

Raman-spektroszkópiai méréseket befolyásoló paraméterek vizsgálata üveg és SERS aktív hordozókon

Miképp hasonlítsunk össze SERS hordozókat?

OTDK dolgozat

Kóródi Zoltán

Fizikus MSc II. évfolyam



**DEBRECENI
EGYETEM**

Témavezető:

Dr. Csarnovics István

egyetemi docens

Debreceni Egyetem

Természettudományi és Technológiai Kar

Kísérleti Fizika Tanszék



KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS
MINISZTERIUM



NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI
ÉS INNOVÁCIÓS HIVATAL

**Új Nemzeti
Kiválóság Program**

Tartalomjegyzék

1, Rövidítések.....	2
2, Bevezető	3
3, Elméleti bevezető.....	5
3.1, Raman spektroszkópia.....	5
3.2, Felületi plazmon rezonancia és a felület erősített Raman-szórás (SERS).....	7
4, Módszertan	12
4.1, A Raman-spektroszkópiai és SERS mérési módszer	12
4.2, Spektrofotometriai mérési módszer	14
4.3, Üveglapok tisztítási eljárása	15
4.4, A „szegedi” SERS hordozók előállítása és tulajdonságai	16
5, Mérési eredmények	17
5.1, Problémafelvetés.....	17
5.2, Tisztított üvegen végzett mérések	19
5.2-a, Intenzitás(koncentráció) görbe felvétele – A, B minták.....	19
5.2-b, Intenzitás(csepp mennyiség) görbe felvétele – 'C', 'D' minták.....	22
5.3, Elméleti levezetés.....	26
5.3-a, Üveglapon végzett Raman-mérések elgondolása	26
5.3-b, Nanorészecske hordozón végzett SERS mérések elgondolása	28
5.4, Tisztított üvegen végzett mérések korrekciója	30
5.4-a, Intenzitás(koncentráció) görbe adatainak korrekciója – 'A', 'B' minták	30
5.4-b, Intenzitás(csepp mennyiség) görbe adatainak korrekciója – 'C', 'D' minták	31
5.5, SERS hordozó I(c) görbéjének jellemzése.....	33
5.6, A szegedi SERS hordozók vizsgálata	35
5.6-a, A SERS hordozók optikai tulajdonságainak meghatározása.....	35
5.6-b, A SERS minták I(c) görbéjének felvétele	36
5.6-c, A SERS hordozókon végzett mérések korrekciója	39
5.7, SERSitive minták mérései	41
5.7-a, A SERSitive minták optikai tulajdonságainak mérése	41
5.7-b, A SERSitive mintákon végzett SERS mérések eredményei.....	41
5.7-c, A SERSitive mintákon végzett mérések korrekciója	43
5.8, Használatra javasolt standardok egyéb mérések során	44
6, Összefoglalás.....	45

7, Köszönetnyilvánítás.....	46
8, Források	47
9, Melléklet	49

1, Rövidítések

EF – erősítési együttható

AEF – analitikai erősítési együttható

LOD – kimutatási határ

I – intenzitás

c – koncentráció

SERS – felület erősített Raman-spektroszkópia

EM – elektromágneses hullám

SPR – felületi plazmon rezonancia

LSPR – lokális felületi plazmon rezonancia

V_{csepp} – cseppentett oldat térfogata

V_{analit} – a besugárzott analit aktív térfogata

A_{minta} – a Raman vagy SERS méréshez használt hordozó felülete

NP – nanorészecskék

2, Bevezető

A fény-anyag kölcsönhatás eredményeképp különböző effektusokat vizsgálhatunk, amelyek által más-más információkat kaphatunk a vizsgált anyagról. Hogyha annak atom-és molekula szerkezetét szeretnénk tanulmányozni az egyik legjobb módszer rá a Raman-spektroszkópia lehet. Ebben az esetben a mintát egy monokromatikus fénnel világítjuk meg, amelyről rugalmatlanul szóródik az elektromágneses sugárzás. A változás függvényében információt kaphatunk a minta kötősszerkezetéről. A Raman-spektroszkópiai mérés során a kapott jelet a besugárzási térfogatba eső, vizsgált molekulák számának arányában kapjuk meg. Hogyha egy adott vizsgált molekulából álló, úgy nevezett analit réteget helyezünk el egy hordozón, akkor összefüggés van a molekulák koncentrációja és a Raman-jel intenzitása között. A mért intenzitás értékeket, az irodalomban megszokott módon, az alkalmazott analit oldat koncentrációjának függvényében szokás ábrázolni. Egy adott mérési sorozatban, azonos mintaelőállítási módszer mellett ez nem okoz problémát. Azonban különböző mérési sorozatok között a mérendő analit réteg előállításának paraméterei eltérhetnek. Az oldat felvitele során eltérő csepp térfogatot alkalmazva, vagy a hordozó méretének változásával, a száradás után eltérő vastagságú analit réteghez jutunk, amely befolyásolja az aktív térfogatba eső, mért molekulák számát. Mindezek kihatással vannak a mérés során kapott Raman-jel intenzitására. Ezek alapján belátható, hogy a koncentráció nem elegendő egy mérési pont meghatározásához, önmagában nem reprezentálja azt az analit mennyiséget, amelyen a mérést végeztük.

E mellett, jól ismert tény, hogy a Raman-vizsgálatok során a fény-anyag kölcsönhatás hatáskeresztmetszete nem jelentős. Több kutatás is foglalkozik a Raman-jel erősítésével, ennek egyik remek módja fém nanorészecskék, azon belül, ezüst, arany vagy akár ezüst/arany ötvözetek használata. A felület erősített Raman-spektroszkópiai (SERS) mérések jellemzésére alkalmazott analitikai erősítési együttható (AEF) és a kimutatási határ (LOD) jelenlegi, a koncentrációhoz kötött formájukban [1], nem alkalmasak SERS hordozók jellemzésére. Főleg nem alkalmasak különböző módszerekkel előállított, különböző paraméterekkel (anyag, méret, forma) bíró nanostruktúrák összehasonlítására. Az eddig figyelmen kívül hagyott paraméterekkel - csepp térfogat és annak elterülési felülete - nem számolva, ezen mennyiségek nem lesznek megfelelőek SERS hordozók összehasonlítására.

A felmerülő probléma megoldása érdekében bevezetek egy új mennyiséget, amely meghatározása egyszerű, és a mért analit mennyiségével arányos, függetlenül az analit réteg felvitele során változó paraméterektől. Ezt felhasználva standard mérési eljárásokra tesztek javaslatot, amelyekkel a SERS nanostruktúrák összehasonlíthatóvá válnának.

A SERS hordozók vizsgálatának megkezdése előtt, a feltevéseimet üveg hordozókon végzett Raman-mérésekkel fogom igazolni. Meghatározom azon mérési paramétereket, amelyek befolyásolják a Raman-jelet intenzitást. Ennek érdekében vizsgálni fogom, hogy milyen hatással van a cseppentett analit elterülésének területe (amely a mi esetünkben megegyező a minta területével), és a használt csepp térfogata egy sima üveglapon felvett, erősítetlen Raman-jel intenzitására.

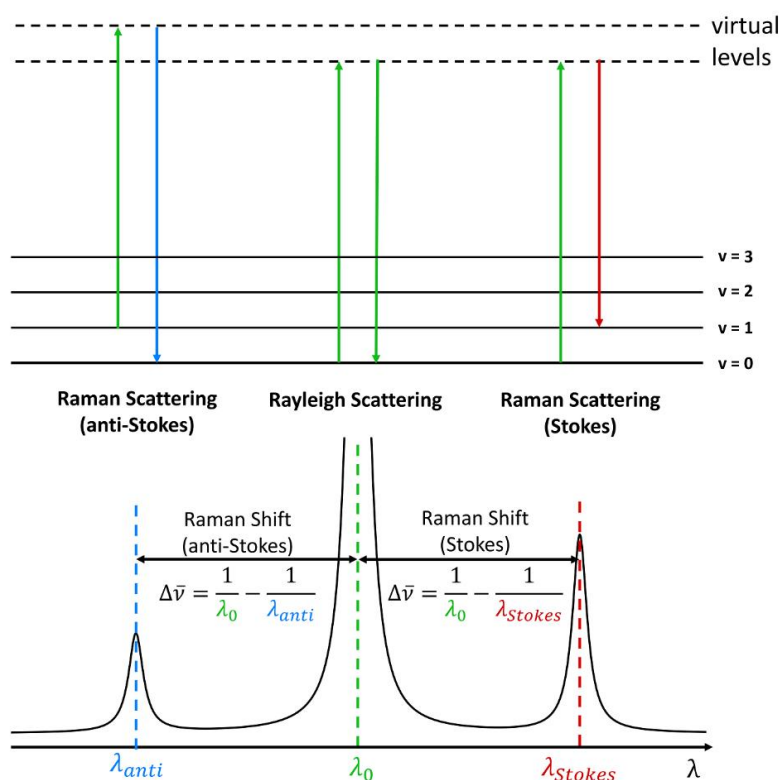
Ezen kívül ugyanezeket a paramétereket megvizsgálom a felület erősített Raman-spektroszkópiás hordozókon. Mérésekkel ellenőrzöm, hogy a bevezetett mennyiségek és összefüggések SERS hordozókon történő mérések esetében is érvényesek-e. Majd az AEF és a

LOD mennyiségekben a felületi koncentrációt bevezetve függetlenítjük azokat a csepp térfogat és az elterülési felület paramétereiktől. Ezzel, a korrigált AEF és a LOD mennyiségek alkalmassá válnak eltérő paramétereken mért SERS hordozók összehasonlítására. Tehát különböző módszerekkel előállított SERS hordozók összehasonlíthatóvá válnak.

3, Elméleti bevezető

3.1, Raman spektroszkópia

Sir C. V. Raman fedezte fel a róla elnevezett spektroszkópai eljárás lehetőségét 1928-ban. Kimutatta, hogyha egy mintát monokromatikus fénnel világítunk meg, akkor azon rugalmatlanul szóródva eltérő frekvenciájú fotonok is keletkeznek, melyek a bevilágított anyagot karakterisztikusan jellemzik [2]. Röviden, a Raman-spektroszkópia egy olyan nem destruktív analitikai eljárás, amely információt biztosít számunkra a vizsgált analit kémiai összetételéről, fázisáról, kristályszerkezetéről vagy bármilyen más tulajdonságáról, amely visszavezethető a vizsgált anyag molekuláris összetételéhez és az atomi kölcsönhatásokból nyert információhoz [3]. Működésének elve, hogy az analitra érkező azonos energiájú fotonok rugalmatlan szóródás során a molekuláris kötésekhez tartozó rotációs és vibrációs energia értékekkel tolódnak el [4]. A beérkező monoenergetikus fotonok egy kis része ezen rotációs és vibrációs sávoknak megfelelő energiát fog felvenni vagy átadni a rendszernek (Stokes vagy anti-Stokes eltolódás az **1. ábrának** megfelelően), bár az elektronok alapállapoton preferált tartózkodása miatt, a fotonok energia átadása a valószínűbb folyamat a kettő közül [5], [6].



1. ábra: A fény-anyag kölcsönhatás során felmerülő különböző szórási folyamatok [25]

Az analiton szóródott fényt begyűjtve és egy rács segítségével felbontva, elemezhetjük annak energia spektrumát. Kísérletileg azt tapasztaljuk, hogy a begyűjtött fény már nem monoenergetikus, hanem a fotonok egy része az anyagra jellemző karakterisztikus energia értékekkel tolódik el, amelyet így felhasználhatunk az analitikai eljáráshoz. Ezen eltolódás nagyjából a $100 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ hullámszámú, vagy $0.1 - 0.001 \text{ eV}$ energiájú tartománynak felel

meg [7]. A felbontott, de még feldolgozatlan jelben megjelennek a karakterisztikus csúcsok mellett a rugalmasan szórt fotonok csúcsa is, nagy intenzitással. Ennek két oldalán található a karakterisztikus spektrum, a rugalmatlan szóródásnak megfelelően, szimmetrikusan. Ennek oka, hogy az analitban energia elnyelés és leadás egyaránt létrejöhet, de mivel a fotonok energia átadása a valószínűbb, így a kisebb energiájú oldalt mérve nagyobb jel nagysághoz juthatunk. Éppen ezért, a Raman-spektroszkópiában általában ezen kisebb frekvenciájú, nagyobb hullámhosszú oldalt használjuk. A végső spektrumban a karakterisztikus csúcsok pozíciójának értékei a szórt fotonok és a beérkező fotonok energiájának különbségeként vannak megadva, így jutunk a már említett hullámszám értékekhez. Ezen csúcsok pozícióját leolvasva, a kapott spektrumot felhasználhatjuk kvalitatív mérésekre, de a jel nagyság és referenciák alapján a Raman-spektroszkópia kvantitatív eljárásként is alkalmazható.

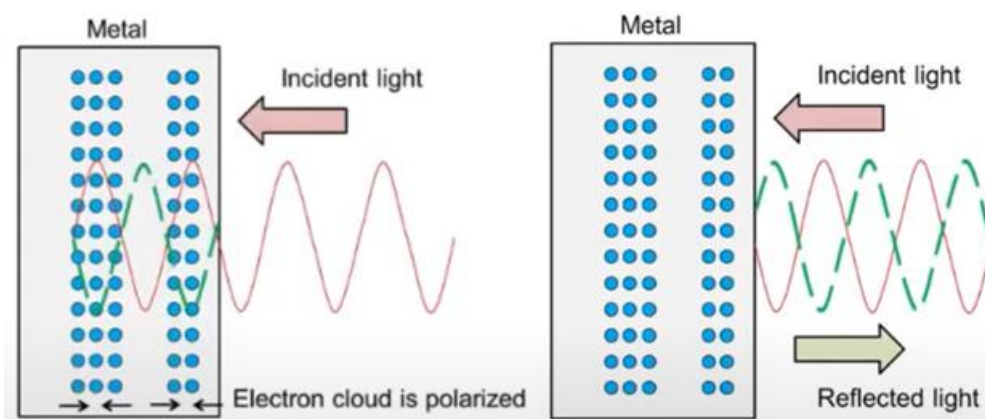
A méréshez szükséges rugalmatlan szóródási folyamat viszont a beérkező fotonokhoz viszonyított relatív számát tekintve egy valószínűtlen esemény [8]. Ennek eredményeként a Raman-spektroszkópiai eljárás nehezen alkalmazható kis anyagmennyiségek és koncentrációk vizsgálata esetén. Ennek ellenére, viszont rengeteg pozitív tulajdonsága van a hasonló analitikai információkat szolgáltató infravörös spektroszkópiával szemben. Bár megfelelő mérési eljárással minkét módszer szolgáltathat jó minőségű adatokat, de egy vitathatatlan előnye a Raman-spektroszkópiának a hozzáférhetősége. A minták minimális előkészítést igényelnek, és a mérési rendszer is egyszerűbb mind források, mind detektorok terén, tekintve, hogy látható fénnel dolgozunk.

3.2, Felületi plazmon rezonancia és a felület erősített Raman-szórás (SERS)

A felület erősített Raman-spektroszkópia a hagyományos Raman-eljárás legnagyobb hiányosságának kiküszöbölésére született meg, annak érdekében, hogy növeljük az elérhető mérési tartományt, vagyis csökkentsük a minimálisan még kimutatható analit mennyiségét. Ennek tekintetében a rövidítve csak SERS-nek hívott eljárás nagyon sikeres. Több nagyságrenddel megnöveli egy adott anyagmennyiség (koncentráció) mellett kapott jel nagyságát, másrészt a Raman-spektroszkópia kimutatási határához képest, annál akár egymilliomodszor kisebb anyagmennyiség (koncentráció) vizsgálatát is lehetővé teszi. [9] [10]

A felület erősített elnevezés a mérési eljárásból ered. A jel erősítés elméleti háttere, hogy a vizsgálandó analitot egy megfelelő optikai tulajdonságú fém felületre, ideálisabb esetben nanorészecskékből álló felületre helyezzük. Bár ezen módszernek van még néhány lehetséges kísérleti megvalósítása, például a koloidos oldatban való jel erősítés [11], de ezen dolgozat keretein belül a nanorészecske hordozók esetét tárgyaljuk. A SERS eljárásban használt fémek általában arany, ezüst, réz vagy ezek keverékét tartalmazzák, ugyanis ezen anyagok plazmoncsúcsának helyzete található a Raman-spektroszkópiában használt lézerek 400-800 nm-es tartományában, vagy ahhoz közel [12], [13].

Egy fém plazmon csúcsának közelében, az anyagnak a besugárzott elektromágneses hullámra adott reakciója megváltozik. A fémek látható fényre általában egy ellentétes fázisban kialakuló, belső töltéssűrűség hullámmal reagálnak, ami a fémbe befelé haladva kioltja az EM-es hullámot, míg kifelé a fény visszaverődéseként jelenik meg. Ezért nem átlátszó és erősen fényvisszaverő a legtöbb fém a látható hullámhossz tartományon. Tehát a plazmon csúcs frekvenciája alatt, az anyagban lévő szabad elektronok a beérkező EM sugárzás hatására, egy ellentétes fázisú kollektív oszcillációt alakítanak ki a **2. ábrának** megfelelően.

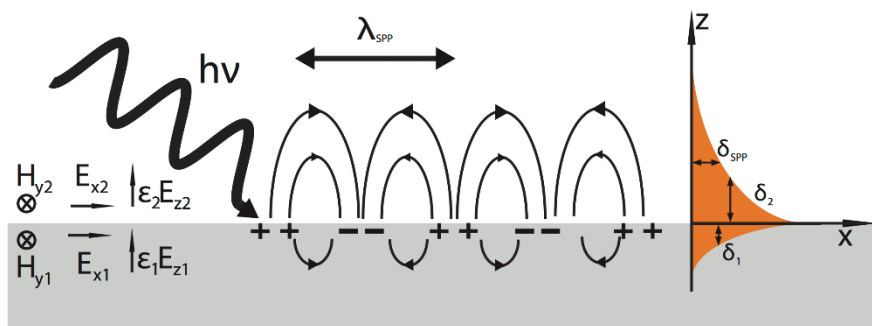


2. ábra: A fémek látható fényre vett fényvisszaverő tulajdonságának kialakulása [26]

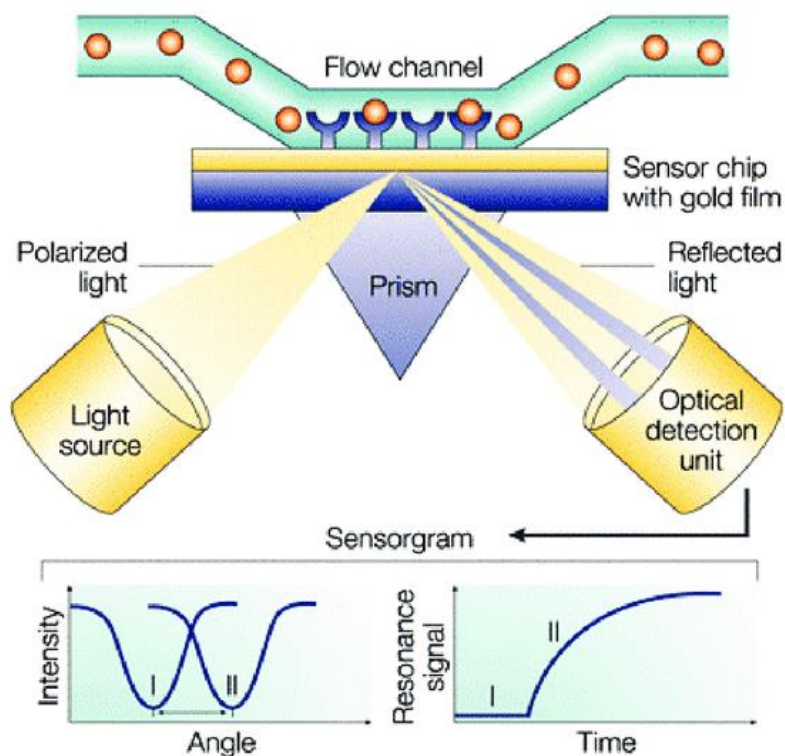
Egy alapvetően megfigyelt tulajdonsága minden rendszernek, hogy ellenáll a saját állapotának megváltoztatását célzó hatásoknak, és ezekre egy ellentétes válaszreakciót produkál. Hasonlóan viselkedik eleinte a fémek szabad elektronjainak rendszere is külső elektromágneses hullámok hatására. Az e^- rendszer egy, a beérkezővel ellentétes fázisú töltéssűrűség hullámot alakít ki, amely az anyagban kioltja a beérkező EM teret. A rendszer viszont csak egy bizonyos változási gyorsaságig, jelen esetben frekvenciáig képes ellentétesen

követni a külső behatást, azaz az EM teret. Egy kritikus szint felett, amelyet most a plazmon frekvencia jelöl, a rendszer válasza a külső behatásra időben lemarad, és beleeshet egy rezonancia jelenségbe. A frekvenciát tovább növelve, a beérkező EM tér változása olyan gyorsaságúvá válik, hogy a szabad e^- rendszer képtelen lesz azzal lépést tartani, és a külső behatásra adott válasz teljesen lebomlik. A fém a kellően nagyfrekvenciás EM-es sugárzásra áttetszővé válik.

A létrejövő rezonáns jelenség egy éles elnyelési csúcsot ad a fém abszorpciós vagy áteresztési optikai spektrumában, amely csúcs frekvenciája lesz a plazmon csúcs pozíciójának értéke. A rezonancia jelenség hatására a fém felületén egy óriási EM-es tér alakulhat ki [14]. Tehát a megfelelő összetételű fém, megfelelő hullámhosszúságú lézerrel gerjesztve, megfelelő körülmények között, annak felületén egy nagy elektromágneses tér kialakítására vagyunk képesek. A megfelelő körülmény kitétel fontos, mivel egy egyszerű fémlap használata esetén csak bizonyos szög alatt teljesül a fotonokra az impulzusmegmaradás, így ezen kísérleti összeállításban némileg körülményes a rezonancia effektus létrehozása (3. ábra). Ezen felületi plazmon rezonanciának (SPR) hívott jelenségnek is megvan viszont a maga előnye. Részletes levezetés nélkül, most elég annyit tudni, hogy a felületi plazmon rezonanciának létezik egy kritikus szöge, ahol a besugárzás maximális elnyelését tapasztaljuk. Ezt a szöget a fém felületén lévő dielektrikum is befolyásolja, mivel az SPR nem más, mint a fém felületén létrejövő töltéssűrűség és a dielektrikumban kialakuló EM-es hullám együttese, amely az anyag felületén terjedni képes. Tehát a rezonancia csúcs eltolódásával nyomon tudjuk követni a dielektrikum változását, ami önmagában felhasználható egy analitikai eljárásként (4. ábra), [15]. Minket viszont a Raman-jel erősítésében ez a sok körülményesség nem segít.

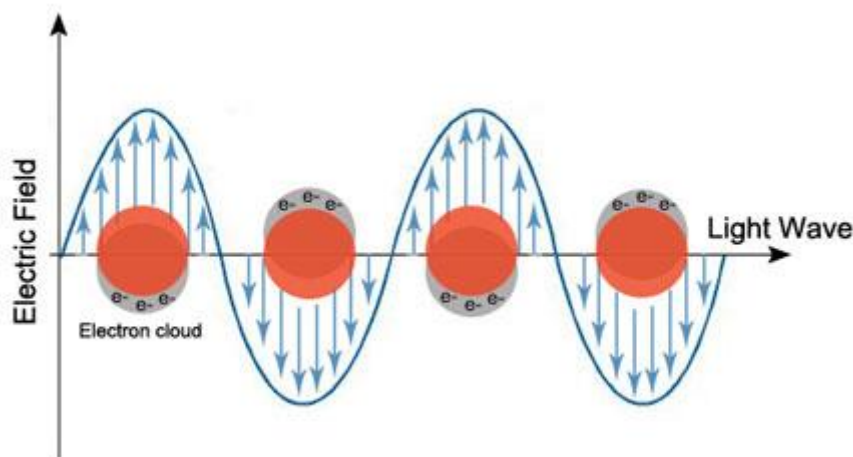


3. ábra: Felületi plazmon rezonancia kialakulása egy fém és egy szigetelő felületén. [27]



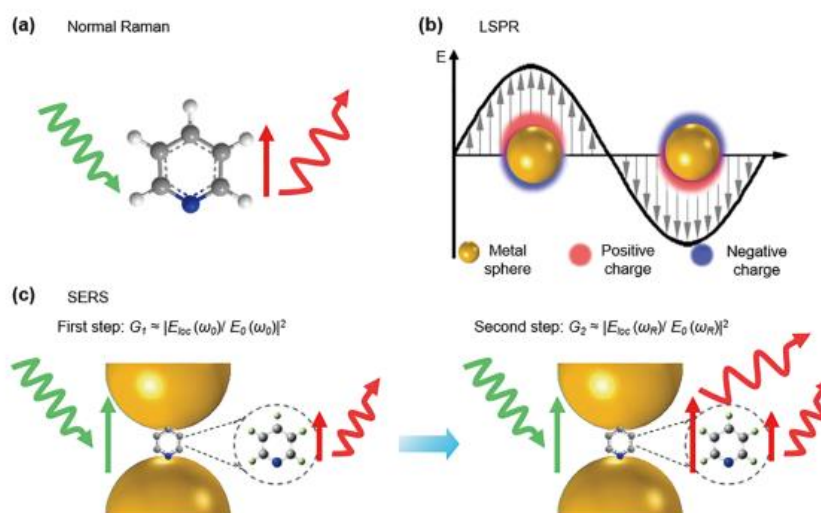
4. ábra: Kémiai folyamatok dinamikájának vizsgálatára szolgáló, SPR-en alapuló mérési eljárás. [28]

Ezért a SERS eljárásban nanorészecskékből álló hordozókat alkalmazunk. Ezek előnye, hogy a rezonancia effektusnak nem feltétele továbbá a megfelelő bevilágítási szög, csupán a jó hullámhosszúságú lézer megválasztása. Nanorészecskék esetén ugyanis másként alakul ki a rezonancia, mint tömbi (bulk) anyagok esetén. Ahelyett, hogy a kialakuló töltéssűrűség oszcilláció a fém felületén jönne létre, nanorészecskék esetén az EM-es hullám képes a részecskék szabad elektronfelhőjét oszcillációba hozni (5. ábra), és azokat gerjesztve a nanorészecskék közelében egy nagy elektromos teret kialakítani [16]. Mivel az EM-es tér az egyedi nanorészecskék vezetési elektronjaival kölcsönhatva alakítja ki a kollektív rezonanciát, ezért a SPR-al ellentétben ez a hatás a részecskékhez rögzített. Ez alapján a folyamat egy új elnevezést kapott, ami a lokális felületi plazmon rezonancia, rövidítve LSPR. Tehát megfelelő plazmoncsúccsal rendelkező anyagból gyártott, nanorészecskékből álló hordozók megfelelő hullámhosszúságú lézerrel történő megvilágítása esetén, a nanorészecskék közelében nagy EM-es tér kialakítására vagyunk képesek. Bár a nanorészecske hordozók kialakítása elsőre bonyolultnak hangzik, a valóságban rengeteg különféle módszer áll a rendelkezésünkre, hogy költséghatékonyan, kellően kontrollált paraméterek (pl.: méret, eloszlás) mellett állítsunk elő nanorészecske alapú SERS hordozókat. Jelenleg ezen előállítási folyamatok és a belőlük kapott hordozók paramétereinek optimalizálása egy nagyon érdekelt és kutatott témakör.



5. ábra: Lokális plazmon rezonancia kialakulása nanorészecskéken. [29]

Ezen hordozókra ráhelyezve az analitot, a következő erősítő effektusokat tapasztaljuk. Először a nanorészecskék felerősítik az analit molekulák által érzékelt beérkező fény intenzitását, majd az analiton keletkezett Raman-szórt jel intenzitását a nanorészecskék rezonancia effektusa hasonlóan sokszorosára erősíti. Főként ezen kettős erősítésnek köszönhető, hogy nagyságrendekkel kevesebb anyagmennyiség kimutatására is képesek leszünk a SERS eljárás alkalmazásával. A plazmon rezonáns folyamat mellett, az erősítési effektusnak vannak gyengébb hozzájárulást biztosító komponensei is, mint a kémiai erősítés, a töltés átadás rezonanciáján alapuló erősítés vagy a Raman-rezonáns erősítés [17]. Ezek önmagukban mind külön tanulmányozást igényelnének, így jelen dolgozat keretein belül az említés szintjén nem megyünk túl.



6. ábra: a, Raman szórás folyamat. b, LSPR folyamat. c, A SERS kétlépéses elektromágneses erősítési folyamata. [30]

A SERS kísérleti eljárásában a klasszikus Raman-spektroszkópiával végzett mérésekhez képest annyi eltérés van, hogy a vizsgálandó analitot egy úgynevezett SERS aktív, nanorészecskékből álló hordozóra helyezzük, és a vizsgálandó molekulák monoenergetikus

fotonokkal történő besugárzása ezen hordozó jelenlétében történik. A mérést végző operátor számára, előre létrehozott hordozók jelenlétében ez nem jelent extra munkát a vizsgálatok során, viszont a kapott eredmények drasztikusan javulnak. Így érthető, hogy SERS hordozókkal történő mérési eljárások kialakítása, időtálló és költséghatékony, de továbbra is nagy erősítéssel rendelkező nanorészecske hordozók létrehozása, ezen témába eső kutatások jelenlegi fő vonala. Végső soron elmondhatjuk, hogy a cél egy tisztán SERS alapú, a Raman-spektroszkópiához képest jelentősen javult analitikai eljárás kialakítása [18], [19].

Ennek érdekében viszont karakterizálni kell a különböző SERS hordozók erősítését, és azonosítani azok ár-érték arányban vett teljesítményét, hogy a legjobb hordozókat használjuk és fejlesszük tovább. Az irodalomban idáig erre a célra legelterjedtebben az AEF és a LOD mennyiségeket használták. Ebben a dolgozatban kísérletet teszek annak bemutatására, hogy ezek milyen hibákat rejtenek, és megoldást javaslunk azok kiküszöbölésére.

4, Módszertan

4.1, A Raman-spektroszkópiai és SERS mérési módszer

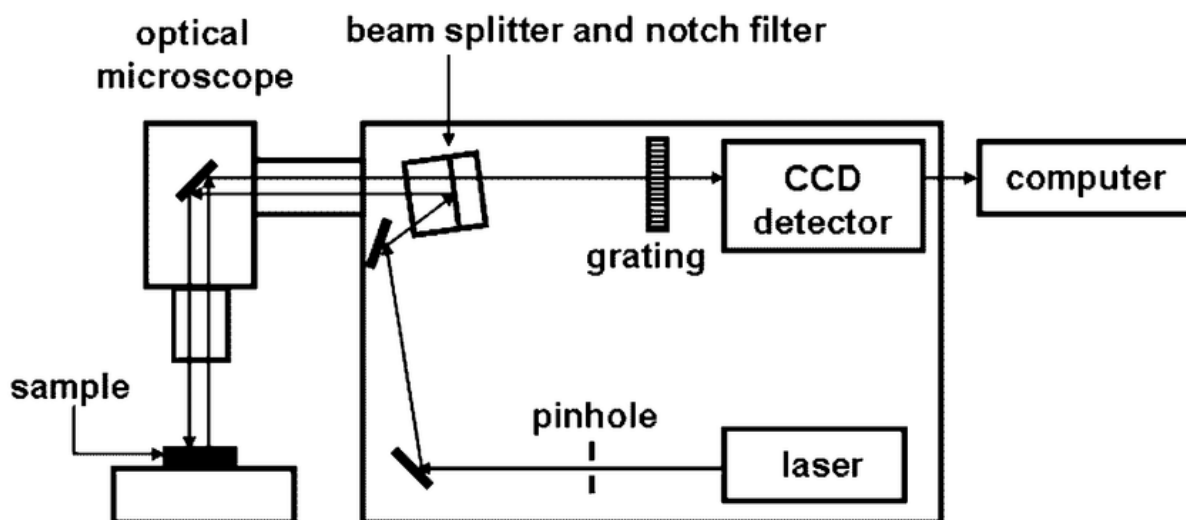
Mivel a SERS hordozókon történő mérés a kísérleti összeállítást nem befolyásolja, így ez a következőkben egyszerre kerül ismertetésre a Raman-spektroszkópiai eljárással [20], [21], [22]. Az elvégzett mérések a **7. ábrán** látható HORIBA Raman-spektroszkópon készültek.



7. ábra: A használt Raman-spektroszkóp. [31]

A következőkben egy Raman-spektroszkóp főbb komponenseinek bemutatására, és a rendszer vázlatos működésének ismertetésére kerül sor, amit a **8. ábrán** is láthatunk. A "jel" minden esetben egy monokromatikus fényforrásból indul ki, aminek előállítása legegyszerűbben egy lézerrel történik. Az így kapott EM-es sugárzás opcionálisan további szűrésen vagy polarizáláson eshet át, illetve a mérési beállítástól függően áthalad egy változtatható méretű apertúrán, mielőtt tükrök és lencsék segítségével eljut a mikroszkópig, ami a lézernyalábot a tárgylemezre fókuszálja. A mérés előtt az operátornak csupán annyi feladata van, hogy a vizsgálandó anyagot a mikroszkóp alá helyezze és beállítsa a fókuszot. Ennek segítségével a mikroszkópba nem csak a lézernyaláb vezethető, hanem fehér fény is, amit felhasználva a mérések között folyamatosan szemmel tarthatjuk a mintát. Egy tipikus összeállításban a mikroszkóp képe kamerán keresztül van kivezetve egy monitorra, így az egész folyamat számítógépről vezérelhetővé válik. Az általunk használt reflektív összeállításban, a szórt fotonok gyűjtése ugyanazon objektíven keresztül történik, mint amelyen át a lézer a mintára érkezik. Az így begyűjtött szórt fotonok viszont egy nyalábválasztó segítségével már a spektrométer felé haladnak tovább. Feldolgozás előtt egy szűrővel leválasztják a rugalmasan (Rayleigh) szórt és a rossz Stokes oldalra érkezett fotonokat a begyűjtött jelből. Ezt követően a szűrt jel beérkezik a spektrofotométerbe, ahol feldolgozás előtt még egy résen való átvezetéssel kizárják a fókuszon kívül eső fotonokat, ezzel korrigálva a rendszer optikai abberációjára és növelve a végső spektrum felbontását. Végül az eltérő energiájú fotonokat egy ráccsal szétválasztják és azokat egy CCD detektorra vetítik, amivel meghatározhatóvá válik

az analit spektruma. A csúcs pozíciókhoz tartozó energiaértékeket leolvasva megállapíthatóak az analit karakterisztikus rotációs és vibrációs energiaátmenetei, amivel a molekulákban lévő kötések azonosíthatjuk, ezzel kvalitatív analízist végezve. Ha pedig leolvassuk az adott csúcsokhoz tartozó intenzitásértékeket, referenciák segítségével a vizsgált anyagmennyiséghez akár egy kvantitatív értéket is rendelhetünk.



8. ábra: Raman-spektroszkóp működésének sematikus rajza. [32]

A leggyakrabban használt, és számunkra is elérhető lézerforrások 473 nm, 532 nm, 633 nm és 785 nm hullámhosszúságúak, amelyek megválasztásán kívül a mérést ezen módon nem lehet tovább optimalizálni. Ezért általában a SERS hordozó anyagösszetételével, a minta plazmon csúcsának pozícióját szokás változtatni annak érdekében, hogy a lehető legoptimálisabb rezonanciát kapjuk.

A kapott jel további javítása érdekében a leggyakrabban változtatott paraméterek a lézer hullámhosszán kívül, a lézer intenzitása, a lefedni kívánt mérési hullámszám tartomány, a mérési idő és az akkumuláció, a használt rács vagy az előtte található rés mérete, illetve az objektív nagyításának kiválasztása, amely a használt lézerrel és annak beállított intenzitásával együtt meghatározza a mérés során kapott nyálábátmérőt.

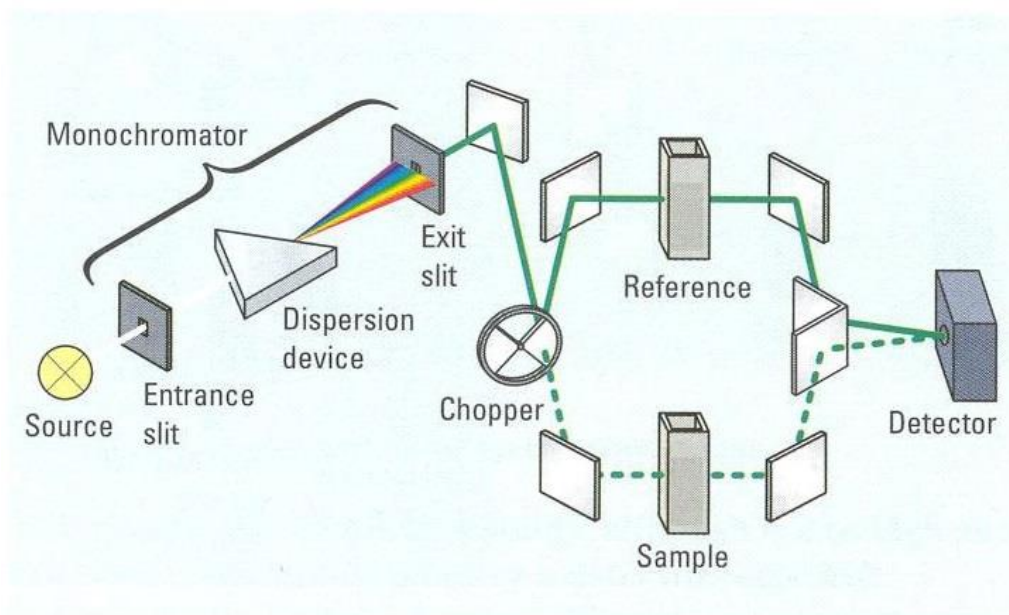
4.2, Spektrofotometriai mérési módszer

A vizsgálataink során meghatároztuk a SERS hordozók különböző hullámhosszon vett áteresztőképességét spektrofotometriás mérésekkel [23], [24]. Ennek célja az volt, hogy meghatározzuk, mennyire homogén mintákkal lesz dolgunk a SERS mérések során, illetve, hogy megmérjük azok plazmon csúcsának hullámhosszát.



9. ábra: A kísérletek során használt spektrofotométer.

A dolgozatban szereplő áteresztőképesség mérések egy SHIMADZU UV3600 típusú spektrofotométerrel végeztük, melynek vázlatos működését a **10. ábra** szemlélteti. Az eszközben található fényforrásokkal 1000 nm-től 300 nm-ig szkenneltük végig, 1 nm-es spektrális felbontással a mintáknak az adott hullámhosszra jellemző áteresztőképességét. Az üveg hordozóra lerakott fém nanorészecskéket egy pár mm-es réssel ellátott mintatartóhoz rögzítve lehet behelyezni a spektrofotométerbe. Ez után, az adott hullámhossztartományban automatikusan kiválasztott sugárforrás fénye egy monokromátorként alkalmazott rács segítségével, 1 nm-es hullámhosszúságú felbontásban világítja át a mintát. A mintán áthaladó fényerősségnek az üres referenciához viszonyított mérése, %-osan adja meg a minta áteresztőképességének spektrumát. Ahogy azt már az elméleti bevezető részben tárgyaltuk, a nanorészecskék plazmon csúcsának hullámhossza ezen $T\%(\lambda)$ grafikonon megjelenő elnyelési csúcs pozíciójából olvasható le.



10. ábra: A használt spektrofotométer sematikus ábrája. [33]

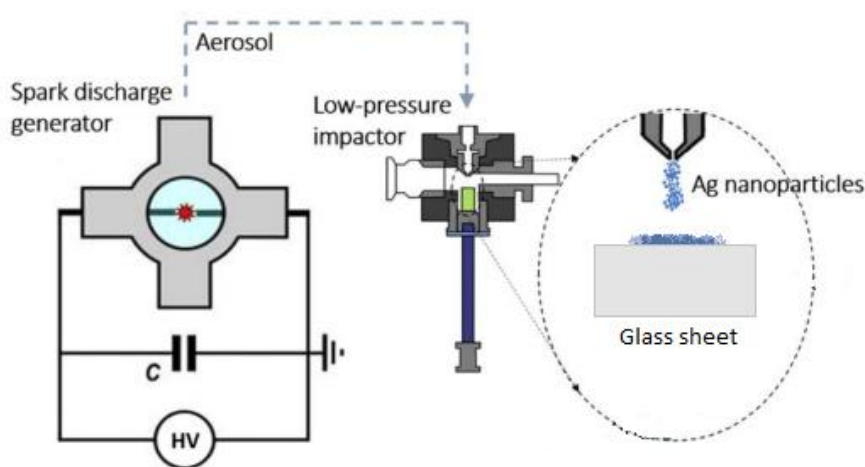
4.3, Üveglapok tisztítási eljárása

A Raman-spektroszkópiás mérésekhez használt, feldarabolt üveglapokat felhasználásuk előtt megtisztították. Az üveglapokat acetonban 15 percig szonikálták ultrahangos fürdő használatával, majd metil-alkohollal öblítették le. Ezután 1:1 arányú sósav-metil alkohol elegyében áztatták 2 órán át. A sósav segítelt eltávolítani a felülethez nem kötődő fém ionokat (kalcium, nátrium, foszfát), míg a metanol elősegíti a felület nedvesíthetőségét. Ezt követően az üveglapokat cc. kénsavban áztatták 2 órán át, a szerves szennyezők eltávolítása érdekében. Minden egyes lépés után az üveglapokat nagymennyiségű, nagy tisztaságú vízzel (MilliQ víz) öblítették le. A felhasználás előtt az üveglapokat hagyták megszáradni vegyifülke alatt.

4.4, A „szegedi” SERS hordozók előállítása és tulajdonságai

A mérések során vizsgált szegedi mintákat ívkiüléses módszer segítségével állította elő Dr. Kohut Attila és munkatársai, akik a Szegedi Tudományegyetem, Nano és mikromegmunkálás Kutatócsoportjában dolgoznak.

Az ívkiüléses nanorészecske (NP) generátorban több μs hosszú, nagy áram és feszültség értékekkel rendelkező kiüléseket hoznak létre két egymáshoz közeli elektróda között, miközben a rendszeren keresztül egy hordozó gázt áramoltatunk. A folyamat során az elektróda anyagából kiváló részecskék gáz fázisban jelennek meg, majd nukleáció, kondenzáció és koaguláció útján nanorészecskék alakulnak ki. A minták üveglapra történő leválasztása egy alacsony nyomású impaktorban történt. A folyamatot a **11. ábra** mutatja be.



11. ábra: A szegedi minták előállításának egy sematikus ábrája [34], [35].

Az előállítási módszer egyik nagy előnye, hogy többelemű, különböző összetételű nanorészecskék létrehozására is alkalmas, ha különböző anyagi összetételű vagy többelemű elektródákat használunk. A mi esetünkben az eltérő tömegszázalékú arany-ezüst részecskéket nagy tisztaságú Au, Ag, illetve Au/Ag ötvözetű elektródák felcserélésével érték el a kutatók. Mivel ívkiülés során az anyagi keveredés atomi szinten történik, így egyszerű ömlesztett fém elektródák felhasználásával is képesek vagyunk a többelemű NP-k létrehozására.

A mintákban megjelenő Au/Ag összetétel változtatásával befolyásolható a végtermékek plazmon csúcsának helyzete, és ezzel potenciálisan az elérhető felület erősített Raman-szórás erősítésének nagysága is, a különböző analitok esetében. Ennek érdekében lehet változtatni az ívkiülésben használt elektródákat, amivel a **4. táblázatban** található plazmon csúcs helyzettel rendelkező mintákat állították elő.

5, Mérési eredmények

5.1, Problémafelvetés

A kutatócsoportunk elsősorban a felület erősített Raman-spektroszkópiának (SERS) nevezetett analitikai eljárást, valamint a módszerben használatos hordozókat vizsgálja. Az eddig elvégzett munkáinkban nagyrészt különböző csoportok által, különböző módokon előállított nanorészecskéket tartalmazó hordozók erősítő hatását vizsgálta. Egy közös pont ezen mérésekben, hogy a minták teljesítőképességének jellemzéséhez meghatároztuk azok kimutatási határát (LOD), valamint analitikai erősítési együtthatóját (AEF). Ezen mennyiségek jelenleg az irodalomban is a leginkább használatosak egy SERS hordozó jellemzésére. Ezen vizsgálatokhoz a mintákra különböző koncentrációjú analit oldatot, a mi esetünkben Rodamin 6G (R6G) festékanyagot cseppentünk, amely a Raman és SERS méréseink tárgyát képezi majd. Ezen kívül előállítottunk a SERS mérésekhez egy referenciát is, amelynek mérési eredményit összevetve a SERS hordozókon kapott jel értékeivel, kiszámolhatjuk annak erősítési együtthatóját.

Fontos megjegyezni, hogy az általunk használt „erősítés” (amire a továbbiakban is hasonló rövidítéssel fogunk hivatkozni), az analitikai erősítési együttható (AEF), melynek kiszámolási módja a **(2)** képletben látható.

$$AEF = \frac{I_{SERS}/c_{SERS}}{I_{Raman}/c_{Raman}} \quad (1)$$

Az erősítési együttható (EF) általános definíciójában [1], ezzel szemben nem a használt koncentrációk szerepelnek, hanem a lézer által gerjesztett térfogatba eső molekulák száma. Ez a molekula szám pedig eltérhet az oldat koncentrációjától, különböző paraméterektől függően.

$$EF = \frac{I_{SERS}/N_{SERS}}{I_{Raman}/N_{Raman}} \quad (2)$$

Megfigyeléseink szerint (lásd melléklet) ezen két mennyiséget az irodalomban gyakran azonos értelemben használják, csupán erősítésként vagy EF jelöléssel hivatkozva a kiszámolt mennyiségekre. Az eredeti, molekula számot tartalmazó EF értéket viszont elég körülményes meghatározni. Valószínűleg ezért mozdultak el többen a koncentrációt tartalmazó analitikai erősítés mennyiségének használata felé. Sajnos, ahogy azt ebben a dolgozatban is megmutatom, az AEF nem kielégítő mennyiség egy SERS hordozó jellemzésére, vagyis nem alkalmas azok hatékony összehasonlítására. A nagyobb probléma viszont azon kutatások esetén adódik, ahol nem részletezik a kapott erősítés meghatározásának módját, triviálisnak vesznek bizonyos kísérleti vizsgálati paramétereket. Mint ahogy az a melléklet alapján is látható, sajnos megnevezés hiányában nem egyértelmű, hogy melyik erősítés került kiszámolásra, valamint feltételezhető, hogy már csak a könnyebbége miatt, az analitikai erősítési együtthatót használják.

Hasonló gondok merülnek fel a kimutatási határ (Limit of detection - LOD) kapcsán is. Önmagában a koncentráció ugyanis nem tartalmaz minden információt ahhoz, hogy abból a

mérések során vizsgált molekulák számára (N_{SERS} vagy N_{Raman}) következtethessünk. Bár a koncentráció N -el arányos mennyiség, ha SERS hordozók minősége közti összevetéseket szeretnénk tenni, akkor a LOD koncentrációval vett kifejezése félrevezető lehet, és nem feltétlen alkalmas az összehasonlításra.

Az utóbbi időben egyre elterjedtebb egy hordozó Intenzitás(koncentráció) profiljának felvétele annak jellemzésére. Ennek egyik oka, hogy az erősítési faktorok értéke erőteljesen koncentráció (c) függő. Így egy adott minta jellemzése során ennek függvényében jelentősen eltérő erősítéseket kaphatunk, amelyeket más mintával összehasonlítva félrevezető következtetések vonhatóak le, ha figyelmen kívül hagyjuk, hogy az erősítések milyen koncentráció értékekre lettek meghatározva. E miatt, egy $I(c)$ görbe felvételével jobb lehetőséget kapunk egy hordozó jellemzésére. Lehetséges ugyanis, hogy egy hordozó nagy koncentrációkon óriási intenzitás értékeket ad, de a koncentráció csökkentésével a jel értéke is gyorsan csökkeni kezd. Ezzel szemben egy másik hordozó által adott intenzitás értékek nagy koncentráción lehetnek alacsonyabbak, ha azok értéke alig változik a koncentráció csökkentésével, végső soron nagyobb LOD-hoz vezetve. Ezen görbék felvétele során viszont ugyanazon problémába ütközünk, miszerint a koncentráció önmagában nem egyértelműen meghatározó a vizsgált molekulák számára nézve, miközben a mért N molekulaszám meghatározása túlságosan körülményesnek adódik.

A koncentráció használatából adódó problémák oda vezetnek, hogy nem tudunk megfelelő összehasonlítást végezni különböző kutatócsoportok SERS hordozói között.

A hozzánk vizsgálatra beérkező minták különböző előállítási módjai miatt, azok általában eltérő méretűek voltak. Mivel törekedtünk arra, hogy a cseppentett oldat teljesen lefedje az éppen használt mintákat, de még ne folyjon le róla, ezért a különböző mérési sorozatokhoz változó csepp térfogatot alkalmaztunk. Referenciaként egy, a mintákkal megegyező méretű üveglap szolgált, melyre egy nagyobb koncentrációjú analit oldatból az aktuális mérésnél használt térfogatot cseppentettünk. A dolgozat során viszont belátjuk, hogy az így kapott AEF, valamint LOD mennyiségek nem alkalmasak arra, hogy az így vizsgált mintákat összehasonlítsunk.

A kapott eredményekben jelentős eltéréseket okozhat, ha például a nanorészecskék leválasztása nem azonos méretű felületre történt, vagy eltérő csepp térfogatokat alkalmazunk. Ha csak röviden belegondolunk, hogy egy adott koncentrációjú és térfogatú csepp eltérő nagyságú minta felületen másképpen, vékonyabban vagy vastagabban terül el, akkor a megszáradás végén kapott analit vastagság, így a lézernyaláb alá eső mért anyagmennyiség is más lesz. E közben a mérési pont jellemzésére használt koncentráció ugyan az marad, így eltérő mérési eredményeket kaphatunk a fent említett paraméterek eltérő megválasztásával.

Ezen probléma megoldására és a SERS mérések összehasonlíthatóságának biztosítására egy új mennyiség használatát, és standard eljárások követését javasoljuk. A dolgozat során a koncentráció alkalmazása helyett bevezetem az úgynevezett felületi koncentráció mennyiségét. Ezen korrekciós eljárással egy könnyen kiszámolható, a besugárzott molekula számmal arányos mennyiség adható meg, amely független a mérési körülményeket meghatározó csepp térfogat és minta felület paramétereiktől. Belátjuk, hogy ezen mennyiséget érdemes alkalmazni az AEF -ban, az $I(c)$ görbe, a LOD és általánosságban minden mérési pont megadásakor, a koncentráció használata helyett.

5.2, Tisztított üvegen végzett mérések

Az elgondolásomat először egyszerű üveglapokon végzett Raman-mérésekkel igazoltam. Leteszteltem egy adott analit koncentráció mellett kapott intenzitás értékek függését, az említett csepp térfogat és elterülési felület paraméterek függvényében. Legelőször egy felvett $I(c)$ görbének a csepp elterülési felületétől vett függésével foglalkozok, majd megvizsgálom a csepp térfogattól vett függését is.

5.2-a, Intenzitás(koncentráció) görbe felvétele – A, B minták

Alapvető kérdés, hogy a koncentráció használata a mérési pontok meghatározására kielégítő-e, vagy rajta kívül más mérési paraméterek is befolyásolják az aktív térfogatba eső molekulaszámot. Ennek ellenőrzése érdekében legelőször felvettünk két mérési sorozatot, melyben ugyanolyan mérési beállítások mellett, 25 μL -es cseppmennyiséget alkalmazva határoztuk meg a tisztított üveglapokon mért $I(c)$ görbét. A két mérési sorozatot az választotta el egymástól, hogy más méretűre vágott üveglapokon készültek (**1. táblázat** és **2. táblázat**).

1. táblázat: Az 'A' és 'B' minták esetén használt mérési paraméterek táblázata

	analit	csepp térfogat	átlagos üveg méret	használt koncentráció
'A' sorozat	R6G	25 μL	1,365 +- 0,080 cm^2	(eltérő)
'B' sorozat	R6G	25 μL	2,295 +- 0,114 cm^2	(eltérő)

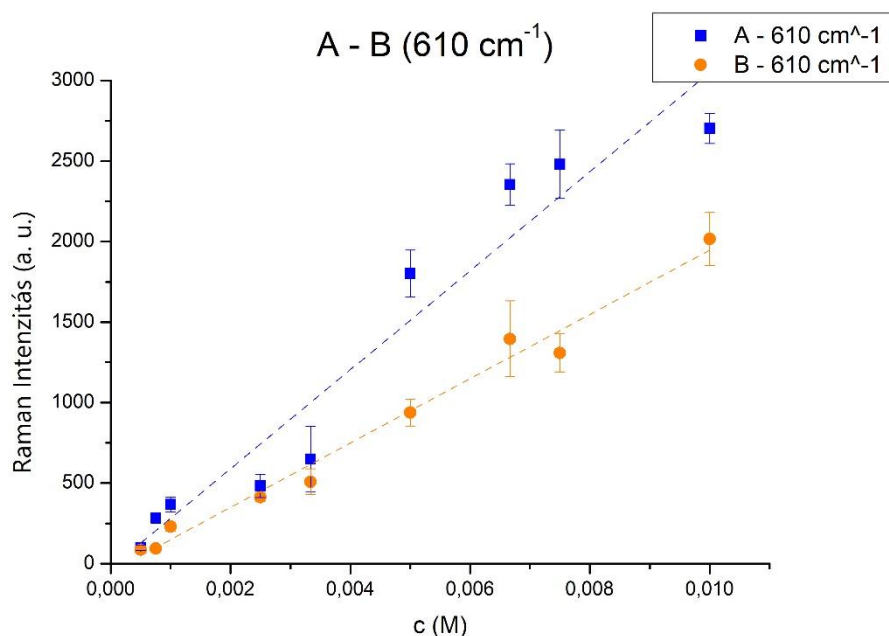
2. táblázat: Az 'A' és 'B' minták esetén használt mérési beállítások táblázata

	mért tartomány	ND - filter	mérési idő	akkumuláció	használt objektív	használt lézer
mérési beállítások	400 – 1800 cm^{-1}	5 %	2 s	1	x50	532 nm

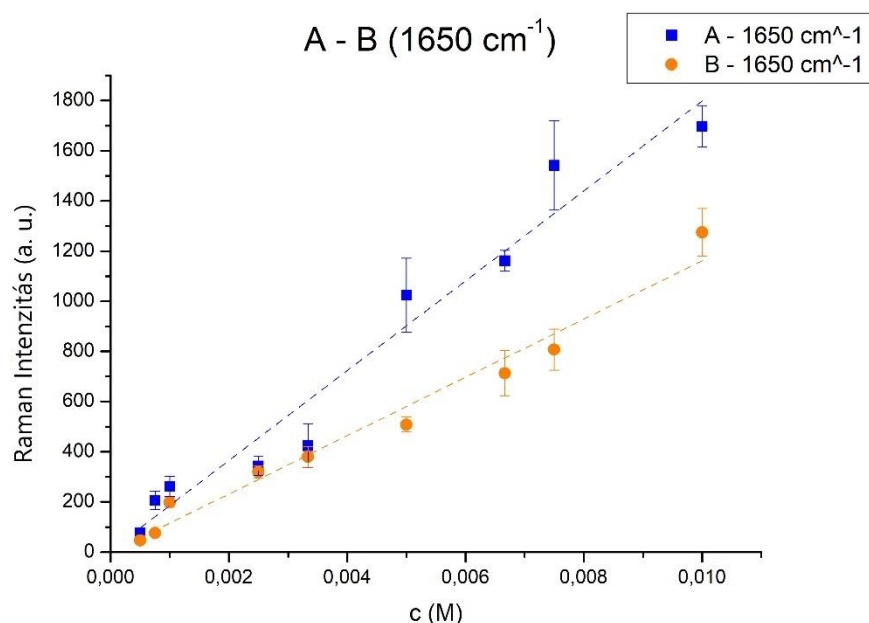
Az üveglapok tisztítását a cseppentett analit homogén megszáradása indokolta. Homogén analit réteg előállítása nem triviális, még egy sima üveglap felszínén sem. Bár ezen tisztítási folyamat után sem kapunk teljesen egyenletes réteget, de a minták közepét tekintve a keletkező analit vastagság szemmel és mikroszkóp alatt vizsgálva is közel homogénnek mondható volt. A mért értékek szórásának javításában biztosan nagy szerepet vállalna a tisztítási és szárítási folyamat továbbfejlesztése, és még egyenletesebben eloszló rétegek kialakítása.

Bár az üveglapok vágása során adódtak kisebb eltérések, a két üvegméret átlagosan az **1. táblázatban** megfigyelhető módon adódott. Az elméleti elgondolás alapján, a 25 μL -es cseppmennyiség a nagyobb üveglapokon vékonyabban terül el, és a megszáradás után szintén vékonyabb analit rétegvastagságot hagy maga után, amely a mérések során kisebb intenzitású Raman-jelet kell adjon, mint a kisebb üvegméretű párja.

A mérések során 9 különböző koncentrációjú R6G analit Raman-spektrumát mértem meg a $10^{-4} - 10^{-2}$ M koncentráció tartományon. Az így kapott spektrumokat a 610 cm^{-1} -es és az 1650 cm^{-1} -es csúcsokra értékeltem ki, és határoztam meg a hozzájuk tartozó intenzitásokat. Ezeket ábrázolva az $I(c)$ görbén, az **12. ábrán** és az **13. ábrán** látható eredményekhez jutottam.



12. ábra: *Eltérő mintaméret mellett végzett mérések eredményei a 610 cm^{-1} -es csúcsra.*

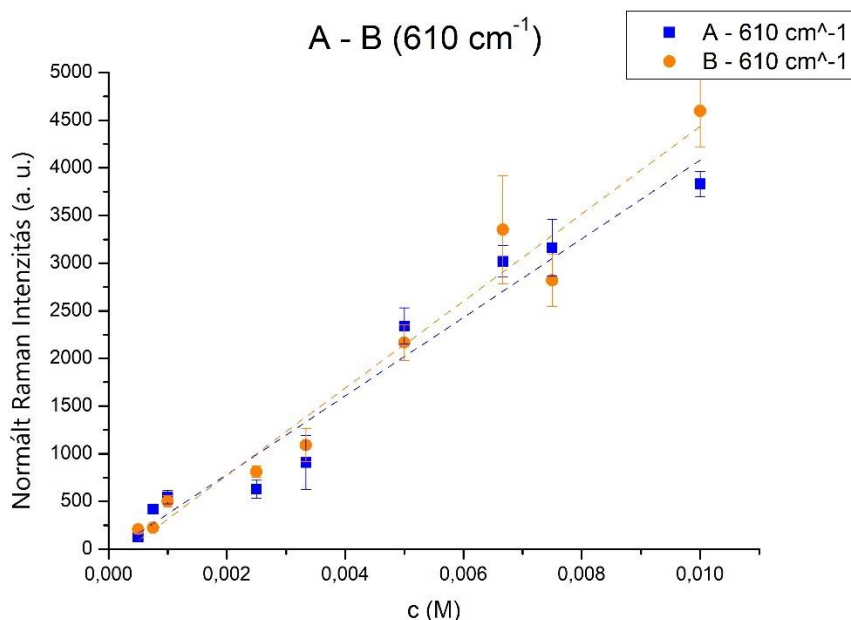


13. ábra: *Eltérő mintaméret mellett végzett mérések eredményei az 1650 cm^{-1} -es csúcsra.*

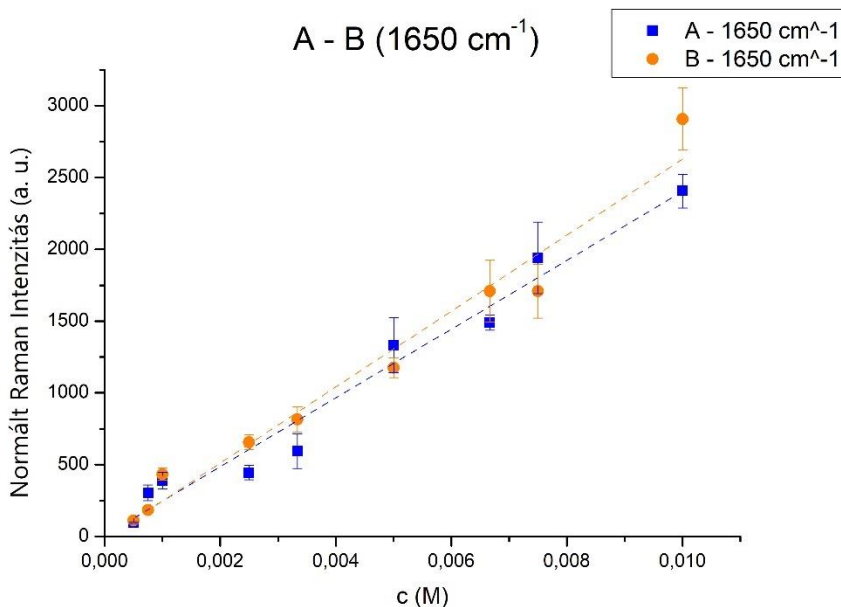
Jól látható, hogy a vártak megfelelően a nagyobb területű, méretű mintán mért jelértékek minden esetben valamennyivel a kisebb területű mintákon mért értékek alá esnek. A mérési pontok mindkét esetben jól illeszkednek egy egyenesre, tehát a kapott Raman-jel

nagysága a koncentrációval egyenesen arányos. Az illesztett egyenesek pedig elméletben a nullából kiindulva, egymással valamilyen szöget bezárva futnak.

Ha ezek alapján feltesszük, hogy a mért jel intenzitása a minta (A_{minta}) felületével fordítottan arányos, és minden mérési pont értékét a cm^2 -ben vett üvegméretével szorozva normáljuk, akkor a következő eredményekre jutunk.



14. ábra: A mintamérettel normált mérések eredményei a 610 cm⁻¹-es csúcsra.



15. ábra: A mintamérettel normált mérések eredményei az 1650 cm⁻¹-es csúcsra.

Ahol jól látható, hogy a normált értékekre illesztett egyenesek hibahatáron belül egymásra esnek. Ebből később több következtetést is levonunk, de egyelőre beláttuk, hogy a mért Raman-jel a koncentrációval egyenesen, a minta felületének méretével pedig fordítottan arányos.

5.2-b, Intenzitás(csepp mennyiség) görbe felvétele – 'C', 'D' minták

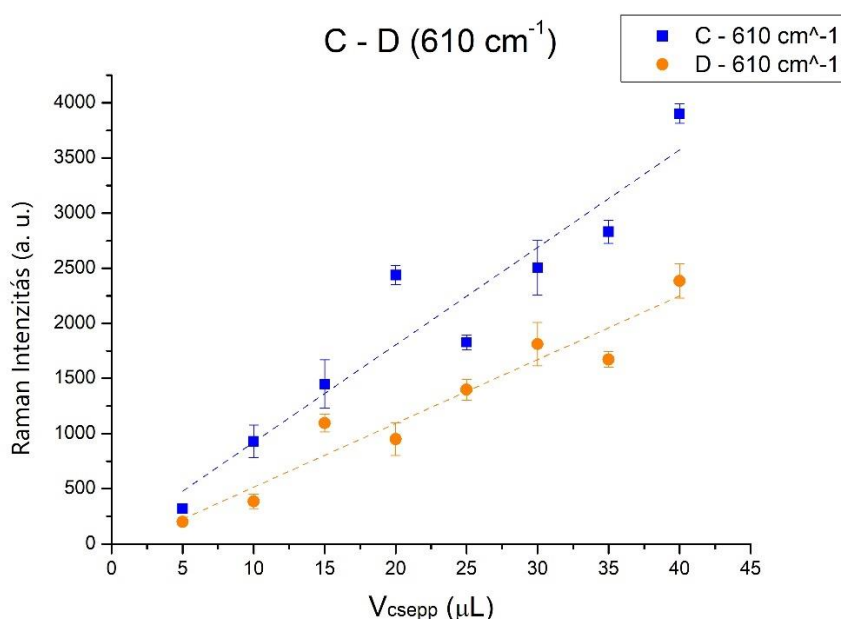
A mérés során a lézernyaláb alá eső anyagmennyiség értékét az elgondolásunk szerint nem csak a koncentráció és a minta felületének mérete határozza meg. Adott méretű minta esetén van egy olyan csepptérfogat tartomány, amely még teljesen lefedi a minta felületét, és nem folyik le róla. Ha ezen belül különböző térfogatú cseppeket használunk az analit réteg kialakításához, akkor adott koncentrációnál vett nagyobb csepp mennyiség elviekben vastagabb réteget fog kialakítani. Bár a Raman-jel mérése ebben az esetben ugyanakkora koncentráció alatt fut, a ténylegesen mért anyagmennyiség, és így a várt jel nagyság eltérő lesz.

Ennek a problémának a vizsgálatához, hasonlóan az előző mérésekhez, két mérési sorozatot vettünk fel, két különböző nagyságúra vágott üvegméreten. Kérdés, hogy egy mérési sorozaton belül kapott intenzitás értékek a (V_{csepp}) csepp térfogat növekedésével hogyan viselkednek, valamint az előzőkéhez hasonlóan milyen arányosságokat tudunk felfedezni. A mérési beállítások megegyeztek az előző két sorozatban használt értékekkel, és a **2.táblázatban** megtalálhatóak, míg az eltérő paraméterek a **3. táblázatban** szerepelnek.

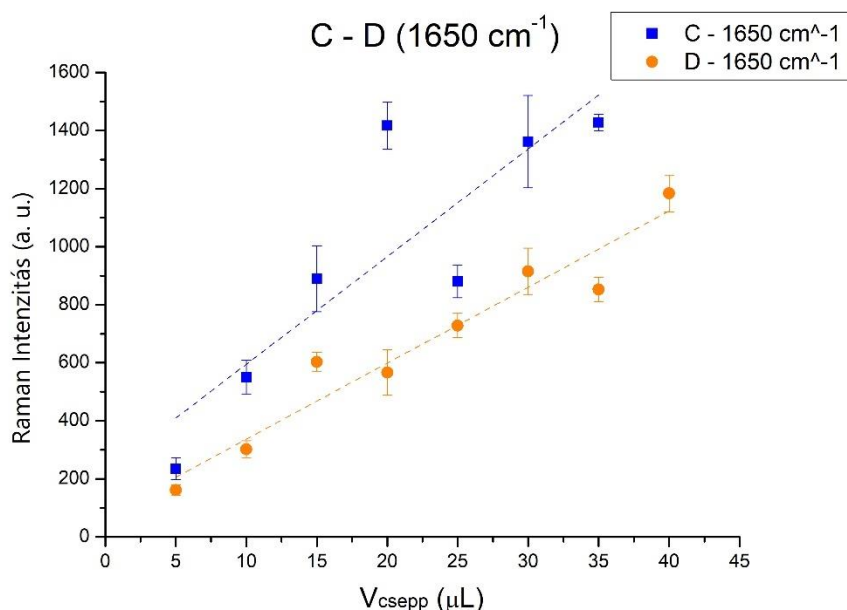
3. táblázat: A 'C' és 'D' minták esetén használt mérési paraméterek táblázata

	analit	csepp térfogat	átlagos üveg méret	használt koncentráció
'C' sorozat	R6G	(eltérő)	1,468 +- 0,144 cm ²	5 * 10 ⁻³ M
'D' sorozat	R6G	(eltérő)	2,541 +- 0,152 cm ²	5 * 10 ⁻³ M

A mérések során 8 különböző csepp mennyiségű, 5 * 10⁻³ M koncentrációjú R6G analit Raman-spektrumát vettem fel a 5 µL és a 40 µL közötti tartományon. Az így kapott spektrumoknak a 610 cm⁻¹-es és az 1650 cm⁻¹-es csúcsait értékeltem ki, és határoztam meg a hozzájuk tartozó intenzitásokat, majd ezeket ábrázoltam a $I(V_{csepp})$ görbén.



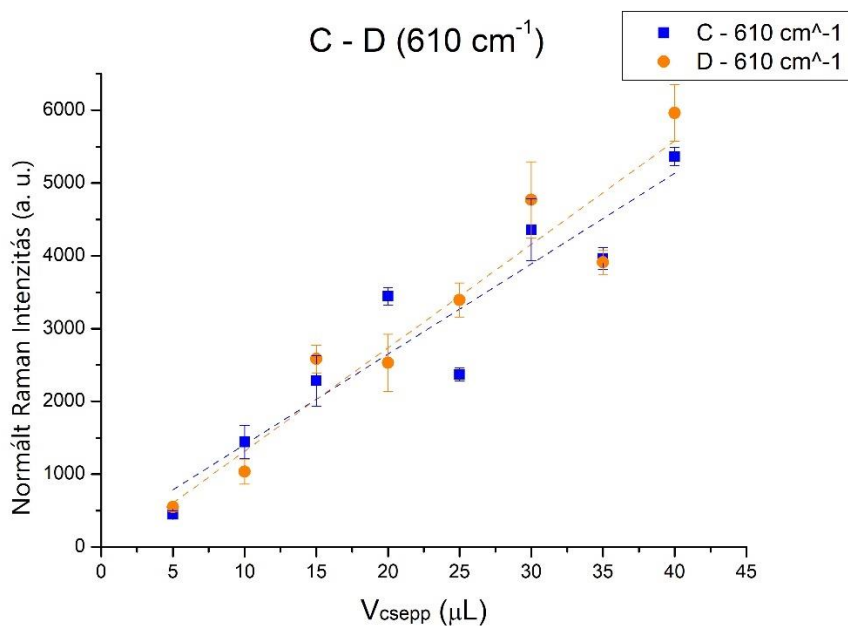
16. ábra: Eltérő csepp térfogat mellett végzett mérések eredményei a 610 cm⁻¹-es csúcsra.



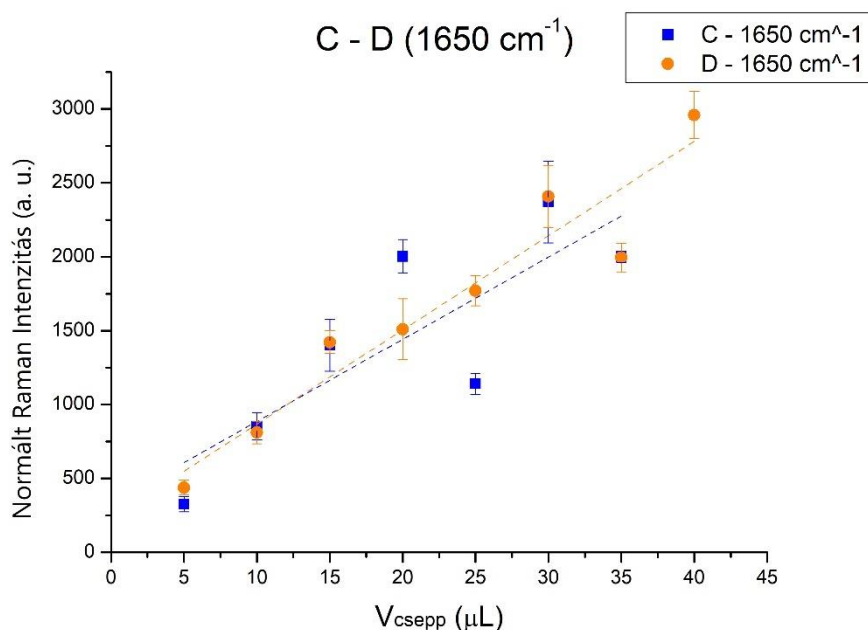
17. ábra: *Eltérő csepp térfogat mellett végzett mérések eredményei az 1650 cm⁻¹-es csúcsra.*

Ezeknél a méréseknél az üvegméretek kevésbé voltak egységesek, illetve a változó cseppmennyiség némileg befolyásolta a száradási folyamatot, ezért általánosságban nagyobb szórás és néhány kiugró érték tapasztalható a mérési adatok között. Az viszont, hogy ezen kiugró értékek a minta méretekre vett korrekció után beolvadnak a mérési adatok közé, szintén alátámasztják és hangsúlyozzák az eljárás fontosságát, illetve a minta méretével történő normálás fontosságát.

A fenti eredmények alapján jól látható, hogy a mért Raman-intenzitás a csepp térfogattal arányosan növekszik. Ez alapján elmondható, hogy a mért anyagmennyiség a V_{csepp} cseppméretnek lineáris függvénye, ami így lineárisan befolyásolja a kapott jel nagyságát. Ebben az esetben is elmondható, hogy a nagyobb üvegméret mellett kapott értékek továbbra is kisebbek voltak. Az eredményeket az egyes minták felületének cm²-ben megadott értékével szorozva az adott cseppmennyiség mellett mért értékek továbbra is közel egymásra esnek, ami a **18. ábrán** és a **19. ábrán** látható.



18. ábra: A mintamérettel normált mérések eredményei a 610 cm^{-1} -es csúcsra.



19. ábra: A mintamérettel normált mérések eredményei az 1650 cm^{-1} -es csúcsra.

A tanulság, amit ezen mérési sorozat elvégzéséből levonhattam az az, hogy a koncentráció semmiképp sem elégséges mennyiség az elvégzett Raman-mérések kategorizálásához. A fent szereplő adatok mind azonos koncentráción készültek, így csak azt figyelembe véve, mind azonos helyre kerülne egy $I(c)$ görbén, ami egy mérés során jelentős eltéréseket okozna. Két minta összehasonlításakor teljesen más eredményeket kaphatunk, ha csak a koncentrációt vesszük figyelembe azok kategorizálásakor.

Viszont az is elmondható, hogy a kapott Raman-intenzitás értékek A_{minta} és V_{csepp} -el való normálása nem egy megfelelő módszer ennek a problémának a megoldására. Bár a

normálás látszólag megoldja a problémát, de az így kapott $I(c)$ görbéről továbbra is hiányozni fog a ténylegesen mért anyagmennyiséggel vett kapcsolat.

Ezt legjobban talán a kimutatási határ problémáján keresztül lehet szemléltetni. Ha egy adott csepp térfogat értékénél azt találnánk, hogy az optimális mérési beállítások mellett egy SERS hordozónak 10^{-9} M a kimutatási határa, míg egy másik csoport a saját mintájukkal szintén 10^{-9} M-os kimutatási határt ért el, de az a mérés egy jóval nagyobb cseppmennyiség mellett történt, akkor ők valójában több anyagmennyiséget mértek, amit a LOD ezen kifejezése nem reprezentál. A két mérés ilyen szempontból nem összehasonlítható, mivel a ténylegesen kimutatott anyagmennyiség eltérő, és nem ismert. Ebben az esetben a mért intenzitás értékek normálása nem oldaná meg a kimutatási határban fellépő problémát, mivel a mért anyagmennyiséget nem adja vissza.

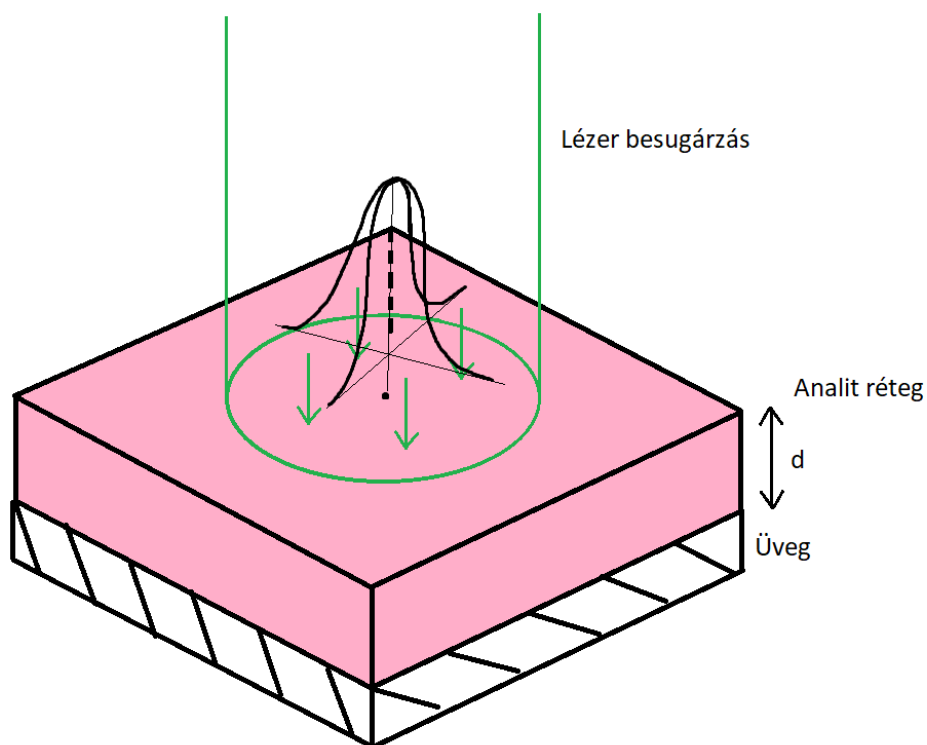
Ugyan ezen probléma fennáll az erősítési faktor mérésekor, mind a SERS mind a referencia mérése során. Ebben az esetben még annyival bonyolódik a dolog, hogy az AEF ezen paraméterek mellett, még a koncentrációban is változik.

5.3, Elméleti levezetés

A mérési pontoknak a mért anyagmennyiséggel való összekapcsolásához egy új mennyiséget vezettem be a koncentráció helyettesítésére, ez lesz a felületi koncentráció.

5.3-a, Üveglapon végzett Raman-mérések elgondolása

A száradás során kialakuló homogén analit vastagságot és egyenletes eloszlást feltételezve, egy mérést a **20. ábrán** látható módon képzelünk el.



20. ábra: Egy Raman-mérés során a lézersugár függvényében adódó aktív térfogat.

A **20. ábra** a tisztított üveglap és a száradás után rátapadt, egyenletes eloszlású analit réteget szemlélteti, amely éppen lézerbesugárzás alatt áll. Bár a lézer nem egy éles körvonallal meghatározott területet sugároz be, most feltételezzük egy effektív besugárzási terület létezését, amelyen a lézernyaláb átlagos intenzitással azonos jel nagyságot hozna létre. Egy Raman-mérés során a besugárzott területen megtalálható analit réteg molekuláin a fotonok rugalmatlanul szóródnak, majd az így keletkezett jel intenzitását mérjük. A kapott jel nagysága a Raman-szórt fotonok számától függ, amiből pedig annál több keletkezik, minél több molekula van jelen a besugárzott területen. Így elmondható, hogy a mért jel intenzitása mindenképpen a lézernyaláb alá eső anyagmennyiség függvénye. Ez az aktív térfogat, amiben a mért jel keletkezik. Állandó mérési beállítások (pl.: lézer intenzitás, besugárzási idő) és az ugyanolyan objektív használata mellett, a lézernyaláb effektív átmérőjét is állandónak várjuk. Ebben az esetben, az effektív térfogatban megmaradt változó annak vastagsága lesz, azaz az analit rétegvastagsága (d). A koncentráció vagy a cseppentett oldat mennyiségének változtatásával

változik a száradás után visszamaradó analit rétegvastagság, amely közvetlenül befolyásolja a kapott jel nagyságát.

Homogén, azonos sűrűségű analit réteget feltételezve, az eddigi méréseinkkel is konzisztens állítás, hogy egy sima, nem erősítő üveglapon készített Raman-mérések intenzitás függését a **(3)** összefüggésben szereplő arányossággal írhatjuk fel:

$$I_{Raman} \sim V_{analit} \sim T_{lézersugár} * d \quad (3)$$

$$I_{Raman}(d) = const * d \quad (4)$$

Ahol a száradás során kialakuló idealizált rétegvastagságot, egy adott koncentrációjú és térfogatú cseppből, amely a minta teljes felületén terült el, az **(5)** szerint határozhatunk meg.

$$d = \frac{V_{analit}}{A_{minta}} ; V_{analit} \sim V_{csepp} * c_{csepp} \quad (5)$$

$$\rightarrow d \sim \frac{V_{csepp}}{A_{minta}} * c \quad (6)$$

A **(6)** -ban kapott, a rétegvastagsággal, és így a mért analit anyagmennyiségével is arányos mértékegységet elnevezzük felületi koncentrációnak, és a következőképpen vezetjük be.

$$c_f = \frac{V_{csepp}}{A_{minta}} * c \quad (7)$$

$$[c_f] = \frac{\mu L}{cm^2} \frac{mol}{L} = \frac{\mu mol}{cm^2} \quad (8)$$

Ez az aktív térfogatba eső molekulák számával arányos mennyiség, amelyet visszaírhatunk a Raman-intenzitás arányosságát megadó **(4)** -es egyenletbe.

$$I_{Raman}(d) = const * d = const * k * \frac{V_{csepp}}{A_{minta}} c = const * c_f \quad (9)$$

Ahol k egy összekötő konstans, amely anyagmennyiséggel megadott koncentráció esetén egy $\left[\frac{m^3}{mol}\right]$ mértékegységű mennyiség, míg tömeggel megadott koncentráció esetén egy $\left[\frac{m^3}{kg}\right]$ mértékegységű mennyiség (az analit térfogati sűrűségének reciproka).

Ez alapján kifejezhetünk egy olyan normált intenzitás értéket, amely már független a V_{csepp} és az A_{minta} mérési paraméterektől.

$$I_{normált} = \frac{I_{Raman} * A_{minta}}{V_{csepp}} = const * c \quad (10)$$

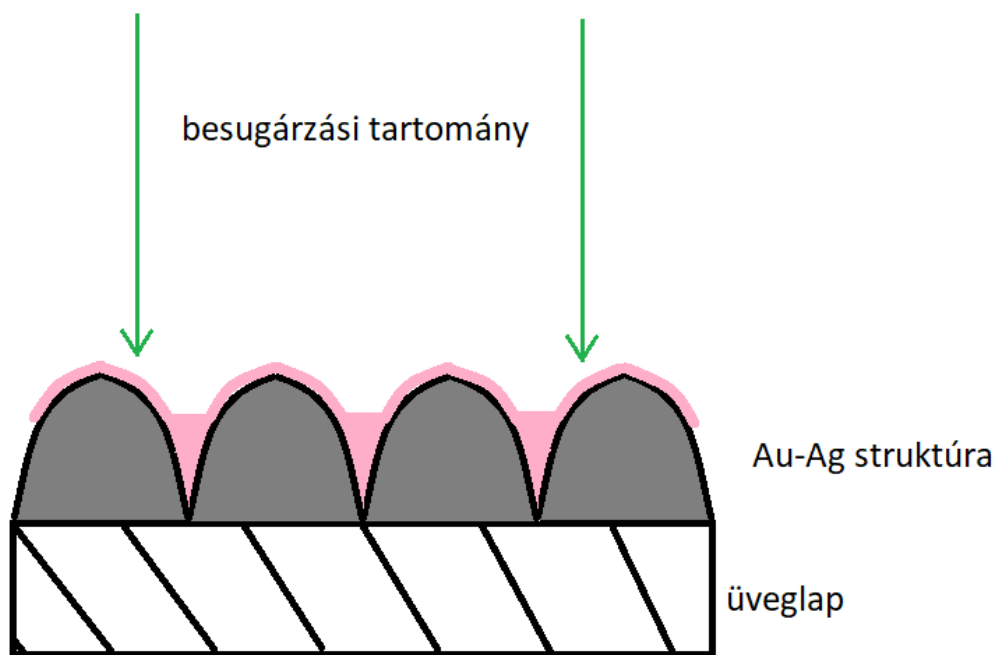
Viszont célravezetőbb, ha normálás helyett az intenzitás értékeket a V_{csepp} és A_{minta} függéseket is magába foglaló c_f felületi koncentráció függvényeként ábrázoljuk: $I(c_f)$

Ezen mennyiség bevezetésének két előnye is van. Egyrészt, az c_f mennyiséget használva a Raman-jel értékeket a valóban mért anyagmennyiséggel hozzuk összefüggésbe, másrészt olyan esetekben is alkalmazható, ahol a normálás már nem. Például SERS mérések esetén, az intenzitás a kialakult rétegvastagságnak, tehát a mért anyagmennyiségnek már nem feltétlen lineáris a függvénye. Így, egy szorzófaktorral már nem feltétlen lehet normálni a kapott eredményeket, viszont a felületi koncentráció, mint a rétegvastagsággal közvetlenül arányos mérték, továbbra is értelmes korrekciót szolgáltathat.

5.3-b, Nanorészecske hordozón végzett SERS mérések elgondolása

Bár a korrekciós eljárás bevezetésének alapelgondolása ugyanaz, mint az elméleti levezetés első részében, a SERS hordozókra 2 fő eltérési pontot állapítottunk meg.

Az egyik eltérés az üveglapon vázolt esettől, az a homogén analit réteg kialakulásának kérdése. Bár lehetséges, hogy a nanostruktúrák felületi érdessége nagyobb, mint a tisztított üvegfelületeké (ennek meghatározása AFM -es mérést igényelne), de biztos, hogy a SERS mérések esetén több nagyságrenddel kevesebb anyagmennyiséget használtunk. Ez azért fontos, mert az üveg érdessége feltehetőleg elhanyagolható egy vastagabb analitréteg mellett, így azon egy közel azonos rétegvastagság kialakulása feltételezhető. Ezzel szemben, a SERS mérések esetén használt kis anyagmennyiségek megszáradását valószínűsíthetően a hordozó felületi struktúrája is jelentősen befolyásolja (**21. ábra**). Ettől eltekintve feltételezzük, hogy a lézernyaláb alá eső területen létezik egy jól meghatározott átlagos rétegvastagság, amely az egész mintán állandó. Így a továbbiakban ezen feltételezett, effektív rétegvastagsággal számolunk, amely az első részben vett levezetés alapján ugyan úgy arányos lesz a lézernyaláb alá eső anyagmennyiséggel.



21. ábra: Érdes felületű nanostruktúrán megszáradt analit réteg feltételezett kialakulása.

A másik eltérés a SERS hordozók erősítő hatása. SERS mérés esetén a kapott jel az anyagmennyiséggel nem lesz lineárisan arányos. Azonos mérési beállítások mellett, az intenzitás a mért anyagmennyiségnek, így az effektív rétegvastagságnak valamilyen függvényeként adódik.

$$I_{SERS}(d_{eff}) = f(d_{eff}) = f\left(k * \frac{V_{csepp} * c}{A_{minta}}\right) = f(k * c_f) \quad (11)$$

Ahol a (11) -es összefüggésben az intenzitásfüggést a hordozó erősítési mechanizmusa határozza meg.

Ez alapján, a V_{csepp} és A_{minta} paraméterekre vett normálás SERS mérések esetén már nem lesz alkalmazható. E mellett a normálás nem is lenne célszerű, mivel tudjuk, hogy az nem adja vissza a mért intenzitás értékek tényleges anyagmennyiség függését.

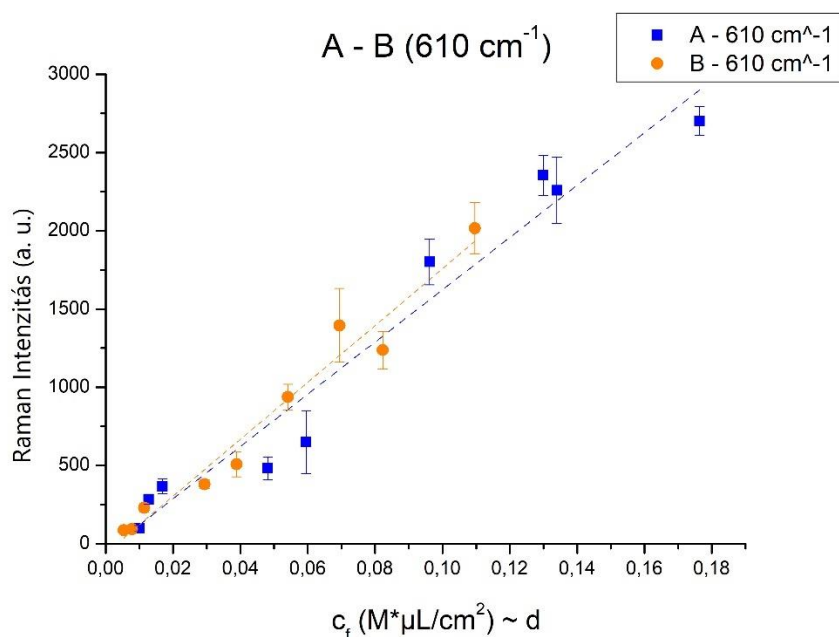
Az elgondolás alapján viszont a felületi koncentrációra alapozott korrekció ebben az esetben is alkalmazható. Ha c helyett, továbbra is c_f szerint ábrázoljuk a mért intenzitás értékeket, akkor elviekben megkapnánk az adott minta anyagmennyiség függését, korrigálva a V_{csepp} és A_{minta} változó mérési paraméterekből adódó eltérésekre.

Bár jelenleg nincs okunk feltételezni, hogy ezen eljárás nem érvényes SERS hordozókkal történő mérések esetén, de ezt mindenképpen leteszteljük. Ennek érdekében azonos nanostruktúrák mellett mért intenzitás értékeket ábrázolunk fel a felületi koncentráció függvényében, különböző mintaméretek és csepp mennyiségek esetén. Ha a kapott mérési pontok eltérő V_{csepp} és A_{minta} mellett is azonos görbére esnek, akkor sikeresen elimináltuk ezen mérési paraméterek függését, a tiszta anyagmennyiség függést visszahozva SERS hordozókon végzett mérések esetén is.

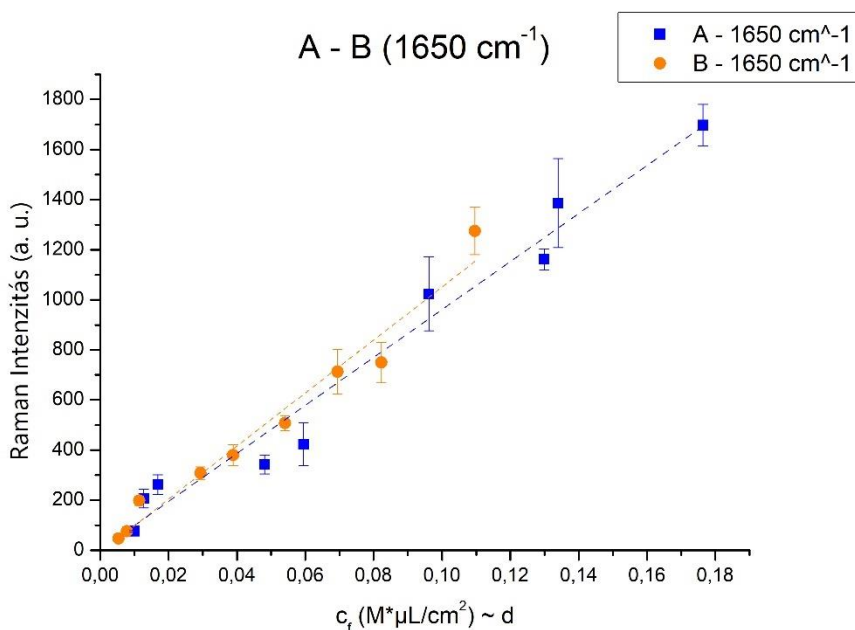
5.4, Tisztított üvegen végzett mérések korrekciója

5.4-a, Intenzitás(koncentráció) görbe adatainak korrekciója – 'A', 'B' minták

Térjünk vissza az eddigi méréseinkre, és röviden vizsgáljuk meg, azok hogyan változnak, ha a kapott értékeket a (7) egyenletben megadott c_f felületi koncentráció függvényében ábrázoljuk. Elvárásaink szerint, a normálással ellentétben ez a módszer a mérési pontoknak a mért analit anyagmennyiséggel vett összefüggését is helyesen adja vissza.



22. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt mérési pontok a 610 cm⁻¹-es csúcsra.



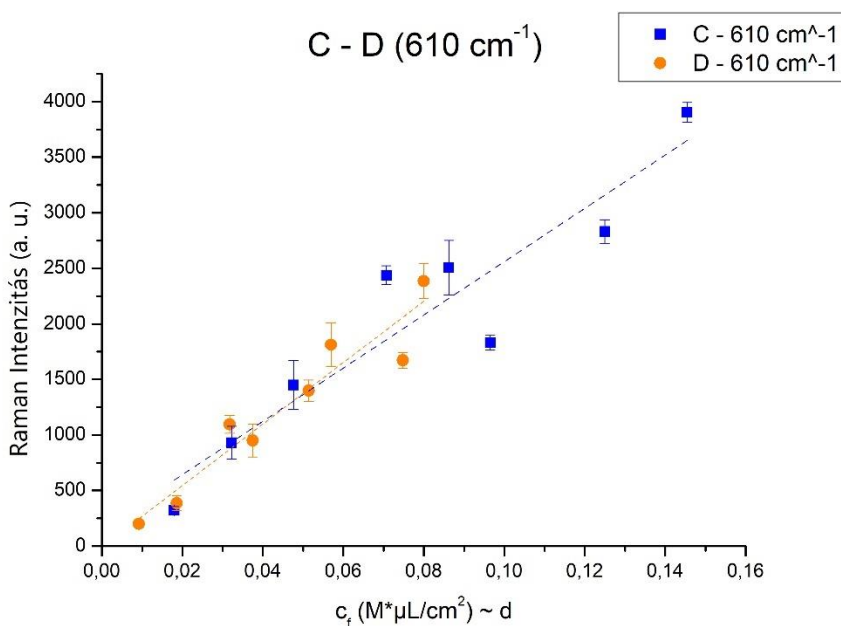
23. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt mérési pontok az 1650 cm⁻¹-es csúcsra.

Jól látható, hogy a korábban szétváló két egyenes ebben az esetben is közel azonos egyenesre esik. Ez alapján elmondható, hogy az eltérő mintaméret mellett felvett $I(c)$ görbék korrekciója helyesen elvégezhető az intenzitás értékek felületi koncentráció szerinti ábrázolásával. A koncentráció tehát nem elegendő a mért analit mennyiségi kifejezésére, amit az analit elterülésének mérete is befolyásol.

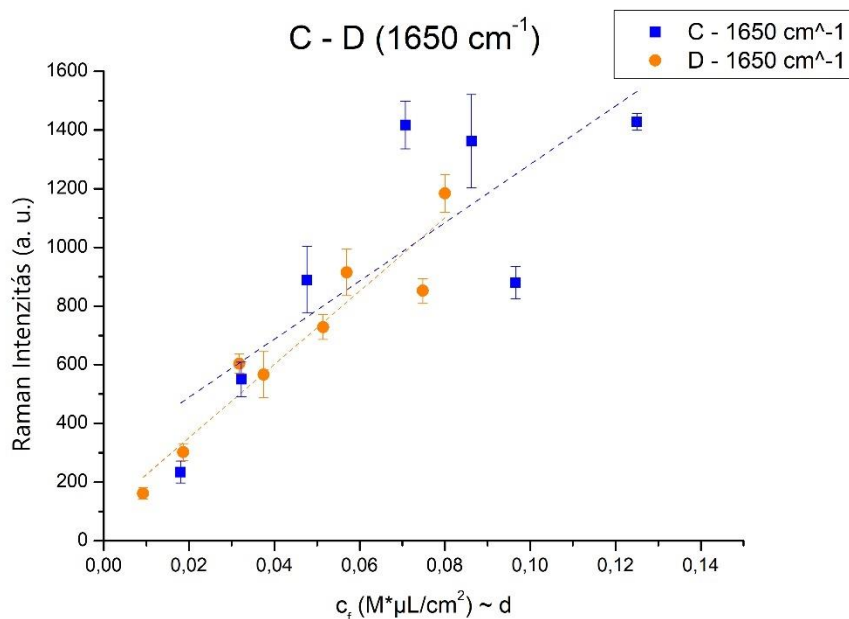
Megfigyelhető még, hogy a nagyobb felületen elterülő mérések a kisebb felületi koncentráció értékek felé tolódnak. Ez logikus, hiszen azonos koncentráció és cseppméret esetén a nagyobb méretű 'B' mintákon valójában végig kevesebb anyagmennyiséget mértünk.

5.4-b, Intenzitás(csepp mennyiség) görbe adatainak korrekciója – 'C', 'D' minták

Visszatérünk továbbá az $I(V_{\text{csepp}})$ mérésekhez is. Még egyszer már nem hangsúlyoznánk ki az anyagmennyiség függés fontosságát, de ezen ábrák mutatják legjobban a bevezetett felületi koncentráció működését. Ugyanis, ha a kapott értékeket egy $I(c)$ görbén ábrázolnánk, akkor a megegyező koncentráció miatt egy pozícióban kapnánk az összes Raman-mérés értékét, az $I(c_f)$ görbén szereplő 16 különböző pozíció helyett.



24. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt mérési pontok a 610 cm⁻¹-es csúcsra.



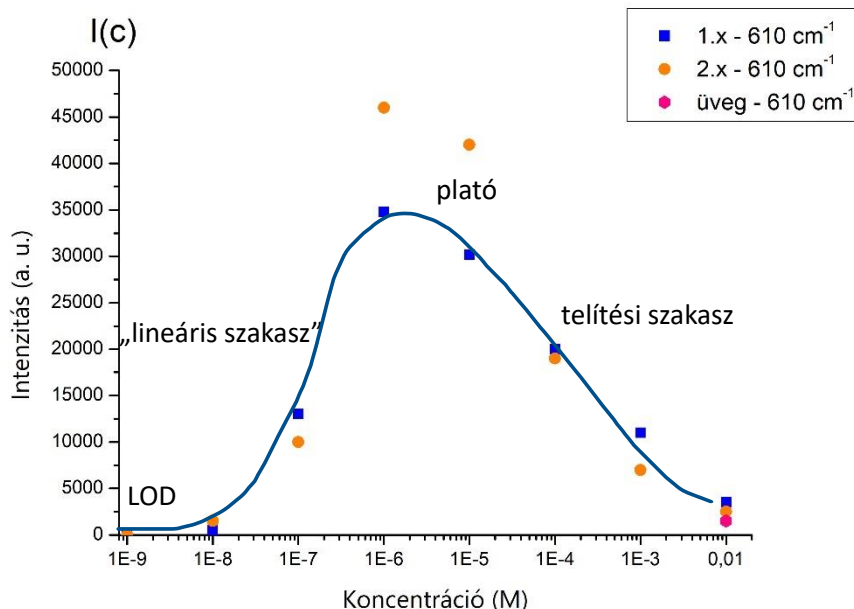
25. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt mérési pontok az 1650 cm⁻¹ -es csúcsra.

A különböző térfogatú cseppekkel előállított minták láthatóan jobban eltértek a rájuk illesztett egyenestől. A száradási folyamatok nem sikerültek olyan jól, mint az előző esetekben, így valószínűleg nagyobb a módszertani hiba, amit kellő előállítási tapasztalattal csökkenthetünk.

Ez lehet az oka annak is, hogy a két (A $\leftrightarrow$ B és C $\leftrightarrow$ D) összehasonlító mérés során kapott $I(c_f)$ görbéket együtt véve, azok végül nem esnek pontosan egy egyenesre. Kellően közel vannak viszont ahhoz, hogy a feltevésünket igazolják. A mért intenzitás érték a lézersugár alá eső analit anyagmennyiség függvénye, függetlenül attól, hogy az milyen eljárással került oda. Elmondható, hogy a koncentráción kívül a V_{csepp} és az A_{minta} paraméterek is jelentősen befolyásolják a ténylegesen mért anyagmennyiséget, amit a c_f felületi koncentráció bevezetésével eliminálhatunk. Ezek alapján javasoljuk, hogy a jövőben a mért intenzitás értékeket ezen c_f mennyiség függvényeként adják meg a koncentráció használata helyett.

5.5, SERS hordozó I(c) görbájének jellemzése

Az EF és LOD mennyiségek mellett, egy SERS hordozó átfogó jellemzéséhez a legtöbb ismeretet egy Intenzitás-koncentráció görbe felvételével kaphatjuk. Egy általános SERS hordozó I(c) görbájének felvétele során 4 főbb szakaszt különböztetünk meg.



26. ábra: Ábra egyáltalános SERS hordozó I(c) görbájéről. (A szegedi mintákon, optimális mérési beállítások mellett készült mérések alapján.)

A kimutatási határtól felfelé indulva, vagyis a koncentrációt növelve, először találunk egy „vízszintes” részt, ahol a koncentráció változásával, a mért intenzitás szinte azonos értékeket vesz fel, alig változik. Ez a tartomány akár több nagyságrendet is átölthet, és a hordozó legfontosabb tulajdonságait határozza meg. A közel azonos intenzitás értékek miatt óriási AEF értékek érhetőek el, azt minél kisebb koncentrációra számítjuk ki. Valamint, a nagyobb koncentrációkon mért intenzitás értékektől függetlenül, a minta kimutatási határát is ezen szakasz meredeksége határozza meg. Ha tehát valaki, ezen a tartományon számolja ki a SERS hordozók erősítését, akkor nagy mértékű erősítéshez jut.

Ez után következik az úgynevezett „lineáris szakasz”. Ezen átmeneti tartomány köti össze az alacsony koncentrációs részt, a legnagyobb intenzitással rendelkező telítési platóval. Az I(c) görbét logaritmikus koncentráció skálán ábrázolva, ezen szakasz közel egy egyenest alkot. A vizsgálatainkat is ezen tartományon szeretnénk végezni, mivel itt a legérzékenyebb a SERS mérések intenzitása a különböző paraméterek változására.

Végül nagy, általában már erősítetlen Raman-mérésekkel is kimutatható koncentrációk közelében elérjük a platót. A plató megjelenése az analit SERS hordozón való telítődésének tudható be, de részletesebb vizsgálatok ezen szakasszal kapcsolatban még szükségesek. A plató után az analit anyagmennyiségének túltelítődése miatt, a mért intenzitás érték csökkenni kezd. A koncentráció növekedésével egyre vastagodó réteg miatt, egyre kevesebb fény éri el és jut vissza az alsó, a fém nanorészecskék közelében lévő molekulákról, tehát egyre inkább csökken a Raman-jelben a fém nanorészecskék által okozott erősítés. Ennek hatására a belőlük

származó jel, valamint az erősítés mértéke is kisebb lesz. Bár az analit mennyiség továbbra is nő, az erősítés értéke ez által csökkenni fog. Kellően nagy rétegvastagság elérése után, a mérési eredményeknek valahol csatlakoznia kellene az egyszerű üveghordozón mért Raman-intenzitás értékekhez, ahol a SERS hordozó hatása már nem figyelhető meg.

Megjegyzendő, hogy egy SERS hordozó $I(c)$ görbéjének alakját befolyásoló paraméterek még pontosan nem ismertek, de befolyásoló tényező például a nanorészecske összetétele, azok méreteloszlása és alakja, a plazmoncsúcsuk, valamint a vizsgálat során használt lézer hullámhossza. Ezeken kívül a hordozók teljesítményére kihatással lévő tulajdonság még azok felületi érdessége is. Jelenleg nem a plazmonok kialakulása miatt érdekelt számunkra ez a paraméter, hanem az érdes felületeken száradásos folyamatok során kialakuló kis anyagmennyiség eloszlások vizsgálata szempontjából. Ezzel kapcsolatos vizsgálataink még folyamatban vannak. A felületi érdességet a SERS hordozók $I(c)$ görbéjének pontos vizsgálatával szeretnénk egybekötni, mivel úgy véljük, hogy a különböző érdességű felületen kialakuló analit eloszlás befolyásolhatja a hordozók $I(c)$ karakterisztikáját.

5.6, A szegedi SERS hordozók vizsgálata

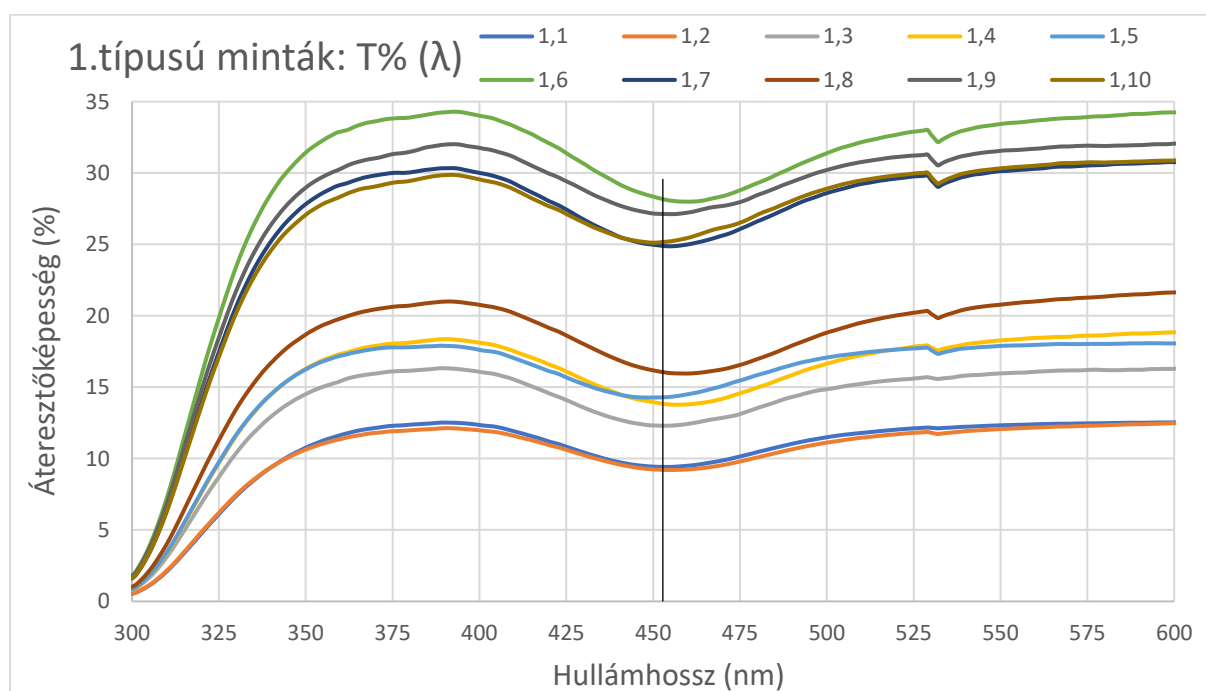
Mivel elsősorban a SERS hordozók jellemzésére használt mennyiségeket szeretnénk volna tanulmányozni, ezért a következőkben ellenőrizni szeretnénk, hogy az eddigi állításaink és az elméleti részben megfogalmazott elgondolásunk SERS mérések esetén érvényesek e. Megvizsgáljuk, hogy a sima üvegfelületen felvett eredményekhez képest, egy erősítő hordozón végzett mérések eredményei hogyan változnak az említett paraméterek függvényében, valamint meg szeretnénk bizonyosodni arról, hogy az anyagmennyiségi korrekcióra bevezetett felületi koncentráció ezen esetben is használható.

Ezen kívül foglalkozunk a SERS hordozók jellemzésére és összehasonlítására jelenleg használt mennyiségekkel, és néhány módosítást vagy alternatívát javasolunk ezek használatára. Továbbá fel szeretnénk vetni néhány standardizálási ötletet, ami kiküszöbölne néhány, a mérések során általában figyelmen kívül hagyott tényezőt, ezzel is segítve a mérések összehasonlíthatóságát.

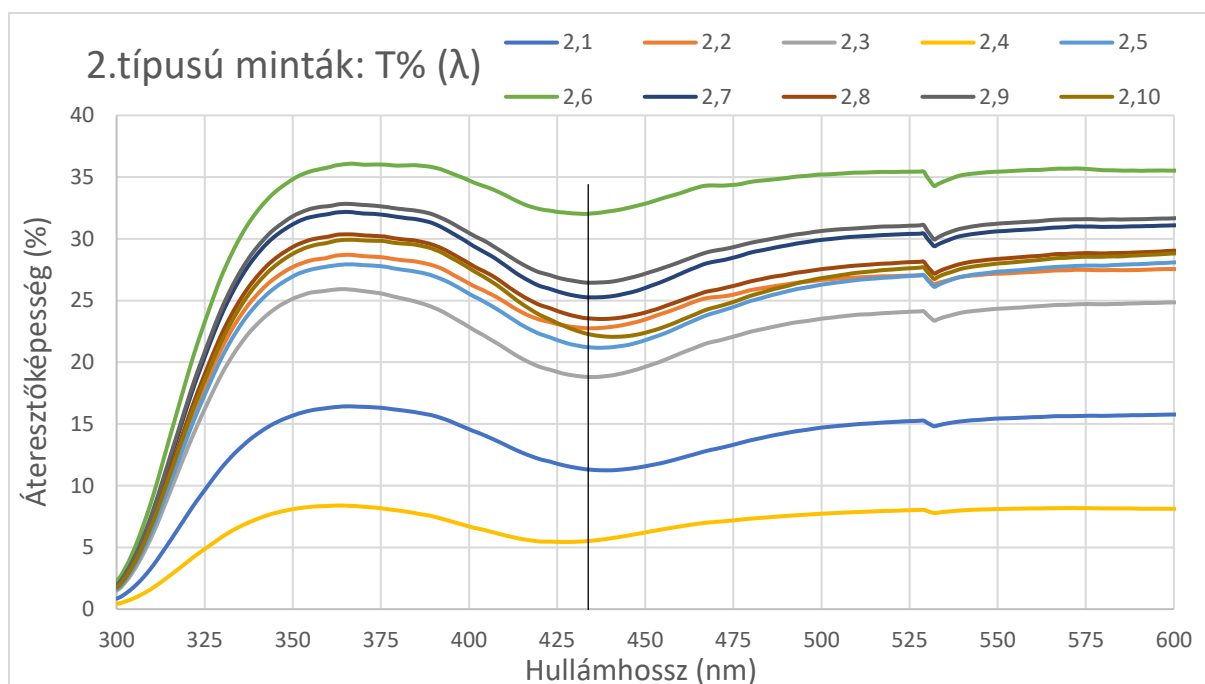
Ennek érdekében a szegedi kutatócsoport által előállított mintákon végeztem felület erősített Raman-spektroszkópai méréseket. Ezen arany-ezüst nanorészecskékből álló minták előállításáról és paramétereiről a módszertani részben található egy rövid leírás.

5.6-a, A SERS hordozók optikai tulajdonságainak meghatározása

Legelőször megvizsgáltam a számunkra rendelkezésre álló 2 féle típusú minták optikai tulajdonságait. Egy spektrofotométer felhasználásával megmérve a minták áteresztőképességét, meghatároztam azok plazmon csúcsaihoz tartozó hullámhosszokat. A kétféle minta T% méréseinek eredményeit a **27.** és a **28. ábrák** mutatják.



27. ábra: 1.x típusú minták áteresztőképességének spektruma.



28. ábra: 2.x típusú minták áteresztőképességének spektruma.

A két típusú minta átlagos plazmon csúcsai az **4. táblázatban** szereplő értékeket vették fel.

4. táblázat: Az 1.x és a 2.x típusú minták plazmon csúcsinak pozíciói.

	1.x minták:	2.x minták:
Plazmon csúcs	455 +/- 4 nm	436 +/- 4 nm

Ezek alapján jól látszik, hogy a hordozók előállítási folyamata nem volt tökéletes. A nanorészecskék leválasztása eléggé eltérő méretű üveglapokon történtek, ami megnehezítette a későbbi méréseinket. Továbbá a lerakódott részecskék mennyisége is ingadozó volt, amit az áteresztési görbék eltérő nagyságai is tükröznek. A minták plazmon csúcsainak pozíciói viszont közel megegyeztek.

5.6-b, A SERS minták I(c) görbéjének felvétele

Legelőször mindenféle korrekció nélkül, a jelenlegi irodalomhoz hasonlóan megvizsgáltam, hogy hogyan viselkednek ezen minták a koncentráció függvényében.

A mérések azonos beállítások mellett készültek a **6. táblázatnak** megfelelően, és 10^{-9} M-tól 10^{-4} M-ig vett koncentráció tartományt fedtek le. A mérések során 50-szeres nagyítású objektívvel dolgoztunk, és a mintákra eredetileg 25 μ L cseppmennyiség került. A spektrumot a 400 -1800 cm^{-1} -es tartományon vettük fel, és az eddigiekhez hasonlóan azokat a 610 cm^{-1} -es és az 1650 cm^{-1} -es csúcsokra értékeltük ki.

5. táblázat: Az 1.x és 2.x minták esetén használt mérési paraméterek táblázata

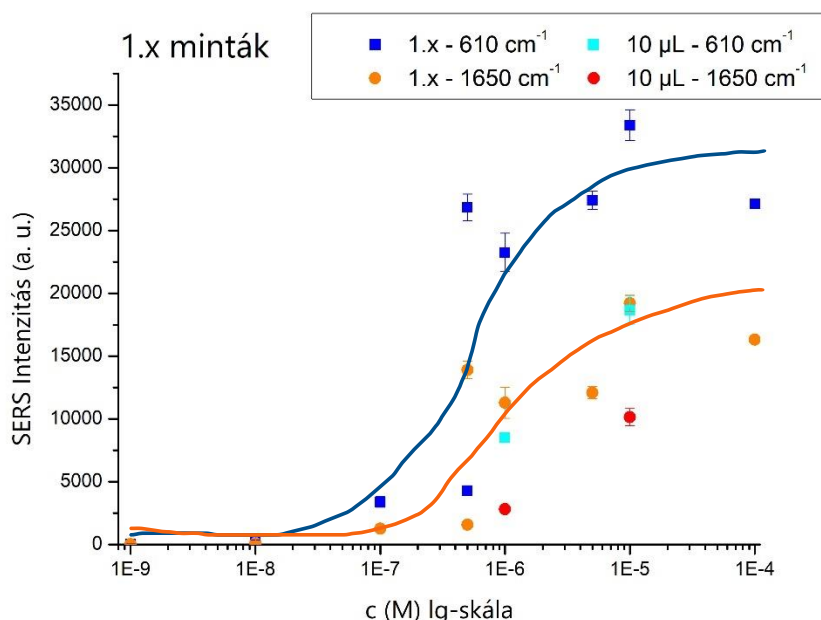
	analit	csepp térfogat	átlagos méret	használt koncentráció
1.x minták	R6G	25 μL	$0,850 \pm 0,242 \text{ cm}^2$	(eltérő)
2.x minták	R6G	25 μL	$0,657 \pm 0,077 \text{ cm}^2$	(eltérő)

6. táblázat: Az 1.x és 2.x minták esetén használt mérési beállítások táblázata

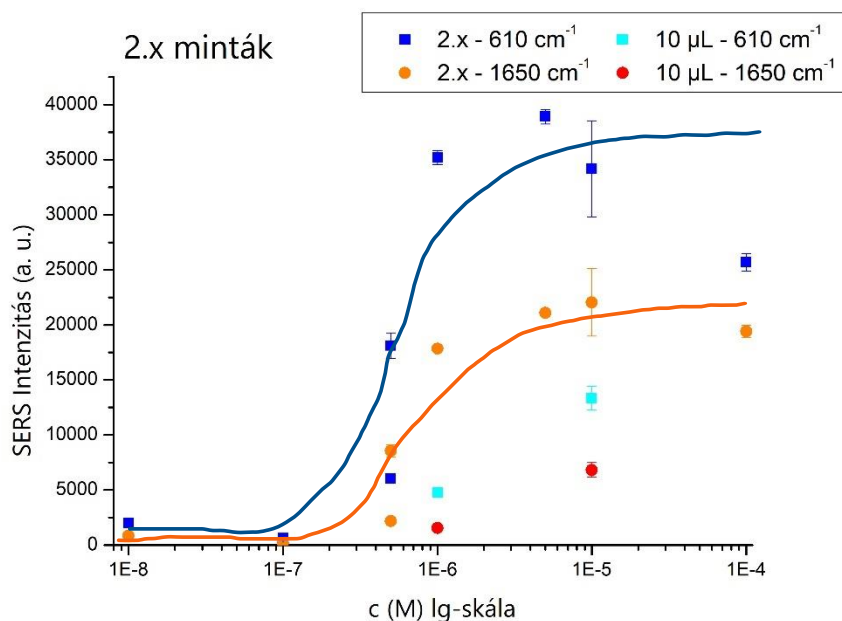
mért tartomány	ND - filter	mérési idő	akkumuláció	használt objektív	használt lézer
$400 - 1800 \text{ cm}^{-1}$	0,1 %	5 s	2	x50	532 nm

Ezen beállítások mellett mért intenzitás értékeket a koncentráció függvényében a **29. ábra** és a **30. ábra** tartalmazza. Az I(c) görbe felvételével a kimutatási határtól a platóig vett tartományt céloztuk meg. Ennek oka az volt, hogy az összehasonlítási méréseinket a legmeredekebb „lineáris” tartományon akartuk elvégezni, ugyanis itt a legérzékenyebb a SERS hordozó erősítése a vizsgált analit mennyiség változására.

Az ábrákon továbbá megtalálhatóak a 10^{-6} M és a 10^{-5} M koncentráción, eltérő anyagmennyiség mellett felvett mérések eredményei is. Ezek a 10 μL -es mérési pontok jól kivehetően a nagyobb csepp térfogatú, de azonos koncentrációjú mérések alá esnek.



29. ábra: Az 1.x típusú mintákon készült SERS mérések.



30. ábra: A 2.x típusú mintákon készült SERS mérések.

Sajnos a mért adatok túlságosan szórnak ahhoz, hogy az $I(c)$ görbe közelítő alakjánál többet meghatározzunk. Kérdéses, hogy az eltéréseket a mintákban, vagy az analit száradási folyamatában kell keresni.

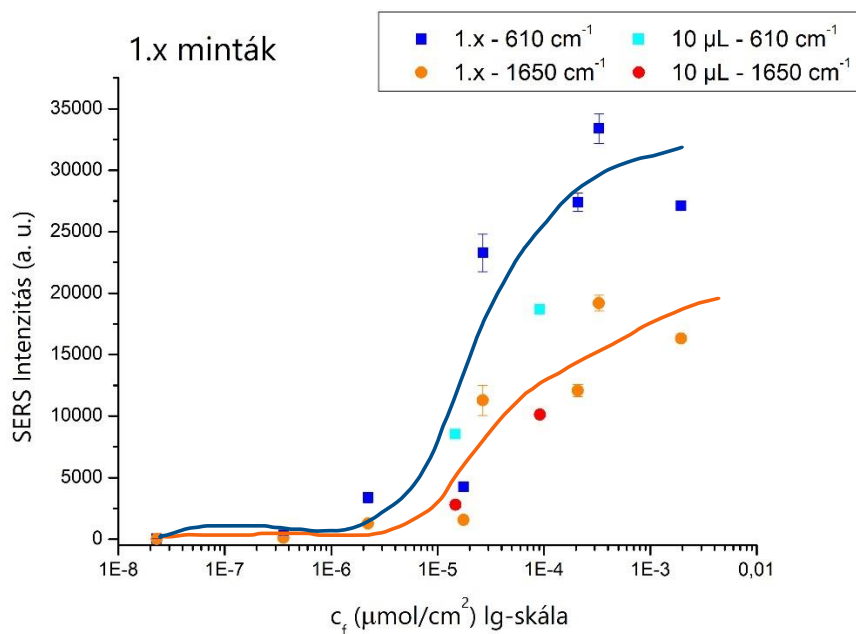
Az kivehető, hogy a lineáris szakasz közel $5 \cdot 10^{-7}$ M-nál kezdődik és valahol 10^{-5} M-nál ér véget. Mint már említettük, ezen szakaszban lenne érdemes a különböző anyagmennyiségekre vett vizsgálatokat folytatni, mivel az erősítés annak változására itt a legérzékenyebb. Ennek érdekében felvettünk eltérő csepp térfogat mellett készült értéket is. Ezen 10 µL-es cseppmennyiségű mérési pontoknak a korrigálásával próbáljuk meg azokat a felületi koncentráció függvényében felvett intenzitás görbékre ráilleszteni, ezzel alátámasztva, hogy az eddig bevezetett módszer SERS mérések esetén is működőképes.

Sajnos mire a mérésekben idáig jutottam, már nem állt rendelkezésemre kellő mennyiségű SERS hordozó felhasználásra, így ezen korrekciós vizsgálatokat csak két mérési pontra tudtam elvégezni. Mivel ez nem elégséges egy konkluzív eredmény leszűréséhez, ezért a szegedi mérések után egy újabb mérési sorozatba kezdtem.

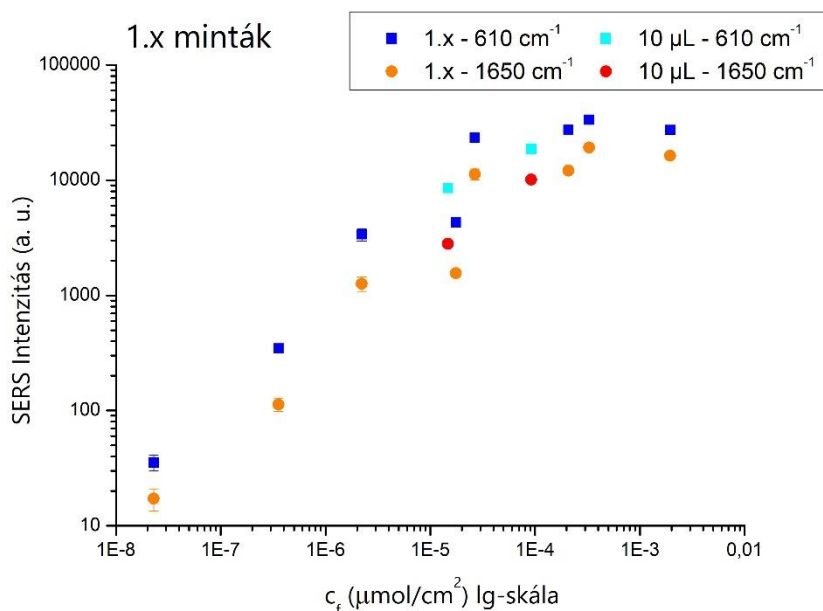
Ha megfigyeljük a két különböző cseppmennyiség esetén kapott értékeket, azok eltéréséből látszik, hogy egyértelműen indokolt valamilyen csepp mennyiségre és mintaméretre vett korrekció bevezetése, mivel azok jelentősen eltértek a nagyobb csepp térfogat mellett kapott értékektől. A felületi koncentrációval végzett korrekció elvégzésekor azt várnánk, hogy ezen mérési pontok, a tisztított üvegen végzett mérésekhez hasonlóan, végül egy közös görbére esnek. Ez jelentené azt, hogy sikeresen elimináltuk a kérdéses (V_{csepp} és A_{minta}) paraméterektől való függést.

5.6-c, A SERS hordozókon végzett mérések korrekciója

A fenti I(c) görbén szereplő SERS méréseket újra ábrázolva az adott mérési pontokhoz kiszámolt felületi koncentráció értékek függvényében, a **31. – 34. ábrákon** látható eredményeket kaptam.

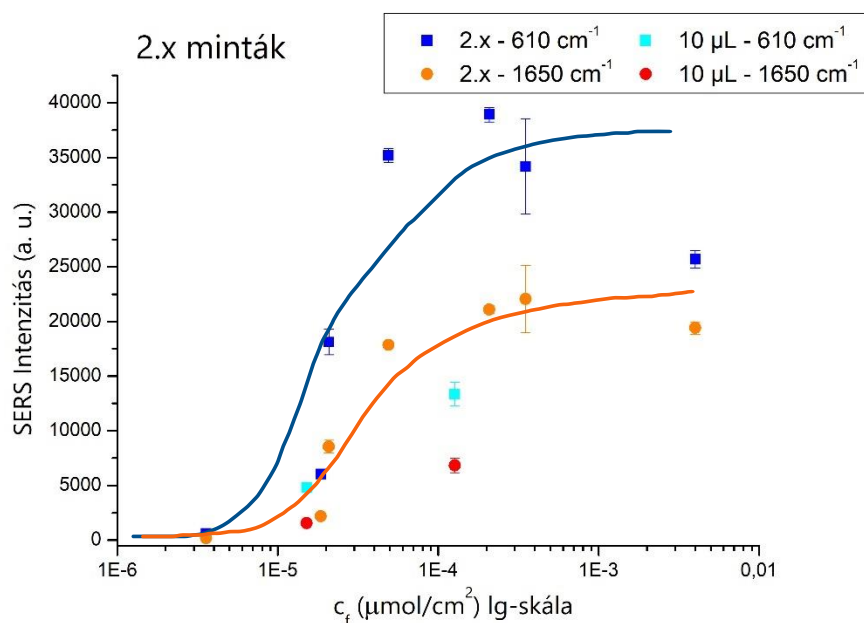


31. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt, 1.x típusú mintákon készült SERS mérések eredményei.

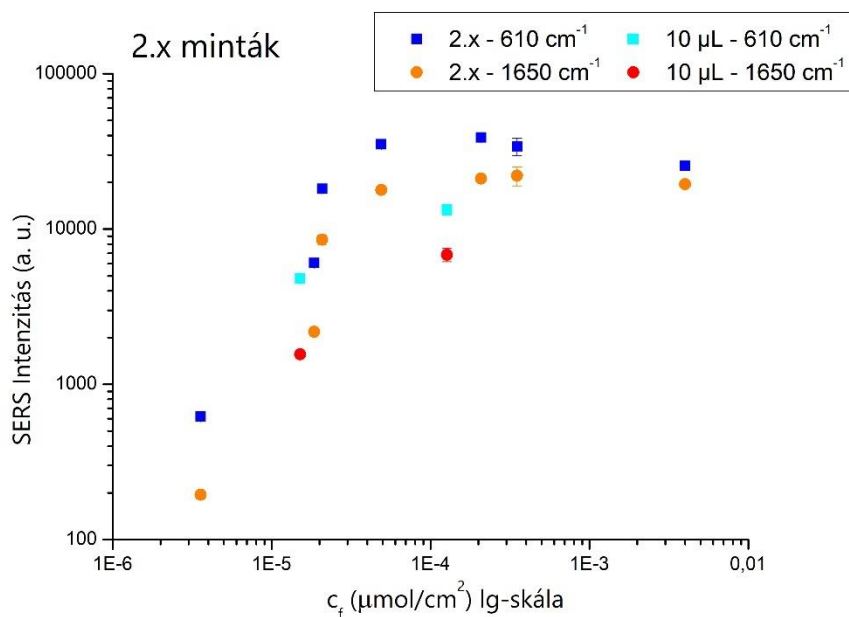


32. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt, 1.x típusú mintákon készült SERS mérések eredményei log-log skálán.

Bár pontos következtetések levonását továbbra is akadályozza a mérési pontok ingadozása, de az 1.x minták esetében a 10 μL -es mérések a többi mérési pont felé mozdulnak el. Közéjük nagyjából beilleszkednek, ha azokat a c_f felületi koncentráció függvényében ábrázoljuk.



33. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt, 1.x típusú mintákon készült SERS mérések eredményei.



34. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt, 2.x típusú mintákon készült SERS mérések eredményei log-log skálán.

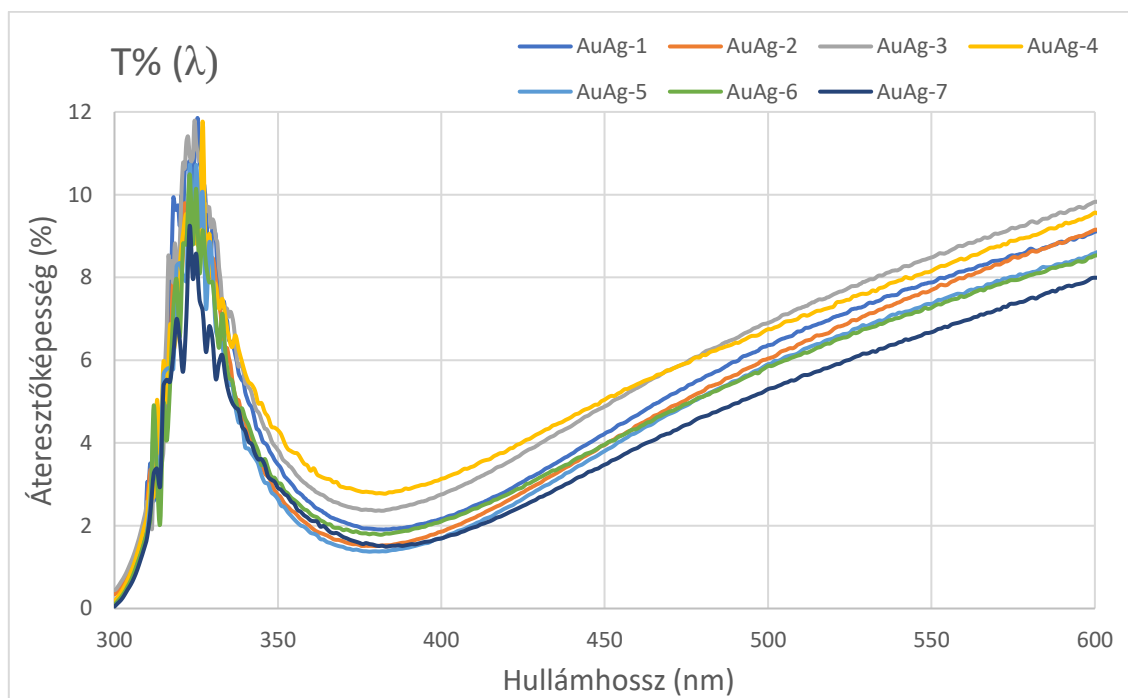
Ugyan ez a 2.x minták esetében viszont csak egy 10 μL -es mérési pontról mondható el. A másik pont továbbra is jól kivehetően eltér a görbétől. Azt, hogy ennek oka a mérési hibában vagy az elméletben keresendő, ezen mérésekből nem tudtam megállapítani. A kevés mérési pont, az inhomogén minták, valamint az analit eloszlásának változása miatt, a c_f működésének megállapítása a szegedi SERS mintákon végzett mérésekből nem volt lehetséges.

5.7, SERSitive minták mérései

Az eddigi SERS méréseink nagy bizonytalansága miatt úgy döntöttünk, hogy egy másik mérési sorozatot is lefuttatunk. A felhasznált SERS hordozókat a SERSitive cégtől szereztük be, amely mintákra a továbbiakban ezzel a névvel hivatkozunk. A minták szintén arany és ezüst nanorészecskékből álltak, de az aranytartalom kisebb mértékben, egy oxidációs védőréteggént volt jelen.

5.7-a, A SERSitive minták optikai tulajdonságainak mérése

A SERSitive mintákon felvett áteresztőképességek a **35. ábrán** láthatóak, valamint a plazmon csúcs átlagos pozíciója a **7. táblázatban** szerepel. Megfigyelhető, hogy a korábbi, Szegeden létrehozott mintákhoz viszonyítva sokkal egységesebbek, és a plazmon csúcs is nagyobb relatív elnyeléssel rendelkezik. Ezen eredmények alapján kisebb szórást várunk a mérések során.



35. ábra: A SERSitive minták áteresztőképességének mérései.

7. táblázat: A SERSitive minták plazmon csúcs pozíciójának átlaga

	AuAg minták:
Plazmon csúcs	381 +/- 2 nm

5.7-b, A SERSitive mintákon végzett SERS mérések eredményei

A SERSitive mintákon két mérési sorozatot vettünk fel, eltérő csepp térfogatok mellett, az intenzitás(koncentráció) görbe meghatározásához. A használt mérési paramétereket a **8. táblázat** tartalmazza, míg a SERS mérés beállításai a **9. táblázatban** szerepeltek. A

spektrumokat a $400 - 1800 \text{ cm}^{-1}$ -es tartományon vettük fel, és az eddigiekhez hasonlóan azokat a 610 cm^{-1} -es és az 1650 cm^{-1} -es csúcsokra értékeltük ki.

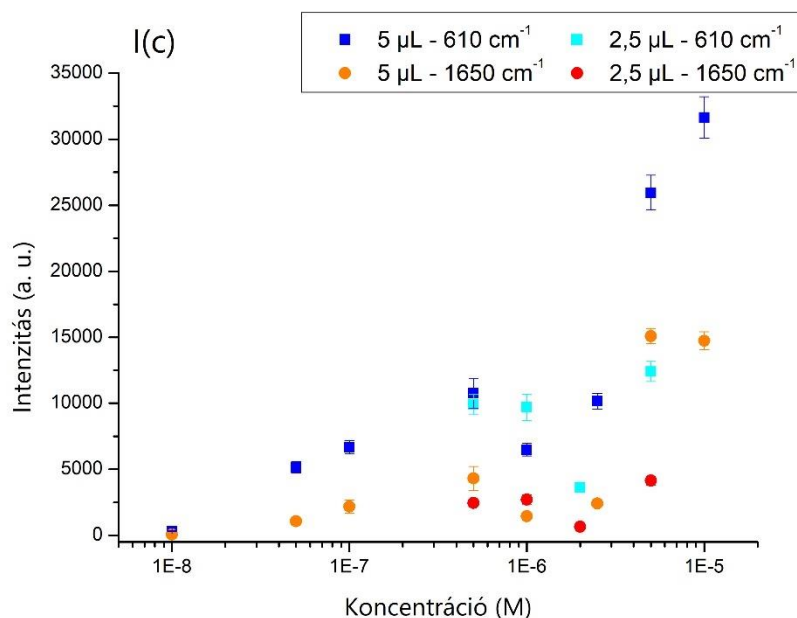
8. táblázat: A SERSitive minták esetén használt mérési paraméterek táblázata

	analit	csepp térfogat	átlagos méret	használt koncentráció
1. mérési sorozat	R6G	5 μL	$0,1225 \text{ cm}^2$	(eltérő)
2. mérési sorozat	R6G	2,5 μL	$0,1225 \text{ cm}^2$	(eltérő)

9. táblázat: A SERSitive minták esetén használt mérési beállítások táblázata

Vizsgált tartomány	ND - szűrő	Mérési idő	Akkumuláció	Használt objektív	Használt lézer
$400 - 1800 \text{ cm}^{-1}$	0,01 %	12 s	1	x50	532 nm

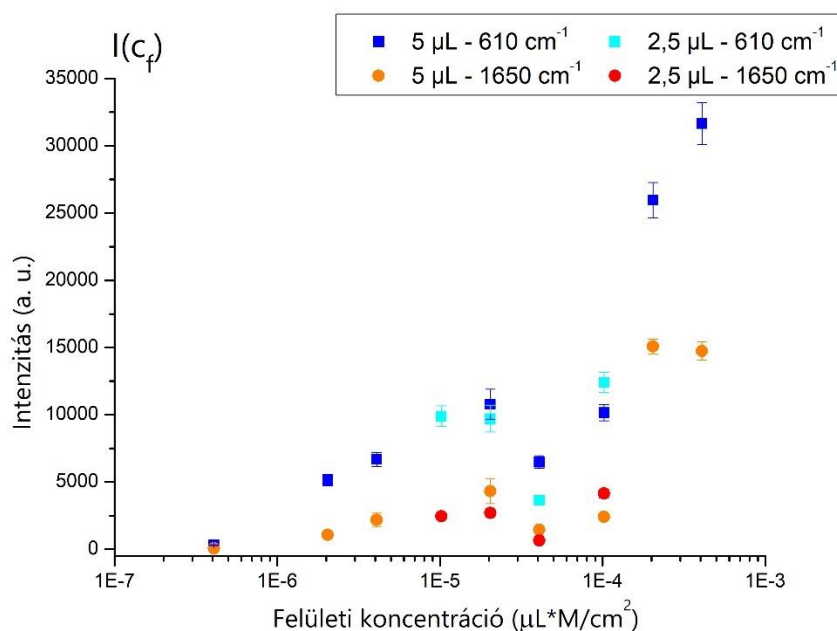
A **36. ábrán** látható a mért intenzitás értékeknek a koncentráció függvényében vett ábrázolása. Megfigyelhető, hogy az adott koncentráció mellett, 5 μL és a 2,5 μL -es csepp térfogat esetén kapott értékeket, jelentős eltéréseket tapasztalunk a két mérési sorozat között, mindkét vizsgált Raman-csúcsra.



36. ábra: A koncentráció függvényében ábrázolt SERS mérések eredményei.

5.7-c, A SERSitive mintákon végzett mérések korrekciója

A SERS mérések során kapott eredményeket a felületi koncentrációval korrigálva, a mérési pontok a ténylegesen mért analit anyagmennyiségnek megfelelően eltolódnak. Ennek hatására a 2,5 μL és 5 μL mellett felvett mérési sorozatok egybeesnek, ha a c_f használata a csepp térfogat függést eliminálja: $c_f \sim d$ (effektív rétegvastagság) $\sim N$ (mért analit mennyiség). A kapott eredmények a **37. ábrán** megfigyelhetők. Látható, hogy a két csepp térfogat mellett felvett görbék közel egymásra esnek.



37. ábra: A felületi koncentráció függvényében ábrázolt SERS mérések eredményei.

(A 10^{-6} M és $5 \cdot 10^{-6}$ M közötti értékek biztosan arányosak egymással, mert azokat azonos koncentrációjú oldatból hígítottuk. Az $5 \cdot 10^{-7}$ M -nál tapasztalt ugrás lehet annak következménye, hogy az oldatok nem megfelelően voltak előállítva vagy idővel degradálódtak. A korrigált mérési pontok viszont ezen túlmenően is jól illeszkednek az $I(c_f)$ görbén.)

A 2,5 μL és 5 μL -es mérési sorozatok egybeesése azt jelzi, hogy a bevezetett felületi koncentráció valóban a mért anyagmennyiséggel arányos. Mint már tárgyaltuk, az alkalmazott csepp térfogat vagy az analit elterülésének méretétől függetlenül, egy adott c_f -en mért intenzitás görbék egybe kell essenek, amit az elvégzett korrekció vissza is ad. A kapott egyezésből arra lehet következtetni, hogy a bevezetett c_f mennyiség a SERS mérések esetén is használható, tehát annak anyagmennyiségtől való függése itt is teljesül. Ezek alapján ajánljuk mindenkinek, hogy tanulmányozzák ezen könnyen kiszámolható mennyiséget a SERS méréseik során.

5.8, Használatra javasolt standardok egyéb mérések során

Összességében ajánljuk a felületi koncentráció használatát minden olyan esetben, amikor az analit valamilyen oldott formában, megszáradva kerül fel a SERS hordozóra. Használata ajánlott továbbá általánosságban, minden olyan analitikai eljárásban, ahol az analit mintavételezése és mérése hasonló körülményeken történik. Fontos tehát, hogy a mérések során világos legyen a minták és a referencia minta mérete, és a vizsgált analit anyagmennyisége, ezáltal kiszámolható a felületi koncentráció.

Ha a Raman-mérés valamilyen szilárd vagy porszerű anyagon történik, akkor elsősorban érdemes lehet meghatározni, hogy a minta átvilágítható-e. Ha a lézersugár nem jut át az anyagon, akkor adott mérési paraméterek mellett ez önmagában standardként elfogadható. (Ideális lenne meghatározni a behatolási mélységet, és ezzel azt, hogy valójában mekkora az aktív térfogat.) Ha közel sík felületű, homogén mintákkal dolgozunk, akkor a kapott jel, mint a mért anyagmennyiség függvénye, szintén visszavezethető a rétegvastagságra. Teljesen elnyelő minta esetében ez nem más, mint a behatolási vagy jelgyűjtési mélység. Ha garantáljuk, hogy a minta már nem áteresztő, akkor biztosan ezen maximális mélységet mérjük.

Ha viszont kevés anyagmennyiség áll a rendelkezésünkre, vagy a minta a lézer számára részben áttetsző, akkor itt is fontossá válhat valamilyen mérési standard adoptálása. Mivel egy por állagú minta vastagságának mérése nehézkes, ezért a következőket javasoljuk. Amennyiben lehetséges, egy finom porlasztási eljárás után a mérést a következőképpen standardizáljuk. Terítsük el a kimért, homogén, porszerű anyagot egyenletesen egy síkfelületen, és a mért analit anyagmennyiségét/tömegét ezzel arányosítsuk. Így tehát a jelet a felületi koncentrációhoz hasonlóan valamilyen mol/cm^2 vagy kg/cm^2 mennyiség függvényeként kapjuk. Ha ugyanakkora tömegmennyiséget mérünk, de az vastagabban van elhelyezve, a mérés valójában több anyagmennyiségen zajlik. Ezzel a kifejezéssel viszont ez az eltérés fel lesz tüntetve a mérési pontok ábrázolásakor.

Folyadékok esetén a javasolt standardizálási eljárás hasonló a porszerű anyagokéhoz. Ha a minta a lézer számára áttetsző, akkor öntsünk az adott koncentrációjú oldatból egy kimért mennyiséget (legyen az tömeg vagy térfogat) egy lapos üvegtálba. A mért koncentrációt hasonlóan, a folyadékmennyiség és annak elterülési felületével arányosítsuk: $c * \frac{V_{\text{folyadék}}}{A_{\text{üveg}}}$ vagy $c * \frac{m_{\text{folyadék}}}{A_{\text{üveg}}}$. Ez elviekben a mért anyagmennyiséggel arányos mértékegységhez vezet, hasonlóan a felületi koncentrációhoz. Ha a folyadék nem áttetsző, akkor használhatjuk azt standard mérési eljárásként. Ha a folyadék egy meghatározott tartóedényben van, akkor vehetjük annak is a paramétereit a benne lévő folyadék mennyiségével és koncentrációjával.

Kolloidos oldattal erősített Raman-szórás esetén ajánlatos a folyékony oldatokra való módszer kipróbálása, de ebben az esetben a fém nanorészecskék és az analit kölcsönhatásának bonyolultsága ez feltehetően nem lesz megfelelő. Egy standard eljárás találása ebben az esetben további vizsgálatokat igényel.

6, Összefoglalás

A dolgozatban bemutatam a jelenlegi SERS mérések összehasonlíthatóságában felfedezett problémákat. Levezettem, hogy az alkalmazott analit oldat koncentrációjával jellemezve egy mérési pontot, az nem adja vissza helyesen a mért anyagmennyiség függést. Két további paramétert határoztam meg, az analit elterülési felületének méretét, vagyis a minta méretét, és a csepp térfogatot, amelyek a mért anyagmennyiséget közvetlenül befolyásolják. Ezen kívül megjegyeztük, hogy a SERS méréseknél alkalmazott kis analit mennyiségek elterülésébe, a SERS hordozó struktúrája is meghatározó, ami a felületi érdességgel jellemezhető.

Ezek alapján beláttam, hogy a SERS hordozók jellemzésére gyakran használt analitikai erősítési tényező (AEF) és kimutatási határ (LOD) mennyiségek, jelenlegi formájukban nem alkalmasak a feladatuk ellátására. Ha különböző Raman-erősítő felületeket szeretnénk összevetni, akkor azt a mért molekulák számának, tehát az anyagmennyiségnek a függvényében kell megtennünk. Ennek érdekében bevezettem egy új, könnyen meghatározható mennyiséget, amelyet felületi koncentrációnak (c_f) nevezünk el.

Kimutattam, hogy a felületi koncentráció közvetlenül arányos a mért anyagmennyiséggel, eltérő mérési paraméterek mellett is. Kísérletekkel igazoltam, hogy a c_f mennyiség Raman és SERS mérések során is alkalmazható lehet, és használatával megoldható a minták összevethetőségében adódó probléma. Az $I(c_f)$, $AEF(c_f)$ és $LOD(c_f)$ alkalmazásával, azokat anyagmennyiségtől való függésre vezetjük vissza, így különböző paramétereken mérve is összehasonlíthatóak lesznek. Tehát a felületi koncentráció használatával elérhető, hogy különböző SERS hordozók összehasonlíthatóak legyenek. Ezen mennyiségek és egyéb standard mérési módszerek használata által összevethető SERS mérések készítése céljából.

Mindemellett nagyvonalakban vizsgáltam, hogy milyen hatással van egy SERS aktív felület erősítésére, a rá lerakódott analit mennyiségének mértéke. Azt találtam, hogy nagy koncentrációkon lesz egy pont, ahol a növekvő analit mennyiséggel a kapott intenzitás csökkenni kezd. Ez a telítődés feltehetőleg annak hatására jön létre, hogy a vastagodó analitréteg csökkenti azon fotonok számát, amelyek a nanorészecskékhez eljutnak, így a visszaérkező erősített jel intenzitása is csökken. Kellően vastag réteg kialakulása után az erősítés annyira lecsökken, hogy a mérési pontjaink egy üveg felületen végzett Raman-méréssel összehasonlíthatóvá válnak.

7, Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni témavezetőm, Dr. Csarnovics István segítségét és útmutatását ezen dolgozat elkészítése során. Nagyra értékelem azt a támogatást, amit az elvégzett munka során nyújtott.

Szeretnék még köszönetet mondani Dr. Szalóki Melindának az üveglapok tisztítási folyamatai során végzett munkájáért.

Továbbá meg szeretném még köszönni mindazoknak, akik a Szegedi Tudományegyetem, Nano és mikromegmunkálás Kutatócsoportjából részt vettek a SERS hordozók előállításában, ezzel lehetővé téve a dolgozat elkészítését.

AZ INNOVÁCIÓS ÉS TECHNOLÓGIAI MINISZTERIUM ÚNKP-23-2 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK A NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS ALAPBÓL FINANSZÍROZOTT SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.



KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS
MINISZTERIUM



NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI
ÉS INNOVÁCIÓS HIVATAL

ÚNKP Új Nemzeti
Kiválóság Program

8, Források

- [1] [E. C. Le Ru et al.: Surface Enhanced Raman Scattering Enhancement Factors: A Comprehensive Study \(2007\)](#)
- [2] <https://www.acs.org/education/whatischemistry/landmarks/ramaneffect.html>
- [3] <https://byjus.com/physics/raman-scattering/>
- [4] <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:275164/FULLTEXT01.pdf>
- [5] <https://www.edinst.com/blog/what-is-the-stokes-shift/>
- [6] https://chem.libretexts.org/Courses/Providence_College/CHM_331_Advanced_Analytical_Chemistry_1/10%3A_Molecular_Luminescence_Spectrometry/10.03%3A_Applications_of_Photoluminescence_Methods/10.3.02%3A_The_Stokes_Shift
- [7] <https://openstax.org/books/university-physics-volume-3/pages/9-2-molecular-spectra>
- [8] <https://www.horiba.com/esp/scientific/technologies/raman-imaging-and-spectroscopy/raman-spectroscopy/>
- [9] <https://en.wikipedia.org/wiki/Plasmon>
- [10] <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/surface-plasmon-resonance>
- [11] <https://www.beilstein-journals.org/bjnano/articles/14/33>
- [12] <https://wasatchphotonics.com/raman-lasers/>
- [13] <https://www.horiba.com/int/scientific/technologies/raman-imaging-and-spectroscopy/raman-spectrometer-presentation/>
- [14] Eleonora Petryayeva, Ulrich J. Krull: Localized surface plasmon resonance: Nanostructures, bioassays and biosensing—A review (2011)
- [15] Juanjuan Liu et al.: Are plasmonic optical biosensors ready for use in point-of-need applications? (2019)
- [16] <https://www.silmeco.com/knowledge-base/surface-enhanced-raman-scattering/>
- [17] Lasse Jensen et al.: Electronic structure methods for studying surface-enhanced Raman scattering (2008)
- [18] Kenshin Takemura: Surface Plasmon Resonance (SPR)- and Localized SPR (LSPR)-Based Virus Sensing Systems: Optical Vibration of Nano- and Micro-Metallic Materials for the Development of Next-Generation Virus Detection Technology (2021)
- [19] Jayeong Kim et al.: Study of chemical enhancement mechanism in nonplasmonic surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) (2019)
- [20] <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/infrared-and-raman/raman-microscopes/what-is-raman-microscopy.html>
- [21] Steffen Manser et al.: Innovative Imaging Techniques: A Conceptual Exploration of Multi-Modal Raman Light Sheet Microscopy (2023)

- [22] Guillaume F. Nataf: New approaches to understand conductive and polar domain walls by Raman spectroscopy and low energy electron microscopy (2016)
- [23] <https://www.hunterlab.com/blog/what-is-spectrophotometer/>
- [24] [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Kinetics/02%3A Reaction Rates/2.01%3A Experimental Determination of Kinetics/2.1.05%3A Spectrophotometry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry)

Ábrák:

- [25] <https://www.edinst.com/blog/what-is-the-stokes-shift/>
- [26] <https://www.quora.com/Why-are-metals-shiny>
- [27] https://en.wikipedia.org/wiki/Surface_plasmon
- [28] [Vera Cantale: Towards label-free biosensors based on localized surface plasmon resonance \(2011\)](#)
- [29] https://en.m.wikipedia.org/wiki/Localized_surface_plasmon
- [30] [Cheng Zong et al.: Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Bioanalysis: Reliability and Challenges \(2018\)](#)
- [31] <https://www.horiba.com/ind/scientific/products/detail/action/show/Product/labram-hr-evolution-1083/>
- [32] [Domenico Regonini: Anodised TiO2 Nanotubes: Synthesis, Growth Mechanism and Thermal Stability \(2008\)](#)
- [33] <https://slideplayer.hu/slide/2082609/>
- [34] Attila Kohut et al.: One-step fabrication of fiber optic SERS sensors via spark ablation (2021)
- [35] Attila Kohut et al.: Facile and versatile substrate fabrication for surface enhanced Raman spectroscopy using spark discharge generation of Au/Ag nanoparticles (2020)

A weboldal utolsó megtekintésének dátuma: 2024. 04. 14.

9, Melléklet

Megvizsgáltunk közel 40 publikációt, amiben szerepel, hogyan értelmezték és számolták ki az erősítési együttható értékét. Mivel sok esetben csak erősítésként hívják, könnyen összetéveszthető, hogy valójában melyik mennyiség került meghatározásra. Érdekes kérdés még, hogy melyik lehetett használva akkor, amikor egy adott mintának megadják az erősítését, de nem írják le, az milyen módon lett kiszámolva. Feltehető, hogy az egyszerűbb meghatározás miatt, olyan esetekben amikor nem ez a publikáció fő témája, az analitikai EF-t adják meg. A táblázat alapján kiderül, hogy a használt EF értelmezése közel sem egyértelmű. A megvizsgált publikációk majdnem fele nem a "jó" EF mennyiséget használja, hanem az analitikai EF-t, miközben ugyan úgy csak erősítésként hivatkoznak rá.

$EF = \frac{I_{SERS}/N_{SERS}}{I_{Raman}/N_{Raman}}$	$AEF = \frac{I_{SERS}/c_{SERS}}{I_{Raman}/c_{Raman}}$
https://doi.org/10.1039/c1an15432j	https://doi.org/10.1039/C9CP02015B
https://doi.org/10.1039/C6RA28450G	https://doi.org/10.3390/app11114914
https://doi.org/10.1364/OE.23.024811	https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2021.107502
https://www.spectroscopyonline.com/view/demystifying-sers-newcomer-s-guide-using-surface-enhanced-raman-scattering	https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120631
https://doi.org/10.1021/jp0687908	https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106660
https://doi.org/10.1016/j.cplett.2009.12.002	https://doi.org/10.1039/D1RA07871B
https://doi.org/10.1002/jrs.5302	https://doi.org/10.1039/C7TC03682E
https://doi.org/10.1002/jrs.1945	https://doi.org/10.1039/C7RA03317F
https://doi.org/10.1039/c4ta00904e	https://doi.org/10.1039/C4NR00594E
https://doi.org/10.1016/j.promfg.2018.07.068	https://doi.org/10.1021/jz2016439
https://doi.org/10.1039/C2CP42598J	https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c09122
https://doi.org/10.1557/mrs.2013.161	https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.06.052
https://doi.org/10.1002/anie.201908154	https://doi.org/10.1002/jrs.2939
https://doi.org/10.1002/adv.201900925	https://doi.org/10.1007/s12161-020-01815-2
https://doi.org/10.1002/anie.200500988	https://doi.org/10.1038/s41598-017-07311-8
https://doi.org/10.1039/c4cp05080k	https://doi.org/10.1021/acsmeasuresci.3c00037
https://doi.org/10.1039/D0SC00809E	https://doi.org/10.3390/molecules29010218
https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2021.167537	
https://doi.org/10.1002/anie.201908154	
https://www.fhi.mpg.de/1072360/hess_raman_spectroscopy_101106.pdf	
https://doi.org/10.3390/polym15122624	
	AEF: analitikai erősítési faktor használata külön megjelölve