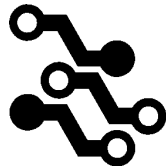




M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Villamosmérnöki és Informatikai Kar



BMEETT

ELEKTRONIKAI TECHNOLÓGIA TANSZÉK

Izsold Zsanett, Borók Alexandra

**Mikrofluidikai rendszerekbe integrált nanokompozitok
fejlesztése plazmonikus bioérzékelőkhöz és SERS-hez**

TDK Dolgozat

Témavezető:
Dr. Bonyár Attila
egyetemi docens

Budapest, 2018. október

Tartalomjegyzék

1	BEVEZETÉS	5
2	SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1	BIOÉRZÉKELŐK A MIKROFLUIDIKÁBAN	6
2.2	A PDMS ÉS NANOKOMPOZITJAINAK TULAJDONSÁGAI ÉS KIALAKÍTÁSI LEHETŐSÉGEK	8
2.3	A PDMS NANOKOMPOZITOK ALAKALMAZÁSI LEHETŐSÉGE BIOSZENZORKÉNT	10
2.4	MÉRÉSI MÓDSZEREK: FELÜLETI PLAZMON REZONANCIA (SPR)	12
2.5	MÉRÉSI MÓDSZEREK: LOKALIZÁLT FELÜLETI PLAZMON REZONANCIA (LSPR)	13
2.6	MÉRÉSI MÓDSZEREK: SERS (SURFACE-ENHANCED RAMAN SPECTROSCOPY)	15
3	KÍSÉRLETI ESZKÖZÖK ÉS MÓDSZEREK	17
3.1	MINTAKÉSZÍTÉS LÉPÉSEI	17
3.2	ÉRZÉKENYSÉG VIZSGÁLAT	20
3.3	SPEKTRUM KIÉRTÉKELŐ SZOFTVER FEJLESZTÉSE	20
3.4	RAMAN-SPEKTROSKÓPIA	24
4	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	25
4.1	SZINTÉZIS PDMS MEMBRÁNON	25
4.1.1	SZINTÉZIS 1:10-ES PDMS MEMBRÁNON SZOBAHŐMÉRSÉKLETEN	25
4.1.2	SZINTÉZIS 1:5-ÖS PDMS MEMBRÁNON SZOBAHŐMÉRSÉKLETEN	26
4.1.3	SZINTÉZIS PDMS MEMBRÁNON EMELT HŐMÉRSÉKLETEN	27
4.1.4	PDMS MONOMER-TÉRHÁLÓSÍTÓ SZER ARÁNYÁNAK (η) HATÁSA	28
4.1.5	INKUBÁCIÓS HŐMÉRSÉKLET HATÁSA	30
4.1.6	AFM VIZSGÁLATOK	31
4.2	SZINTÉZIS PDMS-ÜVEG MIKROFLUIDIKAI CSATORNÁBAN	32
4.2.1	SZINTÉZIS FOLYAMATOS MONITOROZÁSA SPEKTROSKÓPIÁVAL	33
4.2.2	A MIKROFLUIDIKAI RENDSZERBEN SZINTETIZÁLT NANOKOMPOZITOK ÉRZÉKENYSÉGÉNEK VIZSGÁLATA	35
4.2.3	BIOÉRZÉKELŐS TESZT DNS MOLEKULÁKKAL	39
4.2.4	AZ LSPR KÍSÉRLETEK ÖSSZEFOGLALÁSA	40
4.3	FELÜLETERŐSÍTETT RAMAN-SPEKTROSKÓPIA (SERS)	41

5	ÖSSZEFOGLALÁS	44
5.1	PUBLIKÁCIÓS LISTA	45
5.2	FELADATMEGOSZTÁS	45
6	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	46
7	MELLÉKLETEK	47
8	REFERENCIA JEGYZÉK	49

Rövidítés Jegyzék

AFM — Atomic Force Microscope — Atomerő Mikroszkóp

Ag — Argentum — Ezüst

Au — Aurum — Arany

CAD — Computer-aided Design — Számítógéppel segített tervezés

DNS — Deoxiribonkleinsav

GH — Growing Hormone — Növekedés Hormon

GUI — Graphical User Interface — Grafikus Felhasználói Felület

IR — Infrared — Infravörös

LoC — Lab on a Chip

LSPR — Localized Surface Plasmon Resonance — Lokalizált Felületi Plazmon Rezonancia

NIR — Near Infrared — Infravöröshöz közeli

PBS — Phosphate Buffered Saline — Foszfát Pufferes Sóoldat

PDMS — Polydimethylsiloxane — Dimetil-polisziloxán

PoC — Point of Care — Az ellátás helyén alkalmazott diagnosztikai berendezés

RIU — Refractive Index Unit

SERS — Surface-Enhanced Raman Spectroscopy — Felület Erősített Raman-Spektroszkópia

SPR — Surface Plasmon Resonance — Felületi Plazmon Rezonancia

SU8 — epoxi alapú fotoreziszter

UV — Ultraviolet — Ultraibolya

1 Bevezetés

Korunk modern orvosdiagnosztikai módszerei (pl. molekuláris diagnosztika, point-of-care diagnosztika) új kapukat tárnak fel a gyors, személyre szabott gyógyászat területén, lehetővé téve a betegségek korai diagnózisát, egyénre és betegségre szabott gyógyszerek kiválasztását és a gyógyulás folyamatos monitorozását. A fejlődő technológiák miatt nem csak a diagnosztikai lehetőségek száma nő, de az elvárások is egyre nagyobbak ezen orvostechnikai eszközök iránt. Így az érzékelőktől és analitikai eszközöktől is minden eddiginél jobb detektálási küszöböt, érzékenységet és szelektivitást várunk el, miközben fokozatos a törekvés arra nézve is, hogy a vizsgálat időtartamát és az eszközök árát egyre csökkentjük.

Nanoanyagokat és nanoszerkezeteket elterjedten használnak az érzékelők paramétereinek javítására. Olyan szenzorok is létrehozhatók, ahol a nanorészecske nem csak javítja a szenzor tulajdonságait, de nanorészecskét tartalmazó elem az érzékelési kölcsönhatás – a jelgenerálás – elengedhetetlen alkotóeleme. A fém nanorészecskéken kialakuló, lokalizált felületi plazmon rezonancia (LSPR) alapú ultra-érzékeny törésmutató mérés (akár 10^{-6} - 10^{-7} RIU érzékenység) sikerrel alkalmazható akár egyedi molekulák detektálására is. A nanorészecskék plazmontere továbbá jelentősen felerősíti a közelükben lévő molekulák Raman-szórását (akár 10^{10} - 10^{11} szerez erősítés), ami lehetőséget teremt a minták analitikai célú vizsgálatára is, ú.n. felület erősített Raman-spektroszkópiával (SERS).

Kutatómunkánk célja PDMS (poli-dimetil-sziloxán) polimer felületébe ágyazott arany és ezüst nanorészecske alapú nanokompozitok előállítása LSPR és SERS célra. A kiválasztott szenzorelem előállítási technológia PDMS felületén hozza létre a jelátalakításban résztvevő arany, illetve ezüst nanorészecskét, direkt, a PDMS felületén végbemenő kémiai redukcióval. Munkánk kiterjed a nanokompozitok létrehozására, a szintézisük technológiai paramétereinek optimalizálására (plazmonikus érzékenység és Raman-erősítés szempontjából), valamint a létrehozott szenzorelemek tesztelésére és minősítésére optikai spektroszkópiával, Raman-spektroszkópiával és atomerő-mikroszkópiával. Vizsgálatainkkal igazolni akarjuk, hogy az egyszerű és költséghatékony technológiával létrehozott nanokompozitok sikeresen alkalmazhatóak LSPR és SERS célokra.

2 Szakirodalmi áttekintés

Ebben a fejezetben bemutatásra kerülnek a kutatási téma igen kiterjedt szakirodalmának azon részterületei, amelyek ismertetése feltétlenül szükséges munkák céljainak és eredményeinek megértése szempontjából. Az áttekintés alatt bemutatjuk a bioérzékelők alapvető elméleti hátterét, külön hangsúlyt fektetve a plazmonikus elvű, optikai bioérzékelőkre, valamint ismertetjük szerepüket a mikrofluidikai rendszerekkel kombinált alkalmazásokban. Ismertetjük a kutatásaink során alkalmazott PDMS és nanokompozitjainak tulajdonságait, szerepét és kialakítási módjait. Továbbá, a fejezet betekintést nyújt a kiértékelés során alkalmazott analitikai módszerek elvi alapjaiba.

2.1 Bioérzékelők a mikrofluidikában

Az érzékelőket jelátalakításban szerepet játszó kölcsönhatások típusa szerint feloszthatjuk fizikai-, kémiai- és bioérzékelők csoportjára. Általánosságban elmondható a bioérzékelőkről, hogy olyan analitikai eszközök, amelyek detektálni kívánt anyag mintabeli jelenlétét, vagy koncentrációját alakítják át elektromos jellé, és a jelátalakítási kölcsönhatásban biológiailag aktív anyagok (pl. enzimek, sejtek fehérjék, vagy oligonukleotidok) játszanak szerepet. Felépítésükkel kapcsolatban fontos kiemelni, hogy biológiai eredetű, molekuláris kölcsönhatásra képes felismerő struktúrát (bioreceptor réteget) integrálnak egybe egy fizikai-kémiai jelátalakítóval (transzducerrel). [1; 2]

A receptor rész feladata, hogy a minta mérendő anyagával szelektív módon reakcióba lépjen, míg a transzduceré, hogy ennek a reakciónak a hatására elektromos vagy optikai jelet generáljon (2.1. ábra). [2]



2.1. ábra Bioérzékelő sematikus felépítése [3]

A bioérzékelőket a receptorok alapján két fő csoportra oszthatjuk; reaktív bioérzékelőkre és az affinitás típusú bioérzékelőkre. Az affinitás típusú bioérzékelők alapja a természetben előforduló kulcs-zár mechanizmusok pl.: antigén epitóp – antitest paratóp kapcsolódás, vagy a komplementer szimpla szálú DNS (dezoxiribonukleinsav), ú.n. ss-DNS molekulák specifikus összekapcsolódása, a hibridizáció. Ebben az esetben a bioreceptor réteg megköti az általunk keresett molekulákat, amelyek a mintából eljutnak hozzá, de a jelátalakításban a receptor molekulák közvetlenül nem vesznek részt. A reaktív típusú bioérzékelőknél szintén megkötődnek a keresett molekulák, de a kölcsönhatás eredményez valamilyen folyamatot, - pl. a megkötődő molekula átalakulása más molekulákká -, amely kiaknázható a jelátalakítás során. (pl. enzimatis vagy élő sejt alapú bioérzékelők). A bioérzékelőket csoportosíthatjuk aszerint is, hogy a célmolekulák jelenléte (pontosabban valamely hozzá köthető fizikai paraméter, pl. tömeg, töltés stb. megváltozása) közvetlenül szolgáltatja-e a mérhető jelet, vagy szükségünk van úgynevezett jelölőmolekulákra a bekötődés tényének vagy számszerű kiértékelésének meghatározásához. Előbbieket jelölésmentes (label-free) bioérzékelőknek hívjuk, és dolgozatunkban ezzel a típussal foglalkozunk. [1; 2]

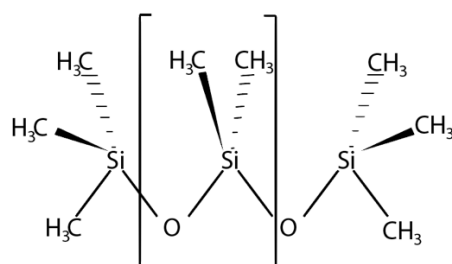
A mikrofluidika egy relative új tudományág, amely vizsgálja a gázok és folyadékok (akár biológiai folyadékok, mint vér, nyál, vizelet) áramlását a jellemzően mikroliteres térfogat tartományútól (10^{-6} liter), a pár száz mikroliteres térfogat tartományúig terjedő csatornarendszerekben, és magába foglalja ezen kis térfogatú minták kezelésének, manipulálásának, mérésének teljes eszköztárát. A térfogat adatokból látszik, hogy a csatorna geometriák jellegzetesen az 1 mm^3 - 10 mm^3 -es nagyságok között mozognak [4].

Mivel a bioérzékelőkkel vizsgálandó minták reálisan elvárható mintavételi térfogata ideálisan a fent leírt nagyságrendbe esne, ezért a közelmúltban egyre nagyobb igény mutatkozott a bioszenzorok mikrofluidikai rendszerekbe való integrálására, hogy az így kapott eszköz egyesítse mindkét tudományos terület előnyeit. Így terjedt el az ú.n. LoC (Lab-On-a-Chip) rendszerek alkalmazása, amelyek akár egy chip felületen képesek olyan analízist végrehajtani, amelyekhez általában egész laborok szükségesek (pl.: DNS szekvenálás, biokémiai elemzések). Segítségükkel csökkenthetővé vált a minta, a reagens és az energia felhasználás, kevesebb hulladék anyag keletkezett, a méretcsökkenés következtében az analízis költsége is szignifikánsan redukálódott, mindez olyan módon, hogy az érzékelők érzékenysége megfelelő maradt. [5]

A mikrofluidikai rendszerek előnye, hogy segítségével pontosan kontrollálható a lamináris folyadékáramlás, a kisebb térfogatok miatt csökken a reakció idő, és egyidőben több reakciók végig vitelére, úgynevezett párhuzamos reakciók kivitelezésére is alkalmazható. Ezen felül, méretük miatt könnyen hordozhatók is, és kialakításuk és működtetésük költséghatékonyabb, mint ugyanez teljes laborok esetében. [6]

2.2 A PDMS és nanokompozitjainak tulajdonságai és kialakítási lehetőségek

A PDMS egy olyan szilikon alapú szerves polimer, ami ismert arról, hogy nem mérgező, nem gyúlékony, kémiaileg közömbös, könnyen alakítható és biokompatibilis. A PDMS-t alkalmazzák az élelmiszeriparban adalékanyagként, különböző samponokban, kenőolajokban is megtalálható, és mint habzágátló szer is ismert. Ennek ellenére az alkalmazása a mikrofluidikában terjedt el leginkább, annak köszönhetően, hogy könnyen alakítható, erős kötéseket hoz létre más PDMS-el, szilikonokkal, és üveggel, ezen felül optikailag transzparens és még az ára is kedvező. [7; 8]



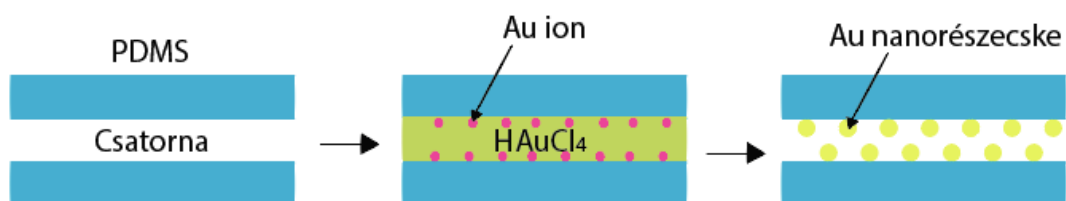
2.2. ábra A PDMS képlete [9]

A PDMS polimer szerkezete a 2.2. ábrán látható, amin a monomer egység bekeretezve van szemléltetve. Mikrofluidikai rendszerek előállításakor a gyakran felmerülő “bondolás” szó alatt a részegységek ragasztóanyag mentes kötését értjük. Hasonlóan a szilícium technológiához, ahol az Si szeleteket másik Si szelethez vagy üveghez bondolják, így a PDMS is bondolható üveg (SiO₂), szilícium, vagy más szilikon felületekhez. A bondolási körülmények biztosításához a térhálósított PDMS felületét borító metil (-CH₃) csoportokat hidroxil (-OH) csoportokra kell cserélnünk, mivel a különböző felületeken egymással érintkező Si-OH csoportok szükségesek a Si-O-Si kovalens kötések kialakításához. A gyakorlatban a PDMS felületének módosítására O₂ plazmás vagy koronakisüléses kezelést használnak – mi a kutatásaink során az utóbbit alkalmaztuk. A folyamatot az irodalomban a PDMS oxidálásának

is nevezik, amelyet jól illusztrál a PDMS felületének hidrofil jellegűvé válása az -OH csoportok kialakulása következtében. [10]

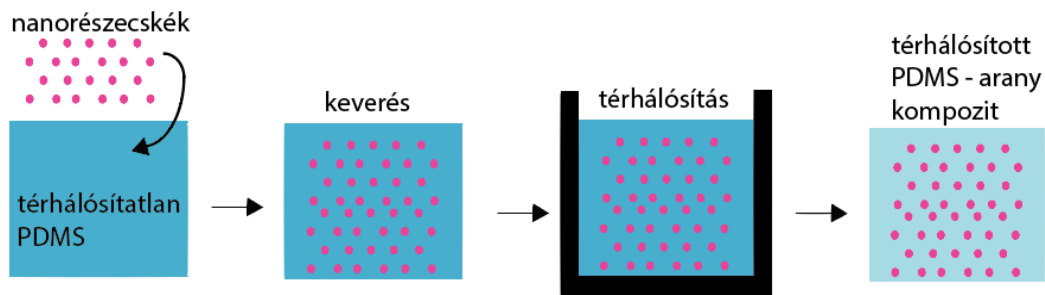
A polimer technológiában már régóta készítenek kompozitokat úgy, hogy a polimert (un. mátrix anyag) valamilyen más anyaggal (un. erősítő anyag) kombinálják és így egy hibrid anyagot hoznak létre. A létrejövő kompozit ötvözheti a két alapanyag előnyös tulajdonságait. A PDMS esetében is beszélhetünk kompozitokról. A mikrofluidikai alkalmazásokhoz a PDMS-t fémes nanorészecskékkel (pl.: arany, ezüst), szén nanocsövekkel, vagy nanomembránokkal módosítják és így alakítanak ki kompozitokat. A kompozit képzés nem csak a PDMS tulajdonságainak javítására szolgál, hanem szabályozható velük a PDMS mechanikai, optikai, elektromos és termikus tulajdonságai, így akár plusz funkciókat érhetnek el magával a kialakított anyagszerkezettel. Ennek értelmében tehát maga a csatornafal is funkcionális elemmé válhat (pl. szenzorrá), a szenzorelemet így nem kell külön beleintegrálni a PDMS-alapú mikrofluidikai rendszerbe. [7; 8]

A különböző nano-adalékok hozzáadása eltérő PDMS kompozit tulajdonságokat eredményez. Az arannyal, ezüsttel képzett kompozitok egyfelől hidrofil jellegűek lesznek, segítségükkel akár sejtrétegek is megtapadhatnak a csatornafalon. Szintén ezüst és arany nanorészecskék fény hatására, a később részletesen bemutatásra kerülő LSPR jelenséget (lokalizált felületi plazmon rezonancia) generálják, tehát kvantált plazmarezgéseket hoznak létre bizonyos hullámhosszon. Amennyiben egy biomolekula beköt a nanorészecske felületére előzetesen rögzített receptor molekulába, ez hullámhossz elnyelési csúcs változást okoz, így mérhetővé válik a biomolekulák mennyisége. Ezekon felül arról is született tanulmány, hogy a benzofenon és ezüst részecskék hozzáadásával a PDMS kompozit antibakteriális tulajdonságokkal rendelkezik [7; 11]. A nanokompozitok előállításához különböző eljárásokat alkalmaznak; mivel ez egy dinamikus fejlődő terület, ezért még nincs kifejezetten elterjedt és megszabott mód a gyártásukhoz [7].



2.3. ábra Nanorészecske szintézis direkt redukcióval

Egyik ilyen nanokompozit előállítási módszer, amikor a nanorészecske (Au vagy Ag) a PDMS csatorna teljes felületén szintetizálódik. Az eljárás során HAuCl_4 vagy AgNO_3 oldatot (úgynevezett prekuzort) injektálunk a mikrocatornába $37\text{ }^\circ\text{C}$ -on 48 órára. A HAuCl_4 -ben az arany AuCl_4 -ionok formájában van jelen. A PDMS katalizátorában szilícium-hidrid (Si-H) csoportok vannak, amik ebből a formából ki tudják redukálni az Au vagy Ag atomokat, amik részecskéket alkotva a felületen kötődnek meg (2.3. ábra). [12]



2.4. ábra Nanokompozit kialakítás PDMS monomerrel való keveréssel

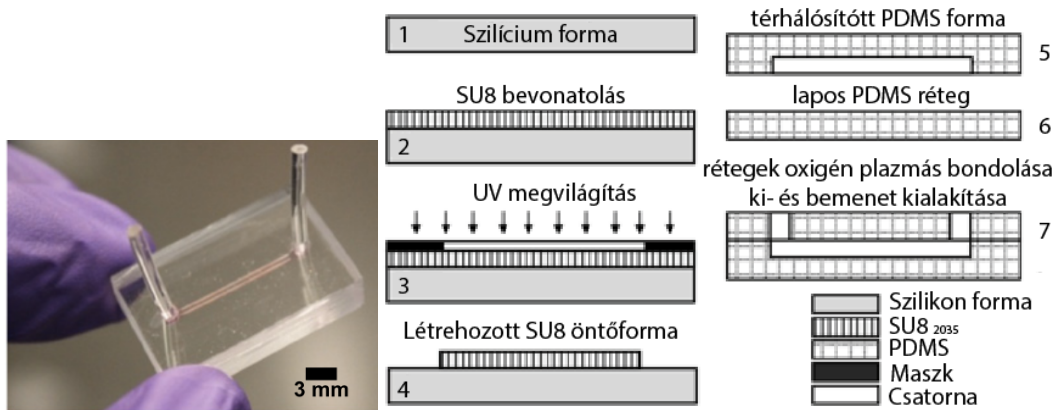
Egy másik gyakran alkalmazott módszer, amikor a PDMS monomerhez hozzákeverve tetszőleges nanorészecskéket (Ag, Au, C) majd a térhálósító szer hozzáadásával létrehozható egy olyan PDMS kompozit, melyben az funkcionális anyag annak minden részében homogén eloszlásban helyezkedik el. Ezzel a módszerrel változtatható a mechanikai, elektromos és termikus tulajdonságai a PDMS-nek pl.: rugalmassági modulus, optikai tulajdonságok, vezetőképesség, mágnesesség (2.4. ábra). [12]

2.3 A PDMS nanokompozitok alkalmazási lehetősége bioszenzorként

Hamid Sad Abadi és társai szarvasmarha növekedési hormonnak (GH) a detektálását tűzték ki célul arany PDMS nanokompozitok segítségével. Az ilyen szenzorok is könnyen integrálhatók LoC rendszerekhez [13].

A nanokompozit kialakításához egy előző fejezetben ismertetett in-situ módszert alkalmazták, amikor az arany részecske egy előre legyártott PDMS alapú mikrofluidikai chip csatornájában szintetizálódik (2.3. ábra). Az érzékelő kialakításának első lépéseként először térhálósították a PDMS-t egy ehhez kialakított öntőformában úgy, hogy a 1:10 térhálósító-PDMS monomer tömegszázalék arányú keveréket körülbelül 12 órán keresztül $60\text{ }^\circ\text{C}$ -on tartották. Ezután készítettek még egy PDMS réteget, amely két kimeneti csatornával rendelkezett. A két réteg között kötések alakítottak ki, azaz bondolták, oxigén plazma kezeléssel (2.5. ábra). Ezután a

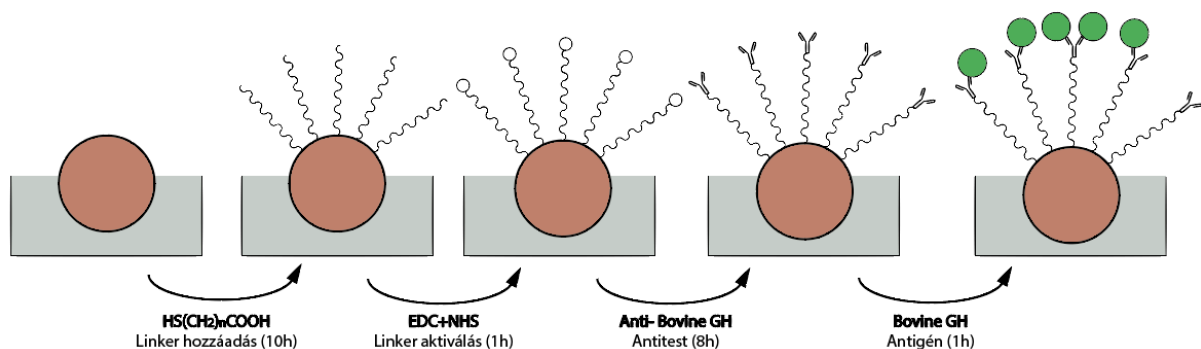
kimeneti nyíláson át HauCl_4 oldatot fecskendeztek be a csatornarendszerbe, majd a kimeneteket lezárták, hogy elkerüljék a párolgást. Ezt a folyadékot különböző ideig különböző hőmérsékleten hagyták a csatornában állni. Ez idő alatt a PDMS térhálósító szerének remanens Si-H csoportjai kiredukálták az arany részecskéket a csatorna felületére [13].



2.5. ábra PDMS-arany nanokompozit érzékelő kialakításának technológiai lépései [13]

A kutatás során kipróbálták, hogy egyes tényezők milyen hatással vannak az arany részecskék beágyazódására. Ezáltal kiderült, hogy nagyobb arany koncentrációjú oldat alkalmazása és a magas hőmérséklet ($50\text{ }^\circ\text{C}$) segíti a beágyazódást, míg a térhálósító szer növelése kifejezetten csökkenti a beágyazódási képességet [13].

Ezután, hogy arany nanorészecske réteg képes legyen megkötni a növekedési hormonokat, különböző szerekkel és oldatokkal (pl. 11-mercaptoundecanoic sav, N-(3-dimethylaminopropyl)-N0-ethylcarbodiimide hydrochloride keverék stb.) kezelik a mikrocsatorna belsejét. [13]

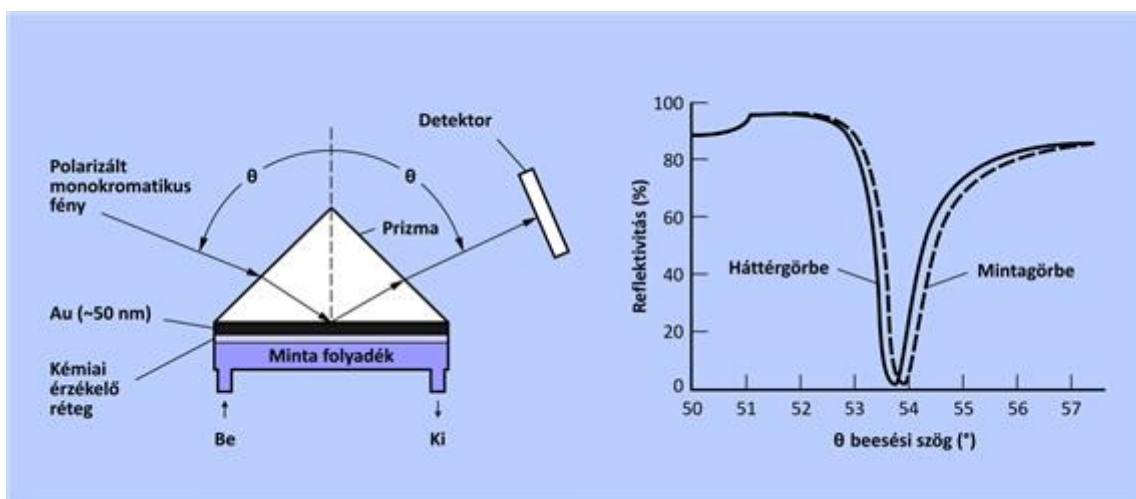


2.6. ábra A PDMS felületbe ágyazott nanorészecskékre rögzített receptorréteg és a növekedési hormon (zöld) megkötésének illusztrációja (EDC – N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride, NHS – N-hydroxysuccinimide)

A hormon megkötése után (2.6. ábra) az LSPR elnyelési csúcs változásból tudták mérni a hormon mennyiségét a folyadékban (jelen esetben tejben). A kutatás alapján látható, hogy az PDMS-arany kompozitok jól alkalmazhatók bioszenzorként. [13]

2.4 Mérési módszerek: Felületi Plazmon Rezonancia (SPR)

A felületi plazmon rezonancia, SPR (Surface Plasmon Resonance) egy rendkívül érzékeny, optikai elvű érzékelési technika. Jelölésmentes módszer, tehát a méréshez nem szükséges a kölcsönható elemek módosítása vagy jelölése, ezáltal a molekulák tulajdonságai nem változnak meg. Az SPR spektroszkópiával valós időben követhetjük nyomon a biomolekulák kötődésének kinetikáját. A klasszikus SPR jelenség tipikusan 40-60 nm vastagságú fém vékonyrétegben jön létre, ezért például klasszikusan üveg felületre felvitt 50 nm-es arany vékonyréteg chipekkel alkalmazzák. [14; 21]



2.7. ábra SPR működési elvének illusztrációja [21]

Számos fém esetében a vezetési és optikai tulajdonságokat a vezetési elektronok határozzák meg. Ezek a fémek bizonyos szempontból a plazmához hasonlatosnak tekinthetők, hiszen azonos számú rögzített pozitív és mozgékony szabad negatív töltéseket, elektronokat tartalmaznak (innen származik a plazmon elnevezés). A fémekben lévő felületi plazmonok (a vezetési elektronok mozgásához kapcsolódó elektronsűrűség hullámok) az elektromágneses sugárzás (fény) hatására gerjeszthetők lesznek. A gerjesztés feltételei között energiára és felülettel párhuzamos irányú impulzusra vonatkozó részek is vannak, ezért a felületi plazmonok gerjesztéséhez a bejövő fénynek hullámhosszra, és beesési szögre vonatkozó megkötéseknek is meg kell felelnie. [15; 21]

A fényt ehhez általában egy prizmán keresztül csatolják be a vékonyrétegbe. A prizma és a fénynyaláb közötti szög változtatásával megtalálható egy olyan keskeny szögtartomány, amikor létrejön a gerjesztés és a bejövő fény kb. 95%-a elnyelődik. Ekkor a gerjesztő hullámhossz tartomány környékén elnyelési sávok alakulnak ki a felületről visszavert fényben. A plazmon rezonancia hullámhossza függ a fém anyagától (az elektronsűrűség függvényétől), réteg vastagságától, a beesési szögtől, és a közeg dielektromos tulajdonságaitól. Az utóbbi (a vékonyréteg felületével érintkező közeg effektív dielektromos tulajdonságai, vagy más megközelítésben optikai törésmutatója) használható arra, hogy a felületre kötődő biomolekulák jelenlétét és mennyiségét detektálhassuk. [14; 16]

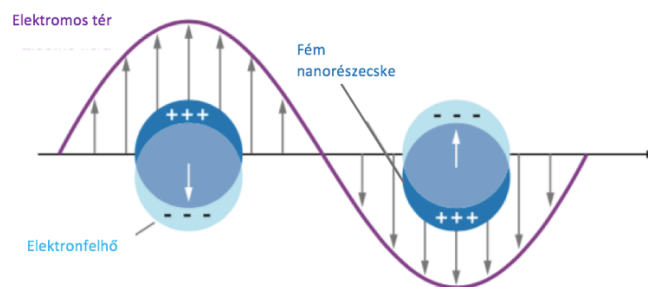
Az első SPR alapú immuno-érzékelő 1983-ban jelent meg a kutatás-fejlesztésben, majd 1990-ben dobta az első ilyen elven működő készüléket a Biacore cég. A kezdeti SPR konstrukciók egy fókuszált lézernyalábot használtak arra, hogy a felület egy pontjából kapjanak információt a vékonyréteggel érintkező közeg törésmutatójának változásáról (2.1. ábra). Ezeket mára leváltotta az úgynevezett SPR képalkotás, vagy SPRi (imaging), ahol a felületet egy defókuszált lézernyalábbal világítják meg és a kb. 1 cm^2 felületről visszaverődő nyaláb egészét használják arra, hogy optikai feldolgozás segítségével a felület összes pontjában (a kamera felbontásától függően) meghatározzák a törésmutató változását. Ez lehetőséget teremt több 100, vagy akár több 1000 terület párhuzamos monitorozására, és így multi-bioérzékelőként történő alkalmazásra (olyan bioérzékelő, amely egynél több célmolekula mennyiségének meghatározására is alkalmas). A modern SPR berendezések mindezt kb. 10^{-6} - 10^{-7} RIU (törésmutató egység) érzékenységgel teszik, ami bőven lehetővé teszi molekuláris monorétegek nyomon követését.

Az SPR egyetlen említésre méltó hátránya pont az érzékenységet garantáló optikai elrendezésből adódik, mégpedig az, hogy a reflexiós elvű, precíz szögmérést igénylő elrendezés nehezen integrálható kisméretű, hordozható Point-of-Care (PoC) diagnosztikai eszközökbe. Az SPR fejlesztése így az utóbbi időszakban „megrekedt” a nagy áteresztőképességű és kiemelkedő érzékenységű, de nagyméretű laborberendezéseknél.

2.5 Mérési módszerek: Lokalizált felületi plazmon rezonancia (LSPR)

LSPR jelenség során a fémes nanorészecskék a látható fény fotonjaival intenzív kölcsönhatásba lépnek, a részecskén belül dipólus jön létre, amik a Coulomb-erők ellen

hatnak, és ennek következtében a vezetési elektronok oszcillálni kezdenek. Amennyiben a beeső fény és a plazmonrezgések frekvenciája közel azonos, akkor rezonancia jön létre. Az így detektálható plazmon rezonancia spektrumok egy abszorpciós és egy szórási tagra bonthatók, amik információval szolgálnak a nanorészecskék összetételéről, méretéről, alakjáról, az őket körülvevő közegről. Az ezüst/arany nanorészecskéket azért alkalmazzák gyakran ilyen szempontból, mert a lokalizált plazmon rezgéseik frekvenciája a látható fény tartományába esik. [15; 17]



2.8. ábra A lokalizált felületi plazmon rezonancia kialakulása fémes nanorészecskéken [15]

A nanorészecskékben kialakuló lokalizált felületi plazmon rezonancia sok tulajdonságában eltér a vékonyrétegekben kialakuló plazmon rezonanciától. Az LSPR kialakulásához a fémes nanorészecske méretének a gerjesztő fény hullámhossz tartománya alá kell esnie. Ebben az esetben a fény gerjesztheti a részecske delokalizált vezetési elektronjait, amelyek így az elektromágneses tér irányának megfelelő rezonanciába kezdenek (2.8. ábra). A gerjesztése feltételei között itt is szerepel a fém anyaga (elektronszerkezete) és geometriai tulajdonságai. Az érzékelés itt is a rezonancia frekvencia hullámhossz változásának monitorozásán alapul, a részecskét körülvevő törésmutató változás függvényében. Az LSPR alapú érzékelők potenciális előnye, hogy jelentősen egyszerűbbek a gerjeszthetőség feltételei: egyszerű, szimmetrikus alakú nanorészecskék esetén nem kell a beesési szögek pontos kontrollálásával bajlódni, így a reflexiós elrendezés helyett egyszerű, transzmissziós mérési elrendezéseket is használhatunk, ami lehetővé teszi a módszer integrálását hordozható készülékekbe is.

Az LSPR érzékenységet és alkalmazhatóságát sokan vizsgálták már, az SPR-el összevetésben. A klasszikus SPR tömbi törésmutató változásra vonatkoztatott érzékenysége jelentősen nagyobb az LSPR-nél elérhető értékeknél [18]. A vékonyréteg SPR evanescens tér lecsengése exponenciális jellegű, míg a nanorészecskék esetén ez az elektromos tér a felület közelében intenzívebb, de sokkal hamarabb lecseng a távolság függvényében (hatodik hatványfüggvény

szerint), más szóval sokkal fókuszáltabb a jelenség. Így, bár a klasszikus SPR (beesési szögrel való érzékenységre visszavezethető) törésmutató érzékenysége nagyobb, a bioérzékelők esetén úgy találták, hogy a molekuláris érzékenységek az SPR és LSPR esetén összevethetők, mert az a térrész, amit kitöltenek a biomolekulák az interakcióban (maximum párszor 10 nm) az beleesik abba a részbe, ahova az LSPR közeltére fókuszálódik. (A molekuláris érzékenység az eszköz legkisebb detektálható molekulamennyiségre vonatkoztatott érzékenysége, amely különbözik a tömbi törésmutató változásra vonatkoztatott érzékenységtől). Így elmondhatjuk, hogy a nanorészecskék lokalizált felületi plazmon rezonanciája lehetőséget nyújt arra, hogy nagyon érzékeny SPR elvet kis, kézi eszközökbe integráljunk, az SPR-hez szükséges reflexiós elvű optika jelentősen egyszerűbb, transzmissziós elvűre cserélésével. [19]

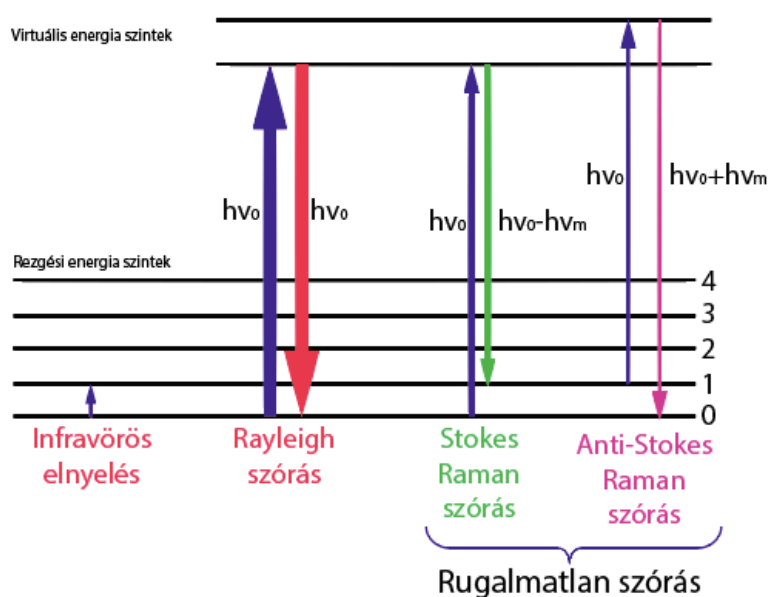
Fontos megemlíteni, hogy az LSPR szenzor érzékenysége a részecskék méretén és alakján kívül az egymáshoz való távolságuktól is nagymértékben függ. Ha kellően közel vannak egymáshoz, akkor a plazmon rezonancia csatolttá válik. Ez a csatolás érzékenység erősítést is jelenthet, ami elsősorban akkor számottevő, mikor a részecskék közötti távolság az átmérőjük fele, vagy annál kisebb. Ebből következően érzékelő létrehozásánál fontos optimalizálandó szempont, hogy a nanorészecskék sűrűn helyezkedjenek el. [20]

2.6 Mérési módszerek: SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy)

A Raman-spektroszkópia molekuláris rezgési spektroszkópiai módszerek csoportjába tartozik. A Raman-spektrum segítségével információt kaphatunk a molekulákban lévő funkciócsoportok típusáról, illetve a közöttük lévő kötésekről. Így ez a spektroszkópiai eljárás elemvizisést is lehetővé tesz. [21]

A vizsgálat során monokromatikus fénnel besugározzuk a mintát. A szórt fény spektrumában legnagyobb intenzitással a Rayleigh-féle rugalmas szórásból eredő vonal jelenik meg, amelynek hullámhossza megegyezik a gerjesztő sugárzás hullámhosszával. Más frekvenciájú vonalak is megjelenhetnek, amelyek a Raman-szóródásból (rugalmatlan fény-szóródás) adódnak amiatt, hogy a beeső fény fotonjai a közeg molekuláinak vibrációs/rezgési energiáját megváltoztatják. A foton energiájának rovasára a molekula nagyobb energiájú rezgési állapotba kerül, vagy kisebb rezgési energiájú állapotba jut, és közben energiát ad át a szórt fotonnak. A spektrumban megjelenő, Rayleigh-frekvenciánál kisebb frekvenciájú sávokat Stokes-sávoknak, a nagyobb frekvenciájúakat pedig anti-Stokes-sávoknak nevezzük

(2.9. ábra). A molekulaszervezetre utaló információt ezek a Stokes- és anti-Stokes-vonalak adják, melyek a központi vonal két oldalán szimmetrikusan helyezkednek el. [21]



2.9. ábra Raman-szórás elve, a különböző átmenetek a molekuláris vibrációs és virtuális energiaállapotok között

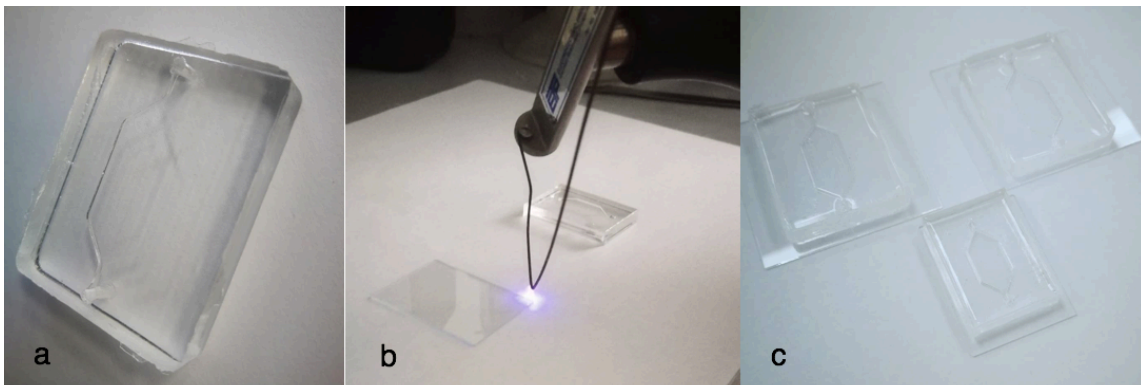
A Raman-spektrométerekben a mintát általában UV (ultraibolya), látható vagy NIR (near-infrared, közeli infravörös) tartományba eső monokromatikus fénnel gerjesztik. A Raman-spektrum alapján meghatározható a határfelületen lévő réteg anyaga, az intenzitás csúcsok karakterizációja esetén annak mennyisége, avagy a réteg vastagsága is. [21]

A Raman-spektroszkópia egyik hátránya, hogy a molekulák Stokes és anti-Stokes irányú Raman-szórásának hatásfoka igen alacsony. A Raman-szórás hatáskeresztmetszetének felerősítésére terjedt el a SERS, azaz felület erősített Raman-spektroszkópia. SERS esetén a nanorészecskék plazmonterében, az intenzív elektromágneses közeltérben jelentősen megnő a Raman-szórás hatásfoka: az erősítési tényező akár 10^{10} - 10^{11} -es is lehet, ami szélsőséges esetekben akár egyedi molekulák detektálását is lehetővé tenné. A részecskék plazmontere és a SERS szórás hatásfoka közötti kapcsolat feltárása egy intenzíven kutatott terület. A korábbi fejezetekben bemutatott, fémes nanorészecskékek tartalmazó nanokompozitok is alkalmasak lehetnek SERS szubsztrátként történő alkalmazásra, ami lehetővé tenné ennek a mérési elvnek is a LoC rendszerekbe történő integrálását analitikai célokra. [22]



3.2. ábra Mikrofluidikai cella öntőformája

Az öntőformákat PDMS öntés előtt – és után – etanollal alaposan megtisztítottuk, hogy mentes legyen az esetleges szennyeződésektől. Ezután a kikevert, vákuumozott, térhálósítatlan PDMS-sel feltöltöttük az őket, majd az 1:10 arányú keveréket 120 °C-on 30 perc alatt, az 1:5 arányú keveréket pedig 80 °C-on 45 perc alatt kemencében térhálósítottuk. Ezt követően a PDMS cellát eltávolítottuk az öntőformából (3.3./a ábra).



3.3. ábra A PDMS mikrofluidikai cellák elkészítésének menete

a, térhálósított PDMS frissen kivéve az öntőformából; **b**, a minták előkészítése a bondoláshoz koronakisüléssel; **c**, az üveglaphoz bondolás után az elkészült feltöltetlen cellák

- Bondolás:

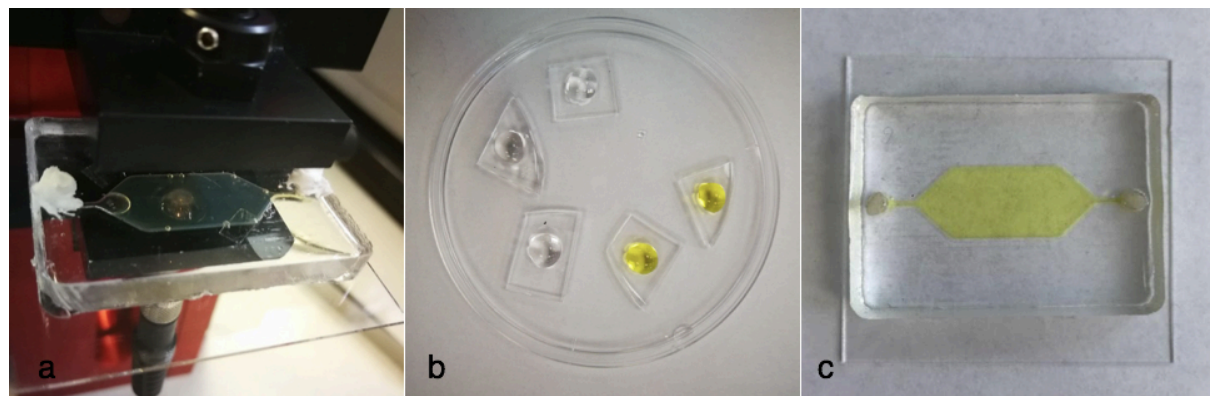
A nyitott mikrofluidikai cellát a mérések során egy vékony üveglaphoz bondoltuk hozzá. A bondolást koronakisüléssel végeztük (3.3./b ábra), miután a cellát és az üveglapot is 96%-os etanolba helyezve 1 percig UH-kádban tisztítottuk. Az összebondolt cellát 30 percre 60 °C-os kemencébe tettük, hogy a kialakított kötést erősítsük. Így megkaptuk a zárt mikrofluidikai cellákat (3.3./c ábra).

- Arany és ezüst nanorészecskék szintézise:

Kísérleteink során két mintatípust használtunk: PDMS rétegből kialakított nanokompozitot és a mikrofluidikai cella belsejében szintetizált nanokompozitot. Amennyiben a nanoréteg PDMS filmrétegen került kialakításra, akkor arany kompozit esetében a PDMS filmre 100 µl

0,5% (m/V) HAuCl_4 oldatot, ezüst kompozit esetében pedig 100 μl 0,2% (m/m) AgNO_3 oldatot cseppentettünk (3.4./b ábra). Ezután az oldatot vagy szobahőmérsékleten különböző ideig (1-5 nap), vagy magas hőmérsékleten (60-80°C-on) kemencében 30 percig a PDMS rétegen rajta hagyva szintetizáltuk a nanokompozit réteget. A szintézis, ahogy az a 3.4./b ábrán is látható, Petri-csészében, hermetikusan lezárt állapotban történt. A zárt térbe a minták mellé vízcseppet is elhelyeztünk, így a kialakuló telített gőzben nem kell a prekursor oldalt párolgásával vagy besűrűsödésével számolni magas hőmérsékleten sem.

Mikrofluidikai cellákban szintetizált nanorészecske réteg készítésekor, ha arany nanoréteget akartunk szintetizálni, akkor 0,2% (m/m) HAuCl_4 oldatot, ha pedig ezüst nanoréteget akartunk szintetizálni, akkor 0,2% (m/m) AgNO_3 oldatot injektáltunk a cellába. Ezután a cellákat légmentesen lezártuk parafilm dugó és akril tömítő segítségével (3.4./a ábra), hogy kibírják az akár ötnapos szintézis teljes időtartamát párolgás nélkül. Az oldatokat különböző ideig (3 nap ezüst esetében, 5 nap arany esetében) a cellában hagytuk, amelyekben a nanoréteget vagy sötétben elzárva, vagy megvilágítás alatt esetenként a spektrofotométerben is szintetizáltunk (3.4./a ábra). A szintézis végén, az oldat eltávolítása és desztillált vízzel való átmosás után a mintákat 10 perc alatt 300 °C-ra melegítettük, és ezen a hőfokon tartottuk 30 percig, hogy megfelelően kiszáradjanak.



3.4. ábra Kialakított minták és rajtuk végzett vizsgálatok

a, real-time monitorozás spektrofotométerrel a szintézis közben; **b**, több napos szintézis PDMS filmen; **c**, az elkészített nanokompozit mikrofluidikai cella

3.2 Érzékenység vizsgálat

A nanokompozit rétegek valós idejű szintézisének megfigyeléséhez, illetve a létrehozott nanokompozit rétegek törésmutató érzékenységének mérésére optikai spektroszkópiát használtunk, egy Aventes Avaspec 2048-4DT spektrofotométer és Aventes Avalight DHS halogén fényforrás segítségével, transzmissziós üzemmódban. Ezüst esetén az elnyelési spektrumot 360 nm és 700 nm, arany esetén 400 nm és 700 nm között monitoroztuk, 10 ms integrálási idővel és 100 spektrum átlagolásával, a tömbi törésmutatóra vonatkoztatott érzékenységet (S) az abszorpciós csúcs törésmutató változás hatására bekövetkező elcsúszásként definiáljuk (1) szerint, ahol λ az elnyelési csúcs helye a különböző törésmutatójú közegekben (n). A mérésekhez az elnyelési csúcs megváltozását levegő ($n=1$), ioncserélt víz ($n=1,33$) és telített NaCl oldat ($n=1,36$) között vizsgáltuk.

$$S = \frac{\Delta\lambda}{\Delta n} \quad (1)$$

3.3 Spektrum kiértékelő szoftver fejlesztése

Mivel a vizsgálataink során nagyszámú transzmissziós és/vagy abszorpciós spektrumot kell feldolgoznunk, ezért felmerült az igény egy olyan szoftver fejlesztésére, amely segít a spektrofotometriával felvett abszorpciós/transzmissziós spektrumok megjelenítésében és elemzésében, elsősorban plazmonikus szerkezetek elnyelési tulajdonságainak kiértékelése és megjelenítése szempontjából. Erre a célra egy MATLAB alapú szoftvert fejlesztettem (Izsold Zsanett), amely GUI (grafikus felhasználói felület) segítségével teszi lehetővé a spektrumok kiértékelését.

Az általam megírt program a spektroszkópiás adatokat Excel fájlból olvassa be, majd Lambert-Beer törvénye alapján abszorpciós/transzmissziós/intenzitás görbék közti átszámítást végzi el (3.5. ábra). Az átszámítás megvalósítására létrehoztam olyan függvényeket, amelyek a megfelelő adatok beolvasása után ábrázolják, illetve kiszámolják a kívánt értékeket.

```

%spektrum1
filename=get(handles.file_spektrum1,'string')
wave=xlsread(filename,'A4:A1199');
trans_raw=xlsread(filename,'B4:B1199');
p_fokszam=str2double(get(handles.fokszam,'String'))

[poly,csucs, felertek_szelesseg]=transmittancia(filename,wave,trans_raw,p_fokszam);

set(handles.csucs_s1,'string',csucs);
set(handles.szelesseg_s1,'string',felertek_szelesseg)

```

3.5. ábra Spektrum1 adatainak beolvasása és transzmittancia függvény alkalmazása

A felhasználónak először be kell állítania, hogy milyen spektrum felvétele történt a mérés során, illetve meg kell adnia az intenzitás göbe mérésénél a referencia spektrumot (3.6. ábra).

3.6. ábra Felvett spektrum kiválasztása

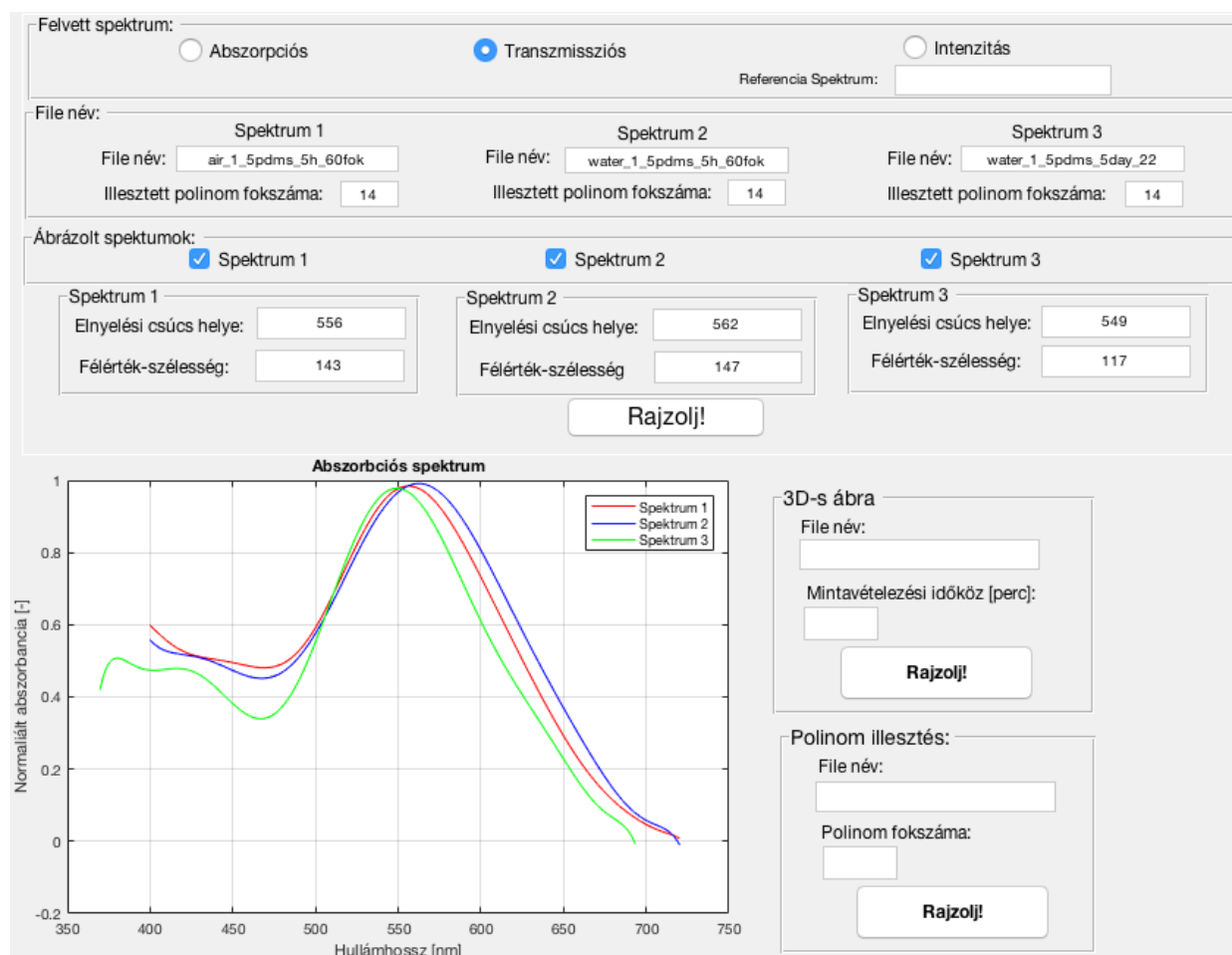
Ezt követően meg kell adni az ábrázolni kívánt spektrumok fájl neveit, illetve ki kell jelölni (3.7. ábra), hogy melyik spektrumokat szeretnék egyszerre megjeleníteni, ugyanis lehetősége van a spektrumok egymásra plottolására is a 2D-s ábrán.

3.7. ábra Fájlnevek és az ábrázolni kívánt spektrumok megadása

A „Rajzolja!” gombra kattintva a program kirajzolja a kívánt spektrumokat és kiszámolja az abszorpció/transzmisszió spektrumok alapján a plazmonikus elnyelési csúcsok helyét (hullámhossz függvényében) és a félérték-szélességét (3.8. ábra).

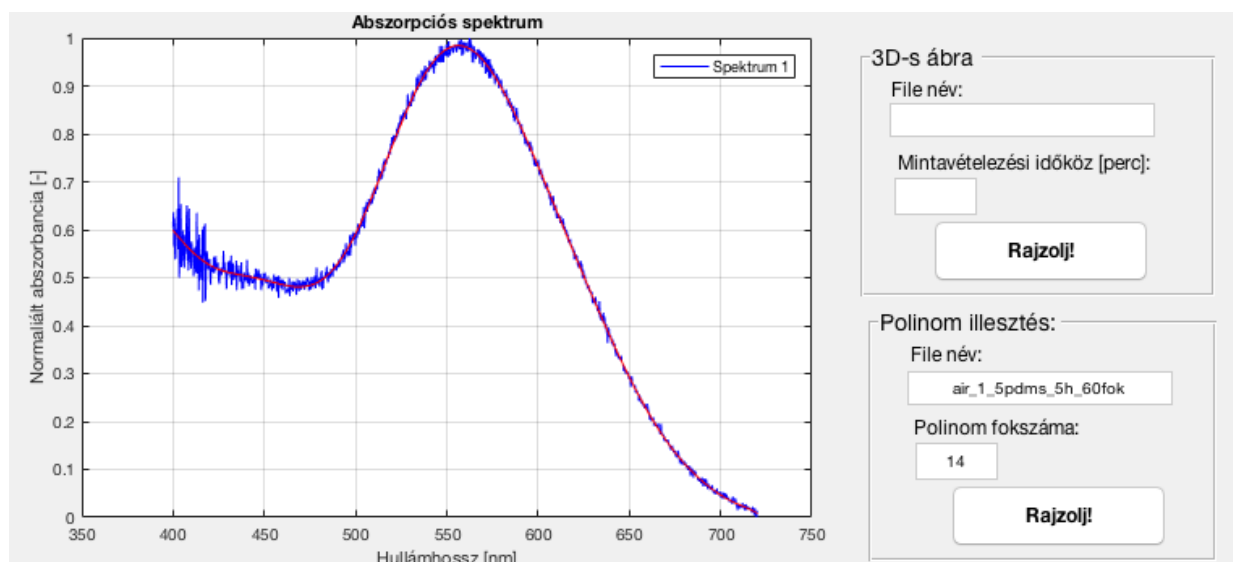
3.8. ábra A három kiértékelt spektrum elnyelési csúcsainak helyei és félérték-szélességei

A 3.9. ábrán a teljes felhasználói felület látszik, ahol a felhasználó transzmisszió spektrumokat mért, majd azt állította be, hogy a három különböző spektrum egyszerre megjelenjen. Láthatjuk, hogy a program sikeresen egymásra plottolta a görbéket, és kiszámította az elnyelési csúcsok helyét és a görbék félérték-szélességeit is.



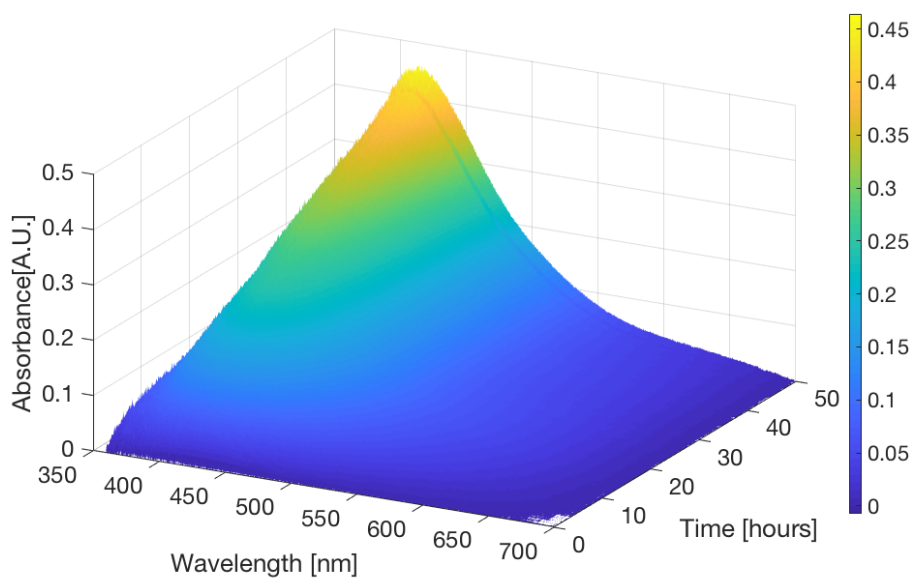
3.9. ábra Teljes felhasználói felület, három spektrumot ábrázolva a kiszámolt adatokkal

A felhasználói felületen a fájlnev megadása alatt az illesztendő polinom fokszámát is meg kell adni (3.10. ábra). A mérési tapasztalatok szerint a 14-ed fokú polinom általában jól illeszkedett a felvett spektrumra, de a program segítségével a felhasználó megbizonyosodhat arról, hogy hányad fokú polinom illeszkedik legjobban a görbékre és azt a fokszámot használja az ábrázolásnál. Erre azért van szükség, hogy a lehető legpontosabb értékeket kapjuk a csúcsok meghatározásánál is, ugyanis érzékenységet a csúcsok eltolódásából tudunk számolni. Fontos kiemelni, hogy a 14-ed fokú polinom illesztésének nincs fizikai jelentősége, azonban a 3.10. ábrán látható módon segít a mért spektrumot terhelő zaj csökkentésében és így a csúcs helyének pontos meghatározásában.



3.10. ábra 14-ed fokú polinom illesztése a spektrumra

Ezen felül a szoftver fontos funkciója, hogy képes több különböző időpontban, azonos mintavételezési időközzel felvett spektrumok 3D-s megjelenítésére, így lehetőség van az elnyelési csúcsok időbeli változásának nyomon követésére, ahogy az a 3.11. ábrán is látható.



3.11. ábra A saját fejlesztésű szoftverrel készített 3D-s ábra egy valós időben monitorozott PDMS-Ag nanokompozit szintéziséről

3.4 Raman-spektroszkópia

A SERS vizsgálatokhoz egy Reinshaw 1000 micro-Raman-spektroszkópot használtunk az MTA-WIGNER Kutatócsoport munkatársainak (Dr. Veres Miklós és Dr. Himics László) segítségével. A két használt gerjesztési hullámhossz 488 nm és 785 nm volt. A gerjesztett terület átmérője kb. 1 μm volt, amelyről a visszaszórt jelet egy 50x-es objektívvel monitoroztuk. A spektrum felvételéhez 10 s-os integrálási időt alkalmaztunk.

A mintáink SERS erősítésének meghatározásához 1mM izopropil alkoholban oldott benzofenon oldatot cseppentettünk a felületre. A benzofenon molekula két karakterisztikus csúcsát – 1590 cm^{-1} és 166 cm^{-1} – használtuk a kiértékelés alapjául. Referenciaként, egy előzetesen megtisztított szilícium szelet felületén vettük fel a benzofenon oldat Raman-spektrumát. A SERS mintákon a szilícium hordozón mért csúcsok intenzitásához képesti növekményt határoztuk meg SERS erősítéskén.

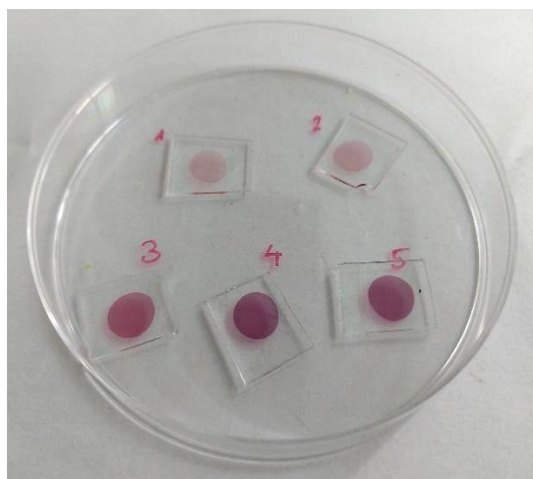
4 Eredmények és értékelésük

4.1 Szintézis PDMS membránon

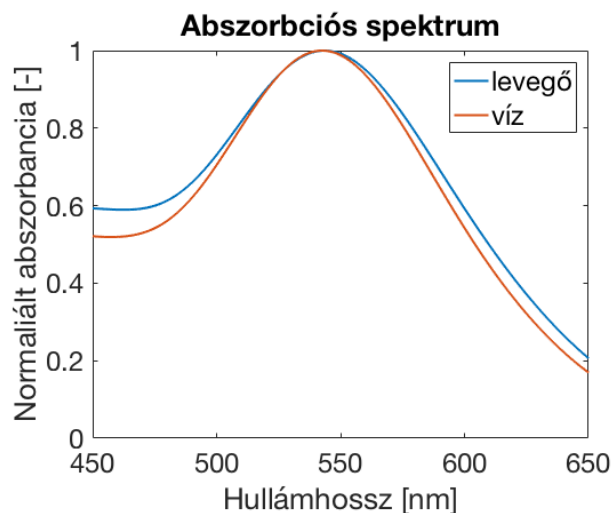
Az első vizsgálataink során az eredeti, nanokompozit szintézis technológiát bevezető irodalmi forrásnak megfelelően [23] egy vékony, 2-3 mm vastag PDMS filmen (membránon) alakítottunk ki a nanokompozit réteget. A fő vizsgált kérdéseink arra irányultak, hogy hogyan befolyásolható a kialakuló rétegben a részecskék mérete és eloszlása a technológiai paraméterek változtatásával, név szerint a PDMS monomer/térhálósítószer aránnyal, a szintézis idejével és hőmérsékletével, valamint a szintézis során alkalmazott fényel, vagy annak hiányával. Vizsgálati eredményeinket ezen technológiai paramétereknek megfelelően rendezve mutatjuk be.

4.1.1 Szintézis 1:10-es PDMS membránon szobahőmérsékleten

Az első mérések során $\eta = 0,1$, azaz 1:10 tömegarányú térhálósító/PDMS monomer és mintánként 100-100 μl 0,5% (m/V) HAuCl_4 oldatot használunk. Egyedüli paraméterként, csak az inkubálási időt változtattuk a minták esetén (4.1. ábra). A méréseket szobahőmérsékleten végeztük.



4.1. ábra Minták 20 óra, 25 óra, 4 nap és 7 nap inkubáció után, ($\eta = 0,1$; szobahőmérséklet)



4.2. ábra Négynapos minta normalizált abszorbancia spektrumai levegőn és vízben ($\eta = 0,1$; szobahőmérséklet)

Az első mintát 20 óráig, a második mintát 25 óráig inkubáltuk. Ennyi idő után már szemmel látható, hogy megjelennek az arany nanorészecskék, ezt a halvány lila elszíneződés mutatja

mindkét esetben (4.1. ábra). Az elnyelési csúcs viszont nem változott levegő és desztillált víz esetén.

A további mintákat 4, illetve 7 napig inkubáltuk. 4 nap után jelentősen sötétebb lila lett a minta, 7 nap után a szín tovább erősödött (4.1. ábra), az érzékenység viszont ezekben az esetekben is kicsi maradt (4.2. ábra).

Összességében elmondható, hogy az 1:10-es PDMS-el szobahőmérsékleten készült minták nem mutattak értékelhető érzékenységet, ami az erőteljes színükkel némileg ellentmondhat. Erre egy lehetséges magyarázat, hogy a szintézis során az AuCl_4 anionok lassan a PDMS belsejébe diffundálnak és a nanorészecskék így a PDMS belsejében is nagy számban képződhetnek. Amennyiben a nanorészecske a PDMS belsejében szintetizálódik, a membránnak kialakul a jellegzetes lila színe, azonban a részecskéket körülvevő közeg nem tud megváltozni, és így nem alkalmas LSPR érzékelős alkalmazásra. Ezért a PDMS belsejében történő szintézis ki kell küszöbölni a technológia során.

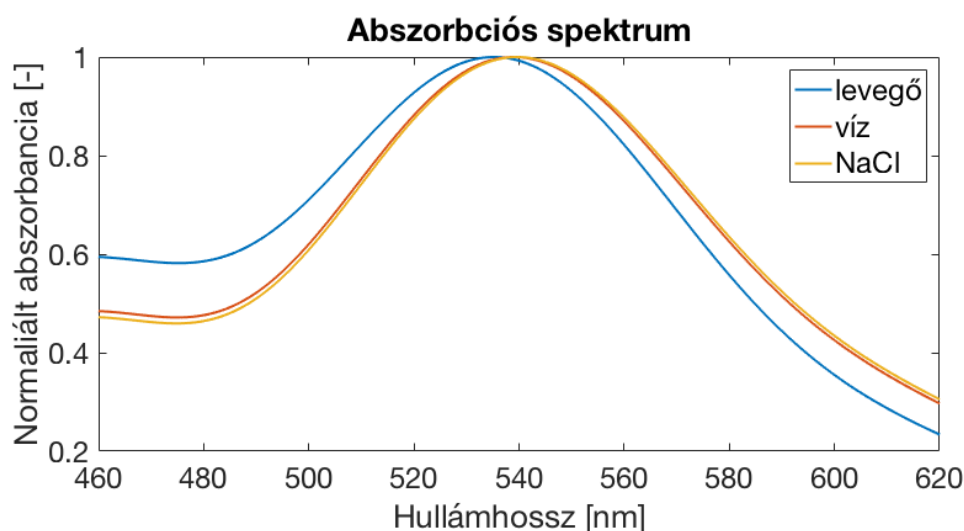
4.1.2 Szintézis 1:5-ös PDMS membránon szobahőmérsékleten

Az előző kísérletek logikai gondolatmenetét követve, ha a PDMS összetételét, a térhálósító/monomer arányt $\eta = 0,1$ -ről $\eta = 0,2$ -re változtatjuk, akkor a felületen több redukcióra alkalmas Si-H csoport helyezkedne el, ami eredményeként a felületen sűrűbben keletkezhetnek nanorészecskék. A redukció második fázisában a kialakult magok folyamatosan növekednek, így feltételezhetjük, hogy a sűrűbb redukciós központ, és a felületen növekvő nanorészecskék potenciálisan akadályozhatják a prekursor PDMS belsejébe való bejutását. Ez pedig növelheti a felületen lévő részecskék arányát, így a szenzor érzékenységét.

Ezen elméleti megfontolás alapján 1:5 arányú ($\eta = 0,2$) PDMS-t használtunk a következő mérések során, továbbra is 100 μl 0,5% (m/V) HAuCl_4 oldat membránra cseppentésével.

Ebben az esetben, a mért minták közül az 5 napig inkubált minta esetén kaptuk a legjobb eredményt. A 4.3. ábrán látható módon kis változás mérhető az elnyelési csúcsokban víz és NaCl esetén a levegőhöz képest ($\Delta\lambda_{\text{víz}} = 4,3$ nm és $\Delta\lambda_{\text{NaCl}} = 4,8$ nm) (4.3. ábra). A csúcsok eltolódásából számolható tömbi törésmutató érzékenységek (kb. 13 nm/RIU levegő/víz

között, és kb. 16 nm/RIU víz és telített NaCl oldat között), sajnos nem közelítik meg a technológiától elvárható kb. 60-70 nm/RIU érzékenységet. [13]



4.3. ábra Az öt napig inkubált minta normalizált abszorbancia spektrumai levegőn, vízben és NaCl oldatban mérve. ($\eta = 0,2$; szobahőmérséklet)

4.1.3 Szintézis PDMS membránon emelt hőmérsékleten

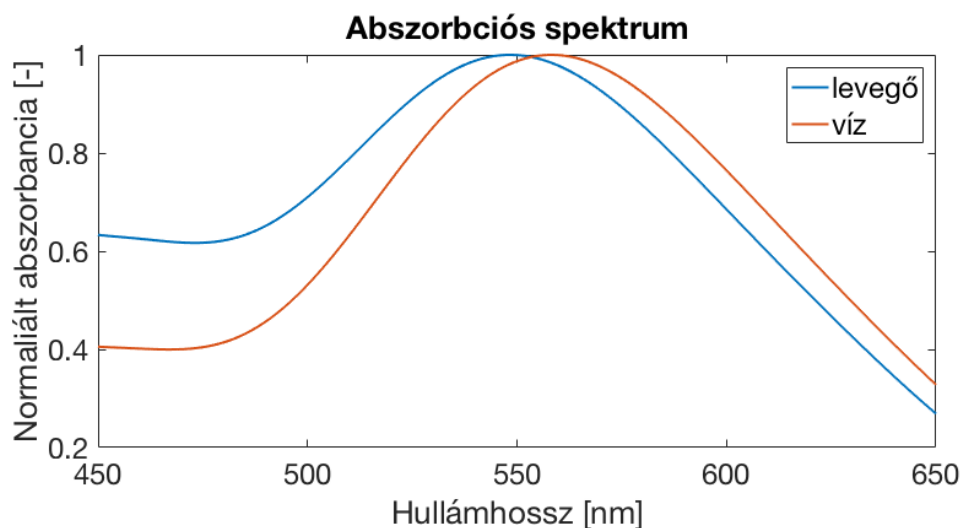
Az eddig kapott eredmények alapján kijelenthető, hogy bár a vizsgált nanorészecske alapú szenzorelem előállítási technológia igen egyszerű, az eddig tesztelt előállítási paraméterekkel készített részecskék érzékenysége nem megfelelő érzékelőként történő alkalmazáshoz.

A szintézis alapvető problémája, hogy az arany tetraklorid oldat belediffundál a PDMS-be, így a keletkező részecskék jelentős része a PDMS belsejében szintetizálódik, ez magyarázza a külső közeg törésmutatójának megváltozására tapasztalt érzéketlenséget.

A probléma megoldására egy potenciális lehetőség, hogy a szintézis sebességének növelésével megpróbáljuk elérni, hogy a felületen keletkezett nanorészecskék megakadályozzák az oldatot a PDMS belsejébe történő diffúzióban. Ezt az előző alfejezetben vizsgált Si-H csoportok sűrűségének növelése mellett az inkubáció hőmérsékletének megemelésével is el lehetne érni. Ezekre az elméletre alapozva, újabb méréseket végeztünk magasabb külső hőmérsékleteken.

65°C-on, illetve 80°C-on végeztünk méréseket 1:10 és 1:5 tömegarányú PDMS-en is, továbbra is 100 μ l 0,5% (m/V) H_{Au}Cl₄ oldat membránra cseppentésével. 80°C fölé nem érdemes a hőmérsékletet emelni, ugyanis már ezen a hőmérsékleten is kisebb buborékok keletkeztek a

HAuCl₄ oldat cseppben, amik akadályozták a nanorészecskék keletkezését. (Megjegyzés: a szintézis a 4.5. ábrán látható Petri-csészében, hermetikusan lezárt állapotban történnek. A zárt térbe a minták mellé vizet is helyezünk, így a kialakuló telített gőzben nem kell prekursor oldat párolgásával, illetve sűrűsödésével számolni nagy hőmérsékleten se. A legjobb érzékenységet a 4 órán át 65°C-on tartott, 1:5-ös PDMS-re cseppentett minta esetén értük el

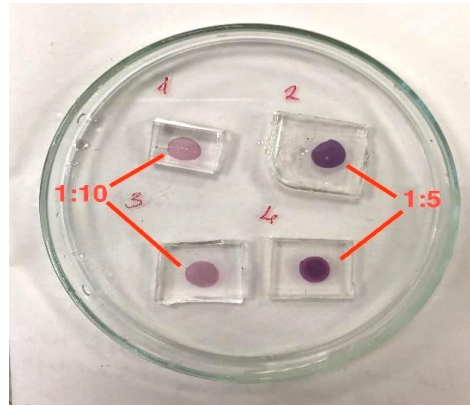


4.4. ábra 65°C-on előállított minta normalizált abszorbancia spektrumai levegőn és vízben mérve. ($\eta = 0,2$; $t=4h$)

4.1.4 PDMS monomer-térhálósító szer arányának (η) hatása

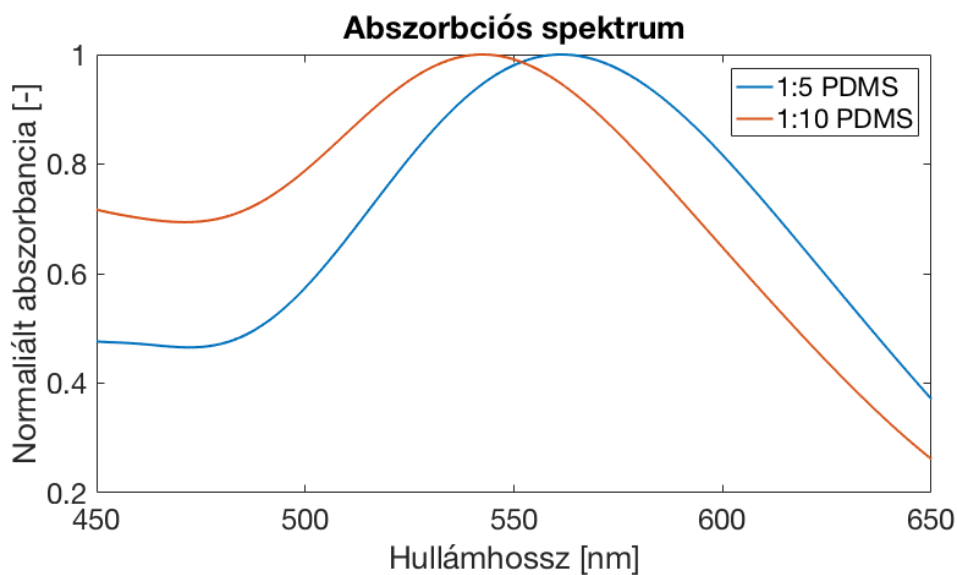
Bár a PDMS membrán alapú kompozitok LSRP érzékenysége nem bizonyult kielégítőnek érzékelős alkalmazáshoz, ahogy később látni fogjuk SERS-re alkalmasak lesznek. A SERS szempontjából pedig az elnyelési csúcs helye (plazmon rezonancia hullámhossza), és ennek kapcsolata a gerjesztő hullámhosszal és vizsgálandó molekulával ami igazán fontos a SERS erősítés szempontjából. A SERS-hez tehát alkalmazástól függően „hangolni kell” a mintákat, így fontos megnéznünk hogyan hatnak a technológiai paraméterek a plazmonikus elnyelési csúcs helyére.

Ha összehasonlítunk két mintát, melyek csak a PDMS monomer-térhálósítószer arányában térnek el egymástól (az egyik esetben 1:10 tömegarányú PDMS-t, a másik esetben 1:5 tömegarányú PDMS használtunk), de mindkét mintát 5 órán át 60°C-os kemencében inkubáltuk, akkor már szabad szemmel is jól látható, hogy 1:10-es PDMS esetén halvány lilává, míg 1:5-ös PDMS esetén jóval sötétebb lilává változott a film (4.5. ábra).



4.5. ábra Minták összehasonlítása 1:10 és 1:5-ös PDMS esetén ($T=60^{\circ}\text{C}$; $t=5\text{h}$)

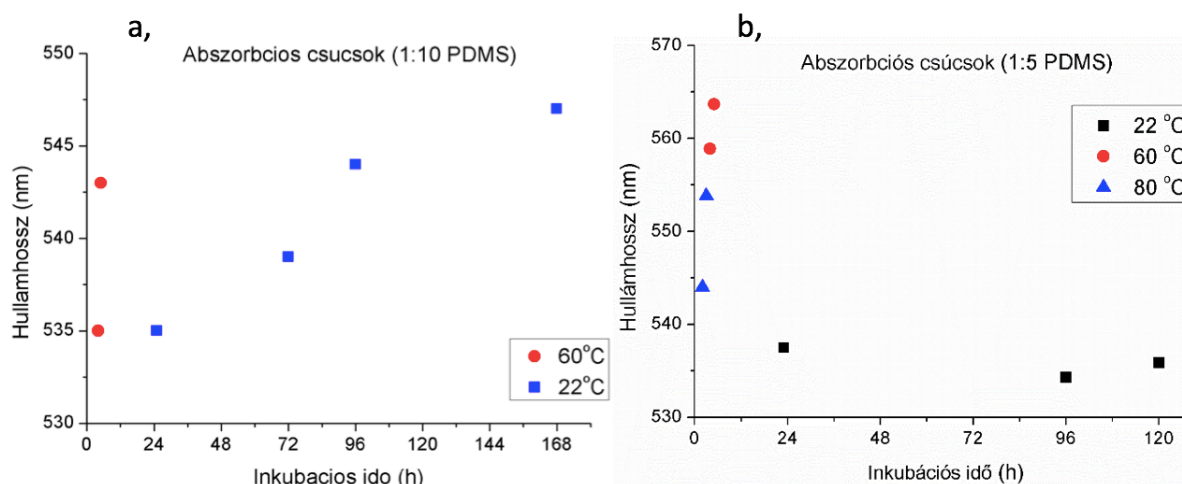
A PDMS monomer-térhálósító arány hatással van a minták abszorpciós csúcsaira (4.6. ábra). Ha növeljük a térhálósító arányát a monomerhez képest, akkor több Si-H csoport képződik, ami miatt több nanorészecske keletkezik. A nanorészecskék száma (és mérete is) a nagyobb hullámhosszok felé tolják az elnyelési csúcsot, ami jól látható a 4.6. ábrán.



4.6. ábra Normalizált abszorbanca spektrumok 1:10 és 1:5-ös PDMS esetén ($T=60^{\circ}\text{C}$; $t=5\text{h}$) levegőn mérve

4.1.5 Inkubációs hőmérséklet hatása

Az inkubációs hőmérséklet növelése megnöveli a redukció sebességét, ami egyrészt nagyobb részecskéket, másrészt sűrűbb réteget eredményezhet (azonos inkubációs idő mellett). Mindkét hatás a nagyobb hullámhosszak felé tolja az elnyelési spektrumot, és sajnos csak az elnyelési spektrum alapján nem állapítható meg egyértelműen, hogy melyik hatás okozta az eltolódást.



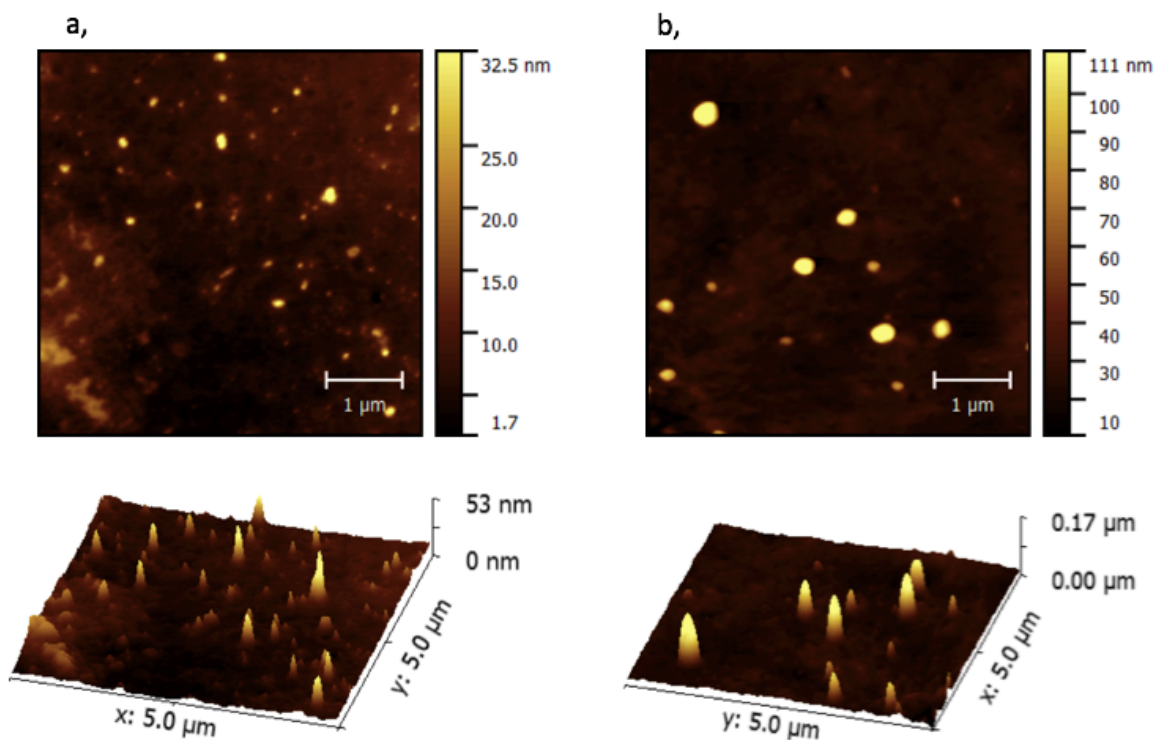
4.7. ábra Abszorpciós csúcsok helyzete az idő függvényében szobahőmérsékleten és emelt hőmérsékleten **a**, 1:10 keverésű PDMS-re **b**, 1:5 keverésű PDMS-re

A mért adatok és az 4.7. ábrán foglaltuk össze a két különböző összetételű PDMS-re. Megállapítható, hogy az inkubációs időt növelve az abszorpciós csúcsok helyzete megváltozott, nagyobb hullámhosszon mérhető, tehát több és/vagy nagyobb nanorészecske képződött. Ugyanakkor az is megállapítható, hogy a szobahőmérsékleten mért abszorpciós csúcsokhoz hasonló értékek 60-80°C-on előállított minták esetén sokkal gyorsabban elérhetők. Míg szobahőmérsékleten 544 nm-en létrejött abszorpciós csúcsú minta előállítása 4 nap inkubációt igényelt, addig 60°C-on 5 óra alatt hasonló eredményt sikerült elérnünk (4.7. ábra) 1:10 PDMS esetén. 1:5 PDMS esetén az emelt hőmérséklet gyorsító hatása még dominánsabb. Már két óra inkubáció után nagyobb hullámhosszaknál található a csúcs, mint 5 nap után. Tehát a PDMS-Au nanokompozit film előállításának folyamata a hőmérséklet növelésével (60-80°C) jelentősen gyorsítható. Ahogy korábban említettük, nem érdemes 80 °C fölé menni a hőmérséklettel, mivel ott buborékképződés miatt a prekursorban romlik a kialakuló nanokompozit homogenitása.

4.1.6 AFM vizsgálatok

Mivel pusztán az abszorpciós spektrumok alapján önmagában nem állapítható meg, hogy az elnyelési csúcs nagyobb hullámhosszak felé tolódása nagyobb részecskék vagy sűrűbb nanorészecske elrendezés következménye, ezért atomerőmikroszkóppal (AFM) vizsgáltuk meg a minta felületét.

Az atomerő-mikroszkóppal készített képek alapján megállapítható, hogy az inkubációs hőmérséklet emelése valóban hatással van a nanorészecskék növekedésére, ugyanis magasabb hőmérséklet jelentősen nagyobb részecskéket eredményezett (4.8./a/b ábra). Sajnos az AFM képeken az is jól látszik, hogy a nanorészecskék sűrűsége a felületen meglehetősen alacsony, ami összevetve az érzékenység mérésekkel megerősíti, hogy a részecskék nagy számban képződnek a PDMS belsejében.

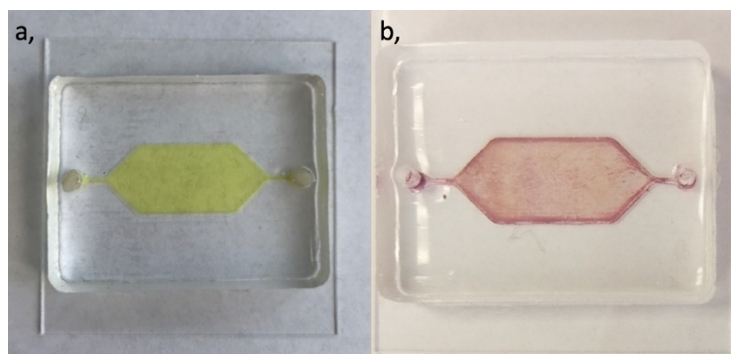


4.8. ábra a, Szobahőmérsékleten készített minta AFM képe ($\eta=0,2$ PDMS; 23h)
b, 65°C -on készített minta AFM képe ($\eta=0,2$ PDMS; 5h)

4.2 Szintézis PDMS-üveg mikrofluidikai csatornában

A további vizsgálatainkat 3D-nyomtatott öntőformákban térhálósított üveghordozóval összebondolt PDMS mikrofluidikai cellákban végeztük (lásd. 3.1 fejezet). Ebben az esetben a nanorészecskék szintézise zárt mikrofluidikai cellában történt, abból a célból, hogy a részecskék csak a cella csatornájának falán alakuljanak ki. A korábbi szintézisek sikertelenségének egyik fő oka az volt, hogy a prekursor a PDMS belsejébe diffundált. Feltételezésünk szerint, ez a folyamat gátolható lenne hermetikusan tökéletesen lezárt rendszerben (csatornában) a PDMS-be diffundáló prekursor helyére ugyanis levegőnek kell kerülnie a csatornában. A módszert bioérzékelőként sikeresen alkalmazó irodalmi forrásban feltehetőleg ezért használták a zárt csatornát a szintézishez. [13]

Az 1:5 és 1:10 térhálósító szer és PDMS monomer tömegarányú mikrofluidikai cellát a 3D-nyomtatott öntőformákkal készítettük a *Kísérleti eszközök és módszerek, 3.1 Mintakészítés lépései* c. fejezetben leírtak szerint, majd vagy egy vékony PDMS réteggel (kezdeti méréseknél, de ettől a módszertől költséghatékonyság és idő takarékoság miatt eltekintettünk), vagy egy vékony üveglappal bondoltunk össze. Ezt követően a cella két portja (bevezetési helye) közül az egyikken keresztül feltöltöttük a csatornát 2%-os (*m/m*) arany-tetraklorid vagy ezüst-nitrát oldattal, majd azokat légmentesen lezártuk (4.9. ábra). Az így elkészült cellán különböző paraméterek változtatása mellett méréseket végeztünk.

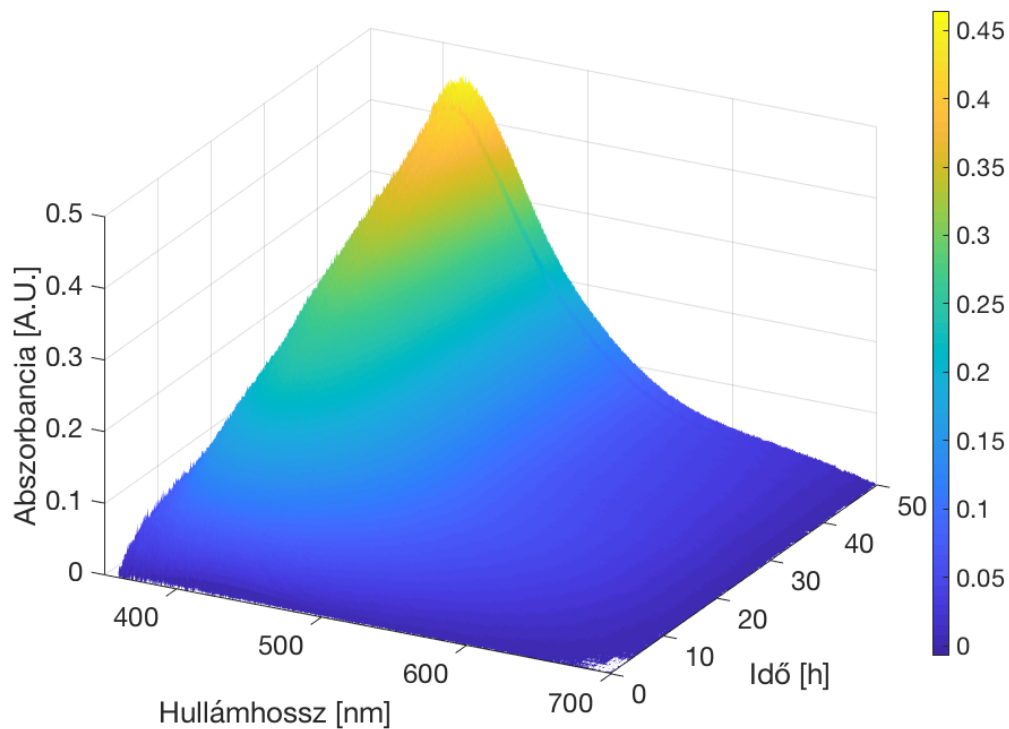


4.9. ábra Saját készítésű arany tetraklorid oldattal feltöltött cella **a**, a feltöltés pillanatában; **b**, 5 nap elteltével, az oldat eltávolítása után

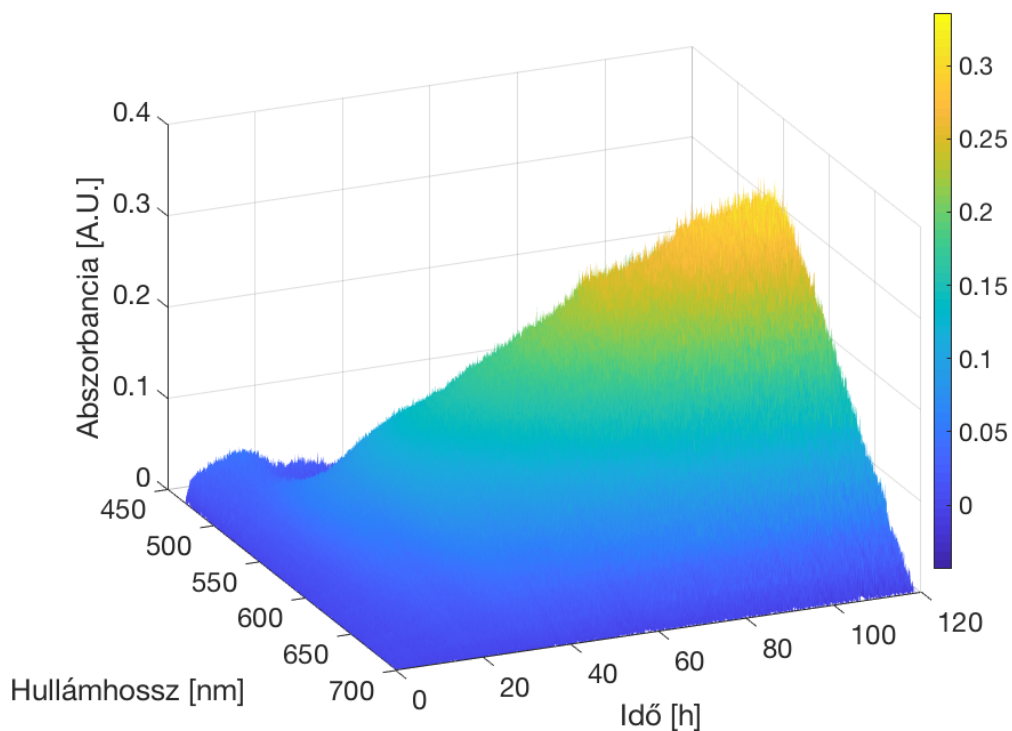
4.2.1 Szintézis folyamatos monitorozása spektroszkópiával

A mikrofluidikai cellában történő szintézis lehetővé teszi, hogy a spektrofotométer segítségével folyamatosan monitorozzuk a nanokompozit kialakulásának folyamatát. A 4.10. és 4.11. ábrák háromnapos (ezüst) és ötnapos (arany) szintézis három dimenzióban ábrázolt eredményei. A csúcsok helyzete és változása így sokkal egyszerűbben megfigyelhető, mint a membrános szintézisnél, ahol csak a szintézist megszakítva volt erre lehetőség.

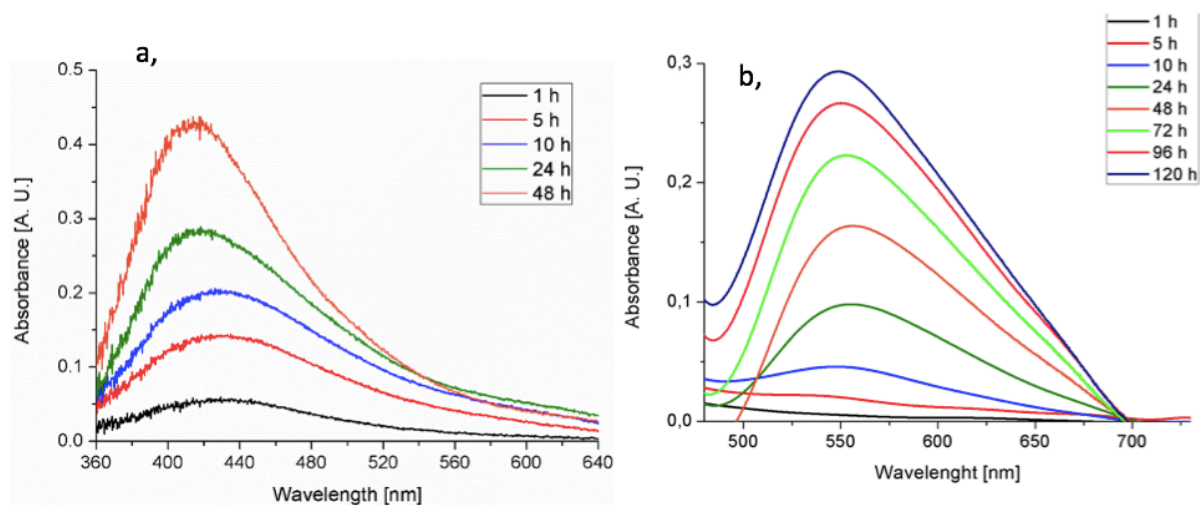
Ezeknél a kísérletnél 10 percenként mértünk intenzitás spektrumokat 400-tól 700 nm-ig terjedő hullámhossz tartományban.



4.10. ábra Háromnapos mérés 3D-s ábrája ezüst oldattal feltöltött cella esetén



4.11. ábra Ötnapos mérés 3D-s ábrája arany oldattal feltöltött cella esetén



4.12. ábra a, háromnapos (ezüst) illetve **b,** ötnapos (arany) nanorészecske szintézises mérés abszorbancia spektrumai diszkrét időpontokban megjelenítve (**a,** eredeti spektrum **b,** spektrum 14-ed fokú polinom illesztés után)

4.2.2 A mikrofluidikai rendszerben szintetizált nanokompozitok érzékenységének vizsgálata

A nanokompozit rétegek mikrofluidikai cellában történő szintetizálását – bár a technológia egyszerűnek tűnik – csak hosszas optimalizálás után sikerült megfelelően kivitelezni. A számos sikertelen kísérlet részletes bemutatása helyett (ezeknek száma bőven túlmutat a kísérleti eredményeink számán) összefoglalnánk azokat a főbb problémákat és megoldási javaslatokat, amivel a szintézis során számolni kell.

- 1) Megtapasztaltuk, hogy az általunk használt anyagok idővel differenciálódnak. Ez alatt az érthető, hogy például egy frissen térhálósított PDMS cella, erősebben köt az üveghez, mint egy hét elteltével kötne. Ugyan ez elmondható a prekursor oldatok alkalmazásáról is. Ennek értelmében fontos, hogy a cella „alapanyagait” mindig frissen készítsük el.
- 2) Megfigyeltük, hogy a 3D nyomtatott öntőformák esetén PDMS öntéshez használt formaleválasztó (egyfajta organoszilán) károsan befolyásolja a nanorészecskék szintézisét. A formaleválasztót vákuum exszikkátorban, gőzöléssel szoktuk egy molekuláris vékonyréteg formájában felvinni az öntőformák felületére. Az a szerepük, hogy megakadályozzák a PDMS öntőformához tapadását, így könnyebben eltávolíthatók a kész struktúrák a polimerizáció után a formából. Tapasztalataink szerint az öntőforma felületére felvitt organoszilán a rajta térhálósított PDMS felületen csökkenti a polimerizáció után rendelkezésre álló szilikon-hidrid (Si-H) csoportok számát, így alkalmazásakor jelentősen kisebb mértékű a szintézis, a nanokompozit szemmel láthatóan halványabb lesz és nincs érzékenysége sem.
- 3) A PDMS térhálósítását kemencében végeztük. Fontos, hogy a cella a kemencében töltött idő alatt tökéletesen, minden pontban térhálósodjon ki, mert ha a felületén ez mégsem történne meg valamilyen okból kifolyólag, akkor egyfelől a térhálósítatlan anyagba sokkal könnyebben ragadnak bele szennyeződések, a felületi minőség jelentősen leromlik és a geometria változás miatt a bondolás sem valósulhat meg tökéletesen. Ezért nagyon fontos, hogy az öntőformának a tisztítása a térhálósítás előtt hiánytalan legyen, hiszen ez a fent említett jelenség legfőbb okozója.
- 4) A csatornarendszert buborékmentesen és szivárgásmentesen kell lezárni a prekuzorral történő feltöltés után, mivel szivárgás esetén – a korábbi fejezetben

kifejtett , zárt csatornától várható diffúzió lassító hatás nem érvényesül. Ebben az esetben az érzékenységünk nem lesz jelentősen jobb a membrános szintézisnél tapasztaltakkal. Ezzel összefüggésben kijelenthető, hogy a bondolás minősége az üveg és PDMS között is kiemelten fontos.

- 5) A lezárás során nem csak műanyag, parafilm dugót alkalmazunk, de a dugót akril tömítővel kívülről fixáljuk. Megfigyeltük, hogy a tömítő szintén reakcióba léphet a prekuzorral. Ebben az esetben, mind arany és mind ezüst esetében a tömítő elfeketedik, valamint a portolási csatornák is jelentősen elszíneződnek. Ez hőkezeléssel ugyan visszaszorítható, de hatása a szintetizált nanorétegre jelenleg ismeretlen. Ennek elkerülése érdekében fontos, hogy a dugó átmérője nagyobb legyen mint a port átmérője.
- 6) A prekuzor intenzíven reagál fémekkel (pl. rozsdamentes acéllal), így fémes mikrofluidikai elemeket nem használhatunk a rendszer összeszereléséhez. A polimer alkatrészeket is gondosan meg kell választani, mivel a PDMS-hez hasonlóan más polimerek is képesek kiredukálni a prekuzorban oldott só formájában jelenlévő nemesfémeket. Ennek következtében gyakran kell cserélni a feltöltéshez alkalmazott eszközöket, pl. műanyag fecskendő, műanyag cső, illetve műanyag portba illeszthető csőátmenet.
- 7) Mivel az öntőformák 3D nyomtatással készülnek, ezért a formák felületi minősége korlátozott. Habár, ez a felületi érdesség hagyományos alkalmazásokhoz megfelelő lenne, a nanorészecskék szintézisekor megfigyelhető volt némi egyenlőtlenség a rétegben, ami érzékenység vizsgálatkor zavart okozott. Ennek kiküszöbölésére a formára teflon réteget ragasztunk fel, hogy a mérőfelület – ami egyben a szintézis helye is – teljesen sima legyen.
- 8) A minták nem megfelelő hőkezelése a PDMS elridegüléséhez vezet. Mikor ez megtörténik, a kiöntött cellából könnyen darabok törnek le, a portolási helyeknél pedig jelentősen sérül, berepedezik az anyag. Ezt a jelenséget főleg 1:5 keverésű PDMS minták esetében tapasztaltuk. Ezért fontos optimalizálni a hőkezelés hosszát és az alkalmazott hőmérséklet nagyságát. Ez a probléma jelenleg is megoldásra szorul.

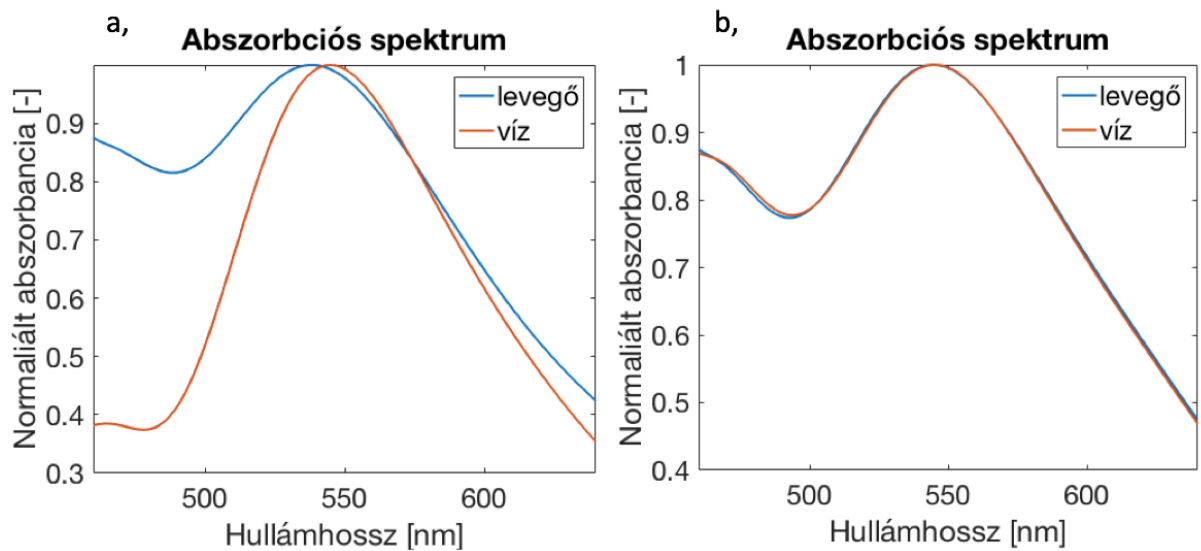
A TDK dolgozat beadásának időpontjában a mikrofluidikai cellában történő szintézis optimalizációja még továbbra is tart. Az eddig elért legjobb esetben tapasztalt érzékenységek a membrános szintézissel vannak egy nagyságrendben, jelentős javulást eddig nem sikerült elérni. Ahogy a 4.13. és 4.14. ábrán látható, ez arany esetében kb. 30 nm/RIU, ezüst esetén pedig kb. 39 nm/RIU.

A két ábra b része egy további megfigyelt problémára hívja fel a figyelmet a nanokompozitokkal kapcsolatban, mégpedig a spektrumok és érzékenységek hosszútávú stabilitásának hiányára. Az ábrák bal oldalán ábrázolt érzékenység közvetlenül a szintézis után lett lemérve, a jobb oldali ábrákon látható spektrumok pedig 1-1 héttel a minták előállítás után. Arany esetén azt tapasztaltuk, hogy egy héttel a szintézis után, bár a spektrum jellege nem változik meg, a szenzor érzékenysége nullára csökken. Ezüst esetén az érzékenység csökkenése mellett megfigyelhető a csúcsok átrendeződése is. A megfigyelt jelenségeknek az alábbi magyarázata lehet:

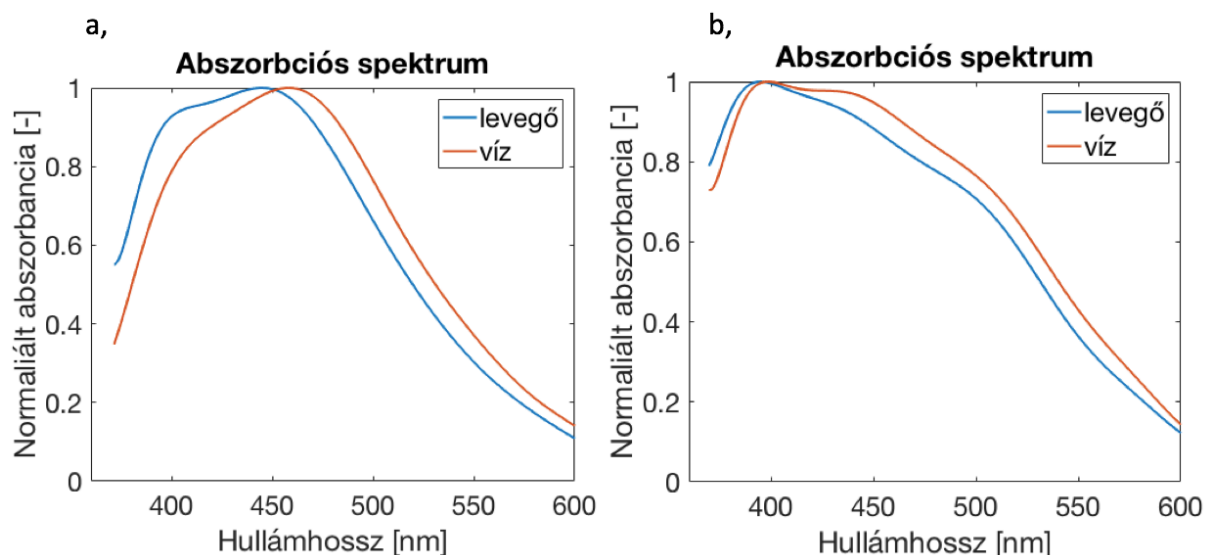
- 1) Az ezüst az aragnál jelentősen reaktívabb nanorészecske formában, így a csúcsok megváltozása összefügghet az ezüst oxidálódásával, illetve a fény ezüstre gyakorolt káros hatásával.
- 2) Felmerülhet, hogy a felületen szintetizálódott nanorészecskék idővel a PDMS belsejébe „süllyednek”, ez potenciálisan megmagyarázhatná a csökkent érzékenységet. A mikrofluidikai csatornában történő szintézist bemutató szakirodalomban [13] említik ezt a lehetőséget, és épp ezért használnak a szintézis végén hőkezelést, hogy „kiemeljék” a felületre a nanorészecskéket. A mi tapasztalatunk alapján a hőkezelés nem hozott döntő javulást, a lecsökkent érzékenységet sem sikerült hőkezeléssel helyreállítani.
- 3) Szintén magyarázat lehet a nanorészecskék felületének elszennyeződése az idő során (bár megjegyezzük, hogy a csatorna belsejében nincsenek túl sok hatásnak kitéve). Fém vékonyrétegeknél AFM-el megfigyelt jelenség, hogy a felületükön atmoszferikus körülmények között kialakul egy levegőben megtalálható szerves szennyeződések, és vízgőzből kondenzálódó pár nm vastagságú réteg. Mivel a PDMS felülete alapvetően hidrofób, azaz víztaszító jellegű (a metil végződés miatt), ez a felületre kondenzálódó réteg csak a fémes nanorészecskékre fog koncentrálni. Egy pár nm-es réteg képes a

nanorészecskék nagymértékben felületre fókuszált közelterét kitölteni, és így az érzékenységet lerontani.

A harmadik lehetőség mellett szól, hogy más technológiával előállított nanokompozitok esetében a szintén tapasztalt érzékenység romlást sikerült részlegesen helyreállítani oxigén plazmás felület tisztítással. Sajnos ezt a módszert a mikrofluidikai celláinkba integrált szenzorainkkal még nem tudtuk tesztelni.



4.13. ábra Au, 1:5-ös PDMS **a**, $\Delta\lambda=10\text{nm}$ **b**, $\Delta\lambda=0\text{nm}$

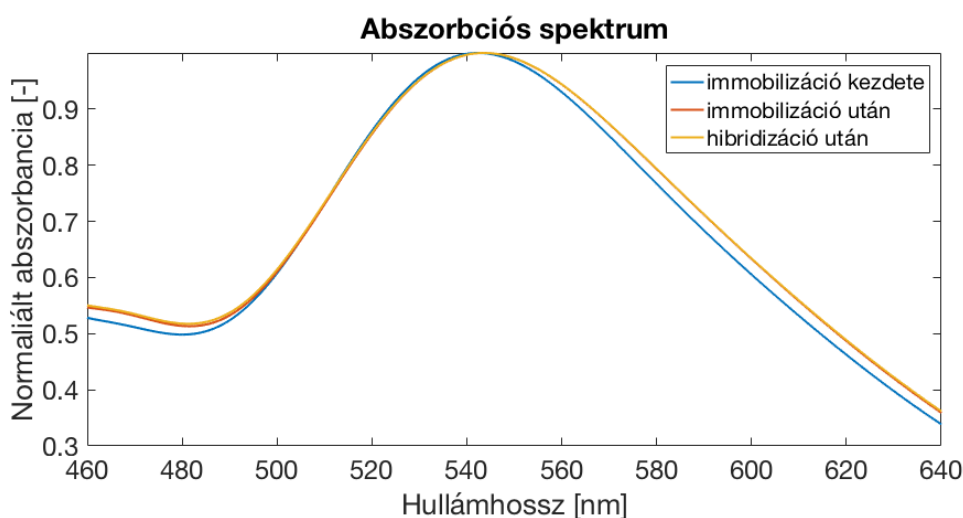


4.14. ábra Ag, 1:5-ös PDMS **a**, $\Delta\lambda=13\text{nm}$ **b**, $\Delta\lambda=4\text{nm}$

4.2.3 Bioérzékelős teszt DNS molekulákkal

Amennyiben a szenzor érzékenysége valóban felületi szennyeződések miatt romlik le, egy potenciális megoldás lehet a frissen szintetizált szenzorfelület azonnali funkcionálizálása a bioérzékeléshez szükséges receptor molekulákkal. Sajnos ennek az ötletnek a kipróbálására frissen szintetizált szenzorelemmel a TDK dolgozat beadásáig nem volt lehetőségünk (egy minta elkészítése a PDMS öntést és szintézist beleszámolva akár 8-9 nap is lehet szobahőmérsékletű szintézis mellett).

Kipróbáltuk azonban, hogy használt, a 4.13. ábrán bemutatott, leromlott érzékenyséű Au nanokompozitot tartalmazó minta esetében tudunk-e DNS molekulákat kötni a nanorészecskék felületére. Az alkántiol (SH) végződéssel ellátott DNS molekulák Au-S kovalens kötéssel kötnek a nanorészecskék felületére. A kovalens kötéstől pedig azt várhatjuk, hogy a nála nagyságrenddel gyengébb, másodlagos kötéssel felületre ragadt szennyeződések eltávolítsák (elvéve tőlük a kötőhelyeket). A kísérlethez használt DNS receptor molekula 20 bázispár hosszú volt, a vele komplementer target-DNS molekula 50 bázispár hosszú. A molekulákat PBS-ben (phosphate buffered saline, foszfát pufferes sóoldat) feloldva, 1 μM -os koncentrációban injektáltuk a csatornába. A DNS immobilizáció 3 napig tartott, a célmolekula bekötődését 3 óráig vizsgáltuk. Az 4.15. ábrán látható módon a receptor DNS molekulák hatására a spektrum enyhén jobbra tolódott, ami azt jelzi, hogy történt bekötődés a nanorészecskék felületére. Sajnos a célmolekulák hozzáadása a rendszerhez nem adott további jelet a vizsgált pár órás időtartam alatt.



4.15. ábra A 4.13. ábrán bemutatott Au nanokompozit mintán mért abszorpciós görbék receptor DNS immobilizáció és hibridizáció hatására

4.2.4 Az LSPR kísérletek összefoglalása

Ahogy az előző fejezetekben részletesen bemutattuk az Au/Ag-PDMS nanokompozit szintézisének technológiáját sok szempontból tudtuk javítani, de még vannak megoldandó problémák. A jelenleg általunk elért 30-40 nm/RIU érzékenység elmarad a technológiától várt kb. 60-70 nm/RIU publikált érzékenységtől, de az érzékenység csökkenésének okait folyamatosan tárjuk fel és küszöböljük ki.

A jövőben megkíséreljük a bioreceptor molekulákat közvetlenül a szintézis után a nanorészecskék felületére kötni, valamint a DNS bekötődését AFM-el validálni.

A csökkent érzékenység helyreállítására tesztelni fogjuk a csatornán belüli plazmatisztítás lehetőségét.

Felmerülhetett továbbá az olvasóban, hogy a membrános eljárásnál tapasztalt előnyeit az emelt hőmérsékletes szintetizálásnak miért nem alkalmaztuk a csatornák esetében. Ennek oka, hogy a zárt csatornában emelt hőmérséklet mellett képződő buborékok elrontják a cella homogenitását. Erre a problémára a jövőben tesztelni fogunk egy strukturális megoldást, amivel lehetővé válhat az emelt hőmérsékletes szintézis a csatornában, ami jelentősen gyorsabb vizsgálatokat eredményezne.

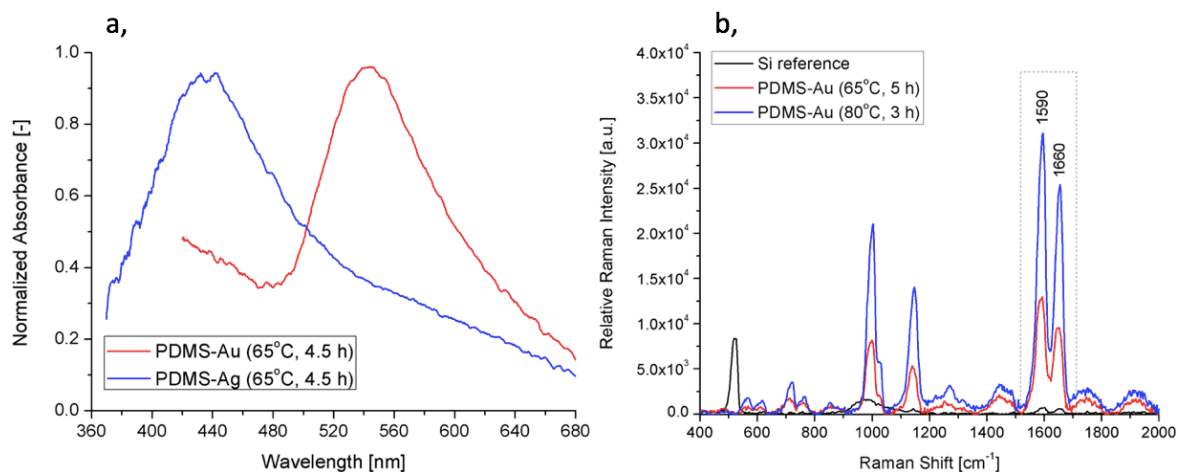
4.3 Felületerősített Raman-spektroszkópia (SERS)

A membrános eljárással készült minták közül egy párat az MTA-WIGNER kutatócsoport munkatársai segítségével leteszteltük SERS-es alkalmazások szempontjából is.

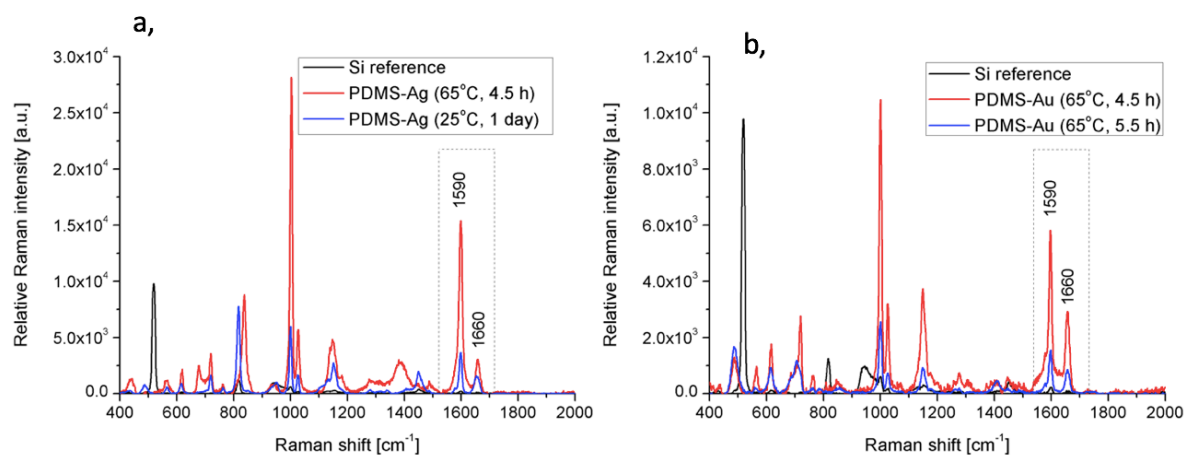
Bár a minél jobb SERS erősítés feltételei sok szempontból megegyezhetnek az LSPR-el, mivel az erősítést a nanorészecskék közelterébe (plazmonterébe) kerülő molekulák megsokszorozódó Raman-szórása adja, a minták LSPR érzékenysége nem determinálja egyértelműen a SERS erősítésüket. SERS szempontjából előnyök az úgynevezett forró pontok („hot spotok”), amelyek a részecskék között kialakuló, csatolt plazmonrezgésekből származó intenzív elektromágneses közelterek, így ebből a szempontból a sűrű részecske elrendezés mindenképpen pozitív lehet. Számít továbbá a plazmonikus elnyelési hullámhossz és a Raman-szórást gerjesztő lézer hullámhosszának kapcsolata is, illetve ezek viszonya a vizsgált molekula karakterisztikus elnyelési csúcsaihoz. Ezek együttesen határozzák meg a SERS hatékonyságát. [22]

Fontos azt is megjegyezni, hogy amíg a részecskék részleges eltemetése az LSPR érzékenységét jelentősen rontja, a SERS szempontjából csak az számít, hogy a vizsgált molekula a nanorészecskék plazmonterében legyen. Ebből következik tehát, hogy a részlegesen eltemetett nanorészecskék rossz LSPR érzékenységgel még lehetnek jó SERS felületek.

4.16. és 4.17. ábrákon láthatóak a mintáinkon mért SERS eredmények, olyan PDMS-Au/Ag kompozitok esetén is, melyek magas (65°C és 80°C) inkubációs hőmérsékleten lettek előállítva. A nanokompozit mintákon mindkét gerjesztési hullámhosszon (488 nm és 785 nm) jelentős SERS erősítés volt mérhető. Az 1 mM-os, izopropil alkoholban oldott benzofenon tesztoldat szilícium lapon mért Raman-szóráshoz képest a mintáinkon 30-60-szor nagyobb intenzitású jelek mérhetők ugyanazon kísérleti körülmények között (a tesztoldat vékony folyadékfilmje a minták felett).



4.16. ábra a, 2 PDMS-Au/Ag kompozit normalizált abszorbanca spektruma
b, referencia és a 2 minta SERS spektruma benzophenon-izopropil alkohol esetén 488nm-en



4.17. ábra referencia és a, 2 PDMS-Ag **b,** 2 PDMS-Au kompozit minta SERS spektruma
benzophenon-izopropil alkohol esetén 785nm-en mérve

Az eredmények alapján kijelenthető, hogy az Au/Ag-PDMS nanokompozitok alkalmazhatóak SERS felületként. Fontos kiemelni, hogy az említett 30-60-szoros erősítés úgynevezett analitikai erősítés, amely azonos körülmények (térfogat, koncentráció) mért minta erősítését fejezi ki szemben a molekuláris erősítéssel, ami közvetlenül a molekulák Raman-szórás hatáskeresztmetszet növekedését adja meg, és ahogy már említettük 10^{10} - 10^{11} is lehet. Az erősítések definíciója az alábbi forrásban olvasható [24; 3].

Mivel a molekuláris erősítés közvetlenül nem mérhető könnyen, a mintáink erősítését kereskedelmi forgalomban kapható SERS felületekkel is összevetettük, azonos körülmények között. Ehhez a Mesophotonics Klarite 302 és a SERSITIVE cég S07.070, ill. S07.069 hordozóit használtuk. Bár az eredmények még kiértékelés és publikációra történő előkészítés alatt vannak, elmondható, hogy a bolti SERS felületek a vártnál rosszabbul teljesítettek: a

Klarite 302 mindössze 3-szeres, a SERSITIVE mintái 4-11-szeres SERS erősítést adtak, azonos körülmények között.

A mintáinkban rejlő potenciál azért is említést érdemel, mert a fent említett bolti hordozók ára igen magas, egy 10 db-os 5 mm x 4 mm-es aktív felülettel rendelkező chipkészlet ára 340 - 390 Euró, aminél a mi mintáink előállításai költsége nagyságrendekkel olcsóbb. [25]

5 Összefoglalás

TDK munkánk során Au/Ag-PDMS nanokompozitok létrehozásának technológiai optimalizálásával és LSPR alapú érzékelőként, illetve SERS aktív felületként történő alkalmazásával foglalkoztunk.

PDMS membránokon kialakított nanokompozitok előállításával kapcsolatban megállapítottuk, hogy a térhálósító/monomer arány 1:10-ről 1:5-re növelésével a felületen szintetizálódó részecskék száma növelhető szemben a PDMS belsejében kialakuló nanorészecskékkel. Emiatt az érzékelőkkel jobb érzékenységet érhetünk el. Megállapítottuk, hogy magasabb (60-80°C-os) hőmérsékleten történő szintézissel a minták létrehozásához szükséges idő jelentősen lecsökkenthető, és az előállított nanokompozitok érzékenysége is növelhető.

Kidolgoztunk és optimalizáltunk egy gyártástechnológiát, amivel 3D tervezett és nyomtatott öntőforma segítségével kialakított PDMS mikrofluidikai csatorna belsejében hozhatjuk létre a nanokompozitot, amely így integrált szenzorelemként funkcionálhat.

A mérései eredmények kiértékelésére és kézenfekvő ábrázolására egy saját fejlesztésű, grafikus felhasználói felülettel rendelkező MATLAB program készült. A mikrofluidikai csatornában történő szintézissel valós időben tettük megfigyelhetővé a szintézis folyamatát, amit eddig korábban még senki nem demonstrált ilyen formában. A valós idejű megfigyeléssel a plazmonikus csúcs kialakulása a szintézis paramétereinek függvényében könnyedén monitorozható, lehetővé téve adott elnyelési csúccsal rendelkező minták létrehozását, pl. SERS alkalmazásokhoz.

A létrehozott minták LSPR törésmutatóra vonatkoztatott érzékenysége 30 nm/RIU-val sajnos alatta marad a technológiától vártak, de a felmerült és tárgyalt problémák kiküszöbölésére további optimalizációs lépéseket tervezünk.

Demonstráltuk, hogy a nanokompozit mintáink sikeresen alkalmazhatók SERS aktív felületként. Az előzetes méréseink alapján a különböző hullámhosszokon tapasztalt 30-60-szoros analitikai erősítés jobbnak bizonyult kereskedelmi forgalomban beszerezhető, jelentősen drágább SERS felületeknél is. Az eredmények szisztematikus reprodukálása a következő lépés ezen a téren.

Fontosnak tarjuk kiemelni, hogy eddigi munkánkból konzulensünkkel közösen két konferencia cikkünk született, továbbá a SERS-es eredmények jelenleg folyóirat cikkben történő közlésre vannak előkészítve.

5.1 Publikációs lista

1. Bonyar A, Izsold Z, Himics L, Veres M, Csarnovics I: Investigation of PDMS-gold nanoparticle composite films for plasmonic sensors In: 2017 IEEE 23rd International Symposium for Design and Technology in Electronic Packaging (SIITME), IEEE, **2017**. pp. 25-28.
2. Attila Bonyár, Zsanett Izsold, Alexandra Borók, István Csarnovics, László Himics, Miklós Veres and Gábor Harsányi, PDMS-Au/Ag nanocomposite films as highly sensitive SERS substrates, *Proceedings* **2018**, (megjelenés alatt)

5.2 Feladatmegosztás

Kutatáshoz kapcsolódó munkáink tartalmaztak közös és egyéni részeket. A kutatás során vizsgált PDMS-arany nanokompozit minták készítésével, azoknak vizsgálatával és az eredmények kiértékelésével, illetve a spektrum kiértékelő MATLAB alapú szoftver fejlesztésével Izsold Zsanett foglalkozott. A PDMS-ezüst nanokompozit minták készítésén, vizsgálatán és az eredmények kiértékelésén, valamint az öntőforma CAD modellezésén, illetve 3D nyomtatásán Borók Alexandra dolgozott. Ezen túlmenően a PDMS cellák készítését szinte mindig közösen végeztük, illetve a mérések tervezését, kivitelezését is együtt hajtottuk végre, valamint munkálataink folyamán végig segítettük egymás kutatásait.

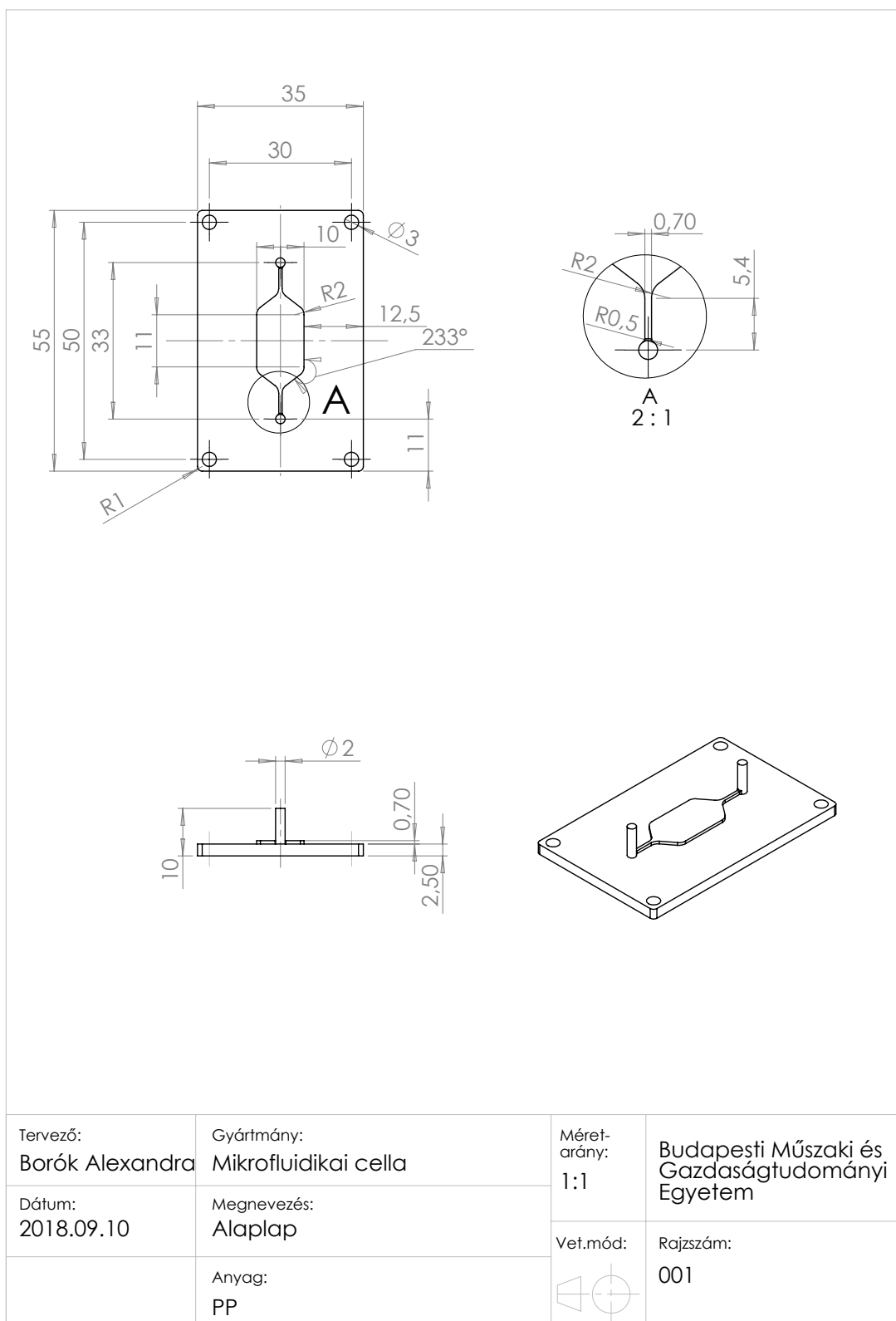
6 Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretnénk megköszönni témavezetőnknek, **Dr. Bonyár Attilának** a munkánkhoz szükséges körülmények megteremtését, szakami tanácsait, sok segítségét és iránymutatását, amivel ellátott munkánk során.

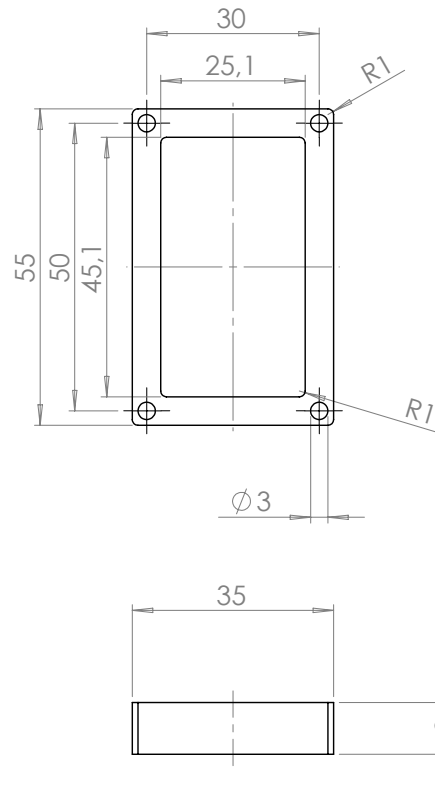
Szeretnénk köszönetet mondani az MTA-WIGNER Kutatócsoport munkatársainak, *Dr. Veres Miklós* és *Dr. Himics Lászlónak*, hogy lehetőséget teremtettek a Raman-spektroszkóp használatára.


Köszönet továbbá az Elektronikai Technológia Tanszék minden munkatársának, aki segítségével vagy tanácsával hozzájárult munkánkhoz, elsősorban *Dr. Sántha Hunornak*, az Érzékelők és Mikrofluidikai Laboratórium vezetőjének.

7 Mellékletek



1.Melléklet: A mikrofluidikai cella öntőformájának alaplapjáról készült alkatrész rajz



Tervező: Borók Alexandra	Gyártmány: Mikrofluidikai cella	Méret- arány: 1:1	Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Dátum: 2018.09.10	Megnevezés: Oldal	Vet.mód:	
	Anyag: PP		Rajzsám: 002

2.Melléklet: A mikrofluidikai cella öntőformájának oldaláról készült alkatrész rajz

8 Referencia jegyzék

- [1] Dr. Sántha Hunor – Változtatható felépítésű, elektrokémiai bioérzékelőeszközök konstrukciója és alkalmazásuk, Ph.D. doktori értekezés - 2009
- [2] Harsányi G., Érzékelők az orvosi biológiában, Műegyetem kiadó, 1998
- [3] A. Bonyár, Enhancing plasmonic biosensors with nanotechnology, 38th International Spring Seminar on Electronics Technology, (ISSE), 2015, pp.418-424
- [4] Fűrjes Péter — Mikrofluidikai rendszerek és orvosdiagnosztikai alkalmazásuk http://www.biomems.hu/sites/www.biomems.hu/files/BME_ETT_BIOMEMS_mikrofluidika_2017.pdf
- [5] George Luka, Ali Ahmadi, Homayoun Najjaran, Evangelyn Alocilja, Maria DeRosa, Kirsten Wolthers, Ahmed Malki, Hassan Aziz, Asmaa Althani, Mina Hoorfar - Microfluidics Integrated Biosensors: A Leading Technology towards Lab-on-a-Chip and Sensing Applications, Received: 22 May 2015; Accepted: 2 November 2015; Published: 1 December 2015, *Sensors* 2015, 15, 30011–30031
- [6] Yuksel Temiz, Robert D. Lovchik, Govind V. Kaigala, Emmanuel Delamarche — Lab-on-a-chip devices: How to close and plug the lab? — IBM Research GmbH, Säumerstrasse 4, 8803 Rüschlikon, Switzerland — 2016. október
- [7] Materials for Microfluidic Chip Fabrication — Wu et Al. 2013.
- [8] Advances in Microfluidic Materials, Functions, Integration, and Applications — Nge et Al. 2013.
- [9] <http://www.elveflow.com/microfluidic-tutorials/microfluidic-reviews-and-tutorials/the-poly-di-methylsiloxane-pdms-and-microfluidics/>
- [10] J C McDonald and G M Whitesides, "Poly(dimethylsiloxane) as a material for fabricating microfluidics devices." *Acc. Chem. Res.*, vol 35, pp 491-9, 2002; Kathryn Haubert, Tracy Drierb, David Beebe: PDMS bonding by means of a portable, low-cost corona system: Lab on a Chip (2006), 1548–1549.]
- [11] Björn Samel, Patrick Griss, and Göran Stemme — A Thermally Responsive PDMS Composite and Its Microfluidic Applications — Fellow, IEEE — *Journal of microelectromechanical systems*, vol. 16 — 2007 február
- [12] Lee-Woon Jang, Joohyung Lee, Md Enayet Razu, Erik C. Jensen, and Jungkyu Kim — Fabrication of PDMS Nanocomposite Materials and Nanostructures for Biomedical Nanosystems — *IEEE TRANSACTIONS ON NANOBIOSCIENCE*, VOL. 14, NO. 8, DECEMBER 2015 841
- [13] Hamid Sad Abadia, Simona Badilescua, Muthukumaran Packirisamya — Integration of gold nanoparticles in PDMS microfluidics for lab-on-a-chip plasmonic biosensing of growth hormones — *Biosensors and Bioelectronics* — 2013 január
- [14] R. Antiochia, P. Bollella, G. Favero, and F. Mazzei, Nanotechnology-Based Surface Plasmon Resonance Affinity Biosensors for In Vitro Diagnostics, *International Journal of Analytical Chemistry*, Volume 2016 (2016), Article ID 2981931
- [15] Janóné Ungor Ditta Anita – Arany nanorészecskék és nanoklaszterek szintézise, szerkezetvizsgálata és szenzorikai alkalmazásuk – Doktori értekezés - 2018
- [16] S. Roh, T. Chung, B. Lee, Overview of the Characteristics of Micro- and Nano-Structured Surface Plasmon Resonance Sensors, *Sensors*, 2011, 11(2), 1565-1588
- [17] Wimmer Balázs – Arany nanorészecskéken alapuló LSPR szenzorelem fejlesztése – TDK dolgozat – 2014
- [18] Alexandre Dimitriev — Nanoplasmonic Sensors — 2012 — Springer-Verlag New York — DOI 10.1007/978-1-46143932-5
- [19] S. Unser, I. Bruzas, J. He, L. Sagle, Localized Surface Plasmon Resonance Biosensing: Current Challenges and Approaches, *Sensors*, 2015, 15(7), 15684-15716
- [20] A. Bonyar, Simulation of the refractive index sensitivity of coupled plasmonic nanostructures, *Procedia Engineering* 168 (2016) 962–965
- [21] Galbács Gábor - Illusztrált segédanyag a modern műszeres analitikai kémia oktatásához - 2013
- [22] Bonyár A, Csarnovics I, Veres M, Himics L, Csik A, Kámán J, Balázs L, Kökényesi Investigation of the performance of thermally generated gold nanoislands for LSPR and SERS applications, *SENSORS AND ACTUATORS B-CHEMICAL* 255: pp. 433-439
- [23] Qing Zhang, Jing-Juan Xu, Yan Liu, Hong-Yuan Chen – In-situ synthesis of poly(dimethylsiloxane)-gold nanoparticles composite films and its application in microfluidic systems, *Lab Chip*, Vol. 8, pp. 352–357, 2008
- [24] E.C. Le Ru, E. Clackie, M. Meyer, P.G. Etchegoin — Surface Enhanced Raman Scattering Enhancement Factors: A comprehensive Study – *J. Phys. Chem. C* 2007, 111, 13794-13803
- [25] sersitive.eu