

# Sinteza nanočestičnog poroznog silicija za primjene u spektroskopiji površinski pojačanog Ramanovog raspršenja

---

**Sabolić, Nikola**

**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:217:849190>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-22**



*Repository / Repozitorij:*

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





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Nikola Sabolić

**SINTEZA NANOČESTIČNOG POROZNOG  
SILICIJA ZA PRIMJENE U  
SPEKTROSKOPIJI POVRŠINSKI  
POJAČANOG RAMANOVOG RASPRŠENJA**

**Diplomski rad**

predložen Kemijskom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog zvanja

magistra kemije

Zagreb, 2021. godina.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Laboratoriju za molekulsku fiziku i sinteze novih materijala Instituta Ruđer Bošković pod mentorstvom dr. sc. Lare Mikac, zn. sur. Nastavnik imenovan od strane Kemijskog odsjeka je prof. dr. sc. Snežana Miljanić.

## Zahvale

*Zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Lari Mikac na vodstvu, ljubaznosti i susretljivosti tijekom izrade mog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem prof. dr. sc. Snežani Miljanić, kao i svim djelatnicima Prirodoslovno-matematičkog fakulteta na prenesenom znanju.*

*Hvala voditelju Laboratorija za molekulsku fiziku i sinteze novih materijala dr. sc. Mili Ivandi što me je prihvatio u svoj laboratorij te mi na taj način omogućio izradu diplomskog rada.*

*Hvala Matei, Ivanu, Nikoli i Vlatku kao i ostalim suradnicima Laboratorija za molekulsku fiziku i sinteze novih materijala na stručnim savjetima tijekom izrade eksperimentalnog dijela diplomskog rada.*

*Posebna zahvala ide mojoj obitelji koja mi je bila neprestani oslonac i snaga tijekom cijelog školovanja.*

# Sadržaj

<b>SAŽETAK .....</b>	<b>VI</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>VII</b>
<b>§ 1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Ramanova spektroskopija .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Spektroskopija površinski pojačanog Ramanovog raspršenja .....</b>	<b>6</b>
2.2.1. <i>Mehanizmi pojačanja .....</i>	<i>6</i>
2.2.1.1. <i>Elektromagnetsko pojačanje .....</i>	<i>6</i>
2.2.1.2. <i>Kemijsko pojačanje .....</i>	<i>6</i>
2.2.1.3. <i>Faktor pojačanja .....</i>	<i>7</i>
2.2.2. <i>Plazmوني materijali .....</i>	<i>7</i>
2.2.3. <i>Primjena SERS metode .....</i>	<i>8</i>
<b>2.3. Nanotehnologija .....</b>	<b>8</b>
2.3.1. <i>Nanočestice .....</i>	<i>9</i>
2.3.1.1. <i>Ag nanočestice .....</i>	<i>10</i>
2.3.2. <i>Porozni silicij (PSi) .....</i>	<i>10</i>
<b>2.4. Koloidne otopine .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5. Metode za morfološku karakterizaciju nanočestica .....</b>	<b>11</b>
2.5.1. <i>Transmisijska elektronska mikroskopija .....</i>	<i>11</i>
2.5.2. <i>Skenirajuća elektronska mikroskopija .....</i>	<i>13</i>
2.5.3. <i>Energijski-disperzivna spektroskopija rendgenskih zraka .....</i>	<i>14</i>
2.5.4. <i>UV/Vis apsorpcijska spektrofotometrija .....</i>	<i>15</i>
2.5.5. <i>Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom .....</i>	<i>16</i>
2.5.6. <i>Dinamičko raspršenje svjetlosti .....</i>	<i>17</i>
2.5.7. <i>Metode određivanja površine poroznog materijala i veličine pora .....</i>	<i>18</i>
<b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1. Kemikalije .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2. Probna molekula .....</b>	<b>21</b>
3.2.1. <i>4-merkaptofenilborna kiselina, 4-MPBA .....</i>	<i>21</i>
<b>3.3. Kemijska sinteza .....</b>	<b>21</b>
3.3.1. <i>Kemijska sinteza SiO<sub>2</sub>, (uzorak S) .....</i>	<i>21</i>
3.3.2. <i>Kemijska sinteza poroznog silicija, (uzorak PSi) .....</i>	<i>22</i>
3.3.3. <i>Kemijska sinteza Ag na SiO<sub>2</sub>, (uzorak Ag-S) .....</i>	<i>23</i>

3.3.4. <i>Kemijska sinteza SiO<sub>2</sub> na Ag, (uzorak S-Ag)</i> .....	24
3.3.5. <i>Kemijska sinteza Ag na Si pločici (HF), (uzorak Ag-w)</i> .....	24
3.3.6. <i>Kemijska sinteza Ag na PSi (HF), (uzorak PSi-HF-Ag)</i> .....	24
3.3.7. <i>Kemijska sinteza Ag na PSi uz formaldehid, (uzorak PSi-Ag)</i> .....	24
3.3.8. <i>Kemijska sinteza dvostruke količine Ag na PSi uz formaldehid, (uzorak PSi-2x Ag)</i> .....	25
<b>3.4. Priprema uzoraka za SERS mjerenja</b> .....	<b>25</b>
3.4.1. <i>Priprema analita u koloidnoj suspenziji</i> .....	25
<b>3.5. Mjerni uređaji</b> .....	<b>26</b>
3.5.1. <i>Transmisijska elektronska mikroskopija</i> .....	26
3.5.2. <i>Skenirajuća elektronska mikroskopija</i> .....	26
3.5.3. <i>Određivanje pH vrijednosti</i> .....	27
3.5.4. <i>UV/Vis apsorpcijska spektroskopija</i> .....	27
3.5.5. <i>FT-IR spektroskopija</i> .....	27
3.5.6. <i>Dinamičko raspršenje svjetlosti</i> .....	28
3.5.7. <i>Mjerenje površine poroznih čestica i veličine pora</i> .....	29
3.5.8. <i>Snimanje Ramanovih spektara i SERS spektara</i> .....	29
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>30</b>
4.1. <b>Karakterizacija skenirajućom elektronskom mikroskopijom i energijski-disperzivnom spektroskopijom</b> .....	<b>30</b>
4.2. <b>Karakterizacija transmisijskom elektronskom mikroskopijom</b> .....	<b>34</b>
4.3. <b>Karakterizacija UV/Vis spektroskopijom</b> .....	<b>35</b>
4.4. <b>Karakterizacija FT-IR spektroskopijom</b> .....	<b>36</b>
4.5. <b>Karakterizacija metodom dinamičkog raspršenja svjetlosti</b> .....	<b>37</b>
4.6. <b>Određivanje površine poroznih čestica i veličina pora</b> .....	<b>39</b>
4.7. <b>SERS spektroskopija</b> .....	<b>42</b>
<b>§ 5. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>49</b>
<b>§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA</b> .....	<b>50</b>
<b>§ 7. LITERATURNI IZVORI</b> .....	<b>51</b>
<b>§ 8. ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>LVI</b>



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

Diplomski rad

## SAŽETAK

### SINTEZA NANOČESTIČNOG POROZNOG SILICIJA ZA PRIMJENE U SPEKTROSKOPIJI POVRŠINSKI POJAČANOG RAMANOVOG RASPRŠENJA

Nikola Sabolić

Spektroskopija površinski pojačanog Ramanovog raspršenja (SERS) je metoda u kojoj se pojačava Ramanovo raspršenje molekula adsorbiranih na ili smještenih blizu metalnih nanostruktura. Njezino je otkriće potaknulo sintezu raznovrsnih visoko-kvalitetnih SERS supstrata. SERS supstrati u ovom radu pripremljeni su na šest načina: (i) depozicijom srebra na SiO<sub>2</sub> sfere, (ii) sintezom čestica s Ag jezgrom i mezoporoznim slojem SiO<sub>2</sub>, (iii) depozicijom Ag na mljevenu i jetkanu Si pločicu, (iv) depozicijom Ag na porozni Si dobiven iz sintetskih SiO<sub>2</sub> sfera, (v) depozicijom Ag na porozni Si (PSi) uz korištenje formaldehida kao redukcijskog sredstva i (vi) depozicijom dvostruke količine srebra na PSi uz korištenje formaldehida. Nakon karakterizacije pripremljenim podlogama testirana je SERS aktivnost korištenjem 4-merkaptofenilborne kiseline te na svima opaženo SERS pojačanje. Za podloge bazirane na poroznom Si granice detekcije iznose  $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , dok je granice detekcije za čestice s Ag jezgrom i mezoporoznim slojem SiO<sub>2</sub> iznosila  $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

(63 stranice, 28 slika, 4 tablice, 74 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: 4-merkaptofenilborna kiselina, nanočestice, porozni silicij, površinski pojačano Ramanovo raspršenje, SERS, supstrati

Mentor: dr. sc. Lara Mikac, zn. sur.

Nastavnik (imenovan od strane Kemijskog odsjeka): prof. dr. sc. Snežana Miljanić

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Snežana Miljanić
2. prof. dr. sc. Davor Kovačević
3. izv. prof. dr. sc. Ivica Đilović

Zamjena: doc. dr. sc. Adriana Kendel

Datum diplomskog ispita: 28. rujna 2021.



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

Diploma Thesis

## ABSTRACT

### SYNTHESIS OF NANOPOROUS SILICON FOR APPLICATIONS IN SURFACE- ENHANCED RAMAN SPECTROSCOPY

Nikola Sabolić

Surface-enhanced Raman scattering spectroscopy (SERS) is a method in which Raman scattering of molecules adsorbed on or located near metal nanostructures is amplified. Its discovery initiated the synthesis of diverse high-quality SERS substrates. SERS substrates in this work were prepared in six ways: (i) by deposition of Ag on SiO<sub>2</sub> spheres, (ii) by synthesis of particles with Ag core and mesoporous SiO<sub>2</sub> layer, (iii) by deposition of Ag on ground and etched Si wafer, (iv) by deposition of Ag on porous Si obtained from synthetic SiO<sub>2</sub> spheres, (v) by deposition of Ag on porous Si (PSi) using formaldehyde as a reducing agent and (vi) by depositing twice the amount of silver on PSi using formaldehyde. After characterization, the prepared substrates were tested for SERS activity using 4-mercaptophenylboronic acid and SERS enhancement was observed on all of them. For substrates based on porous Si, the detection limits achieved were  $5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, while the detection limit for particles with Ag core and mesoporous SiO<sub>2</sub> layer was  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.

(63 pages, 28 figures, 4 tables, 74 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: 4-mercaptophenyl boronic acid, nanoparticles, porous silicon, substrates, surface-enhanced Raman spectroscopy

Mentor: Dr. Lara Mikac, Research Associate

Supervisor (appointed by the Department of Chemistry): Dr. Snežana Miljanić, Professor

Reviewers:

1. Dr. Snežana Miljanić, Professor
  2. Dr. Davor Kovačević, Professor
  3. Dr. Ivica Đilović, Associate Professor
- Substitute: Dr. Adriana Kendel, Assistant Professor

Date of exam: 28 September 2021



## § 1. UVOD

U današnje vrijeme svjedočimo snažnom razvoju znanosti, kao i pojavi novih područja istraživanja koja se granaju u mnogim smjerovima. Jedno od područja u kojem je u posljednjih desetak godina došlo do brojnih značajnih otkrića je područje nanotehnologije. Nanoznanost i nanotehnologija proučavaju i primjenjuju iznimno male stvari (veličine od 1 do 100 nm) i mogu se koristiti u svim drugim područjima znanosti, poput kemije, biologije, fizike, znanosti o materijalima i inženjerstvu. Ideje i koncepti o nanoznanosti i nanotehnologiji započeli su govorom fizičara Richarda Feynmana pod naslovom „Na dnu ima dovoljno prostora“ koji je održao 1959. godine. U svom je govoru Feynman opisao procese u kojima će znanstvenici moći manipulirati i kontrolirati pojedine atome i molekule. Više od desetljeća kasnije, profesor Norio Taniguchi skovao je izraz nanotehnologija. Suvremena nanotehnologija započela je tek 1981., razvojem skenirajućeg mikroskopa. Iako danas razumijemo principe moderne nanoznanosti, materijali nanometarskih veličina korišteni su stoljećima. Zlatne i srebrne čestice stvarale su boje u vitražima srednjovjekovnih crkava prije stotina godina, no umjetnici tada nisu znali da je proces kojim su stvarali ova umjetnička djela doveo do promjena u sastavu materijala s kojima su radili. Današnji znanstvenici i inženjeri pronalaze veliki broj načina za izradu nanomaterijala kako bi iskoristili njihova brojna pozitivna svojstva kao što su veća čvrstoća, manja težina, bolja električna vodljivost i veća kemijska reaktivnost. Nanočestice, kao jedan od često korištenih nanomaterijala, sve se više koriste u mnogim područjima života pa se stoga razvila potreba za njihovom kontroliranom sintezom. Tako se npr. nanočestice koriste u prehrambenoj industriji kao antimikrobna sredstva<sup>1</sup> te u biologiji i medicini. Jedan od primjera je razvoj nanočestica za transport lijekova za kemoterapiju izravno do kancerogenih izraslina, kao i za isporuku lijekova u područja oštećenih arterija u cilju borbe protiv kardiovaskularnih bolesti.<sup>2</sup> Nanostrukturirani materijali dio su proizvoda za kućanstvo, poput odmašćivača i sredstava za uklanjanje mrlja, koriste se kao senzori okoliša, pročišćivači zraka i filteri te antibakterijska sredstva za čišćenje. Također se ugrađuju u razne proizvode za osobnu njegu radi poboljšanja performansi. Titanijev dioksid i cinkov oksid godinama se koriste u kremama za sunčanje za zaštitu od sunca, a pritom djeluju nevidljivo na koži. Pored spomenutih korištenja, nanočestice se mogu koristiti kao pomoć pri detekciji niskih koncentracija nekih spojeva.

Potreba za detekcijom niskih koncentracija različitih molekula prisutnih u našem okruženju pojavila se paralelno s kontrolom kvalitete u proizvodnji hrane i lijekova te zaštitu okoliša.<sup>3,4</sup> Korištenjem nanotehnologije moguće je pomaknuti granice detekcije brojnih molekula.<sup>5</sup>

Ramanova spektroskopija je analitička metoda koja služi za identifikaciju i kvantifikaciju materijala te zahtijeva vrlo malo pripreme uzorka. Dobiveni Ramanovi spektri sastoje se od vrpci pri čemu one odgovaraju vibracijama karakterističnima za pojedine molekulske strukture dajući pritom otisak „prsta” pomoću kojeg se molekule mogu identificirati. Ramanov signal je vrlo slab jer se samo 1 od oko 10 milijuna fotona neelastično raspršuje.

S obzirom na nedovoljnu osjetljivost Ramanove spektroskopije, učestalu pojavu fluorescencije te slabi intenzitet Ramanovih spektara, u drugoj polovici 20. stoljeća pojavila se spektroskopija površinski pojačanog Ramanovog raspršenja (engl. *Surface-Enhanced Raman Scattering*, SERS). SERS metoda omogućuje povećanje signala kada se analit nalazi u blizini hrapave površine plemenitog metala, poput srebra ili zlata. Površinsko pojačanje Ramanovog signala dovoljno je veliko za detekciju i identifikaciju čak i jedne molekule. Ova je metoda otkrivena prilikom neelastičnog raspršenja adsorbiranog piridina na srebrnoj elektrodi.<sup>6</sup> SERS metoda omogućava detekciju vrlo malih koncentracija molekula i ponekad analizu fotoluminiscentnih spojeva. Osjetljivost ove metode ovisi o vrsti supstrata, kao i o njegovoj geometriji. Kao SERS supstrati najčešće se koriste koloidne otopine metalnih nanočestica ili metalne površine s odgovarajućom nanostrukturiranom matricom. Osim toga, postoje brojni komercijalni supstrati kao što je Klarite® koji se sastoji od inverznih zlatnih piramida. S obzirom na raznovrsne potrebe detekcije, trenutna istraživanja bave se razvojem sinteza reproducibilnih, robusnih i stabilnih SERS supstrata.

Cilj ovog diplomskog rada bila je sinteza nekoliko vrsta nanočestica na bazi poroznog silicija u svrhu dobivanja podloga za postizanje što boljeg SERS pojačanja. Nanočestični porozni silicij saćaste strukture (PSi) dobiven je redukcijom SiO<sub>2</sub> sfera uz pomoć magnezija (Mg), pri čemu su SiO<sub>2</sub> sfere dobivene standardnim Stöberovim procesom. Na PSi nanosene su Ag čestice na nekoliko različitih načina te su dobivene četiri vrste čestica: Ag na poroznom prahu silicija dobivenom mljevenjem Si pločice (engl. *Si wafer*) (Ag-w), Ag na poroznom siliciju koji je dobiven magneziotermičkom redukcijom iz sintetskog SiO<sub>2</sub> (PSi-HF-Ag), Ag na poroznim Si nanočesticama pri čemu su se koristile dvije različite koncentracije srebra (PSi-

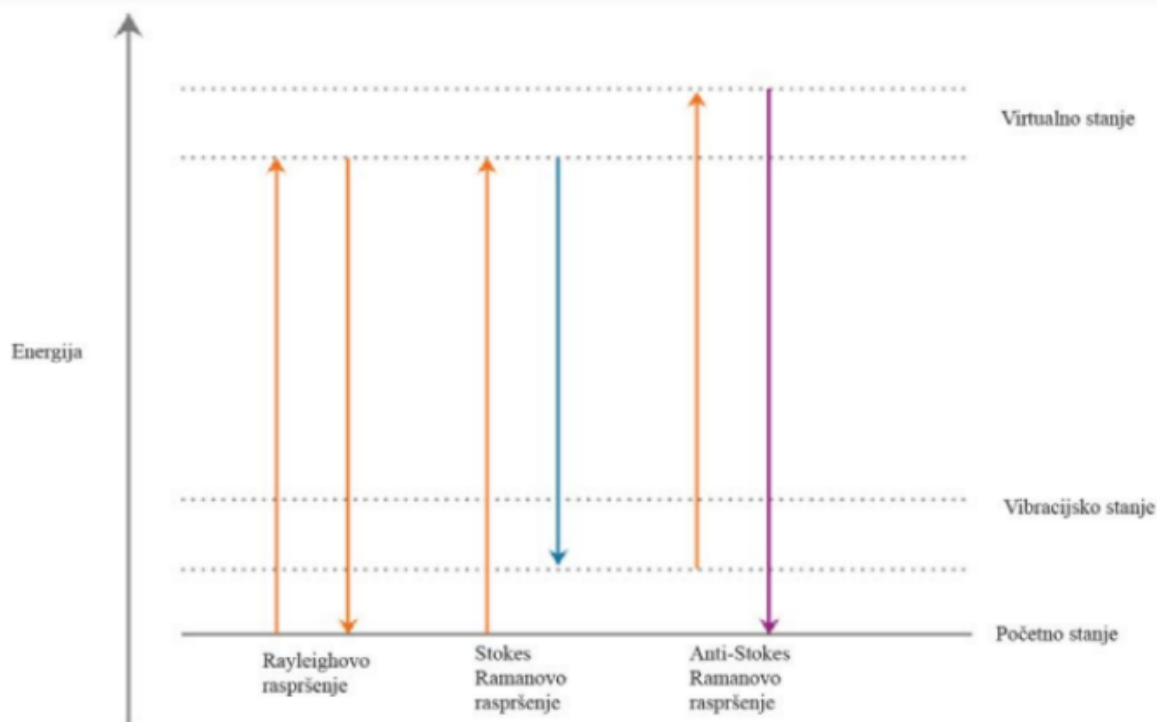
Ag, odnosno P<sub>Si</sub>-2x Ag). S obzirom da veliki omjer površine i volumena takvih sintetiziranih silicijskih nanostrukture omogućava adsorpciju probnih SERS molekula, kao što je 4-merkaptofenilborna kiselina (4-MPBA), očekivalo se da će doći do pojačanja Ramanovog signala probne molekule. Dodatno, čestice srebra dodane su i na SiO<sub>2</sub> sfere kako bi se ispitala njihova primjena u SERS spektroskopiji. Za karakterizaciju nanostrukture silicija te uzoraka Ag na SiO<sub>2</sub> i mezoporoznog SiO<sub>2</sub> na Ag korištene su sljedeće metode: skenirajuća elektronska mikroskopija (engl. *Scanning Electron Microscopy*, SEM), transmisijska elektronska mikroskopija (engl. *Transmission Electron Microscopy*, TEM), energijski-disperzivna spektroskopija rendgenskih zraka (engl. *Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy*, EDS), dinamičko raspršenje svjetlosti (engl. *Dynamic Light Scattering*, DLS), UV/Vis spektrofotometrija (engl. *UV/Vis Spectrophotometry*), infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (engl. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, FT-IR) te metode Brunauer-Emmett-Teller (BET) i Barrett-Joyner-Halenda (BJH) u svrhu određivanja ukupne površine čestica odnosno veličine pora.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Ramanova spektroskopija

Za otkriće Ramanovog raspršenja 1928. godine zaslužan je indijski fizičara C.V. Raman.<sup>7</sup> Svojim je otkrićem omogućio značajan pomak u istraživanju materijala te je uskoro došlo do njegove praktične primjene. Ramanova spektroskopija temelji se na neelastičnom raspršenju monokromatskog UV, Vis ili NIR zračenja uslijed njegove interakcije s molekulom.

Djelovanjem elektromagnetskog zračenja na uzorak, dolazi do raspršenja zračenja koje može biti elastično i neelastično. Rayleighovo raspršenje<sup>8</sup> ili elastično raspršenje zračenja posljedica je povratka molekule iz virtualnog stanja u isto energijsko stanje iz kojeg je pobuđena. S druge strane, za pojavu neelastičnog raspršenja zaslužno je upadno zračenje koje može potaknuti gibanje jezgara pri čemu se energija prenosi s upadnog fotona na molekulu ili s molekule na raspršeni foton. Neelastično raspršenje ili Ramanovo raspršenje dijeli se na Stokesovo i anti-Stokesovo raspršenje. Prilikom Stokesovog raspršenja molekula se pobuđuje iz osnovnog vibracijskog stanja u virtualno stanje te vraća u više vibracijsko stanje osnovnog elektronskog stanja raspršenjem fotona, pri čemu raspršeni foton posjeduje manju energije od upadnog fotona (slika 1). Prilikom anti-Stokesovog raspršenja molekula iz pobuđenog vibracijskog stanja osnovnog elektronskog stanja apsorpcijom zračenja prelazi u virtualno stanje iz kojeg se vraća u osnovno vibracijsko stanje, pri čemu raspršeni foton posjeduje veću energiju od upadnog fotona.



**Slika 1.** Shematski prikaz različitih procesa raspršenja zračenja<sup>9</sup>

Ramanova spektroskopija temelji se na Ramanovom raspršenju te se kao i u IR spektroskopiji promatraju vibracije molekula ( $3N-6$  vibracija za nelinearne molekule tj.  $3N-5$  vibracija za linearne molekule, gdje je  $N$  broj atoma u molekuli).

Ramanov spektrometar spregnut s mikroskopom ima tri osnovne komponente: laser, optički mikroskop i spektrometar. Laser stvara monokromatsko zračenje koje se sustavom zrcala usmjerava i prenosi na leću objektiva optičkog mikroskopa, koji zatim fokusira zračenje na površinu ispitivanog uzorka. Raspršeno zračenje putuje natrag kroz istu leću objektiva do spektrometra<sup>10</sup> (konfiguracija  $180^\circ$ ) koji detektira raspršeno zračenje i nastaju vibracijski spektri. Područja u vibracijskom spektru možemo podijeliti na područje vibracija skupina  $3500-1100\text{ cm}^{-1}$ , te područje „otiska prsta“. Ramanovi spektri su slabog intenziteta zbog izrazito slabog intenziteta Ramanovog raspršenja s obzirom da se samo jedan od  $10^7$  upadnih fotona neelastično rasprši.

Zbog slabog intenziteta Ramanovog raspršenja koriste se metode koje omogućavaju znatnije pojačanje Ramanovog raspršenja. Takve tehnike su rezonantna Ramanova spektroskopija (engl. *Resonance Raman Spectroscopy*, RRS) i spektroskopija površinski pojačanog Ramanovog raspršenja (SERS).<sup>11</sup>

## 2.2. Spektroskopija površinski pojačanog Ramanovog raspršenja

Površinski pojačano Ramanovo raspršenje (engl. *Surface-Enhanced Raman Scattering*, SERS) otkrili su Fleischmann i suradnici 1974. godine. Oni su primijetili da se Ramanov signal piridina značajno pojačao na površini hrapave srebrne elektrode.<sup>12</sup> Kneipp te Nie i Emory 1997. godine zaslužni su za otkriće da SERS metoda omogućuje detekciju jedne molekule.<sup>13,14</sup> Otkriće nove tehnike u kojoj dolazi do pojačanja Ramanovog raspršenja na molekulama adsorbiranim na ili u blizini metalnih nanostrukture, potaknulo je brojna daljnja istraživanja.

### 2.2.1. Mehanizmi pojačanja

Nakon otkrića SERS metode mnogo se spekuliralo o mehanizmima pojačanja signala te su davana brojna objašnjenja. Danas su prihvaćeni mehanizmi elektromagnetskog i kemijskog pojačanja.

#### 2.2.1.1. Elektromagnetsko pojačanje

Mehanizam elektromagnetskog pojačanja se temelji na pojačanju elektromagnetskog polja pobuđivanjem lokaliziranih površinskih plazmona SERS aktivne površine.<sup>15,16</sup> Lokalizirana površinska plazmonska rezonancija (engl. *Localized Surface Plasmon Resonance*, LSPR), odnosno oscilacije vodljivih elektrona, javlja se prilikom zajedničkog titranja valentnih elektrona metala u rezonanciji s frekvencijom upadnog zračenja. Pojačanje elektromagnetskog polja dovodi do stvaranja induciranih dipola u molekulama na površini metala što dovodi do pojačanja Ramanovog raspršenja adsorbiranih molekula. Elektromagnetsko pojačanje izraženo je na neravnim plazmanskim materijalima (Ag, Au i Cu) nanometarskih veličina. Ovisno o strukturi plazmanskog materijala, mehanizam elektromagnetskog pojačanja doprinosi pojačanju SERS signala za približno  $10^{10}$ – $10^{11}$  redova veličine.<sup>17</sup>

#### 2.2.1.2. Kemijsko pojačanje

Osim elektromagnetskog, koje se temelji na pojačanju elektromagnetskog polja u blizini metalne površine zbog površinske plazmonske rezonancije,<sup>18</sup> pojačanje Ramanovog signala može se objasniti kemijskim ili elektronskim pojačanjem. Mehanizam kemijskog pojačanja uključuje promjenu polarizabilnosti tijekom interakcije adsorbirane molekule i metalne

površine te uključuje stvaranje stanja u kojem dolazi do prijenosa naboja između adsorbirane molekule i SERS aktivne površine. Ta energijski povoljna stanja omogućuju rezonantnu pobudu što dovodi do povećanja vjerojatnosti Ramanovog raspršenja.<sup>19</sup> S obzirom da samo molekule koje su direktno vezane na metal osjećaju kemijsko pojačanje, kemijsko pojačanje smatra se efektom „prvog sloja“ te doprinosi SERS pojačanju za približno od 10 do 10<sup>3</sup> redova veličine.

### 2.2.1.3. Faktor pojačanja

Kako ne postoji uobičajeni način mjerenje učinkovitosti pojedinih supstrata te se time dovodi u pitanje valjanost rezultata, van Duyneova grupa dala je prijedlog računanja faktora pojačanja (engl. *Enhancement Factor*, EF) SERS podloga.<sup>20</sup> EF definira se kao omjer intenziteta analita na metalnoj površini i analita koji nije adsorbiran na metalnu površinu. Matematička formula za izračun faktora pojačanja dana je izrazom:

$$EF_{SERS} = \frac{I_{SERS}/N_{SERS}}{I_{NRS}/N_{NRS}}$$

gdje  $I_{SERS}$  i  $I_{NRS}$  predstavljaju intenzitete u SERS, odnosno normalnoj Ramanovoj spektroskopiji, a  $N_{SERS}$  i  $N_{NRS}$  predstavljaju brojeve molekula u SERS, odnosno normalnoj Ramanovoj spektroskopiji.

Zbog što lakše usporedbe intenziteta SERS i normalnog Ramanovog signala koriste se analiti koji ne fluoresciraju, dok prilikom određivanja broja molekula koje doprinose SERS signalu treba uzeti u obzir ukupnu površinu i gustoću pakiranja molekula uz hrapavost same površine.

### 2.2.2. Plazmonski materijali

Interakcija adsorbirane molekule i površine plazmonskih nanostrukture izrazito je važna za uspješnost SERS metode, stoga se kao SERS supstrati najčešće koriste srebro (Ag) i zlato (Au) zbog svoje stabilnosti na zraku.<sup>21</sup> Osim njih, koristi se i bakar (Cu), no, nešto rjeđe zbog svoje reaktivnosti. Učestala primjena ovih metala leži u tome što imaju lokalizirane površinske plazmonske rezonancije koje su dio vidljivog i bliskog infracrvenog spektra valnih duljina, gdje je moguće uočiti većinu Ramanovih vrpci. Osim zlata, srebra i bakra kao supstrati koriste se Al, Ga, In, Pt i Rh te alkalijski metali.<sup>22</sup>

### 2.2.3. Primjena SERS metode

SERS metoda izuzetno je moćna metoda koja može prepoznati kemijske vrste i dati strukturne informacije u brojnim područjima poput znanosti o materijalima i polimerima, biokemiji i biosenzorima, katalizi i elektrokemiji. Najvažnija primjena SERS metode, a tiče se ljudskog zdravlja je uporaba SERS biosenzora za istraživanje različitih bioloških uzoraka i bolesti, uključujući karcinome<sup>23</sup>, Alzheimerovu<sup>24</sup> i Parkinsonovu bolest<sup>25</sup>. Osim toga, SERS se koristi za otkrivanje bojila u neprehrambenim materijalima poput tekstila, melamina u tekućem mlijeku i mlijeku u prahu na vrlo niskim razinama. SERS analize mogu ukazati na različite pesticide u voću te brojne toksine u gljivama.<sup>26</sup> Pham i suradnici<sup>27</sup> koristili su SiO<sub>2</sub>@Au@Ag nanočestice, dobivene redukcijom Ag iona pod blagim uvjetima i upotrebom sredstva za postizanje uniformnih struktura, kako bi razvili visoko osjetljive sonde za SERS. Također, Li i suradnici<sup>28</sup> koristili su 4-MPBA na sintetiziranim nanočesticama srebra u svrhu određivanja D-glukoze u fiziološki važnom rasponu koncentracija. Smolsky i suradnici<sup>29</sup> primijenili su SERS metodu za otkrivanje biomarkera koji su od važnosti u praćenju terapijske učinkovitosti.

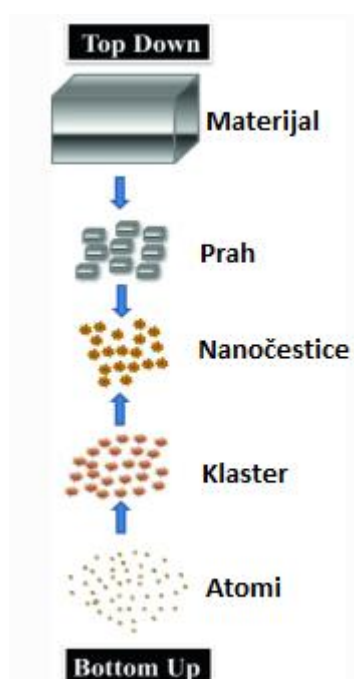
## 2.3. Nanotehnologija

Nanočestice su čestice nanometarskih dimenzija, od 1 do 100 nm. Tako je npr. list papira debeo 100 000 nanometara.<sup>30</sup> Brojni materijali napravljeni od nanočestica uvelike su olakšali i pojednostavili život čovjeka. Nanotehnologija se bavi nanometarskim veličinama s naglaskom na primjenu u stvarnom životu. Nanotehnologija je znanost o sintezi nanometarskih materijala te je prisutna gotovo na svakom koraku. U nanotehnologiji se koriste nanostrukturirani materijali koji zbog velikog omjera površine i volumena induciraju kemijske i fizikalne reakcije i posjeduju nova optička i fizikalna svojstva kao posljedica efekta kvantnog zatočenja. Efekt kvantnog zatočenja opisuje promjene u elektronskoj strukturi nanočestica do kojih dolazi uslijed smanjenja njihove veličine. Prisutnost nanotehnologije očituje se u brojnim prijevoznim sredstvima, računalnim čipovima, mobitelima te medicini<sup>31</sup> gdje omogućuje isporuku i puštanje lijeka na točno određenu lokaciju u točno određeno vrijeme te se na taj način pospješuju tretmani liječenja.



### 2.3.1. Nanočestice

Nanočestice, odnosno čestice nanometarskih dimenzija, veličine između 1 i 100 nm, tema su brojnih istraživanja novijeg doba. U procesu proizvodnje nanočestica postoje dva pristupa. Pristup od vrha prema dolje (engl. *top-down*) najčešće je korišten pristup koji za konstruiranje nanočestica koristi litografiju te se pomoću optičkih izvora kratke valne duljine materijal usitnjava do nanometarskih veličina (slika 2). Drugi pristup, od dna prema vrhu (engl. *bottom-up*) zasniva se na sintezi nanočestica iz atoma ili molekula.<sup>32</sup>



**Slika 2.** Shematski prikaz dvaju pristupa pripreme nanočestica, od vrha prema dolje (engl. *top-down*) i od dna prema vrhu (engl. *bottom-up*).<sup>33</sup>

Nanočestice posjeduju brojna posebna fizikalna i kemijska svojstva te posebno važna optička svojstva. S obzirom na brojna jedinstvena svojstva, u današnje vrijeme sve se više koriste nanočestice koje po kemijskom sastavu mogu biti katalitički aktivni metali prijelaznih elemenata i njihove legure, razni halogenidi, sulfidi i selenidi, oksidi, kompozitne nanočestice (metal / organska tvar ili polimer).<sup>34</sup>

### 2.3.1.1. *Ag nanočestice*

Zbog svojih optičkih, termičkih i katalitičkih svojstava<sup>35</sup> koja su posljedica veličine i oblika, nanočestice srebra se primjenjuju u brojnim istraživanjima. Razlog njihove učestale primjene je u površinskoj plazmonskoj rezonanciji srebra koja se nalazi u vidljivom dijelu spektra te antibakterijskom efektu<sup>36</sup> koji sprječava rast bakterija. Zbog svog antibakterijskog djelovanja nanočestice srebra jedan su od najčešće korištenih sterilizacijskih nanomaterijala. Nanočestice srebra uvelike se koriste kao supstrati za površinsko pojačano Ramanovo raspršenje. One djeluju i kao katalizatori kemijskih reakcija u kombinaciji s titanijevim dioksidom (TiO<sub>2</sub>). Efikasnost fluorescentnih senzora na bazi nanočestica srebra je izrazito velika te su granice detekcije niske.<sup>37</sup>

### 2.3.2. *Porozni silicij (PSi)*

Porozni silicij relativno je novi materijal u području biomaterijala s obzirom na interakciju s biološkim sustavima te se koristi u medicinske, terapijske ili dijagnostičke svrhe. Porozni silicij posjeduje brojna izrazito zanimljiva svojstva kao što su velika površina (do 800 m<sup>2</sup>/g), fotonska svojstva<sup>38</sup> iskoristiva za biosenzore, mogućnost obrade u razne oblike i razgradnja u netoksičnu ortosilikatnu kiselinu u vodenom okruženju.<sup>39</sup> Dobivanje poroznog silicija je jeftino, no zahtjevno. Porozni silicij najčešće se dobiva elektrokemijskim jetkanjem dopiranog kristalnog silicija u otopinama koje sadrže fluorid.<sup>40</sup> Porozni silicij sačaste strukture može se dobiti magneziotermičkom redukcijom SiO<sub>2</sub> sfera.<sup>41</sup> Magneziotermička redukcija je metoda koja omogućava sintezu poroznog silicija s različitim stupnjevima strukturne kontrole pri čemu se koristi znatno niža temperatura nego u konvencionalnim redukcijskim metodama. Ova je metoda primijenjena i u ovom radu.<sup>42</sup>

S obzirom na veliki omjer površine i volumena, porozni silicij koristi se u SERS metodi za pripremu kvalitetnih SERS supstrata. Dobar SERS supstrat dobije se homogenim prekrivanjem površine poroznog silicija slojem plazmonskog materijala. Idealni SERS supstrat trebao bi imati metalni sloj na cijeloj površini Si bez začepeljivanja pora. Nije poželjno u potpunosti ispuniti pore jer tada dolazi do smanjenja dostupne površine za interakciju s molekulom koja se analizira. Porozni silicij vrlo je prikladan materijal za razvoj optičkih uređaja temeljenih na višeslojnim strukturama. Osim optičke primjene, porozni silicij koristi se za biološke primjene, primjerice za dostavu lijekova u organizmu, biosenzore te tkivno inženjerstvo.<sup>43</sup>

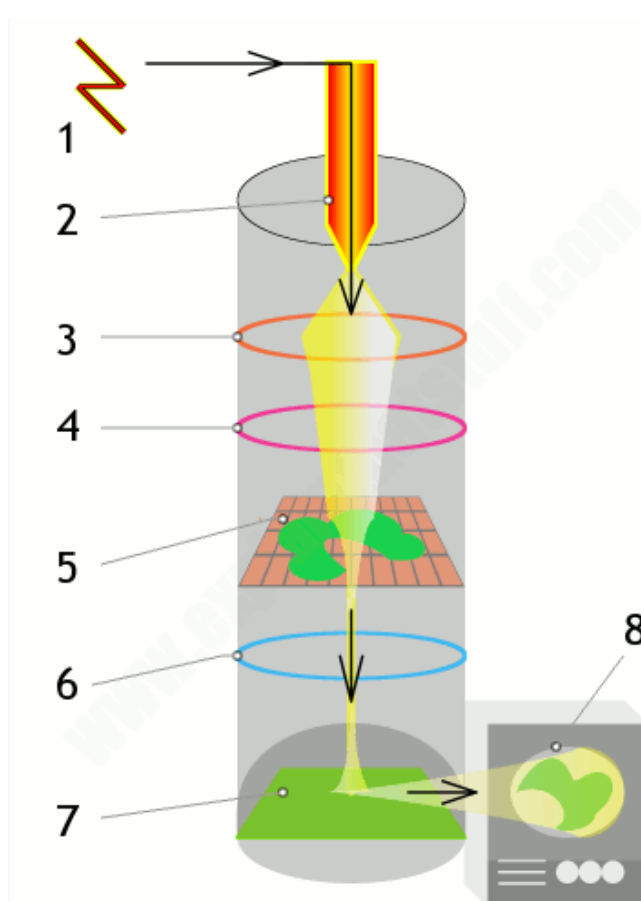
## 2.4. Koloidne otopine

Koloidne otopine, tj. koloidi ili koloidne suspenzije, mogu se definirati kao smjesa čestica tvari dispergiranih u tekućini. One sadrže dovoljno male čestice koje su uniformno dispergirane, ali koje su sposobne raspršiti zračenje. Koloidi su smjese u kojima tvari ostaju raspršene bez da dolazi do njihova taloženja na dno. Čestice koloida su u neprestanom slučajnom gibanju tzv. Brownovom gibanju, dok su za njihovu stabilnost u suspenziji zaslužni sterički efekti i odbojne elektrostatske sile. Koloidne nanočestice često se koriste kao SERS supstrati s obzirom na njihov veliki omjer površine prema volumenu i pogodnih fizikalno-kemijskih svojstava.

## 2.5. Metode za morfološku karakterizaciju nanočestica

### 2.5.1. Transmisijska elektronska mikroskopija

U transmisijskoj elektronskoj mikroskopiji (engl. *Transmission Electron Microscopy*, TEM) mikroskop koristi snop elektrona za vizualizaciju i generiranje slike izuzetno velike rezolucije. Zbog svoje snage transmisijski elektronski mikroskop može povećati ispitivane uzorke i do 2 milijuna puta. Postava instrumenta i princip rada polaze od elektronskog topa koji emitira elektrone visoke energije koji prolaze kroz vakuumsku cijev (slika 3). Prolaskom snopa elektrona kroz elektromagnetsku leću nastaje tanka zraka koja prolazi kroz uzorak smješten na postolju. Prolaskom zrake kroz uzorak dolazi do raspršenja elektrona ili njihova udaranja o fluorescentni zaslon na dnu mikroskopa.<sup>44</sup>



**Slika 3.** Presjek transmisijskog elektronskog mikroskopa i put visokoenergetskog snopa elektrona: 1. Elektronski top, 2. Elektromagnetske leće, 3. Zapornica za umetanje uzoraka, 4. Leća objektivna, 5. Projektorska leća, 6. Kamera, 7. Fluorescentni zaslon, 8.

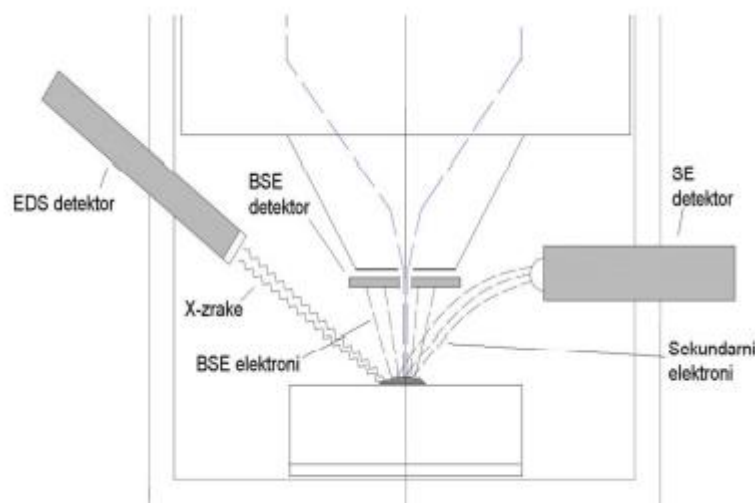
Ekran.<sup>45</sup>

Dobivena slika prikazuje se na ekranu pri čemu sama kvaliteta slike ovisi o vrsti prisutnog kontrasta, pritom uzimajući u obzir fazni ili ogibni kontrast. Ogibni kontrast sastoji se od slika svijetlog i tamnog polja povezanih ogibnom slikom istog područja promatranog na mikrografiji. Ogibni kontrast ima dvostruku ulogu u vidu određivanja kristalne strukture, ali i simetrije promatranog uzorka. Sama simetrija uzorka da se iščitati iz ogibne slike pri čemu se također smjerovi ogibne slike prenose u sliku tamnog i svijetlog polja ili u sliku izrazito velike rezolucije koja značajno ovisi o faznom kontrastu, drugom obliku kontrasta. Transmisijski elektronski mikroskop posjeduje prednosti poput lakog rukovanja, povećanja čak i do dva milijuna puta te kvalitetne i detaljne TEM slike koje pružaju brojne informacije o ispitivanim uzorcima. Nedostatak transmisijskog mikroskopa uz njegovu izrazito veliku cijenu je i priprava uzorka za analizu koji treba biti tanak. Ipak, zbog velike rezolucije TEM je jedan od najčešće

korištenih instrumenata u nizu različitih područja poput nanotehnologije, medicine, forenzike, metalurgije, industrije itd. TEM pruža informacije poput prijeloma i oštećenja predmeta mikro veličine što izrazito koristi mnogim tehnološkim tvrtkama.<sup>46</sup>

### 2.5.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Skenirajuća elektronska mikroskopija (engl. *Scanning Electron Microscopy*, SEM) nedestruktivna je metoda proučavanja površine uzorka. U slučaju skenirajuće elektronske mikroskopije snop usmjerenih elektrona visoke energije pretražuje površinu željenog uzorka smještenog u komori mikroskopa, pri čemu generira signale koji proizlaze iz interakcije elektrona i uzorka. Za generiranje elektrona potreban je „elektronski top“, a da bi snop elektrona bio ubrzan prema površini uzorka potrebne su dvije kondenzatorske leće. Prilikom sudara elektrona i uzorka javljaju se elektron-uzorak interakcije koje generiraju tri vrste signala: sekundarne elektrone (engl. *Secondary Electrons*, SE), unatrag raspršene elektrone (engl. *Back Scatter Electron*, BSE) i karakteristično rendgensko zračenje.<sup>47</sup> S obzirom na postojanje tri vrste signala važno je postojanje detektora koji prikupljaju takve signale kako bi se generirala slika SE detektora to jest detektora sekundarnih elektrona, BSE detektora odnosno detektora unatrag raspršenih elektrona te EDS (engl. *Energy Dispersive Spectroscopy*) detektora koji ionizacijom apsorbira energiju dolaznih X-zraka (slika 4). SE detektor ima najvažniju ulogu u prikazivanju površine, BSE detektor ukazuje na razlike u kemijskom sastavu i kontrastu, dok se zračenje, koje se emitira prilikom skoka elektrona u prazno mjesto koje je nastalo izbijanjem elektrona iz elektronskog omotača atoma, detektira EDS detektorom. Ovakav detektor daje postotke pojedinih elemenata prisutnih u uzorku.



**Slika 4.** Prikaz detektora prisutnih u SEM-u.<sup>48</sup>

SEM ne zahtjeva nikakvu prethodnu pripremu uzorka ako je vodljiv jer skuplja informacije s površine. S druge strane, ukoliko uzorak nije vodljiv potrebno ga je napatiti vodljivim materijalom poput grafita, srebra ili zlata. Jedan od nedostataka ovog instrumenta je cijena, a potrebna je i posebna prostorija koja je izolirana od utjecaja vibracija te u kojoj nema električnog i magnetskog djelovanja.<sup>49</sup> Nedostatak SEM-a je i veličina i oblik uzorka zbog toga što uzorak mora stati u komoru i pritom biti stabilan u vakuumu.

### 2.5.3. Energijski-disperzivna spektroskopija rendgenskih zraka

Energijski-disperzivna spektroskopija (engl. *Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy*, EDS) pruža uvid u vrstu i maseni udio pojedinih elemenata u uzorku. Prilikom izbacivanja elektrona pomoću visokoenergetskog elektromagnetskog zračenja nastaju praznine koju popunjavaju elektroni više energije. Takvim prelaskom elektroni više energije emitiraju energiju u obliku X-zraka.<sup>50,51</sup> Kristal koji je sastavni dio detektora prisutnog u EDS sustavu apsorbira tu energiju dolaznih X-zraka ionizacijom, dajući pritom vodljive slobodne elektrone koji proizvode električni naboj. Apsorpcijom X-zraka pretvara se energija pojedinih X-zraka u električne napone proporcionalnih veličina pri čemu električni impulsi odgovaraju karakterističnim X-zrakama elemenata. Na taj način moguće je utvrditi vrstu elementa te njegov udio u istraživanom uzorku.

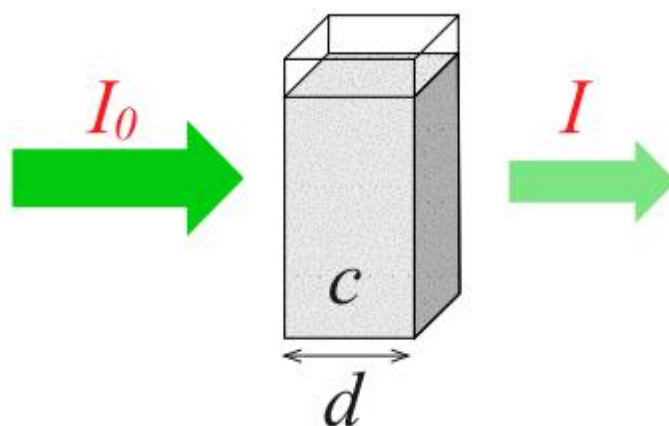
#### 2.5.4. UV/Vis apsorpcijska spektrofotometrija

Ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija (engl. *UV/Vis spectroscopy*) najpopularnija je i najkorištenija analitička metoda. Metoda se temelji na apsorpciji ultraljubičastog (UV: 200–380 nm) i vidljivog (Vis: 380–800 nm) zračenja pri čemu se apsorpcijom zračenja pobuđuju prijelazi između elektronskih stanja u molekuli, što uzrokuje smanjenje intenziteta propuštenog zračenja i nastanak apsorpcijskog spektra. Do apsorpcije zračenja dolazi zbog prisutnosti kromofora, funkcionalnih skupina prisutnih u strukturi molekule čije je elektrone moguće pobuditi UV i vidljivim zračenjem.

Apsorpcija zračenja slijedi Beer-Lambertov zakon matematičke formule:

$$\log \frac{I_0}{I} = A = \varepsilon * c * d$$

prema kojem je apsorpcija,  $A$ , veličina koja opisuje količinu apsorbiranog zračenja, proporcionalna koncentraciji,  $c$ , i duljini puta zračenja,  $d$ , uz prisutnost molarnog apsorpcijskog koeficijenta,  $\varepsilon$ , kao konstante proporcionalnosti (slika 5). Iz odnosa apsorpcije i koncentracije tvari s obzirom na Beer-Lambertov zakon, moguće je odrediti koncentraciju analizirane tvari u ispitivanom uzorku.



**Slika 5.** Shematski prikaz apsorpcije zračenja vodene otopine uzorka u kveti<sup>52</sup>

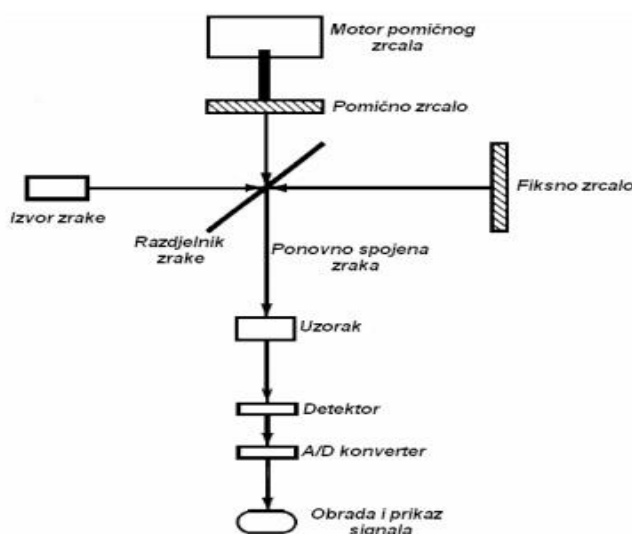
Instrument za mjerenje intenziteta propuštenog zračenja ( $I$ ) u odnosu na intenzitet upadnog zračenja ( $I_0$ ) naziva se UV/Vis spektrofotometar. Sam instrument sastoji se od držača uzorka, izvora UV i Vis zračenja tj. deuterijeve i volframove žarulje, monokromatora u obliku difrakcijske rešetke koja razlaže upadno zračenje, i fotomultiplikatora koji sakuplja i detektira propušteno zračenje.

Prednost metode je što može odrediti količinu više sastojaka u smjesi.<sup>53</sup> S obzirom na odabir kiveta koriste se kivete od kvarca (propusno za UV i Vis zračenje) i stakla (propusno za Vis zračenje). UV/Vis apsorpcijska spektrofotometrija koristi se za analizu otopina, uzoraka u čvrstom stanju pa čak i za analizu plinova. Osim velike primjene za gotovo svako istraživanje, svoju primjenu ova metoda nalazi i u analizi hemoglobina i porfirina<sup>54</sup> te nanočestica.<sup>55</sup>

### 2.5.5. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom

Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (engl. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, FT-IR) je metoda koja mjeri apsorpciju infracrvenog zračenja uslijed interakcije molekule i elektromagnetskog zračenja u infracrvenom području spektra. IR područje sastoji se od bliskog ( $13000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ), srednjeg ( $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ) i dalekog ( $400\text{--}100\text{ cm}^{-1}$ ) IR zračenja. Apsorpcijom infracrvenog zračenja pobuđuju se prijelazi između vibracijskih i rotacijskih stanja molekule. Molekula apsorbira infracrveno zračenje kada se tijekom vibracije mijenja dipolni moment molekule te kao rezultat nastaje vibracijski spektar. Vibracijski spektri pomažu pri određivanju molekulske strukture i kemijskog sastava tvari pri čemu se obično promatra apsorpcija ili transmisija zračenja u ovisnosti o valnom broju.

Postava modernih uređaja za FT-IR mjerenja sadrži Michelsonov interferometar koji dijeli zračenje na dva snopa koji prolaze različite optičke puteve prije njihova ponovna spajanja.<sup>56,57</sup> Shema takvog FT-IR uređaja prikazana je na slici 6.



Slika 6. Shematski prikaz FT-IR uređaja<sup>56</sup>



Rezultat mjerenja spektrometrom s Fourierovom transformacijom je interferogram koji je računski potrebno prevesti iz vremenske u frekvencijsku domenu, pri čemu se koristi Fourierova transformacija. Shematski prikaz dobivanja spektra prikazan je na slici 7.



**Slika 7.** Shematski prikaz dobivanja odgovarajućeg spektra korištenjem Fourierove transformacije<sup>58</sup>

S obzirom da se interferometrom istovremeno mjeri intenzitet pri svim frekvencijama upadnog zračenja, brzina snimanja IR spektara je izuzetno velika. Prednost precizne kalibracije omogućuje oduzimanje spektara te je tako moguće dobiti spektar otopljene tvari ako računski od spektra otopine oduzmemo spektar otapala. Uzorci koji jako apsorbiraju IR zračenje ograničavaju primjenu ove metode.<sup>59</sup>

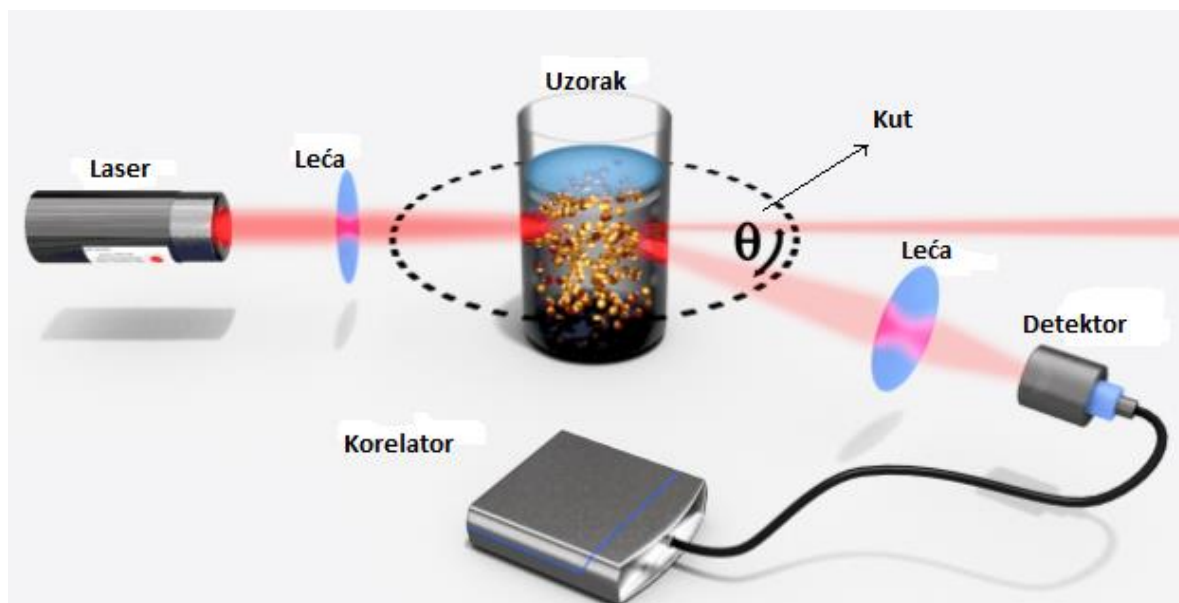
### 2.5.6. Dinamičko raspršenje svjetlosti

Za potrebe određivanja veličina čestica nanometarskih dimenzija često se primjenjuje metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti (engl. *Dynamic Light Scattering*, DLS). Ova metoda temelji se na Brownovom gibanju raspršenih čestica, odnosno gibanju kod kojeg se raspršene čestice konstantno sudaraju s molekulama otapala. Prilikom sudaranja raspršenih čestica i molekula otapala u kojem su te čestice raspršene, dolazi do prijenosa energije koji potiče daljnje gibanje to jest kretanje čestica. S obzirom da je prijenos energije gotovo konstantan, njegov utjecaj je znatno veći na manje čestice pri čemu se one kao posljedica toga gibaju znatno brže. Imajući u vidu i ostale parametre koji utječu na kretanje čestica moguće je odrediti hidrodinamički promjer mjerenjem brzine čestica. Relacija koja opisuje odnos između brzine i veličine čestica naziva se Stokes-Einsteinova jednadžba, koja glasi:

$$D = \frac{k_b T}{6\pi\eta R_H}$$

gdje  $D$  predstavlja koeficijent difuzije odnosno brzinu čestica,  $k_b$  Boltzmanovu konstantu,  $T$  termodinamičku temperaturu,  $\eta$  viskoznost, te  $R_H$  hidrodinamički promjer čestice.<sup>60,61</sup>

Postava DLS instrumenta sastoji se lasera, dvije leće i detektora s korelatorom (slika 8).



Slika 8. Shematski prikaz postave DLS instrumenta<sup>62</sup>

Prolaskom laserske zrake kroz leću i uzorak smješten u kiveti, dolazi do raspršenja laserske zrake u svim smjerovima pri čemu se ona s vremenom detektira pod određenim kutom dajući signal. Dobiveni signal služi za dobivanje veličine čestice i koeficijenta difuzije, tj. brzine čestica prema Stokes-Einsteinovoj jednadžbi. Za potrebe ovog diplomskog rada korištena je MADLS metoda (engl. *Multi-Angle Dynamic Light Scattering*), koja mjeri raspršenje svjetlosti pri više kuteva, a temelji se na kombinaciji Mie teorije (teorija o kutevima raspršenja) i DLS-u.<sup>63</sup> MADLS metoda daje potpunu distribuciju veličine čestica, pritom dajući detaljniju karakterizaciju uzorka te jasnije i točnije raspodjele veličine čestica.

#### 2.5.7. Metode određivanja površine poroznog materijala i veličine pora

Adsorpcija, proces adsorbiranja molekula plina ili otopljene tvari iz otopine na graničnu površinu adsorbensa (čvrste tvari), općenito može biti fizikalna (fizisorpcija) ili kemijska (kemisorpcija). S obzirom da postoji i obrnuti proces tj. desorpcija, moguće je utvrditi količinu adsorbirane tvari s obzirom na adsorpcijsku krivulju ili krivulju desorpcije. S obzirom na

nepodudarnost adsorpcijske krivulje i krivulje desorpcije, nastaje adsorpcijska histereza iz koje je moguće procijeniti površinu odnosno veličinu poroznih materijala.

Najčešći postupak za procjenu površine poroznih materijala<sup>64</sup> je Brunauer-Emmett-Teller (BET) metoda. Navedena metoda se sastoji se od fazne transformacije izoterme fizisorpcije u „BET ploču“ na temelju koje se izvodi vrijednost kapaciteta BET monosloja,  $n_m$ , te faze u kojoj se BET područje izračunava iz  $n_m$  usvajanjem odgovarajuće površine molekulskog presjeka,  $\sigma$ . BET jednadžba prikazuje se u linearnom obliku:

$$\frac{p/p^\circ}{n(1-p/p^\circ)} = \frac{1}{n_m C} + \frac{C-1}{n_m C} (p/p^\circ)$$

gdje je  $n$  specifična količina adsorbirana pri relativnom tlaku  $p/p^\circ$ ,  $n_m$  specifični kapacitet monosloja, a  $C$  parametar eksponencijalno povezan s energijom monoslojne adsorpcije.<sup>64</sup> Za određivanje BET područja koriste se razni adsorbati. Najčešće korišteni adsorbat je dušik, dok se kao alternativa može koristiti argon.

Promjer pora i volumen pora može se odrediti iz adsorpcijske izoterme. Za izračun promjera i volumena pora upotrebljavaju se metode koje koriste modificiranu Kelvinovu jednadžbu:

$$\ln(p/p^\circ) = -2\gamma V_m / RT (r_p - t_c)$$

gdje je  $\gamma$  napetost površine,  $V_m$  molarni volumen,  $R$  opća plinska konstanta,  $T$  termodinamička temperatura,  $r_p$  radijus pore, a  $t_c$  debljina adsorbiranog višeslojnog filma. Jedna od takvih metoda za izračun veličine pora, koja pritom koristi modificiranu Kelvinovu jednadžbu je Barrett-Joyner-Halenda (BJH) metoda, metoda u kojoj se Kelvinova jednadžba kombinira sa standardnom izotermom definiranom na neporoznim krutinama. Na taj način se u obzir uzima predadsorbirani višeslojni film. BJH metoda, zbog nepouzdanosti Kelvinove jednadžbe značajno podcjenjuje veličinu pora za uske pore (za promjer pora  $\leq 10$  nm veličina pora bit će podcijenjena za  $\sim 20$ – $30$  %).<sup>7</sup>

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Kemikalije

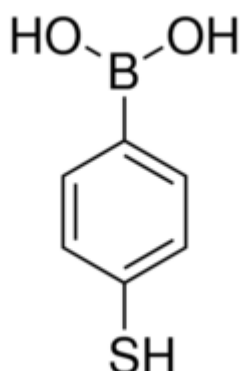
Tablica 1. Popis kemikalija

KEMIKALIJA	PROIZVOĐAČ
Magnezij prah (98%), Mg	Sigma Aldrich
Amonijak otopina (25%), $\text{NH}_3 \times \text{H}_2\text{O}$	Gram-Mol
Etanol apsolutni (99,99%), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Gram-Mol
Srebrov nitrat ( $\geq 99\%$ ), $\text{AgNO}_3$	Gram-Mol
Natrijev hidroksid ( $\geq 99.9995\%$ ), NaOH	Honeywell Fluka
Tetraetil ortosilikat (97%), TEOS	Merck
Klorovodična kiselina (37%), HCl	Carlo Erba
Barijev sulfat prah (98,5%), $\text{BaSO}_4$	Nacalai Tesque
Fluorovodična kiselina (6%), HF	Merck
Askorbinska kiselina (99%), $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	Kemika
Aceton ( $\geq 99,5\%$ ), $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	Kemika
4-merkaptofenilborna kiselina (90%)	Arcos Organics
Cetiltrimetilamonijev bromid ( $\geq 98\%$ ), CTAB	Merck
Formaldehid (36%), $\text{CH}_2\text{O}$	Kemika
Natrijev nitrat ( $\geq 99\%$ ), $\text{NaNO}_3$	Kemika
Natrijev citrat ( $\geq 99\%$ ), $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$	Kemika

### 3.2. Probna molekula

#### 3.2.1. 4-merkaptofenilborna kiselina

4-merkaptofenilborna kiselina (4-MPBA) derivat je fenilborne kiseline (slika 9). Ova kiselina dolazi u obliku bijelog praha. Koristi se kao probna molekula u SERS spektroskopiji zbog toga što se može adsorbirati na površinu metala  $\pi$ -interakcijama između fenilne jezgre i površine metala ili vezanjem na površinu metala preko atoma sumpora.



**Slika 9.** Molekulska struktura 4-merkaptofenilborne kiseline

### 3.3. Kemijska sinteza

#### 3.3.1. Kemijska sinteza $SiO_2$ , (uzorak S)

$SiO_2$  sfere sintetizirane su Stöberovim procesom.<sup>65</sup> U staklenu čašu smještenu na magnetsku miješalicu doda se 50 mL deionizirane vode, 18 mL vodene otopine amonijaka ( $w = 25\%$ ),  $NH_3 \times H_2O$ , i 32 mL etanola pri čemu nastaje otopina A koja se miješa na sobnoj temperaturi pri 600 rpm (okretaja u minuti). U međuvremenu se pripremi otopina B, sastava: 9 mL TEOS-a i 30 mL etanola. Otopina B doda se u otopinu A uz snažno miješanje na sobnoj temperaturi (slika 10) te stoji 12 sati pri čemu je čaša pokrivena (npr. aluminijskom folijom). Dobiveni produkt u obliku bijelog taloga centrifugira se 5 minuta na 5000 rpm i ispiri 4 puta etanolom te se nakon ispiranja suši na 80 °C tijekom 24 sata.



**Slika 10.** Fotografija aparature tijekom sinteze  $\text{SiO}_2$  sfera standardnim Stöberovim procesom

### 3.3.2. *Kemijska sinteza poroznog silicija, (uzorak P<sub>Si</sub>)*

U lađicu za žarenje u omjeru 1:1, stave se prethodno sintetizirane  $\text{SiO}_2$  sfere kao gornji sloj i prah Mg kao donji sloj (slika 11), pri čemu su  $\text{SiO}_2$  sfere i prah Mg prethodno mljeveni u zračnom planetarnom kugličnom mlinu 3 minute na 400 rpm. Lađica s uzorcima žari se na 700 °C 8 sati uz protok argona.



**Slika 11.** Fotografija aparature tijekom žarenja smjese  $\text{SiO}_2$  sfera i Mg u omjeru 1:1 u lađici za žarenje.

Nakon žarenja, dobiveni smeđi prah natopi se razrijeđenom HCl kako bi se uklonili nusprodukti MgO i  $\text{Mg}_2\text{Si}$ . Dobiveni žuti prah centrifugira se 5 min na 5000 rpm te se ispiri 3 puta etanolom. Nakon ispiranja dobiveni prah se potopi u fluorovodičnu kiselinu ( $\text{HF}$ ,  $w = 6\%$ ) na 30 min kako bi se uklonio neizreagirani  $\text{SiO}_2$ . Dobiveni P $\text{Si}$  ispiri se tri puta vodom i tri puta etanolom, te se suši na sobnoj temperaturi.

### 3.3.3. *Kemijska sinteza Ag na $\text{SiO}_2$ , (uzorak Ag-S)*

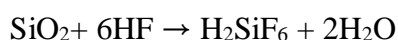
0,2 grama  $\text{SiO}_2$  sfera stavi se u 50 mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Kako bi se pospješilo otapanje, čaša sa vodom i  $\text{SiO}_2$  sferama stavlja se na ultrazvučnu kupelj 10 minuta. Zatim se otopina zagrije na  $85\text{ }^\circ\text{C}$  te se dodaje NaOH ( $0,2\text{ mol L}^{-1}$ ) i pH podesi na 11,1–11,3. Nakon 1 h doda se 2 mL  $\text{AgNO}_3$  ( $0,12\text{ mol L}^{-1}$ ) uz miješanje na magnetnoj miješalici još sat vremena. Zatim se doda 25 mL EtOH i miješa se još sat vremena, te se doda 1 mL  $\text{AgNO}_3$  ( $0,12\text{ mol L}^{-1}$ ) i 1 mL  $0,23\text{ mol L}^{-1}$  natrijevog citrata. Dobivene čestice (Ag na  $\text{SiO}_2$ ) ispiru se vodom i etanolom uz centrifugiranje. Nakon ispiranja dobivene čestice suše se na  $60\text{ }^\circ\text{C}$ .

### 3.3.4. *Kemijska sinteza SiO<sub>2</sub> na Ag, (uzorak S-Ag)*

0,4 g CTAB i 3 mL NH<sub>3</sub>×H<sub>2</sub>O (*w* = 25%) otope se u 150 mL deionizirane vode te se dobivena otopina grije 30 min na 60 °C. U takvu otopinu se zatim kap po kap uz magnetsko miješanje dodaje 3 mL AgNO<sub>3</sub> (1 mol L<sup>-1</sup>) i 1 mL acetona (1 mol L<sup>-1</sup>) pri čemu se otopina miješa pola sata na 60 °C. Zatim se doda kap po kap 2 mL TEOS uz miješanje na 40 °C tijekom 8 sati. Nakon miješanja dobivene čestice (SiO<sub>2</sub> na Ag) ispiru se sa 100 mL bezvodnog etanola i 100 mL deionizirane vode te se suše u vakuum sušioniku na 50 °C.

### 3.3.5. *Kemijska sinteza Ag na Si pločici (HF), (uzorak Ag-w)*

2,0 g praha Si stavi se u 100 mL otopine za jetkanje koja se sastoji od HF, HNO<sub>3</sub> i H<sub>2</sub>O u molarnom omjeru 6:1:30. Nakon što se smjesa miješa 30 min u digestoru dolazi do promjene boje praha iz sive u smeđu. Dobiveni prah poroznog Si ispiru se s vodom, centrifugira i suši na sobnoj temperaturi. Nastanak poroznog silicija može se prikazati reakcijama:



Ag nanočestice na površini poroznog silicija sintetizirane su redoks reakcijom. Za taloženje nanočestica srebra, 1 g praha poroznog silicija se dispergira u 100 mL otopine HF (0,1 mol L<sup>-1</sup>) uz miješanje 30 minuta. U takvu otopinu se zatim kap po kap dodaje 5 mL otopine AgNO<sub>3</sub> (0,1 mol L<sup>-1</sup>). Nakon 20 minuta otopina se centrifugira, ispiru vodom te se dobiveni prah suši u vakuum sušioniku.

### 3.3.6. *Kemijska sinteza Ag na PSi (HF), (uzorak PSi-HF-Ag)*

1,0 g PSi stavi se u 100 mL otopine HF (0,1 mol L<sup>-1</sup>) i miješa 1 h. Zatim se doda 5 mL otopine AgNO<sub>3</sub> (0,1 mol L<sup>-1</sup>) kap po kap uz energično miješanje 10 minuta. Dobivene nanočestice PSi-HF-Ag se filtriraju, isperu destiliranom vodom i suše na sobnoj temperaturi.

### 3.3.7. *Kemijska sinteza Ag na PSi uz formaldehid, (uzorak PSi-Ag)*

100 mg čestica PSi doda se u 50 mL otopine AgNO<sub>3</sub> (0,1 mmol L<sup>-1</sup>) i amonijeva hidroksida (*w* = 0,01%) te se dobivena otopina miješa 2 sata. Zatim se dodaje kap po kap 100 μL otopine



formaldehida ( $w = 2\%$ ) te se miješa još 2 sata na sobnoj temperaturi. Konačno, dobiveni PSi-Ag ispiru se deioniziranom vodom i suši u vakuum sušioniku na  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### 3.3.8. *Kemijska sinteza dvostruke količine Ag na PSi uz formaldehid, (uzorak PSi-2x Ag)*

100 mg čestica PSi dodaje se u 50 mL otopine  $\text{AgNO}_3$  ( $0,2\text{ mol L}^{-1}$ ) i amonijeva hidroksida ( $w = 0,02\%$ ), dobivena otopina smjese miješa se 2 sata. Zatim se u otopinu smjese dodaje kap po kap 200  $\mu\text{L}$  otopine formaldehida ( $w = 2\%$ ) te se miješa 2 sata na sobnoj temperaturi. Konačno, dobiveni PSi-2x Ag ispiru se deioniziranom vodom i suši u vakuum sušioniku na  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## 3.4. Priprema uzoraka za SERS mjerenja

### 3.4.1. *Priprema analita u koloidnoj suspenziji*

Koloidne suspenzije pripremljene su dispergiranjem 1 mg praha u 50  $\mu\text{L}$  vode. Koloidne suspenzije Ag-S, S-Ag, Ag-w, PSi-HF-Ag, PSi-Ag, PSi-2x Ag čuvaju se na  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Prije samog snimanja ostavljene su na sobnoj temperaturi oko pola sata te su netom prije korištenja promiješane na miješalici (*vortex*) kako ne bi došlo do sedimentacije.

Uzorci za SERS mjerenja pripremljeni su neposredno prije samog mjerenja. U Eppendorf epruvetu se mikropipetom stavi 25  $\mu\text{L}$  odgovarajućeg koloida i 5  $\mu\text{L}$  agregacijskog sredstva  $\text{NaNO}_3$  te se miješa 30 sekundi na miješalici. Zatim se u sustav doda 5  $\mu\text{L}$  otopine probne molekule 4-MPBA različitih koncentracija te se sve miješa 30 sekundi na miješalici.

Mikropipetom se 2  $\mu\text{L}$  smjese aplicira na podlogu od silicija. Nakon što se kapljica na podlozi osuši, uzorak se stavi pod objektiv Ramanovog mikroskopa. Snimanja su u nekim slučajevima rađena odmah, u nekim tek nakon jednosatnog inkubiranja te u nekim slučajevima nakon inkubiranja tijekom dva dana. Kako je najbolji Ramanov intenzitet postignut za inkubaciju od jednog sata, daljnja istraživanja mjerena su nakon jednosatne inkubacije. Kao probna molekula korištena je 4-merkaptofenilborna kiselina (4-MPBA). Raspon testiranih koncentracija bio je od  $1 \times 10^{-2}$  do  $1 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ .

### 3.5. Mjerni uređaji

Za utvrđivanje morfoloških karakteristika korištene su dolje opisane tehnike:

#### 3.5.1. *Transmisijska elektronska mikroskopija*

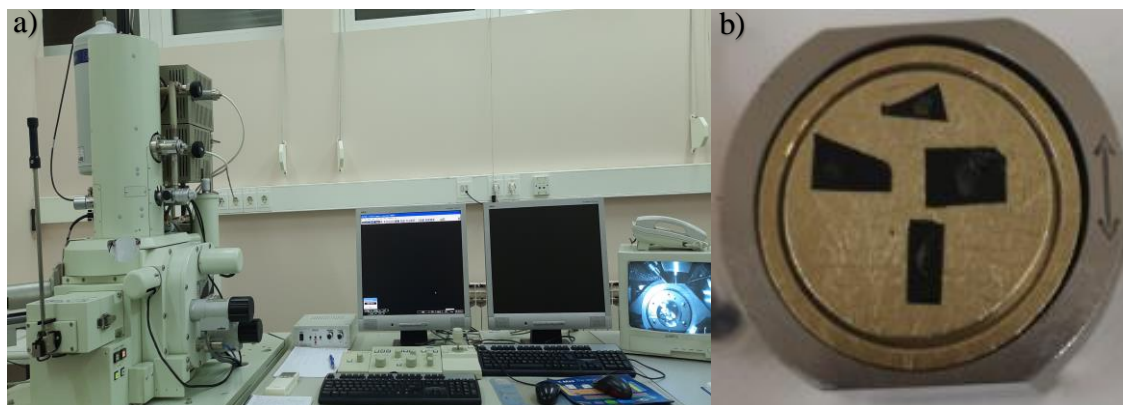
Morfologija pripremljenih nanočestica proučavana je transmisijskim elektronskim mikroskopom (Jeol JEM 1010) (slika 12). Zbog ograničenja vremena uporabe transmisijskog elektronskog mikroskopa uzorci Ag-S i S-Ag nisu snimljeni.



**Slika 12.** Transmisijski elektronski mikroskop (Joel JEM 1010) povezan s računalom.

#### 3.5.2. *Skenirajuća elektronska mikroskopija*

Skenirajući elektronski mikroskop (engl. *Field Emission Scanning Electron Microscope*, FE-SEM, Jeol JSM 7000F) povezan s energijski disperzivnim spektrometrom (engl. *Energy-Dispersive Spectrometer*, EDS) (slika 13.a) korišten je za određivanje morfologije nanočestica. Uzroci nanočestica nanoseni su na traku te onda zalijepljeni na nosač uzoraka (slika 13.b). Računalni program ImageJ korišten je za određivanje veličine i raspodjele veličine čestica.



**Slika 13.** a) Skenirajući elektronski mikroskop Jeol JSM 7000F; b) uzorci nanočestica na nosaču uzoraka za SEM.

### 3.5.3. *Određivanje pH vrijednosti*

Za određivanje pH vrijednosti koloidnih otopina čestica korišten je pH metar Edge blu (Hanna HI2202).

### 3.5.4. *UV-Vis apsorpcijska spektroskopija*

UV/Vis spektri snimljeni su pomoću Shimadzu UV/Vis/ NIR spektrometra, model UV-3600, u rasponu od 2000 do 400 nm. Korištene su kvarcne kivete duljine puta zračenja 1 cm.

### 3.5.5. *FT-IR spektroskopija*

FT-IR spektri uzoraka snimani su pomoću FT-IR spektrometra Perkin Elmer GX, uprosječivanjem 100 snimaka, uz razlučivanje  $4\text{ cm}^{-1}$ , u transmisijskom načinu snimanja (slika 14). Na KBr pastile špatulom su nanosene male količine uzoraka za snimanje IR spektara. Prije snimanja spektara uzoraka snimljen je spektar pozadine (zrak) pri istim uvjetima mjerenja.



**Slika 14.** FT-IR spektrometar Perkin Elmer GX.

### 3.5.6. *Dinamičko raspršenje svjetlosti (DLS)*

Raspodjela veličine koloidnih čestica dobivena je upotrebom metode dinamičkog raspršenja svjetlosti korištenjem uređaja Zetasizer Ultra (Malvern Panalytical) opremljenim He-Ne laserom (632,8 nm) (slika 15.). Za određivanje veličine korištene su raspodjele po volumenu. Za izračun Zeta potencijala korištena je srednja vrijednost 3–5 mjerenja.



**Slika 15.** Zetasizer Ultra.

### 3.5.7. Mjerenje površine poroznih čestica i veličine pora

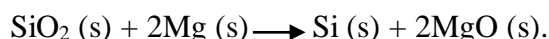
Strukturni površinski parametri poroznih čestica utvrđeni su mjerenjem adsorpcije-desorpcije dušika, N<sub>2</sub>. Za ovu analizu, uzorci su degazirani (zagrijani kako bi isparila voda i nečistoće) na temperaturi od 250 °C i komora za uzorke je punjena dušikom, kontroliranim porastom tlaka dušika, počevši od relativnog tlaka  $p/p_o = 0,025$  na 77 K, gdje je  $p_o$  tlak para zasićenja tekućeg dušika na 77 K. Izoterme adsorpcije-desorpcije mjerene su uz pomoć instrumenta Autosorb iQ-AG-C Quantachrome na 77 K. Brunauer-Emmet-Teller (BET) i Barrett-Joyner-Halenda (BJH) metode korištene su za izračun specifične površine i veličine pora.

### 3.5.8. Snimanje Ramanovih spektara i SERS spektara

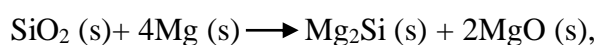
Ramanovi i SERS spektri snimani su uz pomoć Ramanovog spektrometra T64000 (Horiba Jobin Yvon). Za izvor zračenja korišten je diodni laser s laserskom pobudom 532 nm. Mjerenje je provođeno u tamnoj prostoriji na sobnoj temperaturi uz snagu lasera manju od 10 mW, kako bi se izbjegla razgradnja uzorka.

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

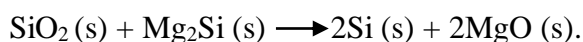
Porozni silicij, P<sub>Si</sub>, dobiva se elektrokemijskim jetkanjem silicijeve pločice (engl. *wafers*) ili praha u fluorovodičnoj kiselini, ponekad uz pomoć metala. Jedan od načina dobivanja poroznog silicija je magneziotermička reakcija. Redukcija silicijeva dioksida magneziotermičkom reakcijom može se opisati jednadžbom:



Prilikom takve reakcije dolazi do nastanka međuprodukta Mg<sub>2</sub>Si, prema reakciji:



pri čemu dobiveni Mg<sub>2</sub>Si reagira sa SiO<sub>2</sub> dajući MgO i Si prema reakciji:

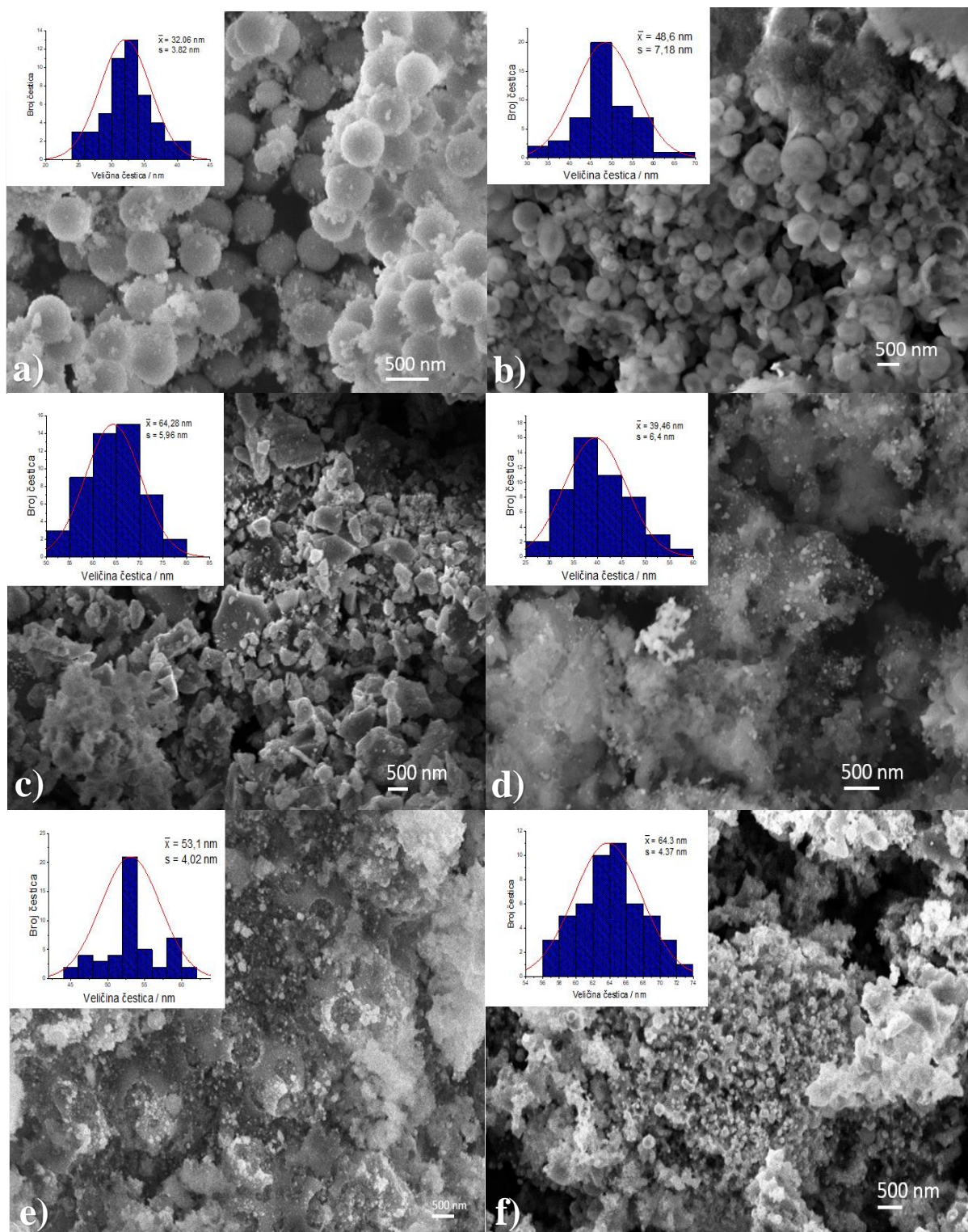


Kontrolom uvjeta (temperature i vremena) magneziotermičke reakcije te ispiranjem nusprodukata MgO i Mg<sub>2</sub>Si razrijeđenom HCl, dobiva se porozni silicij. P<sub>Si</sub> je korišten za pripremu nanočestica na bazi poroznog silicija.

### 4.1. Karakterizacija skenirajućom elektronskom mikroskopijom i energijski-disperzivnom spektroskopijom

Skenirajućom elektronskom mikroskopijom snimljeni su uzorci: Ag-S, dobiven depozicijom srebra na SiO<sub>2</sub> sfere, S-Ag, koji se sastoji od Ag jezgre i mezoporoznog sloja SiO<sub>2</sub>, Ag-w, dobiven depozicijom srebra na mljevenu i jetkanu Si pločicu, P<sub>Si</sub>-HF-Ag, dobiven depozicijom srebra na porozni Si dobiven iz sintetskih SiO<sub>2</sub> sfera magneziotermičkom redukcijom, P<sub>Si</sub>-Ag, dobiven depozicijom srebra na porozni Si uz korištenje formaldehida i P<sub>Si</sub>-2x Ag, dobiven depozicijom dvostruke količine srebra na porozni Si uz korištenje formaldehida. Prema literaturnim podacima očekivana veličina SiO<sub>2</sub> čestica, sintetiziranih na ovaj način, iznosi od 50 do 2000 nm ovisno o koncentraciji amonijevog hidroksida čiji porast dovodi do povećanja veličine čestica.<sup>66</sup> Veličina SiO<sub>2</sub> čestica koje su sintetizirane u ovom radu iznosi 360 nm. Prosječna veličina čestica određena je računalnim programom ImageJ te je izračunata i standardna devijacija. Nakon magneziotermičke redukcije nastale nanočestice Si su očekivanog poroznog oblika koji nalikuje strukturi saća (u radovima nazivan *honeycomb structure*).

Prosječna veličina čestica srebra za uzorak Ag-S iznosi  $32,06 \pm 3,82$  nm (slika 16.a) pri čemu uočavamo nastanak sfernih čestica. Srebrne nanočestice smještene su na površini SiO<sub>2</sub> sfera. Prosječna veličina čestica za uzorak S-Ag iznosi  $48,6 \pm 7,18$  nm (slika 16.b). Za uzorak Ag-w prosječna veličina čestica iznosi  $64,28 \pm 5,96$  nm (slika 16.c). Prosječna veličina čestica srebra za uzorak P*Si*-HF-Ag iznosi  $39,46 \pm 6,4$  nm (slika 16.d) pri čemu se jasno vide srebrne nanočestice na poroznom Si, ali i agregati srebrnih nanostrukture. Uzorak P*Si*-Ag s prosječnom veličinom čestica srebra  $53,1 \pm 4,02$  nm te uzorak P*Si*-2x Ag s prosječnom veličinom čestica srebra  $64,3 \pm 4,37$  nm prikazani su na slikama 16.e i 16.f.

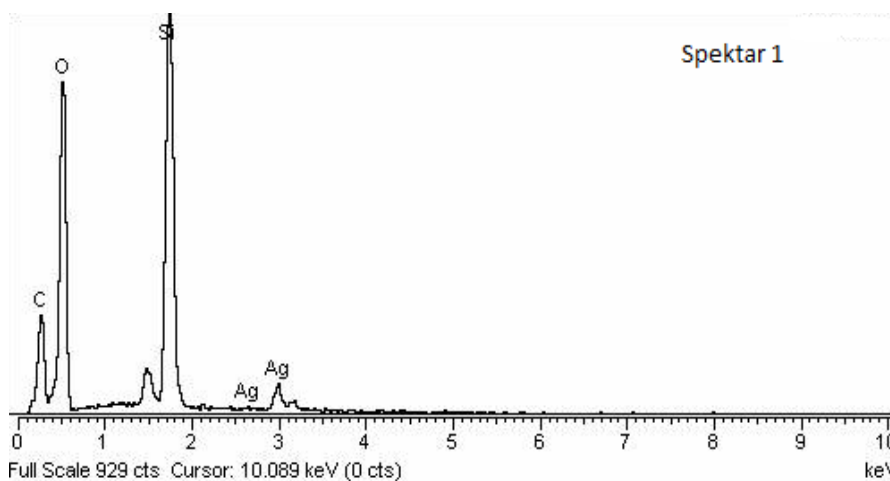


**Slika 16.** SEM slike uzoraka uz grafički prikaz distribucije veličine čestica srebra: a) Ag-S, b) S-Ag, c) Ag-w, d) PSi-HF-Ag, e) PSi-Ag, f) PSi-2x Ag.



EDS analiza napravljena je na uzorku S-Ag kako bi se odredilo kolika je prekrivenost površine čestica srebrom. Kao što je vidljivo na slici 17, na 3 keV pojavljuju se vrhovi karakteristični za Ag.<sup>67</sup>

Elementarni kisik je prisutan jer se radi o SiO<sub>2</sub> sferama na koje je nanoseno srebro, dok se prisustvo elementarnog ugljika objašnjava činjenicom da su uzorci nanošeni na ugljikove trakice.



**Slika 17.** EDS spektar uzorka S-Ag.

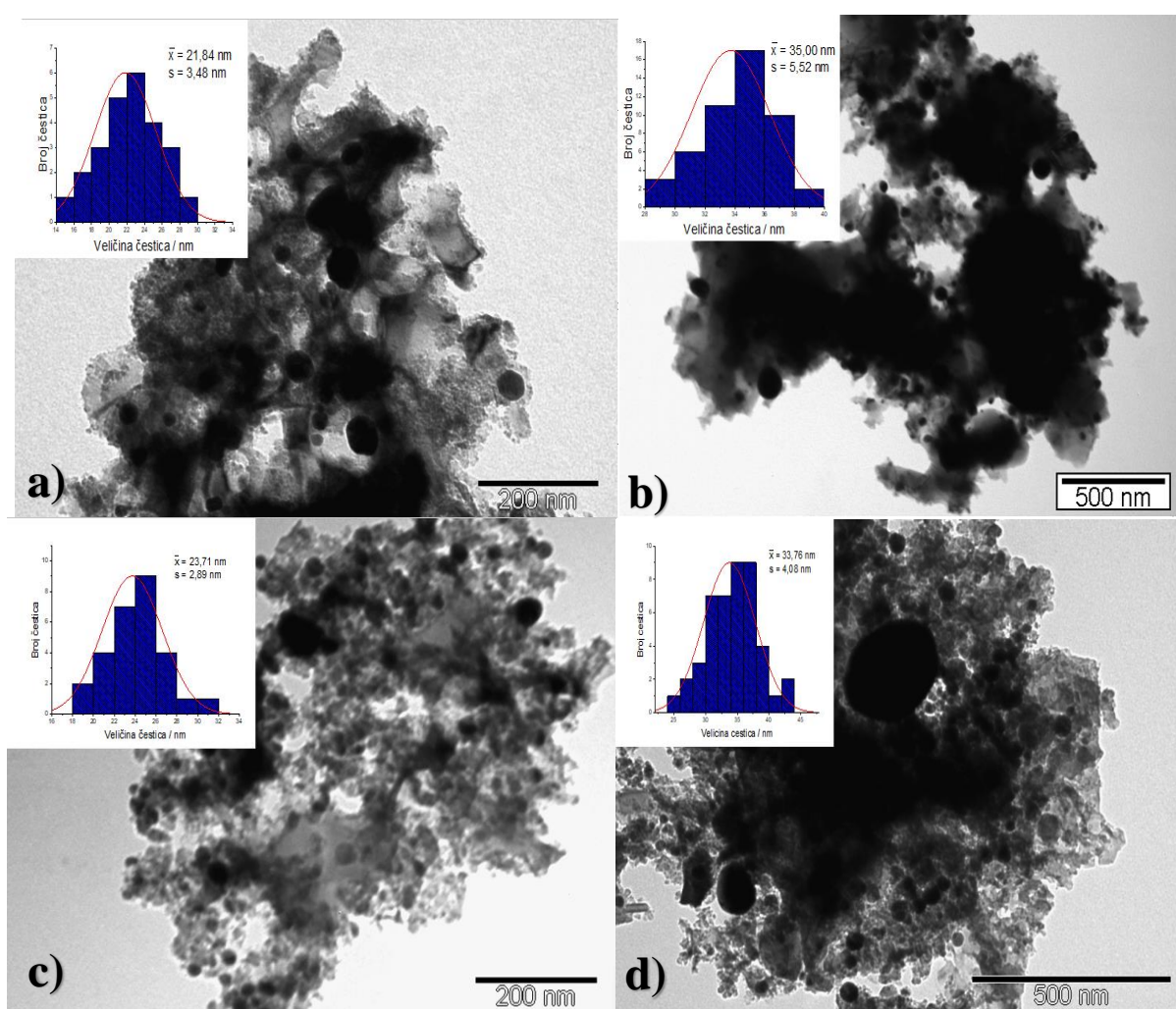
Rezultati EDS analize ukazali su da je najviše srebra prisutno na uzorcima: Ag-S koji nastao deponiranjem srebra na SiO<sub>2</sub> sfere te PSi-Ag koji je nastao depozicijom dvostruke količine srebra na porozni Si uz korištenje formaldehida (tablica 2). Dobiveni podaci ukazuju da uzorci Ag-S i PSi-2x Ag imaju dvostruko veću količinu srebra u odnosu na druge uzorke. Kako bi se detaljnije vidjela veličina nanočestica srebra snimljene su TEM slike uzoraka.

**Tablica 2.** Količina srebra (*w* / %) određena EDS analizom za pojedini ispitivani uzorak.

UZORAK	srebro, Ag ( <i>w</i> / %)
Ag-S	6,3
S-Ag	1,57
Ag-w	2,45
PSi-HF-Ag	2,56
PSi-Ag	1,3
PSi-2x Ag	3,2

## 4.2. Karakterizacija transmisijom elektronskom mikroskopijom

Transmisijom elektronskom snimljeni su uzorci: Ag-w, dobiven depozicijom srebra na mljevenu i jetkanu Si pločicu, PSi-HF-Ag, dobiven depozicijom srebra na porozni Si dobiven iz sintetskih SiO<sub>2</sub> sfera magneziotermičkom redukcijom, PSi-Ag, dobiven depozicijom srebra na porozni Si uz korištenje formaldehida te PSi-2x Ag, dobiven depozicijom dvostruke količine srebra na porozni Si uz korištenje formaldehida. Uzorcima je potrebno odrediti veličinu nanočestica srebra kako bi se bolje razlikovale čestice i njihovi agregati (slike 18.a–18.d).

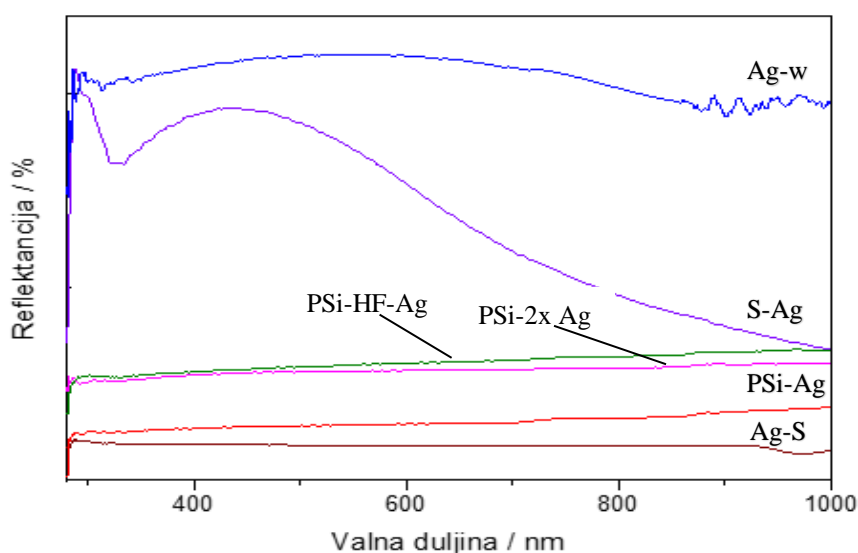


**Slika 18.** TEM slike uzoraka uz prikaz distribucije veličine čestica srebra: a) Ag-w, b) PSi-HF-Ag, c) PSi-Ag i d) PSi-2x Ag.

TEM slike prikazuju strukture sintetiziranih čestica s distribucijama veličine nanočestica srebra koja iznosi za: Ag-w =  $21,84 \pm 3,48$  nm (slika 18.a), PSi-HF-Ag =  $35,00 \pm 5,52$  nm (slika 18.b), PSi-Ag =  $23,71 \pm 2,89$  nm (slika 18.c) te PSi-2x Ag =  $33,76 \pm 4,08$  nm (slika 18.d). TEM mikrografije rezultiraju većim povećanjem i oštrijim slikama. TEM slike prikazuju sferne nanočestice srebra dobivene u prisutnim uzorcima. Veličina čestica srebra za uzorak PSi-HF-Ag (dobiven depozicijom srebra na porozni Si dobiven iz sintetskih SiO<sub>2</sub>) približno odgovara veličini čestica dobivenih SEM snimkama ( $\approx 40$  nm). U drugim uzorcima veličina srebrnih nanočestica manja je od one dobivene SEM mikroskopijom zbog posljedice većeg povećanja i jasnijeg određivanja granica nanočestica na TEM snimkama. U uzorku PSi-2x Ag prisutne su i manje ( $\approx 40$  nm) i veće ( $\approx 100$  nm) čestice, što nije uočeno na SEM snimkama (slika 16.f).

### 4.3. Karakterizacija UV/Vis spektroskopijom

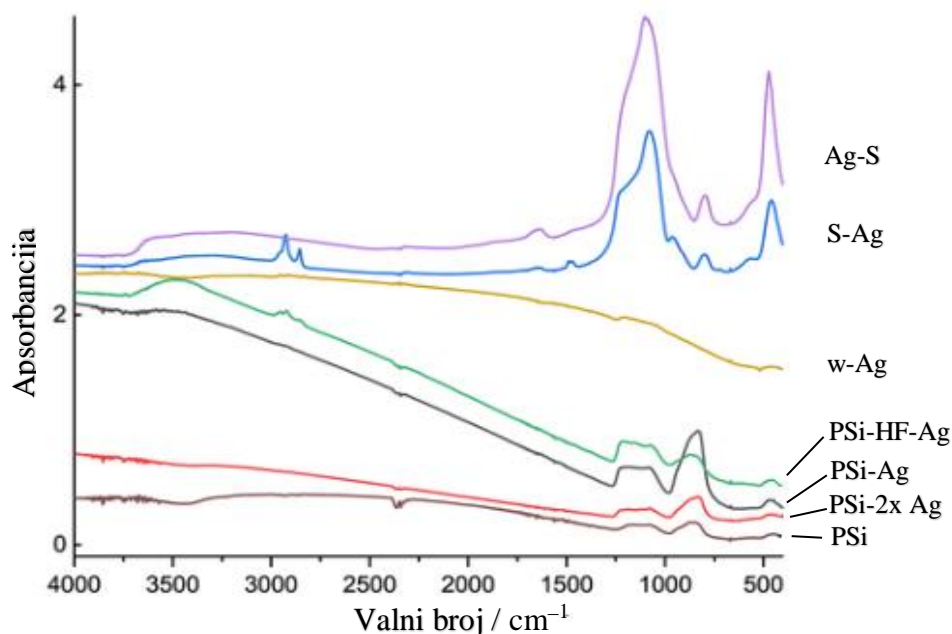
Na slici 19 vidljiva je apsorpcijska vrpca u području od 350 do 550 nm koja je karakteristična za nanočestice srebra, ovisno o njihovoj veličini. Kod uzorka S-Ag prisutan je maksimum apsorpcije na približno 435 nm koji je karakterističan za nanočestice srebra na površini SiO<sub>2</sub>.<sup>68</sup> SiO<sub>2</sub> čestice ne pokazuju svoje plazmonske vrhove u cijelom UV/Vis području zbog toga što se radi o prozirn materijalu velike energije zabranjene zone (*band gap*).<sup>69</sup> Intenzivni široki maksimum na 550 nm prisutan je u spektru Ag-w nanočestica te se smatra da potječe od nanočestica srebra.



Slika 19. UV/Vis spektri sintetiziranih uzoraka.

#### 4.4. Karakterizacija FT-IR spektroskopijom

Za analizu strukture pripremljenih sfera sa srebrom korištena je FT-IR spektroskopija u području od  $4000\text{ cm}^{-1}$  do  $400\text{ cm}^{-1}$ . FT-IR spektar za svaki uzorak prikazan je kao ovisnost apsorpcije o valnom broju izraženom u  $\text{cm}^{-1}$  (slika 20).

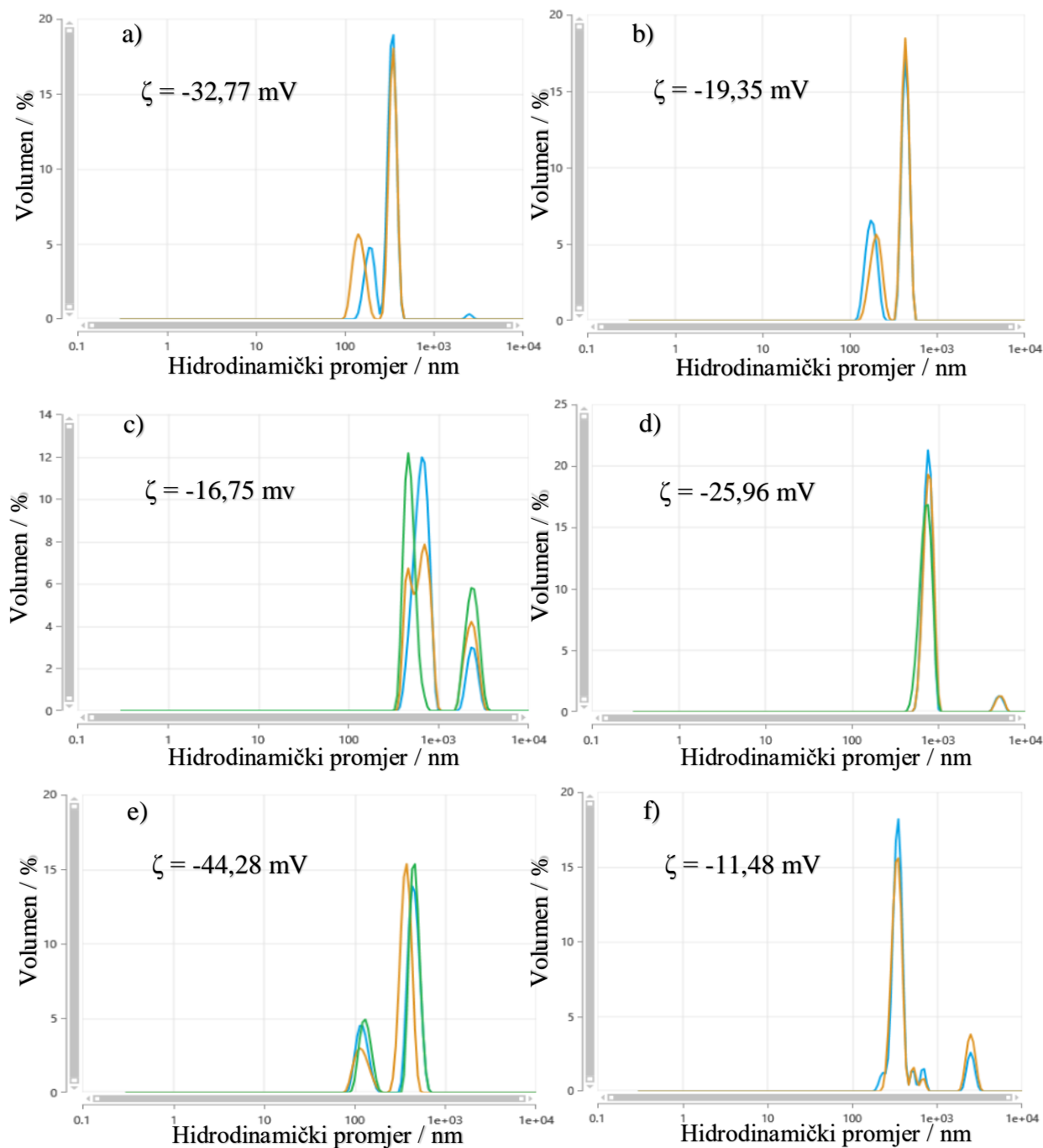


**Slika 20.** FT-IR spektri uzoraka PSi, Ag-S, S-Ag, Ag-w, PSi-HF-Ag, PSi-Ag i PSi-2x Ag.

Na slici 20 prikazani su FT-IR spektri pripremljenih uzoraka. Intenzivne vrpce, najizraženije u spektrima uzoraka S-Ag i Ag-S nalaze se pri  $476$ ,  $792$ ,  $957$  i  $1075\text{ cm}^{-1}$ , a odgovaraju vibracijama zibanja i svijanja Si–O skupina te svijanja i asimetričnog istezanja veza Si–OH skupina, a ukazuju na prisutnost silicijevog dioksida.<sup>69</sup> U spektrima uzoraka PSi, PSi-Ag, PSi-2x Ag i PSi-HF-Ag opažaju se vrpce pri približno  $825$  i  $870\text{ cm}^{-1}$  što se može pripisati Si–H skupinama koje su povezane s jednim, dva ili tri atoma kisika.<sup>70</sup> Vrpce u području od  $2920$  do  $2926\text{ cm}^{-1}$ , prisutne u uzorku S-Ag, odgovaraju simetričnim i asimetričnim vibracijama istezanja veza  $\text{CH}_2$  skupine kao posljedica prisutnosti CTAB-a na nanočesticama srebra.<sup>71</sup> U spektrima svih uzoraka, osim Ag-w, javlja se vrpca oko  $1211\text{ cm}^{-1}$  koja vjerojatno potječe od asimetričnog istezanja Si–O–Si veza.<sup>72</sup> Zbog jake apsorpcije infracrvenog zračenja, uzorci silicija pripremljeni uporabom pločice (Ag-w) ne daju značajnije spektralne signale u transmisijskom načinu snimanja. Kod svih uzoraka prisutna je slaba vrpca na  $2300\text{ cm}^{-1}$  koja je posljedica adsorbiranog  $\text{CO}_2$  (odjeljak za uzorke nije propuhivan dušikom).

#### 4.5. Karakterizacija metodom dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS)

Metodom dinamičkog raspršenja svjetlosti mjeri se hidrodinamički promjer čestica. Hidrodinamički promjer čestica definira se kao veličina hipotetske sfere koja difundira na isti način kao i veličina čestice koja se mjeri. Slike 21.a–21.f prikazuju vrijednosti hidrodinamičkog promjera za pojedini uzorak izmjerene tehnikom višestrukog kutnog dinamičkog raspršenja svjetlosti (MADLS) te vrijednost zeta potencijala ( $\zeta$ ). Nanočestice koje imaju vrijednost zeta potencijala iznad 20 mV i ispod -20 mV smatraju se stabilnima u otopinama zbog dovoljnog elektrostatskog odbijanja. Uzorci Ag-S, PSi-HF-Ag i PSi-Ag imaju vrijednost zeta potencijala ispod navedene vrijednosti i stoga se oni smatraju stabilnima u otopini bez tendencije da spontano reagiraju. Uzorci S-Ag, PSi-w i PSi-2x Ag imaju nešto manju negativnu vrijednost zeta potencijala, ali se smatraju dovoljno stabilnima.



**Slika 21.** Hidrodinamička raspodjela veličine po volumenu za uzorke: a) Ag-S, b) S-Ag, c) Ag-w, d) P*Si*-HF-Ag, e) P*Si*-Ag i f) P*Si*-2x Ag izmjerena MADLS tehnikom te izmjerene vrijednosti zeta potencijala,  $\zeta$ .

Vrijednosti hidrodinamičkih promjera u svim slučajevima su znatno veće od dimenzija čestica izračunatih na temelju SEM i TEM slika. Vrijednosti hidrodinamičkih promjera prikazane su u tablici 3 zajedno s izmjerenim zeta potencijalima. Sustavne razlike između izračunatog promjera i dimenzija dobivenih iz SEM i TEM mikrografija mogu se objasniti time što točan

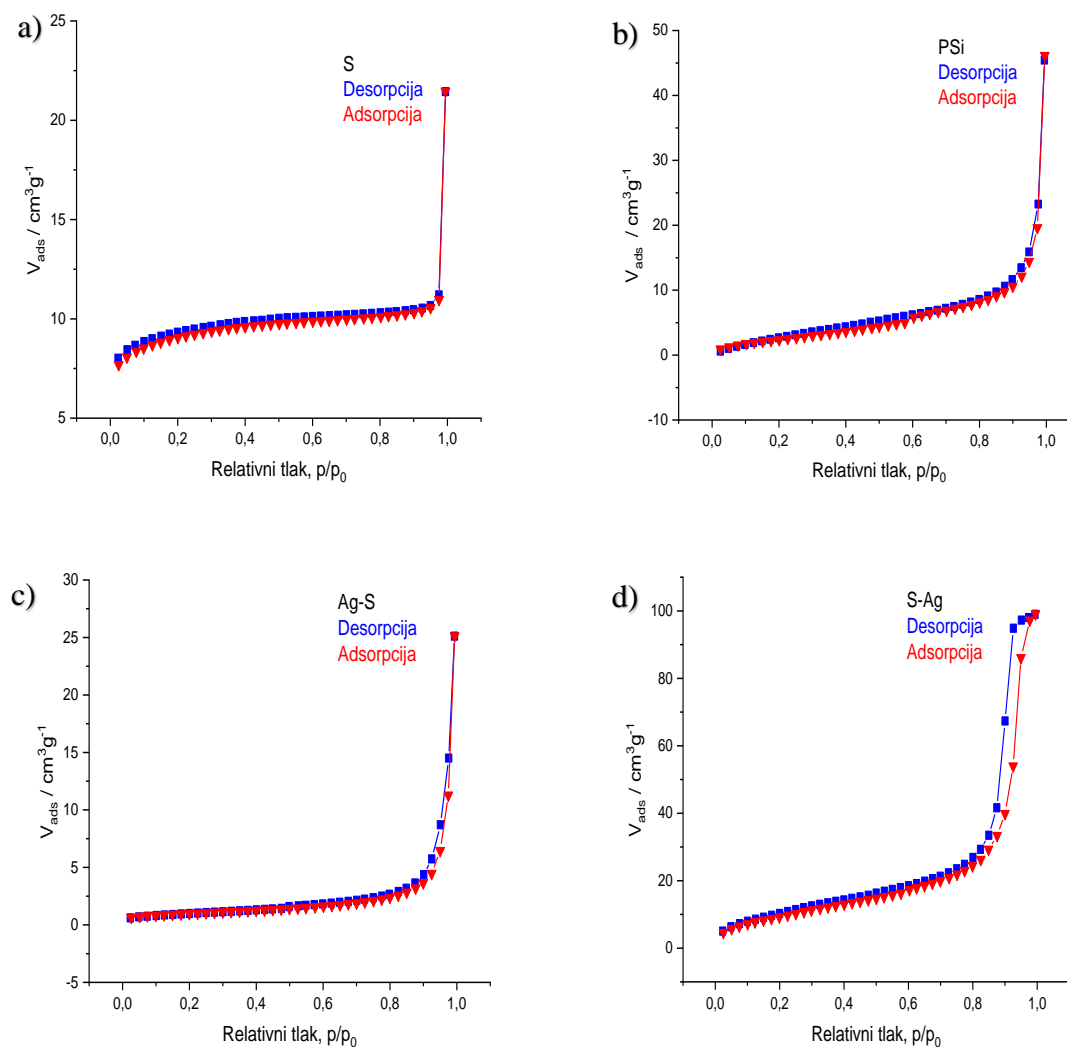
oblik i hidrodinamička svojstva nanočestica nisu dovoljno poznate. Moguće je postojanje velikih i malih čestica (također vidljivo na slici 21) zbog toga što prisustvo većih čestica dovodi do jačeg raspršenja svjetlosti pa se svjetlost manje raspršuje s manjih čestica. Raspršena svjetlost s manjih čestica se puno teže detektira.

**Tablica 3.** Vrijednosti zeta potencijala, pH vrijednosti, hidrodinamičkog promjera, promjera određenog SEM i TEM mikroskopijom, BET površine i masenog udjela srebra za pojedine uzorke.

Uzorak	Vrsta uzorka	$\zeta$ / mV	pH vrijednost	Hidrodinamički promjer / nm	Promjer SEM / nm	Promjer TEM / nm	BET površina / m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>	w(Ag) / %
Ag-S	Ag na SiO <sub>2</sub> sferi	-32,77	6,42	166,7 i 341,8	32,1 ±3,8	/	35,51	6,3
S-Ag	Ag jezgra + sloj SiO <sub>2</sub>	-19,35	7,08	188,2 i 432,9	48,6 ±7,2	/	378,14	1,6
Ag-w	Ag na Si pločici	-16,75	5,88	604,9 i 1741	64,3 ±5,9	21,84 ± 3,48	9,37	2,5
PSi-HF-Ag	Ag na PSi iz SiO <sub>2</sub> sfera	-25,96	7,10	742,2	39,5 ±6,4	35,00 ±5,52	56,19	2,6
PSi-Ag	Ag na PSi	-44,28	5,93	427,3 i 124,9	53,1 ±4,0	33,76 ±4,08	55,95	1,3
PSi-2x Ag	2x Ag na PSi	-11,48	6,35	337,7 i 2489	64,3 ±4,4	23,71 ±2,89	27,15	3,2

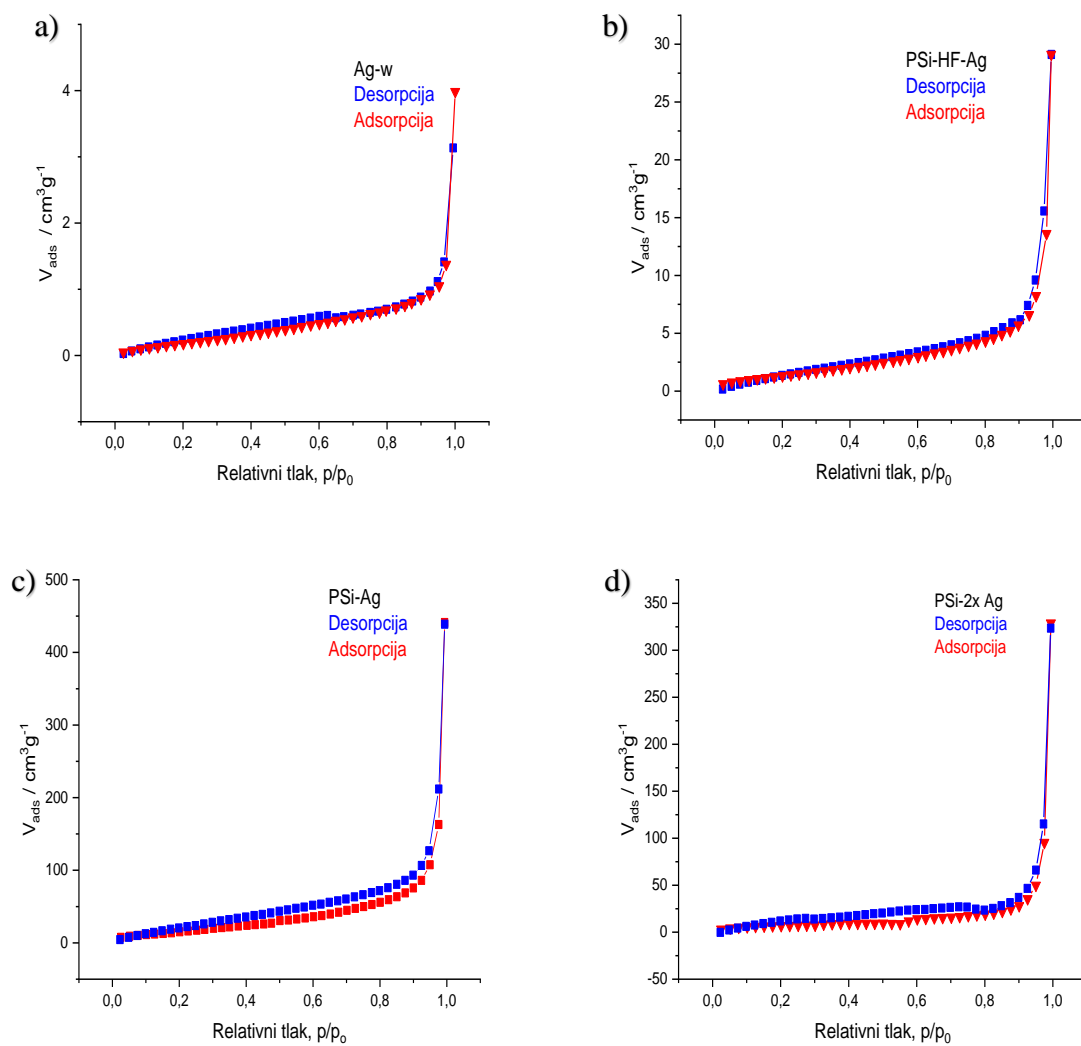
#### 4.6. Određivanje površine poroznih čestica i veličina pora

Analiza uzoraka pomoću adsorpcije i desorpcije dušika omogućava nam jasno razumijevanje strukturne razlike između dobivenih uzoraka. Slike 22 i 23 prikazuju dobivene izoterme adsorpcije-desorpcije dušika za pojedine analizirane uzorke. Korištenjem BET i BJH metoda izračunata je BET površina, odnosno veličine pora. Uspoređivanjem vrijednosti veličine pora (tablica 4) može se zaključiti da najveće pore ima uzorak S-Ag (18,84 nm).<sup>73</sup> Veličina pora SiO<sub>2</sub> sfera manja je u odnosu na veličinu pora ostalih uzoraka.



**Slika 22.** Izoterme adsorpcije-desorpcije N<sub>2</sub> izmjerene za pojedini uzorak: a) S, b) PSi, c) Ag-S, d) S-Ag.





Slika 23. Izoterme adsorpcije-desorpcije N<sub>2</sub> izmjerene za pojedini uzorak: a) Ag-w, b) PSi-HF-AF, c) PSi-Ag , d) PSi-2x Ag.

**Tablica 4.** Dobivene brojčane vrijednosti poroznosti, veličine pora i BET površine za pojedine uzorke.

Uzorak	Poroznost / cc g <sup>-1</sup>	Veličina pora / nm	BET površina / m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>
S	0,42	1,19	351,8
PSi	0,7	1,848	98,6
Ag-S	0,392	3,93	35,51
S-Ag	1,62	18,84	378,136
PSi-w	0,047	1,564	9,37
PSi-HF-Ag	0,483	1,99	56,19
PSi-Ag	0,5	1,652	55,95
PSi-2x Ag	0,55	1,747	27,15

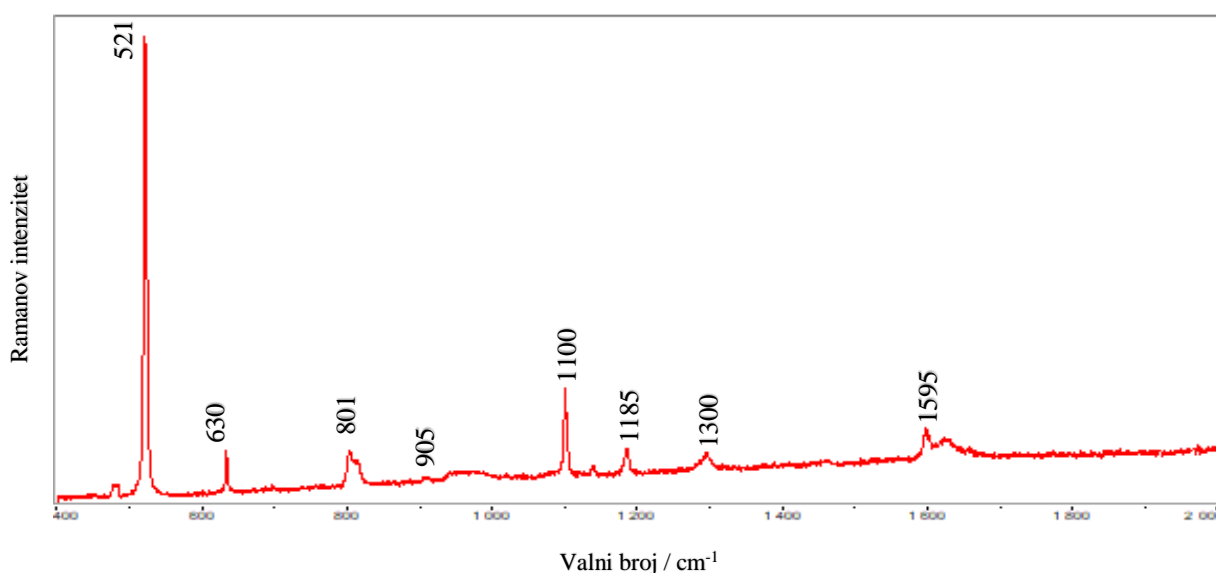
Najveća BET površina je dobivena za čestice S-Ag te iznosi 378,136 m<sup>2</sup>/g zbog nastanka mezoporoznih kanala u SiO<sub>2</sub> strukturi.<sup>41</sup> Najmanja BET površina dobivena je za čestice PSi-w zbog nedovoljnog jetkanja uzorka u fluorovodičnoj kiselini te iznosi 9,37 m<sup>2</sup>/g, stoga, pora gotovo ni nema.

#### 4.7. SERS spektroskopija

U daljnjem se radu uspoređivala SERS aktivnost pripremljenih čestica na koje je nanoseno srebro. 4-merkaptofenilborna kiselina (4-MPBA) korištena je kao probna molekula. Detaljnu studiju ponašanja 4-MPBA molekule prilikom vezanja na Ag nanočestice, ovisno o koncentraciji molekule i pH medija, napravili su Li i suradnici.<sup>28</sup> 4-MPBA se adsorbira na nanočestice srebra sa svojom tiolnom skupinom.<sup>28</sup> Na vezanje preko tiolne skupine ukazuju vrpce na 907 cm<sup>-1</sup> (ovdje 905 cm<sup>-1</sup>) i 2563 cm<sup>-1</sup> koje potječu od svijanja C–S–H skupine i istezanja S–H veze, i koje postoje u običnom Ramanovom spektru (slika 24), ali ih nema u SERS spektrima. Osim toga, prema izbornim pravilima elektromagnetskog pojačanja na površini metala može se očekivati da će vibracije aromatskog prstena u ravnini biti pojačane kada je 4-MPBA orijentirana okomito u odnosu na površinu nanočestice i da će iste vibracije biti slabe kada je 4-MPBA paralelna s površinom nanočestica. S obzirom na pojačanja pojedinih vrpca u SERS spektrima, Li i suradnici zaključili su da je u kiselim uvjetima molekula 4-MPBA

orijentirana paralelno s površinom nanočestica, dok je bazičnom okruženju položena okomito na površinu nanočestica. Naime, u kiselim uvjetima 4-MPBA se uglavnom nalazi u svom originalnom obliku, dok se u bazičnim uvjetima  $\text{OH}^-$  skupina veže na atom bora, pri čemu molekula nosi negativan naboj. Zbog elektrostatskog odbijanja negativno nabijenih skupina s borom povoljniji je okomiti položaj 4-MPBA molekula. Kada  $\text{OH}^-$  skupina nije asocirana (niski pH), nema odbijanja te molekule 4-MPBA zauzimaju vodoravni položaj. U kiselom mediju 4-MPBA je vodoravno orijentirana na što ukazuju relativno slabi intenziteti vibracija u ravnini i pojačani intenziteti vibracija izvan ravnine, dok je u bazičnom mediju 4-MPBA okomito orijentirana pri čemu dolazi do jačanja intenziteta vibracija u ravnini i nestanka vibracija izvan ravnine. Stoga, s obzirom na promjenu pH vrijednosti mijenja se i orijentacija 4-MPBA na površini Ag nanočestica.

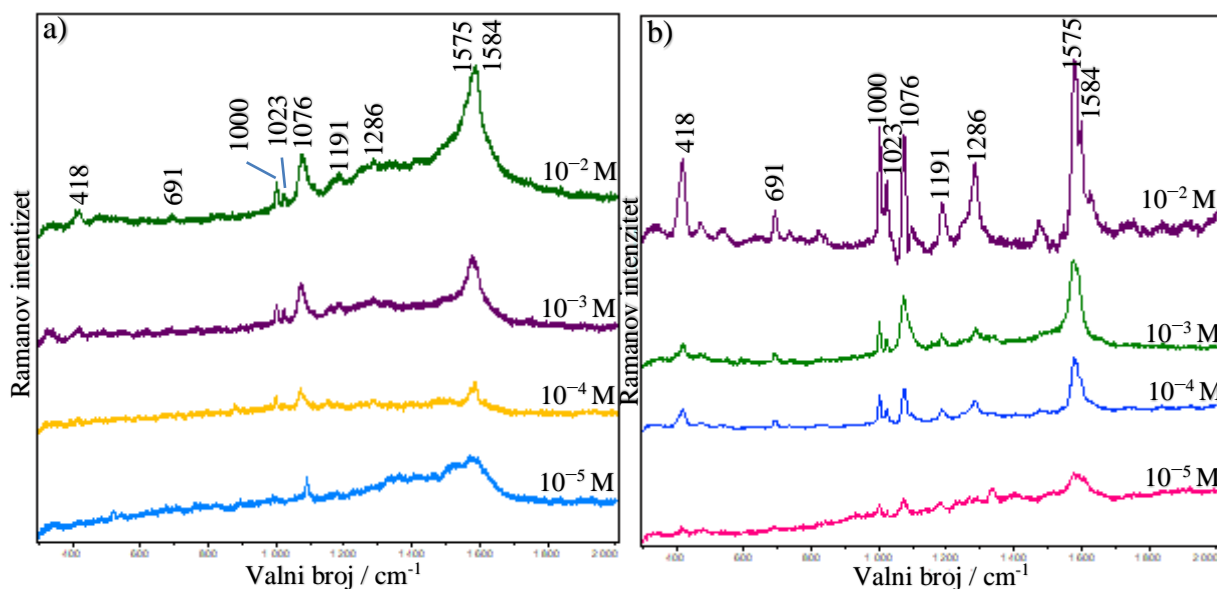
Izmjerene pH vrijednosti pripremljenih koloidnih suspenzija dane su u tablici 3. Snimljen je Ramanov spektar otopine 4-MPBA ( $0,33 \text{ mol L}^{-1}$ ) na čistom siliciju (slika 24). Vrpca na  $521 \text{ cm}^{-1}$  predstavlja karakterističnu vrpcu silicija koja potječe od podloge, vrpca na  $630 \text{ cm}^{-1}$  odgovara istezanju C–S veze,  $\nu_{\text{CS}}$ , na  $801 \text{ cm}^{-1}$  odgovara svijanju C–H skupine izvan ravnine,  $\gamma_{\text{CH}}$ , vrpca na  $905 \text{ cm}^{-1}$  odgovara svijanju C–S–H skupine u ravnini,  $\beta_{\text{CSH}}$ , vrpca na  $1100 \text{ cm}^{-1}$  odgovara svijanju C–H skupine u ravnini,  $\beta_{\text{CH}}$ , vrpca na  $1185 \text{ cm}^{-1}$  predstavlja svijanje C–H i B–O–H skupina u ravnini,  $\beta_{\text{CH}}$  i  $\beta_{\text{BOH}}$ , vrpca na  $1300 \text{ cm}^{-1}$  predstavlja istezanje B–O veze,  $\nu_{\text{BO}}$  te vrpca na  $1595 \text{ cm}^{-1}$  predstavlja istezanje C–C veze,  $\nu_{\text{CC}}$ .



**Slika 24.** Ramanov spektar otopine 4-MPBA ( $0,33 \text{ mol L}^{-1}$ ) na čistom siliciju uz lasersku pobudu 532 nm.

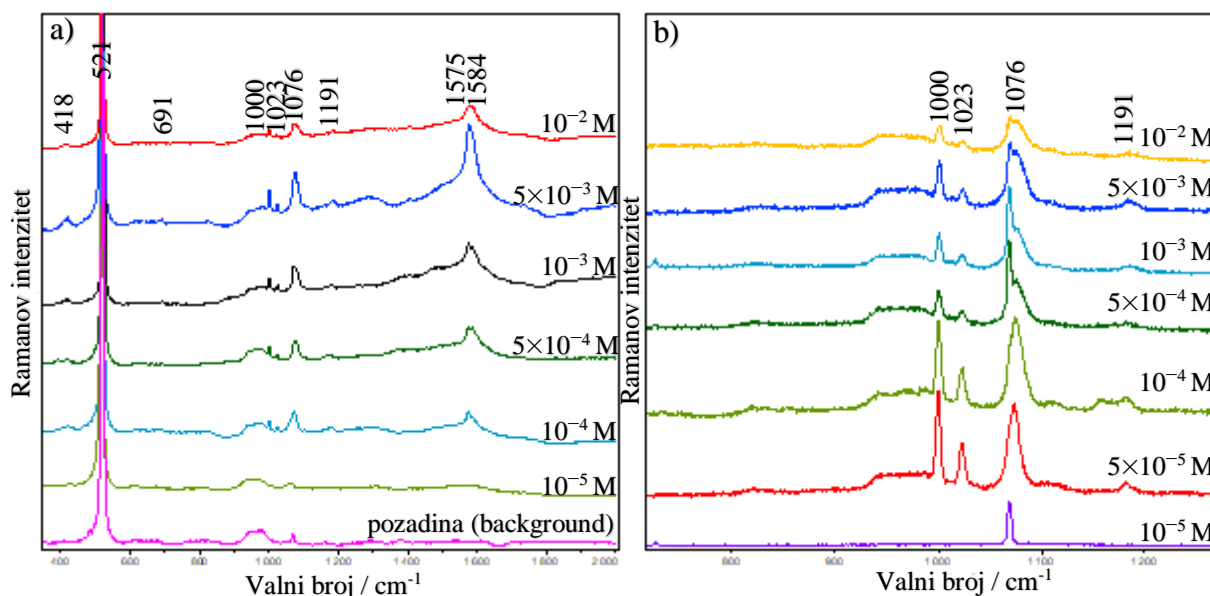
Kako bi se odredili najbolji uvjeti za postizanje maksimalnog pojačanja, istraživani su neki od parametara. Istraživalo se vrijeme inkubacije probne molekule i SERS supstrata te pogodno agregacijsko sredstvo (različite soli, npr. KCl, KBr i NaNO<sub>3</sub>). Za ispitivanje utjecaja vremena inkubacije na signal, probna molekula inkubirana je s koloidnom suspenzijom odgovarajućih čestica u tri izabrana vremena: 30 min, 1 sat i 2 sata, na sobnoj temperaturi. Utvrđeno je da je najbolje pojačanje signala postignuto za vrijeme inkubacije od 30 min i uz dodatak otopina NaNO<sub>3</sub> (1 mol L<sup>-1</sup>) kao agregacijskog sredstva koje inducira agregaciju nanočestica. Agregacija čestica je bitna jer dolazi do značajnijeg pojačanja Ramanovog signala.

Ramanovi spektri za niz koncentracija 4-merkaptofenilborne kiseline ( $1 \times 10^{-2}$ ,  $5 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-3}$ ,  $5 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) snimljeni su na česticama poroznog silicija na koje je nanoseno srebro te je ispitivana SERS aktivnost i određena granica detekcije za 4-MPBA za svaku od čestica (Ag-S, S-Ag, Ag-w, P*Si*-HF-Ag, P*Si*-Ag i P*Si*-2x Ag). Snimljeni spektri prikazani su na slici 25 za nanočestice s jezgrom Ag i ovojnicom SiO<sub>2</sub> (Ag-S) i nanočestice srebra na površini SiO<sub>2</sub> sfera (S-Ag), na slici 26 za Ag na poroznom Si prahu dobivenom mljevenjem Si pločice (Ag-w) i Ag na poroznom Si iz sintetskih SiO<sub>2</sub> sfera (P*Si*-HF-Ag) te na slici 27 za Ag na poroznim Si nanočesticama pripremljenim uz korištenje formaldehida (P*Si*-Ag) i Ag na poroznim Si nanočesticama pripremljenim uz korištenje dvostruke količine AgNO<sub>3</sub> (P*Si*-2x Ag). Valna duljina pobude za sve uzorke bila je 532 nm, a snaga lasera manja od 10 mW. Vrijeme snimanja spektra bilo je 30 sekundi uz četiri ponavljanja.



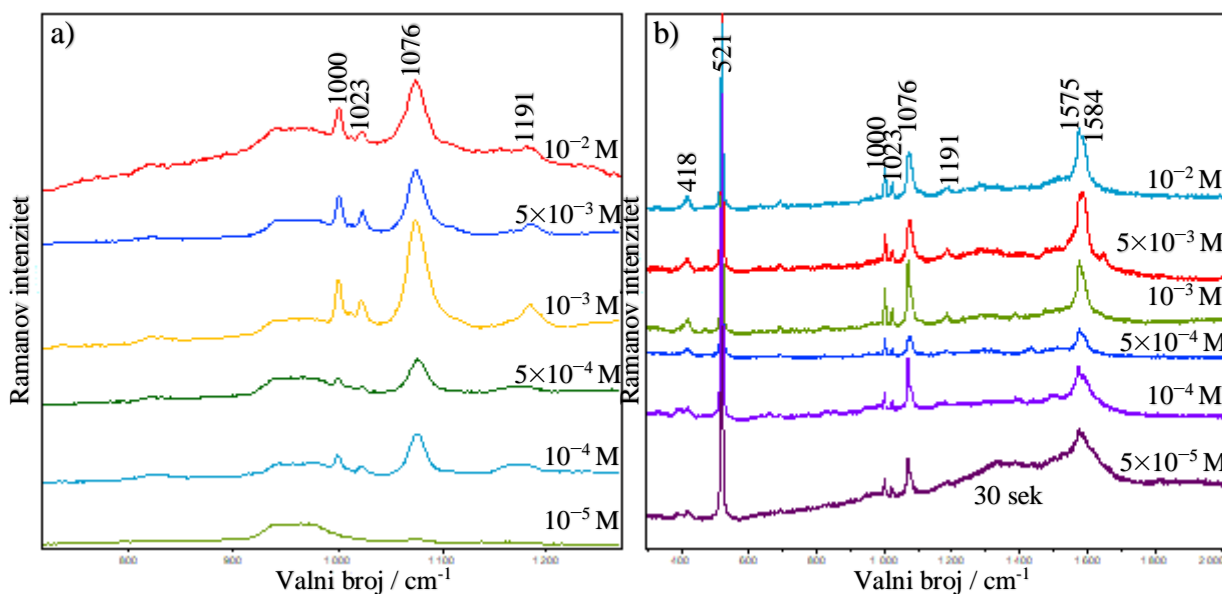
**Slika 25.** SERS spektri različitih koncentracija 4-MPBA na: a) nanočesticama s jezgrom Ag i ovojnicom  $\text{SiO}_2$  (Ag-S) i b) nanočesticama srebra na površini  $\text{SiO}_2$  sfera (S-Ag); ( $\lambda_{\text{ex}} = 532$  nm; snaga lasera  $< 10$  mW; vrijeme snimanja 30 s, 4 ponavljanja).

U svim spektrima su vidljive vrpce na  $1000$ ,  $1023$  i  $1076$   $\text{cm}^{-1}$  koje su redom pripisane svijanju u ravnini C–C–C skupine,  $\beta_{\text{CC}}$ , svijanju u ravnini C–H skupine,  $\beta_{\text{CH}}$ , te svijanju u ravnini C–C–C skupine,  $\beta_{\text{CC}}$ , i istezanju C–S veze,  $\nu_{\text{CS}}$  (slike 25–27). Intenzitet ovih vrpći slabiji je na uzorcima Ag-S, Ag-w, P*Si*-Ag i P*Si*-2x Ag (slike 25.a, 26.a, 27.a i 27.b) u odnosu na uzorke S-Ag i P*Si*-HF-Ag (slike 25.b i 26.b) vjerojatno zbog toga što intenzitet vibracija u ravnini relativno slabi u kiselom mediju kada je 4-MPBA orijentirana vodoravno na površini nanočestica Ag. Par intenzivnih vrpći na  $1575$   $\text{cm}^{-1}$  i  $1584$   $\text{cm}^{-1}$  opisuje istezanje C–C veze,  $\nu_{\text{CC}}$ . Uočljivo je u SERS spektru da intenzitet vrpći na  $1575$   $\text{cm}^{-1}$  i  $1584$   $\text{cm}^{-1}$ , koje su osjetljive na kiselo-baznu promjenu, malo raste pri pH vrijednosti većoj od 7 (slika 25.b) dok su u ostalim spektrima intenziteti istih vrpći znatno slabiji. Vrpca na  $905$   $\text{cm}^{-1}$ , koja postoji u Ramanovom spektru 4-MPBA (slika 24), u potpunosti nestaje u SERS spektru. Razlog je tome da se 4-MPBA adsorbira na površinu srebra preko atoma sumpora uslijed gubitka tiolnog protona.<sup>27</sup> Granica detekcije za 4-MPBA na uzorku Ag-S iznosi  $1 \times 10^{-5}$  mol  $\text{L}^{-1}$ , baš kao i za uzorak S-Ag (slika 25.a). Uzorak S-Ag daje dobar intenzitet pri  $1 \times 10^{-2}$  mol  $\text{L}^{-1}$  4-MPBA, no smanjenjem koncentracije dolazi do znatnog pada intenziteta (slika 25.b).



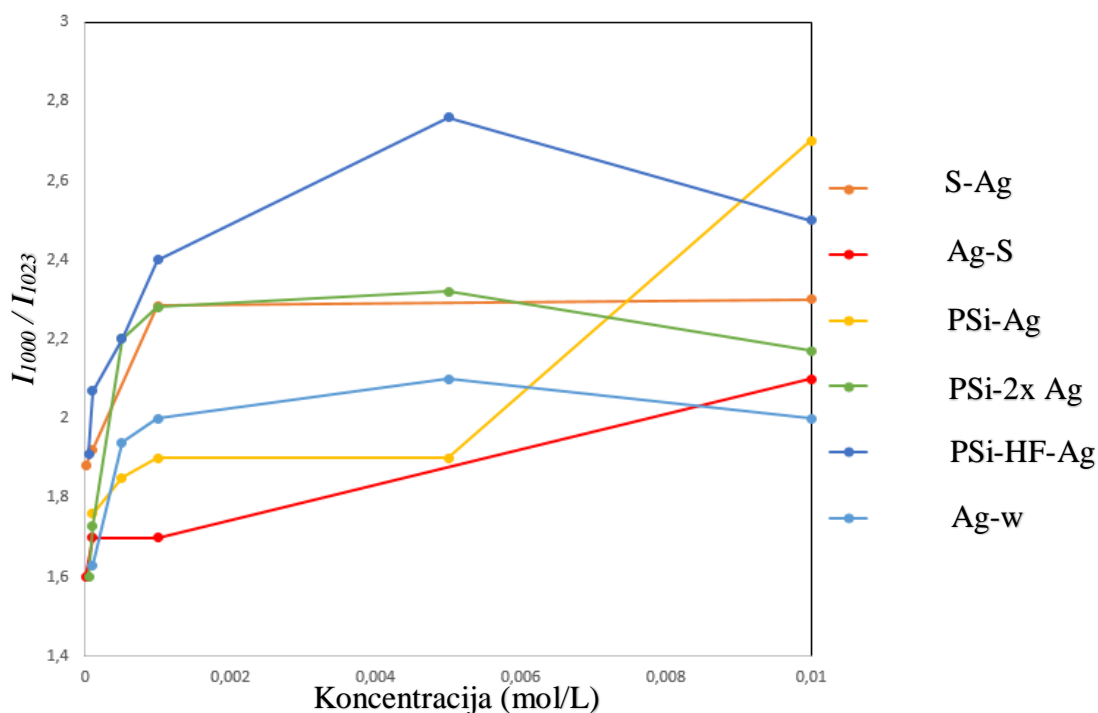
**Slika 26.** SERS spektri različitih koncentracija 4-MPBA na: a) Ag na poroznom Si prahu dobivenom mljevenjem Si pločice (Ag-w) i b) Ag na poroznom Si iz sintetskih SiO<sub>2</sub> sfera (PSi-HF-Ag); ( $\lambda_{\text{ex}} = 532 \text{ nm}$ ; snaga lasera  $< 10 \text{ mW}$ ; vrijeme snimanja 30 s, 4 ponavljanja).

Granica detekcije za 4-MPBA na uzorku Ag-w iznosi  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , dok na uzorku PSi-HF-Ag iznosi  $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Za uzorak PSi-HF-Ag opažen je dobar intenzitet signala do  $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , no intenzitet kod  $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  opada (slika 26.b).



**Slika 27.** SERS spektri različitih koncentracija 4-MPBA na: a) Ag na poroznim Si nanočesticama uz korištenje formaldehida (PSi-Ag) i b) Ag na poroznim Si nanočesticama uz korištenje dvostruko veće količine AgNO<sub>3</sub> (PSi-2x Ag); ( $\lambda_{\text{ex}} = 532 \text{ nm}$ ; snaga lasera  $< 10 \text{ mW}$ ; vrijeme snimanja 30 s, 4 ponavljanja).

Na uzorku P*Si*-Ag granica detekcije za 4-MPBA je  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, dok je najjači intenzitet detektiran pri  $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. S druge strane, na uzorku P*Si*-2x Ag granica detekcije za 4-MPBA je  $5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.



**Slika 28.** Omjer intenziteta vrpci 4-MPBA pri  $1000 \text{ cm}^{-1}$  i  $1023 \text{ cm}^{-1}$  u ovisnosti o koncentraciji 4-MPBA za pojedini uzorak.

U SERS mjerenjima površinska pokrivenost dostiže svoje maksimalne vrijednosti kada probna molekula tvori jednosloj na površini nanočestice.<sup>74</sup> Slika 28 prikazuje omjer visine dviju vrpci 4-MPBA ( $1000$  i  $1023 \text{ cm}^{-1}$ ) u ovisnosti o koncentraciji 4-MPBA za svaki uzorak. Omjer inteziteta ovih vrpci 4-MPBA korišten je zbog toga što su one intenzivne i prisutne kod svih uzoraka. Na slici 28 je vidljivo da je kod većine uzoraka (Ag-w, S-Ag, P*Si*-HF-Ag i P*Si*-2x Ag) maksimalna vrijednost omjera intenziteta vrpci postignuta pri koncentraciji  $5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> što ukazuje na to da je u tim slučajevima 4-MPBA formirala jednosloj na površini nanočestice. Za ostala dva uzorka (Ag-S i P*Si*-Ag) najveći omjer intenziteta postignut je pri koncentraciji  $1 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>.

S obzirom na postignute granice detekcije za 4-MPBA, uzorci S-Ag, P*Si*-HF-Ag i P*Si*-2x Ag pokazali su se kao bolji SERS supstrati u odnosu na uzorke Ag-S, Ag-w i P*Si*-Ag.

Najniža granica detekcije od  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> postignuta je korištenjem uzorka S-Ag kao SERS supstrata te bi buduća istraživanja u svrhu pripreve stabilnog i reproducibilnog SERS supstrata mogla nastaviti u tom smjeru.



## § 5. ZAKLJUČAK

U okviru ovog diplomskog rada sintetizirano je šest različitih SERS supstrata. SERS supstrati pripremljeni su depozicijom srebra na SiO<sub>2</sub> sfere, sintezom čestica s Ag jezgrom i mezoporoznim slojem SiO<sub>2</sub>, depozicijom srebra na mljevenu i jetkanu Si pločicu, depozicijom srebra na porozni Si dobiven iz sintetskih SiO<sub>2</sub> sfera, depozicijom srebra na porozni Si uz korištenje formaldehida i depozicijom dvostruke količine srebra na porozni Si uz korištenje formaldehida. Sintetizirane silicijske nanostrukture su korištene jer posjeduju veliku površinu dostupnu za sintezu nanočestica srebra, a potom i probne molekule. Kao probna SERS molekule u ovom radu korištena je 4-merkaptofenilborna kiselina čiji je mehanizam adsorpcije na Ag nanočestice u literaturi već dobro istražen.

Morfologija čestica proučavana je metodama transmisivne elektronske mikroskopije, skenirajuće elektronske mikroskopije spregnute s energijski-disperzivnom spektroskopijom rendgenskih zraka, dinamičkog raspršenja svjetlosti, UV/Vis apsorpcijskom spektroskopijom, infracrvenom spektroskopijom te metodama za određivanje površine i veličine pora kako bi se utvrdila stabilnost dobivenih koloidnih nanočestica. Rezultati morfološke analize pokazali su da su sintetizirane stabilne Ag nanočestice na površini poroznog silicija i SiO<sub>2</sub> sfera te da se njihov raspon kreće od 30 do 65 nm.

SERS mjerenjima pri pobudi na 532 nm i korištenjem 4-MPBA kao probne molekule, određene su granice detekcije za sve sintetizirane uzorke (Ag-S, S-Ag, Ag-w, P*Si*-HF-Ag, P*Si*-Ag i P*Si*-2x Ag). Iako su svi uzorci pokazali SERS aktivnost, kao najefikasniji SERS supstrat pokazao se uzorak S-Ag koji se sastoji od nanočestica srebra na površini SiO<sub>2</sub> sfera i korištenjem kojeg je dobivena granica detekcije 4-MPBA od  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.

Površinski pojačana Ramanova spektroskopija izuzetno je moćna tehnika, no njena je slaba točka nepostojanje univerzalnog, pouzdanog, stabilnog, jeftinog i reproducibilnog SERS supstrata za komercijalnu primjenu. SERS podloge sintetizirane u ovom radu korak su prema sintezi jeftinog i jednostavnog SERS supstrata. Iako pripravljene podloge posjeduju dobra svojstva, vjerujemo da bi se daljnjom optimizacijom parametara sinteze mogle postići niže granice detekcije te se podloge koristiti za detekciju raznovrsnih analita. Daljnja bi se istraživanja ovih čestica, na primjer, mogla usmjeriti prema većoj prekrivenosti površine poroznog Si (ili SiO<sub>2</sub> sfera) nanočesticama srebra.

## § 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

4-MPBA – 4-merkaptofenilborna kiselina

BET – Brunauer-Emmett-Teller

BJH – Barrett-Joyner-Halenda

BSE – unatrag raspršeni elektroni

DLS – dinamičko raspršenje svjetlosti

EDS – energijski disperzivni spektrometar

EF – faktor pojačanja

FT-IR – infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom

IR – infracrveno zračenje

LSPR – lokalizirana površinska plazmonska rezonancija

NIR – blisko infracrveno zračenje

RRS – rezonantna Ramanova spektroskopija

SE – sekundarni elektroni

SEM – skenirajuća elektronska mikroskopija

SERS – površinski pojačano Ramanovo raspršenje

TEM – transmisijska elektronska mikroskopija

UV – ultraljubičasto zračenje

Vis – vidljivo zračenje

## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. S. Jafarzadeh, A. Salehabadi, u S. M. Jafari (ur.) *Hanbook of Food Nanotechnology: Applications and Approaches*, Vol. 1, Academic Press, Cambridge, 2020, str. 379–414.
2. R. Pala, V.T. Anju, M. Dyavaiah, S. Busi, S.M. Nauli, *Int. J. Nanomedicine* **15** (2020) 3741–3769.
3. L. Harper, J. Powell, E. M. Pijl, *Harm Reduction Journal* **14** (2017) 1–14.
4. A. Nawrocka, J. Lamorsk, *Determination of Food Quality by Using Spectroscopic Methods*, IntechOpen, London, 2013, str. 1–23.
5. G. Gouadec, P. Colomban, *J. Raman Spectrosc.* **38** (2007) 598–603.
6. S. Laing, L. E. Jamieson, K. Faulds, D. Graham, *Nat. Rev. Chem.* **1** (2017) 1–19.
7. R. Singh, *Phys. perspect.* **4** (2002) 399–420.
8. R. Piazza, V. Degiorgio, *Encyclopedia of Condensed Matter Physics*, Elsevier, Oxford, 2005, str. 234–242.
9. E. Smith, G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2005, str. 1–225.
10. P. Y. Hou, J. Ager, J. Mougín, A. Galerie, *Oxid. Met.* **75** (2011) 229–245.
11. S. A. Asher, *Anal. Chem.* **65** (1993) 59A–66A.
12. A. Otto, I. Mrozek, H. Grabhorn, W. Akemann, *Condens. Matter* **4** (1992) 1143–1212.
13. K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L. T. Perelman, I. Itzkan, R. R. Dasari, M. S. Feld, *Phys. Rev. Lett.* **78** (1997) 1667–1670.
14. S. Nie, S. R. Emory, *Science* **275** (1997) 1102–1106.
15. S. Y. Ding, E. M. You, Z. Q. Tian, M. Moskovits, *Chem. Soc. Rev.* **46** (2017) 4042–4076.
16. J. M. Chalmers, H. G. M. Edwards, M. D. Hargreaves, *Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science*, John Wiley & Sons, Chichester, 2012.
17. J.P. Camden, J. A. Dieringer, Y. Wang, D. J. Masiello, L. D. Marks, G. C. Schatz, R. P. Van Duyne, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 12616–12617.
18. M. Kerker, *Acc. Chem. Res.* **17** (1984) 271–277.

19. G. Demirel, H. Usta, M. Yilmaz, M. Celik, H. A. Alidagi, F. Buyukserin, *J. Mater. Chem. C* **6** (2018) 5314–5335.
20. S. L. Kleinman, R. R. Frontiera, A. -I. Henry, J. A. Dieringer, R. P. Van Duyne, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15** (2013) 21–36.
21. L. Mikac, *Površinski pojačano Ramanovo raspršenje: od koloidne otopine do stabilnog supstrata*, Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2016, str. 17.
22. R. P. Van Duyne, J. C. Hulteen, D. A. Treichel, *J. Chem. Phys.* **99** (1993) 2101–2115.
23. D. S. Grubisha, R. J. Lipert, H. -Y. Park, J. Driskell, M. D. Porter, *Anal. Chem.* **75** (2003) 5936–5943.
24. H. T. Beier, C. B. Cowan, I.-H. Chou, J. Pallikal, J. E. Henry, M. E. Benford, J. B. Jackson, T. A. Good, G. L. Coté, *Plasmonics* **2** (2007) 55–64.
25. J. -H. An, W. A. El-Said, C.-H. Yea, T. -H. Kim, J.-W. Choi, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **11** (2011) 4424–4429.
26. M. Kahraman, E. R. Mullen, A. Korkmaz, S. Wachsmann-Hogiu, *Nanophotonics* **6** (2017) 831–852.
27. X.-H. Pham, M. Lee, S. Shim, S. Jeong, H.-M. Kim, E. Hahm, S. H. Lee, Y.-S. Lee, D. H. Jeong, B.-H. Jun, *RSC Adv.* **7** (2015) 7015–7021.
28. S. Li, Q. Zhou, W. Chu, W. Zhao, J. Zheng, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17** (2015) 17638–17645.
29. J. Smolsky, S. Kaur, C. Hayashi, S. K. Batra, A. V. Krasnoslobotsev, *Biosensors* **7** (2017) 1-2–1.
30. <https://www.nano.gov> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
31. D. F. Emerich, C. G. Thanos, *Expert Opin. Biol. Ther.* **3** (2003) 655–663.
32. <https://www.britannica.com/technology/nanotechnology/Nanofabrication> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
33. A. Kumar, K. Gupta, S. Dixit, K. Mishra, S. Srivastava, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **16** (2019) 2175–2184.
34. T. Jurkin, M. Gotić, *Kem. Ind.* **62** (2013) 401–415.
35. <https://www.sigmaaldrich.com> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
36. M. J. Sweet, I. Singleton, *Advances in applied microbiology* **77** (2011) 115–133.
37. <https://www.cd-bioparticles.com> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)

38. S. Alvarez, A. Derfus, M. Schwartz, S. Bhatia, M. Sailor, *Biomaterials* **30** (2009) 26–34.
39. L. Canham, C. Reeves, D. King, P. Branfield, J. Crabb, M. Ward, *Advanced Materials* **8** (1996) 850–852.
40. B. D. Fahlman, *Materials Chemistry*, Springer, Dordrecht, 2011, str. 68–93.
41. Q. Wei, G. -C. Liu, C. Zhang, X. -J. Hong, C. -L. Song, Y. Yang, M. Zhang, W. Huang, Y. -P. Cai, *Electrochimica Acta* **317** (2019) 583–593.
42. J. Entwistle, A. Rennie, S. Patwardham, *J. Mater. Chem. A* **6** (2018) 18344–18456.
43. E. Xifré-Pérez, J. Ferré-Borrull, J. Pallarés, L. F. Marsal, *Springer Series in Materials Science* **220** (2015) 37–63.
44. <https://www.ccber.ucsb.edu/ucsb-natural-history-collections-botanical-plant-anatomy/transmission-electron-microscope> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
45. *Electron microscope*, 26. srpnja 2020., *Explainthatstuff*, <https://www.explainthatstuff.com/electronmicroscopes.html> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
46. <https://www.microscopemaster.com> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
47. <https://www.nanoscience.com> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
48. L. Šimeg, *Primjena elektronske mikroskopije u karakterizaciji prirodnih materijala*, Završni rad, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, 2014, str. 12.
49. [https://serc.carleton.edu/research\\_education/geochemsheets/techniques/SEM.html](https://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/SEM.html) (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
50. [https://serc.carleton.edu/research\\_education/geochemsheets/eds.html](https://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/eds.html) (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
51. D. Shindo, T. Oikawa, *Analytical Electron Microscopy for Materials Science*, Springer, Tokyo, 2002, str. 81–102.
52. C. A. De Caro, *UV/VIS Spectrophotometry - Fundamentals and Applications*, Mettler-Toledo Publication, Columbus, 2015, str. 7.
53. *Difference between spectrometer and spectrophotometer*, 13. ožujka 2018., *Sciencing*, <https://sciencing.com/difference-between-spectrometer-spectrophotometer-8577067.html> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
54. S. L. Upstone, u R. A. Meyers (ur.), *Encyclopedia of analytical chemistry*, Vol. 3, John Wiley & Sons, New Jersey, 2006, str. 1–14.

55. R. Begum, Z. H. Farooqi, K. Naseem, F. Ali, M. Batool, J. Xiao, A. Irfan, u D. M. Coleman (ur.), *Crit. Rev. Anal. Chem.*, Vol. 48, Taylor & Francis, Cleveland, 2018, str. 503–516.
56. D. Ristić, *Depozicija i karakterizacija nanokristalnog silicija*, Doktorska disertacija, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2010, str. 10–11.
57. N. Jaggi, u D. R. Vij (ur.), *Handbook of Applied Solid State Spectroscopy*, Vol. 129, Springer, Boston, 2007, str. 411–450.
58. M. Vrdoljak, *Kapacitivna svojstva grafena dobivenog upotrebom ekološki prihvatljivog reducensa*, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilpte u Zagrebu, 2016, str. 26.
59. *Advantages and Disadvantages of Raman & Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in the Gemological Field*, 31. srpnja 2019., AGTA, <https://agta.org/advantages-and-disadvantages-of-raman-fourier-transform-infrared-spectroscopy-ftir-in-the-gemological-field/> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
60. M. Kaszuba, D. McKnight, M. T. Connah, F. K. McNeil-Watson, U. Nobbmann, *J. Nanopart. Res.* **10** (2008) 823–829.
61. J. Stetefeld, S. A. McKenna, T. R. Patel, *Biophys. Rev.* **8** (2016) 409–427.
62. <https://lsinstruments.ch/en/theory/dynamic-light-scattering-dls/introduction> (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
63. [https://www.malvernpanalytical.com\\_](https://www.malvernpanalytical.com_) (datum pristupa 20. siječnja 2021.)
64. M. Thommes, K. Kaneko, A. V. Neimark, J. P. Olivier, F. Rodriguez-Reinoso, J. Rouquerol, K. S. W. Sing, *Pure Appl. Chem.* **87** (2015) 1051–1069.
65. W. Stober, A. Fink, E. Bohn, *J. Colloid Interface Sci.* **26** (1968) 62–69.  
J. B. Cook, H. -S. Kim, T. C. Lin, S. Robbenolt, E. Detsi, B. S. Dunn, S. H. Tolbert, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9** (2017) 1–34.
66. S. L. Greasley, S. J. Page, S. Sirovica, S. Chen, R. A. Martin, A. Riveiro, J. V. Hanna, A. E. Porter, J. R. Jones, *J. Colloid Interface Sci* **469** (2016) 213–223.
67. Z. Nazari, M. Shakibaie, N. M. Nori, A. R. Shahverdi, *Avicenna J. Med. Biotechnol.* **2** (2010) 187–196.
68. Z. Wu, Y. Jia, J. Wang, Y. Guo, J. Gao, *Mater. Sci. Poland* **34** (2016) 806–810.
69. A. Skathisabarimoorthi, S. A. Martin Britto Dhas, M. Jose, *Mater. Chem. Phys.* **212** (2018) 224–229.

70. P. Gupta, A. C. Dillon, A. S. Bracker, S. M. George, *Surf. Sci.* **245** (1991) 360–372.
71. M. Chakraborty, F.-W. Hsiao, B. Naskar, C.-H. Chang, A. K. Panda, *Langmuir* **28** (2012) 7282–7290.
72. M. J. Sailor, *Porous Silicon in Practice: Preparation, Characterization and Applications*, Wiley-VCH, New Jersey, 2012, str. 133–187.
73. J. B. Cook, H. -S. Kim, T. C. Lin, S. Robbenolt, E. Detsi, B. S. Dunn, S. H. Tolbert, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9** (2017) 1–34.
74. L. Mikac, M. Ivanda, M. Gotić, T. Mihelj, L. Horvat, *J. Nanopart. Res.* **16** (2014) 2748–2761.

## § 8. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci

Ime i prezime: Nikola Sabolić

Datum rođenja: 30.07.1996.

Mjesto rođenja: Koprivnica

### Obrazovanje

- 2003.–2011. Područna škola Josip Generalić, Hlebine, Osnovna škola Fran Koncelak, Drnje
- 2011.–2015. Gimnazija Fran Galović, Koprivnica
- 2015.–2018. Preddiplomski sveučilišni studij kemije, Odjel za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek
2018. – Diplomski sveučilišni studij kemije, smjer: istraživački, Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu

### Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2019. Dan i noć na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu