

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **236329**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **408785**

(22) Data zgłoszenia: **09.07.2014**

(51) Int. Cl.

C25D 5/00 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)

G01N 21/62 (2006.01)

B82Y 40/00 (2011.01)

(54) **Sposób osadzania nanocząstek metalu na powierzchni w procesie elektrochemicznym, powierzchnia otrzymana tym sposobem i jej zastosowanie**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

18.01.2016 BUP 02/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

28.12.2020 WUP 21/20

(73) Uprawniony z patentu:

**INSTYTUT CHEMII FIZYCZNEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK, Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**MONIKA KSIEŻOPOLSKA-GOCALSKA,
Siedlce, PL
WERONKA MICHAŁOWICZ, Warszawa, PL
MARTA SIEK, Warszawa, PL
JOANNA NIEDZIÓŁKA-JÖNSSON,
Warszawa, PL
MARCIN OPAŁŁO, Warszawa, PL
ROBERT HOŁYST, Warszawa, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Krystian Żygadło

PL 236329 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób osadzania nanocząstek metalu na powierzchni w procesie elektrochemicznym, w którym wspomniana powierzchnia stanowi elektrodę pracującą i jest przynajmniej częściowo zanurzona w roztworze wodnym soli metalu, tworzącym roztwór elektrolitu, zaś wspomniane nanocząstki osadza się na wspomnianej powierzchni pod wpływem przyłożonego potencjału elektrycznego. Przedmiotem wynalazku jest także powierzchnia otrzymana tym sposobem, oraz jej zastosowanie jako platformy do pomiarów powierzchniowo wzmocnionego efektu Ramana (ang. *Surface Enhanced Raman Scattering*, SERS) lub do pomiarów zlokalizowanego rezonansu plazmonów powierzchniowych (ang. *Localized Surface Plasmon Resonance*, LSPR).

Wzmocniona powierzchniowo spektroskopia Ramana, czyli SERS (ang. *Surface Enhanced Raman Spectroscopy*), odkryta w 1974 roku [1] jest szybką, łatwą, niedestrukcyjną i selektywną metodą analizy jakościowej próbek. Polega ona na pomiarze intensywności światła ultrafioletowego, widzialnego oraz bliskiej podczerwieni, rozproszonego nieelastycznie na zaadsorbowanych na powierzchni podłoża cząsteczkach analitu. Wynikiem pomiaru jest widmo, które stanowi tzw. „odcisk palca” badanego związku. Okazało się, iż dzięki zastosowaniu podłoża o metalicznej, schropowanej w skali nanometrycznej powierzchni można uzyskać wzmocnienie intensywności efektywnego rozproszenia ramanowskiego o kilka rzędów wielkości ($10^2 - 10^6$, a nawet dla pewnych systemów $10^8 - 10^{15}$) [2] [3]. Jest to bardzo pożądany efekt, ponieważ można oznaczać substancje z roztworów o niskim stężeniu, co jest ważne np. w kryminalistyce lub medycynie, niemniej jednak technika SERS wykorzystywana jest w wielu innych dziedzinach nauki oraz przemysłu.

Wzmocnienie sygnału sersowskiego zależy od wielu czynników, m.in.: chemicznego pochodzenia molekuly, częstości promieniowania wzbudzającego, ramanowskiego efektywnego przekroju czynnego, a szczególnie od rodzaju podłoża oraz stopnia chropowatości jego powierzchni, choć do dzisiaj nie jest wyjaśnione ostatecznie, na czym polega mechanizm wzmocnienia w technice SERS. Opisuje się go najczęściej dwoma mechanizmami: elektromagnetycznym (dominującym) – opartym na plazmowym efekcie powierzchniowym, oraz chemicznym – polegającym na przeniesieniu ładunku w obrębie powierzchni metalu oraz zaadsorbowanej na niej cząsteczki.

Dla obu mechanizmów najistotniejsza jest właściwa powierzchnia podłoża, a szczególnie stopień jej schropowacenia, ponieważ występujące na niej nierówności szczególnie wpływają na efekt wzmocnienia sygnału ramanowskiego. Najbardziej odpowiednimi metalami tworzącymi powierzchnię do SERS są srebro, złoto i miedź, przy czym najlepsze efekty uzyskuje się dla srebra. Metale te, szczególnie srebro i złoto wykazują dużą stabilność, a także ich sygnały LSPRs (ang. *Localized Surface Plasmon Resonance* – zlokalizowane powierzchniowo rezonanse plazmonowe) występują w zakresie długości fal promieniowania widzialnego i bliskiej podczerwieni [4], w których obserwuje się sygnały rozproszenia Ramana.

Główne cechy jakie powinny posiadać podłoża do badań SERS to:

- powtarzalność,
- wysoki współczynnik wzmocnienia,
- jednorodność intensywności sygnału na całej powierzchni,
- stabilność w czasie,
- uniwersalność dla szerokiej grupy związków.

Istnieje szereg metod, dzięki którym uzyskuje się podłoża o wymaganych parametrach powierzchni, do analizy określonych związków lub grup związków, m.in.:

- elektrochemiczne, gdzie zachodzi modyfikacja elektrod, które są już podłożami, w określonych cyklach utleniania-redukcji (ORC),
- chemiczne trawienie, z wykorzystaniem światła lub zmian temperatury,
- nanoszenie koloidów metali, napyłanie cienkich warstw metali na różnorodne powierzchnie, np. krzem, szkło, ITO,
- tworzenie matryc z wykorzystaniem litografii, np. polimerowych, o regularnych nierównościach.

Mimo ogromnej ilości publikacji naukowych oraz patentów opisujących sposoby otrzymywania podłoży sersowskich, dotychczas nie zaproponowano dobrej metody pozwalającej na produkcję podłoży, spełniających wszystkie powyższe warunki, a szczególnie powtarzalności intensywności sygnałów ramanowskich zbieranych z całej powierzchni a także powtarzalności podłoży otrzymanych w kolejnych wykonanych seriach, dobrych dla szerokiej grupy analitów.

Początkowo, jak zostało to przedstawione w pracy [5] do otrzymania powierzchni aktywnych do badań powierzchniowo wzmacnianego efektu Ramana, wykorzystano metodę dwupulsową w celu elektroosadzenia na powierzchni ITO i węgla szklanego nanocząstek srebra i złota. Elektrolit zawierał, oprócz azotanu srebra, jony potasu oraz cyjankowe, natomiast analiza spektroskopowa otrzymanych podłoży wykazała, iż efekt wzmocnienia sygnałów pochodzi od lokalnych efektów powierzchniowych, w których główny udział biorą aglomeraty nanocząstek.

W publikacji [6] przedstawiona jest metoda dwupulsowa elektroosadzania nanocząstek srebra o określonych rozmiarach i gęstości upakowania na powierzchni szkła pokrytego warstwą przewodzącego tlenku – ITO, oraz pokazano zastosowanie tych podłoży jako platform do SERS, jednak przebieg procesu jest względnie długi (trwa ponad 1 godzinę). Ponadto, mimo stwierdzenia o powtarzalności nie zamieszczono żadnych potwierdzających ją danych, np. z przykładowej serii kilkunastu wykonanych tym sposobem podłoży, a jednorodność sygnałów wskazano tylko dla 6 miejsc losowych z 1 próbki w danych warunkach.

W publikacji [7] opisano elektrochemiczną metodę nakładania nanocząstek srebra, dzięki której można otrzymać powtarzalne i jednorodne platformy do badań SERS, o określonym upakowaniu na powierzchni, jednak badane związki to głównie neuroprzekazniki, a proces oparty jest na woltamperometrii cyklicznej.

W literaturze [8] przedstawiono metodę produkcji podłoży do badań SERS polegającą na litograficznym utworzeniu polimerowej matrycy na ITO, a następnie elektroosadzaniu na niej metali szlachetnych, m.in. srebra, jednak mimo stwierdzenia o powtarzalności nie przedstawiono stopnia jej wyników SERS, a także pomiary wzmocnienia prowadzone były tylko dla jednego analitu, a mianowicie rodaminy 6G (R6G), więc nie wiadomo nic o uniwersalności tych platform.

Kolejną publikacją opisującą otrzymywanie podłoży do SERS metodą elektrochemiczną jest [9], gdzie autorzy otrzymują powierzchnie aktywne o różnych kształtach nanocząstek złota, przy czym badają różne czasy trwania procesu elektrochemicznego. Pomimo wykazania zalet wytworzonych podłoży, a mianowicie dobrej powtarzalności sygnałów na widmie SERS zebranych z całej powierzchni, a także z kilku kolejnych podłoży, oraz ich stabilności w czasie, nie wskazano uniwersalności tych platform dla szerszego zakresu analitów. Dodatkowo, do procesu użyto wielu substratów, a samo podłoże jeszcze przed procesem wymaga napylenia filmu ze złota, co wydłuża czas produkcji.

W publikacji [10] autorzy przedstawiają elektrochemiczną metodę otrzymania podłoży do badań SERS. Mimo, iż proces jest prosty to czas jego trwania jest długi (ponad 1 godzinę), a pokazane widma są tylko dla jednego najprostszego analitu (rodamina). Dodatkowo, widmo roztworu wspomnianego analitu o stężeniu 10^{-10} M, które to stężenie jest limitem detekcji dla tych podłoży, jest bardzo słabe, ponadto nie zamieszczono porównania z widmem samego podłoża przed nałożeniem analitu.

Istnieje ogromny zakres pozycji literaturowych na temat podłoży do badań SERS, jednak nadal pojawiają się trudności w wyprodukowaniu bardzo dobrej platformy. Można także znaleźć zgłoszenia patentowe dotyczące powyższego tematu, których kilka istotnych zostanie przedstawionych poniżej.

Główne podejście opiera się na otrzymywaniu nanocząstek (nanostruktur) w procesie ich elektroosadzania na różnych podłożach, będących elektrodami, które są następnie zanurzane w konkretnych roztworach elektrolitów. Przykładowe wynalazki US7449757(B2) „Nanostructures with electrodeposited nanoparticles”, US20080081388(A1) „Composite nanostructure apparatus and method”, US20090101996(A1) „Nanostructures with electrodeposited nanoparticles” wskazują na różne techniki, dzięki którym można otrzymywać struktury nanocząstek metali o określonych rozmiarach i kształtach. Efekty takie można uzyskać, dobierając odpowiednie parametry, np. poprzez zmianę czasu trwania procesu i stężenia reagentów, dobór impulsów przykładanego potencjału, a także dodatek substancji wspomagającej proces.

W celu uzyskania najlepszej struktury powierzchni, jest ona często modyfikowana różnymi związkami. W przykładowym wynalazku US20120010411(A1) „Modified Surface” powierzchnie modyfikowane są różnymi pochodnymi organicznymi lub organometalicznymi. W innym patencie US20120208722(A1) „Surface enhanced raman spectroscopy platforms and methods” poprzez modyfikacje i immobilizacje konkretnych związków otrzymuje się bioczujniki, jak również poprzez tworzenie filmów z unieruchomionymi związkami WO2004011672(A1) „Porous nanostructures film sensor”.

W literaturze, na przestrzeni wielu lat, spotyka się ogromną ilość metod pozwalających na uzyskanie konkretnych struktur nanocząstek, m.in. do SERS. Wykorzystywano do tego m.in. związki polimerowe lub pochodne organiczne, technikę litografii i napylenia próżniowego, a także otrzymywano kilka warstw nanocząstek na powierzchni, tak jak w przykładowych wynalazkach US20120217165(A1)

„Metal deposition using seed layers”, WO2012026882(A1) „Substrate for optical sensing by surface enhanced raman spectroscopy (SERS) and methods for forming the same” oraz US8093065(B2) „Microbead optical sensor with layered plasmon structure for enhanced detection of chemical groups by SERS”.

Jednak jednymi z najbardziej powszechnych metod do produkcji nanocząstek i powierzchni z nich utworzonych są techniki elektrochemiczne. W przykładowym wynalazku NL 2009442 „Method for depositing metal nanoparticles on a surface, surface fabricated with the method, and the application thereof” nanocząstki osadzane są na powierzchni metodą voltamperometrii cyklicznej. Wiele istotnych parametrów jest uwzględnianych podczas prowadzenia procesów osadzania nanocząstek, jak np. dobór odpowiedniej wartości przykładanego potencjału, stężenia reagentów lub dodatek substancji redukujących.

Mimo iż jednym z istotnych parametrów procesów otrzymywania nanocząstek jest temperatura, w stanie techniki nie są znane sposoby osadzania nanocząstek metalu na powierzchni w procesie elektrochemicznym, w których uwzględnia się wpływ temperatury roztworu zawierającego jony metali na przebieg i efekt procesu.

W związku z ogromną liczbą prac naukowych przedstawiających różnorodność metod uzyskiwania platform do badań SERS można łatwo zauważyć, iż istotny jest dostęp do podłoża powtarzalnych i najlepiej uniwersalnych dla szerokiej grupy analitów. Jednak mimo wielu ujawnionych metod elektrochemicznych, wciąż nie udaje się otrzymać powierzchni, która spełnia wszystkie wymagane do analiz parametry tzn. zdolność do wysokiego wzmocnienia sygnału ramanowskiego, jednorodnego na całej powierzchni, która będzie otrzymywana powtarzalnie.

Celem wynalazku jest zatem opracowanie nowego sposobu osadzania nanocząstek metalu na powierzchni oraz przygotowania roztworu elektrolitu w procesie elektrochemicznym, który byłby pozbawiony wspomnianych wyżej wad znanych procesów.

Przedmiotem wynalazku jest sposób osadzania nanocząstek metalu na powierzchni w procesie elektrochemicznym, w którym wspomniana powierzchnia stanowi elektrodę pracującą i jest przynajmniej częściowo zanurzona w roztworze wodnym zawierającym jony metalu, tworzącym roztwór elektrolitu, zaś wspomniane nanocząstki osadza się na wspomnianej powierzchni pod wpływem przyłożonego potencjału elektrycznego, charakteryzujący się tym, że przed rozpoczęciem procesu elektrochemicznego roztwór elektrolitu ogrzewany jest do temperatury w zakresie od 55°C do 65°C, korzystnie 60°C, i w trakcie procesu elektrochemicznego roztwór powoli chłodzi się o 2°C–3°C.

Korzystnie elektrody umieszcza się w roztworze elektrolitu po ogrzaniu go do wymaganej temperatury, przy czym korzystnie podczas umieszczania elektrod utrzymana jest szczelność układu oraz wymagana temperatura elektrolitu.

Korzystnie proces elektrochemiczny prowadzony jest przez okres od 1 do 20 min, korzystnie w czasie od 8 do 18 min, najkorzystniej przez 15 min.

Korzystnie w trakcie procesu elektrochemicznego naczynko reakcyjne jest zaciemnione.

Korzystnie w trakcie procesu elektrochemicznego roztwór jest równomiernie mieszany.

Korzystnie proces elektrochemiczny przeprowadza się przez przyłożenie stałego potencjału do elektrody pracującej, korzystnie potencjału o wartości w zakresie od -0,9 V do -1,2 V, korzystniej o wartości równej -1 V.

Korzystnie jako elektrodę pracującą stosuje się płytkę szklaną pokrytą przewodzącym tlenkiem, korzystnie ITO (ang. *Indium Tin Oxide*), korzystniej FTO (ang. *Fluorine-doped Tin Oxide*).

Korzystnie sposób obejmuje mycie elektrody pracującej przed procesem elektrochemicznym, korzystnie mycie w płuczce ultradźwiękowej w rozpuszczalnikach w kolejności: aceton, izopropanol, metanol, woda destylowana, w każdym przez czas od 5 do 25 minut, korzystnie 15 minut.

Korzystnie stosuje się elektrodę odniesienia, korzystnie w postaci elektrody srebrnej, chlorosrebrowej lub drut srebrny.

Korzystnie stosuje się elektrodę pomocniczą, korzystnie drucik platynowy lub siatkę platynową.

Korzystnie sposób obejmuje mycie elektrody odniesienia i elektrody pomocniczej przed procesem elektrochemicznym, korzystnie mycie przez 15 min w płuczce ultradźwiękowej, korzystniej w każdym z rozpuszczalników: metanol, woda destylowana.

Korzystnie wspomniane jony metalu są jonami metalu wybranego z grupy obejmującej Cu, Ag, Au, Al oraz Pt.

Korzystnie stężenie jonów metalu wynosi 0,1 mM – 3 mM.

Korzystnie źródłem jonów metalu jest AgNO₃ o stężeniu 0,3 mM.

Korzystnie wspomniany roztwór elektrolitu zawiera dodatkowo substancję wstępnie redukującą i stabilizującą jony metalu, korzystnie sól organiczną.

Korzystnie stężenie wspomnianej substancji wstępnie redukującej i stabilizującej jony metalu wynosi od 1 mM do 10 mM.

Korzystnie wspomnianą solą organiczną jest cytrynian sodu, korzystnie o stężeniu 2,6 mM.

Wynalazek obejmuje także powierzchnię pokrytą nanocząstkami, uzyskaną powyższym sposobem.

Korzystnie powierzchnia jest większa niż 5 mm².

Korzystnie średnia wielkość nanocząstek na powierzchni wynosi od 50 nm do 400 nm.

Korzystnie nanocząstki mają kształt kulisto-owalny.

Zgodnie z wynalazkiem, powierzchnię otrzymaną powyższym sposobem korzystnie stosuje się jako platformę do pomiarów powierzchniowo wzmocnionego efektu Ramana (ang. *Surface Enhanced Raman Scattering*, SERS) lub do pomiarów zlokalizowanego rezonansu plazmonów powierzchniowych (ang. *Localized Surface Plasmon Resonance*, LSPR).

Przedmiotem tego wynalazku jest łatwy, tani i szybki sposób nakładania nanocząstek metalu na przewodzące podłoże oraz wykorzystanie otrzymanej platformy w badaniach SERS i/lub LSPR. Dużą zaletą przedstawianej metody jest jej jednoetapowość i krótki czas trwania procesu oraz użycie do procesu ogólnie dostępnych i bezpiecznych substratów.

Sposób według wynalazku opiera się na procesie elektrochemicznym trójelektrodowym, gdzie pod wpływem przyłożonego stałego potencjału i w odpowiedniej temperaturze, na elektrodę pracującą nakładane są nanocząstki metalu z roztworu elektrolitu zawierającego jony tego metalu oraz korzystnie substancję wstępnie redukującą i stabilizującą jony metalu. Nieoczekiwanie okazało się, że do otrzymania dobrych platform konieczne jest ogrzanie roztworu elektrolitu przed rozpoczęciem procesu elektrochemicznego do temperatury w zakresie od 40°C do 80°C, korzystnie od 40°C – 70°C, korzystniej 60°. Ogrzewanie roztworu wpływa korzystnie na produkcję nanocząstek oraz ich rozmiary i odpowiednie rozmieszczenie na powierzchni.

Korzystne warianty wynalazku pozwalają na uzyskanie platform, które wykazują zarówno bardzo dobrą powtarzalność w zakresie serii, a także jednorodność intensywności sygnałów z pomiarów widm sersowskich z całej powierzchni platformy. Nieoczekiwanie okazało się że chłodzenie roztworu o 2°C – 3°C w trakcie procesu wpływa korzystnie na poprawę parametrów (w tym współczynnik wzmocnienia, powtarzalność, jednorodność) otrzymanych platform. Natomiast wzrost temperatury w trakcie procesu wpływa niekorzystnie na jakość podłoża.

Innym sposobem pozwalającym na poprawę parametrów, zwłaszcza jednorodności, jest umieszczenie elektrod w roztworze elektrolitu dopiero po ogrzaniu go do wymaganej temperatury, co zapobiega długotrwałemu ogrzewaniu się i przez to degradacji powierzchni elektrody pracującej poprzez działanie wysokiej temperatury.

Wynalazek zostanie przedstawiony bardziej szczegółowo w przykładach wykonania, z odniesieniem do załączonych rysunków, gdzie:

- Fig. 1 przedstawia zdjęcie powierzchni podłoża według wynalazku ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM), wykonane w dwóch powiększeniach, fig. 1a: 25000 i fig. 1b: 50000 razy,
- Fig. 2 przedstawia widmo 4-aminotiofenolu (4-ATP) zaadsorbowanego z roztworu 10⁻⁶ M na powierzchni do pomiarów SERS według wynalazku,
- Fig. 3 przedstawia porównanie widma ramanowskiego samej powierzchni (a) z widmem analitu 4-aminotiofenolu (4-ATP) zaadsorbowanego z roztworu 10⁻⁶ M na tej powierzchni do pomiarów SERS według wynalazku (b),
- Fig. 4 przedstawia porównanie widm 4-aminotiofenolu (4-ATP) zaadsorbowanego z roztworu 10⁻⁶ M na powierzchni do pomiarów SERS według wynalazku, zebranych przy trzech długościach fali lasera: A – 514 nm, B – 633 nm, C – 785 nm,
- Fig. 5 przedstawia widmo kwasu para-merkaptobenzoesowego (PMBA) zaadsorbowanego z roztworu 10⁻⁶ M na powierzchni do pomiarów SERS według wynalazku,
- Fig. 6 przedstawia widma kwasu para-merkaptobenzoesowego (PMBA) zaadsorbowanego z roztworu 10⁻⁶ M na powierzchni do pomiarów SERS według wynalazku, rejestrowane w 3 różnych jej punktach (3 krzywe),

Fig. 7 przedstawia porównanie widm kwasu para-merkaptobenzoesowego (PMBA) zaadsorbowanego z roztworu 10^{-6} M na powierzchni do pomiarów SERS według wynalazku, otrzymanej w procesie o temperaturze roztworu: a) 60°C , b) 70°C , c) 20°C .

Metoda pomiaru widm SERS

Widma Ramana były rejestrowane przy pomocy konfokalnego spektrometru ramanowskiego typu InVia (Renishaw). Aparaturę cechuje wysoka zdolność rozdzielcza, natomiast długość fali światła wzbudzającego wykorzystanego w pomiarach wynosiła głównie 785 nm, choć dla porównania użyto także linii 633 nm i 514 nm (fig. 5). Analiza energii wiązki rozproszonej odbywa się w spektrometrze przy pomocy siatki dyfrakcyjnej, a intensywność dla poszczególnych energii rejestrowana jest w czułym detektorze CCD. Podczas badań używano obiektywu ogniskującego promień lasera na próbce o powiększeniu 50x. Widma zbierane były w czasie 8 sekund. Przestrzenna zdolność rozdzielcza była lepsza niż $1\ \mu\text{m}$, spektralna zdolność rozdzielcza około $1\ \text{cm}^{-1}$. Moc lasera stosowanego do pomiarów o długości fali 785 nm wynosiła od 1 mW do 3 mW dla pomiarów SERS i 150 mW w przypadku rejestracji normalnych widm Ramana.

Współczynnik wzmocnienia

Współczynnik wzmocnienia (ang. *Enhancement Factor*, EF) określa stosunek integralnych intensywności (intensywności w maksimum) wniesionych przez molekuly zaadsorbowane na powierzchni do integralnych intensywności wniesionych przez molekuly będące w roztworze. Definiuje się go wyrażeniem:

$$EF = (I_{\text{SERS}}/I_{\text{RAMAN}})/(N_{\text{SERS}}/N_{\text{RAMAN}})$$

gdzie:

I_{SERS} – zmierzona intensywność integralna pasma w widmie SERS molekul zaadsorbowanych na powierzchni,

I_{RAMAN} – zmierzona intensywność integralna pasma w widmie Ramana molekul w roztworze,

N_{SERS} – określa liczbę zaadsorbowanych molekul „oświetlonych” światłem lasera w celu otrzymania widma SERS,

N_{Raman} – określa liczbę molekul w roztworze „oświetlonych” światłem lasera w celu otrzymania widma Ramana,

N_{Raman} – określono korzystając z wyrażenia:

$$N_{\text{Raman}} = (V_R \times d \times N_A)/M$$

gdzie:

V_R – objętość próbkowa, wzbudzona światłem lasera, która została wyliczona dla 1M roztworu, uwzględniając cechy spektralne układu tj. linia 785 nm lasera, apertura i powiększenie obiektywu, głębokość ogniskowania dla spektrometru Renishaw, oraz rozmiar plamki lasera ($5\ \mu\text{m}$),

d – gęstość badanego analitu,

N_A – liczba Avogadro równa $6,02 \times 10^{23}$,

M – masa molowa badanego analitu.

N_{SERS} – zostało oszacowane na podstawie powierzchniowego pokrycia, z założeniem, że molekuly adsorbują się na powierzchni tworząc monowarstwę, oraz rozmiaru powierzchni oświetlonej przez laser, korzystając z wyrażenia:

$$N_{\text{SERS}} = N_m \times A$$

gdzie:

N_m – liczba molekul znajdujących się w roztworze macierzystym, użytym do adsorpcji,

A – powierzchnia oświetlona przez laser, gdzie $A = \pi \times S$, przy czym S oznacza rozmiar plamki lasera, który dla stosowanej w pomiarach linii 785 nm i powiększenia obiektywu 50x wynosi $1,5\ \mu\text{m}^2$.

Jednorodność (w obrębie jednej platformy)

Jednorodność oznacza powtarzalność widm SERS rejestrowanych w różnych losowych punktach w obrębie jednego podłoża. Określana jest na podstawie zgodności pod względem intensywności i położenia odpowiednich pasm na zebranych kolejno widmach w tych samych warunkach pomiaru. Parametr ten wyznaczany jest poprzez obliczenie wartości odchylenia standardowego intensywności charakterystycznych pasm na widmach. Za jednorodne powierzchnie uznano te, dla których wartość odchylenia standardowego nie przekracza 25%.

Powtarzalność podłoży (w obrębie kolejnych platform)

Powtarzalność podłoży oznacza powtarzalność widm SERS rejestrowanych na różnych podłożach (np. na serii 20 platform). Określana jest na podstawie zgodności pod względem intensywności i położenia odpowiednich pasm na zebranych kolejno widmach w tych samych warunkach pomiaru. Parametr ten wyznaczany jest następująco: intensywności charakterystycznych pasm na widmach SERS są normalizowane za pomocą analizy widm czystego krzemu w tych samych warunkach pomiaru, następnie obliczone jest dla nich średnie odchylenie standardowe. Za powtarzalne serie podłoży uznano te, dla których wartość średniego odchylenia standardowego nie przekracza 25%.

Korzystne przykłady wykonania wynalazku

Przykład 1

Otrzymanie powierzchni z elektroosadzonymi nanocząstkami srebra

Przygotowany wodny roztwór elektrolitu, zawierający azotan srebra o stężeniu 0,3 mM oraz cytrynian sodu o stężeniu 2,6 mM, ogrzano do temperatury 60°C. Utrzymywanie jednostajnego mieszania, wartości temperatury, szczelności układu oraz jego zaciemnienia należy kontrolowane były przez cały proces nakładania nanocząstek. Po osiągnięciu odpowiedniej temperatury, po uprzednim oczyszczeniu i wysuszeniu, w naczynku elektrochemicznym umieszczono trzy elektrody w ułożeniu takim, że elektroda odniesienia (drucik srebrny) znajdowała się najbliżej elektrody pracującej (płytki FTO), naprzeciw której znajdowała się elektroda pomocnicza (siatka platynowa). Następnie do elektrody pracującej przykładano stały potencjał o wartości równej -1 V przez 15 minut.

Zdjęcie SEM powierzchni przygotowanej w taki sposób przedstawione jest na fig. 1.

Uzyskano podłoża o regularnej strukturze, z kulisto-owalnymi nanocząstkami o wymiarach 50–400 nm, stabilne w czasie.

Przygotowanie powierzchni do badań SERS

Otrzymane podłoża z elektroosadzonymi nanocząstkami srebra przemyto wodą destylowaną oraz pozostawiono do wyschnięcia.

Tak przygotowaną powierzchnię wykorzystywano jako platformę do badań SERS. W tym celu podłoża umieszczano w roztworze analitu o określonym stężeniu na 24 godziny. Po wyjęciu z roztworu platforma z zaadsorbowanym na jej powierzchni analitem gotowa była do pomiarów SERS.

Widma Ramana powierzchni do badań SERS

Powierzchnię SERS zbadano za pomocą spektroskopii ramanowskiej i rejestrowano widma ramanowskie z kilkunastu losowych miejsc z tej powierzchni. Pomiary wykonano w warunkach: laser o linii wzbudzającej 785 nm i mocy 150 mW, o czasie akumulacji 10 sekund.

Wszystkie widma były identyczne, natomiast przykładowe przedstawiono na fig. 3 (a).

Widma SERS 4-aminotiofenolu (4-ATP)

Powierzchnię SERS zanurzano do roztworu analitu 4-aminotiofenolu (4-ATP) o stężeniu 10^{-6} M. Następnie podłoża wysuszono i zarejestrowano widma ramanowskie. Pomiary wykonano w warunkach: laser o linii wzbudzającej 785 nm i mocy 2,5 mW, o czasie akumulacji 8 sekund.

Zbadana powierzchnia była jednorodna i powtarzalna według definicji podanych powyżej, tzn. jednorodność najsilniejszych sygnałów ($1076, 1145, 1393, 1437$ oraz 1579 cm^{-1}) oraz ich powtarzalność w obrębie serii podłoży była większa niż 75%.

Oszacowano także współczynnik wzmocnienia (EF) według definicji powyżej dla 4-aminotiofenolu, który wynosi $4,9 \times 10^7$. Przykładowe widmo SERS 4-aminotiofenolu (4-ATP) przedstawiono na fig. 2.

Widma SERS kwasu para-merkaptobenzoesowego (PMBA)

Powierzchnię SERS zanurzano do roztworu analitu kwasu para-merkaptobenzoesowego o stężeniu 10^{-6} M. Następnie podłoża wysuszono i zarejestrowano kilkanaście widm ramanowskich z różnych punktów powierzchni. Fig. 6 przedstawia trzy wybrane losowo widma zaadsorbowanego analitu. Pomiary wykonano w warunkach: laser o linii wzbudzającej 785 nm i mocy 2,5 mW, o czasie akumulacji 8 sekund.

Rejestrowane widma były prawie identyczne. Pasma charakterystyczne dla kwasu para-merkaptobenzoesowego (1078 i 1590 cm^{-1}) były widoczne i bardzo intensywne na każdym widmie, co potwierdza jednorodność i powtarzalność sygnałów na powierzchni SERS według tego wynalazku. Oszacowano także współczynnik wzmocnienia (EF) według definicji powyżej dla kwasu para-merkaptobenzoesowego, który wynosi $9,2 \times 10^6$.

Wykonano także badania tego analitu na serii kolejnych podłoży wykonanych metodą opisaną w punkcie „Otrzymanie powierzchni z elektroosadzonymi nanocząstkami srebra”, które potwierdziły jej powtarzalność na poziomie większym niż 75%.

Przykład 2

Otrzymanie powierzchni z elektroosadzonymi nanocząstkami złota

Przygotowany wodny roztwór elektrolitu, zawierający kwas tetrachlorozłotowy o stężeniu 0,3 mM oraz cytrynian sodu o stężeniu 2,6 mM, ogrzano do temperatury 60°C. Utrzymywanie jednostajnego mieszania, wartości temperatury, szczelności układu oraz jego zaciemnienia należy kontrolowane były przez cały proces nakładania nanocząstek. Po osiągnięciu odpowiedniej temperatury, po uprzednim oczyszczeniu i wysuszeniu, w naczynku elektrochemicznym umieszczono trzy elektrody w układzie takim, że elektroda odniesienia (drucik srebrny) znajdowała się najbliżej elektrody pracującej (płytki FTO), naprzeciw której znajdowała się elektroda pomocnicza (siatka platynowa). Następnie do elektrody pracującej przyłożono stały potencjał o wartości równej -1 V przez 15 minut.

Przygotowanie powierzchni do badań SERS

Otrzymane podłoże z elektroosadzonymi nanocząstkami złota przemyto wodą destylowaną oraz pozostawiono do wyschnięcia.

Tak przygotowaną powierzchnię wykorzystywano jako platformę do badań SERS. W tym celu podłoże umieszczano w roztworze analitu o określonym stężeniu na 24 godziny. Po wyjęciu z roztworu platforma z zaadsorbowanym na jej powierzchni analitem gotowa była do pomiarów SERS.

Otrzymane podłoża wykazywały zarówno bardzo dobrą powtarzalność w zakresie serii, a także jednorodność intensywności sygnałów z pomiarów widm sersowskich z całej powierzchni platformy.

Sposób według wynalazku przedstawiono na przykładzie roztworów jonów srebra i złota, jednak pozwala on na osadzanie na powierzchni także nanocząstek miedzi, aluminium oraz platyny.

Przedstawione przykłady dotyczą procesu zrealizowanego dla roztworu elektrolitu ogrzewanego do najkorzystniejszej temperatury 60°C. Przeprowadzone badania wskazują na korzystny wpływ kontroli temperatury elektrolitu w dużo szerszym zakresie, od 40°C do 80°C (przykładowe wyniki zilustrowano na fig. 7).

Bibliografia

Odnośniki numeryczne w nawiasach kwadratowych odnoszą się do następujących pozycji:

- [1] M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, "Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 26, no. 2, pp. 163–166, May 1974.
- [2] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L. T. Perelman, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, "Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS)," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 78, no. 9, pp. 1667–1670, Mar. 1997.
- [3] S. Nie and S. R. Emory, "Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering," *Science*, vol. 275, no. 5303, pp. 1102–1106, Feb. 1997.
- [4] 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.
- [5] W. Plieth, H. Dietz, A. Anders, G. Sandmann, A. Meixner, M. Weber, and H. Kneppel, "Electrochemical preparation of silver and gold nanoparticles: Characterization by confocal and surface enhanced Raman microscopy," *Surf. Sci.*, vol. 597, no. 1–3, pp. 119–126, Dec. 2005.
- [6] J.-C. Bian, Z. Li, Z.-D. Chen, H.-Y. He, X.-W. Zhang, X. Li, and G.-R. Han, "Electrodeposition of silver nanoparticle arrays on ITO coated glass and their application as reproducible surface-enhanced Raman scattering substrate," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 258, no. 5, pp. 1831–1835, Dec. 2011.
- [7] M. Siek, A. Kamińska, A. Keim, T. Rolinski, R. Holyst, M. Opallo, and J. Niedziolka-Jonsson, "Electrodeposition for preparation of efficient surface-enhanced Raman scattering-active silver nanoparticle substrates for neurotransmitter detection," *Electrochimica Acta*, vol. 89, pp. 284–291, Feb. 2013.
- [8] S. Wang, L.-P. Xu, Y. Wen, H. Du, S. Wang, and X. Zhang, "Space-confined fabrication of silver nanodendrites and their enhanced SERS activity," *Nanoscale*, vol. 5, no. 10, pp. 4284–4290, May 2013.

- [9] S. Choi, M. Ahn, and J. Kim, "Highly reproducible surface-enhanced Raman scattering-active Au nanostructures prepared by simple electrodeposition: Origin of surface-enhanced Raman scattering activity and applications as electrochemical substrates," *Anal. Chim. Acta*, vol. 779, pp. 1–7, May 2013.
- [10] J.-C. Bian, Z.-D. Chen, Z. Li, F. Yang, H.-Y. He, J. Wang, J. Z. Y. Tan, J.-L. Zeng, R.-Q. Peng, X.-W. Zhang, and G.-R. Han, "Electrodeposition of hierarchical Ag nanostructures on ITO glass for reproducible and sensitive SERS application," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 258, no. 17, pp. 6632–6636, Jun. 2012.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób osadzania nanocząstek metalu na powierzchni w procesie elektrochemicznym, w którym wspomniana powierzchnia stanowi elektrodę pracującą i jest przynajmniej częściowo zanurzona w roztworze wodnym zawierającym jony metalu, tworzącym roztwór elektrolitu, zaś wspomniane nanocząstki osadza się na wspomnianej powierzchni pod wpływem przyłożonego potencjału elektrycznego, **znamienny tym**, że przed rozpoczęciem procesu elektrochemicznego roztwór elektrolitu ogrzewany jest do temperatury w zakresie od 55°C do 65°C, korzystnie 60°C, i w trakcie procesu elektrochemicznego roztwór powoli chłodzi się o 2°C–3°C.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że elektrody umieszcza się w roztworze elektrolitu po ogrzaniu go do wymaganej temperatury, przy czym korzystnie podczas umieszczania elektrod utrzymana jest szczelność układu oraz wymagana temperatura elektrolitu.
3. Sposób według zastrz. 1 lub 2, **znamienny tym**, że proces elektrochemiczny prowadzony jest przez czas od 1 do 20 min, korzystnie w czasie od 8 do 18 min, korzystniej przez 15 min.
4. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że w trakcie procesu elektrochemicznego naczynko reakcyjne jest zaciemnione.
5. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że w trakcie procesu elektrochemicznego roztwór jest równomiernie mieszany.
6. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że proces elektrochemiczny przeprowadza się przez przyłożenie stałego potencjału do elektrody pracującej o wartości równej -1 V.
7. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że jako elektrodę pracującą stosuje się płytkę szklaną pokrytą przewodzącym tlenkiem, korzystnie ITO, korzystniej FTO.
8. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że obejmuje mycie elektrody pracującej przed procesem elektrochemicznym, korzystnie mycie w płuczce ultradźwiękowej w rozpuszczalnikach w kolejności: aceton, izopropanol, metanol, woda destylowana, w każdym przez czas od 5 do 25 minut, korzystnie 15 minut.
9. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że stosuje się elektrodę odniesienia, korzystnie w postaci elektrody srebrnej, chlorosrebrowej lub drut srebrny.
10. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że stosuje się elektrodę pomocniczą, korzystnie drucik platynowy lub siatkę platynową.
11. Sposób według zastrz. 10 lub 11, **znamienny tym**, że obejmuje mycie elektrody odniesienia i elektrody pomocniczej przed procesem elektrochemicznym, korzystnie mycie przez 15 min w płuczce ultradźwiękowej, korzystniej w każdym z rozpuszczalników: metanol, woda destylowana.
12. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że wspomniane jony metalu są jonami metalu wybranego z grupy obejmującej Cu, Ag, Au, Al oraz Pt.
13. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że stężenie jonów metalu wynosi 0,1 mM – 3 mM.
14. Sposób według zastrz. 13 lub 14, **znamienny tym**, że źródłem jonów metalu jest AgNO₃ o stężeniu 0,3 mM.
15. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że wspomniany roztwór elektrolitu zawiera dodatkowo substancję wstępnie redukującą i stabilizującą jony metalu, korzystnie sól organiczną.

16. Sposób według zastrz. 16, **znamienny tym**, że stężenie wspomnianej substancji wstępnie redukującej i stabilizującej jony metalu wynosi od 1 mM do 10 mM.
17. Sposób według zastrz. 16 lub 17, **znamienny tym**, że wspomnianą solą organiczną jest cytrynian sodu, korzystnie o stężeniu 2,6 mM.
18. Powierzchnia pokryta nanocząstkami, uzyskana sposobem według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń.
19. Powierzchnia według zastrz. 19, **znamienna tym**, że jest większa niż 5 mm².
20. Powierzchnia według zastrz. 19 albo 20, **znamienna tym**, że średnia wielkość nanocząstek na powierzchni wynosi od 50 nm do 400 nm.
21. Powierzchnia według zastrz. 19, 20 albo 21, **znamienna tym**, że nanocząstki mają kształt kulisto-owalny.
22. Zastosowanie powierzchni według zastrz. 19, 20, 21 albo 22 jako platformy do pomiarów powierzchniowo wzmocnionego efektu Ramana (ang. *Surface Enhanced Raman Scattering*, SERS) lub do pomiarów zlokalizowanego rezonansu plazmonów powierzchniowych (ang. *Localized Surface Plasmon Resonance*, LSPR).

Rysunki

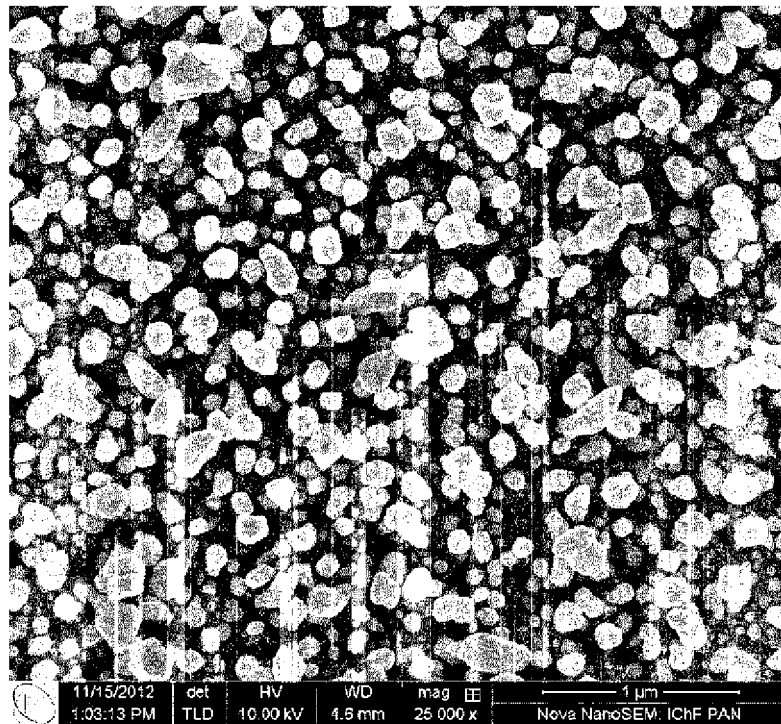


Fig. 1a

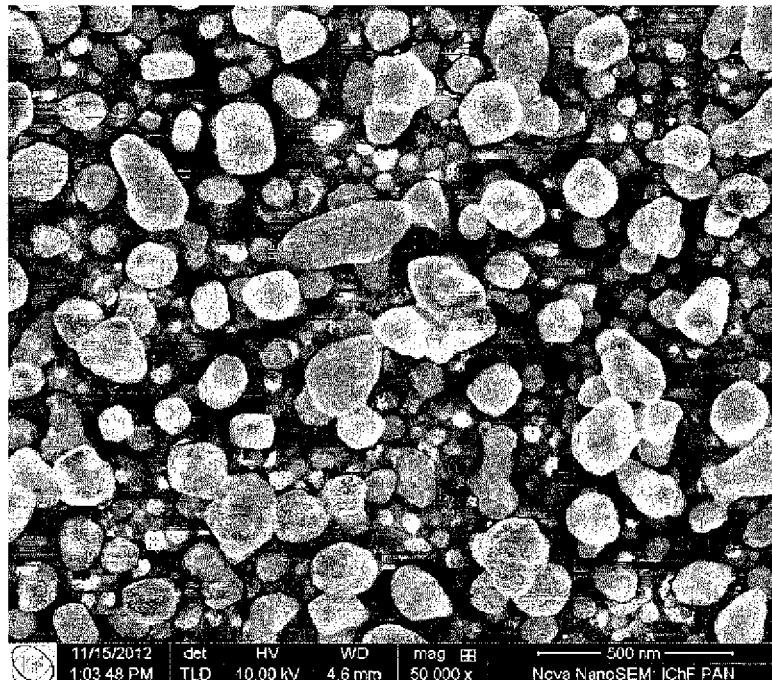


Fig.1b

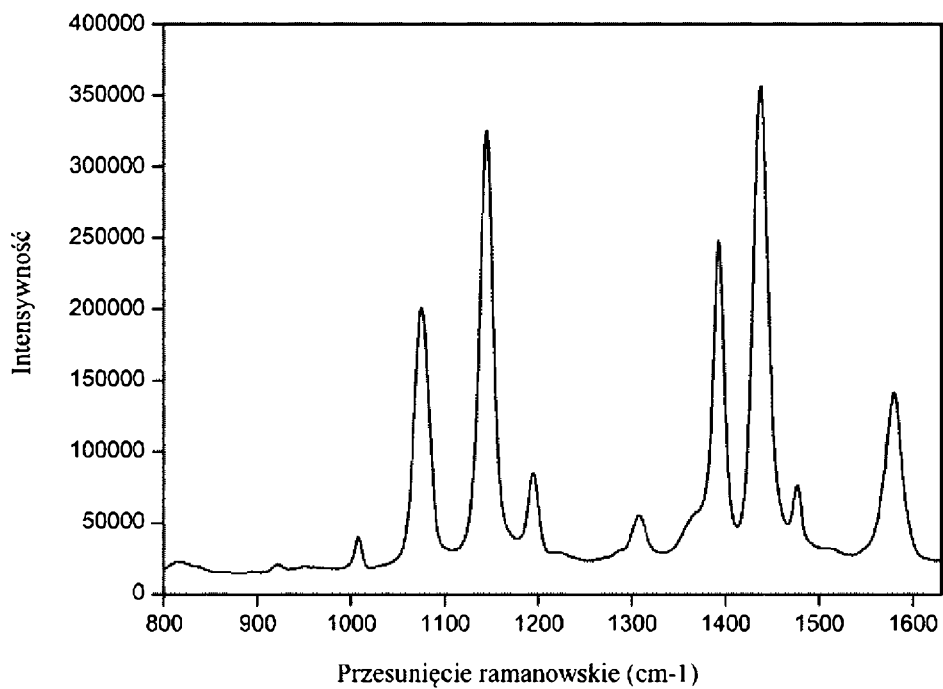


Fig. 2

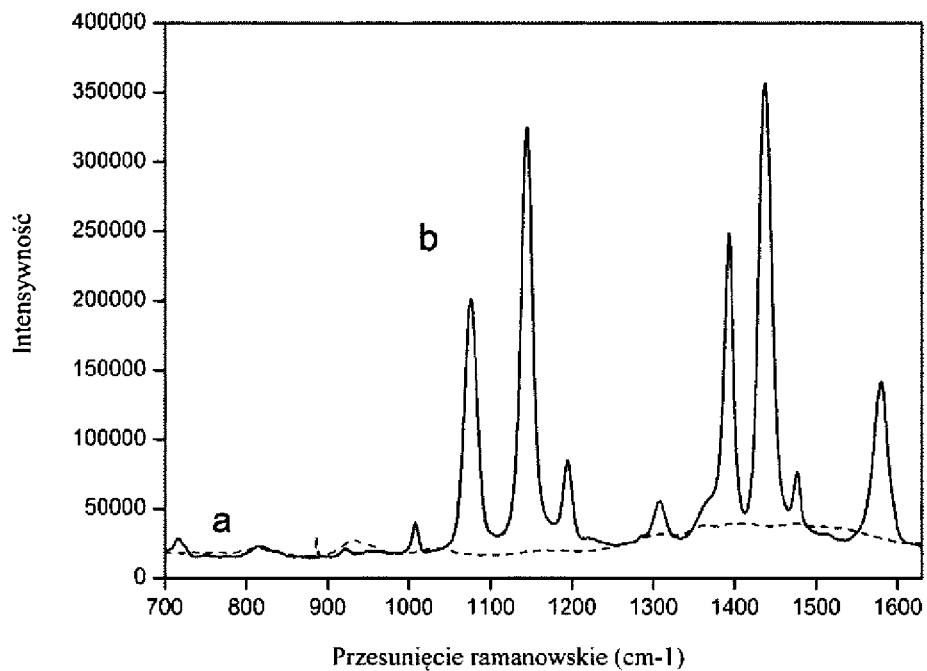


Fig. 3

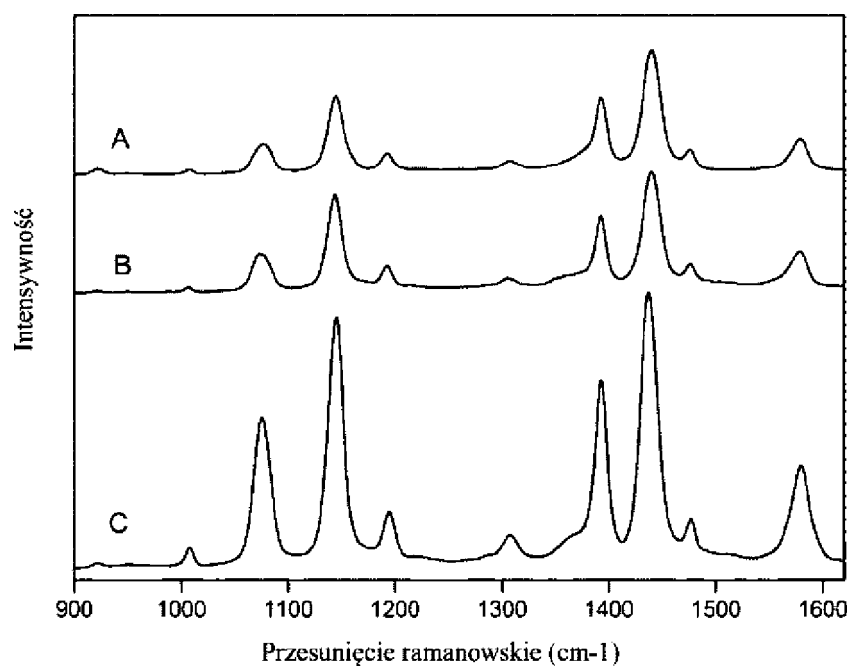


Fig. 4

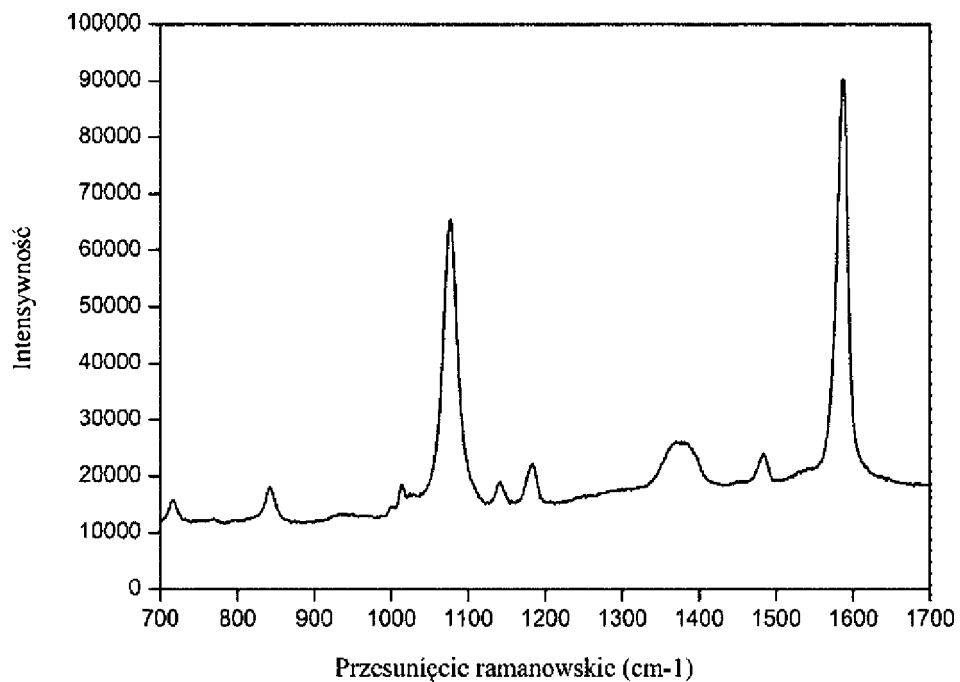


Fig. 5

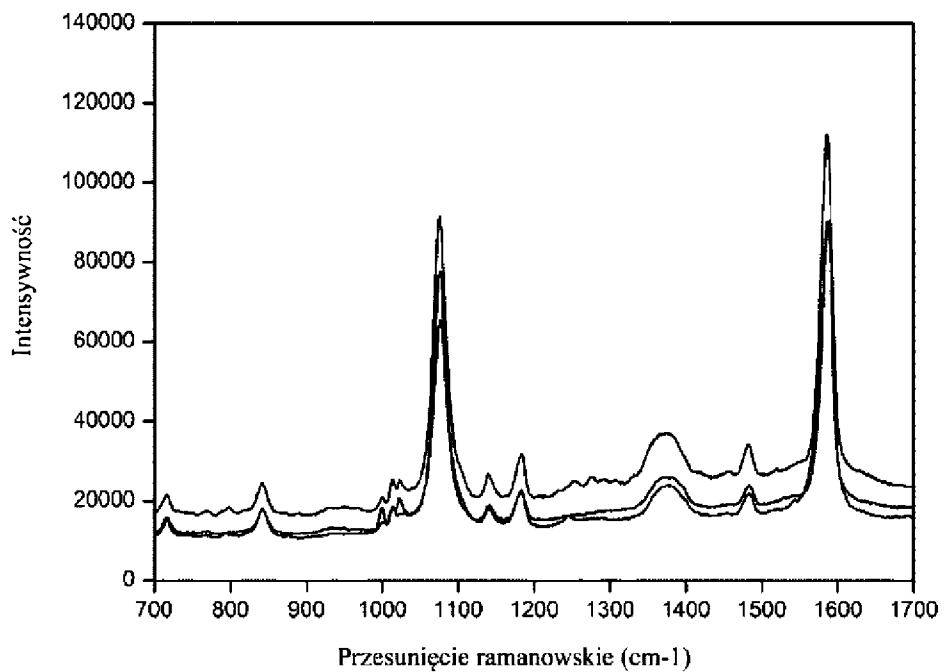


Fig. 6

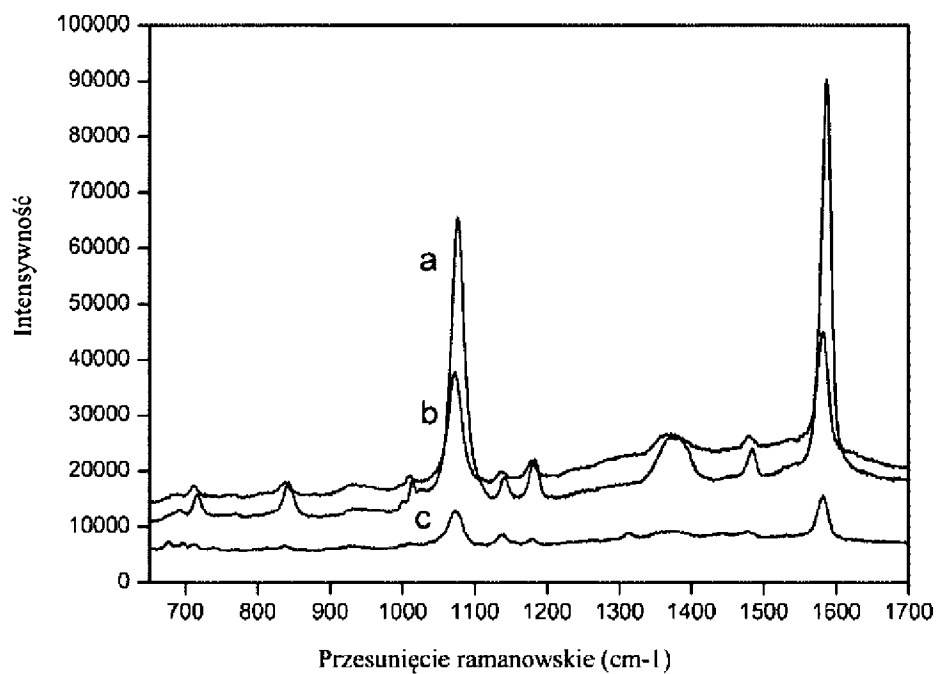


Fig. 7