

# Površinski pojačano Ramanovo raspršenje odabranih organskih boja na nanočesticama srebra I zlata

---

Đurasović, Izabela

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:548698>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-01**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Izabela Đurasović

**POVRŠINSKI POJAČANO RAMANOVO  
RASPRŠENJE ORGANSKIH BOJA NA  
NANOČESTICAMA SREBRA I ZLATA**

**Diplomski rad**

predložen Kemijskom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog zvanja

magistre kemije

Zagreb, 2021.



Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za analitičku kemiju Kemijskog odsjeka  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc.  
Adriane Kendel.



## Zahvale

Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Adriani Kendel na odabiru teme diplomskog rada, brojnim savjetima i idejama. Posebice hvala na svom uloženom vremenu i trudu te na razumijevanju tijekom izrade ovog rada.

Hvala mojim roditeljima koji su me od malih nogu podupirali, bodrili i navodili. Bez vaše podrške i povjerenja ovaj rad ne bi postojao.

Hvala baki Kati koja me i dalje podsjeća da se na kraju svaki trud isplati.

Najviše hvala Ivoru, koji mi je bio najveći oslonac tijekom pisanja diplomskog rada! Zahvalna sam ti na ljubavi, strpljenju i empatiji. Tvoje riječi potpore, utjehe i podrške daju mi vjetar u leđa da nastavim kemijati i razvijati (se).



# Sadržaj

<b>SAŽETAK.....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>XI</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Ramanova spektroskopija.....</b>	<b>2</b>
<b>2.2. Površinski pojačano Ramanovo raspršenje.....</b>	<b>4</b>
2.2.1. Metalni supstrati .....	4
2.2.2. Elektromagnetski mehanizam pojačanja.....	5
2.2.3. Mehanizam prijenosa naboja (kemijski mehanizam).....	7
<b>2.3. Organske boje.....</b>	<b>8</b>
2.3.1. Metilensko modrilo .....	8
2.3.2. Rodamin B.....	9
<b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1. Kemikalije.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2. Priprava koloidnih suspenzija .....</b>	<b>10</b>
3.2.1. Priprava koloidne suspenzije srebra.....	10
3.2.2. Priprava koloidne suspenzije zlata .....	10
<b>3.3. Priprava otopina boja.....</b>	<b>11</b>
<b>3.4. Priprava mjernih uzoraka u koloidnim suspenzijama .....</b>	<b>11</b>
3.4.1. Svježe koloidne suspenzije.....	11
3.4.2. Koncentrirane koloidne suspenzije .....	12
<b>3.5. Priprava mjernih uzoraka na čvrstim podlogama.....</b>	<b>12</b>
3.5.1. Tretirano staklo.....	12
3.5.2. Stakleni filter-papir .....	13
<b>3.6. Priprava uzoraka za određivanje reproducibilnosti.....</b>	<b>13</b>
<b>3.7. Mjerni uređaji .....</b>	<b>14</b>
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>15</b>
<b>4.1. Karakterizacija koloidne suspenzije srebra .....</b>	<b>15</b>
<b>4.2. Karakterizacija koloidne suspenzije zlata .....</b>	<b>16</b>
<b>4.3. Ramanovi spektri boja.....</b>	<b>18</b>
4.3.1. Metilensko modrilo .....	18
4.3.2. Rodamin B.....	21



---

<b>4.4. Koncentracijski ovisni SERS spektri .....</b>	<b>23</b>
4.4.1. <i>Svježe pripravljena koloidna suspenzija srebra.....</i>	<i>23</i>
4.4.2. <i>Koncentrirana koloidna suspenzija srebra .....</i>	<i>28</i>
4.4.3. <i>Svježe pripravljena koloidna suspenzija zlata .....</i>	<i>35</i>
4.4.4. <i>Koncentrirana koloidna suspenzija zlata.....</i>	<i>41</i>
4.4.5. <i>Tretirano staklo s nanočesticama srebra.....</i>	<i>47</i>
4.4.6. <i>Tretirano staklo s nanočesticama zlata.....</i>	<i>50</i>
4.4.7. <i>Odabir načina priprave uzorka na staklenom filter-papiru.....</i>	<i>54</i>
4.4.8. <i>Stakleni filter-papir s nanočesticama srebra .....</i>	<i>55</i>
4.4.9. <i>Stakleni filter-papir s nanočesticama zlata.....</i>	<i>59</i>
<b>4.5. Reproducibilnost .....</b>	<b>62</b>
<b>§ 5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>71</b>
<b>§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....</b>	<b>73</b>
<b>§ 7. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>74</b>
<b>§ 8. DODATAK.....</b>	<b>XV</b>
<b>§ 9. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>XXIV</b>



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Diplomski rad

## SAŽETAK

### POVRŠINSKI POJAČANO RAMANOVO RASPRŠENJE ORGANSKIH BOJA NA NANOČESTICAMA SREBRA I ZLATA

Izabela Đurasović

Učinkovitost površinski pojačanog Ramanova raspršenja (SERS) nanočestica srebra i zlata dispergiranih u svježe pripremljenim i koncentriranim koloidima te imobiliziranih na staklu tretiranom s fluorovodičnom kiselinom i staklenom filter-papiru istraživana je pomoću metilenskog modrila (**MetB**) i rodamina B (**RB**) pri pobudama 532 i 785 nm. Koncentrirane koloidne suspenzije jače pojačavaju raspršenje zračenja boja u odnosu na svježe pripravljene koloide. U koncentriranom koloidu zlata pri pobudi 785 nm opažene spektralne promjene upućuju na drugačiju orijentaciju molekula **MetB** na površini zlata, u odnosu na koloid srebra. Atom sumpora iz fenotiazinskog sustava boje tvori kemijsku vezu sa zlatom, dok su u koloidu srebra molekule **MetB** vezane na supstrat preko atoma dušika fenotiazina. Kod svih korištenih supstrata pobuda pri 785 nm rezultira intenzivnim vrpčama **MetB** i **RB**, dok pobuda pri 532 nm daje vrpce slabijeg intenziteta za **MetB**, a vrpce **RB** zasjenjuje široka vrpca fluorescencije. U odnosu na koloidne suspenzije, nanočestice srebra i zlata imobilizirane na čvrstim podlogama nisu se pokazale reproducibilnim supstratima zbog neravnomjerne raspodjele nanočestica metala na površini supstrata.

(xxiv + 75 stranica, 68 slika, 12 tablica, 36 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: metilensko modriilo, nanočestice, rodamin B, SERS, srebro, zlato

Mentor: doc. dr. sc. Adriana Kendel

Ocjenitelji:

1. doc. dr. sc. Adriana Kendel
  2. prof. dr. sc. Biserka Prugovečki
  3. izv. prof. dr. sc. Ivana Biljan
- Zamjena: prof. dr. sc. Snežana Miljanić

Datum diplomskog ispita: 29. rujna 2021.





University of Zagreb  
Faculty of Science  
**Department of Chemistry**

Diploma Thesis

## ABSTRACT

### SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING OF SELECTED ORGANIC DYES ON SILVER AND GOLD NANOPARTICLES

Izabela Đurasović

Efficiency of surface-enhanced Raman scattering (SERS) of silver and gold nanoparticles dispersed in freshly prepared and concentrated colloids, and immobilized on hydrofluoric acid-treated glass and glass-fiber filter paper was investigated using methylene blue (**MetB**) and rhodamine B (**RB**) at excitation of 532 and 785 nm. Concentrated colloidal suspensions intensified the scattering of dye radiation, compared to freshly prepared colloids. In the concentrated gold colloid at 785 nm, observed spectral changes indicated a different orientation of **MetB** molecules on metal surface, compared to the silver colloid. The sulfur atom from phenothiazine created a chemical bond with gold, while **MetB** molecules in the silver colloid were bonded to the substrate via phenothiazine nitrogen atom. For all used substrates, the excitation at 785 nm resulted in intense **MetB** and **RB** bands, while excitation at 532 nm yielded lower-intensity bands for **MetB**, and a wide fluorescence band that overlapped **RB** bands. Metal colloidal suspensions were more reproducible substrates than the solid substrates, due to the uneven distribution of nanoparticles on the solid substrates.

(xxiv + 75 pages, 68 figures, 12 tables, 36 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords: gold, methylene blue, nanoparticles, rhodamine B, SERS, silver

Mentor: Dr. Adriana Kendel, Assistant Professor

Reviewers:

1. Dr. Adriana Kendel, Assistant Professor
  2. Dr. Biserka Prugovečki, Professor
  3. Dr. Ivana Biljan, Associate Professor
- Substitute: Dr. Snežana Miljanić, Professor

Date of exam: 29 September 2021



## § 1. UVOD

Spektroskopijom površinski pojačanog Ramanova raspršenja (engl. *surface-enhanced Raman scattering*, SERS) opaža se vibracijski spektar molekule smještene na neravnu površinu ili vrlo blizu nje pri čemu se intenzitet raspršenja pojačava i do milijun puta u odnosu na klasičnu Ramanovu spektroskopiju.<sup>1</sup> SERS efekt objašnjava se pomoću elektromagnetskog mehanizma, koji pretpostavlja jaka električna polja oko molekule uslijed pobude plazmona na površini metala, te kemijskog mehanizma, koji predviđa nastajanje kemijske veze između metala i istraživane molekule.<sup>2</sup> Metali koji apsorbiraju zračenje u vidljivom području elektromagnetskog zračenja pokazali su se kao vrlo učinkoviti SERS supstrati, stoga se najčešće koriste srebro i zlato. Utvrđeno je da srebro preferirano tvori kemijsku vezu s atomom dušika istraživane molekule, dok se molekula s atomom sumpora u strukturi bolje veže na površinu zlata.<sup>3</sup>

Cilj ovog diplomskog rada bio je ispitati SERS učinkovitost nanočestica srebra i zlata dispergiranih u suspenziji i imobiliziranih na čvrstim nosačima. U tu svrhu sintetizirane su koloidne suspenzije srebra i zlata redukcijom srebrova(I) nitrata, odnosno tetraklorozlatne(III) kiseline s trinatrijevim citratom. Kao čvrste podloge za imobilizaciju nanočestica srebra i zlata korišteni su staklo tretirano s fluorovodičnom kiselinom i stakleni filter-papir. SERS aktivnost pripremljenih supstrata ispitana je pomoću dvije boje, metilenskog modrila i rodamina B. Organske boje se vrlo često koriste kao analiti u SERS spektroskopiji zbog aromatskih strukturnih motiva koji izvrsno raspršuju zračenje i, s obzirom da se adsorpcijom molekule na metalni supstrat fluorescencija djelomično gasi, moguća su strukturna istraživanja boja pri mikromolarnim koncentracijama.<sup>3</sup>

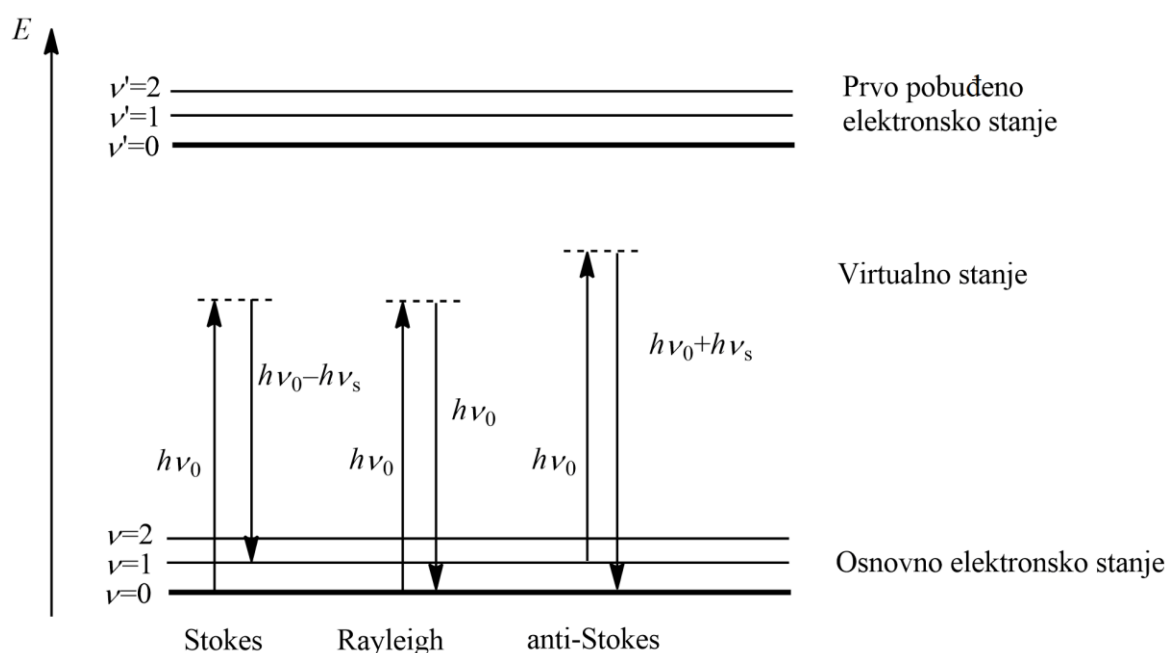
U svrhu ispitivanja učinkovitosti supstrata srebra i zlata snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri otopina modelnih molekula na svakom pojedinom supstratu te je određena reproducibilnost supstrata i granica detekcije. Sva mjerenja provedena su nakon pobude zračenjem pri valnim duljinama 532 i 785 nm. Opaženi SERS spektri detaljno su analizirani i interpretirani te je uspoređen utjecaj pobudnog zračenja, vrste metala i supstrata na pojačanje raspršenja zračenja istraživanih boja.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Ramanova spektroskopija

Ramanova spektroskopija je metoda vibracijske spektroskopije koja se primjenjuje pri istraživanju struktura molekula. Metoda se temelji na neelastičnom raspršenju elektromagnetskog zračenja uslijed interakcije zračenja i molekula.<sup>1-3</sup> Strukturna analiza pomoću Ramanove spektroskopije moguća je za molekule koje su polarizabilne, odnosno imaju sklonost narušavanju elektronskog oblaka oko jezgre uslijed izlaganja elektromagnetskom zračenju. Prilikom distorzije elektronskog oblaka, molekula prelazi u kratkoživuće stanje, koje se naziva virtualno stanje. Virtualno stanje ne odgovara nijednom stvarnom energijskom stanju molekule i njegova energija ovisi o energiji pobudnog zračenja. Ramanova spektroskopija koristi pobudno zračenje samo jedne frekvencije, pa se kao izvor zračenja koriste laseri koji emitiraju zračenje u ultraljubičastom (UV), vidljivom (Vis) i bliskom infracrvenom (NIR) dijelu spektra.

Poznata su dva načina raspršenja zračenja: elastično raspršenje koje se naziva i Rayleighovo raspršenje, te neelastično ili Ramanovo raspršenje (slika 1).



Slika 1. Mehanizmi različitih procesa raspršenja zračenja

Rayleighovo raspršenje je dominantna vrsta raspršenja u kojoj je energija fotona upadnog zračenja jednaka energiji fotona raspršenog zračenja. Ono se zbiva prilikom interakcije upadnog zračenja i elektronskog oblaka, pri čemu ne dolazi do pomicanja jezgara atoma i energija raspršenog fotona jednaka je energiji pobudnog zračenja.

U odnosu na elastično Rayleighovo raspršenje, Ramanovo raspršenje je rijedak događaj obzirom da se samo jedan od  $10^6 - 10^8$  fotona neelastično rasprši. Kod Ramanovog raspršenja interakcija fotona i upadnog zračenja potiče i gibanje jezgre atoma. Ovisno o tome je li se interakcija fotona upadnog zračenja i molekule događa kada se molekula nalazi u osnovnom vibracijskom ili pobuđenom vibracijskom stanju, razlikuju se dvije vrste Ramanova raspršenja: Stokesovo i anti-Stokesovo raspršenje (slika 1). Kod Stokesovog raspršenja molekula se iz osnovnog vibracijskog stanja pobudi u virtualno stanje, a zatim se vraća u pobuđeno vibracijsko stanje prilikom čega raspršuje zračenje manje energije od upadnog zračenja. Anti-Stokesovo raspršenje se zbiva kada molekula nakon pobude iz višeg vibracijskog stanja prelazi u virtualno i pri povratku u osnovno vibracijsko stanje raspršuje fotone energije veće od energije pobude. Stokesov i anti-Stokesov spektar daju iste informacije o energijama vibracije, ali s obzirom da je pri sobnoj temperaturi većina molekula u osnovnom vibracijskom stanju, vrpce u Stokesovom spektru su intenzivnije od vrpce u anti-Stokesovom spektru. Najintenzivnije vrpce u Ramanovim spektrima, s obzirom na promjenu polarizabilnosti kao izbornu pravilo, potječu od simetričnih vibracija skupina bogatih elektronima.

Najveći nedostaci Ramanove spektroskopije kao analitičke metode su slaba osjetljivost, posebno prilikom snimanja otopina, te pojava fluorescencije. Ukoliko je energija pobudnog zračenja dovoljna za prijelaz molekule iz osnovnog elektronskog stanja u više elektronsko stanje, umjesto raspršenja fotona dolazi do apsorpcije i zatim fluorescencije zračenja. U spektru je fluorescencija prisutna kao široka vrpca koja prekriva svo Stokesovo raspršenje. Interferencije u spektrima obojanih uzoraka koje uzrokuje fluorescencija mogu se izbjeći odabirom lasera u UV ( $\lambda < 400$  nm) ili NIR ( $\lambda > 700$  nm) području, promjenom matrice ukoliko ona fluorescira ili pročišćavanjem analita, ukoliko su prisutne nečistoće. Kako bi se umanjili opisani nedostaci, razvijaju se različite tehnike Ramanove spektroskopije, a jedna od njih je spektroskopija površinski pojačanog Ramanova raspršenja (engl. *surface-enhanced Raman scattering*, SERS).<sup>1,3</sup>



## 2.2. Površinski pojačano Ramanovo raspršenje

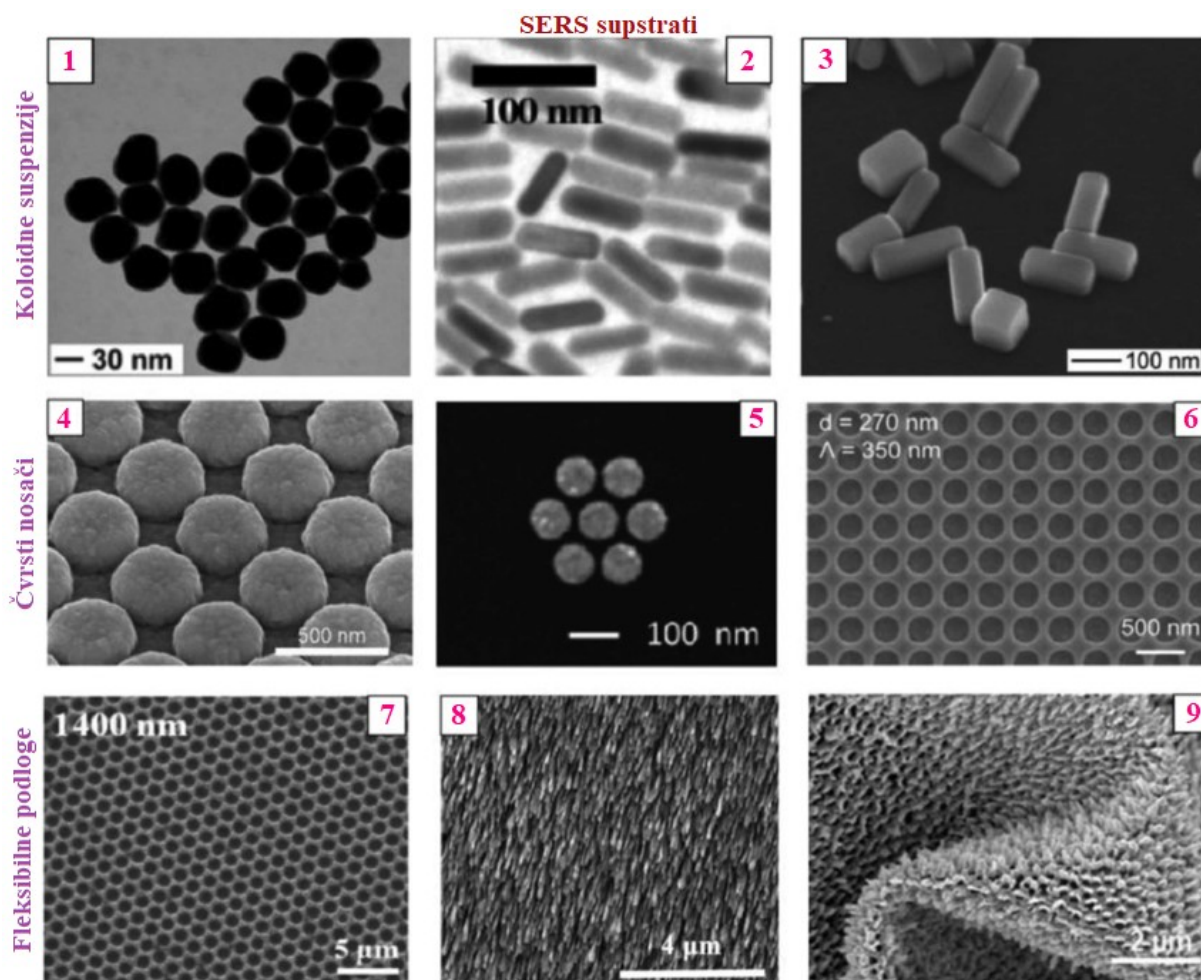
Spektroskopija površinski pojačanog Ramanovog raspršenja (SERS) zasniva se na adsorpciji molekula analita na hrapavu metalnu površinu, čime se pojačava signal do  $10^6$  puta u odnosu na klasično Ramanovo raspršenje.

Fenomen površinskog pojačanja raspršenja zračenja otkrili su 1974. godine znanstvenici Fleischmann, Hendra i McQuillan. Pri adsorpciji molekula piridina na srebrnoj elektrodi uočeno je kako Ramanov spektar pokazuje intenzivnije vrpce vibracija, što je pripisano povećanju površine srebrove elektrode, obzirom da su elektrodu prethodno učinili hrapavom nizom oksidacijsko-redukcijskih procesa. Samo tri godine kasnije, dvije grupe znanstvenika (Jeanmaire i Van Duyne te Albrecht i Creighton) utvrdili su kako je za povećanje intenziteta raspršenja zaslužna hrapava metalna površina, a ne veća površina na koju molekule analita mogu adsorbirati. Moskovits je 1978. iznio teoriju o površinskim plazmonima koji uzrokuju površinsko pojačanje Ramanova raspršenja, a koja se s vremenom pokazala ispravnom. Krajem devedesetih godina prošlog stoljeća počinje rasti interes za ovu metodu, kada su Kneipp te Nie i Emory objavili rad na temu detekcije jedne molekule SERS spektroskopijom.<sup>1,2</sup>

Dvije su opće prihvaćene teorije kojima se objašnjava pojačanje raspršenja zračenja: elektromagnetski mehanizam i mehanizam prijenosa naboja, tj. kemijski mehanizam. Elektromagnetski mehanizam značajnije doprinosi ukupnom pojačanju signala u odnosu na mehanizam prijenosa naboja. Prije detaljnijeg opisa obje teorije nužno je spomenuti SERS aktivne površine, tj. metalne supstrate koji čine osnovicu obje teorije.<sup>1-3</sup>

### 2.2.1. Metalni supstrati

Pojačanje raspršenja zračenja u SERS spektroskopiji opaža se primarno za molekule adsorbirane na površini metala koji apsorbiraju zračenje u vidljivom području elektromagnetskog spektra. Najčešće korišteni metali su srebro i zlato koji najintenzivnije pojačavaju raspršeno zračenje. Površine drugih metala, poput bakra, litija i željeza također pojačavaju raspršenje, ali manje efikasno.<sup>3</sup> Kao SERS aktivne površine najčešće se koriste koloidne suspenzije, čvrsti nosači i fleksibilne podloge (slika 2).<sup>4</sup>



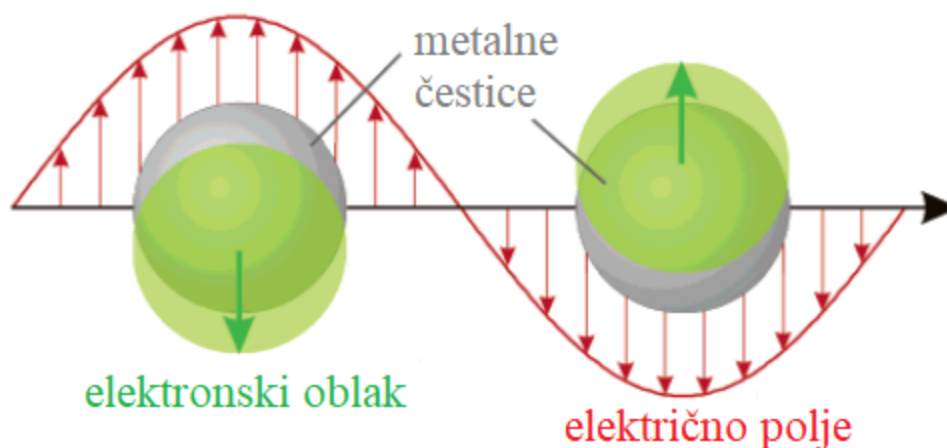
Slika 2. SERS supstrati snimljeni pretražnim elektronskim mikroskopom: 1) sferične nanočestice, 2) nanoštapići, 3) nanoprstići, 4) nanootoci, 5) nanoklaster, 6) nanorupice, 7) nanojažice, 8) nanokolone, 9) nanostupovi<sup>4</sup>

Idealni SERS supstrati odlikuju se visokom SERS aktivnošću, čistoćom, stabilnošću i homogenom raspodjelom nanočestica što je bitno za reproducibilnost supstrata. Nažalost, još uvijek nije otkriven supstrat koji bi zadovoljio sve uvjete pa se, s obzirom na vrstu analize, koriste različiti supstrati. Tako je u kvantitativnoj analizi vrlo bitna reproducibilnost supstrata, dok je u kvalitativnoj analizi bitna dobra SERS aktivnost koja omogućava visoku osjetljivost i intenzivno pojačanje raspršenja.

### 2.2.2. Elektromagnetski mehanizam pojačanja

Prema elektromagnetskom mehanizmu pojačanje raspršenja potječe od interakcije molekula analita i površinskih plazmona metala, pri čemu je analit adsorbiran ili smješten jako blizu metalne površine.

Površina metala je prekrivena elektronima koji se relativno slobodno gibaju duž površine i stvaraju elektronski oblak koji se proteže na određenoj udaljenosti od površine.<sup>3</sup> Kada se upadno elektromagnetsko zračenje usmjeri na površinu metala, dolazi do interakcije električnog polja upadnog zračenja i elektronskog oblaka pri čemu se slobodni elektroni polariziraju i počinju koherentno oscilirati. Takve oscilacije elektrona nazivaju se površinski plazmoni (slika 3). Plazmoni imaju rezonantnu frekvenciju pri kojoj najefikasnije apsorbiraju i raspršuju zračenje. Rezonantna frekvencija ovisi o vrsti metala i prirodi površine. Plazmoni srebra i zlata imaju rezonantne frekvencije u vidljivom području elektromagnetskog spektra i zato se mogu pobuditi zračenjem lasera, u Vis i NIR području, koji se koriste u Ramanovoj spektroskopiji. Rezonantna frekvencija površinskih plazmona određuje se snimanjem UV/Vis apsorpcijskog spektra.<sup>1,6</sup>



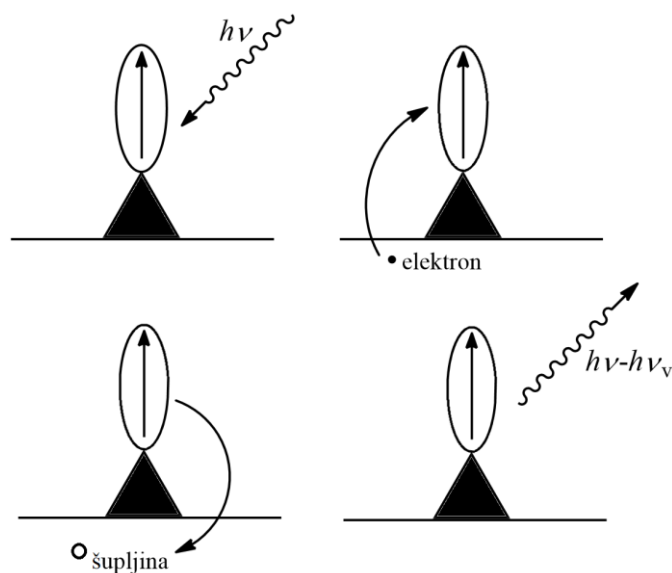
Slika 3. Shematski prikaz površinskih plazmona metalnog supstrata s naznačenim pomakom elektronskog oblaka u odnosu na jezgru<sup>3</sup>

Ovaj mehanizam ne zahtijeva adsorpciju analita na metalnu površinu, već je dovoljno da je analit u blizini površine metala. Raspršenje će biti najjače za molekule koje su adsorbirane i polarizirane okomito na površinu metala, obzirom da je električno polje najjače kada je okomito na površinu nanočestica. Udaljavanjem od površine metala dolazi do slabljenja električnog polja i pojačanje raspršenja je slabije. Na mjestu dodira dviju nanočestica zapaženo je iznimno jako električno polje i ta mjesta se nazivaju „vruće točke“ (engl. *hot spots*) te su izuzetno SERS aktivna (pojačanje raspršenja i do  $10^{12}$  puta), a nastaju agregiranjem nanočestica.<sup>3</sup>

### 2.2.3. Mehanizam prijenosa naboja (kemijski mehanizam)

Mehanizam prijenosa naboja pretpostavlja stvaranje kemijske veze između atoma analita i metala. Prilikom pobude elektrona na hrapavoj metalnoj površini dolazi do nastanka para elektron-šupljina, iz kojeg elektron prelazi u analit. Molekula se pobudi u virtualno stanje, a zatim se vraća u više vibracijsko stanje osnovnog elektronskog stanja i elektron se vraća u metal pri čemu dolazi do raspršenja zračenja (slika 4).

Zbog stvaranja kemijske veze, ovaj mehanizam je ograničen samo na jedan sloj molekula oko metalne površine, za razliku od elektromagnetskog mehanizma gdje se raspršeno zračenje promatra i iz udaljenijih slojeva. Kemijski mehanizam nije osnovni mehanizam pojačanja raspršenja i primjenjiv je samo na pojedine molekule.<sup>6</sup>



Slika 4. Mehanizam prijenosa naboja

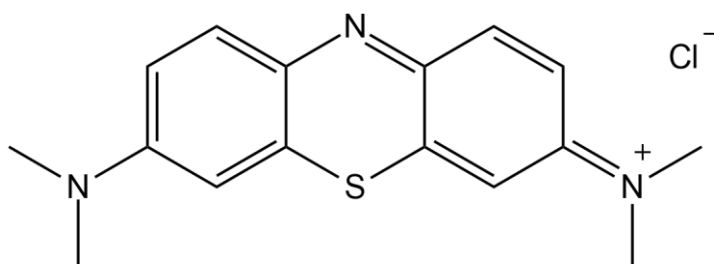
## 2.3. Organske boje

### 2.3.1. Metilensko modrilo

Metilensko modrilo (**MetB**), poznato i kao tetrametilitionin klorid (slika 5), je čvrsta tvar koju čine tamnozeleni kristali čijim otapanjem u vodi nastaje otopina plave boje. Spoj **MetB** je građen od središnjeg fenotiazinskog sustava na čijim krajevima su dvije dimetilamino skupine.

Ovaj organski pigment koristi se u različite svrhe: kao bojilo u tiskarstvu (za papir) i industriji tekstila (za kožu, pamuk i viskozu), kao indikator u biokemiji (za promatranje bioloških redoks reakcija), kao antiseptik u operacijskim salama i mnoge druge.<sup>7</sup> U medicini je najpoznatiji kao inhibitor monoamin oksidaze (MAO) i lijek protiv methemoglobinemije. MAO ima funkciju uklanjanja ključnih neurotransmitera (serotonin, dopamin, epinefrin, norepinefrin) iz mozga. Metilensko modrilo inhibira enzim MAO i tako djeluje kao svojevrsni antidepresiv. Kao lijek protiv methemoglobinemije, metilensko modrilo ima ulogu reducensa i reducira željezo(III) u željezo(II). Na taj način **MetB** reducira methemoglobin u hemoglobin, koji omogućava vezanje kisika na eritrocite te posljedično stanično disanje i normalizaciju funkcija organa.<sup>8</sup>

**MetB** se također koristi i u biokemiji za bojanje bakterija, pekarskog kvasca, nukleinskih kiselina i drugih spojeva jer ne uzrokuje trajno bojanje, ne interferira s analitom i posjeduje nisku toksičnost.<sup>7</sup>

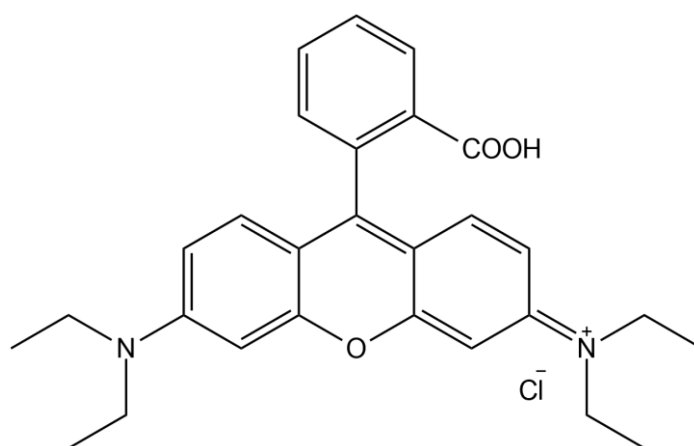


Slika 5. Strukturna formula metilenskog modrila

### 2.3.2. Rodamin B

Rodamin B (**RB**) je ksantenska boja koja se koristi kao pigment u tekstilnoj industriji (za bojanje kože, pamuka i vune) i tiskarstvu (za bojanje papira i kao tinta za pisač), kao pokazno bojilo u analizi voda te kao fluorescentno bojilo za bojanje bakterija i enzima.<sup>9</sup> Strukturna formula **RB** je prikazana na slici 6. Kristali rodamina B su intenzivno crvene boje, zbog čega su jedno vrijeme bili ilegalno dodavani u bočice s čilijem u prahu. Vodene otopine rodamina B su jarko ružičaste boje, radi čega se **RB** koristi kao pokazno bojilo u svrhu određivanja smjera toka i brzine protoka podzemnih voda.

Poput metilenskog modrila, i rodamin B se koristi kao boja u biokemijskim analizama. S obzirom da otopine rodamina B intenzivno fluoresciraju zračenje, obojani biološki važni analiti mogu se detektirati fluorescentnim mikroskopom, enzimskim imunološkim testovima (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) i protočnom citometrijom.<sup>10</sup>



Slika 6. Strukturna formula rodamina B

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Kemikalije

Srebrov nitrat, p.a., Gram-Mol

Tetraklorozlatna(III) kiselina trihidrat, p.a., Sigma-Aldrich

Trinatrijev citrat dihidrat, p.a., Kemika

3,7-bis(dimetilamino)fenotiazin-5-klorid (metilensko modriilo), p.a., Kemika

[9-(2-karboksifenil)-6-dietilamino-3-ksanteniliden]-dietilamonijev klorid (rodamin B), p.a., Merck

Fluorovodična kiselina, p.a., Fluka

### 3.2. Priprava koloidnih suspenzija

#### 3.2.1. Priprava koloidne suspenzije srebra

Koloidna suspenzija srebra pripravljena je redukcijom srebrova nitrata s trinatrijevim citratom prema modificiranom Lee-Meislovom postupku.<sup>11</sup> Srebrov nitrat (0,03709 g) otopi se u deioniziranoj vodi (206,06 mL) i zagrijava uz miješanje do vrenja na uljnoj kupelji. U vruću otopinu doda se otopina trinatrijevog citrata (0,04166 g otopljeno u 4,12 mL vode;  $w = 1\%$ ) i reakcijska smjesa se miješa uz vrenje 90 minuta pri čemu nastaje koloidna suspenzija smeđe-sive boje.

#### 3.2.2. Priprava koloidne suspenzije zlata

Koloidne nanočestice zlata u suspenziji pripravljene su redukcijom tetraklorozlatne(III) kiseline s trinatrijevim citratom prema postupku opisanom u literaturi.<sup>12</sup> Tetraklorozlatna(III) kiselina trihidrat (0,10607 g) otopi se u deioniziranoj vodi (106,07 mL) i zagrijava na uljnoj kupelji do vrenja uz miješanje na magnetskoj miješalici. Nakon vrenja, u otopinu se doda otopina trinatrijevog citrata (0,10129 g otopljeno u 10,03 mL vode;  $w = 1\%$ ). Reakcijska smjesa se miješa uz vrenje još dodatnih 15 minuta pri čemu nastaje suspenzija crveno-smeđe boje.

### 3.3. Priprava otopina boja

Otopine boja pripravljene su otapanjem određene količine čvrstog uzorka u deioniziranoj vodi. Tako pripravljene otopine metilenskog modrila (0,00329 g otopljeno u 5,143 mL vode) i rodamina B (0,00484 g otopljeno u 5,05 mL vode) molarnih koncentracija  $c = 2,00 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  korištene su za pripravu ishodnih otopina boja nižih koncentracija koje su se koristile za pripremu mjernih uzoraka (tablica 1).

Tablica 1. Koncentracije ishodnih i radnih otopina organskih boja

$c$ (ishodna otopina) / $\text{mol dm}^{-3}$	$c$ (radna otopina) / $\text{mol dm}^{-3}$
$8 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-4}$
$4 \times 10^{-4}$	$5 \times 10^{-5}$
$8 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-5}$
$4 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-6}$
$8 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$
$4 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-7}$
$8 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-7}$

### 3.4. Priprava mjernih uzoraka u koloidnim suspenzijama

Mjerni uzorci organskih boja u koloidnim suspenzijama pripremljeni su neposredno prije mjerenja. Kao metalni supstrat korištene su svježe pripravljene i koncentrirane koloidne suspenzije srebra i zlata koje su tijekom pripreme uzoraka miješane na magnetskoj miješalici kako bi se osigurala homogenost supstrata i izbjeglo taloženje nanočestica, što može utjecati na SERS spektar boje.

#### 3.4.1. Svježe koloidne suspenzije

Uzorci za SERS mjerenja u kojima je kao metalni supstrat korištena svježe pripravljena koloidna suspenzija srebra, odnosno zlata, priređeni su u aluminijskoj posudici na način da se 5  $\mu\text{L}$  organske boje odgovarajuće ishodne koncentracije (tablica 1) pomiješa s 35  $\mu\text{L}$  koloida. Konačne (radne) koncentracije **MetB**, odnosno **RB**, u mjernim uzorcima iznosile su:  $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $5 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$  i  $1 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ .



### 3.4.2. Koncentrirane koloidne suspenzije

Koncentrirana koloidna suspenzija srebra, odnosno zlata, dobivena je centrifugiranjem svježe pripremljenog koloida brzinom od 5000 okretaja po minuti tijekom 15 minuta, nakon čega se odvaja supernatant od taloga. 85 % supernatanta se uklanja, a preostalih 15 % supernatanta se pomiješa s talogom i koristi kao metalni supstrat za SERS mjerenja. Na taj način je iz 150 mL svježe pripremljenog koloida dobiveno 22,5 mL koncentrirane koloidne suspenzije. Tako pripremljene koloidne suspenzije korištene su kao metalni supstrati za SERS uzorke, gdje se, kao i kod svježe pripremljenih koloida, u aluminijsku posudicu ukupnog volumena 40  $\mu\text{L}$  dodalo 5  $\mu\text{L}$  ishodne otopine boje i 35  $\mu\text{L}$  koncentriranog koloida. Konačne koncentracije boja u uzorcima za mjerenje prikazane su u tablici 1 kao radne koncentracije.

## 3.5. Priprava mjernih uzoraka na čvrstim podlogama

Osim koloidnih suspenzija kao metalnih supstrata za pripravu SERS uzoraka, u ovom radu korištene su i čvrste podloge: staklo tretirano fluorovodičnom kiselinom i stakleni filter-papir. Smjesa organskih boja i koncentriranih koloidnih suspenzija nanosi se na čvrsti nosač i zatim suši, nakon čega se pripremljenom mjernom uzorku snima SERS spektar.

### 3.5.1. Tretirano staklo

Prva čvrsta podloga korištena u radu bilo je predmetno stakalce za mikroskopiju. Prije nanošenja smjese boja i koloida, staklo je očišćeno otopinom fluorovodične kiseline. Stakalce se do pola svoje visine uronilo u otopinu fluorovodične kiseline ( $\varphi = 1\%$ ) na 20 minuta, nakon čega se dobro ispralo deioniziranom vodom i sušilo na zraku 48 sati.<sup>13</sup>

Radne otopine boja **MetB** i **RB** volumena 100  $\mu\text{L}$  pripremljene su neposredno prije aplikiranja na stakalce miješanjem 12,5  $\mu\text{L}$  ishodne otopine organske boje s 87,5  $\mu\text{L}$  koncentriranog koloida. Tako pripremljeni mjerni uzorci sadržavali su organske boje u koncentracijskom rasponu od  $1 \times 10^{-4}$  do  $1 \times 10^{-7}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ . Uzorci za mjerenje pripremani su na način da se mikropipetom na stakalce stavilo 100  $\mu\text{L}$  pripremljene otopine organske boje u koncentriranom koloidu, a zatim su tretirana stakalca sušena na sobnoj temperaturi oko dva sata. Na osušenim stakalcima uočio se obojani prsten, tzv. „prsten kave“ (engl. *coffee ring*).<sup>14</sup> Koncentracijski ovisni SERS spektri boja na tretiranom staklu snimani su na rubovima nastalog prstena.

### 3.5.2. Stakleni filter-papir

Filter-papir sa staklenim nitima korišten je kao drugi čvrsti nosač. Da bi se odredio optimalan način pripreme uzoraka za SERS mjerenja koji će rezultirati s najvećim pojačanjem Ramanova raspršenja, isprobana su dva načina pripreme uzorka na staklenom filter-papiru.

Kod prvog načina pripreme uzorka, na stakleni filter-papir je dodano 40  $\mu\text{L}$  prethodno pripravljene smjese koncentriranog koloida i boje, nakon čega je filter-papir sušen dva sata na zraku i sniman. Konačna koncentracija boje u pripremljenom uzorku bila je  $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ .

Kod drugog načina pripreme, na stakleni filter-papir mikropipetom je aplicirano 35  $\mu\text{L}$  odgovarajuće koncentrirane koloidne suspenzije, nakon čega se tako tretirani filter-papir sušio na zraku oko dva sata, a zatim je na osušeno područje s nanočesticama dodano 5  $\mu\text{L}$  boje, tako da je ukupna koncentracija **MetB**, odnosno **RB**, u sustavu iznosila  $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ . Nakon dodatka otopine boje, filter-papir je sušen dva sata na sobnoj temperaturi, a zatim se snimio SERS spektar pripremljenog uzorka.<sup>15</sup>

Usporedbom SERS spektara dobivenih snimanjem uzoraka boje na čvrstom nosaču, vidljivo je da prvi način pripreme uzorka rezultira intenzivnijim vrpčama u spektrima, tako da je taj način pripreme uzoraka za SERS mjerenja na staklenom filter-papiru odabran za pripremu uzoraka za snimanje koncentracijski ovisnih SERS spektara.

Uzorci za mjerenja na čvrstom nosaču od staklenog filter-papira koncentracija boja  $1 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-7}$  i  $1 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$  pripremljeni su tako da je na filter-papir mikropipetom dodano 50  $\mu\text{L}$  prethodno pripremljene smjese organske boje i koncentrirane koloidne suspenzije srebra, odnosno zlata. Nakon sušenja tretiranog filter-papira na zraku, snimani su SERS spektri pripremljenog uzorka boje.

## 3.6. Priprava uzoraka za određivanje reproducibilnosti

Za određivanje reproducibilnosti pripremljeni su uzorci boja **MetB** i **RB**,  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ , u svim koloidnim suspenzijama te na obje vrste čvrstih nosača. Tri mjerna uzorka pripremana su na isti način i snimljeni su im SERS spektri. Jednom uzorku boje u koloidnim suspenzijama SERS spektar je snimljen tri puta, dok je kod čvrstih nosača spektar snimljen na tri različita mjesta na nosaču. Za preostala dva uzorka provedeno je samo jedno snimanje.

### 3.7. Mjerni uređaji

Pomoću UV/Vis spektrofotometra SPECORD 200 tvrtke Analytik Jena snimljeni su apsorpcijski spektri uz korištenje kvarcnih kiveta duljine puta zračenja 0,2 cm. Spektri su snimljeni u području 190–1100 nm.

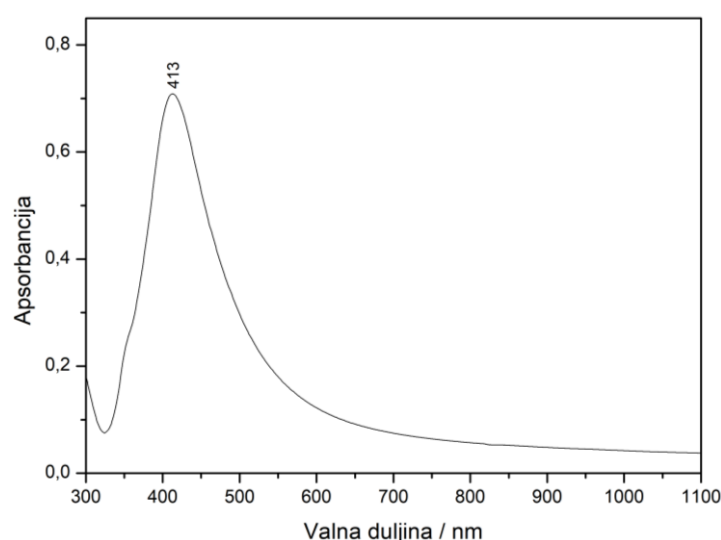
Mettler Toledo MP 220 pH-metar s InLab®413 kombiniranom staklenom–kalomel elektrodom korišten je za mjerenje pH-vrijednosti koloidnih suspenzija. Uređaj je prije mjerenja baždaren s otopinama pufera pH 7,00 i 4,00.

Za snimanje Ramanovih i SERS spektara korišten je konfokalni Ramanov mikroskop/spektrometar *InVia* tvrtke Renishaw opremljen laserima koji emitiraju zračenje pri 532 i 785 nm. Prilikom snimanja spektara, snage lasera mijenjane su ovisno o uzorku. Za snimanje spektara korišten je objektiv povećanja  $\times 5$  ili  $\times 20$ . Tako su svi uzorci za mjerenja Ramanovih spektara i SERS spektara u koloidnim suspenzijama snimani s objektivom povećanja  $\times 5$ , dok su uzorci na čvrstim nosačima snimani pod povećanjem  $\times 20$ . Svi spektri su snimani u području  $100\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$  uz vrijeme ekspozicije od 10 s, prikupljena je jedna akumulacija. Spektri su obrađeni u programu Wire 5.3.

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Karakterizacija koloidne suspenzije srebra

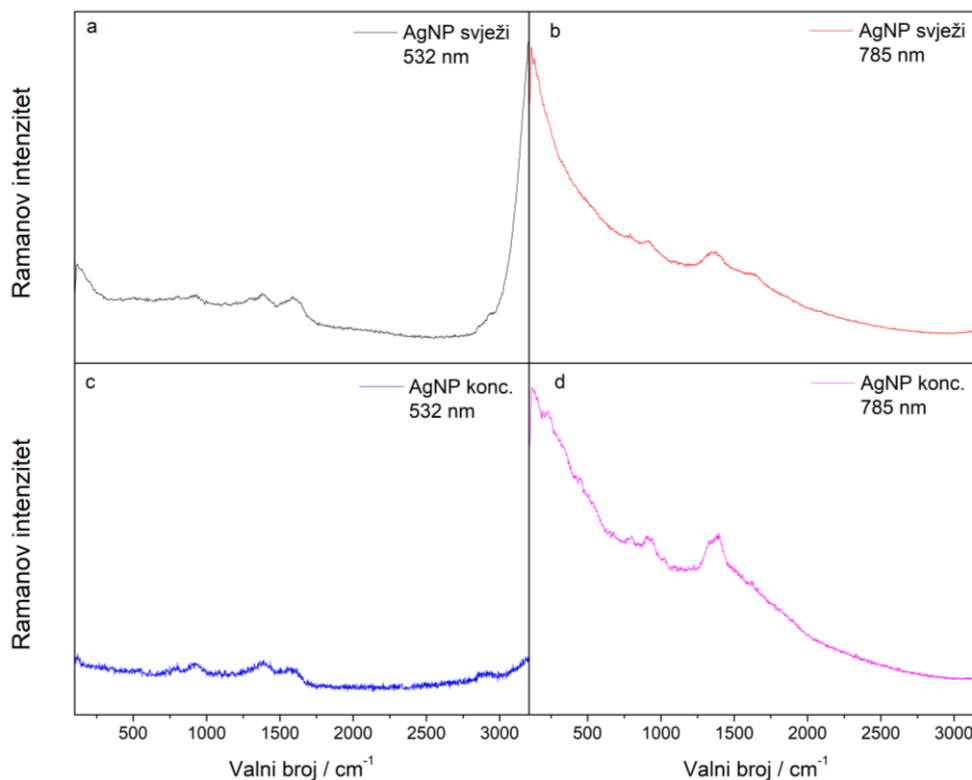
Koloidna suspenzija srebra pripravljena je redukcijom srebrovog nitrata s trinatrijevim citratom. Snimanjem UV/Vis spektra svježe pripremljenog koloida srebra određena je valna duljina maksimalne apsorpcije koja je iznosila 413 nm (slika 7). pH-vrijednost koloida je 6,83 što upućuje na stabilnost koloidne suspenzije.<sup>16,17</sup>



Slika 7. UV/Vis spektar AgNP svježeg koloida

Ramanovi spektri svježe pripremljenog (AgNP\_sveži) i koncentriranog (AgNP\_konc) koloida srebra, snimljeni pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm, prikazani su na slici 8.

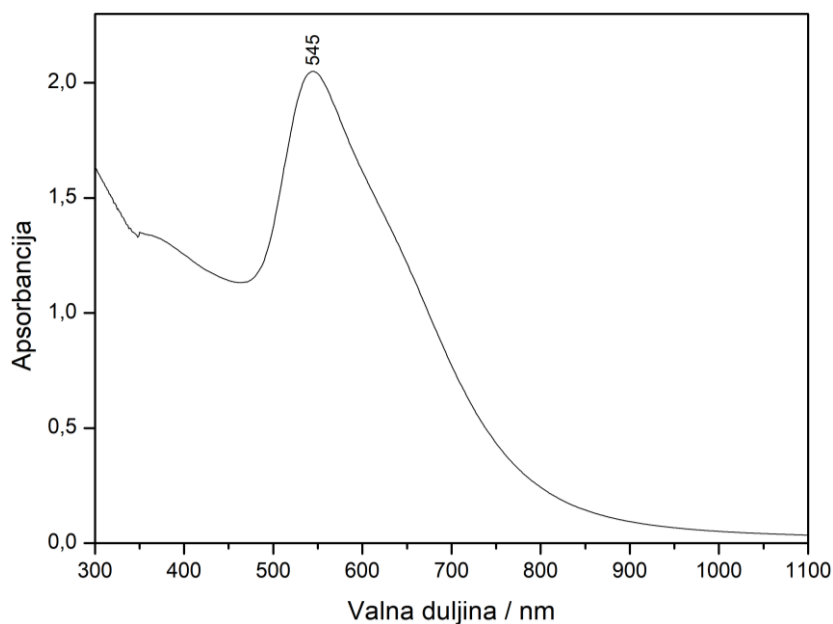
U spektrima svježe pripremljenog, kao i u spektrima koncentriranog koloida srebra uočavaju se široke vrpce oko 900 i 1400  $\text{cm}^{-1}$  koje potječu od vibracija citratnih aniona.<sup>5</sup> Budući da je trinatrijev citrat korišten u sintezi metalnih nanočestica kao reducirajući agens, zaostali citrati nakon redukcije smještaju se na nanočestice srebra i na taj način ih stabiliziraju. U Ramanovim spektrima pri 785 nm vrpce citrata su intenzivnije u spektrima koncentriranog koloida u odnosu na svježe pripremljeni (slika 8.b i 8.d), vrlo vjerojatno zbog povećanja broja nanočestica u jednakom volumenu suspenzije nakon centrifugiranja koloida. Približavanje nanočestica srebra može rezultirati stvaranjem „vrućih točaka“ (engl. *hot spots*) gdje je pojačanje raspršenja zračenja vrlo veliko.<sup>5</sup>



Slika 8. Ramanovi spektri koloidnih suspenzija srebra: a) AgNP\_svježi pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 5 mW, b) AgNP\_svježi pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 30 mW, c) AgNP\_konc pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 5 mW i d) AgNP\_konc pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 30 mW

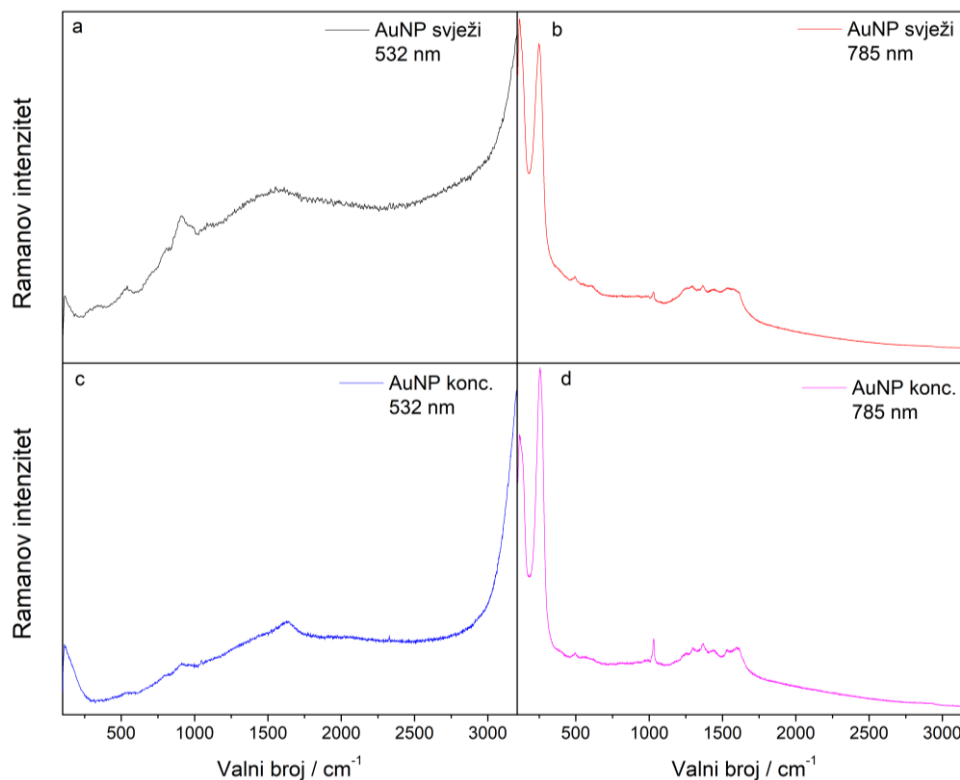
## 4.2. Karakterizacija koloidne suspenzije zlata

Koloidna suspenzija nanočestica zlata pripravljena je iz tetraklorozlatne(III) kiseline pri čemu je kao redukcijsko sredstvo korišten trinatrijev citrat. Apsorpcijski spektar dobivenog koloida prikazan je na slici 9, gdje je jasno vidljiv maksimum na 545 nm. Izmjerena pH-vrijednost suspenzije iznosila je 3,34.



Slika 9. UV/Vis spektar koloidne suspenzije zlata

Snimljeni su Ramanovi spektri svježe pripremljenog (AuNP\_svsježi) i koncentriranog (AuNP\_konc) koloida pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm (slika 10). U Ramanovim spektrima koloida zlata pri pobudi 532 nm (slike 10.a i 10.c) javlja se nekoliko širokih vrpce slabog intenziteta koje odgovaraju vibracijama citratnih aniona. Pobuda pri 785 nm rezultira spektrima zlatnih koloidnih suspenzija u kojima su jasno vidljive anomalne vrpce citratnih iona koje okružuju metalne nanočestice, te njihovih razgradnih, odnosno oksidacijskih produkata.<sup>5</sup> U oba koloida pri pobudi 785 nm najintenzivnije vrpce oko  $250\text{ cm}^{-1}$  odgovaraju istežanju veze Au–O. Vrpce koje potječu od vibracija citratnih aniona javljaju se kod  $1030\text{ cm}^{-1}$  i oko  $1400\text{ cm}^{-1}$ . Široke i slabije definirane vrpce u području  $1400\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$  vrlo vjerojatno potječu od vibracija razgradnih produkata citratnih aniona: acetondikarboksilne i acetoacetatne kiseline.<sup>11,19,20</sup>



Slika 10. Ramanovi spektri koloidnih suspenzija zlata: a) AuNP\_svježi pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 100 mW, b) AuNP\_svježi pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 150 mW, c) AuNP\_konc pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 100 mW i d) AuNP\_konc pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 30 mW

### 4.3. Ramanovi spektri boja

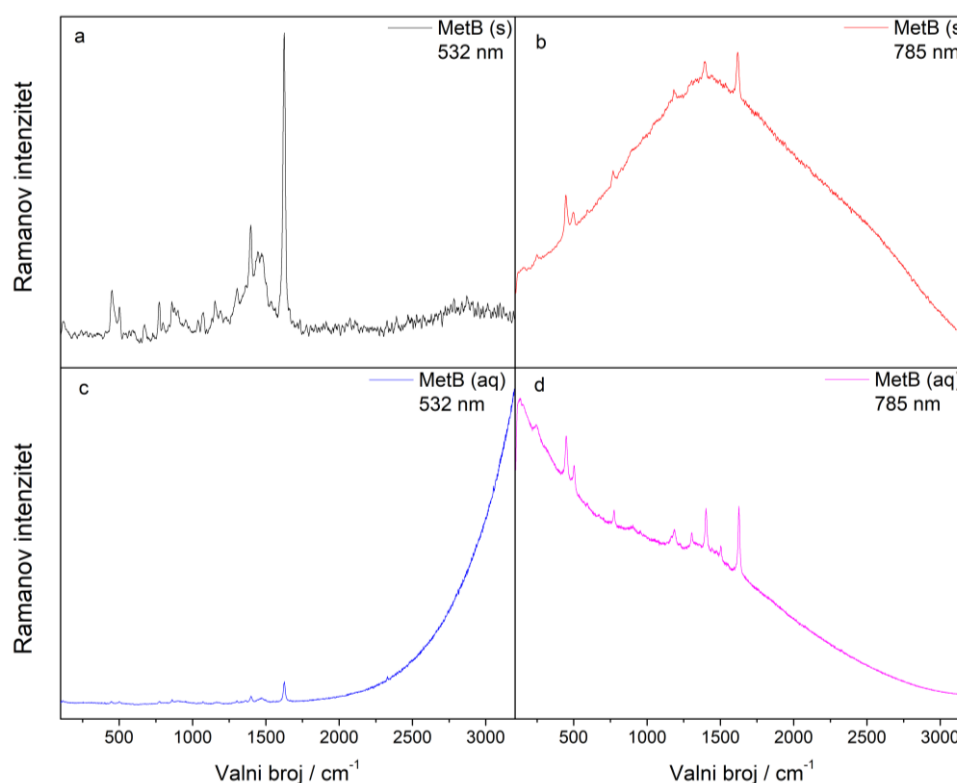
#### 4.3.1. Metilensko modrilo

Snimljeni su Ramanovi spektri čvrstog uzorka boje **MetB** i vodene otopine **MetB** koncentracije  $c = 2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm (slika 11). Opažene vibracijske vrpce asignirane su u tablici 2.

Dobiveni Ramanovi spektri boje **MetB** razlikuju se ovisno o valnoj duljini pobudnog zračenja. Tako je spektar krutine **MetB** kod 532 nm bogat vrpčama od kojih su najvećeg intenziteta vrpce koje potječu od istezanja i deformacija središnjeg fenotiazinskog sustava. Najintenzivnija vrpca kod  $1625 \text{ cm}^{-1}$  odgovara istezanjima CC veza središnjeg aromatskog sustava, dok većina intenzivnih vrpca između  $1390$  i  $1500 \text{ cm}^{-1}$  potječe od istezanja CC i svijanja C–H veza fenotiazinskog sustava.<sup>20-22</sup> Vrpce u području nižih valnih brojeva rezultat

su vibracija svijanja C–H veza fenotiazina i aminometilenskih skupina (tablica 2). Vrpca kod  $500\text{ cm}^{-1}$  potječe od svijanja CNC dimetilamino skupine, dok se vrpca oko  $450\text{ cm}^{-1}$  pripisuje deformaciji fenotiazinskog sustava.<sup>20</sup>

Spektar krutine **MetB** snimljen pobudom pri 785 nm sadrži samo nekoliko vrpce koje odgovaraju vibracijskim modovima metilenskog modrila (tablica 2) i odgovaraju istežnim vibracijama te deformacijama središnjeg aromatskog sustava. Bazna linija je uzdignuta zbog fluorescencije uzorka.



Slika 11. Ramanovi spektri: a) čvrstog uzorka **MetB** pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 1 mW, b) čvrstog uzorka **MetB** pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 3 mW, c) otopine **MetB** ( $c = 2 \times 10^{-3}\text{ mol dm}^{-3}$ ) pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 10 mW i d) otopine **MetB** ( $c = 2 \times 10^{-3}\text{ mol dm}^{-3}$ ) pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 150 mW

SERS spektar vodene otopine metilenskog modrila koncentracije  $c = 2 \times 10^{-3}\text{ mol dm}^{-3}$  snimljen pri pobudi 532 nm pokazuje jako slabe vrpce, od kojih je jasno vidljiva samo vrpca CC istežanja veza u aromatskom sustavu kod  $1628\text{ cm}^{-1}$ . Za razliku od SERS spektra pri 532 nm, spektar otopine **MetB** snimljen pobudom pri 785 nm rezultira većim brojem vrpce čija



asignacija je dana u tablici 2. Kao i u spektru krutine, najintenzivnije vrpce pri 1627, 1400 i 450  $\text{cm}^{-1}$  potječu od vibracijskih modova fenotiazina.

Tablica 2. Asignacija Ramanovih spektara čvrstog uzorka **MetB** i otopine **MetB** ( $c = 2 \times 10^{-3}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ ) pri valnim duljinama pobude 532 i 785  $\text{nm}^{20-22}$

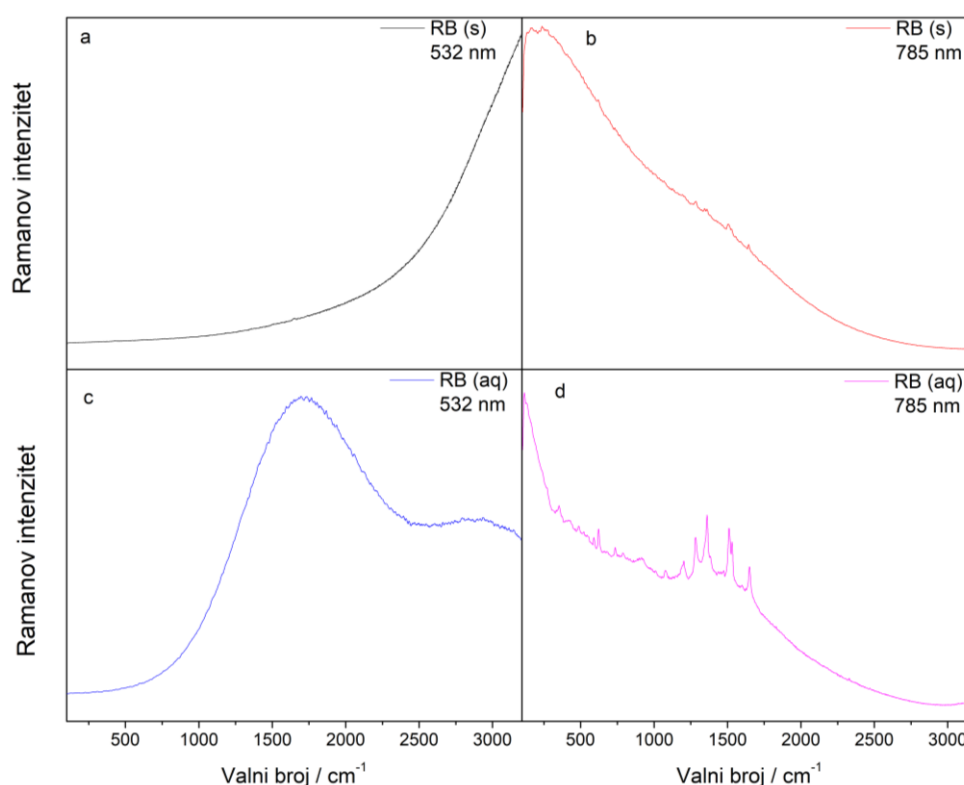
Valni broj / $\text{cm}^{-1}$				Vibracija
$\lambda = 532 \text{ nm}$		$\lambda = 785 \text{ nm}$		
Čvrsti uzorak	Otopina	Čvrsti uzorak	Otopina	
1620	1628	1615	1627	$\nu$ CC (ft)
			1504	$\nu$ CC (ft), $\delta$ CH <sub>3</sub>
1471				$\delta$ CH <sub>3</sub> , $\nu$ CC (ft)
1414				$\nu$ C–N (dma)
1399	1399	1393	1400	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ft)
1304			1304	$\nu$ C–N (ft)
		1180	1187	$\nu$ C–N (dma)
1149				$\delta$ CH (ft)
1073	1071			$\nu$ C–N (dma)
1034				$\delta$ CH (ft)
855	859			$\delta$ C–S–C (ft)
774	774		777	$\delta_{\text{oop}}$ CH (ft)
673				$\delta_{\text{oop}}$ CH (ft)
501		497	502	$\delta$ CNC (dma)
450		445	450	$\delta$ CNC (ft)

Kratice:  $\nu$  – istežanje,  $\delta$  – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ft) – fenotiazin, (dma) – dimetilamino.

## 4.3.2. Rodamin B

Snimljeni su Ramanovi spektri čvrstog uzorka **RB** i otopine **RB** ( $c = 2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri 532 i 785 nm (slika 12) te su asignirane dobivene vrpce (tablica 3).

Ramanovi spektri **RB** razlikuju se ovisno o valnoj duljini pobudnog zračenja. Pri snimanju spektra čvrstog uzorka pobudnim zračenjem valne duljine 532 nm nije bilo moguće detektirati signal, koji je pri većoj snazi lasera uzrokovao zasićenje detektora, dok je pri manjoj snazi lasera potpuno izostao (slika 12.a). U spektru otopine **RB**, prikazanom na slici 12.c, pri istoj valnoj duljini pobude, također nisu uočene vrpce koje bi odgovarale vibracijama spoja, već široka vrpca fluorescencije **RB** koja prekriva čitavo spektralno područje. Opisano se pripisuje svojstvima apsorpcije i emisije zračenja organske boje. **RB** apsorbira zračenje pri 555 nm (slika D1), nakon čega intenzivno fluorescira.<sup>23</sup> S obzirom da je valna duljina pobude, 532 nm, blizu valnoj duljini maksimuma apsorpcije **RB**, pobuđuju se elektronski prijelazi u molekuli i odgovarajući procesi, koji otežavaju detekciju Ramanovog raspršenja.



Slika 12. Ramanovi spektri: a) čvrstog uzorka **RB** pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,1 mW, b) čvrstog uzorka **RB** pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,3  $\mu\text{W}$ , c) otopine **RB** ( $c = 2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,1  $\mu\text{W}$  i d) otopine **RB** ( $c = 2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 150 mW

Ramanovi spektri čvrstog uzorka **RB** i otopine **RB** pri 785 nm prikazani su na slici 12.b i 12.d. U spektru krutine **RB** javljaju se vrlo slabe vrpce u području 1280–1650  $\text{cm}^{-1}$  koje potječu od istežnih CC vibracija ksantenskog sustava (tablica 3). Podignuta bazna linija rezultat je fluorescencije rodaminske boje.

U Ramanovom spektru otopine **RB** koncentracije  $c = 2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  opažaju se vrpce istežanja CC veze ksantenskog sustava pri 1357, 1507 i 1651  $\text{cm}^{-1}$ , dok svijanje metilne skupine rezultira vrpcom pri 1077  $\text{cm}^{-1}$ . Vrpce deformacija C–H veza središnjeg aromatskog sustava smještene su na 1204 i 734  $\text{cm}^{-1}$ , dok je vrpca pri 1278  $\text{cm}^{-1}$  rezultat istežanja veza C–O–C iz ksantenskog sustava. Vrpce ispod 700  $\text{cm}^{-1}$  potječu od vibracija i torzija čitave molekule.<sup>23-27</sup>

Tablica 3. Asignacija Ramanovih spektara čvrstog uzorka **RB** i otopine **RB** ( $c = 2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) pri valnoj duljini pobude 785  $\text{nm}$ <sup>23-27</sup>

Valni broj / $\text{cm}^{-1}$		Vibracija
$\lambda = 785 \text{ nm}$		
Čvrsti uzorak	Otopina	
1646	1651	v CC (ar)
	1531	v CC (ks)
1503	1507	v CC (ks), $\delta \text{ CH}_3$
1361	1357	v CC (ks)
1285	1278	v C–O–C (ks)
	1204	$\delta_{\text{ip}} \text{ CH (ks)}$
	1077	$\delta \text{ CH (CH}_3\text{)}$
	734	$\delta_{\text{oop}} \text{ CH (ks)}$
	621	$\delta \text{ prsten (ks)}$
	588	$\delta \text{ prsten (ks)}$
	488	$\delta \text{ prsten (ks)}$
	351	$\delta \text{ prsten (ks)}$

Kratice: v – istežanje,  $\delta$  – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ks) – ksanten, (ar) – aromati.

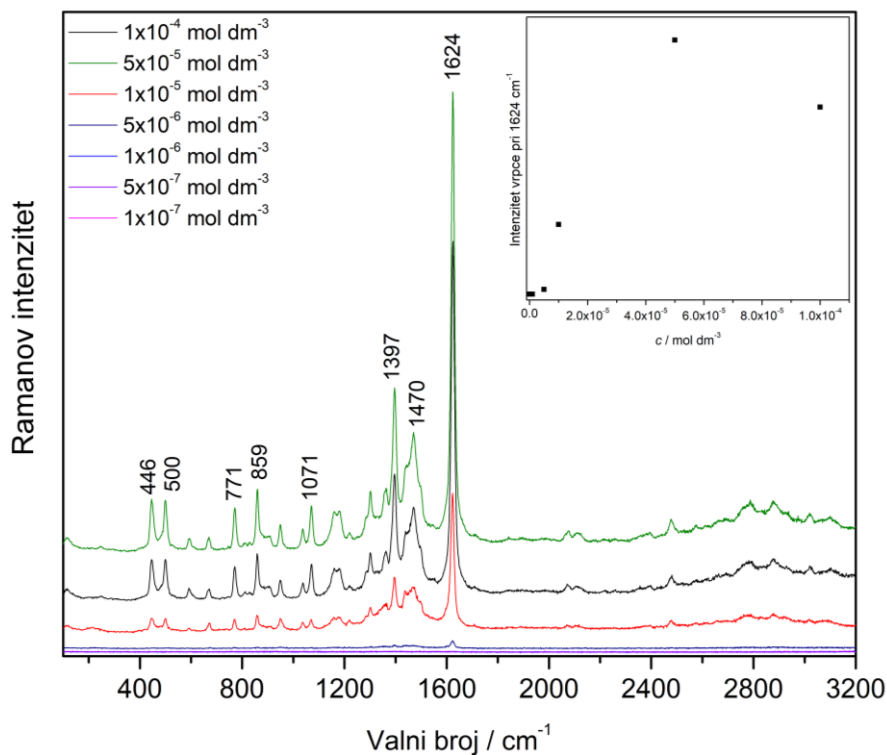
#### 4.4. Koncentracijski ovisni SERS spektri

U svrhu ispitavanja učinkovitosti pripremljenih SERS supstrata srebra i zlata, snimljeni su SERS spektri otopina **MetB** i **RB** različitih koncentracija u koloidnim suspenzijama i na čvrstim nosačima pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm.

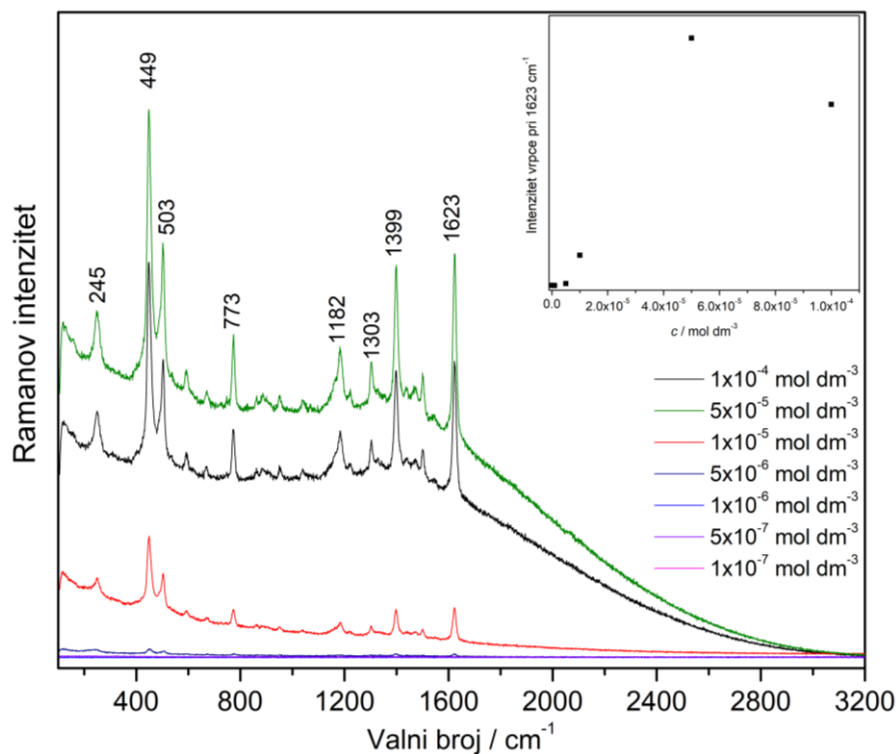
##### 4.4.1. Svježe pripravljena koloidna suspenzija srebra

Snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri **MetB** u svježe pripremljenom koloidu srebra pri 532 nm (slika 13) i 785 nm (slika 14).

Nanočestice srebra u koloidnoj suspenziji AgNP<sub>svježi</sub> okružene su negativno nabijenim citratnim ionima. Dodatkom boje u koloid, citratni anioni elektrostatski privlače pozitivno nabijene molekule **MetB**. Kada se molekule boje približe metalnoj površini, dolazi do pojačanja raspršenja zračenja. Intenzitet površinski pojačanog raspršenog zračenja ovisi o koncentraciji boje u koloidnoj suspenziji, ali se ne povećava linearno s porastom koncentracije. Na to jasno ukazuje ovisnost intenziteta vrpce pri  $1624\text{ cm}^{-1}$ , koja odgovara istezanju CC veze središnjeg fenotiazinskog sustava, o koncentraciji boje **MetB** u mjernim uzorcima pri obje valne duljine pobude, prikazana kao umetci na slikama 13 i 14. Vidljivo je da najveće raspršenje ne daje uzorak boje najveće koncentracije, već sljedeće niže koncentracije ( $5 \times 10^{-5}\text{ mol dm}^{-3}$ ). Zapaženo se može objasniti različitim smještanjem molekula **MetB** na površini metala. Intenzitet vrpce u SERS spektrima ovisi o položaju analita na metalnom supstratu, pri čemu se najveće pojačanje raspršenja zračenja zapaža za molekule orijentirane okomito na površinu metala.<sup>3</sup> Pri visokim koncentracijama boje, velik broj molekula **MetB** je „gusto“ poslagan i smješten pod određenim kutem prema površini koloidnih nanočestica što rezultira slabijim raspršenjem zračenja. Smanjenjem koncentracije, manji broj molekula boje lakše zauzima optimalan okomit položaj prema nanočesticama srebra uslijed čega se maksimalno pojačava Ramanovo raspršenje. Daljnjim smanjenjem koncentracije, u mjernom sustavu je prisutan sve manji broj molekula analita koje se na različite načine mogu orijentirati prema površini srebra, pod određenim kutem ili čak paralelno, što ne doprinosi pojačanju raspršenja. Granica detekcije za **MetB** u svježe pripremljenom koloidu srebra, pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm, iznosi  $c = 5 \times 10^{-6}\text{ mol dm}^{-3}$ , s obzirom da je to najmanja koncentracija za koju je opažen SERS spektar boje. SERS spektri nižih koncentracija analita odgovaraju Ramanovim spektrima svježe pripravljene koloidne suspenzije srebra.



Slika 13. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija u svježe pripremljenom koloidu srebra, AgNP\_svježi, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,5 mW



Slika 14. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija u svježe pripremljenom koloidu srebra, AgNP\_svježi, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,15 mW

U tablici 4 prikazana je asignacija vrpci otopina **MetB** koncentracija  $c = 5 \times 10^{-5}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  i  $c = 5 \times 10^{-6}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ .

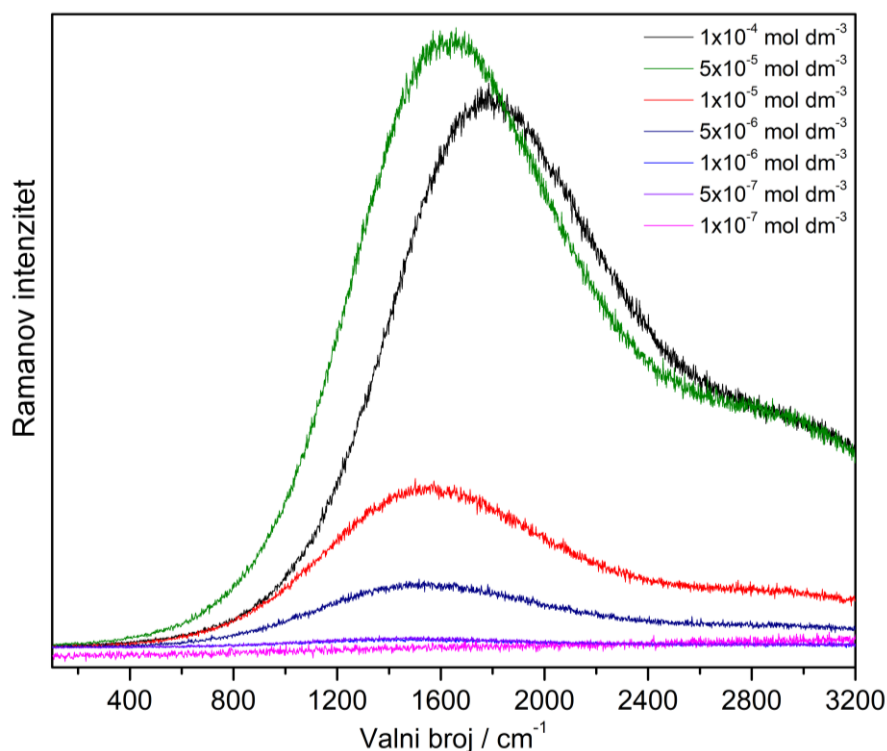
Tablica 4. Asignacija osnovnih vrpci u SERS spektrima **MetB** različitih koncentracija u koloidu AgNP\_sveži, pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm<sup>20-22,28</sup>

Valni broj / $\text{cm}^{-1}$				Vibracija
$\lambda = 532 \text{ nm}$		$\lambda = 785 \text{ nm}$		
$c = 5 \times 10^{-5}$ mol $\text{dm}^{-3}$	$c = 5 \times 10^{-6}$ mol $\text{dm}^{-3}$	$c = 5 \times 10^{-5}$ mol $\text{dm}^{-3}$	$c = 5 \times 10^{-6}$ mol $\text{dm}^{-3}$	
1624	1625	1623	1623	$\nu$ CC (ft)
		1500		$\nu$ CC (ft), $\delta$ CH <sub>3</sub>
1470	1470			$\delta$ CH <sub>3</sub> , $\nu$ CC (ft)
1397	1398	1399	1400	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ft)
1364	1366			$\delta$ CNC (dma)
1302	1302	1303		$\nu$ C–N (ft)
1182		1182		$\nu$ C–N (dma)
1153				$\delta_{\text{ip}}$ CH (ft)
1071				$\nu$ C–N (dma)
1037		1047		$\delta_{\text{ip}}$ CH (ft)
949		952		$\delta$ prsten (ft), $\delta$ C–S–C (ft)
859				$\delta$ C–S–C (ft)
771		773		$\delta_{\text{oop}}$ CH (ft)
670		672		$\delta_{\text{oop}}$ CH (ft)
594		593		$\delta$ prsten (ft), $\delta$ CNC (dma)
500		503	506	$\delta$ CNC (dma)
446		449	450	$\delta$ CNC (ft)
245w		245		$\nu$ Ag–N

Kratice:  $\nu$  – istezanje,  $\delta$  – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ft) – fenotiazin, (dma) – dimetilamino, w – slaba.

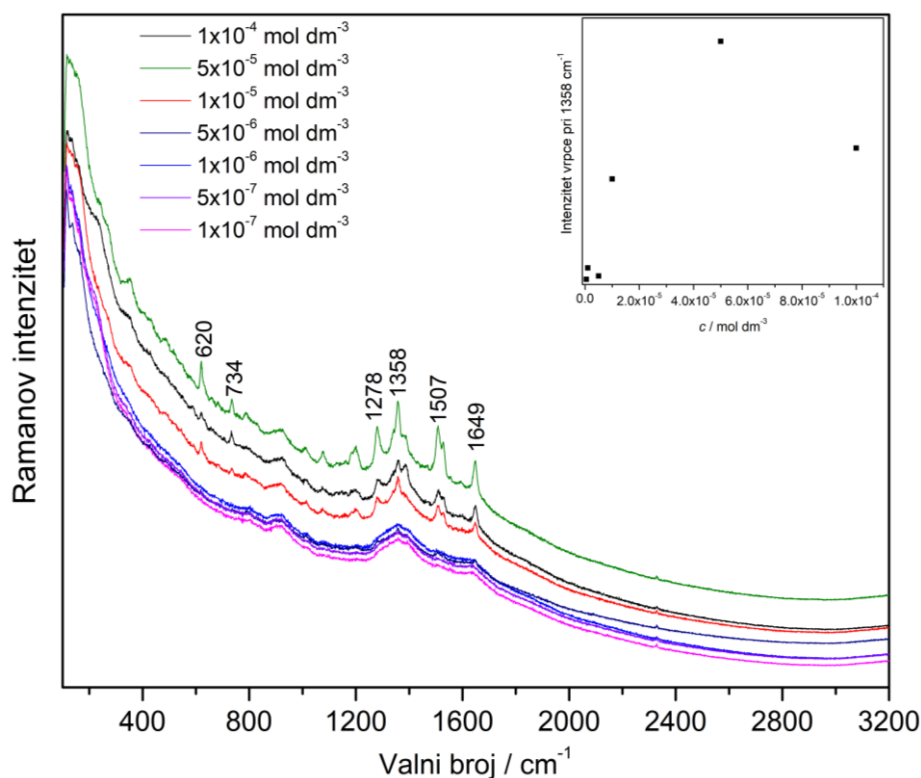
Snimljeni su SERS spektri otopina **RB** u koncentracijskom području  $1 \times 10^{-7}$ – $1 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> u svježe pripremljenom koloidu srebra pri pobudi 532 (slika 15) i 785 nm (slika 16).

Pri valnoj duljini pobude 532 nm u koncentracijski ovisnim SERS spektrima **RB** nisu uočene vibracijske vrpce rodaminske boje, već samo široka vrpca fluorescencije koja prekriva Ramanovo raspršenje. Kao što je ranije navedeno, valna duljina pobudnog zračenja 532 nm je vrlo blizu valnoj duljini apsorpcije rodamina B ( $\lambda_{\text{max}} = 555$  nm) i energija pobudnog zračenja uzrokuje elektronske prijelaze što rezultira apsorpcijom i fluorescencijom zračenja u spektru.



Slika 15. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija u svježe pripremljenom koloidu srebra, AgNP\_sveži, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,1 μW

U SERS spektrima otopina **RB** različitih koncentracija u koloidu AgNP\_sveži pri pobudi 785 nm (slika 16) uočene su vibracijske vrpce rodamina B i njihova asignacija je prikazana u tablici 5. U spektrima dominiraju vrpce vibracije ksantenskog sustava, i to istežanje aromatskih CC veza pri 1649, 1507 i 1358 cm<sup>-1</sup>, istežanje C–O–C veze pri 1278 cm<sup>-1</sup> i deformacija izvan ravnine aromatskih CH skupina (734 cm<sup>-1</sup>).<sup>23–28</sup>



Slika 16. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija u svježe pripremljenom koloidu srebra, AgNP\_svjjež, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 300 mW

Intenzitet vrpce u koncentracijski ovisnim SERS spektrima spoja **RB** ne mijenja se linearno s promjenom koncentracije, što je jasno vidljivo na slici 16. Iz prikaza ovisnosti intenziteta vrpce aromatskog istežanja ksantena pri  $1358\text{ cm}^{-1}$  o promjeni koncentracije otopina **RB** (umetak na slici 16) vidljivo je da u svježe pripremljenom koloidu srebra najintenzivnije raspršuje zračenje otopina rodamina B koncentracije  $5 \times 10^{-5}\text{ mol dm}^{-3}$ . Kao što je navedeno kod ranije prikazanih SERS spektara otopina metilenskog modrila, pretpostavlja se da se molekule **RB** u otopinama veće i manje koncentracije od optimalne slažu pod kutem prema površini srebra, što rezultira slabijim pojačanjem Ramanova raspršenja. Kod koncentracije boje u čijem SERS spektru se javljaju najintenzivnije vrpce, molekule **RB** su okomito složene na površini. Kod takvog slaganja molekula promjena polarizabilnosti je najveća, stoga je i pojačanje raspršenja zračenja maksimalno. Granica detekcije za rodamin B u koloidu AgNP\_svjjež iznosi  $1 \times 10^{-5}\text{ mol dm}^{-3}$ .



Tablica 5. Asignacija osnovnih vrpca u SERS spektrima **RB** različitih koncentracija u koloidu AgNP\_svježi, pri valnoj duljini pobude 785 nm<sup>23-28</sup>

Valni broj / cm <sup>-1</sup>		Vibracija
<i>c</i> = 5×10 <sup>-5</sup> mol dm <sup>-3</sup>	<i>c</i> = 1×10 <sup>-5</sup> mol dm <sup>-3</sup>	
1649	1649	v CC (ar)
1528	1528	v CC (ks)
1507	1507	v CC (ks), δ CH <sub>3</sub>
1358	1357	v CC (ks)
1278	1275	v C–O–C (ks)
1201		δ <sub>ip</sub> CH (ks)
1075		δ CH (CH <sub>3</sub> )
	1046	v CH (e)
734		δ <sub>oop</sub> CH (ks)
620	620	δ prsten (ks)
	245	v Ag–O / v Ag–N

Kratice: v – istezanje, δ – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (e) – etil, (ks) – ksanten, (ar) – aromat.

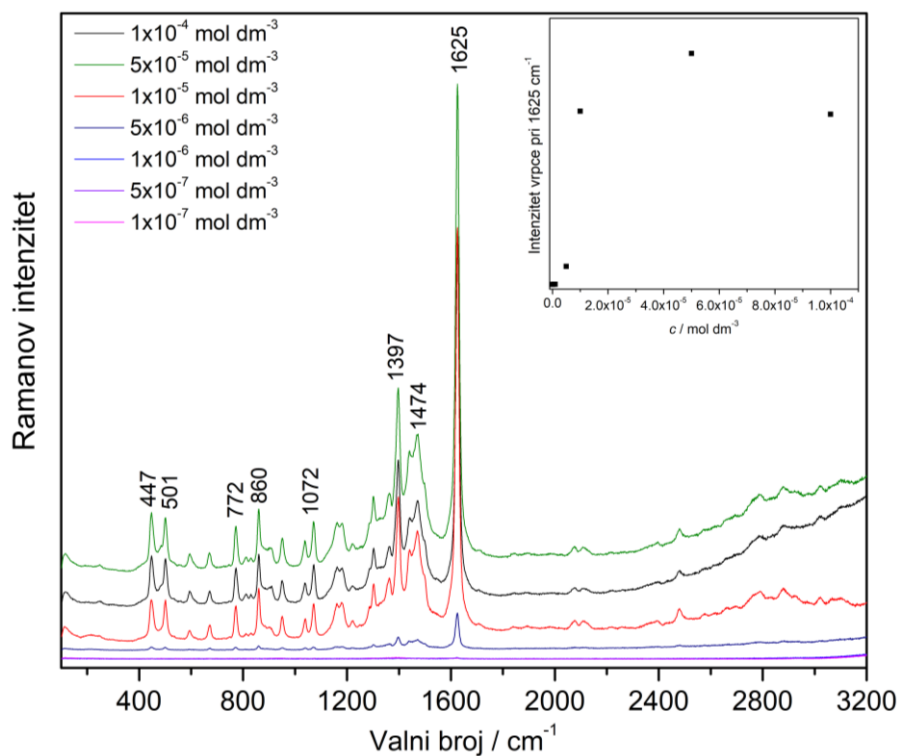
#### 4.4.2. Koncentrirana koloidna suspenzija srebra

Koncentracijski ovisni SERS spektri spoja **MetB** u koncentriranom koloidu srebra, pri pobudama 532 i 785 nm, prikazani su na slikama 17 i 18. Koncentrirana koloidna suspenzija srebra priprema se centrifugiranjem svježe pripremljenog koloida. Na taj način se povećava broj metalnih nanočestica u odnosu na broj nanočestica u istom volumenu svježeg koloida te se uklanja suvišak citratnih aniona, koji inače stabiliziraju nanočestice, čime se omogućava spontana agregacija nanočestica i stvaranje „vrućih točaka“ u kojima je pojačanje raspršenja zračenja vrlo intenzivno. Kao rezultat navedenog, u SERS spektrima **MetB** u AgNP\_konc uočen je velik broj vrpca koje nisu bile vidljive u spektrima **MetB** u koloidu AgNP\_svježi.

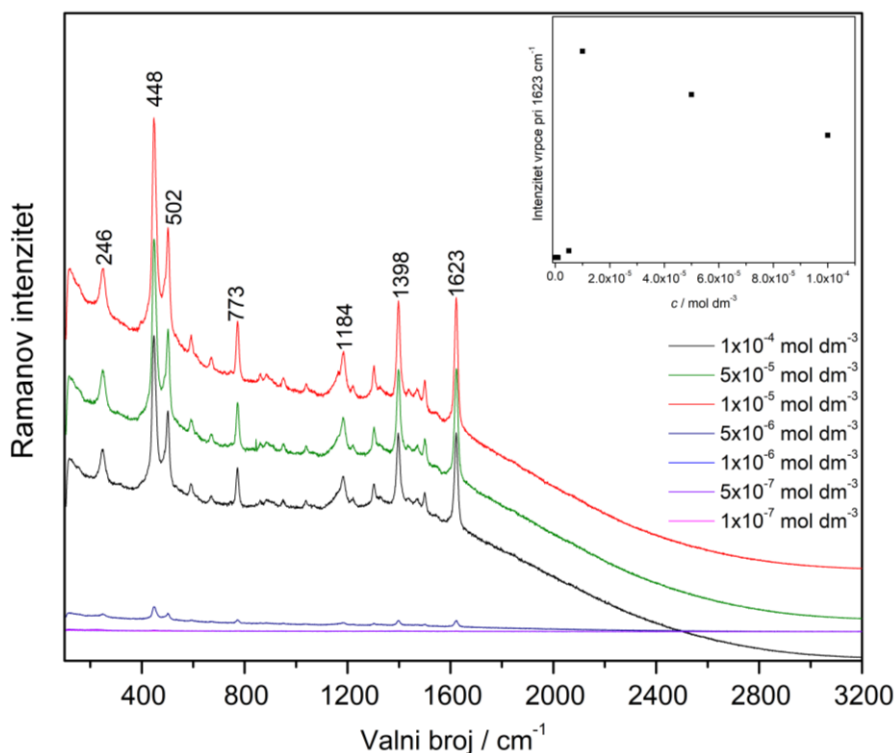
SERS spektri otopina **MetB** u koncentriranom koloidu srebra prate trend nelinearne ovisnosti intenziteta vrpce pri 1625 cm<sup>-1</sup> o koncentraciji **MetB** u mjernom uzorku (umetci na slikama 17 i 18), koji je već zapažen kod koloida AgNP\_svježi. Najniža koncentracija spoja **MetB** za koju je opažen spektar iznosi 5×10<sup>-6</sup> mol dm<sup>-3</sup>.

U tablici 6 prikazana je asignacija vibracijskih vrpce **MetB** koncentracija  $c = 5 \times 10^{-5}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  i  $c = 5 \times 10^{-6}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ , u koncentriranom koloidu srebra.

Pri obje valne duljine pobude najintenzivnije vrpce potječu od vibracija središnjeg fenotiazinskog sustava. Tako vrpce na 1625 i 1397  $\text{cm}^{-1}$  (pri pobudi 532 nm), odnosno 1623 i 1398  $\text{cm}^{-1}$  (pri pobudi 785 nm) odgovaraju aromatskom CC istežanju, odnosno svijanju C–H veza fenotiazina u ravnini. Kod pobude pri 532 nm javlja se srednje intenzivna vrpca pri 1474  $\text{cm}^{-1}$  kojoj doprinosi vibracija svijanja metilne skupine te istežanje središnjeg aromatskog sustava. Vibracije dimetilamino skupina vezanih na središnji aromatski sustav javljaju se u spektrima kao istežanje C–N veze pri 1072  $\text{cm}^{-1}$  i deformacija CNC skupine pri 1361 i 501  $\text{cm}^{-1}$ . Nakon pobude SERS uzoraka **MetB** zračenjem pri 785 nm (slika 18), osim intenzivnih vrpce fenotiazinskog sustava pri 1623, 1398, 773 i 448  $\text{cm}^{-1}$ , u spektru su jasno vidljive i vrpce srednjeg intenziteta pri 1184 i 502  $\text{cm}^{-1}$  koje odgovaraju vibracijskim modovima dimetilamino skupine. Uzdignuta bazna linija posljedica je fluorescencije molekula metilenskog modrila. Smanjenje koncentracije boje u mjernim sustavima ne rezultira značajnim pomacima niti promjenom omjera intenziteta postojećih vrpce, što ukazuje samo na male promjene orijentacije molekula **MetB** na površinu srebra. Najveće promjene intenziteta u SERS spektrima zamijećene su za vrpce fenotiazinskog sustava, koje su i najintenzivnije u spektrima. Njihov intenzitet zamjetno pada sa smanjenjem koncentracije, dok se intenzitet vrpce dimetilamino skupina vrlo malo mijenja. Može se pretpostaviti da se molekule **MetB** adsorbiraju na nanočestice srebra na način da je planarni fenotiazinski sustav okomit na površinu metala (kod optimalne koncentracije), dok je aromatski sustav pod kutem pri koncentracijama nižim i višim od optimalne.



Slika 17. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija u koncentriranom koloidu srebra, AgNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,5 mW



Slika 18. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija u koncentriranom koloidu srebra, AgNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,15 mW

Tablica 6. Asignacija osnovnih vrpci u SERS spektrima **MetB** različitih koncentracija u koloidu AgNP\_konc, pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm<sup>20-22, 28</sup>

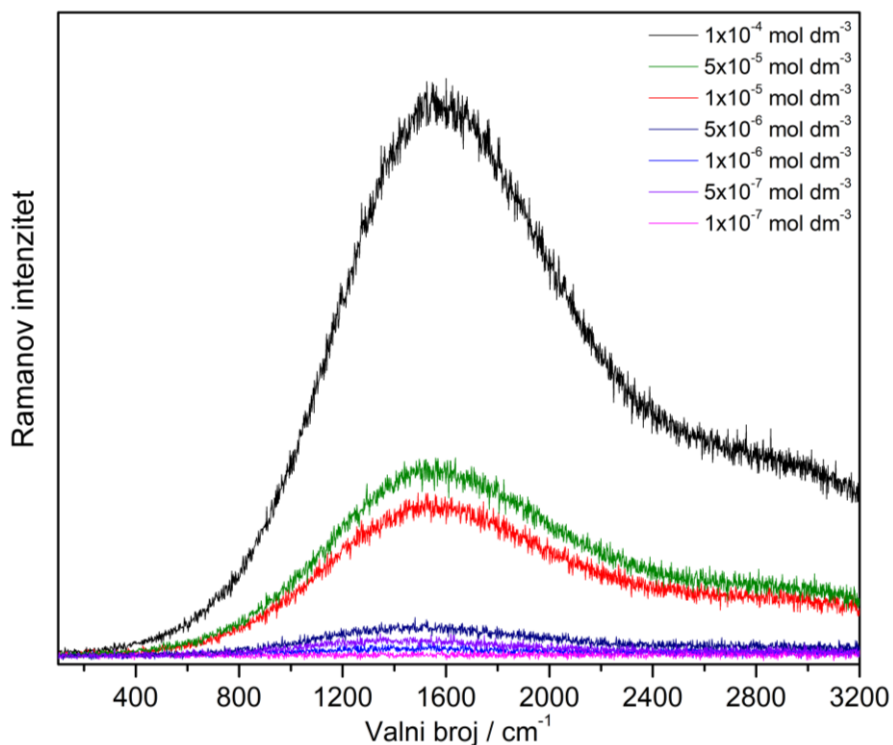
Valni broj / $\text{cm}^{-1}$				Vibracija
$\lambda = 532 \text{ nm}$		$\lambda = 785 \text{ nm}$		
$c = 5 \times 10^{-5}$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c = 5 \times 10^{-6}$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c = 5 \times 10^{-5}$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c = 5 \times 10^{-6}$ $\text{mol dm}^{-3}$	
1625	1625	1623	1623	v CC (ft)
		1501		v CC (ft), $\delta$ CH <sub>3</sub>
1474		1470		$\delta$ CH <sub>3</sub> , v CC (ft)
1438		1435		v CC (ft)
1397	1398	1398	1399	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ft)
1361				$\delta$ CNC (dma)
1302		1302		v C–N (ft)
1184		1184		v C–N (dma)
1159				$\delta_{\text{ip}}$ CH (ft)
1072				v C–N (dma)
1038		1040		$\delta_{\text{ip}}$ CH (ft)
951		949		$\delta$ prsten (ft), $\delta$ C–S–C (ft)
		885		$\delta_{\text{oop}}$ CH (ft)
860		862		$\delta$ C–S–C (ft)
772		773	772	$\delta_{\text{oop}}$ CH (ft)
671		671		$\delta_{\text{oop}}$ CH (ft)
594		592		$\delta$ prsten (ft), $\delta$ CNC (dma)
501		502	501	$\delta$ CNC (dma)
447		448	447	$\delta$ CNC (ft)
245w		246		v Ag–N

Kratice: v – istezanje,  $\delta$  – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ft) – fenotiazin, (dma) – dimetilamino, w – slaba.

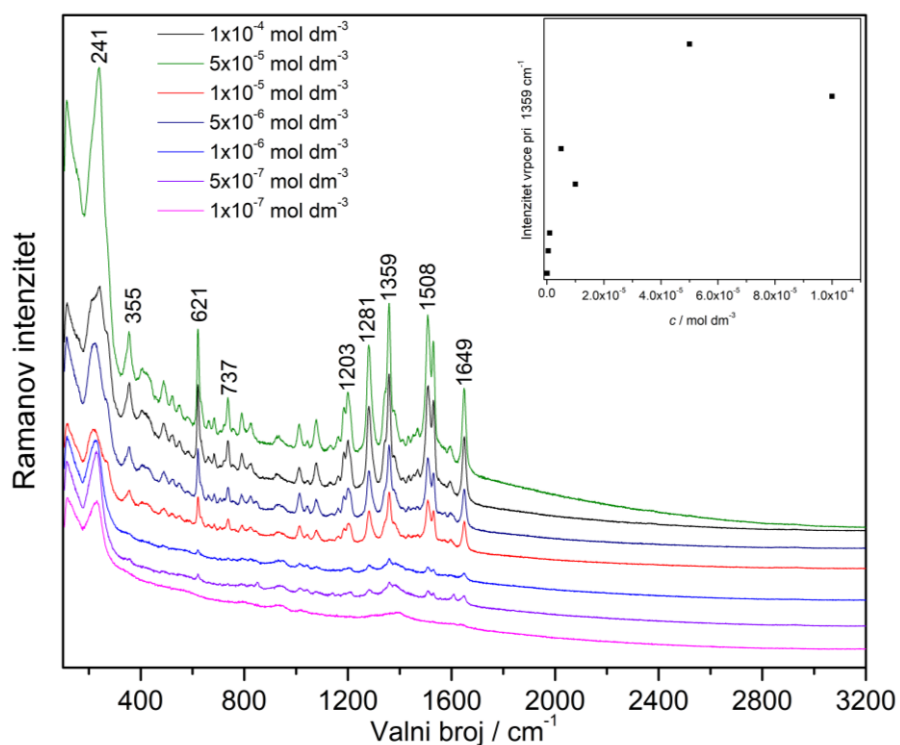
SERS spektri otopina rodamina B različitih koncentracija ( $1 \times 10^{-7}$ – $1 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup>) u koncentriranom koloidu srebra, snimljeni pri pobudama 532 i 785 nm, prikazani su na slikama 19 i 20.

U SERS spektru **RB**, snimljenom pri 532 nm, fluorescencija prekriva cijeli spektar i nisu zamijećene karakteristične vrpce boje. Lasersko pobudno zračenje pri 785 nm rezultira mnoštvom vrpca u koncentracijski ovisnim SERS spektrima rodamina B. Velik broj novih vrpca, koje nisu zamijećene u spektru svježe pripremljenog koloida srebra, navodi na zaključak da je AgNP\_konc optimalniji supstrat za dobivanje SERS spektara boja, što je i očekivano s obzirom na mogućnost agregacije i stvaranja područja jakog pojačanja Ramanovog raspršenja. Detaljna asignacija vrpca, od kojih ponovno najintenzivnije vrpce u spektru odgovaraju vibracijama ksantenskog sustava, prikazana je u tablici 7 za koncentracije **RB**  $c = 5 \times 10^{-5}$  mol dm<sup>-3</sup> i  $c = 5 \times 10^{-6}$  mol dm<sup>-3</sup>. Vidljivo je da većina novih vrpca odgovara vibracijama ksantena, što upućuje da se upravo ksantenski prsten slaže okomito prema površini metala.

Umetak na slici 20 jasno pokazuje prethodno opisanu ovisnost intenziteta vrpce istežanja središnjeg aromatskog sustava o promjeni koncentracije **RB** u mjernom uzorku. Granica detekcije boje **RB** u supstratu AgNP\_konc je  $c = 5 \times 10^{-7}$  mol dm<sup>-3</sup>.



Slika 19. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija u koncentriranom koloidu srebra, AgNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,1  $\mu\text{W}$



Slika 20. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija u koncentriranom koloidu srebra, AgNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 30 mW

Tablica 7. Asignacija osnovnih vrpca u SERS spektrima **RB** različitih koncentracija u koloidu AgNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 785 nm<sup>23-28</sup>

Valni broj / $\text{cm}^{-1}$		Vibracija
$c = 5 \times 10^{-5}$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c = 5 \times 10^{-6}$ $\text{mol dm}^{-3}$	
1649	1650	$\nu$ CC (ar)
1595		$\nu$ CC (ks)
1531	1530	$\nu$ CC (ks)
1508	1508	$\nu$ CC (ks), $\delta$ CH <sub>3</sub>
1385		$\nu$ CC (ar)
1359	1359	$\nu$ CC (ks)
1281	1281	$\nu$ C–O–C (ks)
1203	1202	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ks)
1188		$\delta_{\text{ip}}$ CH (ks)
1077	1077	$\delta$ CH (CH <sub>3</sub> )
1012	1014	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ks)
923		$\delta$ CCC (ks)
790		$\delta_{\text{oop}}$ CH (ks)
737	738	$\delta_{\text{oop}}$ CH (ks)
684		$\delta_{\text{oop}}$ CH (ks)
665		$\delta_{\text{oop}}$ CH (ks)
621	621	$\delta$ prsten (ks)
551		$\delta$ prsten (ks)
520		$\delta$ prsten (ks)
487	490	$\delta$ prsten (ks)
355	355	$\delta$ prsten (ks)
241	240	$\nu$ Ag–O / $\nu$ Ag–N

Kratice:  $\nu$  – istezanje,  $\delta$  – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ks) – ksanten, (ar) – aromat.

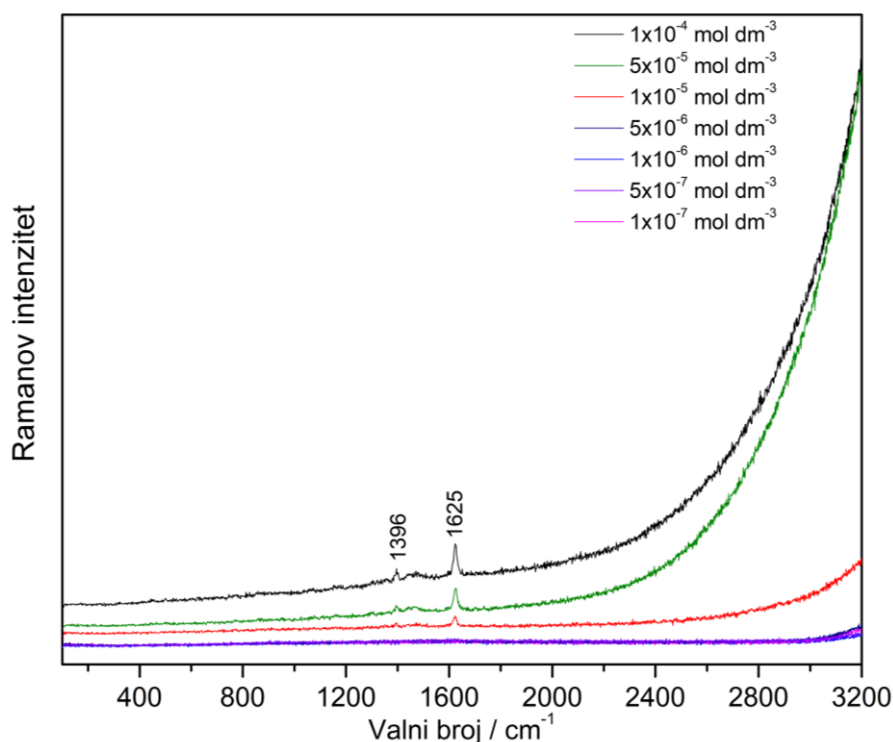
#### 4.4.3. Svježe pripravljena koloidna suspenzija zlata

SERS spektri otopina **MetB** koncentracija  $1 \times 10^{-7}$ – $1 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup> snimljeni su u svježe pripremljenom koloidu zlata pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm (slike 21 i 22). Koloidne nanočestice zlata okružene su negativnim citratnim ionima i elektrostatski privlače pozitivno nabijene molekule analita, pri čemu se one približavaju površini metala što dovodi do nastanka SERS signala.

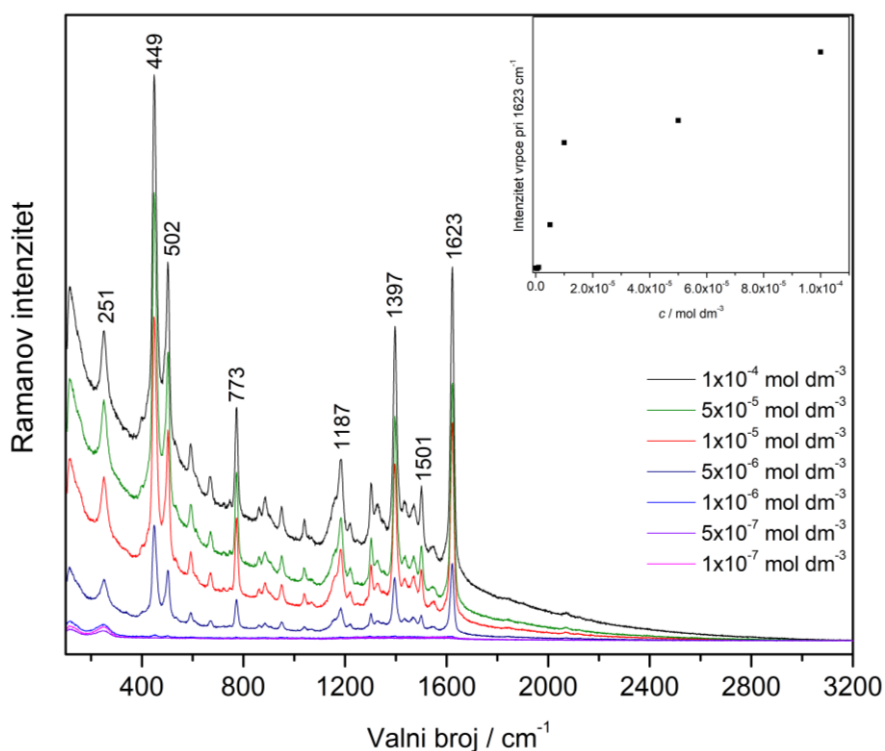
U dobivenim spektrima, pri pobudi 532 nm, opažene su samo dvije vrpce koje se pripisuju vibracijama istraživane boje. To su vrpce pri 1625 i 1396 cm<sup>-1</sup>, koje odgovaraju istežanju CC veza fenotiazina, odnosno vibraciji izvan ravnine aromatskih C–H veza. Ostale vrpce spoja **MetB** nisu opažene vrlo vjerojatno zbog fluorescencije otopina. Najniža koncentracija pri kojoj je uočen spektar spoja **MetB** u koloidu AuNP\_svjježih bila je  $1 \times 10^{-6}$  mol dm<sup>-3</sup>.

Spektri otopina boje **MetB**, snimani pri pobudi 785 nm, sadrže jasno definirane i intenzivne vrpce vibracija središnjeg fenotiazinskog sustava (1623, 1397, 773 i 502 cm<sup>-1</sup>) i dimetilamino skupine (1187 i 502 cm<sup>-1</sup>). Detaljna asignacija vrpce dana je u tablici 8. Opadanje intenziteta vrpce uslijed smanjenja koncentracije spoja u koloidu zlata ne prati linearni trend (umetak na slici 22), što je uočeno i kod korištenja koloida srebra kao metalnog supstrata. SERS spektar s najintenzivnijim vrpcama dobiven je snimanjem uzorka **MetB** koncentracije  $c = 5 \times 10^{-5}$  mol dm<sup>-3</sup>, gdje se pretpostavlja optimalno okomito slaganje aromatskog fenotiazinskog sustava na nanočestice zlata. Granica detekcije za **MetB** u svježe pripravljenom koloidu zlata pri pobudi 785 nm iznosi  $5 \times 10^{-6}$  mol dm<sup>-3</sup>.





Slika 21. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija u svježe pripremljenom koloidu zlata, AuNP\_sveži, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 1 mW



Slika 22. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija u svježe pripremljenom koloidu zlata, AuNP\_sveži, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,3 mW

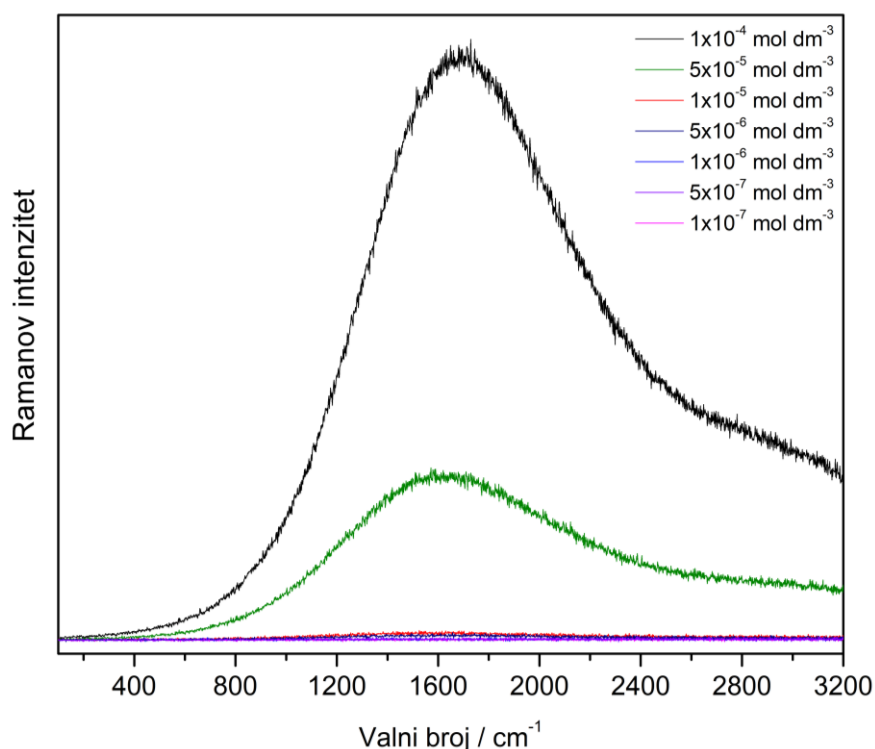
Tablica 8. Asignacija osnovnih vrpci u SERS spektrima **MetB** različitih koncentracija u koloidu AuNP\_sveži, pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm<sup>20–22,29,30</sup>

Valni broj / cm <sup>-1</sup>				Vibracija
$\lambda = 532 \text{ nm}$		$\lambda = 785 \text{ nm}$		
$c = 5 \times 10^{-5}$ mol dm <sup>-3</sup>	$c = 1 \times 10^{-5}$ mol dm <sup>-3</sup>	$c = 5 \times 10^{-5}$ mol dm <sup>-3</sup>	$c = 5 \times 10^{-6}$ mol dm <sup>-3</sup>	
1625		1623		v CC (ft)
		1543		v CC (ft)
		1501		v CC (ft), $\delta$ CH <sub>3</sub>
		1471		$\delta$ CH <sub>3</sub> , v CC (ft)
		1438		v CC (ft)
1396		1397		$\delta_{ip}$ CH (ft)
		1303		v C–N (ft)
		1187		v C–N (dma)
		1039		$\delta_{ip}$ CH (ft)
		950		$\delta$ prsten (ft), $\delta$ C–S–C (ft)
		886		$\delta_{oop}$ CH (ft)
		862		$\delta$ C–S–C (ft)
		773		$\delta_{oop}$ CH (ft)
		670		$\delta_{oop}$ CH (ft)
		593		$\delta$ prsten (ft), $\delta$ CNC (dma)
		502		$\delta$ CNC (dma)
		449		$\delta$ CNC (ft)
		251		v Au–O / v Au–S

Kratice: v – istezanje,  $\delta$  – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ft) – fenotiazin, (dma) – dimetilamino.

Snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri spoja **RB** u svježe pripremljenom koloidu zlata pri pobudama 532 (slika 23) i 785 nm (slika 24).

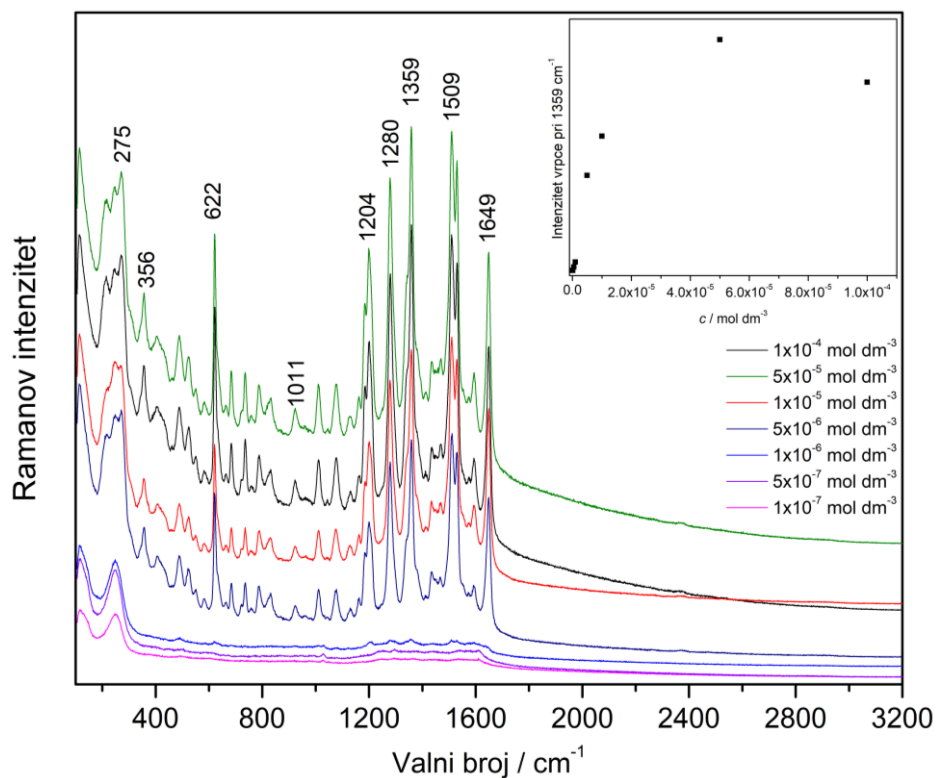
Budući da je valna duljina pobudnog zračenja ( $\lambda = 532$  nm) vrlo blizu valne duljine maksimalne apsorpcije rodamina B ( $\lambda_{\max} = 555$  nm), SERS spektri **RB** pri pobudi navedenim laserskim zračenjem ne pokazuju signale karakteristične za vibracijske modove molekule boje, već se intenzivna široka vrpca u spektru pripisuje fluorescenciji spoja.



Slika 23. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija u svježe pripremljenom koloidu zlata, AuNP\_svježi, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,1  $\mu$ W

U SERS spektrima otopina **RB** različitih koncentracija pri pobudi 785 nm vidljive su brojne vrpce koje potječu od vibracija strukturnih motiva molekula rodamina B. Vrlo intenzivne vrpce pri 1509, 1359, 1280 i 622 cm<sup>-1</sup> koje odgovaraju vibracijama istezanja i svijanja ksantenske jezgre, zajedno uz vrpce istezanja CC veza aromatskog prstena pri 1649 cm<sup>-1</sup>, upućuju na zaključak da su aromatski prstenovi smješteni vrlo blizu površine zlata, te se vrlo vjerojatno adsorbiraju na zlato tvoreći  $\pi$ -interakcije s elektronima metala. Ovisnost intenziteta vrpce ksantenskog CC istezanja pri 1359 cm<sup>-1</sup> o promjeni koncentracije **RB** u SERS uzorcima (umetak na slici 24) ne pokazuje linearnost, što je prethodno objašnjeno kao utjecaj orijentacije

molekula rodamina B prema površini metala na izgled SERS spektra. Najniža koncentracija koja rezultira SERS spektrom s vidljivim vrpčama boje je  $5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ .



Slika 24. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija u svježe pripravljenom koloidu zlata, AuNP\_sveježi, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 15 mW

Tablica 9. Asignacija osnovnih vrpca u SERS spektrima **RB** različitih koncentracija u koloidu AuNP\_sveježi, pri valnoj duljini pobude 785 nm<sup>23–27,29,31</sup>

Valni broj / $\text{cm}^{-1}$		Vibracija
$c = 5 \times 10^{-5}$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c = 5 \times 10^{-6}$ $\text{mol dm}^{-3}$	
1649	1648	$\nu$ CC (ar)
1595	1596	$\nu$ CC (ks)
1531	1531	$\nu$ CC (ks)
1509	1509	$\nu$ CC (ks), $\delta$ CH <sub>3</sub>
1469	1468	$\nu$ CC (ks)
1359	1359	$\nu$ CC (ks)
1280	1281	$\nu$ C–O–C (ks)
1204	1202	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ks)
1183	1182	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ks)
1132	1130	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ks)
1077	1075	$\delta$ CH (CH <sub>3</sub> )
1011	1013	$\delta_{\text{ip}}$ CH (ks)
923	925	$\delta$ CCC (ks)
788	787	$\delta_{\text{oop}}$ CH (ks)
759	761	$\delta_{\text{oop}}$ CH (ks)
736	737	$\delta_{\text{oop}}$ CH (ks)
684	685	$\delta_{\text{oop}}$ CH (ks)
622	620	$\delta$ prsten (ks)
524	525	$\delta$ prsten (ks)
488	487	$\delta$ prsten (ks)
356	355	$\delta$ prsten (ks)
247	249	$\nu$ Au–O

Kratice:  $\nu$  – istezanje,  $\delta$  – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ks) – ksanten, (ar) – aromat.

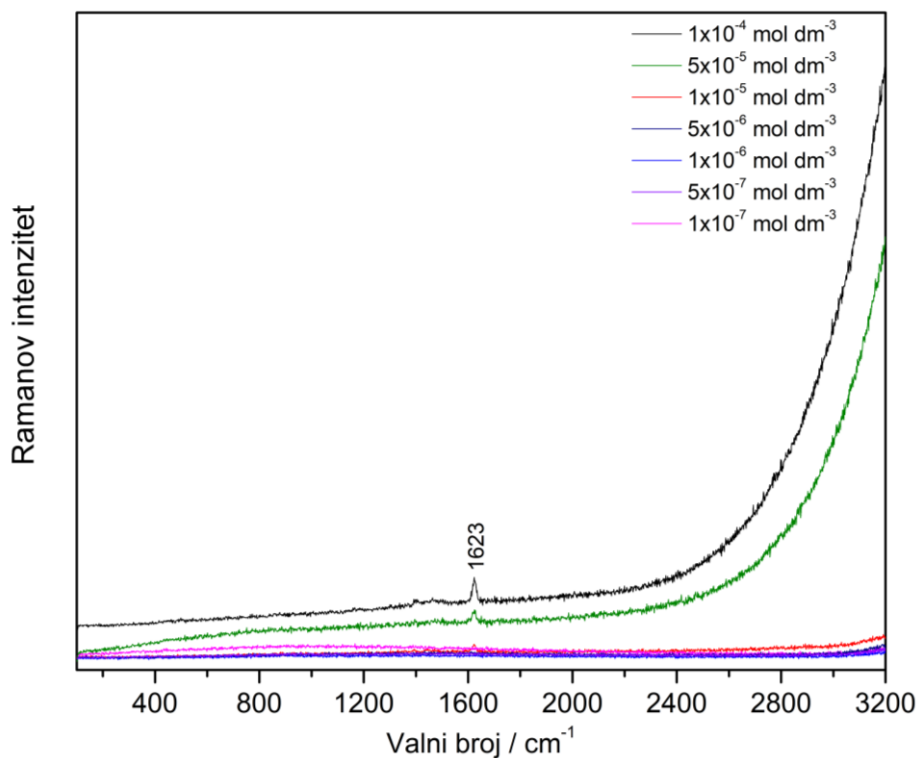
#### 4.4.4. Koncentrirana koloidna suspenzija zlata

SERS spektri otopina **MetB** u koncentriranom koloidu zlata, snimljeni pri obje valne duljine pobude, prikazani su na slikama 25 i 26. Način pripreme koncentriranog koloida zlata istovjetan je pripremi koncentriranog koloida srebra. Centrifugiranjem izvornog svježeg koloida povećava se broj nanočestica u jednakom volumenu koloidne suspenzije i uklanjaju se stabilizirajući anioni, što rezultira spontanom stvaranjem agregata nanočestica koji izrazito pojačavaju raspršenje molekula u svojoj blizini.

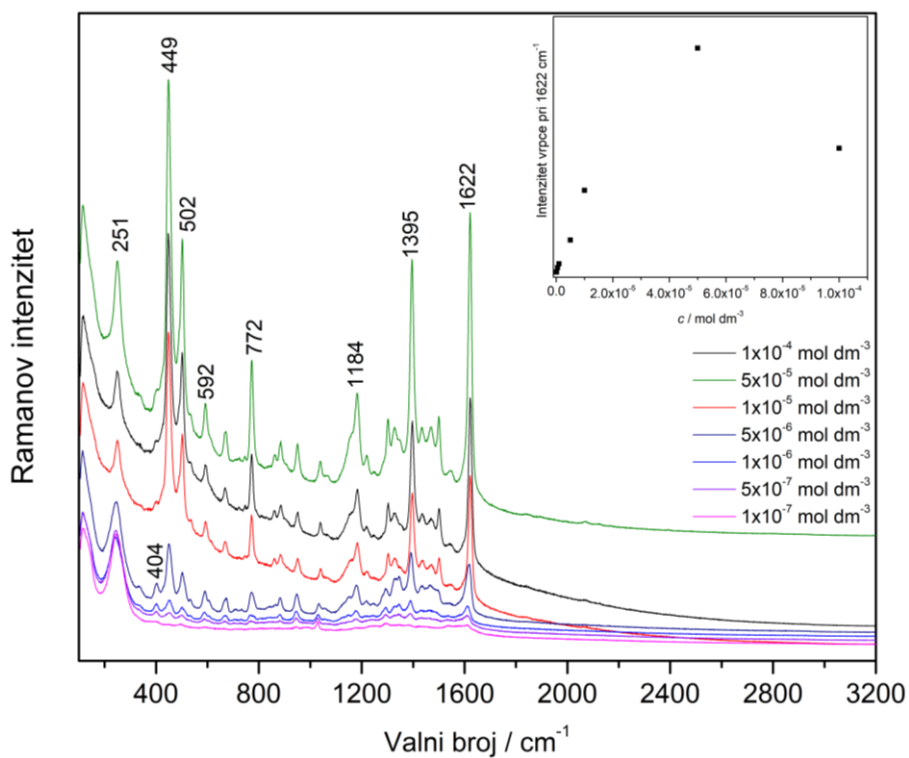
Pobudno zračenje pri 532 nm daje SERS spektre spoja **MetB** s malim brojem vrpce koje odgovaraju vibracijama aromatskog sustava fenotiazina, dok fluorescencija prekriva ostale vrpce.

U koncentracijski ovisnim SERS spektrima **MetB** pri pobudi 785 nm uočene su promjene u spektrima različitih koncentracija analita. U spektru koncentracije boje  $c(\text{MetB}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ , u kojem su SERS vrpce boje najintenzivnije (umetak na slici 26), najviše dolaze do izražaja vrpce koje potječu od vibracijskih modova fenotiazina i dimetilamino skupine, kao i u prethodno opisanim spektrima **MetB** u koloidu AuNP\_svježi. Smanjenjem koncentracije analita dolazi do smanjenja intenziteta vrpce, pojedine vrpce se pomiču i javljaju se nove vrpce u spektrima. Najveće promjene intenziteta vrpce zapažene su kod vrpce istezanja CC i svijanja CH veza fenotiazina pri  $1622$  i  $1395 \text{ cm}^{-1}$  te deformacije CNC veze pri  $449 \text{ cm}^{-1}$ . Također je primijećeno intenzivno gašenje intenziteta vrpce svijanja CNC skupine dimetilamina pri  $502 \text{ cm}^{-1}$  i istezanja C–N veze pri  $1184 \text{ cm}^{-1}$ . Vrpca pri  $1503 \text{ cm}^{-1}$ , kojoj doprinosi istezanje CC veza fenotiazinskog sustava i deformacijska vibracija metilne skupine nestaje smanjenjem koncentracije, kao i vrpca istezanja C–N veze fenotiazina pri  $1302 \text{ cm}^{-1}$ . Iz opisanog se može zaključiti da smanjenjem koncentracije molekula **MetB** u koncentriranom koloidu zlata dolazi do promjene u orijentaciji molekula u odnosu na površinu metala, pri čemu se molekule **MetB** slažu na način da je atom sumpora okrenut prema površini nanočestice. To potvrđuje nova vrpca pri  $404 \text{ cm}^{-1}$  koja odgovara deformaciji CSC veze fenotiazina. Vrpca kod  $251 \text{ cm}^{-1}$  smanjenjem koncentracije boje u mjernom sustavu postaje široka, vrlo vjerojatno zbog doprinosa Au–S veze. Detaljna asignacija vrpce u SERS spektrima prikazana je u tablici 10.

Najmanja koncentracija kod koje se vide vrpce vibracija **MetB** u koncentriranom koloidu zlata iznosi  $c(\text{MetB}) = 5 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ .



Slika 25. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija u koncentriranom koloidu zlata, AuNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 1 mW



Slika 26. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija u koncentriranom koloidu zlata, AuNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 3 mW

Tablica 10. Asignacija osnovnih vrpci u SERS spektrima **MetB** različitih koncentracija u koloidu AuNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 785 nm<sup>20-22,31,32</sup>

Valni broj / cm <sup>-1</sup>		Vibracija
$c = 5 \times 10^{-5}$ mol dm <sup>-3</sup>	$c = 5 \times 10^{-6}$ mol dm <sup>-3</sup>	
1622	1620	v CC (ft)
1543	1545	v CC (ft)
1503		v CC (ft), $\delta$ CH <sub>3</sub>
1471	1465	$\delta$ CH <sub>3</sub> , v CC (ft)
1436	1431	v CC (ft)
1395	1392	$\delta_{ip}$ CH (ft)
1302		v C–N (ft)
	1293	$\delta_{ip}$ CH (ft)
1221		$\delta_{ip}$ CH (ft)
1184	1180	v C–N (dma)
1040	1034	$\delta_{ip}$ CH (ft)
950	948	$\delta$ prsten (ft), $\delta$ C–S–C (ft)
885	883	$\delta_{oop}$ CH (ft)
860	861	$\delta$ C–S–C (ft)
772	772	$\delta_{oop}$ CH (ft)
670	673	$\delta_{oop}$ CH (ft)
592	589	$\delta$ prsten (ft), $\delta$ CNC (dma)
502	503	$\delta$ CNC (dma)
449	451	$\delta$ CNC (ft)
	404	$\delta$ C–S–C (ft)
251		v Au–O / v Au–S

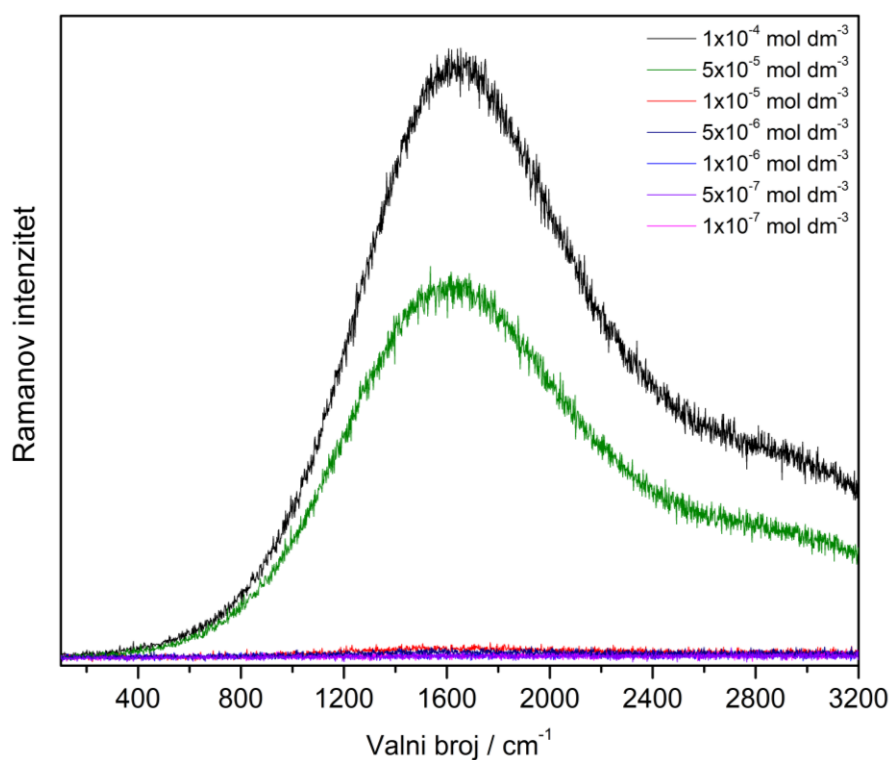
Kratice: v – istežanje,  $\delta$  – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ft) – fenotiazin, (dma) – dimetilamino, w – slaba.



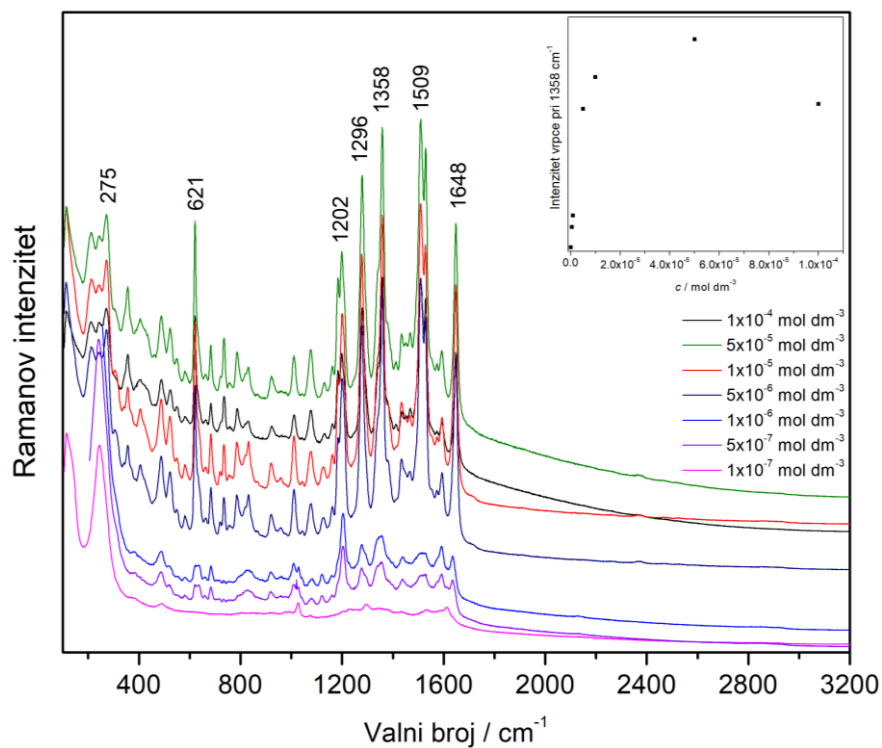
Snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri otopina **RB** na koncentriranom koloidu zlata pri 532 (slika 27) i 785 nm (slika 28).

Pobuda pri 532 nm rezultira spektrima u kojima nisu primijećene karakteristične vibracije rodamina B, što se pripisuje apsorpciji zračenja i naknadnoj fluorescenciji koja zasjenjuje Ramanovo raspršenje. Nakon pobude laserskim zračenjem pri 785 nm, dobiveni SERS spektri sadrže velik broj vrpca čija detaljna asignacija je dana u tablici 11. Kod ovog supstrata, najintenzivnije vrpce rezultat su vibracija elektronima bogatih skupina poput aromata i središnjeg ksantenskog sustava.

Granica detekcije za otopine **RB** u koloidu AuNP\_konc iznosi  $5 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ .



Slika 27. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija u koncentriranom koloidu zlata, AuNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,1  $\mu\text{W}$



Slika 28. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija u koncentriranom koloidu zlata, AuNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 30 mW

Tablica 11. Assignacija osnovnih vrpci u SERS spektrima **RB** različitih koncentracija u koloidu AuNP\_konc, pri valnoj duljini pobude 785 nm<sup>23–27,29,31</sup>

Valni broj / cm <sup>-1</sup>		Vibracija
<i>c</i> = 5×10 <sup>-5</sup> mol dm <sup>-3</sup>	<i>c</i> = 5×10 <sup>-6</sup> mol dm <sup>-3</sup>	
1648	1648	v CC (ar)
1590	1594	v CC (ks)
1530	1528	v CC (ks)
1509	1508	v CC (ks), δ CH <sub>3</sub>
1468	1468	v CC (ks)
1358	1359	v CC (ks)
1279	1277	v C–O–O (ks)
1202	1201	δ <sub>ip</sub> CH (ks)
1182	1185	δ <sub>ip</sub> CH (ks)
1161	1161	v C–N (dea)
1130	1129	δ <sub>ip</sub> CH (ks)
1077	1078	δ CH (CH <sub>3</sub> )
1011	1011	δ <sub>ip</sub> CH (ks)
920	920	δ CCC (ks)
787	787	δ <sub>oop</sub> CH (ks)
755	755	δ <sub>oop</sub> CH (ks)
735	735	δ <sub>oop</sub> CH (ks)
683	683	δ <sub>oop</sub> CH (ks)
621	621	δ prsten (ks)
524	522	δ prsten (ks)
488	488	δ prsten (ks)
275	271	δ prsten (ks)
246	247	v Au–O

Kratice: v – istežanje, δ – deformacija, ip – u ravnini, oop – izvan ravnine, (ks) – ksanten, (ar) – aromati, dea – dietilamino.

#### 4.4.5. Tretirano staklo s nanočesticama srebra

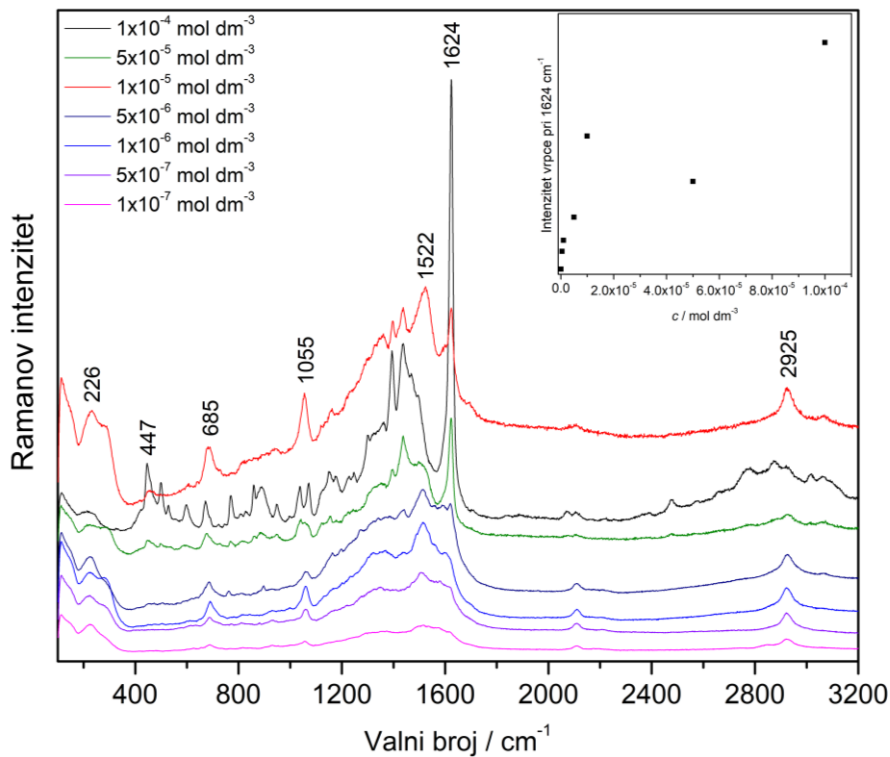
Mikroskopsko stakalce, koje se koristi kao nosač za pripremu prvog čvrstog supstrata nanočestica srebra, prije imobilizacije s AgNP tretira se fluorovodičnom kiselinom pri čemu se stvara neravna hidrofilna površina.<sup>13</sup> Mjerni uzorak boje u koncentriranom koloidu nanosi se na tretirano staklo apliciranjem određenog volumena u jednu točku pri čemu nastaje kap koja se sušenjem pretvara u „prsten kave“ (engl. *coffee ring*). Nanočestice srebra se nalaze na rubu kapi u obliku agregata i predstavljaju područja u kojima se intenzivno pojačava raspršenje zračenja.<sup>14</sup> Fotografija nastalih obojanih prstenova nalazi se u Dodatku (slika D2). Kako bi se odredio doprinos raspršenja stakla u spektrima uzoraka, snimljeni su Ramanovi spektri stakla nakon tretiranja s otopinom fluorovodične kiseline pri obje pobude (slika D4).

SERS spektri otopina **MetB** u određenom koncentracijskom području ( $1 \times 10^{-7}$ – $1 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup>) na staklu tretiranom nanočesticama srebra snimljeni su pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm (slike 29 i 30).

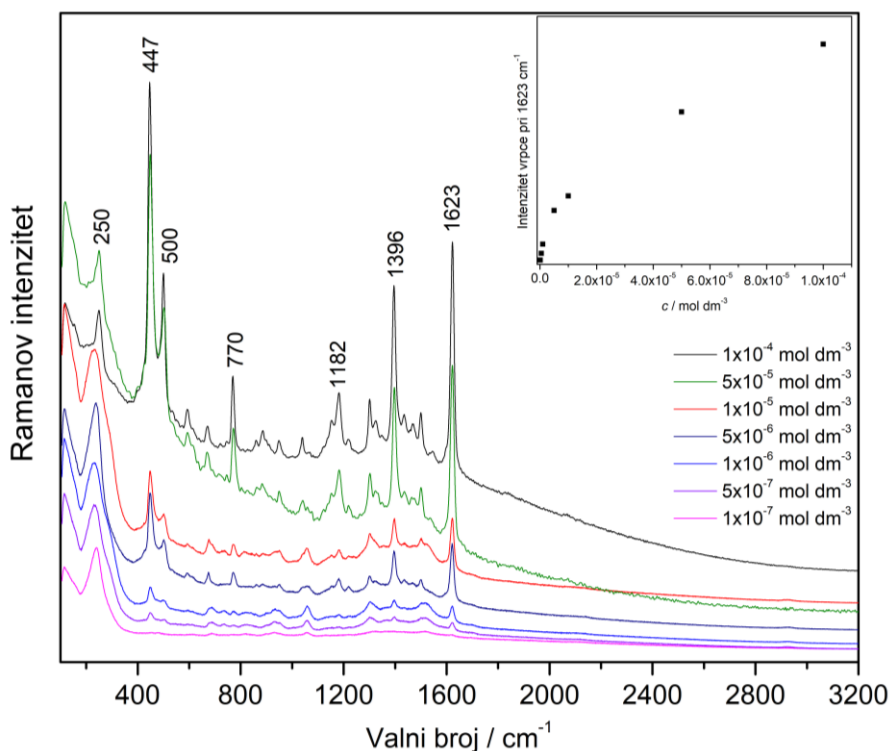
U SERS spektru **MetB** pri pobudi 532 nm opažaju se vrpce koje potječu od vibracijskih modova istraživane boje. Najintenzivnije vrpce u spektru odgovaraju istezanju CC veza središnjeg fenotiazinskog sustava ( $1624 \text{ cm}^{-1}$ ) i svijanju CNC veze fenotiazina ( $447 \text{ cm}^{-1}$ ). Smanjenjem koncentracije molekula **MetB** u sustavu pada intenzitet vrpce koje potječu od vibracija boje, ali raste intenzitet vrpce pri  $1522$ ,  $1055$  i  $685 \text{ cm}^{-1}$ . Spomenute vrpce su zamijećene u Ramanovom spektru osušenog koloida srebra na tretiranom staklu i potječu od vibracija citratnih aniona (slika D5).<sup>19</sup>

Spektri otopina **MetB** na tretiranom staklu s nanočesticama srebra pri pobudi 785 nm rezultat su pojačanja raspršenja zračenja na strukturnim motivima istraživane boje. Optimalno slaganje aromatskog sustava na površinu nanočestica srebra rezultira intenzivnim vrpca istezanja aromatskih CC veza u području  $1630$ – $1430 \text{ cm}^{-1}$ . Vrpce koje odgovaraju vibracijama dimetilamino supstituenta vezanog na središnji aromatski sustav javljaju se pri  $1182$  i  $500 \text{ cm}^{-1}$ . Intenzivna vibracija svijanja aromata zapažena je kod  $447 \text{ cm}^{-1}$ . Nova vrpca pri  $250 \text{ cm}^{-1}$  rezultat je istezanja veze srebro-kisik iz citratnih aniona koji su adsorbirani na metalnim nanočesticama.<sup>19–21,27</sup> Najniža koncentracija pri kojoj se zamjećuju karakteristične vrpce **MetB** je  $5 \times 10^{-7}$  mol dm<sup>-3</sup>.

Reprezentativna fotografija jednog uzorka **MetB** na tretiranom staklu s nanočesticama srebra prikazana je u Dodatku na slici D6.



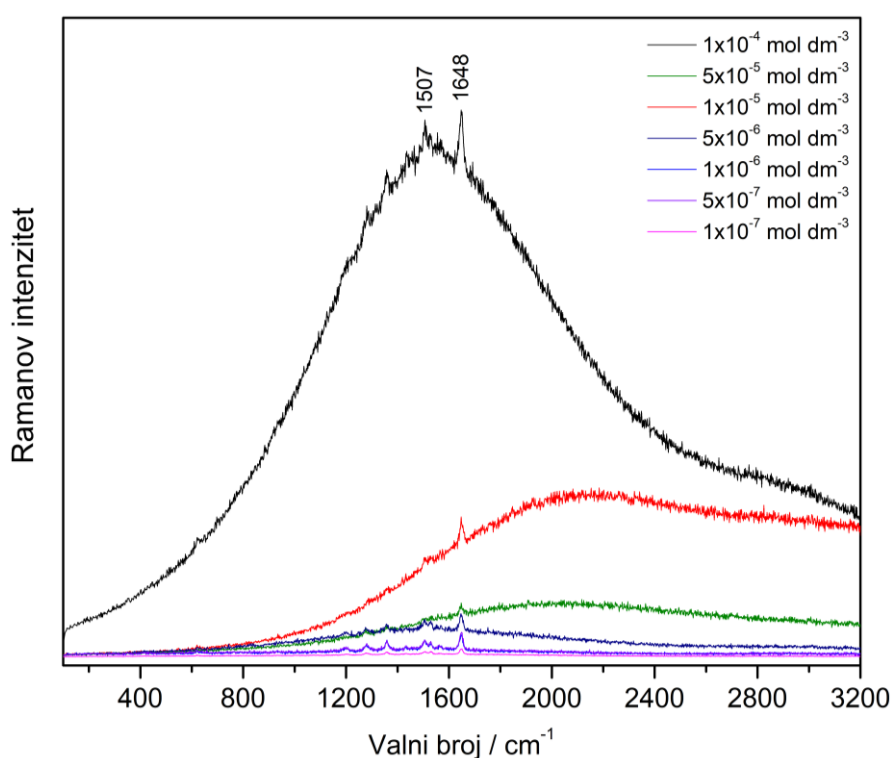
Slika 29. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija na nanočesticama srebra imobiliziranim na staklu, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,86 mW



Slika 30. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija na nanočesticama srebra imobiliziranim na staklu, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,195 mW

Snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri otopina **RB** na tretiranom staklu s AgNP pri valnim duljinama pobude 532 (slika 31) i 785 nm (slika 32).

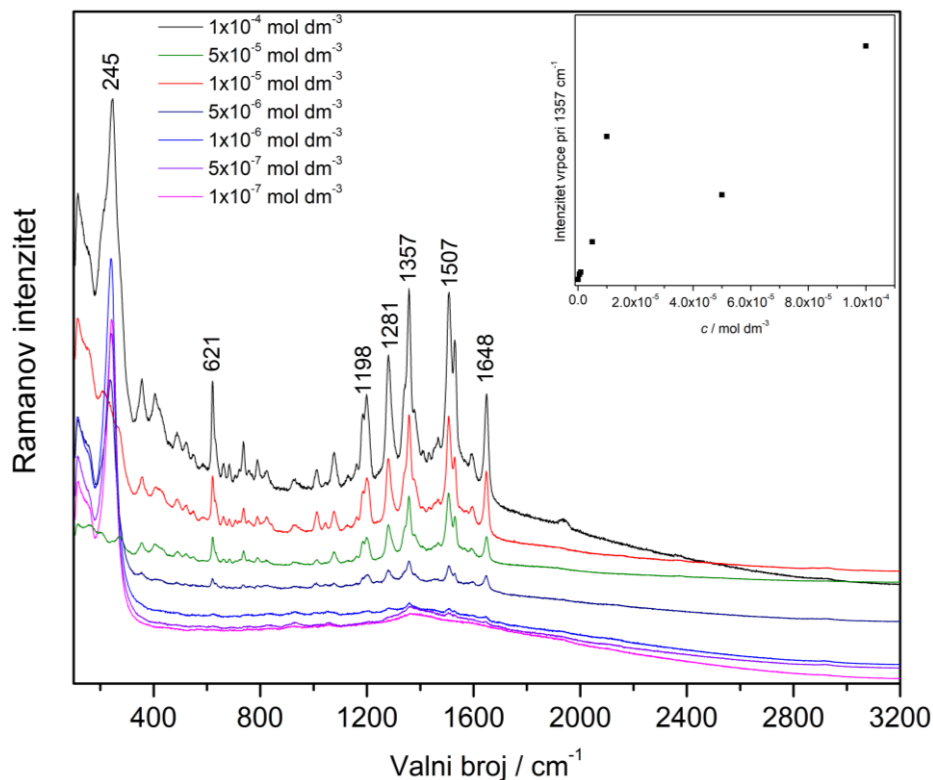
U prethodno opisanim sustavima smjesa **RB** i koloida primijećeno je da korištenje pobude pri 532 nm rezultira spektrima u kojima dominira široka vrpca fluorescencije, bez obzira na vrstu metalnog supstrata. Jednako je zapaženo i korištenjem tretiranog stakla s AgNP, što je prikazano na slici 31 gdje široka vrpca fluorescencije prekriva gotovo sve vibracije istraživane boje, osim isteznih vibracija aromata i ksantena između 1650 i 1500  $\text{cm}^{-1}$ .<sup>23,27</sup> Pri niskim koncentracijama **RB** u spektrima dolaze do izražaja anomalne vrpce koloida.<sup>5</sup>



Slika 31. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija na nanočesticama srebra imobiliziranim na staklu, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,086  $\mu\text{W}$

Pobuda pri 785 nm (slika 32) rezultira SERS spektrima **RB** bogatim vrpčama gdje do izražaja najviše dolaze vrpce istezanja CC veze aromata pri 1648  $\text{cm}^{-1}$  te vibracije istezanja i svijanja CC i CH veza ksantenskog sustava zapažene pri 1507, 1357, 1198 i 621  $\text{cm}^{-1}$ . Srednje intenzivna vrpca pri 1281  $\text{cm}^{-1}$  potječe od istezanja COC strukturnog motiva ksantena što potvrđuje pretpostavljeni način orijentacije molekula **RB** na površini AgNP sa ksantenskim prstenom okomitim na površinu metala, pri čemu nastaje veza Ag–O (vrpca kod 245  $\text{cm}^{-1}$ ).<sup>30</sup>

Smanjenjem koncentracije molekula **RB** u mjernim uzorcima smanjuje se intenzitet vrpci i posljednja koncentracija kod koje su opažene vrpce u SERS spektru bila je  $5 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ .

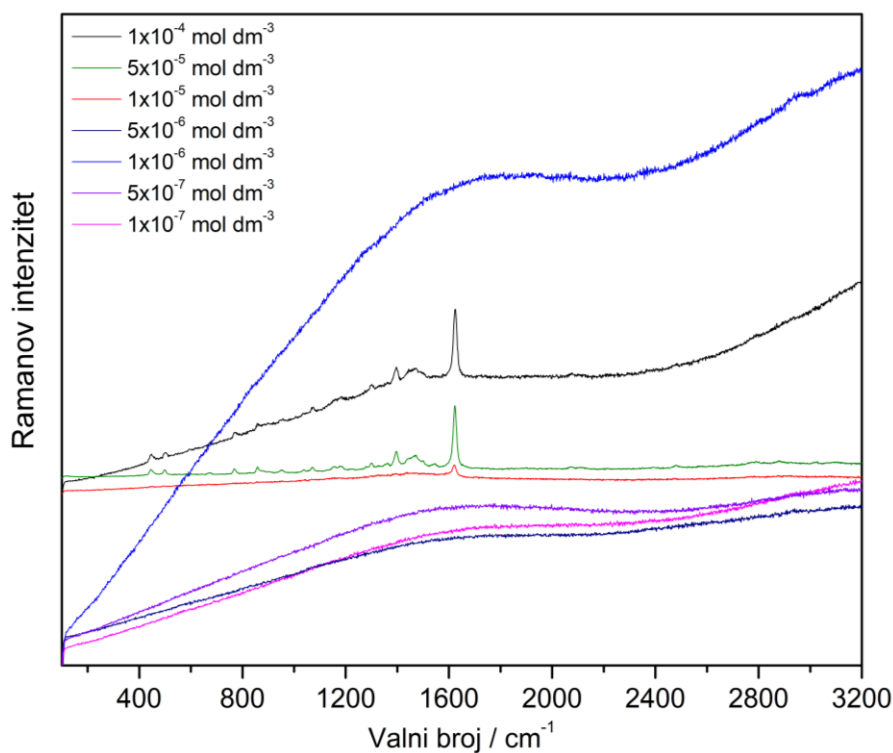


Slika 32. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija na nanočesticama srebra imobiliziranim na staklu, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,195 mW

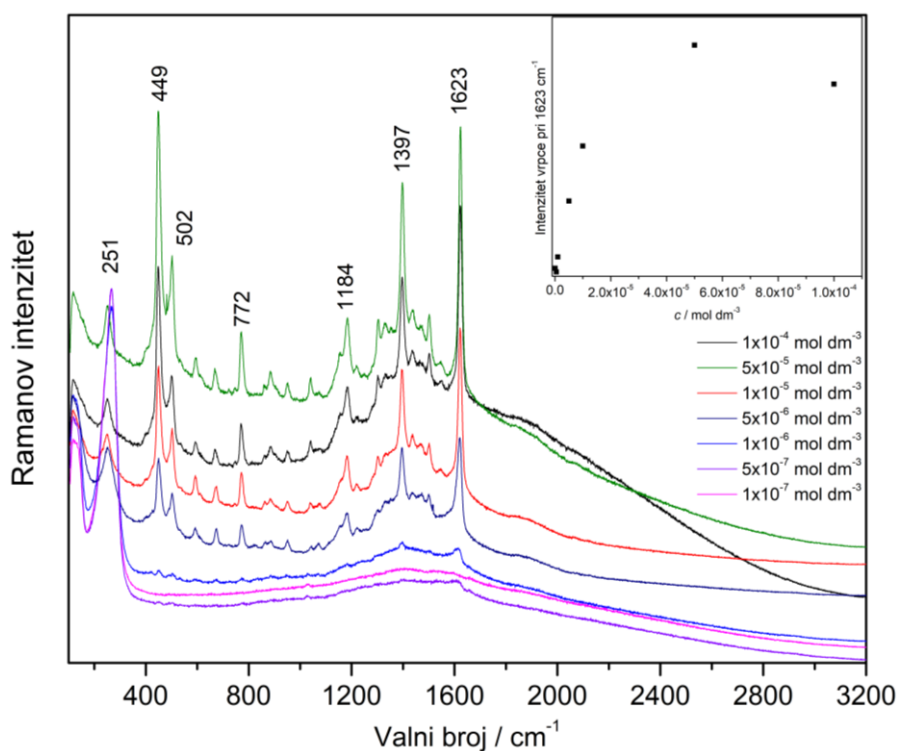
#### 4.4.6. *Tretirano staklo s nanočesticama zlata*

SERS spektri otopina **MetB** različitih koncentracija snimljeni na tretiranom staklu s nanočesticama zlata pri pobudama 532 i 785 nm prikazani su na slikama 33 i 34. Fotografije nastalih obojanih prstenova nalaze se u Dodatku (slika D3).

Pobudno zračenje pri 532 nm rezultira spektrima u kojima se zapaža samo nekoliko vrpci karakterističnih za boju **MetB**. To su: C–H deformacija prstena u ravnini pri  $1396 \text{ cm}^{-1}$  te CC istežanje fenotiazinskog sustava pri  $1473$  i  $1624 \text{ cm}^{-1}$ .<sup>20,21</sup>



Slika 33. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklu, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,086 mW

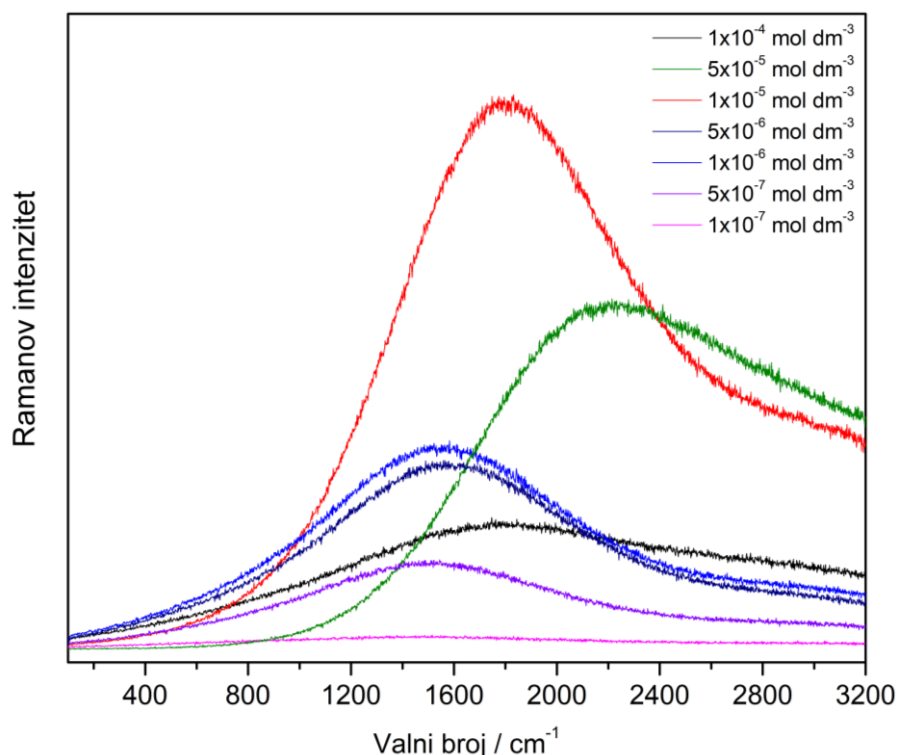


Slika 34. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklu, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,195 mW



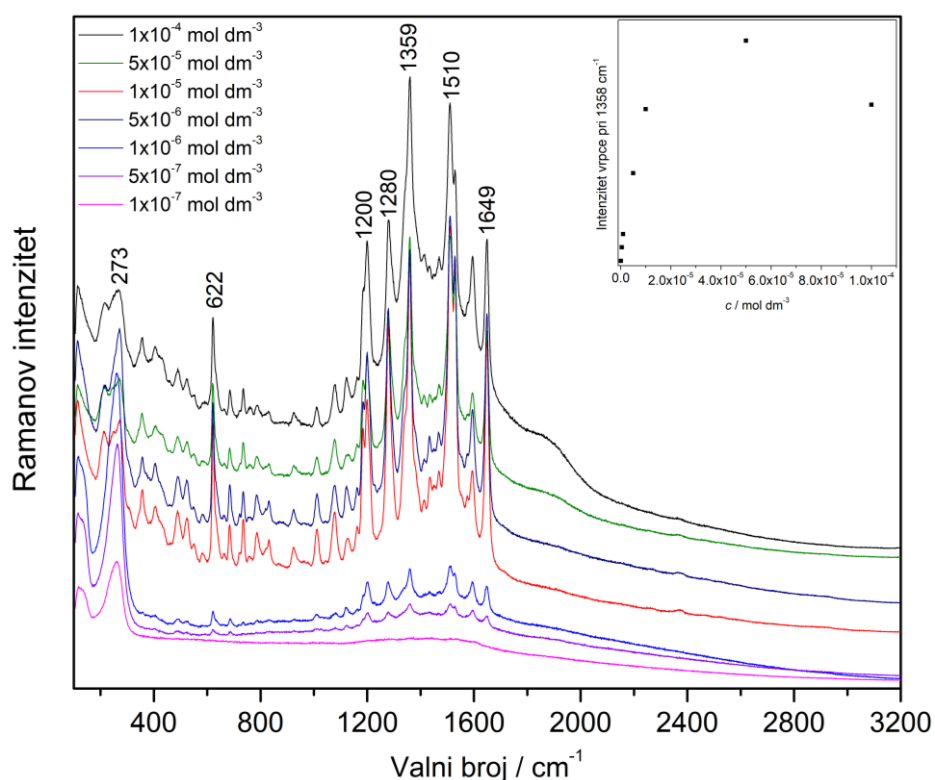
SERS spektri **MetB** na tretiranom staklu s AuNP pri pobudi 785 nm sadrže mnoštvo vrpce od kojih najintenzivnije potječu od isteznih vibracija fenotiazina (pri 449, 1397 i 1623  $\text{cm}^{-1}$ ) što se poklapa s prethodno opisanim SERS spektrima **MetB** dobivenih korištenjem koloidnih suspenzija kao supstrata, gdje smještanje molekula metilenskog modrila na površini nanočestica rezultira snažnim pojačanjem raspršenja vibracija aromatskog sustava. SERS spektri **MetB** na tretiranom staklu s AuNP pokazuju nelinearnu ovisnost intenziteta vrpce pri 1623  $\text{cm}^{-1}$  o promjeni koncentracije boje u mjernom uzorku, što se povezuje s malim promjenama orijentacije molekula boje na površini te smanjenjem broja molekula **MetB** u mjernom sustavu. Granica detekcije za **MetB** na tretiranom staklu s AuNP je  $5 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$  pri valnoj duljini pobude 785 nm.

Snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri **RB** na tretiranom staklu s AuNP pri pobudama 532 (slika 35) i 785 nm (slika 36). Fotografija jednog uzorka **RB** na tretiranom staklu s nanočesticama zlata prikazana je u Dodatku (slika D7).



Slika 35. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklu, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,086  $\mu\text{W}$

Pobuda pri 532 nm ne rezultira karakterističnim SERS spektrima boje **RB** zbog intenzivne fluorescencije uzorka, dok spektar snimljen pobudom pri 785 nm pokazuje velik broj vrpca, pri čemu vrlo intenzivne vrpce potječu od vibracija aromatskih strukturnih motiva molekule rodamina B. Vrlo intenzivne vrpce pri 1510 i 1359  $\text{cm}^{-1}$  potječu od istežanja CC veza ksantena, dok deformacije C–H veza središnjeg aromatskog sustava rezultiraju vrpcom pri 1200  $\text{cm}^{-1}$ . Istezna vibracija C–O–C ksantena daje vrpca pri 1280  $\text{cm}^{-1}$ , dok je vrpca kod najvećeg opaženog valnog broja (1649  $\text{cm}^{-1}$ ) rezultat istežanja aromatskog prstena.<sup>28,30,32</sup> Najniža koncentracija pri kojoj se opaža spektar RB iznosila je  $5 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ .

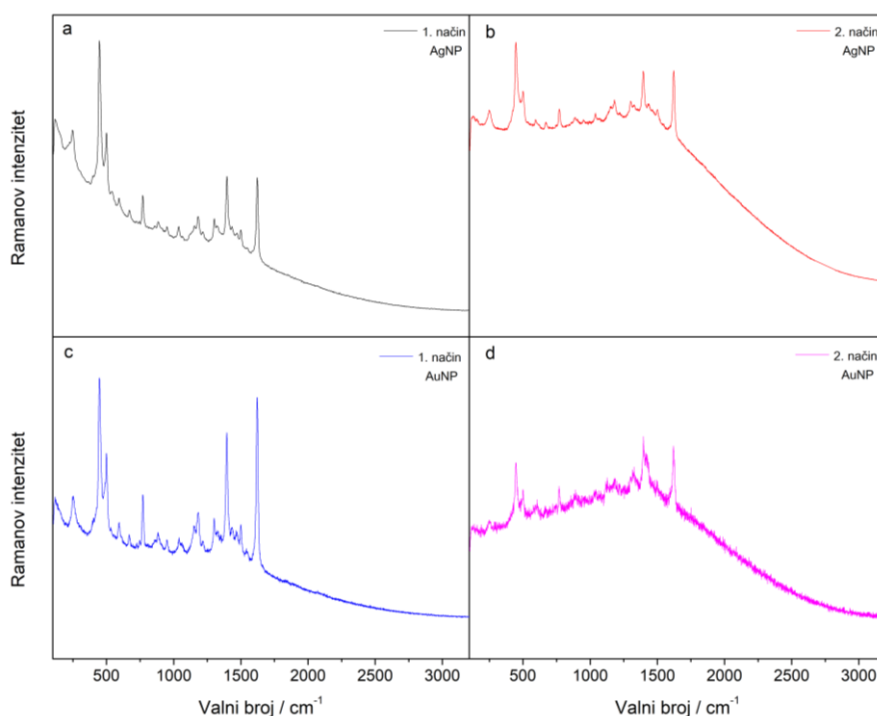


Slika 36. SERS spektri spoja **RB** različitih koncentracija na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklu, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,195  $\mu\text{W}$

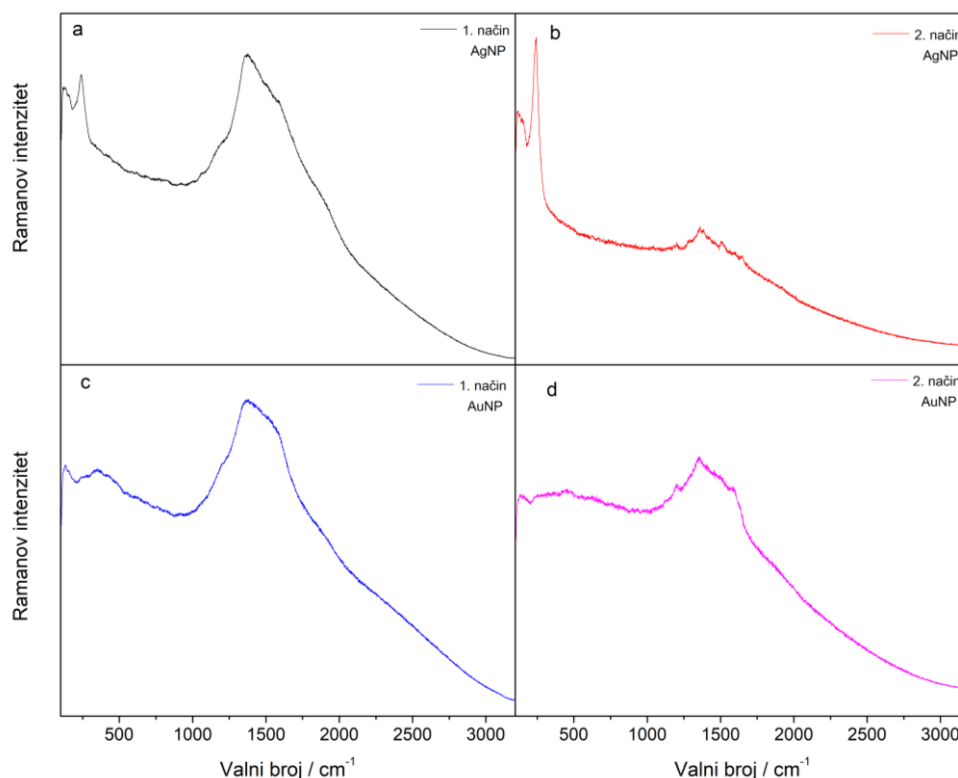
#### 4.4.7. Odabir načina priprave uzorka na staklenom filter-papiru

S obzirom da se mjerni uzorak na nanočesticama imobiliziranim na staklu pripremao tako da se prethodno pripravljena smjesa boje i koloida aplicirala na tretirano staklo, opisan način priprave uzorka isproban je i na staklenom filter-papiru (prvi način priprave). U literaturi je opisan način priprave uzorka na staklenom filter-papiru gdje se prvo na filter-papir aplicira koloid, a zatim se na osušeni koloid dokapa otopina boje i pripremljeni uzorak se snima nakon potpunog sušenja.<sup>15</sup> Navedeni način je bio drugi način priprave uzorka na staklenom filter-papiru.

Snimljeni su SERS spektri otopina **MetB** i **RB** na staklenom filter-papiru tretiranom s nanočesticama AgNP i AuNP pri valnim duljinama pobude 532 (slike D8 i D9) i 785 nm (slike 37 i 38). Prvi način priprave mjernih uzoraka na tretiranom staklenom filter-papiru rezultirao je SERS spektrima s intenzivnijim vrpčama boja i odabran je za pripremu mjernih uzoraka **MetB** i **RB** različitih koncentracija na staklenom filter-papiru tretiranom metalnim nanočesticama.



Slika 37. SERS spektri **MetB** na staklenom filter-papiru pri valnoj duljini pobude 785 nm: a) s AgNP, uzorak pripremljen na prvi način, snaga lasera 0,975 mW, b) s AgNP, uzorak pripremljen na drugi način, snaga lasera 0,975 mW, c) s AuNP, uzorak pripremljen na prvi način, snaga lasera 0,195  $\mu$ W i d) s AuNP, uzorak pripremljen na drugi način, snaga lasera 0,195  $\mu$ W

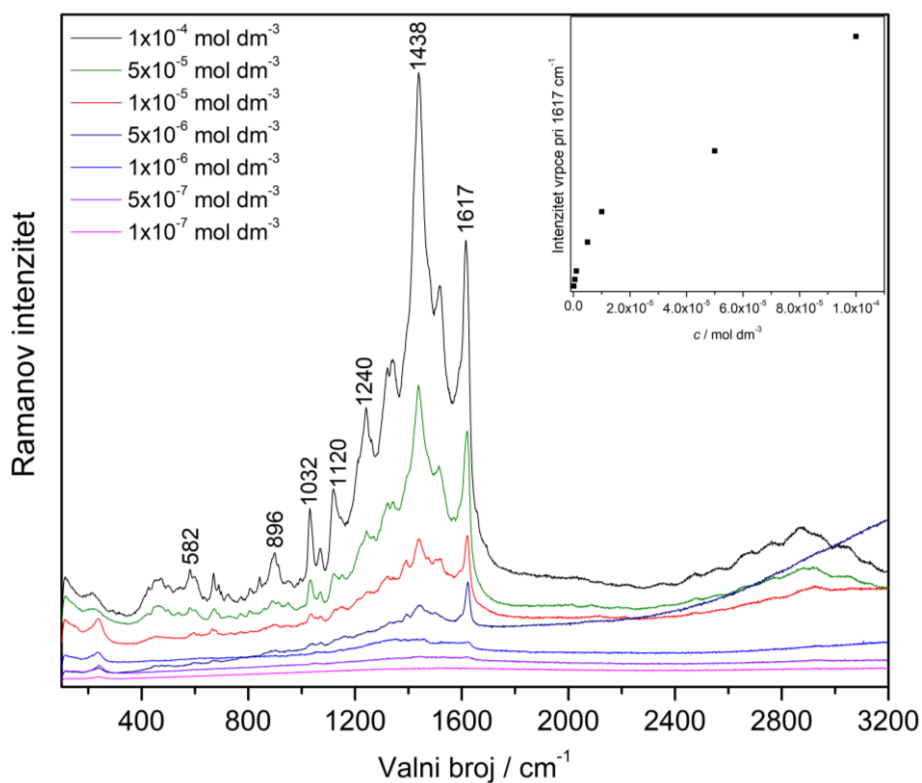


Slika 38. SERS spektri **RB** na staklenom filter-papiru pri valnoj duljini pobude 785 nm: a) s AgNP, uzorak pripremljen na prvi način, snaga lasera 195 mW, b) s AgNP, uzorak pripremljen na drugi način, snaga lasera 195 mW, c) s AuNP, uzorak pripremljen na prvi način, snaga lasera 97,5 mW i d) s AuNP, uzorak pripremljen na drugi način, snaga lasera 97,5  $\mu$ W

#### 4.4.8. Stakleni filter-papir s nanočesticama srebra

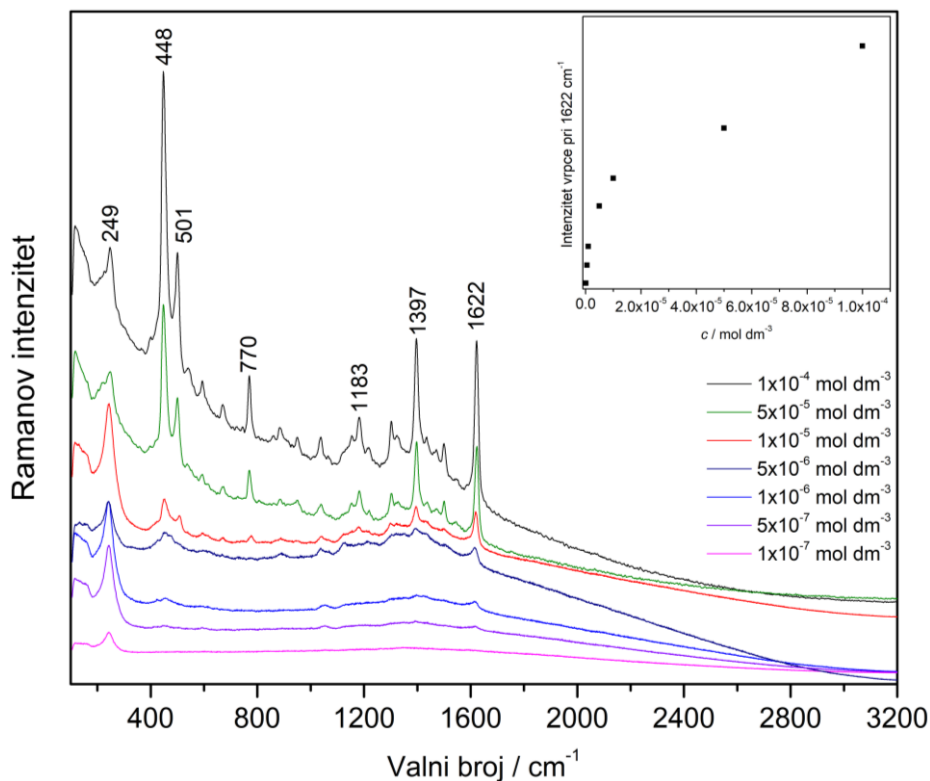
Snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri **MetB** na staklenom filter-papiru s AgNP pri 532 i 785 nm (slika 39 i 40). Fotografija pripremljenih uzoraka na čvrstom nosaču nalazi se u Dodatku (slika D10).

U spektru dobivenom korištenjem pobude pri 532 nm najintenzivnija vrpca pri 1438  $\text{cm}^{-1}$  rezultat je vibracija CC veza u fenotiazinskom sustavu, kao i vrpca pri 1617  $\text{cm}^{-1}$ . Vrpce deformacija van ravnine i u ravnini C–H veza aromata javljaju se pri 1240, 1120 i 1032  $\text{cm}^{-1}$ . Pri nižim valnim brojevima javljaju se vrpce deformacija aromatskog sustava i torzije cijele molekule **MetB**.



Slika 39. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija na nanočesticama srebra imobiliziranim na staklenom filter-papiru, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,43 mW

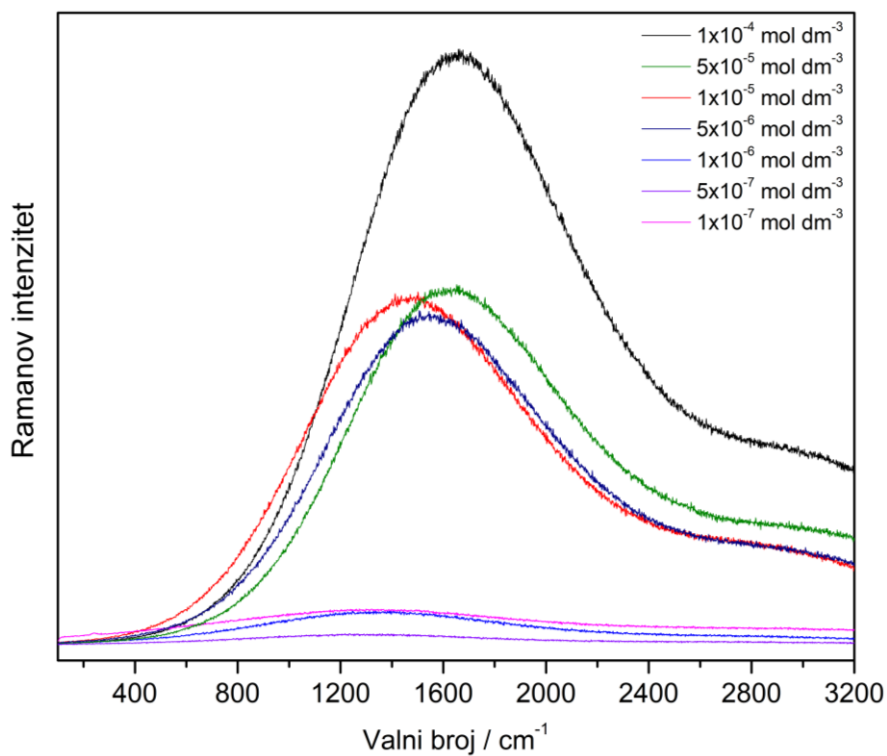
Pobuda pri 785 nm rezultira SERS spektrima **MetB** na staklenom filter-papiru tretiranom s AgNP, gdje su ponovno najintenzivnije vrpce istezanja i deformacija fenotiazinskog sustava. Kod obje pobude, intenzitet vrpce u spektrima pada sa smanjenjem koncentracije zbog manjeg broja molekula u mjernom uzorku. Fotografija jednog uzorka **MetB** na staklenom filter-papiru tretiranom s nanočesticama srebra prikazana je u Dodatku (slika D12).



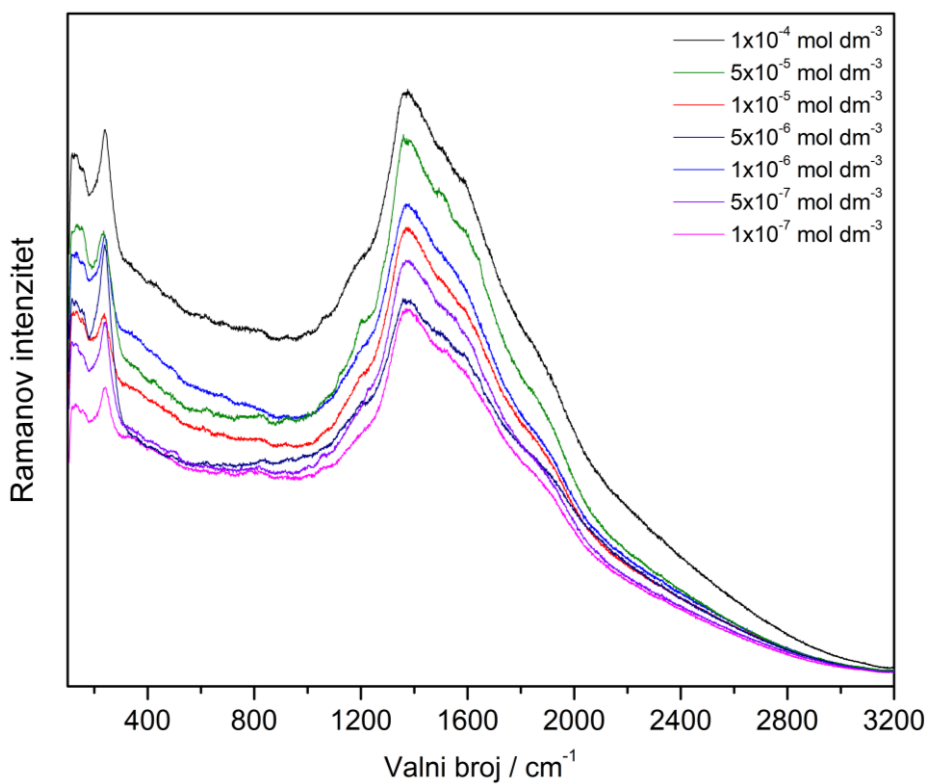
Slika 40. SERS spektri spoja **MetB** različitih koncentracija na nanočesticama srebra imobiliziranim na staklenom filter-papiru, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,975 mW

Snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri **RB** na staklenom filter-papiru tretiranom s nanočesticama srebra pri 532 (slika 41) i 785 nm (slika 42).

Vrpce vibracija u SERS spektrima **RB** dobivene pobudom pri 532 nm prekriva široka vrpca fluorescencije. Korištenjem pobude pri 785 nm dobiveni su spektri u kojima dominira široka vrpca fotoluminescencije stakla između 1100–2000 cm<sup>-1</sup> i nisu zapažene vibracijske vrpce rodamina B. Pojava fotoluminescencije opažena je i u Ramanovom spektru čistog, netretiranog staklenog filter-papira (slika D14).<sup>35</sup>



Slika 41. SERS spektri spoja **RB** na nanočesticama srebra imobiliziranim na staklenom filter-papiru, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,086  $\mu$ W

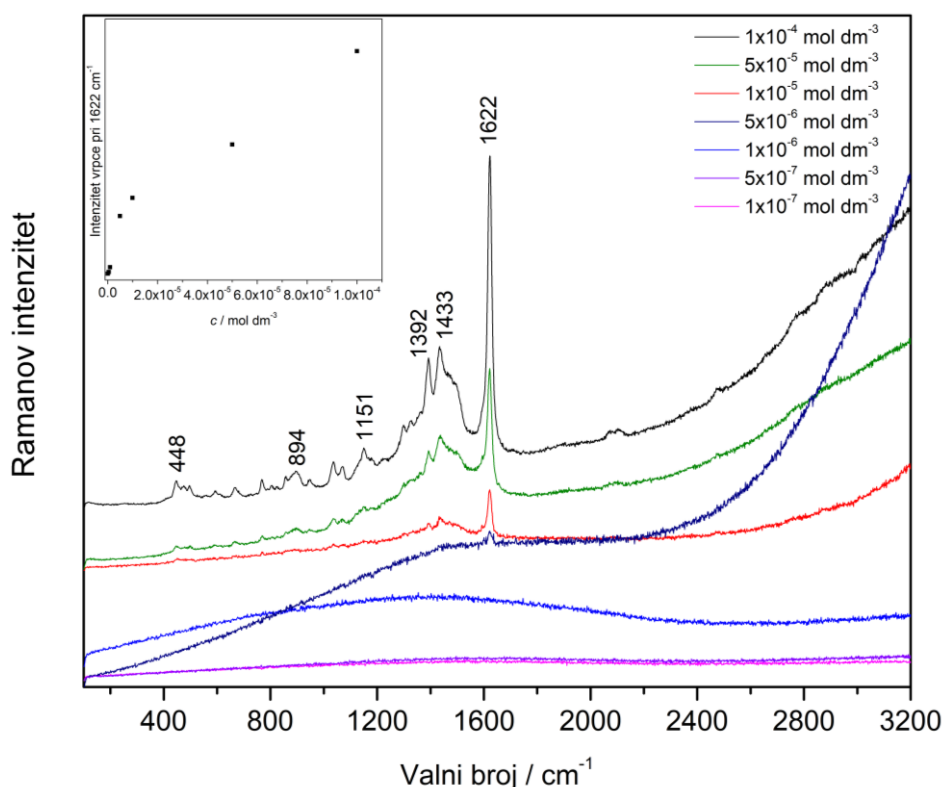


Slika 42. SERS spektri spoja **RB** na nanočesticama srebra imobiliziranim na staklenom filter-papiru, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 195 mW

#### 4.4.9. Stakleni filter-papir s nanočesticama zlata

Snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri **MetB** na staklenom filter-papiru tretiranom s AuNP pri 532 i 785 nm (slike 43 i 44). Fotografija pripremljenih uzoraka na čvrstom nosaču nalazi se u Dodatku (slika D11).

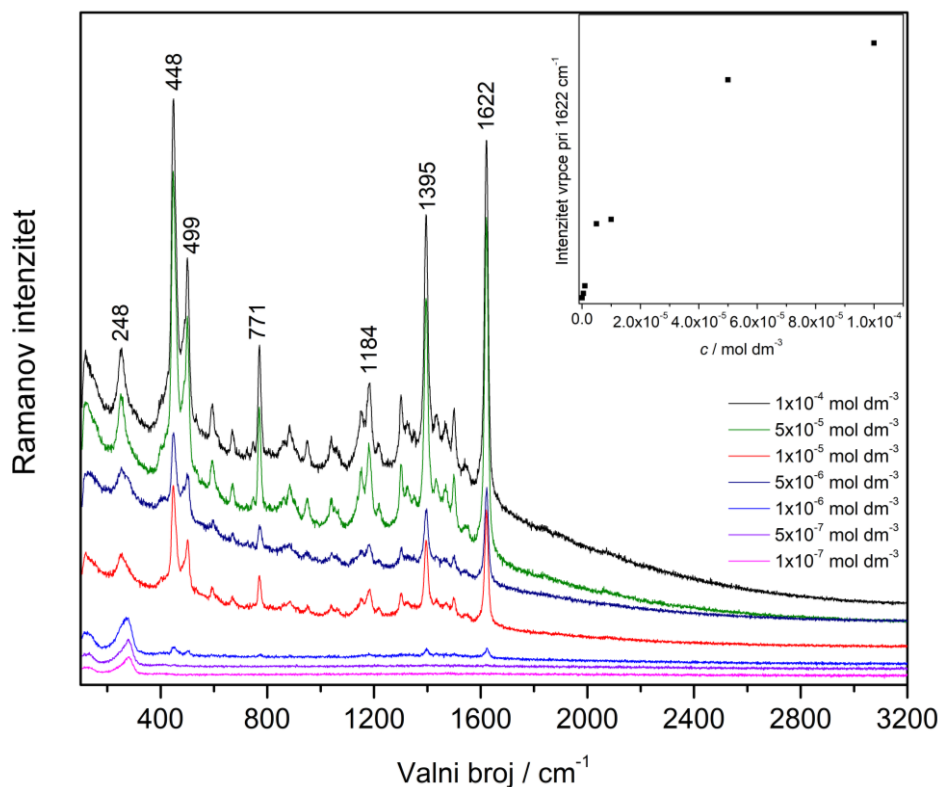
Pobudno zračenje pri 532 nm rezultira SERS spektrima u kojima su jasno vidljive vrpce samo u spektrima veće koncentracije i one potječu od vibracija aromatskih strukturnih motiva **MetB**.



Slika 43. SERS spektri spoja **MetB** na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklenom filter-papiru, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,086 mW

SERS spektri otopina **MetB** različitih koncentracija snimani pri pobudi 785 nm na staklenom filter-papiru tretiranom s AuNP pokazuju velik broj vrpce koje odgovaraju istezanjima i svijanjima veza fenotiazina i dimetilamino skupina (slika 44). Najmanja koncentracija u čijem spektru su vidljive vrpce **MetB** je  $5 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ .

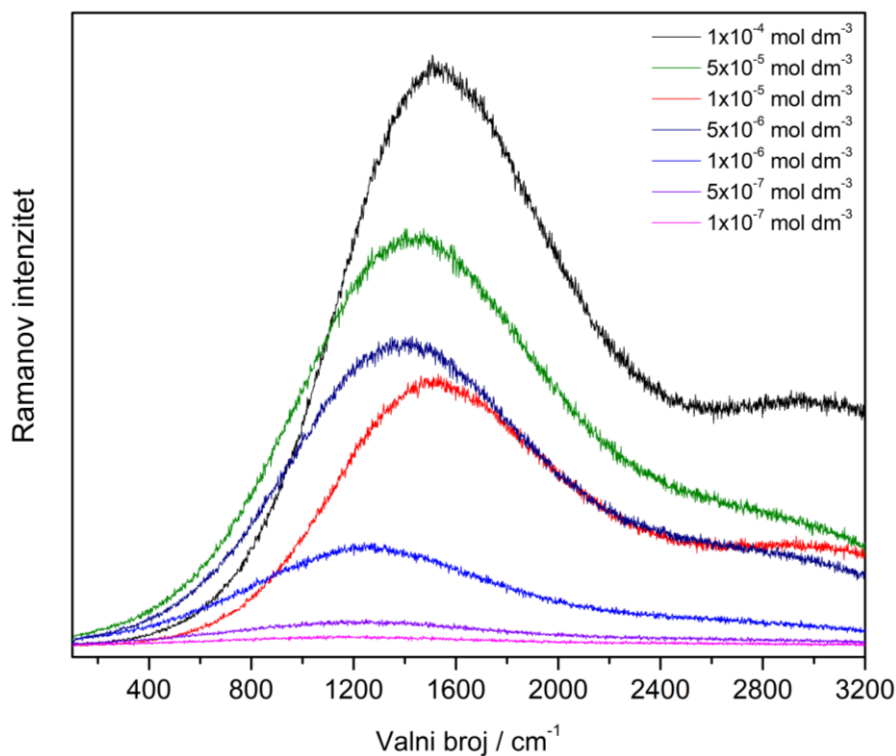




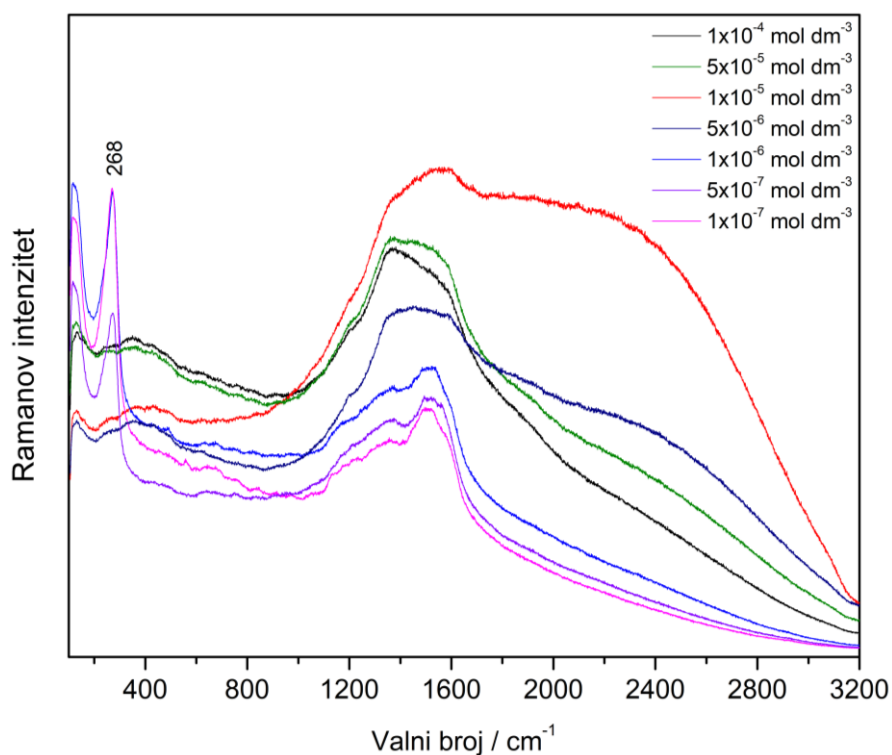
Slika 44. SERS spektri spoja **MetB** na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklenom filter-papiru, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,195  $\mu$ W

Koncentracijski ovisni SERS spektri **RB** na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklenom filter-papiru prikazani su na slikama 45 i 46. Fotografija jednog uzorka **RB** na staklenom filter-papiru tretiranom s nanočesticama zlata prikazana je u Dodatku (slika D13).

Spektri su snimljeni pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm. Dobiveni spektri uzorka **RB** su vrlo slični spektrima prethodno opisanog čvrstog supstrata gdje je kao metal korišteno srebro. Tako je u spektru dobivenom na staklenom filter-papiru s AuNP, pri pobudi 532 nm, zamijećena jedino široka vrpca fluorescencije, dok je u spektru dobivenom s pobudom pri 785 nm dominantna široka vrpca koja potječe od fotoluminescencije stakla.<sup>35</sup>



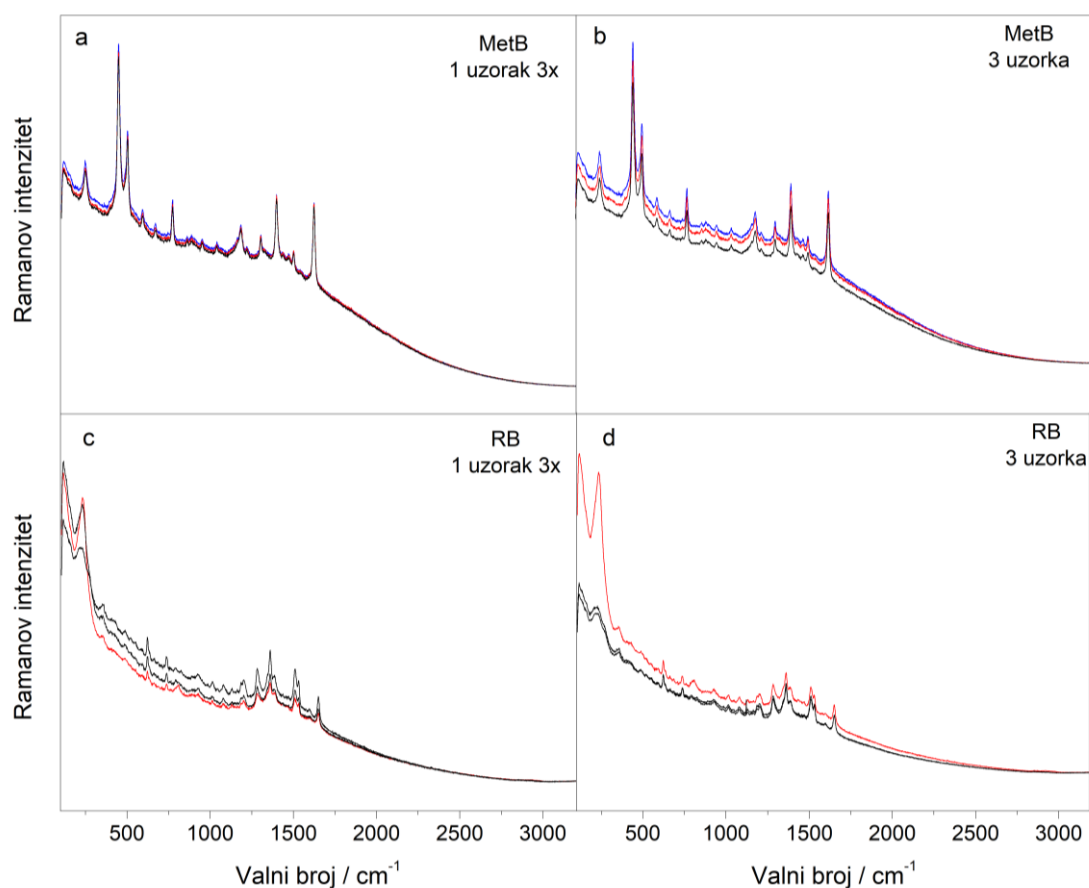
Slika 45. SERS spektri spoja **RB** na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklenom filter-papiru, pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,086  $\mu$ W



Slika 46. SERS spektri spoja **RB** na nanočesticama zlata imobiliziranim na staklenom filter-papiru, pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 97,5 mW

### 4.5. Reproducibilnost

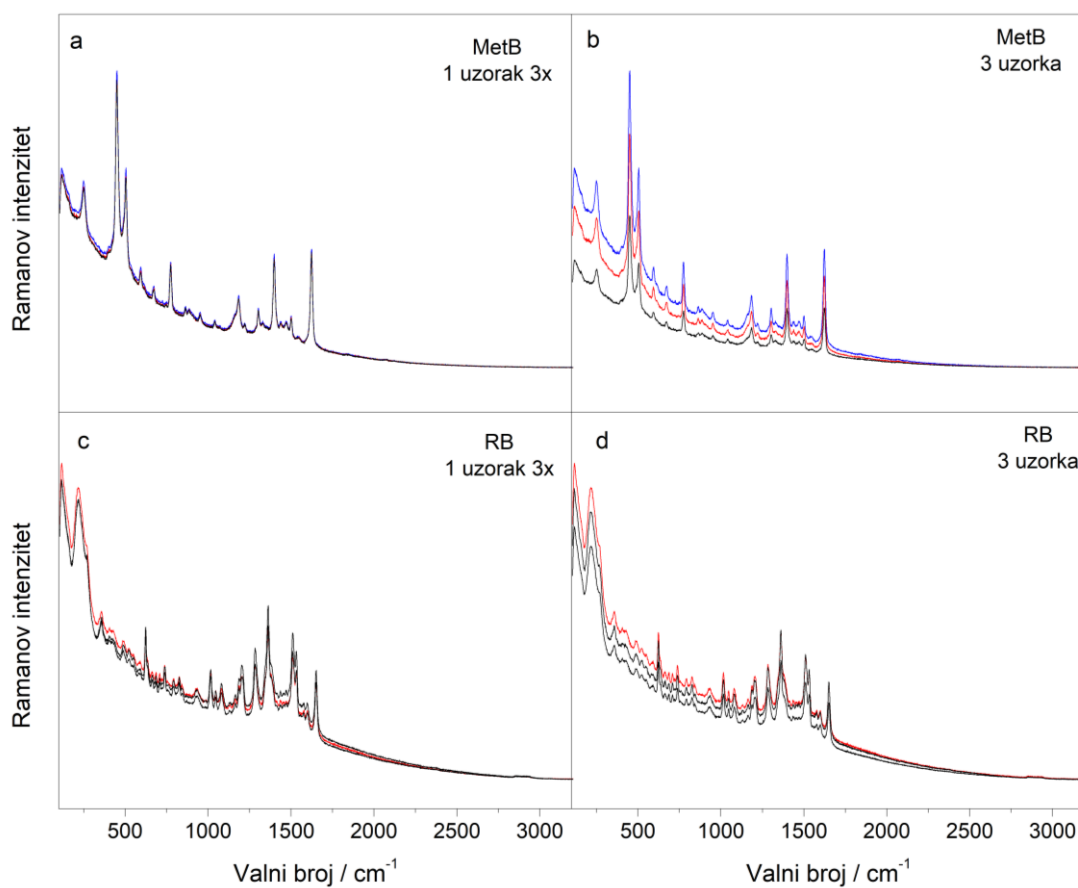
Za određivanje ponovljivosti SERS mjerenja s određenim metalnim supstratom pripremljeni su uzorci boja **MetB** i **RB** koncentracije  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  u koloidnim suspenzijama i na čvrstim supstratima pri pobudi 785 nm. Za svaki metalni supstrat pripremljen je i snimljen isti uzorak tri puta, što daje informaciju o ponovljivosti pripreve uzorka. Također, jedan uzorak je sniman tri puta, pri čemu se uzorak u koloidnoj suspenziji promiješa između snimanja, a kod čvrstih supstrata snima se na tri različita mjesta. Dobiveni spektri (slike 47-54) ukazuju na reproducibilnost korištenog supstrata. Reproducibilnost je izražena kao standardno odstupanje intenziteta vrpce pri  $1623 \text{ cm}^{-1}$  za **MetB** i  $1359 \text{ cm}^{-1}$  za boju **RB**, te se može proučiti u tablici 12.



Slika 47. SERS spektri u koloidu AgNP\_sveži: a) **MetB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,15 mW, b) **MetB**, tri uzorka, snaga lasera 0,15 mW, c) **RB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 300 mW, d) **RB**, tri uzorka, snaga lasera 300 mW.

Svi uzorci su snimani pri valnoj duljini pobude 785 nm.

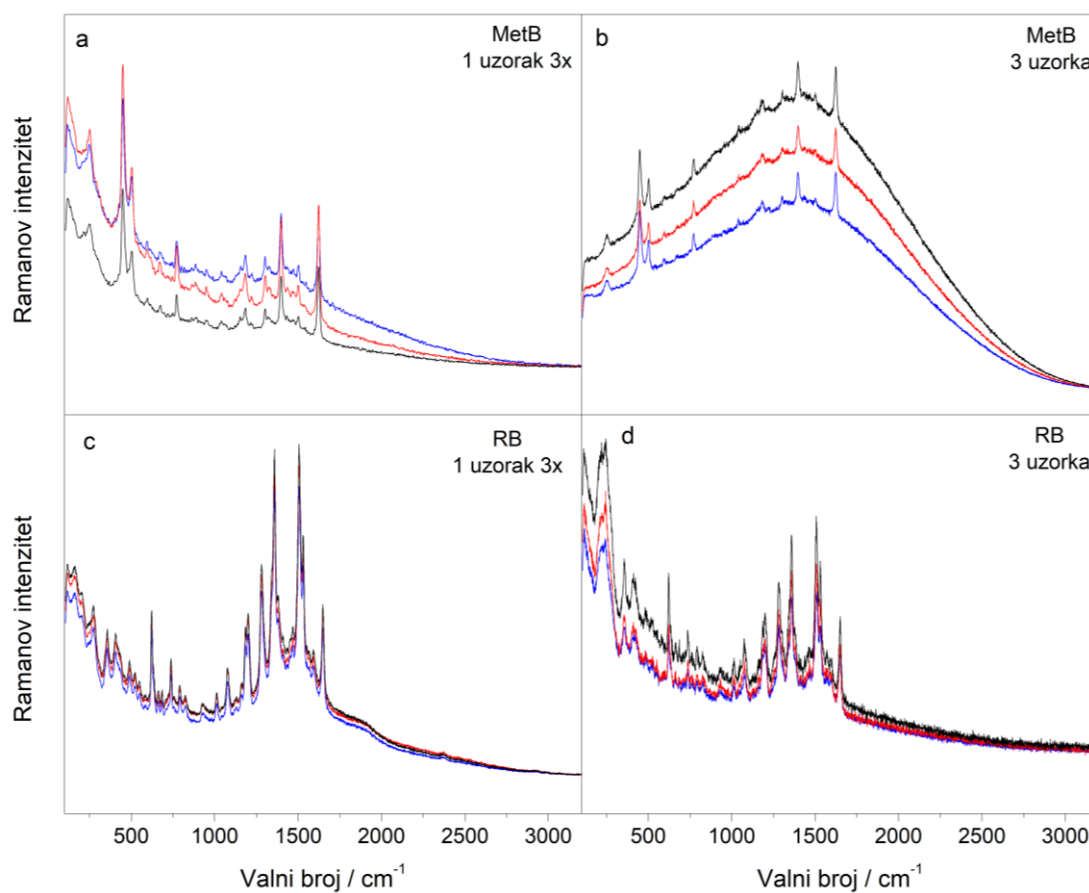
Koncentracija boja je  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$



Slika 48. SERS spektri u koloidu AgNP\_konc: a) **MetB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,15 mW, b) **MetB**, tri uzorka, snaga lasera 0,15 mW, c) **RB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 30 mW, d) **RB**, tri uzorka, snaga lasera 30 mW.

Svi uzorci su snimani pri valnoj duljini pobude 785 nm.

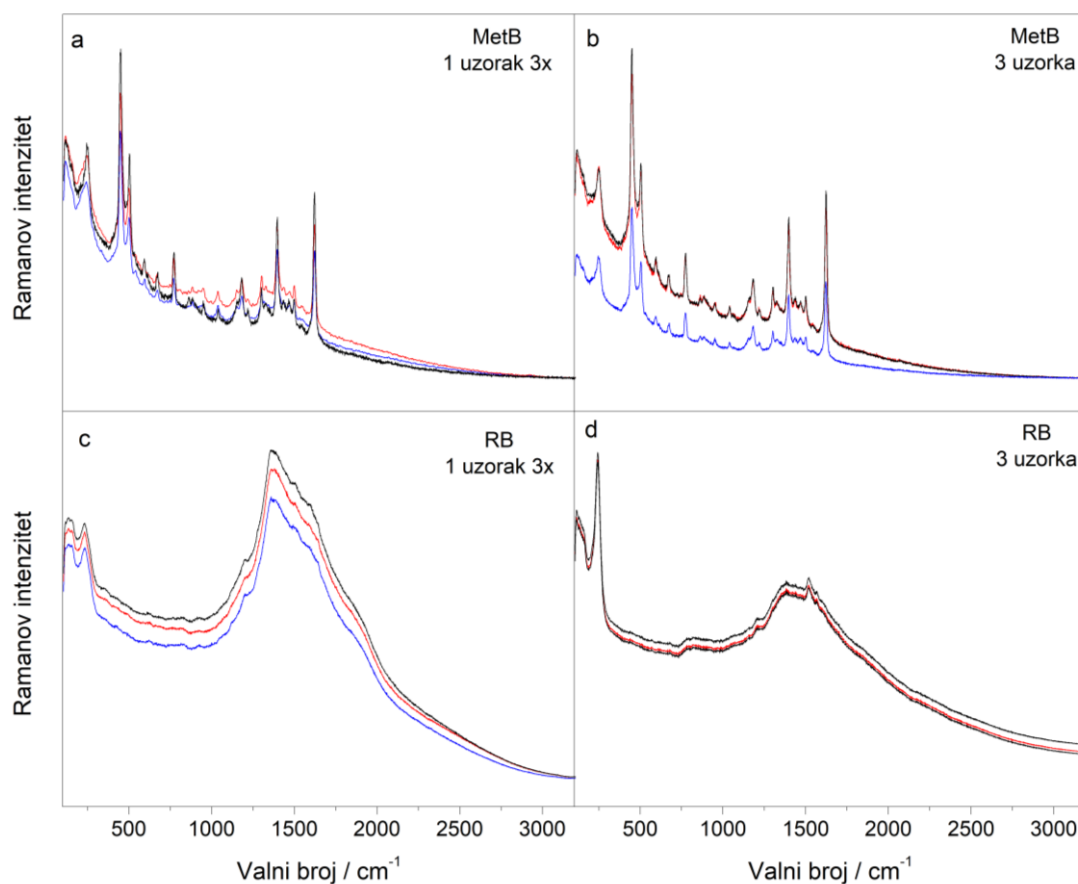
Koncentracija boja je  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$



Slika 49. SERS spektri na AgNP imobiliziranim na staklu: a) **MetB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,0975 mW, b) **MetB**, tri uzorka, snaga lasera 0,0975 mW, c) **RB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,195 mW, d) **RB**, tri uzorka, snaga lasera 0,195 mW.

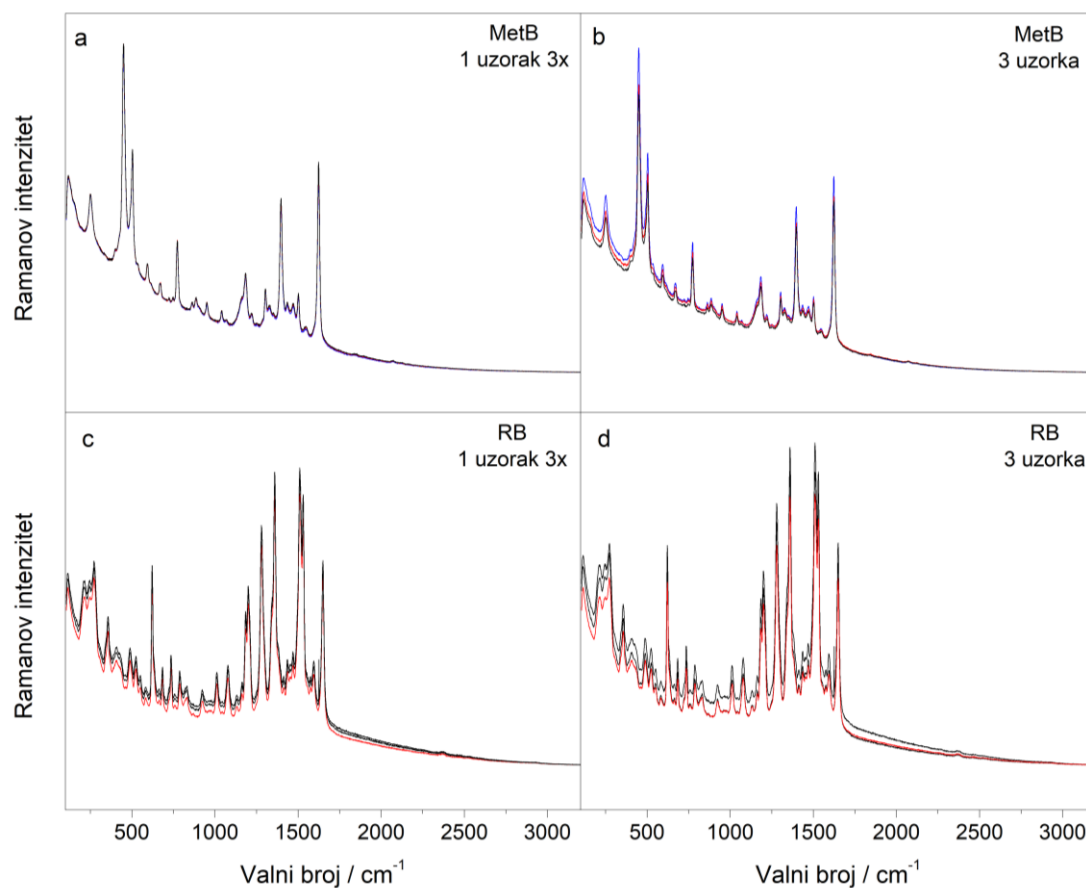
Svi uzorci su snimani pri valnoj duljini pobude 785 nm.

Koncentracija boja je  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$



Slika 50. SERS spektri na AgNP imobiliziranim na staklenom filter-papiru: a) **MetB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,975 mW, b) **MetB**, tri uzorka, snaga lasera 0,975 mW, c) **RB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 195 mW, d) **RB**, tri uzorka, snaga lasera 195 mW. Svi uzorci su snimani pri valnoj duljini pobude 785 nm.

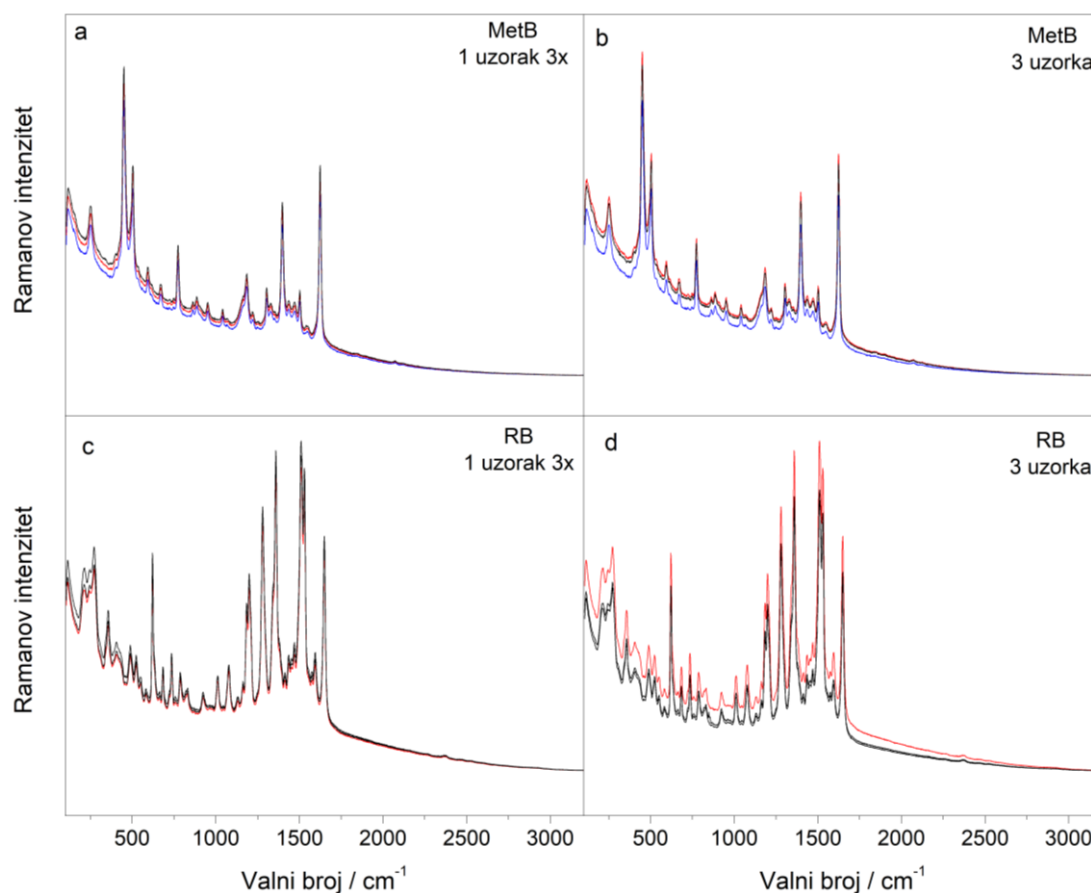
Koncentracija boja je  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$



Slika 51. SERS spektri u koloidu AuNP\_svježi: a) **MetB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,3 mW, b) **MetB**, tri uzorka, snaga lasera 0,3 mW, c) **RB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 15 mW, d) **RB**, tri uzorka, snaga lasera 15 mW.

Svi uzorci su snimani pri valnoj duljini pobude 785 nm.

Koncentracija boja je  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$

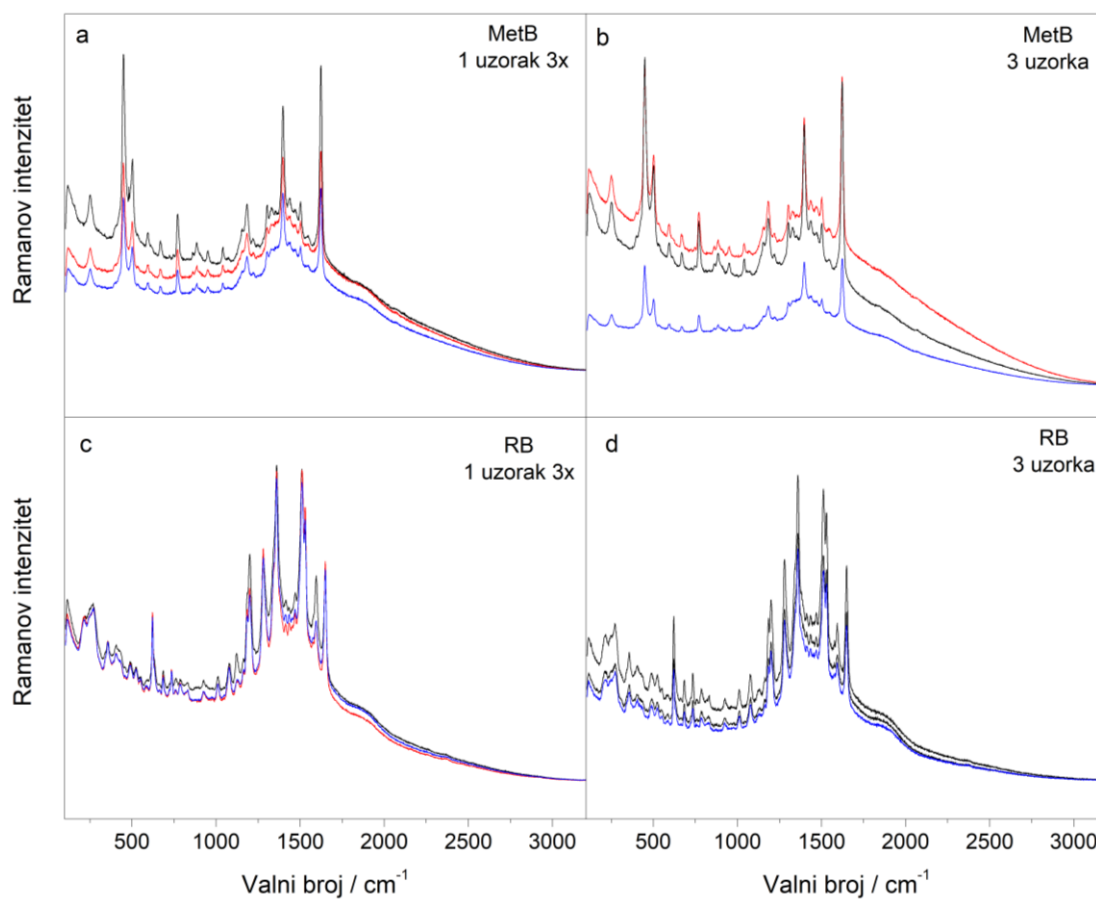


Slika 52. SERS spektri u koloidu AuNP\_konc: a) **MetB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 3 mW, b) **MetB**, tri uzorka, snaga lasera 3 mW, c) **RB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 30 mW, d) **RB**, tri uzorka, snaga lasera 30 mW.

Svi uzorci su snimani pri valnoj duljini pobude 785 nm.

Koncentracija boja je  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$

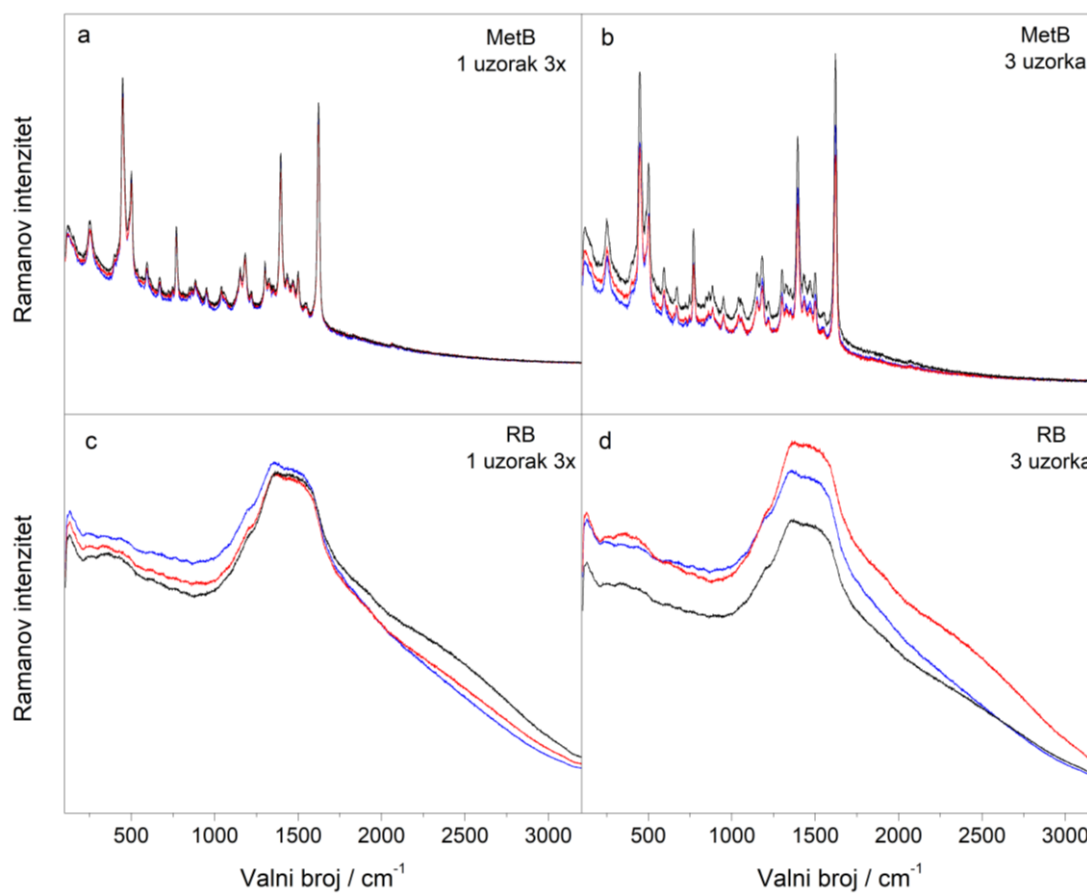




Slika 53. SERS spektri na AuNP imobiliziranim na staklu: a) **MetB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,195 mW, b) **MetB**, tri uzorka, snaga lasera 0,195 mW, c) **RB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,195 mW, d) **RB**, tri uzorka, snaga lasera 0,195 mW.

Svi uzorci su snimani pri valnoj duljini pobude 785 nm.

Koncentracija boja je  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$



Slika 54. SERS spektri na AuNP imobiliziranim na staklenom filter-papiru: a) **MetB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 0,195 mW, b) **MetB**, tri uzorka, snaga lasera 0,195 mW, c) **RB**, jedan uzorak sniman tri puta, snaga lasera 97,5 mW, d) **RB**, tri uzorka, snaga lasera 97,5 mW. Svi uzorci su snimani pri valnoj duljini pobude 785 nm.

Koncentracija boja je  $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$

Tablica 12. Reproducibilnost supstrata izražena pomoću standardnog odstupanja intenziteta vrpce pri  $1623\text{ cm}^{-1}$  za **MetB** i pri  $1359\text{ cm}^{-1}$  za **RB**

SERS supstrat	MetB		RB	
	Jedan uzorak	Tri uzorka	Jedan uzorak	Tri uzorka
Koloid AgNP_svježi	$13\ 001,50 \pm 340,93$	$10\ 149,33 \pm 2\ 701,26$	$25\ 414,37 \pm 1\ 804,56$	$23\ 865,93 \pm 3\ 679,14$
Koloid AgNP_konc	$34\ 347,92 \pm 407,83$	$32\ 498,77 \pm 1\ 492,10$	$25\ 652,90 \pm 351,16$	$25\ 253,74 \pm 3\ 961,29$
AgNP na tretiranom staklu	$8\ 073,66 \pm 1\ 642,81$	$2\ 8413,38 \pm 4\ 463,34$	$20\ 931,16 \pm 1\ 183,89$	$8\ 806,43 \pm 1\ 860,74$
AgNP na staklenom filter-papiru	$5\ 182,93 \pm 783,40$	$9\ 592,18 \pm 2\ 464,29$		
Koloid AuNP_svježi	$50\ 670,47 \pm 1\ 250,58$	$49\ 310,40 \pm 4\ 626,75$	$63\ 253,22 \pm 2\ 333,87$	$66\ 006,16 \pm 4\ 457,03$
Koloid AuNP_konc	$48\ 972,71 \pm 3\ 092,85$	$51\ 042,01 \pm 4\ 421,60$	$137\ 989,70 \pm 4\ 701,94$	$128\ 489,40 \pm 10\ 964,49$
AuNP na tretiranom staklu	$52\ 948,08 \pm 11\ 396,50$	$53\ 465,40 \pm 6\ 423,95$	$84\ 464,79 \pm 1\ 215,16$	$71\ 344,79 \pm 9\ 028,98$
AuNP na staklenom filter-papiru	$12\ 398,93 \pm 602,29$	$8\ 682,55 \pm 1\ 228,63$		

U nizu pripremljenih SERS supstrata srebra i zlata, bolju reproducibilnost pokazuju nanočestice metala dispergirane u koloidnim suspenzijama nego nanočestice imobilizirane na čvrstim nosačima. Svježi koloidi srebra i zlata pokazuju bolju ponovljivost pripreme uzoraka i supstrata, vrlo vjerojatno jer su agregati nanočestica, dobiveni spontanom agregacijom u koncentriranim koloidima nehomogeno raspršeni u koncentriranim suspenzijama. Lošija reproducibilnost pripreme uzoraka opažena je kod uzoraka pripremljenih na tretiranom staklu i staklenom filter-papiru, što se može pripisati nehomogenoj raspodjeli nanočestica na površini čvrstog nosača.<sup>36</sup>

## § 5. ZAKLJUČAK

Istražena je SERS učinkovitost nanočestica srebra i zlata dispergiranih u suspenzijama te imobiliziranih na čvrstim nosačima pomoću dviju boja, metilenskog modrila i rodamina B. U tu svrhu pripremljene su koloidne suspenzije srebra i zlata, redukcijom srebrova nitrata, odnosno tetraklorozlatne(III) kiseline, s trinatrijevim citratom, i kao supstrat korištene su svježe pripravljene te koncentrirane. Staklo tretirano fluorovodičnom kiselinom i stakleni filter-papir korišteni su kao čvrsti nosači. Za svaki supstrat snimljeni su koncentracijski ovisni SERS spektri i određene su granica detekcije te reproducibilnost mjerenja.

Snimljeni su i asignirani čvrsti uzorci i otopine boja metilenskog modrila i rodamina B koncentracije  $c = 2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  pri valnim duljinama pobude 532 i 785 nm.

U koncentriranim suspenzijama srebra i zlata opaža se intenzivnije pojačanje Ramanova raspršenja **MetB** i **RB** u odnosu na svježe pripravljene koloide AgNP\_svjježi i AuNP\_svjježi pri valnoj duljini pobude 785 nm. Zapaženo je rezultat povećanja broja metalnih nanočestica u jednakom volumenu suspenzije nakon centrifugiranja svježeg koloida, pri čemu se uklanjaju citratni anioni koji stabiliziraju nanočestice metala što dovodi do spontane agregacije i nastanka mjesta velikog pojačanja raspršenja („vruće točke“). Pozitivno nabijene molekule boja **MetB** i **RB** elektrostatski su privučene citratnim anionima na površinu metala pri čemu je najjače raspršenje zračenja opaženo za strukturne motive smještene blizu metalne površine. Koncentracijski ovisni SERS spektri boja, snimani u koloidnim suspenzijama, pri pobudnom zračenju 785 nm, ne pokazuju linearnu promjenu intenziteta vrpca s koncentracijom **MetB** i **RB**, što upućuje na različite orijentacije molekula istraživanih boja na površini metala. Većina vrpca u spektrima potječe od vibracija aromatskih sustava, što znači da se molekula **RB** smješta središnjim ksantenskim sustavom okomito na površinu metala, te su spektri u suspenzijama srebra i zlata vrlo slični. SERS spektri **MetB** u koncentriranoj suspenziji zlata pri pobudi 785 nm pokazuju najveće koncentracijski ovisne promjene u spektru, gdje pojava novih vrpca, zajedno s promjenama intenziteta određenih vrpca, upućuje na drugačije slaganje molekula **MetB** na površini zlata, u odnosu na površinu srebra. Vrlo vjerojatno se atom sumpora iz fenotiazinskog sustava okreće prema površini zlata, obzirom da zlato preferirano tvori kemijsku vezu s atomom sumpora, dok su u koloidu srebra molekule **MetB** vezane na supstrat preko atoma dušika fenotiazinskog sustava. Spektri snimljeni pri pobudi 532 nm daju slabije vrpce

**MetB** kada se koriste nanočestice srebra i zlata u koloidnoj suspenziji kao supstrati, dok spektre rodamina B zasjenjuje široka vrpca fluorescencije.

U odnosu na koloidne suspenzije, nanočestice srebra i zlata imobilizirane na čvrstim podlogama nisu se pokazale reproducibilnim supstratima, što je posljedica neravnomjerne raspodjele nanočestica metala na površini supstrata. Staklo tretirano fluorovodičnom kiselinom pokazalo se kao bolji nosač nego stakleni filter-papir, što je posebno vidljivo korištenjem pobude pri 785 nm. Dobiveni SERS spektri boja na tretiranom staklu sadrže intenzivne vrpce koje potječu od vibracija metilenskog modrila i rodamina B. Kada se koristi stakleni filter-papir kao nosač za čvrsti supstrat kod snimanja SERS spektara rodamina B, široka vrpca fotoluminescencije stakla prekriva cijeli spektar i nisu zamijećene karakteristične vrpce vibracija **RB**.

Koncentrirane koloidne suspenzije srebra i zlata, kao i nanočestice srebra i zlata imobilizirane na tretiranom staklu, pokazuju izvrsnu SERS reproducibilnost, dok priprava mjernih uzoraka u svim koloidnim suspenzijama pokazuje zadovoljavajuću ponovljivost, za razliku od tretiranog stakla i staklenog filter-papira, gdje se slabija ponovljivost može pripisati neravnomjernoj imobilizaciji nanočestica na površini čvrstog nosača.

## § 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

AgNP – srebrne nanočestice

(ar) – aromat

AuNP – zlatne nanočestice

$\delta$  – deformacija

(dma) – dimetilamino

ELISA – enzimski imunološki test (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

(e) – etil

(ft) – fenotiazin

ip – u ravnini

(ks) – ksanten

MAO – monoamin oksidaza

**MetB** – metilensko modriilo

v – istezna vibracija (svijanje)

NIR – blisko infracrveno

oop – izvan ravnine

**RB** – rodamin B

SERS – površinski pojačano Ramanovo raspršenje

UV – ultraljubičasto

Vis – vidljivo

w – slaba (engl. *weak*)

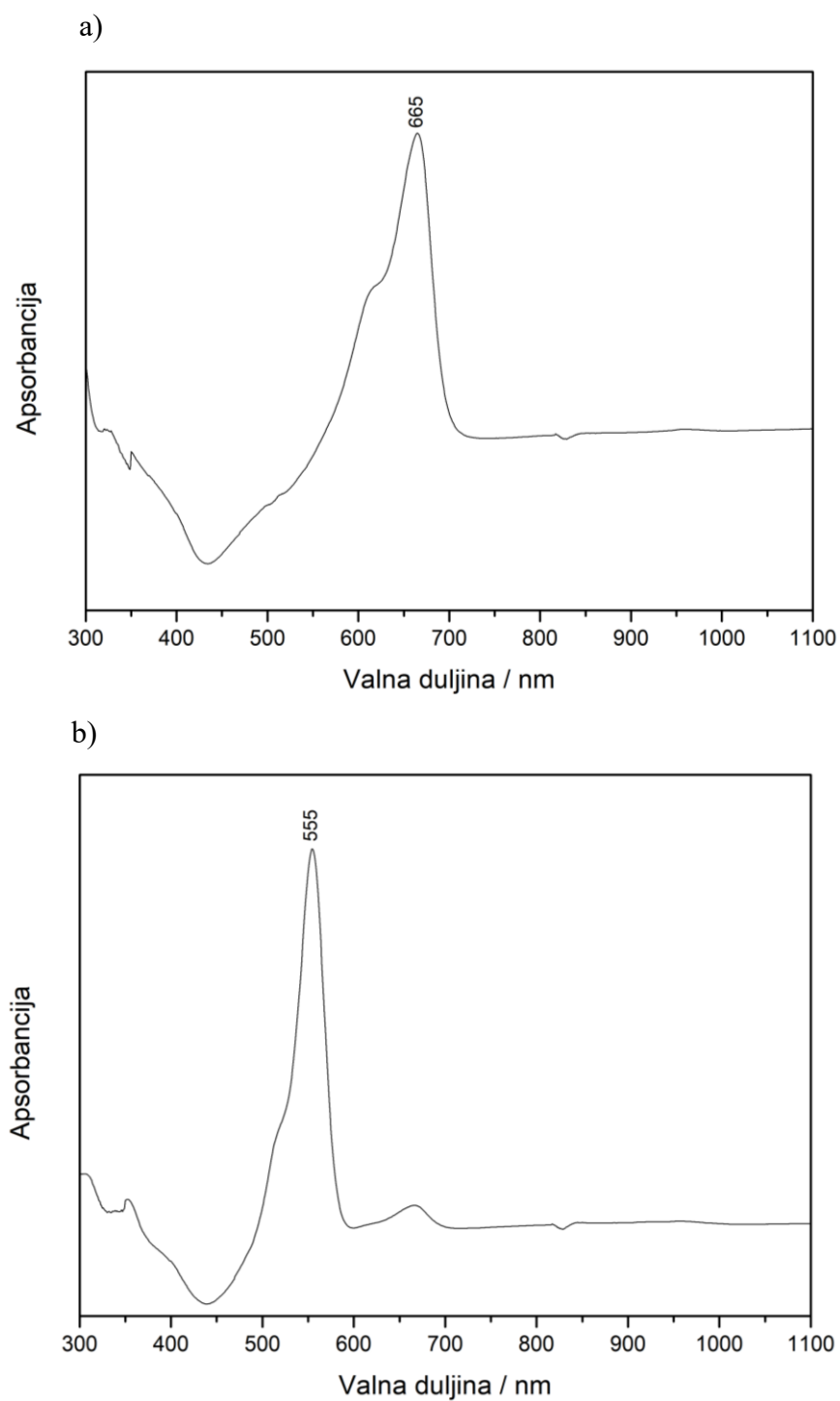
## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. L. Mikac, *Površinski pojačano Ramanovo raspršenje: od koloidne otopine do stabilnog supstrata*, Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2016, str. 1–31.
2. M. Ratkaj, *Primjena spektroskopije površinski pojačanog Ramanovog raspršenja u istraživanju farmaceutski aktivnih tvari*, Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2016, str. 1–18.
3. R. Aroca, *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*, John Wiley & Sons, West Sussex, 2006.
4. M. Kahraman, E. R. Mullen, A. Korkmaz, S. Wachsmann-Hogiu, *Nanophotonics* **6** (2017) 831–852.
5. S. Sánchez-Cotrés, J. V. García-Ramos, *J. Raman Spectrosc.* **29** (1998) 365–371.
6. <https://www.edinst.com/blog/surfaced-enhanced-raman-scattering-sers/> (datum pristupa: 10. srpnja 2021.)
7. <https://www.britannica.com/science/methylene-blue> (datum pristupa: 15. srpnja 2021.)
8. <https://www.biocompare.com/26085-Methylene-Blue/> (datum pristupa: 15. srpnja 2021.)
9. <http://www.rsc.org/suppdata/ra/c4/c4ra14184a/c4ra14184a1.pdf> (datum pristupa: 15. srpnja 2021.)
10. [https://hr.wikipedia.org/wiki/Rodamin\\_B](https://hr.wikipedia.org/wiki/Rodamin_B) (datum pristupa: 15. srpnja 2021.)
11. C. H. Munro, W. E. Smith, M. Garner, J. Clarkson, P. C. White, *Langmuir* **11** (1995) 3712–3720.
12. Z. Ye, C. Li, Y. Xu, S. E. J. Bell, *Analyst* **144** (2013) 448–453.
13. J. C. Wolf, L. Lange, *Glass Materials Research Progress*, Nova Science Publishers, Hauppauge, 2013, str. 155–167.
14. L. Zhang, P. Li, X. Bu, J. Wu, X. Zhang, B. Zhao, Y. Tian, *Anal. Bioanal. Chem.* **410** (2018) 7599–7609.
15. A. Bolz, U. Panne, K. Rurack, M. Buurman, *Anal. Methods* **8** (2016) 1313–1318.
16. F. Muniz-Miranda, A. Pedone, M. Muniz-Miranda, *ACS Omega* **3** (2018) 13530–13537.
17. L. Marciniak, M. Nowak, A. Trojanowska, B. Tylkowski, R. Jastrzab, *Materials* **13** (2020) 5444–5456.

18. Z. Huang, X. Chen, Y. Li, J. Chen, J. Lin, J. Wang, J. Lei, R. Chen, *Appl. Spectrosc.* **7** (2013) 757–760.
19. Y. Zhang, F. Wang, H. Yin, M. Hong, *Advances in Nanoparticles* **2** (2013) 104–111.
20. G.-N. Xiao, S.-Q. Man, *Chem. Phys. Lett.* **447** (2007) 305–309.
21. X. Dong, H. Gu, J. Kang, X. Yuan, J. Wu, *J. Mol. Struct.* **984** (2010) 396–401.
22. S. H. de Araujo Nicolai, P. R. P. Rodrigues, S. M. L. Agostinho, J. C. Rubim, *J. Electroanal. Chem.* **527** (2002) 103–111.
23. C. H. Sun, M. L. Wang, Q. Feng, W. Liua, C. X. Xub, *Russ. J. Phys. Chem. A* **2** (2015) 291–296.
24. S. Lin, W. Hasi, X. Lin, S. Han, X. Lou, F. Yang, D. Lin, Z. Lu, *Anal. Methods* **7** (2015) 5289–5294.
25. J. Zhang, X. Li, X. Sun, Y. Li, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 12544–12548.
26. J. Li-Lin, *Acta Phys.-Chim. Sin.* **30** (2014) 1987–1992.
27. X. He, Y. Gao, M. Mahjouri-Samani, P. Black, J. Allen, M. Mitchell, W. Xiong, Y. Zhou, L. Jiang, Y. Lu, *Nanotechnology* **23** (2012) 205702–205711.
28. O. Pandoli, R. D. S. Martins, E. C. Romani, S. Paciornik, M. H. D. P. Mauricio, H. D. L. Alves, F. V. Pereira-Meirelles, E. L. Luz, S. M. L. Koller, H. Valiente, K. Ghavami, *RSC Adv.* **6** (2016) 98325–98336.
29. R. Chen, L. Zhang, X. Li, L. Ong, Y. G. Soe, N. Sinsua, S. L. Gras, R. F. Tabor, X. Wang, W. Shen, *ACS Sens.* **2** (2017) 1060–1067.
30. C. K. A. Nyamekye, S. C. Weibel, E. A. Smith, *J Raman Spectrosc.* **52** (2021) 1246–1255.
31. C. Y. Chang, Y.-M. Chen, Y.-B. Huang, C.-H. Lai, U.-S. Jeng, Y.-H. Lai, *Sci Rep* **9** (2019) 20174–20179.
32. R. Holze, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17** (2015) 21364–21372.
33. M. Zannotti, A. Rossi, R. Giovannetti *Coatings* **10** (2020) 288–299.
34. N. X. Dinh, T. Q. Huy, L. V. Vu, L. T. Tam, A.-T. Le, *J. Sci.: Adv. Mater. Devices* **1** (2016) 84–89.
35. P. J. Launer, *Silicon Compounds: Silanes & Silicones*, Gelest Inc, Morrisville, 2013, str. 175–178.
36. D.-B. Grys, R. Chikkaraddy, M. Kamp, O. A. Scherman, J. J. Baumberg, B. de Nijs *J. Raman Spectrosc.* **52** (2021) 412–419.

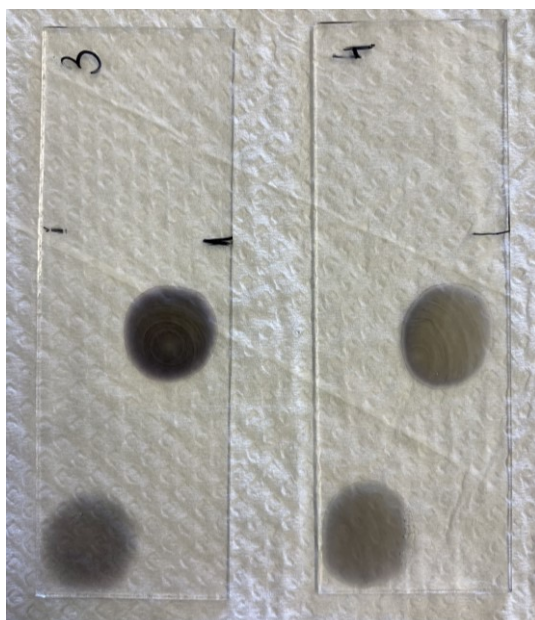


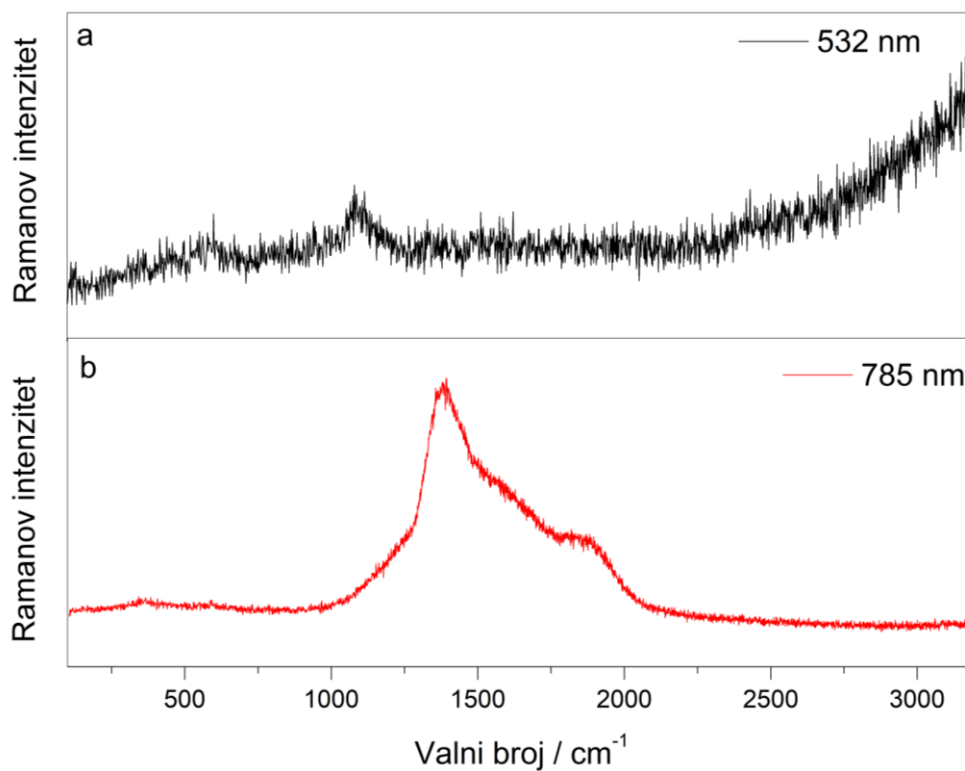
## § 8. DODATAK



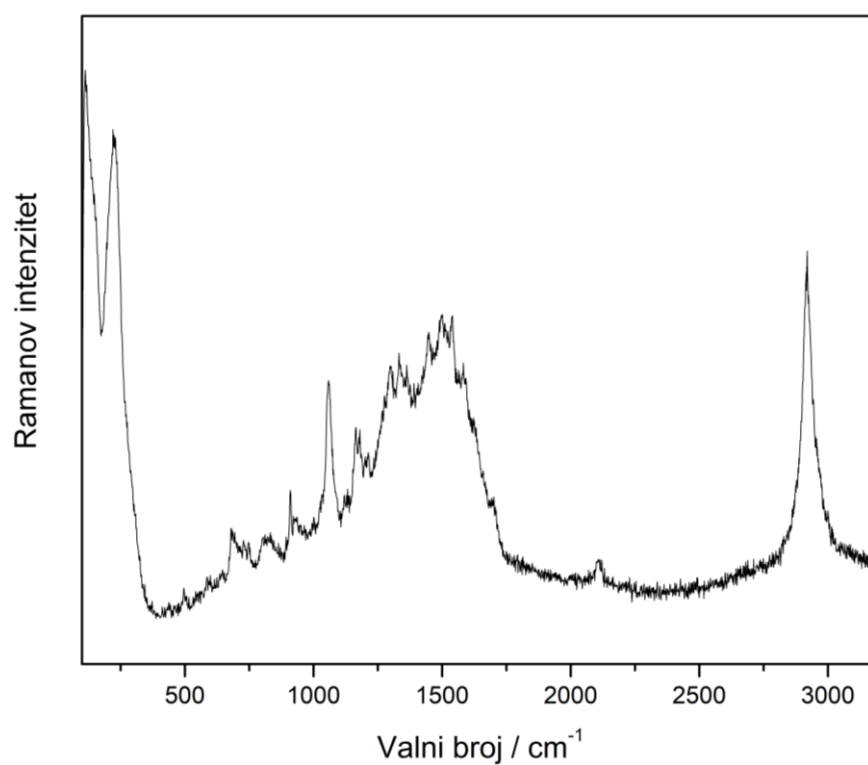
Slika D1. UV/Vis spektri: a) otopine **MetB** b) otopine **RB**.

Koncentracija boja bila je  $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$

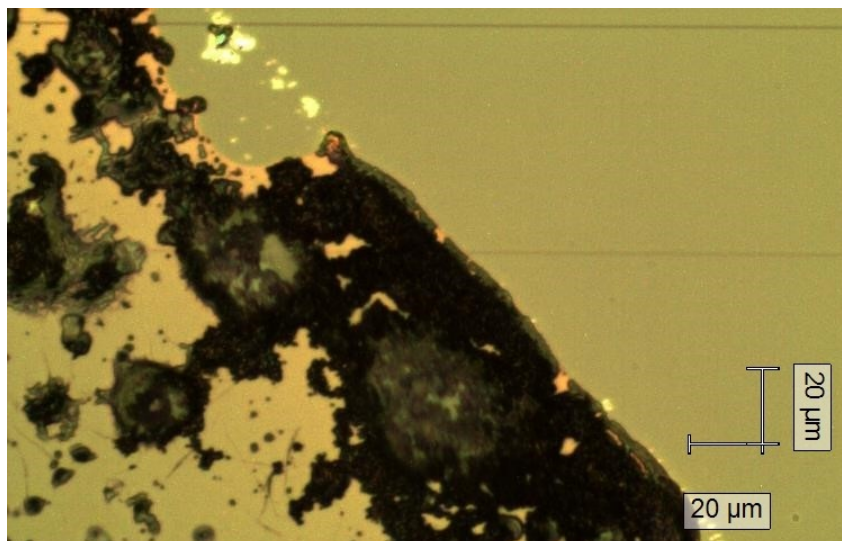
Slika D2. **MetB** i **RB** na tretiranom staklu s AgNPSlika D3. **MetB** i **RB** na tretiranom staklu s AuNP



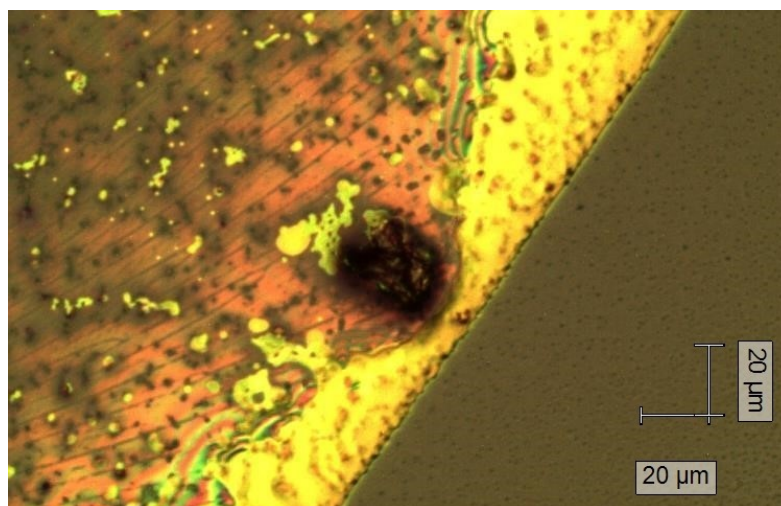
Slika D4. Čisto tretirano staklo a) pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 0,43 mW  
i b) pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 0,098 mW



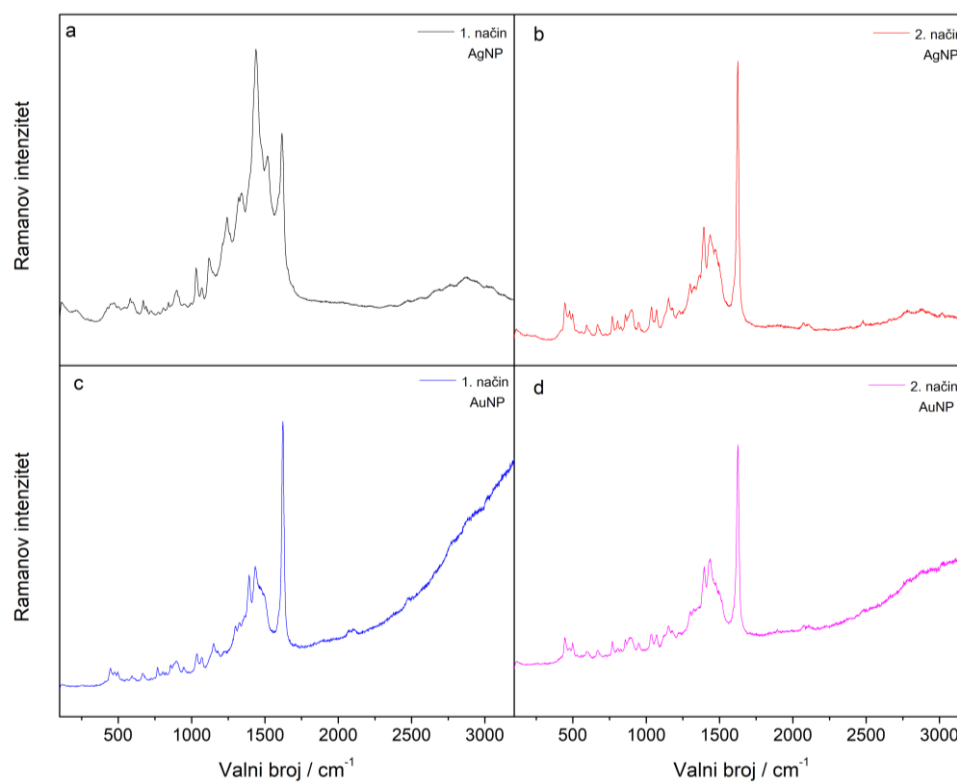
Slika D5. AgNP na tretiranom staklu pri valnoj duljini pobude 532 nm



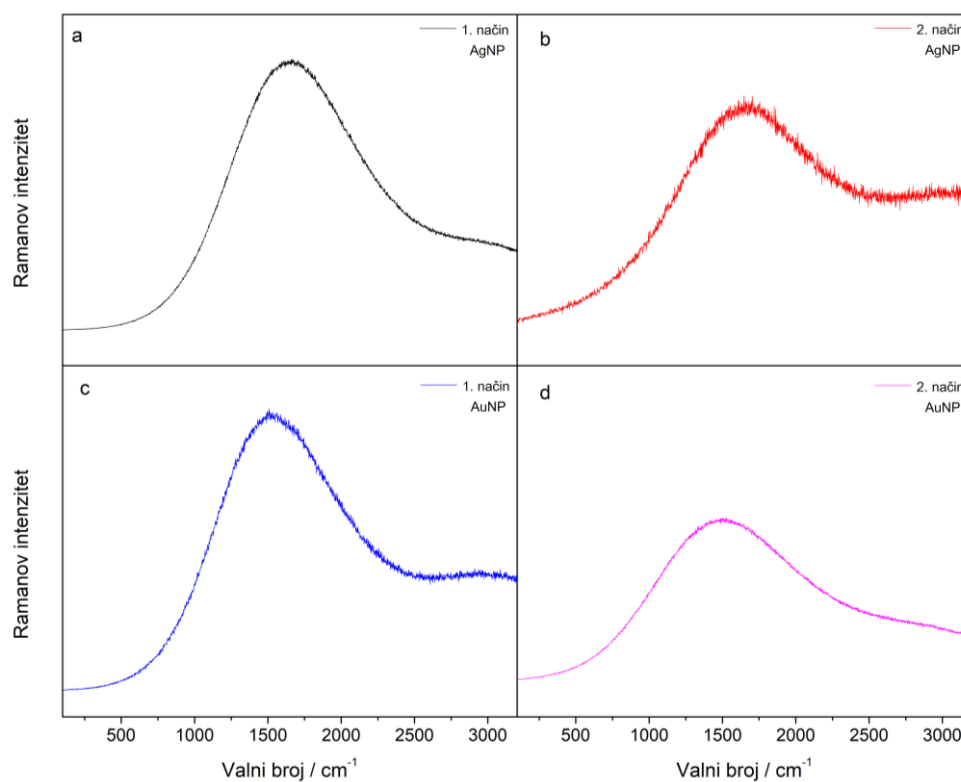
Slika D6. **MetB** ( $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) na tretiranom staklu s AgNP, snimano pod objektivom uvećanja  $\times 20$



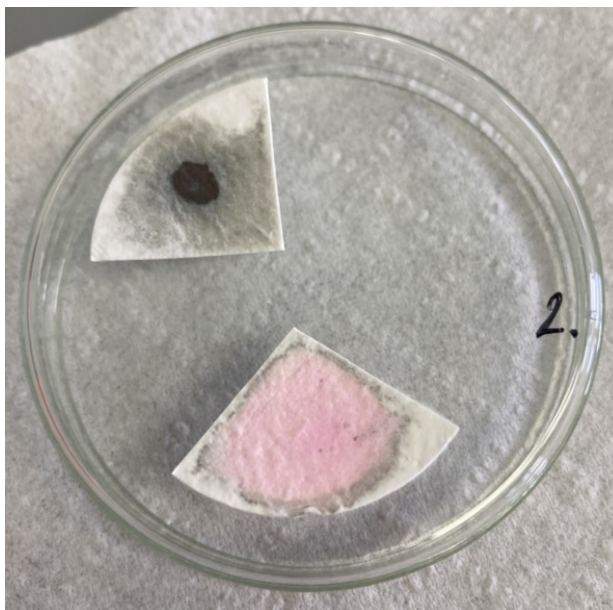
Slika D7. **RB** ( $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) na tretiranom staklu s AuNP, snimano pod objektivom uvećanja  $\times 20$



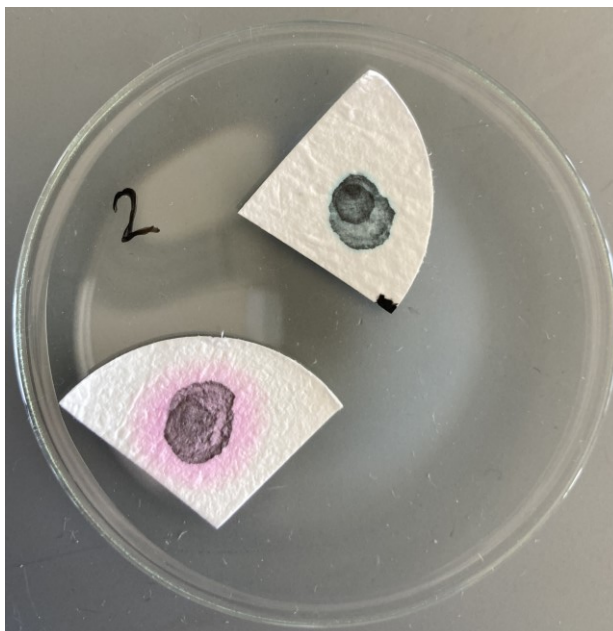
Slika D8. SERS spektri **MetB** na staklenom filter-papiru pri valnoj duljini pobude 532 nm: a) s AgNP, uzorak pripremljen na prvi način, snaga lasera 0,43 mW, b) s AgNP, uzorak pripremljen na drugi način, snaga lasera 0,43 mW, c) s AuNP, uzorak pripremljen na prvi način, snaga lasera 0,086 mW i d) s AuNP, uzorak pripremljen na drugi način, snaga lasera 0,086 mW



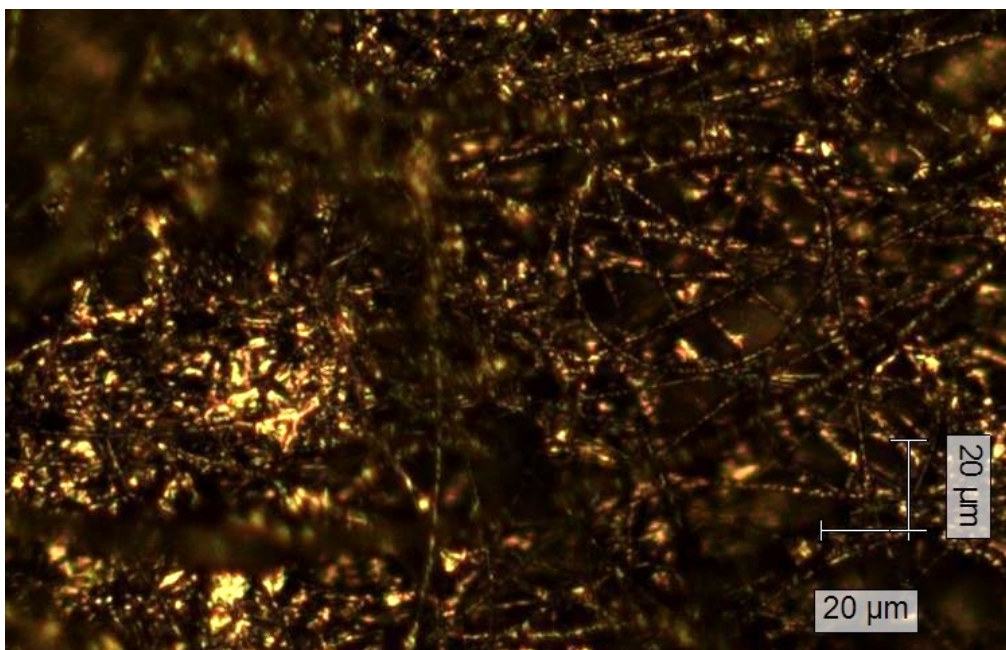
Slika D9. SERS spektri **RB** na staklenom filter-papiru pri valnoj duljini pobude 532 nm: a) s AgNP, uzorak pripremljen na prvi način, snaga lasera 0,086  $\mu\text{W}$ , b) s AgNP, uzorak pripremljen na drugi način, snaga lasera 0,086  $\mu\text{W}$ , c) s AuNP, uzorak pripremljen na prvi način, snaga lasera 0,086  $\mu\text{W}$  i d) s AuNP, uzorak pripremljen na drugi način, snaga lasera 0,086  $\mu\text{W}$



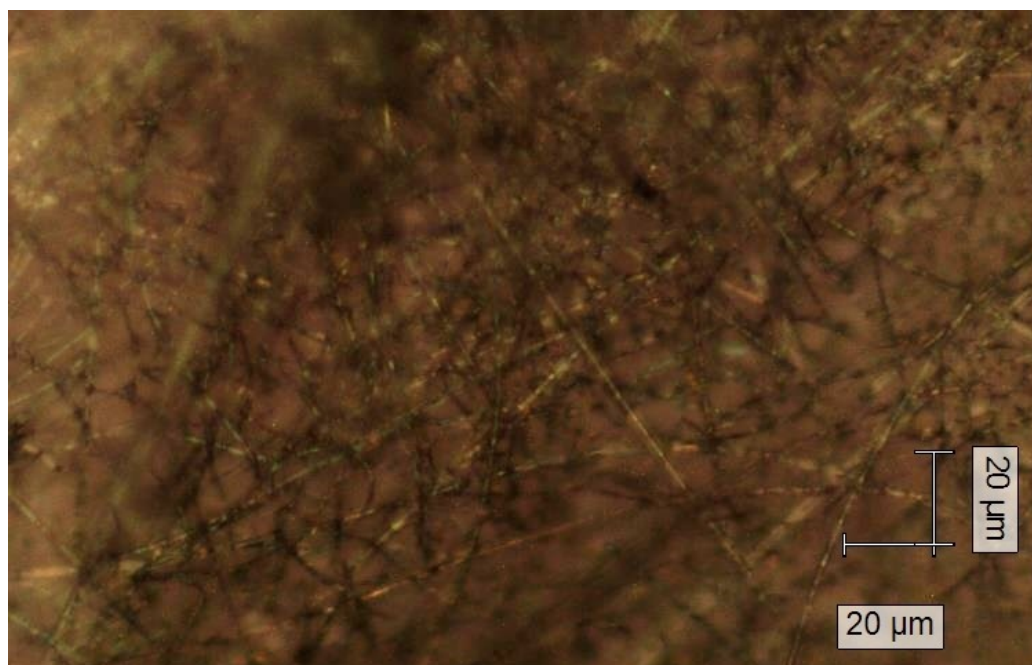
Slika D10. Otopine **MetB** i **RB** koncentracija  $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$  na staklenom filter-papiru s AgNP



Slika D11. Otopine **MetB** i **RB** koncentracija  $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$  na staklenom filter-papiru s AuNP

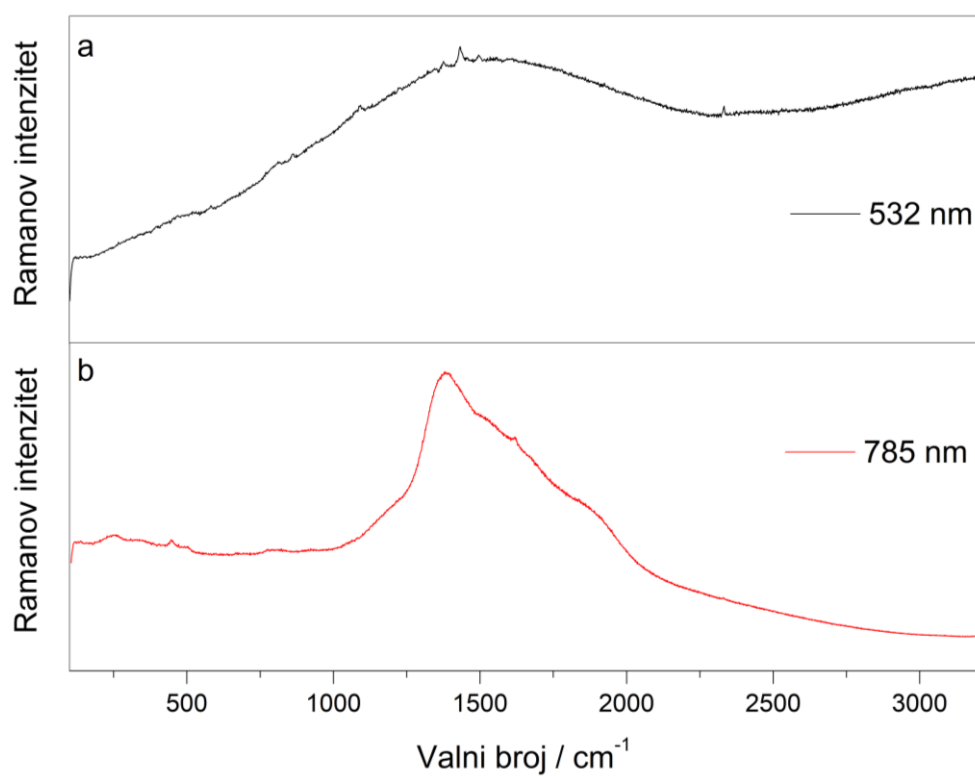


Slika D12. **MetB** ( $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) na staklenom filter-papiru tretiranom s AgNP, snimano pod objektivom uvećanja  $\times 20$



Slika D13. **RB** ( $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) na staklenom filter-papiru tretiranom s AuNP, snimano pod objektivom uvećanja  $\times 20$





Slika D14. Ramanovi spektri čistog staklenog filter-papira: a) pri valnoj duljini pobude 532 nm, snaga lasera 86 mW i b) pri valnoj duljini pobude 785 nm, snaga lasera 195 mW

## § 9. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci

Ime i prezime: Izabela Đurasović

Datum rođenja: 11. rujna 1997.

Mjesto rođenja: Zagreb

### Obrazovanje

2004–2012	Osnovna škola Nikole Tesle, Zagreb
2012–2016	XVI. gimnazija, Zagreb
2016–2019	Preddiplomski sveučilišni studij Kemija, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb
2019–	Diplomski sveučilišni studij Kemija, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

### Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2015–2020	Znanstveni piknik
2017–2019	Otvoreni dan kemije