-527
- [4] S. McAughtrie, K. Faulds, D. Graham, Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS): potential applications for disease detection and treatment, Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews 21 (2014) 40-53.

[۵] تشخیص وجود مشتقات خوکی در نمونه‌های گوشت و غذاهای بسیار فرآوری شده مشکوک با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمر از زمان واقعی، الهام ملکی، محمد قربانی، محمد حمیدی، علیرضا صادقی ماهونک، مرتضی خمیری، علوم و صنایع غذایی، شماره ۷۵، دوره ۱۵، اردیبهشت ۱۳۹۷.

Brown, G. M., & Hope, G. A. (1995). SERS study of the adsorption of gelatin at a copper electrode in sulfuric acid solution, 397, 293-300 (Brown & Hope, 1995).

در این رابطه Nvol و Nsurf به ترتیب تعداد مولکول‌های مولکول ژلاتین و بروی زیرلایه‌ی SERS است. Ivsurf و Ivol نیز شدت طیف رامان و طیف ارتقاء یافته رامان (SERS) است. با جایگذاری داده‌های مربوطه در این رابطه، مقدار $10^4 \times 9/74$ بدست می‌آید.



شکل ۴: الف) طیف FTIR ژلاتین جامد، ب) طیف رامان (منحنی آبی - خط ممتد) شیشه‌ی نقره‌اند شده، (منحنی سبز-خط چین) شیشه‌ی حکاکی شده با ژلاتین، (منحنی قرمز- نقطه‌چین) ژلاتین حکاکی شده روی شیشه‌ی نقره‌اندود جذب شده بر روی زیرلایه فعال SERS.

جدول ۱: طیف ارتعاشات طیف FT-IR و طیف SERS مربوط به مولکول ژلاتین را نشان می‌دهد [۶].

موقعیت قله‌های FTIR ژلاتین جامد (cm ⁻¹)	موقعیت قله‌های SERS (cm ⁻¹)	حالت ارتعاشی
۶۰۰	۸۵۷	تریپتوفان
-	۹۶۹	C-C
۱۱۰۸	-	C-N
۱۳۴۳	۱۳۵۸	C-H
۱۳۸۵	۱۴۳۱	C-N
۱۶۳۶	۱۶۱۸	N-H
-	۲۳۶۳	C-H
-	۲۶۲۲	CH
۲۹۲۴	۲۹۹۹	CH ₂
۳۴۳۴	۳۵۱۳	N-H