



بیست و یکمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و هفتمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۲۳ تا ۲۵ دی ماه ۱۳۹۳، دانشگاه شهید بهشتی



مطالعه خواص خطی و غیرخطی نانوذرات اکسیدروی و کاربرد آن در تصویربرداری از سلول های گیاهی

زهره باقری^۱، سویین باتلر^۲، رضا مسعودی^۱، ارپ نئوگی^۲

^۱ پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

^۲ دانشکده فیزیک، دانشگاه تگزاس شمالی، تگزاس، امریکا

چکیده - این مقاله به بررسی خواص اپتیکی خطی و غیرخطی نانوذرات اکسیدروی و کاربردهای آن می پردازد. در ابتدا، طیف فوتولومینسانس که از جمله خصوصیات خطی و، تولید هارمونیک دوم و جذب دو فوتونی که از خواص غیرخطی نانوذرات اکسیدروی محسوب می شوند، مطالعه می گردد. همچنین با استفاده از هارمونیک دوم این نانوذرات از سلول های زنده گیاه *Arabidopsis thaliana* به کمک میکروسکوپ غیرخطی تصویربرداری می شود.

کلید واژه - تابش تک فوتونی فوتولومینسانس، تولید هارمونیک دوم، تصویربرداری غیرخطی، جذب دو فوتونی

Linear and Nonlinear Optical Properties of ZnO Nanoparticles and Their Application in Plant Cell Imaging

Zahra Bagheri^{1,2}, Sween Butler², Reza Massudi¹, Arup Neogi²

¹Laser and Plasma Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

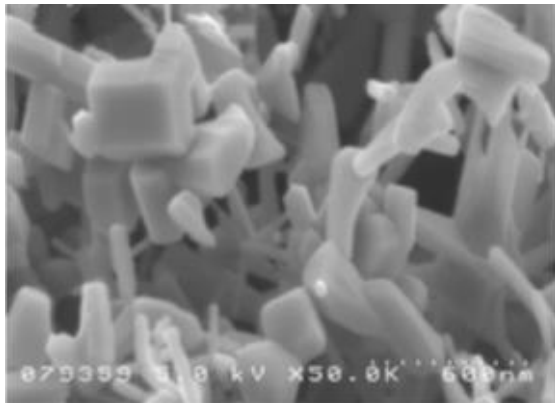
²Physics department of University of North Texas, Texas, USA

Abstract- In this paper we study the linear and nonlinear properties of ZnO nanoparticels and their applications in biology. First of all, we measure photoluminescence spectrum which is single photon process and second harmonic and two-photon absorption which are nonlinear processes. Additionally, we use second harmonic generation of these nanoparticle for imaging from Arabidopsis thaliana cells with nonlinear microscopy.

Keywords: Single photon photoluminescence emission, two photon absorption, second harmonic, nonlinear imaging

۱- مقدمه

بزرگنمایی ۵۰۰۰۰ را در شکل ۱ می بینید، اندازه این نانوذرات در حدود ۱۰۰-۱۵۰ نانومتر است.



شکل ۱: تصویر SEM از نانوذرات اکسیدروی با بزرگنمایی ۵۰۰۰۰

۲-۲- فوتولومینسنس:

فوتولومینسنس یا PL تابشی خودبه خودی است که ناشی از تحریک خطی فوتون هاست. PL نیمه رسانا هایی مثل اکسیدروی را می توان با استفاده از انرژی ترازها توضیح داد. با فوتونی با انرژی بیشتر از انرژی گاف می توان الکترون های موجود در نوار رسانش را تحریک کرد و به نوار رسانش برد، آنچه در نوار ظرفیت باقی می ماند حفره هایی با بار مثبت هستند. این جفت الکترون حفره را اکسیتون می نامند. الکترون ها در نوار رسانش و پیش از بازترکیب می توانند بین ترازهای فشرده موجود در نوار رسانش گذار های غیر تابشی (که معمولا از نوع گذارهای ارتعاشی هستند) داشته باشند. در این حالت اختلاف انرژی بین الکترون و حفره از حالت اولیه کمتر شده و بنابراین فوتونی که از بازترکیب این جفت الکترون و حفره پدید می آید طول موجی بیشتر از طول موج فوتون تحریک کننده اولی دارد. چنانچه انرژی فوتون تحریک کننده بیشتر از گاف انرژی نیمه رسانا باشد، الکترون به ترازهای بالایی نوار رسانش می رود، اما اگر انرژی فوتون کمتر از گاف انرژی باشد جذبی صورت نمی گیرد و بنابراین تابشی رخ نمی دهد. تحریک فوتولومینسنس تک فوتونی این نانوذرات که با طول موج ۳۲۰ و ۳۶۰ نانومتر با شکاف تحریک و آشکارسازی ۵ نانومتر بدست آمده، در شکل ۲ نمایش داده شده است. همانگونه که در شکل مشخص است، تابش فوتولومینسنس این نانوذرات دارای قله تیزی در طول موج ۳۸۰ نانومتر (۳,۶ الکترون ولت) است، که مربوط به گذار اکسیتونی لبه گاف می باشد.

اکسیدروی از نیمه رساناهای گروه II-VI با گاف انرژی مستقیم در حدود ۳,۳ الکترون ولت در دمای اتاق و همچنین دارای انرژی مربوط به پیوند اکسیتونی در حدود ۶۰ میلی الکترون ولت است. بازترکیب اکسیتونی در نانوذرات اکسیدروی منجر به تابش UV در حدود ۳۷۵ نانومتر می گردد. این خصوصیت اکسیدروی توجه بسیاری از محققین را به منظور استفاده از آن در LED ها در طول موج های کوتاه به خود جلب کرده است. به علت گذار تیز اکسیتونی اکسیدروی، می توان از آن در لیزرهای نیمه رسانا نیز استفاده کرد، همچنین آن ها را می توان به عنوان الکترودهای شفاف در سلول های خورشیدی نیز به کار برد.

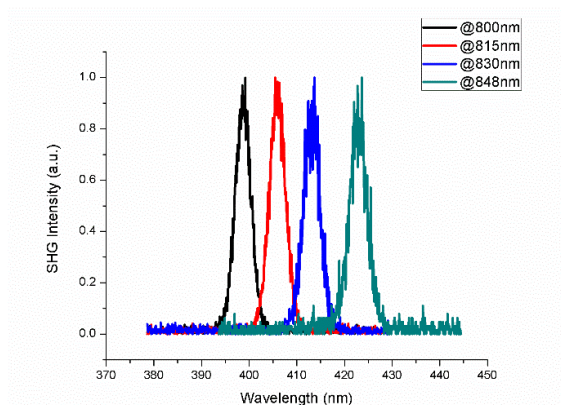
در مقایسه با دیگر نانوذرات سمی نیمه رسانا، نانوذرات اکسیدروی میزان سمیت کمتری دارد [1]. امروزه بسیاری از قرص های مولتی ویتامین و مکمل های غذایی حاوی روی هستند، همچنین در بسیاری از لوازم آرایشی و کرم های ضد آفتاب اکسیدروی وجود دارد. از این رو اکسیدروی را می توان ماده ای سازگار با بدن دانست. همچنین، به خاطر خواص خوب اپتیکی این نانوذرات مانند فوتولومینسنس، هارمونیک دوم با بهره بالا و تابش دو فوتونی، این ماده گزینه مناسبی برای کاربردهای زیستی محسوب می شوند.

در این مقاله ما به مطالعه خواص اپتیکی خطی مثل تابش فوتولومینسنس و خواص غیرخطی مانند تولید هارمونیک دوم و جذب دوفوتونی می پردازیم. در نهایت از خاصیت تولید هارمونیک دوم اکسیدروی برای تصویربرداری غیرخطی از سلول گیاهی/رأبیدوپسیس استفاده می کنیم.

۲- مشخصات اپتیکی نانوذرات

۲-۱- آماده سازی نمونه

نانوذرات اکسیدروی که در این مطالعه استفاده شد به روش تبخیر گازی تهیه شده است. چون هدف ما از بررسی خواص اپتیکی اکسیدروی استفاده آن در کاربردهای زیستی است، مقدار ۰,۱ گرم از این نانوذرات را در ۳۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل می کنیم. تمامی نتایج ارائه شده زیر در دمای اتاق انجام گرفته شده است. نتایج حاصل از تصویربرداری SEM نانوذرات اکسیدروی را با

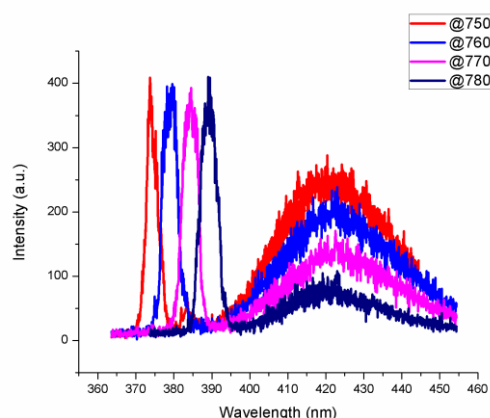


شکل ۳: طیف هارمونیک دوم نانوذرات اکسیدروی با طول موج تحریک متفاوت

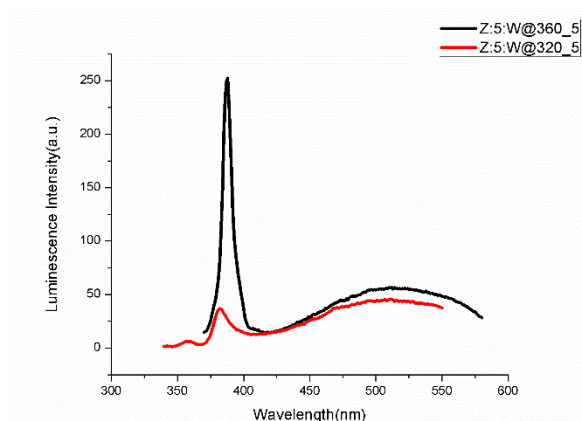
با دور شدن از طول موج ۸۰۰ نانومتر توان لیزر روندی نزولی دارد که این امر باعث کاهش شدت قله‌های هارمونیک دوم این نانوذرات گشته است. به همین منظور، شکل بالا حالت نرمالیزه را نمایش می‌دهد.

۴-۲- جذب دو فوتونی

وقتی نانوذرات اکسیدروی با طول موجی تحریک شوند که انرژی فوتون فرودی (ex) شرط $2ex > E_g$ را ارضا نماید، و سطح مقطع جذب دو فوتونی قابل توجه باشد، جذب دو فوتونی رخ می‌دهد. بنابراین نانوذرات اکسیدروی چنانچه با طول موج ۷۵۰-۷۰۰ نانومتر تحریک شوند، تابش دوفوتونی خواهیم داشت. در ناحیه بسیار کوچکی (۷۵۰-۸۰۰ نانومتر) علاوه بر تولید هارمونیک دوم به طور همزمان جذب دو فوتونی نیز رخ می‌دهد. شکل ۴ شمایی از این حالت را برای ۴ طول موج متفاوت نمایش می‌دهد.



شکل ۴: طیف تابش دوفوتونی و هارمونیک دوم به صورت همزمان همانطور که مشاهده می‌شود تابش ناشی از جذب دوفوتونی پهن تر از هارمونیک دوم است. در این ناحیه کوچک هرچه طول موج کمتر باشد سهم جذب دو فوتونی

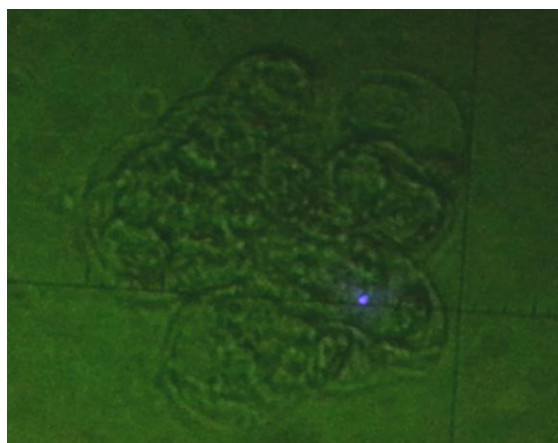


شکل ۲: طیف تابش فوتولومینسانس نانوذرات اکسیدروی

قله دیگر که پهن تر است و در ناحیه سبز دیده می‌شود ناشی از نقص های سطحی مانند: ناخالصی ها، خلا اکسیژن و یا روی است [2]. در نانوذرات ما این ناخالصی ها و بنابراین گذارهای مربوط به آن اجتناب ناپذیر بود. البته همیشه این تابش های مربوط به نواقص غیر مفید نیستند، بلکه می توان از آن به عنوان منبع کارآمد تولید نور سفید استفاده کرد.

۳-۲- تولید هارمونیک دوم

از آنجا که اکسیدروی دارای ضریب غیرخطی قابل توجهی است، بخش دیگر این مطالعه به بررسی خواص غیرخطی این ماده می پردازد. برای مشاهده خواص غیرخطی می بایست از لیزرهای پرتوان پالسی با توان قله بالا استفاده نمود. به همین منظور از لیزر تیتانیوم سفایر کوک پذیر با طول پالس ۱۰۰ فمتوثانیه برای تحریک نانوذرات اکسیدروی استفاده کردیم. نمونه نانوذرات اکسیدروی حل شده در آب را در سلول کوارتز تحت تابش NIR قراردادیم. برای این منظور پرتو لیزر را با لنزی با فاصله کانونی 15cm بر روی سلول کوارتز کانونی کرده و هارمونیک دوم تولید کردیم. برای آشکارسازی سیگنال هارمونیک دوم از دو لنز با دهانه بزرگ و در زاویه ۱۸۰ درجه نسبت به پرتو فرودی استفاده کردیم. قبل از ورود سیگنال به آشکارساز، یک فیلتر NIR برای حذف پرتو لیزر فرودی در دهانه ورودی استرک کامرا قرار دادیم. نتایج تحریک هارمونیک دوم نانوذرات اکسیدروی در حالت شمارش فوتون و در طول موج های ۸۰۰، ۸۱۵، ۸۳۰ و ۸۴۸ در شکل ۳ نمایش داده شده است.



شکل ۵: تصویر سلول گیاهی اراییدوپسیس تالیانا حاوی نانوذرات اکسیدروی زیر میکروسکوپ غیرخطی

مطالعات ما نشان می دهد که سیگنال هارمونیک دوم این نانوذرات را می توان برای تصویربرداری و ردیابی پایدار و طولانی مدت به کار برد. از آنجایی که جذب دو فوتونی دارای عمق نفوذ بیشتر است و به همراه خود گرما تولید می کند [3,4]، تصویربرداری دو فوتونی همواره با تولید گرما و سوزاندن نمونه همراه بود که می توان از آن برای از بین بردن سلول های سرطانی نیز استفاده کرد.

۴- نتیجه گیری

در این مقاله خصوصیات اپتیکی خطی و غیرخطی نانوذرات اکسیدروی و کاربرد آن به عنوان برچسبی قابل اطمینان و غیر مضر بیان شد، که مشکلات رنگینه ها و نقاط کوانتومی را نداشته و با پایداری بالا قابل استفاده در تصویربرداری های غیرخطی خواهد بود. نانوذرات اکسیدروی دارای هارمونیک دوم با بهره بالایی است که بدون رساندن هیچ آسیبی به نمونه می توان در تصویربرداری به کمک میکروسکوپ از آن استفاده کرد.

مراجع

- [1] Cory Hanley et.al. *Preferential killing of cancer cells and activated human t cells using ZnO nanoparticles*. *Nanotechnology*, 19(29):295103, 2008.
- [2] JV Foreman et.al. *Effects of reabsorption and spatial trap distributions on the radiative quantum efficiencies of ZnO*. *Physical Review B*, 81(11):115318, 2010.
- [3] Periklis Pantazis et.al. *Second harmonic generating (shg) nanoprobes for in vivo imaging*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33):14535–14540, 2010.
- [4] Ben E. Urban. *Zinc Oxide nanoparticelces for nonlinear bioimaging, cell detection and selective cell destruction*. *PhD thesis*, UNT, 2013.

بیشتر است و هرچه به سمت طول موج های بلندتر می رویم رفته رفته تابش دوفوتونی ناپدید می گردد. در شکل ۴ نانوذرات اکسیدروی با طول موج های ۷۵۰ تا ۷۸۰ نانومتر تحریک شده اند و تبدیل هارمونیک دوم و تابش دو فوتونی به صورت همزمان دیده می شود (در این حالت نیز از چیدمانی مشابه با آشکارسازی هارمونیک دوم در حالت شمارش فوتون استفاده شده است)

۳- کاربرد نانوذرات اکسیدروی در تصویربرداری

در حال حاضر از لیزرهای پالسی نانو-آتو ثانیه برای تصویربرداری از نمونه های زیستی استفاده می شود [4]. چنین سیستم هایی دارای توان قله بسیار بالایی هستند که از آستانه تخریب نمونه های زیستی بالاتر است، اما آنچه برای تصویربرداری غیرخطی نمونه های زیستی مهم است توان متوسط این لیزرهاست. لیزرهای پالسی می توانند توان متوسط کمتر از ۱ وات و توان قله $>1\text{GW}$ داشته باشند. از آنجایی که زمان واهلش بین پالس ها به اندازه کافی است (نرخ تکرار در حدود 80MHz) توان متوسط لیزر پایین تر از آستانه تخریب نمونه های زیستی است، در حالی که توان قله بالای آن توانایی لازم برای تحریک غیرخطی نمونه را داراست.

تولید هارمونیک دوم تنها یک فرآیند تبدیل فرکانس است و جذبی در آن رخ نمی دهد، بنابراین از آن می توان برای تصویربرداری نمونه های زیستی استفاده کرد. به منظور تصویربرداری غیرخطی از نمونه های زیستی، سلول های گیاهی "اراییدوپسیس تالیانا" تهیه شد. این گیاه از گونه شب بویان است که در زیست شناسی گیاهی به طور وسیعی استفاده می شود. به محیط رشد این سلول ها (Murashige and Skoog medium) ۵ میلی لیتر محلول اکسیدروی تهیه شده افزوده شد. پس از آن که ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت، با طول موج ۸۴۰ نانومتر تحریک شد. شکل ۵ این سلول گیاهی را بعد از تابش نور لیزر در زیر میکروسکوپ نمایش می دهد. همانگونه که دیده می شود، اکسیدروی می تواند از دیواره سلولی گذشته و به داخل سلول وارد شود. بدین ترتیب ما از خصوصیات غیرخطی نانوذرات اکسیدروی برای تصویربرداری، ردیابی سلول های گیاهی استفاده کردیم.