



بیست و هشتمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و چهاردهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه شهید چمران اهواز،
خوزستان، ایران.
۱۴-۱۲ بهمن ۱۴۰۰



استفاده از طیف‌سنجی رامان جابه‌جایی فضایی معکوس به منظور شناسایی مواد دارویی پوشش‌دار

مأده ملاآقابابائی، مرضیه همتی فارسانی، ابوالحسن مبشری، سید محمدرضا دربان

پژوهشکده علوم و فناوری اپتیک و لیزر، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، اصفهان

Maede.babayi.74@gmail.com, Marziyeh.hemati.22@gmail.com, Mobashery59@yahoo.com,
Darbany2002@yahoo.com

چکیده - روش‌های متفاوتی برای شناسایی مواد و نمونه‌های دارویی پوشش‌دار بدون آسیب‌زدن به پوشش ارائه شده است. در نمونه‌های دارویی با پوشش کدر به علت فلورسانسی زیاد نمی‌توان آن‌ها را از طریق روش رامان معمولی شناسایی کرد. در این پژوهش روش Inverse SORS که بر مبنای طیف‌سنجی رامان عمل می‌کند، استفاده و از آن برای شناسایی قرص استامینوفن با پوشش‌های معمول کرم، زرد و قرمز استفاده شده است. نتایج تحقیق نشان داد که قله‌هایی که در روش معمولی (نقطه‌ای) مخفی شده بودند، نمایان و نسبت سیگنال به نویز مطلوبی حاصل گردید.

کلید واژه- پوشش، رامان جابه‌جایی فضایی معکوس، فلورسانسی، مواد دارویی

Using Inverse Spatial Offset Raman Spectroscopy (I-SORS) for detecting covered pharmaceutical substances

Maede Mollaaghababayi, Marziyeh Hemati Farsani, Abolhasan Mobashery, Seyed
Mohammad reza Darbany

Optic and Laser Science and Technology Research Center, Malek-e Ashtar University of
Technology, Isfahan

Maede.babayi.74@gmail.com, Marziyeh.hemati.22@gmail.com, Mobashery59@yahoo.com,
Darbany2002@yahoo.com

Abstract- Different techniques have been proposed for the detection of covered substances and pharmaceutical samples without damaging them. Pharmaceutical samples with the turbid cover cause more fluorescence could not be detected by conventional Raman. In this project, one of these techniques based on Raman spectroscopy was demonstrated which is called Inverse SORS, and it has been used to detect acetaminophen tablets in usual coloured covers in pharmacies like white, yellow, and red. Results show, by using this method picks had been hidden in conventional Raman have appeared and a high signal to noise ratio have registered.

Keywords: Inverse SORS, Raman, Pharmaceutical Substances, Cover, fluorescence

مقدمه

در بسیاری از روش‌های آنالیزی نمونه‌های چندلایه‌ای، نیاز است که هویت شیمیایی لایه‌های زیرین مشخص شود [۱]. یافتن روش‌های حساس و انتخابی برای شناسایی مواد پنهان از جمله مخلوط‌های دارویی، مواد شیمیایی و بیولوژیکی، مواد منفجره و مواد سمی بدون باز کردن بسته مشکوک به منظور به حداقل رساندن آسیب احتمالی حیاتی است. از طرف دیگر نگرانی روزافزونی در مورد تقلبی بودن قرص‌ها و داروها وجود دارد. داروهای تقلبی یا غیراستاندارد ممکن است حاوی ماده فعال غلط و یا مواد سمی باشند که این موضوع برای سلامتی انسان خطرآفرین است؛ بنابراین دستیابی به روشی سریع، غیرمخرب، دارای دقت کافی و حساسیت بالا از اهمیت بالایی برخوردار است [۲].

برای دستیابی به اطلاعات لایه‌های زیرین ماده، طیف‌سنجی رامان جابه‌جایی فضایی (SORS) تحول جدیدی ایجاد نموده است [۱]. این روش مبتنی بر پراکندگی چندگانه فوتون‌های رامان است. در روش متداول رامان که مناطق روشنایی و جمع‌آوری یکسان هستند، فلورسانس تولیدشده توسط نمونه نیز جمع‌آوری می‌شود و به همین دلیل، فوتون‌های کم شدت‌تر رامان ضعیف یا به‌طور کامل از آشکارسازی آن‌ها جلوگیری می‌شود [۲]. در روش SORS سیگنال رامان از مناطقی جمع می‌شود که از محل تابش لیزر جدا و دور هستند. از آنجاکه نقطه جمع‌آوری نور و نورپردازی به‌طور فضایی از هم جدا شده‌اند، مقدار فلورسانس جمع‌شده بسیار کاهش می‌یابد؛ بنابراین این روش به‌طور مؤثر سیگنال‌های تداخل‌دار فلورسانس که از لایه سطحی (پوشش) نشأت می‌گیرند را سرکوب می‌کند [۲].

یکی از روش‌های افزایش سیگنال رامان، افزایش توان لیزر بر روی نمونه است. البته در بسیاری از موارد این افزایش منجر به تخریب نمونه می‌شود. برای رفع این مشکل روش I-SORS ابداع شده است. در این روش پرتو لیزر سطح وسیع‌تری از نمونه را روشن می‌کند [۳]. معمولاً برای ایجاد

فاصله فضایی بین محل جمع‌آوری نور و تابش لیزر، لکه لیزر را به‌صورت حلقه درآورده و جمع‌آوری نور در مرکز این حلقه انجام می‌شود. این روش بر مزیت روش SORS برای کاهش فلورسانسی، امکان افزایش توان لیزر تابشی بدون تخریب نمونه را نیز فراهم می‌کند؛ بنابراین خطر گرم شدن موضعی و تخریب احتمالی و یا انفجار یک ماده حساس پنهان مانند پیش ماده منفجره را کاهش می‌دهد [۴-۲].

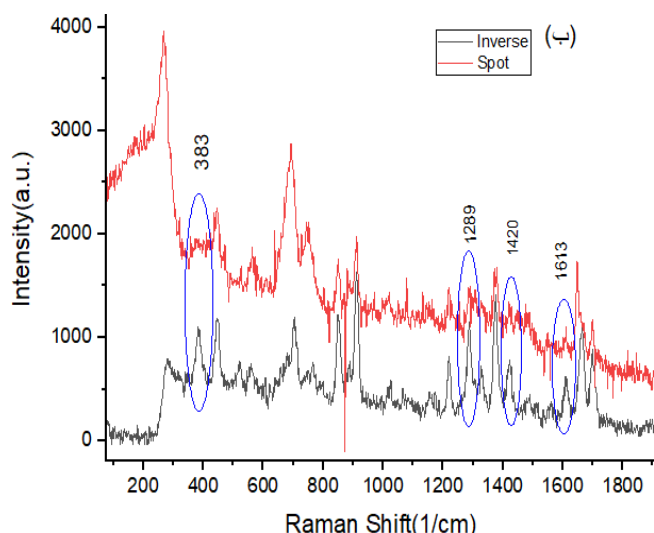
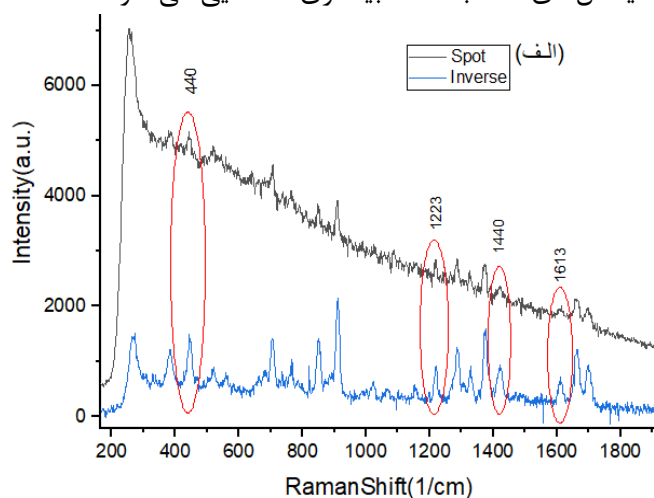
اصل روش SORS بر اساس جمع‌آوری مجموعه‌ای از طیف‌های رامان از مناطق سطح نمونه است که در فواصل تعیین‌شده دور از روشنایی لیزر قرار دارند؛ اما در I-SORS نور لیزر به‌صورت حلقه‌ای تابش شده و از مرکز این حلقه‌ها سیگنال رامان جمع‌آوری می‌شود؛ بنابراین با استفاده از روش I-SORS علاوه بر افزایش سرعت و دقت داده‌برداری، امکان بهره‌گیری از لیزرهای پرتوان برای ثبت سیگنال رامان مهیا می‌شود که با این کار بخش عمده‌ای از محدودیت‌های ضعیف بودن سیگنال رامان برطرف می‌شود [۵-۶].

در این پژوهش طیف‌های رامان نقطه‌ای و I-SORS قرص استامینوفن ۵۰۰ با پوشش‌های رنگی متفاوت با یکدیگر مقایسه و در نهایت پارامتر سیگنال به نویز طیف‌های I-SORS اندازه‌گیری شد.

مواد و چیدمان

چیدمان مورد استفاده برای آزمون I-SORS در شکل ۱ نشان داده است. در این چیدمان از یک لیزر دیود با طول‌موج 785nm با توان متغیر (حداکثر خروجی 400mw) استفاده شده است. پرتو خارج‌شده از لیزر توسط یک عدسی دو کوژ با فاصله کانونی 75mm (عدسی ۱) بر روی رأس عدسی اکسیکون (axicon) متمرکز شده است. عدسی‌های اکسیکون پرتو گوسی لیزر را به یک حلقه نوری واگرا تبدیل می‌کنند. با تغییر دادن فاصله بین عدسی اکسیکون و نمونه، قطر لکه دایره‌ای لیزر بر روی نمونه تغییر داده می‌شود. در آزمون‌های انجام‌شده لکه‌ای به قطر 7mm بر روی نمونه ایجاد شد.

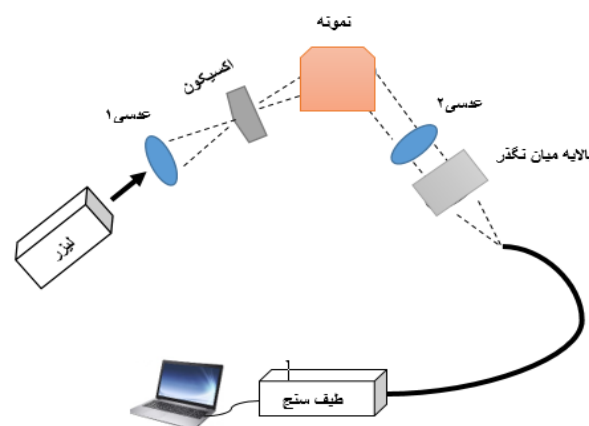
شکل‌های ۳ الف و ب طیف رامان نقطه‌ای و I-SORS قرص استامینوفن با پوشش کرم و زرد رنگ را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در طیف‌سنجی رامان نقطه‌ای به علت یکی بودن نقاط روشنایی و جمع‌آوری، میزان فلورسانس زیادی جمع‌آوری و باعث عدم شناسایی طیف نمونه‌ی زیر پوشش می‌شود، اما در طیف‌های ثبت شده به روش I-SORS گرفته‌شده است فلورسانس سطح به شدت کاهش یافته و به علت افزایش فوتون‌های عمق در فواصل دور از سطح برانگیختگی سیگنال‌های ماده با شدت بیشتری شناسایی می‌شود.



شکل ۳: نمودار I-SORS قرص استامینوفن با پوشش (الف) کرم (ب) زرد

در شکل ۳-الف که مربوط به پوشش کرم است، طیف رامان نقطه‌ای دارای فلورسانس بسیار زیادی است و برخی از قله‌های مشخصه در زیر ناحیه فلورسانس پنهان شده‌اند و

برای جمع‌آوری سیگنال‌های رامان از یک عدسی دوکوژ با فاصله کانونی 50mm (عدسی ۲) استفاده شده است. این عدسی در چیدمان طوری قرار گرفته که پرتوهای نور را از مرکز حلقه لیزر جمع‌آوری کند. پرتوها پس از عبور از یک فیلتر میان نگذر بر روی فیبر اپتیکی متصل به طیف‌سنج (مدل V900 ساخت شرکت فناوران فیزیک نور) کانونی می‌شوند. برای مقایسه نتایج در آزمون I-SORS، طیف رامان نقطه‌ای و حلقه‌ای به صورت جداگانه ثبت شده است. برای انجام این آزمون، فاصله اکسیکون تا نمونه کاهش داده شده تا حلقه لیزر به لکه‌ای کوچک تبدیل شود و طیف رامان نقطه‌ای بدست آید.



شکل ۱: چیدمان آزمون I-SORS

در این پژوهش قرص استامینوفن با پوشش‌های متفاوت رنگی‌ای که در بازار موجود است (شکل ۲)، جهت شناسایی از روی پوشش مورد بررسی قرار گرفته است.



شکل ۲: پوشش‌های رنگی استفاده شده در آزمون‌ها

نتایج و تحلیل داده‌ها

قرص استامینوفن ۵۰۰ با پوشش‌های کرم، زرد و قرمز مورد تحلیل قرار گرفت. طیف‌های آشکارسازی شده در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. شناسایی قله‌ها علی‌رغم انجام هیچ‌گونه آماده‌سازی، کارایی روش فوق را نشان می‌دهد.

منتقل می‌کند که توسط این دو روش قابل جمع‌آوری است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش با استفاده از چیدمان I-SORS طیف رامان قرص استامینوفن در پوشش‌های کرم، زرد و قرمز ثبت شد. طیف‌های آشکارسازی شده نشان دادند که در پوشش‌های کرم و زرد رنگ به دلیل فلورسانسی بالای پوشش، روش رامان نقطه‌ای بسیاری از قله‌های مشخصه رامان را به‌شدت کاهش می‌دهد ولی روش I-SORS این قله‌ها را به‌خوبی نشان می‌دهد و همچنین نسبت سیگنال به نویز در این روش نیز بهبود می‌یابد. آزمون I-SORS پوشش قرمز به دلیل پراکندگی بسیار کم این پوشش نتیجه ضعیف‌تری در شدت سیگنال نمونه در مقایسه با رامان نقطه‌ای دارد که قابل انتظار بود.

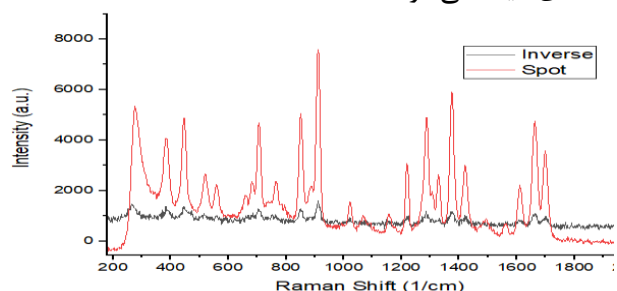
مرجع‌ها

- [1] MacLeod, Neil A., A. Goodship, Anthony W. Parker, and Pavel Matousek. Prediction of sublayer depth in turbid media using spatially offset Raman spectroscopy. *Analytical chemistry* 80, no. 21 (2008): 8146-8152.
- [2] Olds, William J., Esa Jaatinen, Peter Fredericks, Biju Cletus, Helen Panayiotou, and Emad L. Izake. Spatially offset Raman spectroscopy (SORS) for the analysis and detection of packaged pharmaceuticals and concealed drugs. *Forensic science international* 212, no. 1-3 (2011): 69-77.
- [3] Cletus, Biju, William Olds, Peter M. Fredericks, Esa Jaatinen, and Emad L. Izake. Real-Time Detection of Concealed Chemical Hazards Under Ambient Light Conditions Using Raman Spectroscopy. *Journal of forensic sciences* 58, no. 4 (2013): 1008-1014.
- [4] Khan, Khan Mohd, Surjendu B. Dutta, Nitin Kumar, Anita Dalal, Amrita Srivastava, Hemant Krishna, and Shovan K. Majumder. Inverse spatially-offset Raman spectroscopy using optical fibers: An axicon lens-free approach. *Journal of biophotonics* 12, no. 11 (2019): e201900140.
- [5] Matousek, Pavel. Inverse spatially offset Raman spectroscopy for deep noninvasive probing of turbid media. *Applied spectroscopy* 60, no. 11 (2006): 1341-1347.
- [6] Matousek, Pavel, and Nicholas Stone. "Emerging concepts in deep Raman spectroscopy of biological tissue." *Analyst* 134, no. 6 (2009): 1058-1066.

مشخص نیستند. در مقابل قله‌های رامان نمونه در طیف I-SORS بسیار مشخص و باریک هستند؛ برای مثال قله‌های مشخصه در نواحی 1613 cm^{-1} ، 1420 cm^{-1} ، 1223 cm^{-1} و 440 cm^{-1} و 383 cm^{-1} در طیف رامان نقطه‌ای شدت بسیار پایینی دارند. معیار دیگری که برای مقایسه کارایی این دو روش استفاده می‌شود، نسبت سیگنال به نویز است. این کمیت برای قله 911 cm^{-1} برابر با $1/27$ بوده که در روش I-SORS این نسبت به $5/32$ افزایش یافته است.

در شکل ۳-ب که مربوط به قرص استامینوفن با پوشش زرد است نیز اثر فلورسانسی به‌راحتی قابل مشاهده است، به‌طوری‌که علاوه بر قله‌های ذکرشده برای پوشش کرم قله‌های 1327 cm^{-1} ، 1289 cm^{-1} در زیر فلورسانس ناشی از پوشش پنهان شده‌اند. در این آزمون نیز نسبت سیگنال به نویز در قله 911 cm^{-1} از $1/5$ در طیف رامان نقطه‌ای به $3/4$ در روش I-SORS افزایش یافته است.

طیف‌های رامان معمولی و I-SORS نمونه با پوشش شفاف قرمز رنگ در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، برخلاف دو مورد قبل، طیف رامان نقطه‌ای قوی‌تر و واضح‌تر از طیف I-SORS است. دلیل این موضوع را می‌توان به نوع رنگ پوشش و پراکندگی کمتر آن نسبت داد. به دلیل عبوردهی انتخابی نور لیزر و رامان در پوشش قرمز رنگ، فلورسانس بسیار کمی در طیف رامان نقطه‌ای دیده می‌شود.



شکل ۴: نمودار Inverse SORS قرص استامینوفن با پوشش قرمز.

روش‌های SORS و I-SORS بر مبنای پراکندگی چندگانه نور در پوشش استوار است. این پراکندگی‌ها فوتون‌های رامان لایه زیرین را به فواصل دورتر از محل تابش لیزر

۱- با توجه به اینکه این روش طیف‌سنجی اثر پوشش را نادیده می‌گیرد، چرا طیف‌های قرص‌ها، مشابه هم نیست؟

تفاوت مشاهده‌شده در طیف قرص‌ها ناشی از تفاوت در سطح سیگنال فلورسانسی نشات گرفته از پوشش است. در نگاه اول این‌طور به نظر می‌رسد که طیف قرص‌ها به علت تفاوت در شدت قله‌های رامان متفاوت است اما با بررسی موقعیت قله‌های رامان یکسان بودن طیف‌های به‌دست‌آمده تأیید می‌شود. از طرف دیگر قرص‌ها و مواد دارویی شامل مقدار زیادی نشاسته یا تالک هستند که حجم قرص را افزایش می‌دهند. به دلیل مخلوط غیریکنواخت نشاسته (تالک) و ماده مؤثر دارویی و همچنین نويزهای پس‌زمینه شدت قله‌های رامان در نمونه‌های مختلف متفاوت است.

۲- با ایجاد فاصله بین نقطه تابش و نقطه جمع‌آوری نورهای رامان پراکنده‌شده، درست است که مقدار زیادی از نور فلورسانس حذف می‌شود ولی باید دقت کرد که، سیگنال‌های رامان که دچار چند بار پراکنش می‌شوند، نیز به دلیل جذبه‌ای متوالی دچار کاهش فاحش می‌شوند. همچنین، همان‌طور که نور رامان دچار حرکت ول گشت در نمونه می‌شود، نور زمینه فلورسانس نیز این شانس را خواهد داشت؛ بنابراین، به نظر می‌رسد تضعیف هم سیگنال و هم زمینه فلورسانس، در این آرایش به‌صورت متناظر و هم‌زمان اتفاق بیافتند که درنهایت، برگ برنده‌ای را در اختیار تجربه‌گر قرار نمی‌دهد. درنتیجه، هرچند که نتایج تجربی را اگر قابل‌قبول ارزیابی کنیم، توجیه فیزیکی مشاهدات نیاز به توضیحات قانع‌کننده دیگری دارد (مثلاً ممکن است الگوی تابشی رامان و یا فلورسانس بستگی زاویه‌ای ناهمگن داشته باشند و یا دلایل دیگر). در این زمینه بهتر است مؤلفین توضیحات بیشتری ارائه کنند.

در روش متداول رامان نقطه روشنایی و جمع‌آوری سیگنال یکسان است. در این حالت فوتون‌های پراکنده‌شده (رامان + فلورسانسی) از سطح ماده و لایه نزدیک به سطح جمع‌آوری می‌شود. در صورتی که نور لیزر به لایه‌های زیرین

سطح نفوذ کند، فوتون‌های پراکنده‌شده‌ی این لایه‌ها به دلیل حرکت زیگزاگ در داخل ماده، در ناحیه گسترده‌تری گسترش می‌یابد. این فوتون‌ها که شامل رامان و فلورسانسی لایه‌های زیرین هستند به دلیل جذب و پراکندگی و... ضعیف‌تر از فوتون‌های پراکندگی سطحی هستند و در روش رامان متداول امکان آشکارسازی و تفکیک آن‌ها از فوتون‌های سطحی وجود ندارد. با افزایش عمق نفوذ لیزر به داخل ماده، فوتون‌های پراکندگی الاستیک و غیر الاستیک لایه‌های زیرین در ناحیه‌ی گسترده‌تری پراکنده می‌شوند و با اعمال جابه‌جایی فضایی بین نقطه تابش و جمع‌آوری سیگنال امکان آشکارسازی آن‌ها وجود خواهد داشت. بنابراین روش SORS امکان آشکارسازی سیگنال لایه‌های زیرین و حذف سیگنال لایه سطحی را فراهم می‌کند.

در سوال مطرح‌شده توسط داور محترم فرض شده است که فوتون‌های پراکنده‌شده از لایه‌های سطحی به لایه‌های پایین منتقل‌شده است و با طی کردن مسیرهای زیگزاگی دوباره به سطح برمی‌گردند و در فاصله دورتری آشکارسازی می‌شوند. لازم به ذکر است که این فرض صحیح نیست، بلکه فوتون‌های ناشی از پراکندگی لیزر در لایه‌های زیرین ماده به سطح مهاجرت می‌کنند و در نقطه‌ای دورتر از محل تابش لیزر آشکارسازی می‌شوند. این فوتون‌ها شامل پراکندگی رامان، رایلی و فلورسانسی است؛ بنابراین روش SORS یک ر برای آشکارسازی لایه‌های داخلی یک محیط است نه روش حذف فلورسانسی. البته در صورتی که که فلورسانسی لایه سطحی زیاد باشد، مثل مسئله موردبررسی در این مقاله، با استفاده از روش SORS این مشکل نیز مرتفع می‌شود.