



1949

**Fém nanorészecskék előállítása, vizsgálata és felületerősített  
Raman-szórásuk tanulmányozása**

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

**Pál Petra**

témavezető neve:

**Dr. Csarnovics István**

DEBRECENI EGYETEM

Természettudományi és Informatikai Doktori Tanács

Fizikai Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2023



*Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi és Informatikai Doktori Tanács Fizikai Tudományok Doktori Iskola Szilárdtestfizikai és Anyagtudományi programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.*

*Nyilatkozom arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.*

*Debrecen, 20. ....*

.....  
*Pál Petra  
doktorjelölt*

*Tanúsítom, hogy Pál Petra doktorjelölt 2019- 2023 között a fent megnevezett Doktori Iskola Szilárdtestfizikai és Anyagtudományi programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Nyilatkozom továbbá arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.*

*Az értekezés elfogadását javasolom.*

*Debrecen, 20. ....*

.....  
*Dr. Csarnovics István  
témavezető*



# Fém nanorészecskék előállítása, vizsgálata és felületerősített Raman-szórásuk tanulmányozása

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében  
a fizika tudományágban

Írta: Pál Petra  
okleveles anyagkutató

Készült a Debreceni Egyetem Fizikai Tudományok Doktori Iskolája  
Szilárdtestfizika és anyagtudományi programja keretében

Témavezető: Dr. Csarnovics István

Az értekezés bírálói:

.....  
.....

A bírálóbizottság:

elnök:

.....

tagok:

.....  
.....  
.....  
.....

Az értekezés védésének időpontja: .....

# Tartalom

Bevezetés és célkitűzés .....	1
1. Irodalmi bevezető .....	4
1.1. Raman-spektroszkópia.....	4
1.1.1. Raman-szórás .....	5
1.1.2. A Raman-spektrométer felépítése .....	8
1.1.3. A Raman-spektroszkópia alkalmazásai .....	10
1.1.4. A Raman-spektroszkópia előnyei és hátrányai .....	14
1.2. Felületerősített Raman-szórás (SERS) .....	15
1.2.1. A SERS mechanizmusa .....	16
1.2.2. A SERS erősítési tényező meghatározása.....	19
1.2.3. SERS-hordozók előállítása .....	21
1.2.4. A SERS-hatást befolyásoló tényezők .....	24
2. Anyagok és módszertan .....	27
2.1. SERS hordozók előállítása és jellemzése .....	27
2.1.1. SERS hordozók előállítása arany és ezüst vékonyrétegek hőkezelésével .....	27
2.1.2. SERS hordozók előállítása ívkisülés módszerével .....	28
2.1.3. SERS hordozók paramétereinek vizsgálata. ....	30
2.1.4. Hordozó előkészítése a SERS mérésekhez .....	31
2.1.5. SERS mérések kivitelezése .....	34
2.1.6. Kontaktszög mérése .....	36
2.2. His-Ni (II) fémkomplex azonosítása .....	37
2.2.1. Minta előkészítése.....	37
2.2.2. Raman-mérések.....	37
3. Eredmények és megvitatásuk .....	38
3.1. A SERS hordozók geometriai paramétereinek hatása .....	38
3.1.1. A SERS hordozók geometriai paramétereinek vizsgálata. ....	38
3.1.2. Arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók.....	40
3.1.3. Ezüst nanorészecskéket tartalmazó hordozók.....	44
3.1.4. Előállítási paraméterek optimalizálása .....	49
3.2. Különböző analitok hatása a SERS-hordozók erősítési tulajdonságára .....	53
3.3. A SERS-hatás vizsgálata ívkisüléssel készült nanorészecskék használatával.....	63
3.3.1. Morfológia és összetétel .....	63
3.3.2. Optikai tulajdonságok .....	65

3.3.3. SERS mérések.....	65
3.4. Hisztidin-Ni (II) fémkomplex azonosítása Raman-spektroszkópiával.....	72
3.4.1. Elméleti számítások .....	72
3.4.2. Raman-mérések és elméleti számítások eredményei .....	74
3.4.3. A pH hatása a His-Ni (II) komplex képződésére .....	78
3.4.3.1. Savas pH.....	79
3.4.3.2. Lúgos pH .....	81
3.4.4. A Ni (II) ionok koncentrációjának hatása a His-Ni (II) komplex képződésére .....	81
4. Összefoglalás.....	84
5. Summary .....	88
6. Tézispontok .....	92
7. Eredmények hasznosítása.....	95
8. Publikációs jegyzék.....	96
9. Köszönetnyilvánítás .....	98
10. Irodalomjegyzék.....	99

## Rövidítések

SERS- Surface-Enhanced Raman-Spectroscopy - Felületerősített Raman-spektroszkópia

NP- Nanoparticle - Nanorészecske

CCD- Charge-Coupled Device - Töltéscsatolt eszköz

VIS-Visible light - Látható fény

NIR- Near-Infrared - Közeli infravörös

IR- Infrared - Infravörös

CNT- Carbon Nanotube - Szén nanocső

RBM – Radial Breathing Mode- Radiális lélegző módus

DNS- Deoxyribonucleic Acid - Dezoxiribonukleinsav

UV- Ultraviolet - Ultraibolya

EM- Electromagnetic - Elektromágneses

CE- Chemical Enhancement - Kémia erősítés

LSPR- Localized Surface Plasmon Resonance - Lokalizált felületi plazmon-rezonancia

EELS- Electron Energy Loss Spectroscopy- Elektron energiaveszteségi spektroszkópia

CT- Charge Transzfer - Töltésátvitel

NBA- Nile Blue A - Nílus kék A

EF- Enhanced Factor - Erősítési tényező

SMEF- Single-Molecule Enhanced Factor - Egymolekula-erősítési tényező

AEF- Analytical Enhanced Factor - Analitikai erősítési tényező

SSEF- SERS Substrate Enhanced Factor – SERS-hordozó erősítési tényező

SDG- Spark Discharge Generator - Szikrakisüléssel generátor

CPC- Condensation Particle Counter - Kondenzációs részecskeszámláló

SEM- Scanning Electron Microscope - Pásztázó elektronmikroszkóp

AFM- Atomic Force Microscopy - Atomerő-mikroszkóp

EDX- Energy-Dispersive X-ray spectroscopy - Energiadiszperzív röntgenspektroszkópia

ICP-MS- Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry-Induktív csatolású plazma-tömegspektrimetria

R6G- Rhodamine 6G - Rodamin 6G

CA- Contact Angle - Kontaktszög

DFT- Density-Functional Theory – Sűrűség funkcionált-elmélet

SMD- Solvation Model based on Density - Sűrűségen alapuló szolvatációs modell

FWHM- Full Width at Half Maximum - Félértékszélesség

PSA- Polar Surface Area - Poláros felület



## Bevezetés és célkitűzés

1928-ban Sir C.V. Raman [1] volt az első, aki dokumentálta a rugalmatlan fényszórás jelenségét. A közeg által szórt fény általában ugyanolyan frekvenciájú fotonokat tartalmaz, mint a beeső fény, de lehetnek benne olyan fotonok is, amelyek frekvenciája eltér a beeső fény frekvenciájától, megváltozott vagy eltolódott. Az eltolódott frekvenciájú, rugalmatlanul szórt fotonok spektroszkópiai mérési eljárását később Sir Ramanról nevezték el, a jelenséget Raman-effektusnak, a rugalmatlanul szóródó fényt pedig Raman-sugárzásnak. A lézer felfedezésére és különböző precíziós optikai elemek elterjedésére volt szükség a módszer szélesebb körű elterjedésére. A tudomány, a technika és a technológiai felfedezések révén vált a Raman-spektroszkópia a múlt század második felében a roncsolásmentes kémiai elemzés egyik fő módszerévé. A módszer több hátránya közül, - ami korlátozza a Raman felhasználását - kiemelhető a Raman-szórással együtt fellépő fluoreszcencia jelenség a Raman-jelekre gyakorolt gátló hatása, illetve a Raman-jelek kis intenzitása [2]. Utóbbira megoldást jelenthet a Raman-szórás nanoszerkezetű fémfelületek környezetében fellépő erősítésének felfedezése [3]. Ez mérföldkő volt a spektroszkópiai és analitikai technikák történetében. Jelentős kísérleti és elméleti kutatások irányultak a felületerősített Raman-szórás (SERS) hatásának megértésére és annak lehetőségeinek bemutatására a különféle típusú ultraérzékeny érzékelő alkalmazásokban a legkülönbözőbb területeken.

Az elmúlt 50 év során a Raman-spektroszkópia mellett egyre inkább elterjedté vált a SERS módszere, ami egyesíti a Raman-spektroszkópia minden előnyét, kiküszöböli bizonyos hátrányait, és az egyik legérzékenyebb analitikai technikává fejlődött az idők során [4]. A SERS egy széles körben elterjedt mérési módszer, amelyet különböző területeken, mint például polimer- és anyagtudomány, katalízis, orvostudomány, környezettudomány, élelmiszeripar, biokémia vagy akár a biológiai érzékelés területén is alkalmaznak. A SERS egy olyan anyagvizsgálati módszer, amely lehetővé teszi az alacsony koncentrációjú analitok rendkívül érzékeny detektálását, azok detektálási küszöbértékének csökkentését. A módszer lényege, hogy a vizsgálni kívánt mintát nanostrukturált vagy nanoméretben érdesített fémfelületre abszorbeálva vagy annak környezetébe juttatva, majd azt monokromatikus fényforrással megvilágítva a fotonok lokalizált felületi plazmonokat gerjesztenek a fém felületén, amelyek egyfajta nanoantennaként funkcionálva elektromágneses mezőket (EM) hoznak létre, amelyek több nagyságrenddel megnövelik a gerjesztő monokromatikus fény és/vagy a szórt Raman-fotonok intenzitását a fémfelület környezetében, ezzel növelve a Raman-jelek intenzitását. A SERS hatékonysága nagymértékben függ az abszorbeált molekulák és plazmonikus anyagok

nanostrukturált felületének kölcsönhatásától, illetve a SERS hordozók paramétereitől. A SERS mechanizmusa a fém nanorészecskék (NP) különleges optikai tulajdonságain alapszik. Ismeretes, hogy a fém NP optikai tulajdonsága függ azok összetételétől, alakjától, méretétől és elrendezésétől, és mindezek kihatással vannak a lokalizált felületi plazmonrezonanciára. Mivel a Raman-spektroszkópiában leggyakrabban az ultraibolya, látható vagy közeli infravörös tartományban működő lézereket használnak, ezért az alkalmazott SERS hordozók plazmonrezonancia-hullámhosszának is ebbe a tartományba kell esnie. Emiatt leggyakrabban aranyból, ezüstből vagy rézből készítenek nanostrukturákat, és ezeket használják a Raman-jelek erősítésére. Továbbá a SERS határfoka függ a fém nanostrukturák különböző paramétereitől is, úgy mint az összetételtől, alaktól, mérettől, elrendezéstől. Optimalizálva ezeket a paramétereket, a legjobb SERS hordozók erősítési tényezője elérheti akár a  $10^{10}$ - $10^{11}$  nagyságrendet is, ezért a SERS kutatások aktív területét képezik az optimális paraméterekkel rendelkező hordozók kifejlesztése.

Doktori kutatásom fő területe az ilyen optimális paramétekkel rendelkező arany, ezüst és arany/ezüst nanorészecskéket tartalmazó SERS hordozók fejlesztése, előállítás és vizsgálata volt.

Kutatásom fő célja, hogy ezeket a hordozókat különböző technológiával állítsam elő, majd a nanorészecskéket tartalmazó hordozókat felületerősített Raman-szórás tanulmányozására használjam fel, pontosabban tanulmányozzam a nanorészecskék paramétereit hogyan befolyásolják a SERS erősítés nagyságát. Terveim között szerepelt, hogy megvizsgáljam a kialakított nanorészecskék összetételének, a nanorészecskék méretének, a közöttük lévő távolságnak, a gerjesztő lézer hullámhosszának, valamint a vizsgált analit molekula típusának a SERS hordozó erősítésének mértékére gyakorolt hatását. Mindezek ismeretében javaslatot teszek a SERS hordozók legoptimálisabb előállítási eljárására, illetve megfogalmazom azokat a tényezőket, amelyek kihatással vannak a hordozó SERS erősítésének nagyságára. Továbbá hisztidin-Ni (II) fémkomplex Raman-spektroszkópiás mérésével is foglalkozok, amely során a kialakult fémkomplex detektálása a cél, ezzel bebizonyítva, hogy a módszer hatékonyan alkalmazható, aminosavak/fehérje molekulák fém ionokkal alkotott komplexeinek vizsgálatára.

Tehát a célkitűzéseim összefoglalva a következők voltak:

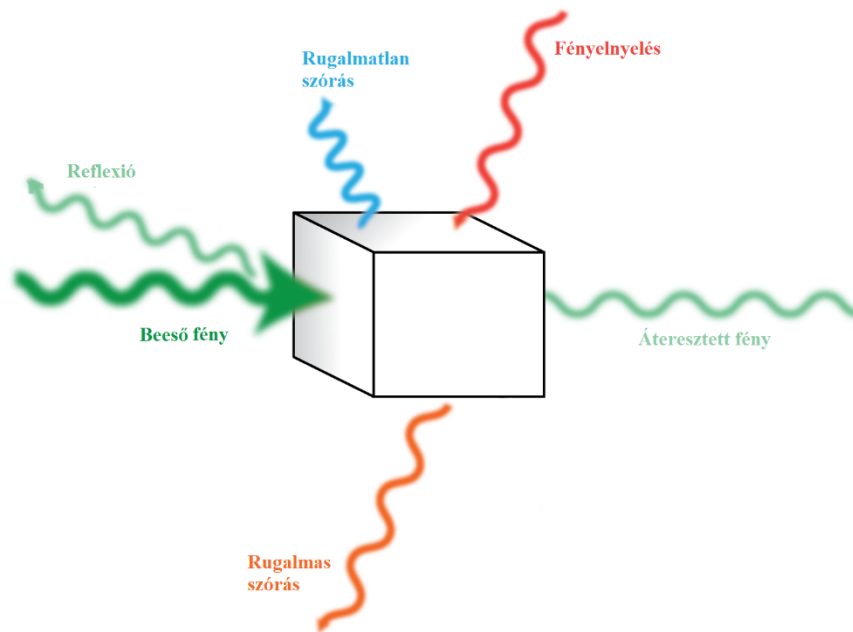
- Termikusan előállított arany és ezüst nanorészecskék optikai és geometriai paramétereinek vizsgálata, továbbá a fém nanorészecskék SERS-erősítési folyamatára gyakorolt hatásának tanulmányozása.
- A fém nanorészecskék előállítási paramétereinek optimalizálása, a SERS-erősítés maximalizálása érdekében.
- Különböző analit, célmolekulák hatásának vizsgálata az SERS-erősítés folyamatára.
- Más technológiával előállított plazmonikai nanostruktúrák SERS-erősítésének vizsgálata.
- Aminosav-fémion (hisztidin-Ni (II) fémkomplex) kölcsönhatásának vizsgálata Raman-mikroszkópiával.

# 1. Irodalmi bevezető

## 1.1. Raman-spektroszkópia

Az optikai spektroszkópiai módszerek transzmissziós, emissziós, abszorpciós, fluoreszcencia vagy szórás jelenségeken alapulhatnak [1,5,6]. Ezeket a módszereket a minták minőségi és mennyiségi elemzésére használják. A minőségi, úgy nevezett, kvalitatív elemzést a minta típusának megállapítására, annak minőségi jellemzésére alkalmazzák. Miközben a mennyiségi, úgy nevezett kvantitatív elemzést, a mintát alkotó elemek koncentrációjának becslésére, összetételének meghatározására végzik [7].

Az optikai spektroszkópiai módszerek alapja az elektromágneses sugárzás (fény) mintával való kölcsönhatása. Az 1. ábra ezen kölcsönhatásokat mutatja be. Az egyik ilyen kölcsönhatás a fényáteresztés, amely megmutatja, hogy a beeső fotonok hány százaléka hatol át a mintán. A fény egy bizonyos része visszaverődik, vagyis reflexió jelensége lép fel. Az anyagba jutott fény egy része elnyelődik vagy abszorbeálódik. Mint látható, felléphet fényszórás is, annak is két típusa ismert, rugalmas és rugalmatlan fényszórás. Ha a kölcsönhatás energiaátadás nélkül játszódik le, rugalmas szórásról, ha pedig energiaátadással, akkor rugalmatlan fényszórásról beszélünk. A fluoreszcencia egy olyan fizikai jelenség, amely során a közeg képes elnyelni egy adott hullámhosszú fényt, melynek hatására gerjesztett állapotba kerül, ahonnan fénykibocsátással jut vissza az alapállapotba. A kibocsátott fény hullámhossza nagyobb lesz, mint az elnyelt fény hullámhossza. [8].



1. ábra: Anyag és fény kölcsönhatása során lejátszódó folyamatok [9]

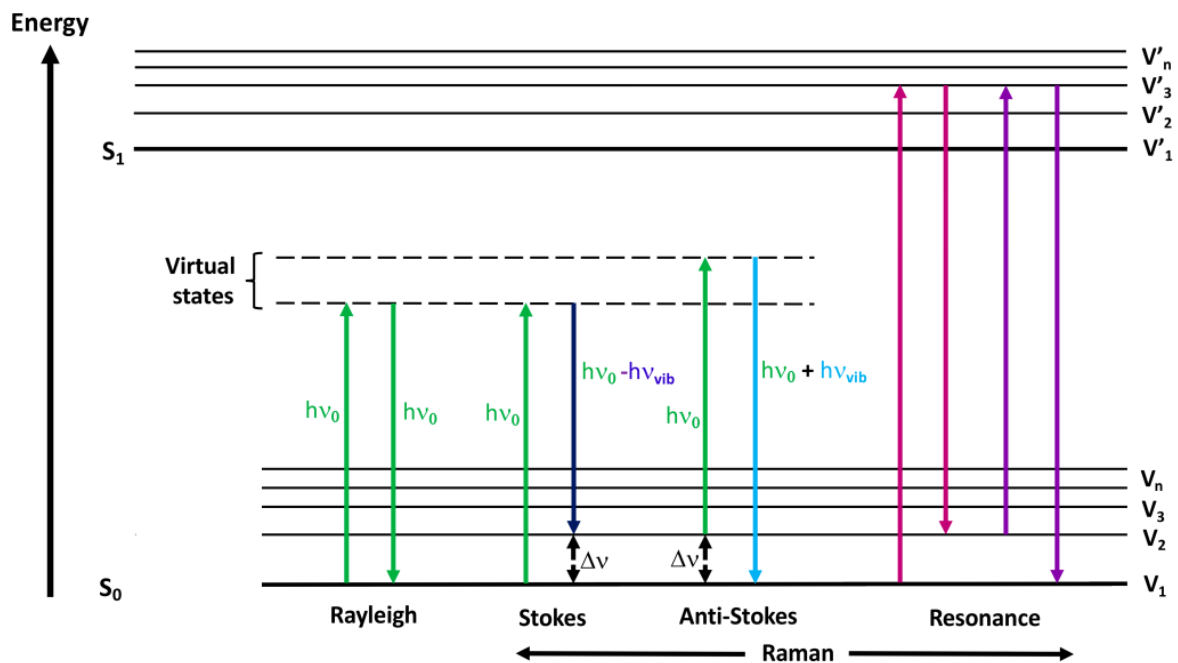
Az optikai spektroszkópiai anyagvizsgálatok egyik ága a rezgési spektroszkópia, amelynek része a Raman-spektroszkópia is. A Raman-spektroszkópia olyan analitikai technika, amely alapja a rugalmatlan szórás detektálása a fény-anyag kölcsönhatás során, amit a különböző anyagok kötésszerkezetének azonosítására használhatunk. Ez a módszer mennyiségi és minőségi információk gyűjtését teszi lehetővé a kötésszerkezetről és a rezgési állapotokról. A kapott adatok felhasználhatók például összetett mintákon belüli komponensek azonosítására, reakciók vagy fázisátalakulások vizsgálatára. Emellett a Raman-spektroszkópia gyakran olyan hasznos információkat is szolgáltat a kötésszerkezetről, amelyeket más módszerekkel nem határozhatunk meg. Ezt a technikát számos területen alkalmazzák, többek között biológiai vizsgálatokban, gyógyszeripari elemzésekben és anyagok jellemzésében [10].

### *1.1.1. Raman-szórás*

A Raman-spektroszkópia alapja maga a Raman-effektus, amit először Sir C.V. Raman fedezett fel és dokumentált 1928-ban [1], amiért 1930-ban fizikai Nobel-díjat is kapott. A Raman-effektus röviden megfogalmazva: a látható fény rugalmatlan szórása anyagi rezgéseken, tehát az alkalmazott fényforrás hullámhossza a látható fény tartományába esik, az ultraibolyától a közeli infravörösig. A kölcsönhatás energiaátadással jár, továbbá az elektromágneses tér az anyagban lévő atomok/atomszoportok periodikus rezgőmozgásával lép kölcsönhatásba [11]. A Raman-szórás elsődleges kiválasztási szabálya az elektronszerkezet polarizálhatósága, amelynek az adott anyagi rezgés során kell változnia. A Raman-aktivitás a rezgésben részt vevő atomok minőségétől, szimmetriájától és sűrűségétől függ [12].

A Raman-mérések során monokromatikus lézersugárral világítjuk meg a mintát. Ennek fotonjai kölcsönhatásba lépnek a kristályrács vagy a molekulák kötéseivel, ami az elektronfelhő torzulását idézi elő, és megváltoztatja annak polarizációját, úgy, hogy virtuális állapotokat hoz létre az elektronok energiaszintjeiben [13]. Ez a virtuális elektronállapot rövid életű, így az elektronok a rendszer valós energiaszintjére térnek vissza, miközben többletenergijukat szórt fotonok formájában bocsájtják ki. A szórt fotonok nagy részének frekvenciája megegyezik a beeső fotonok frekvenciájával, azaz Rayleigh-szórás történik, ami a 2. ábrán látható. A szórt fotonok kis részének különbözik a frekvenciája a beeső sugárzás frekvenciájától, ez a Raman-szórás. Az elektronok a folyamat során a kezdeti energiaszinttől eltérő energiaszintre térnek vissza. A rugalmatlan szórás során a beeső foton energiájának változása megegyezik a kezdeti és a végső elektronszint közötti energiakülönbséggel [7,14]. Ha a szórt foton energiája kisebb, mint a beeső fotoné (ha a végső energiaszint magasabb, mint a kezdeti energiaszint), tehát a kölcsönhatás során a molekula gerjesztett állapotba kerül, akkor Stokes-szórásról beszélünk.

Abban az esetben, ha a molekula magasabb energiaállapotban van, a kölcsönhatás a molekula legerjesztését eredményezi, így a szórt foton energiája nagyobb lesz, mint a beeső fotoné (ha a végső energiaszint alacsonyabb, mint a kezdeti energiaszint), ebben az esetben anti-Stokes-szórásról beszélünk.



**2. ábra:** Jablonski-energiadiagram, amely a Rayleigh, a Raman Stokes és anti-Stokes, valamint a rezonáns Raman-szórás során előforduló energiaátmeneteket mutatja [15]

Ha  $h\nu_0$  energiájú monokromatikus sugárzás éri a mintát, a rugalmatlan szórás következőképpen írható le: a  $h\nu_0$  energiájú foton és a molekula kölcsönhatása során a beérkező foton megsemmisül (virtuális abszorpció), ami egy  $h\nu_{vib}$  energiájú rezgést kelt, és ezzel egyidejűleg pedig egy új  $h(\nu_0 - \nu_{vib})$  energiájú foton is keletkezik. Előfordulhat az az eset is, amikor a molekula kezdetben gerjesztett rezgési állapotban van, akkor is megfigyelhető rugalmatlan szórás, amely során a  $h\nu_0$  kezdeti energiájú foton szintén megsemmisül, amihez egy  $h\nu_{vib}$  energiájú rezgés megsemmisülése társul és egy új,  $h(\nu_0 + \nu_{vib})$  energiájú foton keletkezik.

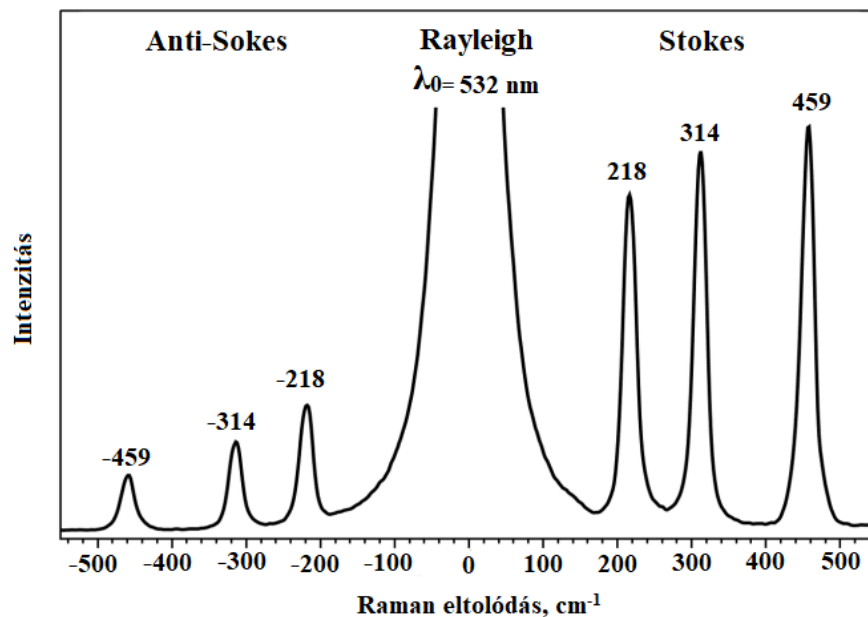
A rezonáns Raman-effektus akkor lép fel, amikor a gerjesztő fotonok energiája közel esik a gerjesztett elektronállapotok energiájához. Az ezen állapotok közötti elektronátmenetektől eredő Raman-sávok intenzitása három-öt nagyságrenddel megnő, ami megkönnyíti az alacsony koncentrációjú minták vizsgálatát. A rezonáns Raman-jel maximális intenzitása akkor érhető el, ha a gerjesztő forrás, a lézer energiája megegyezik az első vagy második elektronikusan gerjesztett állapot energiájával.[16]

A Raman-szórás során a beeső és szórt fotonok közötti energiaváltozás nagyságát a Raman-eltolódással jellemezzük. [17] A Raman-eltolódás értéke lehet pozitív vagy negatív, attól függően, hogy Stokes-, vagy anti-Stokes-szórás ment végbe. A Raman-eltolódás nagyságát relatív hullámszámokban ( $\text{cm}^{-1}$ ) mérjük a beeső fényforrás hullámszámértékéhez képest. A Raman-eltolódás így arányos a vizsgált molekulában keletkező vagy rezgés, vagy forgási átmenet energiájával. [18, 19] Ezt a következő egyenlettel (1) számíthatjuk ki [19]:

$$\Delta\tilde{\nu} = \left( \frac{1}{\lambda_0} - \frac{1}{\lambda_1} \right) \quad (1)$$

Ahol  $\Delta\tilde{\nu}$  a Raman-eltolódás hullámszámában,  $\lambda_0$  a gerjesztő lézer hullámhossza,  $\lambda_1$  a szórt fotonok hullámhossza

A 3. ábrán a  $\text{CCl}_4$  molekula Raman-spektruma látható, a Stokes és az anti-Stokes eltolódásokkal. Az egyensúlyi állapotban a molekulák többsége a  $h\nu_0=0$  szinten van, ezért az anti-Stokes-vonalak lényegesen gyengébbek, mint a Stokes-vonalak, ezért jellemzően csak az intenzívebb Stokes-vonalakat mérik egy standard Raman-kísérletben [20]. Előfordulhat olyan eset is, amikor a beeső foton energiája akkora, hogy a Raman-folyamatban az elektron, a molekula egy valódi elektronállapotába vagy annak közelébe gerjesztődik, ekkor rezonáns Raman-szórás alakul ki, és a Raman-jel intenzitása ebben az esetben akár 3-6 nagyságrenddel is erősebb lehet [21]. Hangsúlyozni kell továbbá, hogy a Raman-szórás különösen gyenge jelenség a Rayleigh-szóráshoz képest, mivel a szórt fotonok közül körülbelül minden tízmilliomodik szenved rugalmatlan, azaz Raman-szórást [14,17].

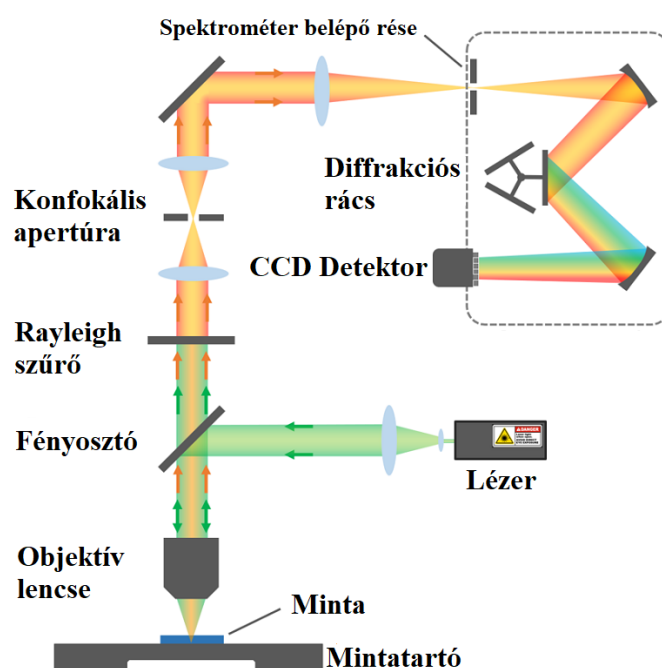


**3. ábra:** A  $\text{CCl}_4$  Raman-spektruma 532 nm-es lézerrel gerjesztve [20].

### 1.1.2. A Raman-spektrométer felépítése

A Raman-spektrométer a Raman-spektroszkópiai mérések eszköze, ami a mérések során intenzitás–Raman-eltolódás dimenziójú spektrumokat rögzít [7]. A modern Raman-spektrométerek két nagy csoportra oszthatók: az interferométert használókra és a diszperzív elven működőkre. Ebben a részben csak a diszperzív elven működő spektrométer működését tárgyalom, ugyanis munkám során ilyen elven működő műszereket használtam.

Minden Raman-spektrométer négy fő egységből áll: gerjesztő forrás, optikai rendszer (melyek a gerjesztő fotonokat a mintára, illetve a mintáról szóródó fényt végül a detektorba továbbítja), a fényt hullámhossz szerint felbontó egység (a leggyakrabban diffrakciós rács) és detektor. A Raman-spektrométer sematikus felépítését a 4. ábra mutatja be.



**4. ábra:** A Raman-spektrométer felépítésének sematikus vázlata [22]

A mintát monokromatikus fényforrással, vagyis lézersugárral világítják meg az ultraibolya (UV, 380-440 nm), látható (VIS, 440-780 nm) vagy közeli infravörös (NIR, 780-1100 nm) tartományban. Az 1960-as évek végén váltak elérhetővé olyan fényforrások, amelyek monokromatikus jellegük mellett nagy idő- és térbeli koherenciával rendelkeznek, vagyis a lézerek. Ezek elterjedése nagy lökést adott a Raman-spektroszkópia módszer fejlődésének. A gerjesztésre használható lézerek választéka igen széles, mint például argonion-lézer (488 és 514,5 nm), kriptonion-lézer (530,9 és 647,1 nm), hélium-neon-lézer (He–Ne) (632,8 nm), vagy közeli infravörös (NIR) diódalézer (785 és 830 nm). Raman-spektrométerekben többféle lézerforrás használható, a kiválasztásnál fontos szempont a

felhasználás célja, a kívánt teljesítmény, a minta fényérzékenysége és elnyelési tulajdonságai. Az argonion- és kriptonion-lézerek, amelyek gerjesztő hullámhossza az ultraibolya-látható tartományba esik, könnyen fluoreszcenciát és a minta fénydegradációját okozhatják. A nagyobb hullámhosszúságú fényforrások, mint például a diódalézerek sokkal nagyobb teljesítménnyel üzemeltethetők anélkül, hogy a minta fotodegradációját okoznák, és a legtöbb esetben csökkentik a fluoreszcencia mértékét, azonban az alkalmazásuk során kisebb a Raman-jelek intenzitása is [7,23].

A vizsgálandó mintát a mikroszkóp tárgyasztalára helyezik, ahol a lézer fénye a fényosztó által az objektívlencse felé tükröződik, aminek segítségével a nyaláb fókuszáltan esik a mintára. Ebben az esetben tehát a fényosztó tükörként funkcionál. Különböző nagyítással rendelkező objektívek segítségével a vizsgálandó mintát különböző felbontásban lehet vizsgálni. Továbbá az objektívlencse kiválasztása fontos, mivel az lencse numerikus apertúrája és a lézer hullámhossza együttesen határozza meg a mintán lévő lézerfolt méretét és a Raman-leképezés térbeli felbontását. Az anyag kölcsönhatásba lép a lézerfényel, és mind a rugalmasan, mind a rugalmatlanul szórt fényt az objektív lencsén gyűjti össze, és továbbítja a a fényosztón keresztül egy szűrőre, amit Rayleigh-szűrőnek nevezünk. Ez a szűrő a lézer hullámhosszának megfelelő fényt, vagyis a Rayleigh-szórást eltéríti, kiszűri, a Raman-szórást és az esetleges lumineszcenciát pedig átengedi, ami a monokromátor felé halad tovább. A Rayleigh-szűrő lehet sávszűrő vagy élszűrő típusú. A sávszűrőnek egy éles abszorpciós csúcsa van egy adott hullámhosszon, amelyet úgy választanak ki, hogy egybeessen a gerjesztő lézer hullámhosszával, és minden más hullámhosszt átérteszen. A sávszűrő előnye, hogy a Stokes- és az anti-Stokes-sávok egyidejűleg figyelhetők meg. Hátránya, hogy szélesebb abszorpciós profillal rendelkeznek, ami megakadályozza az alacsony hullámszámú Raman-csúcsok megfigyelését. Az élszűrők esetében a szűrő abszorpciós vágási hullámhosszát úgy választják meg, hogy a Rayleigh-szórt fényt még erősen elnyelje, de a Stokes Raman-szórt fény áthaladjon rajta. Ezek a szűrők lehetővé teszik az alacsonyabb Raman-eltolódási hullámszámok detektálását, de csak a Stokes-vonalak megfigyelését teszik lehetővé [22].

A konfokális apertúra a konfokális mikroszkóp meghatározó jellemzője, ami a Raman-leképezés térbeli felbontásának javítására, kontrasztnövelésére és fluoreszcenciahátterének csökkentésére szolgál. Ez az apertúra térbeli szűrőként működik axiális (Z) irányban azáltal, hogy a fókusz sík feletti és alatti Raman-szórt fény tovább haladását blokkolja, valamint elengedhetetlen a 3D leképezéshez.

A Rayleigh-szűrőn és az konfokális apertúrán keresztüljutott fénysugár a monokromátor bemeneti nyílására fókuszálódik. Ezen áthaladva a nyaláb a monokromátor diszperziós elemén

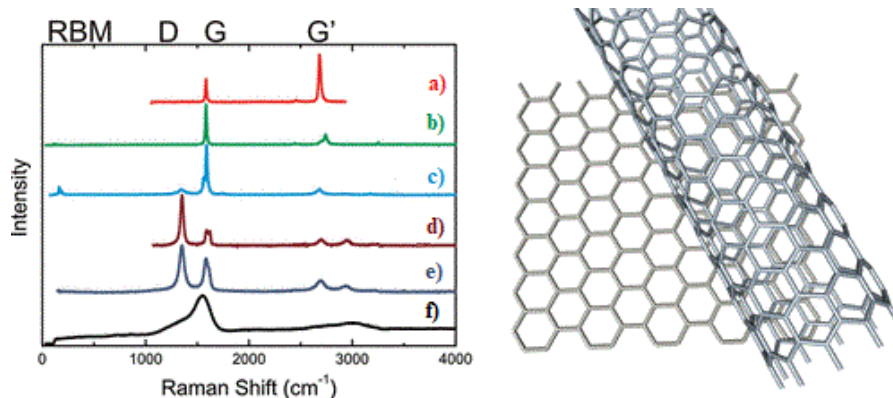
elhajlást (diffrakciót és interferenciát) szenved, összetevői hullámhossz szerint eltérő irányokban haladnak tovább. A spektrálisan felbontott nyalábot egy lencse vagy tükör a detektorra fókuszálja. Raman-spektrométerekben a legtöbb esetben használt detektor a töltéscsatolt eszközt (CCD) tartalmazó egység [24-27].

### *1.1.3. A Raman-spektroszkópia alkalmazásai*

A Raman-spektroszkópia rendkívül sokoldalú módszerré fejlődött, amelyet az anyagtudományban, a biológiában, a gyógyszerészetben, az iparban, anyagvizsgálatban, műkincsek vizsgálatánál, illetve még sok más területen is alkalmaznak [14].

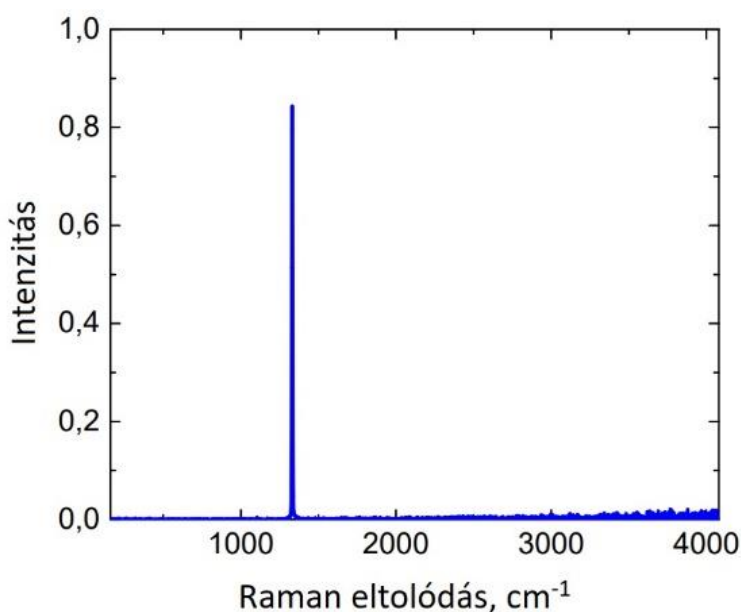
A Raman-spektroszkópia egyik legelterjedtebb anyagtudományi alkalmazása a szénalapú anyagok jellemzése. Ez a technika a múlt században az anyagtudomány számos felfedezéséhez járult hozzá. Jelenleg a széntartalmú anyagokat, mint például az egy-vagy többfalú szén nanocsöveket (CNT), a grafént és az amorf szenet lehet pontosan azonosítani a módszer segítségével [28]. A Raman-spektroszkópia arra is alkalmas, hogy a szén alapú nanostruktúrákat megkülönböztesse egymástól, így lehetőséget nyit az előállítási technológia fejlesztésére.

Az 5. ábra a különböző szén nanostruktúrákról mutat be Raman-spektrumokat. Az ábrán látható a grafén (a), a pirolitikus grafit (b), az egyfalú szén nanocső (c), a sérült grafén (d), szén nanokúp (e), és az amorf szén (f) Raman-spektuma. Továbbá ezeknek a szén alapú szerkezetnek a fő sávjai (RBM, D, G,) is jelölve vannak, amik segítségével megkülönböztethetők, és azonosíthatók a szén nanostruktúrák típusai. Az RBM radiális lélegző módust jelöl, amely lehetővé teszi a nanocsövek átmérőjének és optikai átmenetük energiájának elemzését, ami minden  $sp^2$  hibridállapotú szénformában jelen van. A rendezetlenség miatt indukált sávot D-sávnak nevezzük, ami a szén alapú mintában kialakuló keresztkötések miatt létrejövő  $sp^2$ - $sp^3$  hibridállapotok jelenlétét eredményezik. Ennek a sávnak a detektálása tehát információt nyújt a szén alapú nanoszerkezetekben fellépő rendezetlenségekről. A G-sáv a grafénes szerkezetekben az  $sp^2$  hibridállapotban lévő szénatomok nyújtórezgésének felelnek meg. Ez a sáv a szén nanocsövek egyik legintenzívebb sávja [28-31].



**5. ábra:** Különböző szén alapú nanostruktúrák Raman-spektrumai: a) egyrétegű grafén, b) pirolitikus grafit, c) egyfalú szén nanocső, d) sérült grafén, e) egyfalú szén nanokúp, f) amorf szén [29]

A szén egy másik allotróp módosulata a gyémánt. Szerkezete kovalens kötésű atomok tetraédres koordinációból épül fel. A gyémánt a legnagyobb keménységgel és hővezető képességgel rendelkező természetes anyag, ami miatt ideális az iparban használt vágó- és polírozó berendezésekhez. A gyémánt e mellett magas törésmutatóval és nagy optikai diszperzióval rendelkezik. Hasonlóan a többi szén módosulathoz, a gyémánt is rendelkezik Raman-spektrummal. A 6. ábrán megfigyelhető, hogy a gyémántnak egy jól meghatározott sávja van, amely  $\sim 1332 \text{ cm}^{-1}$ -nél található [32].

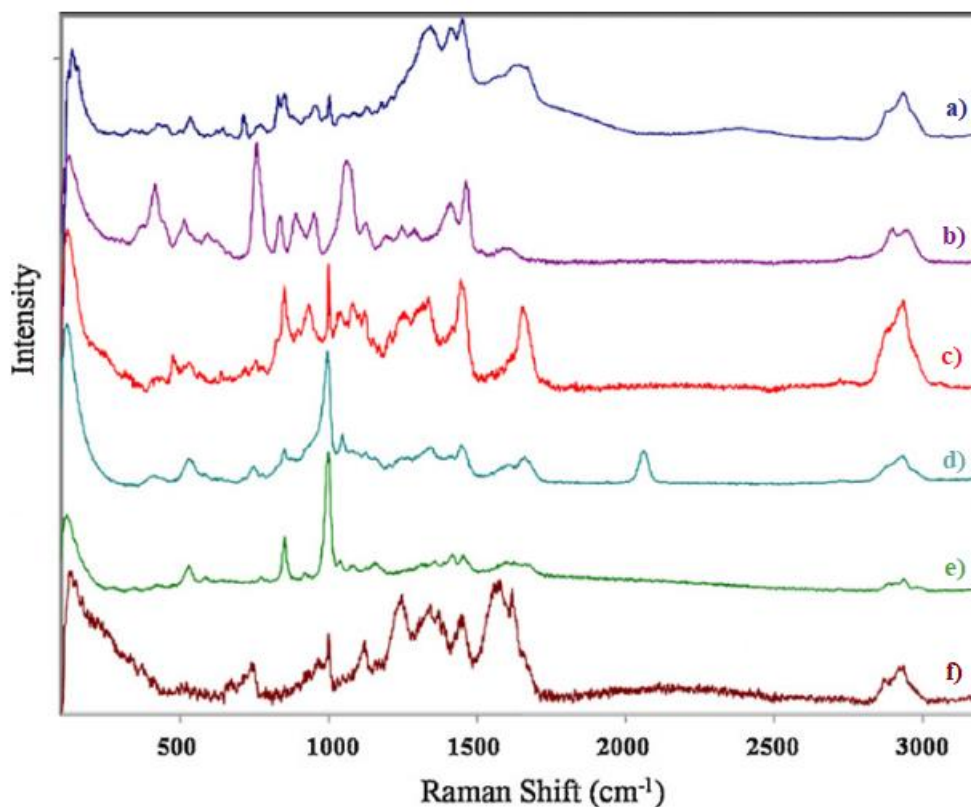


**6.ábra:** Gyémánt Raman-spektruma [33]

A Raman-spektroszkópiát fém, kerámia és polimer nanorészecskék vizsgálatára is használják. Ezek az anyagok fontos tulajdonságokat mutathatnak biológiai alkalmazásokhoz, beleértve a biokompatibilitást, a mágnesességet és a fotolumineszcenciát. A Raman-

spektroszkópiával való jellemzésük feltárja ezeket a tulajdonságaikat, illetve a módszer segítségével megvizsgálható hogyan lépnek kölcsönhatásba a biológiai környezettel [34-36].

A biomolekulák Raman-spektroszkópiával közvetlenül is érzékelhetők. Ez lehetővé teszi a DNS, a fehérjék, a lipidek és a szénhidrátok további kutatását. Az orvostudományban a Raman-spektroszkópiát a daganatok diagnózisának javítására használják. Az enchondromát és a chondrosarcomákat, a pajzsmirigyrákot, a vastagbélrákot, a prosztatarákot és még sok más könnyen beszerezhető biológiai minták (szérum, vér, nyál, vizelet, sperma stb.) Raman-analízisével határozták meg [15,17,37]. A 7. ábrán néhány biológiai minta Raman-spektruma látható, amely nem csak az orvostudomány számára fontos, hanem például a bűnügyi helyszíneken gyakran előforduló testnedvek roncsolásmentes azonosítására is [38].



**7. ábra:** *Biológiai minták Raman-spektrumai: a) emberi sperma, b) kutyasperma, c) hüvely váladék, d) nyál, e) verejték, f) vér [38]*

A Raman-spektrumok segítségével több patológiai elváltozást és fertőzést is azonosíthatunk egyszerre. A Raman-spektroszkópia fontos szerepet játszott a COVID-19 elleni küzdelemben, nagy mennyiségű mintában, nagy sebességgel azonosította és jellemezte a betegséget [15,17,37].

A fémek szerepe a mai társadalomban egyre fontosabbá válik, de a mindennapi életünkben jelen lévő fémek és fémtartalmú vegyületek növekvő mennyisége potenciális környezeti problémákhoz is vezethet. Figyelemre méltó a fémtartalmú vegyületek és anyagok talajba és talajvízbe való kimosódása; ezáltal egyre nagyobb mennyiségű fémion található a növényekben, állatokban és az ivóvízben. Ez potenciálisan érintheti az embert, mivel a fémionok véráramba kerülése neurológiai betegségekhez, sejtkárosodáshoz és ontogenezishez vezethetnek [39]. Másrészt a fémionok számos biológiai folyamatban játszanak fontos szerepet, ezért az utóbbi évtizedekben egyre nagyobb figyelmet kapott a bioligandumokban lévő fémkomplexek vizsgálata. A peptidok és aminosavak esszenciális és toxikus elemekkel való kölcsönhatásának vizsgálata különösen népszerű téma a biokémiában, mivel a fehérjék a fémionok fő kötőhelyei a biológiai rendszerekben. Ezért elengedhetetlen ezen fémionok és fehérjék kapcsolatának további vizsgálata, valamint a kialakult fémkomplex hatékony, gyors és egyszerű detektálása és azonosítása, amire megoldást nyújthat a Raman-spektroszkópia [40].

Mivel roncsolásmentes, precíz és gyors, a Raman-spektroszkópiát gyakran használják az ásványtanban különböző minták hatékony elemzésére. Egy ásványtani minta Raman-analízise lehetővé teszi az elemzett minta pontos, felületi, sőt esetenként háromdimenziós leképezését is. Ezért gyakran használják ékszerek, ásványok, műalkotások és műtárgyak elemzésére.

A kulturális örökség vizsgálata egy egyre inkább teret nyelő terület, amely egyesíti a művészetet és a tudományt, és részben Raman-spektroszkópiát használ. Egyre több múzeum használ, sőt vásárol Raman-mikroszkópot a műkincsek vizsgálatának céljából. A roncsolásmentes Raman-analízist számos értékes műtárgy, festmény festékeinek és szobor öregedésének és kopásának elemzésére használják [41,42].

Az iparban a Raman-spektroszkópia minőségellenőrző eszközként is használható a vegyi anyagok kristályosodásának nyomon követésére, illetve azok minőségének vizsgálatára. További területek pedig a következők: élelmiszeripar, hal-, hús- és italgyártás termékeinek gyors ellenőrzésére, környezet- és hulladékfelügyelet [43].

A Raman-spektroszkópia még az űrbe is eljutott. A Perseverance Rover felépítését a 8. ábra mutatja be, amely 2021 februárjában landolt a Marson, két Raman-műszerrel van felszerelve: SuperCam és SHERLOC (Scanning Habitable Environments with Raman and Luminescence for Organics and Chemicals) [37].



**8. ábra:** *Perseverance Rover* [44]

#### 1.1.4. A Raman-spektroszkópia előnyei és hátrányai

A Raman-spektroszkópia egy nagyon sokoldalú módszer számos előnnyel:

- Lényeges minta-előkészítést nem igényel; minden típusú minta könnyen elemezhető.
- Roncsolás mentes anyagvizsgálati módszer.
- Nagy felületi felbontás ( $\approx 0,5 \mu\text{m}$ ) érhető el vele.
- Kevés minta szükséges ( $\approx 10^{-9}$  l vagy  $\approx 10^{-12}$  g) az elemzéshez.
- Az üveg, mint hordozó, csak ritkán zavarja a Raman-spektrumot, így a hagyományos optikai eszközök alkalmasak a Raman-spektroszkópia számára, az egyszerű tartozékok könnyen alkalmazhatók Raman-mérésekhez, mint például hőmérséklet- és nyomáscellák, reaktorok in situ kísérletekhez, optikai szálak távelemzéshez.
- Szilárd anyagok, porok, folyadékok és gázok tárolására használt üvegek, mint például fiolák vagy kapilláris csövek, lezárható műanyag, kvarc, sőt borostyán tartály is használható elemzés közben.
- A víz Raman-spektruma gyenge, ami lehetővé teszi a vizes oldatok vizsgálatát.
- A teljes rezgésspektrum  $5 \text{ cm}^{-1}$ -től  $4500 \text{ cm}^{-1}$ -ig könnyen felvehető, amely a kis és nagy hullámszámú rezgésekről is ad információt.
- A szabványos Raman-rendszerek lehetőséget kínálnak a Raman- és a fotolumineszcencia-mérések rögzítésére ultraibolya (UV), látható (VIS) és közeli infravörös (NIR) tartományban történő besugárzás hatására.
- A Raman-spektrumok általában könnyen értelmezhetőek, az alapvonal pedig meglehetősen egyenletes (ha nem történik fluoreszcencia), ami a technikát nagyon hatékonyá teszi a szerkezeti jellemzéshez.
- Bizonyos esetben a kvalitatív elemzések mellett kvantitatív elemzés is lehetséges.

Alapvetően a Raman-spektroszkópiának főbb hátrányai közül kiemelkedő az, hogy a fény-anyag kölcsönhatás során a rugalmatlan szórás hatáskeresztmetszete nagyon kicsi, ebből kifolyólag a Raman-szórás rendkívül gyenge. Ha számszerűsítjük a Raman-szórás hatáskeresztmetszetét az  $\sim 10^{-31}$  cm<sup>2</sup>; míg az infravörös elnyelés és a fluoreszcencia hatáskeresztmetszete rendre  $\sim 10^{-18}$  cm<sup>2</sup>;  $\sim 10^{-15}$  cm<sup>2</sup>. Ennek eredményeként a technika bonyolult módszerek bizonyult alacsony koncentrációjú (1 m/m% alatti) keverékek és fluoreszkáló anyagok vagy fluoreszkáló szennyeződések tartalmazó minták elemzésekor, mivel a nagy fluoreszcencia háttér erősen zavarja a Raman-jelet. Szerencsére az új Raman-rendszerek több gerjesztő lézerforrással vannak felszerelve, és lehetővé teszik a fluoreszcencia elkerülését. Illetve a Raman-jel növelésére rendelkezésre áll a felületerősített Raman-szórás alapján működő spektroszkópai módszer is. Legújabb technológiai fejlesztéseit sikeresen alkalmazták számos területen, ahol a vizsgálni kívánt minta mennyisége igen csekély, továbbá magát a jelenséget is szerteágazó kutatások és fejlesztések kísérik a módszer hatékonyságának maximalizálása érdekében [24, 27].

## 1.2. Felületerősített Raman-szórás (SERS)

Az előző fejezetben láthattuk, hogy a Raman-spektroszkópiának számos előnye van, de több hátránya is ismert: gyenge a kölcsönhatás hatáskeresztmetszete, zavaró fluoreszcenciajel jelenhet meg, illetve bizonyos anyagoknak kicsi vagy nincs is Raman-aktivitása [43].

A felületerősített Raman-szórás (SERS) alapján megvalósuló spektroszkópiát évtizedek óta használják a folyamat érzékenységének növelésére [43]. A SERS jelenséget először 1974-ben figyelték meg Fleischmann és munkatársai [3], akik váratlanul nagy Raman-jeleket figyeltek meg, amikor érdesített ezüstelektrodán adszorbeált piridint tanulmányoztak [45]. A piridin Raman-jele megnőtt, amit az ezüst felület okozott. További tanulmányok és kutatások igazolták, hogy a SERS-hatás elsősorban a nanoméretű strukturált fémeknél/fémfelületeknél figyelhető meg. A gerjesztő fény a fém felületén lokalizált felületi plazmonokat kelt, amelyek erős lokális elektromágneses mezőket generálnak, és ezek a vizsgálni kívánt analit Raman-jeleinek több nagyságrenddel történő felerősítését eredményezik. A felfedezése óta eltelt körülbelül 50 év alatt a SERS-kutatás és a technológia aktív területté nőtte ki magát, de további erőfeszítésekre van szükség ahhoz, hogy analitikai és kereskedelmi termékekben rutinszerűen használható legyen [46].

A SERS, mint módszer egyesíti a Raman-előnyeit: (a) a molekulák ujjlenyomatszerű azonosítása egyedi rezgéseik alapján; (b) roncsolásmentes analízis; (c) a minta minimális előkészítése; (d) biológiai minták mérése, mivel a víz spektruma meglehetősen gyenge; (e)

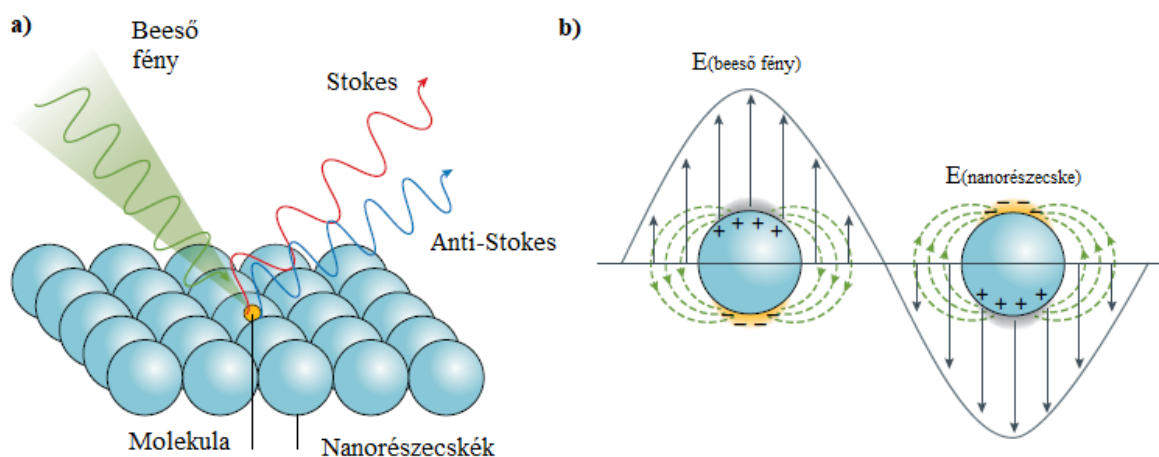
különböző analitok egyidejű kimutatása; (f) lehetőség a lokális elemzés elvégzésére hordozható műszerekkel, mindezeket nagy érzékenységgel, amely bizonyos esetekben akár egyetlen molekula kimutatását is lehetővé teszi [45,46].

### *1.2.1. A SERS mechanizmusa*

A SERS korai szakaszában számos (feltételezett) mechanizmusról számoltak be a kutatók [47-50]. Ma már elfogadott tény, hogy a SERS-hatáshoz a lokális elektromágneses erősítés (EM) és egy úgynevezett kémiai erősítés (CE) járul hozzá [46].

Elméletileg az EM a vizsgált molekulától független, míg a CE analitfüggő. A legtöbb SERS-erősítéshez nagyobb mértékben járulnak hozzá az EM-mechanizmusok, illetve a nanoméretű nemesfém felületek paraméterei.

A nanostruktúrák különböző előállítási módszerei ismeretesek, amelyekkel a részecskék több tulajdonsága is hangolható. Ezeket a módszereket egy későbbi fejezet tárgyalja. Ezek a fémrészecskék nanoméretűek (10-100 nm), egyedi tulajdonságaik miatt kölcsönhatásba léphetnek a gerjesztő fényel. A fém nanorészecskék kis mérete különleges, fényindukált elektromos polarizációt tesz lehetővé a felületi elektronjaik számára. Ezen elektronok kollektív rezgését, amelyet a fényhullám váltakozó elektromos mezeje kelt, lokalizált felületi plazmon-rezonanciának (LSPR) nevezzünk. Ha egy adott frekvencián a plazmonok rezgése rezonáns a fényel, és a fém nanostruktúrán abszorbeáljuk a vizsgálni kívánt molekulát, akkor a felületi plazmonok által keltett elektromágneses tér a Raman-szórt fotonok intenzitását erősíti. Tehát a fém nanorészecskékben lévő plazmonok lokálisan erős fényindukált elektromos tere okozza a Raman-jelek intenzitásának növekedését. Ezt a folyamatot mutatja be a 9. ábra [51].



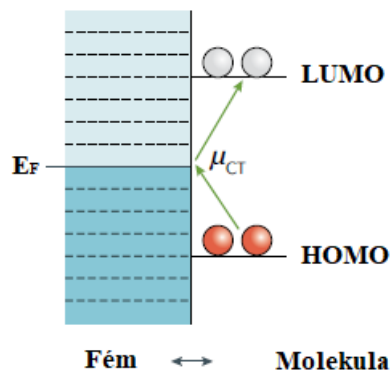
**9. ábra:** A SERS és mechanizmusa. a) Nanostrukturált fémrészecskékre adszorbeált molekulák erősített Raman-szórása, amely a beeső fénynél alacsonyabb (piros, Stokes-szórás) vagy magasabb (kék, anti-Stokes-szórás) frekvenciájú szórt sugárzást eredményez. b) A lokalizált felületiplazmon-rezonancia hozzájárulása a felületerősített Raman-szóráshoz.  $E$  az elektromos mező; a fémfelületnél a nagy intenzitású elektromos mező lehetővé teszi a Raman-jel erősítését [52]

A felületi plazmonok mellett meg kell említeni, hogy a tárgyalt fém nanorészecskéknél úgynevezett bulk-plazmonjaik is vannak. A bulk-plazmonok akkor jönnek létre, - hasonlóan a felületi plazmonokhoz - ha a beeső elektromágneses hullám frekvenciája megegyezik az anyagban lévő bulk-plazmonok frekvenciájával. A legtöbb fém esetében ez a frekvencia az elektromágneses sugárzás ultraibolya tartományába esik, energiájuk pedig 5-15 eV közé esik, ami függ a fém sávszerkezetétől. A bulk-plazmonok energiáját az energiavesztési spektroszkópiával (EELS) a legegyszerűbb meghatározni. Mivel a SERS mérésekhez főleg a láthatófény tartományában működő lézereket használnak, amelyeknek energiája jóval kisebb, mint a fent említett érték, így csak a felületi plazmonok gerjesztődnek [53, 54].

Az EM hozzájárulása mellett fontos a kémiai hozzájárulás is. A CE a vizsgálni kívánt, a felületen adszorbeálódott molekula és fémfelület közötti töltésátvitelből (CT) ered, ami a megváltoztatja a molekula polarizálhatóságát és a Raman-szórás erősítését eredményezi [55].

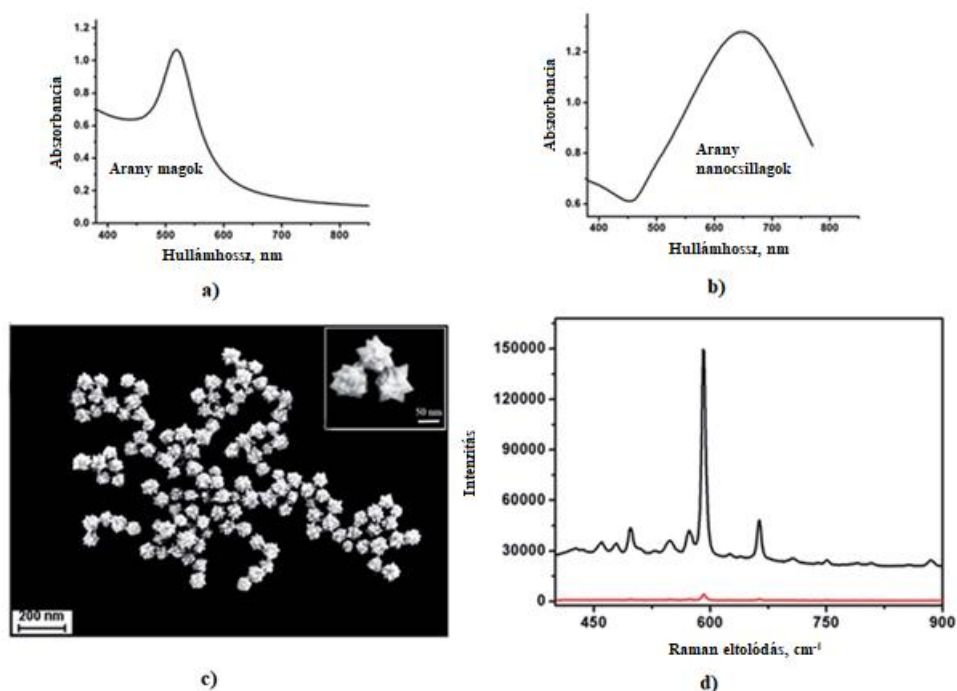
A SERS esetében a kémiai hozzájárulás különösen fontos azoknál a fémfelületeknél, amelyek felületi plazmonrezonancia-abszorpciója messze van az általánosan használt lézergeszteségi hullámhosszaktól [56,57]. Az általános Raman-sávok elektromágneses mechanizmuson alapuló erősödésével ellentétben a Raman-sávok szelektív erősítése a CT hozzájárulásának köszönhetően kimutatható. A CT iránya nagymértékben függ a fém nanostrukturától, a molekulától és a lézer energiájától. Tehát a CT iránya, molekula-fém vagy fém-molekula útvonalon valósulhat meg. Amikor egy molekula egy fémfelületre

adszorbeálódik, a fotoindukált elektronok vagy a molekula legnagyobb energiájú betöltött molekulapályájáról (HOMO) gerjeszthetők és a fém Fermi-szintjére vihetők át, vagy a fém Fermi-szintjéről gerjeszthetők és átvihetők a molekula legkisebb energiájú be nem töltött molekulapályájára (LUMO). A CT folyamatát a 10. ábra szemlélteti. A két mechanizmus általában nem zárja ki egymást, hanem együtt járulnak hozzá az erősítéshez [52].



**10.ábra:** Töltésátviteli (CT) hozzájárulás a SERS-hez fém-molekula határfelületen; a nyilak mutatják a CT irányait. A piros és fehér körök a molekulapályákon levő elektronokat jelölik.  $E_F$  - Fermi szint; HOMO - legnagyobb energiájú betöltött molekulapálya; LUMO - legkisebb energiájú be nem töltött molekulapálya [55]

Wang és munkatársai egyik munkájukban [58] tüdőrákos sejteket tanulmányoztak, amely során egy kísérleti szakaszban SERS-méréseket is végeztek. A mérések során arany nanocsillagokat használtak. A nanorészecskéket kémiai szintézissel állították elő. A részecskék méretét, alakját, optikai tulajdonságait és SERS erősítés képességét előzetesen tanulmányozták még a tényleges méréseket megelőzően. A vizsgálatok eredményeit a 11. ábra foglalja össze. A kutatók a SEM-vizsgálat mellett, meghatározták a nanostruktúrák elnyelési hullámhosszát, amely körülbelül 520 nm, ez látható a 11a. ábrán. A 11b. ábrán az elnyelési spektrum erős elnyelési csúcsa arany nanocsillag kolloid diszperzió esetén 650 nm körül van, ezt a vöröseltolódást főként a nanocsillagok ágai, bonyolultabb szerkezete okozza. A SEM képek alapján elmondható, hogy minden arany nanocsillag körülbelül 100 nm nagyságú, ami egy tömör arany magból (70 nm) és sok rövid, szabálytalan ágból (8-10 nm) áll. A SERS mérésekhez nátilék A (NBA) analitoldatot használtak. A 10d. ábra mutatja be a SERS mérés eredményeit, amelyen jól látható a két Raman-spektrum közötti különbség: az arany nanocsillag kolloid diszperzió SERS-spektruma NBA-val keverve (fekete vonal) és az NBA-oldat Raman-spektruma (piros vonal). Az arany nanocsillagok által elért erősítési tényező nagysága pedig  $7,5 \times 10^4$  volt.



**11. ábra:** a) Arany magokat tartalmazó oldat és b) arany nanocsillag kolloid diszperzió UV-VIS-NIR spektruma. c) SEM képek arany nanocsillagokról, d) Az arany nanocsillag kolloid diszperzió SERS-spektruma NBA-val keverve (fekete vonal) és az NBA-oldat Raman-spektruma (piros vonal) [58]

### 1.2.2. A SERS erősítési tényező meghatározása

A SERS-sávok hozzárendelésével kapcsolatban, ha a célmolekula ismert, akkor az egyes rezgési módusok azonosításához hivatkozhatunk annak normál Raman-spektrumára vagy korábbi irodalmi adatokra. A SERS-spektrumok értékelése nem csak a vizsgált molekula azonosítását teszi lehetővé, hanem információt szolgáltat az alkalmazott SERS-hordozó erősítő képességéről is. Ilyen esetekben erősítési tényezőt (EF) szoktunk számolni.

Az EF meghatározása különösen a SERS analitikai alkalmazása szempontjából fontos. A SERS EF-nek különböző típusai ismeretesek, ilyen például az egymolekula EF (SMEF), az analitikai EF (AEF) és a SERS hordozó fokozó tényezőjét (SSEF).

Az egymolekula-erősítési tényező (SMEF), egy adott molekula egy adott ponton mérhető SERS-erősítést adja meg. Ezt a számítási módot inkább az erősítés nagyságának elméleti becslésére alkalmazzák, mivel a hordozó geometriája és a lézer pontos helyének meghatározása bonyolult. A SMEF meghatározását az (2) egyenletben bemutatott módon számolhatjuk ki:

$$SMEF = \frac{I_{SERS}^{SM}}{\langle I_{RS}^{SM} \rangle} \quad (2)$$

A  $\langle I_{RS}^{SM} \rangle$  a molekulánkénti átlagos Raman-jel nem SERS körülmények mellett mért intenzitása (referencia minta). Az  $I_{SERS}^{SM}$  ugyanezen kísérleti körülmények és előkészítési feltételek mellett a SERS-hordozón mért egy molekula SERS-jel intenzitásának felel meg.

Egyaránt fontos meghatározni egy adott SERS hordozó erősítési tényezőjét (SSEF), amely segítségével összehasonlíthatjuk az átlagos SERS-erősítéseket a különböző hordozókon. Szélesebb körben használt meghatározása az átlagos SERS-hordozó EF-nek a következő egyenlet alapján lehetséges:

$$SSEF = \frac{I_{SERS}/N_{Surf}}{I_{RS}/N_{Vol}} \quad (3)$$

Ahol  $N_{Vol}$  a nem SERS körülmények között végzett Raman-mérések során a szórási térfogatban (vol) adszorbeált molekulák átlagos száma,  $N_{Surf}$  a SERS mérések során a szórási térfogatban az adszorbeált molekulák átlagos száma. Ebben az esetben az  $I_{RS}$  a Raman-jel nem SERS körülmények mellett mért intenzitása (referencia minta).  $I_{SERS}$  ugyanezen kísérleti körülmények és előkészítési feltételek mellett a SERS-hordozón mért SERS-jel intenzitásának felel meg.

Az analitikai EF számítása az ismert koncentrációjú analitok SERS-erősítéséhez kapcsolódik. Ebben az esetben a jel intenzitásánál az a probléma, hogy az összes analitnak hozzá kell járulnia a végső SERS-jelhez. Viszont azt a tényt nem veszi figyelembe, hogy a SERS egyfajta felületérzékeny jelenség, és csak a felületen adszorbeált molekulákból származó jel az, ami hozzájárul az erősítéshez.

Az eddig bevezetett fogalmakkal a SERS-hordozók csak bizonyos jellemzésére adnak lehetőséget. Sok alkalmazás esetében azonban leginkább az a kérdés lenne a fontos, hogy adott kísérleti körülmények között mennyivel lehet intenzívebb jelet várni a SERS-től a normál Raman-méréshez képest. Ennek megválaszolására bevezetjük a SERS EF egy másik definícióját, az úgynevezett analitikai erősítési tényezőt (AEF), amely meglehetősen intuitív és különösen releváns az analitikai kémiai alkalmazások számára. Az AEF kiszámítását a (4) egyenlet írja le:

$$AEF = \frac{I_{SERS}/N_{SERS}}{I_{RS}/N_{RS}} \quad (4)$$

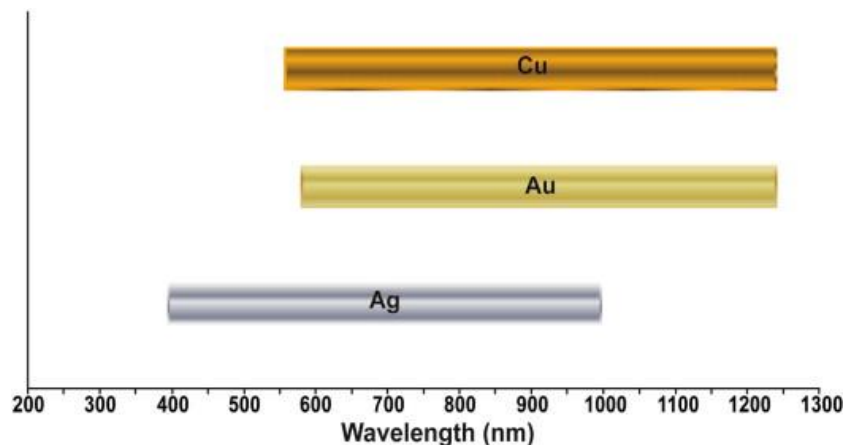
Ahol a  $N_{RS}$  az adszorbeált molekulák átlagos száma a szórási térfogatban Raman-mérésnél (nem SERS körülmények között mért), az  $N_{SERS}$  pedig az adszorbeált molekulák átlagos száma a szórási térfogatban a SERS-kísérleteknél. Mivel kísérleteinkben azt feltételezzük, hogy

az analit csak vékony réteg formájában volt jelen a hordozó felületén (mind a SERS-, mind a referenciaméréseknél), ezért valószínű, hogy  $N_{SERS} \cong N_{RS}$ , így az EF a mért intenzitások arányaként egyszerűsíthető, Kivétel amikor az  $N_{SERS} \neq N_{RS}$ , akkor a koncentrációkat is figyelembe kell venni, és a (4) egyenlet nem egyszerűsödik le [59].

Munkám során a SERS erősítést az analitikai erősítési tényező (AEF) alapján számoltam ki minden analit oldat és vizsgálati szakasz esetében, amelyet a (4) egyenlet definiál, továbbá a későbbiekben EF-ként hivatkozom az analitikai erősítési tényezőre.

### 1.2.3. SERS-hordozók előállítása

Napjainkban már egyértelmű, hogy a SERS-erősítés a célmolekula és a SERS-hordozó közötti kölcsönhatástól függ. Ezért a megfelelő SERS-hordozó elkészítése kulcsfontosságú. A SERS-erősítéshez főként az EM járul hozzá, amely nagymértékben függ a hordozótól. Jellemzően fémeket, például aranyat (Au), ezüstöt (Ag) és rézet (Cu) használnak a nanostrukturált SERS hordozók előállításához. A réz alkalmazása azonban korlátozott, mivel a réz levegőn állva oxidálódik, ezzel szemben az arany és az ezüst a rézhez képest levegőn nagyobb stabilitással bír így szélesebb körben alkalmazzák, és ami a legfontosabb, hogy LSPR-frekvenciájuk az ultraibolya-látható-közeli infravörös tartományban van (alakjuktól, méretüktől és elrendezésüktől függően), ahol a legtöbb Raman-mérés történik. A 12. ábra szemlélteti az arany, a réz és az ezüst plazmonrezonancia-hullámhossz tartományait [60].



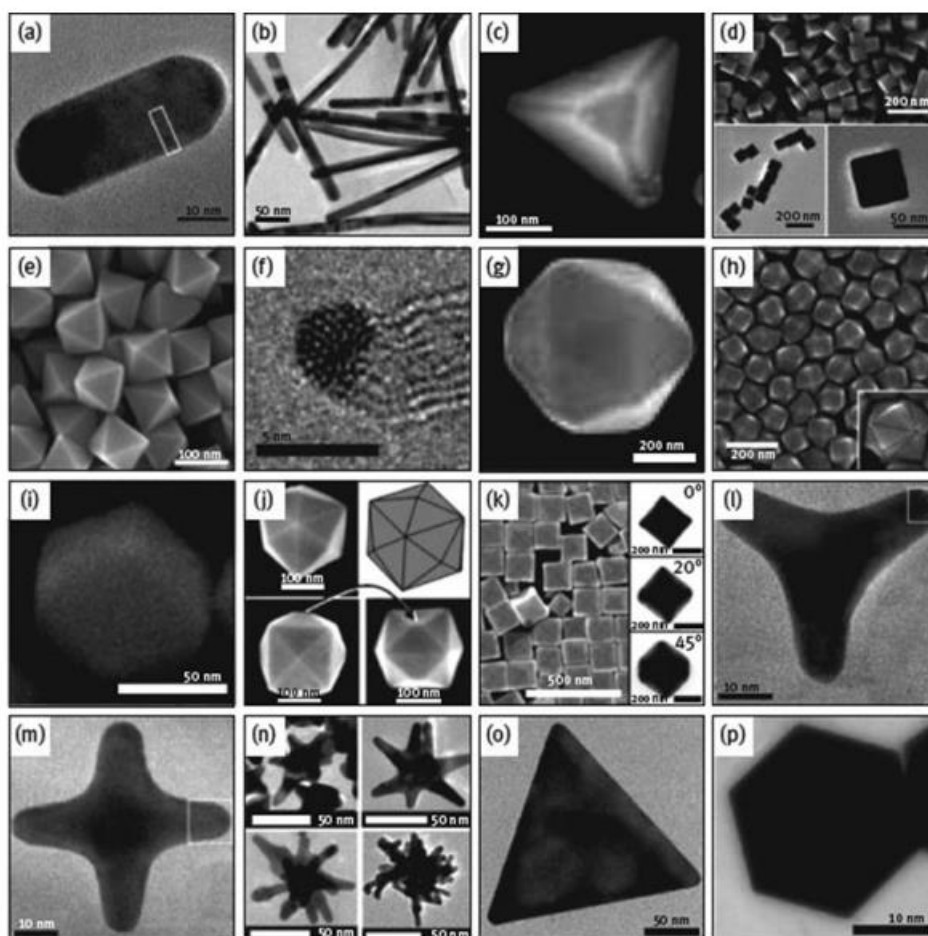
**12. ábra:** A réz, az arany és az ezüst plazmonrezonancia-hullámhossz tartományai [61]

A fém nanostrukturák mellett meg kell említenem a nem fémes grafént is. A grafén számos érdekes tulajdonságának köszönhetően az anyagtudomány, azon belül is a plazmonika, egyre szélesebb körben kutatott anyaga. A fém nanorészecskék bizonyos hátrányaira is megoldást jelent a grafén, ilyen a levegőn való stabilitás és biokompatibilitás. A grafénról

ismeretes, hogy mérsékelten erősíti a Raman-jeleket. Az erősítés mértékét tízes nagyságrendű erősítési tényező jellemzi [62-64]. A viszonylag még újdonságnak számító gyűrt grafén viszont sokkal nagyobb mértékű erősítést mutatott néhány új kutatás szerint [65]. A mérések során  $10^5$  nagyságrendű erősítést értek el, valamint az analit oldat  $10^{-15}$  M koncentrációjú oldatát még sikeresen detektálták. Ez figyelemre méltó érzékenység és kimutatási határ egyben [65].

A SERS-hordozóként alkalmazott nanostruktúrák kutatására nagy hangsúlyt fektetnek napjainkban, amit az előállítási paraméterek különböző típusú optimalizálási lehetőségei indokolnak, mivel a maximális erősítés nagysága nagymértékben függ a fém nanostruktúrák alakjától, méretétől és elrendezésétől [66]. A SERS hordozók tetszőlegesen három kategóriába sorolhatók: (1) fém nanorészecskék kolloidokban; (2) szilárd hordozóra rögzített fém nanorészecskék; (3) közvetlenül szilárd hordozókon előállított fém nanoszerkezetek, amelyeket nanolitográfias módszerekkel és kémiai szintézissel állítanak elő [67].

Ahogy a nanotechnológia területe jelentősen fejlődött, nagymértékben megnőtt a különböző méretű, formájú, tulajdonságú fém nanorészecskék fejlesztése a SERS alkalmazásokhoz. A fém nanorészecskék szintetizálásának legegyszerűbb módja a kémiai redukció, amellyel fémkolloidok állíthatók elő, amiket a 13., és a 14a. ábra is bemutat. Egy fém-prekurzort, például ezüst-nitrátot kémiai módon redukálnak egy redukálószerrel, például nátrium-bór-hidriddel vagy nátrium-citráttal, hogy ezüst nanorészecskéket hozzanak létre. Az idő és a hőmérséklet egyaránt szerepet játszik a részecskék méretének és szerkezetének hangolásában, és gyakran felületaktív anyagot is adnak a keverékhez, hogy megakadályozzák a részecskék aggregációját, vagy hogy a reakció más, a gömb alaktól eltérő morfológiájú nanorészecskéket (NP-eket) eredményezzen. A méretet és alakot szabályozó egyéb tényezők a kiindulási anyagoktól és azok megfelelő koncentrációjától, a reakció pH-jától és a reakció során jelen lévő felületaktív anyag típusától függenek. A kolloid fém nanorészecskék a gömbökön túl számos más geometriai alakban jelennek meg, például tüskés nanorészecskék, nanocsillagok, nanoszálak, nanorudak, amelyek morfológiája hozzájárul a SERS erősítéséhez. A különböző alakú nanorészecskéket a 13. ábra foglalja össze [50-52].

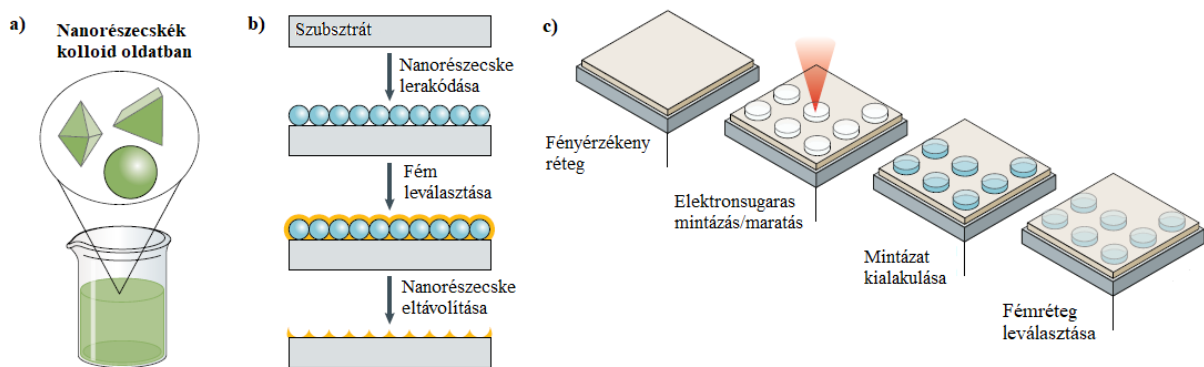


**13. ábra:** Nemesfém NP alakzatok főbb típusai [68]

Litográfia útján is létrehozhatóak különböző SERS-aktív hordozók. Ezek között kiemelendő a nanogömb-litográfia, amely során jól kontrollálható módon, a nanogömböket rendezett monoréteggént egy hordozóra választjuk le, ekkor egy ún. maszkot kapunk. A következő lépésben a szerkezet kialakításához szükséges fémből vékonyréteget választunk le úgy, hogy a nanogömbök közötti hézagokat kitöltik fém vékonyréteggel. Végül pedig, a teljes hordozót szerves oldószerben ultrahanggal kezeljük, hogy eltávolítsuk az aggregált nanogömböket. Ez rendezett, nanoméretű háromszögeket hagy maga után a korábban szorosan egymásra épült nanogömbök közötti üregekben, amit a 14b. ábrán láthatunk. Bár ez a technika viszonylag gyors és olcsó, az üregmintázatot, így a nanorészecskék méretét és elrendezését korlátozza a nanogömbök önszerveződése, ami nem mindig tökéletes [50-52].

SERS-aktív hordozók létrehozására fotolitográfiát is alkalmaztak korábban, a tipikus fotolitográfia térbeli felbontása azonban nem elegendő a gyakorlati SERS-alkalmazásokhoz, amelyeknél nanoméretű szerkezeteket szeretnénk létrehozni. Továbbá a fém nanoszerkezetek előállításánál megemlíthető az elektronsugaras litográfia [69] és a fókuszált ionsugaras

litográfia [70] amely technikák fókuszált sugarat használnak, amivel tökéletes mintázott, rendkívül rendezett, különböző formájú, méretű és elrendezésű fém nanostruktúrákat lehet létrehozni. Ezek a szigetszerkezetek nagymértékben különböznek a kolloid fém részecskéktől, mivel nem kell őket semmilyen közegben szuszpendálni, nem tartalmaznak felületaktív anyagokat, viszont fennáll a lebomlás vagy oxidáció veszélye védőbevonat hiányában. Ezenkívül az elektronsugaras litográfia és a fókuszált ionsugaras litográfia, - amit a 14c. ábra mutat be- időigényes és nem hatékony, mivel mindkettő megköveteli minden egyes nanoszerkezet külön-külön történő elkészítését, és csak korlátozott méretű SERS-aktív felület keletkezik a hordozón [52].



**14. ábra:** A felületerősített Raman-szóráshoz használt nanoszerkezet-előállítási módszerek. a) Különféle méretű és morfológiájú oldatfázisú kolloid nanorészecskék b) Önszerveződő alapú litográfia, amelyben szilícium-dioxid vagy polimer nanogömböket használnak sablonként a nemesfém leválasztás előtt c) Elektronsugaras litográfia sematikusan ábrázolva [71]

#### 1.2.4. A SERS-hatást befolyásoló tényezők

A reprodukálható SERS mérések fontos eszköze és egyben feltétele, a jól szabályozható nanostrukturált jellemzőkkel rendelkező SERS hordozók előállítása, továbbá a SERS erősítés maximalizálása. A nanotechnológia fejlődésével változatos módszerek ismeretesek a SERS hordozók előállítására, amelyek közül párat az előző fejezetben bemutatam. A kolloid oldatok esetében, a felületeik általában véletlenszerű nanoszerkezetű tulajdonságokkal rendelkeznek, széles méret- és alakeloszlással. Emellett a szilárd hordozókon, különböző technológiákkal előállított nanostruktúrák reprodukálható előállítása sokkal kényelmesebb a kolloidokhoz képest [46]. A maximális SERS-erősítést biztosító optimális paraméterekkel rendelkező hordozók előállításához meg kell érteni, hogy a nanorészecskék anyaga, mérete, alakja és elrendezése, vagy a gerjesztő lézer hogyan befolyásolja a SERS folyamat hatékonyságát [72-74].

Napjainkban a kutatások középpontjában a SERS hordozók szerkezeti tulajdonságai [75,76] és az optimális erősítési tulajdonságokkal rendelkező hordozók fejlesztése és gyártása áll [42]. Egy hordozó SERS erősítési tényezője (SERS EF) több tényezőtől függ, mint például a nanorészecskék tulajdonságaitól (anyag, alak, méret, a részecskék közötti távolság és általános elrendezés) vagy a gerjesztő fényforrás hullámhosszától [66]. Ezek a tényezők nem triviális módon fonódnak össze, hanem összetett rendszert alkotva, amely elengedhetetlen a legjobb SERS-teljesítmény optimalizálásához. A nanorészecskék méretének a SERS teljesítményre gyakorolt hatását korábban már többen is vizsgálták [76-81]. Hong és munkatársai [77] kimutatták, hogy a legmagasabb SERS EF értéket, a kémiai szintézis útján előállított gömb alakú arany kolloid oldat használata mellett érték el, amelyben az arany nanorészecskék mérete  $\sim 50$  nm átmérőjű volt. Ezzel a kolloid oldattal és a 4-NTP analit oldat használatával akár  $1,8 \times 10^6$  nagyságú erősítést is el tudtak érni. Míg Stamplecoskie és munkatársai [75], ezüst kolloid oldat SERS erősítő hatását vizsgálták, és az eredményeik alapján a legjobbnak az 50 nm nagyságú ezüst nanorészecskéket tartalmazó kolloid oldat bizonyult, amellyel  $2,5 \times 10^5$  nagyságú erősítést értek el R6G analit oldat felhasználása mellett. Más tanulmányokban az optimális részecskeméret nagyobb volt, 60-100 nm közé esett [78,80]. Általában, ha a részecskék túl kicsik, mind a tényleges vezetőképesség, mind a szórési tulajdonságok csökkennek, ami várhatóan csökkenti a SERS hatékonyságát [78]. A részecskeméret növekedésével a SERS hatás növekszik, mivel nagyobb szórési központként működnek. A fém nanorészecskék méret hatásának vizsgálata mellett nem vizsgálták párhuzamosan a nanostruktúrák elrendezésének, vagyis a részecskék közötti távolság hatását.

Más kutatásokban a részecskék közötti távolságot is vizsgálták, mivel az is befolyásoló tényezőként hat a SERS erősítésre [81, 82]. A kutatások eredménye alapján elmondható, hogy minél közelebb vannak egymáshoz a részecskék, annál nagyobb az aktív felületek fajlagos felületi borítottsága, és a forró pontok felületi sűrűsége (a részecskék közötti kapcsolt plazmonok miatt megnövekedett közeltér-intenzitású területek száma) is nagyobb, ami összességében a SERS hatékonyságának javulását eredményezi [83]. Például 102 nm átmérőjű dimer részecskék esetén, amikor a két részecske között a távolság  $\sim 5$  nm, az erősítés értéke  $\sim 7,6 \times 10^7$  nagyságú, míg 60 nm-nél távolabb lévő részecskék esetén az erősítés értéke csupán  $\sim 5 \times 10^3$  nagyságú [82]. Nagyon kis távolságokon (pl. 1 nm-nél kisebb) a kvantummechanikai jelenségek olyan szerepet játszanak, amely korlátozza a lehetséges elérhető térerősségeket [84].

A legtöbb kutatás, vagy csak a részecskék közötti távolság hatását vagy csak a részecskék méretét (kolloid oldatok) vizsgálja, azonban szisztematikus vizsgálatra eddig nem került sor,

amely ugyanazon a kutatáson belül vizsgálta volna mindkét geometriai paraméter hatását [83,85-87].

A nanorészecskék alakjának a SERS folyamatára gyakorolt hatását többen is vizsgálták [88-90]. A kutatások alapján az összetett formájú (pl. hatszög, háromszög, kocka, csillag alakú) anizotróp fém nanorészecskék előnyösek lehetnek az éles széleken lévő intenzívebb EM mezők miatt. Az ilyen változatos alakú nanorészecskék főként kolloid oldatok formájában bonyolult szintézis útján lehet előállítani.

Egy másik fontos szempont a SERS optimalizációja során, hogy a fém nanorészecske lokalizált felületplazmon-rezonancia (LSPR) csúcsának közel kell lennie a gerjesztőforrás vagy a rugalmatlanul szórt fény hullámhosszához. A plazmonikus anyag LSPR hullámhossza a részecske anyagától, méretétől és alakjától függ. Az arany és ezüst esetében a plazmon hullámhossza 500 és 800 nm, illetve 400 és 700 nm között van. Ezenkívül a plazmoncsúcs vöröseltolódást mutat a nanostrukturák méretének és a nanorészecskék közötti távolság növekedésével. Amennyiben a gerjesztési hullámhossz távol esik a hordozó plazmonrezonanciájától, a SERS erősítés csökkenhet [72,83]. Mindezen paraméterek finomhangolása a kulcs a SERS hordozó tulajdonságainak optimalizálásához, ahhoz, hogy maximalizáljuk az erősítési tényezőt.

A SERS folyamatban a nanorészecskék paraméterein (méret, távolság) túl fontos szerepe lehet az analit felülethez való kötődésének. Arra vonatkozóan, hogy az analitok szerkezete esetleg hogyan befolyásolja a SERS hordozók erősítő képességét, az irodalomba nem találtunk tanulmányokat ennek vizsgálatára. Ezért munkám egyik szakaszában két különböző szerkezetű analit hatását vizsgáltam.

A SERS egy felületérzékeny jelenség, tehát a hordozók optimális geometriai jellemzői mellett, fontos aspektus még az analit közelsége a nanorészecskék felületéhez, ami minden alkalmazásban meghatározó szerepet tölt be. Ugyanis a SERS-jelek a nanorészecske felületétől számított 1 nm-en belül elhelyezkedő molekulákból hatékonyan detektálhatók, mivel az elektromos tér intenzitása  $1/d^{12}$ -szeresére csökken a távolsággal [91,92].

## 2. Anyagok és módszertan

### 2.1. SERS hordozók előállítása és jellemzése

A dolgozatom további szakaszaiban a hordozó alapjai és a hordozó alatt a következőket értem:

- Hordozó alapja: Mikroszkóp tárgylemez, amelyre az arany és ezüst vékonyrétegeket párologtattam, majd hőkezelttem, vagy amelyre leválasztottuk a fém nanostruktúrákat.
- Hordozó (SERS hordozó): A hőkezelés után kialakult arany és ezüst nanorészecskéket tartalmazó hordozó.

#### 2.1.1. SERS hordozók előállítása arany és ezüst vékonyrétegek hőkezelésével

A SERS hordozókat termikus vákuumpárologtatással előállított vékonyrétegek hőkezelésével hoztuk létre [93]. A hordozók alapjait mikroszkóp tárgylemezből alakítottuk ki kézi üvegágóval. Ezeket az üveglemezeket EMMI-20HC ultrahangos fürdőben 96%-os etanollal tisztítottuk. Az elpárologtatandó anyag mennyiségét Sartorius Micro M3p félmikroanalitikai mérlegen mértük ki. A szabályozott vastagságú fém vékonyréteget termikus vákuumpárologtatással állítottuk elő. A párologtatás  $10^{-5}$  mbar nyomáson történt. A vékonyrétegek vastagságát Ambios XP-1 profilométerrel mértük meg. A vékonyrétegeket ezután Ar:H prekursor gázzal töltött kemencébe helyezett kvarc üvegcsőben hőkezeltük. A hordozók előállításának paramétereit az alábbi táblázatok (1. és 2. táblázat) foglalják össze, mind a geometriai paraméterek hatásának vizsgálatához, mind az optimalizáláshoz előállított hordozók esetén.

A SERS hordozók előállítását Balázs László hallgatótársam végezte.

**1. Táblázat:** *Hordozók gyártási paraméterei a geometriai jellemzők vizsgálatához*

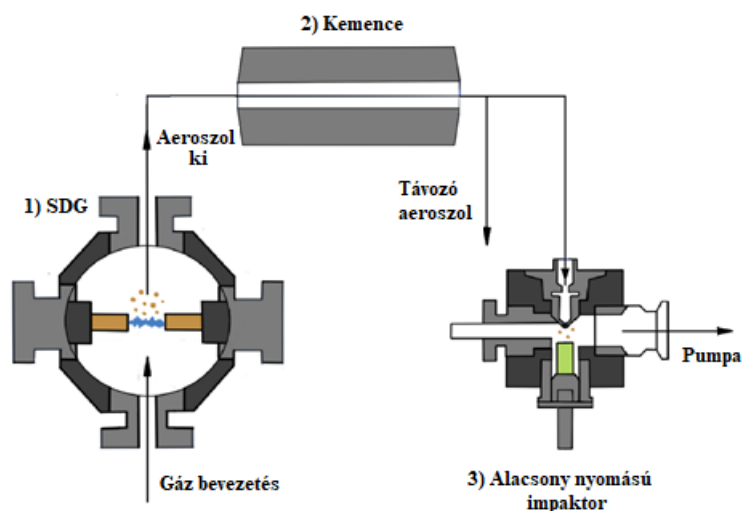
<b>Geometriai paraméterek vizsgálata</b>					
<b>Arany</b>			<b>Ezüst</b>		
<b>Hőkezelés hőmérséklete (°C)</b>	<b>Kiinduló rétegvastagság</b>				<b>Hőkezelés hőmérséklete (°C)</b>
	9 nm	12 nm	15 nm	25 nm	
350	<b>Hőkezelés időtartama (perc)</b> 15, 30, 60, 120				400
450					450
500					500
550					550

**2. Táblázat:** *Hordozók gyártási paraméterei az előállítás optimalizálásához*

<b>Előállítási paraméterek optimalizálása</b>		
<b>Arany</b>		
<b>Hőkezelés hőmérséklete (°C)</b>	<b>Kiinduló rétegvastagság</b>	
	9 nm	12 nm
450	<b>Hőkezelés időtartama (perc)</b> 2, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60	
550		

### 2.1.2. SERS hordozók előállítása ivkiszülés módszerével

Az NP gyártásához használt kísérleti elrendezést a 15. ábra szemlélteti. Az NP-k előállításához szikrakiszülési generátort (SDG) használtunk, amelynek működési elvét egy korábbi tanulmány részletesen leír [94].



**15. ábra:** A kísérleti elrendezés sematikus ábrázolása: az SDG kamra, amelyben az NP generálása történik (1), a csőkemence (2) és az NP-k hordozóra történő lerakásához használt impaktor (3). A nyilak a vivőgáz és az aeroszol áramlását jelzik

Az NP előállítása egy rozsdamentes acél kamrában zajlik. Ebben a kamrában helyezkednek el a vízszintesen és tengelyirányban elhelyezett elektródák (arany, ezüst, arany-ezüst ötvözet). A különböző összetételek eléréséhez használt különböző elektródaconfigurációkat az 3. táblázat részletezi.

A szikrát egy 8 nF-os monolitikus, nagyfeszültségű kondenzátor időszakos töltésével és kisütésével tartottuk fenn.

A keletkezett NP-eket tartalmazó aeroszolt egy 800 °C-ra melegített csőkemencén vezettük át. Az NP-eket ezután mikroszkóp tárgylemezekre helyeztük fel egy alacsony nyomású inerciális impaktor segítségével. Az SDG-kben különböző elektróda anyagokból előállított aeroszolatok eltérő NP-koncentráció jellemzi. Ez azt jelenti, hogy fix mintavételi sebesség mellett a lerakódott részecskék száma az adott minta összetételétől függően változna, ami potenciálisan befolyásolja a minták jellemzőinek összehasonlítását. Az aeroszol teljes NP-koncentrációjában a különböző összetételeknél tapasztalható különbségek figyelembevétele érdekében minden hordozó esetében eltérő lerakódási időt használtunk. Ezeket úgy választottuk meg, hogy minden hordozóra ugyanannyi NP kerüljön a kiválasztott anyagból, mint a tiszta arany NP 10 perces lerakódás alatt. Az egyes hordozó típusok leválasztási idejét, valamint az elektródák konfigurációit az 3. táblázat foglalja össze. Ezek az értékek a különböző összetételű nanorészecskék összkoncentrációjának kondenzációs részecskeszámlálóval (CPC) történő mérésén alapulnak.

Ezeket a hordozókat Dr. Kohut Attila és Horváth Viktória (Szegedi Tudományegyetem, Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék) állították elő.

**3. táblázat:** *Az egyes minták elkészítéséhez használt elektródaconfigurációk és leválasztási idők.*

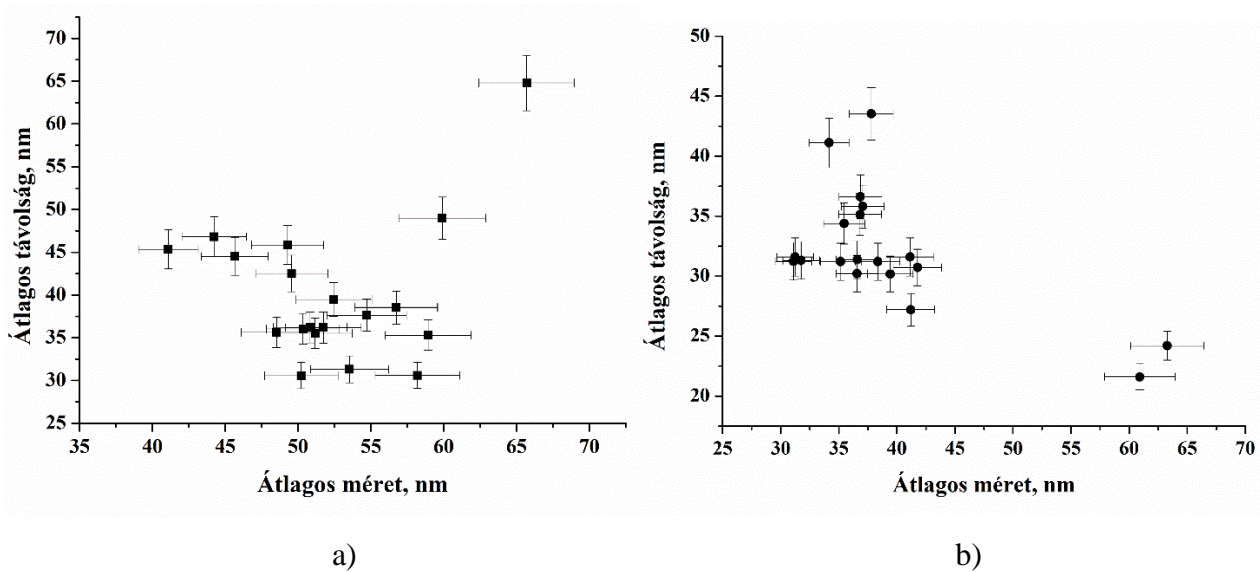
<b>Minta</b>	<b>Elektróda konfiguráció (anód-katód)</b>	<b>Leválasztási idő (perc)</b>
<b>S1</b>	Au-Au	10
<b>S2</b>	Au-Ag	16
<b>S3</b>	AuAg-AuAg	22
<b>S4</b>	Ag-AuAg	27
<b>S5</b>	AgAg	35

### *2.1.3. SERS hordozók paramétereinek vizsgálata.*

A vékonyrétegek hőkezelése révén frissen elkészített hordozókat pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM), majd optikai spektrofotométerrel vizsgáltuk meg. A SEM képeket HitachiS4300-CFE és JEOL JIM-4700 FIB műszerekkel rögzítettük. Minden hordozóról több helyen és nagyításban készültek felvételek. A képeket a National Instruments Vision Assistant szoftvercsomag segítségével értékeltük ki, amivel meghatároztuk a nanorészecskék átlagos átmérőjét (a nanorészecskével azonos, vetített területtel rendelkező kör ekvivalens átmérőjeként definiáltuk), a mérési bizonytalanságot és a méreteloszlását. A méreteloszlás további értékeléséhez az OriginPro 8 szoftvert használtuk. Emellett a részecskék közötti átlagos távolság és annak szórásának meghatározására egy egyedileg megírt Matlab programot használtunk. Az előállított nanorészecskék átlagos méretét, a részecskék közötti átlagos távolságot és szórás értéküket a 16. ábra szemlélteti.

A SEM vizsgálatokat Dr. Csik Attila és Dr. Juhász Laura készítette, az adatok feldolgozásában Szántó Géza és Balázs László segített.

A következő lépés a létrehozott fém nanostruktúrák optikai tulajdonságainak vizsgálata, azok áteresztőképességének és plazmonrezonancia-hullámhosszának meghatározása volt. A méréseket SHIMADZU UV-3600 spektrofotométerrel végeztem el, a mérési tartomány 400-1000 nm közé esett. A minták optikai áteresztőképességét levegőben mértem.



**16. ábra:** a) Az arany nanorészecskék átlagos mérete, méret szórás értékei, átlagos távolság, távolság szórás értékei, b) Az ezüst nanorészecskék átlagos mérete, méret szórás értékei, átlagos távolság, távolság szórás értékei

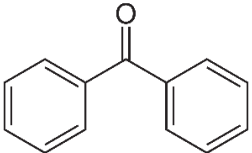
Az **ívkisülés** módszerével készített hordozóknak a morfológiai paramétereit atomerómikroszkóppal (AFM) vizsgáltam meg. Az AFM méréseket AIST-NT Smart SPM AFM mikroszkóppal végeztem. Minden mintán  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ -es területet szkenneltem öt különböző ponton. Ezekből az AFM képekből minden mintára meghatároztuk az átlagos felületi érdességeket. Itt az átlagos felületi érdesség ( $R_a$ ) a profilmagasság átlagos értéktől való eltérésének abszolút értékének számtani átlaga, egy értékelési hosszon belül:  $R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |Z(x)| dx$ , ahol  $L$  a kiértékelési hossz és  $Z(x)$  a profilmagasság függvény. Továbbá a kialakult nanostruktúrák összetételét energiadiszperzív röntgen (EDX) spektrometriával, illetve induktív csatolású plazma tömegspektrometriával (ICP-MS) határoztuk meg, a [95] -ben leírt pontos protokoll szerint.

Az EDX vizsgálatokat Dr. Juhász Laura készítette, az ICP-MS mérések pedig a Szegedi Tudományegyetemen készültek.

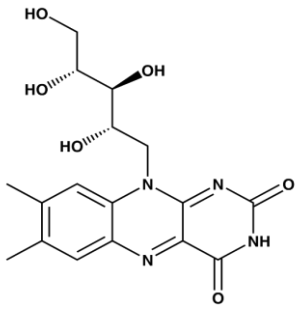
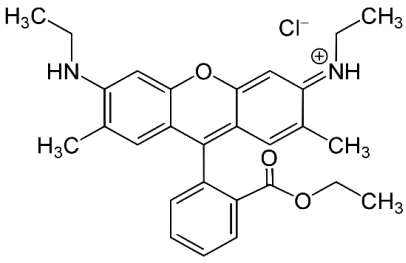
#### 2.1.4. Hordozó előkészítése a SERS mérésekhez

A SERS mérések során a **vékonyrétegek hőkezelése** által előállított fém nanorészecskék geometriai paramétereinek és a felhasznált analit hatását vizsgáltam meg. Az előkészítéssel kapcsolatos lépéseket az 4. és 5. táblázat tartalmazza.

**4. Táblázat:** A hordozók SERS mérésekhez való előkészítésének adatai a geometriai paraméterek vizsgálatához

Geometriai paraméterek vizsgálata		
Használt oldat	Koncentráció	Analit abszorbeálása a hordozóra
<p>Benzofenon izopropanolban oldva</p> 	$5 \cdot 10^{-2} \text{ mol/dm}^3$	Spin coater segítségével, 20 $\mu\text{l}$ minta oldatot cseppentettem a hordozó közepére, majd 1000 ford./perc sebességgel 1 percig centrifugáltam. A nagy sebességű forgás során fellépő centrifugális erő egyenletesen oszlatta el az oldatot a hordozó felületén.

**5. Táblázat:** A hordozók SERS mérésekhez való előkészítéseinek adatait az analit hatásának vizsgálatához

Analit hatásának vizsgálata		
Használt oldatok	Koncentráció	Analit abszorbeálása a hordozóra
Riboflavin vizes oldata 	$10^{-5} \text{ mol/dm}^3$	Az arany hordozókat egy éjszakán át az analitoldatba merítettem, majd kivétel után desztillált vízzel mostam, és levegőn szárítottam [96].
Rodamin 6G vizes oldata 	$10^{-5} \text{ mol/dm}^3$	Az analitoldatot a hordozó közepére cseppentettem, úgy, hogy az a hordozó felületén teljesen elterüljön, majd levegőn szárítottam [97].
A kísérletek során ugyanazokat az arany nanorészecskéket használtam, így a két analittal végzett mérések között cc. HNO <sub>3</sub> -ba 30 percig áztatva tisztítottam azokat. Ezt követően desztillált vízzel mostam, hogy eltávolítsam a visszamaradt savmaradékot a felszínről, majd levegőn szárítottam. A megtisztított hordozók optikai transzmissziós spektrumainak ismételt felvételével igazoltam, hogy a mosás nem változtatta meg a hordozók felületét		

Az **előállítási paraméterek optimalizálásának** vizsgálatához a hordozókra riboflavin vizes oldatát abszorbeáltam ugyanolyan körülmények között, mint ahogy a 4. táblázatban is leírtam.

Az **ívkisülés módszerével** készített nanorészecskék esetén a SERS mérésekhez minden esetben rodamin 6G (R6G) 1  $\mu\text{M}$  etanolos oldatát használtam célmolekulaként. A mérések előtt 50  $\mu\text{l}$  oldatot cseppenttem a nanostruktúrákra és levegőn szárítottam.

### 2.1.5. SERS mérések kivitelezése

A hordozókon végzett Raman-mérésekhez Horiba LabRam Raman (17a. ábra), Renishaw inVia (17b. ábra) és egy Renishaw 1000B spektrométert használtam.



a)



b)

**17. ábra:** A SERS mérésekhez használt műszerek: a) Horiba LabRam Raman-spektrométer b) Renishaw inVia spektrométer

A Raman-mérések során beállított mérési paramétereket az alábbi 6. táblázat foglalja össze. A táblázat összegzi mind a geometriai paraméterek, mind az analit hatásának vizsgálata során alkalmazott beállításokat.

**6. Táblázat: Mérési paraméterek**

	Geometriai paraméterek vizsgálata	Analit hatásának vizsgálata			
		Riboflavin		Rodamin 6G	
	Benzofenon	arany nanorészecskék			
SERS-hordozó	arany és ezüst nanorészecskék				
Gerjesztő lézerek	488, 532, 633 nm	532 nm	633 nm	532 nm	633 nm
Neutrális szűrő, %	100	3,2	1	0,1	1
Mérési idő, s	10	30	40	30	30
Egy mérés során átlagolt spektrumok száma	1	5	7	10	10
Objektív	A gerjesztő lézert 50x-es objektívvel fókuszáltam a hordozó felületére.				

Az **előállítási paraméterek optimalizálásának** vizsgálata során elvégzett SERS mérésekhez arany nanorészecskéket tartalmazó hordozókat és riboflavin mintaoldatot használtam. A mérések 633 nm hullámhosszúságú lézerrel történtek, amelyhez a 25 %-os neutrális szűrőt használva csökkentettem a lézer intenzitását. A mérési idő minden esetben 30 s volt és az egy mérés során átlagolt spektrumok száma 5 volt. A gerjesztő lézert 50x-es objektívvel fókuszáltam a hordozó felületére.

Az **ívkisüléssel** készült hordozók esetén a mérések során három különböző hullámhosszú lézert használtam: 473 nm, 532 nm és 633 nm. A lézersugarat minden esetben 50-szeres nagyítású objektívvel fókuszáltam a nanostruktúrák felületére. A mérések során beállított mérési paramétereket a 7. táblázat foglalja össze.

**7. Táblázat: Mérési paraméterek**

<b>Lézerek</b>	<b>473 nm</b>	<b>532 nm</b>	<b>633 nm</b>
<b>Neutrális szűrő, %</b>	0,1	0,01	3,2
<b>Lézer teljesítmény, mW</b>	0,03	0,01	0,22
<b>Mérési idő, s</b>	1	15	15
<b>Egy mérés során átlagolt spektrumok száma</b>	1	3	1

A SERS mérések mellett referencia Raman-spektrumokat is mértem minden analitoldat, illetve minden vizsgálati szakasz esetében. A referencia mérések során az analit oldatokat tiszta mikroszkóp tárgylemezére abszorbeáltam ugyanolyan körülmények között, és ugyanolyan mérési beállítások mellett mértem, ahogy azt a 4., 5., és a 7. táblázatban összefoglaltam.

A következő 8. táblázat összefoglalja a vizsgálatok során használt mintaoldatok esetén, az analit mely fő sávjának intenzitásából történt a SERS erősítési tényezőt (EF) kiszámítása. Az EF értékek kiszámítása minden esetben a bevezető részben leírt (4) egyenlet szerint történt.

**8. Táblázat:** Az erősítési tényező számításához használt Raman-csúcsok

	<b>Geometriai paraméterek</b>	<b>Analit hatás</b>		<b>Optimalizálás</b>
<b>Analitoldatok</b>	Benzofenon	Riboflavin	Rodamin 6G	Riboflavin
<b>Csúcs pozíciója</b>	~ 1596 cm <sup>-1</sup>	~1575 cm <sup>-1</sup>	~1650 cm <sup>-1</sup>	~1575 cm <sup>-1</sup>
<b>Csúcshoz tartozó kötés</b>	aromás gyűrű C-C kötésének rezgése	C-N kötés rezgése	aromás gyűrű C-C kötésének rezgése	C-N kötés rezgése

Az ívkisüléssel előállított nanorészecskék esetében is készült referenciamérés, amely során az R6G analitoldatot nagyobb koncentrációban (10 mM) abszorbeáltam egy üveg tárgylemezre, majd ugyanolyan mérési beállítások mellett mértem meg, mint ahogy azt a 7. táblázatban is összefoglaltam. Hasonlóan a többi referenciaméréshez, az R6G ~1650 cm<sup>-1</sup> vonalának intenzitásából számítottam ki az EF-t.

#### 2.1.6. Kontaktszög mérése

Az analit oldatok hatásának vizsgálatánál kontaktszög (CA) mérésére is szükség volt, amely segítségével információt kaptunk arról, hogy a két molekula az arany nanorészecskék felületét eltérően nedvesítik. Ezzel alátámasztva, hogy a két analit szerkezete eltérő, másként helyezkednek el az arany felületén, ami hatással volt a hordozók SERS erősítési képességére.

A két analit vizes oldatának kontaktszögeit tiszta üveg és arany hordozón is elemeztük. Az kontaktszög mérésére DSA 30 Drop Shape Analyzer készüléket használtunk. Az ülő csepp módszert alkalmaztuk a víz, R6G és riboflavin oldatok kontaktszögeinek méréséhez üveg és arany hordozó felületeken. A mérések szobahőmérsékleten (25 °C) történtek. A R6G és a riboflavin cseppeket (5 µl) kézi adagolórendszerrel, a vízcseppeket (5 µl) automata adagolórendszerrel vittük fel üveg- és az arany felületekre. A használt tű átmérője 0,5 mm volt. A kontaktszögeket a Krüss Advance szoftverrel számítottuk ki úgy, hogy a befogott csepp alakot a Young–Laplace egyenlethől számított mértékhez illesztettük. Az átlagos érintkezési szögeket 10 cseppenkénti mérésből számítottuk ki (n = 10).

A kontaktszög méréseket Dr. Szalóki Melinda végezte.

## 2.2. His-Ni (II) fémkomplex azonosítása

### 2.2.1. Minta előkészítése

A kísérletekhez L-hisztidinből és nikkell (II)-klorid-hexahidrátból ( $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) készült oldatokat használtam. A kristályos L-hisztidin és nikkell (II)-klorid-hexahidrát vizes oldatainak elkészítéséhez ultratiszta vizet használtam, a hisztidin koncentrációja minden esetben  $0,05 \text{ mol/dm}^3$  volt, míg a  $\text{NiCl}_2$  oldatok koncentrációja a következők voltak:  $5 \text{ mol/dm}^3$ ,  $0,5 \text{ mol/dm}^3$ ,  $0,05 \text{ mol/dm}^3$ ,  $0,005 \text{ mol/dm}^3$ . A vizsgálatok során a két oldatot minden esetben 1:1 térfogat arányban kevertem össze. A hisztidin-nikkell (II) komplex képződését savas és lúgos körülmények között is vizsgáltam. A savas körülmények kialakításához először 37 m/m%-os HCl oldatot, majd  $\text{NiCl}_2$ -oldatot adtam a hisztidin oldatokhoz. Ebben az esetben is az oldatok összeöntése 1:1:1 térfogatarányban történt. A lúgos közeg kialakításához először 1 m/m%-os NaOH oldat kevertem a hisztidin oldathoz, majd a  $\text{NiCl}_2$  oldatot adtam hozzá, az oldatokat szintén 1:1:1 térfogatarányban kevertem össze. A pH érték méréséhez egy Orion 2-Star pH-mérőt használtunk.

A pH méréseket Dr. Szalóki Melinda végezte.

### 2.2.2. Raman-mérések

A Raman-méréseket egy Horiba LabRam és egy Renishaw inVia Raman-spektrométerrel végeztem. A oldatok méréséhez egy szilíciumlapra rögzített szilikon gyűrűket használtam. Egy gyűrű térfogata  $5 \mu\text{l}$ , amelyet az oldattal megtöltve egy kalcium-fluorid ( $\text{CaF}_2$ ) fedőlemezzel fedtem le, hogy megakadályozzam az oldószer elpárolgását, és biztosítsuk a térfogat és a vizsgált oldatok koncentrációjának állandóságát a mérések során.

A Raman-mérések során a gerjesztő lézert  $50\times$ -es objektívvel a fedőlemez alá fókuszáltam. Az összes spektrumot  $532 \text{ nm}$  hullámhosszúságú dióda lézerteljesítmény  $5 \text{ mW}$  volt. A mérési idő  $30 \text{ s}$ , míg az egy mérés során felvett és átlagolt spektrumok száma  $5$  volt (azaz a teljes expozíciós idő  $150 \text{ s}$  volt).

### 3. Eredmények és megvitatásuk

#### 3.1. A SERS hordozók geometriai paramétereinek hatása

Ebben a fejezetben a termikusan előállított arany és ezüst nanorészecskék optikai és geometriai paramétereit vizsgáltam, továbbá a fém nanorészecskék SERS-erősítési folyamatára gyakorolt hatását tanulmányoztam.

##### 3.1.1. A SERS hordozók geometriai paramétereinek vizsgálata.

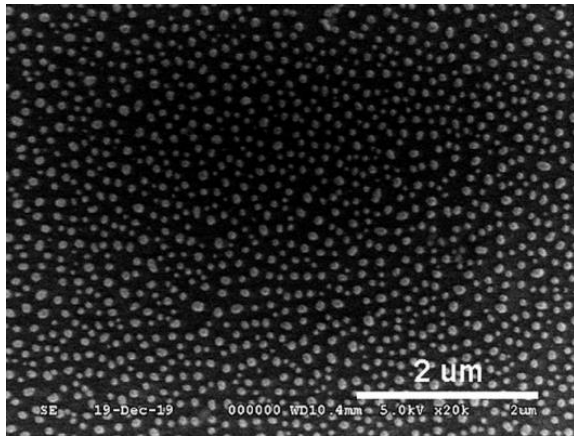
A 18. és 19. ábra egy arany és ezüst nanorészecskét tartalmazó hordozó SEM-képeit (5 kV-os gyorsítófeszültséggel és  $\times 20\,000$  nagyítással) és azok optikai áteresztőképességi spektrumait szemlélteti, a 9. és 10. táblázat ezen nanorészecskék előállítási paramétereit foglalja össze. Ezek az ábrák azt mutatják, hogy a kezdeti rétegvastagság hogyan befolyásolja a kialakult nanorészecskék átmérőjét és a részecskék közötti távolságot azonos hőkezelési hőmérséklet és idő mellett. A vastagabb rétegből kiindulva nagyobb nanorészecskék keletkeznek egymástól távolabb, míg a vékonyabb réteg kisebb nanorészecskéket eredményez, amelyek közelebb helyezkednek el egymáshoz. Ezenkívül a különböző arany és ezüst nanorészecskéket tartalmazó hordozók jól mutatják, hogy az áteresztőképességük hogyan változik azok átmérőjétől függően, amit a kezdeti rétegvastagság befolyásol. Összességében megállapítható, hogy a részecskék átmérőjét, a részecskék közötti távolságot és a plazmonhullámhosszukat a kezdeti vastagsággal, a hőkezelés hőmérsékletével és idejével lehet szabályozni.

**9. Táblázat:** *A két különböző aranyhordozó paramétere.*

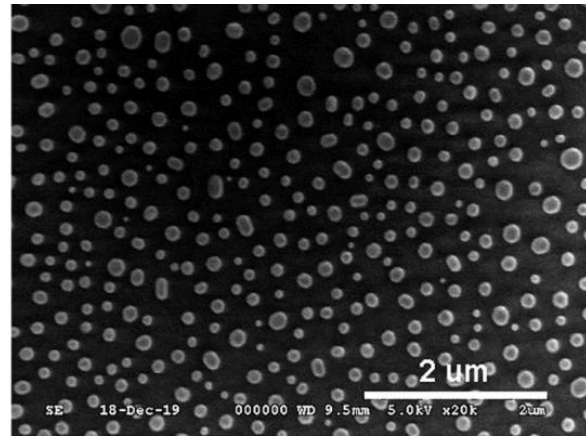
	<b>Au Hordozó 1</b>	<b>Au Hordozó 2</b>
<b>Kiindulási rétegvastagság</b>	12 nm	9 nm
<b>Hőkezelés hőmérséklete</b>	550 °C	550 °C
<b>Hőkezelés ideje</b>	15 perc	15 perc

**10. Táblázat:** A két különböző ezüsthordozó paramétere.

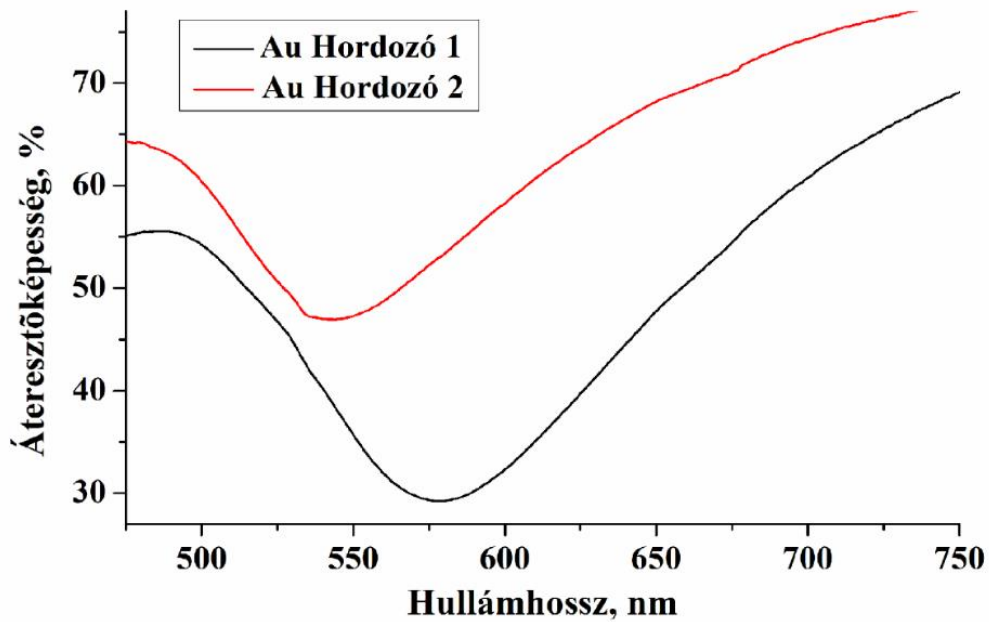
	Ag Hordozó 1	Ag Hordozó 2
Kiindulási rétegvastagság	15 nm	25 nm
Hőkezelés hőmérséklete	350 °C	350 °C
Hőkezelés ideje	60 perc	60 perc



a)

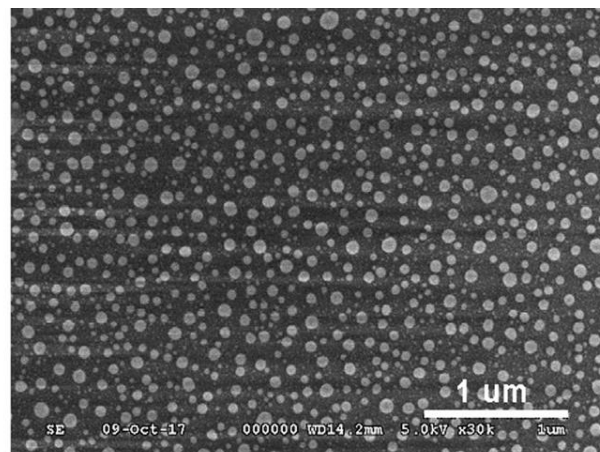
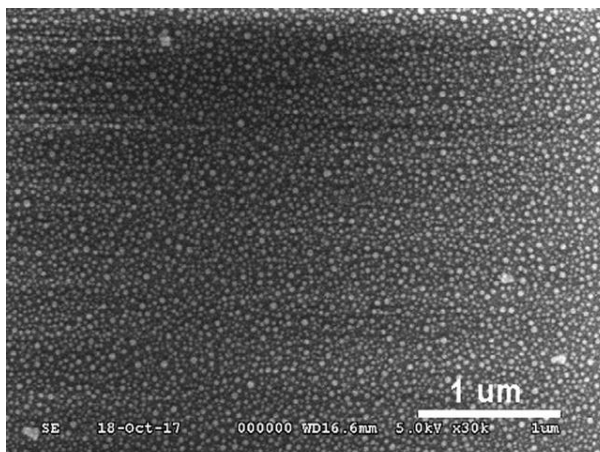


b)



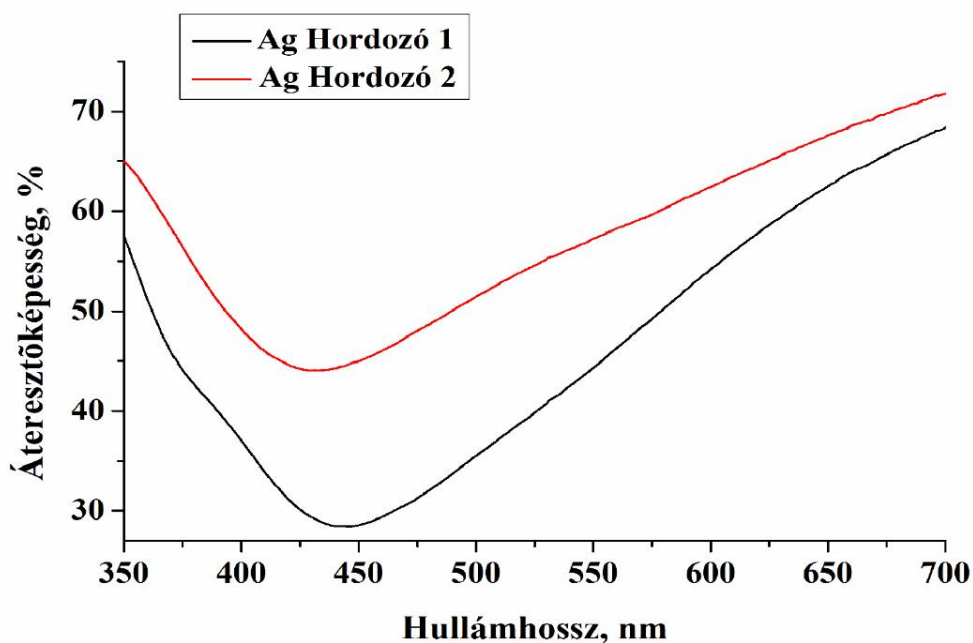
c)

**18. ábra:** Az elkészített aranyhordozók: a) Az Au Hordozó 1 SEM képe; b) Az Au Hordozó 2 arany hordozó SEM-képe; c) A hordozók megfelelő optikai áteresztőképességi spektruma. A SEM képek nagyítása  $\times 20\,000$  volt.



a)

b)



c)

**19. ábra:** Az elkészített ezüsthordozók: a) Az Ag Hordozó 1 SEM képe; b) Az Ag Hordozó 2 SEM-képe; c) A hordozók megfelelő optikai áteresztőképességi spektruma. A SEM képek nagyítása  $\times 20\,000$  volt.

### 3.1.2. Arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók

Mind az arany, mind az ezüst nanorészecskéket tartalmazó hordozók SERS-tulajdonságainak vizsgálatát három különböző hullámhosszúságú gerjesztő lézerrel végeztem el. Ezt megelőzően megvizsgáltam az optikai paramétereiket, meghatároztam a részecskék átlagos méretét és a részecskék közötti átlagos távolságot, valamint meghatároztam az EF-t minden egyes gerjesztési hullámhosszra. Amint a bevezetőben említettem, a hordozó plazmonrezonancia-hullámhossza és a gerjesztő hullámhossz közötti kapcsolat befolyásolja a

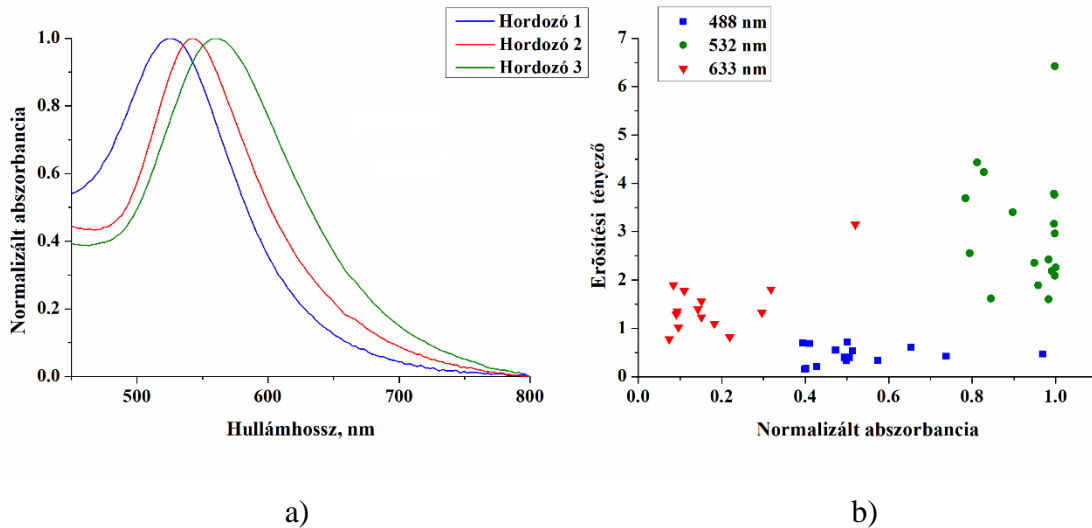
SERS-erősítést. A dolgozatomban szereplő három különböző gerjesztő hullámhossz ezt az összefüggést támasztja alá. Az aktív felületek plazmonrezonanciája hatékonyan hangolható a részecskék méretével és a részecskék közötti távolsággal [75, 80, 81].

A 20a. ábra szemlélteti a nanorészecskék méretének a hatását a plazmonhullámhosszra. Az ábrán látható három hordozó paramétereit az alábbi 11. táblázat foglalja össze. A könnyebb összehasonlíthatóság érdekében az abszorpciós spektrumokat normalizáltam. A normalizálást a spektrumokon jelenlévő legintenzívebb csúcshoz tartozó y-értékkel végeztem.

**11. táblázat:** A 19a. ábrán látható három, arany nanorészecskét tartalmazó hordozó paramétere

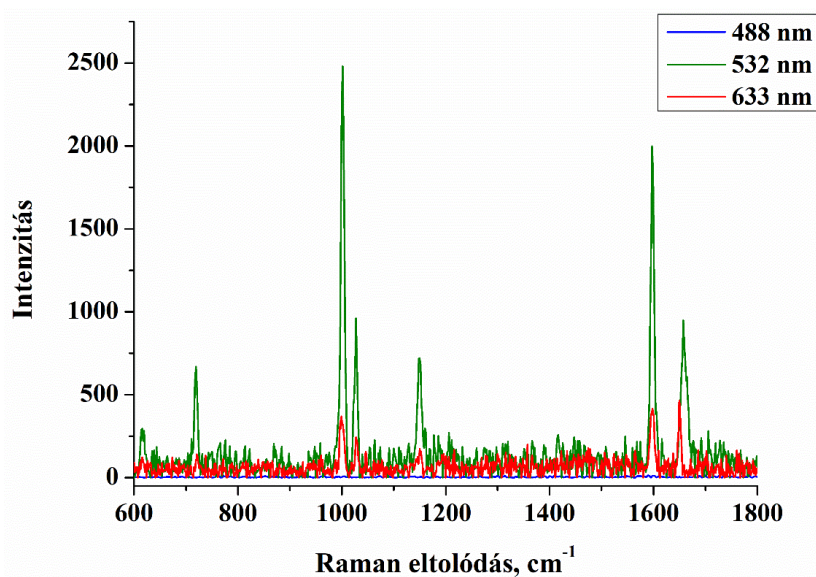
	<b>Részecskék átlagos mérete, nm</b>	<b>Részecskék közötti átlagos távolsága, nm</b>	<b>Plazmon-hullámhossz, nm</b>
<b>Hordozó 1</b>	50±6	45±5	514
<b>Hordozó 2</b>	54±7	46±6	527
<b>Hordozó 3</b>	75±9	37±8	561

Látható, hogy az arany nanorészecskék átmérőjének növelésével a plazmonrezonancia hullámhossza a magasabb hullámhosszok felé tolódik el, tehát megfigyelhető az irodalomban ismert vöröseltolódás. A hordozók plazmon abszorbancia tulajdonsága és az erősítési tényezőjük közötti összefüggést a 20b. ábra mutatja be, különböző gerjesztési hullámhosszok mellett. Mivel az arany nanorészecskék plazmonrezonanciája az 500-600 nm tartományba esik, várható, hogy az 532 nm-es gerjesztési hullámhosszúságú lézer adja a legnagyobb SERS-hatást. A 20b. ábra ezt részben megerősíti, mivel legtöbb esetben az 532 nm-es gerjesztés eredményezte a legmagasabb átlagos EF-t.



**20. ábra:** a) Normalizált abszorbanca spektrumok, amelyek szemléltetik a különböző aranyhordozó-átmérők hatását az aktív felületi plazmon abszorbanciájára (átlagos átmérők: #1:  $50 \pm 6$  nm, #2:  $54 \pm 7$  nm, #3:  $75 \pm 9$  nm); b) Az erősítési tényező függése a plazmon abszorbanca tulajdonságától, az adott hullámhosszon mért normalizált abszorbanca függvényében. Ehhez a minták normalizált abszorbanciáját (mint a 20a. ábrán) a gerjesztő lézer hullámhosszán értékeltem ki.

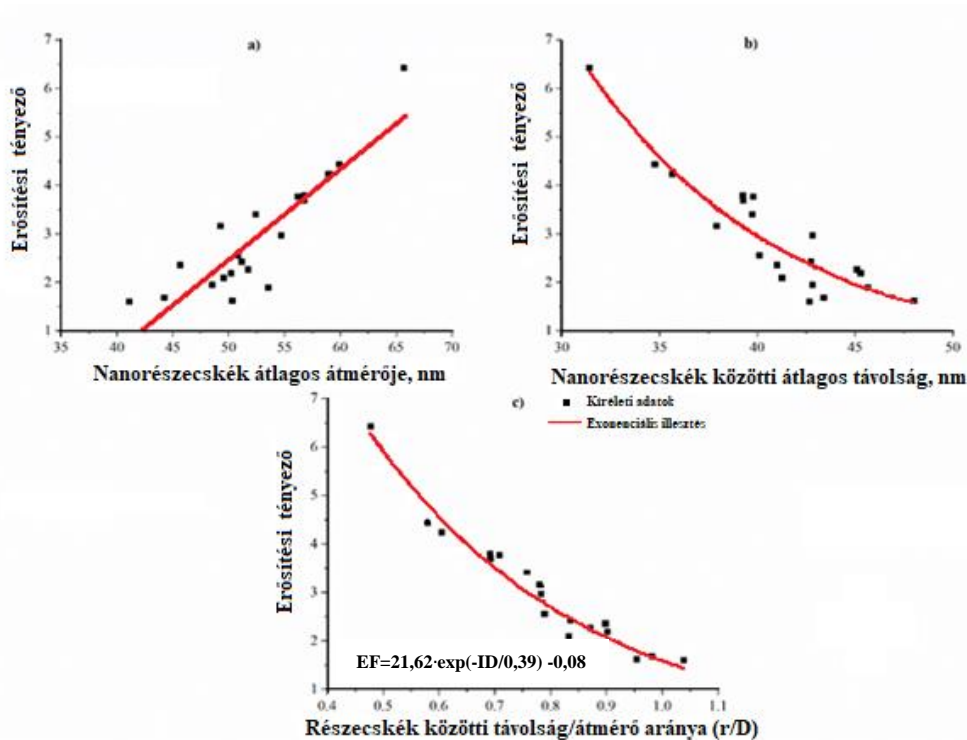
A 21. ábra a három különböző gerjesztőforrással mért, felületerősített Raman-spektrumokat mutat be, amely azt is szemlélteti, hogy a legnagyobb mértékű erősítést az 532 nm-es gerjesztés alkalmazásával értem el. Megjegyzendő, hogy a Raman-szórás nem lesz rezonáns az összes gerjesztési hullámhosszon. A benzofenon abszorpciós spektrumának elemzése [98] azt mutatja, hogy a vegyület abszorpciós sávjai az UV tartományban vannak, jóval a legalacsonyabb, 488 nm-es lézer hullámhossz alatt.



**21. ábra:** A benzofenon felületerősített Raman-spektruma aranyhordozón mérve három különböző gerjesztési hullámhosszon

Vannak azonban olyan sajátosságok, amelyeket érdemes megemlítenem. A 20b. ábrán a bemutatott adatokat az adott gerjesztési hullámhosszon mért normalizált abszorbanca függvényében adom meg. A magasabb normalizált abszorbanca azt jelenti, hogy a nanorészecske-elrendezés erősebb plazmonrezonanciával rendelkezik az adott hullámhosszon. Például egyes esetekben egy 633 nm-es gerjesztés kis normalizált abszorbanciával (körülbelül 0,1, más szóval messze a plazmonrezonancia csúcsától) jobb erősítést eredményezett, mint az 532 nm-es gerjesztés magas normalizált abszorbanciával (1 körül, ami a plazmonrezonancia csúcsa). Ezenkívül a 488 nm-es gerjesztés a legkisebb átlagos EF-t eredményezte, függetlenül az ezen a hullámhosszon mért normalizált abszorbanciától. Ezek a megfigyelések azt mutatják, hogy a gerjesztési hullámhossznak a SERS EF-re gyakorolt hatását más tényezők is, -mint például a részecskék geometriai paramétere-, befolyásolják a hordozó plazmonikus tulajdonságaival való kapcsolatán kívül.

A geometriai paraméterek mért SERS erősítési tényezőre gyakorolt hatásának részletesebb értékeléséhez az 532 nm-es lézer gerjesztéssel kapott EF-eket mind a nanorészecskék átlagos átmérőjének (lásd: 22a. ábra), mind a részecskék közötti átlagos távolság függvényében ábrázoltam (lásd: 22b. ábra). Amint az várható volt – a bevezetőben leírtak szerint – a mért EF pozitív lineáris korrelációt mutat a részecskemérettel, és exponenciálisan csökken a részecskék közötti távolság növekedésével. Ha a kapott EF-eket a részecskék közötti távolság/nanorészecske-átmérő arányának ( $r/D$ ) függvényében ábrázoljuk, akkor az erősítési tényezők egyértelmű exponenciális jelleget mutatnak ezzel a mértékegység nélküli paraméterrel (a 22c. ábrán látható egyenlet, amelyben az  $ID$  a részecskék közötti távolság/nanorészecskék átmérő aránya), ami egyszerűbbé teszi a SERS hordozók tervezését és optimalizálását. Az eredmények alapján a legmagasabb SERS-erősítést ( $\sim 6,5$ ) a következő gyártási paraméterekkel készített arany nanorészecskéket tartalmazó hordozókkal értem el: kezdeti rétegvastagság: 9 nm, hőkezelési hőmérséklet: 500 °C, hőkezelési idő: 15 perc. Az ilyen körülmények között előállított SERS hordozó a következő paraméterekkel rendelkezik: plazmonrezonancia hullámhossza: 528 nm, részecske átmérő:  $58 \pm 7$  nm, részecskék közötti távolság:  $30 \pm 5$  nm.



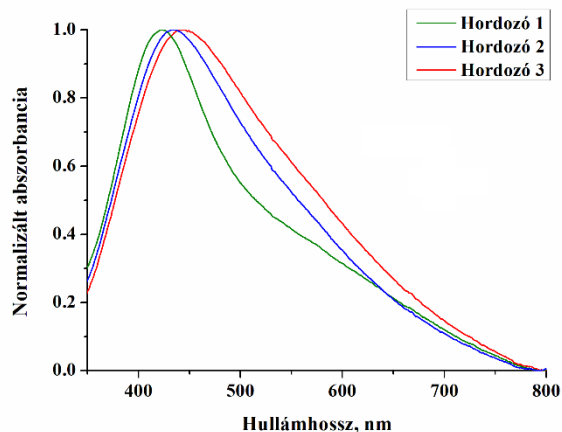
**22. ábra:** Az 532 nm-es gerjesztésre kapott erősítési tényezők: a) az arany hordozók nanorészecskéinek átlagos átmérője ( $D$ ) függvényében; b) a részecskék közötti átlagos távolság ( $r$ ); és c) a részecskék közötti távolság/részecskeátmérő aránya ( $r/D$ ).

### 3.1.3. Ezüst nanorészecskéket tartalmazó hordozók

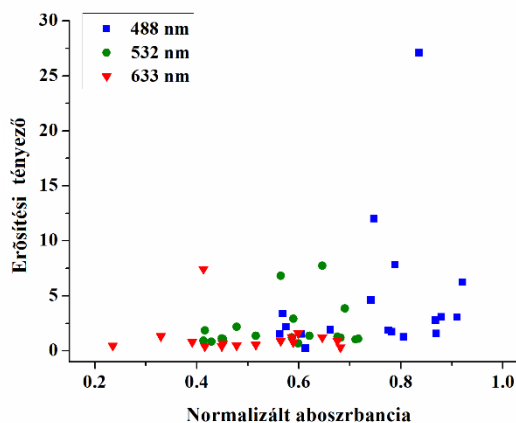
Az ezüst nanorészecske alapú SERS hordozókat az előző fejezetben bemutatott arany nanorészecskékhez hasonlóan vizsgáltam meg. A 23a. ábra három aktívfelület spektrumát mutatja be, amelyeket a következő geometriai és plazmonikus tulajdonságok jellemeznek (lásd: 12. táblázat). Ebben az esetben is a könnyebb összehasonlíthatóság érdekében az abszorpciós spektrumokat normalizáltam, hasonlóképpen, mint ahogy, az előző fejezbe leírtam.

**12. táblázat:** 22a. ábrán látható ezüst arany hordozó paraméterei

	Részecskék átlagos mérete	Részecskék közötti átlagos távolság	Plazmon hullámhossz
Hordozó 1	34±5 nm	41± 7nm	422 nm
Hordozó 2	37± 5nm	36±5 nm	436 nm
Hordozó 3	39± 6nm	31±4 nm	445 nm



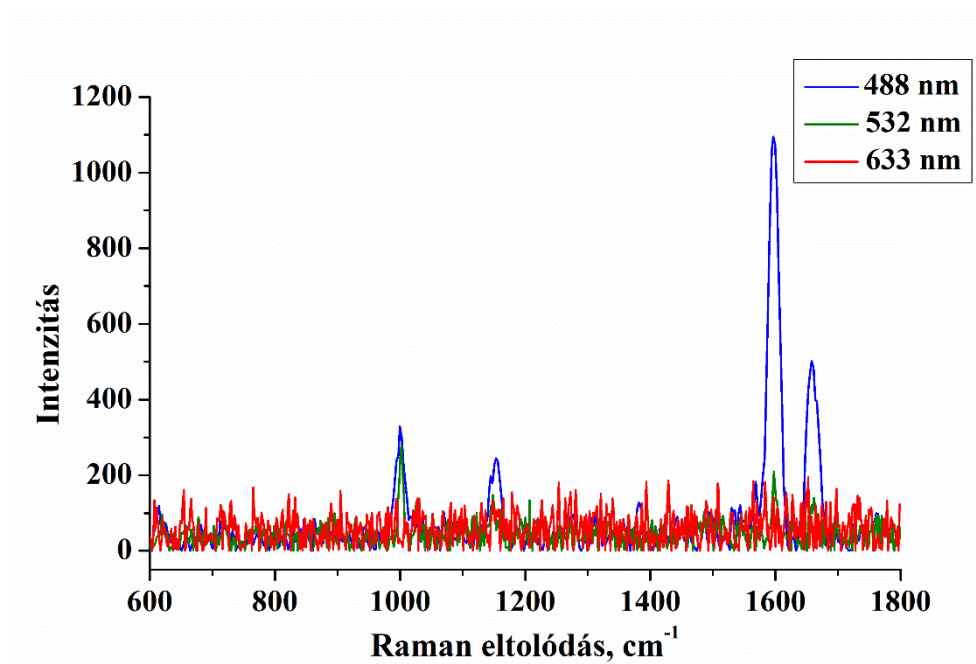
a)



b)

**23. ábra:** a) Normalizált abszorbanca spektrumok, amelyek szemléltetik a különböző ezüsthordozók részecskeátmérőinek hatását a hordozók plazmon abszorbanciájára (átlagos átmérők: #1:  $34 \pm 5$  nm, #2:  $37 \pm 5$  nm, #3:  $39 \pm 6$  nm); b) Az erősítési tényező függése a plazmon abszorbanca tulajdonságától az adott hullámhosszon lévő normalizált abszorbanca függvényében. Ehhez a minták normalizált abszorbanciáját (mint a 23a. ábrán) értékeltük a gerjesztő lézer hullámhosszán.

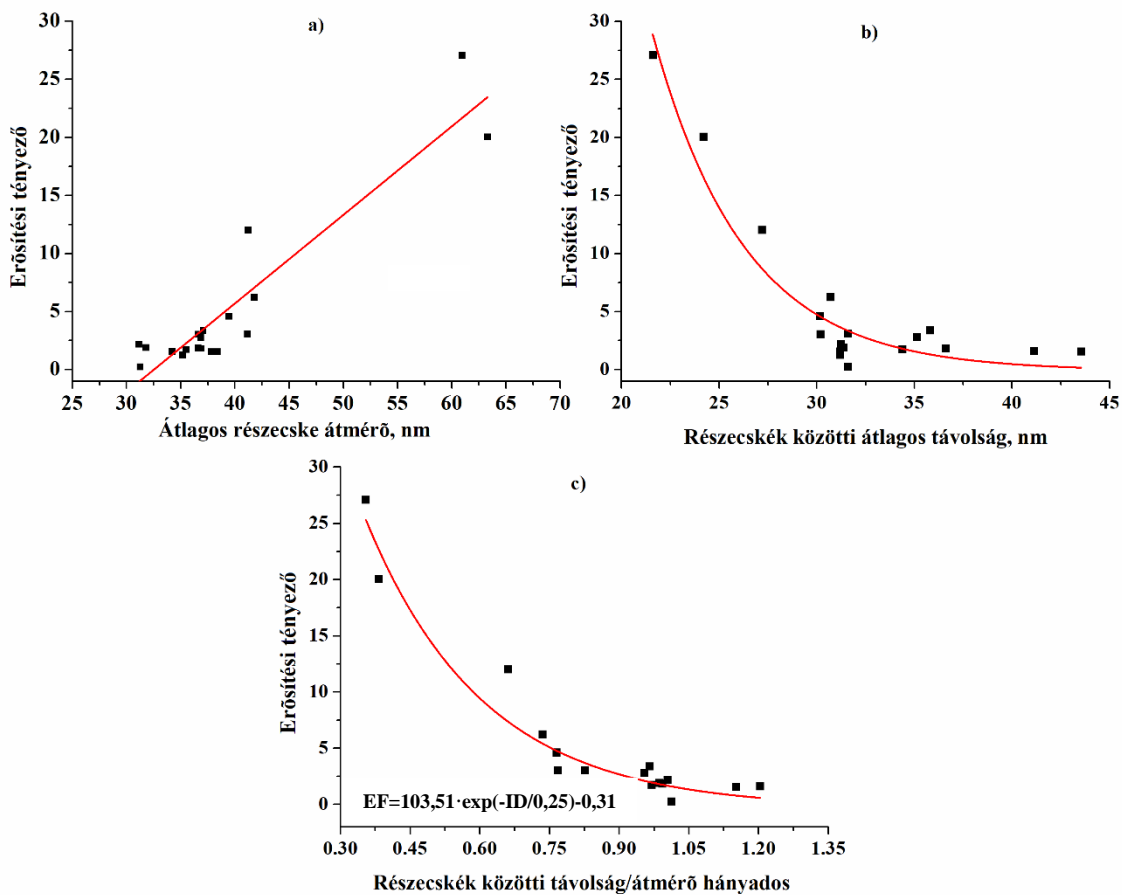
Az ezüst nanorészecskéket tartalmazó hordozók esetében a plazmon abszorbanca csúcsai 400-460 nm között vannak, így a várakozásoknak megfelelően a legmagasabb átlagos erősítési tényezőket a 488 nm-es lézer gerjesztéssel értem el, amit a 23b. ábrán is láthatunk. Ezt alátámasztják a 24. ábrán bemutatott felületerősített Raman-spektrumok is. Az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók esetében tapasztaltakhoz hasonlóan azonban a mért EF nem korrelál egyértelműen a normalizált abszorbanciával, függetlenül a gerjesztési hullámhossztól (22b. ábra).



**24. ábra:** A benzofenon felületerősített Raman-spektruma ezüst hordozón, három különböző gerjesztési hullámhosszon mérve.

Az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozókhöz hasonlóan itt is részletesen tanulmányoztam a geometriai paraméterek hatását. A 25. ábra különböző részei ugyanazokat a lineáris és exponenciális tendenciákat mutatják a mért EF és a nanorészecskék átmérője, illetve a részecskék közötti távolság között, mint amit az arany nanorészecskék esetén tapasztaltam (a 488 nm-es gerjesztéssel kapott adatok esetében). Az EF világos exponenciális kapcsolatot mutat a dimenzió nélküli ( $r/D$ ) paraméterrel is (a 25c. ábrán látható egyenlet, ahol az  $ID$  a részecskék közötti távolság/nanorészecske átmérő aránya). Fontos kiemelnem, hogy az ezüst nanorészecskék magasabb SERS-erősítést mutatnak az  $r/D$  függvényében (a 22c. és 25c. ábrák egyenleteinek összehasonlításával) az arany nanorészecskékhez képest.

Az eredmények alapján a legmagasabb SERS-erősítést ( $\sim 27$ ) a következő gyártási paraméterekkel készített ezüst nanorészecskékkel értem el: kezdeti rétegvastagság: 25 nm, hőkezelési hőmérséklet: 350 °C, hőkezelési idő: 60 perc. Az ilyen körülmények között előállított SERS hordozó a következő paraméterekkel rendelkezik: plazmonrezonancia hullámhossz: 438 nm, részecske átmérő:  $61 \pm 8$  nm, részecskék közötti távolság:  $22 \pm 4$  nm.



**25. ábra:** A 488 nm-es gerjesztésre kapott erősítési tényezők a) az átlagos ezüst hordozók részecskéinek átmérő ( $D$ ) függvényében; b) az átlagos részecskék közötti távolság ( $r$ ); és c) a részecskék közötti távolság/részecske átmérő aránya ( $r/D$ ).

### A fejezet összefoglalása:

Az arany és ezüst nanorészecskéket tartalmazó SERS-hordozók vizsgálata során az alábbi következtetéseket vontam le:

- 1) A legmagasabb átlagos és maximálisan elért SERS analitikai erősítési tényezőt arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók esetében az 532 nm-es, míg ezüst hordozóknál 488 nm-es gerjesztő lézer használata mellett mértem. Ez azt bizonyítja, hogy a gerjesztési hullámhossz és a felület plazmon abszorbancia tulajdonságai között fontos kapcsolat áll fenn, és ezt figyelembe kell venni a SERS hordozók tervezésekor, kialakításakor és kiválasztásakor.
- 2) Eredményeim részben ellentmondanak annak a ténynek, hogy a kapott erősítési tényezők mindkét esetben nem mutattak egyértelmű korrelációt a normalizált abszorbanciacsúcsokkal, figyelembe véve az összes vizsgált gerjesztési hullámhosszt. Ez arra utal, hogy más tényezők –

például a nanorészecskék geometriai tulajdonságai – nagy mértékben dominálnak a gerjesztési hullámhossz felett. Ezeket a tényezőket vizsgáltam a továbbiakban.

3) A SERS EF pozitív lineáris korrelációt mutatott a nanorészecskék méretével és negatív exponenciális összefüggést a részecskék közötti távolsággal, mindkét típusú hordozó esetén. Ez a tendencia, a nagyobb szórási hatékonyságnak (nagyobb részecskeméret) és a felületen egymáshoz közelebb elhelyezkedő forró pontok nagyobb sűrűségére (részecskék közötti kisebb távolság) vezethető vissza.

4) Exponenciális összefüggés állapítható meg a kísérletileg meghatározott erősítési tényező és a dimenzió nélküli  $r/D$  paraméter között, amely a részecskék közötti távolság és a részecske átmérő aránya mindkét anyag típusnál.

5) Az ezüst nanorészecskék (488 nm-es gerjesztő hullámhosszal mérve) az arany nanorészecskékhez (532 nm-es gerjesztő hullámhosszal mérve) képest meredekebb exponenciális növekedést mutattak az erősítési tényezőben, csökkenő  $r/D$  mellett.

6) Az előzőekben felsorolt eredmények azt mutatják, hogy a nagyobb és az egymáshoz közelebb elhelyezkedő fém nanostruktúrák jobb SERS-erősítést eredményeznek. Az arany esetében ez vékonyabb kiindulási réteggel (6 nm), alacsonyabb hőkezelési hőmérséklettel (450 °C) és hosszabb hőkezelési idővel (30-60 perc), vagy vastagabb réteggel (9 nm), magasabb hőkezelési hőmérsékleten (500 °C), és rövidebb idejű (15 perc) hőkezeléssel érhető el. Az ezüst esetében vastagabb kiindulási réteggel (25 nm), alacsony hőkezelési hőmérséklettel (350 °C) és hosszabb hőkezelési idővel (60–120 perc) nagyobb és sűrűbb nanorészecskék kialakulását eredményezi

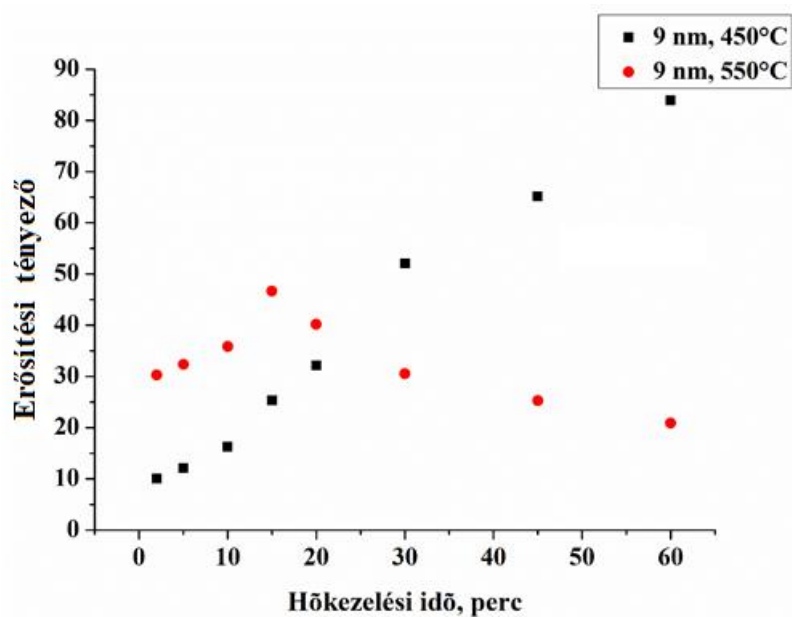
7) Ezek a technológiai paraméterek kisebb átlagos  $r/D$  paramétereket eredményeznek az ezüst nanorészecskéket tartalmazó hordozóknál, és ezáltal magasabb SERS-erősítési tényezőket, mint az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók esetében.

### 3.1.4. Előállítási paraméterek optimalizálása

Ebben a fejezetben a fém nanorészecskék előállítási paramétereinek optimalizálásával foglalkoztam, a SERS-erősítés maximalizálása érdekében.

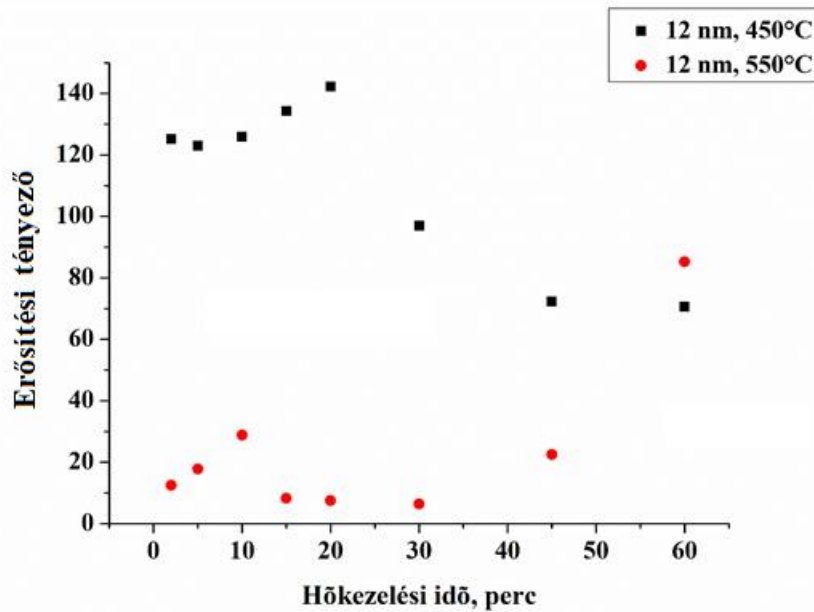
Az optimalizálás során az előállítási paramétereket a 2.1.1. fejezetben, a 2. táblázat foglalja össze. Látható, hogy két különböző rétegvastagságból (9 nm és 12 nm) kiindulva két különböző hőmérsékleten (450°C és 550°C) és nyolc különböző időintervallumban történt a hőkezelés, majd a kapott hordozókat felületerősített Raman-szórás tanulmányozására használtam fel. Megvizsgáltam a SERS hordozó erősítési tényezőjét befolyásoló különböző előállítási technológiai paramétereinek hatását.

A 26. ábrán a SERS EF értékeit ábrázoltam 9 nm vastagságú kiindulási rétegnek különböző ideig tartó, 450 °C-on és 550 °C-on végzett hőkezelései során. Az alacsonyabb hőkezelési hőmérséklet esetén (fekete négyzet) egyértelmű, hogy az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók SERS hatásfoka a hőkezelési idő növekedésével nő. Másrészt magasabb hőkezelési hőmérsékleteknél (piros pont) először szintén nő, de egy bizonyos hőkezelési idő (15 perc) után az aktív felület SERS erősítési tényezője csökkenni kezd. Az eredmények alapján elmondható, hogy a vékonyabb kiindulási réteg hosszabb hőkezelési időt igényel alacsonyabb hőmérsékleten, míg rövidebb hőkezelési idő szükséges magasabb hőmérsékleten a legoptimálisabb SERS hordozó előállításához. Mindez a fém vékonyréteg felületén megfigyelhető különböző folyamatokkal magyarázható, amelyek között számottevő a rétegek szigetesedése, valamint a nanorészecskék Ostwald-éresi folyamata. Ezek a folyamatok befolyásolják a nanorészecskék méretét, közöttük lévő távolságot, valamint azok plazmon hullámhosszát, amelyeknek, mint az előző fejezetből kiderült, számottevő hatásuk van az erősítési tényezőre.



**26. ábra:** A SERS erősítési tényező értékei a hőkezelési idő függvényében (9 nm rétegvastagságú hordozó hőkezelése 450 °C-on és 550 °C-on)

A 27. ábra a 12 nm vastag kiindulási vékonyrétegre vonatkozó eredményeket mutatja be, hasonlóan a 25. ábrához. 450°C-os hőkezelés esetén (fekete négyzet) az arany nanorészecskék SERS erősítési tényezője a hőkezelési idő növelésével nő, majd bizonyos idő (20 perc) után elkezdi csökkenni. Magasabb hőmérsékleten, 550°C-on (piros pont) hasonló tendencia figyelhető meg. Ebben az esetben 10 perc hőkezelés után csökken az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók hatásfoka. Továbbá megfigyelhető, hogy hosszabb időintervallumokban (45 perc) a SERS EF értékek növekedését tapasztaljuk, majd 60 perces hőkezelési időnél egy maximális SERS EF értéket kaptam.

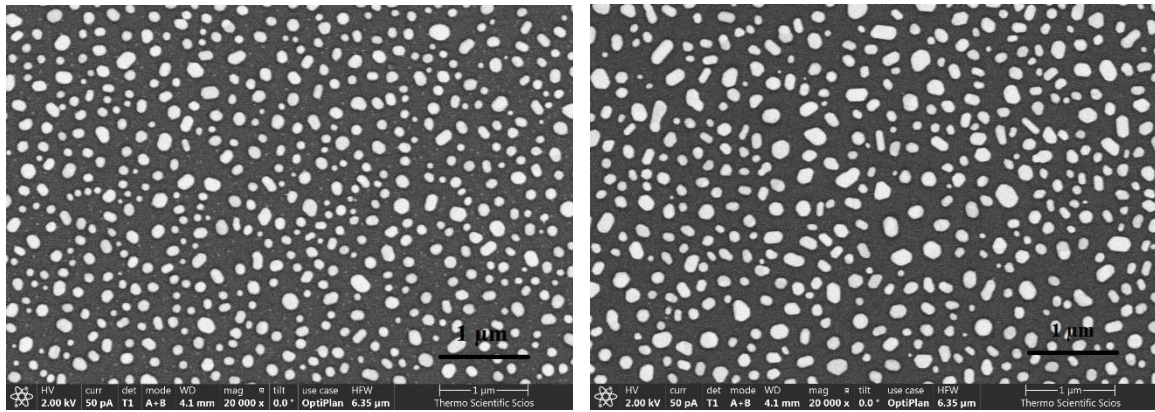


**27. ábra:** A SERS erősítési tényező értékei a hőkezelési idő függvényében (12 nm rétegvastagságú hőkezelés 450 °C-on és 550 °C-on)

A SERS erősítési tényezőt befolyásoló három fő technológiai paraméter az arany vékonyréteg kezdeti vastagsága, a hőkezelés hőmérséklete és ideje. A nagyobb kezdeti vastagság azonos hőkezelési paraméterek mellett magasabb EF értéket eredményez, amint az a 26. és 27. ábrán látható. Az eredmények összefüggésbe hozhatók az arany vékonyréteg felszíni diffúziós folyamatával és a kialakuló nanorészecskék Ostwald-érésével. A felszíni diffúziós folyamatok nagyobb mennyiségű, de kisebb méretű nanorészecskék képződéséhez vezet, míg a kialakuló nanorészecskék Ostwald-érésével kisebb mennyiségű, de nagyobb méretű nanorészecskéket eredményez. A hőkezelés első részében a diffúziós folyamatok, míg egy bizonyos hőkezelési idő után az Ostwald-érés válik dominánssá.

A 27. ábrán látható két maximális csúcs azzal magyarázható, hogy vastagabb réteg esetén magasabb hőkezelési hőmérséklet és hosszabb hőkezelési idő az Ostwald-érés következtében nagyobb és határozottabb szemcsék képződését eredményezi.

Ezt megerősíti a 28. ábra, amely két arany hordozó SEM képeit mutatja. A két minta technológiai paramétereit tekintve a kiindulási rétegvastagság (12 nm) és a hőkezelési hőmérséklet (550° C) megegyezett, de a hőkezelési idő eltérő volt. 10 perc volt az első hordozónál (27a. ábra), és 60 perc a második hordozó esetében (27b. ábra). Az ábrán megfigyelhető, hogy a hosszabb hőkezelési idő valóban nagyobb és határozottabb nanorészecskék kialakulását eredményezte, ami nagyobb fokú SERS-erősítéshez vezetett.



a)

b)

**28.ábra:** SEM kép az arany nanorészecskékről: a) 10 perces hőkezelési idő  
b) 60 perces hőkezelési idő

### A fejezet összefoglalása:

Összefoglalva, a termikusan előállított arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók előállítási paramétereit optimalizáltam.

A kísérleti eredmények alapján elmondható, hogy a vizsgált paraméterek közül a z alábbiak bizonyultak a legjobbak: vékonyabb kiindulási vékonyréteg esetén (9 nm) alacsonyabb hőkezelési hőmérsékleten (450 °C) hosszabb hőkezelési idő (60 perc), vagy magasabb hőmérsékleten (550°C) rövidebb ideig (15-20 perc) célszerű a hőkezelést végezni.

Vastagabb kiindulási vékonyréteg esetén (12 nm) a hőkezelést rövidebb ideig (15-20 perc) célszerű alacsonyabb hőmérsékleten (450°C) végezni ahhoz, hogy nagyobb erősítési tényezőt kapjunk. Tehát a vékonyréteg vastagságával, a hőkezelési hőmérséklet és idő segítségével optimalizálható a kialakuló SERS-hordozók erősítési tényezője.

### 3.2. Különböző analitok hatása a SERS-hordozók erősítési tulajdonságára

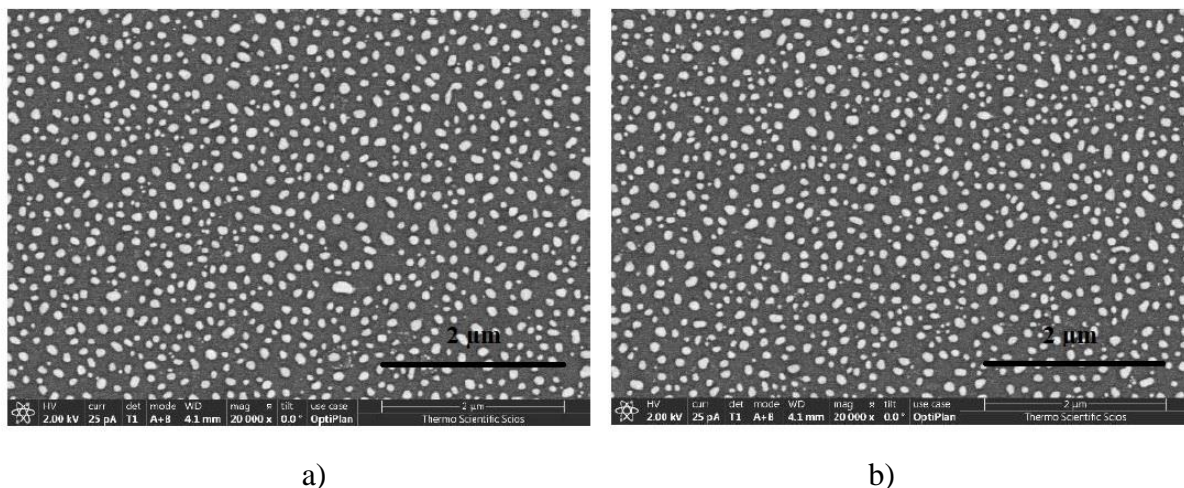
Az előző fejezet alapján elmondható, hogy a SERS-erősítés mértékére kihatással vannak a hordozót alkotó fém nanorészecskék tulajdonságai (anyag, méret, részecskék közötti távolság, valamint a plazmon hullámhossza) és a lézergyerjesztés hullámhossza. Vajon milyen további paraméterek befolyásolják az erősítést? Vajon a vizsgált analitok kihatással vannak az erősítés mértékére? Korábban nem volt példa az analitok SERS-folyamatra gyakorolt hatásának vizsgálatára. Az irodalomból jól ismert, hogy a rodamin 6G-t és a riboflavint is számos esetben használták célmolekulaként a SERS hordozók előállításának optimalizálására, ezért a vizsgálatomhoz én is ezt a két molekulát választottam.

A különböző analitok hatásának vizsgálatához a geometriai paraméterek vizsgálatához elkészített hordozók közül 18 darabot használtam fel. Ezen kiválasztott hordozók előállítási paramétereit a következő 13. táblázat foglalja össze. A hordozók alapja ebben az esetben is mikroszkóp tárgylemez volt.

**13. Táblázat:** *Arany hordozók gyártási paramétereit.*

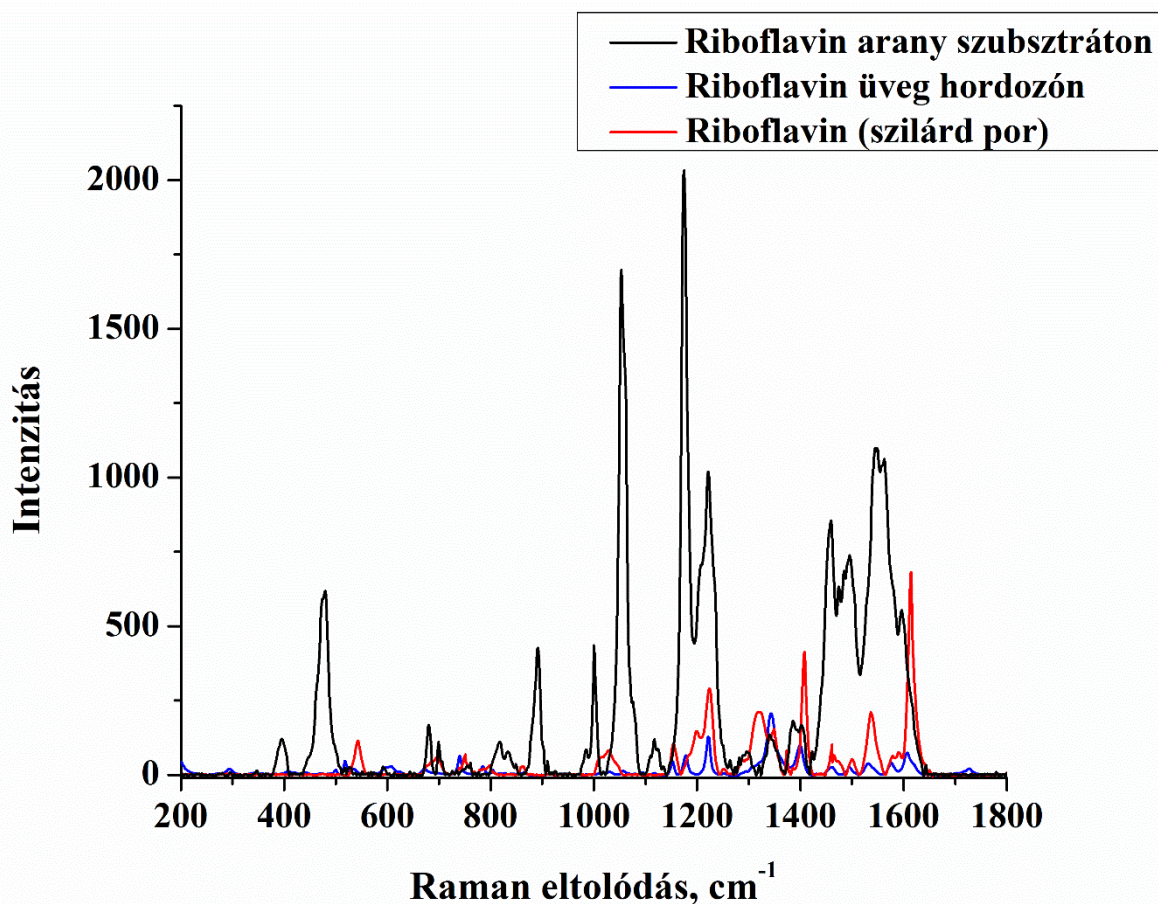
Hordozó száma	Kiindulási rétegvastagság (nm)	Hőkezelés hőmérséklete (°C)	Hőkezelés ideje (min)
1	9	500	15
2	9	500	60
3	9	550	15
4	12	550	15
5	9	550	60
6	12	450	120
7	9	450	60
8	12	550	15
9	12	500	60
10	12	550	15
11	12	500	30
12	9	450	30
13	9	450	60
14	9	450	120
15	12	500	30
16	9	500	60
17	9	450	60
18	12	550	120

Ezeknek a SERS- hordozóknak az optikai áteresztőképességét levegőn mértem meg az analitok abszorpciója előtt és után. Továbbá a frissen elkészített és tisztított hordozókat SEM-mel vizsgáltuk meg (lásd: 29. ábra). A megtisztított hordozókat ellenőriztem, és nem volt különbség a plazmonrezonancia hullámhosszában az eredeti értékeikhez képest.



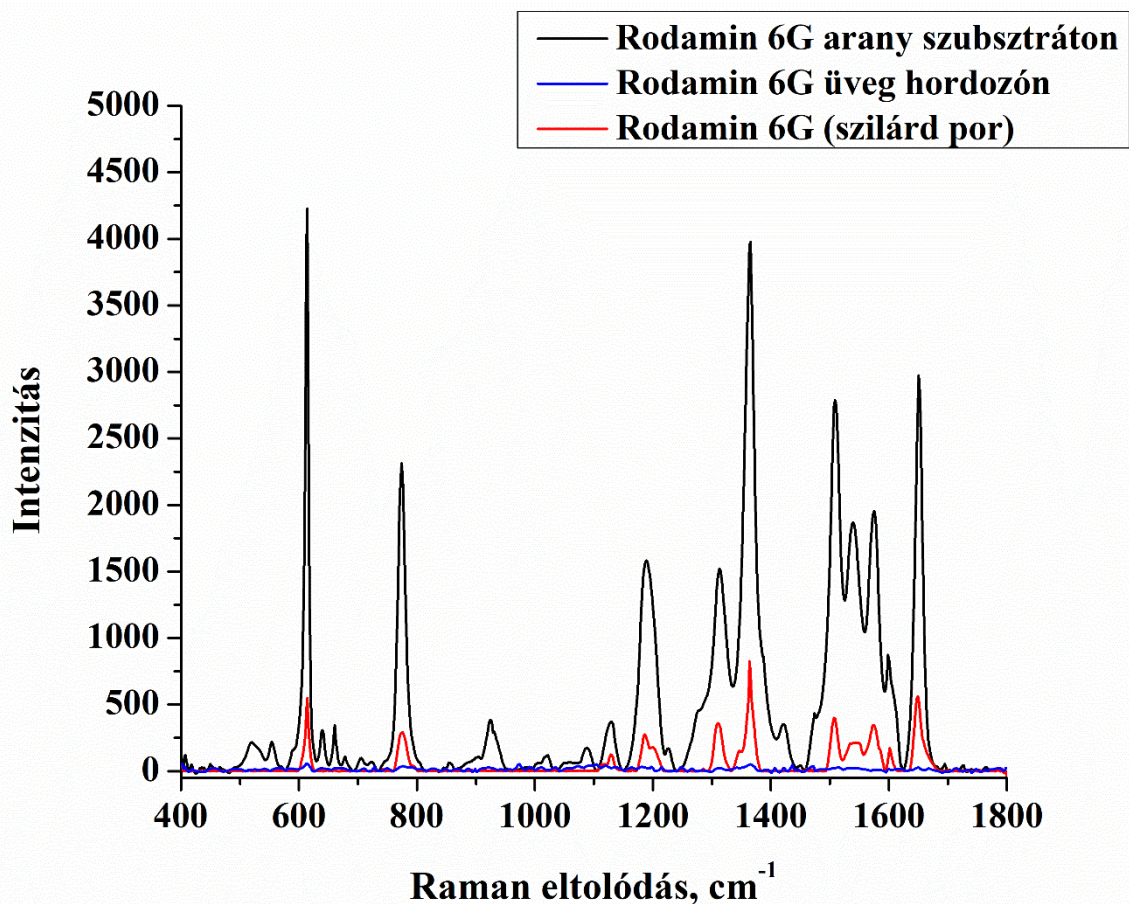
**29. ábra:** Egy arany hordozó SEM-képe (7. minta): a) frissen elkészített; b) mosás után.

A 30. ábra a riboflavin Raman-spektrumait hasonlítja össze, amelyet a fent leírt arany hordozókon, referenciaként tiszta üveghordozón és szilárd, por formájában mértem. Minden spektrumot azonos mérési feltételek mellett vettem fel. A spektrumokon megfigyelhetők a riboflavinra jellemző sávok: nagy intenzitású sávok 1174 és 1222  $\text{cm}^{-1}$ -nél, amelyek megfelelnek az uracilgyűrű C-N hajlító rezgésének, illetve a benzolgyűrű C-CH<sub>3</sub> kötésének a rezgése. Az 1402  $\text{cm}^{-1}$ -nél lévő csúcs a C-C rezgésekhez, az 1496  $\text{cm}^{-1}$ -nél lévő csúcs pedig a -CH<sub>3</sub> csoporthoz rendelhető. Ezenkívül az 1530  $\text{cm}^{-1}$ -nél vállként megjelenő csúcs és az 1562  $\text{cm}^{-1}$ -nél a nagy intenzitású sáv a C-N kötés rezgéséhez köthető [97,99,100].



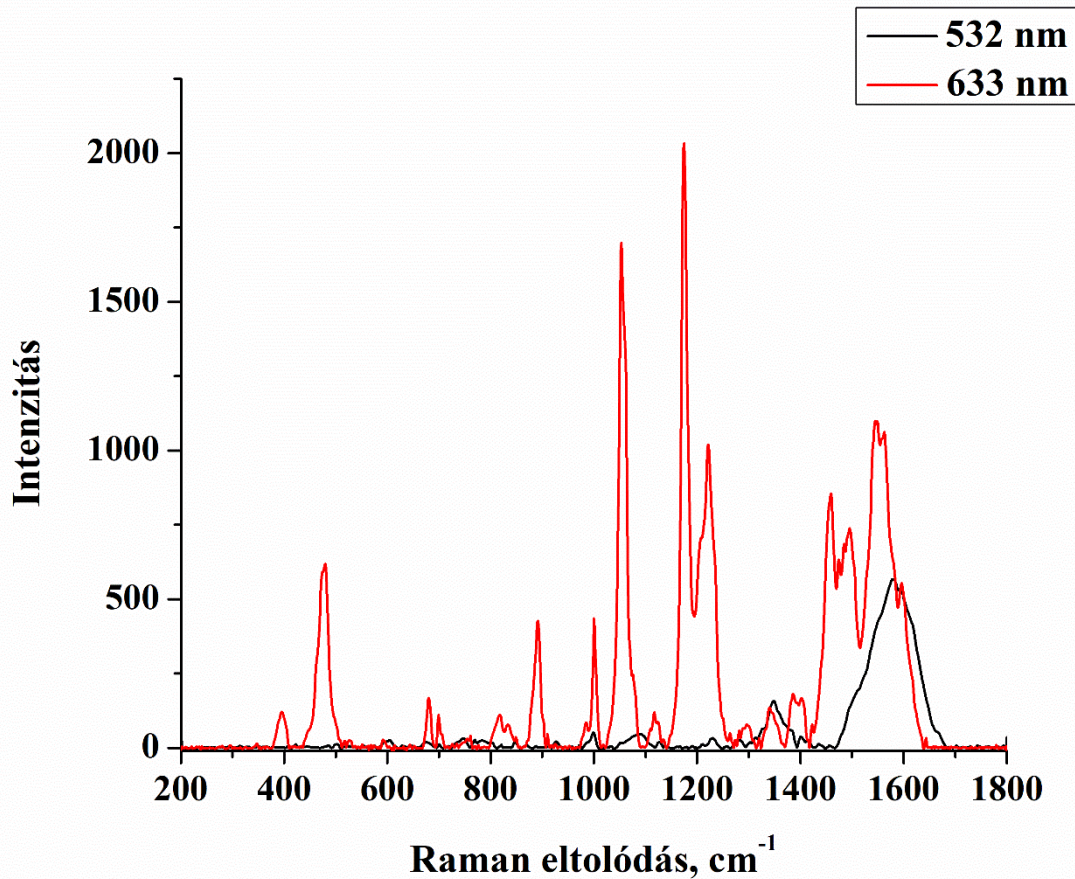
**30. ábra:** A riboflavin Raman-spektrumai arany hordozón, tiszta üveghordozón, valamint szilárd formában mérve.

A 31. ábra a R6G Raman-spektrumát mutatja, hasonlóan a 29. ábrán látható riboflavinhoz. A spektrumok jól szemléltetik, hogy az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozó használatával az R6G fő sávjai nagyobb intenzitással jelennek meg, mint más esetekben. Az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozókon mért spektrumon jól látható az aromás gyűrű C-C rezgése, ami 1650, 1599 és 1363 cm<sup>-1</sup>-nél jelenik meg. Az 1312 cm<sup>-1</sup>-nél lévő sáv a szénváz C-O-C csoportjának feszítő rezgésével hozható összefüggésbe, az 1189 és 773 cm<sup>-1</sup>-es csúcsok pedig a -CH<sub>3</sub> csoport rezgései. 614 cm<sup>-1</sup>-nél a C-C-C kötés rezgése nagy intenzitással jelenik meg [101].



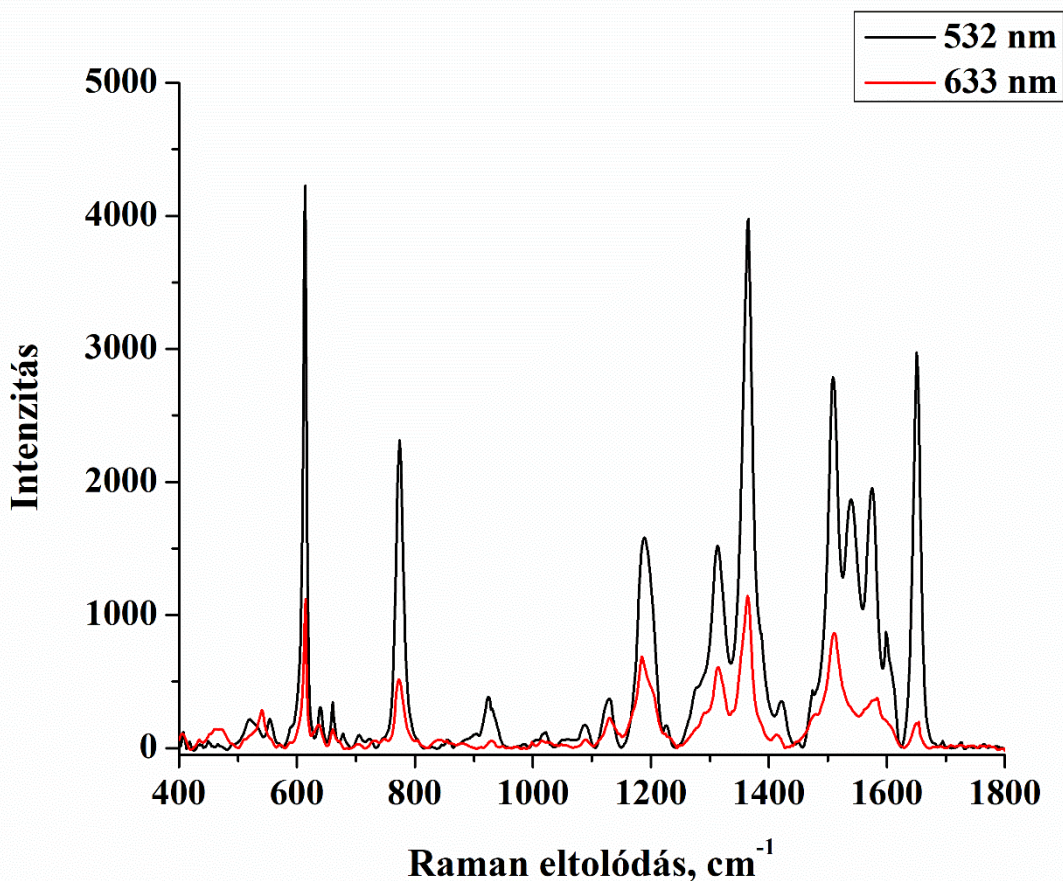
**31. ábra:** A rodamin 6G Raman-spektrumai arany hordozón, tiszta üveghordozón, valamint szilárd formában mérve.

A SERS erősítés mértékét ebben az esetben is a (4) összefüggés alapján számoltam ki. A riboflavin esetében a SERS EF nagyságát a  $\sim 1575 \text{ cm}^{-1}$ -nél lévő csúcs intenzitásából számítottam ki, ami a C-N kötés rezgésének felel meg. Az R6G esetében az EF értéket az aromás gyűrű C-C kötésének rezgéseiből adódó  $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$ -nél lévő csúcs intenzitásából számítottam ki. A 32. ábra egy adott arany nanorészecskéket tartalmazó hordozón mért felületerősített Raman-spektrumokat hasonlít össze két gerjesztési hullámhossz esetén. A riboflavin fő csúcsai mindkét spektrumban megfigyelhetők a 32. ábrán; a Raman-jel erősítésének mértéke azonban jobban látható a 633 nm-es lézer használatakor. Az 532 nm-es lézer esetén az EF értéke  $\sim 9$ -szeres, míg a 633 nm-es gerjesztésnél  $\sim 42$ -szeres.



**32. ábra:** A riboflavin felületerősített Raman-jele két gerjesztési hullámhosszon mérve.

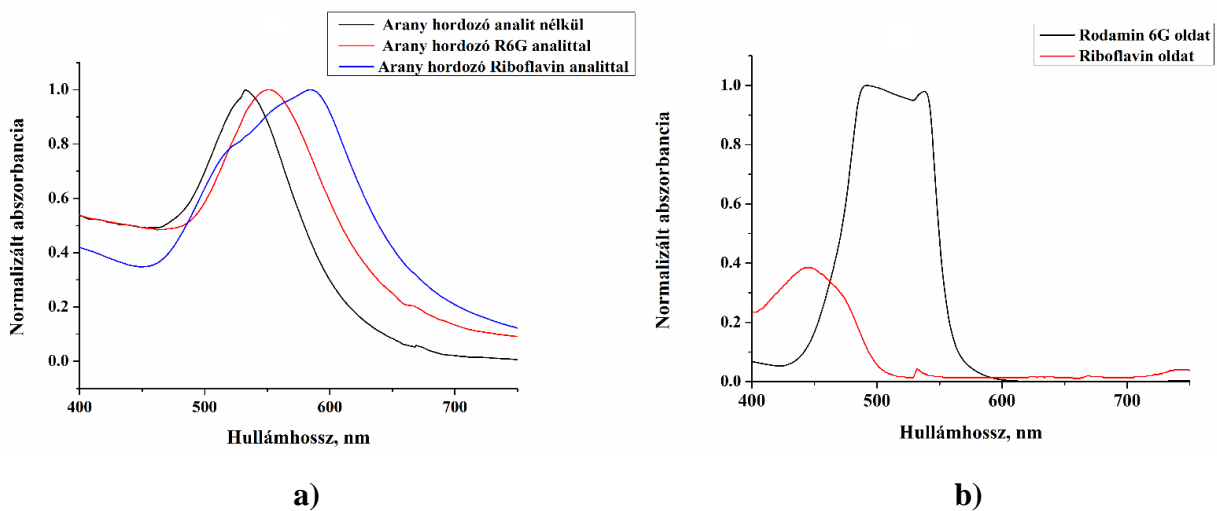
Ugyanezt az összehasonlítást a másik analithoz, azaz az R6G-hez a 33. ábra mutatja be. Az R6G jellemző csúcsai mindkét gerjesztésnél kimutathatók. Az erősítés szempontjából 532 nm-es lézer gerjesztésnél jobb eredményeket értem el; az R6G EF értéke 110-szeres az 532 nm-es gerjesztésnél és csak 14-szeres 633 nm-en.



**33. ábra:** *A R6G felületerősített Raman-jele két gerjesztési hullámhosszon mérve.*

Az arany nanorészecskéket tartalmazó SERS hordozók esetében az 532 nm-es gerjesztésnél nagyobb erősítés várható, mivel a SERS erősítés nagyságát az aktív felület plazmonrezonancia hullámhossza befolyásolja. Tudjuk, hogy az aktív felület plazmonrezonancia csúcsának közel kell esnie a gerjesztő lézerforrás hullámhosszához [83]. Ez igaz az R6G esetében is, ahol a zöld lézerrel nagyobb erősítés figyelhető meg, de a riboflavin esetében az ellenkezője történik. Ez azzal magyarázható, hogy az arany nanorészecskék felületén a riboflavin adszorpciója eltér az R6G abszorpciójától, ami az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozó nagyobb plazmonrezonancia hullámhosszát eredményezi. Ennek eredményeként az LSPR csúcs közelebb lesz a vörös lézer hullámhosszához, és nagyobb erősítés érhető el ezzel a gerjesztő lézer forrással. A 34a. ábra az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozókon mért normalizált abszorpcióját mutatja analit nélkül, R6G-vel és riboflavin oldattal a hordozón felületén adszorbeálva. Látható, hogy az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozó plazmonrezonancia hullámhosszát a különböző analitok hogyan változtatják meg. Kezdetben a tiszta hordozó LSPR hullámhossza 532 nm, amit az R6G oldal 551 nm-re, riboflavin oldat pedig 585 nm-re tol el. Ez utóbbi közelebb van a 633 nm-es

gerjesztő lézerforráshoz, mint az 532 nm-hez. Továbbá a 34b. ábra a két vizsgált oldat normalizált abszorbanciájának spektrumát mutatja. A 400-750 nm-es tartományban a riboflavin abszorpciós csúcsa 510 nm alatt, míg az R6G erős sávja a 425-600 nm-es tartományban található. Ezt a gerjesztési hullámhosszokkal összevetve megállapítható, hogy rezonáns Raman-szórás elsősorban az R6G-nél, és ez csak 532 nm-es gerjesztésnél fordulhat elő. Ennek következtében ennek az analitnak a SERS-spektruma 532 nm-es gerjesztéssel is rezonáns lehet.



**34. ábra:** a) Az arany hordozók normalizált abszorbanciája: tiszta hordozó, riboflavin és R6G oldatokkal. b) az analitikai oldatok normalizált abszorbanciája.

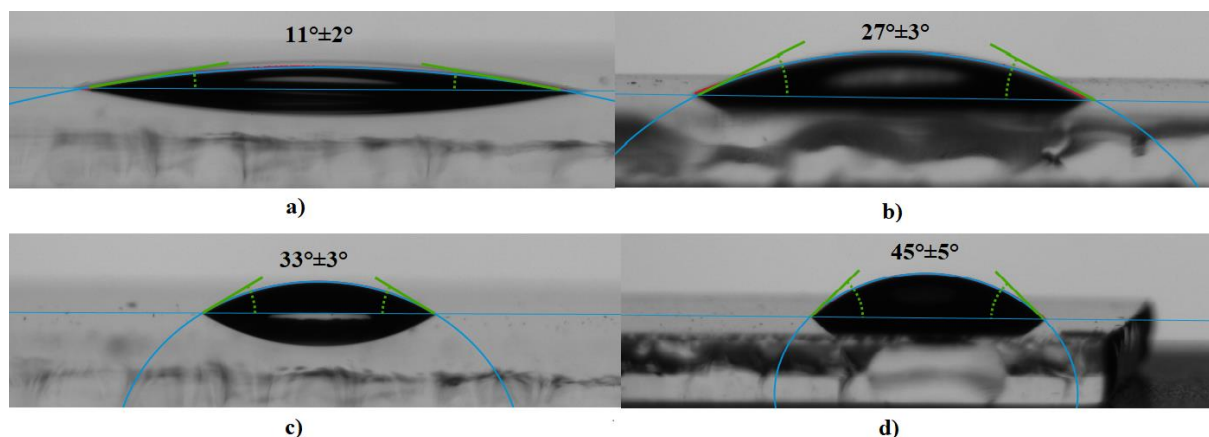
A 14. táblázat összefoglalja az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók plazmon hullámhosszait, miután a riboflavin és az R6G oldatokat adszorbeáltuk a felületükön. Továbbá a táblázat tartalmazza mind a riboflavin, mind a rodamin 6G esetében a fent leírt csúcsok intenzitása alapján számított átlagos EF értékeket a két gerjesztő lézer forrás függvényében (532 nm és 633 nm). Ezen értékek szórása 3-5 % volt. Az arany nanorészecskéket tartalmazó SERS hordozók kezdeti plazmon hullámhossza 510-550 nm tartományba esett [83].

**14. Táblázat:** *Az arany hordozók plazmon hullámhossza különböző analit oldatokkal és a hozzájuk kapcsolódó EF-értékekkel*

Minta szám	Arany hordozó plazmon hullámhossza R6G oldattal, nm	SERS-erősítési tényező különböző gerjesztéseken		Arany hordozó plazmon hullámhossza riboflavin oldattal, nm	SERS-erősítési tényező különböző gerjesztéseken	
		532 nm	633 nm		532 nm	633 nm
1	569	59,98 ± 1,81	0,69 ± 0,04	593	10,46 ± 0,15	16,28 ± 0,29
2	545	85,31 ± 2,99	31,99 ± 0,80	586	14,71 ± 0,22	33,76 ± 0,89
3	539	85,06 ± 2,98	2,67 ± 0,09	570	2,04 ± 0,09	1,89 ± 0,03
4	593	145,06 ± 2,45	54,12 ± 1,89	607	5,93 ± 0,23	69,82 ± 1,51
5	532	44,85 ± 1,57	1,5 ± 0,03	558	1,57 ± 0,03	4,51 ± 0,08
6	636	172,58 ± 2,59	12,30 ± 0,18	643	9,81 ± 0,30	207,12 ± 4,11
7	589	87,97 ± 3,08	4,08 ± 0,06	622	2,71 ± 0,11	100,48 ± 1,92
8	548	154,11 ± 5,39	28,15 ± 0,62	569	2,21 ± 0,09	3,53 ± 0,07
9	582	183,94 ± 3,68	10,96 ± 0,24	600	9,65 ± 0,28	22,37 ± 0,42
10	547	259,17 ± 10,37	32,30 ± 0,71	571	5,50 ± 0,20	35,64 ± 0,75
11	557	86,20 ± 3,02	1,76 ± 0,04	592	28,69 ± 0,67	21,87 ± 0,52
12	559	93,40 ± 2,34	3,79 ± 0,05	595	15,64 ± 0,39	27,55 ± 0,65
13	557	158,83 ± 5,56	54,43 ± 1,72	587	9,80 ± 0,35	15,29 ± 0,35
14	556	104,82 ± 2,62	6,58 ± 0,25	584	16,90 ± 0,42	40,06 ± 0,82
15	582	109,25 ± 2,73	18,09 ± 0,41	613	2,82 ± 0,03	7,71 ± 0,42
16	613	61,91 ± 3,10	5,48 ± 0,21	655	2,75 ± 0,04	127,75 ± 2,11
17	540	67,35 ± 3,37	22,45 ± 0,49	586	12,33 ± 0,29	18,88 ± 0,42
18	573	56,23 ± 2,53	2,54 ± 0,06	627	4,63 ± 0,19	76,47 ± 2,25

A 14. táblázat adatai azt mutatják, hogy az R6G és a riboflavin esetében a magasabb EF különböző hullámhosszú lézer gerjesztésekkel érhető el, ami összefüggésbe hozható az analit SERS hordozón való eltérő adszorpciójával is. A polaritás és a poláris felület (PSA) használható az adszorpció nagyságának meghatározására. A PSA egy olyan molekula felület, amely oxigén- vagy nitrogénatomokból, valamint nitrogén- vagy oxigénatomokhoz kapcsolódó hidrogénatomokból származik. Nagyjából a PSA egy molekula azon képessége, hogy hidrogénkötéseket hozzon létre a nitrogén- és oxigénatomok jelenléte mellett [102]. A PSA parametrizálható, a riboflavin esetében ez  $155 \text{ \AA}^2$ , míg az R6G esetében  $63,5 \text{ \AA}^2$  [103,104]. Mivel a PSA érték összefüggésben áll az adott folyadékok kontaktszögével [105], ezért ez utóbbit üveg és arany nanorészecskéket tartalmazó hordozókon is megmértük. A kontaktszög mérése során készült felvételeket a 35. ábra mutatja be. Megállapítást nyert, hogy a riboflavin

esetében, üveghordozón  $11^\circ \pm 2^\circ$ , míg az R6G esetében  $33^\circ \pm 3^\circ$ , arany hordozón pedig  $27^\circ \pm 3^\circ$  és  $45^\circ \pm 5^\circ$  volt a kontaktszögek értéke.



**35. ábra:** Kontaktszögmérés: a) Riboflavin oldat üveg hordozón b) Riboflavin oldat arany hordozón c) R6G oldat üveg hordozón d) R6G oldat arany hordozón

A kontaktszög mérése is alátámasztja, hogy a két analit oldat máshogy nedvesíti a vizsgált minták felületét. A két analit molekula szerkezetének vizsgálata azt mutatja, hogy a riboflavin szerkezetében több olyan atom (N, O, C) található, amelyeken keresztül több másodlagos kötés (H-kötés és/vagy Van der Waals kötés) tud kialakítani az arany felületével. Továbbá korábbi kutatás eredményéből ismeretes, hogy a riboflavin molekulák a felületen adszorbeálódnak az aromás gyűrűn, a II. és a III. heterociklusos gyűrűkön (N10 és O2) keresztül arany, ezüst és réz esetében [100]. Míg az R6G molekula oldalláncai metilcsoportot ( $-\text{CH}_3$ ) tartalmaznak, amelyek szintén képesek lennének másodlagos kötések kialakítására, viszont az R6G molekula a fém felületén úgy adszorbeálódik, hogy a xantén sík párhuzamosan fekszik, és mind a fenilcsoport, mind az etil-amin csoportok a felületről felfelé mutatnak [105], így jóval kevesebb és gyengébb másodlagos kötések tud kialakítani az arany felületével, mint a riboflavin. Tehát a két molekula szerkezetével magyarázható az arany felületére történő tapadásuk közötti különbség. Így tehát, a kontaktszög mérések eredményei összhangban vannak ezen anyagok PSA értékeivel; a nagyobb kontaktszög azt jelenti, hogy az anyag inkább hidrofób jellegű, és ebben az esetben a PSA-érték alacsonyabb, amint azt a korábbi tanulmány is kimutatta [106]. A vizsgálat eredményeként kiderült, hogy a molekula polaritása befolyásolja a SERS folyamatot, mivel befolyásolja az analit hordozón való adszorpcióját, tehát a felülettel való érintkezését. Ezért az analit kiválasztása során ezt figyelembe kell venni a megfelelő SERS hordozó kiválasztása során.

Az eredményekből adódóan a SERS hatás vizsgálata során nem csak a hordozó paramétereit (anyag, méret, részecskék közötti távolság, valamint a plazmonrezonancia

hullámhossza) és a lézergyjlesztés hullámhosszát kell figyelembe venni [83], hanem a vizsgált analit szerkezetét és a SERS hordozón történő adszorpcióját is.

#### **A fejezet összefoglalása:**

Az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók SERS-erősítését két különböző analittal (riboflavin és rodamin 6G) és két gerjesztési hullámhosszal (532 és 633 nm) vizsgáltam meg.

A kísérleti eredmények szerint 532 nm-es lézergyjlesztés mellett a rodamin 6G esetében magasabb erősítési tényezőt kaptam, míg a riboflavinnál a 633 nm-es fényforrás teljesített jobban.

Az analit és az alkalmazott gerjesztés közötti kapcsolat összefüggésbe hozható a vizsgált molekulák eltérő adszorpciós tendenciájával az arany nanorészecskék felszínén, ami az analitok szerkezetére vezethető vissza, valamint az R6G rezonáns Raman-szórásával 532 nm-es lézergyjlesztés mellett.

Eredményeink azt mutatják, hogy a SERS-mérések tervezése során figyelembe kell venni az analitok adszorpciójának lehetséges különbségeit, mivel ez befolyásolhatja a SERS erősítését és az optimális gerjesztési hullámhosszt.

### 3.3. A SERS-hatás vizsgálata ívkisüléssel készült nanorészecskék használatával

Célkitűzéseim között volt más technológiával előállított plazmonikai nanostruktúrák vizsgálata és felhasználásuk felületerősített Raman-szórás tanulmányozása céljából, így ebben a fejezetben ívkisülés által előállított nanostruktúrák tanulmányozásáról lesz szó.

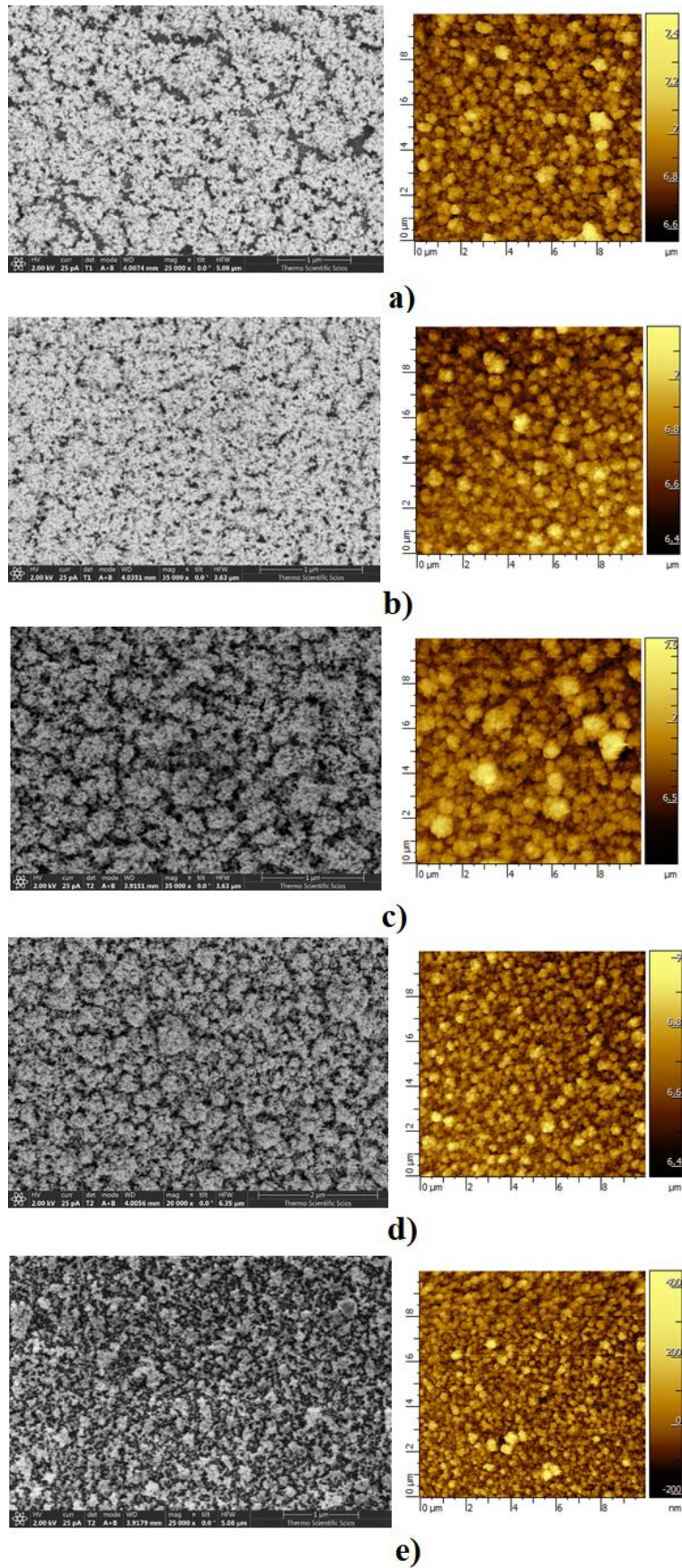
#### 3.3.1. Morfológia és összetétel

Amint az a korábbi fejezetben is leírtam, különböző összetételű Au, Ag és Au/Ag nanorészecskéket állítottunk elő, amelyeket a 15. táblázatban foglaltunk össze. A különböző részecskék lerakódása után kapott nanostruktúrákat S1-től S5-ig jelöljük, ami a növekvő névleges ezüst, illetve a csökkenő névleges arany tartalomra utal. Ebben az esetben is a hordozó mikroszkóp tárgylemez volt.

**15. táblázat:** A felületi érdesség ( $R_a$ ) értékei és az előállított nanostruktúrák összetétele

Minta	Nanorészecske összetétel (Ag m/m%) EDX mérés	Rétegösszetétel (Ag m/m%) ICP-MS mérés	Felületi érdesség (nm)
S1	0	0	89±4
S2	23,1±1,0	25,1±5,0	77±5
S3	44,6±5,0	44,7±3,0	120±13
S4	67,5±4,4	50,1±8,0	84±5
S5	100	100	55±2

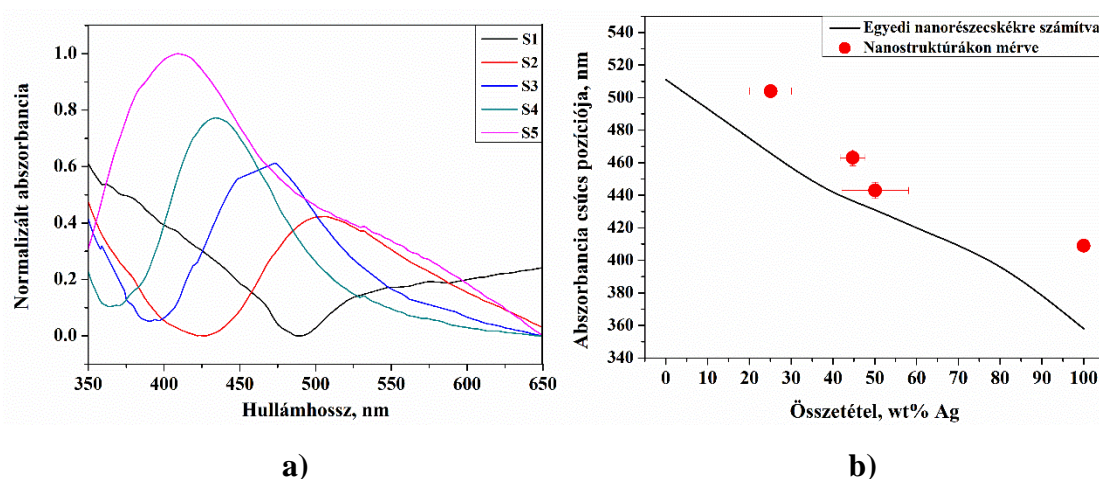
Az előállított nanoszerkezetek morfológiáját és összetételét a szegedi kutatócsoporttal együtt, SEM, AFM és EDX módszerekkel vizsgáltuk. A minták SEM- és AFM-képeit a 36. ábra mutatja be (bal, illetve jobb oldali oszlop). Látható, hogy a részecskék többé-kevésbé homogéne oszlanak el a hordozón, ugyanakkor a réteg porózus jellege is megfigyelhető. Megjegyzendő az is, hogy a minták felületi morfológiája az összetételtől függően változik. Az AFM adatok felhasználásával meghatároztam a különböző minták felületi érdességét, amelyeket a 14. táblázatban foglaltam össze. Az előállított minták érdessége 55 nm és 120 nm közötti tartományba esett, miközben az érdesség relatív szórása 25-30 % volt, ami leginkább az S3 és S5 jelentős eltéréseiből adódik a többi mintához képest. Megemlítenéd, hogy az előállított nanostruktúrák átlagos összetételét is meghatároztuk EDX méréssel, és összehasonlítottuk a keletkezett nanorészecskék ICP-MS analízissel kapott átlagos összetételével. Figyelembe véve a két különböző technika korlátait, mégis a nanostruktúrák összetétele meglehetősen közel áll egymáshoz.



36. ábra: S1 (a), S2 (b), S3 (c), S4 (d) és S5 (e) SEM (bal oszlop) és AFM (jobb oszlop) képei.

### 3.3.2. Optikai tulajdonságok

A különböző minták optikai tulajdonságait abszorbanciájuk mérésével jellemeztük. A 37a. ábra az S1-S5 normalizált abszorbancia spektrumait mutatja, amelyek az abszorbanciacsúcs pozíciójának kékeltolódását mutatják növekvő ezüsttartalom mellett. A kísérleti eredményeket összevetve az egyes gömb alakú nanorészecskékre számított értékekkel<sup>1</sup> (lásd: 37b. ábra) a megfelelő összetételű és mérettartományban, megállapítható, hogy a mért értékek az elméleti trendet észszerűen követik. A nanoszerkezeti rétegeken mért csúcspozíciók azonban következetesen nagyobbak, mint az egyes nanorészecskéké, ami a lerakódott réteget alkotó részecskék közötti kapcsolódásra utal [107, 108]. Mivel a 36. ábrán a részecskék aggregációja látható, az elméleti tendenciától való ilyen eltérés várható volt.

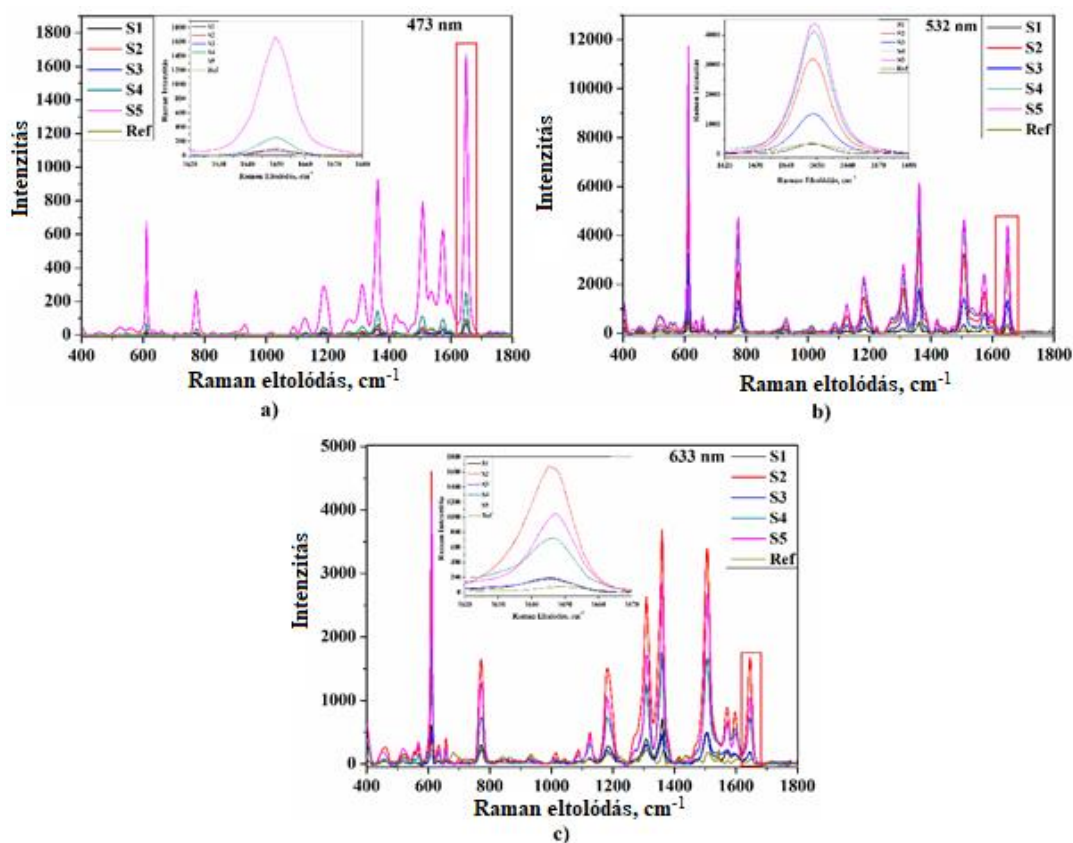


**37. ábra:** Az S1-S5 minták normalizált abszorbancia spektruma (balra), a mintákon mért és az egyes nanorészecskékre számított abszorbanciacsúcs pozíció változása az összetétel függvényében (jobbra)

### 3.3.3. SERS mérések

Az elkészített nanostruktúrákat felületerősített Raman-szórás tanulmányozásához használtam fel, mint SERS hordozókat. A 38. ábra az R6G Raman-spektrumát mutatja be, amelyet különböző hullámhosszú gerjesztő lézerekkel rögzítettem az öt különböző mintán. Az analit nanoszerkezet nélkül mért Raman-spektruma referenciaként látható. Amint a 38. ábra spektrumaiból kitűnik, minden struktúra használata mellett jelentős erősítést értem el, azonban pontos értékük nagymértékben függ a mintától és a lézergyjlesztési hullámhossztól.

<sup>1</sup> A számításokat a MiePlot számítógépes programmal végeztük, amely elérhető az alábbi címen [www.philiplaven.com/mieplot.htm](http://www.philiplaven.com/mieplot.htm)



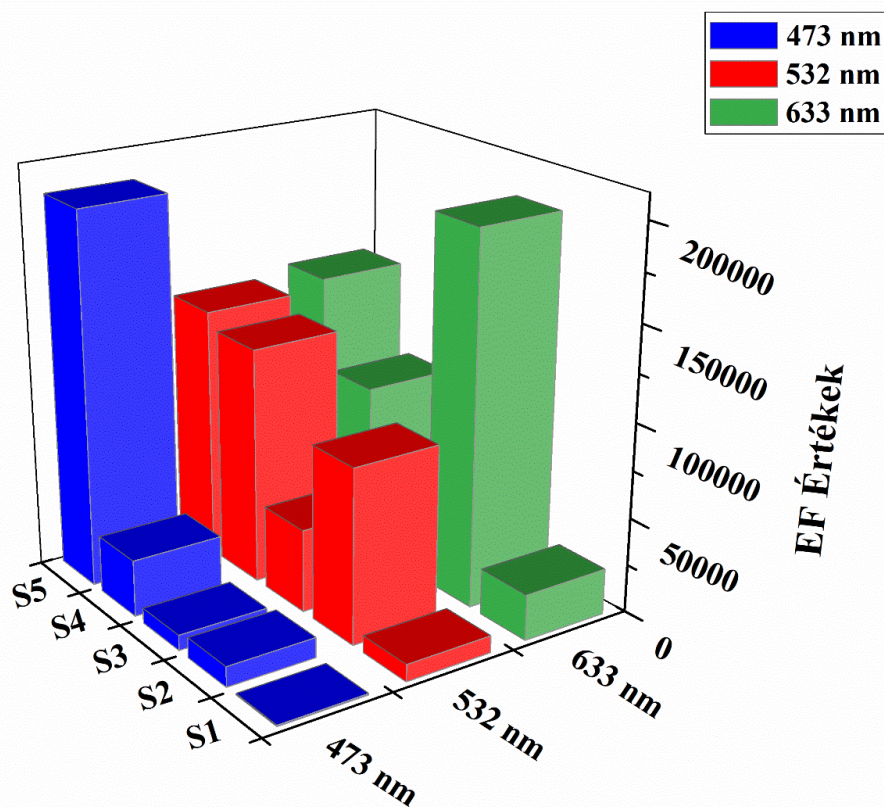
**38. ábra:** A Rodamin 6G Raman-spektruma S1-S5 mintákon mérve három különböző gerjesztési forrással: 473 nm (a), 532 nm (b) és 633 nm (c). Vegye figyelembe a különböző függőleges skálákat. A nanostruktúra nélkül mért analit Raman-spektrumát referenciaként jelöltük

A különböző minták SERS-aktivitásának számszerűsítésére a  $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$  csúcs intenzitásából – a 38. ábrán pirossal jelölve – számítottam ki az erősítési tényezőt az elméleti bevezető részben leírt (4) összefüggés alapján. Az EF értékeket a 16. táblázat tartalmazza.

**16. táblázat** Az S1-S5 EF értékeit az  $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$  csúcsra számítottuk különböző gerjesztési hullámhosszokon.

Gerjesztési hullámhossz	473 nm	532 nm	633 nm
S1	$819 \pm 112$	$8\,904 \pm 1326$	<b><math>24\,153 \pm 2020</math></b>
S2	$10\,759 \pm 696$	$91\,847 \pm 5401$	<b><math>195\,305 \pm 12638</math></b>
S3	$8\,163 \pm 654$	<b><math>43\,922 \pm 3964</math></b>	$24\,421 \pm 3173$
S4	$30\,130 \pm 2890$	<b><math>124\,547 \pm 10105</math></b>	$88\,910 \pm 7116$
S5	<b><math>197\,155 \pm 11819</math></b>	$132\,280 \pm 3311$	$137\,275 \pm 28584$

Amint az a 16. táblázatban látható, a minták erősítési tényezője kb. a  $10^3$ - $10^5$  nagyságú, a nanostruktúra tulajdonságaitól és a lézergyjlesztési hullámhossztól függően. A legnagyobb erősítést, a 473 nm gerjesztő forrás mellett az S5 mintánál, vagyis tiszta ezüst nanostruktúra esetén mértem, illetve a 633 nm-es gerjesztés mellett az S2-es mintánál figyeltem meg ( $\sim 2 \times 10^5$ ). Utóbbi esetben fontos, hogy kaptunk nagyobb erősítési tényező értéket arany-ezüst nanostruktúra esetén is, hiszen bár az ezüst erősítése jelentős, de időbeli stabilitása nem mondható annak. E miatt érdemes arannyal adalékolva növelni a stabilitást.



**39. ábra:** A különböző nanostruktúrák EF értékei különböző gerjesztési hullámhosszokon

A 16. táblázatban látható adatokat a 39. ábra szemlélteti a gerjesztő lézer hullámhosszának hatására különböző struktúrák EF-értékeire. Figyelembe véve, hogy a növekvő mintaszám a struktúra Ag-tartalmának növekedését jelenti – S1 tiszta arany, míg S5 tiszta ezüst (lásd a 15. táblázatot) – megjegyzendő, hogy a gerjesztési hullámhossz csökkentésével a magasabb Ag-tartalmú minták magasabb erősítési tényezőt produkálnak. Ugyanakkor nagyobb gerjesztési hullámhosszon az optimális Ag-tartalom csökken. Bár a változás nem folyamatos, ez a tendencia megegyezik az abszorbancia csúcs eltolódásával, amely kékeltolódást mutat az ezüst tartalom növekedésével, jelezve, hogy a maximális

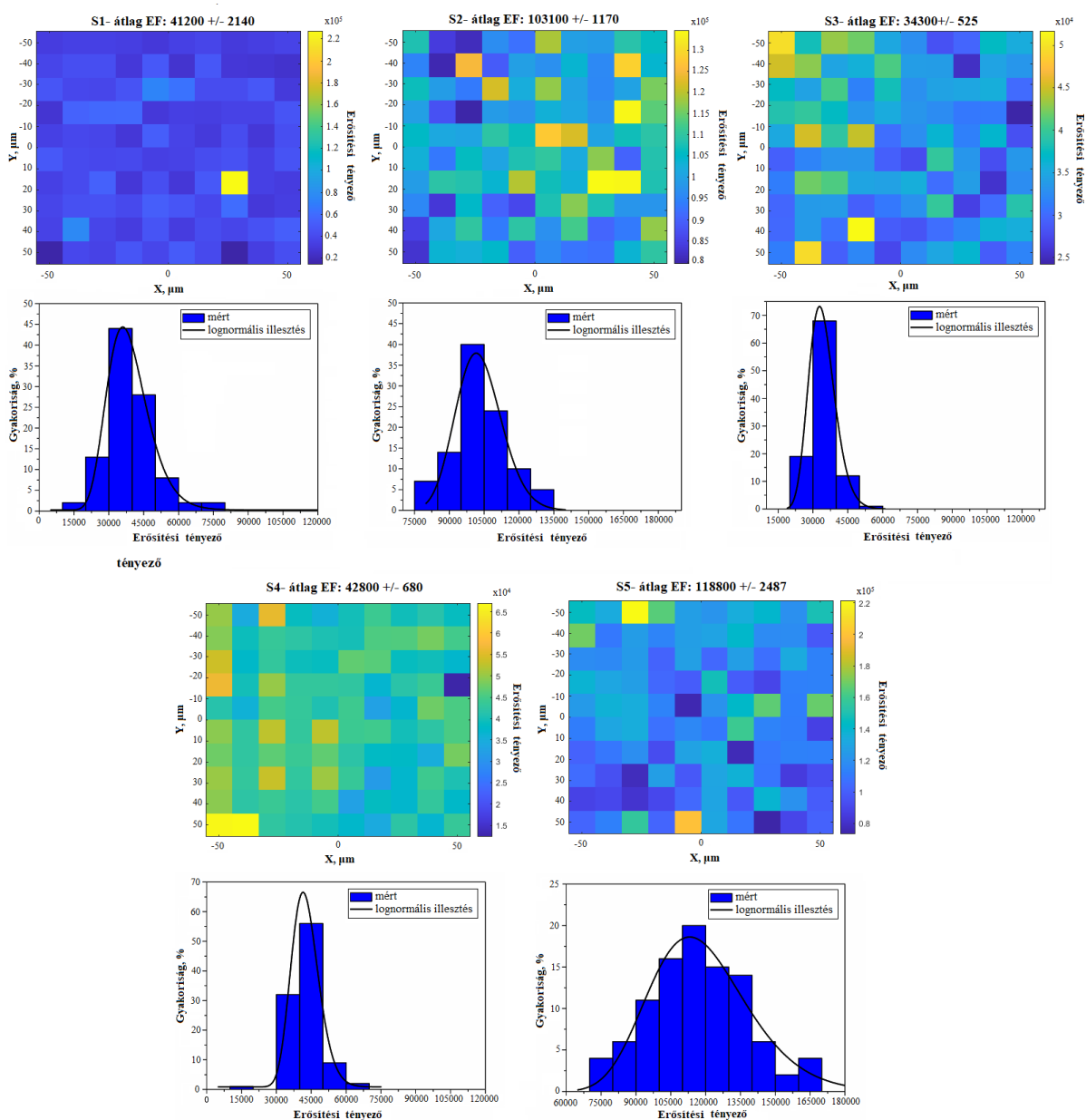
erősítéshez az optimális gerjesztés az abszorbancia csúcsot követi. Ez azt jelenti, hogy az összetétel változtatásával a hordozókat úgy hangolhatjuk, hogy a gerjesztéshez használt lézer hullámhosszán optimális erősítést biztosítsanak. Az ilyen hangolhatóság gyakorlati vonatkozása abból a tényből adódik, hogy célunk az erősítési tényező növelése. Azonban az ezüst felhasználása SERS hordozóként néha hátrányokkal jár, ugyanis az ezüst kémiaiilag instabil levegőn, amelyet arannyal ötvözve lehet leküzdeni [109]. Amint azt a 17. táblázat és a 38. ábra bizonyítja, az Au/Ag összetétel és a gerjesztési hullámhossz gondos megválasztásával a tiszta ezüsthöz hasonló erősítési tényezők érhetők el.

A minták erősítési tulajdonságainak további jellemzésére elkészítettük az öt hordozó erősítési térképét, a legkedvezőbb mérési paraméter beállítása mellett, azaz minden minta esetén az arra jellemző optimális gerjesztési hullámhosszon (lásd 15. táblázat). Ezek a térképek lehetővé teszik a nanostruktúrák felületi jellemzőinek minőségi értékelését (azaz a kivételesen nagy intenzitású forró pontok vagy alacsony intenzitású hibák jelenlétének kimutatását), az erősítési tényező felületi eloszlásának számszerűsítését, valamint a szórás kiszámítását, amely érték jól jelzi a minta homogenitását.

Az S1-S5 erősítési térképei és a megfelelő EF eloszlások a 40. ábrán láthatók. A térképekből és az eloszlási grafikonokból jól látható, hogy az erősítés változása megközelítőleg log-normális eloszlást követ a vizsgált felületen. Az átlagos értékeket és az erősítési tényező szórását a 17. táblázat foglalja össze. A relatív szórás értékek 1-5 % tartományba esnek, ami azt jelenti, hogy a struktúrák felületerősítése kivételesen egységesnek, homogénnek tekinthető. Megjegyzendő azonban, hogy a  $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ -es mért terület az aktív felületnek csak egy kis részét jellemzi, és a minta széléhez közeledve, ahol egyre kevesebb nanorészecske van jelen, a megfigyelt eloszlások jelentősen megváltozhatnak. Ezt jól tükrözi, hogy a teljes mintán több, különböző pontban mért és átlagolt erősítési tényező értékek némileg eltérnek az egyes minták kisebb részének feltérképezésével kapott értékektől. Ennek ellenére a teljes mintának megfelelő relatív szórások továbbra is 3-21 % tartományban esnek (9 %-os átlaggal), ami meglehetősen jó homogenitásra utal.

17. táblázat: Az S1-S5 erősítési térképeiből származó átlagos erősítési tényező és annak (relatív) szórása.

	S1	S2	S3	S4	S5
Átlag EF	41 200	103 100	34 300	42 800	118 800
Szórás	2 140	1 170	525	680	2 487
Relatív szórás	5,2%	1,1%	1,5%	1,6%	2,1%



40. ábra: Erősítési térképek és a megfelelő eloszlások.

A fenti eredmények tükrözik a Raman-erősítési tényező függését az alkalmazott nanostruktúra anyagi tulajdonságaitól, jelen esetben annak összetételétől és optikai paramétereitől. Esetünkben ezt úgy értük el, hogy gázfázisban különböző összetételű nanorészecskéket állítottunk elő. A minták morfológiai elemzése során azt tapasztaltuk, hogy a különböző minták eltérő érdeességet mutatnak (lásd: 15. táblázat, 36. ábra), amelyről ismert, hogy befolyásolja a felület erősítését [110]. Rögzített NP-méret, -forma és -sűrűség esetén az NP-réteg átlagos összetételének van a legnagyobb jelentősége a különféle potenciális SERS-alapú alkalmazásokban való általános alkalmazhatóság szempontjából (lásd például a kémiai stabilitás és biokompatibilitás kérdését). Mindazonáltal gyakorlati szempontból érdemes felmérni a felületi morfológia potenciális hozzájárulását a lerakódási módszerből fakadó általános fokozó hatáshoz.

### **A fejezet összefoglalása:**

Sztrakisüléssel technikát használtunk Au, Ag és Au/Ag nanorészecske alapú agglomerátumok előállítására, és alacsony nyomású inerciális impaktor alkalmazásával, mikroszkóp tárgylemezre történt a nanostruktúrák leválasztása.

Az előállított rétegeket morfológiájuk, összetételük és optikai tulajdonságaik alapján jellemeztük. Az elkészített nanostruktúrákon megvizsgáltam a felületerősített Raman-szórás, amelyhez R6G etanolos oldatát használtam. Az előállított nanostruktúrák átlagos összetételét és a gerjesztő lézer hullámhosszát változtattuk, hogy jellemezhessük a nanoszerkezetek erősítési tényezőjét különböző arany-ezüst összetétel arány mellett.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a különböző összetételű Au/Ag NP-k leválasztásával előállított minták nemcsak optikai tulajdonságaikban (azaz abszorbancia spektrumukban) térnek el egymástól, hanem a szerkezetek átlagos felületi érdeességében is kismértékű eltérések mutatkoznak.

A minták erősítési tényezője kb.  $10^3$ - $10^5$  nagyságú, a nanostruktúra tulajdonságaitól és a gerjesztési hullámhossztól függően. A legnagyobb erősítést, a 473 nm gerjesztő forrás mellett az S5 mintánál, tehát tiszta ezüst nanostruktúra esetén mértem, illetve a 633 nm-es gerjesztés mellett az S2-es mintánál figyeltem ( $\sim 2 \times 10^5$ ). Megállapítást nyert, hogy a gerjesztési hullámhossz csökkentésével a magasabb Ag-tartalmú minták magasabb erősítési tényezőt produkálnak. Ez a tendencia megegyezik az abszorbanciacsúcs eltolódásával, amely kékeltolódást mutat az ezüsttartalom növekedésével, jelezve, hogy a maximális erősítéshez az optimális gerjesztés az abszorbancia csúcsot követi. Ez azt jelenti, hogy az összetétel

változtatásával a hordozóinkat úgy hangolhatjuk, hogy a gerjesztéshez használt lézer hullámhosszán optimális erősítést biztosítsanak.

A hordozók SERS-erősítési képességének tovább tanulmányozásához elkészítettük az öt hordozó erősítési térképét, a legkedvezőbb mérési paraméter beállítása mellett, azaz minden minta esetén az arra jellemző optimális gerjesztési hullámhosszon. A kapott eredmények alapján elmondható, hogy a struktúrák felületjavítása egységesnek tekinthető, viszont megjegyzendő, hogy a feltérképezett terület a hordozók egy kis részletéről nyújtanak információt. Ezért a teljes mintán, több pontban mért és átlagolt erősítési tényező értékek némileg eltér az egyes minták kisebb részének feltérképezésével kapott értékektől.

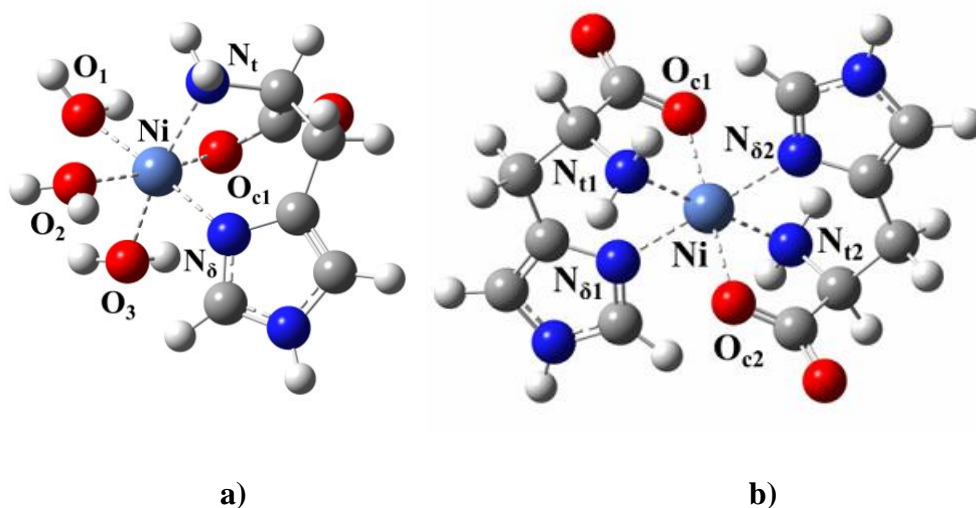
Kutató munkám ezen szakasza Dr. Kohut Attilával és kutatócsoportjával együttműködve valósult meg.

### 3.4. Hisztidin-Ni (II) fémkomplex azonosítása Raman-spektroszkópiával

Ebben a fejezetben egy aminosav-fémion kölcsönhatásának a vizsgálatáról, és a kialakult fém-komplex detektálásáról lesz szó. A vizsgálatokhoz Raman-mikroszkópot használtam.

#### 3.4.1. Elméleti számítások

A korábbi vizsgálatok alapján [111-113] a létrejövő fém-hisztidin komplex szerkezete oktaéderez geometriájú lehet, két vagy három vízmolekulát is magában foglalva [39]. A hisztidin molekulában a lehetséges kötőhelyek közé tartozik az imidazolgyűrű nitrogénatomja, a karboxilcsoport oxigénatomja és az aminocsoport nitrogénatomja. Ezeket figyelembe véve az elméleti számításokhoz a következő egyszeres és kettős His-Ni komplex geometriákat modelleztük, melyeket a 41. ábra mutat be.



**41. ábra:** Gázfázisú egy (a) és kettős (b) hisztidin-nikkel komplexek optimalizált geometriája a kiválasztott atomok jelöléseivel és számozásával együtt

Az elméleti számításokhoz az önkonzisztens sűrűségfüggvény elmélet (DFT) térmódszerét a hibrid B3LYP függvényt alkalmaztuk, amely korrigált cserefüggvények [114], és a háromparaméteres gradiens-korrekciós függvények [115] lineáris kombinációjából áll. A számításokat a Gaussian-09 programcsomag segítségével végeztük el [116]. A hármas zéta vegyérték (TZV) Pople 6-311++G(d,p) báziskészletet minden atomra alkalmaztuk [117]. A hisztidin-Ni komplexek összenergiájának Berny optimalizálási algoritmussal végzett minimalizálása során nem alkalmaztunk geometriai korlátokat a modellre.

A kezdeti geometriai optimalizálásokat gázfázisú hisztidin-Ni komplex modellekre végeztük el. A három vízmolekulából álló explicit szolvatációs modellt egyetlen hisztidin-Ni komplexhez használtuk fel (41a. ábra). Ezenkívül a vízközegre is a szolvatációs modellt

alkalmaztuk, amely végtelen kontinuumként tekint a közegre, és olyan dielektromos és hidrofób tulajdonságokkal rendelkezik, mint a vízmolekulák. Mind az egy-, mind a kettős hisztidin-Ni komplexek solvatációját implicit módon a sűrűségeen alapuló univerzális kontinuum solvatációs modell (SMD) segítségével modelleztük, amelyet Truhlar és munkatársai fejlesztettek ki [118]. Az egy- és kettős hisztidin-nikkel komplexek gázfázisú és kontinuum solvatációs modellekkel számított összenergiáit és optimális atomközi távolságait a 18. táblázat tartalmazza.

**18. Táblázat:** *Atomok közötti távolságok és összenergiák ( $E^{tot}$ ) az egy- és kettős His-Ni komplexekben gázfázisú és SMD modellekkel optimalizálva*

Egy His-Ni (II)			Kettős His-Ni (II)		
Atomok jelölése	Távolságok (Å)		Atomok jelölése	Távolságok (Å)	
	gázfázis	SMD		gázfázis	SMD
Ni-O <sub>c1</sub>	1,98	2,08	Ni-O <sub>c1/2</sub>	2,04	2,11
Ni-N <sub>δ</sub>	2,07	2,08	Ni-N <sub>δ1/2</sub>	2,18	2,17
Ni-N <sub>t</sub>	2,09	2,09	Ni-N <sub>t1/t2</sub>	2,13	2,12
<b>E<sup>tot</sup> (a.u.)</b>	-2285,9253	-2286,0551	<b>E<sup>tot</sup> (a.u.)</b>	-2605,08311	-2605,16951

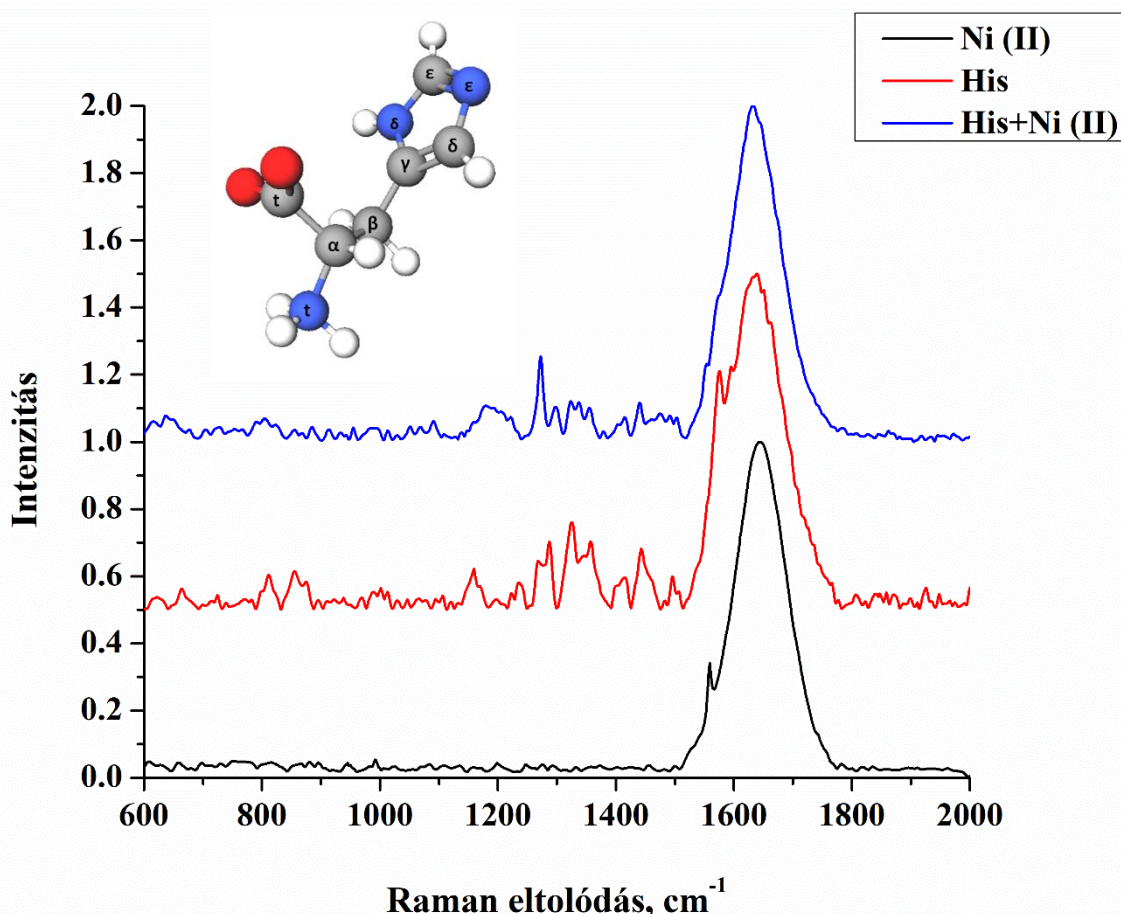
Végezetül frekvenciaszámításokat végeztünk ugyanazon módszerrel és függvényekkel, melyek az optimalizált komplexek valódi minimális energiaszerkezetként igazolták. Az összes számított rezgésmód-frekvenciáját 0,97-es tapasztalati tényezővel skáláztuk. A modellekből számított Raman-módusait használtuk fel a hisztidin-nikkel komplexek Raman-spektrumának szimulálására egy Lorentz-alakfüggvény segítségével, amelynek intenzitása arányos a számított Raman-aktivitással, és a teljes félérték szélesség (FWHM) 8 cm<sup>-1</sup>.

Az elméleti számításokat Roman Holomb végezte.

### 3.4.2. Raman-mérések és elméleti számítások eredményei

A mérések első szakaszában hisztidin és  $\text{NiCl}_2$   $0,05 \text{ mol/dm}^3$  koncentrációjú vizes oldatát használtam a kísérletekhez. Az első lépés a hisztidin (His) oldat mérése volt, amelynek Raman-spektruma a 42. ábrán látható (piros vonal). A spektrumon megjelenő csúcsok mind az aminosav molekulákra jellemzők (megjegyzendő, hogy az  $1500\text{-}1800 \text{ cm}^{-1}$  régióban lévő széles sáv a vízhez köthető).

A hisztidin szerkezetét a 42. ábrán láthatjuk. A molekula összegképlete  $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$ , szén-, nitrogén-, oxigén- és hidrogénatomot tartalmaz. A 19. táblázat összefoglalja a Raman-spektrumon megfigyelt csúcsokat, a korábban közzétett referenciacsúcs-pozíciókkal együtt [119], valamint a hozzájuk kapcsolódó rezgéseket. A Raman-spektrumot a különböző C-C, C-N, C-H és N-H rezgések uralják.

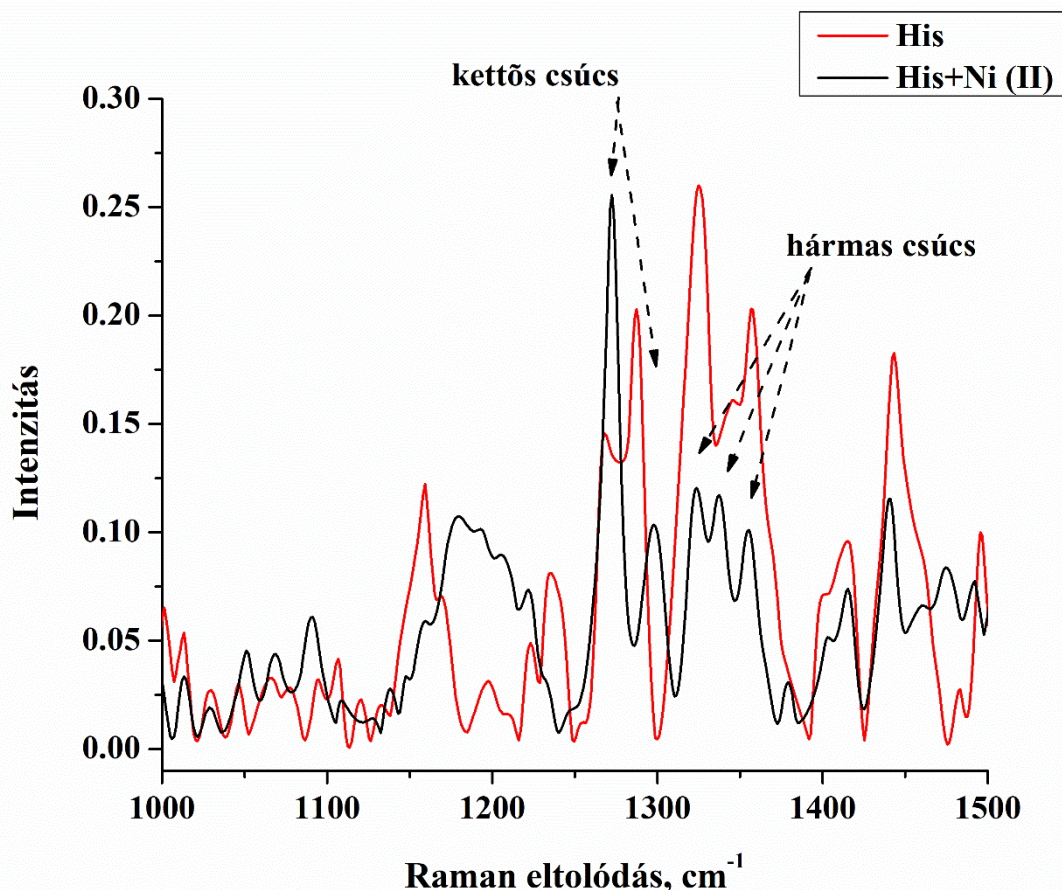


**42. ábra:** A nikkelt, hisztidin és His-Ni(II) oldatok mért Raman-spektrumai és a hisztidin szerkezete.

**19. táblázat:** A hisztidin Raman-csúcsainak pozíciói és a hozzárendelt kötések. Az atomjelölések ugyanazok, mint a 42. ábrán.

Kísérletileg mért Raman-csúcs, cm <sup>-1</sup>	Referencia Raman-csúcs, cm <sup>-1</sup> [119]	Hozzárendelt kötések
855	855	$\omega(\text{C}_\varepsilon\text{-H})$
873	874	$\omega(\text{C}_\delta\text{-H}), \tau(\text{C}_\gamma\text{-C}_\delta)$
990	993	$\text{C}_\alpha\text{-C}_\beta$ .
1014	1010	$\text{C}_\gamma\text{-N}_\delta\text{-C}_\varepsilon, \text{N}_\delta\text{-C}_\varepsilon\text{-N}_\varepsilon$
1159	1160	$\text{N}_\varepsilon\text{-C}_\varepsilon, \text{C}_\gamma\text{-N}_\varepsilon, \text{N}_\varepsilon\text{-C}_\varepsilon\text{-H}$
1196	1193	$\text{N}_i\text{H}_3^+\text{asym. rock.}, \text{C}_\beta\text{-C}_\alpha\text{-H}_\alpha$
1235	1236	$\text{N}_i\text{H}_3^+\text{asym. rock.}, \text{C}_\beta\text{-twist.}$
1267	1268	$\text{N}_\delta\text{-C}_\varepsilon\text{-H}, \text{C}_\gamma\text{-C}_\delta\text{-H}$
1287	1287	$\text{C}_\gamma\text{-N}_\delta, \text{C}_\gamma\text{-N}_\varepsilon, \text{C}_\beta\text{-rock.}, \text{C}_\beta\text{-C}_\gamma$
1325	1324	$\text{N}_i\text{H}_3^+\text{asym. rock.}, \text{C}_\beta\text{-rock.}, \text{C}_t\text{-C}_\alpha\text{-H}$
1357	1357	$\text{N}_\delta\text{-C}_\varepsilon, \text{C-twist.}, \text{C}_\gamma\text{-N}_\delta$
1414	1412	$\text{N}_t\text{-C}_\alpha\text{-H}_\alpha, \text{C}_\beta\text{-C}_\alpha\text{-H}, \text{C}_\beta\text{-rock.}$
1443	1441	$\text{C}_t\text{OO}^- \text{sym. st.}, \text{C}_\alpha\text{-C}_t$
1495	1516	$\text{N}_\varepsilon\text{-C}_\varepsilon, \text{N}_\delta\text{-C}_\varepsilon\text{-H}, \text{N}_\varepsilon\text{-C}_\varepsilon\text{-H}$
1575	1576	$\text{C}_\gamma\text{-C}_\delta, \text{C}_\beta\text{-C}_\gamma, \text{N}_\delta\text{-C}_\gamma\text{-C}_\delta$

Ezután a hisztidin 0,05 mol/dm<sup>3</sup> koncentrációjú oldatához ugyanolyan, 0,05 mol/dm<sup>3</sup> koncentrációban Ni (II) ionokat adtam hozzá 1:1 térfogatarányban. A 42. ábra a Ni (II), His és His-Ni (II) oldatok spektrumát hasonlítja össze. A 42. ábrán a Ni (II) ionok hozzáadása után, a His + Ni (II) és a His oldatok spektrumai között lévő különbségeket figyelhetünk meg. A fő különbségek az 1000-1500 cm<sup>-1</sup> hullámszám tartományban figyelhetőek meg, a 43. ábra a két spektrum ezen tartományát mutatja. Ebben a régióban számos, jelentős eltérés figyelhető meg.



**43. ábra:** *His és His-Ni (II) oldatok kísérletileg kapott Raman-spektrumai az 1000-1500 cm<sup>-1</sup> tartományban*

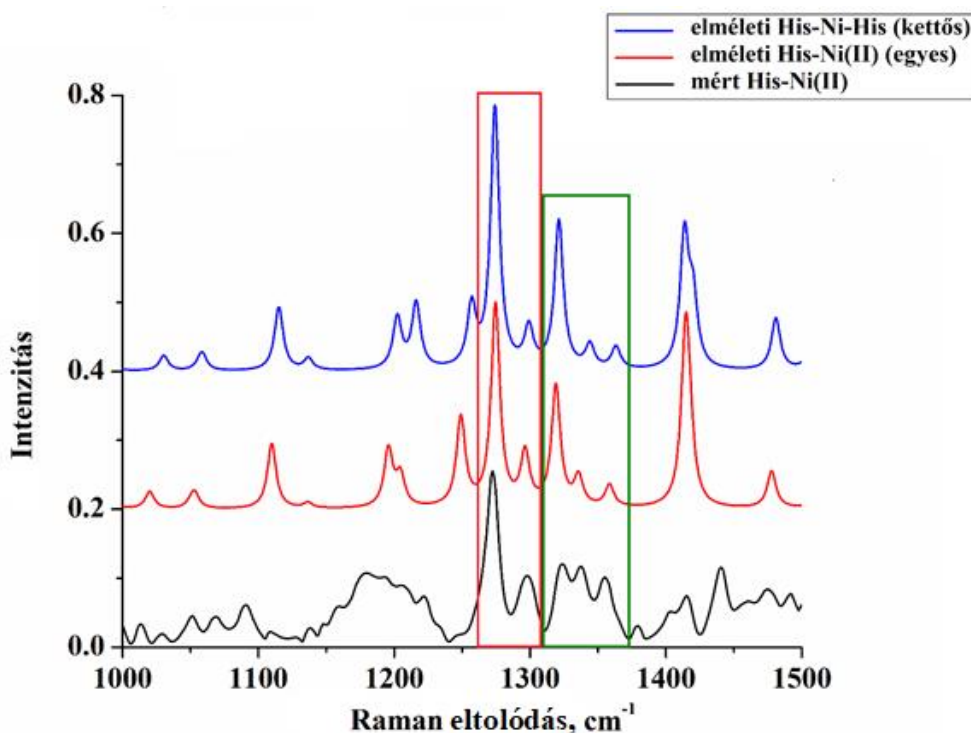
Megfigyelhető, hogy az 1159, 1234, 1267, 1287 és 1495 cm<sup>-1</sup> csúcsok eltűntek, míg az 1196, 1323, 1354, 1414, 1443 és 1575 cm<sup>-1</sup> sávok intenzitása csökkent. Ezek a változások a hisztidin molekula szerkezetének megváltozására, és a nikkel-hisztidin komplex kialakulására utalnak. Ezt az is megerősíti, hogy a His-Ni (II) spektrumában új csúcsok jelennek meg 1272, 1297 és 1336 cm<sup>-1</sup>-nél. Így feltételezzük, hogy az 1272 és 1298 cm<sup>-1</sup>-nél jelenlévő kettős csúcsok, valamint az 1322, 1337 és 1355 cm<sup>-1</sup>-nél lévő hármass csúcsok a His-Ni (II) komplexhez köthetők. Ezen túlmenően az is megállapítható, hogy az imidazolgyűrű N<sub>δ</sub>-atomja (1267 és 1287 cm<sup>-1</sup>-nél a csúcsok eltűnése), az aminocsoport N<sub>τ</sub>-atomja (a csúcsok eltűnése 1134 és 1323 cm<sup>-1</sup>-nél) és a karboxilcsoport O-atomja (a csúcs intenzitásának csökkenése 1443 cm<sup>-1</sup>-nél) amik részt vesznek a Ni (II) ionok megkötésében, ezzel kialakítva a His-Ni (II) komplexet. Hipotézisünk igazolására elméleti számításokat végeztünk a His-Ni (II) komplex Raman-sávjainak meghatározására.

A His-Ni kölcsönhatások modelljei egy és egy kettős hisztidin-Ni komplexből állnak (41. ábra), amelyeknek a geometriája oktaéderes. Korábbi tanulmányban arról számoltak be, hogy a magasabb spin-állapot energetikailag kedvezőbb a  $\text{Ni}^{2+}$  kation számára egy ilyen komplexben [39]. Ezért az itt leírt összes számítást tripllett állapot alkalmazásával végeztük. Ebben a geometriai elrendezésben hisztidin az  $\text{N}_\delta\text{--Ni--O}_c / \text{N}_t$  atomokon keresztül köti meg a fémiont (41a. ábra). Ahogy korábban említettük (43. ábra), az 1000-1500  $\text{cm}^{-1}$  spektrumtartományban megfigyelt kettős és hármas csúcsok fontosak lehetnek. Ezért a 44. ábra az egyetlen His-Ni (II) ion komplex szimulált Raman-spektrumának részletes összehasonlítását mutatja, a hisztidin-nikkel oldat kísérletileg mért Raman-spektrumával. A modellezett Raman-spektrumot az SMD- modell segítségével oktaéderes geometriában és tripllett állapotban számoltunk ki.

Nagymértékű egyezés figyelhető meg a kísérleti és az elméleti spektrumok között, ami a 44. ábrán látható. A kettős (pirossal jelölve) és hármas (zölddel jelölve) csúcsok mindkét spektrumon megfigyelhetők. A kísérleti mérések szerint a kettős csúcsok helyzete 1272 és 1297  $\text{cm}^{-1}$ , míg a hármas csúcsok 1323, 1337 és 1355  $\text{cm}^{-1}$ -nél helyezkednek el. Az elméleti számítások esetén ezek a csúcsok 1274 és 1296  $\text{cm}^{-1}$ , illetve 1319, 1335 és 1358  $\text{cm}^{-1}$ -nél helyezkednek el. Ezeken a sávokon kívül a két spektrum számos egyezést mutat, például az 1051, 1109, 1194, 1204, 1414 és 1474  $\text{cm}^{-1}$  csúcsokat beleértve.

Mindezek mellett kettős hisztidin-nikkel komplex képződése is lehetséges. Ezért a modellezés során ezt a lehetőséget is figyelembe vettük, és további DFT számításokat végeztünk kettős His-Ni (II) komplexen (His-Ni-His). Ennek a komplexnek az optimális geometriai felépítése az 40b. ábrán látható. A modell egy oktaéderes (tripllett állapotú) geometriai elrendezésű konformációból áll, amely lehetővé teszi a fémionok számára, hogy az  $\text{N}_\delta\text{--Ni--O}_c / \text{N}_t$  atomokon keresztül kölcsönhatásba lépjenek a hisztidin molekulákkal.

A His-Ni-His komplex szimulált Raman-spektrumát összehasonlítottuk a komplex kísérleti és elméleti (egyetlen His-Ni (II)) spektrumával, amely szintén a 44. ábrán látható. Amint az a 44. ábrán látható, az elméleti spektrum (kék spektrum) ennek a konformációnak a nagyfokú hasonlóságát mutatja a kísérletivel. Ennek az összetett geometriának a szimulált Raman-spektrumában a fémion és az aminosav kölcsönhatásával kapcsolatos kettős (pirossal jelölve) és hármas csúcsok (zölddel jelölve) szintén jelen vannak. Ezenkívül más hasonlóságok is vannak a kísérleti és az ilyen oktaéderes geometria spektruma között.



**44. ábra:** His-Ni-oldat kísérleti Raman-spektrumainak összehasonlítása az egyes és kettős His-Ni (II)-komplexek szimulált spektrumával Raman-spektrumával 1000-1500  $\text{cm}^{-1}$  tartományban.

Ezekből az eredményekből arra lehet következtetni, hogy az  $\text{N}_\delta$ ,  $\text{O}_\epsilon$  és  $\text{N}_\tau$  atomokon keresztül alakul ki a fém-hisztidin komplex. A kapott komplex oktaéderez konformációt alkot, amelyben a Ni-ionok triplett spin állapotban vannak. Továbbá, ha megvizsgáljuk az egyszeres His-Ni (II) komplex és a kettős His-Ni (II) komplex elméletileg számított Raman-spektrumát, akkor látható, hogy a két geometriai elrendezés spektrumai nagyfokú hasonlóságot mutatnak. A kettős csúcsok intenzitását tekintve szinte azonosak mind a kísérleti, mind az elméleti spektrumban. A hármas csúcs esetében intenzitásbeli különbségek vannak, egyes sávok helyzetében kisebb frekvenciaeltolódás figyelhető meg, de ilyen kis eltérések alapján nem tudunk különbséget tenni e két forma között. Feltételezhetjük tehát, hogy mindkét forma jelen van a rendszerben.

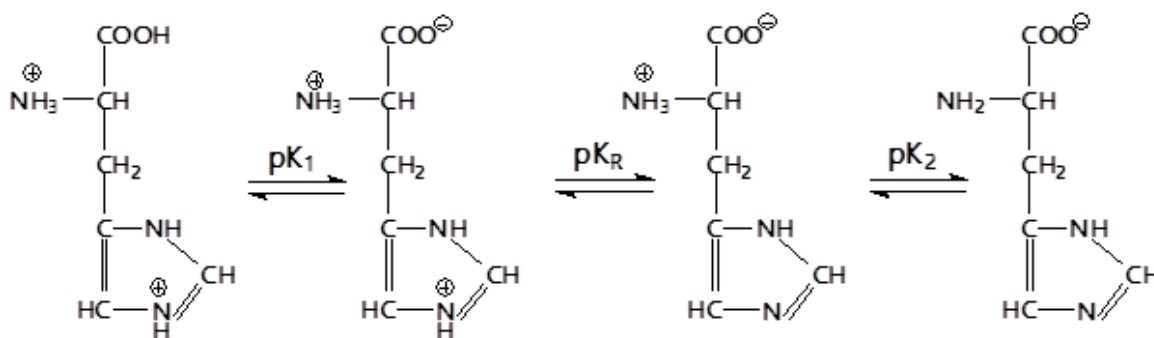
#### 3.4.3. A pH hatása a His-Ni (II) komplex képződésére

A His-Ni (II) komplex kialakulását más analitikai módszerekkel egyre szélesebb körben vizsgálják. A legtöbb kutatás a komplex kialakulását és tulajdonságait vizsgálja semleges vagy lúgos környezetben [112, 113, 120, 121]. A hisztidin molekulák molekulaszervezete és töltése megváltozik a pH-érték változása hatására, amely befolyásolja a Ni-ionok megkötését, így a komplex kialakulásában és stabilitásában részt vevő funkcionális csoportokra is kihatással van.

Ezért a következő lépés a pH-érték változtatása és a His-Ni (II) komplex jellemzőinek vizsgálata volt.

A hisztidin egyedülálló az aminosavak között, mert fiziológias pH-értéken semleges vagy pozitív töltésű formában is létezhet [122]. A hisztidin molekula savas disszociációs állandói (pK) három koordinációs csoportnak felelnek meg, nevezetesen a karboxil (pK<sub>1</sub>), amino (pK<sub>2</sub>) és imidazol (pK<sub>R</sub>) csoportnak. A pK értéknél jobb pH-n (pK<sub>R</sub>=6), 7-es pH-n az imidazol oldallánc amincsoportja (N<sub>ε</sub>-C<sub>3</sub>H) töltésmentes, így az aminosav kevésbé hidrofíll. Ebben az esetben a molekulában a terminális aminocsoport protonált (-N<sub>ε</sub>H<sub>3</sub><sup>+</sup>), a karboxilcsoport deprotonált (-COO<sup>-</sup>) formában van (harmadik His-molekula szerkezete a 43. ábrán). A pK<sub>2</sub>-nél jobb pH-n (pK<sub>2</sub>=9,17) a His-molekula nettó töltése -1 (a negyedik His-molekula szerkezete a 45. ábrán). A pK<sub>R</sub>-nél alacsonyabb pH-értéken az imidazol oldallánc N<sub>ε</sub> atomja H<sup>+</sup> iont (protont) vesz fel, és ezért pozitív töltésűvé és erősen hidrofíllé válik. A pK<sub>1</sub>-nél alacsonyabb pH-értéken (pK<sub>1</sub>=1,82) a karboxilcsoport protonált formában van jelen a molekulában (első His-molekula szerkezete az 45. ábrán).

Mivel a Raman-spektroszkópia nagyon érzékeny a molekulák protonált/deprotonált szerkezeteire, várható, hogy a pH változása a Raman-spektrumokban is tükröződni fog.



**45. ábra:** A hisztidin molekula szerkezetének változásai különböző pH-értékeknél.

### 3.4.3.1. Savas pH

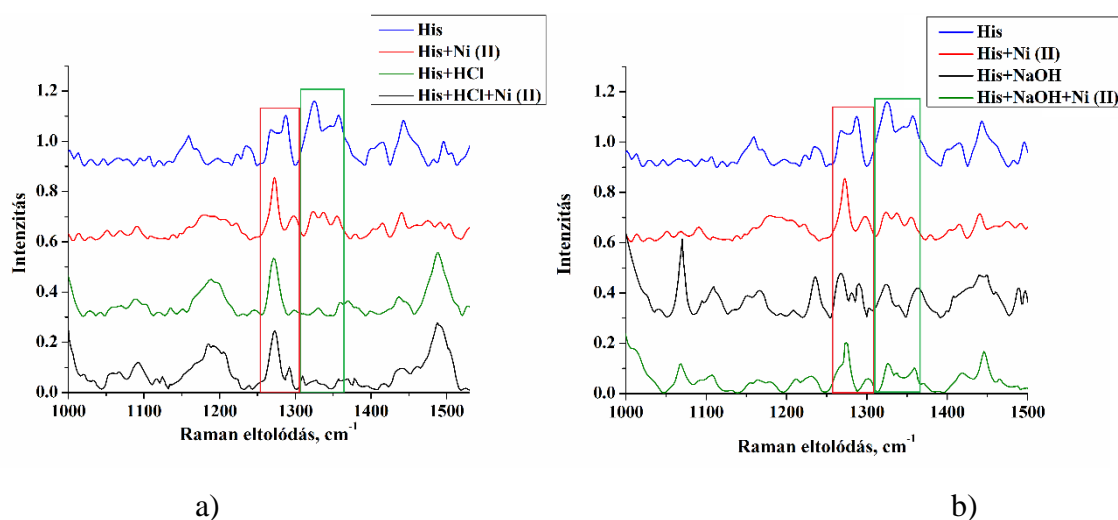
A His-oldat pH-értékét a savas tartományba toltam el 37 m/m%-os HCl hozzáadásával, majd NiCl<sub>2</sub>-oldat adtam hozzá 1:1:1 térfogatarányban. A savas elegy pH-ja 1 volt, ami pK<sub>1</sub> alatt van, a His molekula nettó töltése pedig +2.

A 46a. ábra a His, His + Ni (II), His + HCl és His + HCl+Ni (II) Raman-spektrumát hasonlítja össze. A hisztidin spektruma megváltozott a sav hozzáadása hatására. Az 1159 cm<sup>-1</sup>-es csúcs eltűnt, és egy új sáv jelent meg 1189 cm<sup>-1</sup>-nél, valamint az -N<sub>ε</sub>H<sub>3</sub><sup>+</sup> rezgéssel kapcsolatos 1235 cm<sup>-1</sup>-es csúcs is eltűnt. Az 1268 és 1287 cm<sup>-1</sup>-nél lévő sávok helyett egy csúcs jelent meg 1271 cm<sup>-1</sup>-nél. Emellett 1330 és 1369 cm<sup>-1</sup>-nél is új sávok láthatók. Továbbá az

1414  $\text{cm}^{-1}$ -es csúcs eltűnt, az 1444  $\text{cm}^{-1}$ -es csúcs intenzitása csökkent, az 1495  $\text{cm}^{-1}$ -es csúcs intenzitása pedig nőtt.

Ezen eredmények alapján megállapítható, hogy az 1159, 1268, 1287  $\text{cm}^{-1}$  csúcsok eltűnése, valamint az 1271 és 1495  $\text{cm}^{-1}$  csúcsok intenzitásának növekedése mind megerősíti az imidazolgyűrű  $N_{\epsilon}$  atomjának protonálódását savas közegben (lásd 46a. ábra). Továbbá az aminocsoportban lévő  $N_{\tau}$  atom kötéseinek változását alátámasztja az 1189  $\text{cm}^{-1}$  csúcs megjelenése, valamint az 1235 és 1414  $\text{cm}^{-1}$  csúcsok eltűnése. Ezenkívül a karboxilcsoport protonálódása az 1330 és 1369  $\text{cm}^{-1}$  csúcsok intenzitásának csökkenését, illetve a 1444  $\text{cm}^{-1}$ -nél lévő sáv csökkenését okozhatja.

A His-oldat savanyítása után Ni(II)-oldatot adtam hozzá. A spektrumban érdemi változást nem tapasztaltunk, a korábban ismertetett hármas és kettős csúcsok nem jelennek meg, amiből arra lehet következtetni, hogy a savas közeg nem kedvez a His-Ni (II) komplex kialakulásának.



**46. ábra:** a) Hisztidin és hisztidin-Ni (II) Raman-spektruma savas és semleges közegben  
 b) Hisztidin és hisztidin-Ni (II) Raman-spektruma lúgos és semleges közegben

### 3.4.3.2. Lúgos pH

Hasonlóan végeztem el a vizsgálatokat lúgos pH-jú közegben is. Először 1 m/m%-os NaOH-t, majd NiCl<sub>2</sub>-oldatot adtam a His oldathoz 1:1:1 térfogatarányban. Ennek a keveréknek a mért pH-ja 12,63 volt, ami pK<sub>2</sub> felett van (pK<sub>2</sub>=9,17), tehát a hisztidin molekula nettó töltése -1. Ebben az esetben csak a karboxilcsoport van jelen a molekulában deprotonált formában, amint az 44. ábra is mutatja.

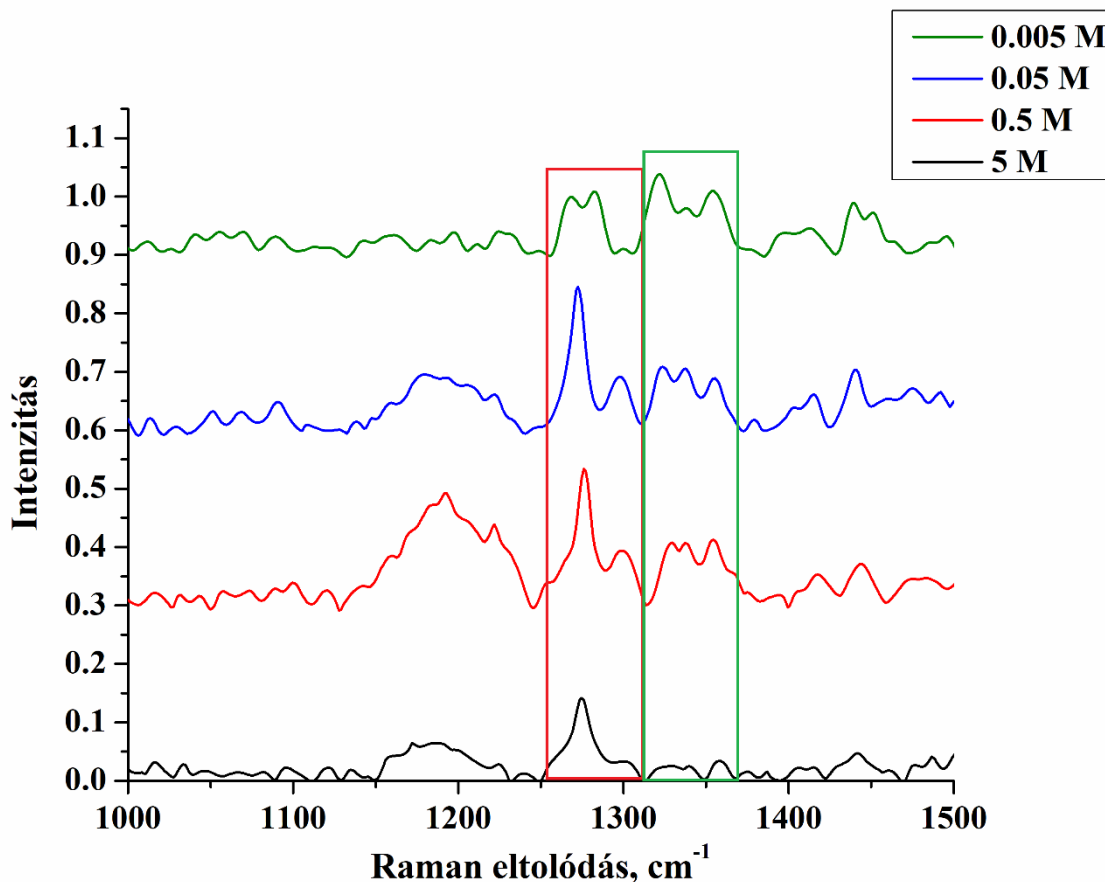
A His, His + Ni (II), His + NaOH és His + NaOH + Ni (II) oldatok Raman-spektruma a 47b. ábrán látható. A 47b. ábrán jól látható, hogy lúg hatására a hisztidin spektruma is megváltozott, így szerkezetében is változás történt. Az 1069 és 1107 cm<sup>-1</sup> csúcsok intenzitása nőtt. Az 1158 cm<sup>-1</sup> sáv helyett kettős csúcs jelent meg 1150 és 1160 cm<sup>-1</sup>-nél. Emellett az 1236 és 1267 cm<sup>-1</sup>-es vonások intenzitása is nőtt, míg az 1287 és 1325 cm<sup>-1</sup> -nél csökkentek, 1489 cm<sup>-1</sup>-nél pedig egy sáv jelent meg.

Ezen megfigyelések alapján megállapítható, hogy a hisztidin molekulában lévő aminocsoport N<sub>T</sub>-atomja 12,63 pH-értéken semleges, így ennek a N-atomnak a kötése megváltoznak a deprotonáció következtében, ami a 1069, 1170 cm<sup>-1</sup>-nél lévő sávok megnövekedett intenzitása, valamint 1236 és az 1325 cm<sup>-1</sup>-nél lévő sávok intenzitásának csökkenése igazolja. Az 1158 cm<sup>-1</sup>-es sáv helyett az 1150 és 1160 cm<sup>-1</sup> -nél jelennek meg csúcsok, az 1267 cm<sup>-1</sup>-es sáv intenzitásának növekedése, az 1287 cm<sup>-1</sup>-es sáv intenzitásának csökkenése, valamint az 1489 cm<sup>-1</sup>-es sáv megjelenése mind az imidazol gyűrű N<sub>ε</sub> atomjának változását igazolják. Lúgos közegben az imidazolgyűrű semleges (45. ábra). A lúgos His-oldathoz Ni (II)-oldat hozzáadása után a lúgos His Raman-spektruma nagyobb mértékben változott a savas His spektrumához képest. A komplexhez kapcsolódó kettős csúcs mellett megjelenik a hármas csúcs is, amiből arra lehet következtetni, hogy a lúgos közeg kedvező a komplexképzéshez.

### 3.4.4. A Ni (II) ionok koncentrációjának hatása a His-Ni (II) komplex képződésére

A következő kísérletekben a NiCl<sub>2</sub> koncentrációját változtattam, miközben a hisztidin oldat koncentrációja állandó maradt (0,05 mol/dm<sup>3</sup>). Amint azt korábban bemutattuk, a Raman-mérések eredményeiből nem határozható meg, hogy egyes His-Ni (II) vagy kettős His-Ni (II) komplex képződik a spektrumok nagy hasonlósága miatt. A következő kísérletekben a NiCl<sub>2</sub> koncentrációját változtattam annak elemzésére, hogy a Ni(II) ionok koncentrációja hogyan befolyásolja a komplexképződést. A NiCl<sub>2</sub> oldatok koncentrációi a következők voltak: 5 mol/dm<sup>3</sup>, 0,5 mol/dm<sup>3</sup>, 0,05 mol/dm<sup>3</sup>, 0,005 mol/dm<sup>3</sup>. A His-Ni (II) térfogataránya minden

esetben 1:1 volt. A 47. ábra a Ni (II) ionkoncentráció hatását mutatja a His-Ni (II) komplex képződésre.



**47. ábra:** Ni (II) ion koncentráció hatása a His-Ni (II) komplex képződésének Raman-spektrumára.

A 47. ábrán látható, hogy ha a koncentráció aránya 1:1 (kék görbe) és 1:10 (piros görbe), akkor a csúcsok intenzitása közel azonos. Ez azt jelzi, hogy a komplexek mindkét térfogatarány mellett azonos mennyiségben képződnek. Amennyiben a Ni(II)-ionok koncentrációja alacsony (0,005 mol/dm<sup>3</sup>), a His-oldathoz képest (azaz a hisztidin feleslegben van), akkor a komplex ugyanúgy keletkezik - megjelennek a hármas csúcsok, de a hisztidin jellegzetes csúcsai is jelen vannak (zöld vonal). Ha a Ni (II)-ionok koncentrációja magasabb (5 mol/dm<sup>3</sup>, fekete vonal), akkor a komplex ismét kialakul, de a His-Ni (II) komplex csúcsainak intenzitása csökken a Ni (II) többlet ionok miatt, tehát a komplex detektálását megnehezítik a jelenlévő többlet ionok.

## A fejezet összefoglalása:

A His-Ni (II) komplex képződését különböző körülmények között Raman-spektroszkópiával részletesen vizsgáltam. A kísérletek eredményeit DFT modellszámításokkal támasztottam alá, amit kétféle (egyszeres és kettős) oktaédes geometriájú hisztidin-Ni komplexen végeztünk el. Nagymértékű hasonlóságot figyeltem meg a His-Ni komplexek szimulált Raman-spektruma és a hisztidin-nikkel komplex oldatainak kísérleti Raman-spektruma között. Az eredmények azt mutatják, hogy az imidazol nitrogénatomja, az aminosoport nitrogénatomja és a karboxilcsoport oxigénatomja vesz részt a fémionok megkötésében ( $N_{\delta}-Ni-O_c/N_i$ ). A His-Ni komplexekre jellemző egyedi Raman-sávok (kettős csúcsok 1272, 1297  $cm^{-1}$ -nél és hármas csúcsok 1322, 1336 és 1355  $cm^{-1}$ -nél) részletes elemzése arra utal, hogy a Raman-spektroszkópia sikeresen alkalmazható molekuláris komplexképződés azonosítására és lehetővé teszi a Ni-ionok és a hisztidin molekulák közötti kölcsönhatások tanulmányozását.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a lúgos pH (pH 1-ről 12-re változtatva) kedvez a His-Ni (II) komplex kialakulásának. A  $pK_2$  felett a lehetséges koordinációs helyek száma megnő, mivel az aminosavban lévő donor atomok deprotonálódnak, ami elősegíti a fémion megkötését.

Továbbá megvizsgáltam a fémion-koncentráció hatását a hisztidin-nikkel komplex képződésére is. A Ni-kation és a hisztidin közel azonos koncentráció aránya esetén a His-Ni komplex képződése teljesen lejátszódik, és egyikből sem marad felesleg. A fém-hisztidin komplex mellett a fémionok koncentrációjának csökkentésével Raman-spektroszkópiával kimutatható az aminosav-felesleg is. A fémionok magas koncentrációja (5 M) a hisztidin-nikkel oldatban azonban a komplexhez kapcsolódó Raman-jel elnyomásához vezet.

Összefoglalva tehát, a hisztidin Ni (II) ionokkal képzett fémkomplexek Raman-spektroszkópiával vizsgálhatók és detektálhatók. Ez fontos lehet azokon a kutatási területeken, ahol elengedhetetlen a fémkomplexek gyors és egyszerű kimutatása.

## 4. Összefoglalás

Doktori értekezésem első részében, termikus párologtatás révén előállított fém vékonyrétegek hőkezelése által előállított arany és ezüst fém nanorészecskék tanulmányozásával foglalkoztam. Az előállított nanorészecskék paramétereinek elemzését végeztem el felületerősített Raman-szórás (SERS) vizsgálatának céljából.

Termikus vákuumpárologtatással különböző vastagságú arany (9 és 12 nm) és ezüst (15 és 25 nm) vékonyrétegeket állítottam elő, amit a vékonyrétegek hőkezelése követett. A hőkezelés ideje (15, 30, 60, 120 perc) és hőmérséklete (Au- 350, 450, 500, 550 °C, Ag- 400, 450, 500, 550 °C) változó volt, ezzel létrehozva a különböző paraméterekkel rendelkező fém nanorészecskéket. Az így elkészült arany és ezüst nanorészecskék morfológiai és optikai tulajdonságainak vizsgálata következett. Ezután az arany és ezüst nanorészecskéket tartalmazó aktív felületeket SERS hordozóként használtam fel, abból a célból, hogy tanulmányozzam a SERS fokozó képességüket, illetve, hogy a részecskék átlagos mérete és a köztük lévő átlagos távolság, és a gerjesztő lézer hullámhossza hogyan befolyásolja az erősítés nagyságát. A SERS mérésekhez izopropanolban oldott  $5 \cdot 10^{-2}$  mol/dm<sup>3</sup> koncentrációjú benzofenon oldatot használtam.

A legmagasabb átlagos és maximálisan elért SERS analitikai erősítési tényezőt arany hordozó esetében az 532 nm-es, míg ezüst hordozóknál 488 nm-es gerjesztő lézer használata mellett értem el. Ez azt bizonyítja, hogy a gerjesztési hullámhossz és a felületi plazmon abszorbancia tulajdonságai között kapcsolat áll fenn, és ezt figyelembe kell venni a SERS hordozók tervezésekor, kialakításakor és kiválasztásakor. A SERS EF pozitív lineáris korrelációt mutatott a nanorészecskék méretével és negatív exponenciális összefüggést a részecskék közötti távolsággal, mindkét típusú hordozó esetén. Exponenciális összefüggés állapítható meg a kísérletileg meghatározott erősítési tényező és a dimenzió nélküli  $r/D$  paraméter között, amely a részecskék közötti távolság és a részecske átmérő aránya mindkét anyagtípusnál. Az ezüst nanorészecskék (488 nm-es gerjesztő hullámhosszal mérve) az arany nanorészecskékhez (532 nm-es gerjesztő hullámhosszal mérve) képest meredekebb exponenciális növekedést mutattak az erősítési tényezőben, csökkenő  $r/D$  mellett.

Az előzőekben felsorolt eredmények azt mutatják, hogy a nagyobb és az egymáshoz közelebb elhelyezkedő fém nanostruktúrák jobb SERS erősítést eredményeznek. Az arany esetében ez vékonyabb kiindulási réteggel (6 nm), alacsonyabb hőkezelési hőmérséklettel (450 °C) és hosszabb hőkezelési idővel (30-60 perc), vagy vastagabb réteggel (9 nm), magasabb hőkezelési hőmérsékleten (500 °C), és rövidebb ideig (15 perc) érhető el. Az ezüst esetében

vastagabb kiindulási réteggel (25 nm), alacsony hőkezelési hőmérséklettel (350 °C) és hosszabb hőkezelési idővel (60–120 perc) nagyobb és sűrűbb nanorészecskék kialakulását eredményezi.

Ezen eredmények alapján a munkám következő szakaszában a termikusan előállított arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók előállítási paramétereit optimalizáltam, hogy SERS hordozóként való felhasználásuk során a lehető legmagasabb erősítést érjem el velük.

Különböző technológiai paraméterek mellett termikusan előállított arany nanorészecskéket állítottam elő, majd az így kapott aktív felületeket SERS mérésekhez használtuk fel annak megállapítására, hogy a SERS erősítése miként függ az arany hordozó gyártási technológia paramétereitől. A kísérleti eredmények alapján elmondható, hogy a vizsgált paraméterek közül a legjobbnak bizonyultak: vékonyabb kiindulási vékonyréteg esetén (9 nm) alacsonyabb hőkezelési hőmérséklet (450 °C) hosszabb hőkezelési idő (60 perc), vagy magasabb hőmérsékleten (550°C) rövidebb ideig (15-20 perc) célszerű a hőkezelést végezni.

Vastagabb kiindulási vékonyréteg esetén (12 nm) a hőkezelést rövidebb ideig (15-20 perc) célszerű alacsonyabb hőmérsékleten (450°C) végezni ahhoz, hogy nagyobb erősítési tényezőt kapjunk. Tehát a vékonyréteg vastagságával, a hőkezelési hőmérséklet és idő segítségével optimalizálható a kialakuló SERS-hordozók erősítési tényezője.

A doktori kutatásom második szakaszában a termikus vákuumpárologtatással előállított arany vékonyréteg hőkezelésével létrehozott arany nanorészecskéket tanulmányoztam, mégpedig különböző analitok abszorbeálásával vizsgáltam meg miként befolyásolják a hordozók felületerősített Raman-szórásának (SERS) hatását. Az analitoknak a SERS erősítésre gyakorolt hatását riboflavin és rodamin 6G célmolekulákkal vizsgáltam. A SERS mérésekhez két lézergyjlesztő forrást használtam 532 és 633 nm hullámhosszon.

A kísérleti eredmények szerint 532 nm-es gerjesztés mellett a rodamin 6G esetében magasabb erősítési tényezőt kaptam, míg a riboflavinnál a 633 nm-es gerjesztési forrás eredményezett nagyobb mértékű fokozást. Az analit és az alkalmazott gerjesztés közötti kapcsolat összefüggésbe hozható a vizsgált molekulák eltérő adszorpciós tendenciájával az arany nanorészecskék felszínén, ami az analit molekulák eltérő szerkezetéből adódik, valamint az R6G rezonáns Raman-szórásával 532 nm-es gerjesztés mellett. Tehát fontos, hogy a SERS mérések tervezése során figyelembe vegyük az analitok adszorpciójának lehetséges különbségeit, mivel ez befolyásolhatja a SERS erősítését és az optimális gerjesztési hullámhosszt.

A kutatásom következő szakaszában Dr. Kohut Attila és kutatócsoportjával való együtt működés keretein belül valósult meg a kutatómunka.

Munkánk során szisztematikusan vizsgáltunk nanorészecskés (NP) agglomerátum filmeket, amelyeket szikra abláció által generált Au, Ag és különböző összetételű Au/Ag NP-k mikroszkóp tárgylemezére történő leválasztásával készítettünk el alacsony nyomású inerciális impaktorban. Az előállított nanostruktúrák jellemzését optikai abszorbancia mérésekkel, morfológiai és összetétel elemzéssel, valamint az NP filmek SERS teljesítményének tesztelésével három különböző gerjesztő lézer hullámhosszon, a látható tartományban végeztük. A vizsgálat célja az előállított minták optikai tulajdonságai, morfológiája, valamint a különböző gerjesztéseknél történő fokozódása közötti kapcsolat vizsgálata, az eredmények bemutatása és megvitatása.

Az elkészített nanostruktúrákat felületnövelt Raman-szóráshoz vizsgálatához is alkalmaztuk, a mérésekhez R6G etanolos oldatát használtuk fel, mint próbamolekulát.

A minták erősítési tényezője kb.  $10^3$ - $10^5$  nagyságú, a nanostruktúra tulajdonságaitól és a gerjesztési hullámhossztól függően. A legnagyobb erősítést, a 473 nm gerjesztő forrás mellett az S5 mintánál, tehát tiszta ezüst nanostruktúra esetén mértem, illetve a 633 nm-es gerjesztés mellett az S2-es mintánál figyeltem ( $\sim 2 \times 10^5$ ). Megállapítást nyert, hogy a gerjesztési hullámhossz csökkentésével a magasabb Ag-tartalmú minták magasabb erősítési tényezőt produkálnak. Ez a tendencia megegyezik az abszorbancia csúcs eltolódásával, amely kékeltolódást mutat az ezüsttartalom növekedésével, jelezve, hogy a maximális erősítéshez az optimális gerjesztés az abszorbancia csúcsot követi. Ez azt jelenti, hogy az összetétel változtatásával a hordozóinkat úgy hangolhatjuk, hogy a gerjesztéshez használt lézer hullámhosszán optimális erősítést biztosítsanak.

A hordozók SERS erősítési képességét további tanulmányozásához elkészítettük az öt hordozó erősítési térképét, a legkedvezőbb mérési paraméter beállítása mellett, azaz minden minta esetén az arra jellemző optimális gerjesztési hullámhosszon. A kapott eredmények alapján elmondható, hogy a struktúrák felületjavítása egységesnek tekinthető, viszont megjegyzendő, hogy a feltérképezett terület a hordozók egy kis részletéről nyújtanak információt, ezért a teljes mintán mért és átlagolt erősítési tényező értékek némileg eltér az egyes minták kisebb részének feltérképezésével kapott értékektől.

A kutatómunkám negyedik szakaszában, a SERS egyik potenciális alkalmazását, felhasználását kutattam. Munkám során a hisztidin-nikkel (II) komplex kialakulását vizsgáltam Raman-mikroszkóp segítségével.

A His-Ni (II) komplex képződését különböző körülmények között Raman-spektroszkópiával részletesen vizsgáltuk. A kísérleteket eredményeket DFT modell számításokkal támasztottuk alá, amit kétféle (egyszeres és kettős) oktaéderes geometriájú

hisztidin-Ni komplexen végeztünk el. Nagy mértékű hasonlóságot figyeltünk meg a His-Ni komplexek szimulált Raman-spektruma és a hisztidin-nikkel komplex oldatainak kísérleti Raman-spektruma között. Az eredmények azt mutatják, hogy az imidazol nitrogénatomja, a aminocsoport nitrogénatomja és a karboxilcsoport oxigénatomja vesz részt a fémionok megkötésében ( $N_{\delta}-Ni-O_c/N_t$ ). A His-Ni komplexekre jellemző egyedi Raman-sávok (kettős csúcsok 1272, 1297  $cm^{-1}$ -nél és hármas csúcsok 1322, 1336 és 1355  $cm^{-1}$ -nél) részletes elemzése arra utal, hogy a Raman-spektroszkópia sikeresen alkalmazható molekuláris komplexképződés azonosítására és lehetővé teszi a Ni-ionok és a hisztidin molekulák közötti kölcsönhatások tanulmányozását.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a lúgos pH (pH 1-ről 12-re változtatva) kedvez a His-Ni (II) komplex kialakulásának.

Továbbá megvizsgáltuk a fémion-koncentráció hatását a hisztidin-nikkel komplex képződésére is. A Ni-kation és a hisztidin közel azonos koncentrációaránya esetén a His-Ni (II) komplex képződése teljesen lejátszódik, és egyikből sem marad felesleg. A fém-hisztidin komplex mellett a fémionok koncentrációjának csökkentésével Raman-spektroszkópiával kimutatható az aminosav-felesleg is. A fémionok magas koncentrációja (5 M) a hisztidin-nikkel oldatban azonban a komplexhez kapcsolódó Raman-jel elnyomásához vezet.

Összefoglalva tehát, a hisztidin Ni (II) ionokkal képzett fémkomplexek Raman-spektroszkópiával vizsgálhatók és detektálhatók. Ez fontos lehet azokon a kutatási területeken, ahol elengedhetetlen a fémkomplexek gyors és egyszerű kimutatása.

## 5. Summary

In the first part of my doctoral thesis, I dealt with the study of gold and silver metal nanoparticles produced by the heat treatment of thin metal layers produced by thermal evaporation. I performed an analysis of the parameters of the produced nanoparticles for the purpose of examining surface-enhanced Raman scattering (SERS).

Gold (9 and 12 nm) and silver (15 and 25 nm) thin layers were produced with different thicknesses by thermal vacuum evaporation, followed by heat treatment of the thin layers. The heat treatment time (15, 30, 60, 120 minutes) and temperature (Au- 350, 450, 500, 550 °C, Ag- 400, 450, 500, 550 °C) were variable, thereby creating metal with different parameters nanoparticles. The next step was examining the morphological and optical properties of the gold and silver nanoparticles. Then, the active surfaces containing gold and silver nanoparticles were used as SERS substrates, with the aim of studying their SERS-enhancing ability and how the average size of the particles and the average distance between them affect the magnitude of the enhancement. For the SERS measurements, benzophenone solution was used with a concentration of  $5 \cdot 10^{-2}$  mol/dm<sup>3</sup> dissolved in isopropanol.

The highest average and maximum SERS analytical enhancement factor was achieved with the use of an excitation laser of 532 nm for gold substrates and 488 nm for silver substrates. This demonstrates that there is a relationship between the excitation wavelength and the surface plasmon absorption properties and should be taken into account in the design, fabrication and selection of SERS substrates. The SERS EF showed a positive linear correlation with the size of the nanoparticles and a negative exponential relationship with the distance between the particles for both types of substrates. An exponential relationship can be established between the experimentally determined enhancement factor and the dimensionless parameter  $r/D$ , which is the ratio of the distance between particles to the particle diameter for both types of material. Silver nanoparticles (measured at an excitation wavelength of 488 nm) compared to gold nanoparticles (measured at an excitation wavelength of 532 nm) showed a steeper exponential increase in enhancement factor with decreasing  $r/D$ .

Based on these results, larger and closer metal nanostructures result in better SERS enhancement. In the case of gold, this is with a thinner initial layer (6 nm), a lower heat treatment temperature (450 °C) and a longer heat treatment time (30-60 minutes), or a thicker layer (9 nm), at a higher heat treatment temperature (500 °C) and a shorter available for (15 minutes). In the case of silver, a thicker starting layer (25 nm), a low heat treatment temperature (350 °C) and a longer heat treatment time (60–120 minutes) result in the formation of larger

and denser nanoparticles. Based on these results, in the next stage of my work, I optimized the production parameters of the substrates containing thermally produced gold nanoparticles in order to achieve the highest possible amplification during their use as SERS substrates.

Thermally produced gold nanoparticles were produced under different technological parameters, and then the resulting active surfaces were used for SERS measurements to determine how the SERS amplification depends on the parameters of the gold substrate production technology, and based on the results, the production process was optimized. We started from layers with a thickness of 9 nm and 12 nm, which were annealed at 450°C and We heat treated at 550°C for eight different times (2, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 minutes). Based on the experimental results, it can be said that the best of the investigated parameters are: in the case of a thinner starting thin film (9 nm), at a lower heat treatment temperature (450 °C) a longer heat treatment time (60 minutes), and at a higher temperature (550 °C) a shorter time (15 -20 minutes) it is advisable to carry out the heat treatment.

In the case of a thicker starting thin layer (12 nm), it is advisable to perform the heat treatment for a shorter time (15-20 minutes) at a lower temperature (450°C) in order to obtain a higher strengthening factor. Thus, the thickness of the thin layer and the heat treatment temperature and time can be used to optimize the enhancement factor of the resulting SERS substrates.

In the case of a thicker starting layer (12 nm) at a lower temperature (450°C), a higher SERS amplification was obtained with a shorter heat treatment time (15 min), while at a higher heat treatment temperature (550°C), a longer heat treatment time (60 min) is required for the optimal SERS carrier as it results in larger and more defined particles. Based on the SERS EF values, it can be said that at the initial layer thickness of 12 nm, the magnitude of the SERS amplification is approximately 100 times. It can also be observed that an improvement of about 150 times was achieved during the heat treatment at 450°C for 20 minutes, so these technological parameters are the best for the production of SERS carriers.

In the second phase of my doctoral research, gold nanoparticles created by heat treatment of the gold thin film produced by thermal vacuum evaporation were studied, namely by absorbing different analytes, and how they influence the surface-enhanced Raman scattering (SERS) effect was examined. The effect of the analytes on the SERS enhancement was investigated with target molecules riboflavin and rhodamine 6G. For the SERS measurements, two laser excitation sources were used at wavelengths 532 and 633 nm.

According to the experimental results, with 532 nm excitation, a higher enhancement factor was obtained for rhodamine 6G, while for riboflavin, the 633 nm excitation source resulted in a greater enhancement. The relationship between the analyte and the applied excitation can be related to the different adsorption tendency of the investigated molecules on the surface of the gold nanoislands, which results from the different structures of the analyte molecules, and to the resonant Raman scattering of R6G under 532 nm excitation. Thus, it is important to consider potential differences in analyte adsorption when designing SERS measurements, as this may affect SERS gain and optimal excitation wavelength.

In this phase of my research, the research work was carried out within the framework of cooperation with Dr. Attila Kohut and his research team.

In the course of our work, we systematically examined nanoparticle (NP) agglomerate films, which were prepared by depositing Au, Ag and Au/Ag NPs of different compositions generated by spark ablation onto a microscope slide in a low-pressure inertial impactor. The characterization of the produced nanostructures was carried out by optical absorbance measurements, morphological and compositional analysis, and by testing the SERS performance of the NP films at three different excitation laser wavelengths in the visible range. The aim of the study is to investigate the relationship between the optical properties and morphology of the produced samples, as well as their enhancement under different excitations, and to present and discuss the results.

The prepared nanostructures were also used for surface-enhanced Raman scattering, and the ethanol solution of R6G was used as a test molecule for the measurements. The average composition of the produced nanostructures and the wavelength of the excitation laser was changed in order to characterize the strengthening properties of the nanostructures at different gold-silver ratios.

The amplification factor of the samples is approx.  $10^3$ - $10^5$ , depending on the properties of the nanostructure and the excitation wavelength. The highest enhancement was measured with the 473 nm excitation source for the S5 sample, i.e. with a pure silver nanostructure, and with the 633 nm excitation for the S2 sample ( $\sim 2 \times 10^5$ ). It was found that by reducing the excitation wavelength, samples with higher Ag content produce a higher enhancement factor. This trend is consistent with the shift of the absorbance peak, which shows a blue shift with increasing silver content, indicating that the optimal excitation for maximum gain follows the absorbance peak. This means that by changing the composition, we can tune our carriers in such a way that they provide optimal amplification at the wavelength of the laser used for excitation.

In order to further study the SERS enhancement capability of the substrates, we prepared the enhancement maps of the five substrates, with the most favourable measurement parameter set, i.e. for each sample at the optimal excitation wavelength characteristic of it. Based on the results obtained, it can be said that the surface improvement of the structures can be considered uniform, but it should be noted that the mapped area provides information about a small part of the substrates, therefore the values of the enhancement factor measured and averaged over the entire sample differ slightly from the values obtained by mapping a smaller part of each sample.

In the fourth stage of my research work, one of the potential applications and uses of SERS was researched. During my work, the formation of the histidine-nickel (II) complex was investigated using a Raman microscope.

The formation of the His-Ni (II) complex under different conditions was investigated in detail with Raman spectroscopy. The results of the experiments were supported by DFT model calculations, which were performed on two types of histidine-Ni complexes with octahedral geometries (single and double). A high degree of similarity was observed between the simulated Raman spectra of the His-Ni complexes and the experimental Raman spectra of solutions of the histidine-nickel complex. The results show that the nitrogen atom of the imidazole, the nitrogen atom of the amino group and the oxygen atom of the carboxyl group are involved in the binding of metal ions (Ni<sup>2+</sup>-Ni<sup>2+</sup>-O/Nt). Detailed analysis of unique Raman bands characteristic of His-Ni complexes (double peaks at 1272, 1297 cm<sup>-1</sup> and triple peaks at 1322, 1336 and 1355 cm<sup>-1</sup>) suggests that Raman spectroscopy can be successfully used to identify molecular complexation and enables the study of interactions between Ni ions and histidine molecules.

Based on the results, it can be said that the alkaline pH (changed from pH 1 to 12) favors the formation of the His-Ni (II) complex.

The effect of the metal ion concentration was also examined on the formation of the histidine-nickel complex. In the case of almost the same concentration ratio of Ni-cation and histidine, the formation of the His-Ni complex takes place completely, and no excess of either remains. In addition to the metal-histidine complex, by reducing the concentration of metal ions, excess amino acids can also be detected by Raman spectroscopy. However, the high concentration of metal ions (5 M) in the histidine-nickel solution leads to the suppression of the Raman signal associated with the complex.

In summary, histidine is a metal complex formed with Ni (II) ions that can be examined and detected by Raman spectroscopy. This can be important in research areas where fast and simple detection of metal complexes is essential.

## 6. Tézispontok

[T1.1] A kutatómunkám első részében arany és ezüst fém nanorészecskék előállításával, és az előállított nanorészecskék paramétereinek elemzésével foglalkoztam felületerősített Raman-szórás (SERS) vizsgálatának céljából.

Az eredmények alapján a következő összefüggéseket találtam: az arany nanorészecskék esetében 532 nm, míg az ezüst nanorészecskék esetében 488 nm hullámhosszú gerjesztő lézer mellett értem el a legmagasabb átlagos SERS-erősítést. Kimutattam, hogy az erősítési tényező mértéke a fém nanorészecskék méretének növelésével lineárisan nő (Ag: 30-60 nm Au: 40-70 nm mérettartományban), illetve a részecskék közötti távolság esetében negatív exponenciális korrelációt mutat mindkét típusú fém nanorészecske esetén. A következő paraméterekkel rendelkező hordozók esetében figyeltem meg a legnagyobb mértékű SERS-erősítést:

- **Arany nanorészecskéket tartalmazó SERS-hordozó** - kezdeti rétegvastagság: 9 nm, hőkezelési hőmérséklet: 500°C, hőkezelési idő: 15 perc. Az ilyen körülmények között előállított SERS-hordozó a következő paraméterekkel rendelkezik: plazmonhullámhossz: 528 nm, részecskeátmérő:  $58 \pm 7$  nm, részecskék közötti átlagos távolság:  $30 \pm 5$  nm. Ilyen paraméterekkel rendelkező hordozó használata mellett az erősítési tényező értéke  $\sim 6,5$ .
- **Ezüst nanorészecskéket tartalmazó SERS-hordozó** - kezdeti rétegvastagság: 25 nm, hőkezelési hőmérséklet: 350°C, hőkezelési idő: 60 perc. Az ilyen körülmények között előállított SERS-hordozó a következő paraméterekkel rendelkezik: plazmonhullámhossz: 438 nm, részecskeátmérő:  $61 \pm 8$  nm, részecskék közötti átlagos távolság:  $22 \pm 4$  nm. Ilyen paraméterekkel rendelkező hordozó használata mellett az erősítési tényező értéke  $\sim 27$ .

A tézisponthoz tartozó publikációk: [1] [7] [8] [9] [11]

[T1.2.] Az előállítási paramétereket optimalizálása során, a SERS-erősítés szempontjából a legjobbnak bizonyultak: *vékonyabb kiindulási réteg* esetén (9 nm) alacsonyabb hőkezelési hőmérséklet (450 °C) hosszabb hőkezelési idő (60 perc), vagy magasabb hőmérsékleten (550 °C) rövidebb hőkezelési időt (15-20 perc) célszerű alkalmazni; *vastagabb kiindulási vékonyréteggel* (12 nm) a hőkezelést rövidebb ideig (15-20 perc) célszerű alacsonyabb hőmérsékleten (450 °C) végezni.

A tézisponthoz tartozó publikációk: [5] [12]

[T2.] Az arany nanorészecskéket tartalmazó hordozók SERS-erősítését két különböző analittal (riboflavin és rodamin 6G) és két gerjesztési hullámhosszal (532 és 633 nm) vizsgáltam meg. A kísérleti eredmények alapján 532 nm-es lézergyerjesztés mellett kaptam magasabb erősítési tényezőt a rodamin 6G esetében, míg a riboflavinnál a 633 nm-es forrás eredményezett nagyobb mértékű erősítést. Az analit és az alkalmazott gerjesztés közötti kapcsolat összefüggésbe hozható a vizsgált molekulák eltérő abszorpciós tulajdonságával, ami az analit molekulák eltérő szerkezetével magyarázható. Ez tehát kihat az analit molekulák arany nanorészecskék felületén való kötődésükre.

A tézisponthoz tartozó publikációk: [2] [6] [7] [9] [10]

[T3.] Az ívkisüléssel előállított arany, ezüst és arany-ezüst nanorészecskék tanulmányozása során kimutattam, hogy az előállított nanostruktúrákkal növelhető a vizsgált Rodamin 6G molekula Raman-jele. A minták erősítési tényezője kb.  $10^3$ - $10^5$  nagyságrendbe esett, amely érték függ a nanostruktúra összetételétől és a mérés során használt gerjesztési hullámhossztól. Megállapítottam, hogy a minta összetételében az ezüstartalom növelésével csökken az optimális lézershullámhossz. Ez a tendencia megegyezik a mintákhoz tartozó plazmonelnyelési csúcs eltolódásával, amely kékeltolódást mutat az ezüstartalom növekedésével, miközben a maximális erősítéshez az optimális gerjesztés a minták plazmonelnyelési csúcsát követi. A SERS-hordozók erősítési térképei alapján elmondható, hogy a nanoszerkezetek erősítése laterálisan homogén.

A tézisponthoz tartozó publikációk: [3] [13]

[T4.] Hisztidin-nikkel (II) komplex kialakulását vizsgáltam Raman-mikroszkóp segítségével. A kísérletileg mért Raman-spektrumokon detektált csúcsok változásaiból, és az elméleti számításokkal való összevetése alapján megállapítottam, hogy a fématomok a  $N_\delta$ -Ni-- $O_c/N_t$  koordinációs kötésen keresztül vesznek részt a fémkomplex kialakulásában. Továbbá

kimutattam, hogy a közeg pH-értékének növelése kedvez a fémkomplex kialakulásának, illetve a fémion koncentrációja nem befolyásolja a komplex kialakulását.

A tézisponthoz tartozó publikációk: [4]

## **7. Eredmények hasznosítása**

Láthattuk, hogy a SERS-hordozók hogyan erősítik a Raman-jeleket és javítják a mérés érzékenységét. Ezért ezek a hordozók akár biológiai és orvosi alkalmazásokban felhasználhatóak, mint bioszenzorok, ahol a vizsgálni kívánt minták mennyisége csekély. Munkám során megmutattam, hogy a Raman-spektroszkópia hatékony módszer az aminosavak/fehérjék fémionokkal alkotott komplexeinek kialakulásának vizsgálatára, amely például az orvostudomány területén, a neurodegeneratív betegségek kutatásában fontos eszköz lehet. Ez akár egy konkrét felhasználása lehet a SERS-hordozóknak, ha kis mennyiségű aminosav/fehérje fémkomplex áll a rendelkezésünkre.

## 8. Publikációs jegyzék

Referált folyóiratban megjelent közlemények:

- [1] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Himics, L., Balázs, L., Juhász, L., Csarnovics, I. (2020). A generalized exponential relationship between the surface-enhanced Raman scattering (SERS) efficiency of gold/silver nanoisland arrangements and their non-dimensional interparticle distance/particle diameter ratio. *Sensors and Actuators A: Physical*, 112225. IF: 3,407 Q1 Független hivatkozások száma: 24
- [2] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Juhász, L., Szalóki, M., Csarnovics, I. (2021). An Investigation of Surface-Enhanced Raman Scattering of Different Analytes Adsorbed on Gold Nanoislands. *Appl. Sci.*, 11(21), 9838. IF: 2,838 Q2 Független hivatkozások száma: 6
- [3] Pál, P., Horváth, V., Juhász, L., Kóródi, Z., Kohut, A., Csarnovics, I. (2023). Fabrication of Nanoparticle Agglomerate Films by Spark Ablation and Their Application in Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Chemosensors*, 11(3), 180. IF: 4,229 Q2 Független hivatkozások száma: -
- [4] Pál, P., Veres, M., Holomb, R., Szalóki, M., Szöllösi, A. G. (2022). Identification of histidine-Ni (II) metal complex by Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, 54(3), 278-287. IF: 2,727 Q2 Független hivatkozások száma: -

Konferenciaközlemények a disszertáció témaköréből:

- [5] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Juhász, L., Csarnovics, I. (2021). Optimization of the production parameters of substrates for SERS applications. 44th International Spring Seminar on Electronics Technology (ISSE).
- [6] Pál, P., Csarnovics, I., Veres, M., Bonyár, A. (2020). Effect of different analyte solutions on the SERS process examined on gold nanoisland samples. IEEE 26th International Symposium for Design and Technology in Electronic Packaging (SIITME).

Konferencia előadások a disszertáció tárgyköréből:

- [7] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Juhász, L., Csarnovics, I. (2021). Investigation of surface-enhanced Raman scattering on gold nanoislands substrates with different geometrical parameters and the effect of different analytes on the SERS process. 14<sup>th</sup> International Conference on Solid State Chemistry 14-17 June, 2021
- [8] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Juhász, L., Szalóki, M., Csarnovics, I. (2021). Felület-erősített Raman szórás vizsgálata arany-nanorészecskéken. Fizikus Doktoranduszok Konferenciája 2021. szeptember 16-18.
- [9] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Juhász, L., Szalóki, M., Csarnovics, I. (2022). Ag és Au nanorészecskék alkalmazása felület erősített Raman-szóráshoz. Magyar Fizikus Vándorgyűlés. Veszprém, Pannon egyetem 2022. augusztus 21-24.

Poszterelőadások a disszertáció témaköréből:

- [10] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Csarnovics, I. Effect of different analyte solutions on the SERS process examined on gold nanoisland samples. IEEE 26<sup>th</sup> International Symposium for Design and Technology in Electronic Packing, 21<sup>st</sup>-24<sup>th</sup> October 2020.
- [11] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Himics, L., Juhász, L., Balázs, L., Csarnovics, I. Effect of the (geometrical) parameters of gold nanoisland arrangements on their SERS properties. 18<sup>th</sup> International Conference on Thin Films & 18th Joint Vacuum Conference, 22-26 November 2020.
- [12] Pál, P., Bonyár, A., Veres, M., Juhász, L., Csarnovics, I. (2021). Optimization of the production parameters of the SERS substrates. 44<sup>th</sup> International Spring Seminar on Electronics Technology 6-7 May, 2021.
- [13] Pál, P., Kohut, A., Kórodi, Z., Csarnovics, I (2023). Fabrication of porous surface structures with varying elemental composition by spark ablation and their application in surface enhanced Raman spectroscopy 46<sup>th</sup> International Spring Seminar on Electronics Technology 10-14 May, 2023

További kutatásaim eredményeképp született társszerzős közlemények:

- [1] Czibulya, Zs., Csík, A., Tóth, F., Pál, P., Csarnovics, I., Zelkó, R., Hegedűs, Cs. (2021). The Effect of the PVA/Chitosan/Citric Acid Ratio on the Hydrophilicity of Electrospun Nanofiber Meshes. *Polymers*, 13(20), 3557.  
IF: 4,967 Q1 Független hivatkozások száma: 9
- [2] Vékony, V., Matta, Cs., Pál, P., Szabó, I. A. (2022). Structural and magnetic characterisation of a biocompatible magnetic nanoparticle assembly. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 545, 168772.  
IF: 3,097 Q2 Független hivatkozások száma: 3
- [3] Gebavi, H., Pál, P., Csarnovics, I., Gašparić, V., Ivanda, M. (2022). Engineering SERS Properties of Silicon Nanotrees at the Nanoscale. *Chemosensors*, 10(12), 534.  
IF: 4,229 Q2 Független hivatkozások száma: -

## 9. Köszönetnyilvánítás

Elsőként szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Csarnovics Istvánnak, az általa átadott tudásáért, szakmai vezetéséért, és emberi támogatásáért, amit a négy év közös munka ideje alatt nyújtott nekem. Szakértelme és segítsége nagymértékben hozzájárult ennek a dolgozatnak az elkészüléséhez.

Köszönettel tartozom Dr. Veres Miklósnak, Dr. Bonyár Attilának, és Dr. Szalóki Melindának, akik nagymértékben hozzájárultak szakmai fejlődésemhez, technikai tanácsaikkal, segítségükkel hozzájárultak kutatómunkám sikerességéhez és publikációim elkészüléséhez.

Köszönöm továbbá Holomb Roman és Dr. Szöllősi Attila Gábor szerzőtársaim együttműködését, tapasztalataik nagy segítségemre szolgáltak.

Köszönöm Dr. Kohut Attilának és kutatócsoportjának a közös munkát, amivel kutatásom eredményességéhez nagymértékben hozzájárultak.

Köszönettel tartozom Dr. Juhász Laurának a mikroszkópos vizsgálatokban nyújtott segítségéért és baráti támogatásért.

Köszönettel tartozom Dr. Kruppa Andrásné Dudás Tündének, Kállai Zitának és Kertészné Molnár Zsuzsának a munkámat könnyítő segítségükért, támogatásukért és barátságukért.

Köszönöm továbbá a Kísérleti Fizikai Tanszék, a Szilárdtest Fizikai Tanszék, a Villamosmérnök Tanszék, és az Elméleti Fizikai Tanszék valamennyi oktatójának és dolgozójának a támogató szavakat, a jó tanácsokat, a segítséget és a barátságos légkört.

Végezetül, de nem utolsó sorban hálával tartozom a férjemnek, családomnak, és a barátaimnak, akiktől rengeteg támogatást és biztató szavakat kaptam, türelmükkel és megértésükkel segítettek, minden helyzetben mellettem álltak.

## 10. Irodalomjegyzék

- [1] Raman, C. V., Krishnan, K. S. (1928) A new type of secondary radiation. *Nature*, 121(3048), 501–2.
- [2] Introduction to Raman Spectroscopy  
<https://nicoletcz.cz/app/uploads/2021/07/823c2a99.pdf>  
(utolsó elérés dátuma: 2023. 05. 31.)
- [3] Fleischmann, M., Hendra, P. J., McQuillan, A. J. (1974). Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chemical Physics Letters*, 26(2), 163–166.
- [4] Langer, J., Jimenez de Aberasturi, D., Aizpurua, J., Alvarez-Puebla, R. A., Auguie, B., Baumberg, J. J., ... Brolo, A. G. (2019). Present and Future of Surface-Enhanced Raman Scattering. *ACS Nano*, 14(1), 28–117.
- [5] Settle, F. A. (1997) *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*. New Jersey: Prentice, Inc.
- [6] Skoog, D.A., Holler, F. J., Crouch, S. R. (2006) *Principles of instrumental analysis*. (6th ed.) Boston, USA: Cengage Learning
- [7] Bumbrah, G. S., Sharma, R. M. (2016) Raman spectroscopy – Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 6(3), 209–215.
- [8] Van den Berg, T. J. T. P. (2017). Intraocular light scatter, reflections, fluorescence and absorption: what we see in the slit lamp. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 38(1), 6–25.
- [9] <http://www.soest.hawaii.edu/GG/FACULTY/tshea/raman.html>  
(utolsó elérés dátuma: 2023. 05. 31.)
- [10] Rostron, P., Gaber, S., Gaber, D. (2016) *Raman Spectroscopy, Review*. Int. J. Eng. Tech. Res. (IJETR), 6(1), 50–64.
- [11] Ferraro, J.R., Nakamoto, K., Brown, C.W. (2003) *Introductory Raman Spectroscopy*. (2nd ed.) New York, USA: Academic Press.
- [12] Kuzmany, H. (2009). *Solid-State Spectroscopy-An Introduction*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2009.
- [13] Born, M., Wolf, E. (2013) *Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light*. New York, USA: Pergamon Press.
- [14] Orlando, A., Franceschi, F., Muscas, C., Pidkova, S., Bartoli, M., Rovere, M., Tagliaferro, A. (2021) A Comprehensive Review on Raman Spectroscopy Applications. *Chemosensors*, 9(9), 262.

- [15] Geraldes, C. F. G. C. (2020) Introduction to Infrared and Raman-Based Biomedical Molecular Imaging and Comparison with Other Modalities. *Molecules*, 25, 5547.
- [16] Luna, A. S. (2017). Raman Spectroscopy, Soil Analysis Applications. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 919–923.
- [17] Kudelski, A. (2008) Analytical applications of Raman spectroscopy. *Talanta*, 76 (1), 1–8.
- [18] Analytical Methods in Geosciences, by Elizabeth A. Johnson, Juhong Christie Liu, and others, CC-BY-SA.  
<https://viva.pressbooks.pub/analyticalmethodsingeosciences/>  
 (utolsó elérés dátuma: 2023. 05. 31.)
- [19] <https://www.stellarnet.us/what-is-raman-spectroscopy/>  
 (utolsó elérés dátuma: 2023. 05. 31.)
- [20] Campanella, B., Palleschi, V., & Legnaioli, S. (2021). Introduction to vibrational spectroscopies. *ChemTexts*, 7(1).
- [21] Smith, E.; Dent, G. (2005) *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*. Hoboken, USA: Wiley.
- [22] <https://www.edinst.com/blog/what-is-confocal-raman-microscopy/>  
 (utolsó elérés dátuma: 2023. 05. 31.)
- [23] Krishna, R., Unsworth, T. J., & Edge, R. (2016). Raman Spectroscopy and Microscopy. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*.
- [24] John, N., & George, S. (2017). Raman Spectroscopy. *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*, 95–127.
- [25] Marcott, C., Padalkar, M., & Pleshko, N. (2017). Infrared and Raman Microscopy and Imaging of Biomaterials at the Micro and Nano Scale. *Comprehensive Biomaterials II*, 498–518.
- [26] McCreery, R. L. (2000) *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*. New York, NY: Wiley-Interscience.
- [27] Jawhari, T. (2012) Raman spectroscopy as a powerful analytical tool: probing the structure of matter. Handbook of instrumental techniques for materials, chemical and biosciences research, Scientific and Technological Centers. University of Barcelona, Barcelona, Part II. Chemical technologies (ChT), ChT.2, 12 p.
- [28] Aqel, A.; Abou El-Nour, K.M.; Ammar, R.A.; Al-Warthan, A. (2012) Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterisation. *Arab. J. Chem*, 5, 1–23.
- [29] Dresselhaus, M. S., Jorio, A., Hofmann, M., Dresselhaus, G., & Saito, R. (2010). Perspectives on Carbon Nanotubes and Graphene Raman Spectroscopy. *Nano Letters*, 10(3), 751–758.

- [30] Jorio, A. (2012). Raman Spectroscopy in Graphene-Based Systems: Prototypes for Nanoscience and Nanometrology. *ISRN Nanotechnology*, 2012, 1–16.
- [31] Kürti, J., Koltai, János. (2013) Szén nanoszerkezetek: fullerének, szén nanocsövek (oktatási tananyag). ELTE TTK, Fizika Intézet, Biológiai Fizika Tanszék
- [32] Field, J. E. (2012). The mechanical and strength properties of diamond. *Reports on Progress in Physics*, 75(12), 126505.
- [33] <https://ramanlife.com/library/diamond/>  
(utolsó elérés dátuma: 2023. 07. 27.)
- [34] Naahidi, S.; Jafari, M.; Edalat, F.; Raymond, K.; Khademhosseini, A.; Chen, P. (2013). Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery. *J. Control. Release*, 166, 182–194.
- [35] Papaefthymiou, G.C. (2009). Nanoparticle magnetism. *Nano Today*, 4, 438–447.
- [36] Iskandar, F. (2009). Nanoparticle processing for optical applications—A review. *Adv. Powder Technol.*, 20, 283–292.
- [37] <https://www.azooptics.com/Article.aspx?ArticleID=2075>  
(Utolsó elérés dátuma: 2023. 05. 31.)
- [38] Virkler, K., & Lednev, I. K. (2008). Raman spectroscopy offers great potential for the nondestructive confirmatory identification of body fluids. *Forensic Science International*, 181(1-3), e1–e5.
- [39] Franklin, L. M., Walker, S. M., & Hill, G. (2020). A DFT study of isolated histidine interactions with metal ions ( $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) in a six-coordinated octahedral complex. *Journal of Molecular Modeling*, 26(6)
- [40] Farkas, E., Sóvágó I. (2017) *Amino Acids, Peptides and Proteins*, In M. Ryadnov, F. Hudecz (Eds.) Royal Society of Chemistry, (pp. 100) Great Britain, Cambridge.
- [41] Committee, A.M. (2015). Raman spectroscopy in cultural heritage: Background paper. *Anal. Methods*, 7, 4844–4847.
- [42] Casadio, F., Daher, C., & Bellot-Gurlet, L. (2016). Raman Spectroscopy of cultural heritage Materials: Overview of Applications and New Frontiers in Instrumentation, Sampling Modalities, and Data Processing. *Topics in Current Chemistry*, 374(5).
- [43] Craig, A.P.; Franca, A.S.; Irudayaraj, J. (2013). Surface-enhanced Raman spectroscopy applied to food safety. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 4, 369–380.
- [44] <https://mars.nasa.gov/mars2020/spacecraft/instruments/>  
(Utolsó elérés dátuma: 2023. 05. 31.)
- [45] Pilot, R., Signorini, R., Durante, C., Orian, L., Bhamidipati, M., Fabris, L. (2019). A Review on Surface-Enhanced Raman Scattering. *Biosensors*, 9(2), 57.

- [46] Ding, S., Zhang, X., You, E., Ren, B., Tian, Z. (2020). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: General Introduction. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 1–42.
- [47] R.K. Chang, T.E. Furtak (1982). *Surface Enhanced Raman Scattering*, New York, NY:Plenum Press.
- [48] Furtak, T. E., & Reyes, J. (1980). A critical analysis of theoretical models for the giant Raman effect from adsorbed molecules. *Surface Science*, 93(2-3), 351–382.
- [49] Furtak, T. E. (1983). Current understanding of the mechanism of surface enhanced Raman scattering. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 150(1-2), 375–388.
- [50] Schatz, G. C. (1984). Theoretical studies of surface enhanced Raman scattering. *Accounts of Chemical Research*, 17(10), 370–376.
- [51] Kumar, S., Kumar, P., Das, A., & Shakher Pathak, C. (2020). Surface-Enhanced Raman Scattering: Introduction and Applications. *Recent Advances in Nanophotonics - Fundamentals and Applications*.
- [52] Han, X. X., Rodriguez, R. S., Haynes, C. L., Ozaki, Y., Zhao, B. (2021). Surface- enhanced Raman spectroscopy, *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1).
- [53] Ringe, E. (2020). Shapes, Plasmonic Properties and Reactivity of Magnesium Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*.
- [54] <https://www.physik.hu-berlin.de/de/nano/lehre/Gastvorlesung%20Wien/plasmonics>  
(utolsó elérés dátuma: 2023. 07. 27.)
- [55] Li, C., Huang, Y., Li, X., Zhang, Y., Chen, Q., Ye, Z., ... Xu, Y. (2021). Towards practical and sustainable SERS: a review of recent developments in the construction of multifunctional enhancing substrates. *Journal of Materials Chemistry C*.
- [56] Chowdhury, J. (2014). How the Charge Transfer (CT) Contributions Influence the SERS Spectra of Molecules? A Retrospective from the View of Albrecht's "A" and Herzberg-Teller Contributions. *Applied Spectroscopy Reviews*, 50(3), 240–260.
- [57] Gersten, J. I., Birke, R. L., & Lombardi, J. R. (1979). Theory of Enhance I Light Scattering from Molecules Adsorbed at the Metal-Solution Interface. *Physical Review Letters*, 43(2), 147–150.
- [58] Wang, M., Cao, X., Lu, W., Tao, L., Zhao, H., Wang, Y., ... Qian, W. (2014). Surface-enhanced Raman spectroscopic detection and differentiation of lung cancer cell lines (A549, H1229) and normal cell line (AT II) based on gold nanostar substrates. *RSC Adv.*, 4(109), 64225–64234.
- [59] Le Ru, E. C., Blackie, E., Meyer, M., & Etchegoin, P. G. (2007). Surface Enhanced Raman Scattering Enhancement Factors: A Comprehensive Study. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(37), 13794–13803.

- [60] Bora, T. (2018). Recent Developments on Metal Nanoparticles for SERS Applications. *Noble and Precious Metals - Properties, Nanoscale Effects and Applications*.
- [61] Sharma, B., Frontiera, R. R., Henry, A.-I., Ringe, E., & Van Duyne, R. P. (2012). SERS: Materials, applications, and the future. *Materials Today*, 15(1-2), 16–25.
- [62] Ling, X., Xie, L., Fang, Y., Xu, H., Zhang, H., Kong, J., ... Liu, Z. (2010). Can Graphene be used as a Substrate for Raman Enhancement? *Nano Letters*, 10(2), 553–561.
- [63] Huang, S., Ling, X., Liang, L., Song, Y., Fang, W., Zhang, J., ... Dresselhaus, M. S. (2015). Molecular Selectivity of Graphene-Enhanced Raman Scattering. *Nano Letters*, 15(5), 2892–2901.
- [64] Feng, S., dos Santos, M. C., Carvalho, B. R., Lv, R., Li, Q., Fujisawa, K., ... Terrones, M. (2016). Ultrasensitive molecular sensor using N-doped graphene through enhanced Raman scattering. *Science Advances*, 2(7), e1600322–e1600322.
- [65] Dobrik, G., Nemes-Incze, P., Majérus, B. et al. (2022) Large-area nanoengineering of graphene corrugations for visible-frequency graphene plasmons. *Nat. Nanotechnol.* 17, 61–66.
- [66] Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., & Schatz, G. C. (2003). The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(3), 668–677.
- [67] Fan, M., Andrade, G. F. S., & Brolo, A. G. (2011). A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*, 693(1-2), 7–25.
- [68] Renata, J. (2016). Micro and nanocapsules as supports for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS). *Physical Sciences Reviews*, 1(1).
- [69] Petti, L., Capasso, R., Rippa, M., Pannico, M., La Manna, P., Peluso, G., ... Musto, P. (2016). A plasmonic nanostructure fabricated by electron beam lithography as a sensitive and highly homogeneous SERS substrate for bio-sensing applications. *Vibrational Spectroscopy*, 82, 22–30.
- [70] Dhawan, A., Du, Y., Yan, F., Gerhold, M. D., Misra, V., & Vo-Dinh, T. (2010). Methodologies for Developing Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Substrates for Detection of Chemical and Biological Molecules. *IEEE Sensors Journal*, 10(3), 608–616.
- [71] Kang, H., Buchman, J. T., Rodriguez, R. S., Ring, H. L., He, J., Bantz, K. C., & Haynes, C. L. (2018). Stabilization of Silver and Gold Nanoparticles: Preservation and Improvement of Plasmonic Functionalities. *Chemical Reviews*.
- [72] Israelsen, N. D., Hanson, C., & Vargis, E. (2015). Nanoparticle Properties and Synthesis Effects on Surface-Enhanced Raman Scattering Enhancement Factor: An Introduction. *The Scientific World Journal*, 2015, 1–12.

- [73] Joseph, V., Matschulat, A., Polte, J., Rolf, S., Emmerling, F., & Kneipp, J. (2011). SERS enhancement of gold nanospheres of defined size. *Journal of Raman Spectroscopy*, 42(9), 1736–1742.
- [74] Kundu, S. (2013). A new route for the formation of Au nanowires and application of shape-selective Au nanoparticles in SERS studies. *J. Mater. Chem. C*, 1(4), 831–842.
- [75] Kleinman, S. L., Sharma, B., Blaber, M. G., Henry, A.-I., Valley, N., Freeman, R. G., ... Van Duyne, R. P. (2012). Structure Enhancement Factor Relationships in Single Gold Nanoantennas by Surface-Enhanced Raman Excitation Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 135(1), 301–308.
- [76] Le Ru, E. C., Grand, J., Félidj, N., Aubard, J., Lévi, G., Hohenau, A., ... Etchegoin, P. G. (2008). Experimental Verification of the SERS Electromagnetic Model beyond the  $|E|^4$  Approximation: Polarization Effects. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(22), 8117–8121.
- [77] Hong, S., & Li, X. (2013). Optimal Size of Gold Nanoparticles for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy under Different Conditions. *Journal of Nanomaterials*, 2013, 1–9.
- [78] Moskovits, M. (2005). Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. *Journal of Raman Spectroscopy*, 36(6-7), 485–496.
- [79] Stampelcoskie, K. G., Scaiano, J. C., Tiwari, V. S., & Anis, H. (2011). Optimal Size of Silver Nanoparticles for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry C*, 115(5), 1403–1409.
- [80] Njoki, P. N., Lim, I.-I. S., Mott, D., Park, H.-Y., Khan, B., Mishra, S., ... Zhong, C.-J. (2007). Size Correlation of Optical and Spectroscopic Properties for Gold Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(40), 14664–14669.
- [81] Masango, S. S., Hackler, R. A., Large, N., Henry, A.-I., McAnally, M. O., Schatz, G. C., ... Van Duyne, R. P. (2016). High-Resolution Distance Dependence Study of Surface-Enhanced Raman Scattering Enabled by Atomic Layer Deposition. *Nano Letters*, 16(7), 4251–4259.
- [82] Linh, V. T. N., Moon, J., Mun, C., Devaraj, V., Oh, J.-W., Park, S.-G., ... Jung, H. S. (2019). A facile low-cost paper-based SERS substrate for label-free molecular detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 291, 369–377.
- [83] Bonyár, A., Csarnovics, I., Veres, M., Himics, L., Csik, A., Kámán, J., ... Kökényesi, S. (2018). Investigation of the performance of thermally generated gold nanoislands for LSPR and SERS applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 433–439.
- [84] Huang, Y., Zhou, Q., Hou, M., Ma, L., & Zhang, Z. (2015). Nanogap effects on near- and far-field plasmonic behaviors of metallic nanoparticle dimers. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(43), 29293–29298.
- [85] Skeete, Z., Cheng, H.-W., Ngo, Q. M., Salazar, C., Sun, W., Luo, J., & Zhong, C.-J. (2016). “Squeezed” interparticle properties for plasmonic coupling and SERS characteristics of

- duplex DNA conjugated/linked gold nanoparticles of homo/hetero-sizes. *Nanotechnology*, 27(32), 325706.
- [86] Xu, H., Bjerneld, E. J., Aizpurua, J., Apell, P., Gunnarsson, L., Petronis, S., ... Kall, M. (2001). Nanoparticles and Nanostructured Surfaces: Novel Reporters with Biological Applications. 4258, 357-364.
- [87] Zhu, Z., Zhu, T., & Liu, Z. (2004). Raman scattering enhancement contributed from individual gold nanoparticles and interparticle coupling. *Nanotechnology*, 15(3), 357–364.
- [88] Nehra, K., Kumar, P. S., Bharathi, M. S. S., & Soma, V. R. (2019). Enhanced Catalytic and SERS Performance of Shape/Size Controlled Anisotropic Gold Nanostructures. *New Journal of Chemistry*.
- [89] Yockell-Lelièvre, H., Lussier, F., & Masson, J.-F. (2015). Influence of the Particle Shape and Density of Self-Assembled Gold Nanoparticle Sensors on LSPR and SERS. *The Journal of Physical Chemistry C*, 119(51), 28577–28585.
- [90] Orendorff, C. J., Gole, A., Sau, T. K., & Murphy, C. J. (2005). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Self-Assembled Monolayers: Sandwich Architecture and Nanoparticle Shape Dependence. *Analytical Chemistry*, 77(10), 3261–3266.
- [91] Kumari, G., Kandula, J., & Narayana, C. (2015). How Far Can We Probe by SERS? *The Journal of Physical Chemistry C*, 119(34), 20057–20064.
- [92] Campion, A., Kambhampati, P. (1998). Surface-enhanced Raman scattering. *Chemical Society Reviews*, 27(4), 241.
- [93] Balázs L. (2019) Arany és ezüst nanostruktúrák előállítása és vizsgálata, Debreceni Egyetem
- [94] Villy, L.P.; Kohut, A.; Kéri, A.; Béltéki, Á.; Radnóczi, G.; Fogarassy, Z.; Radnóczi, G.Z.; Galbács, G.; Geretovszky, Z. (2022). Continuous Spark Plasma Synthesis of Au/Co Binary Nanoparticles with Tunable Properties. *Sci. Rep.*, 12, 18560.
- [95] Kohut, A., Kéri, A., Horváth, V., Kopniczky, J., Ajtai, T., Hopp, B., ... Geretovszky, Z. (2020). Facile and versatile substrate fabrication for surface enhanced Raman spectroscopy using spark discharge generation of Au/Ag nanoparticles. *Applied Surface Science*, 147268.
- [96] Kokaislová, A., & Matějka, P. (2012). Surface-enhanced vibrational spectroscopy of B vitamins: what is the effect of SERS-active metals used? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(4), 985–993.
- [97] Strelchuk, V. V., Kolomys, O. F., Kaganovich, E. B., Krishchenko, I. M., Golichenko, B. O., Boyko, M. I., ... Nasieka, I. M. (2015). Optical Characterization of SERS Substrates Based on Porous Au Films Prepared by Pulsed Laser Deposition. *Journal of Nanomaterials*, 2015, 1–7.
- [98] Benzophenone datasheet in the NIST Chemistry WebBook, <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C119619&Mask=400#UV-Vis-Spec>. (Utolsó elérés dátuma: 2023. 05. 31.)

- [99] Kline, N. D., Tripathi, A., Mirsafavi, R., Pardoe, I., Moskovits, M., Meinhart, C., ... Fountain, A. W. (2016). Optimization of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Conditions for Implementation into a Microfluidic Device for Drug Detection. *Analytical Chemistry*, 88(21), 10513–10522.
- [100] Dendisová-Vyškovská, M., Kokaislová, A., Ončák, M., & Matějka, P. (2012). SERS and in situ SERS spectroscopy of riboflavin adsorbed on silver, gold and copper substrates. Elucidation of variability of surface orientation based on both experimental and theoretical approach. *Journal of Molecular Structure*, 1038, 19–28.
- [101] Dustov, M., Golovina, D., Polyakov, A., Goldt, A., Eliseev, A., Kolesnikov, E., ... Grigorieva, A. (2018). Silver Eco-Solvent Ink for Reactive Printing of Polychromatic SERS and SPR Substrates. *Sensors*, 18(2), 521.
- [102] Clark, D. E. (2011). What has polar surface area ever done for drug discovery? *Future Medicinal Chemistry*, 3(4), 469–484.
- [103] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 493570, Riboflavin. 2021. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Riboflavin> (accessed on 26 March 2021).
- [104] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 13806, Rhodamine 6G. 2021. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rhodamine-6G> (accessed on 26 March 2021).
- [105] Van Dyck, C., Fu, B., Van Duyne, R. P., Schatz, G. C., & Ratner, M. A. (2017). Deducing the Adsorption Geometry of Rhodamine 6G from the Surface-Induced Mode Renormalization in Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry C*, 122(1), 465–473.
- [106] Monserud, J. H., & Schwartz, D. K. (2012). Effects of Molecular Size and Surface Hydrophobicity on Oligonucleotide Interfacial Dynamics. *Biomacromolecules*, 13(12), 4002–4011.
- [107] Zhu, J.; Sun, Z.; Li, J.J.; Zhao, J.W. Bovine Serum Albumins (BSA) Induced Aggregation and Separation of Gold Colloid Nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2012, 12, 2206–2211.
- [108] Pápa, Z., Kasza, J., Budai, J., Márton, Z., Molnár, G., & Dombi, P. (2020). Tuning plasmonic field enhancement and transients by far-field coupling between nanostructures. *Applied Physics Letters*, 117(8), 081105.
- [109] Fan, M., Lai, F.-J., Chou, H.-L., Lu, W.-T., Hwang, B.-J., & Brolo, A. G. (2013). Surface-enhanced Raman scattering (SERS) from Au:Ag bimetallic nanoparticles: the effect of the molecular probe. *Chem. Sci.*, 4(1), 509–515.

- [110] Macias, G., Alba, M., Marsal, L. F., & Mihi, A. (2016). Surface roughness boosts the SERS performance of imprinted plasmonic architectures. *Journal of Materials Chemistry C*, 4(18), 3970–3975.
- [111] Conato, C., Kozłowski, H., Swiatek-Kozłowska, J., Młynarz, P., Remelli, M., & Silvestri, S. (2004). Formation equilibria of nickel complexes with glycyl-histidyl-lysine and two synthetic analogues. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 98(1), 153–160.
- [112] Sóvágó, I., Kállay, C., & Várnagy, K. (2012). Peptides as complexing agents: Factors influencing the structure and thermodynamic stability of peptide complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, 256(19-20), 2225–2233.
- [113] Kozłowski, H., Bal, W., Dyba, M., Kowalik-Jankowska, T. (1998) Specific structure–stability relations in metallopeptides. *Coordination Chemistry Reviews*, 184 (1999) 319–346
- [114] Becke, A. D. (1988). Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*, 38(6), 3098–3100.
- [115] Lee, C., Yang, W., & Parr, R. G. (1988). Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, 37(2), 785–789.
- [116] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian 09, Revision A.02, Gaussian, Inc, Wallingford CT 2009.
- [117] Rassolov, V. A., Pople, J. A., Ratner, M. A., & Windus, T. L. (1998). 6-31G\* basis set for atoms K through Zn. *The Journal of Chemical Physics*, 109(4), 1223–1229.
- [118] Marenich, A. V., Cramer, C. J., & Truhlar, D. G. (2009). Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(18), 6378–6396.

- [119] Pflüger, F., Hernández, B., & Ghomi, M. (2010). Vibrational Analysis of Amino Acids and Short Peptides in Hydrated Media. VII. Energy Landscapes, Energetic and Geometrical Features of L-Histidine with Protonated and Neutral Side Chains. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(27), 9072–9083.
- [120] Bryce, G. F., Gurd, F. R. N. (1966). Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism Spectra of Copper(II) and Nickel(II)-Peptide Complexes . *The Journal of Biological Chemistry*, 241(6), 1439.
- [121] GESAWAT, A. A., AHMED, M. A., & SHAKEEL, F. (2010). SOLUTION STUDY OF TERNARY COMPLEXES OF NICKEL(II) CONTAINING HISTIDINE AND DIOLS. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 55(3), 304–306.
- [122] Patronov, A., Salamanova, E., Dimitrov, I., Flower, D. R., Doytchinova, I. (2014). Histidine Hydrogen Bonding in MHC at pH 5 and pH 7 Modeled by Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations. *Current Computer-Aided Drug Design*, 10(1), 41-49.