

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

**Přírodovědecká fakulta
Katedra fyzikální chemie**



**PŘÍPRAVA A AKTIVACE NANOČÁSTIC STŘÍBRA
PRO ÚČELY POVRCHEM ZESÍLENÉ
RAMANOVY SPEKTROSKOPIE**

Diplomová práce

Autor: **Bc. Ariana Fargašová**
Studijní program: N1407 Chemie
Studijní obor: Materiálová chemie
Forma studia: Prezenční
Vedoucí práce: RNDr. Robert Pucek, Ph.D.

Olomouc 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně na základě rad a pokynů vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Dále prohlašuji, že tato práce je majetkem Katedry fyzikální chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouc dne

.....

Ariana Fargašová

Poděkování

Děkuji RNDr. Robertu Pruckovi, Ph.D. za vedení diplomové práce, odbornou pomoc a další cenné rady, které mi během zpracování této práce poskytl. Dále bych chtěla poděkovat RNDr. Aleši Panáčkovi, Ph.D. za pořízení snímků z transmisního elektronového mikroskopu a zejména pak celé Katedře fyzikální chemie za umožnění vypracování této práce.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Ariana Fargašová
Název práce:	Příprava a aktivace nanočástic stříbra pro účely povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie
Typ práce:	Diplomová
Pracoviště:	Katedra fyzikální chemie
Vedoucí práce:	RNDr. Robert Pucek, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2011
Abstrakt:	<p>Cílem diplomové práce byla aktivace nanočástic stříbra připravených redukcí amoniakálního komplexu stříbrných iontů D-maltosou o průměrné velikosti 28 nm. Jako aktivační činidla primárních nanočástic stříbra byly použity halogenidové ionty o výsledné koncentraci 400 mM. Na základě měření průměrné velikosti částic, zaznamenáváním UV/Vis absorpčních spekter a pozorováním snímků z transmisní elektronové mikroskopie byla v případě použití chloridu sodného prokázána rychlá a reprodukovatelná tvorba krystalů primárních nanočástic stříbra dosahujících velikostí až 400 nm již po 15 minutách od přidavku NaCl. Tyto rekrystalizované nanočástice stříbra poskytují zesílení Ramanova signálu adeninu jak při excitaci ve viditelné oblasti spektra (488 nm), tak v blízké infračervené oblasti spektra (1084 nm).</p>
Klíčová slova:	Nanočástice stříbra, rekrystalizace, NaCl, povrchem zesílená Ramanova spektroskopie
Počet stran:	70
Počet příloh:	1
Jazyk:	Čeština

Bibliographical identification:

Autor's first name and surname: Ariana Fargašová

Title: Preparation and activation of silver nanoparticles for Surface Enhanced Raman Spectroscopy

Type of thesis: Master

Department: Department of Physical Chemistry

Supervisor: RNDr. Robert Prucek, Ph.D.

The year of presentation: 2011

Abstract: The aim of this diploma theses was the activation of silver nanoparticles prepared by a reduction of ammoniacal complex of silver ion by D-maltose with an average particle size 28 nm. Halide ions with resulting concentration of 400 mM served as the activation agents of the primary silver particles. Particle size distribution, optical and microscopic measurements revealed the rapid and reproducible recrystallization of the primary silver nanoparticles to one-order larger crystallites (~400 nm) from NaCl addition already after 15 minutes. This recrystallized silver nanoparticles are efficient in enhancement of Raman signal both for visible (488 nm) and for near infrared laser excitation (1064 nm) as illustrated with the representative spectra of adenine.

Keywords: Silver nanoparticles, recrystallization, NaCl, Surface Enhanced Raman Spectroscopy

Number of pages: 70

Number of appendices: 1

Language: Czech

OBSAH

1. Úvod.....	8
2. Teoretická část.....	9
2.1 Historie	9
2.2 Definice disperzní soustavy	9
2.3 Klasifikace disperzních soustav	9
2.4 Definice koloidní soustavy	11
2.5 Klasifikace koloidních soustav	11
2.6 Vlastnosti koloidních soustav	12
2.6.1 Molekulárně kinetické vlastnosti koloidních soustav	12
2.6.2 Optické vlastnosti koloidních soustav	14
2.6.2.1 Absorpce záření elektricky vodivými částicemi	14
2.6.2.2 Rozptyl záření elektricky vodivými částicemi	15
2.6.3 Elektrické vlastnosti koloidních soustav z hlediska fázového rozhraní ..	16
2.6.4 Stabilita koloidních soustav.....	17
2.6.4.1 Elektrostatická stabilizace koloidních soustav	19
2.6.4.2 Stérická stabilizace koloidních soustav	20
2.6.4.3 Elektrostérická stabilizace koloidních soustav	20
2.7 Metody přípravy koloidních soustav	21
2.7.1 Dispergační metody.....	22
2.7.2 Kondenzační metody.....	23
2.8 Syntéza nanočástic stříbra.....	24
2.8.1 Pulzní laserová ablace.....	25
2.8.2 Redukce organickými látkami	27
2.8.3 Redukce anorganickými látkami.....	29
2.8.4 Redukce rostlinnými extrakty.....	30
2.9 Aplikace nanočástic stříbra.....	31
2.9.1 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS)	32
2.9.2 Antibakteriální účinky koloidního stříbra.....	37

3. Experimentální část	39
3.1 Chemikálie	39
3.2 Experimentální vybavení.....	39
3.3 Pracovní postupy	39
3.3.1 Příprava a aktivace nanočástic stříbra	39
3.3.2 Sledování dlouhodobé stability primárních nanočástic stříbra.....	40
3.3.3 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra	41
3.3.4 SERS experimenty	42
4. Výsledky a diskuze	43
4.1 Sledování dlouhodobé stability primárních nanočástic stříbra.....	43
4.2 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra chloridovými ionty.....	46
4.2.1 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra chloridovými ionty při zvýšené teplotě	54
4.2.2 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra chloridovými ionty bez přítomnosti rozpuštěného kyslíku v reakční směsi	56
4.3 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra bromidovými a jodidovými ionty.....	58
4.4 SERS experimenty	62
5. Závěr.....	65
6. Summary	66
7. Seznam použité literatury	67
8. Příloha	71

1. Úvod

Nanočástice, ať už stříbra, zlata či železa, se staly běžnou součástí moderní civilizace. Praktické využití nanomateriálů v různých oborech lidské činnosti, jako je technika, elektronika, medicína, textilní průmysl a jiné, vyvolalo v posledních letech obrovský boom. Tyto materiály o rozměrech pouhých pár jednotek až stovek nanometrů vykazují zcela odlišné chování oproti makroskopickým materiálům.¹ Objevují se zde zcela nové fenomény a zcela nové formy hmoty. Největší výzvou všech vědců v materiálovém výzkumu je řízená příprava nanočástic stříbra o velmi dobře definovaných tvarech a velikostech, jelikož se od těchto faktorů pak odvíjí jejich účinnost v řadě dalších aplikací. Zejména pak v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii hraje velmi důležitou roli velikost a morfologie nanočástic stříbra, kde se uplatňují jako substrát při detekci jednotlivých molekul.² Maximální hodnota zesílení Ramanova signálu pro různé excitační vlnové délky použitého laseru závisí na určité velikosti částic. Např. pro běžně používaný argonový laser s excitační vlnovou délkou 514,5 nm bylo dokázáno, že ty nejvhodnější částice se pohybují v rozsahu velikostí 80 – 100 nm.^{3,4} Naopak při excitaci v blízké infračervené oblasti spektra (1064 nm) se předpokládá, že bude dosaženo nejvyššího zesílení signálu částicemi o velikostech okolo 400 nm.

Předložená diplomová práce je proto zaměřena na aktivaci nanočástic stříbra připravených redukcí amoniakálního komplexu stříbrných iontů D-maltosou o průměrné velikosti okolo 28 nm. Volně navazuje na Bakalářskou práci obhájenou v roce 2009 na Katedře fyzikální chemie v Olomouci, ve které byly zahájeny první kroky vedoucí k výsledkům, o kterých pojednává tato diplomová práce. Jako aktivační činidla sloužily halogenidové ionty, zejména pak chloridy, o výsledné koncentraci 400 mM. Co je důležité říct hned na úvod, tak že doposud nebyly publikovány práce, které by se zabývaly účinky tak vysoce koncentrovaných chloridových iontů. Tato práce se věnuje sledování kinetiky aktivace primárních částic stříbra chloridovými ionty na základě měření změny průměrné velikosti částic s časem a zaznamenáváním UV/Vis absorpčních spekter. Současně byla sledována účinnost takto aktivovaných nanočástic stříbra při povrchovém zesílení Ramanova signálu.

2. Teoretická část

2.1 Historie

Na počátku 20. století se od ostatních chemických věd odděluje nová vědní disciplína známá pod názvem koloidní chemie, za jehož zakladatele je považován Thomas Graham (1861). Avšak s praktickým využitím vlastností koloidní chemie již uměla vynaložit i dávná civilizace. Staří Egypťané, ke psaní milostných vzkazů, používali barevné inkousty. Číňané využívali stříbra při akupunkturálních terapiích nebo z něj připravovali tuž, která byla stabilizována želatinou.^{5,6} Ze IV. století našeho letopočtu pochází tolik známý Lykurgův pohár, jehož sklíčka obsahují příměsi stříbra (70%) a zlata (30%). Dochází-li na poháru k odrazu světla, pozorujeme zelené zabarvení. Naopak, je-li zdroj světla uvnitř poháru, dochází k propouštění záření a pohár se nám jeví červeně.⁷ Jinde zase, o pár století později, švadleny barvily solem zlata hedvábí, skláři interiérové vitráže. Prvním průkopníkem zabývajícím se vědeckým studiem koloidních soustav byl Lomonosov a o sto let později Tyndall a Farraday (1857), kteří podali přímý důkaz o existenci koloidních částic (tzv. Tyndallův jev – viz kap. 2.6.2.2). Nesmíme však také zapomenout na Friedricha Ostwalda, který přišel s myšlenkou, že do koloidního stavu lze uvést všechny látky.⁵

2.2 Definice disperzní soustavy

Disperzní systém neboli disperzní soustava je termodynamický systém, který zahrnuje minimálně dvě fáze (voda (l) – voda (s); voda (l) – olej (s)) o stejném nebo různém složení, přičemž první fáze je v té druhé velmi jemně rozptýlena a to ve formě drobných částic o určitém tvaru a velikosti. Rozptýlená fáze se označuje jako disperzní podíl – disperzum a je rozptýlena ve spojitém disperzním prostředí – dispergens.^{8,9}

2.3 Klasifikace disperzních soustav

Je spousta kritérií, podle nichž lze klasifikovat disperzní soustavy. Tím nejzásadnějším faktorem je velikost dispergujících částic disperzního podílu, podle níž lze rozlišit tyto soustavy na hrubé, koloidní a analytické disperze.¹⁰ Velikost částic lze

vyjádřit tzv. stupněm disperzity, což je převrácená hodnota průměrné velikosti částic. Čím jsou rozměry částic menší, tím většího stupně disperzity soustava nabývá a to nám podává informaci o tom, jak jemně je disperzní fáze rozptýlena v disperzním prostředí.¹¹

Částice hrubě disperzních soustav nabývají rozměrů 10^{-6} m a více a jako příklad lze uvést prach, dým, pěnu, emulzi a suspenzi.¹² Dále se dělí na makročástice, které jsou pozorovatelné pouhým lidským, avšak zdravým, okem, a na mikročástice, které lze pozorovat prostřednictvím mikroskopu.⁸ Částice hrubé disperze jsou nestálé, rychle zanikají (sedimentují) a lze je filtrovat.^{9,13}

Analyticky disperzní částice se pohybují pod dolní hranicí velikosti, kterou je 10^{-9} m a řadíme sem pravé roztoky nízkomolekulárních látek.¹² Tyto částice jsou stálé, nesedimentují ani v ultracentrifuze a procházejí filtračním papírem i membránami.⁹

Třetí disperzní soustavou, o níž pojednává tato diplomová práce, je koloidní disperze (soustava). Rozměry těchto částic se pohybují v intervalu 10^{-9} m až 10^{-6} m. Příkladem tohoto koloidního stupně disperzity jsou roztoky makromolekulárních sloučenin, lyofobní soly a micelární koloidní roztoky.¹² Pozorovat je můžeme prostřednictvím ultramikroskopu, kde na tmavém pozadí vidíme světelné body představující právě tyto částice.¹⁰

Dále podle velikosti částic klasifikujeme disperzní soustavy na monodisperzní, jsou-li všechny částice disperzního podílu stejně velikostně zastoupeny, a na polydisperzní, kde částice dosahují rozdílných velikostí.

Druhým kritériem, podle kterého rozlišujeme soustavy homodisperzní a heterodisperzní, je tvar dispergovaných částic. Jak plyne z předpon, homo- znamená stejný a hetero- rozdílný.¹¹

Podle tvaru dispergovaných částic lze dále soustavy rozlišit na korpuskulární, laminární a fibrilární. Korpuskulární, neboli také globulární, částice jsou ve všech třech rozměrech přibližně identické (šířka, délka, výška), a proto jsou označovány jako izometrické. Laminární částice mají tvar destiček nebo, jak také vyplývá z názvu, tvar lamel, jejichž dva rozměry převládají nad třetím. Proto se označují jako anizometrické a řadíme mezi ně i zbývající třetí – fibrilární soustavy, jejichž částice jsou protaženy do tvaru tyčinek či vláken, kde převládá jeden rozměr nad dvěma.

Dalšími kritérii rozdělení disperzních soustav mohou být deformabilita částic (jejich změna tvaru a rozměru) či skupenské stavy disperzního podílu a prostředí.^{8,9}

2.4 Definice koloidní soustavy

Nejen, že se s koloidními soustavami setkáváme v laboratoři, ale přicházíme s nimi dnes a denně do styku i ve všedním životě, aniž bychom si to uvědomovali. Jak už bylo výše zmíněno, koloidní disperzí neboli koloidní soustavou rozumíme dvoufázovou či vícefázovou soustavu, kde jedna fáze je velmi jemně rozptýlena v té druhé, za vzniku mikroskopických až submikroskopických objektů.¹³

2.5 Klasifikace koloidních soustav

Koloidní soustavy se nejčastěji vyskytují jako polydisperzní soustavy, kde zastoupení různě velkých částic charakterizuje distribuční funkce, jejíž kvantitativní vyjádření popisuje distribuční křivka, rozdělující částice v koloidní soustavě do velikostních tříd. Dle skupenství disperzního prostředí a disperzního podílu klasifikujeme koloidní soustavy podle tabulky 1. Máme-li pevný disperzní podíl, obecně označujeme koloidní soustavy jako soly. Je-li pevný disperzní podíl rozptýlen v plynném disperzním prostředí, označujeme tyto soustavy pojmem aerosoly (aero = vzduch). Je-li však pevný disperzní podíl rozptýlen v kapalném disperzním prostředí, jedná se o lyosoly (lyos = rozpouštědlo).¹¹

Tabulka 1. Klasifikace koloidních soustav dle skupenství disperzního podílu a prostředí

disperzní prostředí	disperzní fáze	koloidní soustavy
plynné	plynný	netvoří koloid
	kapalný	aerosoly (mlhy)
	pevný	aerosoly (dým, prach)
kapalné	plynný	pěny
	kapalný	emulze
	pevný	lyosoly
pevné	plynný	tuhé pěny
	kapalný	tuhé emulze
	pevný	tuhé soly

Na základě interakcí mezi částicemi disperzního prostředí a disperzní fáze dále klasifikujeme lyosoly na tři podskupiny. První jsou tzv. lyofobní koloidy. Jak už plyne z názvu – *fobní* (bát se) – částice a jejich prostředí spolu nevycházejí, proto je potřeba na jejich vytvoření vynaložit jistou dávku energie a stabilizovat je (viz kap. 2.6.4), aby

se částice neshlukovaly do větších útvarů a následně nesedimentovaly. Jsou tedy nestabilní a jejich fázové rozhraní je ostře vymezeno. Můžeme se s nimi setkat i pod pojmem nevratné koloidy.

Druhou podskupinu lyosolů tvoří lyofilní koloidy, jejichž fázové rozhraní je rozprostřeno do větších šířek. Tyto soustavy jsou schopny samovolného vzniku a jsou termodynamicky stálé. Jejich stabilizace není nutná, a proto se označují také jako koloidy vratné (reverzibilní). Velmi často se lyofilní koloidy používají ke stabilizaci lyofobních koloidů.

Poslední podskupinou jsou tzv. asociativní koloidní soustavy, vznikající spojováním malých molekul povrchově aktivních látek v útvary nazývané jako micely.^{8,11,14}

2.6 Vlastnosti koloidních soustav

2.6.1 Molekulárně kinetické vlastnosti koloidních soustav

Prostřednictvím kinetických vlastností je možné určit velikost a někdy i tvar koloidních částic, proto tedy mají velký význam pro studium koloidních soustav.

Částice v koloidních soustavách vykonávají tím intenzivnější pohyb, čím větší teplo je do soustavy přiváděno. Tyto vlastnosti jsou tedy dané jen a pouze tepelným pohybem částic, a proto se dají nazvat jako molekulárně kinetické. Jako první, kdo se tímto mechanismem začal zabývat, byl roku 1827 anglický botanik Robert Brown (1773 – 1858), který pozoroval pod mikroskopem tepelný pohyb částeček květního pylu rozptýlených ve vodě. Zjistil, že částice neustále konají chaotický pohyb, který v průběhu času neochabuje a je tím intenzivnější, čím vyšší teplota je do soustavy přiváděna. Avšak, aby se přesvědčil, že tento pohyb nebyl pouze známkou života buněk pylu, provedl tentýž experiment s částicemi prachu. Tento prvotní výzkum později teoretickými výsledky potvrdili Einstein a Smoluchowski, experimentálně pak Perrin a Svedberg. Brownovým pohybem tedy rozumíme neuspořádaný pohyb částic disperzního podílu vyvolaný, pod mikroskopem neviditelnými, nepravidelnými nárazy molekul disperzního prostředí, které vykonávají tepelný pohyb. Brownův pohyb je tím intenzivnější, čím větší teplotu soustavě dodáváme a čím menší jsou částice disperzního podílu.

S Brownovým pohybem souvisí schopnost systému samovolně vyrovnávat koncentrace mezi dvěma částmi soustavy – tak zvaně difundovat. Difúze je tedy makroskopický důkaz tepelného pohybu molekul, kdy dochází k samovolnému vyrovnávání koncentrací vlivem difúze směrem k místům o menších koncentracích. Motorem difúze je tzv. koncentrační gradient, neboli rozdíl koncentrací různých míst v soustavě. Děj je nevratný a výsledkem je kinetická rovnováha soustavy, kde se koncentrace s časem nemění a ve všech směrech je stejná.

Dalším způsobem, jak může docházet k vyrovnávání nestejných koncentrací, je tzv. osmóza. Osmotický děj probíhá přes polopropustnou (semipermeabilní) membránu, která odděluje disperzní systém od čistého rozpouštědla a propouští pouze molekuly rozpouštědla, nikoliv disperzní částice. Je to tedy jev opačný vzhledem k výše zmíněné difúzi, jelikož dochází k vyrovnávání rozdílných koncentrací směrem ze zředěnějšího do koncentrovanějšího prostředí. Zde je hnací silou osmotický tlak, který lze stanovit tak, že budeme na straně koncentrovanějšího systému působit dostatečně velkým přetlakem proti prostupujícím molekulám čistého rozpouštědla do disperzního systému. Osmotický tlak je nestálý, výrazně závisí na velikosti částic a je značně menší než u pravých roztoků. Hlavní rolí osmózy, stejně jako tomu bylo u difúze, je snižovat koncentrační rozdíly v systému.^{11,15,16,17}

Nejen lidé, živočichové a rostliny jsou pod vlivem gravitace, ale i na disperzní soustavy působí zemská přitažlivost směrem kolmo k povrchu země. Máme-li soustavu, kde hustota částic disperzního podílu je mnohem větší než hustota disperzního prostředí, klesají všechny bezprostředně ke dnu (sedimentují). Vezmeme-li však v úvahu soustavu, kde hustota částic disperzního podílu bude několikanásobně menší než hustota disperzního prostředí, budou plavat na povrchu. Rychlost sedimentace je dána nejen gravitační silou, ale je ovlivňována i silou vztlakovou, mezipovrchovými silami a tepelným Brownovým pohybem. Za určitý čas se pak ustaví sedimentační rovnováha a koncentrace částic se pak v jednotlivých vrstvách soustavy s časem nemění. Nemáme-li času nazbyt, lze využít k urychlení ustavování sedimentační rovnováhy tzv. ultracentrifugu. V tomto zařízení, kde už na částice disperzního podílu nepůsobí síla gravitační, nýbrž odstředivá, se ke dnu dostanou i částice o nejmenších rozměrech.^{8,15}

2.6.2 Optické vlastnosti koloidních soustav

Optické vlastnosti koloidních soustav jsou jedny z jejich význačných charakteristik, díky nimž lze pozorovat přítomnost částic, určovat jejich velikost, koncentraci a dokonce i analyzovat strukturu. Optické vlastnosti nám usnadňují kvantitativní přístup k dějům, jako je právě výše zmíněný Brownův pohyb, difúze či sedimentace. V praxi má přímý vztah k optice koloidních soustav například navigace letadel a lodí v mlze, či meteorologie a astronautika.^{16,17}

Při dopadu světla (elektromagnetického záření) na koloidní soustavu se intenzita světelných paprsků po průchodu daným prostředím zmenšuje, čímž současně dochází k pravé absorpci (pohlcování) a rozptylu dopadajícího světla. Velikost obou těchto efektů závisí jak na velikosti částic v koloidní soustavě, tak na vlnové délce dopadajících paprsků. Lze pozorovat i další jevy, jako je odraz a lom světla na částicích disperzního podílu, avšak nejtypičtější pro koloidní soustavy je již zmíněná absorpce a rozptyl záření.^{9,11,15}

2.6.2.1 Absorpce záření elektricky vodivými částicemi

Pro některé, kteří si zaměřují absorpci a adsorpci, bych nejprve uvedla, že absorpce probíhá v celém objemu soustavy, kdežto adsorpce se odehrává pouze na povrchu. My se však budeme zabývat jen absorpcí elektricky vodivých látek, což jsou právě například ty naše koloidní stříbrné částice.

Po dopadu záření na danou soustavu dochází k vzájemné interakci, při níž elektrony atomů dané soustavy absorbují ze světla fotony o vhodné vlnové délce a dochází ke změně energetických stavů valenčních a vazebných elektronů neboli k excitaci.^{10,11} Dále, při absorpci světla částicemi, dochází k přeměně energie světelné vlny na energii tepelnou.¹⁶ Intenzita dopadajícího světla na látku I_0 je větší než intenzita prošlého světla I danou látkou a závisí na tloušťce l absorbující vrstvy a na koncentraci c absorbující složky. Závislost mezi těmito veličinami popisuje Lambertův-Beerův zákon:

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot l, \quad (1)$$

kde ε_λ je molární extinkční koeficient závislý na vlnové délce použitého světla.^{10,11}

Maximální hodnota absorpce, při ozáření elektricky vodivých částic, pro různé vlnové délky dopadajícího záření, závisí na určité velikosti těchto částic, dále pak na druhu kovových částic, jejich tvaru a stupni agregace. Experimentální studie dokazují, že s rostoucím rozměrem částic nejprve celková absorpce strmě narůstá a po dosažení maxima klesá. To se dá vysvětlit extrémně velkou schopností kovů absorbovat dopadající záření.^{16,17}

2.6.2.2 Rozptyl záření elektricky vodivými částicemi

Druhou významnou optickou vlastností koloidních soustav je rozptyl záření. Podmínkou rozptylu světla je, že velikost rozptýlených částic v disperzní fázi musí být menší než vlnová délka dopadajícího světla. Typickým projevem rozptylu světla je tzv. opalescence (jemný zákal), což zapříčiňuje jak vyšší hustota, tak větší hodnota indexu lomu disperzní fáze ve srovnání s analytickou disperzí, kde je opalescence zcela neznatelná. Pokud by však byla vlnová délka dopadajícího záření menší než příslušná částice, docházelo by k odrazu světla a pozorovali bychom typický zákal.¹⁷ Důsledkem elektromagnetického pole dopadajícího záření dochází k přeměně elektrické energie na tepelnou.^{11,17} Tak, jako tomu bylo u pravé absorpce, zde nedochází při pohlcení záření ke změnám energetických stavů valenčních elektronů, nýbrž k náhodnému vyzáření všemi směry beze změny vlnové délky.¹¹ Stejně jako skákací kulička odrážející se od země v náhodných směrech, tak i foton dopadajícího záření se odráží od disperzní částice pod nejrůznějšími úhly.¹⁵ Tomuto jevu se tedy říká elastický odraz fotonu od částice.¹¹ Rozptyl světla je složitý jev a kromě již zmíněného odrazu a ohybu v sobě zahrnuje i mimo jiné lom a interferenci světla.¹⁵ První, kdo tomu věnoval pozornost, byl v 19. století Faraday, později pak Tyndall.¹⁷

Jednou z nejdůležitějších optických vlastností koloidních soustav je tzv. Tyndallův jev (efekt), který se projevuje tím, že při průchodu světla koloidní soustavou pozorujeme při pohledu z boku (tj. kolmo na směr šíření světla) světelný kužel, jehož vrchol je v místě, kde paprsek vstupuje do koloidní soustavy.¹⁰ Tyndallovu efektu se dá využít zejména při měření kvality koloidních soustav, nejvíce se pak využívá při konstrukci tzv. ultramikroskopu, kterým pozorujeme částice menší než cca 3 nm.^{8,10} Nepozorujeme však skutečný obraz, nýbrž světelné paprsky ohnuté na koloidních

částicích. V zorném poli pozorujeme pak na tmavém pozadí světelné body, které představují obrazy koloidních částic.¹⁰

2.6.3 Elektrické vlastnosti koloidních soustav z hlediska fázového rozhraní

U většiny heterogenních koloidních soustav se na fázovém rozhraní mezi koloidní částicí a vodným disperzním prostředím vyskytuje elektrický náboj.⁹ Elektrický náboj na povrchu koloidních částic je důležitý jednak z hlediska stability koloidních soustav a dále je také rozhodujícím faktorem chování nabitých částic v elektrickém poli.¹¹ Těmito ojedinělými elektrickými vlastnostmi koloidních soustav se poprvé roku 1808 zabýval profesor Moskevské univerzity F. F. Rejss při studiu zákonitostí elektrolýzy.¹⁶

Vložíme-li elektrický proud na elektrody ponořené do koloidního systému, dochází k pohybu částic. Důsledkem tohoto přenosu koloidních částic v elektrickém poli mezi dvěma opačně nabitými elektrodami je již zmíněný elektrický náboj na jejich površích. Tento transportní jev je označován jako elektroforéza, kdy mechanický pohyb částic vlivem působícího vnějšího elektrického pole je konstantní a je tím větší, čím větší je vložený potenciálový rozdíl na elektrody.¹⁷ Obdobným jevem, kdy však v důsledku vloženého potenciálového rozdílu na elektrody vzniká mechanický pohyb disperzního prostředí, je tzv. elektroosmóza.⁹ A co za těmito oběma jevy stojí, je fakt, který nám objasnil již zmíněný F. F. Rejss, že tuhá a kapalná fáze (v našem případě disperzní fáze a disperzní podíl) nesou náboje opačného znaménka.¹⁷

Elektrický náboj na povrchu koloidních částic může vzniknout řadou mechanismů. Jedním z nich je např. disociace některých funkčních skupin (-OH, -SO₃H, -COOH, atd.) nebo adsorpce iontů z disperzního prostředí.⁸ Takto nabitý povrch koloidní částice k sobě přitahuje opačně nabité ionty (tzv. protiionty), čímž vzniká mezi povrchem částice a disperzním prostředím útvar stávající ze dvou opačně nabitých vrstev – tzv. elektrická dvojvrstva.^{8,9} Můžeme se setkat s několika teoriemi popisujícími strukturu elektrické dvojvrstvy, avšak nejlépe toto uspořádání vystihuje tzv. Sternova teorie. Elektrickou dvojvrstvou si můžeme představit jako dvě přiléhající vrstvy k povrchu částice, z nichž ta vnitřní je tzv. kompaktní vrstva, kde převládají adsorpční síly, a vnější – tzv. difúzní vrstva, která je k vnitřní vrstvě přitahována zejména silami elektrostatickými. Potenciál odpovídající hodnotě potenciálu na pohybovém rozhraní,

kteřé od sebe odděluje kompaktní a difúzní vrstvu, se nazývá elektrokinetický neboli ζ -potenciál. Elektrokinetický proto, že je odpovědný za interakce mezi povrchem částice a vnějším elektrickým polem.¹¹ Jelikož je elektrokinetický potenciál veličina, která charakterizuje stabilitu koloidní soustavy, musíme si všítmat faktorů, které jej ovlivňují. Týká se to zejména přídavku elektrolytů do daného systému, změny pH, změny koncentrace roztoku nebo na hodnotu ζ -potenciálu může mít i značný vliv teplota.

Dalšími elektrokinetickými jevy, jevy inverzními k již zmíněné elektroforéze a elektroosmóze, které nastávají při pohybu fáze s elektrickou dvojvrstvou vůči roztoku, jsou sedimentační potenciál a potenciál proudění.¹⁷ V těchto dvou případech dochází v důsledku mechanického pohybu fází (v případě sedimentačního potenciálu to je pohyb částic v disperzním prostředí a v případě potenciálu proudění to je pohyb kapalně fáze) ke vzniku potenciálního rozdílu.⁹

Praktický význam elektrokinetických jevů je ohromný. Elektroforéza nachází uplatnění nejen v analytické chemii, ale hojně se také využívá v biomedicíně při dělení bílkovin a jiných vysokomolekulárních elektrolytů, prostřednictvím elektroosmózy se pak například odvodňují pórovité materiály.¹⁷

2.6.4 Stabilita koloidních soustav

Jak již bylo zmíněno v kapitole 2.5, lyofobní koloidní soustavy jsou oproti lyofilním soustavám termodynamicky nerovnovážné a agregátně nestálé v důsledku velké mezifázové energie a velkého zakřivení koloidních částic, a proto je nutné je stabilizovat.^{9,17} Výraz stabilita termodynamicky nerovnovážných koloidních soustav představuje jejich způsobilost se bránit vůči procesům, které mají za následek změnu jejich struktury, vedou ke snižování stupně disperzity, ke změně charakteru rozdělení částic podle rozměrů, až nakonec dojde k destrukci koloidní soustavy.^{9,16} Doba existence soustavy v koloidním stavu se pohybuje od prakticky úplné nestability až po úplnou stálost. Důkazem je například doposud uchovávaný sol zлата v londýnském institutu, který byl připraven Faradayem. Tak jako my, lidé, bohužel stárneme, tak i koloidní soustavy podléhají pochodům, které se nazývají stárnutí, avšak jejich výhodou je, že procesy stárnutí nespátříme navenek pouhým okem.⁹

Pro koloidní soustavu je typický tzv. metastabilní stav, kdy oplývá povrchovým přebytkem energie a to díky velkému povrchu částic disperzního podílu. Může nastat i situace, kdy se koloidní soustava, po překročení určité energetické bariéry, dostane do stavu s nižší povrchovou energií. K překonání této energetické bariéry slouží tzv. aktivační energie. Z toho tedy plyne, aby koloidní soustava byla stabilní, musí existovat dostatečná energetická bariéra, která by zabraňovala spojování částic a tím i pokles povrchové energie.¹¹

Jak už nastínil N. P. Peskov, rozlišujeme sedimentační a agregátní stálost koloidních soustav.¹⁶ Pod pojmem sedimentační (kinetická) stabilita uvažujeme stálost soustavy, s jakou je zachováno rozdělení koncentrace částic při jejich sedimentaci v gravitačním poli.^{9,16} Sedimentační stálost je závislá na poměru rychlosti difúze a sedimentace. Jako sedimentačně stálé částice označujeme ty, které dosahují velikosti pod 100 nm a jsou vlivem difúze, která působí proti sedimentaci, schopny se udržet v celém objemu disperzního podílu.¹¹ Naopak agregátní stabilita soustavy představuje stálost, s jakou je soustava schopna zachovat svůj stupeň disperzity.⁹ Kdyby soustava byla agregátně nestálá, nastaly by procesy, při kterých by docházelo ke snižování Helmholtzovy energie na fázovém rozhraní a to nemusí být vždy žádoucí.¹⁶ Agregátní stálost koloidních soustav závisí jednak na složení disperzního prostředí, které lze jednoduše změnit i velmi nepatrným přidáním elektrolytů a také závisí na teplotě či intenzitě míchání dané soustavy.¹⁷

Mezi procesy, které vedou ke snížení Helmholtzovy povrchové energie na fázovém rozhraní, řadíme koagulaci (agregace částic při jejich slepování), koalescenci (splývání částic) a růst částic izotermickým převodem (tzv. Ostwaldovo zrání).¹⁶ Koagulací označujeme děj, při kterém dochází ke spojování částic koloidní soustavy vlivem velmi silných přitažlivých sil. Takto vzniklý útvar pak označujeme jako koagulát a díky působícím silám nelze spojené částice převést zpět do koloidní formy.¹¹ Koagulaci můžeme pozorovat na základě změny barvy roztoku, kdy dochází buď k zakalení čirého roztoku nebo barva přechází z jedné do druhé.⁵ Na základě kinetiky koagulace rozlišujeme koagulaci rychlou a pomalou. V případě rychlé koagulace má každé vzájemné přiblížení částic, které vykonávají Brownův pohyb, za následek jejich spojení. Naopak při pomalé koagulaci dochází ke spojování částic pouze v případě jejich výhodného přiblížení a to v důsledku existující elektrické dvojvrstvy na povrchu

koloidních částic.¹⁷ V případě, že mezi spojenými částicemi působí velmi slabé síly, hovoříme o tzv. flokulaci a vzniklé útvary pak označujeme jako flokuláty. Díky působícím slabým silám lze částice zpětně od sebe oddělit a navrátit do jejich původní koloidní formy. Tyto dva jevy, koagulace a flokulace, se pak souhrnně označují jako agregace a útvary takto vzniklé pak jako agregáty.¹¹ Důležitým poznatkem také je, že při spojování částic nedochází ke změnám na povrchu rozhraní mezi částicí a disperzním prostředím. Při koalescenci dochází ke snížení Helmholtzovy povrchové energie na fázovém rozhraní v důsledku splynutí částic, kdy nastává úplná likvidace mezifázového povrchu, který původně odděloval částice.¹⁷ Dalším procesem je tzv. Ostwaldovo zrání. V důsledku vyššího tlaku nad zakřiveným fázovým rozhráním a tím i lepší rozpustnosti menších částic než v případě částic větších, dochází prostřednictvím disperzního prostředí k přenosu molekul z menších částic disperzního podílu na částice větších rozměrů. Jak rychle budou růst větší částice na úkor těch malých, závisí jednak na rozpustnosti disperzního podílu v disperzním prostředí, případně těkavosti, a na mezifázovém napětí.⁹

2.6.4.1 Elektrostatická stabilizace koloidních soustav

Pro koloidního chemika je, z hlediska další efektivní aplikace, velmi důležité udržet koloidní soustavu nějakým způsobem stabilní a, pokud možno, co nejdéle tento materiál uchovávat. Proto existuje řada možností, jak účinně koloidní soustavu stabilizovat, aniž by docházelo k agregaci nebo k nepříznivým reakcím. Dále je však kladen důraz na environmentální akceptovatelnost stabilizátoru a jeho biokompatibilitu.

Jednou z možností stabilizace je elektrostatické odpuzování dvou částic nesoucích elektrický náboj. Sílu elektrostatického odpuzování dvou nabitých částic popisuje Coulombův zákon:

$$F = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r} \cdot \frac{q_1 \cdot q_2}{r^2}, \quad (2)$$

z něhož plyne, že odpuzivá síla dvou kulovitých částic klesá s druhou mocninou jejich vzdálenosti.¹¹ Na povrchu koloidních částic, po přidavku roztoku elektrolytu do soustavy, se vytvoří elektrická dvojvrstva, která, pokud má dostatečně velký elektrický

potenciál, vede ke vzniku odpuzivé síly mezi částicemi a dostatečně se od sebe opět vzdálí.⁹

2.6.4.2 Stérická stabilizace koloidních soustav

Další možností stabilizace je tzv. stérická stabilizace. K zabránění agregace koloidních částic je využito účinků lyofilních koloidů. Již naši předkové používali ke psaní inkousty připravené rozdispergováním příslušného pigmentu ve vodném prostředí za přítomnosti v přírodě se vyskytujících polymerů (např. vaječný albumin, kasein, želatina).⁹ Schopnost látek tvořit ochrannou vrstvu se dá vysvětlit tak, že makromolekuly těchto ochranných látek se adsorbují na povrchu koloidních částic a zároveň však musejí být tyto látky rozpustné v disperzním prostředí.^{5,9} Mezi tyto povrch lyofilizující látky patří například již výše zmíněný, v přírodě se vyskytující, vaječný albumin, (protein izolovaný z vaječného bílku), nebo dále pak kasein, želatina či arabská guma, (pryskyřice získávána z rostlin, konkrétně z akácií rostoucích v severní Africe).⁹ Podmínkou úspěšné stabilizace systému je správná volba koncentrace stabilizující látky, neboť by to mohlo mít i opačný vliv - mohlo by dojít k agregaci.¹¹ Nejlepších výsledků stabilizace je dosaženo tehdy, má-li lyofilní koloid stejný náboj, jako stabilizovaný lyofobní koloid.⁵ Na rozdíl od elektrostatické stabilizace je použití hydrofilních stabilizátorů výhodnější jednak z hlediska jejich větší odolnosti vůči změnám ve složení disperzního prostředí, tak je také možné je využít jak ve vodném tak v organickém prostředí.⁹

2.6.4.3 Elektrostérická stabilizace koloidních soustav

Do popředí se dostává elektrostérická stabilizace, což je kombinace vlivu elektrické dvojvrstvy a stérického účinku adsorpční vrstvy. Po smíchání lyofilního a lyofobního koloidu se, na základě vlivu znaménka elektrického náboje, množství smíchaných koloidů a poměru velikosti částic, které oba systémy nesou, rozlišují různé případy. Jedinečnost těchto systémů je, že obsahují jak polární funkční skupinu, na jejímž základě se vytváří elektrická dvojvrstva, tak hydrofilní řetězec, zodpovědný za stérickou stabilizaci.

V případě, že se u obou koloidů shodují znaménka elektrického náboje, ochrannou funkci zastává lyofilní koloid. Na povrch lyofobních částic se naadsorbují částice povrchově aktivního lyofilního koloidu, zvětší se tloušťka elektrické dvojvrstvy a účinky stabilizace působí již od nepatrného množství lyofilního koloidu. Jsou-li znaménka elektrického náboje opačná u obou systémů, pak nemůže dojít k vytvoření ochranné vrstvy lyofilním koloidem kolem lyofobní částice a dochází naopak ke zúžení tloušťky elektrické dvojvrstvy a tím pádem i ke snížení hodnoty elektrokinetického potenciálu a dochází k námi nevíтанé agregaci.

Na základě poměru velikosti částic lyofilního a lyofobního koloidu nastávají dva děje. V případě, že převládá rozměr částic lyofilního koloidu nad částicemi lyofobními, dochází obvykle ke koagulaci, jelikož se lyofilní koloid hromadí na fázovém rozhraní mezi částicí a disperzním prostředím. Naopak, když je rozměr částic lyofobního koloidu větší než lyofilních částic, dochází k úplnému naadsorbování vrstvy lyofilní látky na povrch lyofobních částic a tím je stabilizuje.⁹

2.7 Metody přípravy koloidních soustav

Jak už bylo uvedeno v kapitole 2.3, koloidní systémy, na základě velikosti disperzních částic, zauímají polohu mezi analytickými a hrubými disperzemi. Z hlediska tohoto řazení existují dva možné přístupy, jak připravit koloidní disperze. První možností jsou tzv. kondenzační metody, kdy cesta vzniku koloidní disperze vychází z analytických disperzí prostřednictvím chemických reakcí či fyzikálních postupů (změnou rozpouštědla). Opačnou cestou přípravy jsou tzv. metody dispergační, kdy se na základě mechanických či fyzikálně-chemických postupů vychází z hrubých disperzí.^{11,17} Vedle již zmíněných metod existuje ještě tzv. peptizace, která spočívá v převodu zagregovaných částic zpět do jejich koloidních rozměrů. Při všech zmíněných metodách přípravy koloidních systémů musí být splněny následující podmínky: disperzní fáze musí být nerozpustná nebo jen částečně rozpustná v disperzním prostředí a látky přítomné v systému musí být schopné stabilizovat nově vznikající částice nebo v případě kondenzačních metod zastavovat jejich růst. Těmi stabilizujícími látkami mohou být jak příměsi, které jsou zavedeny do soustavy, tak produkty vznikající při interakci disperzní fáze s disperzním prostředím.¹⁷

2.7.1 Dispergační metody

Procesy dispergování pevných látek mají obrovský a praktický význam jak v technice při velkovýrobě např. vysoce disperzních prášků, tak ve volné přírodě.^{16,17} Vychází se z hrubě disperzních částic, které podléhají mechanickým úpravám (řezání, broušení, mletí, rozměňování).^{11,17} Dispergování je také jeden z nejrozsáhlejších jevů v přírodě, který je řídicím dějem změn ve složení povrchu země a zároveň tak umožňuje vznik nového života na zemi. Např. vlivem působení napětí v zemské kůře a vlhkosti dochází k přeměně hornin na dispergovanou soustavu.¹⁶ Metoda dispergování má dokonce i praktický význam při výrobě mouky a jiných potravinářských produktů.¹⁷ Vznik disperzní soustavy touto cestou vyžaduje vynaložení větší práce, kterou je nutno dodat k překonání působících mezimolekulárních sil.^{9,17} Cílem dispergování je tedy zvýšení stupně disperzity pevných látek v prostředí, které nereaguje s disperzním podílem, za vzniku koloidní soustavy o velkém specifickém povrchu mezi fázemi. Při dispergování (deformaci) pevných látek se na jejich povrchu, v důsledku účinku vnějších deformačních sil, vytváří mikrotrhlíky, které jsou hlavní příčinou poklesu pevnosti dispergovaných látek. Tyto mikroskopické trhliny se vytváří především na oslabených místech krystalické mřížky. Je-li přerušeno zatížení vkládané na dispergovanou látku dříve, než dojde k jejímu narušení, dochází k tzv. hojení vzniklých mikrotrhlin. Dojde-li však k přesažení meze pevnosti namáhaného materiálu, dochází k nevratné změně a materiál je porušován podél mikrotrhlin.¹⁷

Ve velkovýrobě se do značné míry využívají k dispergaci pevných látek procesy mletí. Existuje řada mlýnů různých konstrukcí, jako jsou např. kulové mlýny, koloidní, vibrační či proudové. Princip mletí je založen na rozměňování materiálu mlecími tělesy (ocelové či porcelánové koule) při nárazu na stěny nádoby.¹⁶ Nevýhodou této cesty přípravy koloidních soustav je, že dochází ke kontaminaci koloidu materiálem mlecích těles a dále pak je tato metoda náročná na čas, který se pohybuje v rozmezí od pár hodin po několik dní, na základě požadavku stupně disperzity soustavy.^{11,16}

V případě málo pevné dispergované látky lze k rozměňování použít ultrazvuk. Ultrazvukové vlny (o frekvenci nad 20 000 Hz) vyvolávají v látkách periodické stlačování a roztahování, čímž vznikají drobné trhliny a dochází k rozpadu dispergované látky.^{9,11} Výhodou této cesty dispergace je, že nedochází ke kontaktu s třetí látkou a nehrozí tak znečištění, jako tomu bylo u mletí.⁹

Moderním způsobem dispergace je tzv. laserová ablace, kdy dochází působením vysoce energetického laserového paprsku k přehřátí určitého místa na povrchu pevné fáze a k následnému odtrhávání částic koloidních rozměrů.¹¹

V roce 1898 byla navržena Bredigem, a později zdokonalena Svedbergem, metoda elektrického rozprašování kovových elektrod, ponořených do disperzního prostředí, ve stejnosměrném nebo střídavém vysokofrekvenčním elektrickém oblouku. Principem elektrického rozprašování je odtrhávání tuhých částic koloidních rozměrů od kovových elektrod, které se uvolňují do disperzního prostředí a vzniká tak koloidní soustava. Tuto metodu lze považovat zároveň i jako kondenzační, jelikož dochází, při vysoké teplotě elektrického oblouku, k vypařování kovu elektrod, které se následně po styku s okolím ochlazují a kondenzují za vzniku koloidních částic.

Poněvadž dispergačními metodami málo kdy získáme částice pod 1 mikrometr, mají pro koloidního chemika mnohem větší význam metody kondenzační.¹⁷

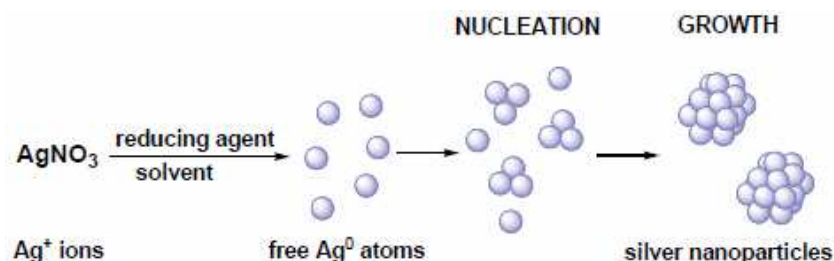
2.7.2 Kondenzační metody

Jak již bylo výše zmíněno, při kondenzačních metodách se, na základě vhodného fyzikálně-chemického zásahu, vychází z analytických disperzí směrem nahoru ke koloidním disperzím.⁹ Předpokladem vzniku koloidní soustavy s vysokým stupněm disperzity kondenzačním mechanismem je v prvním kroku vznik dostatečně velkého počtu zárodků nové fáze v přesyceném roztoku a následně jejich dostatečná rychlost růstu, která je závislá na rychlosti difúze rozpouštěné látky.^{9,17} Dalším předpokladem nutným pro vznik stabilní nespojitě soustavy je přítomnost takových faktorů, které by zabraňovaly agregaci částic disperzního podílu.⁹ Aby vzniklo velké množství zárodků o koloidním rozměru, musí být jejich rychlost tvorby velká a rychlost růstu krystalických ploch pomalá.¹⁷ Potom na základě poměru rychlosti tvorby a rychlosti růstu zárodků bude ovlivněn stupeň disperzity soustavy. Aby tedy mohlo dojít k iniciaci tvorby zárodků, musí být roztok dostatečně přesycen, čehož lze dosáhnout změnou buď fyzikálních nebo chemických podmínek.

Fyzikální metody jsou založeny nejen na změně teploty a tlaku v soustavě, ale zejména na změně složení rozpouštědla. Látka, která má být převedena do koloidní formy, je rozpouštěna ve vhodném rozpouštědle. Následně je do tohoto přesyceného

roztoku přidána další kapalina, v níž je převáděná látka nerozpustná, a vznikají koloidní částice.⁹

Avšak daleko častějším způsobem přípravy koloidních soustav kondenzačním mechanismem jsou chemické reakce, které spočívají v redukci stříbrné soli (obr. č. 1). Podstatou chemických postupů je, že na základě vyvolání přesycení vhodně zvolenou chemickou reakcí, lze převést původně rozpustnou látku na látku nerozpustnou v daném prostředí.^{11,16} K tomu se využívají zejména srážecí reakce, kdy lze připravit např. koloid AgI.¹¹ Procesy vzniku disperzních soustav prostřednictvím chemických reakcí jsou značně rozšířeny v přírodě a zejména pak v rozmanitých technologických oblastech (např. hydrolýza solí při čištění odpadních vod).¹⁶ Při přípravě koloidních disperzí kovů je nejtýpější redukce jak organickými, tak anorganickými činidly a v dnešní době pak rozvíjející se syntéza rostlinnými extrakty.



Obr. 1 Mechanismus vzniku nanočástic stříbra chemickou redukcí soli AgNO_3 ⁷

2.8 Syntéza nanočástic stříbra

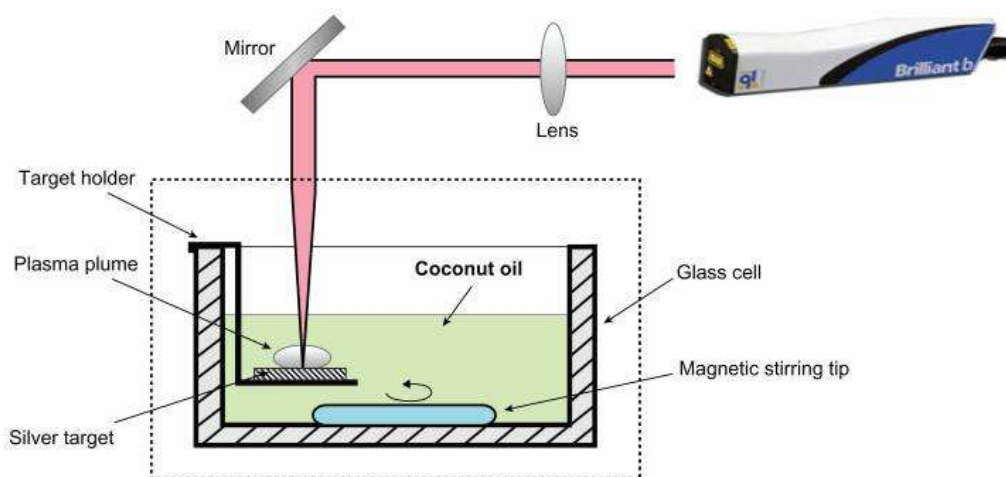
V současné době se výzkumu nanomateriálů věnuje značná pozornost. Středem zájmu jsou jak materiály na bázi uhlíku (fullerény, grafeny, uhlíkové nanotrubičky), tak i zejména nanočástice kovů.

Stříbro fascinuje nejen něžné ženské pohlaví jako módní doplněk, ale v dnešní době uchvátilo zejména vědce, díky jeho novým vynikajícím vlastnostem, kterými oplývají v koloidních rozměrech. Vlastnosti koloidního stříbra závisí zejména na jeho velikosti, tvaru a struktuře. Proto, aby tedy koloidní stříbro splňovalo očekávané požadavky, je nutné najít tu nejvhodnější cestu jeho přípravy.

2.8.1 Pulzní laserová ablace

Jak už bylo uvedeno, laserová ablace (fragmentace, rozměňování) je dispergační metoda, kdy dochází k interakci vysoce energetického paprsku fokusovaného na povrch pevné fáze a k následnému odtrhávání částic koloidních rozměrů. Ve srovnání se syntetickými metodami je laserová ablace časově nenáročná, jednoduchá a použitelná pro přípravu jak nanočástic různých kovů, přes jejich oxidy až po organické látky a polovodiče.¹⁸ Výhodou této techniky je, že nevyžaduje použití žádných toxických látek a jejich prekurzorů, a proto je považována za bezpečnou a environmentálně akceptovatelnou.¹⁹ Nanočástice kovů připraveny touto metodou jsou označovány jako chemicky čisté, a proto jsou vhodné jako nosiče při detekci molekul povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie. Výsledná velikost připravených částic laserovou ablací může být řízena jak vlnovou délkou použitého laseru, tak dobou a intenzitou ozařování, typem použitého ablačního media a případně i přidávkem surfaktantů.²⁰ Prostředím, ve kterém je uložen vzorek v ablační cele, může být jak rozpouštědlo, tak plyn nebo vakuum. Největší pozornost je však věnována laserové ablaci s použitím rozpouštědla, díky právě jeho možnosti solvatace (rozmělněné částice stříbra jsou obaleny ionty rozpouštědla) na povrch koloidních částic, a možnosti tak ovlivňovat jejich velikost a stabilitu.¹⁹ Rozpouštědlo kromě chemických reakcí, jako je oxidace či redukce, poskytuje upevnění a ochlazování daného materiálu v ablační cele.¹⁸ Tsuji a kol.¹⁸ na základě svých pozorování ukazují, že nanočástice získané v roztoku polyvinylpyrrolidonu (PVP) byly mnohem stabilnější než nanočástice připravené v čisté vodě. Jelikož je PVP typickým polymerem, který se ve značné míře používá jako stabilizační činidlo kovových nanočástic, tak je i v tomto případě schopný zabraňovat nově vzniklým částicím proti shlukování a má vliv na jejich velikost.^{18,19} Naopak Zamiri a kol.¹⁹ ponořili stříbrnou desku do panenského kokosového oleje, kterou následně ozařovali pulzním Nd:YAG laserem (Yttrium Aluminium Granát dopovaný ionty neodymu), pro nějž je typická vlnová délka 1064 nm (obr. č. 2). Olej, jako přírodní sloučenina, obsahuje triglyceridy, které mají polární karboxylové skupiny schopné se navázat na nanočástice stříbra a nepolární uhlíkaté řetězce schopné bránit tyto částice proti shlukování (tzv. sterická stabilizace). Ablace byla prováděna při pokojové teplotě, při třech různých ablačních časech a stříbrná deska byla ponořena 4 mm pod hladinu oleje. Z pozorování bylo zjištěno, že velikost vzniklých nanočástic je

ovlivněna dobou působení záření na materiál. Při ablačních časech 15, 30 a 45 min vznikaly nanočástice stříbra o velikostech 6,33 nm, 5,18 nm a 4,84 nm. Jinde zase, Šmejkal a kol.²¹, použili jako ablační medium vodný roztok amoniaku. Amoniak má schopnost solvatovat elektrony na povrch pevné částice za vzniku stabilního $(e^-)NH_3$ solvátu, který je viditelný pouhým okem i při velmi nízkých koncentracích, díky jeho intenzivně modrému zbarvení. Zde však nedospěli k nijak překvapivým výsledkům, které by se značně lišily od laserové ablace v čisté vodě. Nanočástice stříbra se postupně rozpouštěly a tvořily bezbarvé komplexní sloučeniny s ligandy amoniaku (s volným elektronovým párem na dusíku).

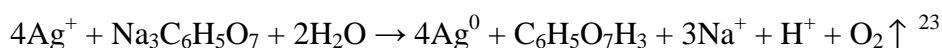


Obr. 2 Schématické znázornění laserové ablace v kapalném (olejovém) prostředí¹⁹

2.8.2 Redukce organickými látkami

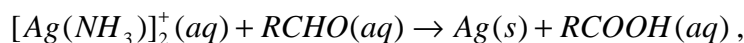
Přípravu koloidních roztoků stříbra redukcí stříbrných solí organickými činidly, kdy se vychází z analytických roztoků, řadíme mezi kondenzační mechanismy. Z hlediska aplikace je srážení z analytických roztoků nejvýhodnější cestou díky možnostem přípravy široké škály koloidních roztoků o různých velikostech a tvarech přítomných částic. Na základě zvoleného prekurzoru stříbrných iontů, redukčního činidla, případně stabilizátorů a dále pak na základě změny experimentálních podmínek, jako je teplota a pH, lze řídit velikost, tvar a morfologii vznikajících částic.²²

První, často používanou metodou přípravy koloidního roztoku stříbra, která určitě stojí za zmínku, je metoda podle Lee a Meseila. Spočívá v redukcí dusičnanu stříbrného citrátem sodným, neboli citrátem trisodným ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$). K vařicímu vodnému roztoku dusičnanu stříbrného (AgNO_3) je přidán 1% roztok citrátu sodného a dále je tato směs po dobu jedné hodiny udržována na bodu varu.²³ Na základě spektroskopických měření takto připraveného koloidního roztoku stříbra Munro a kol.²⁴ zjistili, že k redukcí stříbrného iontu Ag^+ dochází již během dvou minut po přidavku citrátu sodného a vzniklé částice jsou polydisperzní o velikostech 60 – 80 nm. Avšak po 90 minutách následného zahřívání roztoku se zjistilo, že částice jsou poměrně monodisperzní o velikostech přibližně 27 nm. Tan a kol.²⁵ také využili citrát sodný k redukcí síranu stříbrného (Ag_2SO_4) za přítomnosti anilinu. Anilin je snadno rozpustný ve vodě, proto se jednoduše koordinuje k iontům stříbra a může tak ovlivňovat výslednou velikost a morfologii nanočástic stříbra. Výsledky ukazují, že takto připravené nanočástice stříbra jsou poměrně velké (35 – 100 nm), polydisperzní a vyskytují se mezi nimi i agregáty. Na snímcích z transmisního elektronového mikroskopu (TEM) byly pozorovány jak nanočástice, tak nanotyčinky a bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací anilinu rostla velikost částic a klesal počet tyčinek. Výše uvedené způsoby přípravy nanočástic stříbra podle Lee a Meisela jsou založeny na reakčním mechanismu, který popisuje rovnice:



Další velmi často používanou metodou je tzv. Tollensův proces. Tato metoda je využívána desítky let při neelektrolytickém nanášení stříbrného zrcátka tím, že se

vytváří tenká vrstva stříbra na pevném povrchu. Jakmile dojde ke smíchání všech reakčních komponent, začne se během pár minut na stěnách skleněné nádoby tvořit lesklé zrcátko. Na základě spektroskopického měření a z TEM snímků bylo zjištěno, že roztok, respektive usazená vrstva stříbra, obsahuje černé mikrometrové agregáty stříbra s nepravidelnou strukturou povrchu. Navíc, když se sníží koncentrace reakčních složek a zároveň se roztok vloží na několik minut do ultrazvukové lázně, lze získat stabilnější nanočástice stříbra o velikostech v rozmezí 20 – 50 nm.²⁶ Jedná se pak o tzv. modifikovaný Tollensův proces, který spočívá v redukcí komplexu diaminstříbrného kationtu $[Ag(NH_3)_2]^+$ redukčními sacharidy (např. glukosa, maltosa).²⁷ Schéma základní Tollensovy rovnice vypadá následovně:



kde RCHO mohou být jak aldehydy, tak sacharidy.²⁸ Na základě silné afinity amoniaku vůči Ag^+ lze velmi snadno, během jediného syntetického kroku, řídit na základě změny koncentrace amoniaku výslednou velikost nanočástic stříbra.²⁷ Kvítek a kol.²⁹ zkoumali vliv změny koncentrace amoniaku prostřednictvím modifikovaného Tollensova procesu, kdy se jako redukující cukr používala glukosa. Na základě svých studií zjistili, že s klesající koncentrací amoniaku klesá i průměrná velikost částic a při nejnižší koncentraci, 0.005 M, byla průměrná velikost částic okolo 57 nm s polohou absorpčního maxima při 420 nm. Panáček a kol.³⁰ sledovali vliv redukujících cukrů prostřednictvím modifikovaného Tollensova procesu. K redukcí $[Ag(NH_3)_2]^+$ použili dva monosacharidy, glukosu a galaktosu, a dva disacharidy, laktosu a maltosu. Syntéza byla provedena při různých koncentracích amoniaku (0.005 – 0.20 M) a při různých hodnotách pH (11.5 – 13.0), přičemž výsledná velikost nanočástic stříbra se pohybovala v rozsahu od 25 do 450 nm. Jak už tušili z předešlých studií, se vzrůstající koncentrací amoniaku rostla průměrná velikost částic, která dosahovala maxim při koncentraci amoniaku 0.035 M pro disacharidy a 0.20 M pro monosacharidy.

Další redukční činidlo, které stojí za zmínku, je kyselina askorbová ($C_6H_8O_6$). Suber et al.³¹ připravili redukcí kyseliny dusičné kyselinou askorbovou za přítomnosti stabilizačního činidla Daxad-19 (sodná sůl polynaftalen sulfonátu s formaldehydem) monodisperzní nanočástice stříbra různých tvarů. Na základě změny teploty, koncentrace kyseliny dusičné, množství redukující látky a délce zrání mohou být

získány jak izometrické částice (částice jsou ve všech třech rozměrech vyvinuty přibližně stejně), tak i částice různých tvarů, např. hexagonální.

2.8.3 Redukce anorganickými látkami

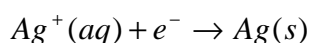
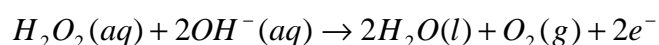
Mezi metodami, které využívají k redukci anorganické látky, se můžeme nejčastěji setkat s metodou podle Creightona, která spočívá v redukci dusičnanu stříbrného tetrahydridoboritanem sodným NaBH_4 .⁷ Creighton a kol.³² při přípravě koloidního roztoku stříbra postupovali tak, že ke 3 ml 0.002M ledem chlazeného vodného roztoku NaBH_4 přidali 1 ml 0.001M vodného roztoku AgNO_3 . Takto připravená směs byla intenzivně míchána, aby tak snadněji docházelo k tvorbě monodisperzních částic. Od tohoto postupu se pak odvíjí řada dalších modifikací, kdy se velikost částic a jejich tvar řídí na základě změny poměru reakčních složek.

Yang a kol.³³ se zabývali řízenou přípravou stříbrných nanodestiček ve tvaru trojúhelníku. Proces spočíval ve třech krocích, kdy nejprve připravili nanočástice stříbra redukcí AgNO_3 tetrahydridoboritanem sodným v přítomnosti citrátu sodného. Pak tyto citrátem stabilizované částice nechali po dobu 24 hodin dozrát a následně, po přidavku dodecylsulfátu sodného (SDS), dalších několik hodin nechali odležet. Nakonec byl k těmto SDS stabilizovaným nanočásticím přidán 0.01 M roztok chloridu sodného. Jakmile došlo ke kompletní přeměně sférických částic stříbra na trojúhelníkové destičky, byla tato konverze doprovázena změnou zabarvení roztoku ze žlutohnědé na modrou. Jak ukázaly snímky z transmisního elektronového mikroskopu, SDS stabilizované částice, před aktivací chloridem sodným, dosahovaly průměrné velikosti 9,6 nm s absorpčním maximem při vlnové délce 397 nm. Po tří týdenním zrání a rekrystalizaci byly pozorovány trojúhelníkové destičky s průměrnou délkou stran 65 nm a v absorpčním spektru sejevily tři charakteristické píky při vlnových délkách 330, 450 a 660 nm.

Leopold a kol.³⁴ představili velmi rychlou a jednoduchou metodu přípravy stabilních a vysoce SERS-aktivních nanočástic stříbra, která spočívá v redukci dusičnanu stříbrného hydroxylamin hydrochloridem za přítomnosti hydroxidu sodného při pokojové teplotě v zásaditém prostředí pH. Na základě změny pořadí reakčních složek a jejich vzájemnému koncentračnímu poměru lze velmi jednoduše ovládat velikost částic. Nejvíce monodisperzních částic získali redukcí 10 ml dusičnanu

stříbrného ($10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$) 90 ml hydroxylamin hydrochloridem ($1,67 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$) za přítomnosti hydroxidu sodného.

Nanočástice stříbra lze připravit také redukcí stříbrné soli peroxidem vodíku. Li a kol.³⁵ po kapkách přidávali vodný roztok dusičnanu stříbrného k peroxidu vodíku, který byl současně probubláván dusíkem. Po posledním přidavku AgNO_3 byla takto vzniklá směs dále ještě po dobu jedné hodiny probublávána a poté uskladněna v chladu. Tuto reakci popisuje níže uvedená rovnice:



Hlavní výhodou tohoto postupu redukce je, že se jako vedlejší produkty reakce tvoří kyslík a voda. Zatímco kyslík se snadno z roztoku uvolňuje do vzduchu, voda zůstává jako součást rozpouštědla. Na základě toho pak dochází k eliminaci nežádoucích produktů z reakčního systému a je tak možné získat čistší koloidní roztok stříbra. Jelikož peroxid vodíku vykazuje redukční účinky pouze v zásaditých prostředích, je nutné korigovat hodnotu pH prostřednictvím hydroxidu sodného. Při neoptimálnějších reakčních podmínkách vznikaly částice o průměrné velikosti 22 nm.

Sun a kol.³⁶ využili k redukcí jodidu stříbrného alkalický kov - sodík v přítomnosti kapalného amoniaku. K modifikaci povrchu nanočástic stříbra využili, v laboratoři vlastně připravený, pyridinium di-n-hexaoktyldithiofosfát (PyDDP). Na snímcích z transmisního elektronového mikroskopu byly pozorovány Ag-DDP částice o velikostech 20 nm. Naopak, v případě nemodifikovaných povrchů byly pozorovány agregáty částic dosahujících 100 nm.

2.8.4 Redukce rostlinnými extrakty

Nanočástice kovů jsou tradičně připravovány prostřednictvím tzv. „wet“ (roztokových) metod, kde se vychází z mnohdy často toxických a hořlavých sloučenin. Jelikož se neustále rozšiřují aplikační možnosti nanočástic stříbra a poptávka po nich roste, je proto zapotřebí vylepšovat jejich přípravu tak, aby byla zejména co nejšetrnější k životnímu prostředí a finančně nenáročná. Proto se v poslední době do popředí dostává syntéza stříbrných částic prostřednictvím rostlinných extraktů.³⁷

Veerasamy a kol.³⁷ představili jednoduchou a environmentálně akceptovatelnou biosyntézu nanočástic stříbra, kde k redukci stříbrných iontů využili extrakt z listů tropického a stále zeleného stromu mangostany lahodné. Čerstvé listy důkladně promyli v destilované vodě, nařezali na drobné kousky a nechali na vzduchu volně oschnout. Zhruba 25 g takto připraveného listu nechali ve 100 ml destilované vody přejít varem a získaný extrakt přefiltrovali. Redukce dusičnanu stříbrného rostlinným extraktem probíhala ve 75°C vodní lázni po dobu jedné hodiny. Na základě spektrofotometrických měření a snímků z transmisního elektronového mikroskopu byly objeveny nanočástice stříbra o velikostech 35 nm s absorpčním maximem při vlnové délce 438 nm. Takto získané částice byly při pokojové teplotě stabilní po dobu 30 dní.

Jinde zase Singh a kol.³⁸ využili k redukci stříbrných iontů extrakt z listů pleskanky mexické. Výtažek extraktu probíhal obdobně jako u výše zmíněné metody a redukce stříbrné soli pak probíhala po dobu 4 hodin při pokojové teplotě. Vzniklé částice se pohybovaly v rozsahu od 10 do 50 nm a byly pozorovatelné jak krychlové tak hexagonální tvary.

Posledním takovým kuriózním redukčním činidlem stříbrné soli, co by stálo za zmínku, je Jainem a kol.³⁹ použitý extrakt z nedozrálé papayi. Stejným způsobem, jen s mírně pozměněnými reakčními podmínkami, byly připraveny nanočástice stříbra o průměrné velikosti 15 nm.

2.9 Aplikace nanočástic stříbra

Nanočástice stříbra mají unikátní vlastnosti oproti makroskopickým materiálům. S klesajícím rozměrem hmoty se výrazně mění jejich fyzikálně-chemické vlastnosti a na fázovém rozhraní mezi nanočásticí a disperzním prostředím vznikají nové fyzikální jevy. Jelikož s klesajícím rozměrem částice roste poměr atomů na povrchu vůči atomům v objemu, uplatňují se zde povrchové jevy. Velké plochy povrchu nanočástic lze využít při heterogenní katalýze, adsorpci či při zkoumání biologické aktivity těchto částic. Na základě změněné vnitřní struktury materiálu mají vynikající vodivostní a optické vlastnosti, čehož se využívá např. při povrchem zesílené Ramanově spektroskopii nebo v elektronice, jako jsou optické paměťové čipy.

2.9.1 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS)

Objev povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie má velký význam pro vědní disciplíny zabývající se měřítkem v řádech několika nanometrů či pro fyzikální obor jako je spektroskopie, díky její extrémně vysoké citlivosti a širokému rozsahu možných aplikací v elektrochemii, biologii nebo při analýzách různých chemických struktur.⁴⁰ Jedná se tedy o rychlou, citlivou a nedestruktivní spektroskopickou techniku, která slouží k identifikaci různých iontů a molekul, jež jsou naadsorbovány na zdrsňeném povrchu kovů nebo které leží v blízkosti tohoto kovového materiálu. Obrovskou výhodou této aplikace je potřeba pouze malého množství vzorku, což nahrává na další přínos a tím je přímá analýza a široké pole uplatnění. U SERS, na rozdíl od fluorescenční spektroskopie, kde je vzorek přiváděn jednorázově, je možnost kontinuálního přívodu vzorku přímo pod laserový paprsek.^{35,41} Dále SERS oplývá vysokou rozlišovací schopností. Dokáže od sebe velmi dobře oddělit úzké pásy se šířkou 0,1 nm oproti fluorescenci, kde se dosahuje nejmenších šířek pásů okolo 10-50 nm.⁴²

Od doby Fleischmannova objevu, kdy jako první v roce 1974 provedl úspěšný pokus o zesílení Ramanova signálu pyridinu naadsorbovaného na elektrochemicky zdrsňeném povrchu stříbrné elektrody, mu je v patách mnoho vědců bádajících po základních podstatách této techniky a její aplikace v nanotechnologii či stopové analýze. Avšak ne méně známí badatelé Nie, Kneipp a kol. si zaslouží obrovskou poklonu za největší pokrok v této oblasti, což je detekce jednotlivých molekul naadsorbovaných na částicích koloidního stříbra, kdy je možné dosáhnout faktoru zesílení až 10^{14} - 10^{15} . Nie a jeho spolupracovníci dospěli také k závěru, že zesílení Ramanova signálu závisí nejen na velikosti nanočástic, ale i na jejich aktivaci.⁴⁰ Dále pak zesílení signálu závisí na morfologii a fyzikálních vlastnostech těchto substrátů. Ideální substrát musí poskytovat reprodukovatelné výsledky, musí být dostatečně dlouho stabilní a také jeho příprava by měla být snadná a rychlá. Za posledních 30 let byly připraveny různé typy aktivních materiálů z kovů či jejich sloučenin. Mezi ně patří právě koloidní disperze stříbra díky jejich snadné přípravě a řízené velikosti a tvaru stříbrných nanočástic. A výhodou je také možnost plynulého obnovování povrchu tím, že se koloidní roztok přivádí přímo pod excitační laserový paprsek.³⁵ Kromě hojně využívaného stříbra se dobrými nosiči osvědčily i další kovy (např. Cu, Li, Na, K, Al

nebo In). Pro účely SERS je nejčastěji používané koloidní stříbro připravováno buď redukcí dusičnanu stříbrného citronanem sodným (tzv. Lee-Meislovou metodou) nebo podle Creightona redukcí dusičnanu stříbrného tetrahydridoboritanem sodným.³⁴ Existuje řada dalších SERS-aktivních substrátů. Prvně používanými byly zdrsňené kovové elektrody či koloidy kovů. Mezi tyto pevné substráty patří například ostrůvkový film, což je tenký stříbrný film (7,5-10 nm), který se pomocí tepelného vypařování nanáší přímo na čistý nezdrsňený nevodivý nosič, kterým může být například sklo. Takto rozptýlená vrstva stříbra, tvořící samostatné ostrůvky, právě vede ke vzniku zdrsňeného kovového povrchu, který je tak nezbytný pro SERS efekt. Tento typ substrátu je velice snadný na přípravu a potlačuje nevítaný signál pozadí, avšak i přes tato pozitiva to není dostatečné. Proto byl vyvinut další typ substrátu, který spočívá na nánosu vrstvy nanočástic kovu na skleněný či křemenný nosič pomocí vakuového odpařování, která je pak dále pokryta spojitou kovovou vrstvou stříbra. Tloušťka této stříbrné vrstvy se pohybuje mezi 50-100 nm.⁴¹

Rozlišují se dva typy mechanismů zesílení: elektromagnetický - dlouhého rozsahu (EM) a chemický - krátkého rozsahu (CHEM). Elektromagnetický mechanismus, který má velký podíl na celkovém faktoru zesílení Ramanova signálu, je způsoben zesíleným elektromagnetickým polem tvořeným při optickém buzení povrchových plazmonů (povrchové plazmony jsou elektrony na povrchu kovů, které hromadně oscilují po excitaci). Chemický mechanismus zesílení je založen na interakci mezi molekulami naadsorbovanými na určitých místech zdrsňeného povrchu, např. atomového klastru, a dále pak na přenosu náboje mezi analytem a kovovým povrchem adsorbentu.^{40,43} Pokud dojde ke vhodnému navázání adsorbátu na adsorbent, můžeme dosáhnout faktoru zesílení většího jak 10 000.⁴⁴ Aby se snáz dosáhlo takového zesílení Ramanova rozptylu, aktivují se nanočástice kovů např. halogenovými či citrátovými ionty. S důvody, proč právě tyto anionty poskytují nárůst intenzity signálu, nejsou vědci doposud přesně obeznámeni. Avšak existují tři poznatky, kterými je možno přiblížit pohled na tuto problematiku. První vysvětlení plyne z působícího elektromagnetického pole kolem vzniklých agregátů nanočástic kovů. Již výše zmíněný Nie a jeho kolektiv uvedli, že když se do koloidního roztoku stříbra přidají chloridové ionty, pak je možné detekovat jednotlivé molekuly rhodaminu 6G (R6G), díky ohromnému elektromagnetickému poli vyskytujícímu se okolo vzniklých agregátů nanočástic stříbra

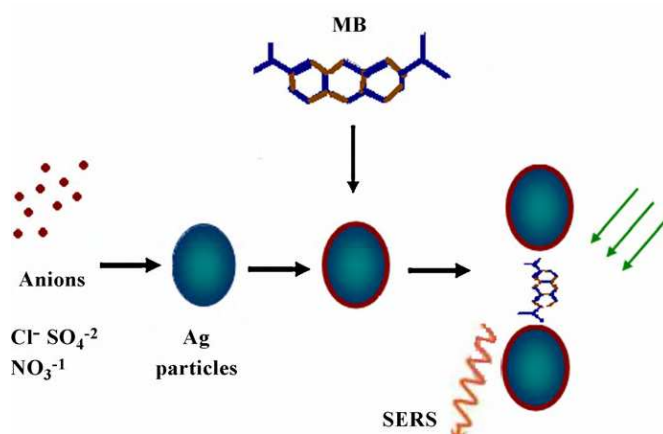
po přidavku chloridů. Další pohled na tuto problematiku je odvozen od přenosu náboje mezi kovem a naadsorbovanými molekulami. Do třetice nám přiblížil tuto záležitost badatel Grochala a kol., který uvedl, že nárůst intenzity po přidavku chloridových iontů nemůže být vysvětlován z hlediska přenosu náboje nebo efektu aktivního místa, který je způsoben termodynamicky nestabilní atomární nerovností, ale připisuje to reorientaci molekul barviva vyvolanou aniontem, nebo rezonanci molekul způsobenou silným vlivem koadsorbovaných chloridových iontů na elektronové hladině barviva.⁴⁵

Tato ultracitlivá spektroskopická technika založena na úrovni jednotlivých částic nabízí nový pohled na optické a elektrické vlastnosti nanomateriálů. Mnoho studií se zabývá vyšetřováním závislosti mezi excitační vlnovou délkou použitého laseru a velikostí částic. V jednom z pokusů se sledoval vliv velikosti částic na zesílení Ramanova signálu a dospělo se k závěru, že maximálního zesílení signálu lze dosáhnout pouze na nanočásticích určité velikosti a to jen při vhodné excitační vlnové délce. Tyto nanočástice jsou pak označovány jako „hot particles“. Například pro excitační vlnovou délku 488 nm poskytují největší zesílení Ramanova signálu nanočástice o velikosti 70 ± 6 nm, dále pak pro částice o průměrné velikosti 190-200 nm je nejvhodnější excitační vlnová délka laseru 647 nm. Při pozorování, které částice poskytují maximální faktor zesílení ve spojení s vhodnou excitační vlnovou délkou použitého laseru pohybující se v ultrafialové až blízké infračervené oblasti, se dospělo k závěru, že s rostoucí vlnovou délkou lineárně roste i potřebná velikost SERS-aktivních částic, a proto se nám pak nabízí možnost pozorovat rozptyl o extrémně malém příčném řezu 10^{-30} až 10^{-25} cm² na molekulu. Aby se dosáhlo přiměřené rychlosti konverze excitačních fotonů na Ramanovy fotony, tak pro malý Ramanův příčný řez se vyžaduje velký počet molekul analytu. Toto chování se však neprojevuje u agregátů či objemných materiálů v důsledku jejich různé velikosti, tvaru či povrchových nerovností.^{46,47}

I když Ramanova spektroskopie má velký potenciál využití do budoucnosti, v současné době je zatím jedinou cestou, jak detekovat jednotlivé molekuly a zároveň kontinuálně prozkoumávat jejich chemickou strukturu.⁴⁷ Objev povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie měl obrovský vliv jak na základní tak aplikovaný výzkum. Nebyl to jen prvotní impuls pro studium zesílení optického rozptylu na fázovém rozhraní, ale také nám otevřel bránu do nového oboru povrchem zesílené spektroskopie, která dále zahrnuje například povrchem zesílenou rezonanční Ramanovu

spektroskopii (SERRS), povrchem zesílenou infračervenou Ramanovu spektroskopii (SEIRS) či hrotem zesílenou Ramanovu spektroskopii (TERS). Kromě toho lze tuto techniku využít jako ultracitlivou sondu, která se uplatňuje při diagnóze *in situ* (tzn., že analyt se vyskytuje na svém původním místě a tam je zkoumán) či pro zkoumání detailní struktury a orientaci molekul na povrchu nanočástic kovů, čehož se dá široce využít jak v biologii, elektrochemii tak při katalýze.⁴⁸ Další vyhlídkou do budoucnosti této techniky je vícesložková analýza.⁴²

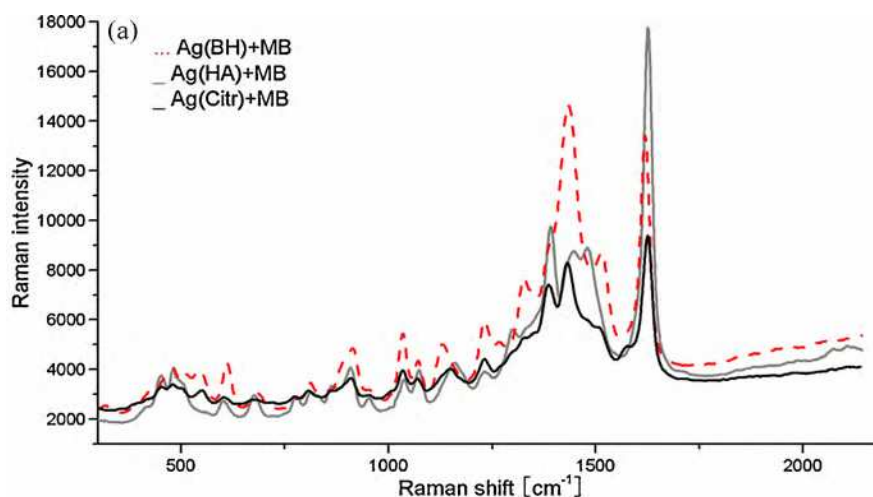
Dong a kol.⁴⁹ sledovali vliv třech různých redukčních činidel (hydroxylamin hydrochlorid, tetrahydridoboritan sodný, citrát sodný) a třech různých agregačních činidel (chlorid sodný, síran sodný, dusičnan sodný) na výslednou velikost nanočástic stříbra a dále sledovali, jak takto připravené částice, použity jako substráty v Ramanově spektroskopii, poskytují zesílení signálu. Ve všech případech byl použit jako modelový analyt methylenová modř (MB). Jak znázorňuje obr. č. 3, nejprve bylo ke koloidnímu roztoku stříbra přidáno agregační činidlo a nakonec až MB.



Obr. 3 Schématické znázornění aktivace nanočástic stříbra

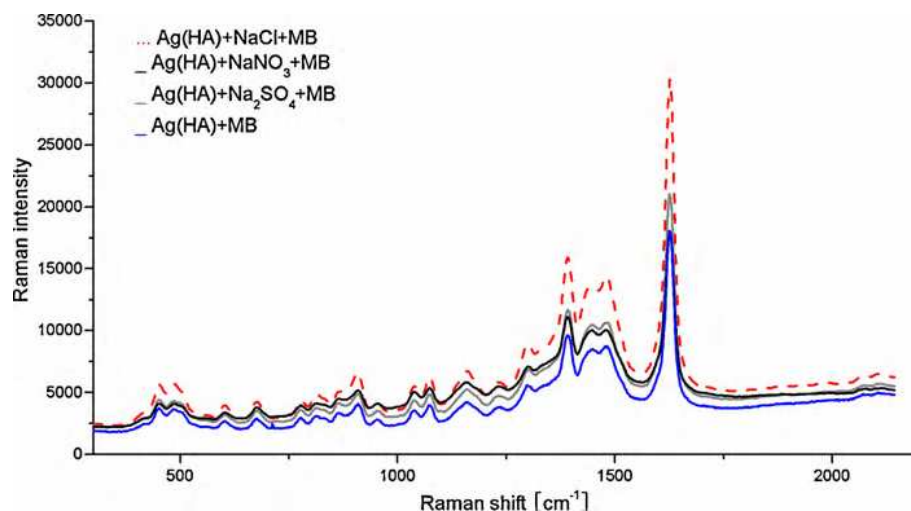
V prvním případě, kdy byl u všech třech různých koloidních roztoků sledován vliv chloridových iontů na zesílení Ramanova signálu methylenové modře, byla pozorována tři charakteristická SERS spektra (obr. č. 4). Nejslabší spektrum methylenové modře (výsledná koncentrace 0.0025 mM) bylo pozorováno v případě nanočástic stříbra redukováných citrátem sodným. Naopak při redukci stříbrných solí tetrahydridoboritanem sodným byl, na rozdíl od zbylých dvou koloidních roztoků, pozorován neobvykle silný pík při 1434 cm^{-1} . Lišící se spektra souvisí s různou

orientací naadsorbovaných MB molekul na površích nanočástic stříbra jednotlivých koloidních roztoků.



Obr. 4 SERS spektra methylenové modře v přítomnosti tetrahydridboritanem, hydroxylaminem a citrátem redukováných nanočástic stříbra aktivovaných chloridovými ionty

V případě, kdy byl sledován vliv třech různých agregačních činidel (NaCl, NaNO₃, Na₂SO₄) na nanočástice stříbra redukováných hydroxylamin hydrochloridem, bylo pozorováno SERS spektrum se značně silnější odezvou než v předešlém případě, avšak polohy maxim nebyly nijak ovlivněny (obr. č. 5). Přídavek aktivačních iontů a MB k primárním částicím stříbra je doprovázen změnou náboje na jejich površích a usnadňuje tak jejich následnou agregaci. Agregáty pak poskytují na styčných bodech mezi jednotlivými částicemi tzv. „hot spots“, kde je pozorována nejvyšší hodnota zesílení Ramanova signálu. V uvedeném spektru lze vidět, že jasně nejvyššího zesílení bylo dosaženo při aktivaci nanočástic stříbra chloridovými ionty. Nutno podotknout, že u všech experimentů byl použit argonový laser s excitační vlnovou délkou 514,5 nm.



Obr. 5 SERS spektrum MB v přítomnosti nanočástic stříbra redukováných hydroxylaminem a SERS spektra MB v přítomnosti hydroxylaminem redukováných nanočástic stříbra aktivovaných chloridovými, dusičnanovými a sírovými anionty

2.9.2 Antibakteriální účinky koloidního stříbra

Od dob vzniku antibiotik (Alexander Fleming, objevitel penicilinu, NC 1945) se stále objevují nové kmeny patogenů v lidském organismu, které jsou vůči antibiotikům velmi odolné, dokáží s nimi bojovat a snižují tak jejich antimikrobiální účinky. Proto vědci neváhali a pustili se do vývoje nových efektivních antimikrobiálních činidel, které by byly dostatečně odolné, ekologičtější a nezatěžovaly by tolik lidský organismus. Na základě mnohaletého bádání bylo zjištěno, že těmito vhodnými kandidáty na místo antibiotik se hodí, díky jejich vynikajícím vlastnostem a nízké cytotoxicitě vůči lidským buňkám, právě nanočástice stříbra.⁵⁰ Antibakteriální účinky stříbra jsou známy již ze starověku (nádoby na vodu) a od konce 20. století se koloidní stříbro, jakožto inhibitor vůči infekcím, hojně uplatňuje v moderních vědách, zejména v medicíně např. při léčbě popálenin.^{50,51}

Iontové stříbro (Ag^+) potlačuje růst bakterií již od velmi nízkých koncentrací (~35 ppb), avšak při jeho nadměrném užívání může dojít k tzv. argyrii, což je výraz pro otravu stříbrem projevující se šedavým zbarvením kůže.⁵¹ Mechanismus inhibice stříbrnými kationty spočívá v jejich navázání na záporně nabitou buněčnou stěnu

bakterií. Dojde k deaktivaci buněčných enzymů, přerušení membránové permeability (propustnosti) a nakonec až k rozpadu buňky.

Koloidní stříbro s vynikajícími fyzikálně-chemickými vlastnostmi, zejména katalytickými účinky, je výrazně reaktivní a má velmi dobré toxické účinky vůči různým patogenům.⁵² Studie ukázaly, že antibakteriální účinky nanočástic stříbra závisí jak na jejich velikosti, tak na jejich tvaru.⁵¹ Výhodou malých částic (<10nm) je, že mohou proniknout skrz buněčnou membránu, nahromadit se uvnitř buňky a porušit tak jejich patogenní funkčnost.⁵²

V současné době mají antibakteriální účinky koloidního stříbra široké spektrum uplatnění. Jednou z hlavních oblastí je již zmíněná medicína, kde se s koloidním stříbrem můžeme setkat jak v hygienických rouškách, tak chirurgických nástrojích a endoprotézách. Dále se pak uplatňuje při čištění vod a vzduchu, v potravinářství, kosmetice, textilním odvětví a v řadě domácích produktů.⁵³

3. Experimentální část

3.1 Chemikálie

Dusičnan stříbrný (p.a., Tamsa), amoniak (vodný roztok 25%, p.a., Lachema), hydroxid sodný (p.a., Lachema), D(+)-maltosa monohydrát (p.a., Riedel-de Haën), chlorid/bromid/jodid sodný (p.a., Sigma-Aldrich), adenin (Sigma-Aldrich, minimum 99%). Veškeré zde uvedené chemikálie byly použity bez dalšího čištění.

3.2 Experimentální vybavení

Velikost částic stříbra byla sledována přístrojem pracujícím na dynamickém rozptylu světla (DLS) - Zeta Potential Analyzer Zeta Plus (Brookhaven Instruments Corporation, USA). UV/Vis absorpční spektra disperze nanočástic stříbra byla zaznamenávána spektrofotometrem Specord S 600 (Analytik Jena AG, Německo). Velikost a morfologie částic byla ověřena pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM) na přístroji JEM 2010 (Jeol, Japonsko) s urychlovacím napětím 160 kV. Ramanova spektra byla pořízena FT-IR spektrometrem (Nicolet FT-IR 6700, USA) s argonovým laserem vlnové délky v blízké infračervené oblasti spektra 1064 nm (NIR) a germaniovým detektorem chlazeným dusíkem. Dále byly Ramanovy experimenty prováděny při excitaci argonovým laserem ve viditelné oblasti spektra (488 nm) na přístroji Jobin-Yvon T 64 000 (Jobin-Yvon, Francie), který byl vybaven CCD detektorem chlazeným kapalným dusíkem.

3.3 Pracovní postupy

3.3.1 Příprava a aktivace nanočástic stříbra

Nanočástice stříbra o průměrné velikosti 28 nm byly připraveny redukcí amoniakálního komplexu stříbrných iontů $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ maltosou. Postup přípravy byl následující: v litrové kádince byly smíchány předem připravené zásobní roztoky reakčních komponent o definovaných objemech a daných koncentracích v následujícím

pořadí - 160 ml $5 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹ AgNO₃, 40 ml 0,1 mol.l⁻¹ NH₃, 408 ml destilované vody a 32 ml 0,24 mol.l⁻¹ NaOH. K intenzivně míchané takto připravené směsi bylo přidáno 160 ml vodného roztoku maltosy o koncentraci 0,05 mol.l⁻¹. Reakce byla přibližně po 3 - 4 minutách ukončena a takto vzniklý žlutohnědý koloidní roztok byl uchováván v tmavé zásobní láhvi pro použití v následujících experimentech bez jakýchkoliv dalších úprav. Reakce byla provedena v netemperovaném prostředí při laboratorní teplotě (20 °C).

Takto připravené nanočástice stříbra prostřednictvím redukce amoniakálního komplexu stříbrných iontů maltosou sloužily jako primární částice pro další krok, a to následnou aktivaci. Jako aktivační činidlo v této následné fázi sloužil zejména chlorid sodný, dále pak pro porovnání mechanismu růstu stříbrných krystalů bromid a jodid sodný o stejných výsledných koncentracích.

Prvotní typ experimentu týkající se aktivace primárních nanočástic stříbra spočíval v následujícím pracovním postupu: do eppendorfky bylo napipetováno 0.2 ml zásobního roztoku nanočástic stříbra o koncentraci 10^{-3} mol.l⁻¹ připraveného postupem uvedeným výše. Následně bylo do eppendorfky přidáno 0.7 ml destilované vody a 0.1 ml 4 M vodného roztoku chloridu sodného (případně bromidu či jodidu sodného) tak, aby byl výsledný objem 1 ml. Po přidavku chloridových iontů (případně bromidových či jodidových) bylo okamžitě s touto naředěnou disperzí nanočástic stříbra důkladně zařepáno. Výsledná koncentrace aktivačního činidla v reakčním systému pak byla 400 mM.

3.3.2 Sledování dlouhodobé stability primárních nanočástic stříbra

Z hlediska dalších aplikací a zejména pak při využití v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii je velmi důležitá dlouhodobá časová stabilita nanočástic stříbra. Tento parametr byl sledován po dobu téměř 600 dní na základě měření průměrné velikosti částic a dále pak na základě měření UV/Vis absorpčních spekter. Velikost nanočástic stříbra byla měřena na přístroji, který pracuje na dynamickém rozptylu světla (DLS). Každou minutu byla zaznamenána velikost a následně na konci měření zprůměrována. UV/Vis absorpční spektra disperse nanočástic stříbra byla měřena v plastových kyvetách. Záznam rozložení úrovní spektra byl prováděn u desetkrát zředěného koloidního roztoku, kdy bylo do kyvety napipetováno 0.2 ml zásobního roztoku stříbra a 1,8 ml destilované vody tak, aby byl výsledný objem v kyvetě 2 ml.

Absorpční spektra byla měřena proti čisté destilované vodě v rozsahu vlnových délek 350 – 700 nm. Kyvety používané během měření byly čištěny ve zředěné kyselině dusičné v poměru 1:1.

3.3.3 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra

Průběh aktivace stříbrných nanočástic halogenidovými ionty byl sledován na základě měření průměrné velikosti částic metodou DLS a zaznamenávání UV/Vis absorpčních spekter. V obou případech byl postup následující: 0.2 ml zásobního roztoku nanočástic stříbra bylo naředěno 0.7 ml destilované vody a následně přidáno 0.1 ml 4 M vodného roztoku chloridu (případně bromidu či jodidu) sodného tak, aby byl výsledný objem 1 ml a tím výsledná koncentrace halogenidových iontů v reakčním systému 400 mM. Okamžitě, po přidavku halogenidových iontů k vodné disperzi nanočástic stříbra, bylo s reakční směsí zatřepáno a během pár vteřin spuštěno měření. V případě měření průměrné velikosti aktivovaných částic metodou DLS byla po dobu 20 minut každou minutu zprůměrována hodnota velikosti částic a zaznamenána. Naopak při sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra pomocí UV/Vis absorpční spektroskopie probíhala analýza po dobu 30 minut a každých 20 sekund bylo zaznamenáno spektrum.

Jako přímá metoda pozorování průběhu změny velikosti a tvaru nanočástic stříbra po přidavku halogenidových iontů byla zvolena transmisní elektronová mikroskopie. Příprava vzorků probíhala stejně jako u výše zmíněných metod DLS a UV/Vis absorpční spektroskopie. Avšak v okamžiku po přidavku aktivačního činidla k vodné disperzi nanočástic stříbra byly spuštěny stopky a v časech 30 sekund, 2 minuty a 15 minut byly odebrány vzorky z reakční směsi. Ve všech případech byl odebraný vzorek naředěn desetinásobným množstvím destilované vody za účelem pozastavení probíhající reakce a teprve pak nanesen na měděnou síťku pokrytou uhlíkovou vrstvou.

3.3.4 SERS experimenty

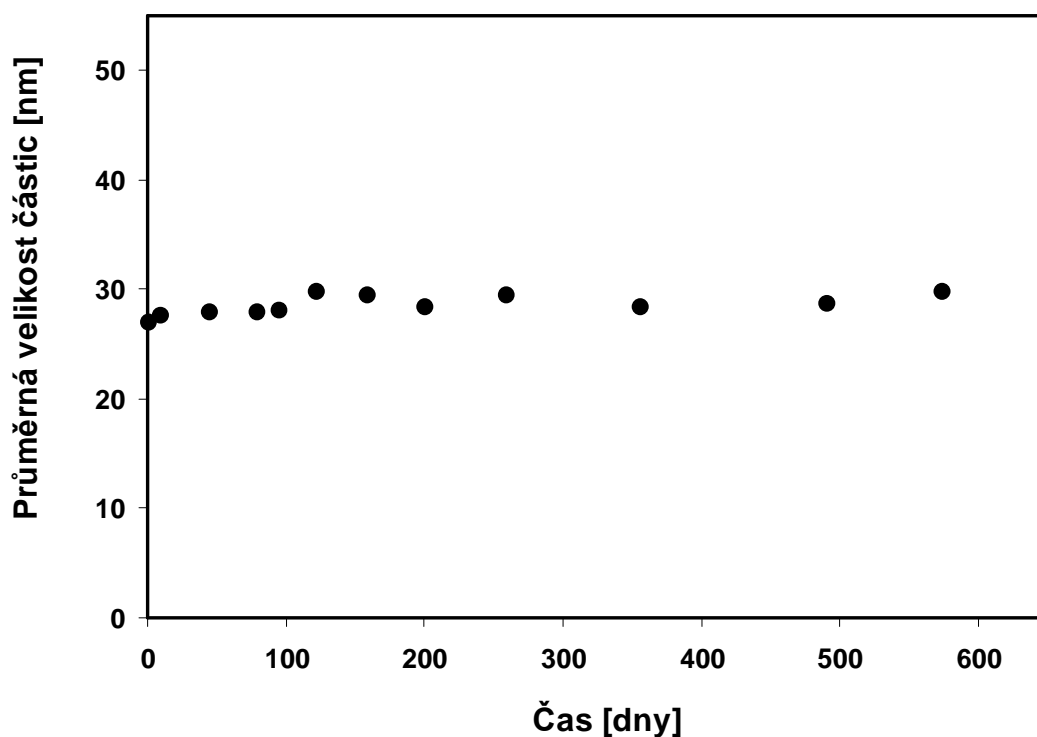
Dále byl sledován vliv takto aktivovaných nanočástic stříbra chloridovými ionty (400 mM) na intenzitu signálu v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii. Měření bylo prováděno při dvou různých excitačních vlnových délkách (1064 nm a 488 nm). Jako modelový analyt byl v obou případech zvolen adenin. Příprava vzorku k měření byla obdobná, jako u výše zmíněných metod pozorování. 0.2 ml zásobního roztoku nanočástic stříbra bylo naředěno 0.7 ml destilované vody. Následně k této vodné disperzi nanočástic stříbra bylo přidáno 0.1 ml 4 M chloridu sodného a důkladně s touto reakční směsí zatřepáno. Nakonec bylo k těmto zaktivovaným nanočásticím stříbra pro různé vlnové délky použitého laserového záření (1064 nm a 488 nm) přidáno různé množství $10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ adeninu (výsledné koncentrace $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ a $5 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$) a znovu byla směs důkladně promíchána.

4. Výsledky a diskuze

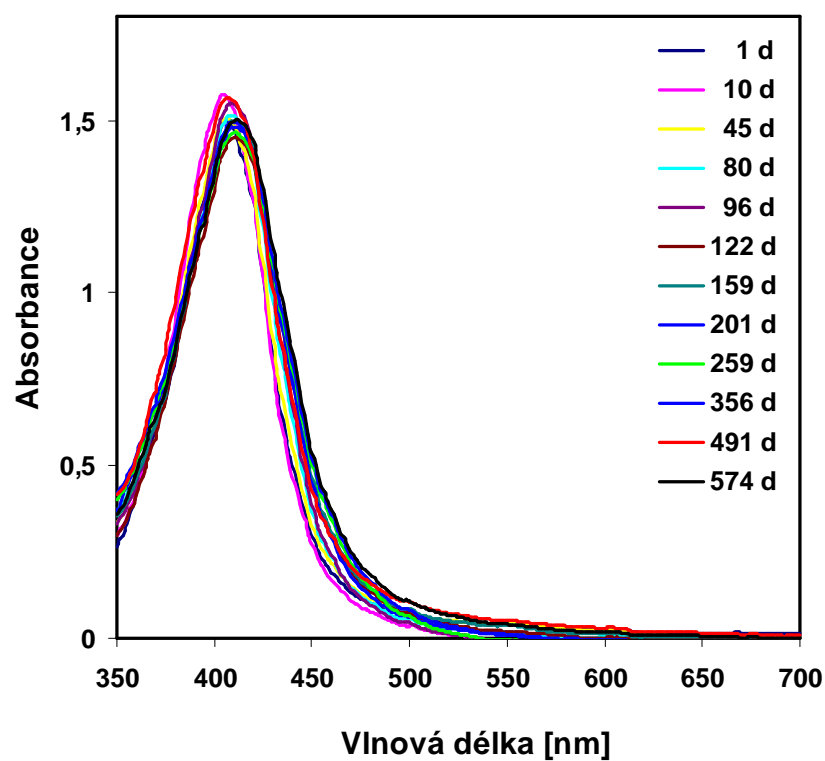
4.1 Sledování dlouhodobé stability primárních nanočástic stříbra

Tabulka 2. Průměrné velikosti nanočástic stříbra (10^{-3} mol.l⁻¹) ode dne jejich přípravy

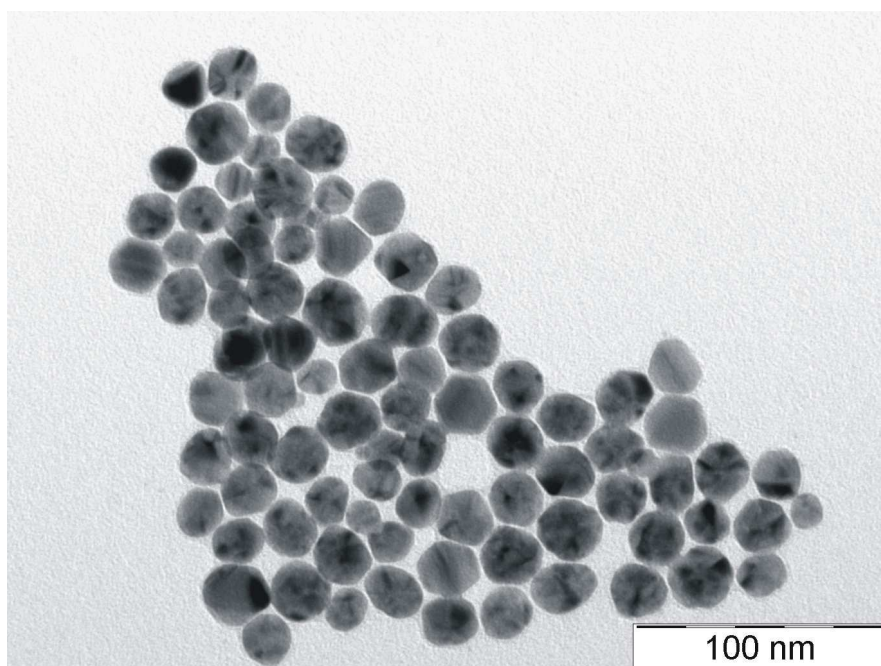
Čas [dny]	Vel. částic [nm]
1	27,0
10	27,6
45	27,9
80	27,9
96	28,0
122	29,7
159	29,4
201	28,4
259	29,5
356	28,4
491	28,7
574	29,7



Graf 1. Závislost průměrné velikosti nanočástic stříbra zásobního roztoku na čase ode dne jejich přípravy při sledování časové stability v průběhu téměř 600 dní



Graf 2. Souhrn absorpčních spekter zásobního roztoku nanočástic stříbra (desetinásobně naředěný destilovanou vodou) v průběhu téměř 600 dní. Legenda popisuje uplynulé dny ode dne přípravy koloidního roztoku stříbra



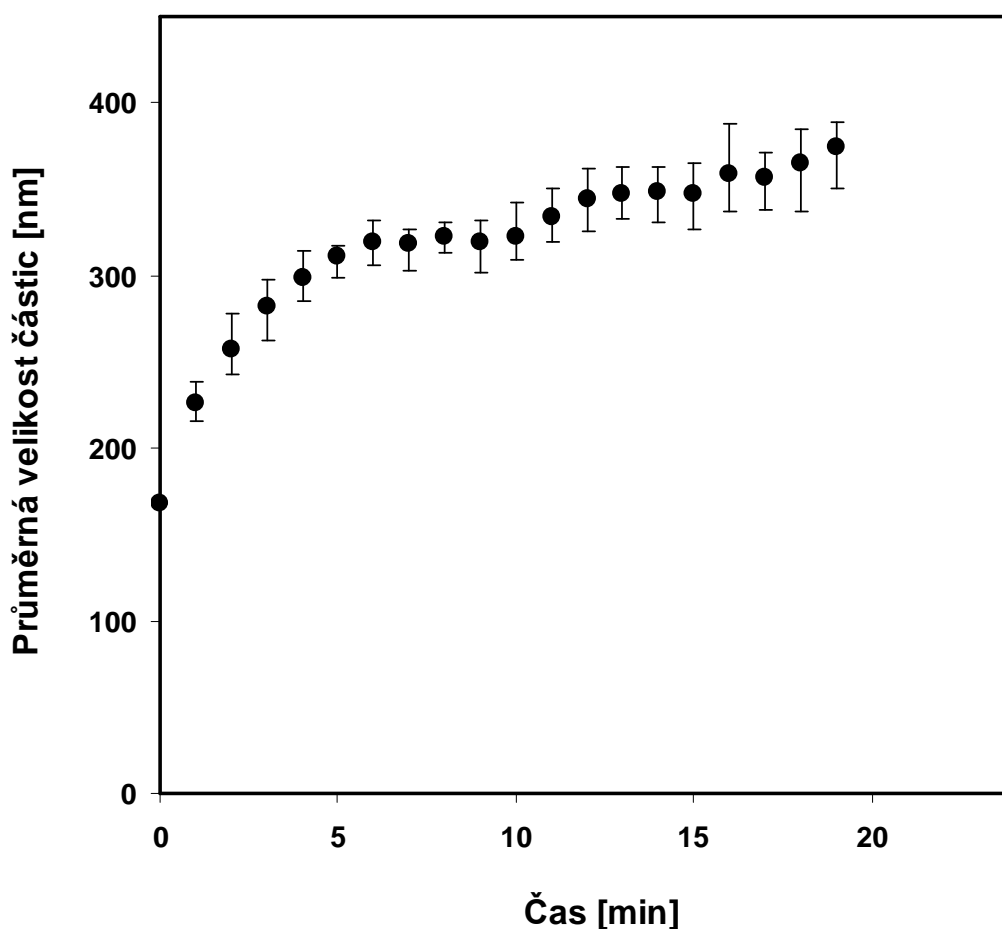
Obr. 6 TEM snímek primárních nanočástic stříbra. Metodou DLS byla stanovena průměrná velikost částic na 28 nm

Prvním krokem pro další využití a aplikace nanočástic stříbra, zejména pak v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii, je velmi důležitá stabilita připravených nanočástic stříbra. Proto byla dlouhodobá časová stabilita zásobního roztoku nanočástic stříbra o koncentraci $10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ sledována na základě pravidelných měření průměrné velikosti částic (metodou DLS) a absorpčních spekter. Jak je patrné z grafu č. 1, velikost nanočástic stříbra zůstávala po dobu téměř 600 dní, v rámci experimentální chyby, konstantní a lze tedy říct, že nanočástice připravené uvedenou metodou jsou dlouhodobě stabilní.

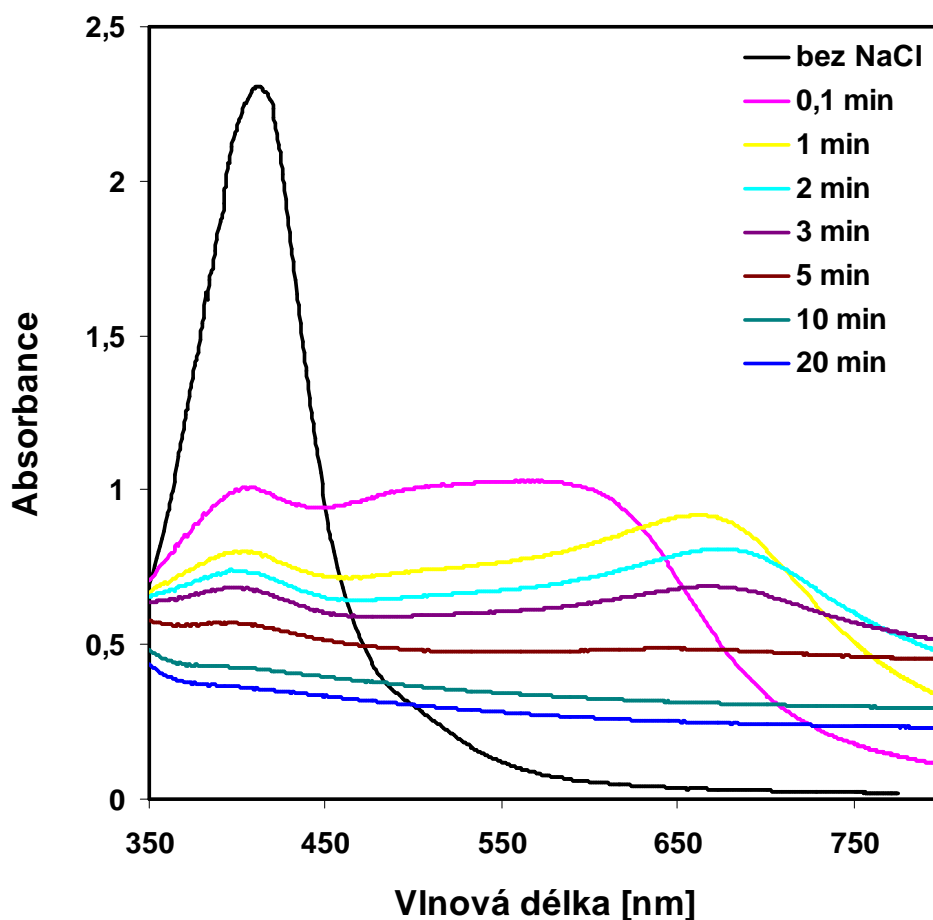
Tento fakt byl současně potvrzován zaznamenanými absorpčními spektry u desetkrát zředěného zásobního roztoku nanočástic stříbra (graf č. 2), kde po celou dobu pravidelných měření nedocházelo ke značným změnám průběhu spektra. Dále byly tyto téměř monodisperzní částice charakterizovány pomocí transmisní elektronové mikroskopie (obr. č. 6), které potvrdily velikost částic stříbra.

4.2 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra chloridovými ionty

Nanočástice stříbra o rozměrech okolo 28 nm jsou sice stabilní po dobu několika měsíců až let bez jakýchkoliv známek agregace a to i bez přidaných stabilizujících činidel, nýbrž však tyto malé částice samy o sobě bez dalších úprav neposkytují žádoucí zesílení v Ramanově spektroskopii. Proto je v tomto případě nutná aktivace primárních částic. Mezi běžně používaná aktivační činidla nanočástic stříbra patří halogenidové ionty, zejména pak chloridy.



Graf 3. Průběh změny průměrné velikosti nanočástic stříbra po přidavku chloridových iontů o výsledné koncentraci 400 mM. Chybové úsečky představují rozmezí hodnot, které byly získány během 12 nezávislých měření změny průměrné velikosti částic po přidavku NaCl v průběhu jednoho roku

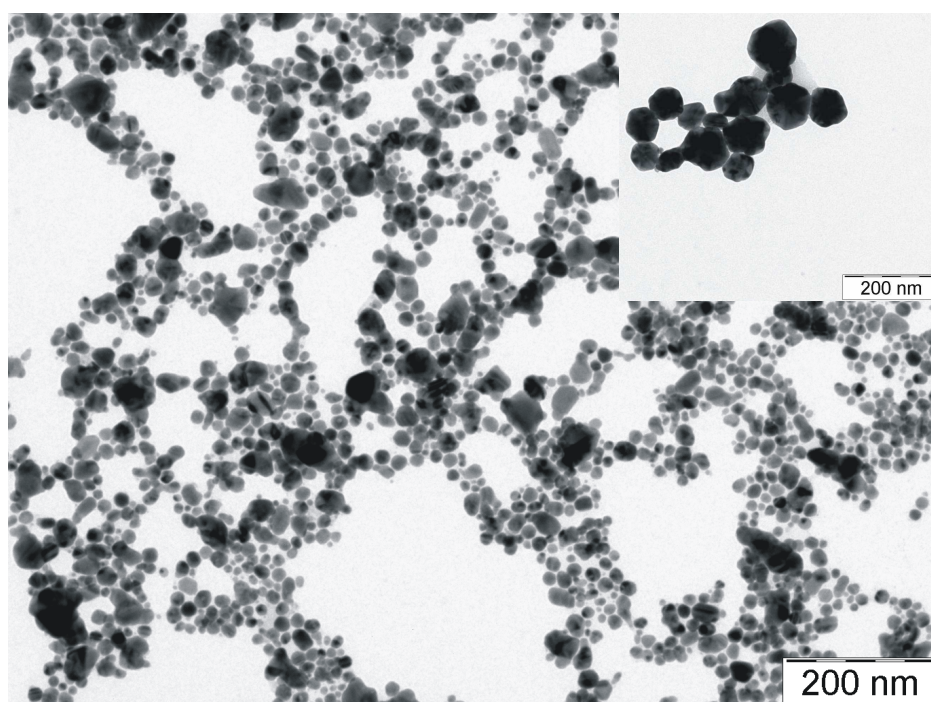


Graf 4. Souhrn absorpčních spekter nanočástic stříbra po přidavku chloridových iontů o výsledné koncentraci 400 mM. Legenda popisuje uplynulý čas od přidavku chloridových iontů

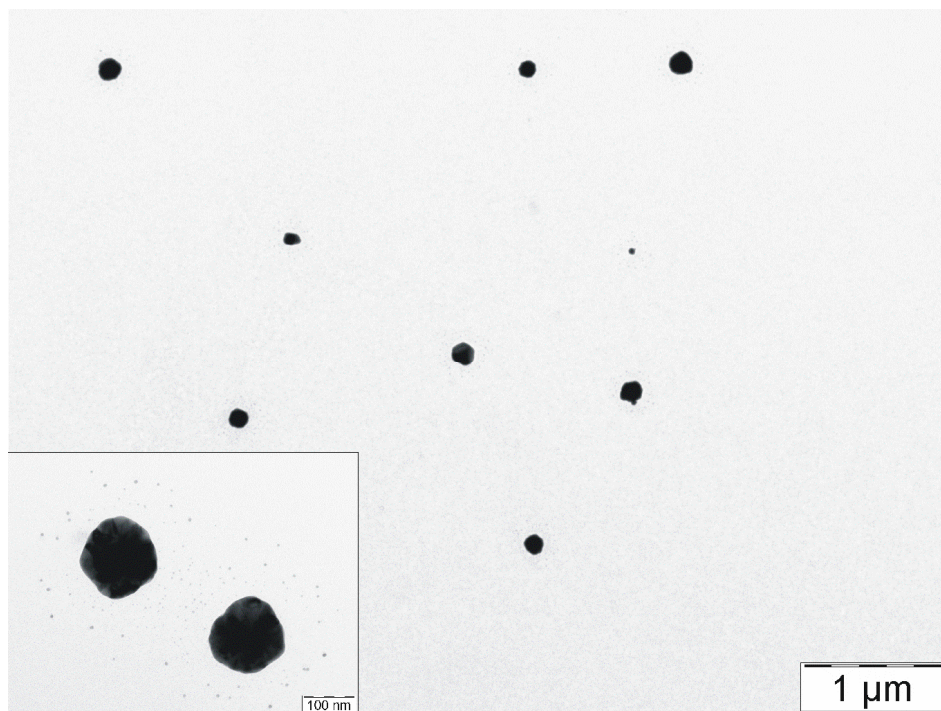
Proces aktivace nanočástic stříbra vysoce koncentrovaným vodným roztokem chloridu sodného byl sledován na základě měření průměrné velikosti částic metodou DLS a zaznamenávání UV/Vis absorpčních spekter. Z grafu č. 3 je patrné, že během 20 minut po přidavku Cl^- o výsledné koncentraci 400 mM došlo k obrovskému nárůstu velikosti částic z původních 28 nm až na téměř 400 nm. Ze začátku průběh závislosti průměrné velikosti částic prudce vzrostl a ke konci se už velikost měnila jen málo. Tento fakt byl následně potvrzen naměřenými absorpčními spektry, jak je vidět v grafu č. 4. Pík s absorpčním maximem při 410 nm je typický pro primární částice o velikostech okolo 28 nm bez přidaných chloridových iontů. Okamžitě po přidavku chloridových iontů k vodné disperzi nanočástic stříbra byl zaznamenán obrovský pokles

absorpčního maxima, který je typický pro ty původní částice a zároveň se v ten samý okamžik objevil druhý pík s absorpčním maximem při 570 nm. S časem roste velikost aktivovaných částic, tím je absorpční maximum původních částic (28 nm) potlačováno a druhý pík, typický pro narůstající částice, se neustále posouvá k delším vlnovým délkám. Po 20 minutách má spektrum naprosto plochý průběh bez jakéhokoliv výrazného maxima, což odpovídá zcela rekrystalizovaným částicím o rozměrech okolo 400 nm. Celý tento průběh rekrystalizace primárních částic stříbra byl doprovázen výraznou změnou zbarvení reakčního systému ze žluté na šedou.

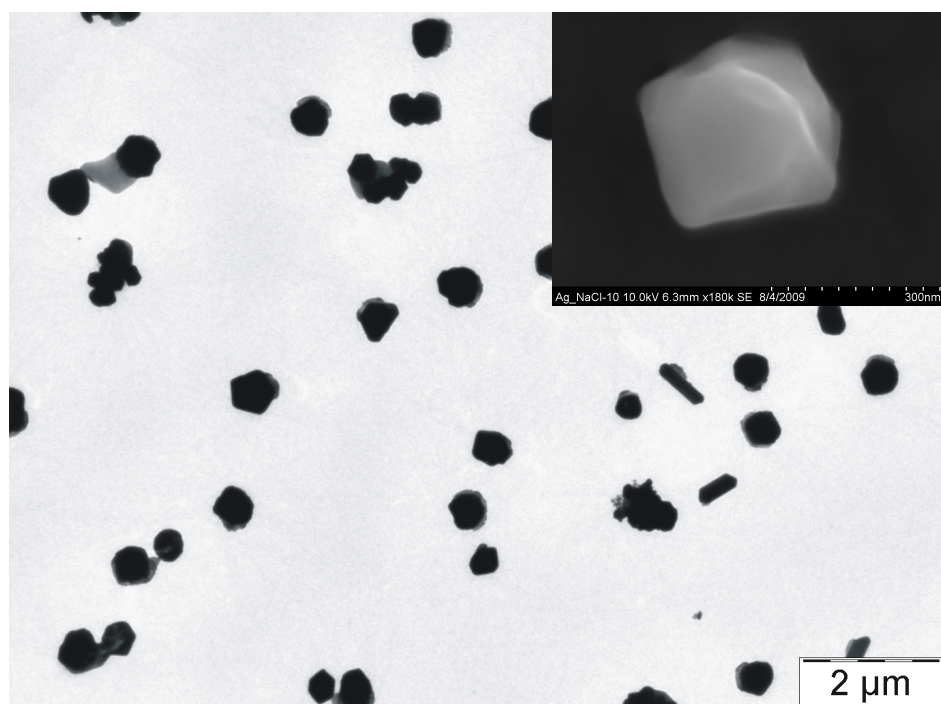
Dále byla velikost a morfologie částic aktivovaných chloridovými ionty (400 mM) studována pomocí TEM snímků. Po přidavku chloridových iontů byly z reakční směsi odebrány vzorky v časech 30 sekund, 2 minuty a 15 minut.



Obr. 7 TEM snímek nanočástic stříbra po 30 sekundách od aktivace chloridovými ionty o výsledné koncentraci 400 mM



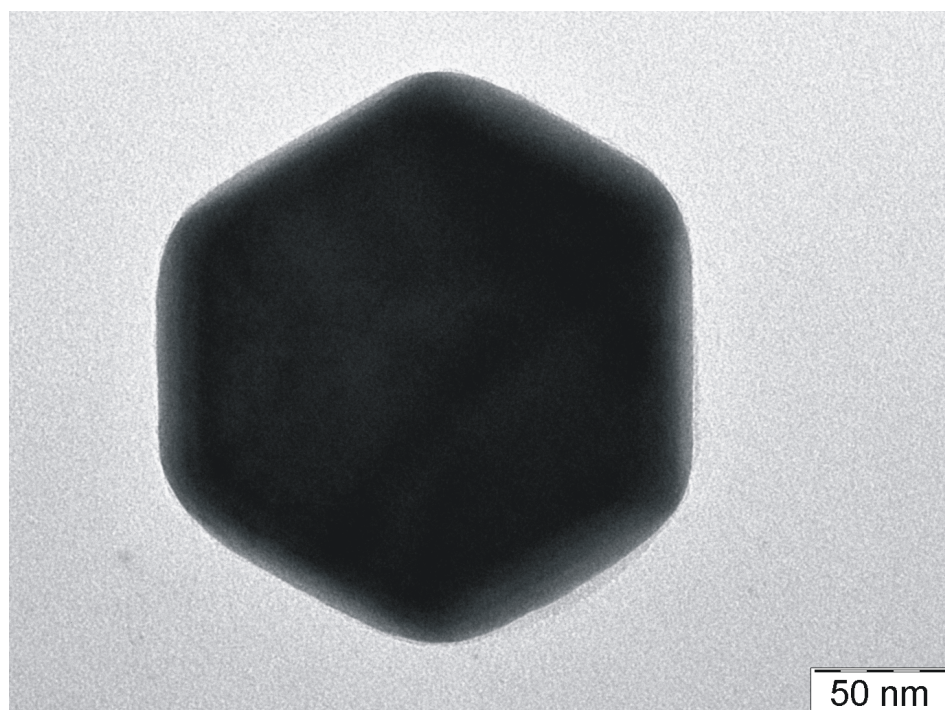
Obr. 8 TEM snímek nanočástic stříbra po 2 minutách od aktivace chloridovými ionty o výsledné koncentraci 400 mM



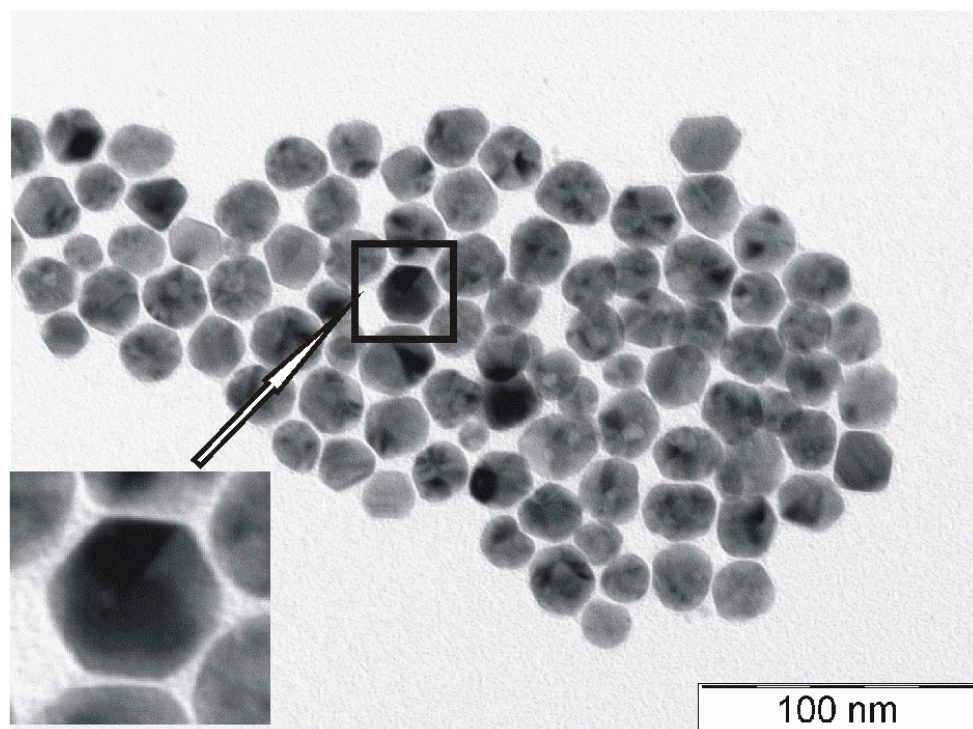
Obr. 9 TEM snímek nanočástic stříbra po 15 minutách od aktivace chloridovými ionty o výsledné koncentraci 400 mM

Na obr. č. 6 jsou vidět čistě primární nanočástice stříbra bez jakýchkoliv dalších úprav. Po 30 sekundách aktivace chloridovými ionty (400 mM) bylo na TEM snímcích pozorováno značné množství nanočástic stříbra o velikostech menších jak 25 nm (~90%) (obr. č. 7). Avšak zbylých zhruba 10% částic dosahovalo rozměrů 50 – 100 nm (vložený obrázek v obr. č. 7). Tento současný výskyt, jak malých, tak větších nanočástic stříbra je značným důkazem počátku rekrystalizačního mechanismu růstu krystalů. Na obr. č. 8, kde jsou elektronovým mikroskopem zachyceny částice po 2 minutách od jejich aktivace chloridovými ionty, pozorujeme velikosti okolo 150 nm a částice menší jak 25 nm se již zde nevyskytují. Zatím co po 15 minutách od aktivace byly pozorovány již rekrystalizované částice dosahující velikostí až 400 nm (obr. č. 9), malé částice, případně jejich agregáty, se zde žádné nevyskytovaly.

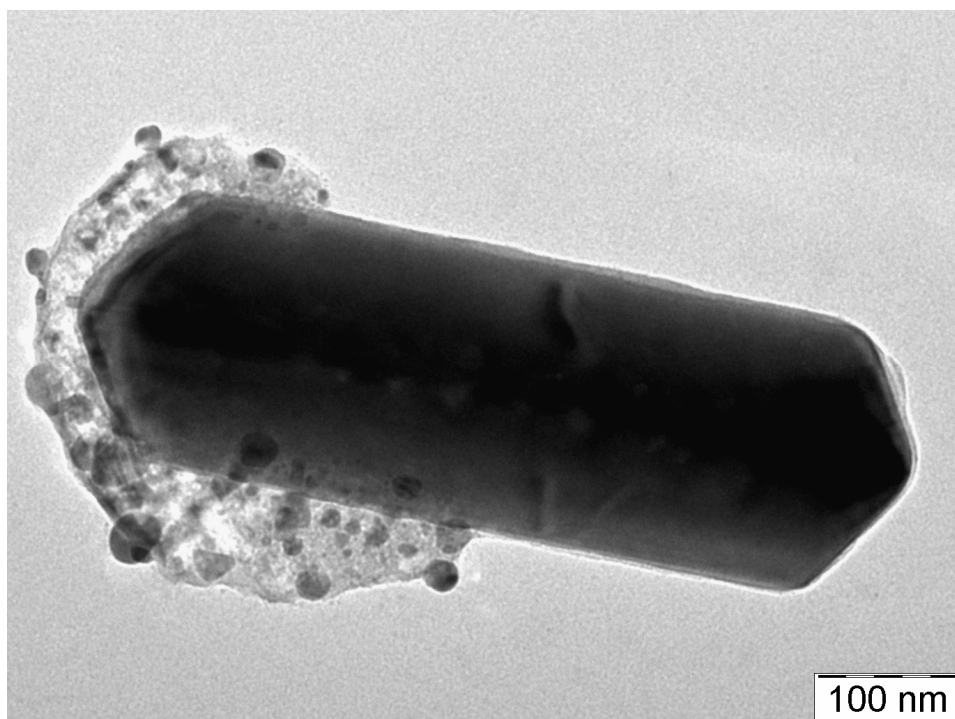
Dále zde byly po 15 minutách od aktivace chloridovými ionty pozorovány částice (20%) o velmi dobře definovaných tvarech jako jsou šestiúhelník, tyčinka a trojúhelník (obr. č. 10, 12 a 14). Tyto rozmanité tvary rekrystalizovaných částic pravděpodobně souvisí s tvary primárních částic (28 nm), které se takto vyskytovaly již v původní vodné disperzi nanočástic stříbra (obr. č. 11, 13 a 15).



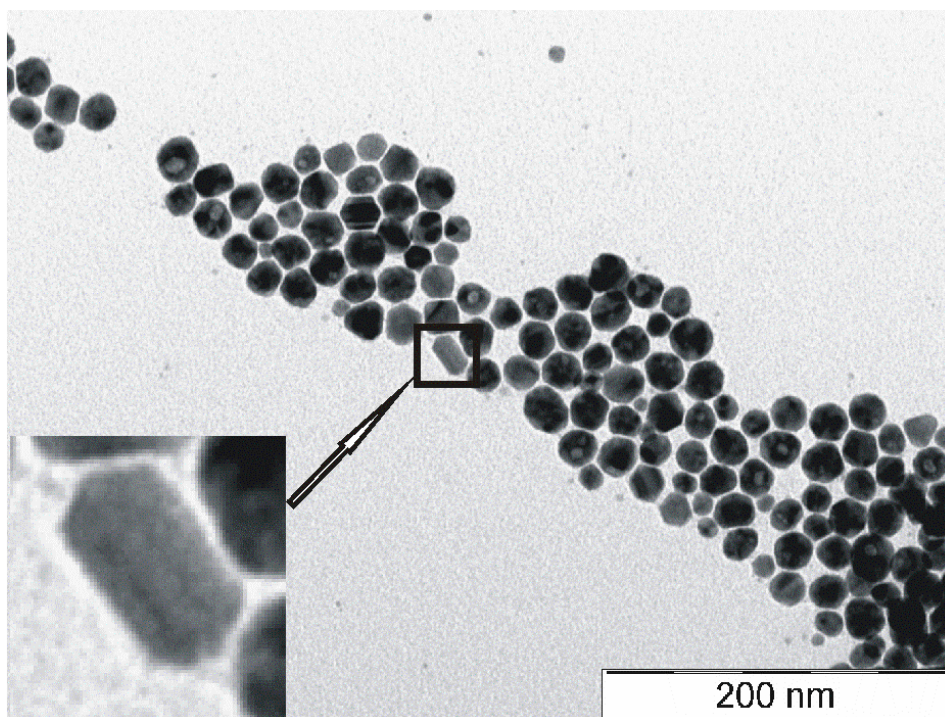
Obr. 10 TEM snímek rekrystalizovaných nanočástic stříbra po 15 minutách od aktivace chloridovými ionty (400 mM) ve tvaru šestiúhelníku



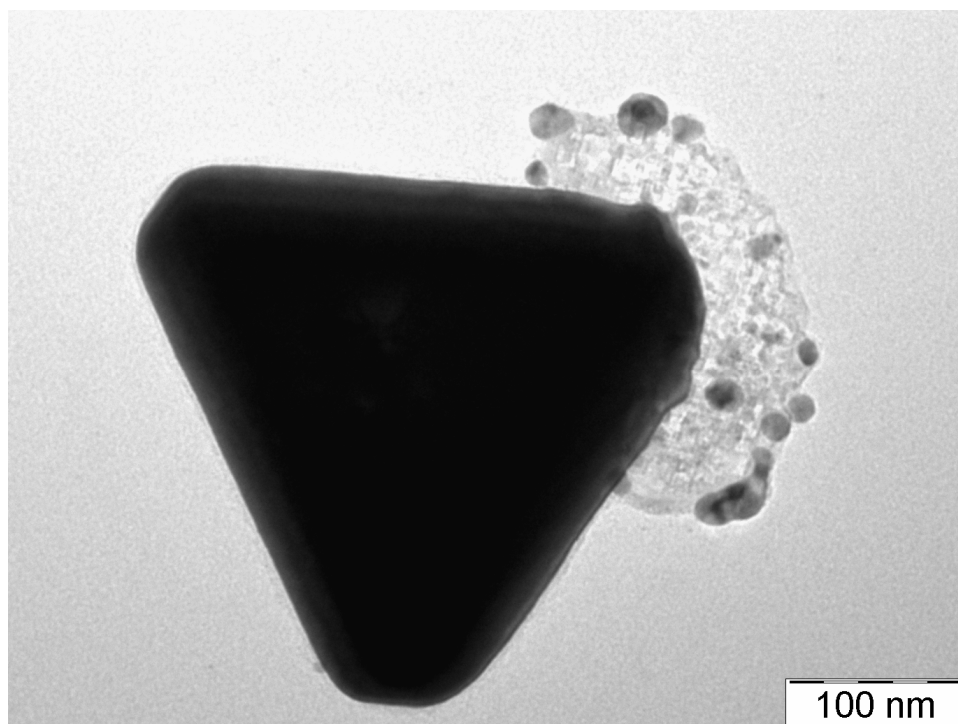
Obr. 11 TEM snímek primárních nanočástic stříbra (28 nm) ve tvaru šestiúhelníku vyskytující se již v původní disperzi nanočástic stříbra



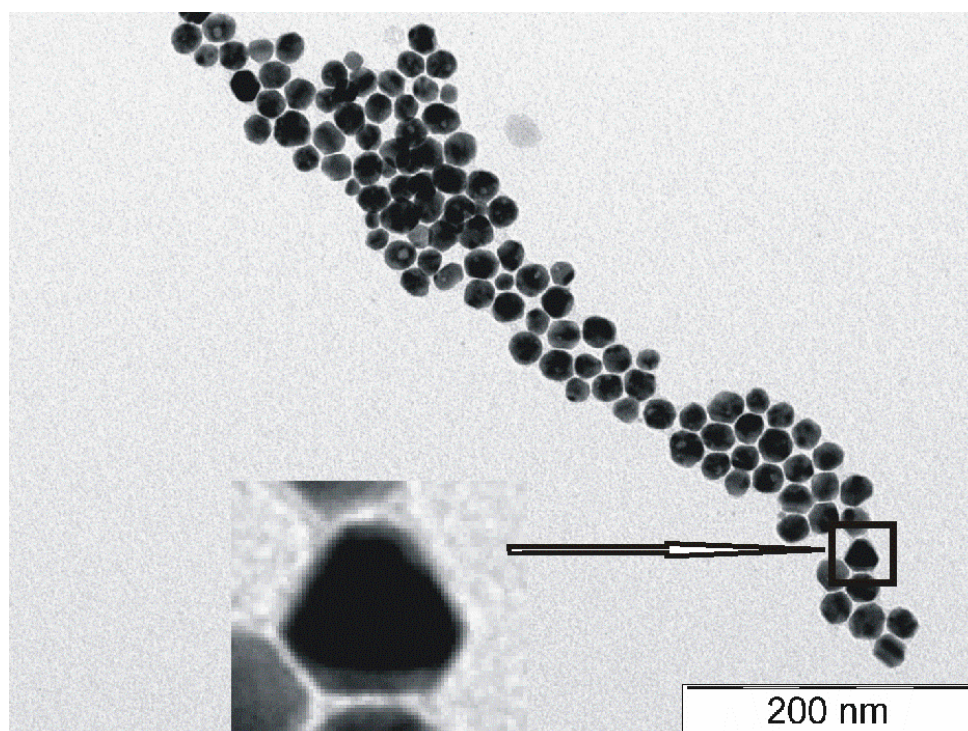
Obr. 12 TEM snímek rekrystalizovaných nanočástic stříbra po 15 minutách od aktivace chloridovými ionty (400 mM) ve tvaru tyčinky



Obr. 13 TEM snímek primárních nanočástic stříbra (28 nm) ve tvaru tyčinky vyskytující se již v původní disperzi nanočástic stříbra



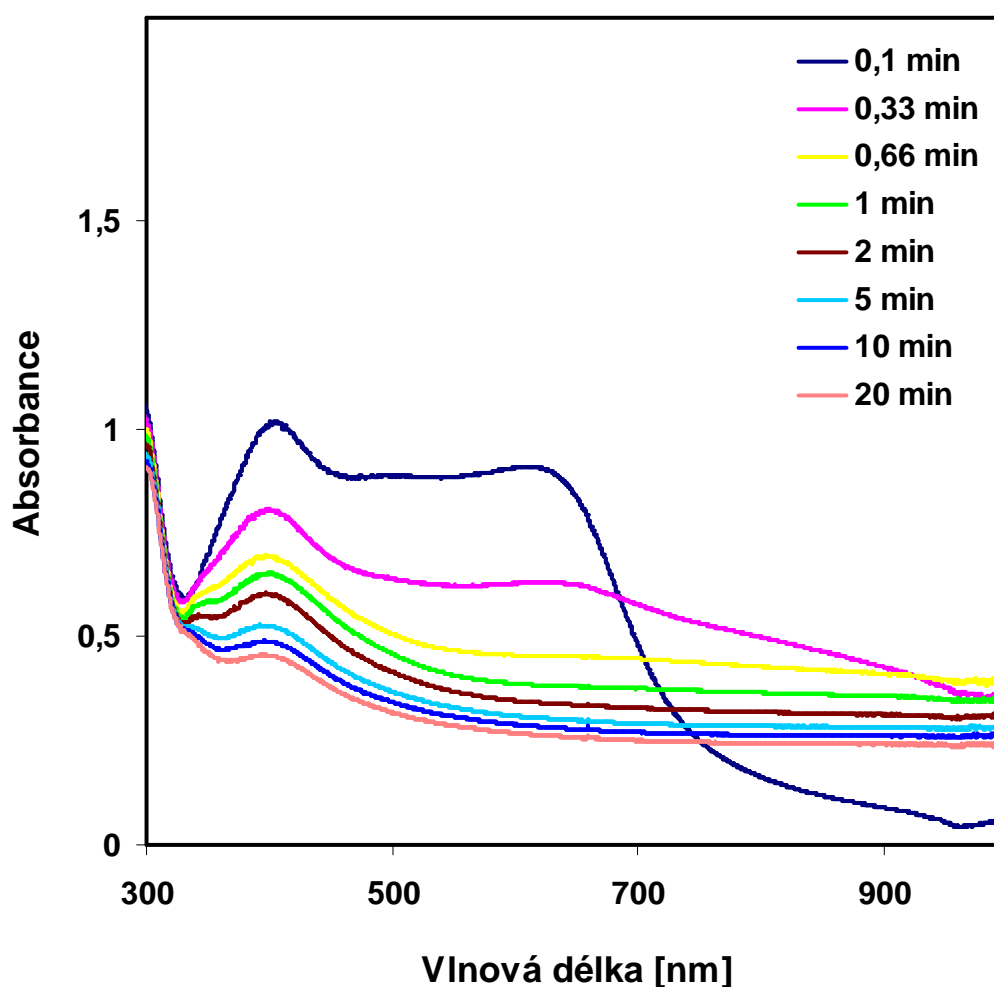
Obr. 14 TEM snímek rekrystalizovaných nanočástic stříbra po 15 minutách od aktivace chloridovými ionty (400 mM) ve tvaru trojúhelníku



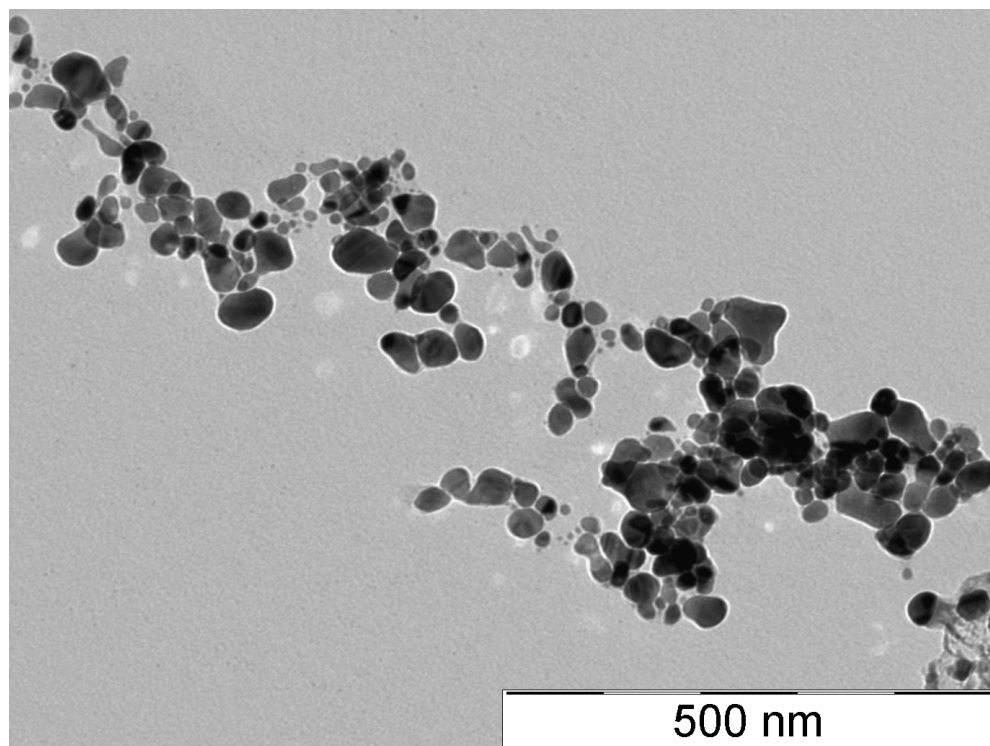
Obr. 15 TEM snímek primárních nanočástic stříbra (28 nm) ve tvaru trojúhelníku vyskytující se již v původní disperzi nanočástic stříbra

4.2.1 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra chloridovými ionty při zvýšené teplotě

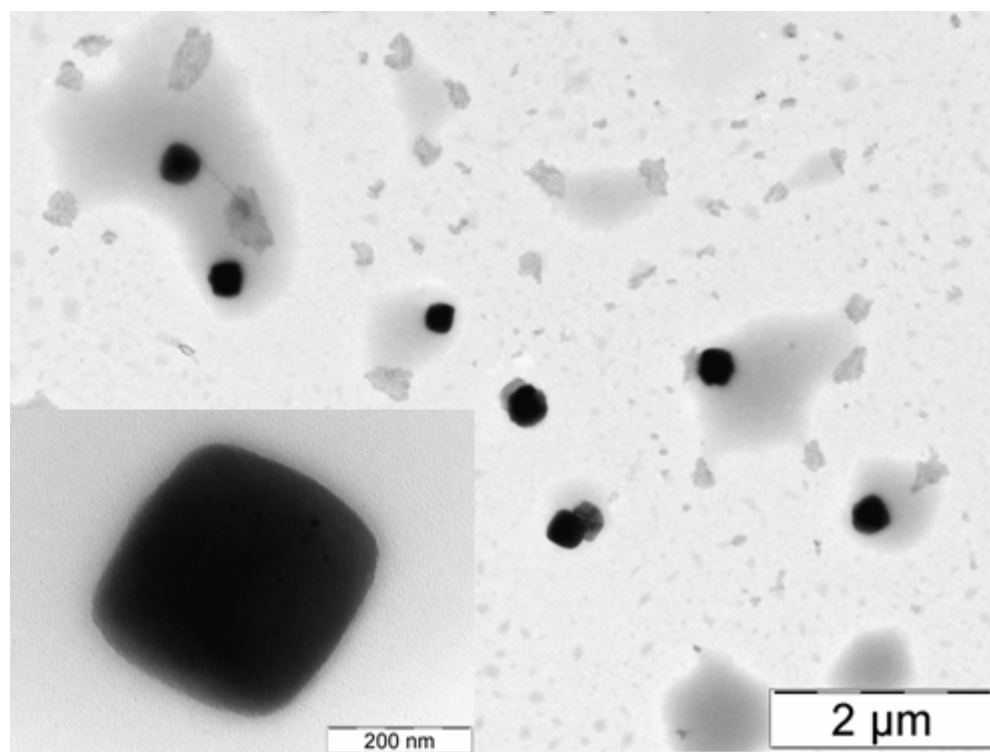
Proces aktivace nanočástic stříbra vyvolaný 4 M chloridem sodným byl také pozorován při zvýšené teplotě reakčního systému. Tyto experimenty byly prováděny na základě měření časově závislých UV/Vis absorpčních spekter. Tím, že byla zvýšena teplota, docházelo jednak k rychlejšímu růstu částic a tím i k rychlejším změnám pozorovaných ve spektrech.



Graf 5. Souhrn časově závislých absorpčních spekter nanočástic stříbra po přidavku chloridových iontů o výsledné koncentraci 400 mM při teplotě 60 °C. Legenda popisuje uplynulý čas od přidavku chloridových iontů



Obr. 16 TEM snímek nanočástic stříbra po 20 sekundách od přidavku chloridových iontů při teplotě 60 °C

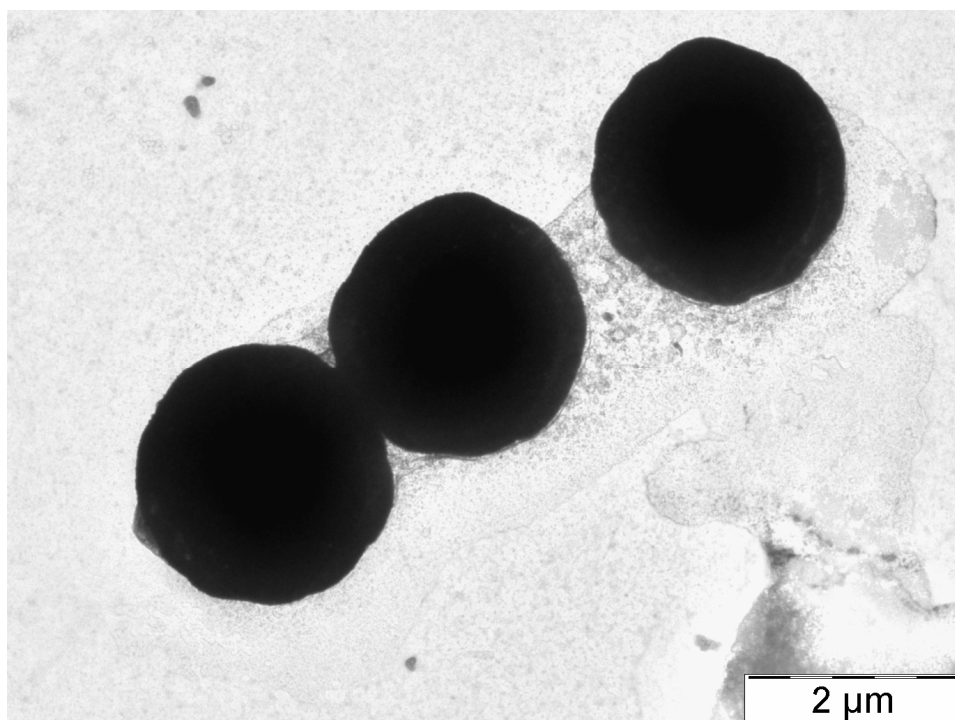


Obr. 17 TEM snímek nanočástic stříbra po 2 minutách od přidavku chloridových iontů při teplotě 60 °C

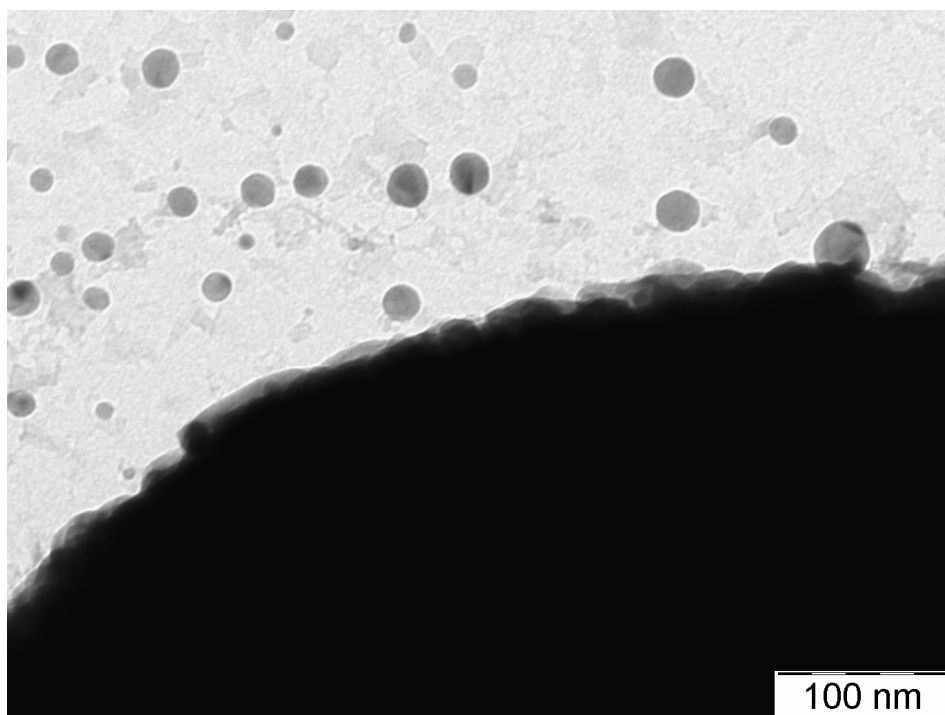
Absorpční spektrum pozorované po 10 minutách od přidavku Cl^- při pokojové teplotě (20 °C) (viz graf. č. 4) mělo stejný průběh jako spektrum pozorované po 2 minutách při teplotě 60 °C (graf č. 5). TEM snímky nanočástic stříbra po 20 sekundách od přidavku Cl^- při této zvýšené teplotě odhalily polydisperzní částice o velikostech v rozsahu 10 – 70 nm (obr. č. 16). Zatím co po 2 minutách byly pozorovány již zcela rekrystalizované, téměř monodisperzní, částice o velikostech ~350 nm (obr. č. 17). Na TEM snímcích nebyly pozorovány zagregované částice ani jak při 20 °C, tak ani při 60 °C. Na základě takto získaných dat byl potvrzen rekrystalizační mechanismus růstu částic.

4.2.2 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra chloridovými ionty bez přítomnosti rozpuštěného kyslíku v reakční směsi

K tomu, abychom zjistili, jaký vliv má nebo nemá přítomnost rozpuštěného kyslíku na rekrystalizaci nanočástic stříbra vyvolanou chloridovými ionty, byly zásobní roztoky probublány argonem a zbaveny tak rozpuštěného kyslíku.



Obr. 18 TEM snímek zagregovaných nanočástic stříbra získaných po přidavku chloridových iontů (400 mM) bez přítomnosti kyslíku

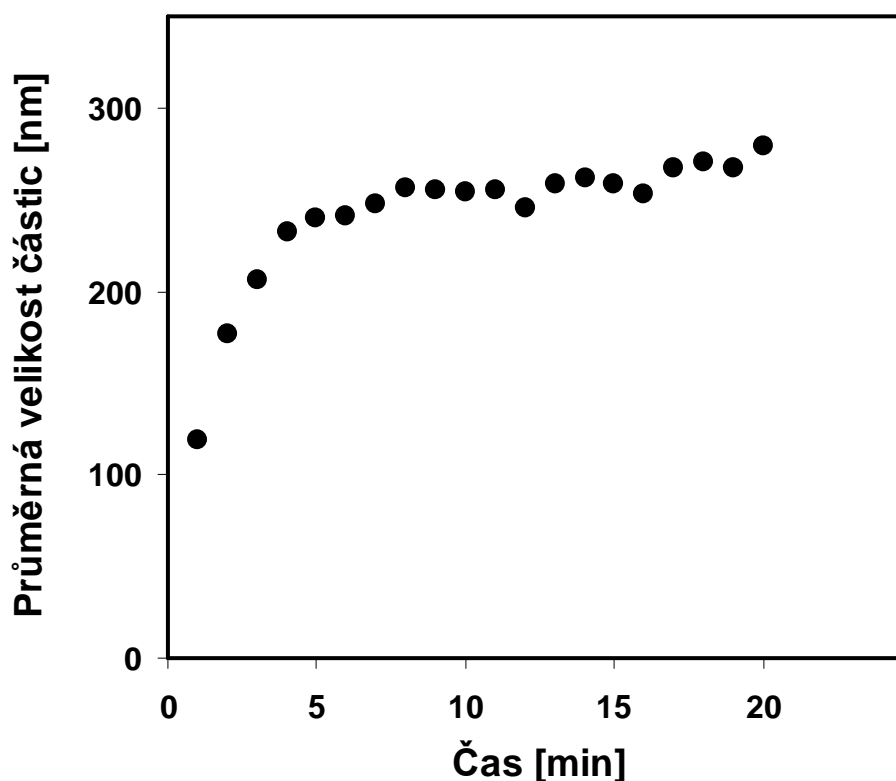


Obr. 19 TEM snímek nanočástic stříbra na povrchu agregátu ve vysokém rozlišení

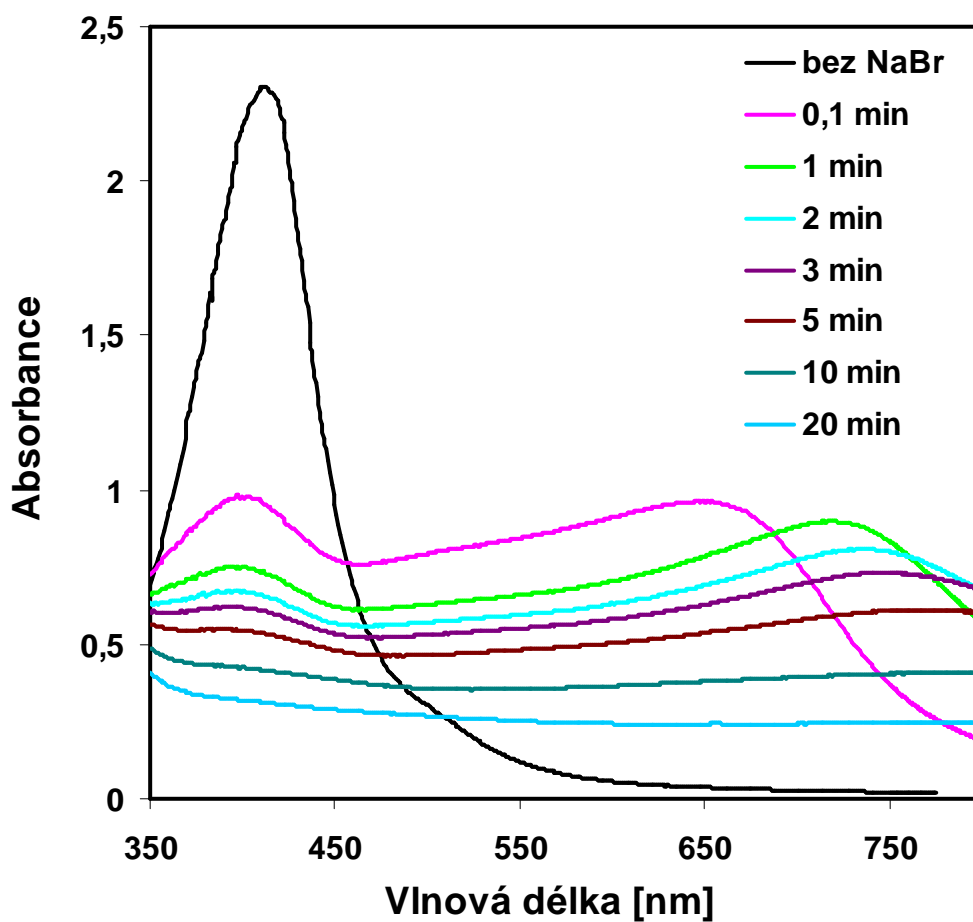
Po 15 minutách od přidavku chloridových iontů (400 mM) k vodné disperzi nanočástic stříbra byl opět odebrán vzorek na transmisní elektronový mikroskop a byly pozorovány obrovské kulovité částice dosahující 2 – 3 μm (obr. č. 18). Pro důkladnější prozkoumání byly tyto objekty zobrazeny ve vysokém rozlišení a na základě toho bylo zjištěno, že jsou složeny z nanočástic stříbra o velikostech 20 nm. Tyto částice jsou dobře pozorovatelné zejména na povrchu agregátu (obr. č. 19). Závěrem tohoto pozorování můžeme říct, že bez přítomnosti kyslíku v reakčním systému dochází k agregaci, nikoliv k tolik žádoucí rekrystalizaci.

4.3 Sledování kinetiky aktivace nanočástic stříbra bromidovými a jodidovými ionty

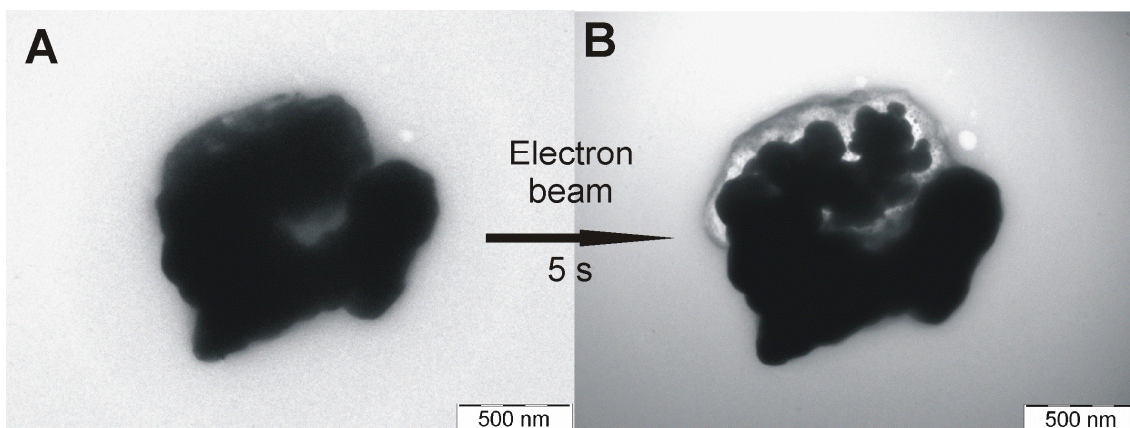
Abychom se více zaměřili na mechanismus růstu stříbrných krystalů vyvolaný vysoce koncentrovanými chloridovými ionty, byly současně prováděny obdobné experimenty s vysoce koncentrovanými bromidovými a jodidovými ionty (400 mM). V obou případech aktivace docházelo ke stejnému průběhu změny zabarvení reakčního systému, jako u výše zmíněné aktivace chloridovými ionty, kdy celý průběh reakce byl doprovázen změnou zabarvení ze žluté na šedou během několika málo sekund. Nicméně tato změna zabarvení doprovázející zánik primárních, téměř monodisperzních, částic nenaznačovala jejich rekrystalizaci jako tomu bylo u chloridových iontů, nýbrž však srážení a vznik halogenidů (bromidů/jodidů) stříbra. Tyto procesy srážení bromidovými a jodidovými ionty byly pozorovány zejména na základě zaznamenávání UV/Vis absorpčních spekter a pořízením snímků z transmisní elektronové mikroskopie.



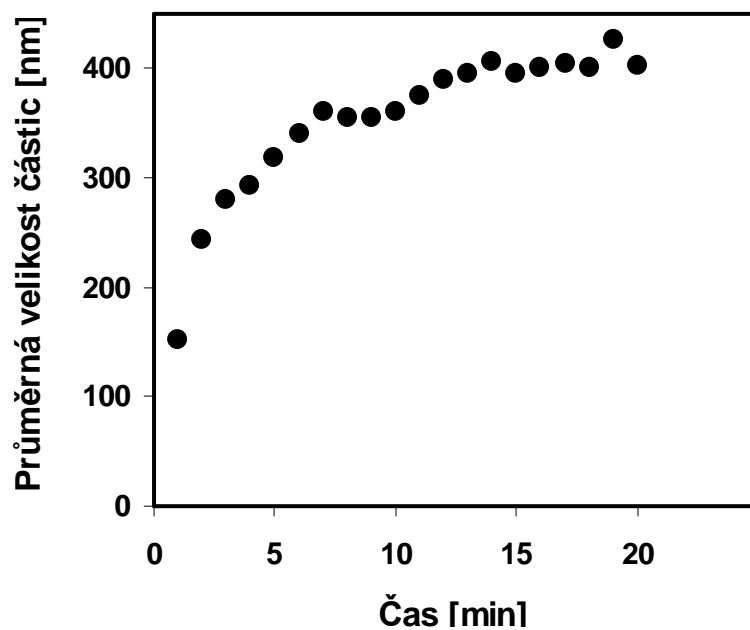
Graf 6. Průběh změny velikosti nanočástic stříbra po přidavku bromidových iontů o výsledné koncentraci 400 mM



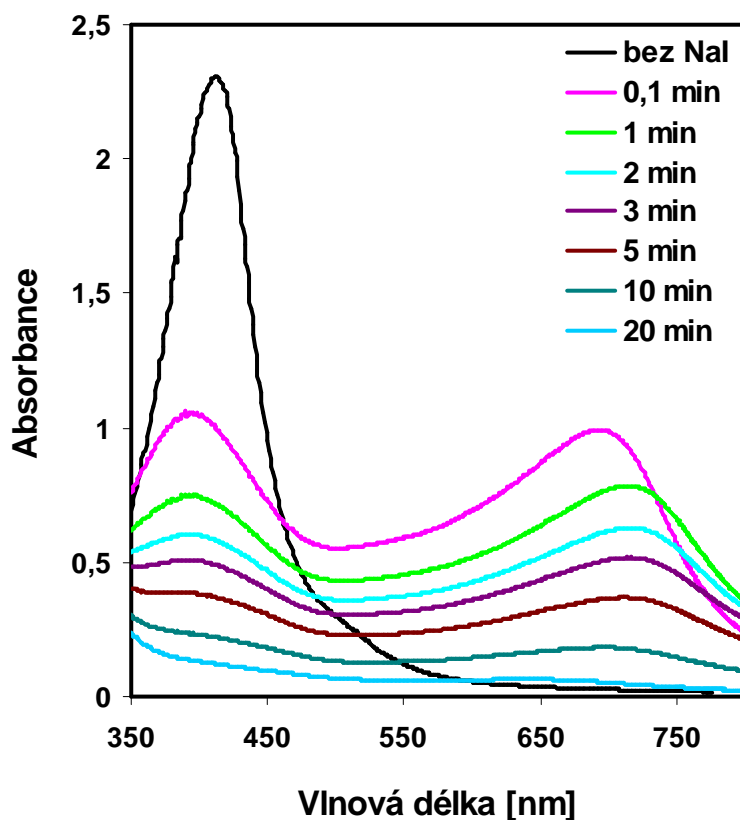
Graf 7. Souhrn absorpčních spekter nanočástic stříbra po přidavku bromidových iontů o výsledné koncentraci 400 mM. Legenda popisuje uplynulý čas od přidavku bromidových iontů



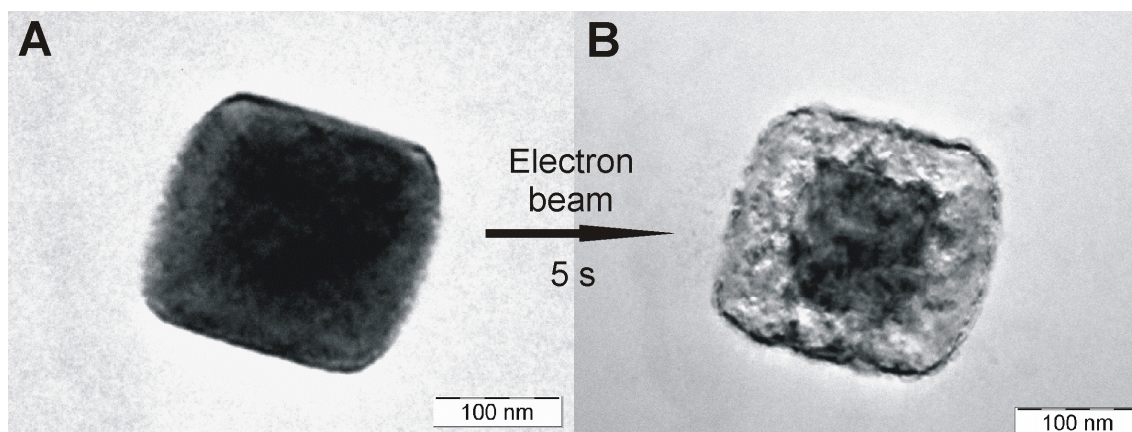
Obr. 20 TEM snímky částic vzniklých po 15 minutách od přidavku NaBr. Obrázek B znázorňuje transformaci částic po ozáření elektronovým paprskem



Graf 8. Průběh změny velikosti nanočástic stříbra po přidavku jodidových iontů o výsledné koncentraci 400 mM.



Graf 9. Souhrn absorpčních spekter nanočástic stříbra po přidavku jodidových iontů o výsledné koncentraci 400 mM. Legenda popisuje uplynulý čas od přidavku jodidových iontů



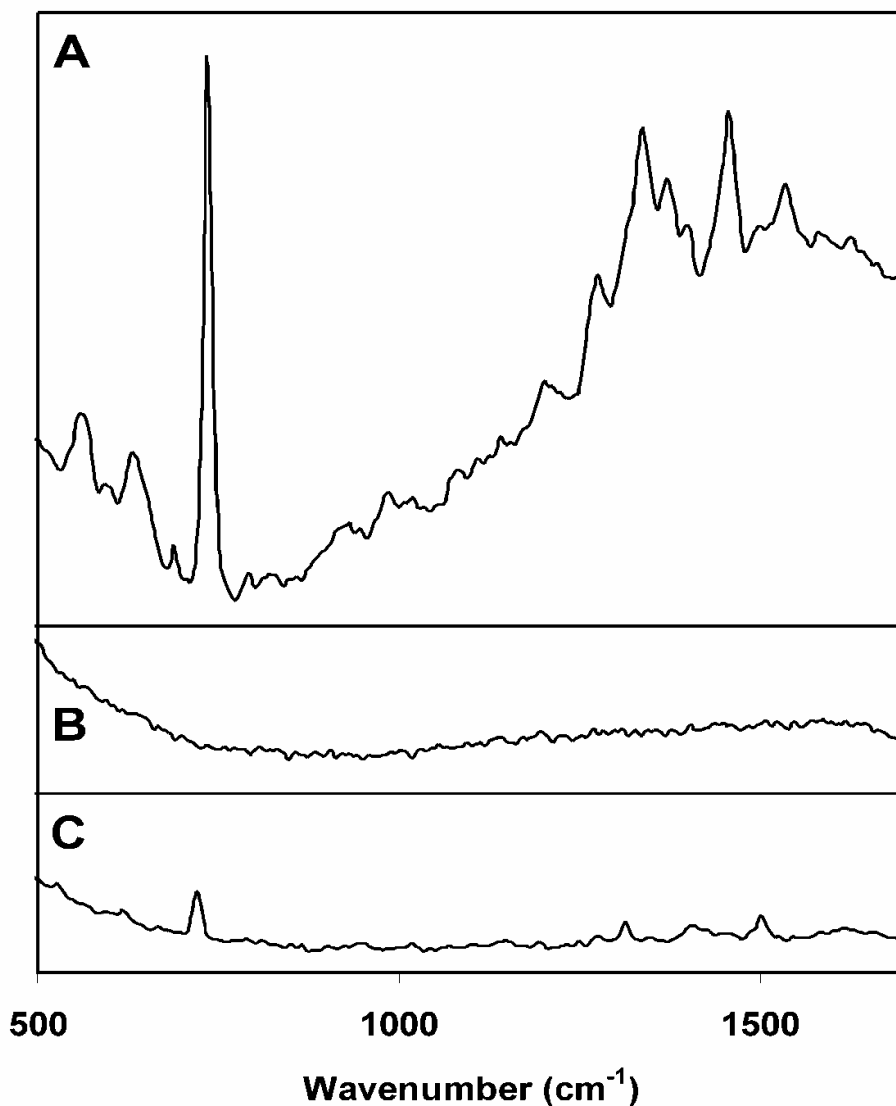
Obr. 21 TEM snímky částic vzniklých po 15 minutách od přidavku NaI. Obrázek B znázorňuje transformaci částic po ozáření elektronovým paprskem

Podíváme-li se na snímky z transmisního elektronového mikroskopu (obr. č. 20 a 21), pozorujeme přítomnost agregátů o velikostech dosahujících několik desítek až stovek nanometrů, které vznikly po přidavku NaBr (NaI) k vodné disperzi primárních nanočástic stříbra. Po ozáření těchto agregátů proudem elektronů při transmisní elektronové mikroskopii došlo k jejich částečné (obr. č. 20B) nebo celkové (obr. č. 21B) destrukci. Tento jev je patrně následkem vznikajících bromidů (v případě aktivace NaBr) či jodidů (v případě aktivace NaI) stříbra. Toto odlišné chování oproti chloridovým iontům, které nastává po přidavku bromidových a jodidových iontů, je odraženo i v průběhu časově závislých UV/Vis absorpčních spektrech (graf č. 7 a 9). Průběh spektra pozorovaný po 20-ti minutách od přidavku NaI má téměř nulovou absorbanci, což je dalším faktorem, který nám potvrzuje, že se v systému nenacházejí žádné kovové nanočástice. Je známo, že ionty halogenů při nižších koncentracích slouží jako srážecí činidla a při vyšších koncentracích jako komplexotvorná činidla. Ionty halogenů mohou reagovat s atomy stříbra na povrchu stříbrných nanočástic a následně je odtrhávat.^{33,54}

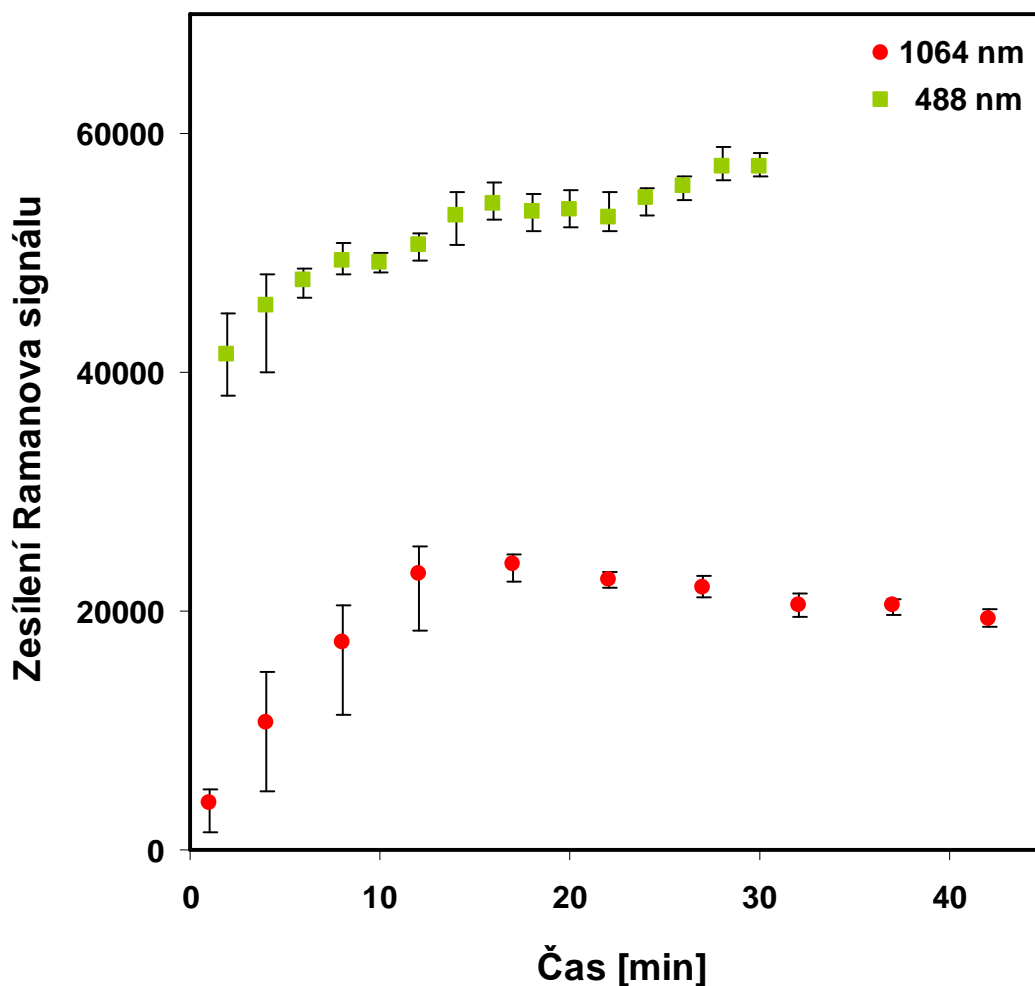
Závěrem tedy lze říct, že vysoce koncentrované roztoky bromidů a jodidů neposkytují optimální podmínky pro kontrolovatelnou rekrytalizaci nanočástic stříbra jako tomu bylo u vysoce koncentrovaných chloridových iontů, jelikož zde dochází k tvorbě halogenidů (bromidů či jodidů) stříbra.

4.4 SERS experimenty

Částice aktivované chloridovými ionty o velikostech dosahujících 400 nm a stejně tak i původní částice o velikostech 28 nm byly dále využity pro účely v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii. Měření byla prováděna jak při excitaci v blízké infračervené oblasti spektra (1064 nm), tak i ve viditelné oblasti (488 nm).



Obr. 22 Povrchem zesílené Ramanovo spektrum v přítomnosti rekrystalizovaných nanočástic stříbra (~400 nm) chloridovými ionty (A). Ramanovo spektrum v přítomnosti malých primárních částic (28 nm) (B). Ramanovo spektrum vodného roztoku adeninu o koncentraci 0.1 mol.l⁻¹ (C). Všechna tři spektra byla zaznamenána při excitaci v blízké infračervené oblasti 1064 nm.



Graf 10. Časová závislost zesílení Ramanova signálu adeninu po aktivaci chloridovými ionty při excitačních vlnových délkách ve viditelné (488 nm) a infračervené oblasti spektra (1064 nm)

Na obr. č. 22A je vidět typické SERS spektrum adeninu (o výsledné koncentraci $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-3}$) zaznamenaného v přítomnosti rekrystalizovaných částic ($\sim 400 \text{ nm}$), kdy dochází k obrovskému nárůstu intenzity Ramanova signálu po excitaci v infračervené oblasti spektra (1064 nm). Naopak, byly-li použity pouze malé primární částice (28 nm) bez přítomnosti chloridových iontů, nepozorovali jsme žádné zesílení signálu adeninu (obr. č. 22B). Pro porovnání, k jakému došlo zesílení signálu v přítomnosti rekrystalizovaných částic, bylo zaznamenáno spektrum samotného adeninu o koncentraci $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ (obr. č. 22C).

Dále při těchto experimentech byla sledována časová závislost intenzity zesílení částic stříbra po přidavku chloridových iontů na zesílení Ramanova signálu po excitaci ve viditelné (488 nm) a infračervené (1064 nm) oblasti spektra (graf č. 10). Při excitaci v blízké infračervené oblasti spektra bylo maximálního zesílení signálu dosaženo mezi 12. až 16. minutou po přidavku chloridových iontů (400 mM) k vodné disperzi nanočástic stříbra. To je právě okamžik, kdy došlo k úplné rekrytalizaci částic dosahujících velikosti až 400 nm. Počáteční nárůst zesílení signálu se dá vysvětlit na základě narůstající velikosti nanočástic stříbra během procesu rekrytalizace.

V případě excitace ve viditelné oblasti spektra (488 nm) (graf č. 10) bylo dosaženo značného zesílení signálu již po dvou minutách od přidavku chloridových iontů, kdy se velikost částic pohybovala okolo 150 nm (viz obr. č. 8). Se vzrůstající velikostí částic nadále rostlo i zesílení Ramanova signálu adeninu, což se dá vysvětlit na základě nepravidelného povrchu většiny rekrytalizovaných částic poskytující aktivní místa pro zesílení. Všeobecně je známo, že chloridové ionty o nízkých koncentracích (okolo 10 mM)^{34,55-57} vyvolávají agregaci primárních částic o velikostech pouhých desítek nanometrů a na jejich styčných bodech pak dochází ke značnému zesílení Ramanova signálu. Tyto malé částice jsou však účinné pouze při excitaci ve viditelné oblasti spektra. Nicméně v této práci naše pozornost byla směřována k aktivaci vysoce koncentrovanými chloridy (400 mM), které vyvolají vznik rekrytalizovaných částic o velikostech stovek nanometrů a ty jsou pak velmi účinné při zesílení Ramanova signálu jak při excitaci ve viditelné oblasti spektra (488 nm), tak v blízké infračervené oblasti spektra (1064 nm).

5. Závěr

Předložená diplomová práce se zabývala cílenou aktivací nanočástic stříbra připravených redukcí amoniakálního komplexu stříbrných iontů D-maltosou o průměrné velikosti okolo 28 nm. U takto připravených nanočástic stříbra (28 nm) o koncentraci $10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ byla sledována dlouhodobá časová stabilita. Jejich průměrná velikost byla po dobu téměř 600 dní neměnná, což bylo potvrzeno měřením průměrné velikosti částic metodou DLS a pravidelným zaznamenáváním UV/Vis absorpčních spekter. K aktivaci primárních nanočástic stříbra byly využity vysoce koncentrované halogenidové ionty, zejména pak naše pozornost byla věnována chloridům. Přídavkem vysoce koncentrovaných chloridových iontů (400 mM) byla vyvolána rychlá a reprodukovatelná rekystalizace nanočástic stříbra dosahujících rozměrů až 400 nm, které poskytují značné zesílení Ramanova signálu adeninu jak při excitaci ve viditelné oblasti spektra (488 nm), tak v blízké infračervené oblasti spektra (1064 nm). Pro srovnání mechanismu růstu aktivovaných nanočástic stříbra chloridovými ionty byl v další fázi experimentů sledován vliv vysoce koncentrovaných (400 mM) bromidových a jodidových iontů na průběh aktivace. Zde však nebyla vyvolána rekystalizace částic stříbra. Docházelo k agregaci za vzniku halogenidů AgBr či AgI, které pak nebyly efektivní pro aplikaci v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii.

6. Summary

The aim of this diploma theses was the activation of silver nanoparticles prepared by a reduction of ammoniacal complex of silver ion by D-maltose with an average particle size 28 nm. The time stability of this primary silver nanoparticles (28 nm) with concentration 10^{-3} mol/L was observed during a period of 600 days. The average particle size remains constant as proved by DLS data and by periodic measuring the UV/Vis absorption spectra that were unchanged during the mentioned period of time. Halide ions, particularly chlorides, with resulting concentration of 400 mM served as the activation agents of the primary silver particles. By adding a highly concentrated solution of chloride ions (400 mM) was induced a rapid recrystallization process towards larger silver crystals (~400 nm) providing considerable enhancement of Raman signal of adenine with excitation both in the visible (488 nm) and near infrared region (1064 nm). To compare the mechanism of the silver crystal growth induced by a highly concentrated NaCl solution were performed similar experiments with NaBr and NaI solutions of the same final concentrations (400 mM). The highly concentrated solutions of bromides and iodides were not applicable for activation of silver nanoparticles dispersion because of the precipitation of silver halogenides AgBr or AgI and no enhancement of the Raman signal of adenine was recorded.

7. Seznam použité literatury

1. Zou, J.; Xu, Y.; Hou, B.; Wu, D.; Sun, Y.: *China Particuology*, **2007**, 5, 206-212.
2. Lee, S. Y.; Hung, L.; Lang, G. S.; Cornett, J. E.; Mayergoz, I. S.; Rabin, O.: *Acs Nano*, **2010**, 4, 5763-5772.
3. Kneipp, K.; Wang, Y.; Dasari, R. R.; Feld, M. S.: *Applied Spectroscopy*, **1995**, 49, 780-784.
4. Garrell, R. L.: *Analytical Chemistry*, **1989**, 61, A401.
5. Kašíková, N.; Marek, Z.; Sovová, A.; Tulach, J.: *Analytická a koloidní chemie*. 1. vyd. Státní pedagogické nakladatelství. Praha 1971. 256 stran. ISBN 17-262-71.
6. Pies, J.: *Imunní s koloidním stříbrem*. Dostupné na www.ag-plus.cz/Pies.doc (staženo dne 9. 11. 2010)
7. García-Barrasa, J.; Lopéz-de-Luzuriaga, J. M.; Monge, M.: *Cent. Eur. J. Chem.*, **2011**, 9, 7-19.
8. Komers, K.: *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Univerzita Pardubice. Pardubice 1996. 64 stran. ISBN 80-7194-045-3.
9. Bartovská, L.; Šišková, M.: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. vyd. VŠCHT Praha 2005. 244 stran. ISBN 80-7080-579-X.
10. Vacík, J.: *Fyzikální chemie*. 1. vyd. Nakladatelství technické literatury. Praha 1971. 168 stran. ISBN 04-617-71.
11. Kvítek, L.; Panáček, A.: *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Univerzita Palackého v Olomouci. Olomouc 2007. 70 stran. ISBN 978-80-244-1669-4.
12. Pouchlý, J.: *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. 1. vyd. VŠCHT Praha 1998. 98 stran. ISBN 80-7080-331-2.
13. Fišer, O.: *Fyzikální chemie (Termodynamika, elektrochemie, kinetika, koloidní soustavy)*. 1. vyd. Státní pedagogické nakladatelství. Praha 1984. 333 stran.
14. Kvítek, L.: *Metody studia koloidních soustav*. Prozatímní učební text. Katedra fyzikální chemie PřF UP. Olomouc 2006.
15. Šimek, L.; Hrnčířík, J.: *Fyzikální chemie II (Koloidní a makromolekulární systémy)*. 2. vyd. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Zlín 2004. 94 stran. ISBN 80-7318-169-X.
16. Ščukin, E. D.; Percov, A. V.; Amelinová, E. A.: *Koloidní chemie*. 1. vyd. Academia Praha 1990. 484 stran. ISBN 80-200-0259-6.

17. Vojuckij, S. S.: *Kurs koloidní chemie*. 1. vyd. SNTL Praha 1984. 396 stran.
18. Tsuji, T.; Thang, D.-H.; Okazaki, Y.; Nakanishi, M.; Tsuboi, Y.; Tsuji, M.: *Applied Surface Science*, **2008**, 254, 5224-5230.
19. Zamiri, R.; Azmi, B. Z.; Sadrolhosseini, A. R.; Ahangar, H. A.; Zaidan, A. W.; Mahdi, M. A.: *In J Nanomedicine*, **2011**, 6, 71-75.
20. Pucek, R.; Kvítek, L.; Hrbáč, J.: *Acta Univ. Palacki Olomouc*, **2004**, *Chemica* 43.
21. Šmejkal, P.; Pflieger, J.; Vlčková, B.: *Appl Phys A*, **2010**, 101, 37-40.
22. Goia, D. V.; Matijević, E.: *New J. Chem.*, **1998**, 1203-1215.
23. Manikam, V. R.; Cheong, K. Y.; Razak, K. A.: *Materials Science and Engineering B*, **2011**, 176, 187-203.
24. Munro, C. H.; Smith, W. E.; Garner, M.; Clarkson, J.; White, P. C.: *Langmuir*, **1995**, 11, 3712-3720.
25. Tan, Y.; Li, Y.; Zhu, D.: *J Colloid Interf Sci*, **2003**, 258, 244-251.
26. Yin, Y.; Li, Z.-Y.; Zhong, Z.; Gates, B.; Xia, Y.; Venkateswaran, S.: *J. Mater. Chem.*, **2002**, 12, 522-527.
27. Sharma, V. K.; Yngard, R. A.; Lin, Y.: *Advances in Colloid and Interface Science*, **2009**, 145, 83-96.
28. Le, A.-T.; Huy, P. T.; Tam, P. D.; Huy, T. Q.; Cam, P. D.; Kudrinskiy, A. A.; Krutyakov, Y. A.: *Current Applied Physics*, **2010**, 10, 910-916.
29. Kvítek, L.; Pucek, R.; Panáček, A.; Novotný, R.; Hrbáč, J.; Zbořil, R.: *J Mater Chem*, **2005**, 15, 1099.
30. Panáček, A.; Kvítek, L.; Pucek, R.; Kolář, M.; Večeřová, R.; Pizúrová, N.; Sharma, V. K.; Nevěčná, T.; Zbořil, R.: *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 16248-16253.
31. Suber, L.; Sondi, I.; Matijević, E.; Goia, D. V.: *Journal of Colloid and Interface Science*, **2005**, 288, 489-495.
32. Creighton, J. A.; Blatchford, Ch. G.; Albrecht, M. G.: *J. Chem. Soc. Farad. Trans. II*, **1979**, 75, 790-798.
33. Yang, J.; Zhang, Q.; Lee, J. Y.; Too, H.-P.: *Journal of Colloid and Interface Science*, **2007**, 308, 157-161.
34. Leopold, N.; Lendl, B.: *J. Phys. Chem. B*, **2003**, 107, 5723-5727.

35. Li, Y.-S.; Cheng, J.; Coons, L. B.: *Spectrochimica Acta Part A*, **1999**, *55*, 1197-1207.
36. Sun, L.; Zhang, Z.; Dang, H.: *Materials Letters*, **2003**, *57*, 3874-3879.
37. Veerasamy, R.; Xin, T. Z.; Gunasagaran, S.; Xiang, T. F. W.; Yang, E. F. Ch.; Jeyakumar, N.; Dhanaraj, S. A.: *Journal of Saudi Chemical Society*, **2011**, *15*, 113-120.
38. Singh, A.; Jain, D.; Upadhyay, M. K.; Khandelwal, N.; Verma, H. N.: *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **2010**, *5*, 484-489.
39. Jain, D.; Daima, H. K.; Kachhwaha, S.; Kothari, S. L.: *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **2009**, *4*, 723-727.
40. Zhang, J.; Li, X.; Sun, X.; Li, Y.: *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 12544-12548.
41. Vo-Dinh, T.; Stokes, D. L.; Griffin, G. D.; Volkan, M.; Kim, U. J.; Simon, M. I.: *Journal of Raman Spectroscopy* **1999**, *30*, 785-793.
42. Vo-Dinh, T.; Allain, L. R.; Stokes, D. L.: *Journal of Raman Spectroscopy* **2002**, *33*, 511-516.
43. Halvorson, R. A.; Vikesland, P. J.: *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 7749-7755.
44. Haynes, Ch. L.; McFarland, A. D.; Dwyne, R. P. V.: *Anal. Chem.* **2005**, (77), 17, 338A-346A.
45. Wang, Y.; Li, D.; Li, P.; Wang, W.; Ren, W.; Dong, S.; Wang, E.: *J. Phys. Chem. C*, **2007**, *111* (45), 16833-16839.
46. Emory, S. R.; Haskins, W. E.; Nie, S.: *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8009-8010.
47. Kneipp, K.; Kneipp, H.; Kneipp, J.: *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 443-450.
48. Tian, Z. Q.: *Journal of Raman Spectroscopy*, **2005**, *36*, 466-470.
49. Dong, X.; Gu, H.; Kang, J.; Yuan, X.; Wu, J.: *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **2010**, *368*, 142-147.
50. Kim, J. S.; Kuk, E.; Yu, K. N. et al.: *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, **2007**, *3*, 95-101.
51. Kvítek, L.; Panáček, A.; Soukupová, J.; Kolář, M.; Večeřová, R.; Prucek, R.; Holecová, M.; Zbořil, R.: *J. Phys. Chem. C*, **2008**, *112*, 5825-5834.
52. Choi, O.; Deng, K. K.; Kim, N.-J.; Ross, L.; Surampalli, R. Y.; Hu, Z.: *Water Research*, **2008**, *42*, 3066-3074.

53. Marambio-Jones, C.; Hoek, E. M. V.: *J Nanopart Res*, **2010**, *12*, 1531-1551.
54. Cobley, C. M.; Rycenga, M.; Zhou, F.; Li, Z-Y.; Xia, Y.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 4824-4827.
55. Michaels, A. M.; Nirmal, M.; Brus, L. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 9932-9939.
56. Zhang, P. X.; Fang, Y.; Wang, W. N.; Ni, D. H.; Fu, S. Y.: *Journal of Raman Spectroscopy*, **1990**, *21*, 127-131.
57. Campbell, M.; Lecomte, S.; Smith, W. E.: *Journal of Raman Spectroscopy*, **1999**, *30*, 37-44.

8. Příloha

Prucek, R.; Panáček, A.; Fargašová, A.; Ranc, V.; Mašek, V.; Kvítek, L.; Zbořil, R.: *Re-crystallization of silver nanoparticles in highly concentrated NaCl environment - a new substrate for surface enhanced IR-visible Raman spectroscopy. CrystEngComm, 2011, 13, 2242-2248.*

Cite this: *CrystEngComm*, 2011, **13**, 2242

www.rsc.org/crystengcomm

PAPER

Re-crystallization of silver nanoparticles in a highly concentrated NaCl environment—a new substrate for surface enhanced IR-visible Raman spectroscopy†

Robert Prucek,^{*a} Aleš Panáček,^a Ariana Fargašová,^a Václav Ranc,^b Vlastimil Mašek,^c Libor Kvítek^a and Radek Zbořil^{*a}

Received 26th October 2010, Accepted 24th November 2010

DOI: 10.1039/c0ce00776e

The common approach of silver nanoparticles activation for surface enhanced Raman spectroscopy often exploits an addition of chloride ions, generally at low concentrations of about 0.1–10 mM in the final dispersion. For the first time, we report the applicability of a highly concentrated NaCl solution (final concentration of 400 mM) for the SERS activation of silver nanoparticles (~30 nm). Microscopic, optical and particle size distribution measurements reveal the rapid and reproducible re-crystallization of the primary silver nanoparticles to one-order larger crystallites (~400 nm) already after 15 min after NaCl addition. The crystal growth mechanism is discussed with respect to the proved essential role of oxygen in the reaction system. The specific action of chloride ions is demonstrated through a comparison with NaBr and NaI solutions of the identical concentrations, which do not induce the analogous crystallization process. The recrystallized silver particles are efficient in an enhancement of the Raman signal not only for visible (488 nm) but also for near infrared laser excitation (1064 nm) as illustrated with the representative spectra of adenine.

Introduction

Fleischmann's 1974 discovery of Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) on a silver electrode,¹ and especially its re-discovery on colloidal silver particles in 1977 by Creighton,² started the extensive development of a new and very sensitive analytical method^{3–7} enabling to detect molecules in the concentration range from pico- to femtomols.⁸ High enhancements of SERS even allowed the detection of individual molecules adsorbed on a single silver particle.^{9–12} Some studies have shown that the highest value of enhancement is achieved only on the silver particles of a certain size which are referred to as 'hot particles'. The optimal size of these hot particles depends on the wavelength of the laser used for excitation and ranges from approximately 70 nm to 200 nm for excitation wavelengths between 488 and 647 nm.¹³ For the commonly used argon laser with a wavelength of 514.5 nm, the 'hot particle size' is reported

from 80 to 100 nm.^{8,14} For a use of lasers with an excitation wavelength in the red region ($\lambda = 785$ nm), and especially in the NIR region ($\lambda = 1064$ nm), we can assume that the highest enhancement of the Raman signal would be achieved with particles of around 400 nm in diameter. Nevertheless, the preparation of such large particles represents a hard task from the synthetic viewpoint. Moreover, particles of these dimensions are unstable and usually settle within a few hours. Silver nanoparticles (Ag NPs) of 20–30 nm in sizes can be stable for several months or years, even without any extra stabilization. However, these small particles themselves usually do not provide enhancement of the Raman signal. For this purpose, they must be activated for example by the addition of some inorganic ions.^{7,15–18} The most frequently used activation agents of the silver nanoparticles prepared by the common reduction procedures^{2,19,20} include halide ions, particularly chlorides.^{21–24} However, the mechanism of the activation has not yet been fully explained.^{25–29} One possible explanation is based on the formation of silver particle aggregates.²⁹ Recently, it has been shown that a very strong increase in the Raman signal is achieved in nanocrystal junction sites between two nanoparticles.^{30–32}

In this work, we report a simple and reproducible method for the activation of monodispersed Ag NPs by introducing the concentrated NaCl solution (resulting concentration of 400 mM) into the Ag NP dispersion. It is worth mentioning that the effect of as-high concentrations of chloride ions, which is one to three orders higher than commonly mentioned in the literature, have

^aRegional Centre of Advanced Technologies and Materials, Department of Physical Chemistry, Faculty of Science, Palacky University, 17 Listopadu 1192/12, 771 46 Olomouc, Czech Republic. E-mail: zboril@prfnw.upol.cz; robert.prucek@upol.cz; Fax: +420 585 634 761; Tel: +420 585 634 427

^bDepartment of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Palacky University, 17 Listopadu 12, Olomouc, 771 46, Czech Republic

^cDepartment of Pharmacology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Hněvotínská 3, Olomouc, 775 15, Czech Republic

† Electronic supplementary information (ESI) available: Additional UV-vis absorption spectra, DLS measurement data, TEM images, XRD and SAED patterns. See DOI: 10.1039/c0ce00776e

not been studied yet. In almost all cases when chloride ions were used for the SERS activation, the final concentration of chlorides ranged from 0.1 mM to 20 mM.^{20,21,24–27} As a principal result, the high concentration of chloride ions induces a rapid re-crystallization (in only a few minutes) of the primary Ag NPs to crystallites of around 400 nm, which convey reproducible Raman enhancement both for the visible and near infrared excitation.

Experimental

Preparation of the silver nanoparticles

Ag NPs, with a diameter of approximately 28 nm, were synthesized by a reduction of the complex $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ cation with D-maltose. The initial concentrations of the reaction components were 10^{-3} M and 10^{-2} M for AgNO_3 and the reducing sugar, respectively. The concentration of the ammonia used was 5×10^{-3} M. Sodium hydroxide solution was added to the reaction system to adjust the value of pH at 11.5 ± 0.1 , as well as to achieve a reaction time of 3–4 min. The as-prepared aqueous dispersion of the silver NPs was used for the subsequent experiments without any additional modifications. All the measurements were performed at the laboratory temperature (20 °C).

The specific Ag NPs treatment procedure for DLS and UV-vis, was as follows: The amount of 0.2 mL of the stock solution of Ag NPs was diluted by 0.7 mL of deionised water and then 0.1 mL of the 4 M NaCl solution was added. After adding chloride ions to the diluted dispersion of Ag NPs, the solution was quickly mixed and immediately (within several seconds), the measurements began. For the purpose of SERS measurements, 0.2 mL of the stock solution of Ag NPs was diluted with 0.7 mL of deionised water. Then, 0.1 mL of 4 M NaCl was quickly added to the diluted dispersion of Ag NPs and the solution was shaken. Next, an appropriate amount of 10^{-3} M solution of adenine was added, the solution was shaken again, and the Raman spectrum was collected.

Materials and chemicals

Silver nitrate (99.9%, Safina), ammonia (25% (w/w) aqueous solution, p.a., Lachema), sodium hydroxide (p.a., Lachema), sodium chloride/bromide/iodide (p.a., Sigma-Aldrich) and D(+)-maltose monohydrate (p.a., Riedel-de Haën) were used for the preparation of silver NPs without any further purification.

Instrumentation

The size of the well-dispersed silver NPs as well as the size of the agglomerates formed during the re-crystallization process was determined by a dynamic light scattering method (DLS) using a Zeta Plus analyzer (Brookhaven, USA). TEM observations of the silver NPs were performed with a JEM 2010 (Jeol, Japan) electron microscope at 160 kV of the acceleration voltage. SEM images were collected using a SU 6600 (Hitachi, Japan) at an accelerating voltage of 10 kV. UV-vis absorption spectra of the silver NP dispersions were acquired by using a Specord S 600 (Analytic Jena AG, Germany) spectrophotometer. Experiments concerning the usage of Raman spectrometry were performed using an FT-IR spectrometer (Nicolet FT-IR 6700, USA) with a Raman accessory (NXR FT-Nicolet module, USA) equipped

with a liquid nitrogen-cooled germanium detector. An FT-Raman was equipped with an argon laser with a wavelength of 1064 nm (near infrared), laser power incident onto a sample was 300 mW, 256 scans were obtained for each measurement and data were averaged. Spectra were measured in the range from 200 to 2000 cm^{-1} . Raman experiments concerning visible excitation were performed at laboratory temperature on a Jobin-Yvon T 64 000 (Jobin-Yvon, France) spectrometer equipped with a liquid nitrogen-cooled CCD detector. The argon laser (Coherent Innova 90C FreD, Coherent Inc., $\lambda = 488$ nm) was used for the excitation. Spectra were registered in the range from 600 to 2000 cm^{-1} with 1 cm^{-1} resolution and 10 s scan time; 10 accumulations were made. The laser light power incident onto a sample was 100 mW.

Results and discussion

The primary Ag NPs were synthesised by a reduction of the complex $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ cation with D-maltose.³³ Silver NPs obtained in this way are nearly monodispersed with an average particle size of 28 nm (as determined by the Dynamic Light Scattering method—DLS). With regard to the use of these Ag NPs in practical applications including SERS measurements, their time stability is an important practical aspect. Thus, the time stability of Ag NPs stored in a dark flask at the laboratory temperature was monitored by measuring their average size (DLS) and absorption spectra. During a period of 600 days, the average particle size remains constant (28.4 ± 0.8 nm) as proved by DLS data (inset in Fig. S1)† and by measuring the absorption spectra that were unchanged during the mentioned period of time (Fig. S1).† However, an application of these NPs (without further treatment) in SERS is not particularly effective, as these NPs usually do not provide any significant enhancement of the Raman signal.

The process of silver particle activation by a highly concentrated NaCl solution was monitored by measuring the average particle size (using the DLS method) and by recording the UV-vis absorption spectra. The experiments were repeated twelve times in order to verify the reproducibility (see error bars, Fig. 1A). The particle size was averaged out after every minute of the measurement and the resulting values for the final concentration of Cl^- equal to 400 mM are shown in Fig. 1A. The representative absorption spectra demonstrating the change in the average size of Ag NPs are depicted in Fig. 1B. Immediately after the addition of NaCl solution to Ag NPs, there was a considerable change in the colour of the dispersion of Ag NPs with corresponding changes in its absorption spectrum. The colour of the dispersion changes immediately from yellow to violet. 20 s after the addition of sodium chloride solution, the colour of the dispersion becomes grey. The original absorption peak with the maximum at 410 nm, corresponding to the surface plasmon of the original nanoparticles, was considerably suppressed, while at the same time, the secondary peak with the maximum at 570 nm has emerged. The secondary peak with the similar maximum was previously reported for Ag particles with dimensions of 100–110 nm.^{34,35} After the first minute following the addition of chloride ions, there was a further decrease in the absorption maximum at 410 nm and a shift of the secondary absorption maximum to 650 nm, which moved to 680 nm over the next two minutes. This shift in the position of the secondary

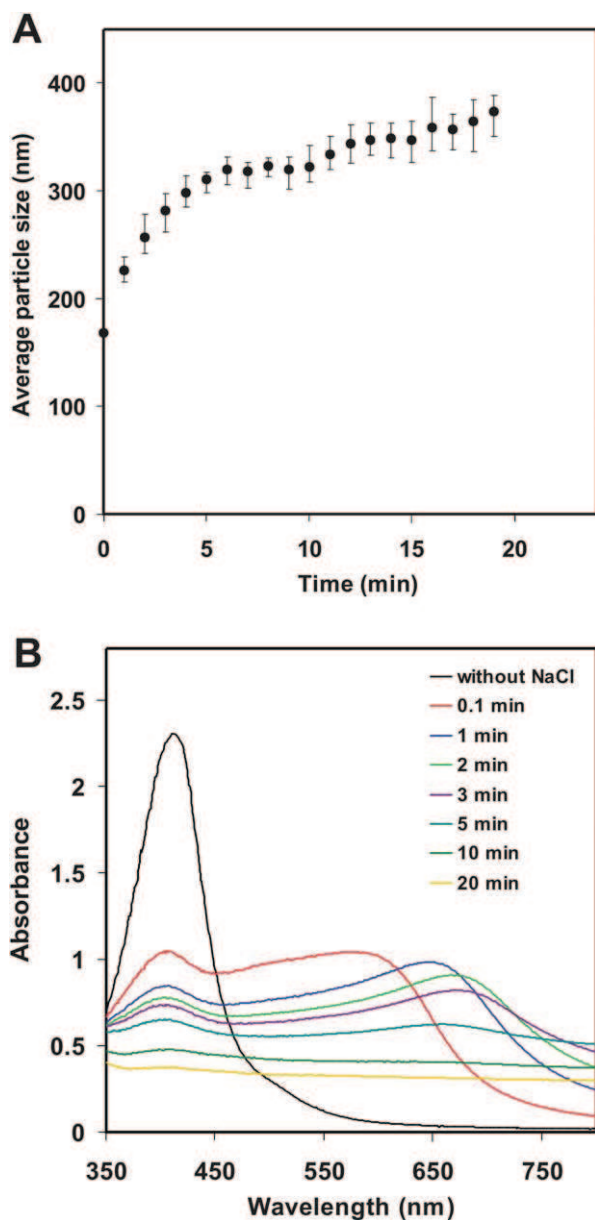


Fig. 1 Time dependence of average size of Ag NPs (A) and the representative UV-vis absorption spectra (B) recorded during 20 min after the addition of the NaCl solution (the final concentration of 400 mM).

absorption peak can be considered as a confirmation of the gradual increase in the average size of Ag particles. After the 5th minute, the absorption spectra already had a very flat course without any pronounced maximum, which is characteristic of Ag particles with dimensions of about 200 nm and larger.³⁵

In order to explore the re-crystallization process including changes in the size and morphology of Ag NPs after NaCl addition, several representative samples were analysed by TEM. Fig. 2A shows the primary non-activated particles included in the stock solution of Ag NPs without the presence of any chloride anions. The average particle size (24 nm) determined by TEM is in a good accordance with the value determined by the DLS method (28 nm). From TEM measurements, the average particle size was determined by the image analysis performed for two independent images containing 50 nanoparticles in minimum in

the window. Other samples were taken at the time of 30 s, 2 min, and 15 min after the addition of NaCl solution. In these cases, the samples were diluted by the tenfold amount of deionised water before spreading on a copper grid coated with a carbon layer, due to the suppression of the reaction that could be in progress further (in case of non-dilution). After 30 s, TEM image revealed considerable amount of silver nanoparticles with the size of equal to or below 25 nm (~90%) (Fig. 2B). However, a certain number of particles (~10%) had dimensions ranging from 50 to 100 nm (inset in Fig. 2B). In the sample taken 2 min after the addition of NaCl solution, the presence of Ag particles with a size of around 150 nm was observed, and the particles of dimensions of around 25 nm were almost not present (Fig. 2C). After 15 min, the large Ag particles with the size of around 400 nm were found in the dispersion (Fig. 2D), while any smaller particles and/or their aggregates were not detected. Approximately 20% of the Ag NPs were present in the form of well-defined crystalline shapes, such as hexagonal (Fig. 3A), rod-like (Fig. 3B), and triangular (Fig. 3C). The miscellaneous morphologies of recrystallized particles are probably related to the presence of particles with different shapes already present in the original dispersion (Fig. 3D, 3E, 3F). The single-crystal character and typical cubic structure of these recrystallized silver particles were confirmed by the selected area electron diffraction (inset in Fig. 3C). The chemical composition of transformed large silver particles was also confirmed by XRD measurement (Fig. S2).[†] The process of re-crystallization of silver nanoparticles induced by 400 mM NaCl was investigated at different reaction temperatures. These experiments were monitored *via* time-dependent UV-vis absorption measurements (Fig. S3).[†] The time changes in absorbance were accelerated/decelerated by increasing/decreasing the reaction temperature. The absorption spectrum obtained after 10 min since the addition of NaCl solution at a reaction temperature of 20 °C was almost the same as that recorded after 2 min since the addition of NaCl solution at a reaction temperature of 60 °C. TEM images of the sample taken after 20 s at this temperature revealed particles with sizes between 10 nm and 70 nm (Fig. S4A).[†] After 2 min since the addition of NaCl solution, the fully recrystallized large silver particles (~350 nm) were observed (Fig. S4B).[†] The obtained data confirm the reductive deposition along dissolution-re-growth mechanism as there are no TEM indications of the particle aggregation neither at 20 °C nor at 60 °C. TEM images reveal the intermediate presence of silver crystallites with a rather broad size distribution (Fig. 2B and Fig. S4A).[†] Just the simultaneous presence of smaller and larger crystals compared to the original particles is a strong evidence for dissolution-re-growth mechanism. The particle re-growth is finished as soon as all dissolved silver is consumed. This is supported by temperature-dependent observations when the final size of silver particles is almost the same independently on the temperature (compare Fig. 2D and Fig. S4B)[†] although the rate of crystal growth is evidently higher with increasing temperature (see Fig. S3).[†]

To get a deeper insight into the mechanism of the silver crystal growth induced by a highly concentrated NaCl solution, we performed similar experiments with NaBr and NaI solutions of the same final concentrations (400 mM). In all cases, the yellow colouring changed to the grey colour within several seconds. However, this colour change, implying for a disappearance of the

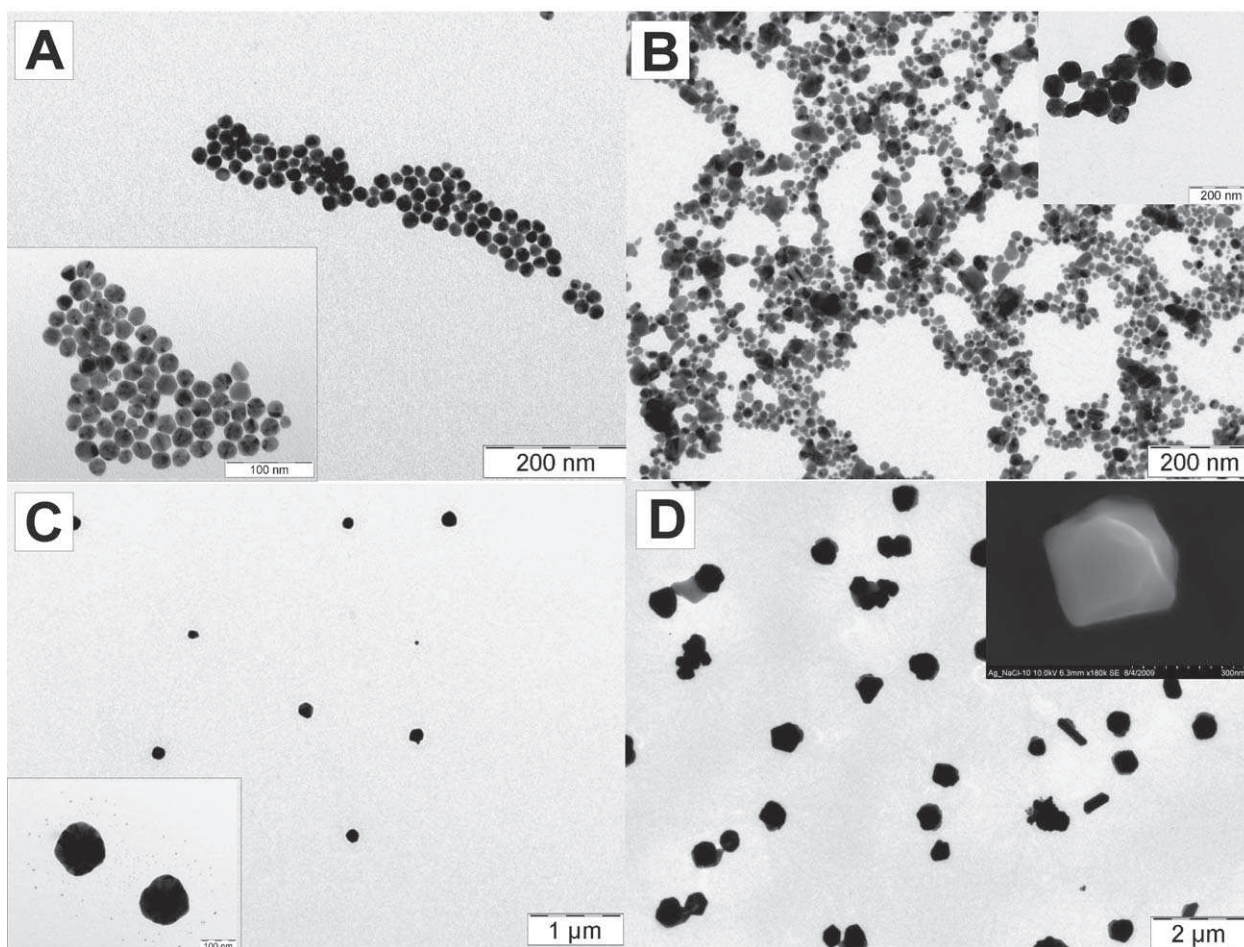


Fig. 2 TEM images of primary non-activated Ag NPs (A) and those formed by gradual crystallization after 30 s (B), 2 min (C), and 15 min (D) since the addition of the 4 M NaCl solution. The inset in D demonstrates the final 400 nm-sized single crystal imaged by SEM, while other insets show TEM images evidencing for gradual crystal growth.

original well-dispersed nanoparticles, is not due to the re-crystallization of silver nanoparticles as observed after the NaCl addition. In the case of NaBr and NaI additions, the primary dissolution followed by a secondary precipitation of silver halogenides are competitive processes, which were proved by detailed TEM (Fig. 4) and UV-vis measurements (Fig. S5).[†] TEM images of the objects formed after NaBr (NaI) addition revealed presence of aggregates (particles) with the sizes of several tens to hundreds of nanometres (Fig. 4A and 4C). These objects were, after the radiation by electrons in the transmission electron microscope, subjects to partial (Fig. 4B) or almost total destruction (Fig. 4D). This might be a proof of the formation of a certain amount of AgBr (in the case of NaBr addition) or even prevailing amount of AgI (in the case of NaI addition). The chemical compositions were confirmed by the selected area electron diffraction (Fig. S6A and S6B).[†] The different action of iodide ions in comparison with chloride ions is also reflected in the obtained absorption spectra (see representative spectra after iodide addition in Fig. S5B)[†] when almost zero absorbance, between wavelengths of 500–900 nm, registered after 20 min since the NaI addition, gives further support for an absence of metallic nanoparticles in the system. Evidently, the highly concentrated solutions of bromides and iodides are not applicable for

activation of silver nanoparticle dispersion due to the precipitation of silver halogenides. It is well known that halide anions can serve as a precipitant of Ag^+ ions at a low concentration and a complexing agent at a high concentration of halides. The halide ions can react with the silver atoms and dissociate them from the surface of Ag particles. This phenomenon is known as the oxidative etching process.^{36–38} Henglein *et al.*³⁹ have reported that oxidative etching of silver particles is accelerated through the presence of complexing agents. They observed that ligands that coordinated more strongly with silver induced the oxidative etching at much faster rates. The suggested mechanism underlying this phenomenon was that the silver atoms on the surface are coordinated by halide ions and this action is accompanied with a simultaneous pick-up of the electrons by oxygen. Under such conditions, the varying behaviour of Br^- and I^- ions compared to Cl^- is therefore given by significantly higher stability constants of AgX_2^- complexes with Br^- and I^- ions ($\beta_1 = 3.23$, $\beta_2 = 5.15$ for AgCl_2^- , $\beta_1 = 4.68$, $\beta_2 = 7.70$ for AgBr_2^- , $\beta_1 = 6.58$, $\beta_2 = 11.7$ for AgI_2^-). In the case of bromides and iodides, etched Ag^+ ions are more firmly tied up into a respective complex compound and the subsequent recrystallisation of particles proceeds with a greater difficulty (Br^-) or almost not at all (I^-). In summary, it can be concluded that chloride ions in

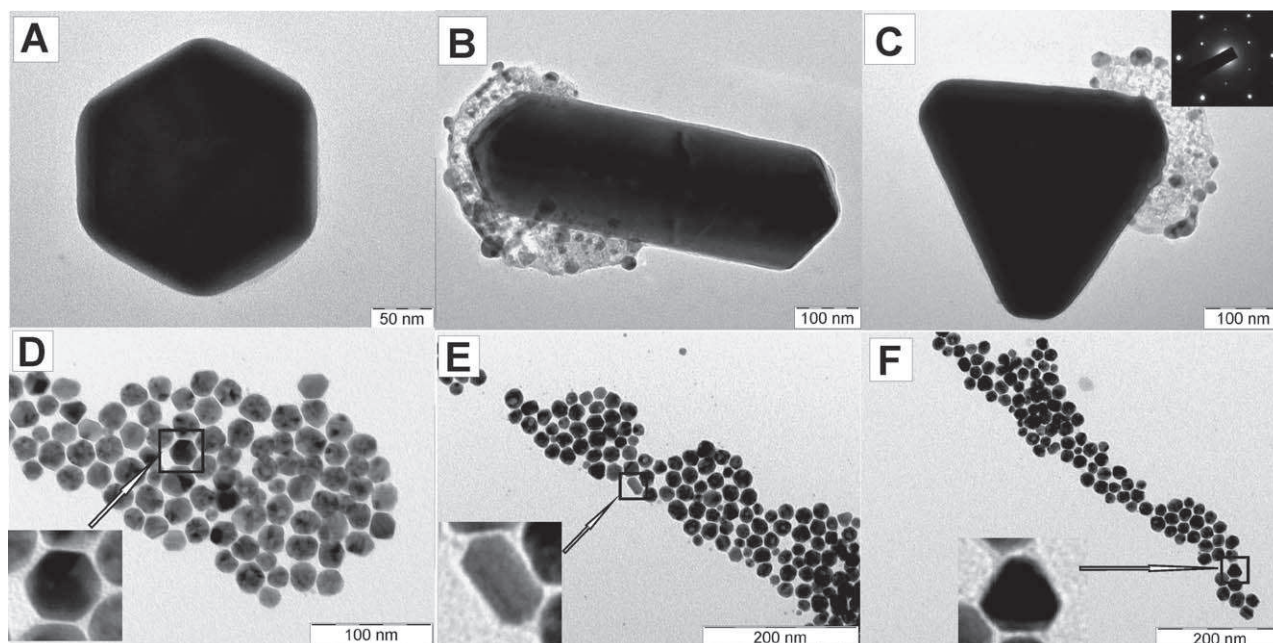


Fig. 3 TEM images taken 15 min after the addition of the 4 M NaCl solution exhibiting recrystallized Ag particles with various morphologies (A, B, C), and images of primary non-activated Ag NPs of the same crystal shapes (D, E, F).

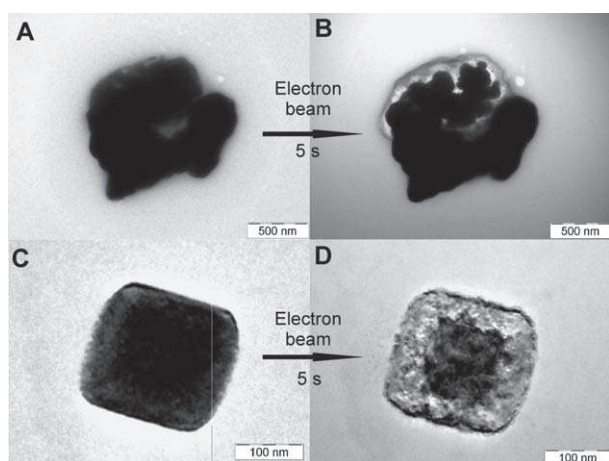


Fig. 4 TEM images demonstrating the electron beam induced transformation of particles formed after 15 min since the addition of the NaBr (A, B) and NaI (C, D).

a high concentration provide the optimal means for controlled re-crystallization of Ag NPs, while the solutions containing bromides, iodides and nitrate in the same concentrations are not able to induce the same activation effect.

In order to examine the role of oxygen in the chloride induced re-crystallization of Ag NPs, the dissolved oxygen was removed by bubbling argon in the solutions used. The sample was taken 15 min after the addition of NaCl solution and the transmission electron microscopy revealed large globular objects ranging from 2 to 3 μm in size (Fig. 5A). When these objects were explored in a high resolution mode, it was found out that they are composed of Ag NPs with dimensions of around 20 nm, which are well seen mainly on the aggregate surface (Fig. 5B). We can certainly conclude that, in the absence of oxygen, the aggregation of the

primary Ag NPs occurs as a predominant process, while their re-crystallization is suppressed. The question is how oxygen acts in this oxidative etching process. Xia *et al.*⁴⁰ have studied the similar phenomenon after the addition of chloride ions in the polyol synthesis of Ag NPs. In the presence of oxygen, they observed enhanced oxidation and preferential etching of twinned particles, leaving the single-crystals to grow. When this reaction was performed without the presence of oxygen, there was no oxidation to compete with the polyol reduction, and multiply twinned particles grew quickly into long nanowires.

The original Ag NPs (~ 30 nm), as well as the recrystallized Ag particles transformed after the addition of NaCl (~ 400 nm) were tested for application in surface enhanced Raman spectroscopy with adenine as a model analyte. SERS measurements were performed for the two excitation laser wavelengths (1064 nm and 488 nm). The final concentrations of adenine were 2.5×10^{-5} M ($\lambda = 1064$ nm) and 5×10^{-6} M ($\lambda = 488$ nm). Fig. 6A shows the typical SER spectrum of adenine recorded using the recrystallized Ag particles for the excitation wavelength of 1064 nm. When the diluted dispersion of the original Ag NPs (28 nm) without NaCl activation was used, no spectrum of adenine was registered (Fig. 6B). For the evaluation of enhancement, the Raman spectrum of adenine alone (concentration of 0.1 M) was measured without the presence of Ag NPs (Fig. 6C).

The enhancement of the Raman signal was monitored depending on the period of time that elapsed since the addition of the NaCl solution to the diluted dispersion of original Ag NPs (Fig. 6D). For an excitation wavelength of 1064 nm, the enhancement reached maximum between the 12th and the 16th minute. The increase in the enhancement during the first 12 min can be explained by an increase in the particle size caused by the re-crystallization process. After the mentioned time elapsed since the addition of sodium chloride, the particle size reached a value of around 400 nm, which is in good agreement with the

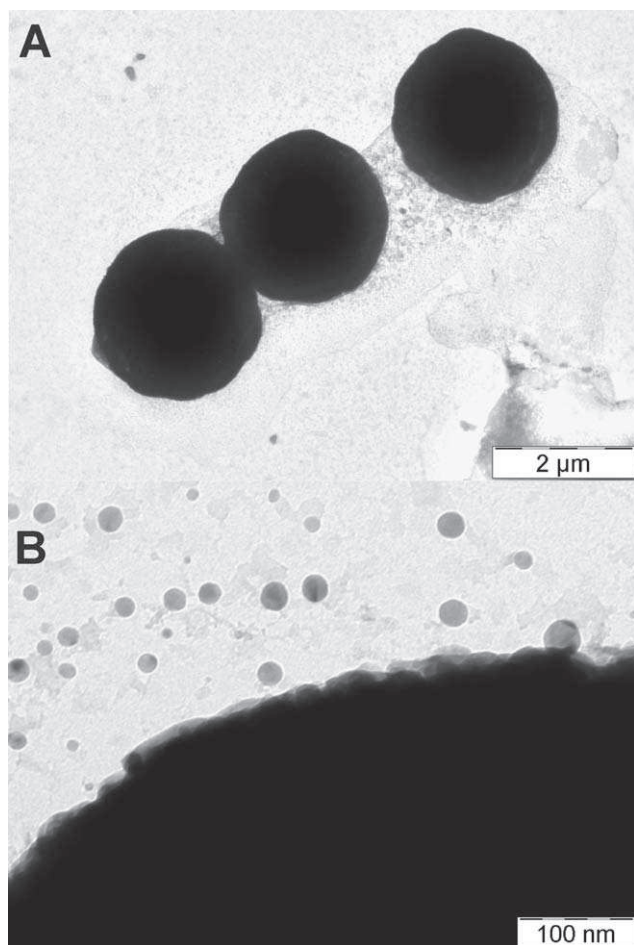


Fig. 5 TEM images of Ag aggregates obtained after the addition of NaCl (400 mM) using oxygen-free solutions (A). Detail of nanoparticles on the aggregate surface and in its near surrounding (B).

prediction of optimal size of silver particles based on previously published results regarding the dependence of enhancement of the Raman signal on the particle size for the given excitation wavelength.¹³ In the case of excitation at 488 nm, a considerable enhancement was achieved within two minutes after the addition of the NaCl solution. The size of Ag particles reached approximately 150 nm at this moment (Fig. 2C). Surprisingly, the enhancement grew further with the increasing particle size. This fact can be probably connected to the irregular surface of most Ag particles providing active sites for the enhancement and consequent investigation of this phenomena is under progress. Generally, it is well-known that chloride anions, in low concentrations (about 10 mM),^{20,21,24–27} induce the aggregation process and the junctions among silver nanoparticles (tens of nanometres) represent the active sites for the Raman signal enhancement. However, data presented in this work indicate that chloride ions (in high concentrations of about 400 mM) cause the formation of large silver particles (hundreds of nanometres), which are very efficient for the Raman signal enhancement.¹³

Accordingly, the presence of transformed Ag particles with dimensions of around 400 nm induced by 400 mM chloride ions is necessary for application in the NIR region. In summary, the mentioned facts would be of primary importance for the practical

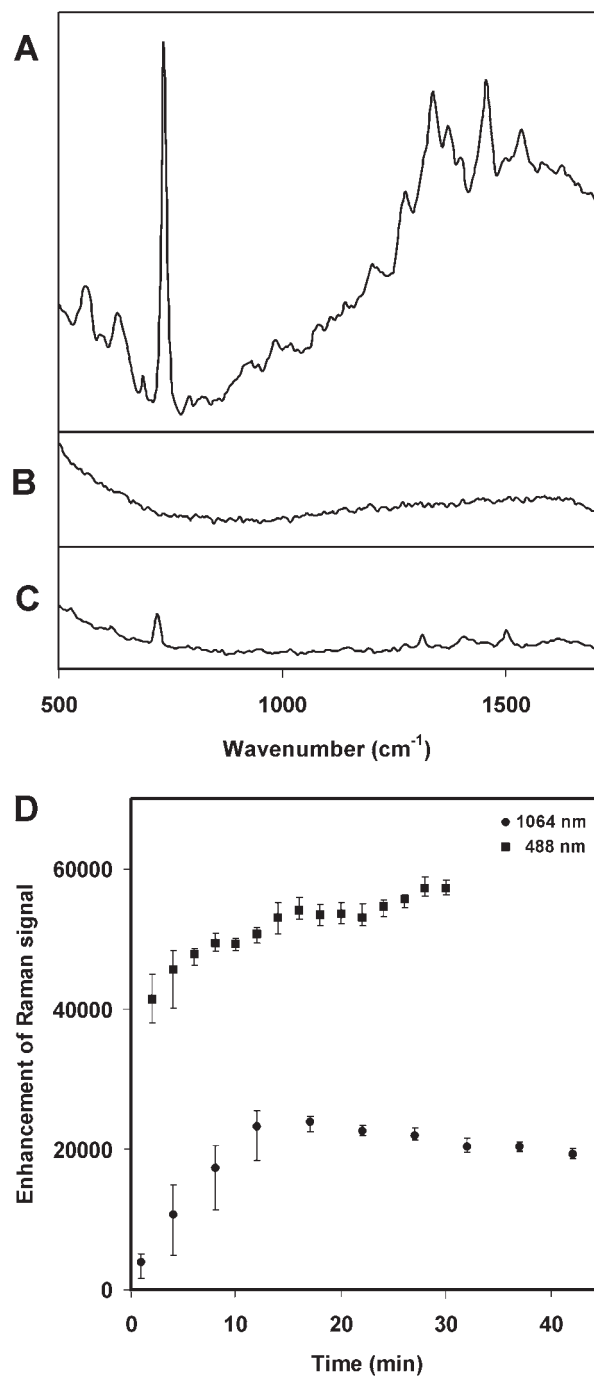


Fig. 6 Surface enhanced Raman spectrum of adenine in the presence of silver particles transformed by chloride ions (A). Raman spectrum of adenine in the presence of primary non-activated Ag NPs with (B). Raman spectrum of adenine in deionised water (C). All spectra were taken for an excitation wavelength of 1064 nm. Time dependence of enhancement of Raman signal of adenine after the addition of chloride ions for the excitation wavelengths of 1064 nm and 488 nm (D). The enhancement factor was determined by comparing the intensities of the most intensive peak in spectrum at 734 cm^{-1} .

use of the developed re-crystallization procedure in the surface enhanced NIR-visible Raman spectroscopy. It is worth to mention that when NaBr and NaI were used for the transformation of Ag NPs, no enhancement of the Raman signal of adenine was

recorded. This is in accordance with the above mentioned fact that application of Br⁻ and I⁻ anions in such high concentrations results in a formation of large amount of AgBr or AgI particles.

Conclusions

We described the simple and reproducible procedure how to activate silver nanoparticles (~30 nm) for an efficient application in the surface enhanced Raman spectroscopy. By adding the concentrated solution of chloride ions, we induced a rapid re-crystallization process towards larger silver crystals (~400 nm) providing a considerable enhancement of Raman signal with excitation in the near infrared region. This simple way to obtain SERS substrate possesses a great application potential in the analytical practice.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the support by the Operational Program Research and Development for Innovations - European Social Fund (project no. CZ.1.05/2.1.00/03.0058 of the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic). This work has been supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (project no. MSM6198959218, MSM6198959223, and 1M6198959201) and Czech Science Foundation (Project No. GAP304/10/1316).

References

- 1 M. Fleischmann, P. J. Hendra and A. J. McQuillan, *Chem. Phys. Lett.*, 1974, **26**, 163.
- 2 J. A. Creighton, C. G. Blatchford and M. G. Albrecht, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, 1979, **75**, 790.
- 3 W. Xu, J. X. Zhang, L. D. Zhang, X. Y. Hu and X. L. Cao, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2009, **9**, 4812.
- 4 J. Kneipp, H. Kneipp, A. Rajadurai, R. W. Redmond and K. Kneipp, *J. Raman Spectrosc.*, 2009, **40**, 1.
- 5 D. G. Thompson, A. Enright, K. Faulds, W. E. Smith and D. Graham, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 2805.
- 6 J. Kneipp; H. Kneipp; K. Kneipp., Surface-Enhanced Raman Spectroscopy-Based Optical Labels Deliver Chemical Information from Live Cells. In *New Approaches in Biomedical Spectroscopy*, Kneipp, K; Aroca, R; Kneipp, H; Wen trupByrne, E., ed. 2007; Vol. 963, pp 186.
- 7 C. Y. Wu, W. Y. Lo, C. R. Chiu and T. S. Yang, *J. Raman Spectrosc.*, 2006, **37**, 799.
- 8 K. Kneipp, Y. Wang, R. R. Dasari and M. S. Feld, *Appl. Spectrosc.*, 1995, **49**, 780.
- 9 S. M. Nie and S. R. Emery, *Science*, 1997, **275**, 1102.
- 10 K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L. T. Perelman, I. Itzkan, R. Dasari and M. S. Feld, *Phys. Rev. Lett.*, 1997, **78**, 1667.
- 11 J. Kneipp, H. Kneipp and K. Kneipp, *Chem. Soc. Rev.*, 2008, **37**, 1052.
- 12 L. Brus, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 2001, **221**, 112.
- 13 S. R. Emory, W. E. Haskins and S. M. Nie, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 8009.
- 14 R. L. Garrell, *Anal. Chem.*, 1989, **61**, 401A.
- 15 S. E. J. Bell and N. M. S. Sirimuthu, *J. Phys. Chem. A*, 2005, **109**, 7405.
- 16 N. R. Yaffe and E. W. Blanch, *Vib. Spectrosc.*, 2008, **48**, 196.
- 17 M. V. Canameres, J. V. Garcia-Ramos, S. Sanchez-Cortes, M. Castillejo and M. Oujja, *J. Colloid Interface Sci.*, 2008, **326**, 103.
- 18 Z. Jurasekova, J. V. Garcia-Ramos, C. Domingo and S. Sanchez-Cortes, *J. Raman Spectrosc.*, 2006, **37**, 1239.
- 19 P. C. Lee and D. Meisel, *J. Phys. Chem.*, 1982, **86**, 3391.
- 20 N. Leopold and B. Lendl, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 5723.
- 21 A. M. Michaels, M. Nirmal and L. E. Brus, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 9932.
- 22 Y. Maruyama and M. Futamata, *J. Raman Spectrosc.*, 2005, **36**, 581.
- 23 X. Q. Zou and S. J. Dong, *J. Phys. Chem. B*, 2006, **110**, 21545.
- 24 W. N. Leng, H. Y. Woo, D. Vak, G. C. Bazan and A. M. Kelley, *J. Raman Spectrosc.*, 2006, **37**, 132.
- 25 P. X. Zhang, Y. Fang, W. N. Wang, D. H. Ni and S. Y. Fu, *J. Raman Spectrosc.*, 1990, **21**, 127.
- 26 M. Campbell, S. Lecomte and W. E. Smith, *J. Raman Spectrosc.*, 1999, **30**, 37.
- 27 W. E. Doering and S. M. Nie, *J. Phys. Chem. B*, 2002, **106**, 311.
- 28 H. Bengter, C. Tengroth and S. P. Jacobsson, *J. Raman Spectrosc.*, 2005, **36**, 1015.
- 29 A. Otto, A. Bruckbauer and Y. X. Chen, *J. Mol. Struct.*, 2003, **661-662**, 501.
- 30 T. Dadosh, J. Sperling, G. W. Bryant, R. Breslow, T. Shegai, M. Dyschel, G. Haran and I. Bar-Joseph, *ACS Nano*, 2009, **3**(7), 1988.
- 31 W. Y. Li, P. H. C. Camargo, X. M. Lu and Y. N. Xia, *Nano Lett.*, 2009, **9**(1), 485.
- 32 L. Brus, *Acc. Chem. Res.*, 2008, **41**(12), 1742.
- 33 A. Panacek, L. Kvitek, R. Prucek, M. Kolar, R. Vecerova, N. Pizurova, V. K. Sharma, T. Nevecna and R. Zboril, *J. Phys. Chem. B*, 2006, **110**, 16248.
- 34 T. Jensen, L. Kelly, A. Lazarides and G. C. Schatz, *J. Cluster Sci.*, 1999, **10**, 295.
- 35 S. Schneider, P. Halbig, H. Grau and U. Nickel, *Photochem. Photobiol.*, 1994, **60**, 605.
- 36 S. H. Im, Y. T. Lee, B. Wiley and Y. N. Xia, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2005, **44**, 2154.
- 37 C. M. Cogley, M. Rycenga, F. Zhou, Z. Y. Li and Y. N. Xia, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 4824.
- 38 J. Yang, Q. B. Zhang, J. Y. Lee and H. P. Too, *J. Colloid Interface Sci.*, 2007, **308**, 157.
- 39 A. Henglein, T. Linnert and P. Mulvaney, *Berichte Der Bunsen-Gesellschaft-Physical Chemistry Chemical Physics*, 1990, **94**, 1449.
- 40 B. Wiley, T. Herricks, Y. G. Sun and Y. N. Xia, *Nano Lett.*, 2004, **4**, 2057.