

RAMANSKA SPEKTROSKOPIJA IN POVRŠINSKO OJAČANA RAMANSKA SPEKTROSKOPIJA

Selena Bošnjak¹, Matjaž Finšgar²

STROKOVNI ČLANEK

¹Zavod za gradbeništvo Slovenije, Dimičeva ulica 12, 1000 Ljubljana

²Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Smetanova ulica 17, 2000 Maribor

POVZETEK

Ramanska spektroskopija je med najpomembnejšimi metodami od 60. let naprej, ko so laserji postali komercialno dostopni. Pri tej metodi vzorec obsevamo z močnim laserskim izvirom vidnega ali bližnjega IR-območja monokromatske svetlobe. Pri tem nastane sipanja žarka, kar izmerimo s spektrometrom. Instrumentacija za sodobno ramansko spektroskopijo je sestavljena iz laserskega izvira, sistema za postavitev vzorca in ustreznim spektrometrom. Ramanska intenziteta je navadno direktno sorazmerna s koncentracijo najbolj aktivne vrste za ramansko sipanje. Površinsko ojačana ramanska spektroskopija (SERS) pa je bila odkrita leta 1977 in od takrat naprej se je njena uporaba eksponentno povečala. SERS je metoda, s katero bistveno ojačamo šibek signal ramanskega sipanja. Prevladujoč dejavnik za večino SERS-procesov je mehanizem elektromagnetne ojačitve, poznamo pa tudi kemijsko ojačitev, ki lahko pripomore k celotni ojačitvi signala. SERS-eksperiment zahteva skrbno izbiro vzorca in optične nastavitve za zagotavljanje največje ojačitve. Metoda je nedestruktivna in uporabna za določanje kemijske identitete in strukturnih informacij iz majhnega števila molekul. Učinkovitost SERS-metode je zelo odvisna od interakcije med adsorbiranimi molekulami in površinsko plazmonskimi nanostrukturami. Pogosto se kot klasična SERS-podlaga uporabljajo zlato, srebro ali baker. SERS-metoda omogoča identifikacijo kemijskih zvrsti in pridobitev strukturnih informacij na mnogih področjih, kot so na primer polimeri, različni materiali na področjih biokemije, katalize in elektrokemije.

Ključne besede: ramanska spektroskopija, SERS, površinska analiza

Raman spectroscopy and surface enhanced Raman spectroscopy

ABSTRACT

Raman spectroscopy has been one of the most important methods since 1960, when lasers become commercially available. In this method, a sample is irradiated with strong laser sources of visible or near-infrared monochromatic light. Laser light is scattered, which is measured by a spectrometer. Instrumentation for modern Raman spectroscopy consists of a laser source, system to illuminate the sample and a suitable spectrometer. Raman intensity is usually directly proportional to the concentration of the most active types of Raman scattering. Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) was discovered in 1977 and since then its use has increased significantly. SERS is a method which significantly increases the weak signal of Raman scattering. The main factor for most SERS process is the mechanism of electromagnetic enhancement, but there is also chemical enhancement which can contribute to the overall enhancement of the signal. SERS experiment requires careful assessment of the sample and the optical settings to ensure maximum enhancement. The method is nondestructive and useful for determining the chemical identity and structural information from a small number of molecules. Efficiency of the method is very dependent on the interaction between the adsorbed molecules and the surface plasmonic nanostructures. Often as a classic SERS substrate gold, silver or copper is used. SERS method allows identification of chemical species and obtaining structural information on many areas including polymers, different materials, biochemistry, catalysis and electrochemistry.

Keywords: Raman spectroscopy, SERS, surface analysis

1 UVOD

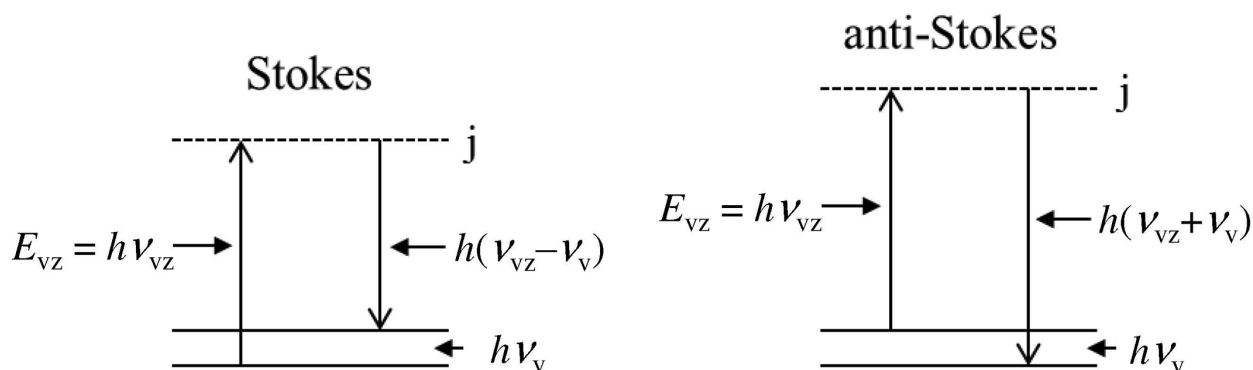
Ramanski fenomen sta odkrila leta 1928 indijska fizika sir Chandrasekhara Venkata Raman in Kariamanickam Srinivasa Krishnan. Leta 1931 je Raman prejel tudi Nobelovo nagrado za fiziko [1, 2]. Neodvisno od tega dela, sta o fenomenu poročala tudi Grigory Landsberg in Leonid Mandelstam [3]. Po drugi strani so fenomen teoretično predvidevali tudi že mnogo prej z uporabo klasičnih, računskih modelov [4].

Čeprav obstajajo velike podobnosti med raman-skim in IR-spektrom, pa obstaja dovolj razlik v funkcionalnih skupinah, ki so IR- ali ramansko aktivne, da si metodi ne konkurirata, ampak dopolnjujeta. Pomembna prednost ramanske spektroskopije pred IR-spektroskopijo je pri uporabi vode kot topila (razloženo spodaj). Po navadi se meritve izvajajo v vidnem ali bližnjem IR-območju, zato se lahko uporabljajo stekleni nosilci ali nosilci iz kremenca. S tem se izognemo delu z natrijevim kloridom ali drugimi, v zračni atmosferi nestabilnimi materiali za nosilce (na primer KBr, ki se uporablja pri IR). Kljub tem prednostim pa ramanska spektroskopija ni bila v intenzivni uporabi, dokler niso postali laserji dostopni v 60. letih, kar je omogočilo precej lažjo pridobitev spektrov. V zadnjih letih je ramanska spektroskopija postala rutinsko orodje zaradi razvoja laserjev, detektorja z diodnim nizom in zaradi razpoložljivosti komercialne instrumentacije ob zmernih stroških [5].

Že leta 1974 [6] pa so posneli tudi prvi ramanski spekter piridina na srebru. Kasneje, leta 1977 [7], se je izkazalo, da gre za metodo površinsko ojačane ramanske spektroskopije (SERS, angl. *surface enhanced Raman spectroscopy*), ki je spodaj podrobneje predstavljena. SERS-metoda deluje na način, da se bistveno poveča signal nizke jakosti tehnike ramanskega sipanja. Je zelo uporabna tehnika za karakterizacijo majhnega števila molekul, vezanih na ali v bližino plazmonskih površin.

2 RAMANSKA SPEKTROSKOPIJA

Ramanski spektri so izmerjeni z obsevanjem vzorca z močnim laserskim izvirom vidnega ali bližnje-IR monokromatskega sevanja. Med obsevanjem je spekter razpršenega sevanja merjen pri določenem kotu (pogosto 90°) z ustreznim spektrometrom. V najboljšem primeru je intenziteta ramanske črte



Slika 1: Primer Stokesovega in anti-Stokesovega pojava

0,001 % intenzitete izvira. Zato se morda zdi težje odkriti in izmeriti ramanske pasove kot pa IR vibracijske pasove [5]. Vendar pa je ramansko razpršeno sevanje v vidnem območju ali v področju bližnjega-IR, za katera so na voljo bolj občutljivi detektorji, podobno enostavno kot merjenje IR-spektrov [5].

2.1 Vzbujanje ramanskih spektrov

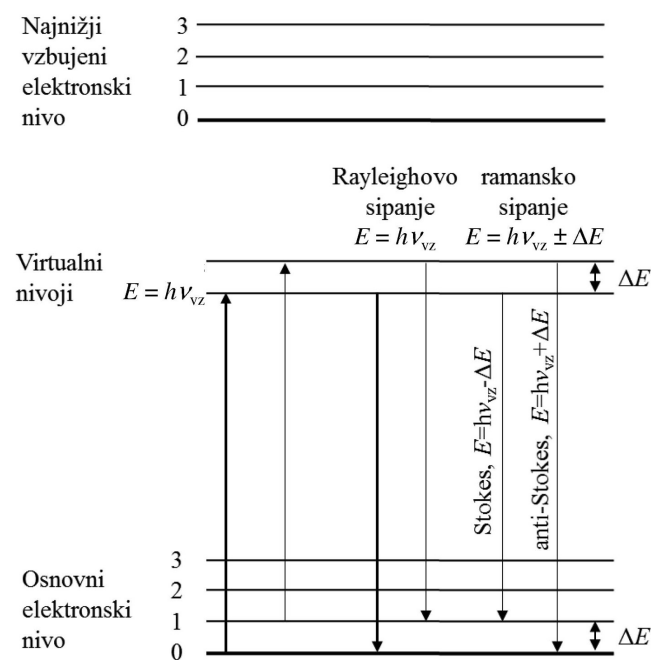
Na **sliki 1** je prikazan primer vzbujanja vzorca z obsevanjem z monokromatsko svetlobo energije $h\nu_{vz}$. Ker je valovna dolžina izvira daleč od absorpcijskega pasu, vzbujanje vsebuje tako imenovano »virtualno stanje«
energijskega nivoja j (prekinjena črta na **sliki 1**). Molekula v osnovnem vibracijskem nivoju lahko absorbira foton energije $h\nu_{vz}$ in emitira foton energije $h(\nu_{vz} - \nu_v)$, kot je prikazano na **sliki 1**. Ko ima razpršeno sevanje nižjo frekvenco kot sevanje vzbujanja, govorimo o Stokesovem premiku (Stokesovo sipanje). Molekule v prvem vzbujenem vibracijskem stanju lahko absorbirajo svetlobo in se vzbudijo do virtualnega stanja ter pri relaksaciji proizvedejo ramanski signal energije $h(\nu_{vz} + \nu_v)$. Razpršeno sevanje z višjo frekvenco od izvira sevanja se imenuje anti-Stokesovo sipanje. Elastično sipanje se lahko pojavi tudi z emisijo fotona z enako energijo, kot jo ima vzbujeni foton $h\nu_{vz}$. Razpršeno sevanje z enako frekvenco kot izvir se imenuje Rayleighovo sipanje. Premiki frekvenc neelastičnega razpršenega sevanja $(\nu_{vz} + \nu_v) - \nu_{vz} = \nu_v$ in $(\nu_{vz} - \nu_v) - \nu_{vz} = -\nu_v$ ustrezajo vibracijski frekvenci ν_v [5].

2.2 Mehanizem ramanskega in Rayleighovega sipanja

V ramanski spektroskopiji spektralno vzbujanje navadno izvajamo s sevanjem valovne dolžine, ki je daleč od vseh absorpcijskih pasov analita. Diagram energijskih nivojev, ki je prikazan na **sliki 1**, je razširjen na spodnji **sliki 2** in podaja kvalitativno sliko virov ramanskega in Rayleighovega sipanja [5].

Debelejša puščica na **sliki 2** skrajno levo prikazuje spremembo energije v molekuli, ko pride do interakcije s fotonom izvira. Povečanje energije je enako energiji fotona $h\nu_{vz}$. Prikazan proces na sliki ni kvantiziran, v odvisnosti od frekvence sevanja izvira, je energija molekule lahko katera koli številčna vrednosti ali »virtualni nivo«
med osnovnim nivojem in najnižjim (prvim) elektronsko vzbujenim stanjem, kot je prikazano na **sliki 2**. Druga, ožja puščica na levi prikazuje vrsto spremembe, ki se pojavi, če je molekula v prvem vibracijskem nivoju osnovnega elektronskega stanja. Pri sobni temperaturi je delež teh molekul majhen. Tako, kot je tudi nakazano s širino puščic na **sliki 2**, je verjetnost za nastanek tega procesa precej majhna.

Srednji set puščic na **sliki 2** prikazuje spremembe, ki jih povzroči Rayleighovo sipanje. Tudi tukaj verjetnost spremembe prikazuje širina puščice. Pri



Slika 2: Razširjen diagram energijskih nivojev

Rayleighovem sipanju se energija ne izgubi zaradi elastičnih trkov med fotoni in molekulo.

Energijske spremembe, ki jih povzročita Stokesove in anti-Stokesove emisije, so prikazane na desni strani na **sliki 2**. Ti dve se razlikujeta od Rayleighovega sevanja s frekvencami, ki ustrezajo $\pm \Delta E$ (razlika energije prvega vibracijskega nivoja in osnovnega stanja $h\nu_v$). Če je vez IR aktivna je energija absorpcije tudi ΔE . Tako sta ramanska frekvenca premika in IR absorpcijska frekvenca enaki.

Stokesova emisija je bolj verjetna kot anti-Stokesova. Zraven tega ima Rayleighovo sipanje bistveno večjo verjetnost za pojav kot ramansko sipanje, ker je najbolj verjeten dogodek prenos energije na molekule v osnovnem stanju in emitiranje svetlobe z vrnitvijo molekule v osnovno stanje. Razmerje med anti-Stokesovo intenziteto in Stokesovo intenziteto se povečuje s temperaturo, ker je pri povišani temperaturi večji del molekul v prvem vibracijsko vzbujenem nivoju [5].

2.3 Valovni model ramanskega in Rayleighovega sipanja

Predvidimo, da ima žarek sevanja izvira frekvenco ν_{vz} in potuje skozi raztopino analita. Električno polje E tega sevanja lahko opišemo z enačbo (1):

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu_{vz}t) \quad (1)$$

E_0 je amplituda valovanja. Ko električno polje sevanja interagira z elektronskim oblakom vezi analita, se ustvari dipolni moment m po enačbi (2):

$$m = \alpha E = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_{vz}t) \quad (2)$$

Polarizabilnost vezi je α in pomeni meritev deformacije vezi v električnem polju. Polarizabilnost α se spreminja v odvisnosti od razdalje med jedri po enačbi (3):

$$\alpha = \alpha_0 + (r - r_r) \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \quad (3)$$

Kjer je α_0 polarizabilnost vezi v ravnotežni medjederni razdalji r_r in r je medjederna ločitev v določenem trenutku. Sprememba v medjederni ločitvi variira z vibracijsko frekvenco ν_v , kot je podano v enačbi (4):

$$r - r_r = r_m \cos(2\pi\nu_v t) \quad (4)$$

Največja medjederna ločitev relativno na ravnotežno pozicijo je r_m .

Če vstavimo enačbo (4) v enačbo (3) dobimo:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) r_m \cos(2\pi\nu_v t) \quad (5)$$

Nato lahko izrazimo inducirani dipolni moment m z vstavljanjem enačbe (5) v enačbo (2):

$$m = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_{vz}t) + E_0 r_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos(2\pi\nu_v t) \cos(2\pi\nu_{vz}t) \quad (6)$$

Če uporabimo enačbo za razčlenjevanje kotnih funkcij $\cos x \cos y = (\cos(x+y) + \cos(x-y)) / 2$, dobimo naslednjo enačbo:

$$m = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_{vz}t) + \frac{E_0}{2} r_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos(2\pi(\nu_{vz} - \nu_v)t) + \frac{E_0}{2} r_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos(2\pi(\nu_{vz} + \nu_v)t) \quad (7)$$

Prvi člen v enačbi (7) pomeni Rayleighovo sipanje, ki se zgodi pri frekvenci svetlobe izvira ν_{vz} . Drugi in tretji člen v enačbi (7) pa odgovarjata Stokesovi in anti-Stokesovi frekvenci $\nu_{vz} - \nu_v$ in $\nu_{vz} + \nu_v$. Tukaj je frekvenca svetlobe izvira modulirana z vibracijsko frekvenco vezi. Za ramansko sipanje je potrebna sprememba polarizabilnosti med vibracijo, torej, da je člen $\partial \alpha / \partial r$ večji od nič [5].

Energija premika pri ramanskem eksperimentu je enaka energiji IR absorpcijskih pasovom, vendar pa spektri niso enaki. Lahko pride tudi do tega, da se določeni vrhovi pojavijo na enem spektru, medtem ko se na drugem ne.

Razlike med ramanskimi spektri in IR-spektri niso presenetljive, če upoštevamo, da osnovni mehanizmi, čeprav so odvisni od enakih vibracijskih nivojev, izhajajo iz različnih mehaničnih procesov. IR-absorpcija zahteva, da pride do sprememb v dipolnem momentu ali v porazdelitvi naboja med vibracijami. Šele potem lahko sevanje iste frekvence vpliva na molekulo in jo vzbudi v vzbujeno vibracijsko stanje. Po drugi strani pa sipanje (pri ramanski spektroskopiji) vključuje trenutno deformacijo porazdeljenih elektronov okoli vezi v molekuli, čemur sledi emisija sevanja, ko se vez vrne v osnovno stanje. V svoji deformirani obliki je molekula začasno polarizirana, kar pomeni, da razvije trenutni inducirani dipol, ki izgine z relaksacijo in emisijo svetlobe. Zaradi te temeljne razlike v mehanizmu, se lahko ramanska aktivnost vibracijskega stanja bistveno razlikuje od IR-aktivnosti. Na primer, eno-jedrne molekule dušika, klora ali vodika nimajo dipolnega momenta niti v ravnotežnem položaju niti, ko se raztezajo in vibracije povzročijo spremembo razdalje med jedroma. Tako ne more priti do absorpcije IR-sevanja. Po drugi strani pa se polarizabilnost vezi med dvema atomoma teh molekul spreminja periodično z razteznimi vibracijami, pri čemer dosežejo svoj maksimum polarizabilnosti, ko sta jedri najbolj oddaljeni in minimum, ko sta najbolj skupaj. Ramanski premik ustreza frekvenci teh

vibracijskih načinov. V ramanskem spektru so prekrivanja pasov redka [5].

2.4 Intenziteta normalnih ramanskih pasov

Intenziteta navadnih ramanskih vrhov je odvisna od polarizabilnosti molekule, intenzitete izvira in koncentracije funkcionalne skupine, kot tudi od drugih dejavnikov. V odsotnosti absorpcije moč ramanske emisije narašča s četrto potenco frekvence izvira. Vendar pa se ta prednost le redkokdaj uporabi, saj lahko ultravijolično obsevanje povzroči fotorazpad analita [5].

Ramanska intenziteta je navadno neposredno sorazmerna s koncentracijo najbolj aktivne vrste. V tem pogledu je ramanska spektroskopija bolj podobna fluorescenci kot absorpciji (slednja ima logaritemsko zvezo med koncentracijo in intenziteto prepuščene svetlobe) [5].

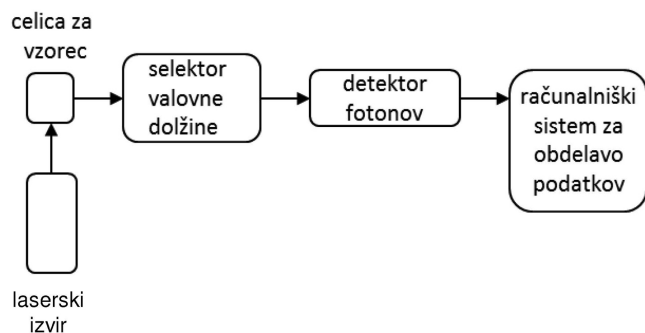
3 INSTRUMENT

Instrumentacija za sodobno ramansko spektroskopijo je sestavljena iz laserskega izvira, celice za vzorec in ustreznega spektrometra, kot je prikazano na **sliki 3** [5].

Lasersko sevanje je usmerjeno v celico za vzorec. Separator valovne dolžine se uporablja za izolacijo zelenega spektralnega področja. Detektor fotonov pretvori ramanski signal v sorazmerni električni signal, ki ga nato obdelata računalniški sistem [5].

3.1 Izviri

Izviri, uporabljeni v sodobni ramanski spektroskopiji, so skoraj vedno laserji, saj je njihova visoka intenziteta potrebna za ramansko sipanje zadostne intenzitete, ki ima nizko razmerje signal/šum. Pet najpogostejših laserjev, ki se uporabljajo za ramansko spektroskopijo, so navedeni v **tabeli 1** [5].



Slika 3: Shema ramanskega spektrometra

Tabela 1: Najpogostejše vrste laserjev [5]

Vrsta laserja	Valovna dolžina [nm]
Ar-ionski	488,0 ali 514,5
Kr-ionski	530,9 ali 647,1
He-Ne	632,8
Diodni	785 ali 830
Nd-YAG	1064

Zato ker intenziteta ramanskega sipanja variira kot četrta potenca frekvence svetlobe izvira (prikazano spodaj na poenostavljeni Albrecht-Hutleyjevi enačbi), imata Ar- in Kr-ionski laser prednost pred drugimi v tabeli, saj emitirata v modrem in zelenem področju vidne svetlobe. Vendar pa izviri tako kratkih valovnih dolžin proizvajajo znatno fluorescenco vzorca in lahko povzročijo fotorazpad vzorca.

$$I_R \propto \frac{(\nu_L - \nu_{\text{vib}})^4}{\nu_e^4} \text{ velja za } \nu_L < \nu_e$$

kjer je I_R intenziteta ramanskega sipanja, ν_L frekvenca laserja, ν_{vib} vibracijska frekvenca in ν_e frekvenca prenosa elektrona. [8]

Zadnja dva izvira, navedena v **tabeli 1**, polprevodniški oz. diodni in Nd-YAG laserja, emitirata v bližnje-IR sevanje, zato se vedno bolj pogosto uporabljata kot vir vzbujanja. Bližnji-IR izviri imajo dve veliki prednosti pred laserji kratkih valovnih dolžin. Prva je, da jih je mogoče upravljati pri precej višji moči (do 50 W) brez povzročanja fotorazpada vzorca. Druga je, da nimajo dovolj energije za proizvodnjo velikega števila fluorescenčno vzbujenih elektronskih energijskih stanj v večini molekul. Zato je s temi laserji fluorescenca na splošno veliko manj intenzivna ali pa je sploh ni. Nd-YAG-laser, ki se uporablja pri ramanskih spektrometrih s Fourierovo transformacijo, je zlasti učinkovit pri odpravljanju fluorescence. Tudi diodni oz. polprevodniški laser z dvema črtama pri 785 nm in 830 nm občutno zmanjša fluorescenco v večini primerov.

Tako je treba v ramanski spektroskopiji skrbno izbrati valovno dolžino, s katero bomo vzorec vzbudili. Problema nista le fotorazpad in fluorescenca, ampak tudi absorpcija razpršene ramanske svetlobe zaradi komponent vzorca in nekaterih topil, tako da je potreba po več laserskih izvirih svetlobe z različnimi valovnimi dolžinami [5].

3.2 Celica za vzorec

Ravnanje z vzorci za meritve ramanske spektroskopije je enostavnejše kot z vzorci za meritve IR-spektroskopije, saj se steklo lahko uporablja za okna, leče in druge optične komponente in ni potrebe po uporabi bolj krhkih in manj stabilnih kristaliničnih halogenidov. Zraven tega je laserski vir enostavno

koncentriran na majhno površino vzorca in emisije sevanja so učinkovito koncentrirane na vhod spektrometra. Rezultat tega je mogoča analiza zelo majhnih vzorcev [5].

Plinasti vzorci. V steklene cevke premera 1–2 cm in debeline približno 1 mm po navadi uvedemo vzorce v plinastem agregatnem stanju. Lahko jih tudi stisnemo v majhne kapilarne cevke [5].

Tekoči vzorci. Tekočine se lahko shranijo v ampule, steklene cevke ali kapilare. S kapilarno celico je mogoče dobiti spektre tudi z nanolitri vzorca.

Bistvena prednost ravnanja z vzorcem za ramansko spektroskopijo v primerjavi z IR spektroskopije je ta, da je voda šibek razpršilec za ramanski signal, toda močan absorber za IR-sevanje. Tako lahko vodne raztopine preučujemo z ramansko spektroskopijo, z IR spektroskopijo pa v določenih primerih le s težavo. Ta prednost je še posebej pomembna pri bioloških in anorganskih sistemih ter v raziskavah, ki se ukvarjajo z onesnaževanjem vode [5].

Trdni vzorci. Ramanske spektre trdnih vzorcev pogosto dobimo tako, da z vzorcem, zmletim v prah, napolnimo kapilarno. Vzorce polimerov lahko navadno preučimo neposredno brez predobdelave vzorca [5].

Vzorčenje z optičnimi vlakni. Ena izmed pomembnih prednosti ramanske spektroskopije je ta, da je osnova na vidnem ali bližnjem-IR sevanju, ki se lahko prenaša na precejšnje razdalje (100 m ali več) po optičnih vlaknih. **Slika 4** prikazuje razporeditev tipičnega ramanskega instrumenta, ki uporablja sondooptična vlakna. Tukaj je leča objektivna mikroskopa uporabljena za fokus laserskega žarka na enem koncu vlaken. Ta vlakna prinašajo sevanje izvira do vzorca. Vlakna lahko tudi potopimo v tekoče vzorce in jih uporabljamo za osvetljevanje trdnih snovi. S temi sondami je na voljo več komercialnih instrumentov [5].

Optične sonde so se izkazale zelo koristne za pridobivanje ramanskih spektrov na lokacijah daleč stran od mesta vzorca. Primeri vključujejo okolja, kot so

nevarni reaktorji, biološki vzorci, kot so tkiva in arterijske stene ter vzorci iz okolja, kot so podzemne in morske vode [5].

Ramanski mikroskop. Priljubljen pripomoček za ramanski spektrometer je ramanski mikroskop. Prvi razvoji v ramanski mikroskopiji so se začeli v 70. letih. Danes večina izdelovalcev instrumentov ponujajo mikroskope kot dodatek. Pri teh vzorec postavimo na mikroskop, kjer je osvetljen z vidno svetlobo. Po izbiri območja, ki bi si ga radi ogledali, in prilagoditvijo ostrine osvetlitveno žarnico ugasimo in vzbujen laserski žarek usmerimo na vzorec. S sodobno optiko lahko z ramanskim mikroskopom pridobimo visoko kakovostne ramanske spektre brez priprave vzorca na piktoگرامskih količinah in s 1 μm prostorsko ločljivostjo [5].

3.3 Ramanski spektrometri

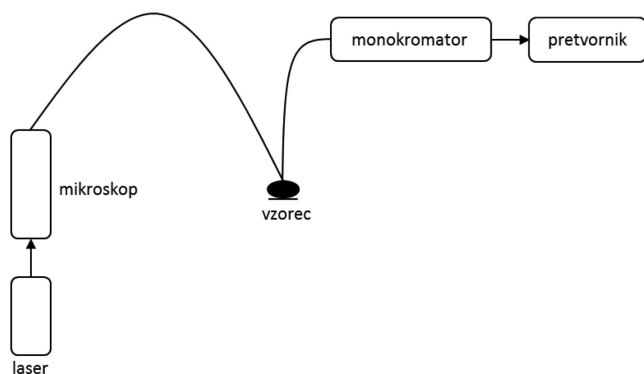
Do začetka 80. let so bili ramanski spektrometri podobno zasnovani in uporabljale so se enake komponente kot pri klasičnih UV-VIS disperznih instrumentih. Večina spektrometrov je imela sisteme z dvojno uklonsko mrežico, da se minimizira vpliv nezazelenne svetlobe, ki doseže detektor (fotopomnoževalko). Danes pa se večinoma uporabljajo ramanski spektrometri s Fourierjevo transformacijo z uporabo interferometra in CCD-detektorja (angl. *charge-coupled detector*) [5].

Valvnodisperzni instrumenti. V ramanski spektroskopiji je potrebna visoko kakovostna naprava za separacijo valovne dolžine, da loči relativno šibke ramanske signale od intenzivnega Rayleighovega razpršenega sevanja. Tradicionalni disperzni ramanski spektrometri uporabljajo monokromatorje z dvema ali celo tremi uklonskimi mrežicami v ta namen. Danes se večinoma uporabljajo monokromatorji z holografskimi uklonskimi mrežicami v kombinacijami s filtri.

Instrumenti z monokromatorjem vedno uporabljajo fotopomnoževalke za meritve šibkih intenzitet svetlobe. Novejši ramanski instrumenti so zamenjali monokromatorje z spektrografom in detektorjem na niz diod [5].

Ramanski spektrometri s Fourierjevo transformacijo. Ramanski instrument s Fourierjevo transformacijo (FT-Raman) uporablja Michelsonov interferometer in laser Nd-YAG. Uporaba izvira z valovno dolžino 1064 nm praktično eliminira fluorescenco in fotorazpad vzorcev. Zato so raziskave z instrumentom FT-Raman prikladne za preiskovanje barvil in drugih fluorescenčnih spojin.

Slabost FT-Raman spektrometra je, da se voda absorbira v področju 1000 nm, kar odpove prednost ramanske spektrometrije za vodne raztopine.



Slika 4: Ramanski instrument z uporabo sondooptičnih vlaken

Instrument vsebuje tudi filter za odstranitev valovnih dolžin svetlobe iz laserskega izvira, ki za analizo niso potrebne. Črta Rayleighove razpršenosti je po navadi za šest redov velikosti bolj intenzivna od ramanske črte, zato mora biti intenziteta Rayleighove razpršenosti minimizirana, preden pride po detektorja. Za ta namen se uporabljajo posebni filtri. Ker lahko ramansko sipanje od Nd-YAG-laserja pride pri dolgih valovnih dolžinah, kot so 1700 nm, se fotopomnoževalke in veliko detektorjev z diodnim nizom več ne uporablja. Večina FT-Raman instrumentov raje, kot detektorje, uporablja InGaAs, Ge in druge fotoinduktivne naprave. Te naprave po navadi delujejo pri nizkih temperaturah [5].

4 POVRŠINSKO OJAČANA RAMANSKA SPEKTROSKOPIJA

Izjemne optične lastnosti kovinskih nanodelcev so bile uporabljene za umetniška dela in barvano steklo že v poznoantičnem času brez podrobnega razumevanja objektov v nanometrskem območju. Eden najpomembnejših primerov je rimska čaša Lycurgus, ki z notranjo osvetlitvijo sveti rdeče [9, 10]. Ta pojav je opisal Michael Faraday, ki je našel povezavo med jakostjo sevanja rdeče-vijolične svetlobe sveže pripravljene nanodelcev zlata in njihovo velikostjo delcev [11, 12].

Prvi ramanski spektri piridina so bili izmerjeni na srebru leta 1974 [6]. Vendar pa v tem času avtorji niso prepoznali, da so ti spektri posledica nenavadnih, izboljšanih ali novih pojavov. Od njenega odkritja v letu 1977 [2] se je zanimanje in uporaba površinsko ojačane ramanske spektroskopije (SERS, angl. *surface enhanced Raman spectroscopy*) zelo povečala. Področje SERS je močno napredovalo od prvotno opaženega izboljšanja na srebrovi elektrodi do trenutnih aplikacij detekcije nekaj molekul in razširitve na ultravisoki vakuum [13–16]. Na osnovni ravni je SERS-metoda način, da se bistveno poveča signal iz šibke, toda strukturno bogate tehnike ramanskega sipanja. Raziskovalci so poskušali z več metodami ojačati signal ramanskega sipanja, vendar je najpomembnejša ojačitev ramanskega signala s SERS-metodo [17–20]. SERS je izjemna tehnika za karakterizacijo majhnega števila molekul, vezanih na ali v bližino plazmnskih površin (razloženo spodaj) [21].

4.1 Ozadje in mehanizem

Po desetletjih razprav je danes splošno sprejeto, da je prevladujoč dejavnik za večino SERS-procesov mehanizem elektromagnetne ojačitve. Rezultat ojačitve je lokalizirana površinska plazmnska resonanca (LSPR, angl. *localized surface plasmon resonance*).

Ta koncentrirana svetloba najraje prodre v vrzeli ali razpoke, ali v plazmnske materiale, ki so po navadi plemenite in kovne kovine (na primer srebro, zlato in baker) z nanoznačilnostmi. Za SERS so najbolj zaželene ponovljive in robustne strukture, ki močno ojačajo elektromagnetno polje (razloženo spodaj). Odvisno od strukture nosilnega plazmnskega materiala se elektromagnetna ojačitev za SERS teoretično izračuna za dosego faktorjev $\approx 10^{10}$ – 10^{11} [22]. V večini primerov se faktor ojačitve lahko dobro aproksimira z magnitudo lokaliziranega elektromagnetnega polja do četrte potence [20].

Drugi mehanizem, ki sodeluje pri ojačitvi signala, je kemijska ojačitev, ki prvenstveno vključuje mehanizem za prenos naboja, kjer pride do prenosa naboja med molekulo in kovinskim delom [23]. Teoretično so bili faktorji kemijske ojačitve do 10^3 izračunani z uporabo funkcionalne teorije časa v odvisnosti od gostote za *para*- in *meta*-substituiranega piridina v stiku s srebrom. Avtorji so ugotovili, da so magnitudo ojačitve s prenosom naboja specifične za vsako posamezno molekulo [23, 24].

Skupen faktor ojačitve pri SERS-metodi je seštevek mehanizmov elektromagnetne in kemijske ojačitve. Za zelo optimizirane površine, se lahko doseže faktor ojačitve 10^{10} – 10^{11} [25]. Razvoj SERS-podlag z visokim faktorjem ojačitve je še vedno aktivno področje za raziskave tehnike SERS [21].

4.2 SERS-eksperiment

Čeprav izvajanje SERS-eksperimenta zahteva skrbno izbiro vzorca in optične nastavitve za zagotavljanje največje intenzitete signalov in ojačitve, je metoda nedestruktivna in uporabna za določanje kemijske spojine in strukturnih informacij iz majhnega števila molekul.

Prvi parameter, ki ga je treba upoštevati, je izbira primerne podlage za ojačitev. Podlage se strukturno gibljejo od nanopalčk do tridimenzionalnih koloidnih raztopin z nastavljivo plazmnsko resonanco in vrsto dejavnikov za ojačitev. Poleg tega se največja SERS ojačitvena regija niža zelo hitro z razdaljo (r^{-10} za sfere) [20], največja ojačitev pa je nekaj nanometrov do površine podlage.

Naslednji parameter je primeren izvir, ki bo omogočil vzbujanje plazmnske resonance. Poenostavljene teorije SERS predvidevajo največjo ojačitev, ko je laser naravnian na vrh plazmnske resonance. Največji faktorji ojačitve dobimo tudi s premikom (zmanjšanjem) valovne dolžine laserja na plazmnski resonanci; idealen je premik za eno polovico ramanske vibracijske frekvence [26]. Ta najbolj učinkovita ojačitev vodi v najvišji SERS-signal oz. vrh. Tako je maksimalni signal izmerjen, ko je plazmnska

frekvenca naravnana tako, da je rahlo večja od laserske valovne dolžine.

Po vzbujeni plazmsonski resonanci in ustvarjanju SERS-signalov je proces detekcije identičen normalnemu ramanskemu eksperimentu. Uporabljajo se razni filtri, da absorbirajo ali odbijejo Rayleighovo sipanje, medtem ko omogočajo prepustnost za ramanski signal, spektrograf in detektor sta uporabljena za merjenje ramanskega spektra čez celotno spektralno območje. Tako je ramanski sistem enostavno prilagoditi za potrebe SERS [21].

4.3 Plazmsonski materiali

Učinkovitost SERS-metode je zelo odvisna od interakcije med adsorbiranimi molekulami in površino plazmsonskih nanostruktur, pogosto se kot klasični SERS-podlaga uporabljajo zlato, srebro ali baker. Na splošno se zlato in srebro uporabljata pogosteje kot baker zaradi svoje inertnosti v zračni atmosferi. Vse tri kovine imajo LSPR, ki pokriva večino vidnega in bližnjega IR-območja, kjer se tudi izvaja večina ramanskih meritev. V zadnjih 30. letih se raziskovalci trudijo optimizirati strukturo in konfiguracijo podlage za povečanje faktorjev ojačitve. Pred kratkim so si raziskovalci prizadevali tudi za opredelitev novih plazmsonskih materialov [27–29] in različne oblike, ki omogočajo večjo ojačitev SERS.

Napredek je bil dosežen pri razvoju SERS-podlag [30], to vključuje Ag- in Au-nanodelce z različnimi oblikami in s premazi [31], Au delce v SiO₂ ovitku [32], 2D Au nanonize v obliki gob [33], polihedralne mezopore Ag [34], Si-rezine z Ag- ali Au-prevlekami [35], z nanosom atomske plasti (ALD, angl. *atomic layer deposition*), obložene plazmsonske nanodelce [17] in ovoje preko nanosfere (FON, angl. *films over nanosphere*) [26]. Z ALD premazani nanodelci so zanimivi, saj omogočajo določanje odvisnosti daljave za SERS, ščitijo površino nanodelcev, zagotavljajo stabilno temperaturo, omogočajo funkcionalizacijo na nanodelcih in izboljšujejo stabilnost površine za uporabo s femtosekundnimi impulzi [18, 37].

Zraven Ag in Au so bile za plazmsonsko podlago raziskane tudi druge kovine, vključno z alkalijskimi kovinami (Li, Na, K, Rb in Cs), Al, Ga, V, Pt, Rh in kovinskimi zlitinami [29]. Nekateri od teh materialov so zelo reaktivni v zračni atmosferi, zaradi česar je njihova uporaba otežena, vendar pa se z razvojem metodologije, ki bo odpravila to težavo, odpirajo nove možnosti za razvoj kovinskih SERS-podlag.

Poročali so tudi že o novih materialih, kot so grafen [38, 39], polprevodniki, kot na primer TiO₂ [40], in o kvantnih vrhovih [41–43], čeprav ne ustrezajo tradicionalni opredelitvi SERS-podlag. Veliko faktorjev je treba upoštevati pri opredeljevanju materiala za SERS

kot zanesljiv material, ki omogoča veliko ojačitev. Kot prvo je treba zagotoviti, da se plazmsonski resonančni spekter pridobi ločeno od prenosa naboja in absorpcijskih spektrov, ker plazmsonski materiali podpirajo elektromagnetno ojačitev SERS-a, medtem ko vzbujanje preko mehanizma kemijske ojačitve ali prenosa naboja sama po sebi ne povzročita SERS-spektra. Material mora imeti negativno realno komponento dielektrične konstante ϵ' in majhne pozitivne vrednosti imaginarne komponente ϵ'' , da se lahko opiše kot plazmsonski material.

$$\epsilon(\omega) = \epsilon'(\omega) + i\epsilon''(\omega)$$

kjer je ϵ' realni del in ϵ'' imaginarni del dielektrične konstante.

Skupine raziskovalcev [38–43] so raziskovale polprevodnike, kvantne pike in grafen kot SERS-podlago. Ugotovili so, da te podlage-vključujejo le kemijsko ojačitev, zahvaljujoč prenosu naboja, resonanco in π - π -interakcije. Ker ni bilo dokazov o elektromagnetni ojačitvi, take podlage lahko dosežejo ojačitev le do faktorja 10³. Napredek so dosegli pri uporabi grafena kot plazmsonskega materiala v IR [44], kar prinaša nove možnosti uporabe grafena v SERS-metodi.

4.4 Uporaba

SERS-metoda omogoča identifikacijo kemijskih zvrsti in pridobitev strukturnih informacij na mnogih področjih vključno s polimeri in znanostjo o materialih, biokemiji [45–47], katalizi in elektrokemiji [48, 49].

UV-SERS. SERS-vzbujanje v ultravijoličnem frekvenčnem območju je relativno neznano območje, vendar je zelo zaželeno, saj bi omogočilo resonančno detekcijo številnih bioloških molekul, vključno s proteini in DNA-bazami. Za večino kovin, vključno s tipičnimi SERS-podlagami, kot sta Ag in Au, najmočnejšo ojačitev najdemo v vidnem ali bližnjem IR-območju. Nekaj skupin raziskovalcev je poskušalo pridobiti spekter UV-SERS [50, 51], toda po navadi z veliko težavami, saj je doseganje ojačitev v UV-območju velik izziv. Vendar pa raziskovalci menijo, da bi imeli potencialno korist od doseganja SERS v »globoki« UV (DUV, angl. *deep UV*). DUV-SERS-tehnika bi bila zelo koristna za preiskovanje bioloških molekul, ki imajo elektronske resonance v tem območju valovnih dolžin [21].

Prvi izziv je najti plazmsonske materiale, ki omogočajo UV površinsko ojačitev. Raziskovalci so obravnavali različne kovine, kot plazmsonske materiale, vključno s Pd/Pt [50, 52], Ru [53, 54], Rh [50, 53, 54], Co [53, 55] in Al [51]. Faktorji ojačitve za te prehodne kovine so reda velikosti $\approx 10^2$, kar je

bistveno manj od faktorjev ojačitve za srebro in zlato v vidnem območju [37, 53].

Dva poskusa sta bila narejena s SERS v DUV, in sicer vzbujanje pri 244 nm na Al-podlagi [51] in na 266 nm na Al, prevlečen s Si [56], pri čemer ima slednji faktor ojačitve ≈ 210 .

Zraven iskanja ustreznih podlag za SERS so tudi drugi izzivi dela v UV, ki vključujejo izogibanje fotorazgradnji vzorca in povečanje učinkovitosti optičnih elementov [21].

5 SKLEP

Ramanska spektroskopija je metoda, ki ima zaradi svoje preprostosti širok spekter uporabe. Vzorce ne potrebujejo nobene posebne predpriprave. Prednost metode je tudi ta, da je voda šibek ramanski sipalec, zato je metoda uporabna tako za preiskave trdnih snovi v vodnih raztopinah kakor tudi za tekočine in vodne raztopine. V primerjavi z IR-spektroskopijo, ki se prav tako uporablja za identifikacijo kemijskih vezi, so ramanske spektralne črte ožje. Toda ramanski spektri so po navadi zelo šibki in le malo energijsko ločeni, zato je največja težava ločevanje elastično in neelastično sipane svetlobe. To je botrovalo pri razvoju bolj naprednih ramanskih metod, med drugim tudi površinsko ojačane ramanske spektroskopije, ki je tudi najpomembnejša metoda za ojačitev ramanskega signala. SERS je izjemna tehnika za karakterizacijo majhnega števila molekul, vezanih na ali v bližino plazmnskih površin.

6 LITERATURA

- [1] C. V. Raman, K. S. Krishnan, *Nature*, 121 (1928), 501–502
- [2] J. R. Ferraro, K. Nakamoto, C. W. Brown, *Intruductory Raman Spectroscopy*, 2. izdaja, *Academic Press*, San Diego, 2003
- [3] G. Landsberg, L. Mandelstam, *Naturwiss.*, 16 (1928), 557–558
- [4] A. Smekal, K. W. F. Kohlrusch, *Naturwiss.*, 16 (1923), 873
- [5] D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, 6. izdaja, *Thomson*, Belmont, 2007
- [6] M. Fleischmann, P. J. Hendra, A. J. McQuillan, *Chem. Phys. Lett.*, 26 (1974) 2, 163
- [7] D. L. Jeanmaire, R. P. Van Duyne, *J. Electroanal. Chem.*, 84 (1977) 1, 1
- [8] A. C. Albrecht, M. C. Hutley, *J. Chem. Phys.*, 55 (1971) 9, 4438
- [9] S. Becht, S. Ernst, R. Bappert, C. Feldmann, *Chemie Unserer Zeit*, 44 (2010) 1, 14–23
- [10] S. A. Love, B. J. Marquis, C. L. Haynes, *Appl. Spectrosc.*, 62 (2008) 12, 346A–362A
- [11] P. P. Edwards, J. M. Thomas, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46 (2007) 29, 5480–5486
- [12] M. Faraday, *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, 147 (1857), 145–181
- [13] W. E. Doering, S. M. Nie, *J. Phys. Chem. B*, 106 (2002) 2, 311–317
- [14] P. G. Etchegoin, E. C. Le Ru, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 10 (2008) 40, 6079–6089
- [15] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, M. S. Feld, *Chem. Rev.*, 99 (1999) 10, 2957–2976
- [16] M. Moskovits, *J. Raman Spectrosc.*, 36 (2005) 6–7, 485–496
- [17] A. Campion, P. Kambampati, *Chem. Soc. Rev.*, 27 (1998) 4, 241–250
- [18] J. A. Dieringer, A. D. McFarland, N. C. Shah, D. A. Stuart, A. V. Whitney, C. R. Yonzon, M. A. Young, X. Zhang, R. P. Van Duyne, *Faraday Discuss.*, 132 (2006), 9–26
- [19] C. L. Haynes, A. D. McFarland, R. P. Van Duyne, *Anal. Chem.*, 77 (2005) 17, 338A–346A
- [20] P. L. Stiles, J. A. Dieringer, N. C. Shan, R. P. Van Duyne, *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 1 (2008), 601–626
- [21] B. Sharma, R. R. Frontiera, A.-I. Henry, E. Ringe, R. P. Van Duyne, *Materials today*, 15 (2012) 1–2, 16–25
- [22] 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) 38, 12616–12617
- [23] L. Jensen, C. M. Aikens, G. C. Schatz, *Chem. Soc. Rev.*, 37 (2008) 5, 1061–1073
- [24] S. M. Morton, L. Jensen, *J. Am. Chem. Soc.*, 131 (2009) 11, 4090–4098
- [25] R. E. C. Le, E. Blackie, M. Meyer, P. G. Etchegoin, *J. Phys. Chem. C*, 111 (2007), 13794–13803
- [26] A. D. McFarland, M. A. Young, J. A. Dieringer, R. P. Van Duyne, *J. Phys. Chem. B*, 109 (2005) 22, 11279–11285
- [27] A. Boltasseva, H. A. Atwater, *Science*, 331 (2011) 6015, 290–291
- [28] K. M. Kosuda, J. M. Bingham, K. L. Wustholz, R. P. Van Duyne, *Nanostructures and Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*, *Academic Press*, Oxford, 2011
- [29] R. P. Van Duyne R. P., J. C. Hulthen, D. A. Treichel, *J. Chem. Phys.*, 99 (1993) 3, 2101–2115
- [30] M. Fan, G. F. Andrade, A. G. Brolo, *Anal. Chim. Acta*, 693 (2011) 1–2, 7–25
- [31] J. F. Li, Y. F. Huang, Y. Ding, Z. L. Yang, S. B. Li, X. S. Zhou, F. R. Fan, W. Zhang W., Z. Y. Zhou, D. Y. Wu, B. Ren, Z. L. Wang; Z. Q. Tian, *Nature*, 464 (2010), 392–395
- [32] K. L. Wustholz, A. I. Henry, J. M. McMahon, R. G. Freeman, N. Valley, M. E. Piotti, M. J. Natan, G. C. Schatz, R. P. Van Duyne, *J. Am. Chem. Soc.*, 132 (2010) 31, 10903–10910
- [33] M. Naya, T. Tani, Y. Tomaru, J. Li, N. Murakami, *Proc. SPIE*, 7032 (2008), 70321Q/1
- [34] J. Fang, S. Liu, Z. Li, *Biomaterials*, 32 (2011) 21, 4877–4884
- [35] U. S. Dinis, F. C. Yaw, A. Agarwal, M. Olivo, *Biosens. Bioelectron.*, 26 (2011) 5, 1987–1992
- [36] K. B. Biggs, J. P. Camden, J. N. Anker, R. P. Van Duyne, *J. Phys. Chem. A*, 113 (2009) 16, 4581–4586
- [37] H. Kim, K. M. Kosuda, R. P. Van Duyne, P. C. Stair, *Chem. Soc. Rev.*, 39 (2010) 12, 4820–4844
- [38] X. Ling, L. Xie, Y. Fang, H. Xu, H. Zhang, J. Kong, M. S. Dresselhaus, J. Zhang, Z. Liu, *Nano Lett.*, 10 (2010) 2, 553–561
- [39] C. Qiu, H. Zhou, H. Yang, M. Chen, Y. Guo, L. Sun, *J. Phys. Chem. C*, 115 (2011) 20, 10019–10025
- [40] A. Musumeci, D. Gosztola, T. Schiller, N. M. Dimitrijevic, V. Mujica, D. Martin, T. Rajh, *J. Am. Chem. Soc.*, 131 (2009) 17, 6040–6041
- [41] R. Livingstone, X. C. Zhou, M. C. Tamargo, J. R. Lombardi, L. C. Quagliano, F. Jean-Mary, *J. Phys. Chem. C*, 114 (2010) 41, 17460–17464
- [42] L. G. Quagliano, *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (2004) 23, 7393–7398
- [43] Y. Wang, J. Zhang, H. Jia, M. Li, J. Zeng, B. Yang, B. Zhao, W. X. Wang, *J. Phys. Chem. C*, 112 (2008) 4, 996–1000
- [44] Z. Fei, G. O. Andreev, W. Bao, L. M. Zhang, A. S. McLeod, C. Wang, M. K. Stewart, Z. Zhao, G. Dominguez, M. Thiemens, M. M. Fogler, M. J. Tauber, A. H. Castro-Neto, C. N. Lau, F. Keilmann, D. N. Basov, *Nano Lett.*, 11 (2011) 11, 4701–4705
- [45] A. El-Ansary, L. M. Faddah, *Nanotechnol. Sci. Appl.*, 3 (2010), 65–76.
- [46] S. D. Hudson, G. Chumanov, *Anal. Bioanal. Chem.*, 394 (2009) 3, 679–686
- [47] R. A. Tripp, R. A. Dluhy, Y. Zhao, *Nano Today*, 3 (2008) 3–4, 31–37
- [48] A. H. Flood, J.F. Stoddart, D. W. Steuerman, J. R. Heath, *Science*, 306 (2004) 5704, 2055–2056
- [49] M. A. Olson, Y. Y. Botros, J. F. Stoddart, *Pure Appl. Chem.*, 82 (2010) 8, 1569–1574
- [50] L. Cui, D.-Y. Wu, A. Wang, B. Ren, Z.-Q. Tian, *J. Phys. Chem. C*, 114 (2010) 39, 16588–16595
- [51] T. Dörfer, M. Schmitt, J. Popp, *J. Raman Spectrosc.*, 38 (2007) 11, 1379–1382

- [52] L. Cui, S. Mahajan, R. M. Cole, B. Soares, P.N. Bartlett, J.J. Baumberg, I. P. Hayward, B. Ren, A. E. Russell, Z. Q. Tian, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11 (2009), 1023–1026
- [53] X.-F. Lin, B. Ren, Z.-L. Yang, G.-K. Liu, Z. Q. Tian, *J. Raman Spectrosc.*, 36 (2005) 6–7, 606–612
- [54] B. Ren, X.-F. Lin, Z.-L. Yang, G.-K. Liu, R. F. Aroca, B.-W. Mao, Z.-Q. Tian, *J. Am. Chem. Soc.*, 125 (2003) 32, 9598–9599
- [55] Z.-Q. Tian, Z.-L. Yang, B. Ren, D.-Y. Wu, *Top. Appl. Phys.*, 103 (2006), 125–146
- [56] A. Taguchi, N. Hayazawa, K. Furusawa, H. Ishitobi, S. Kawata, *J. Raman Spectrosc.*, 40 (2009) 9, 1324–1330