



سنتز ذرات پوسته - هسته فلوروسنت سیلیکا و بررسی اثر اندازه ذرات در تعیین pH

هاجرالسادات مومنی^۱، مصطفی یوسفی^{۲*}، هاله خلیلی^۲

۱- کارشناس ارشد، دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، کد پستی: ۸۴۱۵۶۸۳۱۱۱

۲- استادیار، دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، کد پستی: ۸۴۱۵۶۸۳۱۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۲۲ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۷/۶/۱۲

چکیده

در این پژوهش ذرات با پوسته سیلیکا و هسته ماده رنگزای فلورسین ایزو تیو سیانات به روش استوبر تهیه شد. با تغییر pH واکنش، این ذرات در دو اندازه مختلف تولید شدند. نتایج طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه نشان داد که ماده رنگزای فلورسنت توسط عامل اتصال‌دهنده سیلان به سیلیکا متصل شده است. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان دادند که ذراتی نسبتاً یکنواخت و با میانگین قطرهای ۳۲۶ و ۱۷۶ نانومتر تولید شده‌اند. نتایج آزمایشات فلوریمتری نشان داد که شدت فلورسانس ذرات با قطر بزرگ‌تر بیش از سه برابر ماده رنگزای فلورسین ایزو تیو سیانات به تنهایی بود. همچنین شدت فلورسانس ذرات با قطر بزرگ‌تر، بیشتر از ذرات با قطر کمتر بود. مقایسه شدت فلورسانس ذرات در محلول‌هایی از فسفات بافر با pH های مختلف نشان داد که شدت فلورسانس این ذرات با افزایش pH محیط به صورت خطی افزایش می‌یابد. شیب خط در مورد ذرات بزرگ‌تر بیشتر از ذرات کوچک‌تر بود که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر و مناسب‌تر بودن این ذرات برای استفاده به عنوان حسگر pH می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ذرات پوسته هسته، فلورسانس، سیلیکا، حسگر pH، فلورسین ایزو تیو سیانات.

Synthesis of Core-shell Silica Fluorescent and the Effect of Size of the Particles on pH Sensing

H. Momeni, M. Youssefi*, H. Khalili

Department of Textile Engineering, Isfahan University of Technology, P. O. Code: 8415683111, Isfahan, Iran

Received: 01-06-2017

Accepted: 13-12-2017

Available online: 03-09-2018

Abstract

In this research, core-shell particles of silica/fluorescein isocyanate were prepared by Stober method. By changing the pH of the reaction, the particles were produced in two different sizes. The results of infrared Fourier transform spectroscopy showed that the molecules of fluorescein isocyanate were attached to the silica by a silane coupling agent. Scanning and transmission electron microscopy images showed that relatively uniform particles with average diameter of 326 and 176 nm have been produced. The results showed that the fluorescence intensity of the fluorescent core-shell nanoparticles with greater diameter was more than three times greater than that of fluorescein isocyanate. Besides, the fluorescence intensity of particles with larger diameter was higher than that of particles with smaller diameter. The fluorescence intensity of nanoparticles in the solutions of phosphate buffer with different pH showed that the fluorescence intensity of the nanoparticles was linearly increased by increasing the pH of solution. The slope of the fitted line was greater for the larger particles; which indicated that the larger nanoparticles had higher sensitivity to the changes in the pH of the environment. J. Color Sci. Tech. 12(2018), 107-114©. Institute for Color Science and Technology.

Keywords: Core-shell particles, Fluorescence, Silica, pH sensor, Fluorescein isothiocyanate.

۱- مقدمه

آبکافت و تراکم TEOS در مخلوط اتانل و آب تحت شرایط قلبایی در دمای محیط می‌باشد [۳]. هیدروکسید آمونیم نقش کاتالیزور و اتانل نقش حلال TEOS را به عهده دارد [۸]. در روش استوبر برای به تحقق بخشیدن به پیوند کووالانسی کارآمد فلئوئورفور به پوسته سیلیکا، از APTES^۵ به عنوان اتصال‌دهنده استفاده می‌شود [۵]. ماده رنگزای فلورسین ایزوتیوسیانات (FITC) یک ترکیب آلی مصنوعی است که به طور گسترده‌ای به عنوان یک ردیاب فلورسنت برای بسیاری از کاربردها استفاده می‌شود. اگر مولکولی که در اثر پرتوهای فرابنفش تهییج شده، در حالت برانگیخته با مولکول‌های دیگری برخورد نماید و انرژی خود را به صورت غیرتابشی از دست دهد، اثر فلورسنسی آن خاموش شده و قادر نخواهد بود که در ناحیه مرئی، نوری تابش کند [۹]. یکی از بزرگ‌ترین مشکلات کاربرد مواد رنگزای فلورسنت بخصوص در تصویربرداری‌های پزشکی، خاموش شوندگی آنها به ویژه در حضور اکسیژن می‌باشد. نتایج آزمایشات انجام شده نشان می‌دهد که نانوذرات فلورسنت سیلیکا پایداری بیشتری نسبت به مواد رنگزای آلی معمولی دارند، در نتیجه سیلیکا به عنوان یک مانع در برابر محیط خارجی مانند مولکول حلال و رادیکال‌های آزاد ناشی از قرار گرفتن در معرض نور، از ماده رنگزا محافظت می‌کند [۳]. یکی از عوامل مهم مواد رنگزای فلورسنت زمان فروپاشی آنها است که در اتانل خالص اندازه‌گیری می‌شود. مواد رنگزای محصور شده در سیلیکا در مقایسه با ماده رنگزای خالص به علت محافظت لایه سیلیکا زمان فروپاشی بیشتری دارند [۱۰]. تغییر اندازه نانوذرات با تغییر شرایط آزمایش متفاوت خواهد بود. عوامل مختلفی نظیر طول موج نور به کار رفته، دما، حلال، ساختار مولکولی ماده، pH محیط و غلظت در شدت فلورسانس ترکیبات فلورسنت تاثیرگذارند [۱۱].

لذا با توجه به تحقیقات انجام شده، هدف از انجام این تحقیق این است که ذرات پوسته هسته فلورسنت سیلیکا سنتز شده و اثر pH و اکشن سنتز بر اندازه ذرات مورد بررسی قرار گیرد. همچنین میزان پاسخ و یا شدت فلورسانس ذرات تولید شده در محیط‌هایی با pHهای مختلف که در واقع نمایانگر حساسیت این ذرات می‌باشد اندازه‌گیری شده و در ارتباط با اندازه ذرات تولید شده مورد بررسی و مطالعه قرار گیرد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد

فلوئورسین ایزوتیوسیانات (FITC)، هیدروکسید آمونیم، بافر فسفات سالین^۶ (PBS) از شرکت سیگما-آلدریج و تترا اتیل اورتو سیلیکات ۹۵٪ (TEOS)، آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان (APTES)، اتانل

در سال‌های اخیر پژوهش‌های زیادی در رابطه با نانوذرات پوسته هسته فلورسنت سیلیکا به علت زیست‌سازگاری بالا، شدت زیاد سیگنال‌های فلورسنت و سهولت فرآیند اصلاح سطح، انجام گرفته است [۱]. امروزه نانوذرات با پوسته سیلیکا که مولکول‌های فلورسنت را درون خود جای داده‌اند در زمینه‌های مختلفی به خصوص در علوم زیستی به کار برده شده‌اند [۲]. ساختار و اندازه نانوذرات فلورسنت سیلیکا قابل کنترل می‌باشد و همچنین این نانوذرات چندین برابر درخشان‌تر از مولکول‌های ماده رنگزای تنها هستند زیرا چندین مولکول ماده رنگزا درون پوسته سیلیکا محصور شده‌اند. تجمع مولکول‌های ماده رنگزا داخل پوسته سیلیکا سبب افزایش بازده کوانتومی ماده رنگزا می‌شود که این امر ناشی از افزایش نرخ تابشی و کاهش نرخ غیرتابشی می‌باشد [۱]. به طور کلی نانوذرات فلورسنت سیلیکا تابش فلورسانس با شدت بالایی ایجاد نموده و همچنین قابلیت اتصال کارآمد با بیومولکول‌های مختلف با توجه به اصلاح سطح سیلیکا را دارند و علاوه بر این فرآیند تهیه آنها نیز آسان می‌باشد [۲]. به علاوه، پوشش سیلیکا به عنوان یک حفاظ در مقابل محیط خارجی برای ماده رنگزا عمل می‌کند [۳]. در سال ۱۹۶۸ میلادی استوبر^۱ روش سل ژل^۲ را برای سنتز ذرات کروی سیلیکا توسط آبکافت تترا اتیل اورتو سیلیکات (TEOS) در محیط اتانل و در حضور آمونیاک ابداع کرد. ون بلادرن^۳ و همکارانش در سال ۱۹۹۲ برای اولین بار پیوند کووالانسی فلئوئورفور آلی را با سیلیس کلئیدی به روش استوبر گزارش کرده و نانوذرات سیلیکا فلورسنت در اندازه چند صد نانومتر را تهیه نمودند [۴]. روسی^۴ در سال ۲۰۰۵ اصلاح موثری بر روی خواص نانوذرات و همچنین کنترل کردن ساختار آنها در مقیاس نانو انجام داد و این امر نانوذرات را برای بسیاری از کاربردها مناسب تر نموده است. به طور کلی انواع مختلفی از نانو مواد برای آزمایش‌های مدرن بالینی در زمینه‌های بیولوژیکی عرضه شده‌اند. نانو مواد با خاصیت لومینوسانس برای تشخیص‌های نوری در زمینه پزشکی در دامنه وسیعی مثل توالی DNA، پروتئین، سلول‌های سرطانی و باکتری‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۵]. تسو و همکارانش [۶] با تولید نانوذرات پوسته - هسته سوراخ و دارای سطح تماس بیشتر، حساسیت به pH بیشتری نسبت به نانوذرات پوسته - هسته تولید شده توسط سایر محققان را گزارش کرده‌اند. کورزنیسکا و همکارانش [۷] این نوع نانوذرات را برای تشخیص تغییرات pH در سلول زنده کلیه با موفقیت به کار بردند.

یکی از روش‌های مهم تهیه نانوذرات سیلیکا فلورسنت روش استوبر می‌باشد که بر اساس روش سل ژل می‌باشد. این روش شامل

- 1- Stober
- 2- Sol gel
- 3- Van Blaaderen
- 4- Rossi

5- Amino propyl triethoxysilane

6- Phosphate buffered saline

۲-۵- میکروسکوپ الکترونی روبشی

برای تهیه تصاویر از ذرات از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Philips ساخت هلند و میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدان (FESEM) مدل Mira3-XMU از شرکت TESCAN ساخت کشور چک استفاده شد. به منظور به دست آوردن تصاویر مطلوب، نمونه‌ها قبل از تصویربرداری توسط لایه‌ای از طلا پوشش داده شدند.

۲-۶- میکروسکوپ الکترونی عبوری

تصاویر میکروسکوپی از ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) Philips مدل CM30 ساخت هلند استفاده شد. ولتاژ مورد استفاده ۱۵۰ KV بود.

۲-۷- طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

طیف‌های FTIR از نمونه‌ها توسط دستگاه طیف‌سنج Bomem-MB100 ساخت کشور کانادا به دست آمد. از نمونه‌ها و برمید پتاسیم قرص‌هایی تهیه شد و طیف‌ها در محدوده 4000 تا 400 cm^{-1} و با دقت 8 cm^{-1} به دست آمدند.

۳- نتایج و بحث**۳-۱- بررسی ایجاد پیوند با APTES**

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است در مرحله اول واکنش، گروه ایزوتیوسیاناتان FITC به گروه آمین APTES یک پیوند کوالانسی ایجاد می‌نماید و سپس APTES به سیلیکا متصل گشته و در نتیجه سبب می‌شود FITC به سیلیکا توسط پیوندهای کوالانسی متصل شود. در شکل‌های ۲ و ۳ طیف‌های زیر قرمز مربوط به FITC و ذرات FSN آورده شده‌اند. پیوند Si-O که در پوسته ذرات حاصل از هیدرولیز TEOS و هم در پیوند APTES و سیلیکا وجود دارد، دارای دو پیک جذب ارتعاشی متقارن و ارتعاشی نامتقارن به ترتیب در 795 cm^{-1} و 1100 cm^{-1} می‌باشد [۱۲]. پیک مربوط به پیوند C=S توسط پیک قوی Si-O پوشیده می‌شود [۱۳]. همچنین با توجه به اینکه پیک مربوط به گروه ایزوتیوسیاناتان در 2069 cm^{-1} در محصول واکنش دیده نمی‌شود می‌توان نتیجه گرفت که با گروه آمین در واکنش شرکت نموده است [۱۴]. همچنین یک پیک مربوط به N-C-N در 1470 cm^{-1} مشاهده می‌شود نشانگر این است که APTES به ماده رنگزای FITC متصل شده است [۱۵]. پس از انجام واکنش ذرات FSN سفید رنگی به دست آمد. این ذرات خاصیت فلوروسنت مربوط به ماده رنگزای FITC را دارا می‌باشند و بنابراین می‌توان نتیجه گرفت مولکول‌های ماده رنگزا در پوشش سفید سیلیکا محصور شده است.

۹۵٪، اسید فسفریک، هیدروکسید آمونیم، اسید هیدروکلریک ۳۷٪ از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

۲-۲- سنتر ذرات FSN

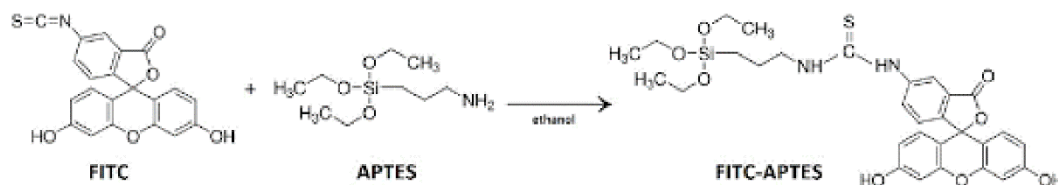
ذرات FSN در دو مرحله تهیه شدند. مرحله اول مولکول‌های ماده رنگزا با عامل اتصال‌دهنده سیلانی (APTES) پیوند کوالانسی برقرار می‌کنند. ۱ mg مولکول‌های ماده رنگزا در ۱ ml اتانل حل شد و توسط هم‌زن فراصوت پراکنده گردید. ۵ μL از عامل اتصال‌دهنده سیلان به آن اضافه گشت و سپس به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی هم زده شد. در مرحله دوم ۳ ml پیش ماده سیلیکا، ۲ ml آب، ۴.۸ ml آمونیم هیدروکسید و ۵۰ ml اتانل اضافه گردید و به مدت سه ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تحت هم‌زدن مداوم قرار گرفت و به این صورت هسته ذرات فلوروسنت سیلیکا شکل گرفته شد. در مرحله دوم برای تثبیت مولکول‌های ماده رنگزا درون ذرات سیلیکا ۰.۳ ml دیگر از پیش ماده سیلیکا اضافه شد و مجددا شرایط قبلی روی آن اعمال گردید [۳]. پس از آن محلول به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد تا ذرات فلوروسنت سیلیکا جدا گردند. در انتها با دکانته کردن، ذرات جمع‌آوری شده و چندین مرتبه با اتانل شستشو داده شدند.

۳-۲- اندازه‌گیری شدت فلوروسانس ذرات FSN و ماده رنگزای FITC

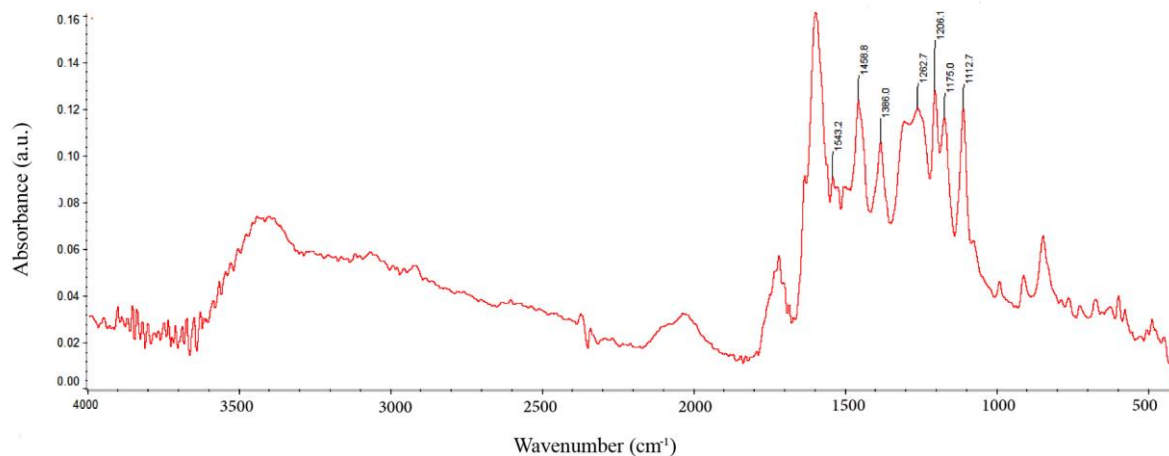
چهار میلی‌گرم از ماده رنگزای فلوروسنت FITC در چهار میلی‌لیتر اتانل ریخته و توسط هم‌زن مغناطیسی به مدت ۳ ساعت پراکنده گردید تا محلول همگنی به دست آید. ذرات FSN هم به طرز مشابهی در آب پخش گردیدند. با استفاده از دستگاه فلورومتر RF-5301pc از شرکت Shimadzu ژاپن و با طول موج تهیج ۴۸۰ و ۴۸۰ نانومتر نمودار شدت فلوروسانس آنها به دست آمد و مورد مقایسه قرار گرفت.

۲-۴- اندازه‌گیری شدت فلوروسانس ذرات FSN در محیط‌های**با pH مختلف**

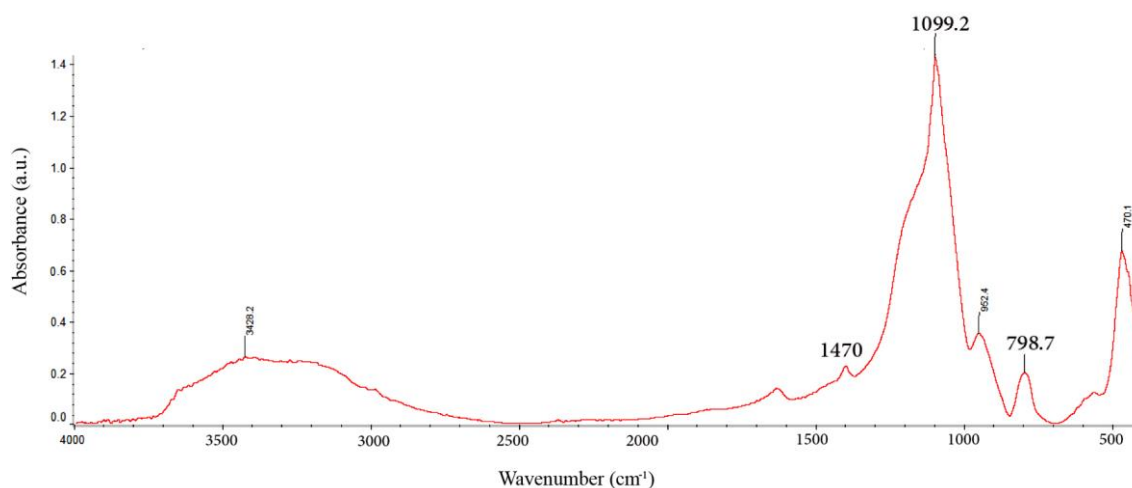
محلول‌هایی با pHهای ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ با استفاده از اسید فسفریک و سود از فسفات بافر سالین تهیه شد و pH آنها توسط دستگاه pH سنج SANA-SL901 اندازه‌گیری شد. مقدار چهار میلی‌گرم از ذرات FSN در ۴ میلی‌لیتر از آنها ریخته و روی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد تا همگن شود. سپس با استفاده از دستگاه فلوریمتر شدت فلوروسانس آنها در طول موج تهیج ۴۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.



شکل ۱: واکنش شیمیایی بین ماده رنگزای FITC و APTS.



شکل ۲: طیف FT-IR از ماده رنگزای FITC.



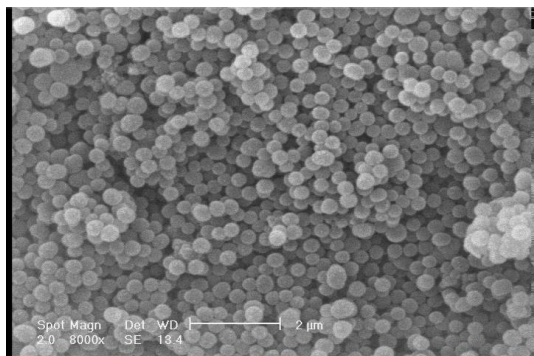
شکل ۳: طیف FT-IR از ذرات FSN.

دیگر اولاً این روش بسیار ساده تر می باشد و می توان آن را به راحتی برای تولیدات کاربردی و تجاری انجام داد. در ثانی فلوروفور با عامل اتصال دهنده سیلانی توسط پیوند کوالانسی به سیلیکا متصل می گردد و بنابراین مشکل حبس فیزیکی از میان برداشته خواهد شد و در نتیجه ذرات را به راحتی می توان در محلول آبی جابجا کرد [۵].

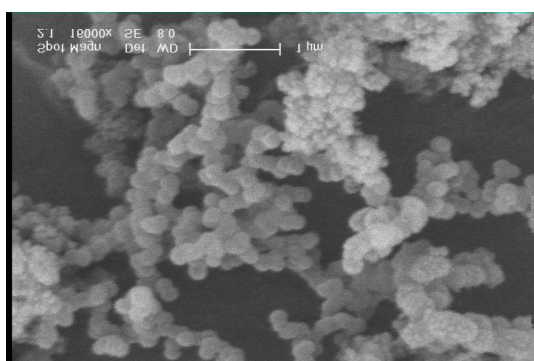
در مقایسه با FSN تولید شده توسط گائو [۱۰] که از روش میکرومولسیون برای سنتز ذرات و بخصوص ذرات پوسته هسته استفاده شده و دارای پیچیدگی هایی در سنتز ذرات و اتصال فیزیکی فلوروفور به سیلیکا بود، در روش سنتز ذرات مورد استفاده در این تحقیق یعنی روش استوبر این دو مشکل از بین رفته است. به عبارت

1- Gao

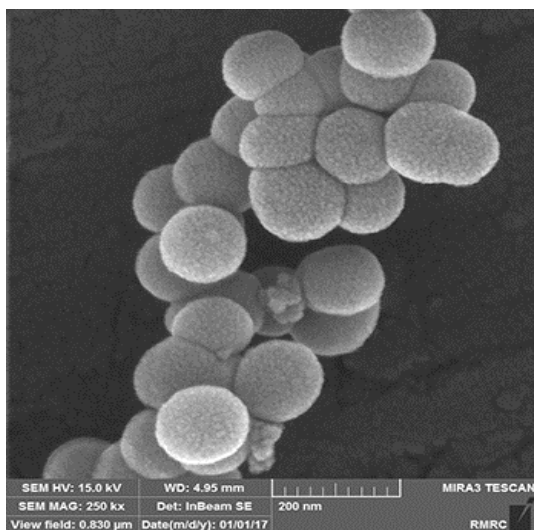
کلوئیدی است و زمانی که کوچک است، رسوب بلوری بدست می‌آید. از دیدگاه کمی، سرعت هسته زایی به صورت نمایی با فوق اشباعیت نسبی تغییر می‌کند [۱۷]. در سنتر ذرات با کاهش pH محیط سنتر انحلال پذیری سیلیکا کاهش یافته در نتیجه هسته‌های کوچک تشکیل شده نمی‌توانند مجدداً در محلول حل شده و به رسوب‌های بزرگ‌تر بپیوندند، در نتیجه اندازه ذرات کوچک باقی‌مانده به عبارت دیگر هسته‌زایی بر رشد غلبه یافته و به همین علت ذرات سنتر شده در pH ۷,۷۶ کوچک‌تر خواهند بود.



شکل ۴: تصویر SEM از FSNهای سنتر شده در pH ۱۱,۳.



شکل ۵: تصویر SEM از FSNهای سنتر شده در pH ۷,۷.



شکل ۶: تصویر FESEM از FSNهای سنتر شده در pH ۷,۷.

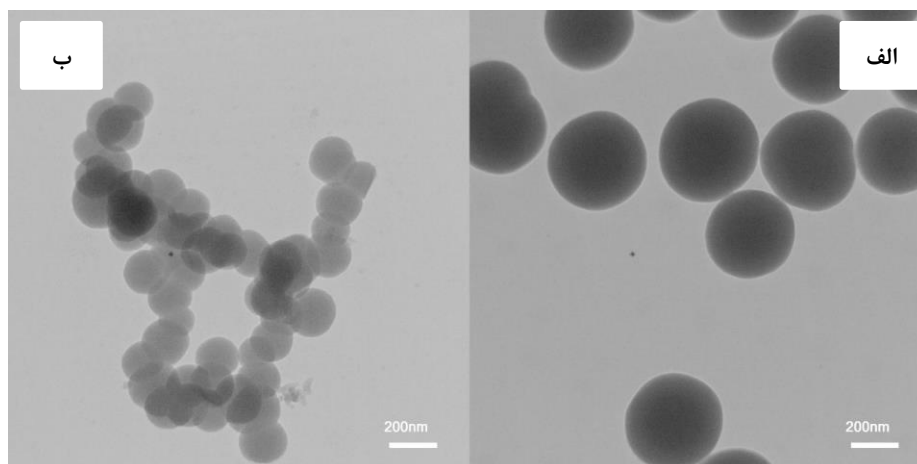
۲-۳- شکل‌شناسی ذرات فلورسنت سیلیکا (FSN)

همان‌طور که در تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM شکل ۴ نشان داده شده است ذرات ایجاد شده دارای شکل‌های تقریباً یکسان و یکنواخت کروی می‌باشند. قطر ذراتی که در pH ۱۱,۳۰ تولید شده اند 10 ± 326 نانومتر می‌باشد و ناپیکناختی قابل توجهی در آنها به چشم نمی‌خورد. در سنتر ذرات FSN برای ایجاد محیط با pH ۱۱,۳۰ از هیدروکسید آمونیم به عنوان کاتالیزور استفاده شد. در شکل‌های ۵ و ۶ تصاویرهای SEM و FESEM از ذرات سنتر شده در pH ۷,۷۶ نیز نشان داده شده است. در این حالت با افزایش اسید کلریدریک pH محیط سنتر به ۷,۷۶ کاهش داده شد. در این تصاویر میانگین قطر ذرات تولید شده 10 ± 176 نانومتر به دست آمد. این ذرات نیز دارای ابعاد تقریباً یکنواخت و کروی بودند و تقریباً یکنواخت بودند. البته در برخی قسمت‌ها مقداری سیلیکای باقی‌مانده نیز دیده می‌شود که می‌توان با افزایش دور سانتیفریژ در مرحله جداسازی آنها را نیز جدا نمود. در شکل ۷ تصاویر میکروسکوپی الکترونی عبوری ذرات فلورسنت سیلیکا دیده می‌شود. به نظر می‌رسد کاهش pH در روش دوم سنتر، بر روی حلالیت سیلیکا اثر گذاشته و در نتیجه روی فوق اشباعیت نیز موثر بوده است. لذا با کاهش انحلال پذیری سیلیکا، هسته‌زایی ارجحیت یافته و تعداد زیادتری از ذرات کوچک‌تر تشکیل شده است. هسته‌زایی^۱ و رشد^۲ دو مرحله اصلی در سنتر این ذرات هستند. هسته‌ها اولین ذرات از فاز مشخصی از ماده هستند که طی فرآیند سنتر ایجاد می‌شوند. معمولاً رسوب‌گیری از محلول تحت شرایط فوق اشباعیت^۳ بالا صورت می‌پذیرد. به عبارت دیگر می‌توان گفت که فاز مایع بر اثر پیشرفت یک واکنش خاص از محصول کم محلول^۴ اشباع می‌شود. از این نقطه به بعد، محصول ایجاد شده از فاز محلول مستقیماً به فاز جامد وارد می‌شود و رسوب می‌کند. فوق اشباعیت (S) نسبت غلظت حل شونده‌ها در حالت اشباع نسبت به این غلظت در حالت تعادل است. هرچه نسبت فوق بزرگ‌تر باشد، محلول سریع‌تر به سمت رسوب‌گذاری پیش می‌رود [۱۶]. گاه نیز از مفهوم فوق اشباعیت نسبی برای این منظور استفاده می‌شود. رابطه کمی برای فوق اشباعیت نسبی در رابطه ۱ آورده شده است.

$$(1) \quad \text{فوق اشباعیت نسبی} = (Q-S)/S$$

در این رابطه، Q غلظت حل شونده را در هر لحظه، و S حلالیت تعادلی آن را نشان می‌دهد. اندازه ذرات به‌طور معکوس با این کمیت مرتبط است. بنابراین زمانی که فوق اشباع نسبی بزرگ است، رسوب

- 1- Nucleation
- 2- Growth
- 3- Super saturation
- 4- Sparingly Soluble

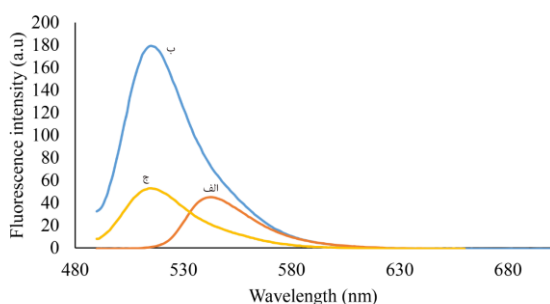


شکل ۷: تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) از FSN های سنتز شده در الف (pH = ۱۱,۳ و ب) pH = ۷,۷.

۳-۳- شدت فلورسانس ذرات فلورسنت سیلیکا و مولکول های

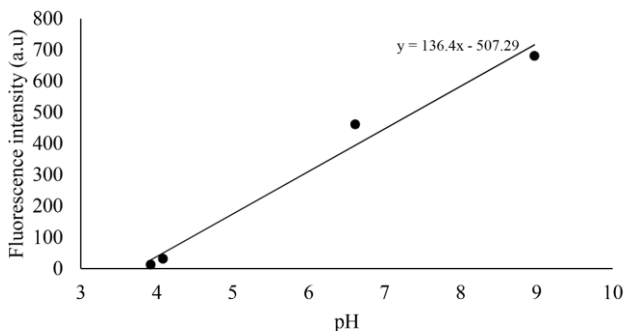
ماده رنگزای FITC

در شکل ۸ نمودارهای شدت فلورسانس ذرات فلورسنت سیلیکا و مولکول های FITC نشان داده شده است، همان طور که در شکل مشاهده می شود شدت نسبی فلورسانس ذرات FSN بسیار بیشتر از شدت نسبی فلورسانس ماده رنگزای FITC می باشد. به عبارت دیگر شدت فلورسانس ذرات پوسته هسته فلورسنت سیلیکا FSN بیش از سه برابر ماده رنگزای FITC بوده است. ساختار پوسته هسته FSN باعث می شود چندین فلوروفور باهم در یک ذره جمع شوند این امر باعث افزایش درخشندگی و تقویت سیگنال می شود. علاوه بر این محافظت شبکه سیلیکا از خاصیت فلورسنت، سبب می شود ذرات دارای حساسیت بالاتری نسبت به مولکول های ماده رنگزا تنها داشته باشند [۱۰]. در این نمودار انتقال کوچکی در محور طول موج مشاهده می شود که ناشی از افزایش قطبیت حلال نمونه ها می باشد [۳]. همان طور که در شکل ۷ دیده می شود ذراتی که در pH پایین تر سنتز شده اند و دارای اندازه کوچک تری می باشند اگرچه دارای شدت فلورسانس بیشتری نسبت به ماده رنگزای FITC می باشند ولی شدت فلورسنت آنها نسبت به FSN های با اندازه بزرگ تر، کمتر می باشد. علت این امر نیز به اندازه ذرات و تعداد مولکول های FITC حبس شده داخل پوسته نسبت داده می شود. به عبارت دیگر، تعداد کمتری از مولکول های ماده رنگزا درون این ذرات که قطر کمتری دارند، جای گرفته و بنابراین شدت فلورسانس کمتری را نسبت به ذراتی که دارای قطر بیشتر بوده اند از خود نشان داده اند. بنابراین با محصور کردن ماده رنگزای فلورسنت، پوشش سیلیکا به عنوان یک مانع برای محافظت ماده رنگزا از محیط خارجی عمل می کند [۳].

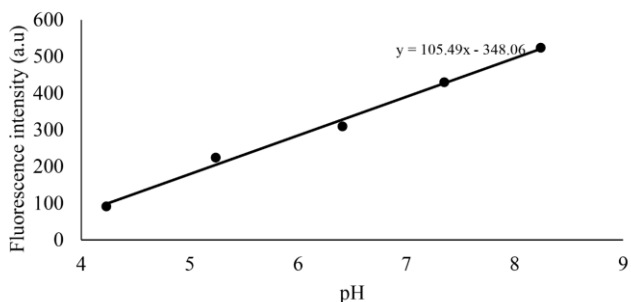


شکل ۸: طیف فلورسانس الف) ماده رنگزای FITC، ب) FSN های سنتز شده در pH ۱۱,۳ و ج) FSN های سنتز شده در pH ۷,۷.

در مورد تغییر طول موج بیشینه انتشار می توان گفت که ذرات سنتز شده در دو pH مختلف ۱۱,۳ و ۷,۷ تقریباً دارای بیشینه انتشار یکسانی هستند و این نشان می دهد که حتی با وجود pH های مختلف در سنتز این ذرات اثر سالواتوکرومیک به دلیل پوشش ماده رنگزا توسط سیلیکا بسیار ناچیز بوده است [۱۶]. در باره جابجایی بیشینه انتشار ماده رنگزای FITC و ذرات FSN می توان گفت که در ذرات سنتز شده از نظر نوری ماده جدیدی حاصل شده است و این تغییر طول موج به علت حضور سیلیکا صورت گرفته است. لذا به نظر می رسد این جابجایی به سمت فام آبی مربوط به حضور این ماده (سیلیکا) در ذرات FSN می باشد [۱۸].



شکل ۹: نمودار شدت فلوروسانس FSNهای سنتز شده در pH ۱۱,۳ (اندازه بزرگ‌تر) نسبت به pH محیط.



شکل ۱۰: نمودار شدت فلوروسانس FSNهای سنتز شده در pH ۷,۷ (اندازه کوچک‌تر) نسبت به pH محیط.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش ذرات پوسته هسته فلوروسنت سیلیکا (FSN) به روش استوئبر تهیه شد. نتایج آزمایشات نشان داد که ذرات تولید شده در pH ۱۱,۳ دارای اندازه بزرگ‌تری نسبت به ذرات تولید شده در pH ۷,۶ بودند. به نظر می‌رسد دلیل این امر این باشد که کمتر بودن pH در روش دوم سنتز، بر روی حلالیت سیلیکا اثر گذاشته و در نتیجه روی فوق اشباعیت نیز موثر بوده است. نتایج طیف‌سنجی زیر قرمز نشان داد که ماده رنگزای فلوروسنت FITC توسط عامل اتصال‌دهنده سیلانی به سیلیکا متصل شده است. همچنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و عبوری تولید ذراتی با اندازه‌های نسبتاً یکنواخت و با میانگین قطرهای ۳۲۶ و ۱۷۶ نانومتر را نشان داد. نتایج آزمایشات فلوریمتری نشان داد که شدت فلوروسانس ذرات با قطر بزرگ‌تر بیش از سه برابر ماده رنگزای فلوروسین ایزوتیوسیانات به تنهایی بود. علاوه بر این شدت فلوروسانس ذرات با قطر بزرگ‌تر، بسیار بیشتر از ذرات با قطر کمتر بود. این امر به محبوس بودن تعداد بیشتری از مولکول‌های FITC در داخل پوسته سیلیکا در ذرات بزرگ‌تر نسبت داده می‌شود.

۴-۳- اثر pH محیط بر شدت فلوروسانس ذرات فلوروسنت

سیلیکا در محیط‌های با pH مختلف

در شکل‌های ۹ و ۱۰ نمودارهای پاسخ شدت فلوروسانس ذرات در محیط‌های با pH مختلف که توسط دستگاه فلوریمتر به دست آمده، رسم شده است. مشاهده می‌شود که هرچه pH محیط افزایش یابد شدت فلوروسانس ذرات نیز افزایش می‌یابد. در مورد ذرات با اندازه بزرگ‌تر، رابطه‌ای خطی با شیب ۱۳۶,۴ ($R^2 = 0,9807$) می‌توان بر آن منطبق کرد. در مورد ذرات با اندازه کوچک‌تر نیز رابطه‌ای خطی با شیب ۱۰۵,۴۹ ($R^2 = 0,9933$) قابل انطباق می‌باشد. شدت فلوروسانس هر دو نوع FSN با اندازه‌های متفاوت با افزایش pH محیط، افزایش می‌یابد. FITC ماده رنگزایی است که به عنوان حسگر pH نیز به کار می‌رود زیرا با تغییر pH تغییر قابل توجهی در بازده کوانتومی آن ایجاد می‌شود که سبب می‌شود این ماده رنگزا در pH ۵ تا ۸,۵ به عنوان حسگر خوبی در محدوده زیستی شناخته شود [۱۹]. عوامل خارجی همچون pH، دما، قطبیت و غلظت یون روی خواص FITC تاثیرگذار هستند. بسته به pH محیط، FITC می‌تواند با صورت‌های مختلف و البته با خواص نوری-فیزیکی مختلف وجود داشته باشد. این ماده رنگزا در محلول آبی به صورت‌های کاتیونیک (FH_3^+)، طبیعی (FH_2)، منوآنیونیک (FH^-) و دی آنیونیک (FH^{2-}) وجود دارد که غلظت هر کدام توسط pH تعیین می‌گردد. در محدوده pH طبیعی، یعنی بین ۵ تا ۸ جایی که صورت‌های طبیعی، منو آنیونیک و دی آنیونیک ماده رنگزا وجود دارند، تغییراتی در قدرت فلوروسانس ماده رنگزا مشاهده می‌شود [۲۰]. تغییر شکل FITC در اثر تغییر pH منجر به کاهش بازده تابشی FITC در pHهای کمتر می‌شود. همان‌طور که در شکل‌های ۸ و ۹ دیده می‌شود شیب خط، که در واقع نمایانگر میزان حساسیت حسگر ذرات به pH محیط می‌باشد، در ذرات با قطر بزرگ‌تر، بیشتر می‌باشد. این امر به تعداد بیشتر ماده رنگزای FITC که درون ذرات حبس شده‌اند نسبت داده می‌شود. به عبارت دیگر به علت اینکه تعداد ماده رنگزای فلوروسنت محصور شده در ذرات با قطر بزرگ‌تر، بیشتر بوده، شدت فلوروسانس با تغییرات pH محیط تغییرات بیشتری نشان داده‌اند. بنابراین ذرات با قطر بیشتر سنتز شده در pHهای بالاتر، از حساسیت بیشتری نسبت به pH محیط برخوردارند. به عنوان نتیجه کلی می‌توان گفت که ذرات تولید شده در این تحقیق در مقایسه با ذرات تولید شده به روش میکرومولسیون [۱۰] علاوه بر سهولت بیشتر روش سنتز، دارای یکنواختی و اندازه و حساسیت مطلوبی برای سنسج pH بودند. همچنین دامنه حساسیت ذرات تولید شده در این تحقیق نسبت به pH محیط نیز برابر و یا حتی بزرگ‌تر از بعضی ذرات تولید شده قبلی بوده است [۲۱، ۲۲]. اگرچه لازم به نظر می‌رسد تحقیقات بیشتری درباره پایداری و قابلیت تکرار عملکرد این ذرات در تعیین pH صورت پذیرد که در مراحل بعدی این تحقیق انجام خواهد شد.

که نشان‌دهنده این است که این ذرات با حساسیت بیشتری می‌توانند به عنوان حس‌گر pH در محیط‌های مختلف و کاربردهای زیستی مورد استفاده قرار گیرند.

همچنین آزمایش‌های حس‌گری ذرات نسبت به pH محیط نشان داد شدت فلورسانس ذرات با افزایش pH محیط به صورت خطی افزایش می‌یابد. شیب خط که در واقع متناسب با حساسیت حس‌گر به pH محیط می‌باشد در مورد ذرات بزرگ‌تر بیشتر از ذرات کوچک‌تر بود

۵- مراجع

1. D. R. Larson, H. Ow, H. D. Vishwasrao, A. A. Heikal, U. Wiesner, W. W. Webb, Silica nanoparticle architecture determines radiative properties of encapsulated fluorophores. *Chem. Mater.* 20(2008), 2677-2684.
2. W. Lian, S. A. Litherland, H. Badrane, W. Tan, D. Wu, H. V. Baker, P. A. Gulig, D. V. Lim, S. Jin, Ultrasensitive detection of biomolecules with fluorescent dye-doped nanoparticles. *Anal. Biochem.* 334(2004), 135-144.
3. X. Song, F. Li, J. Ma, N. Jia, J. Xu, H. Shen, Synthesis of fluorescent silica nanoparticles their applications as fluorescence probes. *J. Fluoresc.* 21(2011), 1205-1212.
4. H. Ow, D. R. Larson, M. Srivastava, B. A. Baird, W. W. Webb, U. Wiesner, Bright and stable core-shell fluorescent silica nanoparticles. *Nano letters.* 5(2005), 113-118.
5. G. Canton, R. Ricco, F. Marinello, S. Carmignato, F. Enrichi, Modified Stöber synthesis of highly luminescent dye-doped silica nanoparticles. *J. Nanoparticle Res.* 13(2011), 4349-4356.
6. C. J. Tsou, C. Y. Chu, Y. Hung, C. Y. Mou, A broad range fluorescent pH sensor based on hollow mesoporous silica nanoparticles, utilising the surface curvature effect. *J. Mater. Chem. B.* 1(2013), 5557-5563.
7. B. Korzeniowska, R. Woolley, J. DeCoursey, D. Wencel, C. Loscher, C. McDonagh, Intracellular pH-sensing using core/shell silica nanoparticles. *J. Biomed. Nanotech.* 10(2014), 1336-1345.
8. L. Singh, S. Agarwal, S. Bhattacharyya, U. Sharma, S. Ahalawat, Preparation of silica nanoparticles and its beneficial role in cementitious materials. *Nanomater. Nanotech.* 1(2011), 51-44.
9. م. صفی، ف. مولا، تاثیر فلورسنسی کاغذ بر تغییر رنگ نمونه‌های چاپ شده با کمک چاپگر رنگی آزمایشگاهی. نشریه علمی پژوهشی علوم و فناوری رنگ. ۹(۱۳۹۴)، ۱۶۷-۱۵۹.
10. F. Gao, X. Chen, Q. Ye, Z. Yao, X. Guo, L. Wang, Core-shell fluorescent silica nanoparticles for sensing near-neutral pH values. *Microchimica Acta.* 172(2011), 327-333.
۱۱. ف. طالب‌نیا، ف. نورمحمدیان، س. باستانی، بررسی اثر بسترهای رزینی بر خواص نشری-انعکاسی ماده رنگزای فلورسنت زرد دیسپرس ۲۳۲. نشریه علمی پژوهشی علوم و فناوری رنگ. ۸(۱۳۹۳)، ۴۶-۳۷.
12. G. Bissadi, R. Weberskirch, Formation of polyoxazoline-silica nanoparticles via the surface-initiated cationic polymerization of 2-methyl-2-oxazoline. *Polym. Chem.* 7(2016), 5157-5168.
13. R. Appiah-Ntiamoah, A. H. Jadhav, J. M. C. Puguang, F. W. Momade, H. Kim, A silica nanoparticle supported fluorescence "turn-on" fluoride ion sensing system with tunable structure and sensitivity. *RSC Advances.* 5(2015), 30526-30536.
14. A. Pinna, L. Malfatti, G. Galleri, R. Manetti, S. Cossu, G. Rocchitta, R. Migheli, P. A. Serra, P. Innocenzi, Ceria nanoparticles for the treatment of Parkinson-like diseases induced by chronic manganese intoxication. *RSC Advances.* 5(2015), 20432-20439.
15. K. B. Davis, D. A. Braasch, M. Pramanik, J. W. Rawlins, Use of fluorescent probes to determine molecular architecture in phase separating epoxy systems. *Indust. Eng. Chem. Res.* 53(2013), 228-234.
16. B. L. Cushing, V. L. Kolesnichenko, C. J. O'Connor, Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. *Chem. Reviews.* 104(2004), 3893-3946.
17. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch, Fundamentals of analytical chemistry, Nelson Education, 2013.
18. S. Lu, C. Mak, G. Pang, K. Wong, K. Cheah, Blue-shift and intensity enhancement of photoluminescence in lead-zirconate-titanate-doped silica nanocomposites. *Nanotech.* 19(2007), 035702.
19. A. Burns, H. Ow, U. Wiesner, Fluorescent core-shell silica nanoparticles: towards "Lab on a Particle" architectures for nanobiotechnology. *Chem. Soc. Reviews.* 35(2006), 1028-1042.
20. D. M. Togashi, A. Calvet, A. G. Ryder, B. Szczupak, and M. O'Loughlin, Investigating tryptophan quenching of fluorescein fluorescence under protolytic equilibrium. *J. Phys. Chem. A.* 113(2009), 2757-2767.
21. F. Gao, L. Wang, L. Tang, C. Zhu, A novel nano-sensor based on rhodamine- β -isothiocyanate-doped silica nanoparticle for pH measurement. *Microchimica Acta.* 152(2005), 131-135.
22. F. Gao, L. Tang, L. Dai, L. Wang, A fluorescence ratiometric nano-pH sensor based on dual-fluorophore-doped silica nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomol. Spec.* 67(2007), 517-521.