

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie



Sonochemická depozice vrstev plasmonických  
nanočástic a jejich využití jako senzorů pro  
spektroskopickou detekci látek

RIGORÓZNÍ PRÁCE

Vypracovala:

Studijní obor:

Konzultant rigorózní práce:

Mgr. Barbora Štefková

Nanomateriálová chemie

doc. RNDr. Robert Prucek, Ph.D.

Olomouc 2022

Prohlašuji, že jsem tuto rigorózní práci vypracovala samostatně s využitím konzultací u doc. RNDr. Roberta Prucka, Ph.D. Dále prohlašuji, že jsem veškeré použité podklady a literaturu uvedla v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne .....

.....

Barbora Štefková

## Poděkování

Mé poděkování patří hlavně doc. RNDr. Robertu Pruckovi, Ph.D. za věnovaný čas, cenné rady a připomínky během konzultací. Také bych ráda poděkovala Mgr. Josefu Koppovi a Mgr. Tomáši Ingrovi za pořízení snímků z elektronového mikroskopu. Dále děkuji celé Katedře fyzikální chemie za umožnění vypracování této rigorózní práce.

## Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora:	Mgr. Barbora Štefková
Název práce:	Sonochemická depozice vrstev plasmonických nanočástic a jejich využití jako senzorů pro spektroskopickou detekci látek
Typ práce:	Rigorózní
Pracoviště:	Katedra fyzikální chemie
Konzultant práce:	doc. RNDr. Robert Prucek, Ph.D.
Rok obhajoby:	2022/2023
Abstrakt:	<p>Tato rigorózní práce je zaměřena na přípravu vrstev nanočástic stříbra pomocí sonochemické depozice z kapalně fáze na pevné podkladové substráty a jejich následné využití jako senzory pro detekci analytů o nízkých koncentracích. Stříbrné nanočástice byly nanášeny na podklady z oxidu hlinitého a z celulosy impregnované polyethyleniminem. K sonochemické redukci <math>[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+</math> byly jako redukční činidla využity maltosa a glukosa. Byl také studován vliv úpravy substrát před nanesením stříbra (aktivace v <math>\text{SnCl}_2</math> nebo nanesení vrstvy polydopaminu) na výslednou strukturu a plasmonické vlastnosti vrstvy. U takto připravených substrátů byla provedena rekrystalizace v roztoku <math>\text{NaCl}</math> o koncentraci <math>4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}</math> za účelem optimalizace jejich plasmonických vlastností. Struktura připravených vrstev byla studována pomocí elektronového mikroskopu (SEM) a plasmonické vlastnosti a využitelnost vrstev jako senzorů pro detekci látek pomocí povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie (SERS), kde byly k měření použity lasery o vlnových délkách 532 nm a 780 nm. SERS experimenty probíhaly na detekci modelového analytu adeninu o koncentraci <math>10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}</math>. Získané faktory zesílení ve obvykle pohybovalo v oblasti <math>10^5</math>, nejvyšší pak <math>10^6</math>. Všechny vrstvy byly také znovu otestovány 1 měsíc po jejich přípravě, aby mohla být zhodnocena jejich stabilita.</p>
Klíčová slova:	Vrstvy stříbra, sonochemická depozice, redukující sacharidy, povrchem zesílená Ramanova spektroskopie
Počet stran:	101
Jazyk:	čeština

## Bibliographical identification

Author's first name and surname: Mgr. Barbora Štefková

Title: Sonochemical method for plasmonic nanoparticle layers deposition and their utilization as sensors for spectroscopic detection of compounds

Type of thesis: Rigorous

Department: Department of Physical Chemistry

Consultant: doc. RNDr. Robert Pucek, Ph.D.

The year of presentation: 2022/2023

Abstract: This thesis focuses on silver nanoparticle layer preparation using sonochemical liquid phase deposition on solid phase base substrates and their subsequent utilization as sensors for the detection of compounds of low concentrations. Silver nanoparticles were deposited on aluminium oxide and polyethyleneimine-impregnated cellulose substrates. For the sonochemical deposition of  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  maltose and glucose were used as reducing agents. The influence of substrate pre-treatment (immersion in  $\text{SnCl}_2$  or polydopamine layer deposition) on the final silver layer structure and plasmonic properties was studied. Also, recrystallization in concentrated 4M NaCl solution was carried out on prepared substrates in order to optimize their plasmonic properties. The structure of the layers was studied by electron microscopy (SEM) and plasmonic properties were studied by surface enhanced Raman spectroscopy (SERS), and for that lasers of 532 nm and 780 nm wavelengths were used. SERS experiments were carried out by the detection of a model analyte ( $10^{-5}\text{M}$  adenine solution). The obtained enhancement factors were  $10^5$  for most samples and the highest one reached up to  $10^6$ . All the layers were tested once again after 1 month, so the layer stability could be evaluated.

Keywords: silver layers, nanoparticles, sonochemical deposition, reducing saccharides, surface enhanced Raman spectroscopy

Number of pages: 101

Language: Czech

# Obsah

1 Úvod.....	7
2 Teoretická část .....	9
2.1 Ramanova spektroskopie .....	9
2.1.1 Princip a teorie neelastického rozptylu záření .....	11
2.2 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie .....	15
2.2.1 Princip zesílení signálu .....	17
2.2.2 Materiály pro SERS .....	20
2.3 Využití stříbra v oblasti SERS .....	23
2.3.1 Interakce nanočástic stříbra s elektromagnetickým zářením a povrchový plasmon .....	23
2.3.2 SERS substráty s obsahem nanočástic stříbra.....	27
2.3.3 Možnosti využití vrstev obsahující nanočástice stříbra v SERS.....	30
3 Experimentální část.....	34
3.1 Chemikálie .....	34
3.2 Přístrojové vybavení a metody.....	35
3.3 Příprava vrstev stříbra .....	35
3.3.1 Úprava substrátů před nanosením vrstvy stříbra.....	35
3.3.2 Sonochemická depozice vrstev nanočástic stříbra.....	36
3.3.3 Úprava substrátu po nanosení vrstvy stříbra .....	37
3.4 Ramanova spektroskopie a SERS .....	38
4 Výsledky a diskuze .....	40
4.1 Depozice vrstev částic stříbra.....	40
4.2 SERS měření připravených substrátů a SEM charakterizace .....	41
5 Závěr .....	91
6 Summary .....	93
7 Literatura .....	95

# 1 Úvod

Vývoj a optimalizace analytických technik, které by umožňovaly snadnou a rychlou detekci širokého spektra látek o velmi nízkých koncentracích, které lze následně využít v nejrůznějších oblastech lidské činnosti, jako je kontrola kvality potravin [1–5], monitoring ovzduší či vod [6], forenzní aplikace [7–9] či biomedicína [10–16], je v současné době objektem vysokého zájmu. Typicky využívané metody s vysokou citlivostí a selektivitou, například spojení chromatografií s hmotností spektrometrií, jsou obvykle náročné jak na přístrojové vybavení, tak i co se týče přípravy vzorku tak i samotného času, který je potřeba k provedení samotné analýzy. Ramanova spektroskopie by mohla představovat vhodnou alternativu k těmto metodám a zároveň v některých oblastech přinést i značné výhody. Ramanovy spektrometry jsou v současnosti dostupné také jako přenosné a ruční přístroje s jednoduchým ovládním, což umožňuje provádět také *in-situ* měření. Samotný Ramanův proces, neelastický rozptyl záření, [17] je však jevem poměrně slabým a po interakci se zářením ho vykazuje pouze  $1/10^8$  molekul [18], což naznačuje, že je vhodný zejména pro koncentrované vzorky. Tento problém lze však velice snadno vyřešit použitím speciálních technik, zejména povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie (SERS – *surface enhanced Raman spectroscopy*) [19], kdy na základě interakce mezi nanostrukturovaným substrátem (typicky se jedná o plasmonické kovy Ag, Au nebo Cu) [20] a analytem adsorbovaným na jeho povrch lze získat výrazné navýšení intenzit Ramanova rozptylu, čímž extrémně snižujeme limity detekce a v některých případech lze detekovat i jedinou molekulu. [21–23] Získané zesílení je přímo závislé na struktuře a vlastnostech připraveného substrátu, zejména se jedná o materiál nanočástic, jejich velikost, tvar, stupeň agregace a jejich vzájemnou vzdálenost. [24–26] S rozvojem nanotechnologií jsou rozvíjeny i metody přípravy nanočástic kovů, čehož se dá využít právě pro přípravu optimálních SERS substrátů, které lze následně využít jako senzory pro detekci různých látek. Tyto senzory pak mohou být při vhodné povrchové úpravě substrátu vysoce selektivní, čehož se dá využít například pro detekci biomarkerů [27].

Tato práce je zaměřena na metodu sonochemické depozice nanočástic stříbra na dva odlišné podkladové substráty (oxid hlinitý a celuloza impregnovaná polyethyleniminem), které byly následně využity jako senzory pro detekci modelového analytu (roztok adeninu) pomocí povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie, a to za použití laserů o vlnových délkách 532 nm a 780 nm. Byl také zkoumán vliv různé

povrchové úpravy pokladů před depozicí na výslednou morfologii vrstev nanostříbra. U připravených vrstev byla také po depozici prováděná rekrytalizace v roztoku NaCl o koncentraci

$4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  stříbrných částic za účelem modifikace jejich plasmonických vlastností. Morfologie všech připravených senzorů byla studována pomocí skenovací elektronové mikroskopie a na základě získaných snímků byl sledován vliv struktury nanosených vrstev na hodnotu zesílení Ramanova signálu. Také byla sledována stabilita připravených substrátů po 1 měsíci od jejich přípravy.



## 2 Teoretická část

### 2.1 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je technika, která se zabývá měřením posunů ve frekvenci monochromatického záření, které je neelasticky odraženo od zkoumaného analytu, na základě interakce s jeho molekulami, která vede k změně vibračně-rotačních stavů, tedy přechodu molekuly do virtuálního excitovaného stavu. K získání neelasticky rozptýlených fotonů dochází při následné vibrační relaxaci. Tyto rozptýlené fotony mohou mít buď nižší frekvenci oproti monochromatickému zdroji záření, tehdy se jedná o Stokesův Ramanův rozptyl, a pokud je frekvence generovaných fotonů vyšší než frekvence původních, jde o anti-Stokesův Ramanův rozptyl, kdy foton získává energii z vazby v molekule. Tento jev nastává v případě, že se molekula již na začátku nachází v excitovaném vibračním stavu. V principu se jedná o techniku vibračně-rotací molekulové spektroskopie, která se zabývá sledováním rozdílů ve frekvenci primárního a získaného rozptýleného záření. Tento posun je přímo závislý na chemickém složení zkoumané látky, což předurčuje využití Ramanova rozptylu jako nástroje pro snadnou interpretaci a vysoce citlivou strukturní identifikaci chemických látek právě na základě jejich unikátních vibračních charakteristik. Ramanův jev je pozorován u molekul, při jejichž vibracích dochází ke změně polarizovatelnosti. Ta je důsledkem vychýlení atomů z jejich rovnovážných pozic během vibračního pohybu. Intenzita Ramanova rozptylu je pak úměrná velikosti změny polarizovatelnosti dané molekuly. [28]

Ramanova spektroskopie, respektive jev Ramanova rozptylu, byl objeven roku 1928 C. V. Ramanem, na jehož počest nese svůj název, a jeho studentem K. S. Krishnanem a to při jejich výzkumu, ve kterém se zabývali hledáním jevu, který by byl analogický ke Comptonovu jevu. V březnu toho roku vydali první publikaci, která se tímto jevem zabývá – „A New Type of Secondary Radiation“. [17] Objevení Ramanova jevu předcházelo pozorování depolarizace vody jako funkci vlnové délky, která se procentuálně rozdílně měnila pro červené, žluté, zelené, modré a fialové světlo. V dalších experimentech, byla K. S. Krishnanem zaznamenána fluorescence o nízké intenzitě při interakci záření s různými kapalinami (voda, acetaldehyd, alkoholy a další). Snaha o získání spekter této fluorescence z důvodu její příliš nízké intenzity selhávala, tudíž bylo nutné prodloužit čas měření. Získání jednoho spektra pak trvalo standardně několik hodin. Raman tato spektra představil během přednášky na setkání the South

Indian Scientists Association 16. března 1928. Celkem zaznamenali rozptýlené sekundární záření o nižších frekvencích u 60 kapalin a plynů. [29] V roce 1930 byla za objev Ramanova jevu udělena Nobelova cena.

Mnoho desetiletí však Ramanova spektroskopie nebyla ve srovnání s dalšími technikami vibračně-rotálních spektroskopií (NIR, FT-IR) příliš oblíbenou či vyhledávanou, a to z důvodu nízké intenzity získaného záření, jelikož pouze  $1/10^8$  interakcí mezi fotonem a Raman-aktivní molekulou vede k získání Stokesova nebo anti-Stokesova fotonu. Srovnání účinných průřezů Ramanova jevu a Rayleighova elastického rozptylu světla, při kterém se frekvence rozptýlených fotonů nemění, je popsáno v Rovnici 1

$$\left(\frac{\partial\sigma}{\partial\Omega}\right)_{Raman} \approx 10^{-3} \left(\frac{\partial\sigma}{\partial\Omega}\right)_{Rayleigh} \quad (1)$$

kde  $\sigma$  popisuje účinný průřez a  $\Omega$  úhel pozorování rozptýleného světla. [18]

Tím se Ramanova spektroskopie stává metodou, která se vhodná pro analýzy pouze koncentrovaných vzorků. [30]

Zároveň součásti Ramanových spektrometrů byly poměrně drahé a nevhodné pro *in-situ* měření. S rozvojem technologií a zároveň s vývojem nových metod, díky kterým je možné snižovat limity detekce při analýzách, bylo možné konstruovat finančně i uživatelsky příznivější přístroje, a to včetně mobilních či přenosných, díky kterým je možné analýzy realizovat i v terénu, což dělá z Ramanovy spektroskopie lukrativní nástroj pro strukturní analýzu s vysokým aplikačním potenciálem. [28] Nejen, že lze Ramanovu spektroskopii využít ke strukturní charakterizaci a identifikaci látek a, jelikož jde o metodu vysoce selektivní, lze ve spektrech pozorovat i velmi malé změny chemické struktury. [31] Při využití technik snižující detekční limit je možné analyzovat i látky o extrémně nízkých koncentracích, v některých případech lze detekovat i jedinou molekulu [21, 23, 32, 33] lze sledovat vazebné změny v látkách, které mohou probíhat například při vzniku produktů [34, 35] nebo při změně krystalické struktury vzorku [36].

Zároveň při srovnání s výše zmíněnými technikami vibračně-rotálních molekulových spektroskopií, infračervené (FT-IR) a blízké infračervené spektroskopie (NIR), u kterých je změna vibračních stavů vyvolána absorpcí infračerveného záření a kde se ve

spektrech projevují pouze ty vibrace, během nichž dochází ke změně dipólového momentu molekuly, Ramanova spektroskopie poskytuje několik zásadních výhod, které mají původ právě v rozdílných výběrových pravidlech a ve sledování rozptylu záření namísto jeho absorpce. Ramanovu spektroskopii je možné použít pro měření pevných, plynných i kapalných vzorků. Zde je hlavní výhodou oproti infračervené spektroskopii možnost měření vzorků ve vodných roztocích, jelikož voda poskytuje v Ramanově spektru signál velmi slabý. [31] Zároveň je možné provádět analýzy i přes transparentní obaly (sklo, plasty), v některých případech pomocí speciálních technik (SORS – *spatially offset Raman spectroscopy*) i neinvazivní měření skrz neprůhledné materiály (např: tkáň, neprůhledné povrchové úpravy, neprůhledné obaly). [37] Jedná se o vysoce selektivní metodu, komplementární k infračervené spektroskopii. Vysoká selektivita jí umožňuje identifikovat a rozlišit od sebe molekuly a chemické látky, které si jsou velmi podobné, a v jejich naměřených spektrech lze rozlišit i malé chemické změny.

### 2.1.1 Princip a teorie neelastického rozptylu záření

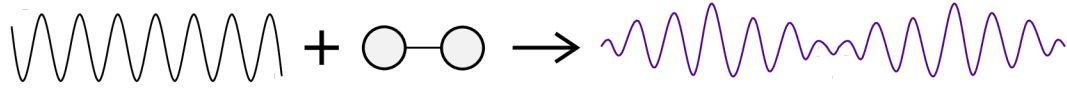
Ramanova spektroskopie využívá dvou-fotonový proces neelastického rozptylu světla – Ramanův jev. Podstatou Ramanova jevu je interakce molekuly a fotonu o energii, která svou velikostí převyšuje kvantum vibrační energie molekuly. Během tohoto procesu předává foton část své energie do vibrace molekuly a v důsledku toho je generován druhý foton o energii snížené právě o tento rozdíl (v tomto případě se jedná o zmíněný Stokesův rozptyl). Při tom dochází ke změně polarizovatelnosti vazeb v molekule. Polarizovatelnost lze definovat jako schopnost elektronového oblaku interagovat s elektrickým polem, během čehož se posunuje náboj v rámci molekuly a dochází k vytváření indukovaného dipólu. Ke změně polarizovatelnosti dochází v důsledku změny prostorové distribuce elektronového oblaku během vibrace. Ne všechny vibrace jsou však Ramansky aktivní. [38] Ve spektrech lze zaznamenat pouze ty, u kterých se při interakci s excitačním zářením mění s vibrační amplitudou  $Q$  jejich polarizovatelnost  $\alpha$ . [31]

$$\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \neq 0 \quad (2)$$

Zároveň také platí, že získaná intenzita získaného záření  $I_R$  je úměrná druhé mocnině změny polarizovatelnosti molekuly během vibračního pohybu. [38]

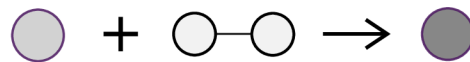
$$I_R \propto \left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q}\right)^2 \quad (3)$$

Fyzika Ramanova jevu může být popsána dvěma způsoby, a to buď klasickou vlnovou interpretací, kdy je na záření nahlíženo jako na elektromagnetickou vlnu (viz Obr. 1), které náleží oscilující elektrické pole interagující s hmotou skrze polarizovatelnost.



**Obrázek 1. Vlnová interpretace interakce záření s molekulou.**

Druhou možností, jak vysvětlit Ramanův jev, je skrz kvantově částicovou interpretaci záření (viz Obr. 2). Zde dochází při srážce fotonu s molekulou ke vzájemné interakci a generování neelasticky rozptýleného fotonu. [31]

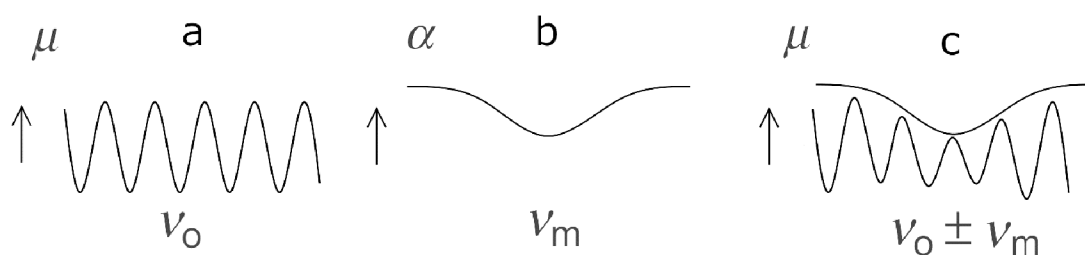


**Obrázek 2. Kvantově částicová interpretace interakce fotonu s molekulou a získání neelasticky rozptýleného fotonu.**

Běžný popis Ramanovy spektroskopie využívá k vysvětlení těchto interakcí oscilujícího elektrického pole klasický náhled. Elektrické pole  $E$  způsobí perturbaci nabitých částic v molekule a tím vznik indukovaného dipólového momentu  $\mu$ .

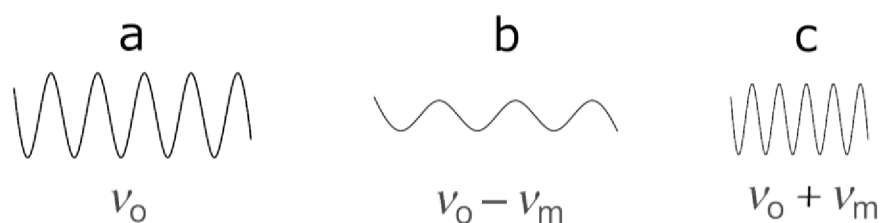
$$\mu = E \cdot \alpha \quad (4)$$

Elektrické pole a polarizovatelnost se v čase mění. Elektrické pole záření osciluje jako funkce času při určité frekvenci  $\nu_0$ , což vede k oscilaci indukovaného dipólu s totožnou frekvencí. Polarizovatelnost má velikost, jejíž hodnota se s časem může mírně měnit, ale s mnohem nižší vibrační frekvencí  $\nu_m$  oproti té, s jakou osciluje indukovaný dipól. Na Obrázku 3 je znázorněná výsledná modulovaná amplituda kmitání indukovaného dipólu molekuly.



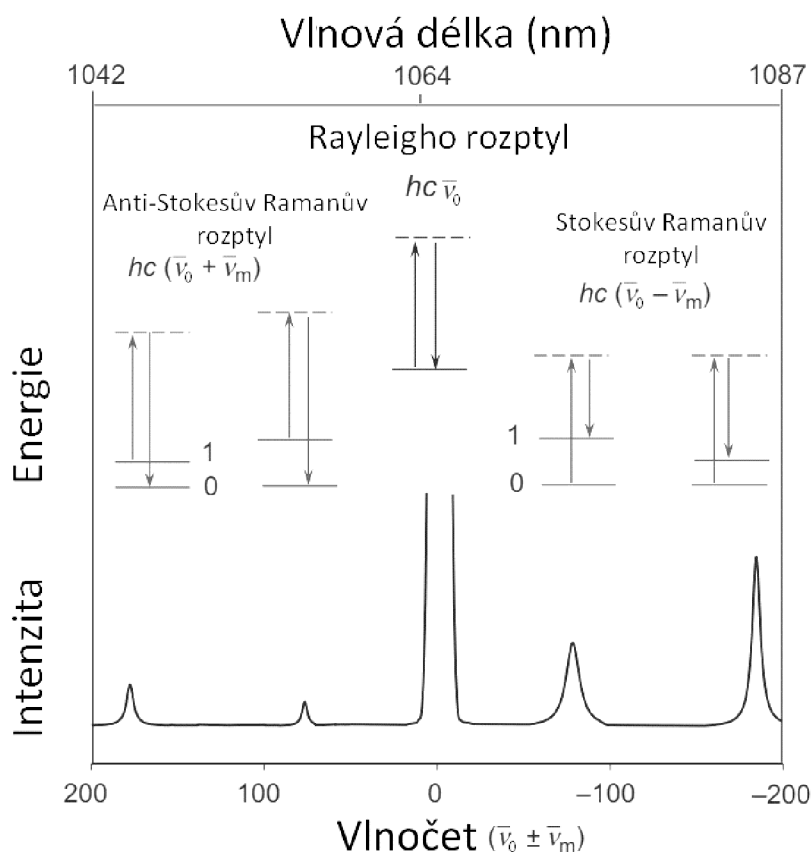
**Obrázek 3. Schématická reprezentace: (a) excitační záření přiměje indukovaný dipól  $\mu$  molekuly oscilovat frekvencí fotonu, (b) vibrace molekuly mění polarizovatelnost  $\alpha$ , která změni amplitudu oscilace dipólového momentu, (c) výsledkem je modulovaná amplituda oscilace dipólového momentu.**

Z takto modulované vlny lze matematicky získat tři vlny o různých frekvencích a velikostech amplitud, které jsou znázorněny na Obrázku 4. Jsou jimi Rayleighův rozptyl, Stokesův rozptyl a anti-Stokesův rozptyl. [38]



**Obrázek 4. (a) Rayleighův rozptyl, (b) Stokesův rozptyl, (c) anti-Stokesův rozptyl.**

Tyto tři získané rozptyly je možné pro lepší vizualizaci popsat pomocí kvantové částicové interpretace, kde je Ramanův jev popsán jako interakce fotonu a vazby v molekule s následným získáním rozptýleného fotonu s charakteristikami, které se odlišují od fotonu primárního. Toto je vyobrazeno na diagramu níže (Obr. 5), který znázorněna excitace molekuly fotonem do virtuálního metastabilního stavu. Při elastickém, Rayleighův rozptylu molekula zrelaxuje zpět do základního stavu a je generován foton o stejné energii jako měl foton excitačního záření. Pokud jde o neelastický rozptyl, mohou nastat dva případy. Nachází-li se molekula před excitací v základním stavu, může dojít po excitaci k relaxaci do vyšší energetické hladiny namísto do hladiny základní, a pak dochází k vyzáření fotonu o nižší energii, než měl původní foton. V tomto případě se jedná o Stokesův rozptyl. V případě, že se molekula již nachází mimo základní energetickou hladinu, poté po excitaci a následné relaxaci získáváme foton o vyšší energii a proces se nazývá anti-Stokesovým rozptylem. [31]



**Obrázek 5. Diagram Rayleigh, Stokesova a anti-Stokesova rozptylu; převzato a upraveno z [38].**

Většina molekul se však při laboratorní teplotě nachází v základním stavu, tudíž pravděpodobnost, že dojde k anti-Stokesovu posunu, je nižší. V důsledku toho většina Ramanovských měření bere v úvahu pouze Stokesův rozptyl, při kterém ve spektrech získáváme, oproti anti-Stokesovým pásům, vyšší intenzity.

Závislost intenzity pásů v Ramanových spektrech  $I_R$  na počtu molekul  $N$  vykazujících Ramanův efekt je popsána Rovnicí 5, kde  $I_0$  představuje intenzitu excitačního laseru,  $\nu$  je jeho frekvence,  $\alpha$  je polarizovatelnost a  $Q$  vibrační amplituda.

$$I_R \propto \nu^4 I_0 N \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)^2 \quad (5)$$

Z této rovnice zároveň vyplývá, že s vyšší intenzitou laseru anebo použitím kratší vlnové délky excitačního záření lze získat vyšší intenzitu pásů ve spektru. [38] Při volbě podmínek experimentu, tedy intenzitě laseru a jeho vlnové délce, je však třeba dávat pozor na to, aby nedošlo k vybuzení fluorescence či destrukci vzorku v důsledku vysoké intenzity budícího záření.

## 2.2 Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie

Jelikož většina molekul na základě interakce s monochromatickým zářením, při pořizování Ramanových spekter, poskytuje elasticky rozptýlené fotony s nezměněnou frekvencí (viz Rovnice 1), spontánní Ramanův jev je poměrně slabý [30] a může být značně omezen nízkou koncentrací analytu ve studovaném vzorku. [39] Zároveň pozorování Ramanova jevu ve spektrech může být limitováno skutečností, jak bylo zmíněno dříve, že použitý excitační laser může současně s Ramanovým rozptylem vybudit fluorescenci, která obvykle vykazuje o několik řádů silnější intenzitu. Toto obvykle nastává u biomolekul, které ve své struktuře obsahují fluorofor, který fluoreskuje, je-li vybuzen zářením s vlnovou délkou ve viditelné oblasti spektra. Problém fluorescence může být ve většině případů vyřešen použitím laseru s vlnovou délkou v oblasti blízkého infračerveného záření (běžně používané vlnové délky NIR laserů jsou např.: 780 nm, 785 nm či 1064 nm) nebo aplikací speciálních technik, která pomáhají zvyšovat intenzitu Ramanova signálu. [30] Jednou z těchto technik je povrchem zesílená Ramanova spektroskopie.

K objevu jevu zesílení Ramanova signálu v důsledku interakce analytu s vhodným substrátem došlo roku 1974 britským chemikem Martinem Fleischmannem. Ten během své práce zaznamenal neobvykle intenzivní Ramanův signál pyridinu, který byl naadsorbován na povrchu stříbrné elektrody. [19] Tento objev byl v následujících letech dále zkoumán a byl potvrzen v dalších studiích. [40, 41] Prvně byl tento efekt zesílení jednoduše přisuzován zvětšení aktivní plochy podkladu v důsledku jeho zdrsňení. To bylo ale vzápětí vyvráceno, jelikož tak výrazné zesílení signálu nemohlo pocházet pouze ze zvětšení plochy povrchu. [42] Následně se objevily hypotézy, že tyto neobvykle vysoké intenzity Ramanova rozptylu mají původ v existenci silných elektromagnetických polí na povřích kovových substrátů [41] nebo ve vytváření komplexů mezi molekulou a kovem [40]. Následovala teorie, která původ vysokých intenzit signálu přisuzovala optické excitaci kolektivně oscilujících elektronů na povřích kovových nanostruktur. [43, 44] V dalších studiích bylo potvrzeno, že povrchem zesílený Ramanův signál se skládá ze dvou příspěvků. První má původ chemickém efektu zesílení a druhý v efektu elektromagnetickém. Zároveň se celkové získané zesílení svou hodnotou pohybuje okolo  $10^{10}$ . [42, 45, 46]

Nezesílený Ramanův signál, který analyt generuje, lze zapsat jako:

$$P_{Raman} = KN\sigma_k I \quad (6)$$

kde  $P_{Raman}$  [foton/s] je Ramanův výkon změřený detektorem,  $K$  popisuje frakci fotonů, která je po emisi zachycena a detektorem konvertována na elektrony,  $N$  je počet molekul ozářených laserem,  $\sigma_k$  [cm<sup>2</sup>/molekula] je Ramanův účinný průřez k-tého vibračního módu integrovaný přes šířku pásu skrz všechny směry emise,  $I$  [foton/(cm<sup>2</sup>·s)] je intenzita použitého budicího laseru.

Ramanův signál a zesílený Ramanův signál získaný na základě interakce analytu a povrchu vhodné nanostruktury jsou společně svázány vztahem, který popisuje Rovnice 7.

$$P_{SERS} = G_{SERS} P_{Raman} = G_{SERS}^{EM} G_{SERS}^{CH} P_{Raman} \quad (7)$$

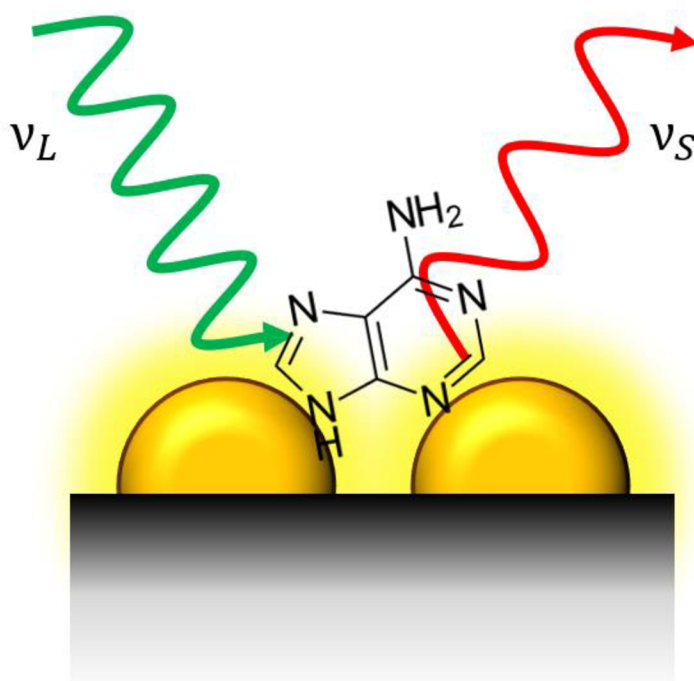
$G_{SERS}$  je faktor SERS zesílení signálu a představuje zesílení způsobené přítomností vhodného substrátu a skládá se ze dvou částí, které vyjadřují příspěvek elektromagnetického zesílení  $G_{SERS}^{EM}$  a chemického zesílení  $G_{SERS}^{CH}$ . [42]

Na základě tohoto získaného zesílení se povrchem zesílená Ramanova spektroskopie stává metodou pro rychlou, vysoce citlivou, nedestruktivní analýzu s širokým aplikačním potenciálem například v biochemických či biomedicínských oblastech, monitoringu životního prostředí, kontrole kvality jídla nebo ve forenzních aplikacích. [27, 47–51] Naproti tomu jako možnou nevýhodou měření, která využívají zesílení Ramanova signálu vhodně nanostruktovanými substráty, může být právě samotná příprava dostatečně kvalitního a homogenního substrátu poskytujícího konstantní intenzitu signálu s hodnotou zesílení Ramanova rozptylu 10<sup>5</sup> [20], a to zvláště tehdy, pokud je cílem měření nejen kvalitativní analýza, ale i kvantitativní. V posledních letech se nicméně vývoj SERS metod pro konkrétní aplikace a selektivní detekce a kvantifikace významných analytů a biomolekul (např.: kvantifikace biomarkerů, léčiv a drog, jejich metabolitů v tělních tekutinách, [52–55] nebo obsah kontaminantů v půdách [56] a vodách [57] nebo také detekce ilegálních aditiv, toxinů či pesticidů v potravinách [56]) značně rozvíjí, reprodukovatelnost SERS signálu je ovšem v mnoha případech nedostatečná pro použití v oblastech, které jsou přísně regulovány předpisy. Tato nízká reprodukovatelnost je způsobena vysokým počtem faktorů, které mají vliv na získané zesílení signálu. [58]



### 2.2.1 Princip zesílení signálu

Jak bylo řečeno v předchozí podkapitole, na efektu povrchem zesíleného Ramanova signálu se podílejí dva základní obecně uznávané mechanismy. Těmi jsou zmíněný elektromagnetický mechanismus a chemický mechanismus. Elektromagnetický mechanismus poskytuje výrazně vyšší zesílení Ramanova signálu při srovnání s chemickým mechanismem. Zesílení intenzity se zde pohybuje v oblasti okolo  $10^8$  a  $10^{10}$  v případech, nachází-li se molekula ve vysoce aktivním místě substrátu, tzv. hot-spotu, který může být tvořen například mezerou mezi blízkými sousedními plasmonickými nanočásticemi (viz Obr. 6) či ostrých hranách nanočástice.

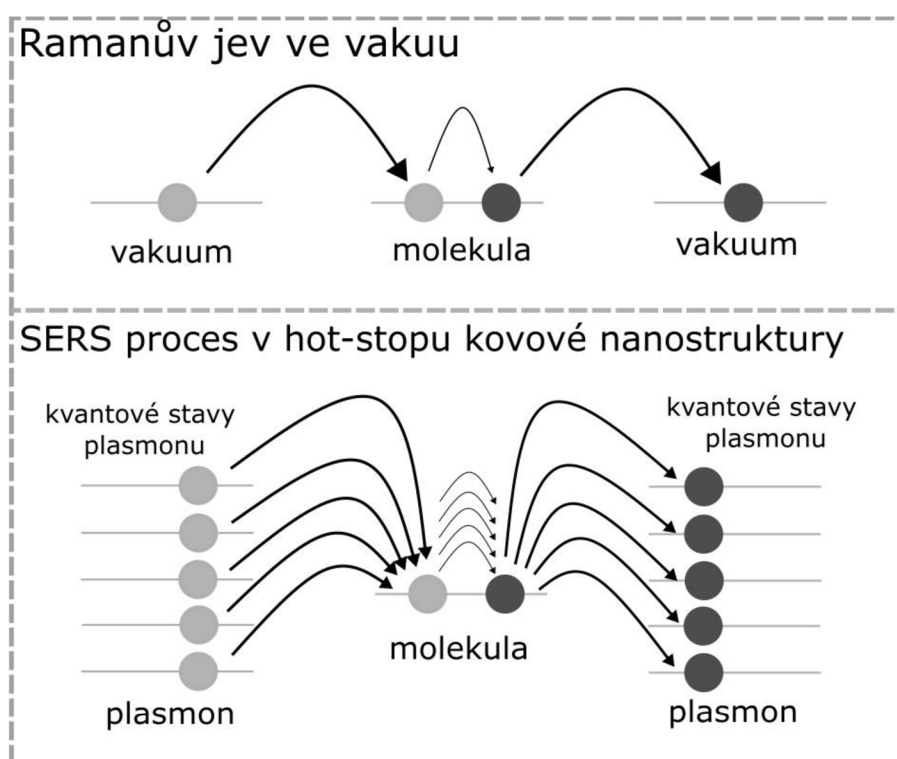


**Obrázek 6. Zesílení signálu molekuly nacházející se v hot-stopu mezi dvěma plasmonickými nanočásticemi.**

Tento typ mechanismu je považován za dalekodosahový – je zde nutné, aby se molekula pohybovala do vzdálenosti přibližně 10 nm od povrchu substrátu. Naproti tomu u chemického mechanismu, který bude detailně popsán posléze, je třeba, aby molekula byla sorbována v těsné blízkosti povrchu SERS substrátu, tj. vzdálenost 2 angströmů, tedy odpovídající průměrné délce chemické vazby. [20, 59]

Proces zesílení Ramanova signálu pomocí elektromagnetického mechanismu je založen na plasmonických vlastnostech typicky používaných SERS substrátů. Zesílení je zde podmíněno přítomností zkoumaného analytu na povrchu substrátu vhodně nanostrukturovaného plasmonického kovu (nejčastěji Ag, Ag, Cu), na kterém při

interakci s monochromatickým zářením (tj. laser využitý k získání Ramanových spekter) dochází k excitaci lokalizované rezonance povrchového plasmonu. Zároveň jde o proces přidružený k vlastnostem substrátu a na zkoumané molekule je nezávislý. Základem mechanismu elektromagnetického zesílení je navýšení hustoty lokálního pole, což je způsobeno vysokým počtem vodivostních elektronů plasmonických nanočástic kovů. Díky tomu molekuly v blízkosti jejich povrchů, v důsledku párování vstupního záření s oscilací povrchového plasmonu, získávají vyšší počet možností k přechodu do virtuálního excitovaného stavu a také k emisi Ramanovsky rozptýlených fotonů (viz Obr. 7). Navýšení hustoty lokálního pole navíc způsobuje navýšení rychlosti excitace molekuly i následné emise záření. [60]



**Obrázek 7. Srovnání Ramanova rozptylu ve vakuu a SERS efektu u molekuly, která se nachází v aktivním hot-spotu.**

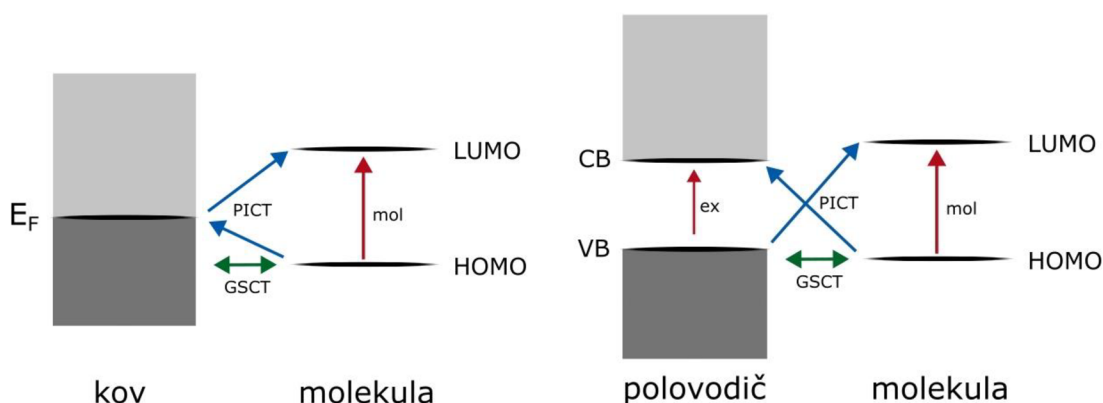
Toto zvýšení v počtu excitovaných fotonů a posléze i fotonů emitovaných lze označit výsledkem dvoukrokového zesílení pole, na kterém se podílí dva faktory. [60, 61] Prvním je lokální zesílení pole (zesílení excitačního pole) kdy excitace povrchového plasmonu indukuje výrazné prostorově lokalizované zesílení laserového záření. Molekula je tudíž vystavena daleko silnějšímu elektromagnetickému poli než molekula, která se v blízkosti plasmonické částice nenachází. [61] Druhým faktorem, který se na elektromagnetickém zesílení Ramanova signálu podílí, je dipólové re-radiační zesílení,

keré je způsobeno tím, že emise indukovaným dipólem molekuly o Stokesově frekvenci je závislá na prostředí, ve kterém se nachází. Tento jev je označován jako modifikovaná spontánní emise. Pokud se dipól nachází v homogenním prostředí, jeho emise se rozptyluje do okolí. V případě, že se kolem sorbované molekuly nachází nějaké překážky, elektromagnetické pole emitované dipólem se na nich rozptýlí a bude částečně odraženo zpět na dipól. Toto zpětně odražené záření bude mít vliv na to, jak bude probíhat emise dipólem, a tedy ho činí závislým na svém okolí. [20, 60, 62, 63] Jak excitační laser, tak i záření emitované dipólem mohou při interakci s kovovou částicí excitovat její povrchový plasmon, tudíž oba mechanismy mohou způsobit lokalizované zesílení optického pole v místě, v jehož blízkosti se nachází molekula. [20, 60, 62]

V případě, že dojde k propojení metody SERS s RRS (rezonanční Ramanova spektroskopie), je možné dosáhnout faktoru zesílení až  $10^{14}$ . [60] Rezonančního efektu dosahujeme v případě, má vstupní laser frekvenci blízkou nebo odpovídající frekvenci elektronové excitaci. Obvykle platí, že čím více se excitační energie přiblíží elektronové rezonanční frekvenci, tím intenzivnější pásy získáme. Při rezonančním Ramanově se efektu také dochází ke změně výběrových pravidel pro to, které vibrace budou Raman-aktivní. Přechody vyššího řádu, jako jsou overtóny a kombinované pásy, které se běžně v konvenčních Ramanových spektrech neprojevují, jsou při rezonančním Ramanovu efektu viditelné. [64]

Druhým mechanismem, který se podílí na zesílení Ramanova signálu, je mechanismus chemický, pomocí které dosahujeme zesílení v oblasti okolo  $10^2 - 10^4$ . [20] Zesílení je zde způsobeno chemickou interakcí mezi substrátem a adsorbovanou molekulou a je převážně založeno na vibronickém párování různých vibračních módů mezi molekulou a substrátem, na který je adsorbována. Toto párování molekuly může probíhat jak s nanostrukturovaným kovovým substrátem, tak i s polovodičem. [65] Jedná se o selektivní rezonanční proces, který je závislý na vlnové délce použitého laseru. Na základě párování mezi molekulou a substrátem vzniká nový stav, během kterého může dojít k vzájemnému fotonem-indukovanému přenosu náboje, a to v případě kdy se hraniční molekulové orbitály nachází v blízkosti Fermiho hladiny kovu. Přenos náboje může probíhat jak ve směru z kovu do molekuly, tak i z molekuly do kovu. Tento směr je určen relativní vzdáleností Fermiho hladiny kovu ( $E_F$ ) a hraničních orbitalů

molekuly. Excitace a následná emise Ramanovsky rozptýleného fotonu je zde vyvolána monochromatickým zářením, který je v rezonanci (nebo pre-rezonanci, tj. energie záření je nižší, než energie potřebná k excitaci na vyšší hladinu) [66] s tímto stavem mezi molekulou a kovem, a v důsledku toho mohou být určité Ramanovy pásy silně zesíleny. Zejména se pak jedná o ty, které jsou spárované s povolenými elektronovými přechody. [67] Pokud je SERS substrátem polovodič, dochází k přenosu náboje buď mezi nejvyšším obsazeným molekulovým orbitalem (HOMO – *highest occupied molecular orbital*) a vodivostním pásem okraje substrátu, anebo mezi valenčním pásem substrátu a nejnižším neobsazeným molekulovým orbitalem (LUMO – *lowest unoccupied molecular orbital*). [64, 65, 68] Porovnání mechanismů přenosu náboje v případech, kdy je jako SERS substrát použit plasmonický kov a polovodič (Obr. 8), kde šipky *PICT* (*photon-induced charge transfer*) popisuje transfer náboje mezi substrátem a molekulou, šipky *GSCT* (*ground-state charge transfer*) popisují přenosy nábojů mezi základními hladinami substrátu a molekuly na rozhraní fází, šipky *mol* popisují rezonanci v molekule a šipky *ex* excitonové rezonance, během kterých dochází k přesunu elektronů z valenčního do vodivostního pásu a vzniku excitonů. [69]



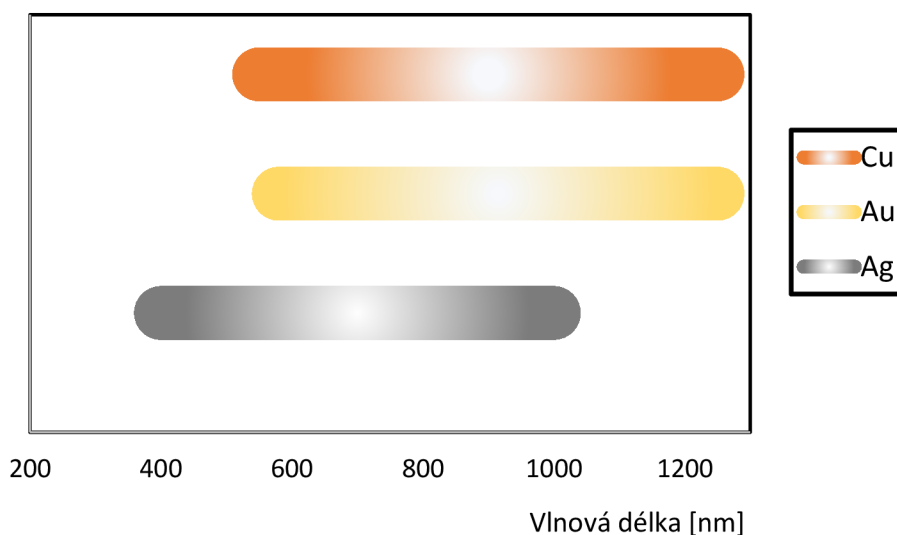
**Obrázek 8. Srovnání chemického mechanismu zesílení Ramanova signálu v případech, kdy je jako substrát použit plasmonický kov nebo polovodič.**

### 2.2.2 Materiály pro SERS

Pro úspěšné využívání techniky SERS, tedy pro úspěšnou detekci analytů o nízkých koncentracích, je klíčové zvolit materiál o optimálních vlastnostech, které zajistí kvalitu a reprodukovatelnost vlastního měření. Jak bylo zmíněno dříve, získané zesílení Ramanova signálu by mělo být alespoň  $10^5$ . [20] Povrch substrátu by měl být dostatečně zdrsňený, aby ve své struktuře poskytoval dostatečně množství aktivních míst (a pro kvantitativní analýzu je nutné počet těchto míst kontrolovat), a zároveň by

měl být homogenní, aby poskytoval konstantní odezvu signálu ve všech místech svého povrchu. Nutné je také, aby byl substrát mechanicky odolný a měl dobrou stabilitu, tedy aby nedocházelo k výrazné snižování intenzity získaného signálu v důsledku rychlé degradace substrátu v čase. [32] Pro přípravu takových substrátů je nutné využívat reprodukovatelné metody, které jsou jednoduché, časově a finančně přijatelné.

Jak bylo zmíněno dříve, pro povrchem zesílenou Ramanovu spektroskopii se typicky používají substráty obsahující nanočástice plasmonických kovů – zejména se jedná o Ag, Au a Cu, jelikož metody příprav jejich částic, které svými laditelnými plasmonickými vlastnostmi pokrývají viditelnou a blízkou infračervenou oblast spektra (tedy nejčastěji využívané oblasti SERS měření), jsou za posledních několik desetiletí již dobře prozkoumané a otestované. Oblasti použitelnosti těchto kovů jsou zobrazeny na Obrázku 9.



**Obrázek 9. Přibližné oblasti spektra, kde SERS substráty obsahující Ag, Au a Cu nachází uplatnění.**

Obecně jsou více využívány stříbro a zlato, jelikož ty jsou oproti mědi méně reaktivní. [20] Dále pak při srovnání stříbra a zlata, co se týče jejich využití v oblasti SERS, zlato je pro svou nižší toxicitu vyhledávané spíše pro *in vivo* biologické experimenty. Nicméně dosažitelné průměrné zesílení Ramanova signálu je u zlata typicky horší než u stříbra, což jsou spolu s vyšší cenou jeho hlavní nevýhody. [70] Naproti tomu je ale stabilnější než stříbro, které je při vystavení vzduchu náchylnější k oxidaci, a tudíž je třeba zachovávat vhodné podmínky skladování stříbrných substrátů, aby byla jejich dobrá aktivita v SERS zachována. Prodloužit životnost substrátů s obsahem stříbra lze

také pokrytím jejich povrchu ochrannou vrstvou oxidů ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ ) či uhlíkovými materiály jako jsou uhlíkové tečky nebo grafen. [71–74]

Mimo tyto kovy s povrchovým plasmonem vyskytující se ve Vis a NIR oblasti, byly zkoumány a testovány jako možné SERS substráty i další kovy jako jsou Al, Ga, In, Bi, Sn, Pb, Pt a Rh (zvláště pro rozvoj UV-SERS) a slitin kovů. U těchto materiálů je ovšem získané zesílení slabší ( $\sim 10^2$ ). [75–80]

V ranných experimentech byly nejčastěji využívány substráty na bázi plasmonických kovů buď ve formě koloidních disperzí, anebo jako jejich fólie či drátky, které byly chemicky/elektrochemicky naleptávány. Dnes lze nejčastěji využívané plasmonické substráty rozdělit do třech kategorií. První jsou disperze kovových nanočástic, druhou částice imobilizované jako vrstvy na pevných površích a do poslední kategorie spadají nanostruktury na pevných substrátech připravené pomocí nanolitografických technik. [32]

Jak bylo řečeno dříve, kovy nejsou jediným materiálem, pomocí kterého lze Ramanův signál zesílit. V posledních době bylo zkoumány a dále se rozvíjením možnosti využití některých polovodičů i izolantů jako substrátů pro SERS. [81–83] Tyto substráty oproti kovům poskytují atraktivní výhody – u kovů může při Ramanově jevu docházet k zahřívání, což může negativně ovlivnit strukturu analytu (např.: proteinu) [84], v některých případech může dojít k jeho dekompozici spolu s destrukcí substrátu. Při použití neabsorbujícího materiálu může být molekula stále vystavena silnému elektromagnetickému poli, aniž by docházelo k jejímu přehřívání. V důsledku toho může být měření provedeno s vyšším výkonem laseru, čímž může být získán lepší poměr Ramanova signálu a šumu tedy kvalitnějších spekter s vyšším zesílením.

U izolantů a polovodičů lze kontrolovat nejen velikost nanočástic, ale šířku mezi vodivostním a valenčním pásem, a díky tomu optimalizovat zesílení signálu. [83] Při použití nekovových substrátů se na zesílení Ramanova signálu může účastnit jak chemický, tak i elektromagnetický efekt. Elektromagnetického zesílení založeného na povrchovém plasmonu je však neskutečné dosáhnout, jelikož je k tomu vyžadována přítomnost vysokého počtu volných elektronů ve vodivostním pásu. Ten ale běžně není v izolantech hojně zaplněn. Silně dopované polovodiče byly zkoumány jako možnost pro zvýšení elektronové hustoty v tomto pásu, což umožňovalo excitaci plasmonové resonance ve viditelné a blízké infračervené oblasti. [20] Transparentní vodivé oxidy

jako je například cínem dopovaný oxid india (ITO – *indium tin oxide*), hliníkem dopovaný oxid zinečnatý nebo galiem dopovaný oxid zinečnatý byly v posledním desetiletí studovány a byla u nich pozorována plasmonová resonance v oblasti 1500–2000 nm (což ale není běžně využívaná oblast pro SERS měření). [85] Byly také zkoumány plasmonické vlastnosti, adsorpce a zesílení pole, například u nanočástic TiN a ZrN a bylo zjištěno, že jsou srovnatelné s vlastnostmi zlata, což tyto nitridy činí pro použití v oblasti SERS zajímavými. Zároveň jsou nestechiometrické, tudíž jejich struktura a optické vlastnosti mohou být modifikovány pro konkrétní aplikace. [85, 86]

## **2.3 Využití stříbra v oblasti SERS**

Jak bylo zmíněno, v oblasti povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie je stříbro jedním z nejčastěji využívaných plasmonických kovů a to jednak z důvodu, že stříbro obvykle poskytuje nejvyšší zesílení ze standardně používaných SERS substrátů a zároveň metody přípravy jeho nanočástic o konkrétních velikostech a tvarech jsou již velmi dobře prozkoumány a existuje celá řada typů metod a postupů přípravy. Tudíž je možné připravit SERS substráty s obsahem částic stříbra takřka na míru pro specifické aplikace, a to zejména díky laditelným plasmonickým vlastnostem, které lze upravovat právě pomocí přípravy částic o různých morfologiích a velikostech.

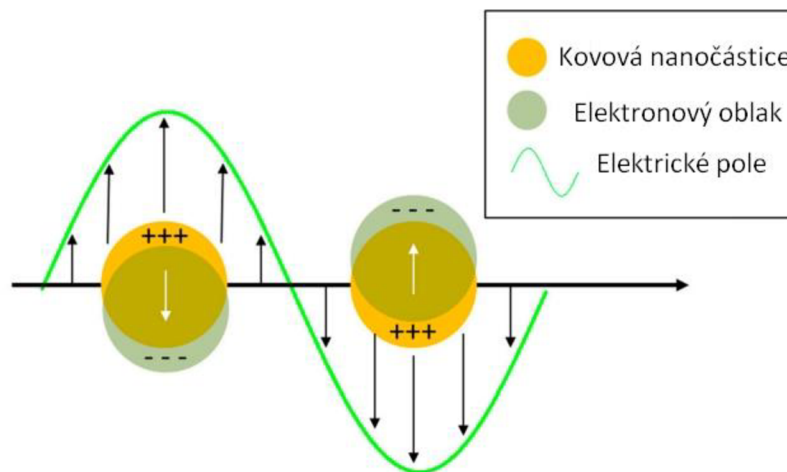
### **2.3.1 Interakce nanočástic stříbra s elektromagnetickým zářením a povrchový plasmon**

Optické vlastnosti nanočástic stříbra, které pramení z jeho interakce se svazkem elektromagnetického záření, jsou přímo závislé na velikosti a tvaru částic a také na dielektrické konstantě jeho okolí. Je nutné dodat, že optické vlastnosti nanočástic stříbra se značně liší od stříbra makroskopického. To je dáno takzvaným kvantově velikostním efektem (*quantum-size effect*). V případě makroskopického materiálu jsou jeho vlastnosti dány zprůměrovanými všemi kvantovými silami působícími na atomy, ze kterých tento materiál je. Se snižováním velikosti částic je nakonec dosaženo bodu, kdy průměrování už dále nefunguje. Chování atomů a molekul v malých klastrech ve srovnání s materiálem makroskopických rozměrů je popisováno právě jako kvantově velikostní efekt. Mimo to, přebytek povrchové energie, který výrazně narůstá se snižující se velikostí částic, také přispívá k jejich specifickým vlastnostem a ovlivňuje termodynamické chování kovových částic. [87] Dalším ovlivňujícím faktorem je omezená možnost pohybu elektronů uvnitř částice. Kovovou nanočástici lze obecně

popsat jako mřížku složenou z ionických jader s vodivostními elektrony, které se mohou téměř volně pohybovat uvnitř částice. [26]

Při interakci nanočástic stříbra s elektromagnetickým zářením nastává několik jevů, z nichž jsou pro tyto částice nejcharakterističtější rozptyl a absorpce. Uvažujeme-li koloidní disperzi nanočástic stříbra, tedy případ elektricky vodivého roztoku koloidních částic absorbujících záření, je intenzita tohoto záření při průchodu soustavou snížena a podmíněna dvěma jevy – jednak absorpcí jako takovou, ale také přeměnou světelné energie na tepelnou. Poloha absorpčního maxima této soustavy je výrazně závislá na velikosti částic, stupni polydisperzity soustavy, stupni agregace a na tvaru samotných částic. Obecně platí, že pro sférické monodisperzní soustavy malých částic je maximum poměrně ostré a s dalším snižováním velikosti částic se posouvá k nižším vlnovým délkám. Naopak se zvětšováním částic dochází k červenému posunu absorpčního maxima. [88] Absorpce záření nanočásticemi stříbra je výrazně ovlivněna rezonancí povrchového plasmonu s vlnovou délkou dopadajícího záření. Působí-li na nanočástice elektromagnetické pole, dojde k přesunu elektronů na jednu stranu jejich povrchu, což dává vniku záporného náboje v této oblasti a zároveň vzniká elektronový deficit na straně protilehlé. Tímto vzniká dipól, který generuje elektrické pole uvnitř částice, které je opačné k poli vnějšího záření, což vynucuje návrat elektronů do jejich rovnovážných pozic. Díky tomu vzniká elektronová oscilace s určitou rezonanční frekvencí. Tu v tomto případě označujeme jako plasmonovou frekvenci. Čím více jsou elektrony vychýleny, tím větší vzniká dipól a tím i větší vzniká síla, která ovlivňuje rezonanční frekvenci. Tento jev se označuje lokalizovaná povrchová plasmonová rezonance (LSPR – *localized surface plasmon resonance*), zobrazena na Obrázku 10, a jedná se o nejvýznamnější optickou vlastnost nanočástic stříbra (a dalších plasmonických kovů). [89]





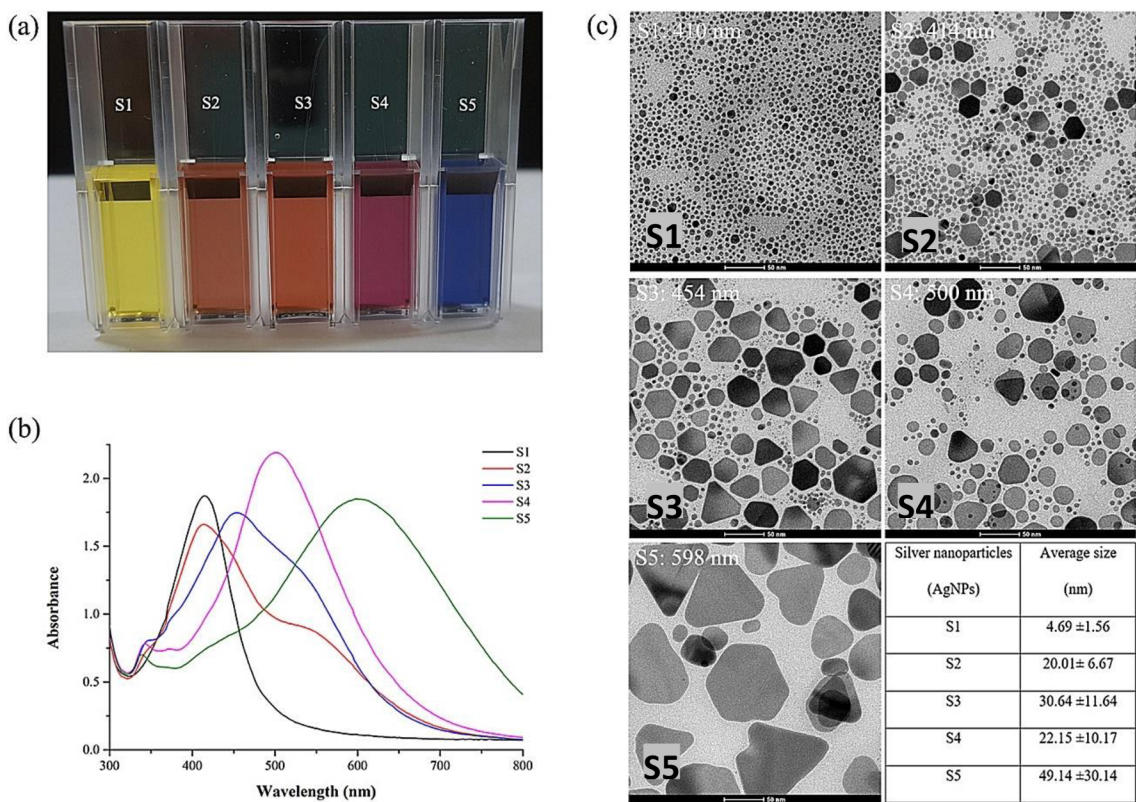
**Obrázek 10. Schéma kolektivní oscilace vodivostních elektronů nanočástice plasmonického kovu, převzato a upraveno z [20].**

Povrchový plasmon nanočástic stříbra přispívá k nárůstu kinetické energie a elektrostatických energií, které jsou spojeny s elektrickým polem dipólu. K tomu je třeba dodat částici energii. Zdrojem této energie je právě vstupní záření, a proto při excitaci povrchového plasmonu dochází jeho k částečnému oslabení. Čím vyšší je oscilace elektronů, tím více bude záření oslabeno, z čehož plyne, že absorpční spektra umožňují detekci excitace lokalizovaného povrchového plasmonu. Rezonanční frekvence povrchového plasmonu neagregovaných stříbrných nanočástic se obvykle nachází v UV-Vis oblasti spektra. [90] Účinnost absorpce nanočástic je dána jejím absorpčním účinným průřezem (*absorption cross-section*). Ten odpovídá geometrickému průřezu ideálně opticky nepropustné částice (dokonale absorbující každý foton interagující s jejím povrchem), která absorbuje stejné množství fotonů, jako daná reálná nanočástice.

Mimo absorpci může při interakci s částicí nastat také dříve zmíněný rozptyl, kdy dochází ke změně směru pohybu fotonů a také energie. Rozptylu je také možné přiřadit jeho účinný průřez (*scattering cross-section*). Ten je určen geometrickým průřezem takové částice, která ideálně rozptyluje záření (rozptýlí každý foton, který s ní interaguje) a která rozptýlí stejný počet fotonů jako reálná částice. Součtem těchto účinných průřezů je dán extinkční účinný průřez, který popisuje, s jakou účinností je schopná částice odebrat foton z primárního svazku záření. Maximální možná hodnota extinkčního účinného průřezu pro dokonalé opticky nepropustnou částici je její reálný průřez. Pro nanočástice stříbra je jejich účinný extinkční průřez až desetkrát vyšší než

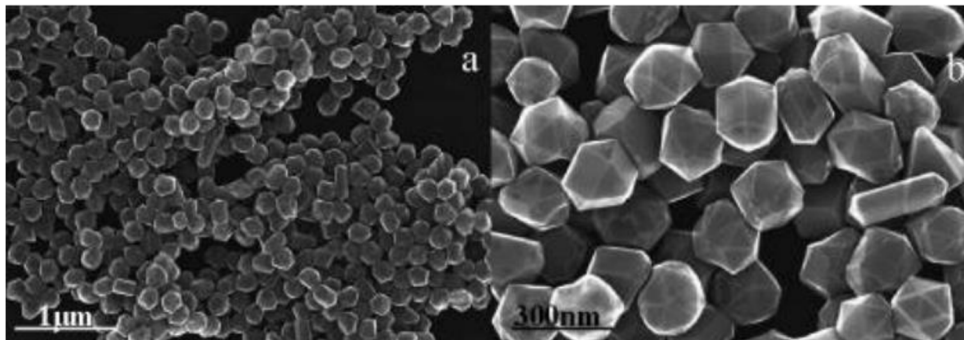
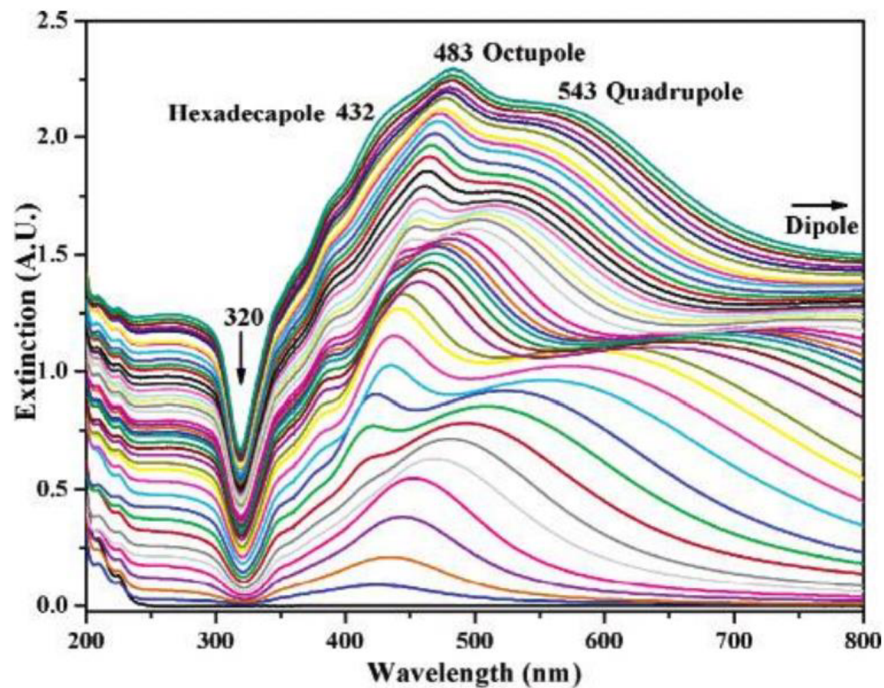
jejich reálný průřez. Díky tomu mohou nanočástice absorbovat a rozptylovat i fotony, které neinteragují přímo s jejich povrchem. [26]

Případ soustavy, která díky svému povrchovému plasmonu poskytuje ve spektru pouze jedno ostré absorpční maximum je ovšem poměrně specifický. Toto maximum poskytují dipólové rezonance malých sférických částic. Absorpční spektra plasmonů stříbrných nanočástic mohou být mnohem komplexnější, zejména v případech, kdy se v soustavě vyskytují větší částice nebo anizotropické částice a to v různých stupních agregace. Příklady absorpčních spekter pro disperze nanočástic stříbra o různých morfologiích jsou zobrazeny níže (Obr.11).



**Obrázek 11. Absorpční spektra disperzí nanočástic stříbra pro různé morfologie a velikosti nanočástic. Převzato z [91].**

V takových případech obvykle dochází k posunu absorpčního maxima k delším vlnovým délkám, vzniku nových maxim pro anizotropní částice, zvětšující se částice či agregáty s různou mezičásticovou vzdáleností, kde se mimo dipólové rezonance plasmonu začínají vyskytovat rezonance multipólové. Absorpční maxima vnikajících multipólových rezonancí jsou zobrazena na Obrázku 12. [92, 93]



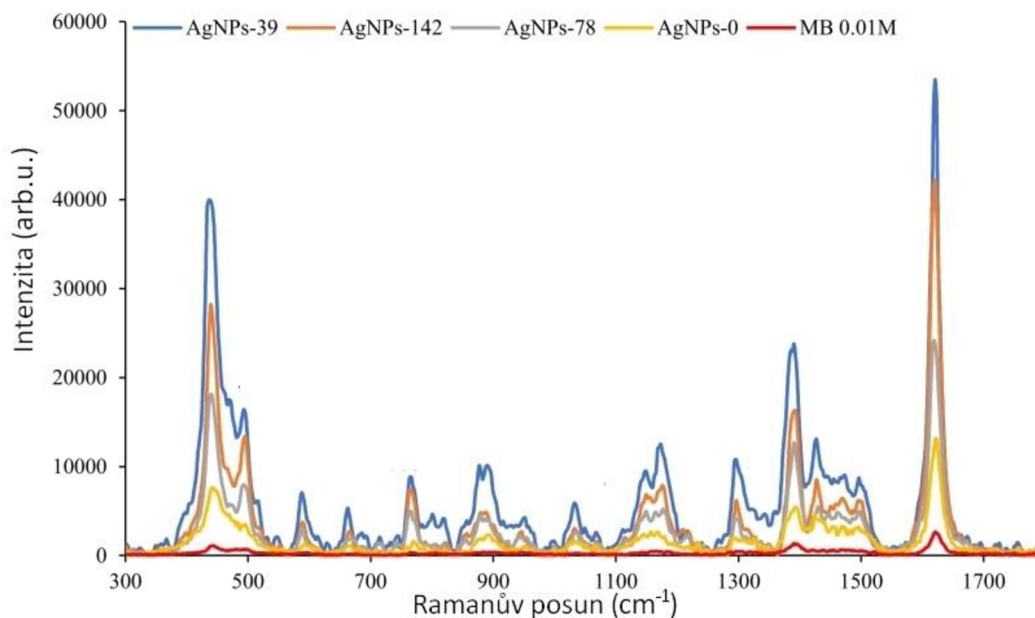
**Obrázek 12.** Extinkční spektra nanočástic stříbra připravených redukcí vodíkem. Měřeno v 15min intervalech během jejich růstu. Maximální velikost dosažená částic v rámci těchto experimentálních podmínek byla  $215 \pm 10$  nm – viz SEM snímky. Převzato a upraveno z [92].

Z tohoto plasmonického chování plyne, že vhodně volenou metodou přípravy substrátu, který obsahuje nanočástice stříbra, lze získat částice s absorpčním maximem plasmonu v takové vlnové délce, které je výhodná pro zamýšlené experimenty. Například pro SERS měření na biologických vzorcích je vhodné připravit substrát s plasmonem posunutým do NIR oblasti (typicky se používají lasery s vlnovou délkou 780 nm, 785 nm či 1064 nm pro FT-SERS měření) a to z důvodu nižší pravděpodobnosti vybuzení fluorescence u biomolekul. [16]

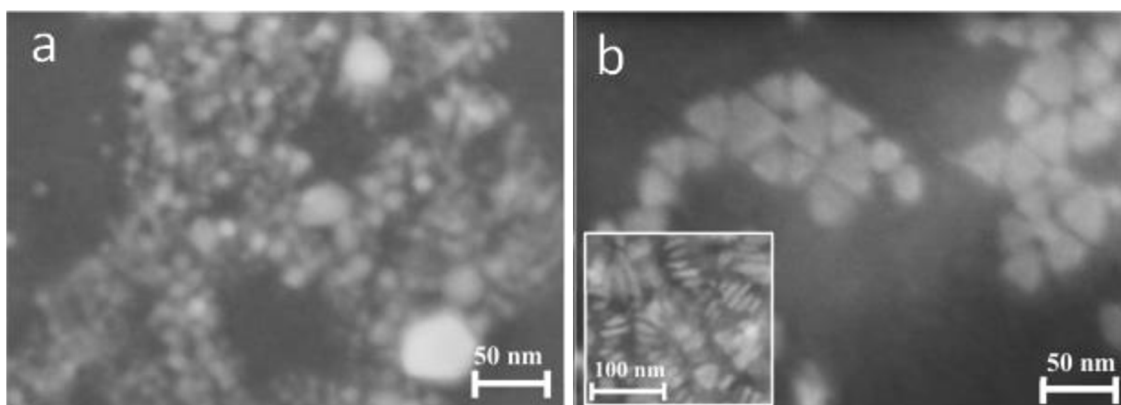
### 2.3.2 SERS substráty s obsahem nanočástic stříbra

Hodnota zesílení Ramanova rozptylu je závislá na vlastnostech připraveného substrátu, tedy tvaru a velikosti obsažených částic stříbra. Zdrsněné povrchy a ostré okraje

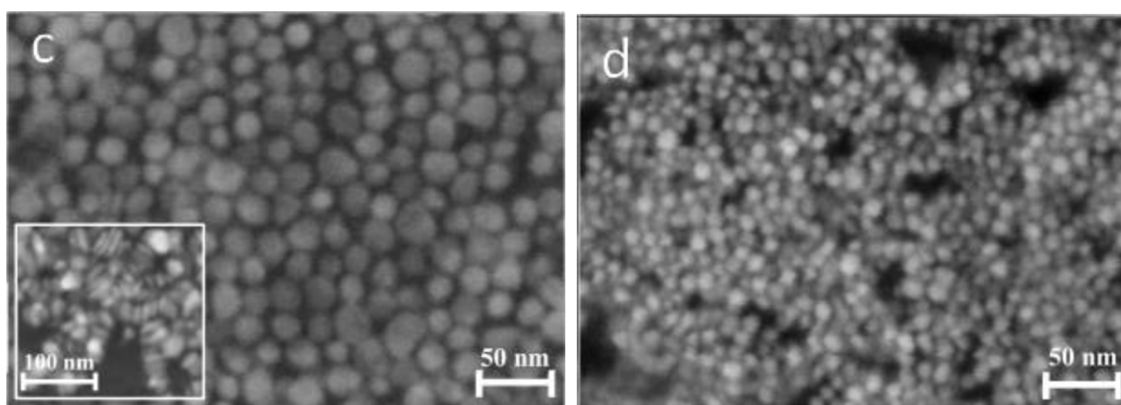
vykazují vysoké zesílení signálu díky velkému počtu hot-spotů s vysokou intenzitou pole. Proto je důležité volit vhodné syntézy a metody příprav, aby byl získán co nejdělejší substrát vykazující výraznou aktivitu v SERS. Pokud se k měření využívají substráty ve formě koloidů, je výhodné volit spíše ty s částicemi tvaru krychlí, nanohvězd, hranolů, trojúhelníků, kvazi-sfér nebo nanočástic s defekty, které ve srovnání se sférickými částicemi o stejných průměrech vykazují podstatně vyšší zesílení. [24, 25, 94] Toto je demonstrováno ve spektrech na Obrázku 13, kde jsou pro SERS měření methylenové modři využity koloidy s nanočásticemi stříbra tvarů planárních trojúhelníků, planárních hexagonů, kvazi-sfér a sfér. TEM snímky těchto částic jsou pak uvedeny na Obrázcích 14 a 15. Tyto koloidy byly připraveny jedнокrokovou redukcí  $\text{AgNO}_3$  pomocí  $\text{NaBH}_4$  v přítomnosti citrátu sodného, PVP a různé koncentrace  $\text{H}_2\text{O}_2$ , který zde plnil funkci leptačního činidla.



**Obrázek 13.** Vliv tvaru AgNPs na zesílení Ramanova signálu methylenové modři. AgNPs-39: planární trojúhelník, AgNPs-142: kvazi-sférická částice AgNPs-78: planární hexagon, AgNPs-0: sférická částice; převzato a upraveno z [24].



**Obrázek 14. TEM snímky a) AgNPs-0, b) AgNPs-39; převzato a upraveno z [24].**



**Obrázek 15. TEM snímky a) AgNPs-78, b) AgNPs-142; převzato a upraveno z [24].**

Pokud používáme koloidy, které obsahují malé sférické částice, které jsou poměrně stabilní v čase, lze využít k aktivaci koncentrovaný roztok chloridů, který iniciuje agregaci částic. V důsledku toho vznikají nová aktivní místa, což vede k navýšení SERS aktivity těchto koloidů. [95]

Další možností je využití substrátu, kde jsou nanočástice stříbra ukotvené na površích pevných substrátů. Tyto substráty lze připravit různými metodami. Lze použít elektrochemické techniky pro depozici, jejichž výhodou je, že experimentální podmínky je velmi snadné nastavit, čímž lze získat široké spektrum částic o různých velikostech, tvarech a vzájemnému rozmístění na povrchu substrátu. [96]

Ukotvit nanočástice na pevný povrch je možné také pomocí adsorpce. Známostou metodou k depozici sférických částic je silanizace skleněného povrchu pomocí (3-aminopropyl)trimethoxysilanu (APTMS). Přítomná methoxy skupina je nahrazena -OH skupinami na povrchu, což vede ke vzniku kovalentní -Si-O-Si- vazby. Koncová -NH<sub>2</sub> skupina APTMS je orientována volně do prostoru kapalně fáze. Substrát je následně ponořen do disperze stříbrných nanočástic a dochází k samovolné depozici

monovrstvy stříbrných nanočástic na jeho povrchu. Přítomná  $-NH_2$  skupina zároveň zabraňuje samovolné koalescenci vznikajících nanočástic, což se děje v případě jednoduchého umístění kapky disperze na povrch substrátu a jejího vysušení. Jedná se o velmi snadno modifikovatelnou metodu, lze pomocí ní získat širokou škálu nanočástic o různých morfologiích. Zároveň není nutné jako podklad použít pouze sklo, ale je možné využít také například křemík, Formvar, plasmou upravený teflon nebo cínem dopovaný oxid india. [97] K silanizace povrchu lze mimo APTMS použít i jiné organické spojovací molekuly obdobné struktury, jako je například (3-aminopropyl)triethoxysilan (APTES). [98] Dalšími možnostmi jaké sloučeniny využít jako spojovací molekuly využívající jak kovalentní tak i nekovalentní interakce k depozici stříbrných částic na podkladových substrátech mohou být organické polymery, polymerní dendrimery nebo například proteiny. [22, 99, 100] Částicemi stříbra je také možné různými metodami pokrýt mnoho typů materiálů, jako jsou vlákna, filmy nebo substráty pokryté polymerními vrstvami. V posledních letech stoupá zájem o přípravu SERS substrátů s využitím celulózových environmentálně přijatelných podkladů, na které může být stříbro nanášeno mnoha metodami od nakápnutí kapky, ponoření do disperze nanostříbra, tisknutí nanočástic na chromatografický papír, [101] přes využití speciálních per, [102] po fyzikální depozici z plynné fáze. [5]

### 2.3.3 Možnosti využití vrstev obsahující nanočástice stříbra v SERS

Vzhledem k širokému spektru SERS substrátu ve formě vrstev nanočástic stříbra, které lze vhodnými metodami připravit, tyto substráty mohou najít své využití v nejrůznějších oblastech lidské činnosti a to zejména v těch, kdy je třeba detekovat extrémně nízké koncentrace analytů za relativně krátkou dobu bez nutnosti časově náročných úprav analyzovaných vzorků, jako tomu je u jiných typicky používaných metod jako jsou například plynová chromatografie spojená s hmotností spektroskopii nebo elektrochemické metody, které se sice vyznačují svou přesností a citlivostí, nicméně také vyžadující komplexní laboratorní vybavení. Zároveň za další výhodu Ramanovy spektroskopie lze považovat možnost provádět také *in-situ* analýzy pomocí přenosných nebo ručních spektrometrů, což může přinést značné výhody, pokud jde například o detekci kontaminantů nebo polutantů ve vodních zdrojích. Kontrola kvality vody je jednou z významných oblastí zájmu současné doby, jelikož kvalita vody je zásadní jak pro lidské zdraví, tak i pro životní prostředí. Se stále rozsáhlejší lidskou činností se však zhoršuje v důsledku rozvoje průmyslu a zemědělství, díky čemuž vodní zdroje

mohou být znečištěny látkami jako jsou například biocidy, pesticidy, herbicidy, farmaceutické nebo průmyslové chemikálie. Ve vodách je možné pomocí SERS aktivních vrstev stříbra detekovat nejrůznější persistentní organické polutanty či polychlorované bifenyly, které jsou nebezpečné pro lidský organismus i v stopových koncentracích, pokud jde o chronickou toxicitu, a to z důvodu jejich těžké odbouratelnosti a výsledné bioakumulace. Například 2, 3, 3', 4, 4'-pentachlorovaný bifenyl byl v koncentracích v rozmezí  $10^{-4}$  až  $10^{-10}$  mol·dm<sup>-3</sup> analyzován pomocí vrstvy obsahující stříbrné nanotyčinky, která byla připravena technikou GLAD (*glancing angle deposition*) na křemíkovém substrátu. Pomocí této vrstvy byl 2, 3, 3', 4, 4'-pentachlorovaný bifenyl úspěšně detekován s limitem detekce  $10^{-8}$  mol·dm<sup>-3</sup>. [6] Pro detekci látek nejen v povrchových vodách, ale i jiných kapalinách, je možné také využít plovoucí stříbrné substráty sloužící k přímé detekci na rozhraní plynu s kapalnou fází. Tento typ substrátu se připravuje redukcí Ag<sup>+</sup> iontů v přítomnosti PVP (polyvinylpyrrolidon) na rozhraní kapalně a plynné fáze. Zkoumaná látka je pak vpravena do kapalně fáze pod stříbrný film. [103]

SERS aktivní vrstvy mohou také najít hojně využití v oblasti kontroly kvality potravin, kde je lze s úspěchem využít pro detekci reziduálních antibiotik, dále fungicidů, herbicidů a dalších látek běžně používaných v zemědělství či potravinářském průmyslu, v neposlední řadě lze v potravinách také detekovat ilegální aditiva a to na pevných substrátech jako na skle nebo flexibilních jako jsou substráty založené na celulosových vláknech, netkaných textiliích nebo flexibilních polymerech. [2] V oblasti kontroly kvality potravin byly vrstvy s obsahem stříbra testovány například k detekci dimethoátu, což je silný organofosfátový insekticid, který byl představen a patentován v 50. letech 20. století a v současné době je do Evropy zakázáno dovážet produkty, zejména ovoce a zeleninu, s jakýmkoli reziduálním množstvím této látky, jelikož nelze vyloučit její genotoxický potenciál, protože při jejím rozkladu vzniká mutagenní omethoát. [104] K této detekci byly testovány vrstvy sférických nanočástic stříbra, které byly připraveny Lee-Meislovou metodou [105], na povrchu tvořeným makroskopicky hladkým zlatým filmem naneseným na slídě. Pomocí tohoto substrátu byl dimethoát úspěšně detekován, a to s limitem detekce 0,1 mg·dm<sup>-3</sup>. [4] V jiné studii byl k detekci tohoto insekticidu použit skleněný substrát, na který byl nanesen roztok koloidních částic stříbra, do něhož byl předem přidán roztok KNO<sub>3</sub>, což iniciovalo jejich agregaci. Po nanesení koloidu na sklo byl koloidní roztok vysušen a mohlo být zahájeno měření. [3] Dalším příkladem

může být detekce karbarylových pesticidů pomocí vrstev nanosených na flexibilních substrátech, jako je například netkaná textilie, na kterou byly pomocí polydopaminové mezivrstvy deponovány nanočástice stříbra nepravidelných tvarů. Pomocí tohoto flexibilního substrátu byly provedeny stěry ze slupek různých druhů ovoce, na které byly nanášeny pesticidy o různých koncentracích, z nichž nejnižší detekovatelná byla  $10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . [1] Dalším oborem, kde je třeba detekovat nízké koncentrace nejrůznějších látek je forenzní chemie. Zde je možné vrstvy pro SERS využít v případě detekce nelegálních látek či jejich metabolitů v tělních tekutinách či stopových koncentracích těchto drog po jejich stěru z různých povrchů. Detekovat stopová množství kokainu lze pomocí zvrásněného substrátu, který byl připraven deponicí stříbrného nanočásticového inkoustu rotačním hlubotiskem na flexibilní termoplastický polyuretanový (TPU) substrát. Zvrásněná struktura substrátu byla zajištěna aplikací různého napětí na TPU substrát před samotným nanášením nanostříbra. [7] Ve forenzní oblasti se začíná také rozvíjet kombinace metody SERS s tenkovrstvou chromatografií (TLC-SERS), kde pomocí chromatografie na tenké vrstvě dojde k separaci jednotlivých složek ve zkoumaném komplexním vzorku a následně je na jednotlivé skvrny aplikována vrstva stříbrných nanočástic deponicí z koloidního roztoku. Poté probíhá detekce a identifikace jednotlivých složek ve vzorku. Kombinací těchto dvou metod lze úspěšně analyzovat řadu látek (amfetamin, kofein, kokain, kodein, diazepam, flunitrazepam, lidokain, methamfetamin, 3,4-methylenedioxyamfetamin (MDMA), fenobarbital). [8, 9]

Mimo detekci drog je dále možné SERS substráty využít k detekci léčiv, jejich metabolitů, patogenů, biomarkerů, čímž se dají odhalit různá onemocnění již v počátku (obzvláště je zájem o detekci markerů pro rakovinná onemocnění), nebo dalších významných látek v oblasti biomedicíny. Využití SERS k bioanalýze může odhalit bakteriální infekce v brzkém stádiu. [15] K detekci dopaminu, jehož abnormální koncentrace může souviset některými s neurologickými onemocněními jako je například Huntingtonova choroba, kde se vysokým hodnotám dopaminu u pacientů s tímto onemocněním připisuje podíl na vzniku typických nekontrolovatelných náhodných pohybů různých částí těla (chorea), [106] lze využít vrstvu nanohvězd stříbra na železném podkladu. Zde se uplatňuje peroxidáze podobná aktivita železného podkladu, která byla získána použitím substrátu pro ELISA metodu (*enzyme-linked immuno sorbent assay*) AzBTS-(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> jako signální SERS molekulu. Pomocí tohoto



substrátu bylo dosaženo limitu detekce pro dopamin  $0,32 \text{ pmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . [14] Dalším příkladem může být příprava senzoru pro detekci glukosy, který je tvořen skleněným podkladem pokrytým stříbrným filmem, který byl nanesen metodou kondenzace z inertní plynné fáze a následným nanesením 2-TBA (2-thienylboronic acid), která sloužila jako spojovací molekula mezi stříbrem a glukosou. Na senzor byl poté nanesen roztok glukosy, ten byl pak vysušen pod suchou dusíkovou atmosférou. Bylo dosaženo limitu detekce glukosy  $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . [13] Z dalších významných látek lze uvést detekci kyseliny močové, produkt metabolismu purinových nukleotidů, a je významným biomarkerem v moči a v séru, indikující abnormality metabolismu, silně koreluje s renální dysfunkcí při revmatoidní artritidě, kardiovaskulárními nemocemi a dnou. Vysoké koncentrace kyseliny močové se také vyskytují u pacientů s těžkou preeklampií. Detekovat je možné také kreatin v séru, jehož koncentrace úzce souvisí s onemocněním ledvin a rozsahem jejich poškození. Tyto látky byly zkoumány pomocí superhydrofobních vrstev připravených na skle redukcí Tollensova činidla glukosou a následnou modifikací povrchu různými thioley (butanthiol, hexanthiol, heptanthiol, oktanthiol, dekanthiol, 1-dodekantiol nebo oktadekantiol). Analyzovaný vzorek byl smíchán s koloidem obsahujícím stříbrné nanočástice o velikosti 20 – 80 nm a kapka této směsi byla umístěna na připravenou vrstvu a následně měřena. Tímto způsobem byly detekovány obě látky o koncentraci  $5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . [11] V neposlední řadě lze detekovat nejrozličnější biomarkery u pacientů s chronicky se nehojícími rány, kdy je využití tradičních technik (ELISA, LC-MS, a další) bylo pro stanovení mnoha biomarkerů a biomolekul, které by mohly vypovídat o zdravotním stavu pacienta, příliš zdoluhavé. K tomuto se dá s výhodou využít příprava vrstev na flexibilních podkladech, jako je flexibilní materiál založený na celulosových vláknech (použití skleněných či křemíkových pevných podkladů by bylo v případě nehojící se rány nepraktické), ne která se dají nanočástice stříbra nanášet mnoha různými metodami od namáčení do koloidního roztoku či jeho přefiltrování nebo inkoustový tisk. [12]

### 3 Experimentální část

#### 3.1 Chemikálie

Tabulka 1. Použité chemikálie.

Název	Výrobce
Adenin ( $\geq 99\%$ )	Sigma-Aldrich
Amoniak vodný roztok (28 – 30%)	Sigma-Aldrich
D-glukosa monohydrát (p.a.)	Lach-Ner
D-maltosa monohydrát (p.a.)	Sigma-Aldrich
Dopamin hydrochlorid ( $\geq 99\%$ )	Sigma-Aldrich
Dusičnan stříbrný (p.a.)	Fagron
Chlorid cínatý dihydrát (p.a.)	Sigma-Aldrich
Chlorid sodný ( $\geq 99\%$ )	Sigma-Aldrich
Kyselina chlorovodíková (35%)	Lach-Ner
Tris (p.a)	Lach-Ner

Pro všechny experimenty byla využívána demineralizovaná voda z přístroje AQUAL29 firmy MERCI o čistotě  $0,05 \mu\text{S}/\text{cm}$ .

Jako podklady k nanášení vrstev stříbra byly využity destičky POLYGRAM<sup>®</sup> určené pro tenkovrstvou chromatografii firmy Macherey-Nagel. Jednalo se o destičky pokryté 0,2 mm vrstvou oxidu hlinitého ( $\text{AlOx}$ ) a 0,1 mm celulosy impregnované polyethyleniminem (CEL-PEI).

## 3.2 Příkladové vybavení a metody

### Sonikace

Pro sonochemickou depozici vrstev nanočástic stříbra byl využit ultrazvukový homogenizátor typu Sonopuls Advanced HD4100 firmy Bandelin, společně s ultrazvukovou sondou TS 113 o průměru 13 mm.

### Ramanovova spektroskopie a SERS

K získání Ramanových spekter roztoku adeninu o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byl použit přenosný Ramanův spektrometr iRaman<sup>TM</sup>Plus od firmy B&W Tek, Inc. Vlnová délka excitačního laseru byla 785 nm a maximální výkon laseru 340 mW.

Pro měření SERS spekter roztoku adeninu o koncentraci  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byl používán Ramanův mikroskop DXR<sup>TM</sup> od firmy Thermo Fisher Scientific Inc. Měření probíhalo při těchto vlnových délkách: 532 nm (maximální výkon 10 mW) a 780 nm (maximální výkon 24 mW). U všech laserů byly používány full-range mřížky s rozlišením  $5,0 \text{ cm}^{-1}$  FWHM a disperzí  $2,0 \text{ cm}^{-1}/\text{CCD pixel}$ .

### Elektronová mikroskopie (SEM)

U vybraných substrátů byly pořízeny snímky struktury jejich povrchů skenovacím elektronovým mikroskopem Tescan VEGA3 na Katedře experimentální fyziky Mgr. Josefem Koppem a Mgr. Tomášem Ingrem. Měření probíhalo v režimu sekundárních elektronů (SE) a zpětně odražených elektronů (BSE – *backscattered electrons*). Použité urychlovací napětí bylo 5,0 kV, beam intensity 3 a zvětšení byla  $10\,000\times$  a  $50\,000\times$ . V práci jsou použity snímky z BSE režimu z důvodu lepší obrazové kvality, jelikož snímky z SE režimu byly v mnoha případech zkresleny rychlým nabíjením připravených vrstev. Obrazová analýza získaných snímků vrstev byla provedena pomocí softwaru *Digimizer*.

## 3.3 Příprava vrstev stříbra

### 3.3.1 Úprava substrátů před nanosením vrstvy stříbra

Před samotnou depozicí vrstev nanočástic stříbra, byly zvoleny dvě různé metody pro úpravu podkladových substrátů, které byly použity za účelem podpoření depozice nanočástic v důsledku zvýšení počtu aktivních redukčních center na površích oxidu hlinitého a celulosy impregnované polyethyleniminem. První úpravou bylo nanosení vrstvy polydopaminu, která se následně využívá k polydopaminem asistované depozici

stříbrných nanočástic. [1, 107] Druhou úpravou byla aktivace podkladového substrátu v  $\text{SnCl}_2$ , který se používá k podpoře redukce stříbrných iontů a typicky takto bývají aktivovány skleněné substráty. [108]

Pro nanesení polydopaminové vrstvy byly podkladové substráty o velikosti  $25 \times 30$  mm uchyceny do svorky a umístěny do kádinky s roztokem TRIS-HCl o koncentraci  $0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a o hodnotě pH 8,5. Roztok byl následně vytemperován na  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  a pak byl do reakční směsi přidán dopamin a jeho výsledná koncentrace byla  $2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Polymerizace probíhala za stálého míchání a byla ukončena po 30 minutách. [109] Poté byl substrát vyjmut a opláchnut vodou. Aktivace podkladu o totožných rozměrech v chloridu cínatém proběhla jednoduchým ponořením substrátu do 1% (w/w) roztoku  $\text{SnCl}_2$ , ke kterému bylo předem přidáno pár kapek kyseliny chlorovodíkové. Po vyjmutí z roztoku byl aktivovaný substrát opláchnut vodou.

Pro porovnání vlivu úpravy substrátu na následné nanášení stříbra a posléze na výslednou SERS aktivitu připravených vzorků byly vrstvy stříbra nanášeny i na substráty, které nijak upravovány nebyly.

### 3.3.2 Sonochemická depozice vrstev nanočástic stříbra

Depozice nanočástic stříbra na povrchy podkladových substrátů byla provedena kombinací modifikovaného Tollensova procesu [110] a sonochemické metody [111, 112], kdy byl dusičnan stříbrný redukován vybranými redukčními činidly – maltosou a glukosou. Během reakce byl aplikován ultrazvuk o parametrech  $20 \text{ kHz}$ , a amplitudou  $30 \%$ . Použití sonikace během jednokrokového reakčního procesu umožňuje získat specifické podmínky reakce, a to lokalizované oblasti o vysokém tlaku ( $>100 \text{ atm}$ ) a teplotě ( $>2000 \text{ K}$ ), což je způsobeno generováním vysokoenergetických hot-spotů během imploze vznikajících akustických kavit. [113] Vzorek byl uchycen do svorky a umístěn do plastové kádinky o objemu  $50 \text{ ml}$ . Do této kádinky byla umístěna ultrazvuková sonda typu TS 113. Pak byl do kádinky přidán roztok dusičnanu stříbrného, voda a následně vybrané redukční činidlo. Poté byla zahájena sonikace a ihned poté byl přidán roztok amoniaku. Použité reagenty pro přípravu stříbrných vrstev jsou uvedeny v Tabulce 2.

**Tabulka 2. Koncentrace použitých reagentů.**

	$\text{AgNO}_3$	$\text{H}_2\text{O}$	Redukční činidlo	$\text{NH}_4\text{OH}$
Výsledná koncentrace	$0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	-	$0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	$0,03 \%$

Reakce v ultrazvuku probíhala 5 minut a po jejím ukončení byl vzorek ještě nechán v reakční směsi další 3 minuty za účelem dalšího růstu nanočástic a další adsorpce částic stříbra z kapalně fáze na pevnou. Následně byl vzorek vyjmut, opláchnut destilovanou vodou a ponechán k vysušení při laboratorní teplotě.

### 3.3.3 Úprava substrátu po nanosení vrstvy stříbra

Za účelem optimalizace plasmonických vlastností vrstev stříbra byla u každého typu substrátu provedena aktivace v roztoku NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Během této aktivace může na vrstvách docházet k rekrystalizacím stříbrných částic, k jejich růstu skrz Ostwaldovo zrání či ke vzniku shluků a agregátů na povrchu podkladových substrátů, což může vést k tvorbě většího počtu hotspotů o vyšší SERS aktivitě a tím k získání vyššího zesílení Ramanova signálu. Před samotnou aktivací byl každý vzorek rozpůlen a aktivace byla provedena pouze u jedné jeho poloviny, aby bylo následně možné srovnat jejich vlastnosti a vyhodnotit vliv této aktivace na SERS měření. Aktivace byla provedena ponořením vzorku do roztoku NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  po dobu 6 minut. Po uplynutí této doby byl vzorek vyjmut, opláchnut destilovanou vodou a ponechán k samovolnému vysušení při laboratorní teplotě.

V následujících Tabulkách (Tab. 3,4,5,6) je uveden přehled všech vzorků, které byly připravovány.

**Tabulka 3. Vrstvy nanočástic stříbra připravené na  $\text{AlO}_x$  s využitím maltosy jako redukčního činidla.**

Substrát	Redukční činidlo	Úprava před sonikací	Úprava po sonikací (4M NaCl)	Označení vzorku
AlO <sub>x</sub>	Maltosa	-	-	A1-n
			+	A1-n-Cl
		Polydopamin	-	A1-P
			+	A1-P-Cl
		SnCl <sub>2</sub>	-	A1-Sn
			+	A1-Sn-Cl

**Tabulka 4.** Vrstvy nanočástic stříbra připravené na CEL-PEI s využitím maltosy jako redukčního činidla.

Substrát	Redukční činidlo	Úprava před sonikací	Úprava po sonikací (4M NaCl)	Označení vzorku
CEL-PEI	Maltosa	-	-	C1-n
			+	C1-n-Cl
		Polydopamin	-	C1-P
			+	C1-n-Cl
		SnCl <sub>2</sub>	-	C1-Sn
			+	C1-Sn-Cl

**Tabulka 5.** Vrstvy nanočástic stříbra připravené na AlO<sub>x</sub> s využitím glukosy jako redukčního činidla.

Substrát	Redukční činidlo	Úprava před sonikací	Úprava po sonikací (4M NaCl)	Označení vzorku
AlO <sub>x</sub>	Glukosa	-	-	A2-n
			+	A2-n-Cl
		Polydopamin	-	A2-P
			+	A2-P-Cl
		SnCl <sub>2</sub>	-	A2-Sn
			+	A2-Sn-Cl

**Tabulka 6.** Vrstvy nanočástic stříbra připravené na CEL-PEI s využitím maltosy jako redukčního činidla.

Substrát	Redukční činidlo	Úprava před sonikací	Úprava po sonikací (4M NaCl)	Označení vzorku
CEL-PEI	Glukosa	-	-	C2-n
			+	C2-n-Cl
		Polydopamin	-	C2-P
			+	C2-n-Cl
		SnCl <sub>2</sub>	-	C2-Sn
			+	C2-Sn-Cl

### 3.4 Ramanova spektroskopie a SERS

Pro zhodnocení efektivity připravených vrstev jako senzorů pro detekci analytu o nízkých koncentracích pomocí povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie byl jako modelová molekula pro experimenty zvolen adenin. A to z důvodu, že při experimentech s lasery o 532 nm a 780 nm nedochází k rezonanci, na chemickém charakteru analytu je tedy zesílení nezávislé a lze přisoudit pouze vlivu plasmonického substrátu. Adenin se díky své struktuře, ve které je obsažen purinový dusík, snadno adsorbuje na stříbrné částice. Zároveň je výhodou, že Ramanova a SERS spektra

adeninu obsahují úzký snadno rozpoznatelný pík, který se vyskytuje v oblasti 725 – 738  $\text{cm}^{-1}$  Ramanova posunu, pocházející z tzv. dýchacích vibračních přechodů adeninu. [114]

Nejprve bylo zaznamenáno Ramanovo spektrum roztoku adeninu o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Toto spektrum bylo změřeno na spektrometru iRaman<sup>TM</sup>Plus z důvodu vyššího maximálního výkonu laseru a poskytnutí vyšších intenzit pásů ve spektru.

Všechna měření SERS spekter adeninu o koncentraci  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byla provedena ve třech různých bodech každé připravené vrstvy. Tato měření probíhala na Ramanově mikroskopu DXR s vlnovými délkami 532 nm a 780 nm. Měření bylo zopakováno 1 měsíc po přípravě vrstev za účelem zhodnocení jejich stability a efektivity. Parametry měření jsou uvedeny v následující tabulce (Tab. 7).

**Tabulka 7. Parametry měření Ramanových a SERS spekter.**

Vlnová délka [nm]	Výkon laseru [mW]	Počet expozičních pozadí	Počet expozičních vzorků	Čas jedné expozice (s)
785	340	6	6	30
780	3	10	10	3
532	0,5	10	10	3

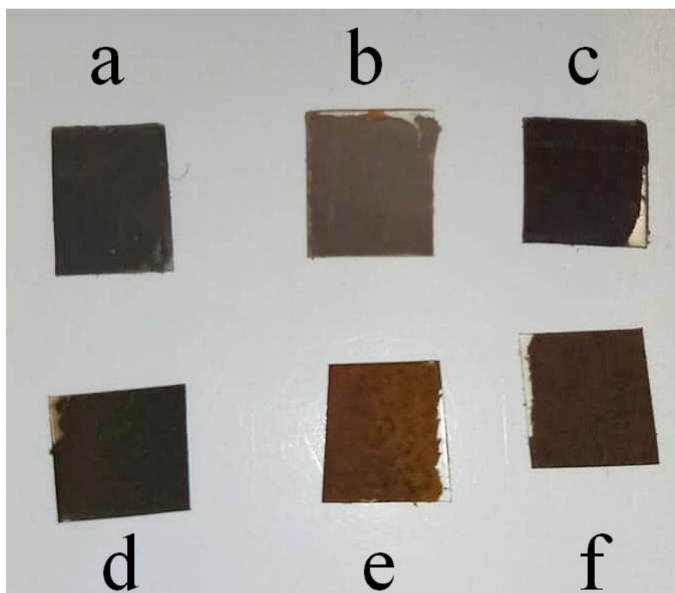
Pro jednotlivá měření byla vždy z připraveného substrátu vystřižena oblast o velikosti přibližně  $5 \times 5 \text{ mm}$ . Detekce roztoku adeninu o koncentraci  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byla provedena nanesením kapky tohoto roztoku o objemu  $5 \mu\text{l}$  na připravenou vrstvu. Pokud byl tvar kapky stálý na připraveném substrátu, měření probíhalo středem kapky s laserem zaostřeným na rozhraní mezi kapkou roztoku a povrchem substrátu. Pokud kapka roztoku byla sorbována substrátem, paprsek laseru byl zaostřen na povrch substrátu do místa, kde se před vstřebáním nacházel střed kapky.

Roztok adeninu o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byl také proměřen na destičkách pokrytých oxidem hlinitým a celulosou impregnovanou polyethyleniminem, které nebyly modifikovány nanočásticemi stříbra. Během měření s laserem o vlnové délce 532 nm byla vybudena výrazná fluorescence podkladových destiček, proto byl roztok adeninu proměřen také na mikroskopickém podložním skle, protože sklo už tak silné pozadí ve spektru nevykazovalo.

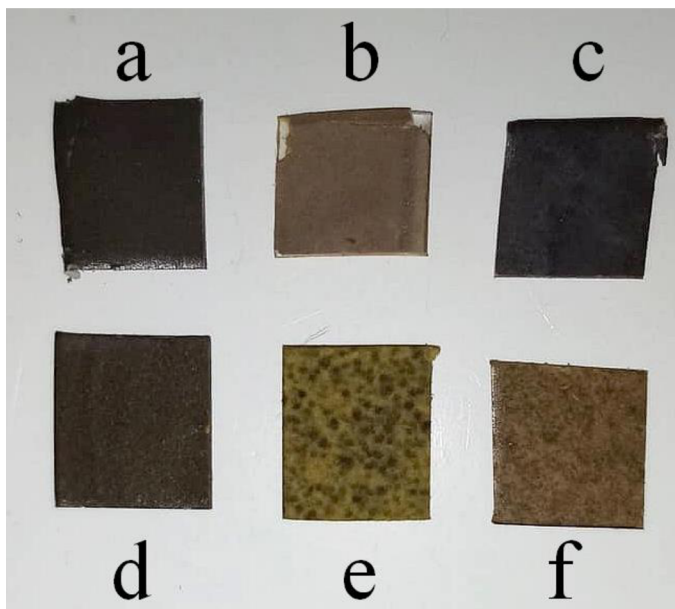
## 4 Výsledky a diskuze

### 4.1 Depozice vrstev částic stříbra

Vzorky vrstev stříbra před aktivací v roztoku NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  jsou zobrazeny na Obrázcích 16 a 17.



Obrázek 16. Připravené SERS substráty s využitím maltosy. (a) A1-P, (b) A1-n, (c) A1-Sn, (d) C1-P, (e) C1-n, (f) C1-Sn.



Obrázek 17. Připravené SERS substráty s využitím glukosy. (a) A2-P, (b) A2-n, (c) A2-Sn, (d) C2-P, (e) C2-n, (f) C2-Sn.

Okem lze zhodnotit makroskopický stav depozice částic stříbra na podkladech. V případě použití oxidu hlinitého jako podkladu (Obr. 16: a, b, c; Obr. 17: a, b, c) se vrstvy celkově jeví jako více homogenní oproti využití celulosy impregnované

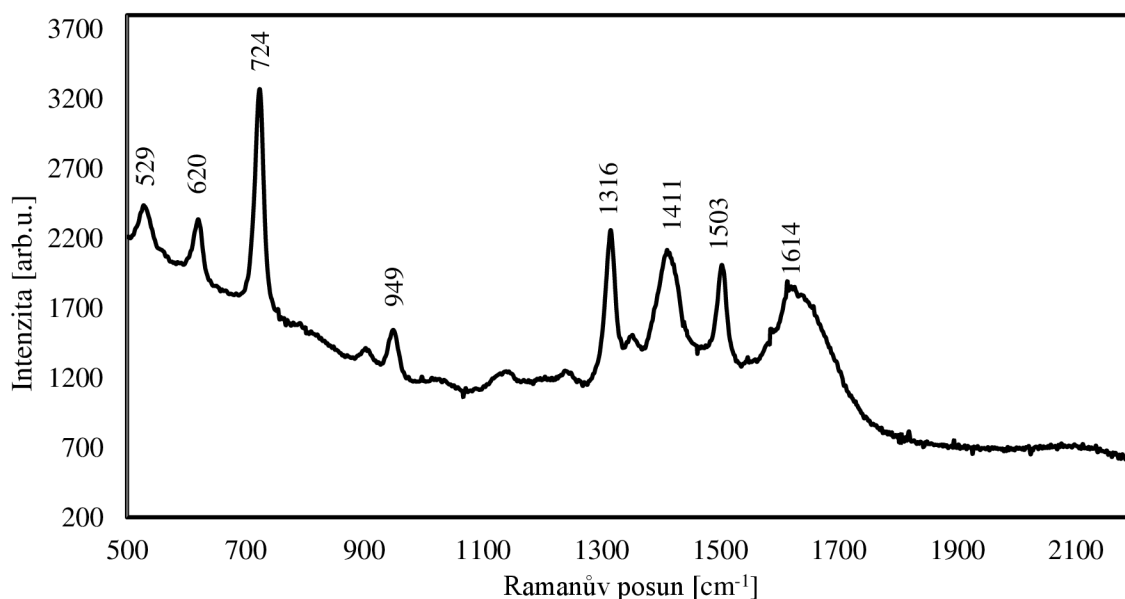


polyethyleniminem. Nehomogenity pokrytí podkladu se vyskytují nejvýrazněji v případě, kdy nebyla provedena žádná úprava substrátu (Obr. 16: e; Obr. 17: e), a na vrstvě stříbra se nachází tmavé skvrny koncentrovanějších shluků částic stříbra. Zároveň pokud se budeme držet předpokladu, že čím tmavší nanosená vrstva je, tím vyšší množství stříbra se na ni adsorbovalo, je možné tvrdit, že úprava substrátu před nanesením stříbra měla výrazný vliv na množství stříbra na vrstvě a na výslednou homogenitu pokrytí stříbrnými částicemi.

## 4.2 SERS měření připravených substrátů a SEM charakterizace

Nejprve byl proměřen samotný roztok adeninu o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , aby bylo získáno referenční spektrum, pomocí kterého byla všechna SERS spektra vyhodnocována. V níže uvedeném grafu (Obr. 18) je Ramanovo spektrum koncentrovaného roztoku adeninu o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  měřeného v kyvetě pomocí laseru s vlnovou délkou 785 nm. Výrazný pík „dýchacích“ vibrací adeninu, podle kterého byly hodnoceny následující SERS spektra, se zde nachází v oblasti  $724 \text{ cm}^{-1}$ . Pásky s maximy v  $529 \text{ cm}^{-1}$  a  $620 \text{ cm}^{-1}$  odpovídají deformačním vibracím C–C=C a N–C–C. V oblasti  $949 \text{ cm}^{-1}$  se nachází pás deformační vibrace N–C=N, při  $1316 \text{ cm}^{-1}$  pak valenční vibrace C–N a C=N. Dále pás s maximem v  $1411 \text{ cm}^{-1}$  odpovídá deformační vibraci N=CH a  $1503 \text{ cm}^{-1}$  deformační vibraci C–N–H. Širší pás s maximem  $1614 \text{ cm}^{-1}$  odpovídá valenčním vibracím C–N a C=N.

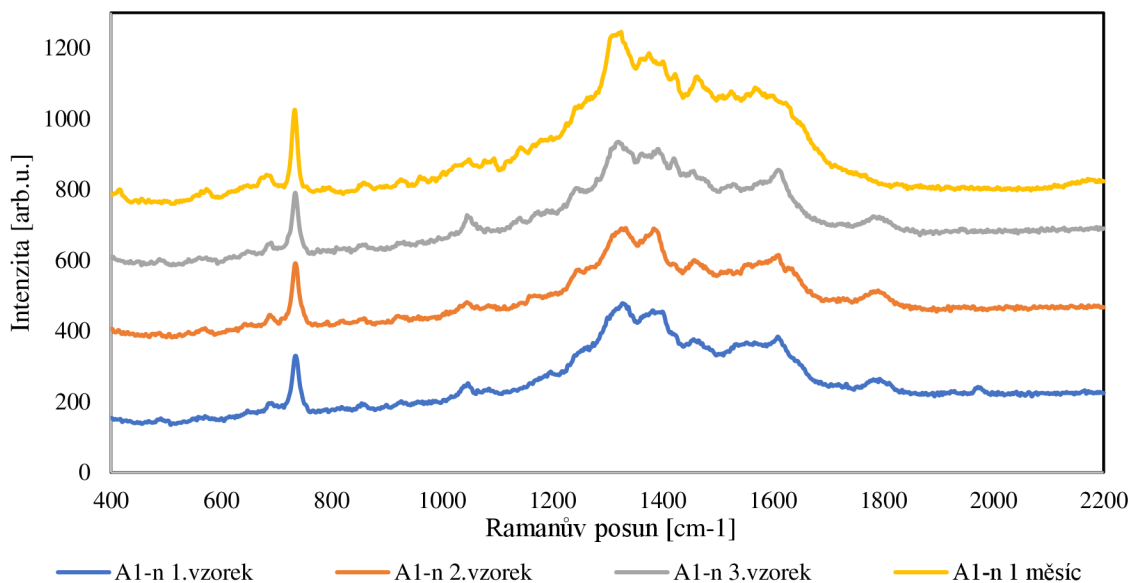
[115]



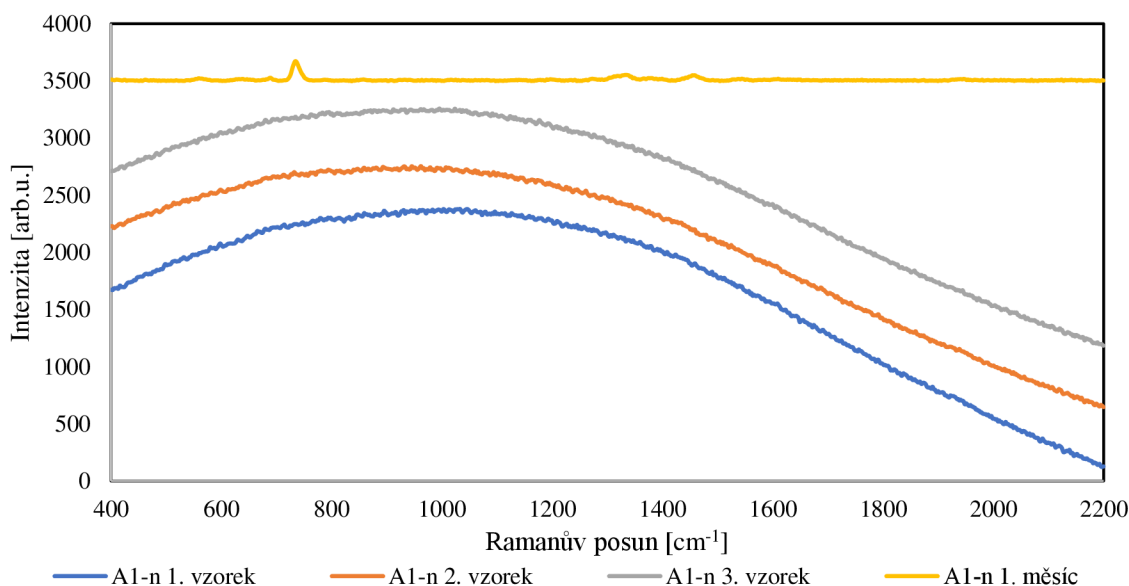
**Obrázek 18.** Ramanovo spektrum roztoku adeninu o koncentraci  $10^{-1} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , které bylo měřeno laserem o vlnové délce 785 nm a výkonu 340 mW.

Toto spektrum bylo pomocí v programu *SpectraGryph v.1.2.13 – spectroscopy software* zbaveno píků, jejichž šířka byla menší než 7 pixelů.

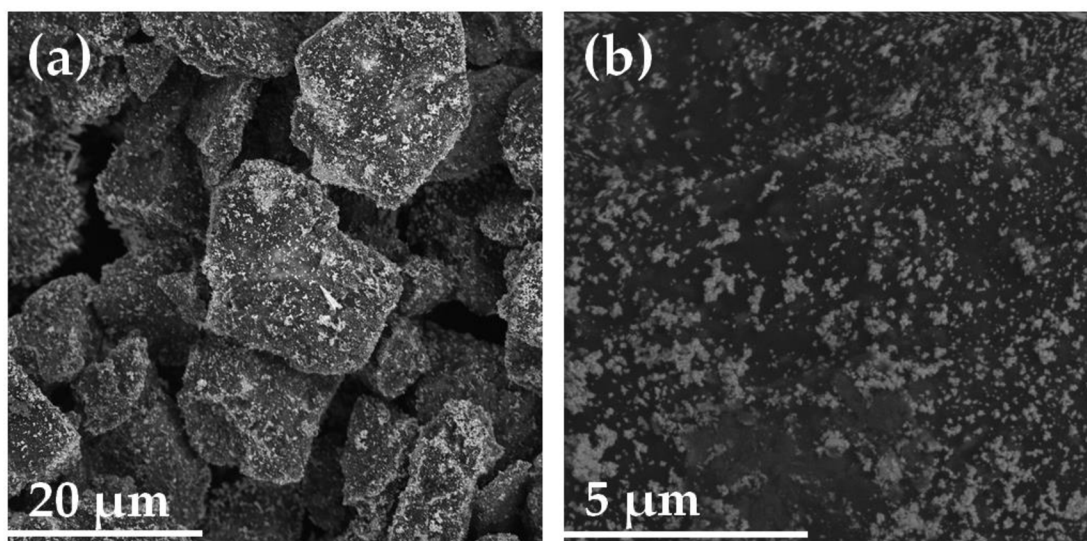
U vybraných substrátů byly také pořízeny snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu, převážně u těch, které byly připraveny redukcí maltosou, jelikož při testování jejich aktivity v oblasti SERS oproti vrstvám připravených s použitím glukosy jako redukčního činidla ve většině případů vykazovaly aktivitu vyšší.



**Obrázek 19. SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na AlOx s pomocí maltosy jako redukčního činidla (A1-n) po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.**



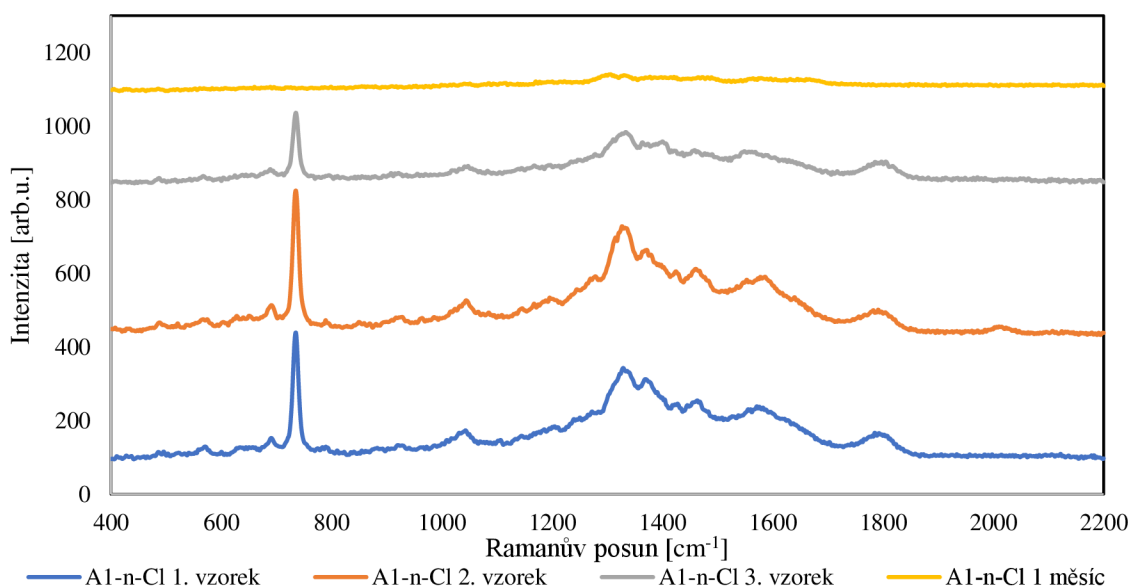
**Obrázek 20.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla (A1-n) po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.



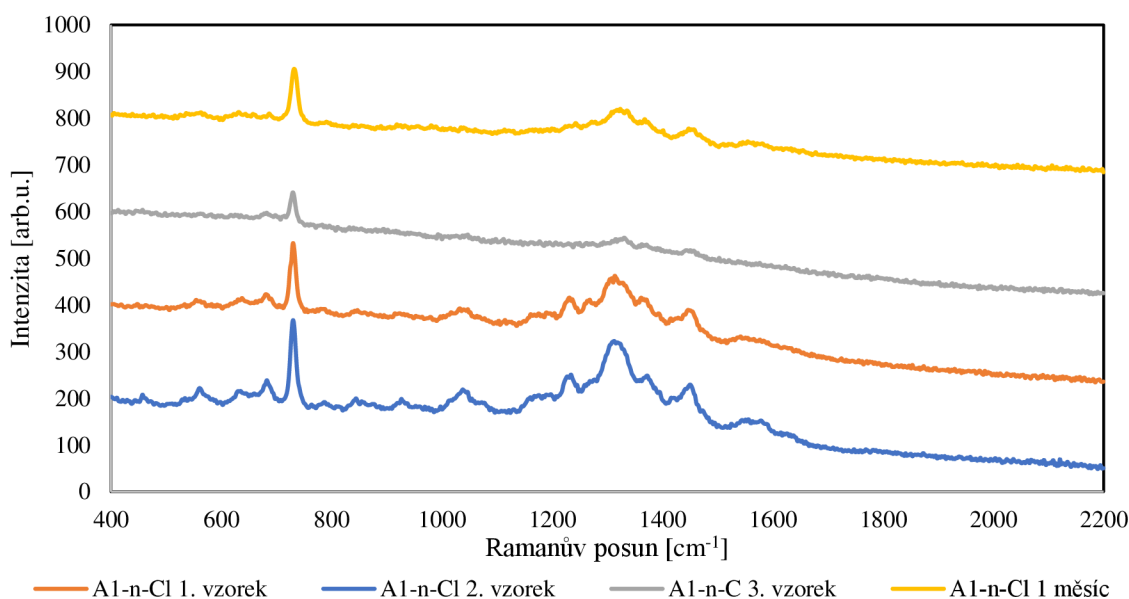
**Obrázek 21.** SEM snímky substrátu připraveného na  $\text{AlO}_x$  s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla (A1-n).

Na vzorku připraveném na substrátu z oxidu hlinitého bez povrchové úpravy a s využitím maltosy jako redukčního činidla (A1-n) se nacházejí nanočástice stříbra o průměrné velikosti kolem 70 nm, které se na povrchu vyskytují jak samostatně tak i ve shlucích nebo agregátech, které mezi sebou vykazují poměrně velkou vzdálenost a povrch oxidu hlinitého pokrývají relativně rovnoměrně, jak je zřejmé ze snímků z elektronového mikroskopu (viz Obr. 21), což potvrzují i spektra na Obrázku 19, kde je vidět, že získané zesílení Ramanova signálu pomocí laseru o vlnové délce 532 nm je ve

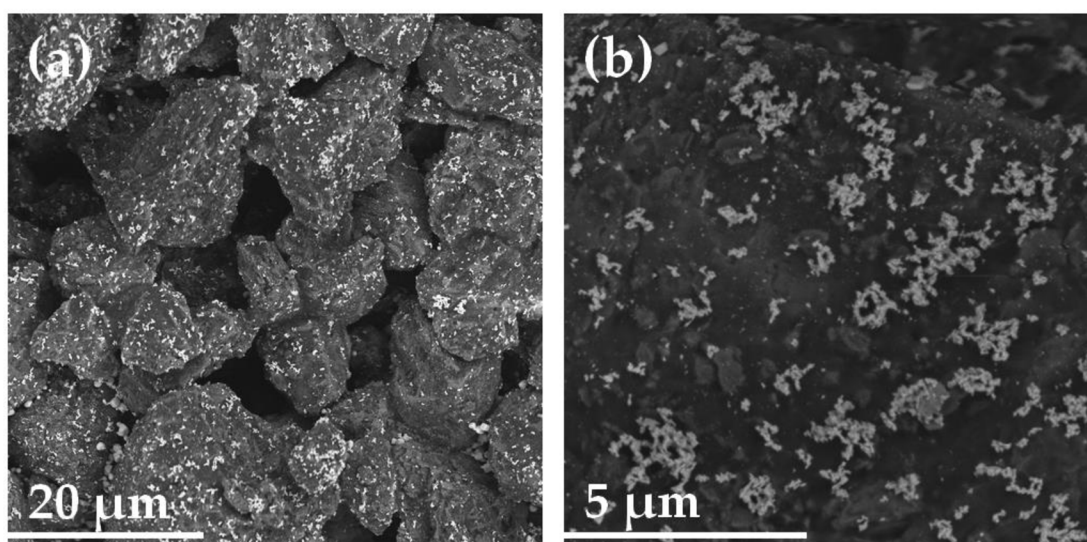
třech různých bodech tohoto substrátu konstantní. Výrazné zesílení signálu má nejspíše původ v drobných nepravidelných částicích a agregátech, jejichž plasmon svým absorpčním spektrem koresponduje s použitou vlnovou délkou laseru. Naproti tomu při měření s vlnovou délkou 780 nm u vzorků měřených ihned po přípravě k žádnému zesílení nedošlo a ve spektru se vyskytuje pouze fluorescenční pozadí oxidu hlinitého [116]. Toto pozadí nicméně po čase zaniká, jak je vidět ze spektra měřeného po 1 měsíci (viz Obr.20), což naznačuje nestabilitu připraveného substrátu v čase, pravděpodobně v důsledku drobných strukturních změn v agregátech stříbrných nanočástic v důsledku oxidace, což by mohlo vést k posunu absorpčních pásů plasmonu k delším vlnovým délkám. SERS aktivita tohoto vzorku pro laser 780 nm mohla být také způsobena vznikajícími defekty v krystalinitě nanočástic, což by mohlo generovat aktivní hot-spots. Alternativně, na vrstvách stříbra vnikají vrstvy vody ze vzdušné vlhkosti a do těch se mohou uvolňovat  $\text{Ag}^+$  ion, které se následně mohou zpět redukovat na Ag a způsobovat rekrystalizace, a to například při vystavení světelnému záření. [117, 118] Při studování stability vrstev pomocí laseru o 532 nm k výrazné změně získaného nedochází, což naznačuje, že zde se na zesílení podílejí hlavně samostatně se vyskytující částice a agregáty o menším počtu částic, kde k výraznějším strukturním změnám docházelo v podstatně menší míře.



**Obrázek 22.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A1-n-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



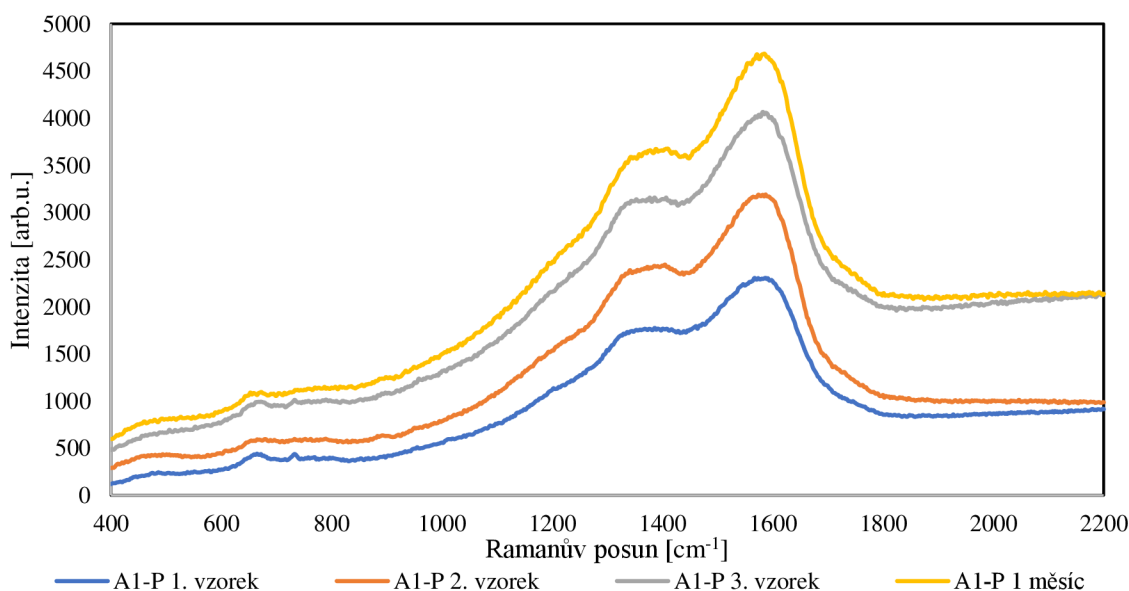
**Obrázek 23.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A1-n-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce  $780\text{nm}$  a výkonu  $3\text{mW}$ .



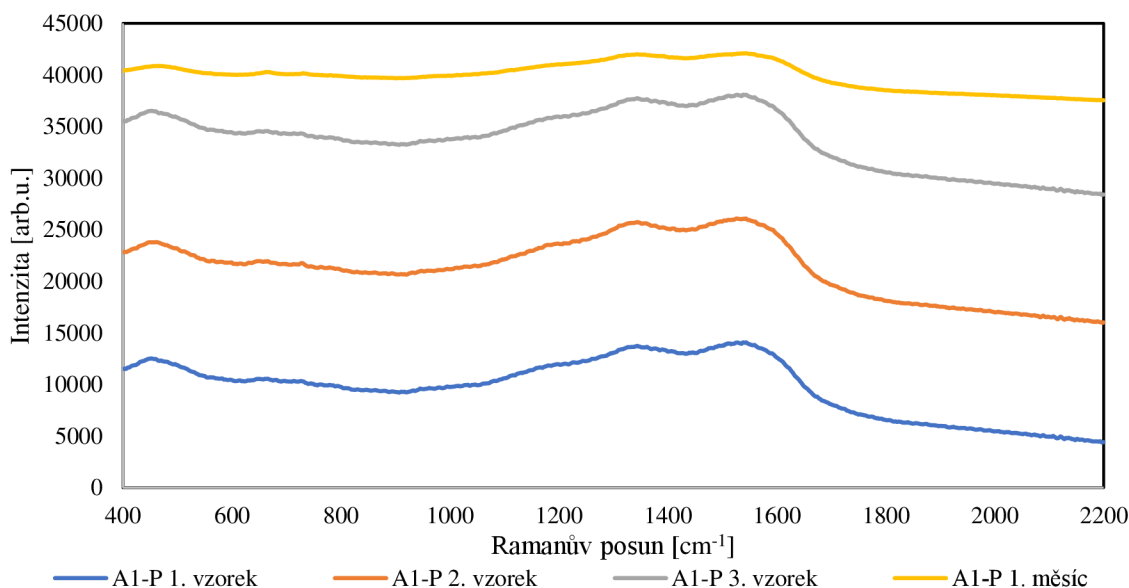
**Obrázek 24.** SEM snímky substrátu připraveného na  $\text{AlOx}$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, který byl po nanesení vrstvy stříbra upraven v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A1-n-Cl).

Zde bylo stříbro nanášeno na oxid hlinitý s pomocí maltosy jako redukčního činidla a po samotné depozici této vrstvy byla provedena „aktivace“ ve  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku  $\text{NaCl}$  za účelem optimalizace plasmonických vlastností substrátu (A1-n-Cl). Jak je zjevné ze snímků z elektronového mikroskopu (Obr. 24), po tomto procesu dochází ke vzniku shluků částic o větších rozměrech a samostatné částice se na povrchu oxidu hlinitého vyskytují v menším zastoupení. Tyto částice a shluky jsou opět poměrně

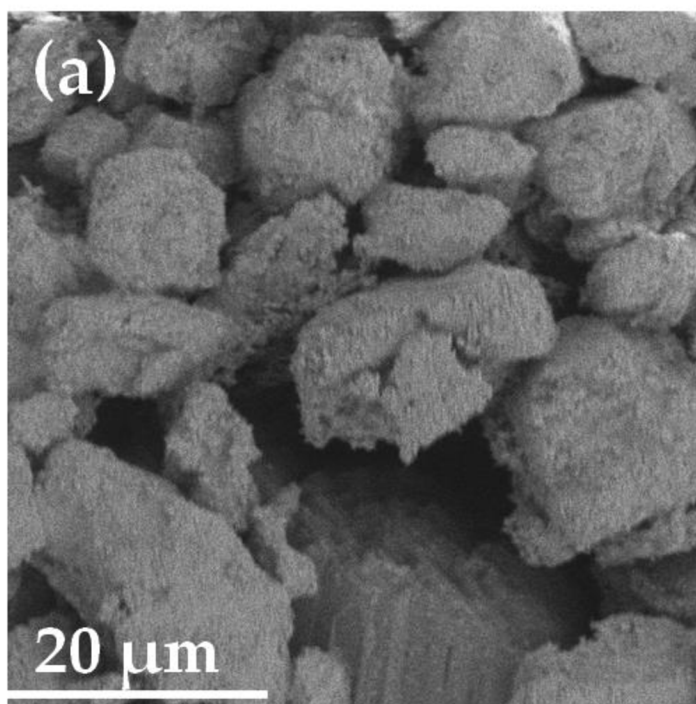
rovnoměrně rozmístěny na povrchu. Zároveň, převážně v mezerách mezi oxidem hlinitým, dochází ke vzniku krychliček stříbra o rozměrech 0,5 – 1  $\mu\text{m}$ . To, že jsou na povrchu stále přítomné i malé částice nepravidelných tvarů o velikosti přibližně 100 nm, je pravděpodobně zodpovědné za výraznou SERS aktivitu při použití laseru o vlnové délce 532 nm, jelikož tyto částice by mohly mít absorpční maximum plasmonu právě v této oblasti. Se zvětšováním částic a následným vznikem jejich shluků a zároveň přítomnost i větších kubických částic může docházet k posunu absorpčního pásu plasmonu k delším vlnovým délkám do NIR oblasti a také může docházet ke vzniku absorpčních pásů pro multipólové rezonance. Pro získání SERS aktivity v oblasti 780 nm byla aktivace v NaCl klíčová, tudíž je posun absorpce plasmonem k NIR oblasti prisouzen právě zvětšování částic stříbra.[89, 92, 93, 119] Posouzením získaného zesílení v případě použití obou laserů s vlnovými délkami 532 nm a 780 nm (Obr. 22, 23) je vidět, že zesílení nebylo konstantní, z čehož lze usoudit, že připravené vrstvy nebyly po rekrystalizacích na NaCl již dostatečně homogenní. Z opakovaného testování vrstev po měsíci od přípravy je zjevné, že i zde dochází ke strukturálním změnám, které jsou tak výrazné, že po měsíci od přípravy zmiňovaných vrstev již s laserem o vlnové délce 532 nm nelze adenin detekovat. S vyšší vlnovou délkou laseru (780 nm) to možné je, lze tedy předpokládat, že docházelo rekrystalizaci samostatně se vyskytujících částic, které byly oproti neaktivované vrstvě zastoupeny ve výrazně menší míře.



**Obrázek 25.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla(A1-P) po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



**Obrázek 26.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla (A1-P) po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

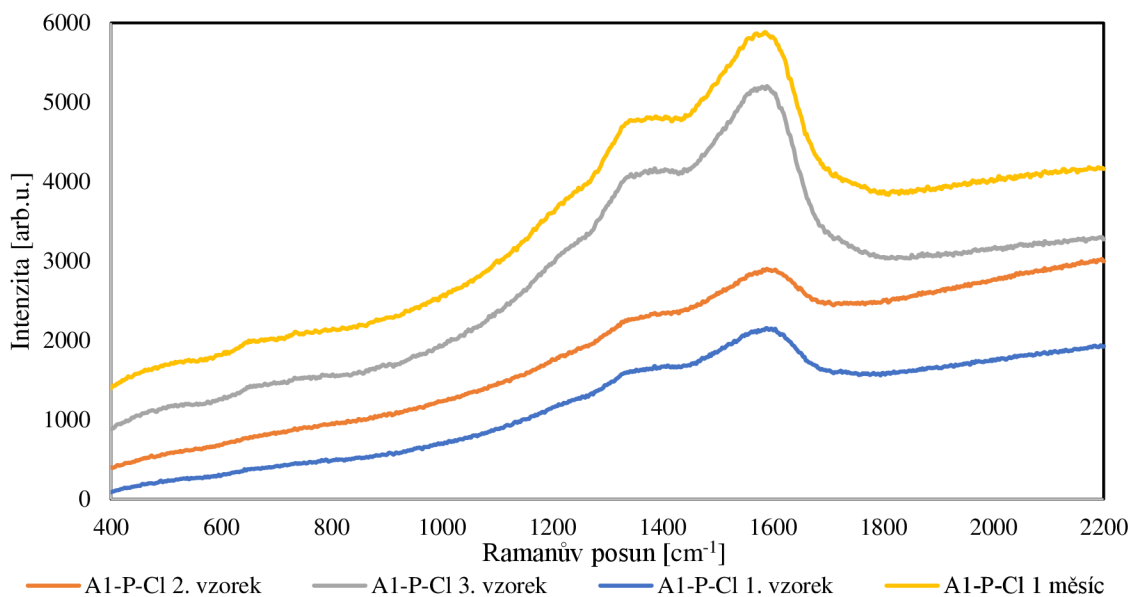


**Obrázek 27.** SEM snímek substrátu připraveného na  $\text{AlOx}$  s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla (A1-P).

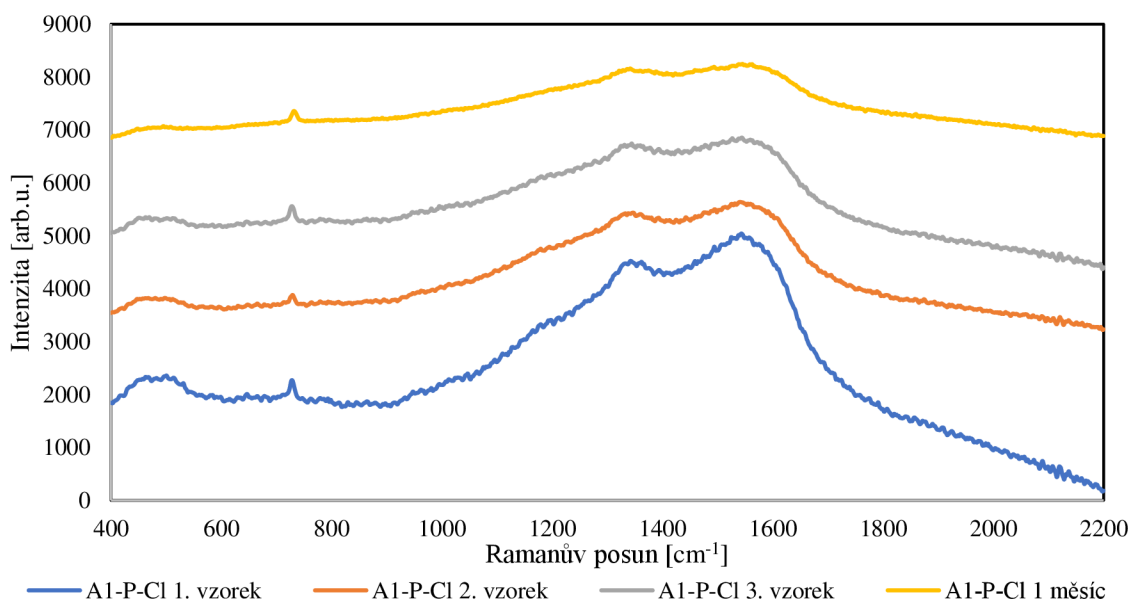
U těchto vrstev byl nejdříve na oxid hlinitý nanesen polydopamin a až poté byla sonochemickou redukcí nanasena vrstva nanočástic stříbra (A1-P). Polydopamin ve své struktuře obsahuje trimerové komplexy dvou zacyklených dihydroxyindolů  $(\text{DHI})_2$  a pyrrolkarboxylové kyseliny (PCA), které ve své struktuře obsahují katecholy, jejichž

–OH skupiny jsou samy o sobě schopné redukovat  $\text{Ag}^+$  ionty. Díky tomu při pokrytí povrchu substrátu polydopaminem vzniká velmi vysoký počet aktivních míst, na kterých se stříbrné ionty mohou redukovat. [120, 121] Oproti předchozím vrstvám je povrch substrátu pokryt stříbrnými nanočásticemi výrazněji v důsledku vyššího počtu zárodečných míst vznikají částic o menších rozměrech (<50 nm) s velice malými mezičásticovými vzdálenostmi (Obr. 27). Nicméně tyto vrstvy zesilovaly Ramanův signál minimálně a to tehdy, byl-li použit excitační laser s vlnovou délkou 532 nm. Je zde předpoklad, že tento laser není pro danou vrstvu vhodný právě z důvodu velmi malé vzdálenosti mezi částicemi. Vliv malé mezičásticové vzdálenosti také koresponduje se vzorky C1-n a C1-n-Cl, kde byly mezičásticové vzdálenosti také velmi malé v důsledku –NH skupiny ve struktuře substrátu, která zajišťovala vyšší počet míst pro navázání nanočástic stříbra na povrch a tyto vrstvy také nebyly při použití laseru s vlnovou délkou 532 nm aktivní. V SERS spektrech jsou také velmi výrazné pásy polydopaminu v oblastech  $1380\text{ cm}^{-1}$  a  $1568\text{ cm}^{-1}$ , které pochází z vibrací aromatických kruhů a alifatických C–C a C–O. [122] Tyto pásy výrazně dominují získaným spektrům s vysokou intenzitou, což tyto vrstvy činí nevhodnými pro detekci analytů, jejichž charakteristické pásy se objevují právě v oblasti pásů polydopaminu. Zároveň nevhodnost pro SERS měření pomocí vlnové délky laseru 780 nm je přisuzována malé velikosti depozitovaných nanočástic, jejichž plasmon svou absorpcí do NIR oblasti pravděpodobně nezasahuje.

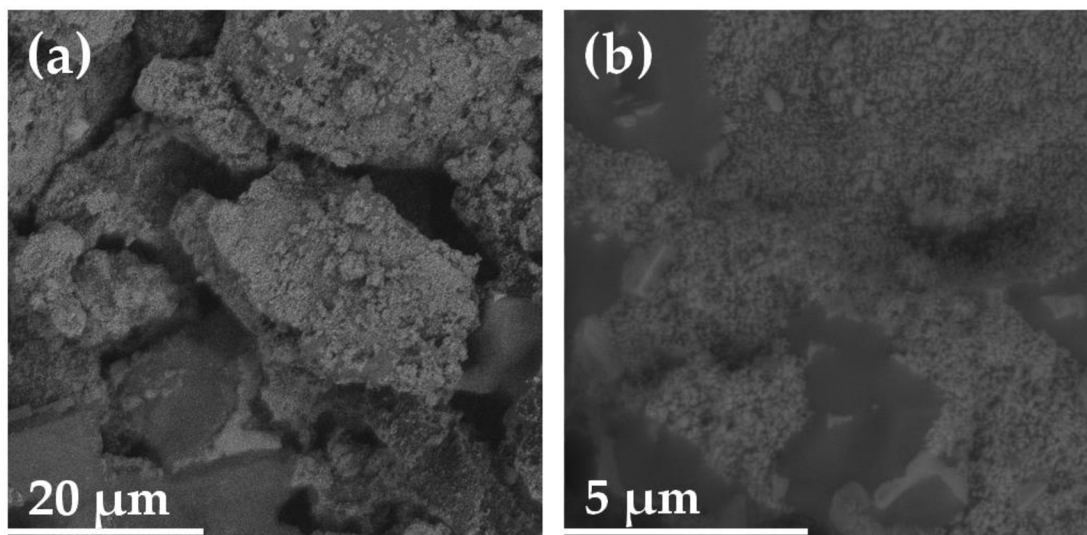




**Obrázek 28.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A1-P-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

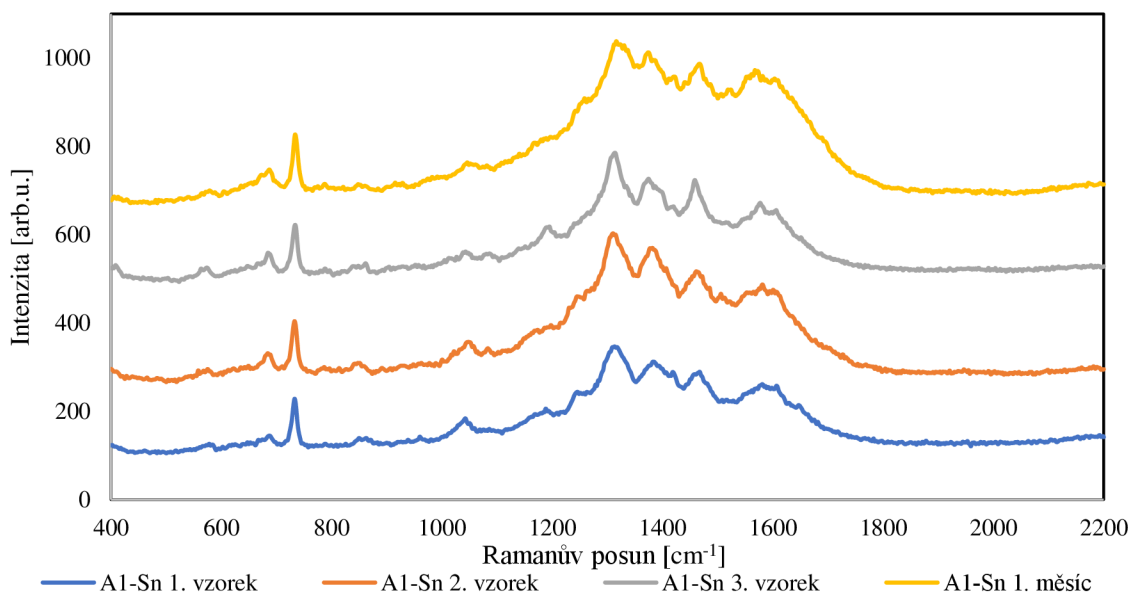


**Obrázek 29.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A1-P-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

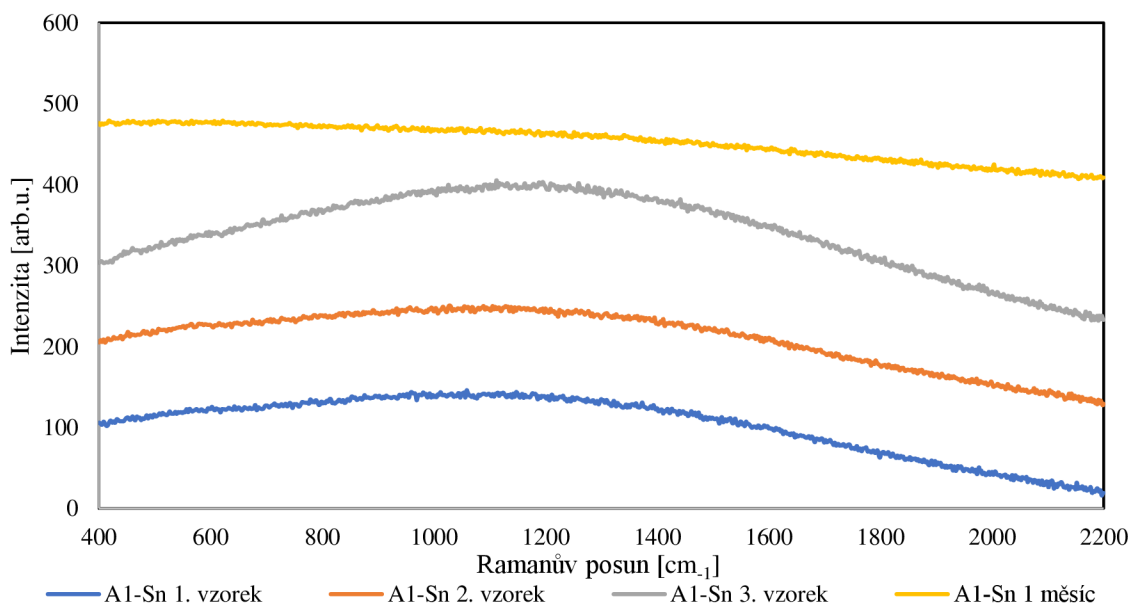


**Obrázek 30.** SEM snímky substrátu připraveného na  $\text{AlO}_x$  s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla, který byl po nanesení vrstvy stříbra upraven v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (A1-P-Cl).

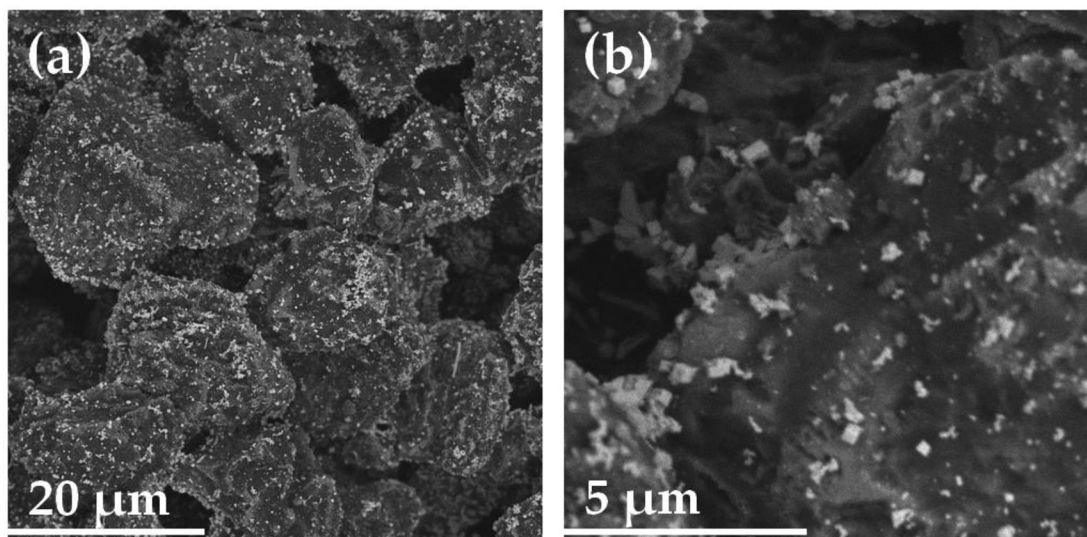
Ze SEM snímků (Obr. 30) je vidět, že při aktivaci vrstev ve  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku  $\text{NaCl}$ , které byly před nanesením stříbra redukcí maltosou pokryty polydopaminem (A1-P-Cl) dochází ke zvětšování částic až na  $100 \text{ nm}$  a ke zvětšení mezičásticové vzdálenosti mezi nimi. Zároveň se ve struktuře ojediněle vyskytují i větší částice stříbra až o velikosti  $300 \text{ nm}$ , což může také posouvat plasmon do NIR oblasti. Na povrchu lze také pozorovat přítomné krystaly  $\text{NaCl}$ . Zvětšení částic má zřejmě za následek zvýšení SERS aktivity s excitačním laserem o vlnové délce  $780 \text{ nm}$  (Obr. 29), kde lze jednak pozorovat charakteristický pík adeninu v oblasti Ramanova posunu  $\sim 735 \text{ cm}^{-1}$  a zároveň dochází ke snížení intenzit pásů polydopaminu, což činí tento substrát vhodnější pro detekci analytů. Také je u této vrstvy zachována její aktivita i po měsíci od její přípravy. Při měření s laserem o vlnové délce  $532 \text{ nm}$  tyto vrstvy žádnou aktivitu v SERS při detekci adeninu neprojevíly a ve spektrech bylo vidět pouze charakteristické pásy polydopaminu. Svou strukturou je tato vrstva také podobná vzorku C1-n, který s použitím vlnové délky  $532 \text{ nm}$  také aktivitu v SERS nevykazoval.



**Obrázek 31.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  aktivovaném v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, (A1-Sn), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

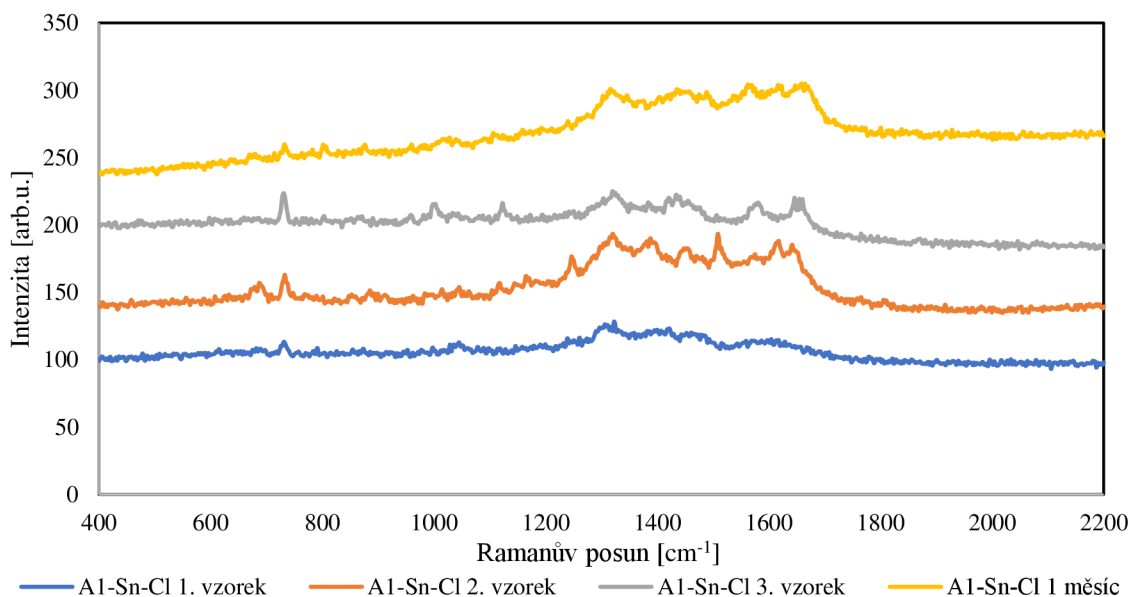


**Obrázek 32.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  aktivovaném v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla (A1-Sn), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

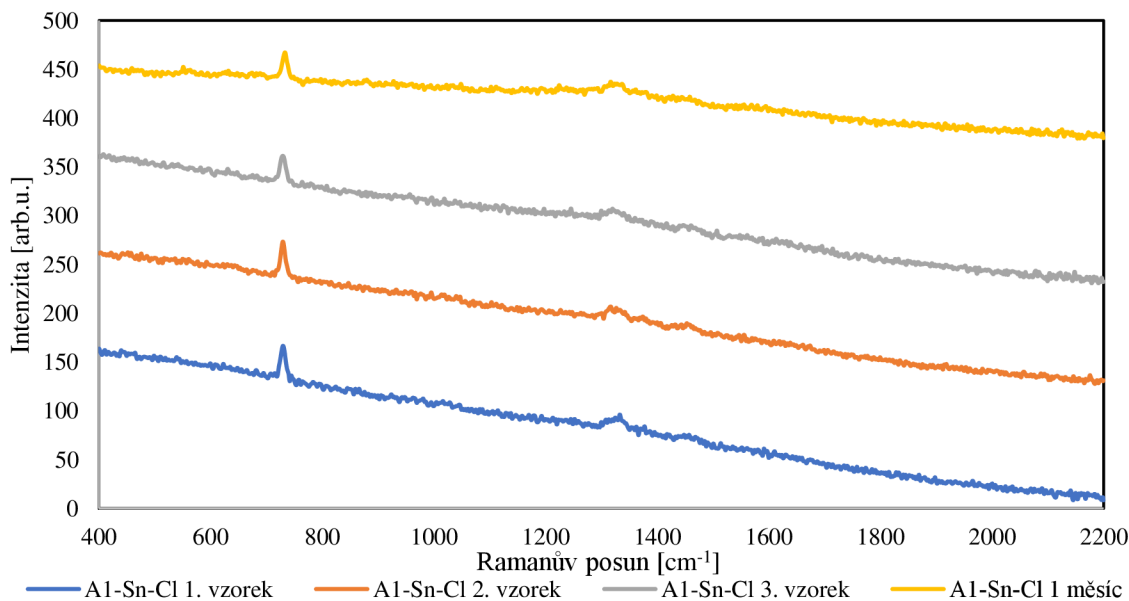


**Obrázek 33. Obrázek 36. SEM snímky substrátu připraveného na  $\text{AlO}_x$  aktivovaného v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla (A1-Sn).**

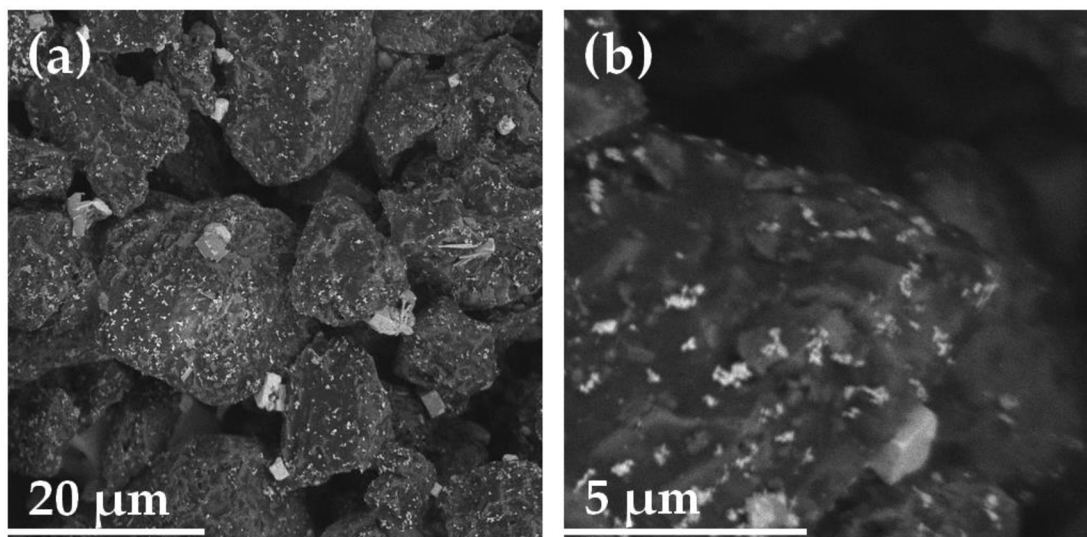
Tyto vrstvy byly připraveny redukcí maltosou na oxidu hlinitém, který by předem upraven senzitivací ponořením do roztoku 1%  $\text{SnCl}_2$  (A1-Sn), což je proces typicky používaný pro aktivaci povrchu skla, pro zlepšení depozice stříbrných vrstev. Na povrch adsorbované cínaté ionty vystupující jako aktivní místa pro vznik nukleačních zárodků stříbrných nanočástic. [123] Po této povrchové úpravě a následné sonochemické depozici stříbra je pokrytí povrchu poměrně rovnoměrné s většími vzdálenostmi mezi jednotlivými částicemi. Částice se svými rozměry pohybují v rozmezí 70 – 110 nm a vyskytují se jak samostatně, tak i ve shlucích čítajících několik jednotek částic (viz Obr. 33). Zároveň se na povrchu vyskytují i nanokrychličky s délkou hrany 180 – 250 nm, dále také trojúhelníkové nanočástice. Právě takto strukturované nanočástice s ostrými okraji mohou způsobit výrazné zesílení Ramona signálu při použití laseru o vlnové délce 532 nm, jelikož právě rohy krychliček a trojúhelníků tvoří hot-spots, které poskytují velmi výrazné zesílení Ramanova signálu. [124] Zároveň tyto tvary částic mohou mít ve svém plasmonu také pásy pro multipólové rezonance. [92] Dále je pravděpodobné, že přítomnost malých částic, které jsou na povrchu samostatně i ve shlucích, také způsobuje silné zesílení pro vlnovou délku laseru 532 nm. Po testování SERS aktivity po 1 měsíci laserem o 532 nm bylo zjištěno, že tato vrstva je stabilní a poskytuje stále konstantní hodnotu zesílení. Při experimentech, kdy byl použit laseru o vlnové délce 780 nm, žádná SERS aktivita pozorována nebyla (Obr. 32).



**Obrázek 34.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  aktivovaném v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A1-Sn-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

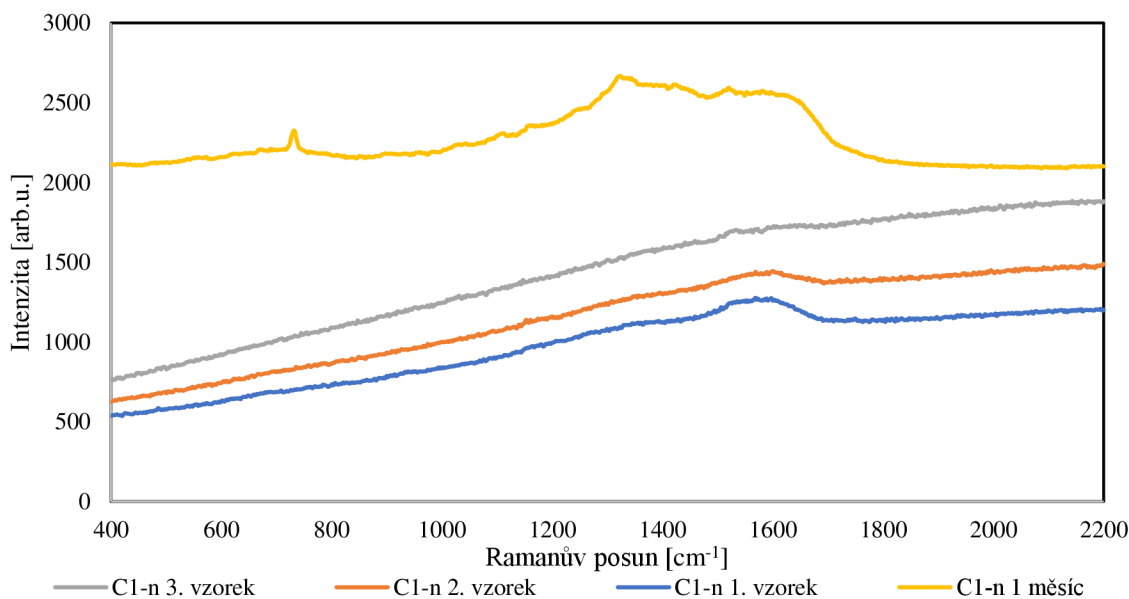


**Obrázek 35.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  aktivovaném v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A1-Sn-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

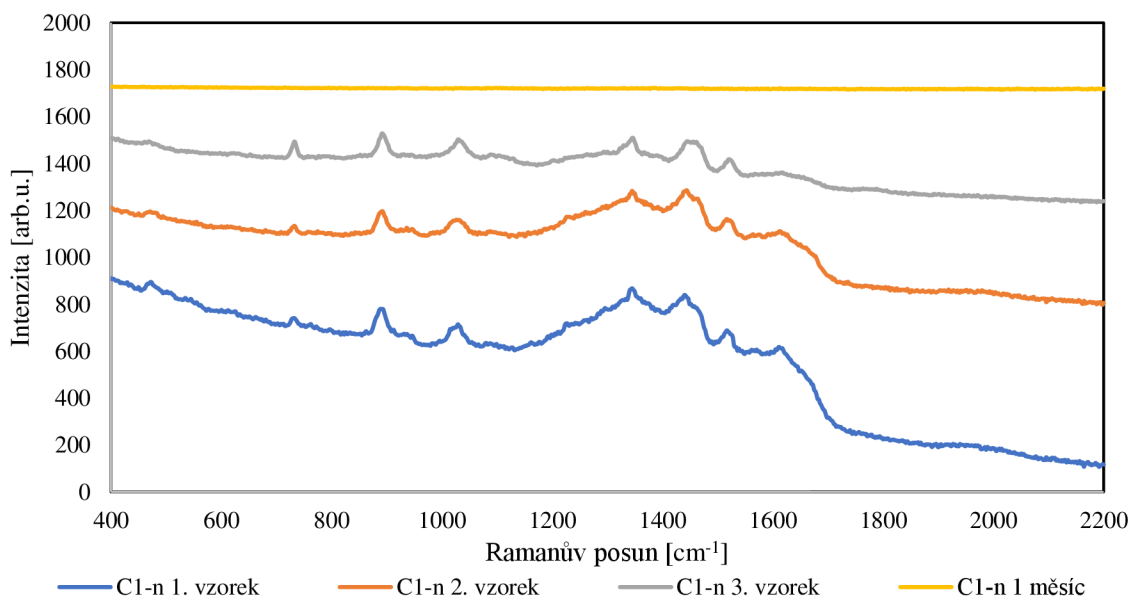


**Obrázek 36. SEM snímky substrátu připraveného na  $\text{AlO}_x$  aktivovaného v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, který byl po nanesení vrstvy stříbra upraven v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (A1-Sn-Cl).**

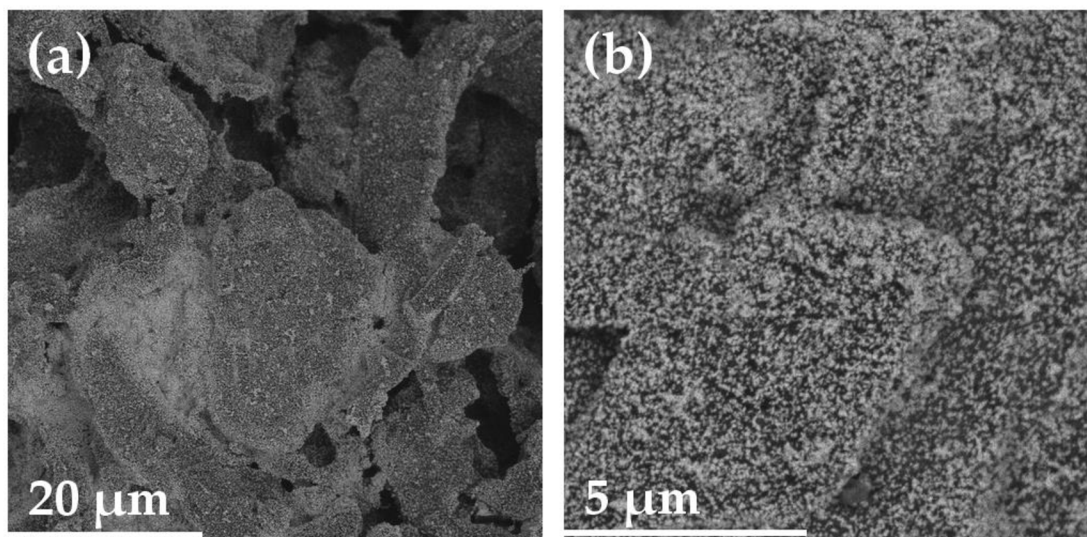
Substráty na oxidu hlinitém, jehož povrch byl předem senzitivován v roztoku  $\text{SnCl}_2$ , byly po přípravě dále upravovány ponořením do roztoku  $\text{NaCl}$  (A1-Sn-Cl), který, jak je vidět na snímcích z elektronového mikroskopu (Obr. 36), inicioval výrazné rekrystalizace. Drobné krychličky již na povrchu zastoupeny nejsou, docházelo ke zvětšování drobných částic až na průměrnou velikost okolo 150 nm a nově jsou na povrchu přítomny již poměrně velké krychličky stříbra o délce hrany okolo 1,5 μm, které vznikaly pravděpodobně mechanismem Ostwaldova zrání. Při porovnání s neaktivovaným substrátem A1-Sn je zřejmé snížení SERS aktivity pro vlnovou délku laseru 532 nm (Obr. 34), a to v důsledku snižování počtu drobných nanočástic na povrchu oxidu hlinitého a vymizení malých krychliček. Naopak zde bylo výrazné zvýšení SERS aktivity, pokud jde o laser s vlnovou délkou 780 nm (Obr. 35), což naznačuje posun plasmonu do NIR oblasti. To je pravděpodobně zapříčiněno právě vznikem větších krystalků stříbra. I v tomto případě byla vrstva po měsíci stabilní a vykazovala konstantní zesílení Ramanova signálu.



**Obrázek 37.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s pomocí maltosy jako redukčního činidla (C1-n) po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



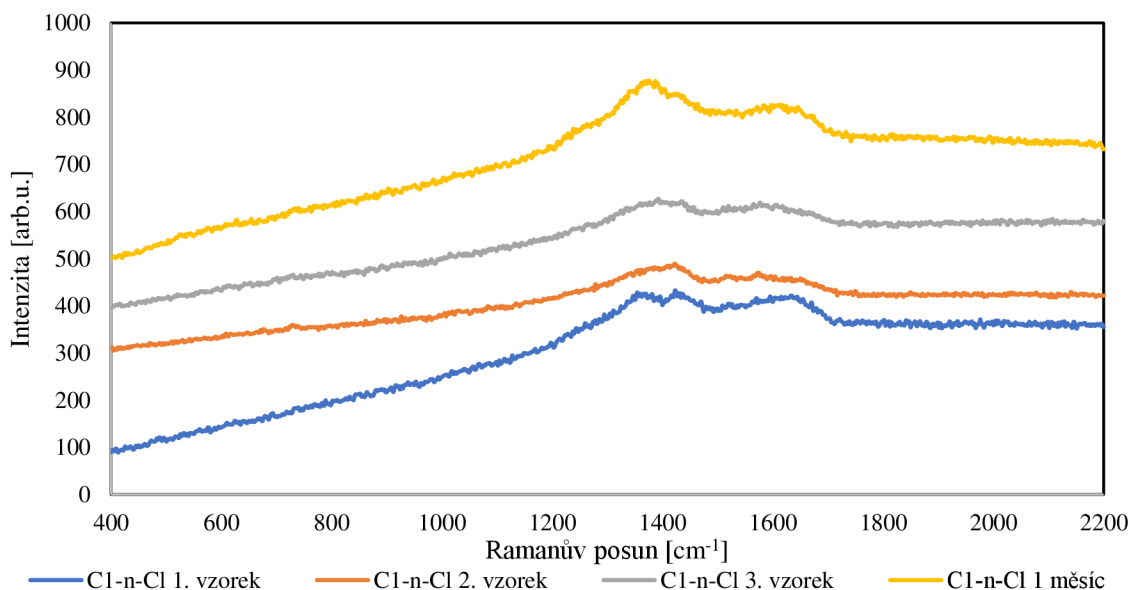
**Obrázek 38.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s pomocí maltosy jako redukčního činidla (C1-n) po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.



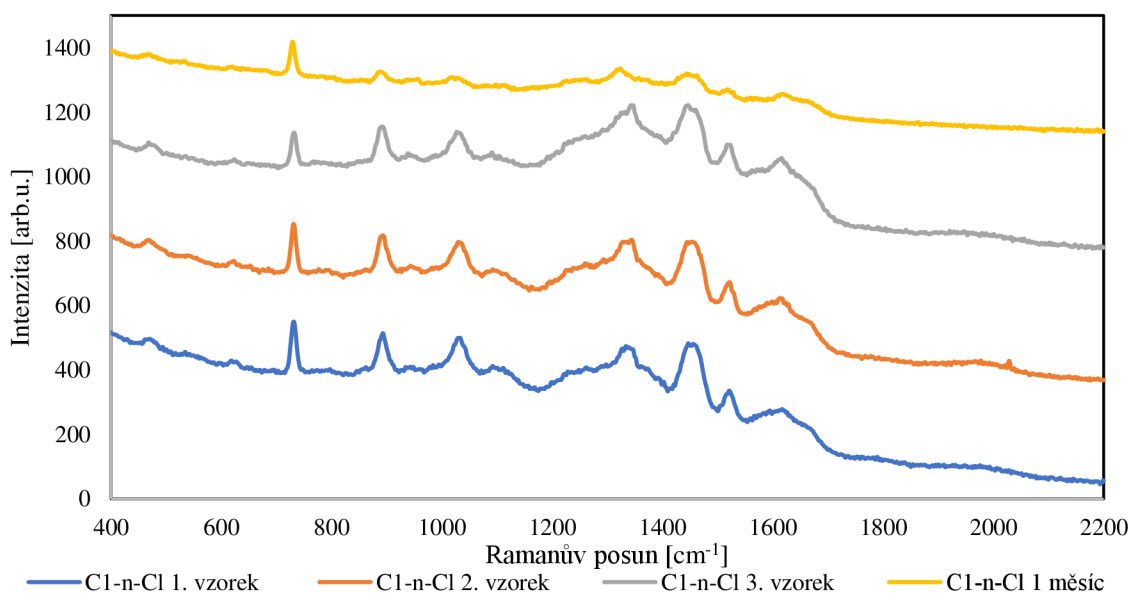
**Obrázek 39. SEM snímky substrátu připraveného na CEL-PEI s pomocí maltosy jako redukčního činidla (C1-n).**

V případě těchto vzorků byly vrstvy stříbra na celulosový substrát nanášeny redukcí pomocí maltosy bez jakékoli jejich předchozí úpravy (C1-n). Použitý podklad, polyethyleniminem impregnovaná celuloza, ve své struktuře obsahuje  $-NH$  skupinu, jejíž volný elektronový pár je schopný interagovat se stříbrem či nanočásticemi stříbra, což je důvodem výraznějšího pokrytí celulosy stříbrnými nanočásticemi s průměrnou velikostí okolo 70 nm a nachází se velmi blízko sebe (viz Obr. 39). Podobně jako u vrstev, kde byl předem na oxid hlinitý nanesen polydopamin, tyto vrstvy také nejsou aktivní pro zesílení Ramanova signálu, pokud byl použit laser s vlnovou délkou 532 nm (Obr. 37). Zde byla vyšší aktivita pozorována až po měsíci od přípravy vrstev v rámci testování jejich stability v čase. Pravděpodobně během změn ve velikosti a morfologii částic stříbra docházelo ke zvýšení jejich efektivity v zesílení Ramanova signálu při použití laseru s vlnovou délkou 532 nm. Dále by mohlo docházet k překrytí některých částic stříbra, k jeho transformaci či rekrystalizaci, čímž by mohly vznikat místa, která by mohla nahrazovat potřebné mezičásticové vzdálenosti, a tudíž by se C1-n s delším časem od přípravy mohly stát aktivními. V rámci experimentů za využití laseru s vlnovou délkou 780 nm, zde vrstvy vykazovaly značné zesílení signálu ihned po jejich přípravě (Obr. 38), a to nejspíš z důvodu nízkých mezičásticových vzdáleností, jelikož s menší vzdáleností mezi částicemi se absorpce plasmonu posouvá k vyšším vlnovým délkám. [125] Po měsíci od jejich přípravy už vrstvy stříbra aktivitu zesílení Ramanova signálu nevykazovaly.

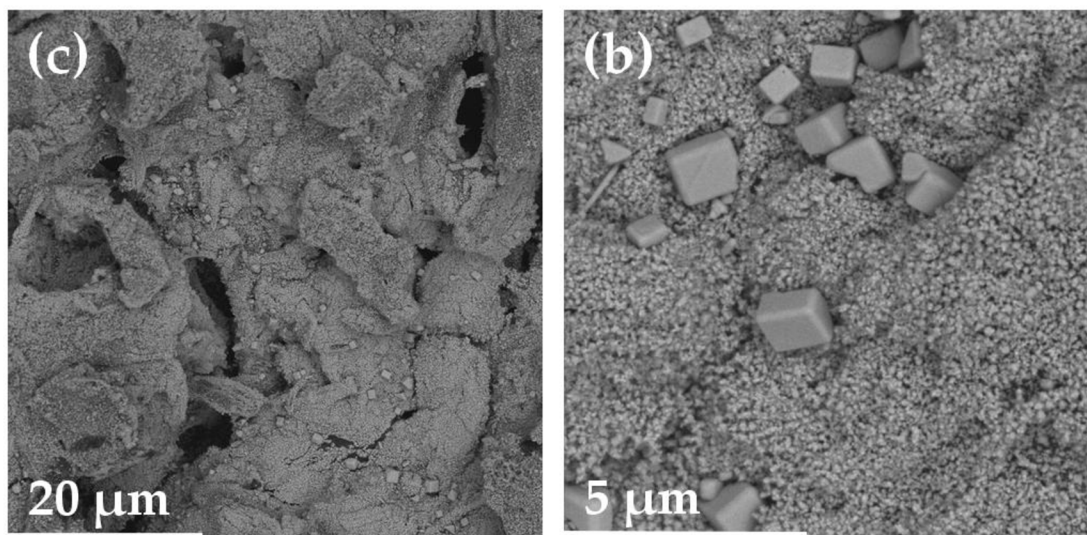




**Obrázek 40.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s pomocí maltosy jako redukčního činidla které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C1-n-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

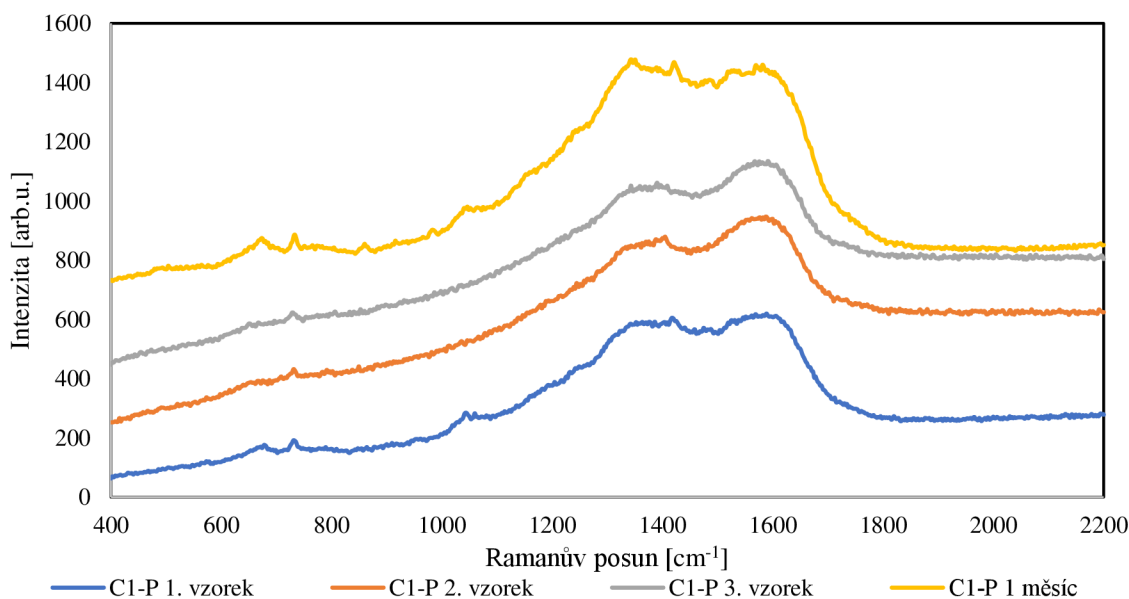


**Obrázek 41.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C1-n-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

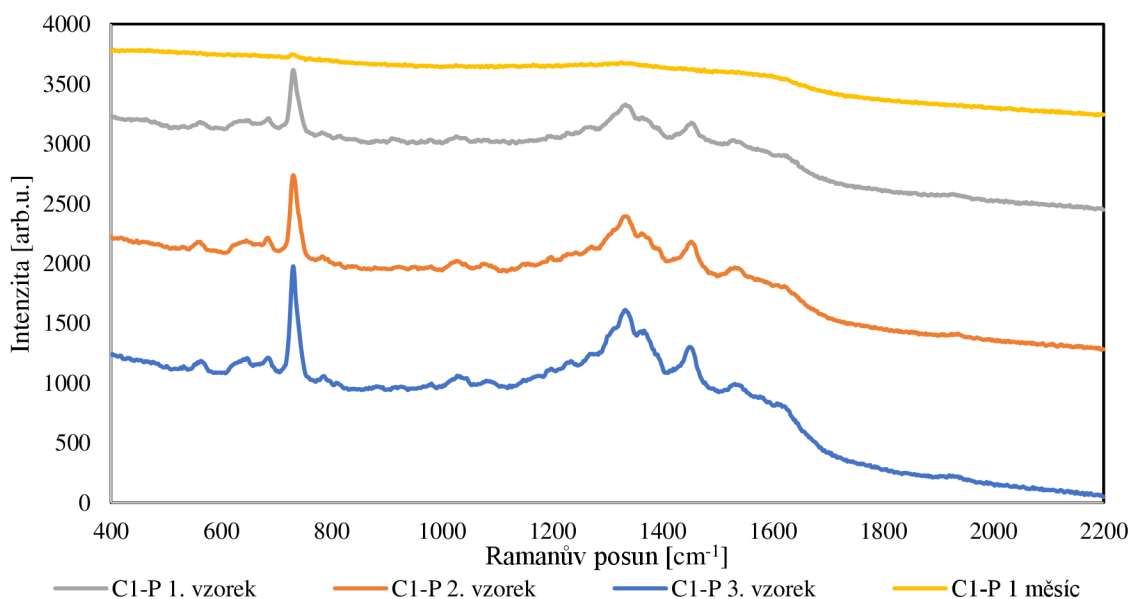


**Obrázek 42. SEM snímky substrátu připraveného na CEL-PEI s pomocí maltosy jako redukčního činidla, který byl po nanesení vrstvy stříbra upraven v NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C1-n-Cl).**

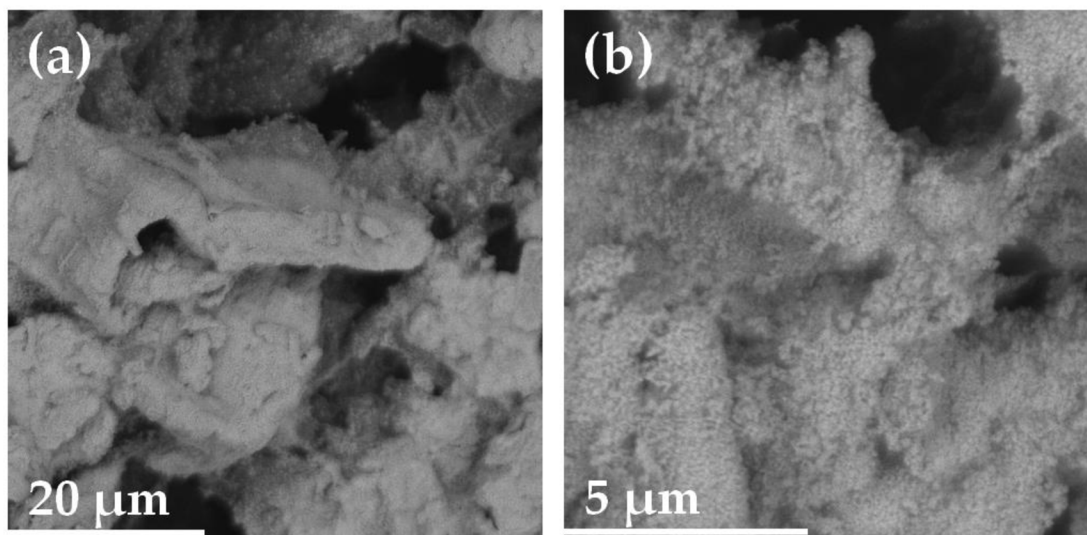
U vrstvy tohoto typu, kdy byla na celulosový substrát nanášena vrstva částic stříbra za použití maltosy jako redukčního činidla, se výrazně projevuje následná aktivace povrchu v roztoku NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C1-n-Cl). Na snímku z elektronového mikroskopu (Obr. 42) je patrné, že docházelo k rekrystalizaci stříbrných nanočástic, dochází k jejich zvětšování a také vznikají částice ve tvaru krychliček či kvádrů, které jsou na povrchu poměrně rovnoměrně rozmístěny, a svými rozměry se pohybují okolo velikosti  $1 \mu\text{m}$ . V důsledku malých vzdáleností mezi částicemi se nevyskytuje SERS aktivita při měření s laserem o vlnové délce  $532 \text{ nm}$  (Obr. 40). Naopak se zvyšující se velikostí částic a se vznikem krychliček narůstá aktivita pro laser o vlnové délce  $780 \text{ nm}$ , a to oproti neaktivovanému vzorku C1-n několiknásobně (Obr. 41). Tyto větší částice mohou vykazovat také multipólové rezonance, což může mít vliv na velikost získaného zesílení Ramanova signálu. Po měsíci od přípravy tyto vrstvy vykazovaly stále konstantní zesílení, což poukazuje na pomalejší degradaci vrstvy a na homogenitu připraveného substrátu.



**Obrázek 43.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla (C1-P), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

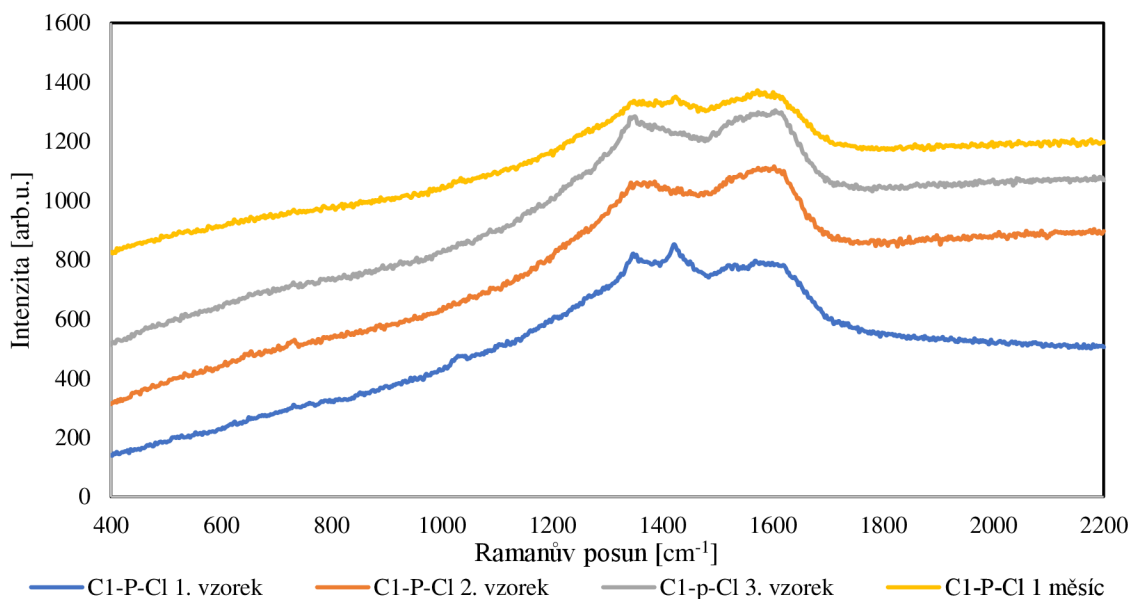


**Obrázek 44.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla (C1-P), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

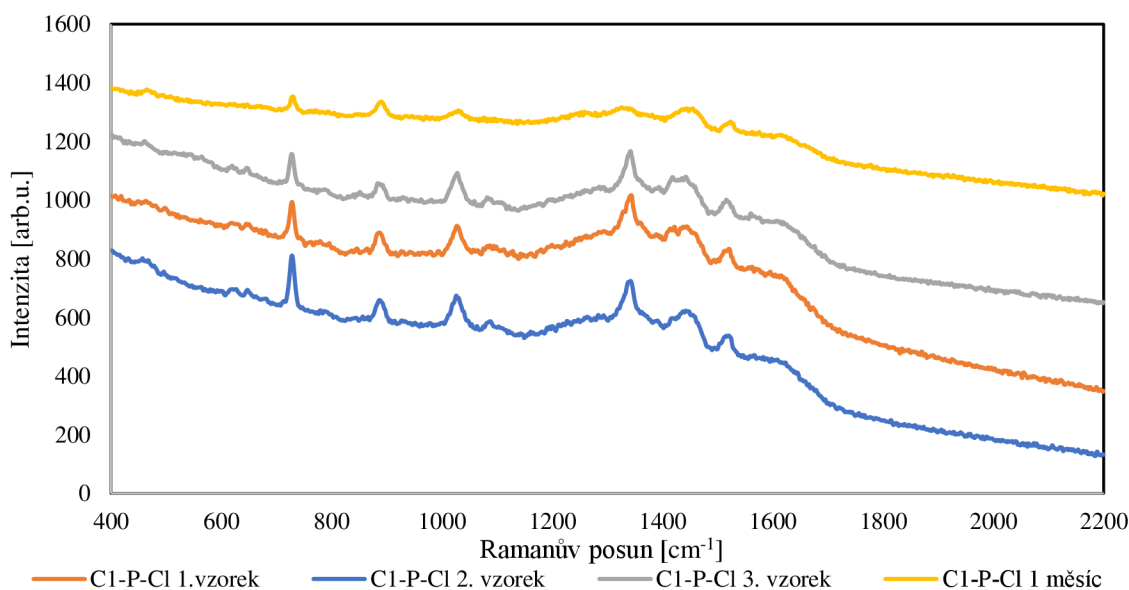


**Obrázek 45. SEM snímky substrátu připraveného na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla (C1-P).**

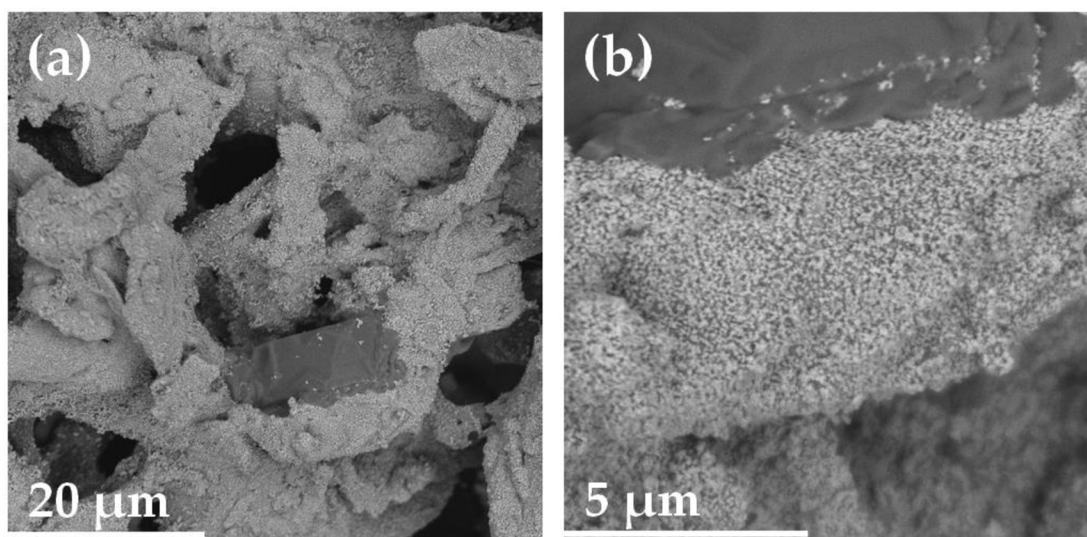
Podobně jako na oxidu hlinitém, na který byla nanesená vrstva polydopaminu (A1-P), bylo v případě použití celulosového podkladu (C1-P) výsledné pokrytí částicemi stříbra velmi značné a homogenní a tvořené drobnými částicemi s nízkými mezičásticovými vzdálenostmi (Obr. 45). Podobně jako u A1-P je zesílení Ramanova signálu při použití vlnové délky laseru 532 nm nízké, a naopak v případě laseru o vlnové délce 780 nm je SERS aktivita této vrstvy velmi výrazná (Obr. 43, 44). I zde se uplatňuje vliv mezičásticových vzdáleností, kdy se s jejich snižováním absorpční pásy plasmonu posouvají k vyšším vlnovým délkám. [125]



**Obrázek 46.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C1-P-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

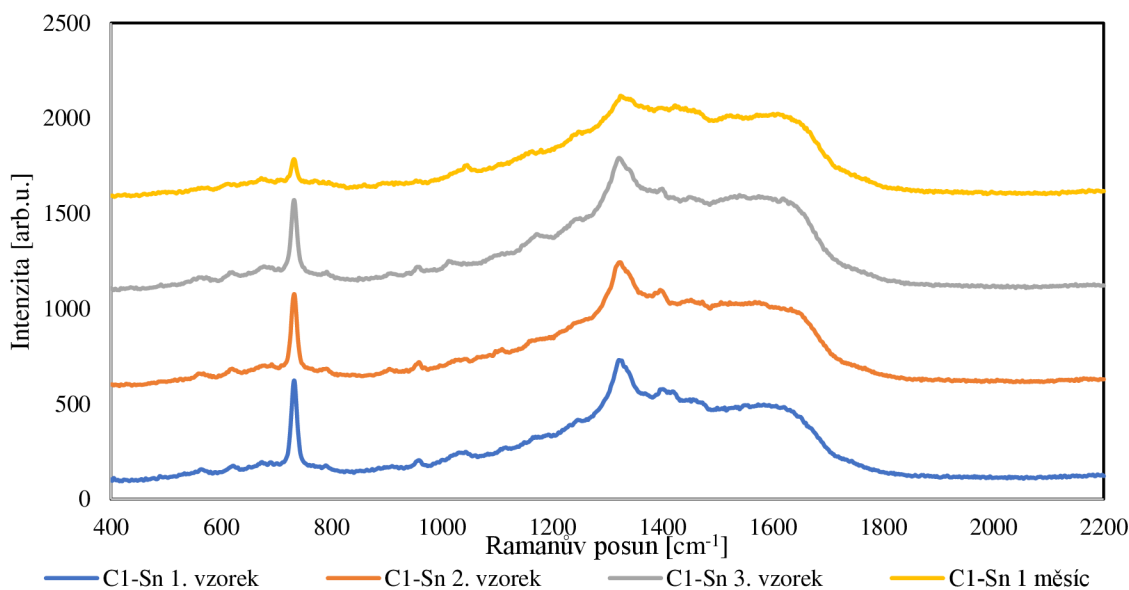


**Obrázek 47.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C1-P-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

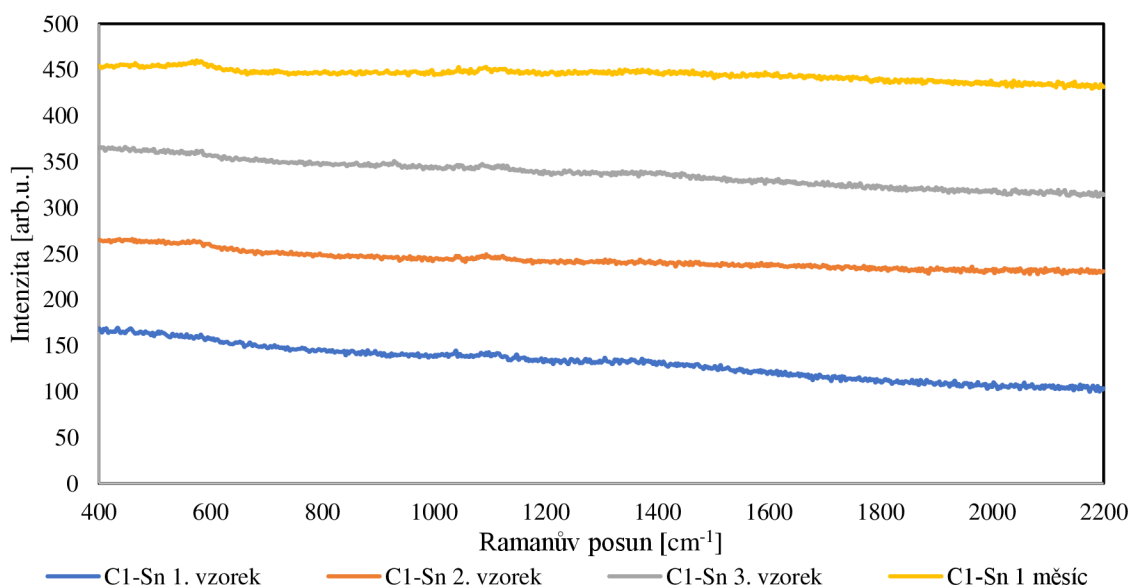


**Obrázek 48.** SEM snímky substrátu připraveného na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí maltosy jako redukčního činidla, který byl po nanesení vrstvy stříbra upraven v NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C1-P-Cl).

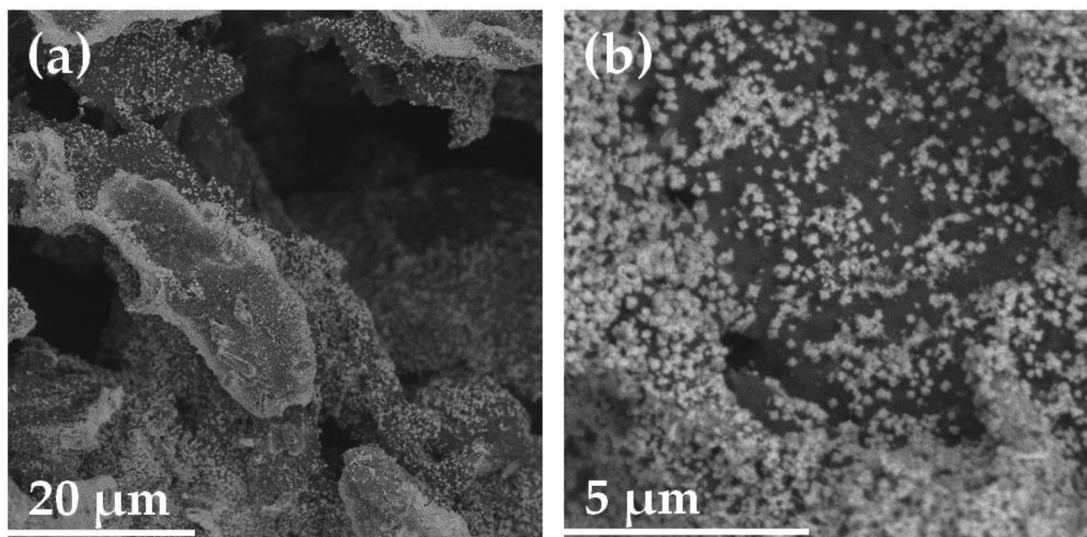
Po aktivaci v  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku NaCl lze u vrstev připravených na celulosovém podkladu pokrytém vrstvou polydopaminu (C1-P-Cl) pozorovat zvětšování částic stříbra a zvětšení mezičásticové vzdáleností mezi nimi. Zároveň byly na povrchu vrstev přítomny větší krystalky NaCl. Ani tento substrát nebyl po aktivaci v roztoku chloridových iontů vhodný pro měření s vlnovou délkou laseru 532 nm (Obr. 46). Při použití laseru o vlnové délce 780 nm už vrstvy SERS aktivitu vykazují (Obr. 47), nicméně při porovnání se vzorkem C1-P je získané zesílení přibližně čtyřikrát nižší. Po měsíci od přípravy docházelo ke snížení účinnosti.



**Obrázek 49.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI aktivované v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla (C1-Sn), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



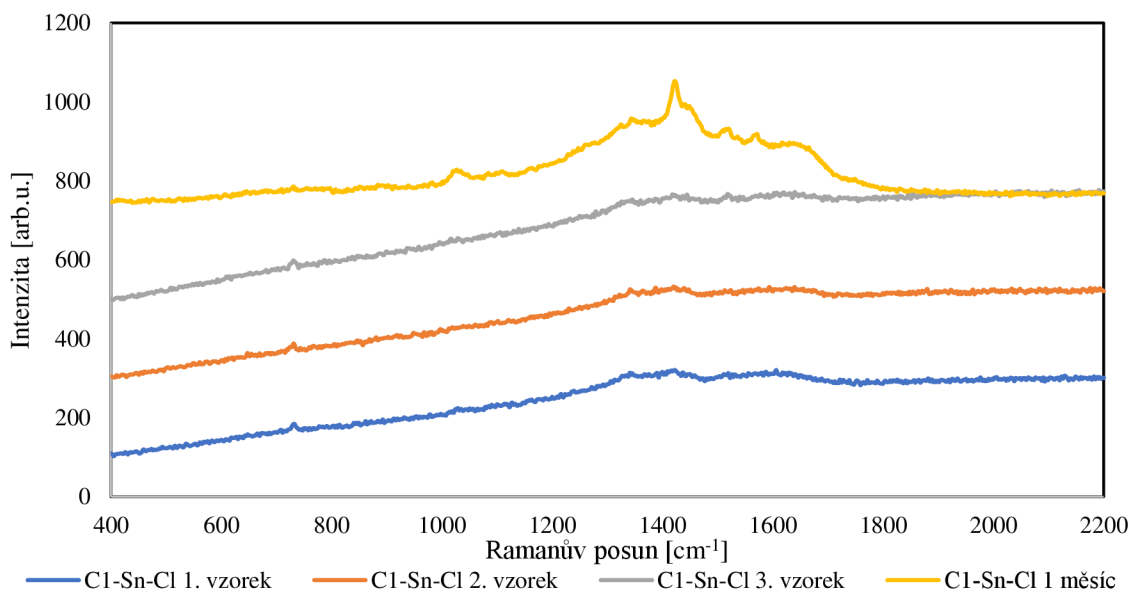
**Obrázek 50.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI aktivované v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla (C1-Sn), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.



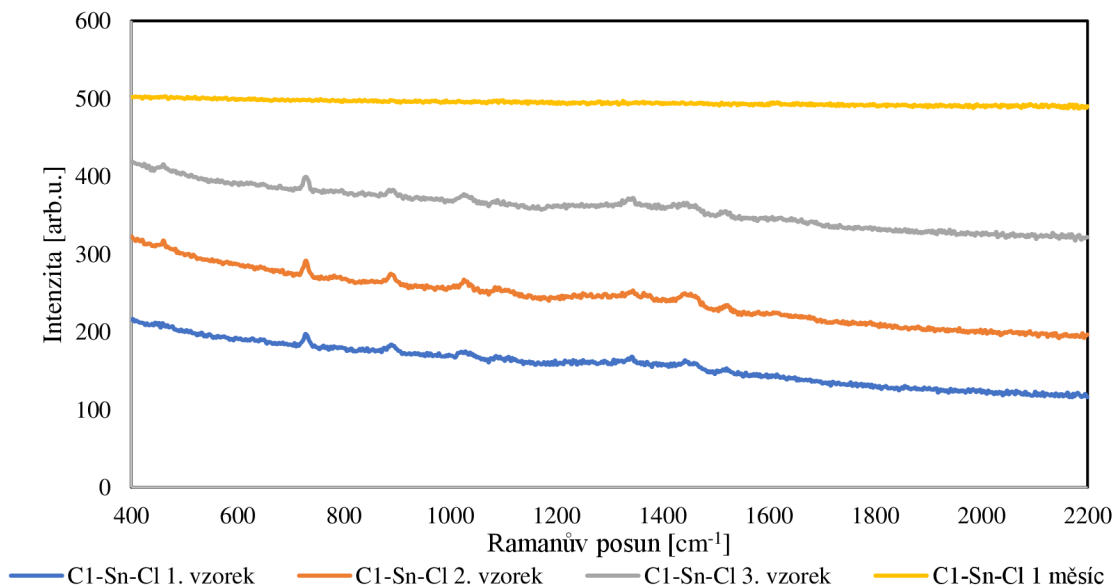
**Obrázek 51. SEM snímky substrátu připraveného na CEL-PEI s pomocí maltosy jako redukčního činidla, (C1-Sn).**

V případě, kdy byl celulosový substrát před nanesením vrstvy částic stříbra ponořen do chloridu cínatého (C1-Sn), byly na povrchu získány krychličky o rozměrech hran okolo 150 nm, a to jak samostatně, tak i ve shlucích (Obr. 51). Tento typ vrstvy byl vhodný pouze pro měření s laserem o vlnové délce 532 nm (Obr. 49), jelikož krychličky a další typy částic nedosahují takových rozměrů, aby byly SERS aktivní v NIR oblasti, a větší vzdálenosti mezi částicemi podporující aktivitu při vlnové délce 532 nm. U přítomných krychliček lze pozorovat, že jsou vzájemně v kontaktu, což může pozitivně ovlivnit získané zesílení Ramanova signálu, zvláště tehdy, dotýkají-li se svými hranami, protože při tom generují hot-spoty. Tyto vzájemné orientace částic jsou na SEM snímcích také pozorovatelné. [126, 127] Po opětovném měření po 1 měsíci od přípravy SERS aktivita klesala, nicméně stále bylo zesílení poměrně výrazné.

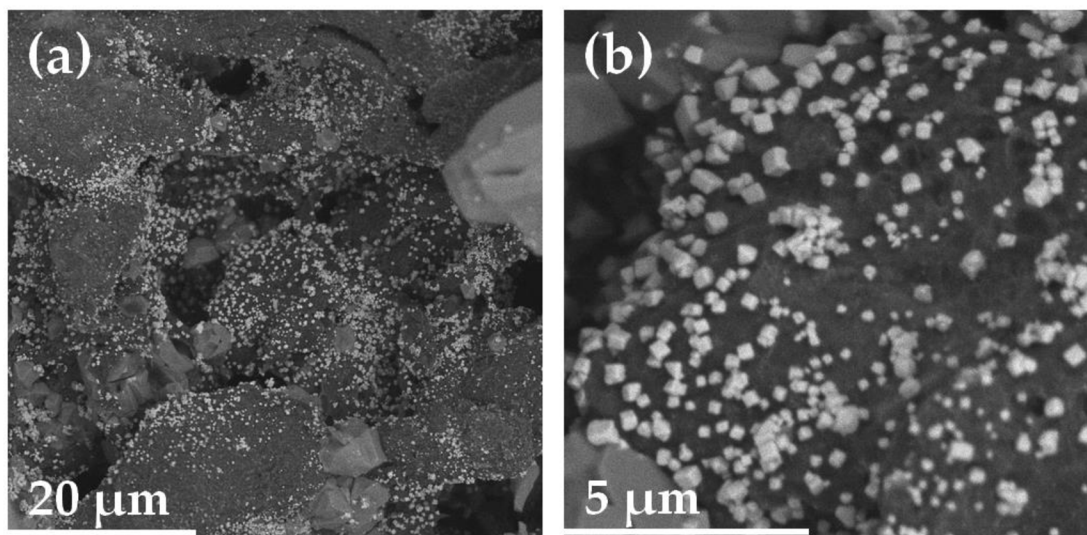




**Obrázek 52.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI aktivované v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C1-Sn-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

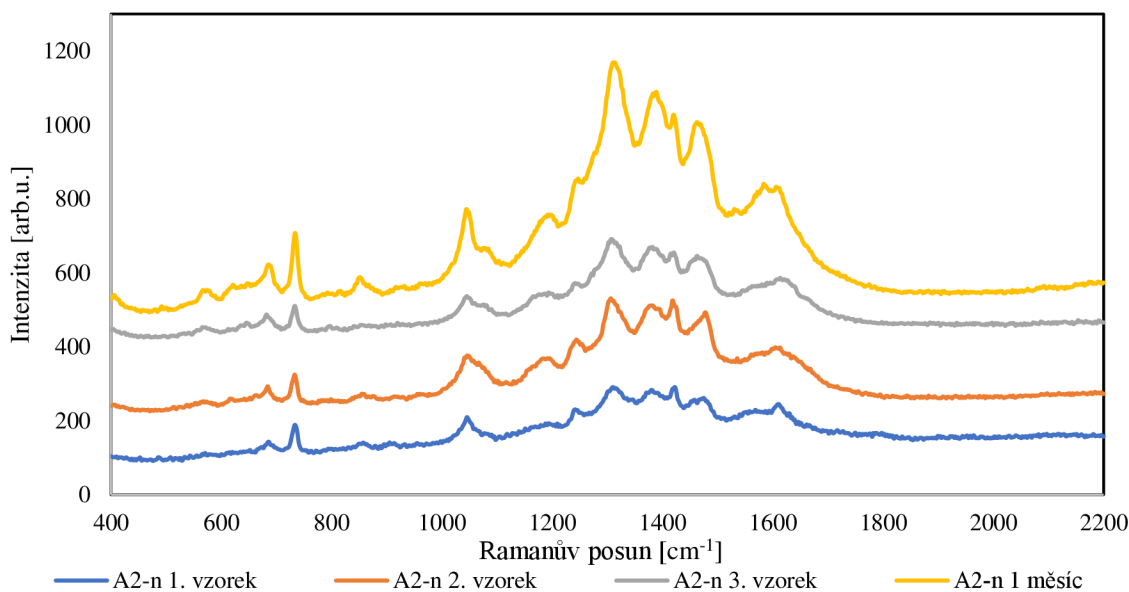


**Obrázek 53.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI aktivované v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí maltosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C1-Sn-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

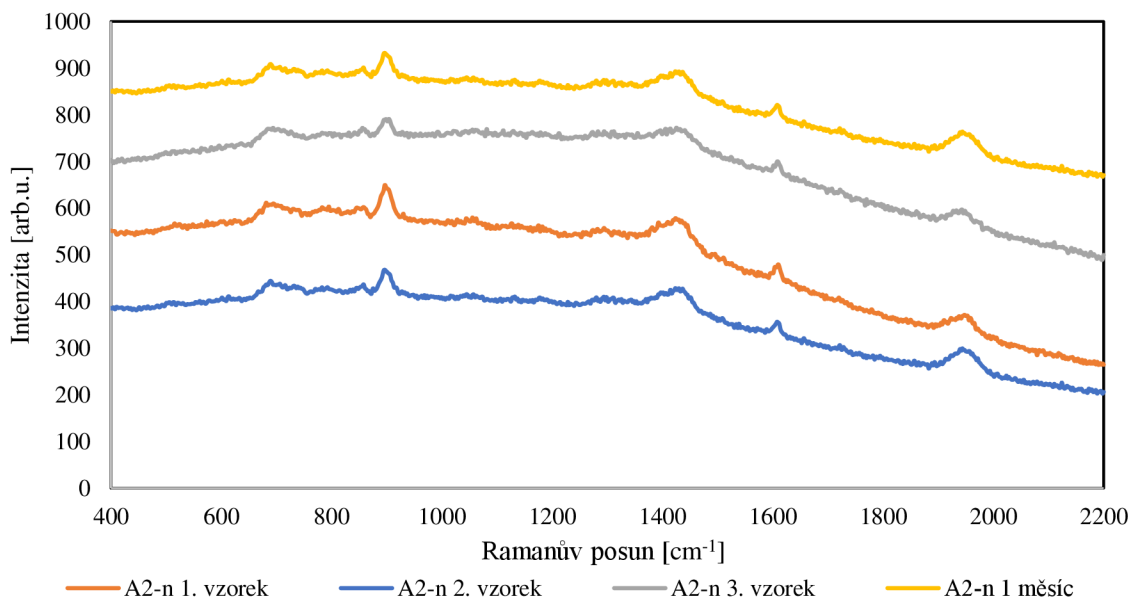


**Obrázek 54.** SEM snímky substrátu připraveného na CEL-PEI s pomocí maltosy jako redukčního činidla, který byl po nanesení vrstvy stříbra upraven v NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C1-Sn-Cl).

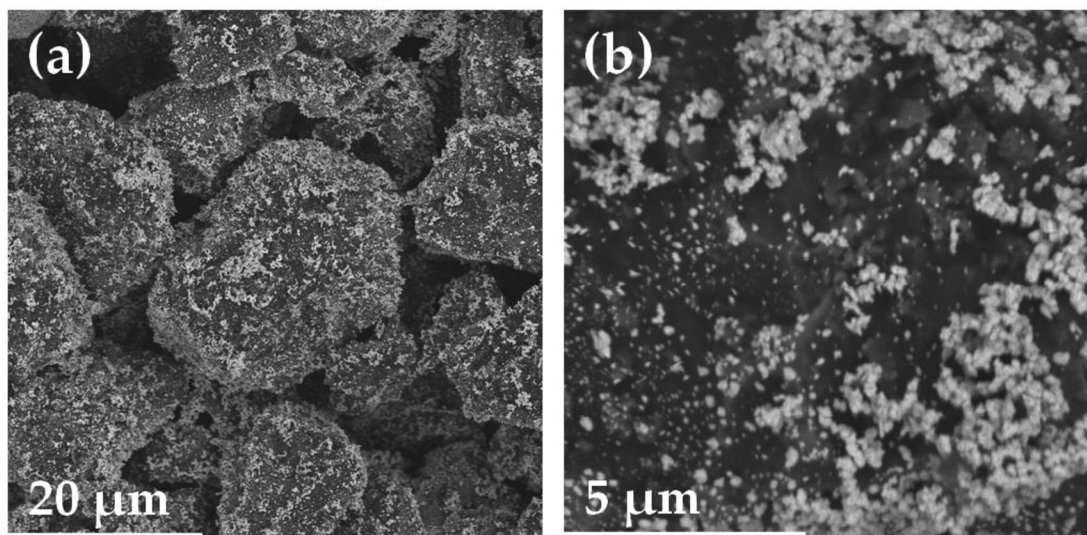
V případě vrstev stříbra na celulóse impregnované polyethyleniminem, které byla předem upravena v  $\text{SnCl}_2$  a po nanesení stříbra byly vrstvy aktivovány v NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C1-Sn-Cl), dochází k rekrystalizaci a zvětšování stříbrných nanokrychlíčků na rozměry hran 200 – 250 nm. Zároveň jsou na povrchu přítomny i větší krystaly NaCl. Tyto vrstvy byly aktivní při použití obou vlnových délek laseru, nicméně získané zesílení bylo velice nízké. To bylo pravděpodobně způsobené tím, že tyto větší krychlíčky stříbra už nevykazovaly tak intenzivní absorpci záření v oblasti vlnové délky 532 nm a zároveň jejich velikost ještě nebyla dostatečná k tomu, aby byly absorpční pásy plasmonu posunuty dostatečně do NIR oblasti. Zároveň se krychlíčky již vzájemně nedotýkají v takové míře jako v případě vzorku C1-Sn, což mohlo zapříčinit nižší intenzity, jelikož pole v okolí částic nebylo tak silné. Tyto vrstvy po 1 měsíci od přípravy už SERS aktivity nevykazovaly.



**Obrázek 55.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla (A2-n), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

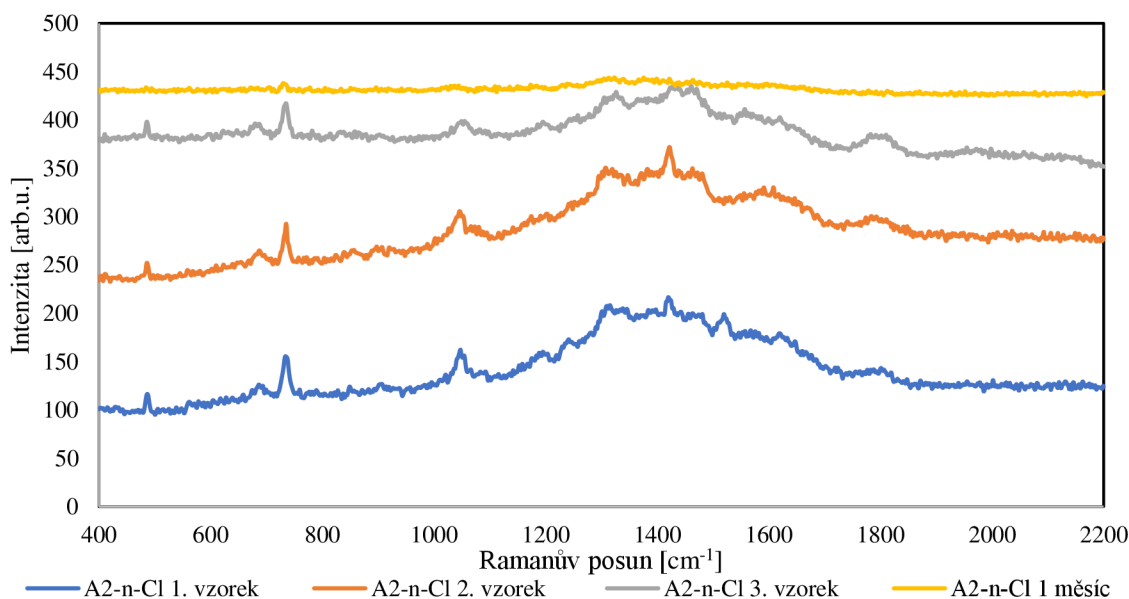


**Obrázek 56.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla (A2-n), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

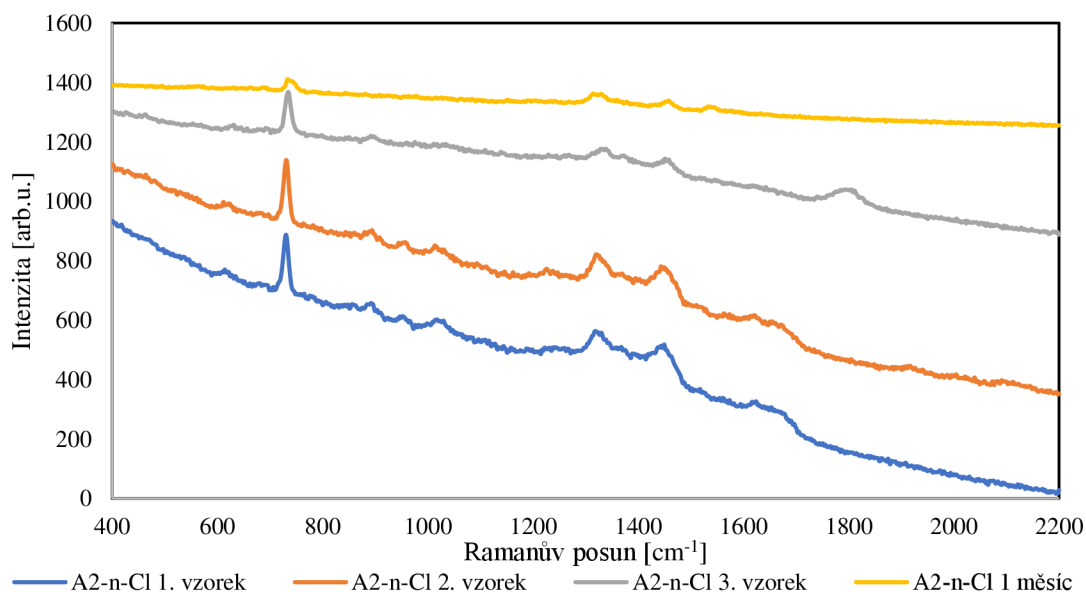


**Obrázek 57. SEM snímky substrátu připraveného na  $\text{AlO}_x$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla (A2-n).**

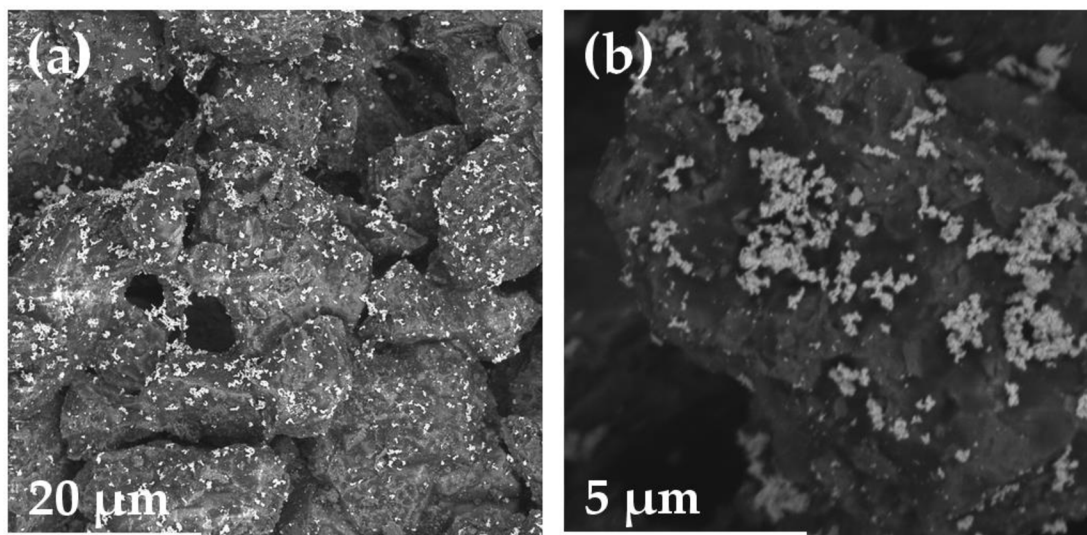
Následující vzorky vrstev byly připravovány pomocí glukosy jakožto redukčního činidla. Na vzorku, kde neproběhly žádné povrchové úpravy (A2-n), a byla využita sonochemická redukce a depozice částic stříbra, byly získány nanočástice o velikosti 100 nm, tedy o větší velikosti než u maltosy. To mohlo být zapříčiněno tím, že maltosa v alkalickém prostředí hydrolyzuje na glukosové podjednotky [110], což vede ke zvýšení koncentrace redukčního činidla v reakční směsi, a tedy ke generaci většího počtu nukleačních zárodků, snížení mezičásticové vzdálenosti vznikajících částic a jejich menší výsledné velikosti. Tudíž pomocí glukosy by mělo být získáno méně nukleačních zárodků a tím pádem, při stejné koncentraci obou redukčních činidel, i větších částic. S tímto předpokladem bylo pracováno u hodnocení aktivity všech vrstev připravených pomocí glukosy. Na vzorku A2-n se částice nachází jak samostatně, tak i v agregátech (Obr. 57), což se odráží i na jejich SERS aktivitě, která je výrazná s použitím laseru o vlnové délce 532 nm (Obr. 55), nicméně je o více jak polovinu nižší než při přípravě substrátu s použitím maltosy, což naznačuje, že plasmonické vlastnosti těchto vrstev nebyly optimální, jelikož mohla být intenzita absorpce plasmonu v oblasti okolo 500 nm nižší, anebo byl plasmon posunut do oblastí s vyšší vlnovou délkou. Při měření s vlnovou délkou laseru 780 nm adenin detekován nebyl (Obr. 56).



**Obrázek 58.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na AlOx s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A2-n-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

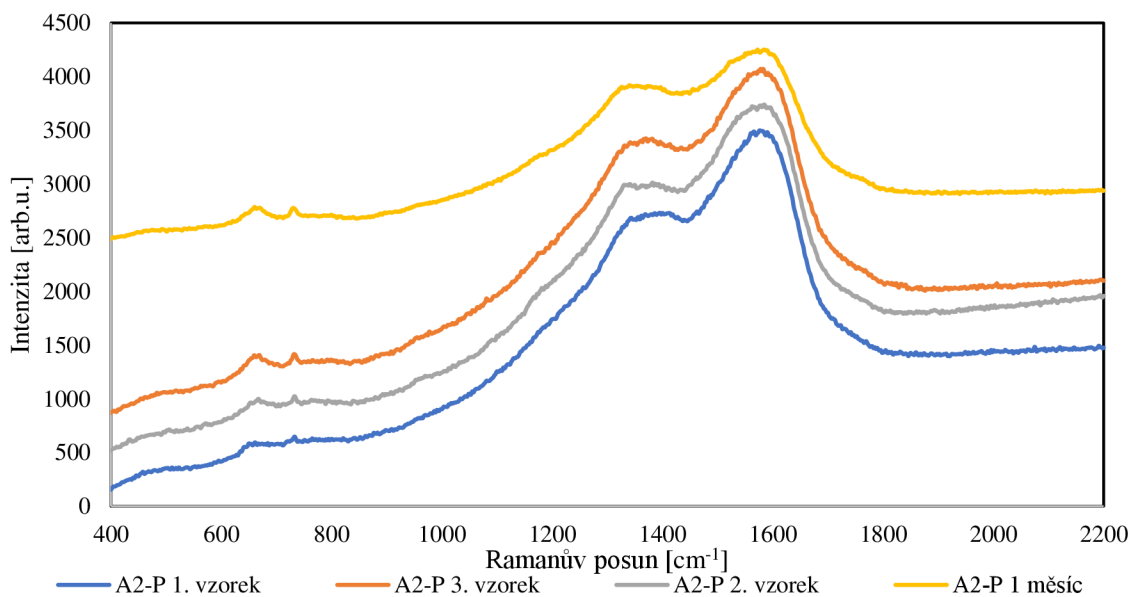


**Obrázek 59.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na AlOx s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A2-n-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

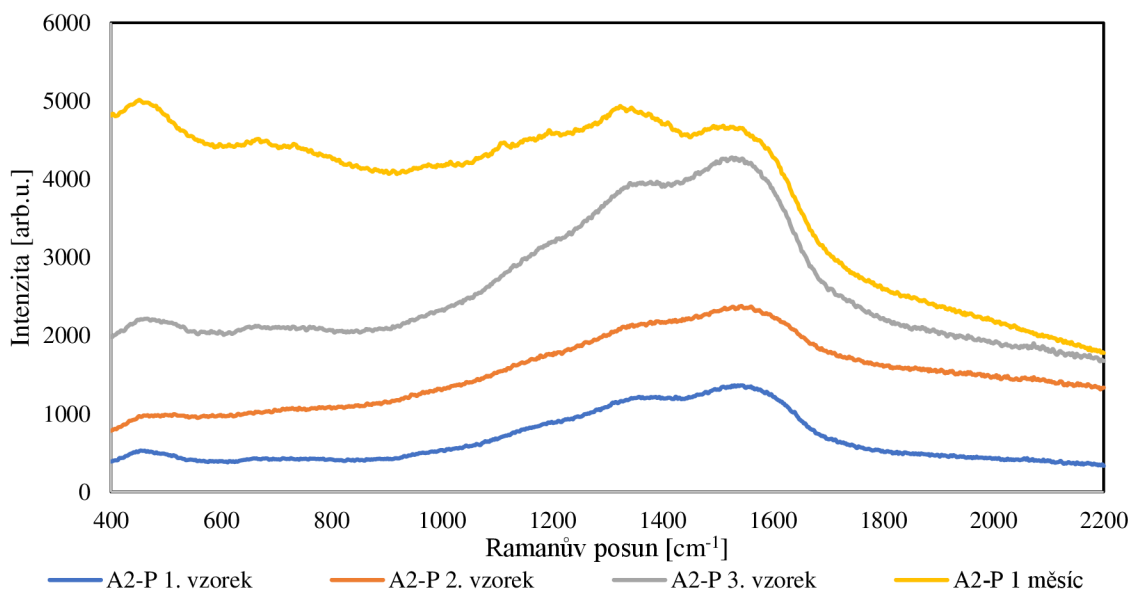


**Obrázek 60.** SEM snímky substrátu připraveného na  $\text{AlO}_x$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla, který byl po nanesení vrstvy stříbra upraven v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (A2-n-Cl).

U vrstvy připravené pomocí glukosy jako redukčního činidla na oxidu hlinitém, dochází během aktivace ve  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku  $\text{NaCl}$  (A2-n-Cl) na povrchu ke strukturálním změnám vrstev stříbra. Samostatné částice se nenachází na povrchu v takové míře a zároveň agregáty jsou vytvořeny menším počtem částic. To, že jsou na povrchu stále přítomné malé samostatně se vyskytující částice, způsobilo, že vrstva je stále použitelná i pro měření za využití laseru o vlnové délce 532 nm, nicméně se sníženým počtem těchto částic klesla i intenzita zesíleného Ramanovu signálu, a to o necelou polovinu. Naproti tomu, rekrystalizované shluky částic byly vysoce aktivní, pokud byl použit laser o vlnové délce 780 nm. V obou případech intenzita Ramanova signálu po 1 měsíci od přípravy vrstev výrazně klesala.



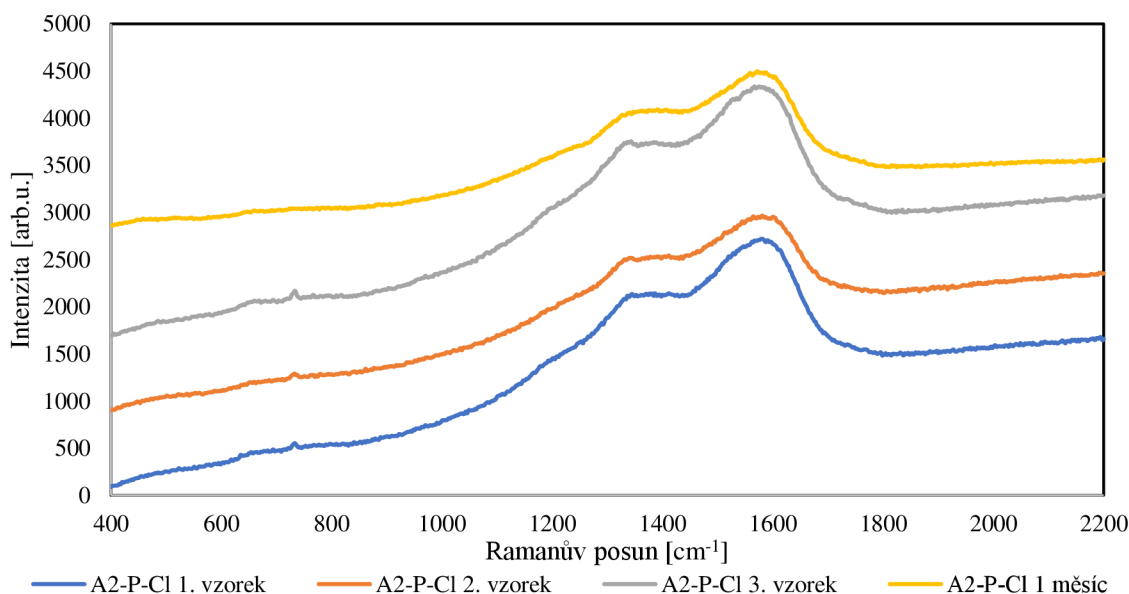
**Obrázek 61.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na AlOx s vrstvou polydopaminu s pomocí glukosy jako redukčního činidla (A2-P), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



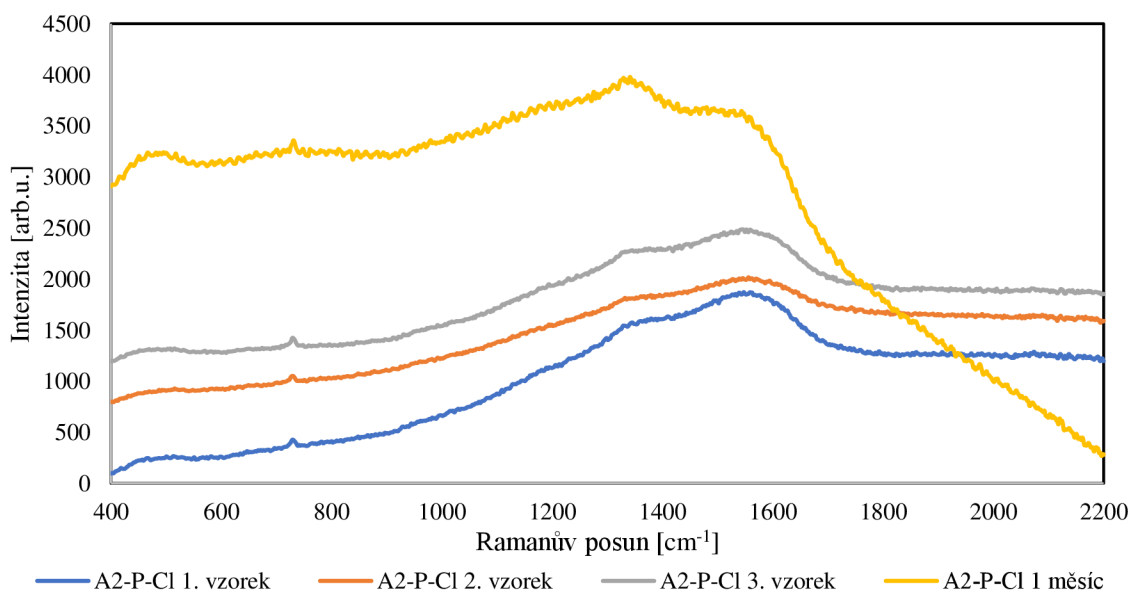
**Obrázek 62.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na AlOx s vrstvou polydopaminu s pomocí glukosy jako redukčního činidla (A2-P), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

V případě substrátu na oxidu hlinitém s vrstvou polydopaminu (A2-P) je situace velice podobná jako v případě použití maltosy (A1-P), substrát úspěšně zesiluje Ramanův signál pouze v prvním případě, kdy bylo měření prováděno s laserem o vlnové délce 532 nm. Intenzita získaného zesílení byla v tomto případě o něco vyšší, což mohlo být způsobeno předpokládaným vznikem větších částic s většími mezičásticovými vzdálenostmi. Intenzita zesíleného Ramanova signálu po měsíci byla také nepatrně

vyšší, což mohlo být způsobeno strukturálními změnami ve vrstvě polydopaminu, které jsou možné vidět ve spektrech (Obr. 61, 62) a to převážně s použitím laseru s vlnovou délkou 780 nm, které mohly mít vliv na strukturu stříbrné vrstvy.



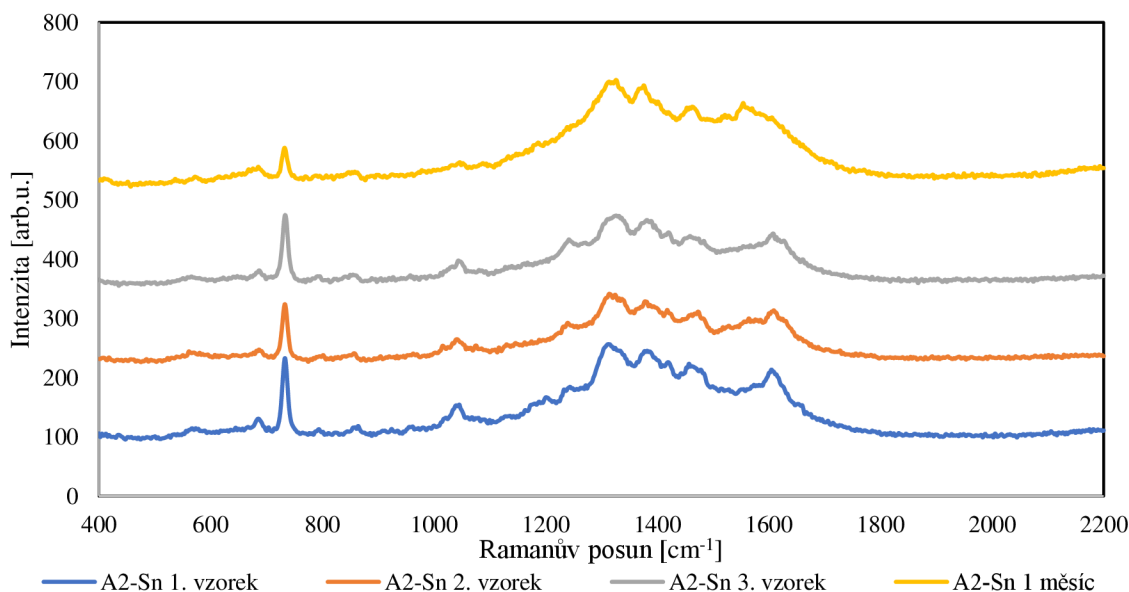
**Obrázek 63.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  s vrstvou polydopaminu s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A2-P-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



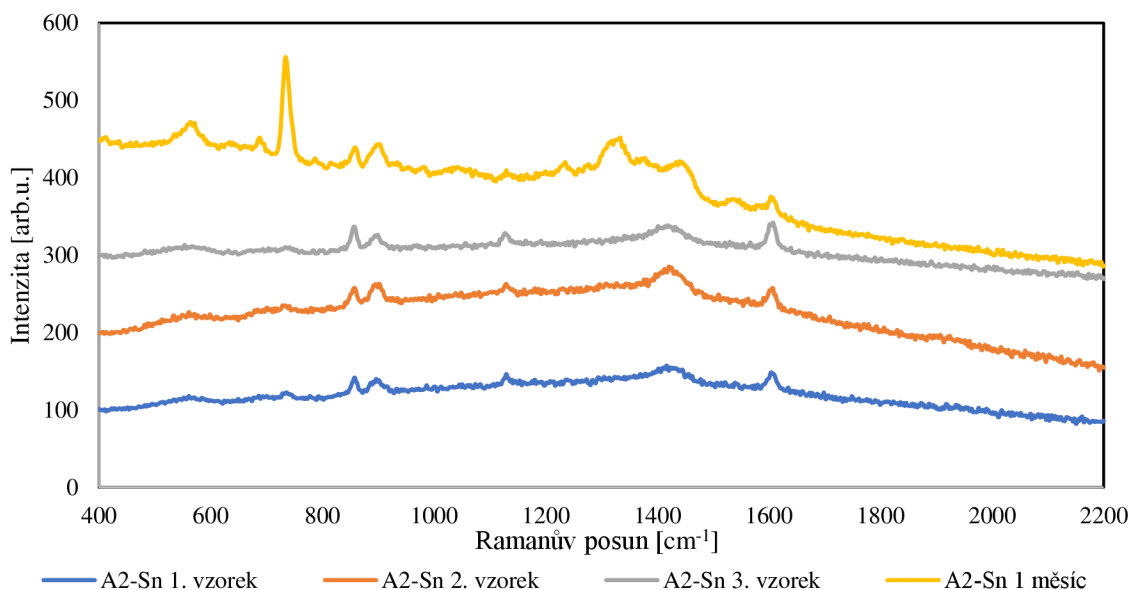
**Obrázek 64.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  s vrstvou polydopaminu s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A2-P-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.



U vzorku na oxidu hnitém s vrstvou polydopaminu, kde byla k redukci využita glukosa a následně proběhla aktivace ve  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku NaCl (A2-P-Cl) je zajímavé, že vykazuje velice podobnou aktivitu u obou použitých laserů, co se týká zesílení charakteristického píku adeninu (Obr 63, 64). U laseru s vlnovou délkou 780 nm docházelo ke snížení intenzit pásu polydopaminu, což měření pomocí tohoto laseru činí výhodnější, jelikož při detekci jiného analytu je menší pravděpodobnost, že jeho píky budou překryty intenzivním signálem polydopaminu.

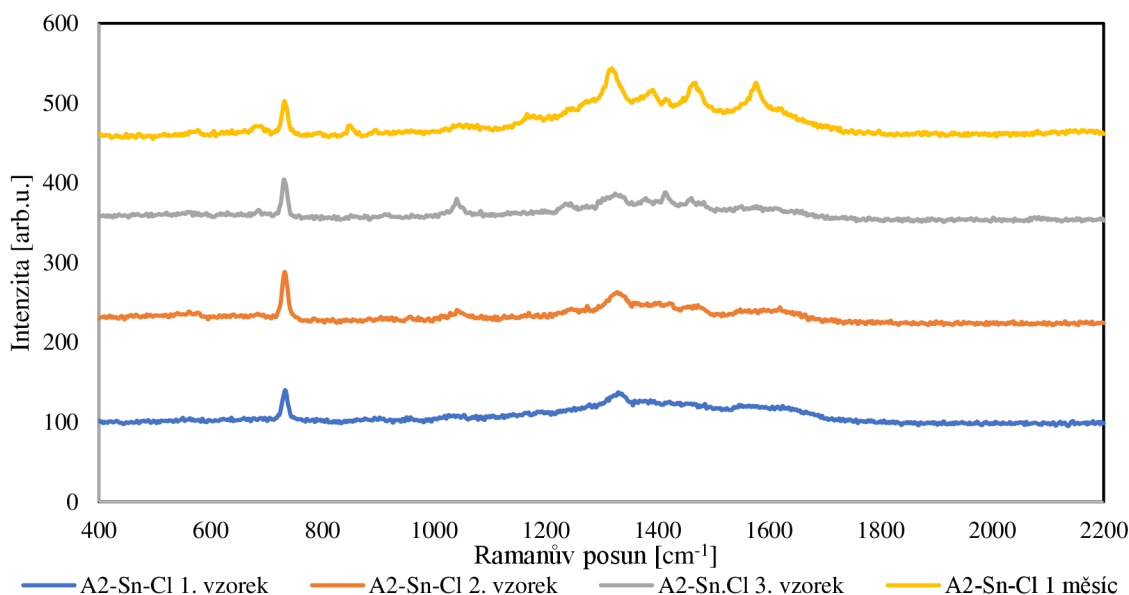


**Obrázek 65.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  aktivovaném v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla (A2-Sn), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

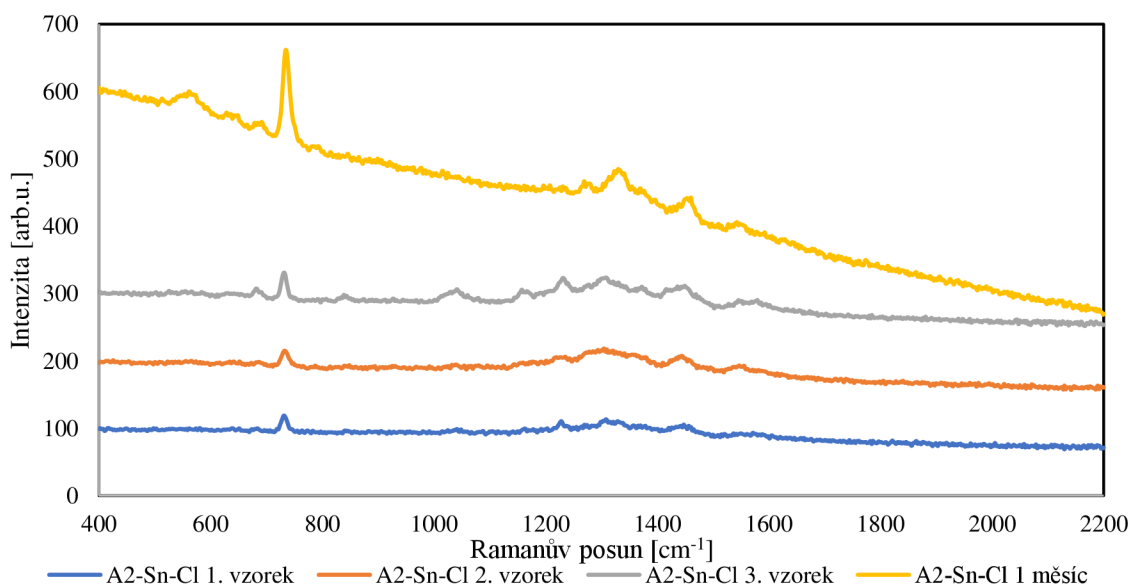


**Obrázek 66.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlO}_x$  aktivovaném v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla (A2-Sn), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

Vzorek na oxidu hlinitém, jehož povrch byl předem upraven v roztoku  $\text{SnCl}_2$  (A2-Sn), vykazoval výraznou SERS aktivitu v případě použití laseru s vlnovou délkou 532 nm (viz Obr 65). Předkládá se obdobná struktura jako u substrátu A1-Sn, ovšem s většími samostatně se vyskytujícími se částicemi, u vzorku redukovaném glukosou však intenzita získaného signálu po 1 měsíci klesá na polovinu. Naopak při měření s laserem o vlnové délce 780 nm substrát začal vykazovat zesílení až po měsíci od jeho přípravy (Obr. 66), což mohlo být způsobeno možnou rekrytalizací a vznikem defektů ve struktuře nanočástic.



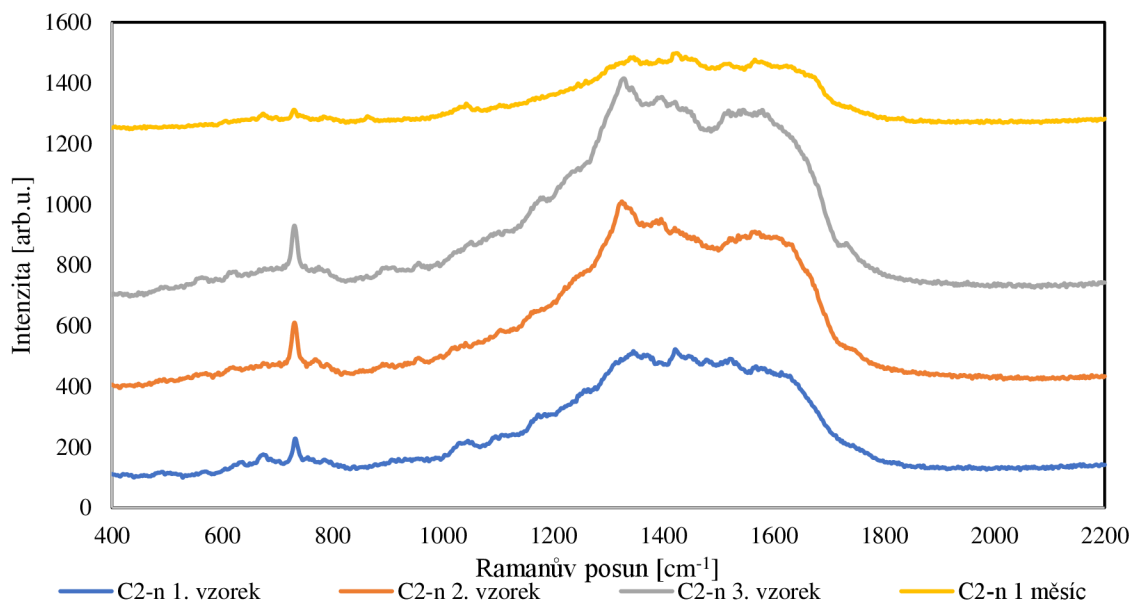
**Obrázek 67.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  aktivovaném v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A2-Sn-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



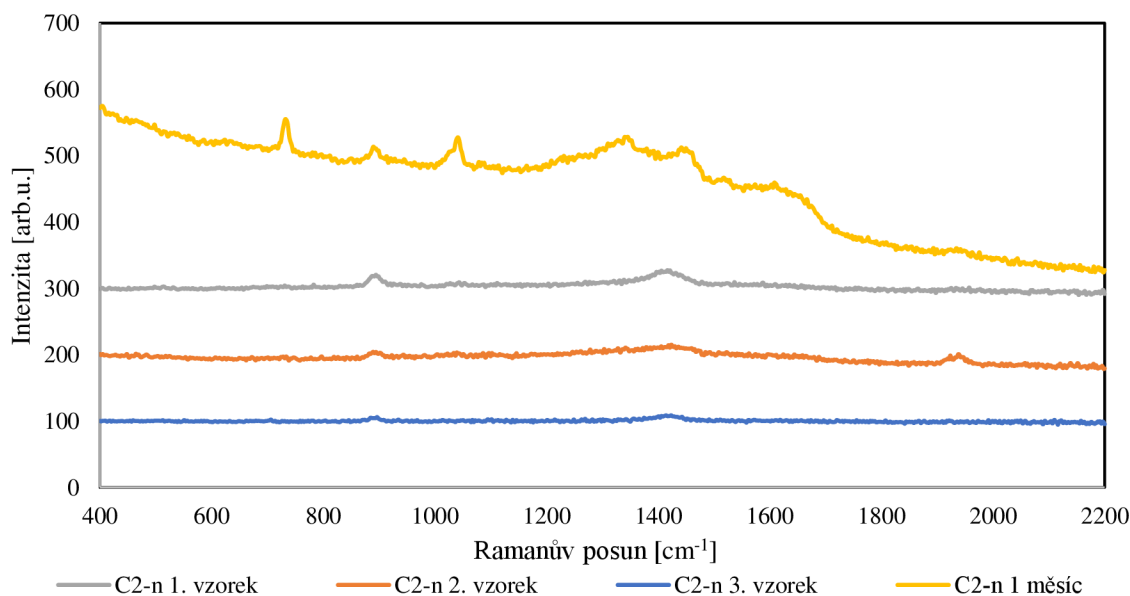
**Obrázek 68.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na  $\text{AlOx}$  aktivovaném v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (A2-Sn-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

U vzorku na oxidu hlinitém předem upraveném v  $\text{SnCl}_2$ , který byl po nanesení vrstvy stříbra aktivován ve  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku  $\text{NaCl}$  (A2-Sn-Cl), docházelo k zesílení signálu adeninu s oběma lasery (vlnové délky 532 nm a 780nm) a získané intenzity byly srovnatelné (Obr. 67, 68). To naznačuje, že v povrchu oxidu hlinitého budou přítomné

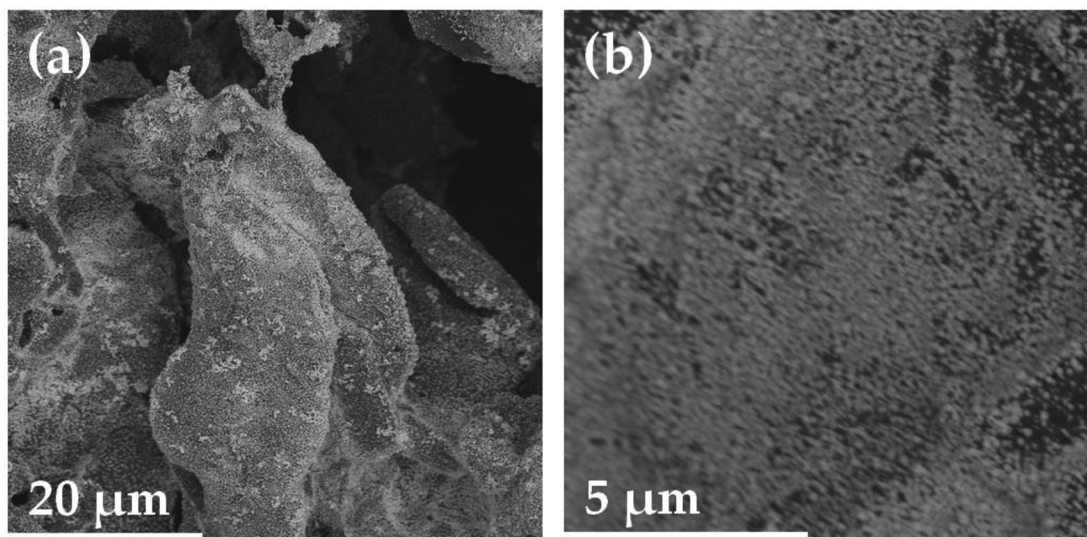
jak drobné samostatně se vyskytující částice, tak i ve větších shlucích, a také se mohou vyskytovat větší částice svou velikostí nad 500 nm. V případě použití laseru s vlnovou délkou 780 nm po 1 měsíci od přípravy docházelo k navýšení získaného zesílení, a to pravděpodobně v důsledku možných strukturních změn ve shlucích a agregátech stříbrných nanočástic.



**Obrázek 69.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s pomocí glukosy jako redukčního činidla, (C2-n), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

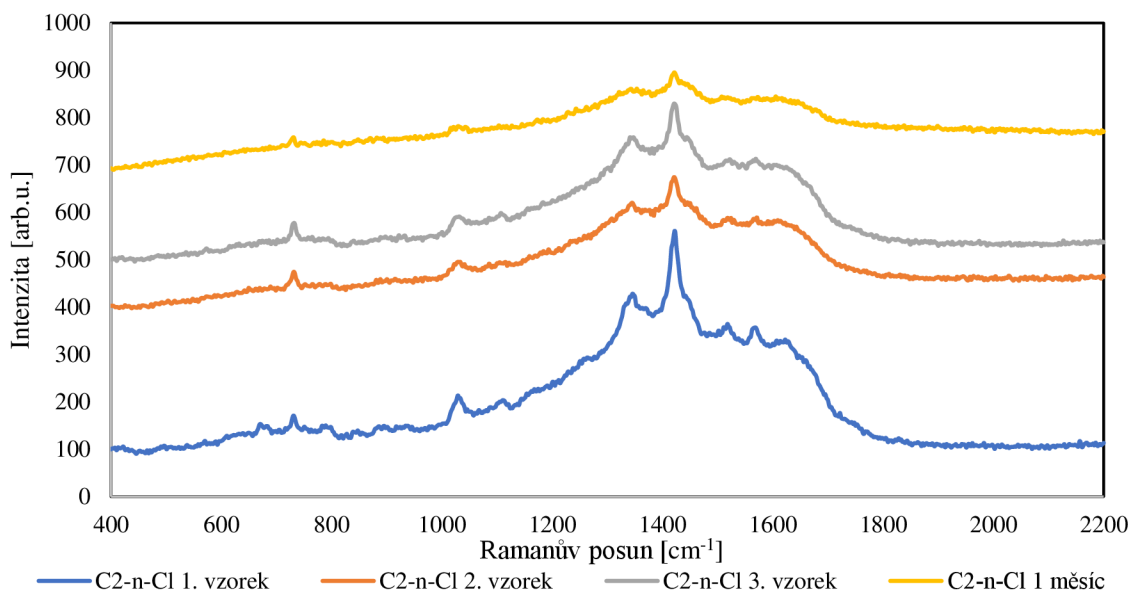


**Obrázek 70.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s pomocí glukosy jako redukčního činidla (C2-n), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

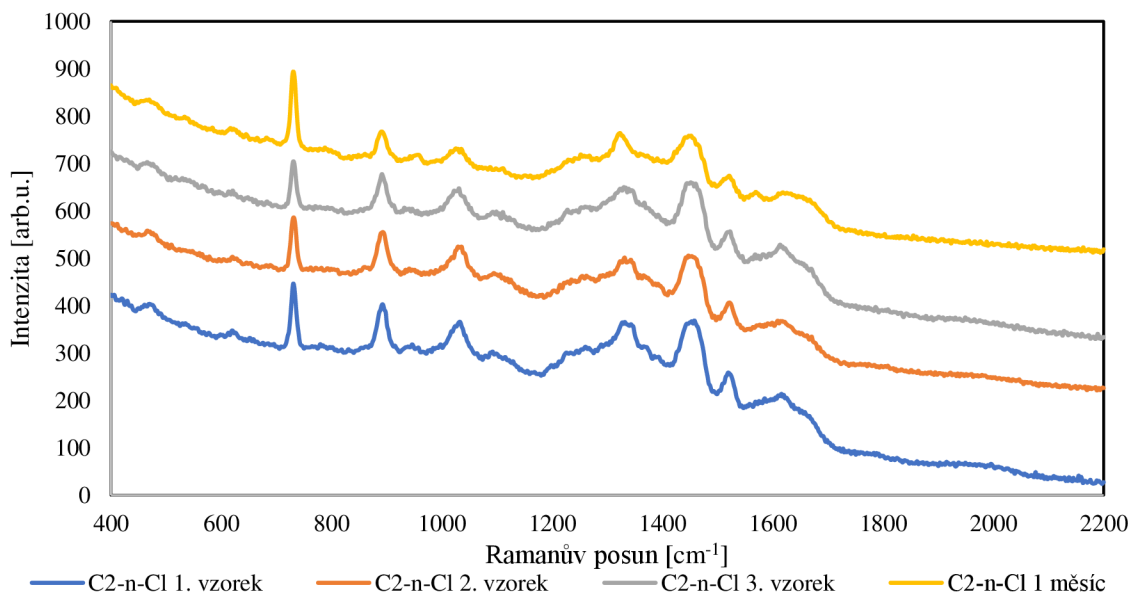


**Obrázek 71. SEM snímky substrátu připraveného na CEL-PEI s pomocí glukosy jako redukčního činidla (C2-n).**

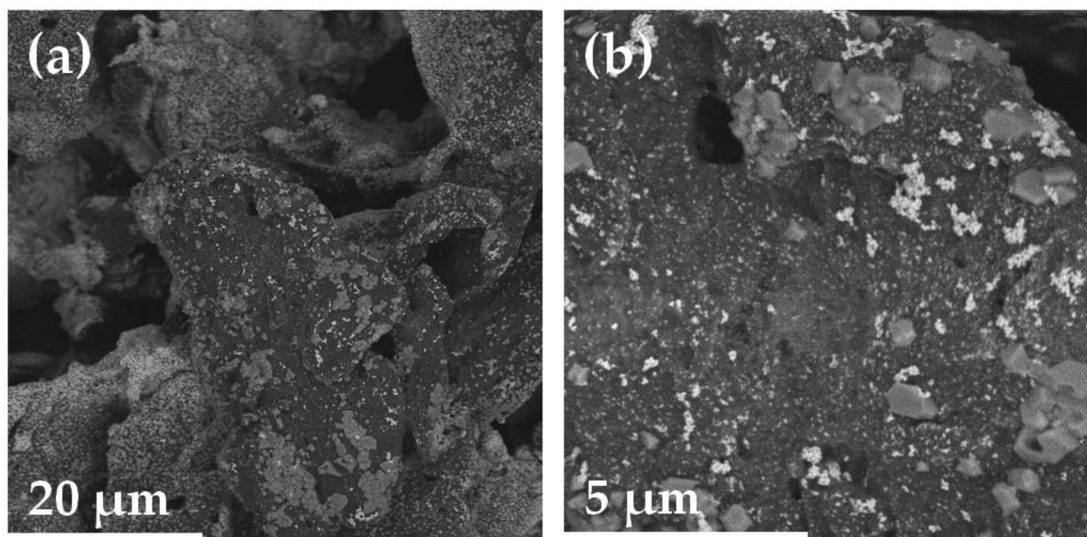
V případě vrstvy stříbra připravené glukosou na celulosovém podkladu bez dalších úprav (C2-n) se morfologie a rozmístění nanočástic na povrchu příliš neliší od vzorku C1-n, který byl připravený maltosou, nanesené částice jsou jen nepatrně větší, což pravděpodobně způsobuje aktivitu tohoto substrátu i s laserem o vlnové délce 532 nm (Obr. 69). V tomto případě se po 1 měsíci aktivita snižuje. V případě měření laserem s vlnovou délkou 780 nm vrstva aktivitu vykazuje až po 1 měsíci, což může být způsobeno drobnými strukturálními změnami v podkladovém substrátu, které mohly ovlivnit morfologii stříbrné vrstvy, anebo změnami ve struktuře stříbra vlivem koroze nebo rekrystalizacemi způsobenými vzdušnou vlhkostí.



**Obrázek 72.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C2-n-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

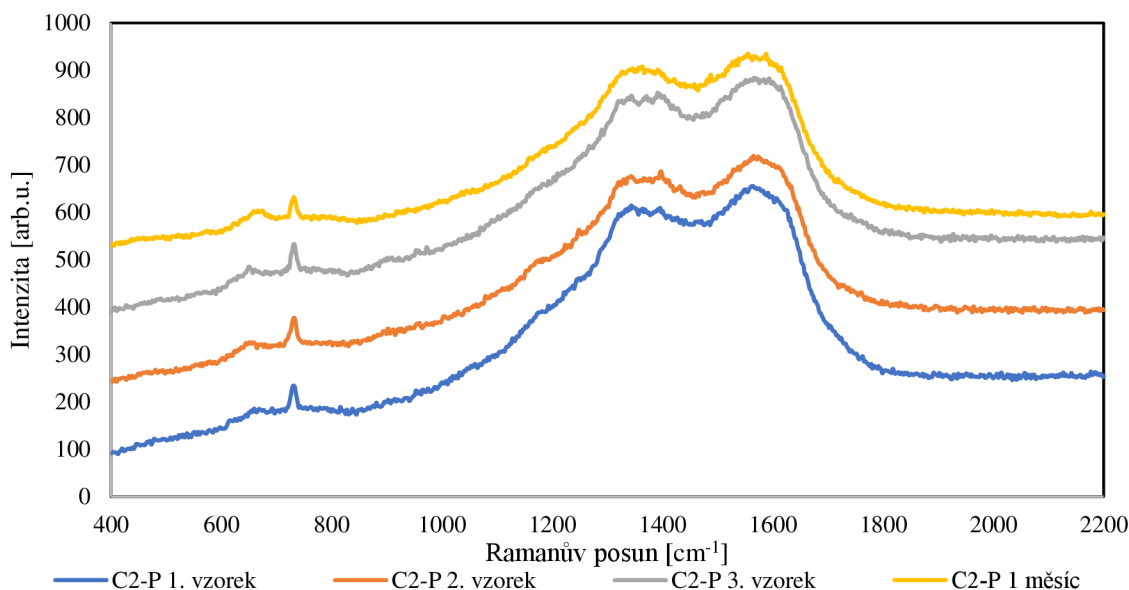


**Obrázek 73.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C2-n-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

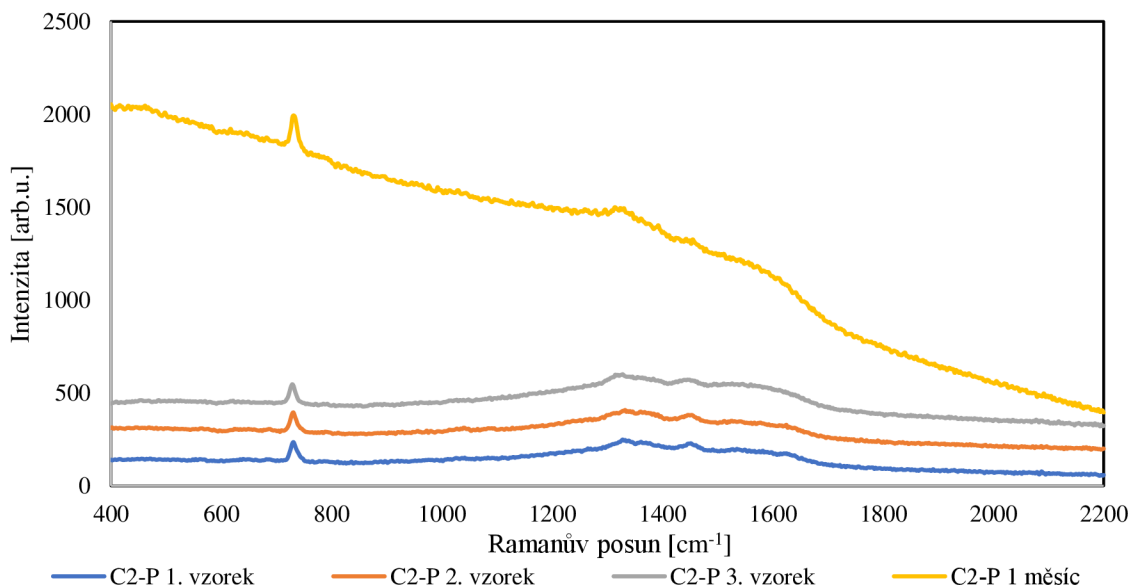


**Obrázek 74.** SEM snímky substrátu připraveného na CEL-PEI s pomocí glukosy jako redukčního činidla, který byl po nanesení vrstvy stříbra upraven v NaCl o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C2-n-Cl).

V případě aktivace vrstvy stříbra na celulóse impregnované polyethyleniminem ve  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku NaCl (C2-n-Cl) lze na snímcích z elektronového mikroskopu (Obr. 74) vidět výrazné změny ve struktuře stříbrných nanočástic. Pokrytí již není tak husté a homogenní, vznikají nepravidelné shluky, které pravděpodobně způsobují dobré zesílení Ramanova signálu při použití laseru o vlnové délce 780 nm. Zároveň v tomto případě vykazovaly vrstvy dobrou stabilitu v čase (viz Obr. 73). Zesílení získané s kratší vlnovou délkou laseru bylo velmi slabé (Obr. 72), což mohlo být způsobeno příliš malou velikostí samostatně se vyskytujících nanočástic, které by pravděpodobně mohly vykazovat vyšší SERS aktivitu s ještě kratší vlnovou délkou laseru (např.: 455 nm).



**Obrázek 75.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí glukosy jako redukčního (C2-P), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

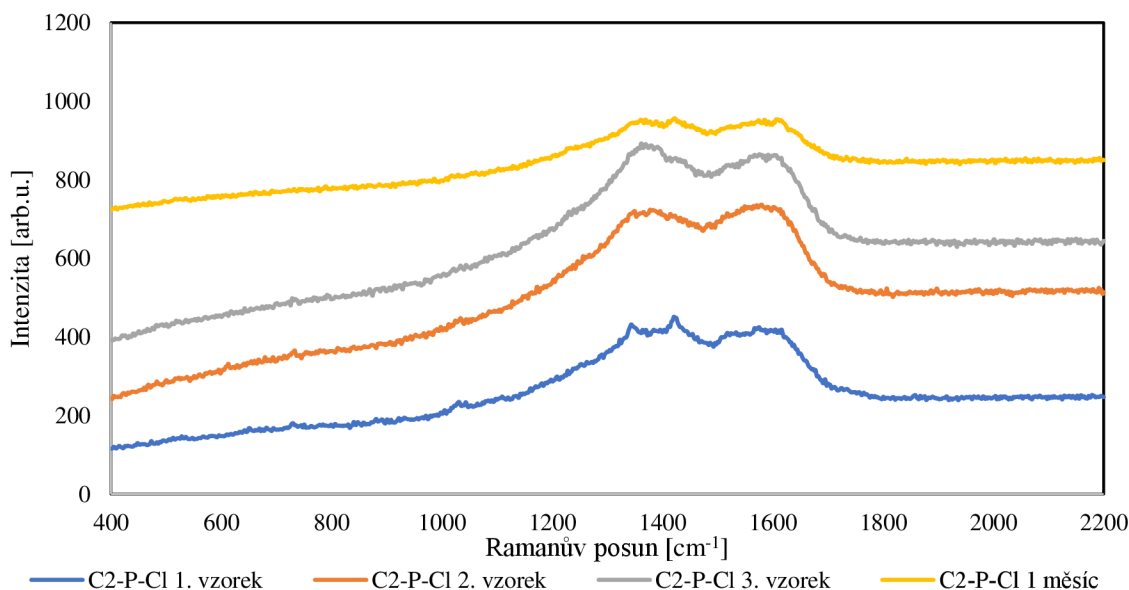


**Obrázek 76.** SERS spektra  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí glukosy jako redukčního činidla (C2-P), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

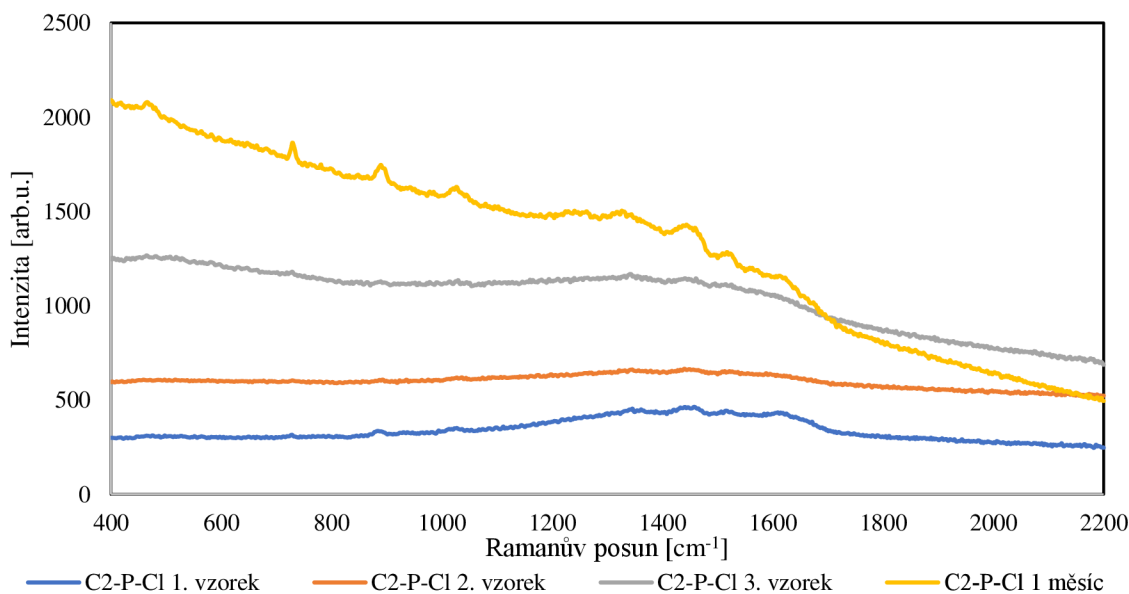
U vzorku, kde byl použit polydopamin a následně glukosa jako redukční činidlo (C2-P), je pravděpodobné, že vznikaly větší částice než v případě použití maltosy, a v důsledku toho byly mezi částicemi i větší vzdálenosti, což bylo nejspíše příčinou dobré aktivity jak při použití laseru o vlnové délce 532 nm, tak i při měření s vlnovou délkou 780 nm



(viz Obr. 75, 76). V obou případech substrát výkazovou dobrou časovou stabilitu a poskytoval konstantní zesílení signálu.

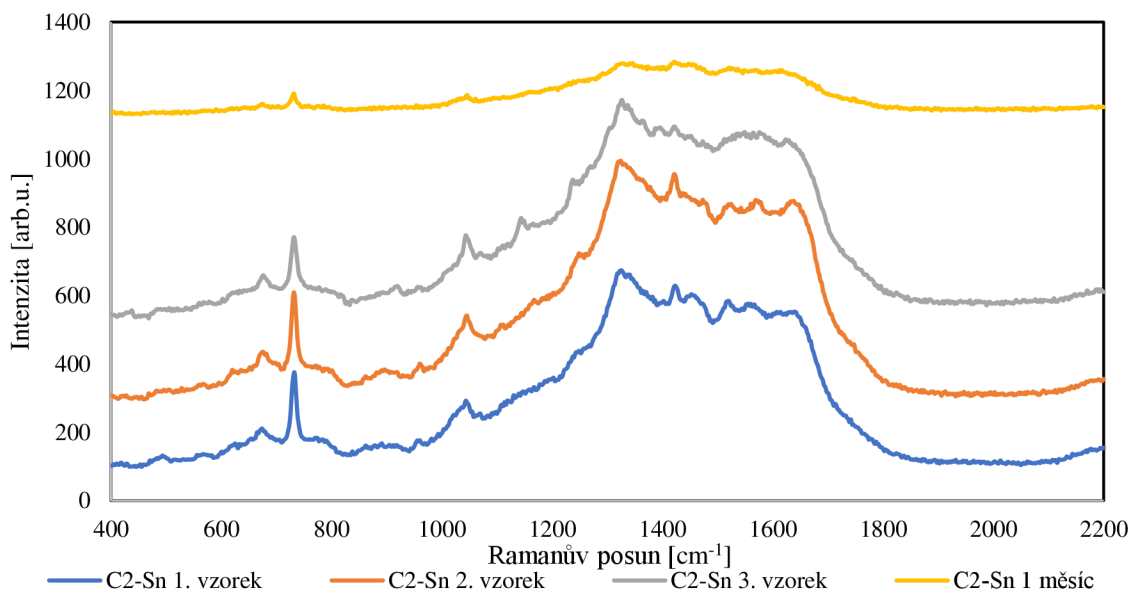


**Obrázek 77.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C2-P-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

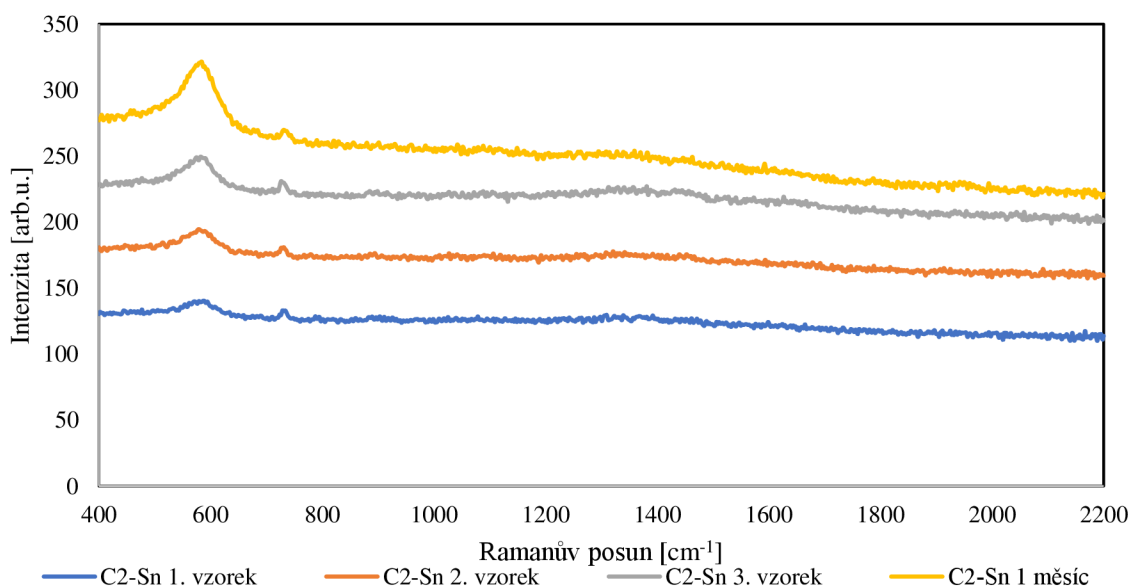


**Obrázek 78.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI s vrstvou polydopaminu s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v NaCl o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C2-P-CI), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

Zde byla SERS aktivita pozorována pouze s použitím laseru o vlnové délce 780 nm, a to 1 měsíc po přípravě (Obr. 78), kdy v tomto časovém rozmezí pravděpodobně docházelo k dalším strukturním změnám vlivem vzdušné vlhkosti a k rekrystalizacím. Pomocí laseru s vlnovou délkou 532 nm nebyl adenin detekován ani po přípravě vrstvy, ani měsíc od její přípravy (Obr. 77).

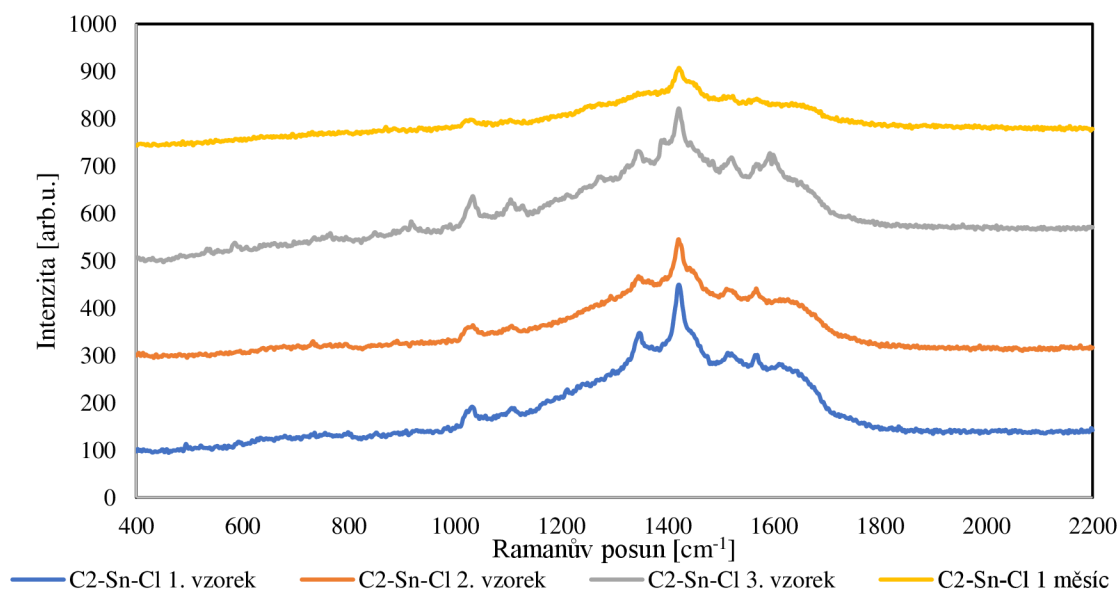


**Obrázek 79.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI aktivované v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla (C2-Sn), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.

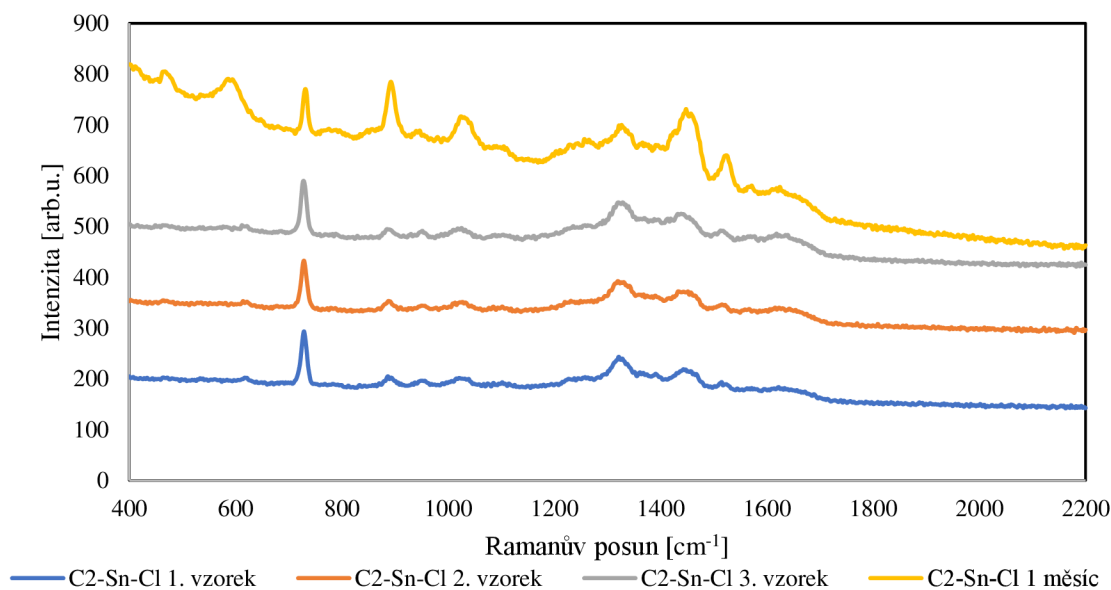


**Obrázek 80.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI aktivované v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla (C2-Sn), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

U vzorku vrstvy stříbra na celulosovém podkladu, který byl předem upraven v  $\text{SnCl}_2$  (C2-Sn), docházelo k výraznému zesílení Ramanova signálu, pokud jde o laser s vlnovou délkou 532 nm (Obr. 79). Intenzity jsou však přibližně o polovinu nižší než u vzorku C1-Sn, který byl redukován maltosou. To naznačuje, že získané částice na povrchu jsou zde buď větší, anebo se nachází dále od sebe, a tudíž neposkytují tolik hot-spotů. Přítomnost větších částic také koresponduje se získaným zesílením při použití laseru o vlnové délce 780 nm (Obr. 80), nicméně zastoupení těchto částic nejspíš nebude tak výrazné, vzhledem k tomu, s jakou intenzitou je zesílen Ramanův signál s laserem o vlnové délce 532 nm.



**Obrázek 81.** SERS spektra  $10^{-5} \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI aktivované v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4 \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  (C2-Sn-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



**Obrázek 82.** SERS spektra  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na vzorcích připravených na CEL-PEI aktivované v  $\text{SnCl}_2$  s pomocí glukosy jako redukčního činidla, které byly po nanesení vrstvy stříbra upraveny v  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (C2-Sn-Cl), po jejich přípravě a po měsíci od přípravy, která byla měřena laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 3 mW.

Posledním zkoumaným vzorkem je C2-Sn-Cl, kde byla vrstva stříbra nanесena na celulosový podklad, který byl předem upraven v  $\text{SnCl}_2$  a po nanesení stříbra byla vrstva aktivována ve  $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku  $\text{NaCl}$ , kde byla SERS aktivita pozorována jen s laserem o vlnové délce 780 nm (Obr. 82), což je pravděpodobně způsobeno možnou přítomností větších částic stříbra, které vznikaly rekrystalizací pomocí roztoku  $\text{NaCl}$ . Tato vrstva také vykazovala dobrou stabilitu v čase a poskytovala konstantní zesílení Ramanova signálu.

Intenzity u všech vzorků pro píky v oblasti  $\sim 735\text{cm}^{-1}$  Ramanova posunu, které náleží vibraci purinu, jsou uvedeny v následujících tabulkách (Tab. 8, 9, 10 a 11). Intenzity byly odečítány vždy po zarovnání spekter na baseline. V tabulkách jsou zaznamenány i intenzity naměřené na senzorech po 1 měsíci od jejich přípravy. I toto měření pro testování stability probíhalo změřením ve 3 různých bodech vzorku. V předchozích grafech je pro přehlednost uvedeno vždy jen spektrum z jednoho bodu na vzorku.

Tabulka 8. Přehled substrátů připravených na AlOx, k jejichž přípravě byla použita maltosa jako redukční činidlo.

Substrát	Úprava před	Úprava po (4M NaCl)	Vzorek	Intenzita píku ~ 735 cm <sup>-1</sup>			
				532 nm	532 nm 1 měsíc	780 nm	780 nm 1 měsíc
AlOx	-	-	A1-n	164	224	-	166
				180	259	-	171
				175	229	-	133
		+	A1-n-Cl	326	-	142	138
				366	-	180	113
				177	-	67	81
	Polydopamin	-	A1-P	0	-	270	108
				62	-	334	116
				68	-	269	129
		+	A1-P-Cl	-	-	390	219
				-	-	195	197
				-	-	314	224
	SnCl <sub>2</sub>	-	A1-Sn	105	125	-	-
				112	146	-	-
				107	125	-	-
		+	A1-Sn-Cl	10	8	37	24
				18	11	38	25
				22	11	29	30

Tabulka 9. Přehled substrátů připravených na CEL-PEI, k jejichž přípravě byla použita maltosa jako redukční činidlo.

Substrát	Úprava před	Úprava po (4M NaCl)	Vzorek	Intenzita píku ~ 735 cm <sup>-1</sup>			
				532 nm	532 nm 1 měsíc	780 nm	780 nm 1 měsíc
CEL-PEI	-	-	C1-n	-	121	37	-
				-	132	32	-
				-	136	68	-
		+	C1-n-Cl	-	-	157	126
				-	-	150	104
				-	-	103	90
	Polydopamin	-	C1-P	36	54	512	38
				34	53	668	40
				31	74	917	33
		+	C1-P-Cl	-	-	136	33
				-	-	183	53
				-	-	115	44
	SnCl <sub>2</sub>	-	C1-Sn	445	148	-	-
				392	111	-	-
				378	123	-	-
		+	C1-Sn-Cl	20	16	17	-
				21	19	22	-
				22	13	19	-

**Tabulka 10. Přehled substrátů připravených na AlOx, k jejichž přípravě byla použita glukosa jako redukční činidlo.**

Substrát	Úprava před	Úprava po (4M NaCl)	Vzorek	Intenzita píku ~ 735 cm <sup>-1</sup>			
				532 nm	532 nm 1 měsíc	780 nm	780 nm 1 měsíc
AlOx	-	-	A2-n	72	155	-	-
				74	189	-	-
				65	179	-	-
		+	A2-n-Cl	41	9	199	46
				40	6	213	41
				34	10	140	34
	Polydopamin	-	A2-P	64	115	-	-
				78	110	-	-
				100	106	-	-
		+	A2-P-Cl	69	-	83	105
				61	-	70	96
				99	-	95	26
	SnCl <sub>2</sub>	-	A2-Sn	125	55	-	137
				92	63	-	119
				109	52	-	118
		+	A2-Sn-Cl	38	43	24	131
				59	43	23	149
				47	37	40	90

**Tabulka 11. Přehled substrátů připravených na CEL-PEI, k jejichž přípravě byla použita glukosa jako redukční činidlo.**

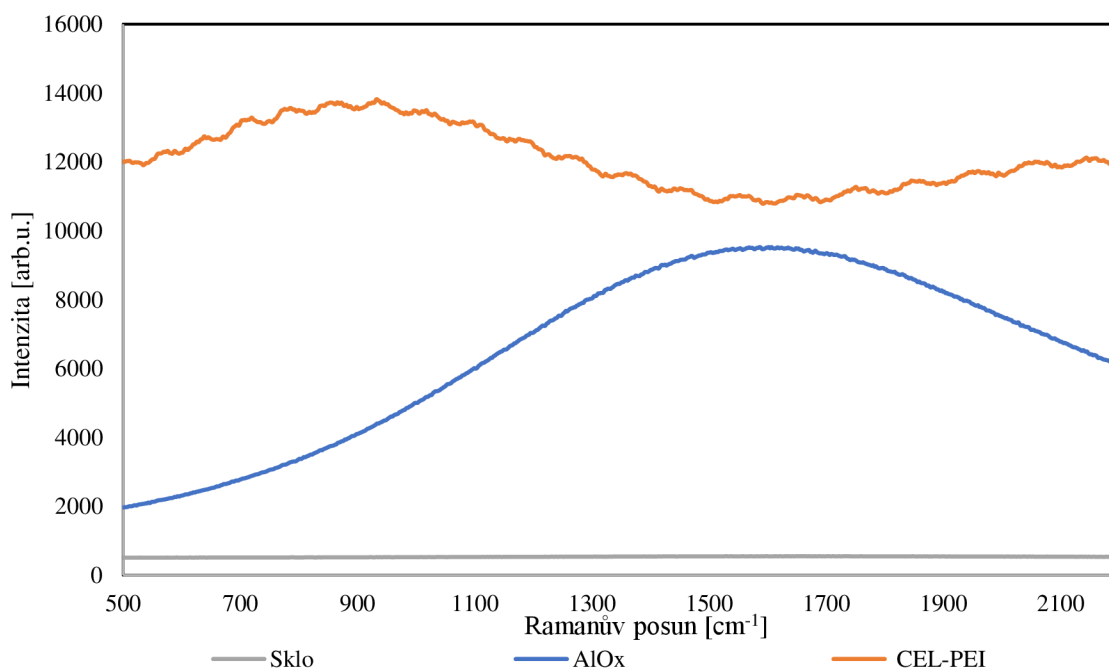
Substrát	Úprava před	Úprava po (4M NaCl)	Vzorek	Intenzita píku ~ 735 cm <sup>-1</sup>			
				532 nm	532 nm 1 měsíc	780 nm	780 nm 1 měsíc
CEL-PEI	-	-	C2-n	81	36	-	57
				140	38	-	56
				146	32	-	48
		+	C2-n-Cl	34	26	135	170
				36	28	110	183
				39	31	98	106
	Polydopamin	-	C2-P	53	46	104	200
				57	52	104	144
				60	43	105	177
		+	C2-P-Cl	-	-	-	64
				-	-	-	102
				-	-	-	109
	SnCl <sub>2</sub>	-	C2-Sn	200	39	7	8
				222	51	7	8
				150	46	10	9
		+	C2-Sn-Cl	-	-	104	104
				-	-	94	91
				-	-	105	121

Tyto získané intenzity, a tudíž i efektivita použití připravených vrstev jako SERS senzorů byly evaluovány pomocí faktoru zesílení, který je dán následujícím vztahem:

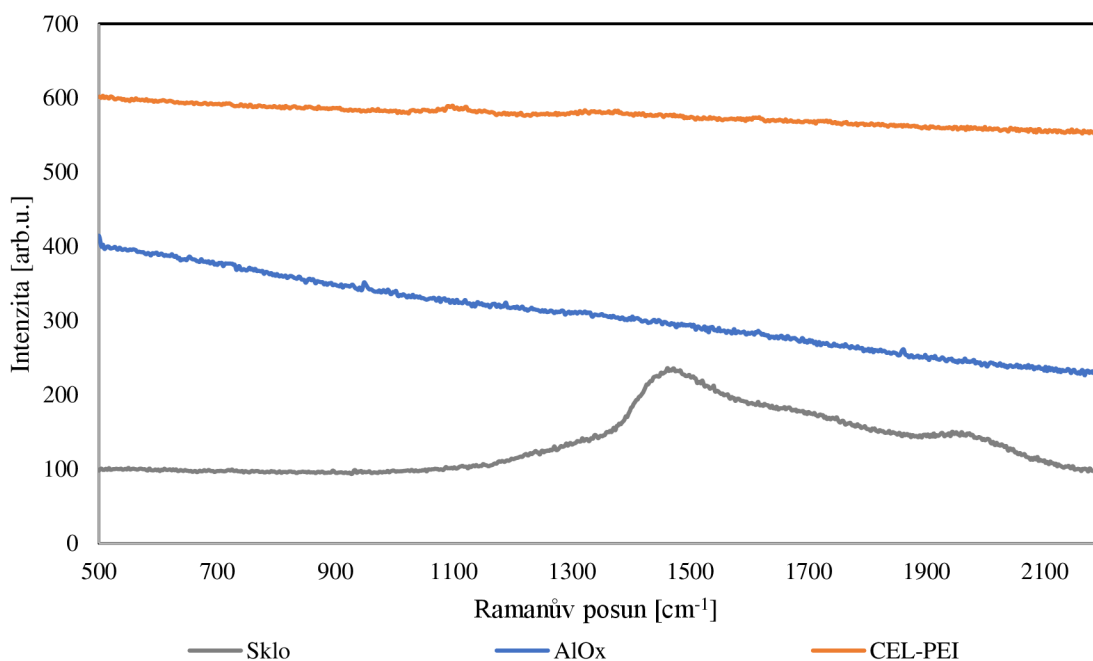
$$EF = \frac{I_{SERS}/c_{SERS}}{I_{Raman}/c_{Raman}} \quad (8)$$

Kde  $I_{SERS}$  představuje intenzitu píku adeninu  $\sim 735 \text{ cm}^{-1}$  získaného při SERS měření,  $I_{Raman}$  intenzitu téhož píku v Ramanově spektru, tedy spektru adeninu na podkladovém substrátu, který nebyl pokryt stříbrem a tím pádem nedocházelo k zesílení signálu.  $c_{SERS}$  a  $c_{Raman}$  jsou koncentrace měřených roztoků, tedy  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

V grafech na Obrázcích 83 a 84 jsou uvedena spektra  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu na podkladech bez vrstvy částic stříbra.



**Obrázek 83.** SERS spektra  $10^{-1} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na skle, oxidu hlinitém a na celulóse impregnované polyethyleniminem laserem o vlnové délce 532 nm a výkonu 0,5 mW.



**Obrázek 84. SERS spektra  $10^{-1}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztoku adeninu měřená na skle, oxidu hlinitém a na celulose impregnované polyethyleniminem laserem o vlnové délce 780 nm a výkonu 0,5 mW.**

Z výše uvedených spekter je vidět, že při nízkých výkonech laserů nebylo možné detekovat ani koncentrovaný  $0,1\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztok adeninu pomocí žádné z použitých vlnových délek. Měření bylo navíc v některých případech zkomplikované fluorescencí podkladových substrátů. K výpočtu následnému faktoru zesílení byla použita intenzita jednotlivých spekter kapky adeninu na skle v oblasti  $735\text{cm}^{-1}$ . Široké pásy ve spektru adeninu na skle, které bylo měřené s vlnovou délkou laseru 780 nm, v oblasti  $1300 - 2000\text{cm}^{-1}$  náleží slabé fluorescenci podložního mikroskopického skla. [128]

Faktory zesílení byly počítány pouze pro měření na substrátech po jejich přípravě a jsou uvedeny v Tabulkách 12 a 13. Jako hodnota intenzity píku v  $735\text{cm}^{-1}$  byl brán průměr z třech měření, které jsou uvedeny v Tabulkách 8, 9, 10 a 11.



Tabulka 12. Přehled substrátů, k jejichž přípravě byla použita maltosa, a jimi získané faktory zesílení Ramanova signálu.

Substrát	Úprava před	Úprava po (4M NaCl)	Vzorek	Faktor zesílení EF	
				532 nm	780 nm
AlO <sub>x</sub>	-	-	A1-n	3,46 · 10 <sup>5</sup>	-
		+	A1-n-Cl	5,79 · 10 <sup>5</sup>	2,59 · 10 <sup>5</sup>
	Polydopamin	-	A1-P	8,66 · 10 <sup>4</sup>	5,82 · 10 <sup>5</sup>
		+	A1-P-Cl	-	5,99 · 10 <sup>5</sup>
	SnCl <sub>2</sub>	-	A1-Sn	2,16 · 10 <sup>5</sup>	-
		+	A1-Sn-Cl	3,33 · 10 <sup>4</sup>	6,93 · 10 <sup>4</sup>
CEL-PEI	-	-	C1-n	-	9,13 · 10 <sup>4</sup>
		+	C1-n-Cl	-	2,73 · 10 <sup>5</sup>
	Polydopamin	-	C1-P	6,73 · 10 <sup>4</sup>	1,39 · 10 <sup>6</sup>
		+	C1-P-Cl	-	2,89 · 10 <sup>5</sup>
	SnCl <sub>2</sub>	-	C1-Sn	8,10 · 10 <sup>5</sup>	-
		+	C1-Sn-Cl	4,20 · 10 <sup>4</sup>	3,86 · 10 <sup>4</sup>

Tabulka 13. Přehled substrátů, k jejichž přípravě byla použita glukosa, a jimi získané faktory zesílení Ramanova signálu.

Substrát	Úprava před	Úprava po (4M NaCl)	Vzorek	Faktor zesílení EF	
				532 nm	780 nm
AlO <sub>x</sub>	-	-	A2-n	1,41 · 10 <sup>5</sup>	-
		+	A2-n-Cl	7,66 · 10 <sup>4</sup>	3,68 · 10 <sup>5</sup>
	Polydopamin	-	A2-P	1,61 · 10 <sup>5</sup>	-
		+	A2-P-Cl	1,53 · 10 <sup>5</sup>	1,65 · 10 <sup>5</sup>
	SnCl <sub>2</sub>	-	A2-Sn	2,17 · 10 <sup>5</sup>	-
		+	A2-Sn-Cl	9,60 · 10 <sup>4</sup>	5,80 · 10 <sup>4</sup>
CEL-PEI	-	-	C2-n	2,45 · 10 <sup>5</sup>	-
		+	C2-n-Cl	7,27 · 10 <sup>4</sup>	2,29 · 10 <sup>5</sup>
	Polydopamin	-	C2-P	1,33 · 10 <sup>5</sup>	2,09 · 10 <sup>5</sup>
		+	C2-P-Cl	-	-
	SnCl <sub>2</sub>	-	C2-Sn	3,81 · 10 <sup>5</sup>	1,60 · 10 <sup>4</sup>
		+	C2-Sn-Cl	-	2,02 · 10 <sup>5</sup>

Získané faktory zesílení se pohybovaly v oblastech 10<sup>4</sup> – 10<sup>6</sup>. Ve většině případů bylo dosahováno vyššího zesílení u měření s laserem o vlnové délce 532 nm, pokud substráty nebyly aktivovány ve 4mol·dm<sup>-3</sup> roztoku NaCl. Při aktivaci v NaCl, pokud substráty stále vykazovaly SERS aktivitu, typicky došlo ke snížení faktoru zesílení o jeden řád.

Naopak při měření s laserem o vlnové délce o 780 nm bylo žádoucí, aby vrstvy obsahovaly větší částice nebo shluky menších částic s nízkými mezičásticovými vzdálenostmi. Zde pak byl trend ve většině případů opačný a vyšší faktor zesílení byl získán u substrátů po jejich aktivaci v NaCl. Nejvyššího faktoru zesílení  $1,39 \cdot 10^6$  bylo dosaženo u vzorku C1-P, který byl připraven na celulosovou podkladu pokrytém vrstvou polydopaminu a stříbro bylo nanášeno s pomocí maltosy jako redukčního činidla, a to při měření s vlnovou délkou laseru 780 nm. Druhý nejvyšší faktor zesílení byl získán u vzorku C1-Sn při měření s laserem s vlnovou délkou 532 nm a to  $8,10 \cdot 10^5$ .

## 5 Závěr

Tato práce byla zaměřena na sonochemickou metodu depozice vrstev stříbrných nanočástic z kapalně fáze na pevné podkladové substráty. Těmito substráty byly komerčně dostupné destičky pro tenkovrstvou chromatografii pokryté oxidem hlinitým a celulosou impregnovanou polyethyleniminem. Samotná příprava vrstev částic stříbra byla prováděna redukcí  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  pomocí redukujících sacharidů maltosy a glukosy za aplikace ultrazvuku. Před depozicí stříbrných nanočástic byla také testována úprava podkladového substrátu, která byla prováděna za účelem zvýšení počtu redukčních míst na povrchu, což mělo mít za důsledek výraznější a homogennější pokrytí substrátu nanočásticemi stříbra. Těmito úpravami byly senzitivizace povrchu v 1% (w/w) roztoku  $\text{SnCl}_2$  a nanosení vrstvy polydopaminu, který počet redukčních míst zvyšuje pomocí  $-\text{OH}$  skupin obsažených ve své struktuře. Po nanosení vrstvy stříbra na takto upravené substráty byla zkoumána jejich struktura a byla porovnávána s vrstvami, u kterých žádná povrchová úprava nebyla prováděna. Připravené vzorky byly dále upravovány pomocí roztoku  $\text{NaCl}$  o koncentraci  $4 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a to zapříčinilo rekrystalizaci nanosených nanočástic, která vedla ke změně jejich velikosti a morfologie což způsobilo změny jejich efektivity v rámci povrchem zesíleného Ramanova signálu. Vliv úpravy povrchu vrstev byl porovnáván se vzorky, které v roztoku  $\text{NaCl}$  aktivovány nebyly. Struktura vrstev byla sledována pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Takto připravené vrstvy byly testovány jako možné SERS senzory do pro detekci analytů o nízkých koncentracích. Na vrstvách byl proměřován roztok adeninu o koncentraci  $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  za využití laserů o vlnových délkách 532 nm a 780 nm. Díky získaným SERS spektrům byly studovány plasmonické vlastnosti připravených vrstev a sledován vztah mezi nimi a strukturou stříbrných nanočástic na vrstvách. V případě, že byl substrát předem upravován pomocí  $\text{SnCl}_2$ , vznikaly na substrátu oxidu hlinitého drobné částice a zároveň se vyskytovaly i větší krychličky částic stříbra. Byla-li na oxid hlinitý nanosená vrstva polydopaminu, bylo dosaženo velmi značného pokrytí drobnými částicemi. Pokud úprava povrchu substrátu neproběhla, pomocí maltosy byly získány částice s průměrnou velikostí 70 nm, které se na povrchu vyskytovaly rovnoměrně rozmístěné jak samostatně, tak i v agregátech. V případě úpravy celulosového substrátu pomocí roztoku  $\text{SnCl}_2$ , byly vytvářeny na povrchu krychličky částic stříbra s průměrnou velikostí 150 nm, které se vzájemně dotýkaly hranami. V případě použití polydopaminu byla situace velmi podobná jako u oxidu

hlinitého a vznikalo značné rovnoměrné pokrytí drobnými nanočásticemi stříbra s nízkými mezičásticovými vzdálenostmi. Pokud celulosový podklad předem upravován nebyl, vznikalo intenzivní pokrytí většími částicemi v porovnání s polydopaminovou vrstvou. Při následné úpravě vrstvy nanočástic stříbra pomocí roztoku NaCl docházelo k výrazné rekrystalizaci částic stříbra, kdy docházelo ke vzniku větších agregátů, a tedy ke zvětšování částic, a v některých případech vznikaly krystaly stříbra o velikosti přesahující 1  $\mu\text{m}$ . U použití maltosy vznikaly menší částice než při použití glukosy a obecně docházelo k získání vyššího zesílení Ramanova signálu. V této souvislosti se začal projevovat trend, kdy ve většině případů vrstvy, u kterých nebyla provedena rekrystalizace částic stříbra v roztoku NaCl, vykazovaly vyšší hodnotu zesílení při měření s laserem o vlnové délce 532 nm, jelikož ve své struktuře obsahovaly menší částice, jejichž plasmon svou absorpcí nezasahoval do NIR oblasti spektra. Tyto vrstvy při měření s laserem o vlnové délce 780 nm vykazovaly obvykle buď nižší SERS aktivitu nebo žádnou. V případě využití rekrystalizace v roztoku NaCl byly naopak vrstvy vhodnější pro měření s laserem v NIR oblasti. Většina vrstev vykazovala vysoký faktor zesílení pro vhodně vybraný laser na základně jejich struktury, velikosti a morfologie částic stříbra (532 nm pro vrstvy, kde rekrystalizace neproběhla, 780 nm pro ty, kde rekrystalizace v NaCl proběhla), a to alespoň  $10^5$ . Nejvyššího faktoru zesílení pro laser o vlnové délce 780 nm bylo dosaženo pomocí vzorku C1-P a to  $1,39 \cdot 10^6$  a to pravděpodobně v důsledku značného pokrytí povrchu drobnými částicemi stříbra, které se nacházely velmi blízko sebe. V případě laseru s vlnovou délkou 532 nm bylo dosaženo maximálního faktoru zesílení  $8,10 \cdot 10^5$  a to vzorek C1-Sn, který ve své struktuře obsahoval nanokrychličky s délkou hrany okolo 150 nm, které se v mnoha případech vzájemně dotýkaly hranami, čímž docházelo ke generování hot-spotů a tedy i velké hodnotě zesílení Ramanova signálu. Při srovnání se vzorky připravených sonochemickou metodou, kdy byly vrstvy stříbra nanášeny na skleněný substrát, [111] vykazují vrstvy připravené postupem pospaným v této práci v mnoha případech vyššího faktoru zesílení. Tato metoda představuje rychlý a snadný postup pro přípravu vrstev nanostříbra, které mohou být využity jako SERS senzory pro detekci analytů o nízkých koncentracích. Podle vybavení laboratoře, přesněji podle toho, jakým laserem jejich Ramanův spektrometr disponuje, může být senzor snadno optimalizován řízenou rekrystalizací vrstvy stříbra pomocí roztoku NaCl, čímž lze posunout absorpční pásy plasmonu do NIR oblasti.

## 6 Summary

This thesis focuses on silver nanoparticle layer preparation using sonochemical liquid phase deposition on solid phase base substrates. The used base substrates were commercially available layers for thin layer chromatography covered by aluminium oxide and polyethyleneimine-impregnated cellulose. The layer deposition itself was carried out by reduction of  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  using reducing saccharides maltose and glucose and the reaction was done under sonication. Prior to the silver nanoparticle deposition, a pre-treatment of the substrates was done and tested. That was done in order to achieve a higher number of reduction sites on the substrate surface and therefore to achieve more dense and homogenous silver coverage. Those pre-treatments included surface sensitization by immersing the substrate into 1% (w/w)  $\text{SnCl}_2$  solution and deposition of a polydopamine layer on the substrate surface. Polydopamine contains  $-\text{OH}$  groups in its structure, which increase the number of active sites for the reduction of silver ions. After silver layer deposition on the pre-treated substrate, the structure of the silver layer was studied and compared to those layers prepared with no surface pre-treatment. Prepared samples were then treated in 4M NaCl solution in order to optimize their plasmonic properties by recrystallization. That lead to changes in the nanoparticle size and morphology, which affected the SERS efficiency regarding the Raman signal enhancement. The influence of NaCl treatment was evaluated by comparing the treated samples with those that were not treated. The structure of all the prepared layers was studied by scanning electron microscopy. The prepared layers were also tested as possible SERS sensors for the detection of compounds of low concentration. Adenine solution of  $10^{-5}$  M concentration was measured using laser wavelengths of 532 nm and 780 nm. Using obtained SERS spectra, the plasmonic properties of the layers were studied as well as the relations between them and the silver nanoparticle layers structure. In the case of the substrate being pre-treated by  $\text{SnCl}_2$ , small stand-alone particles and their aggregates and clusters as well as bigger cubic particles were prepared on the aluminium oxide surface. In the case of polydopamine layer on aluminium oxide, very dense coverage of small particles was achieved. When there was no pre-treatment used, particles of 70 nm were prepared and there were both separated and in clusters. When cellulose substrate was treated by  $\text{SnCl}_2$ , silver nanocubes with edge length of 150 nm. In many cases, the cubes were in edge-to-edge contact. When polydopamine layer was used, the layer structure was similar

to the aluminium oxide and dense coverage was achieved with small particles with short interparticle distances. When there was no treatment used, the surface was covered by bigger particles compared to the substrate with polydopamine layer. During the subsequent NaCl treatment, significant recrystallizations took place and new aggregates, clusters, and bigger particles (above 1  $\mu\text{m}$ ) were created. When maltose was used as a reductant, typically smaller particles were created compared to glucose and in most cases, substrates prepared by maltose showed better SERS enhancement. There was also a trend arising, that most layers that were not immersed into NaCl solution showed better SERS activity when laser of 532 nm wavelength was used. That is probably due to smaller particles with plasmon resonance not extending to NIR. Also, those layers typically showed either lower SERS activity or none. When recrystallization in NaCl solution was carried out, layers showed better SERS activity for 780nm laser. Most layers exhibited large enhancement factors for suitable laser according to their structure (532 nm layers without recrystallization, 780 nm for those with treatment in NaCl). The enhancement factor was at least  $10^5$ . The largest one was achieved using laser of 780 nm on sample C1-P and the value was  $1,39 \cdot 10^6$ , this is probably due to the high density covered of the surface by small nanoparticles that were closely packed. When 532 nm laser was used, the largest enhancement factor achieved was  $8,10 \cdot 10^5$  by sample C1-Sn. The high value was probably due to 150 nm nanocubes on the substrate surface that were touching edge-to-edge, which generates hot-spots. When this preparation method is compared to a similar method, that uses sonochemical deposition of silver on a glass substrate, [111] the method proposed in this thesis provides higher enhancements. The proposed method presents a quick and easy way for silver layer preparation and those layers can be subsequently used as sensors for the detection of compounds of low concentrations. According to the laboratory equipment, the wavelength of laser, the sensors can be easily optimized by controlled recrystallization by NaCl solution, which leads to a shift of the plasmon absorption bands to the longer wavelengths.

## 7 Literatura

- [1] Z. Zhang, T. Si, J. Liu, and G. Zhou, 'In-Situ Grown Silver Nanoparticles on Nonwoven Fabrics Based on Mussel-Inspired Polydopamine for Highly Sensitive SERS Carbaryl Pesticides Detection', *Nanomaterials*, vol. 9, no. 3, p. 384, Mar. 2019, doi: 10.3390/nano9030384.
- [2] D. Zhang, H. Pu, L. Huang, and D.-W. Sun, 'Advances in flexible surface-enhanced Raman scattering (SERS) substrates for nondestructive food detection: Fundamentals and recent applications', *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 109, pp. 690–701, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.tifs.2021.01.058.
- [3] L. Guerrini, S. Sanchez-Cortes, V. L. Cruz, S. Martinez, S. Ristori, and A. Feis, 'Surface-enhanced Raman spectra of dimethoate and omethoate', *J. Raman Spectrosc.*, vol. 42, no. 5, pp. 980–985, May 2011, doi: 10.1002/jrs.2823.
- [4] X. Wang, Z. Wu, Y. Wang, and J. Wu, 'Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Trace-Level Dimethoate Detection Based on a Silver Nanoparticle–Probe–Smooth Gold Film Substrate', *Spectroscopy*, vol. 31, no. 1, pp. 38–47, 2016.
- [5] B. Hu, H. Pu, and D.-W. Sun, 'Multifunctional cellulose based substrates for SERS smart sensing: Principles, applications and emerging trends for food safety detection', *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 110, pp. 304–320, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.tifs.2021.02.005.
- [6] Z. Zhang, Q. Zhou, and X. Zhang, 'The Detection of Organic Pollutants at Trace Level by Variable Kinds of Silver Film with Novel Morphology', in *Organic Pollutants - Monitoring, Risk and Treatment*, InTech, 2013. doi: 10.5772/53602.
- [7] D. Maddipatla *et al.*, 'Development of a novel wrinkle-structure based SERS substrate for drug detection applications', *Sens. Bio-Sens. Res.*, vol. 24, p. 100281, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.sbsr.2019.100281.
- [8] 'The use of thin layer chromatography combined with surface-enhanced Raman spectroscopy for the identification of controlled substances', *Asian J. Phys.*, vol. 3, no. 2, pp. 265–281, 2022.
- [9] Q. Zhu, H. Li, F. Lu, Y. Chai, and Y. Yuan, 'A Widely Applicable Silver Sol for TLC Detection with Rich and Stable SERS Features', *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 11, no. 1, p. 220, Dec. 2016, doi: 10.1186/s11671-016-1442-5.
- [10] X. X. Han, Y. Kitahama, T. Itoh, C. X. Wang, B. Zhao, and Y. Ozaki, 'Protein-Mediated Sandwich Strategy for Surface-Enhanced Raman Scattering: Application to Versatile Protein Detection', *Anal. Chem.*, vol. 81, no. 9, pp. 3350–3355, May 2009, doi: 10.1021/ac802553a.
- [11] Y. Lu *et al.*, 'Superhydrophobic silver film as a SERS substrate for the detection of uric acid and creatinine', *Biomed. Opt. Express*, vol. 9, no. 10, p. 4988, Oct. 2018, doi: 10.1364/BOE.9.004988.
- [12] J. Perumal *et al.*, 'Novel Cellulose Fibre-Based Flexible Plasmonic Membrane for Point-of-Care SERS Biomarker Detection in Chronic Wound Healing', *Int. J. Nanomedicine*, vol. Volume 16, pp. 5869–5878, Aug. 2021, doi: 10.2147/IJN.S303130.
- [13] R. Botta, A. Rajanikanth, and C. Bansal, 'Silver nanocluster films for glucose sensing by Surface Enhanced Raman Scattering (SERS)', *Sens. Bio-Sens. Res.*, vol. 9, pp. 13–16, Jul. 2016, doi: 10.1016/j.sbsr.2016.05.001.
- [14] Z. Jiang, P. Gao, L. Yang, C. Huang, and Y. Li, 'Facile in Situ Synthesis of Silver Nanoparticles on the Surface of Metal–Organic Framework for Ultrasensitive Surface-Enhanced Raman Scattering Detection of Dopamine', *Anal. Chem.*, vol. 87, no. 24, pp. 12177–12182, Dec. 2015, doi: 10.1021/acs.analchem.5b03058.
- [15] M. A. Tahir, N. E. Dina, H. Cheng, V. K. Valev, and L. Zhang, 'Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis and diagnosis', *Nanoscale*, vol. 13, no. 27, pp. 11593–11634, 2021, doi: 10.1039/D1NR00708D.
- [16] Z. Huang *et al.*, 'The application of Silver nanoparticle based SERS in diagnosing thyroid tissue', *J. Phys.: Conf. Ser.*, vol. 277, p. 012014, Jan. 2011, doi: 10.1088/1742-6596/277/1/012014.
- [17] C. v. Raman and K. S. Krishnan, 'A New Type of Secondary Radiation', *Nature*, vol. 121, pp. 501–502, 1928, doi: 10.1038/121501c0.
- [18] R. K. Hanson, R. M. Spearrin, and C. S. Goldenstein, 'Rayleigh and Raman Spectra', in *Spectroscopy and Optical Diagnostics for Gases*, Cham: Springer International Publishing, 2016, pp. 91–105. doi: 10.1007/978-3-319-23252-2\_6.

- [19] M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, 'Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode', *Chem. Phys. Lett.*, vol. 26, pp. 163–166, 1974, doi: 10.1016/0009-2614(74)85388-1.
- [20] R. Pilot, R. Signorini, C. Durante, L. Orian, M. Bhamidipati, and L. Fabris, 'A Review on Surface-Enhanced Raman Scattering', *Biosensors (Basel)*, vol. 9, p. 57, 2019, doi: 10.3390/bios9020057.
- [21] P. G. Etchegoin and E. C. le Ru, 'A perspective on single molecule SERS: current status and future challenges', *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 10, pp. 6079–6089, 2008, doi: 10.1039/b809196j.
- [22] M. Fan and A. G. Brolo, 'Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit', *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 11, no. 34, p. 7381, 2009, doi: 10.1039/b904744a.
- [23] A. B. Zrimsek, N. L. Wong, and R. P. van Duyne, 'Single Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: A Critical Analysis of the Biantalyte versus Isotopologue Proof', *J. Phys. Chem*, vol. 120, pp. 5133–5142, 2016, doi: 10.1021/acs.jpcc.6b00606.
- [24] M. Zannotti, A. Rossi, and R. Giovannetti, 'SERS Activity of Silver Nanosphere, Triangular Nanoplates, Hexagonal Nanoplates and Quasi-Spherical Nanoparticles: Effect of Shape and Morphology', *Coatings*, vol. 10, no. 3, p. 288, Mar. 2020, doi: 10.3390/coatings10030288.
- [25] I. Rigó *et al.*, 'Comparative Analysis of SERS Substrates of Different Morphology', *Procedia Eng.*, vol. 168, pp. 371–374, 2016, doi: 10.1016/j.proeng.2016.11.131.
- [26] M. A. Garcia, 'Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications', *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 45, no. 38, p. 389501, Sep. 2012, doi: 10.1088/0022-3727/45/38/389501.
- [27] R. Prucek *et al.*, 'Specific detection of Staphylococcus aureus infection and marker for Alzheimer disease by surface enhanced Raman spectroscopy using silver and gold nanoparticle-coated magnetic polystyrene beads', *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 6240, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-84793-7.
- [28] P. Rostron, S. Gaber, and D. Gaber, 'Raman Spectroscopy, a review', *Int. J. Eng. Res.*, vol. 6, no. 1, pp. 2454–4698, 2016.
- [29] R. Singh, 'C. V. Raman and the Discovery of the Raman Effect', *Phys. Perspect.*, vol. 4, no. 4, pp. 399–420, Dec. 2002, doi: 10.1007/s000160200002.
- [30] R. R. Jones, D. C. Hooper, L. Zhang, D. Wolverson, and V. K. Valev, 'Raman Techniques: Fundamentals and Frontiers', *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 14, p. 231, 2019, doi: 10.1186/s11671-019-3039-2.
- [31] B&W Tek, 'Theory of Raman Scattering'. <https://bwtek.com/raman-theory-of-raman-scattering> (accessed Sep. 11, 2022).
- [32] P. Mosier-Boss, 'Review of SERS Substrates for Chemical Sensing', *Nanomaterials*, vol. 7, p. 142, 2017, doi: 10.3390/nano7060142.
- [33] S. Nie and S. R. Emory, 'Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering', *Science (1979)*, vol. 275, pp. 1102–1106, 1997, doi: 10.1126/science.275.5303.1102.
- [34] H. Kuramochi, S. Takeuchi, M. Iwamura, K. Nozaki, and T. Tahara, 'Tracking Photoinduced Au–Au Bond Formation through Transient Terahertz Vibrations Observed by Femtosecond Time-Domain Raman Spectroscopy', *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 141, pp. 19296–19303, 2019, doi: 10.1021/jacs.9b06950.
- [35] X. Nie, X. Li, C. Du, Y. Huang, and H. Du, 'Characterization of corrosion products formed on the surface of carbon steel by Raman spectroscopy', *J. Raman Spectrosc.*, vol. 40, pp. 76–79, 2009, doi: 10.1002/jrs.2082.
- [36] M. R. Thorson, S. Goyal, Y. Gong, G. G. Z. Zhang, and P. J. A. Kenis, 'Microfluidic approach to polymorph screening through antisolvent crystallization', *CrystEngComm*, vol. 14, p. 2404, 2012, doi: 10.1039/c2ce06167h.
- [37] S. Mosca, C. Conti, N. Stone, and P. Matousek, 'Spatially offset Raman spectroscopy', *Nat. Rev. Methods Primers*, vol. 1, p. 21, 2021, doi: 10.1038/s43586-021-00019-0.
- [38] P. J. Larkin, *Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation*. Elsevier, 2011.



- [39] R. Petry, M. Schmitt, and J. Popp, 'Raman Spectroscopy-A Prospective Tool in the Life Sciences', *ChemPhysChem*, vol. 4, no. 1, pp. 14–30, Jan. 2003, doi: 10.1002/cphc.200390004.
- [40] M. G. Albrecht and J. A. Creighton, 'Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode', *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 99, no. 15, pp. 5215–5217, Jun. 1977, doi: 10.1021/ja00457a071.
- [41] D. L. Jeanmaire and R. P. van Duyne, 'Surface raman spectroelectrochemistry', *J. electroanal. chem. interfacial electrochem.*, vol. 84, no. 1, pp. 1–20, Nov. 1977, doi: 10.1016/S0022-0728(77)80224-6.
- [42] E. le Ru and P. Etchegoin, *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*, 1st ed. Elsevier Science, 2008.
- [43] M. Moskovits, 'Surface roughness and the enhanced intensity of Raman scattering by molecules adsorbed on metals', *J. Chem. Phys.*, vol. 69, no. 9, pp. 4159–4161, Nov. 1978, doi: 10.1063/1.437095.
- [44] M. Moskovits, 'Surface-enhanced spectroscopy', *Rev. Mod. Phys.*, vol. 57, no. 3, pp. 783–826, Jul. 1985, doi: 10.1103/RevModPhys.57.783.
- [45] J. R. Lombardi and R. L. Birke, 'A Unified View of Surface-Enhanced Raman Scattering', *Acc. Chem. Res.*, vol. 42, pp. 734–742, Jun. 2009, doi: 10.1021/ar800249y.
- [46] R. Aroca and S. Rodriguez-Llorente, 'Surface-enhanced vibrational spectroscopy', *J. Mol. Struct.*, vol. 408–409, pp. 17–22, Jun. 1997, doi: 10.1016/S0022-2860(96)09489-6.
- [47] B. Sharma, R. R. Frontiera, A.-I. Henry, E. Ringe, and R. P. van Duyne, 'SERS: Materials, applications, and the future', *Mater. Today.*, vol. 15, no. 1–2, pp. 16–25, Jan. 2012, doi: 10.1016/S1369-7021(12)70017-2.
- [48] R. A. Alvarez-Puebla and L. M. Liz-Marzán, 'SERS Detection of Small Inorganic Molecules and Ions', *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 51, no. 45, pp. 11214–11223, Nov. 2012, doi: 10.1002/anie.201204438.
- [49] M. A. Fikiet *et al.*, 'Surface enhanced Raman spectroscopy: A review of recent applications in forensic science', *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. SPECTROCHIM ACTA A*, vol. 197, pp. 255–260, May 2018, doi: 10.1016/j.saa.2018.02.046.
- [50] O. Lyandres, N. C. Shah, C. R. Yonzon, J. T. Walsh, M. R. Glucksberg, and R. P. van Duyne, 'Real-Time Glucose Sensing by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy in Bovine Plasma Facilitated by a Mixed Decanethiol/Mercaptohexanol Partition Layer', *Anal. Chem.*, vol. 77, no. 19, pp. 6134–6139, Oct. 2005, doi: 10.1021/ac051357u.
- [51] J. Yang, G. L. Rorrer, and A. X. Wang, 'Bioenabled SERS substrates for food safety and drinking water monitoring', May 2015, p. 948808. doi: 10.1117/12.2178077.
- [52] T. Gong *et al.*, 'Development of SERS tags for human diseases screening and detection', *Coord. Chem. Rev.*, vol. 470, p. 214711, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.ccr.2022.214711.
- [53] Y. Lu, L. Lin, and J. Ye, 'Human metabolite detection by surface-enhanced Raman spectroscopy', *Mater. Today Bio*, vol. 13, p. 100205, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.mtbio.2022.100205.
- [54] S. Azimi and A. Docoslis, 'Recent Advances in the Use of Surface-Enhanced Raman Scattering for Illicit Drug Detection', *Sensors*, vol. 22, no. 10, p. 3877, May 2022, doi: 10.3390/s22103877.
- [55] K. Sivashanmugan *et al.*, 'Trace Detection of Tetrahydrocannabinol in Body Fluid via Surface-Enhanced Raman Scattering and Principal Component Analysis', *ACS Sens.*, vol. 4, no. 4, pp. 1109–1117, Apr. 2019, doi: 10.1021/acssensors.9b00476.
- [56] C. Liu, D. Xu, X. Dong, and Q. Huang, 'A review: Research progress of SERS-based sensors for agricultural applications', *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 128, pp. 90–101, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.tifs.2022.07.012.
- [57] G. Bodelón and I. Pastoriza-Santos, 'Recent Progress in Surface-Enhanced Raman Scattering for the Detection of Chemical Contaminants in Water', *Front. Chem.*, vol. 8, Jun. 2020, doi: 10.3389/fchem.2020.00478.
- [58] S. Fornasaro *et al.*, 'Surface Enhanced Raman Spectroscopy for Quantitative Analysis: Results of a Large-Scale European Multi-Instrument Interlaboratory Study', *Anal. Chem.*, vol. 92, no. 5, pp. 4053–4064, Mar. 2020, doi: 10.1021/acs.analchem.9b05658.

- [59] L. Jensen, C. M. Aikens, and G. C. Schatz, 'Electronic structure methods for studying surface-enhanced Raman scattering', *Chem. Soc. Rev.*, vol. 37, no. 5, p. 1061, 2008, doi: 10.1039/b706023h.
- [60] Y. S. Yamamoto, Y. Ozaki, and T. Itoh, 'Recent progress and frontiers in the electromagnetic mechanism of surface-enhanced Raman scattering', *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.*, vol. 21, pp. 81–104, Dec. 2014, doi: 10.1016/j.jphotochemrev.2014.10.001.
- [61] B. Fazio *et al.*, 'Re-radiation Enhancement in Polarized Surface-Enhanced Resonant Raman Scattering of Randomly Oriented Molecules on Self-Organized Gold Nanowires', *ACS Nano*, vol. 5, no. 7, pp. 5945–5956, Jul. 2011, doi: 10.1021/nn201730k.
- [62] L. K. Ausman and G. C. Schatz, 'On the importance of incorporating dipole reradiation in the modeling of surface enhanced Raman scattering from spheres', *J. Chem. Phys.*, vol. 131, no. 8, p. 084708, Aug. 2009, doi: 10.1063/1.3211969.
- [63] L. K. Ausman, S. Li, and G. C. Schatz, 'Structural Effects in the Electromagnetic Enhancement Mechanism of Surface-Enhanced Raman Scattering: Dipole Reradiation and Rectangular Symmetry Effects for Nanoparticle Arrays', *J. Phys. Chem. C*, vol. 116, no. 33, pp. 17318–17327, Aug. 2012, doi: 10.1021/jp2122938.
- [64] R. Petry, M. Schmitt, and J. Popp, 'Raman Spectroscopy-A Prospective Tool in the Life Sciences', *ChemPhysChem*, vol. 4, no. 1, pp. 14–30, Jan. 2003, doi: 10.1002/cphc.200390004.
- [65] X. Wang and L. Guo, 'SERS Activity of Semiconductors: Crystalline and Amorphous Nanomaterials', *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 59, no. 11, pp. 4231–4239, Mar. 2020, doi: 10.1002/anie.201913375.
- [66] 'Spectrometer| Molecular spectroscopy| Edinburg Instruments'. <https://www.edinst.com/blog/what-is-resonance-raman-spectroscopy/> (accessed Oct. 10, 2022).
- [67] S. Cong, X. Liu, Y. Jiang, W. Zhang, and Z. Zhao, 'Surface Enhanced Raman Scattering Revealed by Interfacial Charge-Transfer Transitions', *Innovation*, vol. 1, p. 100051, 2020, doi: 10.1016/j.xinn.2020.100051.
- [68] J. Kim *et al.*, 'Study of Chemical Enhancement Mechanism in Non-plasmonic Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)', *Front Chem.*, vol. 7, Aug. 2019, doi: 10.3389/fchem.2019.00582.
- [69] S. Cong, X. Liu, Y. Jiang, W. Zhang, and Z. Zhao, 'Surface Enhanced Raman Scattering Revealed by Interfacial Charge-Transfer Transitions', *Innovation*, vol. 1, no. 3, p. 100051, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.xinn.2020.100051.
- [70] S. Mohan, A. C. sekar, and B. Subramanian, 'Surface Enhanced Raman Scattering Studies of Silver-gold Normal and Inverted Core-shell Nanostructures on their Efficiency of Detecting Molecules', *Procedia Eng.*, vol. 92, pp. 19–25, 2014, doi: 10.1016/j.proeng.2013.10.005.
- [71] G. Yin *et al.*, 'Highly Sensitive and Stable SERS Substrate Fabricated by Co-sputtering and Atomic Layer Deposition', *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 14, no. 1, p. 168, Dec. 2019, doi: 10.1186/s11671-019-2997-8.
- [72] S. Zou, L. Ma, J. Li, Y. Liu, D. Zhao, and Z. Zhang, 'Ag Nanorods-Based Surface-Enhanced Raman Scattering: Synthesis, Quantitative Analysis Strategies, and Applications', *Front. Chem.*, vol. 7, Jun. 2019, doi: 10.3389/fchem.2019.00376.
- [73] Z. Zhang *et al.*, 'A facile one-pot method to high-quality Ag-graphene composite nanosheets for efficient surface-enhanced Raman scattering', *Chem. Commun.*, vol. 47, no. 22, p. 6440, 2011, doi: 10.1039/c1cc11125f.
- [74] J. Ju, W. Liu, C. M. Perlaki, K. Chen, C. Feng, and Q. Liu, 'Sustained and Cost Effective Silver Substrate for Surface Enhanced Raman Spectroscopy Based Biosensing', *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, p. 6917, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-07186-9.
- [75] S. Tian *et al.*, 'Aluminum Nanocrystals: A Sustainable Substrate for Quantitative SERS-Based DNA Detection', *Nano Lett.*, vol. 17, no. 8, pp. 5071–5077, Aug. 2017, doi: 10.1021/acs.nanolett.7b02338.
- [76] Z.-Q. Tian *et al.*, 'Surface-enhanced Raman scattering from transition metals with special surface morphology and nanoparticle shape', *Faraday Discuss.*, vol. 132, pp. 159–170, 2006, doi: 10.1039/B507773G.
- [77] Z.-Q. Tian, Z.-L. Yang, B. Ren, and D.-Y. Wu, 'SERS From Transition Metals and Excited by Ultraviolet Light', in *Surface-Enhanced Raman Scattering*, Springer Berlin Heidelberg, 2006, pp. 125–146. doi: 10.1007/3-540-33567-6\_7.

- [78] A. G. Bezerra *et al.*, ‘Plasmonics and SERS activity of post-transition metal nanoparticles’, *J Nanopart Res*, vol. 20, no. 5, p. 142, May 2018, doi: 10.1007/s11051-018-4249-8.
- [79] B. Sharma, R. R. Frontiera, A.-I. Henry, E. Ringe, and R. P. van Duyne, ‘SERS: Materials, applications, and the future’, *Mater. Today*, vol. 15, no. 1–2, pp. 16–25, Jan. 2012, doi: 10.1016/S1369-7021(12)70017-2.
- [80] A. Kudelski, J. Bukowska, M. Dolata, W. Grochala, A. Szummer, and M. Janik-Czachor, ‘Surface-enhanced Raman scattering (SERS) on modified amorphous Cu–Zr alloys’, *Mater. Sci. Eng. A.*, vol. 267, no. 2, pp. 235–239, Jul. 1999, doi: 10.1016/S0921-5093(99)00097-0.
- [81] X. X. Han, W. Ji, B. Zhao, and Y. Ozaki, ‘Semiconductor-enhanced Raman scattering: active nanomaterials and applications’, *Nanoscale*, vol. 9, no. 15, pp. 4847–4861, 2017, doi: 10.1039/C6NR08693D.
- [82] J. R. Lombardi and R. L. Birke, ‘Theory of Surface-Enhanced Raman Scattering in Semiconductors’, *J. Phys. Chem. C*, vol. 118, no. 20, pp. 11120–11130, May 2014, doi: 10.1021/jp5020675.
- [83] I. Alessandri and J. R. Lombardi, ‘Enhanced Raman Scattering with Dielectrics’, *Chem. Rev.*, vol. 116, no. 24, pp. 14921–14981, Dec. 2016, doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00365.
- [84] M. Mahmoudi, S. E. Lohse, C. J. Murphy, A. Fathizadeh, A. Montazeri, and K. S. Suslick, ‘Variation of Protein Corona Composition of Gold Nanoparticles Following Plasmonic Heating’, *Nano Lett.*, vol. 14, no. 1, pp. 6–12, Jan. 2014, doi: 10.1021/nl403419e.
- [85] G. v. Naik, V. M. Shalaev, and A. Boltasseva, ‘Alternative Plasmonic Materials: Beyond Gold and Silver’, *Adv. Mater.*, vol. 25, no. 24, pp. 3264–3294, Jun. 2013, doi: 10.1002/adma.201205076.
- [86] G. v. Naik, J. L. Schroeder, X. Ni, A. v. Kildishev, T. D. Sands, and A. Boltasseva, ‘Titanium nitride as a plasmonic material for visible and near-infrared wavelengths’, *Opt. Mater. Express*, vol. 2, no. 4, p. 478, Apr. 2012, doi: 10.1364/OME.2.000478.
- [87] ‘CHAPTER 4. The Future is Flat—Two-Dimensional Nanomaterials’, in *Nanotechnology*, Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2016, pp. 85–114. doi: 10.1039/9781782628873-00085.
- [88] E. D. Šćukin, *Koloidni chemie*. Praha: Academia, 1990.
- [89] C. Graf *et al.*, ‘Shape-Dependent Dissolution and Cellular Uptake of Silver Nanoparticles’, *Langmuir*, vol. 34, no. 4, pp. 1506–1519, Jan. 2018, doi: 10.1021/acs.langmuir.7b03126.
- [90] J. A. Creighton and D. G. Eadon, ‘Ultraviolet–visible absorption spectra of the colloidal metallic elements’, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, vol. 87, no. 24, pp. 3881–3891, 1991, doi: 10.1039/FT9918703881.
- [91] S. Thammawithan *et al.*, ‘A Biological Study of Anisotropic Silver Nanoparticles and Their Antimicrobial Application for Topical Use’, *Vet. Sci.*, vol. 8, no. 9, p. 177, Aug. 2021, doi: 10.3390/vetsci8090177.
- [92] A. S. Kumbhar, M. K. Kinnan, and G. Chumanov, ‘Multipole Plasmon Resonances of Submicron Silver Particles’, *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 127, pp. 12444–12445, 2005, doi: 10.1021/ja053242d.
- [93] D. Lee, G. Song, and Y. Pang, ‘Composite silver nanosurfaces of dipole and quadrupole surface plasmon resonances for fluorescence enhancements’, *Bull. Korean Chem. Soc.*, vol. 43, pp. 35–39, 2022, doi: 10.1002/bkcs.12428.
- [94] C. Puente, M. Sánchez-Domínguez, C. L. Brosseau, and I. López, ‘Silver-chitosan and gold-chitosan substrates for surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): Effect of nanoparticle morphology on SERS performance’, *Mater. Chem. Phys.*, vol. 260, p. 124107, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.matchemphys.2020.124107.
- [95] R. Prucek *et al.*, ‘Re-crystallization of silver nanoparticles in a highly concentrated NaCl environment—a new substrate for surface enhanced IR-visible Raman spectroscopy’, *CrystEngComm*, vol. 13, p. 2242, 2011, doi: 10.1039/c0ce00776e.
- [96] V. Caprettini *et al.*, ‘Enhanced Raman Investigation of Cell Membrane and Intracellular Compounds by 3D Plasmonic Nanoelectrode Arrays’, *Adv. Sci.*, vol. 5, no. 12, p. 1800560, Dec. 2018, doi: 10.1002/advs.201800560.
- [97] R. G. Freeman *et al.*, ‘Self-Assembled Metal Colloid Monolayers: An Approach to SERS Substrates’, *Science (1979)*, vol. 267, no. 5204, pp. 1629–1632, Mar. 1995, doi: 10.1126/science.267.5204.1629.

- [98] J. Pilipavicius, R. Kaleinikaite, M. Pucetaite, M. Velicka, A. Kareiva, and A. Beganskiene, 'Controllable formation of high density SERS-active silver nanoprism layers on hybrid silica-APTES coatings', *Appl. Surf. Sci.*, vol. 377, pp. 134–140, Jul. 2016, doi: 10.1016/j.apsusc.2016.03.169.
- [99] P. J. G. Goulet, David S. dos Santos, R. A. Alvarez-Puebla, Osvaldo N. Oliveira, and R. F. Aroca, 'Surface-Enhanced Raman Scattering on Dendrimer/Metallic Nanoparticle Layer-by-Layer Film Substrates', *Langmuir*, vol. 21, no. 12, pp. 5576–5581, Jun. 2005, doi: 10.1021/dm-3a050202e.
- [100] P. Wang, Y. Zhou, Y. Wen, F. Wang, and H. Yang, 'In situ polydopamine-assisted deposition of silver nanoparticles on a two dimensional support as an inexpensive and highly efficient SERS substrate', *RSC Adv.*, vol. 5, no. 46, pp. 36368–36373, 2015, doi: 10.1039/C5RA03481G.
- [101] W. W. Yu and I. M. White, 'Inkjet Printed Surface Enhanced Raman Spectroscopy Array on Cellulose Paper', *Anal. Chem.*, vol. 82, no. 23, pp. 9626–9630, Dec. 2010, doi: 10.1021/ac102475k.
- [102] L. Polavarapu, A. la Porta, S. M. Novikov, M. Coronado-Puchau, and L. M. Liz-Marzán, 'Pen-on-Paper Approach Toward the Design of Universal Surface Enhanced Raman Scattering Substrates', *Small*, vol. 10, no. 15, pp. 3065–3071, Aug. 2014, doi: 10.1002/sml.201400438.
- [103] Z. Wang, M. Li, W. Wang, M. Fang, Q. Sun, and C. Liu, 'Floating silver film: A flexible surface-enhanced Raman spectroscopy substrate for direct liquid phase detection at gas–liquid interfaces', *Nano Res.*, vol. 9, no. 4, pp. 1148–1158, Apr. 2016, doi: 10.1007/s12274-016-1009-x.
- [104] 'Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance dimethoate', *EFSA J.*, vol. 4, no. 7, p. 84r, Jul. 2006, doi: 10.2903/j.efsa.2006.84r.
- [105] P. C. Lee and D. Meisel, 'Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols', *J. Phys. Chem.*, vol. 86, no. 17, pp. 3391–3395, Aug. 1982, doi: 10.1021/j100214a025.
- [106] M. L. B. Figueiredo *et al.*, 'Surface-enhanced Raman scattering for dopamine in Ag colloid: Adsorption mechanism and detection in the presence of interfering species', *Appl. Surf. Sci.*, vol. 522, p. 146466, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.apsusc.2020.146466.
- [107] A. L. Cordes *et al.*, 'Mechanical characterization of polydopamine-assisted silver deposition on thiol-ene polymer substrates', *Surf. Coat. Technol.*, vol. 358, pp. 136–143, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.surfcoat.2018.11.016.
- [108] X. Wei and D. K. Roper, 'Tin Sensitization for Electroless Plating Review', *J. Electrochem. Soc.*, vol. 161, no. 5, pp. D235–D242, Mar. 2014, doi: 10.1149/2.047405jes.
- [109] P. Zhou *et al.*, 'Rapidly-Deposited Polydopamine Coating via High Temperature and Vigorous Stirring: Formation, Characterization and Biofunctional Evaluation', *PLoS One*, vol. 9, no. 11, p. e113087, Nov. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0113087.
- [110] A. Panáček *et al.*, 'Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity', *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 33, pp. 16248–16253, Aug. 2006, doi: 10.1021/jp063826h.
- [111] P. Suchomel *et al.*, 'Highly efficient silver particle layers on glass substrate synthesized by the sonochemical method for surface enhanced Raman spectroscopy purposes', *Ultrason. Sonochem.*, vol. 32, pp. 165–172, 2016, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.03.006.
- [112] N. Perkas *et al.*, 'Depositing silver nanoparticles on/in a glass slide by the sonochemical method', *Nanotechnology*, vol. 19, no. 43, p. 435604, 2008, doi: 10.1088/0957-4484/19/43/435604.
- [113] D. Chen, S. K. Sharma, and A. Mudhoo, *Handbook on Applications of Ultrasound: Sonochemistry for Sustainability*. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- [114] S. Dalla Marta, C. Novara, F. Giorgis, A. Bonifacio, and V. Sergo, 'Optimization and Characterization of Paper-Made Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) Substrates with Au and Ag NPs for Quantitative Analysis', *Materials*, vol. 10, no. 12, p. 1365, Nov. 2017, doi: 10.3390/ma10121365.
- [115] M. Mathlouthi, A.-M. Seuvre, and J. L. Koenig, 'F.t.-i.r. and laser-Raman spectra of adenine and adenosine', *Carbohydr. Res.*, vol. 131, no. 1, pp. 1–15, Aug. 1984, doi: 10.1016/0008-6215(84)85398-7.
- [116] A. Mortensen, D. H. Christensen, O. F. Nielsen, and E. Pedersen, 'Raman spectra of amorphous Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/MoO<sub>3</sub> obtained by visible and infrared excitation', *J. Raman Spectrosc.*, vol. 22, no. 1, pp. 47–49, Jan. 1991, doi: 10.1002/jrs.1250220109.

- [117] M. Erol, Y. Han, S. K. Stanley, C. M. Stafford, H. Du, and S. Sukhishvili, ‘SERS Not To Be Taken for Granted in the Presence of Oxygen’, *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 131, no. 22, pp. 7480–7481, Jun. 2009, doi: 10.1021/ja807458x.
- [118] V. J. Keast, ‘Atmospheric Corrosion of Silver and Silver Nanoparticles’, *Corros. Mater.*, vol. 3, no. 2, pp. 221–234, May 2022, doi: 10.3390/cmd3020013.
- [119] Y.-W. Ma, Z.-W. Wu, L.-H. Zhang, J. Zhang, G.-S. Jian, and S. Pan, ‘Theoretical Study of the Local Surface Plasmon Resonance Properties of Silver Nanosphere Clusters’, *Plasmonics*, vol. 8, no. 3, pp. 1351–1360, Sep. 2013, doi: 10.1007/s11468-013-9541-y.
- [120] Y. H. Ding, M. Floren, and W. Tan, ‘Mussel-inspired polydopamine for bio-surface functionalization’, *Biosurf Biotribol.*, vol. 2, no. 4, pp. 121–136, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.bsbt.2016.11.001.
- [121] Z. Yang, Y. Wu, J. Wang, B. Cao, and C. Y. Tang, ‘In Situ Reduction of Silver by Polydopamine: A Novel Antimicrobial Modification of a Thin-Film Composite Polyamide Membrane’, *Environ. Sci. Technol.*, vol. 50, no. 17, pp. 9543–9550, Sep. 2016, doi: 10.1021/acs.est.6b01867.
- [122] V. K. Thakur, D. Vennerberg, and M. R. Kessler, ‘Green Aqueous Surface Modification of Polypropylene for Novel Polymer Nanocomposites’, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 6, no. 12, pp. 9349–9356, Jun. 2014, doi: 10.1021/am501726d.
- [123] N. Chitvoranund, S. Jiemsirilers, and D. P. Kashima, ‘Effects of Surface Treatment on Adhesion of Silver Film on Glass Substrate Fabricated by Electroless Plating’, *Adv. Mater. Res.*, vol. 664, pp. 566–573, Feb. 2013, doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.664.566.
- [124] M. Rycenga *et al.*, ‘Generation of Hot Spots with Silver Nanocubes for Single-Molecule Detection by Surface-Enhanced Raman Scattering’, *Angew. Chem. Int.*, vol. 50, no. 24, pp. 5473–5477, Jun. 2011, doi: 10.1002/anie.201101632.
- [125] P. Merkl *et al.*, ‘Plasmonic Coupling in Silver Nanoparticle Aggregates and Their Polymer Composite Films for Near - Infrared Photothermal Biofilm Eradication’, *ACS Appl. Nano Mater.*, vol. 4, no. 5, pp. 5330–5339, May 2021, doi: 10.1021/acsanm.1c00668.
- [126] M. R. C. Mahdy, T. Zhang, Md. Danesh, and W. Ding, ‘Substrate and Fano Resonance Effects on the Reversal of Optical Binding Force between Plasmonic Cube Dimers’, *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, p. 6938, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-07158-z.
- [127] B. Gao, G. Arya, and A. R. Tao, ‘Self-orienting nanocubes for the assembly of plasmonic nanojunctions’, *Nat. Nanotechnol.*, vol. 7, no. 7, pp. 433–437, Jul. 2012, doi: 10.1038/nnano.2012.83.
- [128] L. E. Kamemoto *et al.*, ‘Near-Infrared Micro-Raman Spectroscopy for *in Vitro* Detection of Cervical Cancer’, *Appl. Spectrosc.*, vol. 64, no. 3, pp. 255–261, Mar. 2010, doi: 10.1366/000370210790918364.
- [129] C. Gong and D. P. Hart, ‘Ultrasound induced cavitation and sonochemical yields’, *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 104, no. 5, pp. 2675–2682, 1998, doi: 10.1121/1.423851.