

**YÜZEY ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ RAMAN SPEKTROSKOPİSİ
(SERS) İÇİN NANO-YAKLAŞIM TEMELLİ PLATFORMLARIN
GELİŞTİRİLMESİ VE TANI AMAÇLI UYGULANMASI**

**DEVELOPMENT OF NANO-APPROACH BASED
PLATFORMS FOR SURFACE ENHANCED RAMAN
SPECTROSCOPY (SERS) AND THEIR USE FOR DETECTION**

MEHMET YILMAZ

PROF. DR. ERHAN BİŞKİN
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyomühendislik Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2014

MEHMET YILMAZ'ın hazırladığı “**Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi(SERS) için Nano-yaklaşım Temelli Platformların Geliştirilmesi ve Tanı Amaçlı Uygulanması**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**’ nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tülin KUTSAL

Başkan

Prof. Dr. Erhan BİŞKİN

Danışman

Prof. Dr. A. Kevser ÖZDEN

Üye

Doç. Dr. Gökhan DEMİREL

Üye

Yrd. Doç. Dr. Eda ÇELİK AKDUR

Üye

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bir üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

29/08/2014

MEHMET YILMAZ

ÖZET

YÜZEY ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ RAMAN SPEKTROSKOPİSİ (SERS) İÇİN NANO-YAKLAŞIM TEMELLİ PLATFORMLARIN GELİŞTİRİLMESİ VE TANI AMAÇLI UYGULANMASI

Mehmet YILMAZ

Doktora, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Erhan BİŞKİN

Ağustos 2014, 140 sayfa

Yüzey zenginleştirilmiş Raman spektroskopisi (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) keşfedildiği günden beri kimyasal ve biyolojik moleküllerin tanısında kullanılan güçlü bir analitik yöntem olarak önemli bir ilgi çekmektedir. SERS çalışmalarında Raman sinyal zenginleşmesi temel olarak plazmonik özellikteki nanoyapıların yakın olmalarından kaynaklı ortaya çıkan elektromanyetik etkilerden kaynaklanmaktadır. Bu bağlamda son zamanlarda kolloidal nanopartiküller ya da 2-D/3-D plazmonik nanoyapılar kullanılarak çok yenilikçi yöntemler sunulmuştur. SERS uygulamalarında kolloidal nanopartiküllerin kullanımı basit ve ucuz bir yol olmasına karşın, bunların kontrolsüz agregasyonu SERS sinyallerinde tutarsızlıklara neden olmaktadır. Son zamanlardaki çarpıcı gelişmelere rağmen, SERS sistemleri pratik uygulamalarda hassaslık, güvenilirlik ve seçicilik gibi konularda bazı zorluklar yaşamaktadır. Bu zorlukları aşmak için bu çalışmada 3-D anizotropik altın ya da gümüş nanoçubuk yüzeyler ile farklı şekillerdeki kolloidal altın ya da gümüş yüzeyler biraraya getirilerek tehlikeli biyolojik ve kimyasal silah ajanları ve boyalı aptamerlerin çok düşük miktarlarda tanısını SERS ile sağlayacak güvenilir, seçici ve hassas aynı zamanda basit fakat kullanışlı bir yaklaşım önerilmiştir. Altın ya da gümüş nanoçubuk

yüzeyler BK7 cam üzerine herhangi bir kalıp malzemesi ya da litografik teknik kullanmadan eğik açı biriktirme (oblique angle deposition, OAD) yöntemi ile oluşturulmuş ve bunların yüzey yoğunlukları buhar fazı birikim açısının (α) değişimiyle ayarlanmıştır. Kolloidal altın ya da gümüş nanopartiküllerin olmadığı durumda $\alpha = 10^\circ$ için üretilen altın ya da gümüş nanoçubuk yüzeylerden en yüksek SERS zenginleştirmesi belirlenmiştir. Gümüş ya da altın nanoçubuk yüzeyler farklı şekillerdeki (küre, çubuk, üçgen prizma ve kafes (küp)) kolloidal altın ya da gümüş nanopartiküllerle biraraya getirildiğinde SERS sinyalinde sinerjistik bir etki gözlenmiştir. Çapa ve boya bağlı olarak lokalize yüzey plazmonlar (localized surface plasmons, LSPs) oluşturduklarından kolloidal nanoçubukların kullanılması çıplak altın ya da gümüş nanoçubuk yüzeylerin kullanıldığı duruma göre yaklaşık on kat Raman zenginleştirmesi sağlamıştır. Ayrıca bu yaklaşım kimyasal ve biyolojik toksinlerden olan dipikolinik asit (DIP), metil paratyon (MP) ve dietil fosforamidat (DP) tanısı için kolloidal altın nanoçubuk ve altın nanoçubuk yüzey kombine edilerek test edilmiştir. Tüm toksinler için yüksek bir sinyal/gürültü oranında ve tekrarlanabilirlikte ve geniş bir derişim aralığında (5 ppm–10 ppb) Raman sinyalleri başarıyla elde edilmiştir. Bu sonuçlar karışık ve yoğun şekilde paketlenmiş ve kolloidal nanopartiküller ile güçlendirilmiş anizotropik nanoçubuk yüzeylerin herhangi bir numuneyi çok az miktarlarda bile tanıyacak bir SERS platformu olabileceği tezini desteklemektedir. Ayrıca altın nanoçubuk yüzeyler boyalı aptamer moleküllerinin belirlenmesi için de kullandık. Floresin izotiyosiyanat (FITC) molekülünün yoğun floresans etkisinden dolayı FITC-aptamer ile modifiye edilmiş altın nanoçubuk yüzey için tanımlayıcı bir Raman sinyali gözlenmemiştir. Fakat Dy800-aptamer örneği için kesin bir Raman sinyali alınmıştır. Komplementer aptamerin Dy800-aptamer modifiye yüzeye uygulanması molekülün orientasyon değişiminde bağlı olarak kayda değer sinyal artışına neden olmuştur. Boyalı aptamerlerin yüzeylere bağlandığı floresans mikroskopla gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yüzey Zengileştirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS), altın nanoçubuk yüzey, gümüş nanoçubuk yüzey, altın nanopartikül, gümüş nanopartikül, boyalı aptamer.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF NANO-APPROACH BASED PLATFORMS FOR SURFACE ENHANCED RAMAN SPECTROSCOPY (SERS) AND THEIR USE FOR DETECTION

Mehmet YILMAZ

Doctor of Philosophy, Bioengineering Division

Supervisor: Prof. Dr. Erhan BİŞKİN

August 2014, 140 pages

Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) has attracted increasing interest as a powerful analytical tool for the detection of chemical and biological molecules since its discovery. In SERS studies, the enhancement of Raman signals fundamentally stems from the electromagnetic field in close vicinity of nanostructures with plasmonic features on a surface. In this context, various innovative methods have been demonstrated recently either using colloidal nanoparticles or 2-D/3-D plasmonic nanostructures. Although utilization of colloidal nanoparticles for SERS applications seems to be a simple and inexpensive procedure, their uncontrolled aggregation leads to a discrepancy in the resulting SERS signals. Despite the significant progress, SERS systems are still facing challenges for practical applications related to their sensitivity, reliability, and selectivity. To overcome these limitations, in this study, we have proposed a simple yet facile concept by combining 3-D anisotropic gold or silver nanorod arrays with colloidal gold or silver nanoparticles having different shapes for highly reliable, selective, and sensitive detection of some hazardous chemical and biological warfare agents in trace amounts as well as dye-labeled aptamer molecules through SERS. The gold or silver nanorod arrays were created on the BK7 glass slides via the oblique angle deposition (OAD) technique without using any template material or lithography technique and their surface densities were adjusted by

manipulating the vapor phase deposition angle (α). It is found that both gold and silver nanorod arrays fabricated at $\alpha = 10^\circ$ exhibited the highest SERS enhancement in the absence of colloidal gold or silver nanoparticles. Synergetic enhancement was obviously observed in SERS signals when combining gold or silver nanorod arrays with colloidal gold or silver nanoparticles having different shapes (i.e., spherical, rod, triangular prism and cage). Due to their ability to produce localized surface plasmons (LSPs) in transverse and longitudinal directions, utilization of colloidal nanorods as a synergetic agent led to an increase in the enhancement factor by about tenfold compared to plain gold or silver nanorod arrays. Moreover, we have tested our approach to detect some chemical and biological toxins namely dipicolinic acid (DIP), methyl parathion (MP), and diethyl phosphoramidate (DP) for the case of colloidal gold nanorods combined gold nanorod arrays. For all toxins, Raman spectra with high signal-to-noise ratios and reproducibility were successfully obtained over a broad concentration range (5 ppm–10 ppb). Our results suggest that the slightly tangled and closely-packed anisotropic nanorod arrays reinforced by the colloidal nanoparticles may serve as an ideal SERS substrate to detect any analyte in trace amounts. Moreover, we tested gold nanorod arrays to determine SERS efficiency of dye labeled aptamer molecules. Due to the huge fluorescence effect of fluorescein isothiocyanate (FITC), no distinctive Raman signal was observed for FITC-aptamer modified gold nanorod arrays. However, we could obtain certain Raman signal in the case of Dy800-aptamer sample. The employment of complementary aptamer to Dy800-aptamer modified surface resulted in remarkable signal enhancement due to change in orientation of molecule. The binding of both dye-labeled aptamers to gold surface was demonstrated via fluorescence microscopy.

Keywords: Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS), gold nanorod arrays, silver nanorod arrays, gold nanoparticles, silver nanoparticles, dye-labeled aptamer.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bana yol gösteren danışmanım Sayın Prof. Dr. Erhan Bişkin'e, en zorlandığım anlarda her zaman bilgi ve deneyiminden yararlandığım çok değerli hocam Doç. Dr. Gökhan Demirel'e, değerli hocam Prof. Dr. Tülin Kutsal'a, bana laboratuvarını açan ve Raman cihazını kullanmamı sağlayan Doç. Dr. Uğur Tamer'e, nanopartiküllerin sentezi konusunda desteğini esirgemeyen Yard. Doç. Dr. M. Selman Yavuz'a, mikrokürelerin teminini sağlayan Prof. Dr. S. Ali Tuncel hocama, Hacettepe Üniversitesindeki laboratuvar arkadaşlarım Araz ND, K. Salimi, B. Nasser, A.A. Ebrahimi, F. Moghtader, D.Ş. Özden, E. Haberal, E. Kayaalp, L.M. Azar, E. Sanatlab, E. Karataş ve D.D. Usta'ya, Gazi Üniversitesindeki laboratuvar arkadaşlarım H. Erdoğan, M.S. Akın, E. Babür ve B. Özdemir'e ve hayatım boyunca bana karşı anlayışlı, sabırlı ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili aileme tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Ayrıca tüm doktora sürecim boyunca burslu öğrenci olarak desteğini aldığım TÜBİTAK-BİDEB-2211 Yurtiçi Doktora Burs Programına ve bu programın değerli çalışanlarına tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Mehmet YILMAZ

Ankara, Ağustos 2014

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER.....	viii
ŞEKİLLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Temel Kavramlar: Nanoteknoloji, Nanomalzemeler ve Nanopartiküller.....	4
2.1.1. Nanopartikül Sentez Yöntemleri.....	6
2.1.2. Nanoyapılandırılmış Yüzeyler ve Üretim Teknikleri.....	13
2.2. Klasik Raman Spektroskopisi (RS).....	17
2.3. Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS).....	21
2.3.1. Nanopartiküller ve SERS Uygulamaları.....	34
2.3.2. Nanoyapılandırılmış Yüzeyler ve SERS Uygulamaları.....	39
2.3.3. Aptamerler ve SERS Uygulamaları.....	45
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	48
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar.....	48
3.2. Nanopartiküllerin Sentez ve Karakterizasyonu.....	50
3.2.1. Manyetik Nanopartiküllerin Sentezi.....	50
3.2.2. Altın Nanopartiküllerin Sentezi.....	52
3.2.3. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi.....	53
3.3. Altın (Gold Nanorod Arrays, GNA) ve Gümüş (Silver Nanorod Arrays, SNA) Nanoçubuk Yapıların Yüzeyde Oluşturulması ve Karakterizasyonu.....	55
3.4. Nanopartiküller ile Kombine/Dekore Edilmiş GNAs ve SNAs Yapıların SERS Özellikleri.....	56

3.5.	Aptamer ile Modifiye Edilmiş GNAs ve SNAs Yüzeylerin SERS Özellikleri.....	56
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	58
4.1.	Nanopartiküllerin Sentez ve Karakterizasyonu.....	58
4.1.1.	Manyetik Nanopartiküllerin Sentezi.....	58
4.1.2.	Altın Nanopartiküllerin Sentezi.....	61
4.1.3.	Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi.....	67
4.2.	Altın (Gold Nanorod Arrays, GNA) ve Gümüş (Silver Nanorod Arrays, SNA) Nanoçubuk Yapıların Yüzeyde Oluşturulması ve Karakterizasyonu.....	70
4.3.	Nanopartiküller ile Kombine/Dekore Edilmiş GNA ve SNA Nanoçubuk Yapılar ve SERS Özellikleri.....	78
4.4.	Aptamer ile Modifiye Edilmiş GNA ve SNA Platformlar ve SERS Özellikleri	102
4.5.	Genel Sonuçlar.....	109
	KAYNAKLAR.....	114
	ÖZGEÇMİŞ.....	138

ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 2.1. Aptamerler ve antikorların genel özelliklerinin karşılaştırılması [267].....	47
Çizelge 4.1. MB için elde edilen Raman kaymaları, göreceli şiddet ve band karşılıkları.....	87
Çizelge 4.2. DIP için elde edilen Raman kaymaları, göreceli şiddet ve band karşılıkları.....	92
Çizelge 4.3. MP için elde edilen Raman kaymaları, göreceli şiddet ve band karşılıkları.....	92
Çizelge 4.4. DP için elde edilen Raman kaymaları, göreceli şiddet ve band karşılıkları.....	93
Çizelge 4.5. SNA nanoçubuk yüzeyler için elde edilen RSD değerleri.....	97
Çizelge 4.6. 10 µM MB için elde edilen tekrarlanabilir SERS spektralarının RSD değerleri (α= 10o ve 20 ppm AgNR).....	101

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 2.1. Yukarıdan-aşağıya (top-down) ve aşağıdan-yukarıya (bottom-up) yaklaşımlarla nanomalzeme üretimi.....	5
Şekil 2.2. 2-D anizotropik yüzey üretim yöntemleri [81].....	13
Şekil 2.3. 3-D anizotropik yüzey üretim yöntemleri [81].....	14
Şekil 2.4. Işık molekül etkileşiminde enerji değişimleri.....	18
Şekil 2.5. Klasik açıklamada kullanılan yay modeli.....	20
Şekil 2.6. Farklı saçılmaların karşılaştırılması.....	21
Şekil 2.7. SERS tekniğine artan ilginin Web of Science verilerine göre yayın sayısı olarak yansımaları [133].....	25
Şekil 2.8. a) Lokalize plazmon rezonans etkisi ve b) 35 nm çapındaki metalik nanopartikülde plazmon dağılımı [135].....	28
Şekil 2.9. Metal bir yüzeye adsorplanan molekülün tipik bir enerji seviyesi diyagramı. Olası yük transfer uyarılmaları oklarla gösterilmiştir [134].....	29
Şekil 2.10. SERS yüzeylerinde en çok kullanılan metaller ve bunların optik özellik gösterdikleri yaklaşık dalgaboyu aralıkları [133].....	31
Şekil 2.11. Altın ya da gümüş tek tabaka nanopartikül kurulumu. X =CN, NH ₂ , 2-piridil, P(C ₆ H ₅) ₂ , ya da SH; R = CH ₃ ya da CH ₂ CH ₃ [165].....	35
Şekil 2.12. İki ayrı strateji ile EBL kullanılarak SERS için substrat hazırlanması [117].....	40
Şekil 2.13. SELEX sürecinin şematik gösterimi [258].....	46
Şekil 3.1. Yüzey hazırlamada kullanılan (a) plazma cihazı ve (b) yüksek vakum fiziksel buharlaşma birikim cihazı.....	50
Şekil 3.2. Solvotermal yöntemle mantetit sentezinde kullanılan TEFLON-paslanmaz çelik reaktör sistemi.....	52
Şekil 4.1. Eş-çöktürme yöntemiyle elde edilen manyetit nanopatiküllerin farklı büyütmelerdeki TEM görüntüleri.....	58
Şekil 4.2. Eş-çöktürme yöntemiyle elde edilen manyetit nanopatiküllerin boyut dağılım grafiği.....	59
Şekil 4.3. Solvotermal yöntemle elde edilen manyetit nanopatiküllerin farklı büyütmelerdeki TEM görüntüleri.....	60
Şekil 4.4. Solvotermal yöntemle elde edilen manyetit nanopatiküllerin boyut dağılım grafiği.....	60
Şekil 4.5. Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen AuNP örneğinin farklı büyütmelerdeki TEM görüntüleri.....	61

Şekil 4.6. Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen AuNP örneğinin partikül boyut dağılım grafiği.....	62
Şekil 4.7. Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen AuNP örneğinin UV-vis spektrumu.....	62
Şekil 4.8. Elde edilen AuNR örneğinin farklı büyütmelerdeki TEM görüntüleri.....	64
Şekil 4.9. Elde edilen AuNR örneğinin a) çapa b) boya göre partikül boyut dağılım grafiği.....	64
Şekil 4.10. NR boy kısaltma yöntemiyle farklı süreler için elde edilen farklı boylardaki AuNR örneklerinin fotoğraf görüntüleri. Ok yönünde AuNR boyu artmaktadır.....	65
Şekil 4.11. NR boy kısaltma yöntemiyle elde edilen farklı boylardaki AuNR örneklerinin UV-Vis spektrumları ve fotoğraf görüntüleri. Ok yönünde AuNR boyu azalmaktadır.....	65
Şekil 4.12. NR boy kısaltma yöntemiyle elde edilen farklı boylardaki AuNR örneklerinin TEM görüntüleri. Ok yönünde AuNR boyu azalmaktadır.....	66
Şekil 4.13. Sentezlenen AuNC örneklerinin TEM görüntüleri.....	66
Şekil 4.14. Sentezlenen AuNC örneklerinin UV-vis spektrumu.....	67
Şekil 4.15. Sentezlenen AgPR örneklerinin farklı büyütmelerdeki TEM görüntüleri.....	68
Şekil 4.16. Sentezlenen AgPR örneklerinin partikül boyut dağılım grafiği.....	68
Şekil 4.17. Sentezlenen AgPR örneklerinin UV-vis spektrumu.....	69
Şekil 4.18. Sentezlenen AgNP örneklerinin UV-vis spektrumu.....	69
Şekil 4.19. Sentezlenen AgNR örneklerinin UV-Vis spektrumu.....	70
Şekil 4.20. Eğik açılı vakum biriktirme tekniği ile anizotropik GNA ya da SNA nanoçubuk yapıların oluşumu. α :buhar akısının açısı, β =eğimli nanotel açısı.....	71
Şekil 4.21. Eğik açılı vakum biriktirme tekniği ile anizotropik GNA ya da SNA nanotel yapıların oluşum mekanizması (a). ve (b, c ve d) farklı buhar akısının açısı (α) değerleri için elde edilen GNA nanoyapıların üstten SEM görüntüleri.....	72
Şekil 4.22. 5° buhar akısı açısında (α) üretilen anizotropik GNA nanoçubuk yapıların farklı büyütmelerde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	73
Şekil 4.23. 10° buhar akısı açısında (α) üretilen anizotropik GNA nanoçubuk yapıların farklı büyütmelerde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	73
Şekil 4.24. 20° buhar akısı açısında (α) üretilen altın nanoyapıların farklı büyütmelerde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	73
Şekil 4.25. GNA nanoçubuk yapılar ($\alpha= 10^\circ$) için elipsometrik parametrelerin ışığın geliş yönü ve geliş açısına göre değişimi.....	75
Şekil 4.26. 10° buhar akısı açısında (α) üretilen anizotropik GNA nanoçubuk yapıların XRD desenleri.....	76
Şekil 4.27. 5° buhar akısı açısında (α) üretilen anizotropik SNA nanoçubuk	

yapıların farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	77
Şekil 4.28. 10° buhar akışı açısında (α) üretilen anizotropik SNA nanoçubuk yapıların farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	77
Şekil 4.29. 20° buhar akışı açısında (α) üretilen gümüş nanoyapıların farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	78
Şekil 4.30. AuNP ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuk yapıların ($\alpha = 10^\circ$) farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	79
Şekil 4.31. AuNR ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuk yapıların ($\alpha = 10^\circ$) farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	79
Şekil 4.32. AuNC ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuk yapıların ($\alpha = 10^\circ$) farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.....	79
Şekil 4.33. Aynı derişimlerde MB ve R6G için elde edilen SERS spektraları (GNA, $\alpha = 10^\circ$).....	80
Şekil 4.34. Farklı derişimlerdeki MB için elde edilen SERS spektraları (GNA, $\alpha = 10^\circ$).....	81
Şekil 4.35. 10 μ M MB için elde edilen SERS spektraları: GNA nanoyapılar için buhar akışı açısının (α) elde edilen SERS spektrası üzerine etkisi.....	82
Şekil 4.36. 10 μ M MB için elde edilen SERS spektraları: AuNP ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^\circ$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.....	84
Şekil 4.37. 10 μ M MB için elde edilen SERS spektraları: AuNC ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^\circ$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.....	85
Şekil 4.38. 10 μ M MB için elde edilen SERS spektraları: AuNR ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^\circ$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.....	85
Şekil 4.39. Farklı nanopartiküller ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubukların ($\alpha = 10^\circ$) 10 μ M MB ve 20 ppm nanopartikül derişimi için SERS şiddetlerinin karşılaştırılması.....	86
Şekil 4.40. Farklı nanoçubuk uzaklıkları için elektrik alan dağılımlarını gösteren COMSOL tasarımları ($\alpha = 10^\circ$). (a) 10 nm ve (b) 20 nm. Ölçek çizgisi 100 nm'dir.....	88
Şekil 4.41. Farklı AuNR duruşları için elektrik alan dağılımlarını gösteren COMSOL tasarımları.....	88
Şekil 4.42. DIP için örnek bir SERS spektrası (a) ve kalibrasyon doğrusu (b).....	89
Şekil 4.43. MP için örnek bir SERS spektrası (a) ve kalibrasyon doğrusu (b).....	90

Şekil 4.44. DP için örnek bir SERS spektrası (a) ve kalibrasyon doğrusu (b).....	90
Şekil 4.45. 5 ppm DIP (a), MP (b) ve DP (c) için tekrarlanabilir SERS spektraları ($\alpha = 10^\circ$ ve 20 ppm AuNR).....	91
Şekil 4.46. Spin kaplama yöntemi ile cam yüzeyde oluşturulan tek tabaka PS mikrokürelerin ($\sim 5 \mu\text{m}$) fotoğraf görüntüsü ve farklı büyütmelerdeki optik mikroskop görüntüleri. Ölçek çizgisi 50 ve $10 \mu\text{m}$ 'dir.....	94
Şekil 4.47. PVD yöntemi ile altın kaplandıktan sonra (32 nm) tek tabaka PS mikrokürelerin ($\sim 5 \mu\text{m}$) optik mikroskop ve farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri.	94
Şekil 4.48. Altın kapladıktan sonra (32 nm) tek tabaka PS mikrokürelerden ($\sim 5 \mu\text{m}$) elde edilen $10 \mu\text{M}$ MB SERS spektraları.....	95
Şekil 4.49. $10 \mu\text{M}$ MB için elde edilen SERS spektraları: SNA nanoyapılar için buhar akısı açısının (α) elde edilen SERS spektrası üzerine etkisi.....	96
Şekil 4.50. SNA nanotel yüzeyleri için tekrarlanabilir SERS spektraları ($\alpha = 10^\circ$ ve $10 \mu\text{M}$ MB).....	97
Şekil 4.51. $10 \mu\text{M}$ MB için elde edilen SERS spektraları: AgPR ile kombine/dekore edilmiş SNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^\circ$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.....	99
Şekil 4.52. $10 \mu\text{M}$ MB için elde edilen SERS spektraları: AgNR ile kombine/dekore edilmiş SNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^\circ$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.....	99
Şekil 4.53. $10 \mu\text{M}$ MB için elde edilen SERS spektraları: AgNP ile kombine/dekore edilmiş SNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^\circ$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.....	100
Şekil 4.54. Farklı nanopartiküller ile kombine/dekore edilmiş SNA nanoçubukların ($\alpha = 10^\circ$) $10 \mu\text{M}$ MB ve 20 ppm nanopartikül derişimi için SERS şiddetlerinin karşılaştırılması.....	101
Şekil 4.55. $10 \mu\text{M}$ MB için elde edilen tekrarlanabilir SERS spektraları ($\alpha = 10^\circ$ ve 20 ppm AgNR).....	101
Şekil 4.56. FITC-aptamer ($1 \mu\text{M}$) ile modifiye edilmiş GNAs nanoçubuk yüzeylerden elde edilen SERS spektraları (a) $\alpha = 5^\circ$, (b) $\alpha = 10^\circ$ ve (c) $\alpha = 20^\circ$	102
Şekil 4.57. FITC-aptamer ($1 \mu\text{M}$) ve komplementar aptamer ($> 1 \mu\text{M}$) ile modifiye edilmiş GNAs nanoçubuk yüzeylerden elde edilen SERS spektraları (a) $\alpha = 5^\circ$, (b) $\alpha = 10^\circ$ ve (c) $\alpha = 20^\circ$	103
Şekil 4.58. FITC boyalı albumin ($1 \mu\text{M}$) ile modifiye edilmiş GNAs nanoçubuk yüzeyden elde edilen SERS spektraları ($\alpha = 10^\circ$).....	104

Şekil 4.59. Farklı derişimlerde FITC-aptamer ile modifiye edilmiş GNAs nanoçubuk yüzeylerin floresans mikroskop görüntüleri. (a) 1 μ M, (b) 0.1 μ M, (c) 0.01 μ M ve (d) 0 μ M (blank).....	104
Şekil 4.60. Dy800-aptamer için elde edilen UV-Vis spektrumu.....	105
Şekil 4.61. 1 μ M Dy800-aptamer için elde edilen SERS spektraları: GNA nanoçubuklar için buhar akısı açısının (α) elde edilen SERS spektrası üzerine etkisi.....	106
Şekil 4.62. Farklı derişimlerde Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubukların ($\alpha= 10^\circ$) SERS spektrası üzerine etkisi.....	106
Şekil 4.63. Komplementer aptamerinin Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubukların ($\alpha= 10^\circ$) SERS spektrası üzerine etkisi.....	107
Şekil 4.64. 1 μ M Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş farklı GNA nanoçubukların floresans mikroskop görüntüleri. (a) $\alpha= 5^\circ$, (b) $\alpha= 10^\circ$, (c) $\alpha= 20^\circ$ ve (d) $\alpha= 90^\circ$	108
Şekil 4.65. Farklı derişimlerde Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubukların ($\alpha= 10^\circ$) floresans mikroskop görüntüleri. (a) 1 μ M, (b) 0.1 μ M, (c) 0.01 μ M ve (d) 0 μ M (blank).....	108
Şekil 4.66. Komplementer aptamerinin Dy800 aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubukların yüzeylerin ($\alpha= 10^\circ$) floresans mikroskop görüntüleri ile etkisi. (a) Dy800 aptamer (b) Dy800 aptamer + Komplementer aptamer.....	109

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μ	İndüklenmiş Dipol
E	Elektromanyetik Alan
α	Polarizibilete Tensörü
	ya da Buhar Fazı Birikim açısı
Q	Titreşim Koordinatı
I	Raman Sinyal Şiddeti
m	Atom Kütlesi
k	Kuvvet Katsayısı
$\epsilon_1(\omega)$	Metalin Frekansa Bağlı Dielektrik fonksiyonu
ϵ_2	Ortamın Göreceli Geçirgenliği
K_d	Affinite Katsayısı
kDA	KiloDalton
β	Eğimli Nanoçubuk açısı
$I_{yığın}$ ve I_{GNA}	Sırasıyla Yığın MB ve GNA Nanoçubuk Kullanılarak Elde Edilen Raman Şiddetleri
$N_{yığın}$ ve N_{GNA}	Sırasıyla Yığın MB Referans Örnek ve GNA Üzerindeki MB Molekül Sayısı

Kısaltmalar

AAO	Anodik Alumina Oksit
-----	----------------------

AgNP	Küresel Gümüş Nanopartikül
AgNR	Gümüş Nanoçubuk
AgPR	Gümüş Nanoprizma
ALD	Atomik Tabaka Birikimi (Atomic Layer Deposition)
APTMS	Aminopropiltmetoksisilan
AuNC	Altın Nanoküp
AuNP	Küresel Altın Nanopartikül
AuNR	Altın Nanoçubuk
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
DDT	Dodekanetiyol
DIP	Dipikolinik Asit
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
DP	Dietil Fosforamidat
EBL	Elektron Işın Litografi (Electron Beam Lithography)
EDC/NHS	Ethyl(dimethylaminopropyl) Carbodiimide N-Hydroxysuccinimide
EF	Zenginleştirme Faktörü (Enhancement Factor)
ELİSA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EM	Elektromanyetik
FCC	Face-centered Cubic
FIB	Odaklanmış İyon Işın (Focused Ion Beam)

FITC	Fluorescein Isothiocyanate
GNA	Altın Nanoçubuk Yüzey (Gold Nanorod Array)
HOMO	En Yüksek Dolu Moleküler Orbital (Highest Occupied Molecular Orbital)
HRP	Horseradish peroxidase
LSPR	Lokale Yüzey Plazmon Rezonans (Localized Surface Plasmon Resonance)
LUMO	En Düşük Dolmamış Moleküler Orbital (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
MB	Metilen Mavisi (methylene Blue)
MEMS	Mikroelektro Mekanik Sistemler
MP	Metil Paratyon
MPTMS	Merkaptopropilsilan
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NEMS	Nanoelektro Mekanik Sistemler
NIL	Nanoimprint Litografi
NIR	Yakın Infrared (Near Infrared)
NSL	Nanoküre Litografi (Nanosphere Lithography)
OAD	Eğik Açılı Birikim (Oblique Angle Deposition)
PAA	Gözenekli Anodik Alumina (Porous Alumina Oxide)
PCM	Polikarbonat Membranlar
PDMS	Poli(dimetil siloksan)

PMMA	Poli(metilmetakrilat)
PS	Polisitren
PVD	Fiziksel Buharlaşma Birikimi (Physical Vapor Deposition)
PVP	Poli(vinilpirolidon)
R6G	Rodamin 6-G (Rhodamine 6-G)
RSD	Görece Standart Sapma (Relative Standard Deviation)
RS	Raman Spektroskopisi
SEIR	Yüzey Zenginleştirilmiş İnfra-red
SELEX	Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment
SEM	Taramalı Elektron Mikroskop (Scanning Electron Microscope)
SERS	Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface Enhanced Raman Spectroscopy)
SNA	Gümüş Nanoçubuk Yüzey (Silver Nanorod Array)
SPIONs	Süperparamanyetik Demir oksit nanopartiküller (Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles)
SPR	Yüzey Plazmon Rezonans (Surface Plasmon Resonance)
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskop (Transmission Electron Microscope)
TMAOH	Tetrametil amonyum hidroksit
TOAB	Tetraoktilamonyum bromür
UV	Ultraviyole

XRD

X Işını Kırınım (X-ray Diffraction)

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren temelleri atılmış ve bu bağlamda görece yeni bir çalışma alanı olmasına karşın günümüzde insanoğlunun mevcut birçok sorun ve talebine cevap verebilecek yegane bir bilim dalıdır. Günümüzde sağlık, enerji, güvenlik gibi birçok farklı konuda nanoteknolojik yenilikçi yaklaşımlar önerilmekte ve amaca uygun birçok ürün geliştirilmektedir.

Çağımızda en güncel ve sıcak nanoteknolojik çalışma alanlarından birisi eser miktarda analitin tanısını mümkün kılacak cihaz, yöntem ve malzemelerin geliştirilmesidir. Bu durum içme suyundaki ağır metal miktarının tayininden, hastalıkların erken tanısına ya da biyolojik ya da kimyasal silah ajanlarının belirlenmesine kadar çok farklı alanları kapsamaktadır. Bu hedef doğrultusunda yeryüzünde sayısız çalışma grubu tarafından çok değerli çalışmalara imza atılmakta ve kısa süre içerisinde önemli ilerlemeler sağlanmaktadır. Bu amaçla oluşturulan sistemlerin eser miktarda tanıya olanak vermesinin yanında ucuz, uygulanması kolay, güvenilir, seçici ve analite göre spesifik yanıt vermesi istenir. Tüm bu özellikler gözönüne alındığında uygulanabilecek tanı sistemlerinin sayısı sınırlanmakta ve Raman spektroskopisi sunduğu tüm artılarıyla diğer sistemlerin önüne geçmektedir.

Klasik Raman spektroskopisi Dr. Raman tarafından 1928 yılında keşfedilmesine rağmen bu konudaki çalışmalar 1970'li yılların ortalarına kadar sınırlı olmuştur. Bu döneme kadar karşılaşılan temel zorluk Raman saçılmasının doğası çok az olan inelastik foton saçılması saptanmasının zorluğu ve buna bağlı olarak eser miktarda tanıya olanak sağlanamamasıdır. 1970'li yıllarda tesadüfen de olsa bu zorluğun nasıl aşılabileceğinin tespit edilmesi ve daha sonra bu konudaki mekanizmaların aydınlatılması hızlı gelişmelerin yaşanmasını sağlamıştır ve bu yeni kavram Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (**S**urface **E**nhanced **R**aman **S**pectroscopy, SERS) olarak adlandırılmıştır. Ayrıca gelişen nanoteknolojik yaklaşımlar ve nanomalzeme üretim yöntemleri Raman spektroskopisinin gelişimini önemli ölçüde arttırmıştır. SERS çalışmalarındaki bir diğer çarpıcı ilerleme tek molekül tanısının parmak izi seçiciliğinde gerçekleştirilmesidir. Bu ilerlemeden sonra bu konudaki çalışmalarda adeta bir patlama yaşanmıştır. Günümüzde birçok farklı nanoteknolojik strateji kullanılarak SERS çalışmaları ile ağır

metallerden proteinlere, bakterilerden toksinlere kadar çok farklı molekül ya da yapının tanısı gerçekleştirilebilmektedir.

Tüm bu ilerlemelere rağmen SERS ile temel zorluklar hala yaşanmaktadır. Bu kapsamda en güncel ve önemli çözüm bekleyen zorluk SERS için zenginleştirmeyi sağlayacak ucuz, güvenilir, üretimi kolay, seçici ve hassas platformların geliştirilmesidir. Mevcut durumda üç farklı yaklaşım bu amaç için uygulanmaktadır; kolloidal plazmonik özellikte nanopartiküllerin, bu nanopartiküllerin yüzeye biriktirilmesi ya da metalik 2-D ya da 3-D nanoyapılı yüzeylerin oluşturulması. SERS uygulamalarında kolloidal nanopartiküllerin kullanımı basit ve ucuz bir yol olmasına karşın, bu nanopartiküllerin kontrolsüz agregasyonu SERS sinyallerinde tutarsızlıklara ve tekrarlanabilir sonuç almakta birtakım sorunlara neden olmaktadır. 2-D ya da 3-D nanoyapılı yüzeylerin oluşturulması için çok pahalı, kullanımı zor ekipmanlar ile uzun süre gerektiren işlemler gerektirmektedir. Bu şekilde elde edilen yüzeylerle yüksek kontrollü nanoyapılar oluşturulmakla beraber büyük alanlarda platformlar üretilmemektedir. Bu durum önerilen platformların yaygın kullanıma geçmesini önemli ölçüde engellemektedir.

İşte bu sorunları gidermek amacıyla bu tez kapsamında yenilikçi yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu bağlamda ilk olarak 3-D anizotropik altın ya da gümüş nanoçubuk yüzeyler herhangi bir kalıp malzemesi ya da litografik teknik kullanmadan eğik açı biriktirme (oblique angle deposition, OAD) yöntemi ile oluşturulmuştur. Bu yüzeylerin yoğunlukları ve şekilleri buhar fazı birikim açısının (α) değişimiyle kolaylıkla ayarlanmıştır. Bu yüzeyler daha sonra farklı şekillerdeki (küre, çubuk, üçgen prizma ve kafes (küp)) kolloidal altın ya da gümüş nanopartiküllerle biraraya getirilerek SERS sinyalinde sinerjistik etki incelenmiştir. Bu yaklaşımın gerçek örneklerdeki uygulamasını test etmek amacıyla kimyasal ve biyolojik toksinlerden olan dipikolinik asit (DIP), metil paratyon (MP) ve dietil fosforamidat (DP) tanısı ele alınmış ve bu kapsamda kolloidal altın nanoçubuk ve altın nanoçubuk yüzey kombine edilerek SERS gözlemleri yapılmıştır. Ayrıca önerilen yaklaşımın sensör uygulaması olarak incelemek amacıyla farklı boya içeren aptamerlerle yüzey modifiye edilerek SERS karakteristikleri belirlenmiştir. Tüm bu çalışmalardan elde edilen veriler değerlendirildiğinde sunulan yaklaşım kapsamında karışık ve yoğun şekilde paketlenmiş ve kolloidal nanopartiküller

ile güçlendirilmiş anizotropik nanoçubuk yüzeylerin herhangi bir numuneyi çok az miktarlarda bile tanıyacak, hassas, güvenilir, ucuz ve seçici bir SERS platformu olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

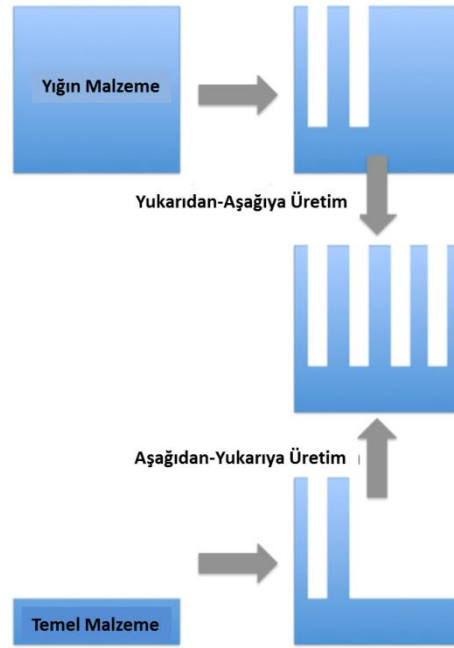
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Temel Kavramlar: Nanoteknoloji, Nanomalzemeler ve Nanopartiküller

Nanoteknoloji kelimesinin ilk kısmını oluşturan ‘nano’ boyut olarak metrenin milyarda birine karşılık gelmektedir. Yunanca’da ise bu kelime cüce anlamında kullanılmaktadır. Karbon-karbon bağ uzunluğunun 0.154 nm, bir bakterinin büyüklüğünün yaklaşık olarak 1000 nm ve ortalama bir vücut hücresinin ise yaklaşık 20000 nm olduğu düşünüldüğünde nano-ölçekte çalışmaların hangi seviyelerde gerçekleştiği daha iyi anlaşılır. Genel kabul gören tanımıyla nanoteknoloji, herhangi bir boyutu 1-100 nanometre arasında olan nanoyapıların geliştirildiği, bunlara yönelik teknolojilerin ve uygulama alanlarının araştırıldığı bir bilim dalıdır. Bu alanın temeli, nanometre boyutunda nanoyapıların oluşturulması ve boyuta bağlı olarak bu nanoyapıların gösterdikleri eşsiz fiziksel ve kimyasal özelliklerinin kullanılmasına dayanmaktadır. Nanoyapılar hayatımızın her alanında olmasına rağmen nanoteknoloji kavramının ortaya atılması 20. yüzyıl ortalarında olmuştur. Nobel fizik ödülü sahibi Richard Feynman 1959 yılında yaptığı meşhur konuşmasında ilk kez nanoteknoloji kavramını ortaya atmış ve zamanla bu alan birçok farklı alandan bilim insanının ilgisini çekmiştir. Günümüzde ise bir fenomen haline gelmiş ve belki de en yoğun çalışılan bilim dalı olarak görülmektedir [1].

Bu aşamada nanomalzemenin tanımını yapmakta fayda vardır. Nanomalzeme kavramı, nanoteknolojinin tanımına benzer olarak en az bir boyutu 100 nm’den daha küçük bir boyutta olan malzemeler için kullanılmaktadır. Nanomalzemeler, boyutlarına bağlı olarak sıradışı optik, elektronik ve manyetik özellikler göstermekte ve bu özelliklerinden dolayı yoğun ilgi görmektedirler. Genel anlamda nanomalzemeler yukarıdan-aşağıya (top-down) ve aşağıdan-yukarıya (bottom-up) olmak üzere iki farklı yaklaşımla üretilirler. Yukarıdan-aşağıya üretim en basit şekliyle bir heykel traşın taşın üzerindeki fazlalıkları yontmasına benzetilebilir. Bu yaklaşımla yaklaşık 50 yıldır mikro ve nano ölçekte elektronik yapılar oluşturulmaktadır. Bu sayede günümüzde 65 nm boyutunda transistörler ve 45 nm boyutunda çipler üretilmektedir ve bu yaklaşım kapsamında ele alınan fotolitografi ile bu yaklaşım için en küçük sınır değerine ulaşıldığı düşünülmektedir. Yukarıdan-aşağıya üretim yığın üretim mekanizmalarının tümünü

kapsamaktadır. Aşağıdan-yukarıya yaklaşımında ise malzemeler en küçük yapı birimi olan atom ya da moleküllerden başlayarak kendiliğinden kurulum mekanizmasıyla istenilen yapı ve şekilde rahatlıkla üretilebilmektedir. Bu yaklaşımın temel zorluğu her malzeme türü için uygulanamamasıdır [2]. Şekil 2.1’de her iki yaklaşım için temel mantığı gösteren çizim verilmiştir.



Şekil 2.1. Yukarıdan-aşağıya (top-down) ve aşağıdan-yukarıya (bottom-up) yaklaşımlarla nanomalzeme üretimi

En çok üretilen ve en fazla kullanım alanına sahip nanomalzeme türü olan nanopartiküller yine nanomalzemeler kısmında belirtildiği gibi yukarıdan-aşağıya ya da aşağıdan-yukarıya yaklaşımlarıyla kolaylıkla üretilebilmektedir. Sıradışı optik, elektronik, manyetik özelliklerinin yanı sıra yüksek yüzey alanına sahip olmaları hem yoğun ilgi görmelerine hem de sayısız uygulama alanında kullanılmalarını sağlamıştır. Nanopartiküllerin istenen şekil ve büyüklükte sentezlenmesine yönelik olarak basit ve sürekli protokollerin geliştirilmesi nanoteknolojinin temel çalışma konularındandır [3]. İstenen büyüklük ve şekildeki nanopartiküller ise sıcaklık, pH, tepkime süresi ve tepkime bileşenleri gibi parametreler optimize edilerek sentezlenmektedir [4-6]. Günümüzde geliştirilen birçok farklı protokolle nanoküreler, nanoçubuklar, nanoprizmalar ve nanotabakalar başta olmak üzere birçok farklı nanopartikül kontrollü olarak istenen

özellikte elde edilebilmektedir [7-9]. İzleyen bölümlerde nanopartikül sentez yöntemleri üzerinde durulacaktır.

2.1.1. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Günümüzde çok çeşitli malzemelerden çok çeşitli yöntemlerle farklı şekil ve büyüklüklerde nanopartiküller elde edilmektedir. Tüm nanopartiküller ve bunların sentez yöntemleri hakkında burada bilgi vermek mümkün değildir. Bundan dolayı burada tez kapsamında sentezi yapılan nanopartiküller hakkında kısa bilgiler verilip, sentez yöntemlerinden tez kapsamında kullanılanlar daha ayrıntılı şekilde değerlendirilecektir. Tez kapsamında süperparamanyetik demir oksit nanopartiküller (Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles, SPIONs), altın nanopartiküller ve gümüş nanopartiküller farklı büyüklük ve şekillerde üretilmiştir. Şimdi bu partiküllerle ilgili değerlendirme kısmına geçelim.

Manyetit bir ferrimanyetik malzeme olup, kimyasal formülü Fe_3O_4 şeklindedir [10]. Manyetit nanopartikülleri yüksek manyetik momente sahip olmaları, toksik olmamaları ve kolay sentezlenebilmeleri gibi avantajları nedeniyle biyotıp alanında çok kullanılan bir malzeme haline gelmiştir [11]. Son on sene içinde manyetik nanopartiküllerin sentezi ve farklı alanlarda kullanımına yönelik olarak yoğun çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen manyetik nanopartiküllerin kristal yapısı, partikül sentezinin kontrollü gerçekleştirilmesine bağlıdır [12]. Manyetik nanopartiküllerin en önemli avantajı ortamdaki manyetik alan kullanılarak kolaylıkla ayrılabilmesidir [13]. Bu özelliklerinden dolayı birçok biyomedikal uygulamalarda kullanımı artmaktadır [14]. Manyetit nanopartiküllerin manyetik depolama [15], biyosensör uygulamalarında [16], hedefli ilaç salımı [17-19], gen salımı [20], biyoayırma [21], immunoserolojik yöntem [22] ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) [23-25] gibi tıbbi uygulama alanlarında kullanımı yoğun olarak araştırılmaktadır.

Manyetit nanopartiküllerin sentezi için çok sayıda kimyasal yöntem kullanılmaktadır. Süreli yayınlarda şimdiye kadar hidrotermal [26], termal bozunma [27, 28], mikroemülsiyon [29], sol-jel sentezi [30], sonokimyasal reaksiyon [31], akış injeksiyon sentezi [32] ve elektrospay sentezi [33] olmak üzere birçok yöntem uygulanmaktadır. İkili çöktürme tekniği manyetik nanopartikül üretiminde kullanılan en basit ve en etkin

kimyasal yoldur. Demir oksitler (Fe_3O_4 ya da Fe_2O_3) sulu ortamda ferrous ve ferrik tuzlarının stokiometrik karışımlarının oluşumu ile hazırlanmaktadır. Fe_3O_4 oluşumunun kimyasal tepkimesi şöyle yazılabilir:



İkili çöktürme iki aşamada gerçekleşir [34, 35]. İlk aşamada demir çözeltilerinin derişimi kritik aşırı doygunluğa ulaştığında çekirdeklenme kısa bir zamanda meydana gelir. İkinci aşamada ise kristal yüzeyine çözünenin difüzyonu ile çekirdeğin yavaş büyümesi yani kristal gelişimi meydana gelir. Demir oksit nanoparçacıkların boyut, manyetik ya da yüzey özellikleri sentez süresince pH, iyonik güç, sıcaklık, doğal tuzlar (perkloratlar, klor, sülfat, nitratlar) ya da Fe^2/Fe^3 oranı gibi parametreler değiştirilerek kontrol edilir [35].

Solvothermal yöntemiyle manyetit üretiminde ise yüksek kaynama noktasına sahip çözücü aynı zamanda indirgeyici olarak da kullanılmaktadır [36, 37]. Çözücü olarak etilen glikol, propilen glikol gibi poliol malzemelere yer verilmektedir. Ayrıca bu yöntemde sukkinik asit gibi bir katalizör varlığında manyetit nanopartiküller diğer yöntemlere kıyasla çok daha kontrollü bir şekilde sentezlenmektedir. Hidroksil iyonları amonyakın yüksek sıcaklıkta bozunmasıyla oluşmakta ve yukarıda verilen deklemler (1)'e benzer şekilde manyetit sentezi yapılmaktadır. Tepkimenin ikili çöktürme yöntemine göre görece daha yavaş olması nanopartikül boyutunun tekrarlanabilir şekilde homojen dağılım göstermesini sağlamaktadır.

Altın nanopartiküller sahip oldukları sıradışı özellikleri sayesinde yoğun olarak çalışılan malzemelerdir. Altın nanopartiküller kendilerine özgü optik ve katalitik özelliklere sahip olup, toksik olmayan, biyouyumlu yapılarıyla fotonik, tanı ve tedavi gibi birçok alanda kullanılmaktadır [3, 38-42]. Özellikle çeşitli bileşenlerle fonksiyonelleştirilmiş altın nanopartiküllerin ultra-hassas tanı ve görüntüleme yöntemleri ile biyoloji ve farmakoloji alanında kullanımı, bu malzemeleri biyotanıma alanında araştırmacılar için ilgi çekici hale getirmektedir. Çünkü altın nanopartiküller benzersiz optik özelliklere (örneğin yüzey plazmon rezonans absorpsiyonu ve rezonans ışık saçılması gibi), yüzey kaplama çeşitliliğine ve yüksek biyouyumluluğa sahiptir [39, 42, 43].

Genellikle büyüklükleri ışığın dalga boyundan daha düşük olan metalik nanopartiküller, elektromanyetik radyasyon ile etkileşerek rezonans oluştururlar ve böylelikle yüzey elektronlarının toplu salınımında “Yüzey Plazmon Rezonans (surface plasmon resonance, SPR)” veya “Lokalize Yüzey Plazmon Rezonans (localized surface plasmon resonance, LSPR)” olarak da bilinen durumlar meydana gelir [44]. Altın için, bu salınım rezonans frekansı yığın yapının dielektrik sabiti tarafından kontrol edilmekte ve elektromanyetik spektrumun görünür bölgesinde yer almaktadır. Plazmon frekansının lokal çevre ile kendi arayüzünün dielektrik (refraktif indeksine) sabitine karşı duyarlılığı vardır. Bu partiküllerin çevresindeki herhangi bir değişim (yüzey modifikasyonu, kümelenme, ortam refraktif indeksi vb) dispersiyonların kolorimetrik değişimine yol açmaktadır. Altın nanopartiküllerin bağlanması (ya da kümelenmesi), plazmonların birleşmesi belirgin renk değişikliklerine neden olmaktadır. Bu değişimler genellikle kolorimetrik sensör olarak adlandırılan çalışmalar kapsamında önemli uygulamalara sahiptir ve yaygın olarak incelenmektedir [7, 42].

Altın nanopartiküller sadece ışığın absorpsiyonu mekanizmasına göre değil aynı zamanda ışığın Rayleigh saçılmasına göre gerçekleştirdiği elastik saçılmalarda da oluşturur [45]. Altın nanopartiküllerinden saçılan ışığın plazmon bandları elektromanyetik spektrumun görünür bölgesi ile uyum içindedir. Herbir nanopartikülün pozisyonu optik yolla görüntüleme uygulamaları için hazırlanabilmektedir. Altın nanopartiküllerin ayarlanabilen fiziksel özellikleri elektronların ayarlanabilir optik özellikler sunan kollektif salınımlarını etkilemektedir. Bu durum birçok biyotanı uygulaması için uygulama kolaylığı sağlamaktadır. Ayrıca altın nanopartiküllere çok çeşitli biyofonksiyonel gruplarla modifiye edilerek çok yönlü özellikler kazandırılmaktadır [42]. Amfilik polimerler, silanoller, şekerler, nükleik asitler ve proteinler örnek gösterilmektedir. Ayrıca tiyol gruplarına altın yüzeyinin güçlü bir afinitesi vardır. Yukarıda özellikleri kısaca özetlenen altın nanopartiküller kullanılarak analitik ve biyolojik bilimlerde kimyasal sensör ve görüntüleme çalışmaları sürdürülmektedir [46]. Şimdi yukarıda genel hatlarıyla verilen altın nanopartiküllerin uygulama alanlarıyla ilgili bazı örnekler verelim.

Son yıllarda altın nanopartiküller ile ağır metal katyonlarının belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Liu ve Lu, altın nanopartikülleri DNaz enzimi ile modifiye ederek ağır metal katyonlarını yerinde, eş zamanlı ve herhangi bir etiket gerektirmeyen bir yaklaşımla hızlı ve basit bir şekilde belirleyecek kolorimetrik sensör geliştirmişlerdir [47]. Ayrıca altın nanopartiküller kullanılarak DNA (deoksiriboz nükleik asit) gibi biyolojik moleküllerin belirlenmesine yönelik yoğun çalışmalar yapılmaktadır. DNA tayini için altın nanopartikül esaslı kolorimetrik yöntemler geniş çaplı kullanılmış ve literatürde çok fazla yer almaktadır [48]. Hedef molekülü yüksek hassasiyet ve seçicilikte tayin etmek için aptamer konjuge edilmiş altın nanopartikül esaslı sensörler de geliştirilmiştir. Liu ve ark., adenosine yüksek affinite gösteren aptameri kullanarak iki tip DNA ile fonksiyonlandırılmış altın nanopartikülleri ile etkileştirilmiştir. Aptamer ve altın nanopartikül yüzeyindeki DNA dizilimi hibridize olup, daha sonra adenosin molekülü ilave edilerek ve aptamerin adenosine olan yüksek affinitesiyle yapı değiştirerek altın nanopartikül yapısı ortamdan ayrılarak renk mordan kırmızıya geçmiştir [47]. Bu renk değişimi tanı için hiçbir cihaza ihtiyaç duyulmadan çıplak gözle bile tanıya olanak sağlamıştır.

Biyolojik örneklerdeki proteinlerin görüntülenmesi için antibadi konjuge edilmiş altın nanopartikülleri ışık ve elektron mikroskopunda çok kullanılmaktadır. Altın-protein yapıları biyoanalitik tanı ve teşhis, immunohistokimyasal uygulamalarda prob olarak kullanılmaktadır. Maier ve ark., optik rezonans arttırımlı absorpsiyon esaslı alerji yapan maddeleri tayin etmek için immunoçip biyosensörleri geliştirmişlerdir. Bu yöntemle sandviç yapı oluşturarak ve herhangi bir okuma cihazı gerektirmeden, hızlı ve basit bir şekilde çıplak gözle immunokimyasal bağlanma gözlemlenmiştir [49]. Ambrosi ve ark., altın nanopartiküllerin optik ve elektrokimyasal özelliklerini birlikte kullanarak protein tayini gerçekleştirmişlerdir. Antijen-antibadi bağlanması sonucu manyetik altın nanopartikülleri sandviç yapı oluşturarak, altın nanopartikülün hem optik hem de elektrokimyasal özelliğinden faydalanarak, karakterizasyon yapılarak protein tayini gerçekleştirilmiştir [50].

Karbonhidrat-protein etkileşimi canlı organizmalardaki biyolojik prosesler hakkında önemli bilgilerin yanı sıra biyomedikal önemli ajanların geliştirilmesini sağlamaktadır.

Russell ve ark., tiyol modifiye edilmiş basit şekerleri altın nanopartikül yüzeyine takarak bu şekildeki glikonanopartikülleri lektin ve konkavalin A gibi proteinlere bağlanan karbonhidratları belirlemek için kolorimetrik problemler olarak kullanmışlardır [51].

Dong ve ark., trombine yüksek affinite gösteren aptamer altın nanopartiküllere konjuge edilerek, kolorimetrik sensör geliştirmişlerdir. İnsan plazması gibi kompleks biyolojik örneklerdeki hedef molekül yüksek seçicilik ve hassasiyetle bu teknikle tayin edilebileceği bildirilmiştir [52].

Bir diğer çalışma alanı ise altın nanopartiküller kullanılarak enzim aktivitesinin belirlenmesidir. Enzimatik aktivitenin ve kinetik parametrelerin yüksek hassasiyetle belirlenmesi yeni farmasötik ve medikal teşhis ve tanı cihazlarının geliştirilmesinde önemli bir parametredir. Enzime bağlı immunolojik tanı sistemi olan ELİSA yönteminde iyi kalitede antibadi üretilmesi gerekmekte ve uzun zaman kaybedilmektedir. Araştırmacılar bu dezavantajları ortadan kaldırmak için altın nanopartiküllerin optik ve elektronik özelliklerini içeren yeni yöntemler geliştirilmesine yönelmişlerdir. Genellikle enzim aktivitesini tayin etmek için radyoaktif ya da floresan etiketler kullanılmaktadır. Yan ve ark., altın elektrot yüzeyine glikoz molekülü, glikoz molekülüne de altın çekirdek partikül takmışlardır [53]. Glikoz molekülünün okside olması sonucu glukonik asit ve H_2O_2 molekülü oluşmaktadır. H_2O_2 molekülü de $AuCl_4^-$ molekülü için indirgeyici bir ajandır. Elektrot yüzeyindeki glikozun oksidasyonu sonucu oluşan H_2O_2 altın çekirdek moleküllerini indirgeyerek altın yüzeyine daha fazla altın metalinin çökmesini sağlamakata ve böylelikle altın çekirdek yapı büyümektedir. H_2O_2 miktarı glikoz derişimi ile kontrol edilmektedir. H_2O_2 miktarı da altın nanopartikülün büyümesini kontrol etmektedir.

Altın nanopartiküllerin eşsiz optik özellikleri, kolay sentezlenip fonksiyonlandırılabilmesi ve biyouyumlu olması gibi avantajları nedeniyle hücre içi tanı uygulamalarında çok kullanılmaktadır [42]. Medley ve ark., kanser hücreleri direkt olarak kolorimetrik yöntemle belirlemiştir. Kanser hücrelerine yüksek affinite gösteren aptamerler ile altın nanopartikülleri fonksiyonlandırılıp, hedef hücre ile örnek etkileşimi sonucu çok farklı bir renk değişimi olurken, diğer hücreler de herhangi bir renk değişimi gözlemlenmemiştir.

Bu yöntemle herhangi bir cihaza gerek kalmadan yalnızca absorbands ölçümü ve çıplak gözle yüksek hassasiyette teşhis yapılmıştır [54].

Son zamanlarda hücresel analiz için altın yapılar içeren SERS optik sensörleri geliştirilmiştir. Hücresel SERS sinyalleri hücresel yapının moleküler bileşimi ve lokal pH gibi diğer kimyasal özellikleri hakkında bilgi vermektedir. Kneipp ve ark., canlı epitelyum ve makrofaj hücrelerdeki endozomdan SERS spektrumlarını ölçmüş ve hücrelerdeki altın nanopartiküllerin özelliklerini incelemişlerdir. Farklı hücre hatlarındaki nanoyapılardan farklı SERS spektrumları elde edilerek o hücre içindeki ilgili molekülün fiziksel özelliği tanımlanmıştır [55, 56].

Son yıllarda bu çalışmaların bazıları kendi içinde malzemelerin veya alt sınıf nanomalzemelerin biyolojik uygulamalarına odaklanarak genel bir bakışla tekrar gözden geçirilmiştir. Burada iyonlar, küçük moleküller, DNA ve protein dedeksiyonu ve hücresel analizler, bazı teknik sorunların vurgulanması ve seçilen bir dizi yeni uygulamalar için küresel altın nanopartikül problemlerin ve altın nanopartikül testlerin hazırlanmasına odaklanılmıştır [42]. Ayrıca görünür bölgede ayarlanabilir absorbsiyon ve yakın infrared (near infrared, NIR) (700-1300nm)'a sahip küresel olmayan nanopartiküller, altın çubuklar ve altın nanokabuklar, nano ölçekte üzeri altın kaplı silika ve manyetik nanoküreler çalışılmıştır [57].

Yukarıda bazı temel uygulamaları verilen altın nanopartiküllerin eldesinde en önemli nokta düşük bir partikül boyut dağılımı ve istenen şekil ve büyüklükte sentezin yapılmasıdır. Bu özellik birçok uygulamada aranan bir zorunluluktur. Bu bağlamda altın nanopartiküllerin çok farklı boyut ve şekillerde üretimi için farklı mekanizmalar önerilmiştir. Altın nanopartiküller elde etmek için kullanılan en yaygın yöntem altın tuzlarının sitratla indirgenmesini temel alan klasik Turkevich-Frens yöntemidir [58, 59]. Bu yöntemle altın nanopartikülün boyutu indirgeyici/stabilizör ajan (trisodyum sitrat) ve altın tuz türevleri arasındaki oran değiştirilerek rahatlıkla kontrol edilebilmektedir.

Bir başka sık kullanılan yöntem olan Brust-Schiffrin sentezinde ise altın nanopartiküller, altın tuz türevlerinin sodyum borhidrat (NaBH_4) ile organik bir çözücü içinde ya iki fazlı sıvı/sıvı sistemleri ya da uygun tek fazlı çözücü kullanarak tiyol ligantların varlığında

indirgenerek hazırlanmaktadır [60]. Bu yöntemde altın tuzu, tetraoktilamonyum bromür (TOAB) faz transfer ajanı kullanılarak toluene transfer edilir ve dodekanetiyol (DDT) varlığında NaBH_4 tarafından indirgenir. Daha büyük tiyol/altın mol oranları, daha küçük ortalama çekirdek büyüklüğünde altın nanopartiküllere neden olmaktadır. Hızlı bir şekilde indirgeyici ajan eklenmesi ve çözeltinin soğutulması daha küçük ve tek boyutlu dağılmış partiküllerin üretimini sağlamaktadır.

Yukarıda verilen yöntemlere alternatif olarak mikroemülsiyon [61], kopolimer misel [6, 62], ters misel [63], ve sürfektant gibi amfifilik bileşenler kullanılarak altın nanopartiküller sentezlenmektedir. Sentez sırasında sürfektant ile mikroemülsiyon ya da misel yapısı oluşmakta ve bu yapı sulu ortamdaki metal iyonlarını organik faza taşımaktadır. Bu özellik iki fazlı sistemlere göre üstünlük göstermektedir. Bu teknikle sürfektant optimize edilerek, altın nanopartiküllerin büyüme ve stabilizasyonu sağlanmaktadır [39]. Kimyasal yöntemlere alternatif olarak altın kontrollü nanopartikül sentezine yardımcı olması için fotokimya (ultraviyole (UV), NIR) [64, 65], sonokimya [66], radyolisis [67] ve termolisis [68] gibi fiziksel yöntemler kullanılmaktadır.

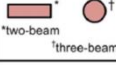
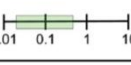
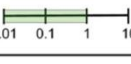
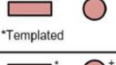
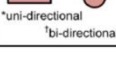
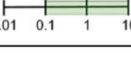
Bir diğer plazmonik özelliğe sahip ve bundan dolayı yukarıda altın için verilen çoğu uygulamada kullanılabilecek metallerden birisi de gümüştür. Altın sentezi için yukarıda verilen yöntemlerin çoğu gümüş için de uygulanabilmektedir. En çok kullanılan yaklaşım Turkevich-Frens yönteminin benzeri olan Lee-Meisel yöntemidir [69]. Uygulamada tek farklılık altın tuzu yerine gümüş tuzunun kullanılmasıdır. Bu yöntemdeki temel sorun partikül boyut dağılımının çok iyi kontrol edilememesidir [70]. Ayrıca buna alternatif olarak Creighton yöntemi ile NaBH_4 indirgeyici ajan varlığında gümüş iyonları indirgenerek yaklaşık 10 nm çapında gümüş nanopartiküller elde edilmektedir [71]. Burada verilen klasik ıslak kimya yöntemlerine alternatif olarak ayrıca gözenekli katı içerisinde yüksek sıcaklıkla indirgeme [72], metalin buhar fazda katı yüzeyde biriktirilmesi [73], sıvı içerisindeki metal hedefin lazerle aşındırılması [74], gümüş iyonlarının foto-indirgenmesi [75] ve gümüş tuz çözeltisinin elektrolizi [76] gibi geleneksel olmayan yollarla da gümüş nanopartikül sentezi yapılmaktadır. Küresel gümüş nanopartiküllerin yanı sıra küp [77], çubuk [78, 79] ve prizma [80] gibi şekillerde

sentezlenebilmektedir. Uygulama alanları altın ile çok benzer olduklarından bu kısımda daha ayrıntılı bilgi verilmeyecektir.

2.1.2. Nanoyapılandırılmış Yüzeyler ve Üretim Teknikleri

Günümüzde nanoyapılandırılmış yüzeylerin sahip oldukları sıradışı kimyasal ve fiziksel özelliklerinden dolayı bu konuda yoğun çalışmalar gerçekleştirilmektedir [81]. Tez kapsamında anizotropik altın ve gümüş nanoyapıların SERS performansları inceleyeceğinden bu kısımda anizotropik yüzeylerin üretimi üzerinde durulacaktır. Burada bahsi geçen yöntemler temel olarak diğer birçok farklı tür ve özellikte yüzeyin geliştirilmesinde de kullanılmaktadır.

Genel olarak anizotropik yüzey geliştirilmesinde temel amaç doğal sistemlerde bulunan bulunan yapıları taklit etmek ve böylelikle bu yüzeylerin özelliklerini farklı uygulama alanlarına taşımaktır [82, 83]. Örneğin kelebek kanadının anizotropik yapısı su damlasının belli bir yönde hareketini sağlamakta ve kelebeğin kanadını kuru tutmaktadır. Ya da benzer yapılar gecko kertenkelesinin dik yüzeylere tırmanmasını sağlamaktadır. Günümüzde bu sistemler taklit edilerek 2-D ve 3-D anizotropik yapılar oluşturulmakta ve bunların şaşırtıcı özellikleri ıslanma, elektrik ve ısı transferi, hücre ve doku büyümesi gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır [81]. Genel olarak anizotropik yüzeyler Şekil 2.2 ve Şekil 2.3'teki gibi yöntemlerle üretilip elde edilen yapıların genel özellikleri burada özetlenmiştir. Bu tez kapsamında bu yöntemlerin hepsi hakkında bilgi vermek ve ayrıntılı açıklamalarda bulunmak mümkün değildir. Burada sadece en çok ön plana çıkan yöntemler üzerine kısa bir özet verilecektir. Şimdi bu yöntemleri genel hatlarıyla ele alalım.

Proses	Geometri (üstten görünüm)	Yapı büyüklüğü [µm]	Yapı düzeni	Dizilim	Paketlenme Yoğunluğu	Çözünürlük sınırlandırıcısı
Interferans Litografi	 *two-beam *three-beam	 0.01 0.1 1 10			0.2 - 0.7	Dalgaboyu, kırılma indisi
Nanoimprint litografi	 same as master	 0.01 0.1 1 10			0.3 - 0.7	Kalıp dayanımı, resistin molekül ağırlığı
Blok kopolimer kendiliğinden kurulum	 *Templated	 0.01 0.1 1 10		 *templated	0.3 - 0.7	Blokun molekül ağırlığı
Kırıştırma (Wrinkling)	 *uni-directional *bi-directional	 0.01 0.1 1 10		 *templated	≈ 0.5	Malzeme Kombinasyonları

Şekil 2.2. 2-D anizotropik yüzey üretim yöntemleri [81]

Proses	Geometri (yan görünüş)	Yapı büyüklüğü [µm]	Yapı düzeni	Dizilim	Paketleme Yoğunluğu	Boy/Çap	Çözünürlük sınırlandırıcısı
Eşik Litografi		0.01 0.1 1 10			0 - 1	5	Işın dalgaboyu Polimerin kırılma indisi
Multi-foton Litografi		0.01 0.1 1 10			0 - 1	10	Işın dalgaboyu
Kopya Kalıplama		0.01 0.1 1 10			0 - 1	20	Kalın mekanik dayanımı
Metal destekli Kimyasal aşındırma		0.01 0.1 1 10			≈ 0.5	100	Katalizör büyüklüğü ve geometrisi
Eşik açılı Birkütme		0.01 0.1 1 10			≈ 0.5	10	Arayüz enerjisi
Eşik açılı Polimerizasyon		0.01 0.1 1 10			≈ 0.5	10	Arayüz enerjisi
Nanoyapı büyüme		0.01 0.1 1 10			≈ 0.1	1000	Katalizör büyüklüğü ve geometrisi
Elastokapiler Kurulum		0.01 0.1 1 10			0.1 - 1	10	Katalizör büyüklüğü ve geometrisi
Mekanik deformasyon		0.01 0.1 1 10			0.1 - 0.5	10	Mekanik dayanım

Şekil 2.3. 3-D anizotropik yüzey üretim yöntemleri [81]

Fotolitografi mikroelektroniklerin, mikroeletro mekanik sistemlerin (MEMS) ve nanoeletro mekanik sistemlerin (NEMS) üretiminde kullanılan standart yöntemdir. Fotolitografi temel olarak ultraviyole ya da X-ışını kullanarak bir maske aracılığıyla desenlenmiş geometrinin ışığa duyarlı bir resist üzerine aktarılması temeline dayanır [84]. Fotolitografide çözünürlük ışığın dalgaboyu ile kısıtlanmıştır. Fotolitografide ışığın dalgaboyuna bağlı olan bu kısıtlamayı ortadan kaldırmak amacıyla farklı litografik yöntemler geliştirilmiştir. Işığı odaklamak için büyütme objektiflerinin kullanılması [85] kırma indisi yüksek bir sıvının kullanıldığı immersiyon litografi [86] faz kayma maskelerinin kullanılarak UV ışığın çözünürlüğünün artırılması [87] interferans litografi [88] ve kısa dalga boylu ışığın kullanıldığı derin-UV litografi [89] önerilen yöntemler arasındadır.

İnterferans litografide iki ya da daha fazla optik ışın periyodik nanoyapıları oluşturmak için kullanılır. Bu yöntemle çok sıklıkla fotonik kristal yapılarda [88], alan emisyon düz panellerde [90] ve nanoyapı oluşumunda taslak [91] olarak kullanılmaktadır. İnterferans uzayda birkaç elektromanyetik dalganın örtüşmesi sonucu oluşur ve oluşan dalganın genliği üst üste binen dalgaların genliğinin toplamına eşittir. İnterferans litografi ile yapı oluşturmak için tek ışın iki ya da daha fazla ışına ayrılır ve daha sonra interferans yapı oluşturulurken tekrar biraraya getirilir. Düzgün bir yapı oluşturmak için ışınlar uyumlu çalışmalı ve bunların faz farkları sabit olmalıdır.

Nanoimprint litografi (NIL) ise bir kalıp kullanılarak yumuşak polimerik yüzeyde direkt yapı oluşturma yöntemidir. Bu yöntemde katı bir kalıp yumuşak polimerin içerisine basınç ile uygulanır [92]. NIL ile yaklaşık olarak 10 nm yanal çözünürlük ve birkaç nm derinlik çözünürlüğü elde edilmiştir [93]. Bu yöntemle oluşturulan polimer yüzey metal, yarı-iletken ve oksit ince filmlerin desenlenmesinde kalıp olarak kullanılabilir. NIL yöntemiyle organik elektronik [94], fotonik [95], biyosensör [96] ve nanoakışkan [97] işlemleri için yapılar üretilmiştir.

Kırıştırma (wrinkling) yönteminde stres farkları ya da düz bir yüzeydeki malzemelerin farklı özellik göstermeleri temel alınarak desenler oluşturulur. Bu yapılar doğada yapraklarda ve deri yapısında bulunur. Milimetreden nanometre seviyesine kadar çok farklı ölçüde kırışık yapılar elde edilebilmektedir. Kırışık yapılar mikroakışkan elekler,

kırınım yarıkları, hücre büyümesi için kalıp ve koloidal kristal kurulumunda kullanılmışlardır [98-100].

3-D anizotropik yapı oluşturmak için en çok kullanılan yöntem eğik litografidir. Klasik litografide düz yan duvarlar elde edilir ve dikey yöndeki özellikleri kontrol etmek mümkün değildir. Burada en çok kullanılan SU8 gibi fotoresistler yüksek boy/çap oranında nanoyapılar oluşturulabilmektedir. Fakat bunlar özel uygulamalar gerektirmektedir [101]. Bu sorunları gidermek amacıyla eğik litografi geliştirilmiştir. Bu yöntemde 3-D yapılar yüzey ve ışık kaynağı belli bir eğim açısıyla tutulmakta ve tercihen yüzey ya da maske belli bir hızda döndürülmektedir. Bu şekilde oluşturulan yüzeylerin yanal ve derinlik çözünürlükleri 1-100 μm seviyesindedir.

Kopya kalıplama yönteminde mikro ve nanoyapılar bir kalıp ve transfer ortamı olarak ise bir polimer ile oluşturulur. Bu yöntemde polidimetilsiloksan ya da poliüretan gibi yumuşak bir polimer katı maskenin negatifi olarak üretilir. Böylelikle milimeterden nanometre ölçeğe kadar geniş bir ölçekte çalışma imkanı doğar. Bu teknik genel anlamda bir yumuşak litografi tekniğidir ve bu konuda daha ayrıntılı bilgi için ilgili literature bakılabilir [102, 103].

Metal destekli kimyasal aşındırma yöntemi ilk olarak yukarıdan-aşağıya üretim yaklaşımıyla silikon yüzey üzerine silikon nanoteller oluşumunda gösterilmiştir [104]. Bu yöntemde bir metal katalizör ve oksitleyici varlığında ve HF ortamında silikon yüzey aşındırılır. Bu şekilde silikon yüzeyin kristal yapısına bağlı olarak dik yönlenmiş ya da eğik nanoteller oluşturulur [105].

Eğik açı biriktirme yöntemi bir fiziksel buhar birikim yöntemi olup, bu şekilde 3-D anizotropik filmler oluşturulmaktadır. Bu teknik ilk olarak MgF_2 heliks yapılarının yansıyan ışığın polarizasyon düzlemini çevirmesinin bulunmasıyla dikkat çekmiştir [106]. Burada yüzey belli bir açıyla eğildiğinde kendiliğinden gölgeleme sonucu gelen buhar belli bir yönde yönlenmiş yapılar şeklinde birikir [107]. Ayrıca bu yöntem kapsamında yüzeyin belli bir hızda döndürülmesi heliks ve zigzag gibi çok farklı yapıda film oluşumuna olanak sağlamaktadır. Bu yöntemde yanal boyutlar 10-1000 nm

aralığındadır ve yükseklik ise birkaç nanometreden micron boyutlarına kadar ayarlanabilmektedir.

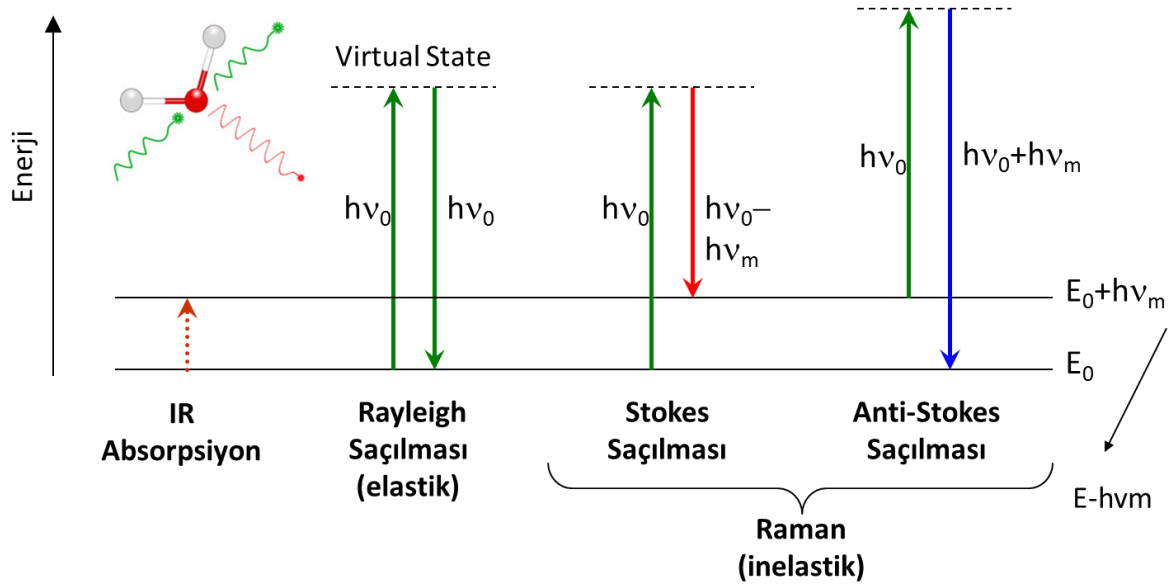
Eğik açı polimerizasyon yöntemi temel olarak eğik açı birikim yöntemine benzemekle beraber yüzeyde anizotropik yapılar monomerlerin polimerleşmesiyle oluşturulur. Bu şekilde heliks yapılar ilk kez 2005 yılında elde edilmiştir [108]. Bu yöntemde kimyasal birikim yönteminden farklı olarak akış yüzeye belli bir açı ($\sim 10^\circ$) ile yapılır. Bu yöntem kullanılarak elde edilen anizotropik yüzeylerin ıslanma, adhezyon [109, 110] ve SERS [111] özellikleri incelenmiştir.

2.2. Klasik Raman Spektroskopisi (RS)

Raman saçılması 1928 yılında Dr. Chandrasekhara Venkata Raman tarafından Hindistan'da keşfedilmiştir [112]. İzleyen yıllarda Dr. Raman ışık saçılması ve kendi adını taşıyan ışık etkisinin keşfi üzerine yaptığı çalışmalardan dolayı 1930 yılı Nobel fizik ödülünü almıştır. Dr.Raman bu çalışmalarında elde ettiği bulgu ve gözlemleri yeni ikinci tür bir radyasyon olarak nitelemiş ve çıplak gözle birçok organik sıvı ile yaptığı deneylerde inelastik bir saçılmanın varlığını kanıtlamıştır. Daha sonraları bu bulgular Raman etkisi ya da Raman saçılması olarak adlandırılmıştır. Raman etkisinden kaynaklanan bu sinyallerin ölçülmesi ve analiz (fotonlar) edilmesiyle Raman spektroskopisi ortaya çıkmıştır.

Raman etkisinin anlaşılabilmesi için ışığın madde ile etkileşimini anlamak gerekir. Bu da en iyi ve en kolay anlaşılabilir şekilde kuantum mekanik etki kullanılarak açıklanabilir. Moleküle düşük enerjide ışık verilirse molekülün titreşim (vibrational) hareketlerinde değişim olur bu değişimler izlenerek ve analiz edilerek infra-red (IR) spektroskopi geliştirilmiştir. Eğer molekül kendisini uyarabilecek enerjiden daha fazla enerjiye sahip bir ışıkla etkileşirse molekül temel halden (ground state) aldığı enerji ile uyarılmış hale (virtual state) geçer. Elektron uyarılmış halde çok kararsız olduğundan çok kısa sürede (ps mertebesinde) tekrar kararlı temel hale döner. Elektron ilk haline döndüğünde saçılan ışığın enerjisi gelen ışığın enerjisi ile aynı oluyorsa bu durum elastik saçılma olarak kabul edilir ve Rayleigh saçılması olarak adlandırılır. Fotonların çok az bir kısmı ise uyarılmadan önceki enerji seviyelerinden farklı bir seviyeye dönerler. Bu durumda ilk hale göre inelastik saçılmadan dolayı bir enerji farklılığı ortaya çıkar. Eğer yüksek bir

enerji seviyesinde kalınırsa Stokes saçılması, daha düşük bir seviyede kalınırsa anti-Stokes saçılması gözlenir. Bu durum şematik olarak Şekil 2.4'te özetlenmiştir.



Şekil 2.4. Işık-molekül etkileşiminde enerji değişimleri

Raman saçılmasının açıklanması için kullanılan bir başka yöntem ise klasik yaklaşımdır. Bu yaklaşımda ışık bir elektromanyetik (EM) dalga ve molekül ise birbirine bir yay ile bağlı küçük küreler olarak kabul edilerek modellenir. Bu model Şekil 2.5'te gösterilmiştir. Gelen ışık elektromanyetik olarak şöyle formülize edilebilir;

$$E(x,t) = E_0 \cos(\omega t - kx) \quad (2)$$

İndüklenmiş dipol (μ) ise;

$$\mu = \alpha \cdot E \quad (3)$$

Burada α ise polarizibilite tensörüdür ve ışığın elektrik alanı denkleminde yerine yazılırsa;

$$\mu = \alpha \cdot E_0 \cdot \cos(\omega_L t) \quad (4)$$

olarak elde edilir. Polarizibilite tensörü molekülün konformasyonuna bağlıdır ve molekül titreştikçe değişir. Buna göre;

$$\alpha = \alpha(Q), (Q, \text{ titreşim koordinatı}) \quad (5)$$

olarak belirlenir. Buna göre α Taylor serisi ile geliştirilirse;

$$\alpha = \alpha_o + \left[\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right] \cdot Q + \dots \dots \quad (6)$$

elde edilir. Burada

$$Q = Q_o \cdot \cos (\omega_M t) \quad (7)$$

olarak tanımlanmıştır. Şimdi (5), (6) ve (7) nolu denklemler sırasıyla (4) nolu denklemde yerine yazılırsa;

$$\mu = \alpha \cdot E_o \cdot \cos(\omega_L t) + \left[\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right] \cdot Q_o \cdot E_o \cdot \cos(\omega_M t) \cdot \cos(\omega_L t) \quad (8)$$

$$\mu = \alpha \cdot E_o \cdot \cos(\omega_L t) + \left[\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right] \cdot Q_o \cdot E_o \{ \cos[\omega_L - \omega_M]t + \cos[\omega_L + \omega_M]t \} \quad (9)$$

olacak şekilde indüklenmiş dipol elde edilir.

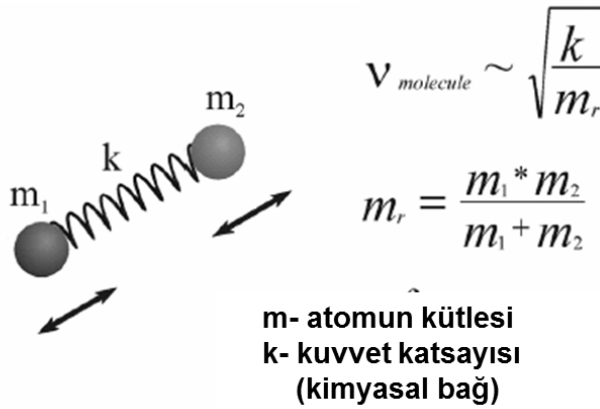
(9) nolu denklemde üç tane terim olduğu açıktır. Bu terimlerden herbiri emisyon ışığın farklı bir frekansı için indüklenmiş dipol karşılığıdır. İlk terimde emisyon ışığın frekansının gelen ışığın frekansı ile aynı olduğu görülmektedir. Bundan dolayı bu elastik saçılmaya karşılık gelmekte ve yukarıda belirtildiği gibi Rayleigh saçılması olarak adlandırılmaktadır. İkinci ve üçüncü terimlerde ise frekans değerlerinde bir kayma olduğu açıktır. Bu iki terim sırasıyla Stokes ve anti-Stokes saçılmasına karşılık gelmektedir. Frekansta görülen bu değişim yukarıda kuantum mekanik etki ile karşılaşılan enerji değişimine karşılık gelmektedir. Buna göre son olarak Raman saçılmasında Stokes ve anti-Stokes durumu için Raman şiddetleri şu şekilde korele edilebilir;

$$I_{stokes} \sim (\omega_L - \omega_w)^4 \cdot \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)^2 \cdot I_o(\omega_L) \quad (10)$$

$$I_{anti-stokes} \sim (\omega_L - \omega_w)^4 \cdot \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)^2 \cdot I_o(\omega_L) \cdot e^{\frac{-h\nu_M}{kT}} \quad (11)$$

Yukarıda verilen şekliyle Raman spektroskopisini iki farklı bakış açısıyla anlatmaya çalıştık. Hem klasik ve hem kuantum mekanik bakış açısı kendi içlerinde birtakım avantajlar bulundurmaktadır. Kuantum açıklaması daha anlaşılır ve uyarılma halini anlamayı daha kolaylaştırdığı halde hesaplama yapmaya olanak sağlamamaktadır. Klasik açıklama ise daha düz ve sayısal ilişkileri göstermesi bakımından daha avantajlıdır. Bundan dolayı bu konudaki çalışmalarda bu yaklaşım daha ön plana çıkarılmaktadır.

Moleküler titreşimler

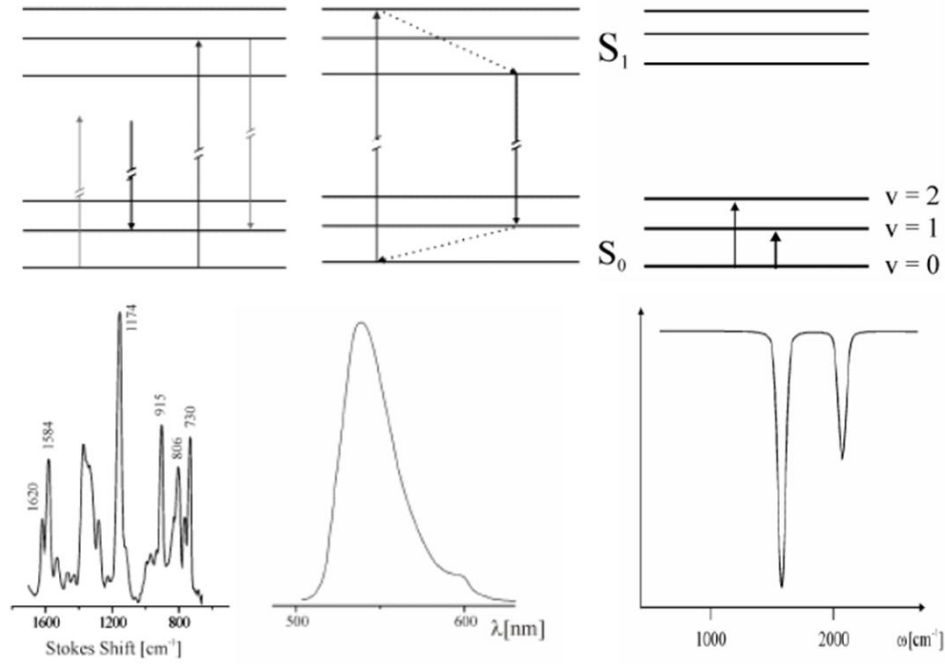


Şekil 2.5. Klasik açıklamada kullanılan yay modeli

Kuantum bakış açısına göre fotonun moleküllerle etkileşme olasılığına karşılık gelen kesit bölgesi (cross section) kavramını geliştirmemiz gerekir. Kesit bölgesi emisyonun şiddetini doğrudan değiştiren bir parametredir. Burada karşılaştırma yapmak amacıyla farklı saçılmalar (Raman, floresans ve IR) için kuantum açıklamaları Şekil 2.6'da gösterilmiştir. Buna göre floresans titreşimin yatışmasını (relaxation) içerirken, Raman ise farklı titreşimsel modlara hassaslık göstermektedir. Bundan dolayı Raman floresanstan daha hassastır ve Raman kullanılarak moleküllerden parmak izi şeklinde farklı sinyaller almak mümkündür. IR ise Ramanı tamamlayan bir teknik olarak kabul edilmektedir. Molekül titreştikçe IR hassaslığı için μ değişimi gereklidir. Ramanda ise α 'da değişimin olması gerekir.

Bir başka önemli nokta ise Ramandaki kesit bölge floresansa göre çok çok küçüktür. Floresansta bu değer yaklaşık olarak $10^{-16} \text{ cm}^2/\text{molekül}$ iken Ramanda bu sadece $10^{-31} - 10^{-26} \text{ cm}^2/\text{molekül}$ aralığındadır. Bu durum Raman ile ilgili çalışmalarda karşılaşılan en

büyük zorluktur. Ayrıca bunun yanında saçılan fotonlardan sadece $1/10^7$ 'si gibi düşük bir oranı Raman saçılmasını oluşturmaktadır. Bundan dolayı Raman saçılması uzun bir süre geniş bir kullanım fırsatı bulamamıştır. Bu durum 1974 yılında Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisinin (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) ortaya konulmasına kadar devam etmiştir. İzleyen bölümlerde bu başlıkla ilgili daha ayrıntılı bilgiler verilecektir.



Şekil 2.6. Farklı saçılmaların karşılaştırılması

2.3. Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS)

Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) kısaca molekül kaynaklı Raman sinyal şiddetinin artırılması temeline dayanan bir tekniktir. SERS'te sinyal şiddetinin artması ışık ile metal arasındaki elektromanyetik etkileşimler ve uyarılmalar ile meydana gelen plazmon rezonanslar sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu durumdan yararlanılabilmesi için moleküller ya metal yüzeye adsorplanmış olmalı ya da yüzeye çok yakın olmalıdır ($10 \text{ nm} <$). SERS kavramının iyi anlaşılabilmesi için SERS'i oluşturan temel bileşenleri anlamak gerekir. Bu bağlamda bu bileşenler ve SERS için anlamları şöyle özetlenebilir:

- *Yüzey (Surface, S)*: SERS yüzey temelli bir spektroskopik yöntemdir ve moleküllerin yüzeyde ya da yüzeye çok yakın bir yerde olması gerekir. Bu, SERS uygulamalarındaki temel unsurlardan biridir. Bundan dolayı analiz edilecek numune metal yüzeye tutturulmalı ya da uygun bir uzaklıkta olacak şekilde yüzeye yaklaştırılmalıdır. Moleküllerin yüzeye uygun şekilde transferi pratik SERS uygulamalarında karşılaşılan temel zorluklardandır.
- *Zenginleştirme (Enhanced, E)*: Sinyal zenginleştirilmesi metal yüzeyindeki plazmon rezonanslar tarafından gerçekleştirilir. Plazmon rezonans terimi elektromanyetik radyasyonun metal yüzey ile etkileşimi sonucu oluşan bir dizi etkiyi açıklamak için kullanılır. Zenginleştirme ile ilgili daha ayrıntılı bilgilere izleyen kısımlarda yer verilecektir.
- *Raman (R)*: Bu teknik Raman sinyalinin ölçülmesine dayanır. Bu kısım ile ilgili ayrıntılı bilgi daha önceki kısımlarda ayrıntılı olarak verilmiştir.
- *Saçılma ya da Spektroskopi (Scattering/Spectroscopy, S)*: Burada SERS kavramı içindeki ikinci S'nin kullanımı vurgulanmak istenen noktaya göre değişmektedir. Optik etki vurgulanmak istendiğinde saçılma (scattering), tekniğin kendisi ya da uygulaması vurgulanmak istendiğinde ise spektroskopi (spectroscopy) kavramı kullanılır.

SERS ile ilgili yapılan bu basit tanımlamalar ışığında bu tekniğin kendiliğinden çok disiplinli bir doğasının olduğunu rahatlıkla söyleyebiliriz. Genel olarak fiziksel kimya alanının bir başlığı olarak sayılmakla beraber, plazmon rezonansların elektromanyetik teorisi ile fiziksel, moleküllerin yüzeyde adsorpsiyonu ile kimyasal olaylarla ilgili alanları ilgilendirmektedir. Ayrıca SERS için yüzeylerin oluşturulması ve birtakım biyolojik sistemlerin kullanılmasından dolayı başta mühendislik olmak üzere birçok farklı bilimdalının SERS ile ilgili çalışmalara yönlendirmiştir.

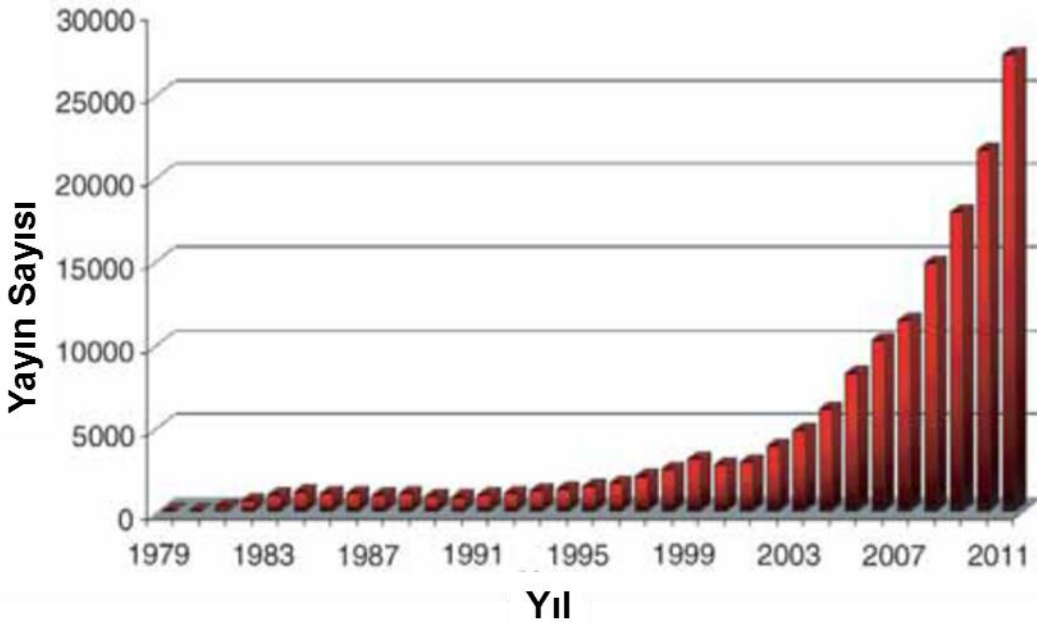
Klasik Raman spektroskopisinden SERS'e geçiş uzun bir süreçte olmuştur. Dr. Raman 1928 yılında Raman saçılmasını keşfetmesine rağmen, SERS ile ilgili temel bulgulara günümüzden yaklaşık 40 sene önce varılmıştır. Fleischmann ve ark. 1974 yılında piridin analizi konusunda çalışırken elektrokimyasal yöntemlerle gümüş yüzeyin pürüzlülüğünü arttırarak yüzeyde adsorplanan piridin miktarını arttırmayı düşünmüşlerdir [113]. Bu

Çalışma sonucunda yüzeyden çok yüksek sinyal/gürültü oranına sahip adsorplanan piridin için Raman spektrası alınmıştır. Yazarlar bu zenginleştirmeyi elektrokimyasal yöntemle przlenen gümüşün yüzey alanındaki artışa bağlamışlardır. İki yıl sonra iki ayrı çalışma grubu birbirlerinden bağımsız olarak Raman zenginleşmesinin yüzey alanı artışının çok ötesinde farklı nedenlerle açıklanması gerektiğini belirtmişlerdir [114, 115].

Raman sinyal şiddetindeki artış yaklaşık 10^5 - 10^6 olarak hesaplanmıştır. Daha sonraları metal yüzeylerdeki optik etkilerden oluşan zenginleştirme Moskovits tarafından açıklanmıştır [116]. Bu yeni kavram zamanla birçok farklı araştırma grubu tarafından yoğun çalışmaların yapıldığı bir alan olarak fenomen haline gelmiş ve temel bileşenleri ağırlıklı olarak iyi bir şekilde açıklanmıştır [117]. Daha sonraları yapılan çalışmalarla sadece pürüzlü gümüş yüzeylerin SERS substrat olarak olmadığı anlaşılmıştır. SERS'in keşfedilmesinden sonra birçok yıl içinde altın ve bakır nanopartiküllerin de bu amaçla kullanılabileceği ispatlanmıştır [118]. Görünür bölge dalgaboyları için gümüş, altın ve bakırın yüzey plazmon oluşturma yeteneğinde olduğu ve SERS'te elde edilen zenginleştirmenin büyük çoğunluğunun bundan kaynaklı olduğu saptanmıştır [116]. Yüzey plazmonlarının uyarılması nano-ölçekli metalik yüzeylerde lokalize elektrik alanın zenginleşmesine neden olmakta ve hem ışık uyarılmasına hem de saçılma radyasyonun oluşumunu sağlamaktadır. Lokal alan şiddeti, etkileşen komşu nanoyapılar arasındaki uzaklık 1-2 nm civarında olduğunda daha yüksek olmaktadır [119]. Lokal elektromanyetik alanın bu şekilde çok daha şiddetli olan bölgelerine SERS sıcak noktaları (SERS hotspots) denilmektedir. Yüzey plazmon temelli model SERS ile ilgili çoğu deneysel sonucu açıklamakla beraber tümü için kullanılamamaktadır. Bu modelde kullanılan numunenin kimyasal yapısının SERS zenginleştirmesiyle olan ilişkisi ihmal edilmektedir. Bu ilişki SERS için tasarlanan kimyasal modellerle açıklanmaya çalışılmaktadır. Birçok kimyasal modelde kimyasal sorpsiyona bağlı olarak yeni elektronik haller kabul edilir ve SERS'in kimyasal yapıyla olan ilişkisi ağırlıklı olarak rezonans Raman etkisi ile açıklanmaya çalışılır [120-122]. 1980'li yıllarda yapılan teorik modellerde yüzey plazmon ve kimyasal mekanizma temelli zenginleştirmenin SERS için temel katkısı sunduğu belirtilmiştir [117]. 1980'li yılların ikinci yarısından sonra SERS ile ilgili araştırmalar daha çok gelecek vaad eden SERS uygulamaları ve bunların açıklanması üzerine olmuştur [123-125]. Bu dönemde yapılan alışmalar SERS ile ilgili

Çalışmalarda temel sorunun yüzey hazırlanmasında yapılan çok küçük değişikliklerin bile zorluklara neden olduğu ve bunun kontrol edilemediğini göstermiştir. Bu sorunlar elde edilen SERS performansının değişiklik göstermesine neden olmuştur. Uzun süre boyunca aşılamayan bu zorluklar SERS'in analitik bir yöntem olarak gelişimini engellemiştir. Tüm bu sorunlara rağmen yine de SERS kullanılarak biyosensör [126] ve elektrokimyasal [127, 128] başta olmak üzere birçok farklı uygulama alanında eser miktarda numune analizi gerçekleştirilmiştir.

SERS'in gelişimiyle ilgili bir sonraki kilometre taşı 1997 yılında iki ayrı grup tarafından birbirlerinden bağımsız olarak SERS ile tek molekül tanısının (single molecule detection) yapılmasıdır [129, 130]. Tek molekül dedeksiyonu SERS'in floresans spektroskopisi (fluorescence spectroscopy) ve taramalı tünelleme metodu (scanning tunneling methods) gibi çok düşük derişimde çalışılabilen yöntemler arasına girmesini sağlamıştır. SERS'in diğer tek molekül tayini yapan diğer yöntemlere göre en sıradışı özelliği Raman saçılma sinyalinin numune molekülünün titreşimsel (vibrational) bilgisini içermesidir. Tek molekül tayini SERS çalışmalarına yeni bir yn ve heyecan getirmiştir. Bu gelişimler sonraki yıllarda metalik nanopartiküllerin hazırlanması ve SERS yüzeylerinin üretimi ile ilgili yeni nanofabrikasyon yöntemlerinin geliştirilmesiyle çok daha büyük ivme kazanmıştır [4, 131, 132]. Bu konuda artan ilgiye paralel olarak yoğun çalışmalar ve buna paralel olarak birçok yayın gerçekleşmiştir. şekil 2.7'de 'surface enhanced Raman' anahtar kelimeleriyle Web of Science araması sonucu elde edilen yayın sayısının yıllara göre dağılımı verilmiştir [133]. Görüldüğü gibi özellikle 21. yüzyıl başında nanaoteknolojide yaşanan hızlı gelişmelere paralel olarak SERS hızla popülerlik kazanan bir analitik yöntem halini almıştır.



Şekil 2.7. SERS tekniğine artan ilginin Web of Science verilerine göre yayın sayısı olarak yansımaları [133]

SERS görece olarak çok az tipte metal yüzeyde çok farklı morfoloji ve fiziksel koşullarda adsorplanan çok farklı moleküllerde gözlemlenebilen bir durumdur. Alkali metaller ve daha başka metallerde de bu konuyla ilgili hazırlanmış yüzeyler ve çalışmalar olmasına karşın gümüş, altın ve bakır SERS araştırmalarının en çok kullanılan baskın metallerdir. Genel anlamda en yüksek zenginleştirmeler nanoölçekte gözenekliliğe sahip (10-100 nm) yüzeylerde gerçekleşmektedir. Bu yüzeyler bir ya da daha fazla indirgenme-yükseltgenme basamağıyla pürüzlendirilen elektrotlar, yüksek sıcaklıkta cam yüzeyine oluşturulan film adacıkları, vakum altında buhar fazında oluşturulan filmler, kolloid nanopartiküller (özellikle agregat olanlar) ve litografik tekniklerle üretilen nanoyapılardan oluşmaktadır. Uzun zaman boyunca atomik ya da nanoölçekteki pürüzlülüğün SERS için zorunlu olduğu düşünülmüştür. Mevcut çalışmalar bunun böyle olmadığını ortaya koymuştur [122].

SERS ile ilgili çalışmaların yapıldığı çalışmaların yapıldığı ilk günlerde deneysel verilerin açıklanmasına yönelik olarak zenginleştirme ile ilgili çok farklı mekanizmalar önerilmiştir [133]. Zamanla bu önerilerin çoğunun yanlış olduğu ortaya çıkmıştır. Gerçekleşen bu ayıklama sonucu iki mekanizma hayatta kalabilmiş ve genel kabul görmüştür. Bunlar

elektromanyetik (EM) ve kimyasal zenginleştirme mekanizmalarıdır. EM mekanizma uygun morfolojideki metal yüzeylerin EM alan ile zenginleştirilmesine odaklanırken, kimyasal mekanizmada metal yüzeye adsorpsiyon sonucu molekülün elektronik yapısında meydana gelen değişim temel alınır. Aşağıda bu iki temel mekanizma ile ilgili kısa açıklamalara yer verilmiştir. Genel okuyucu için konunun daha iyi anlaşılabilmesi için karmaşık denklemlere yer verilmemiş konu olabildiğince sade ve anlaşılır tutulmaya çalışılmıştır. Daha ayrıntılı bilgi için ilgili literature bakılabilir [133-136].

Şimdi bu kısımda EM zenginleştirmeyi açıklamaya çalışalım. Bir iletken içerisindeki elektron bulutunun kollektif olarak uyarılmasına plazmon denilmektedir. Eğer bu uyarılma yüzeye yakın bölgelerde gerçekleşirse bu yüzey plazmon olarak adlandırılmaktadır [135]. Yüzey plazmonlar ızgaraya benzer bir şekilde yüzeylerde yayılabileceği gibi küresel bir partikülün üzerinde lokalize bir halde de bulunabilir. Şekil 2.8'da 35 nm çapındaki küresel bir nanopartikülün ışıkla etkileşimi sonucu oluşturduğu lokalize plazmonlar gösterilmiştir. Yüzeydeki pürüzlülükler ve kavisler plazmonların ışıkla daha iyi uyarılmasını sağlar. Yüzeydeki ışığın elektromanyetik alanı yüzey plazmon uyarılma durumunda yüksek oranda artırılabilir. Bu durumda hem gelen lazerin alanı ve hem de lazerin yüzeydeki nanoyapılarla etkileşerek elektromanyetik SERS zenginleşmesini sağlar.

Yıllar boyunca farklı seviyelerde EM mekanizmanın açıklanmasına katkı sağlayan çok sayıda elektromanyetik teori geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen deneysel ve teorik EM zenginleştirme ile 10^{11} - 10^{12} mertebesinde Raman sinyal zenginleştirmesini sağlanabileceği gösterilmiştir [137]. Model sistem olarak izole küreler, izole elipsoidler, birbirleriyle etkileşen küreler, birbirleriyle etkileşen elipsoidler, rastgele pürüzlü yüzeyler gibi farklı yaklaşımlar denenmiştir. Bu sistemler çok farklı karmaşıklık derecelerine göre incelenmiştir. Bu konu ile ilgili daha ayrıntılı süreli yayınlardan izlenebilir [138].

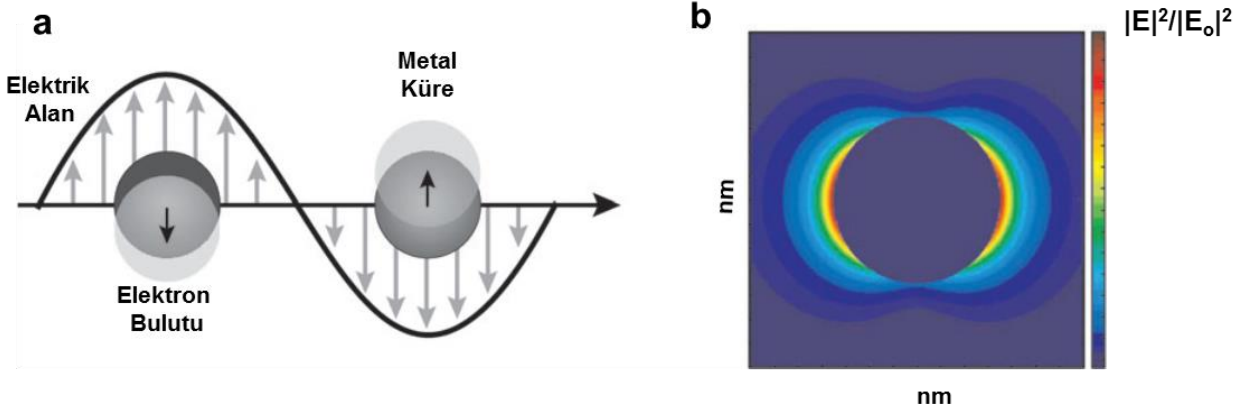
Birçok kaynakta EM mekanizmanın altında yatan fiziksel temeller metal bir kürenin dış bir elektriksel alana uğraması sonucu gerçekleşen değişimlerle anlatılmaktadır [134]. Yarıçapı ışığın dalga boyunda daha küçük olan bir küre için elektriksel alan partikül boyunca tekdüzedir ve elektrostatik yaklaşımla iyi açıklanır. Kürenin yüzeyinde

indüklenen alan uygulanan dış alana bir başka deyişle lazere denklem 12'ye göre bağlıdır.

$$E_{\text{indüklenmiş}} = \{[\epsilon_1(\omega) - \epsilon_2]/[\epsilon_1(\omega) + 2\epsilon_2]\} E_{\text{lazer}} \quad (12)$$

Burada $\epsilon_1(\omega)$ metalin frekansa bağlı dielektrik fonksiyonu, ϵ_2 ortamın göreceli geçirgenliğinin belirtmektedir. Bu foksiyon $\epsilon_1 = -2 \epsilon_2$ frekans degeri için rezonans durumundadır. Molekül partikül yüzeyinin üzerinde olduğu zaman yüzey plazmonlarının uyarılması lokal elektrik alanının (E) çok büyük oranda artmasına neden olur. Partikül gelen lazer alanıyla beraber Raman saçılma alanının da zenginleşmesini sağlar. Burada bir anten işlevi görerek saçılan ışığın şiddetini artırır. Yukarıdaki tartışmadan lokal elektik alan artışıındaki çok küçük değişimlerin Raman saçılmasında çok büyük artışlara neden olduğu kolaylıkla anlaşılabilir. Şu nokta büyük önemle akılda tutulmalıdır; Raman saçılması şiddeti elektrik alanının üstel dördüncü kuvvetiyle (E^4) orantılıdır.

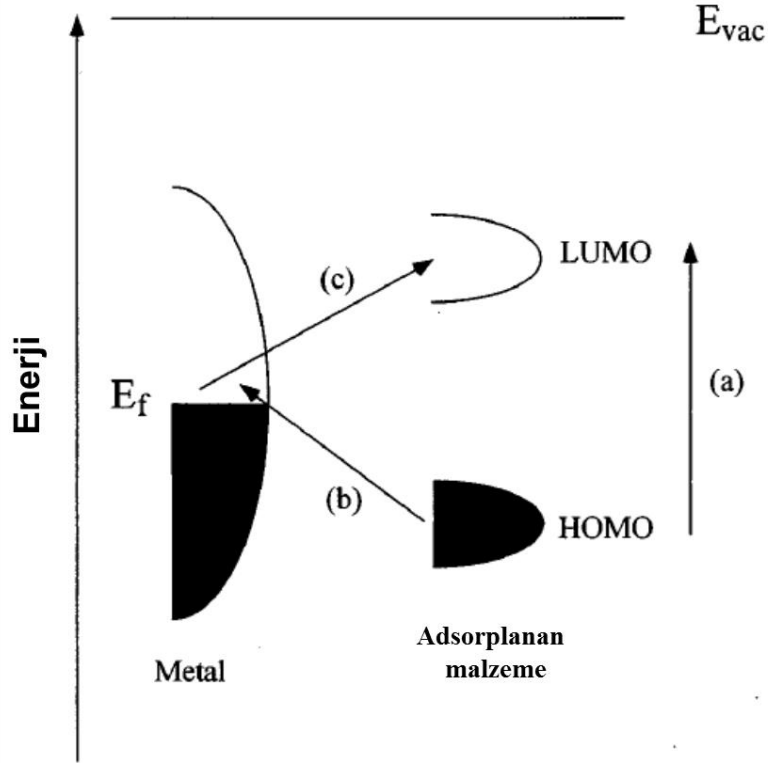
Görüldüğü gibi bu basit model en azından kalitatif olarak deneysel gözlemlerin çoğunu tek başına açıklayabilmektedir [134]. Basit olması açısından küresel bir partiküle uygulanan bu model SERS araştırmalarında kullanılan yüzeylere de kolaylıkla uygulanabilmektedir. Denklemden sayısal faktör olarak kullanılan 2 değerinin her yapı için farklı bir değere sahip olduğunu göz önünde bulundurmak gerekir. SERS yüzeyi olarak ağırlıklı olarak değeri metallerle alkali metallerin kullanılması Raman spektroskopisi kullanılan görünür bölge frekanslarının rezonans bölgelerinin bu malzemelere karşılık gelmesiyle açıklanabilir. Diğer metallerin yüzey plazmon rezonans bölgeleri EM spektrumun farklı bölgelerine karşılık gelmektedir. Ayrıca değeri metaller ve alkali metallerin dielektrik fonksiyonlarının sanal kısmı (katılardaki kaybı gösterir) rezonans frekans değerinde oldukça küçüktür. Düşük kayıplı malzemeler saçılma ve dağıtma mekanizmalarından dolayı daha keskin ve şiddetli rezonans oluştururlar. Genel anlamda malzemeden istenen temel özellik ϵ_1 değerinin gerçekte kısmının rezonans şartlarıyla uyumlu ve negatif olması ve ϵ_1 değerinin sanal değerinin ise pozitif ve olabildiğince sıfıra yakın olmasıdır [133].



Şekil 2.8. a) Lokalize plazmon rezonans etkisi ve b) 35 nm çapındaki metalik nanopartikülde plazmon dağılımı [135]

Yapılan çalışmalar EM mekanizmadan farklı ve bağımsız olarak ikinci bir mekanizmanın olduğunu ortaya koymuştur [134]. Bu ikinci mekanizma EM mekanizma ile aynı anda olmakta ve zenginleştirmeyi ikisi beraber daha da arttırmaktadır. Buradaki temel zorluk sisteme etki eden parametreleri birbirinden ayırmaktır. Bundan dolayı kimyasal zenginleştirmenin varlığı anlaşılabilir. EM zenginleştirme birçok durumda yüzeye adsorlanmış moleküller için seçici değildir. Fakat, örneğin CO ve N₂ molekülleri aynı deneysel koşullarda 200 katlık bir zenginleştirme farkı göstermişlerdir. Bu sonucu EM zenginleştirme ile açıklamak oldukça zordur. Moleküllerin polarizibiliteleri aşağı yukarı aynıdır ve hatta adsorpsiyon orientasyonda olabilecek en radikal değişimler böyle bir farkı oluşturamaz. Kimyasal mekanizmanın varlığını ispatlayan bir başka bulgu ise potansiyel bağımlı elektrokimyasal deneylerdir. Potansiyel sabit bir lazer frekansında taranırsa ya da lazer frekansı sabit bir potansiyelde taranırsa geniş rezonanslar gözlenmektedir. Bu gözlemler rezonans Raman mekanizmasıyla iki farklı şekilde açıklanabilir: a. adsorplanan molekülün elektronik hali yüzeye etkileşerek kaymış ve genişlemiş, b. kimyasal sorpsiyondan dolayı yeni oluşan elektronik haller Raman saçılmasında ara rezonans haller oluşturmaktadır. Eldeki veriler ikinci açıklamayı desteklemektedir. Adsorplanan molekülün en yüksek dolu moleküler orbital (highest occupied molecular orbital, HOMO) ve en düşük dolmamış moleküler orbitalinin (lowest unoccupied molecular orbital, LUMO) metalin Fermi seviyesine göre enerjide simetri olarak düzenlenmesini beklemek pek olası değildir (Şekil 2.9). Bu durumda adsorplanan molekülün yaklaşık olarak gerçek molekül içi uyarılmasının yarısı kadar enerji yük

transfer uyarılması gerçekleşir. Bu uyarılma ya metalden moleküle ya da molekülden metale olabilir. SERS ile sıklıkla çalışılan moleküller görünür bölge spektrumunda yük transfer uyarılması yapabilmeleri için yakın ultraviyole bölgede en düşük elektronik uyarılmalarında bulunurlar. Kimyasal zenginleştirme ile 10^1 - 10^3 mertebelerinde Raman sinyal zenginleştirilmesi sağlanabilmektedir. Tez kapsamında yapılan çalışmalarda temel amaç uygulamaya yönelik platformların geliştirilmesi olduğundan mekanizmayla ilgili daha ayrıntılı açıklamalara yer verilmeyecektir. Süreli yayınlarda bu konu ilgili derleme yayınlardan özelde fiziksel etkiler [138], genel [139] , elektrokimya [140], biyomoleküller [141], medikal uygulamalar [142] ve sensor uygulamaları [126] için bakılabilir.



Şekil 2.9. Metal bir yüzeye adsorplanan molekülün tipik bir enerji seviyesi diyagramı. Olası yük transfer uyarılmaları oklarla gösterilmiştir [134]

SERS sürecini ve buna bağlı olarak sinyal zenginleşmesine etki eden parametreler şöyle özetlenebilir [143, 144];

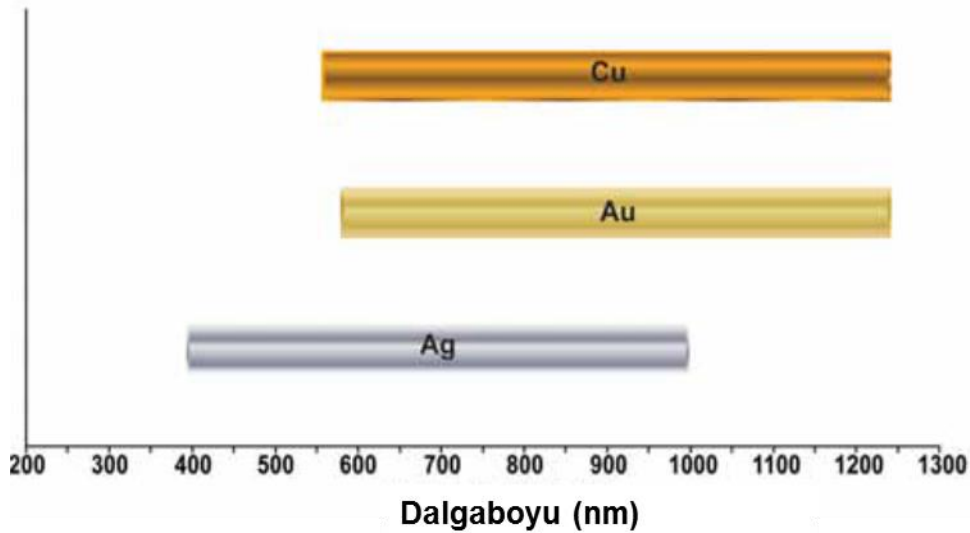
- *Lazer uyarılmanın genel özellikleri:* özellikle dalgaboyu, polarizasyon, geliş açısı (düz yüzeye göre) vb.

- *Dedeksiyon düzeneği:* özelde ise saçılma konfigürasyonu, polarize ve/veya polarize olmayan dedeksiyon vb.
- *SERS yüzeyinin özellikleri:* Malzeme türü (genellikle altın ve gümüş), geometri, gelen ışığın yönüne göre orientasyon, polarizasyon ve ortamın kırılma indisi.
- *Numuneye has özellikler:* Raman polarizabilite tensor modları (ya da gerçek Raman enine kesitleri)
- *Numunenin adsorpsiyon özellikleri:* adsorpsiyon verimi ve numune derişimi (yüzey kaplanması), yüzeyden uzaklık, adsorpsiyon orientasyonu (sabit ya da değişken) ve adsorpsiyon ile Raman polarizabilitede olası değişimler.

SERS çalışmalarında yukarıda belirtildiği gibi değişken olabilecek birçok farklı parametre olmasına karşın, genel anlamda moleküler olarak analiz edilecek numune (prop molekül) ve molekülün adsorplandığı ve zenginleştirmeyi sağlayan metalik alttaş (substrat) özel önem taşımaktadır. Bu iki unsur büyük ölçüde birbirinden bağımsız olmakla beraber birbirleriyle uyum içerisinde olmaları gerekir. Buradaki uyum sözüyle vurgulanmak istenen plazmon rezonanslarla elde edilen Raman sinyal zenginleştirilmesinin sağlanması amacıyla prop molekülün yüzeyle uygun şekilde etkileşirebilecek konuma getirilmesidir.

Bu aşamada sorulması gereken temel soru şudur: İdeal bir SERS platform nasıl olmalıdır? İyi bir SERS yüzeyi en basit şekliyle en güçlü plazmon oluşturan yapıda olmalı ya da bir başka deyişle en büyük sinyal zenginleştirmesini sağlayacak özellikte olmalıdır [133]. Bu noktada görece aynı (uniform) zenginleştirmeyi yüzeylerle büyük değişkenlik gösteren fakat yüksek plazmon oluşturan yüzeyler arasındaki farkı belirtmek ve anlamak gerekir. Uniform yüzeyler büyük ölçeklerde kolaylıkla üretilebilen, tekrarlanabilirliği yüksek fakat yüzey plazmon oluşturma kabiliyeti görece daha düşük yapılardan oluşur. Diğer tür yüzeyler ise üretimi zor ve sadece çok küçük ölçekte üretilebilen, tekrarlanabilirliği düşük fakat tek molekül tanısına (single molecule detection) bile fırsat verecek yoğunlukta plazmon oluşturabilecek yapıdadır. Bu bağlamda SERS yüzeyi seçilirken tanı limit derişimi ve eldeki imkanlara uygun bir seçim yapılması gerektiği açıktır.

Ayrıca temel olarak SERS zenginleştirmeleri temel olarak yüzeyin rezonans cevabına bağlı olduğundan, elde edilen zenginleştirmeye uyarılmayı yapacak ışık ve onun dalga boyu daha çok etki etmektedir [133]. Bundan dolayı kullanılacak SERS yüzeyi sınırlı bir dalgaboyu aralığında iyi zenginleştirme verecek nitelikte olmalıdır. Bu bakımdan ya ışık dalgaboyuna göre yüzey seçilmeli ya da yüzeye uygun ışık kaynağı belirlenmelidir. Başka türlü bir uygulama sonucunda SERS zenginleştirmesi alınamaz. Birçok SERS yüzeyi görünür/yakın infrared uyarılma bölgesinde (400-1000 nm) iyi sonuç verecek şekilde tasarlanmıştır. Bu bağlamda bu amaçla en çok kullanılan metallerden gümüş, altın ve bakır için etkin oldukları dalgaboyu aralıkları Şekil 2.10'da gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar gümüşün en yüksek plazmon uyarılma verimine sahip olduğunu ortaya koymuştur [145]. Ayrıca Şekil 2.10'da açıkça görüldüğü gibi gümüş bütün görünür bölge spektrumunda plazmon rezonans oluşturabilen tek malzeme olarak ayrı bir avantaj sunmaktadır [70]. Gümüş sahip olduğu tüm bu artılara rağmen atmosfer koşullarda kararsız olması kolaylıkla oksitlenmesi gibi birtakın dezavantajlar da barındırmaktadır. Bundan dolayı gümüşe göre daha düşük plazmon verimine sahip olmasına karşın altın inert yapısıyla SERS çalışmalarında ön plana çıkmaktadır.



Şekil 2.10. SERS yüzeylerinde en çok kullanılan metaller ve bunların optik özellik gösterdikleri yaklaşık dalgaboyu aralıkları [133]

SERS ile ilgili yukarıdaki giriş yapıldıktan sonra bu konuda büyük öneme sahip olan ve tez kapsamında yapılan çalışmaları oluşturan esas konuya değinmekte fayda vardır. Bu bağlamda izleyen satırlarda SERS için kullanılan platformlarının hazırlanma yöntemleri ve genel özellikleri hakkında bilgi verilecektir.

SERS platformu olarak ilk kullanılan malzemeler elektrokimyasal olarak pürüzlendirilen metal elektrotlardır [113]. Metalik nanopartiküller SERS etkisinin keşfedilmesinden hemen sonra kullanılmaya başlanmış ve zaman en çok çalışılan SERS platform haline gelmiştir. Maksimum EM alan zenginleşmesinin hem frekans hem de büyüklüğü kullanılan metalik nanoyapıların şekil, büyüklük ve düzenlenmesine sıkı sıkıya bağlı olduğundan ideal bir SERS analizi için başta nanoyapılar olmak üzere birçok sistem parametresinin optimize edilmesi gerekir [146]. Son 20 sene içerisinde nanoyapıların büyüklük ve şeklinin eldesi ile ilgili ilerlemelere rağmen bu konuda henüz tam olarak olgunluğa ulaşılmadığı ve ilerleyen yıllarda çok daha çarpıcı gelişmelerin olacağıyla ilgili yaygın bir kanı vardır [4].

Genel olarak kullanılan SERS platformları temelde üç sınıfta incelenebilir: (1) metalik nanopartikül süspansiyonları, (2) metalik nanopartiküllerin katı yüzeye immobilizasyonu ve (3) katı yüzey üzerine nanoyapıların nanolitografi ve kalıp kullanılması gibi yöntemlerle fabrikasyonu.

Nanoyapıların farklı şekil ve büyüklükte sentezi çok geniş bir çalışma alanını oluşturmaktadır. Bundan dolayı bu konuda geniş literature bakılabilir [4, 147, 148]. Küresel nanopartiküller en sık kullanılanlardan olup, birçok farklı yöntemle sentezlenmektedir [59, 69]. Ayrıca anizotropik metalik nanopartiküller yüzeyine seçici olarak CTAB gibi malzemelerin adsorplanmasıyla ıslak kimya ile sentezlenebilmektedir [4, 149]. Ayrıca UV-görünür ışıkla metal iyonu indirgenmesi [150] ve kalıp kullanılarak [135, 151-154] da sentez yapılabilmektedir.

En kolay SERS denemeleri numunenin belli bir derişiminde metalik nanopartiküllerin süspansiyonlarında rahatlıkla yapılmaktadır. Bu yaklaşımın temel zorluğu metalik nanopartiküllerin agregasyonu ile tekrarlanabilir sonuç alınamamasıdır. Diğer taraftan bazı durumlarda agregasyon SERS analizinde istenir [155, 156]. Ayrıca

nanopartiküllerin numune ile karıştırılması örnek hazırlamayı gerektirmekte ve bu durum uygulamada zorluk yaratmaktadır.

Tekrarlanabilirlik ve örnek hazırlamadaki zorluklara rağmen metalik nanopartiküller yüksek performansları, iyi kararlılıkları ve kolay sentezlenebilmeleri gibi artılarından dolayı en çok kullanılan SERS platformlarıdır. Bu tarz platformlar ilk olarak tek molekül SERS analizlerinde ilk kez kullanılmışlardır [129]. Son zamanlarda örnek hazırlamadaki zorluk bir kabukla metal yüzeylerin kaplanması ve daha sonra Pt yüzeye doğrudan uygulanmasıyla giderilmiştir [157]. Bu şekilde meyveler üzerindeki pestisit tayini yapılmıştır.

Düz platformlar üzerine metalik nanopartiküllerin immobilize edilerek SERS substratı oluşturma bir başka yaklaşımdır. Metalik nanopartiküllerin katı yüzeye adhezyonu genelde zayıftır ve yüzeye bağlılığı sağlamak ve zamanla SERS performansının kararlılığını sağlamak amacıyla spesifik immobilizasyon teknikleri geliştirilmelidir. Örneğin altın ve gümüş partiküllerin cam yüzeye tersinmez olarak immobilize etmek için cam yüzey daha önceden aminopropiltrimetoksisilan (APTMS) ya da merkaptopropilsilan (MPTMS) ile silanlaştırılarak modifiye edilebilir [158].

Ayrıca birçok SERS substratı fotolitografi ve nanolitografi yöntemleri kullanılarak geliştirilmektedir. En çok kullanılan modern nanolitografik yöntemler odaklanmış iyon ışın (focused ion beam, FIB) [148, 159] öğütme ve elektron ışın litografidir (electron beam lithography, EBL) [160, 161] . Bu yöntemler nanoyapının büyüklüğü ve şekli konusunda iyi bir kontrol olanağı sağlar. FIB ve EBL sürekli ince bir metalik bir filmde nanoboşluklar oluşturmak ya da metalik nanopartiküllerin katı yüzeyde iyi kontrol edilebilir optik özelliklerle biriktirilmesini sağlar. Nanolitografik yöntemlerin temel artısı nanoyapıların geometrisinin çok iyi kontrol edilerek yüksek SERS şiddetlerinde tekrarlanabilir sonuçlar sağlamasıdır.

Yukarıda belirtildiği gibi SERS substratları üretim yöntemlerine bağlı olarak üç ana başlık altında toplanabilmektedir. Aşağıda bu yöntemlerle ilgili daha ayrıntılı bilgiler verilecektir.

2.3.1. Nanopartiküller ve SERS Uygulamaları

Yukarıda belirtildiği gibi nanopartiküller uzun zamandan beri SERS çalışmalarında kullanılmaktadır [162, 163]. Metalik nanopartiküller klasik ıslak kimya yöntemleriyle farklı şekil ve büyüklüklerde kolaylıkla üretilebilmektedir. Ayrıca daha önce belirtildiği gibi metalik nanopartiküllerin süspansiyonları numune ya da tuzlarla biraraya getirilerek agregre yapılar oluşturulmakta böylelikle dalda boyu altı bölgelerde güçlü lokalize EM alanlar oluşturulmaktadır. Fakat, dispers ve agregre metalik yapıların SERS platform olarak kullanılması zayıf tekrarlanabilirlikten dolayı sınırlıdır. Tekrarlanabilirlik sorunu nanopartikülleri katı yüzeye immobilize ederek kısmen giderilebilir [164]. Metalik nanopartikül içeren ilk SERS çalışmaları ıslak kimya ile üretildiğinden ve sonradan katı yüzeye immobilize edildiğinden [165] ve bu tekniğin yaygın hale gelmesinden dolayı benzer yaklaşımla çok daha fazla araştırma yapılmıştır [162, 164].

Metal nanopartiküllerin katı yüzeye immobilizasyonunda temel olarak kendiliğinden kurulum (self-assemble) stratejisi izlenerek farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan ilki nanopartiküllerin yüzeye kimyasal olarak bağlanmasıdır. Bu yöntem kapsamında bifonksiyonel moleküller nanopartikül immobilizasyonu için kullanılır. Burada fonsiyonel molekülün bir ucu yüzeye bağlanmayı sağlarken diğer ucu nanopartikülü yakalar. Bu konudaki ilk çalışmalar Natan ve ark. tarafından 1995'te yapılmıştır [165]. Nanopartikül immobilizasyonu için son derece basit bir yaklaşım önermişlerdir. Bu kapsamda ilk olarak cam yüzey amin ya da tiyol grup içeren bileşiklerle polimerize edilmekte ve daha sonra bu fonksiyonalize yüzey nanopartikül süspansiyonuna belli bir süre daldırılmaktadır (Şekil 2.11). Cam ve metalik nanopartikülün doğası yanında burada gözönünde bulundurulması gereken dört faktör vardır. Bunlar; cam yüzeydeki fonksiyonel gruplar, yüzeylerin nanopartikül süspansiyonunda tutulma süresi, nanopartikül derişimi ve nanopartikül üzerindeki adsorbentler. Bu faktörler bize elde edilen platformun özelliklerini kolaylıkla değiştirmemizi sağlar. Bu vesileyle daha yüksek zenginleştirme faktörü, nanopartikül süspansiyonlarına göre daha iyi tekrarlanabilirlik, daha düşük maliyet ve cam yüzeyin geometrisinin ayarlanmasında daha büyük esneklik elde edilir.



Şekil 2.11. Altın ya da gümüş tek tabaka nanopartikül kurulumu. X =CN, NH₂, 2-piridil, P(C₆H₅)₂, ya da SH; R = CH₃ ya da CH₂CH₃ [165]

Yukarıda verilen yaklaşım kullanılarak benzer birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin altın nanoçubuk ve altın nanopartikül kuvarz yüzeyin üzerine tek tabaka olacak şekilde [166-168] ve 1,10-fenantrolin ile modifiye edilmiş gümüş nanopartikül ise gümüş yüzeyde biriktirilmiştir [169]. Kurulum sürecini hızlandırmak amacıyla sıcaklık [170] ve santrifüj kuvveti [171] gibi parametrelerin etkisi de incelenmiştir. Kendiliğinden kurulum prensibi düz olamayan yüzeylerin metalik nanopartiküllerle immobilizasyonunda da kullanılabilir. Örneğin bifonksiyonel 4-aminobenzentiyoil molekülü kullanılarak gümüş nanotellerin üzerine gümüş nanopartiküller immobilize edilmiştir [172]. Ayrıca yine benzer yaklaşımlarla optik fiber iğneler modifiye edilebilmekte ve SERS kullanılarak fiber optik sensör uygulamalarında kullanılabilmektedir [173-177].

Kendiliğinden kurulum yöntemi çok tabakalı nanopartikül yapıları için de uygulanabilmektedir [158, 174, 178-182]. Bu yöntemde tek tabaka nanopartikül kurulumu sağlandıktan sonra yüzey tekrar bifonksiyonel içeren çözücüye daldırılmakta ve bu şekilde ikinci bir metal tabakanın immobilizasyonu sağlanmaktadır. Bu işlem istenen tabaka sayısı kadar tekrar edilebilir. Burada şuna dikkat edilmesi gerekir: her bir birikmeden sonra nanopartiküller kümelenmeler oluştururlar ve bu da tabakalardaki organize yapıyı bozar. Kümelenmenin büyüklüğü nanopartikül biriktirme sayısı ile kontrol edilebilir. Çalışmalar kullanılan her lazer frekansı için farklı optimal biriktirme sayısı olduğunu göstermiştir [180]. Bu tarz substratların SERS çalışmalarına sundukları katkılar gelecekte bu yapıların analitik uygulamalarda daha çok kullanılabileceğini işaret etmektedir.

Yukarıdaki basit kendiliğinden kurulum mekanizmalarına daha ayrıntılı tanımlanmış SERS için kimyasal modifiye edilmiş yüzeye metalik nanopartikül immobilizasyon yöntemleri de geliştirilmiştir. Örneğin Caro ve ark. silan kimyası kullanarak yüzeyi amin

grubu ile modifiye etmişlerdir [183]. Daha sonra amin grubuna EDC/NHS kullanılarak karboksil alkantiyol takılmıştır. Alkantiyoldeki tiyol grubu gümüş nanopartiküllerle etkileşimi sağlamaktadır. Benzer yaklaşımlar CTAB takılı altın nanopartiküllerin silikon yüzeye immobilize edilmesinde kullanılmıştır [184]. Örnekten örneğe değişen tekrarlanabilirliği geliştirmek ve değişkenliği %5 mertebesine indirmek amacıyla uzun zincirli tiyol içeren moleküller kullanılarak immobilizasyon yapılmıştır. Uzun zincirli moleküller oda koşullarında yüksek stabilite göstermişlerdir.

Ayrıca kendiliğinden kurulum mekanizması kullanılarak SERS ile ilgili temel unsurlar incelenmiştir. Örneğin metalik yüzeye immobilize edilen metalik nanopartiküllerle yüzey ile partikülün eşleşmesi (coupling) sonucu artan yüzey plazmonları ve bunların SERS performansına olan etkisi incelenmiştir [185-187]. EDC/NHS kimyası bağlayıcı uzaklığını ayarlama fırsatı verdiği için metal yüzey ile nanopartikül arasındaki uzaklık bu şekilde kontrol edilebilmektedir. Amin ile modifiye edilmiş altın yüzeye boya ile etiketlenmiş farklı büyüklükteki ve sukkinimidil esteri ile modifiye edilmiş altın nanopartiküller bağlanmıştır [185]. Partikül ile yüzey arasındaki uzaklık yüzeyi modifiye etmekte kullanılan amin bileşiğinin zincir uzunluğuyla ayarlanmıştır. Yazarlar SERS şiddetinin partikül büyüklüğü, substrat malzemesi ve partikül ile metal yüzey arasındaki uzaklıkla optimize edilebileceğini göstermişlerdir.

Kendiliğinden kurulum stratejisini kullanarak nanopartiküllerin yüzeye tutunmasını sağlamak amacıyla geliştirilen bir diğer yöntem ise elektrostatik etkileşimlerdir. Kendiliğinden kurulum bu yöntemle nanopartiküllerle katı yüzeyde bulunan polimer [171] [186-195] ve biyomolekül [196, 197] arasındaki elektrokimyasal etkileşim sonucu gerçekleşir.

Poli(vinilpirilidin), gümüş nanopartikülleri gümüş film üzerine immobilize etmekte kullanılmıştır [186]. Bu çalışmada Raman zenginleştirmesinin nanopartiküller arası yüzey plazmonu oluşumundan daha çok partikül ile yüzey arasındaki etkileşimden kaynaklandığı belirtilmiştir. Daha sonra yüzey ile olan etkileşim nanopartikül agregasyonunu içermediğinden bu substrat örnekten örneğe çok daha iyi sonuç vermiştir. Benzer şekilde polivinilpirilidon altın yüzey üzerine altın nanopartikül bağlanmasında kullanılmış elde edilen substrat SERS ile dipikolinik asit tanısında

kullanılmıştır. Dipikolinik asit Bacillus antrasis gibi bir bakteriyel sporun biyo işaretidir. Ayrıca polimer dendrimerler çok tabakalı metalik nanopartikül SERS yapıların oluşumunda incelenmiş ve birikim tabası ve dendrimer büyüklüğünün etkisi araştırılmıştır [190, 198].

Çok tabakalı (layer-by-layer) polielektrolit polimerin üzerine altın naopartikül immobilize edilmesiyle gerçekleşen yüzey potansiyeli incelenmiştir [199]. Toluene su arayüzeyinde poli(etilenimin) altın nanopartikül biriktirilmiş ve daha sonra silikon yüzeye transfer edilerek polielektrolit biriktirilmiştir.

Ayrıca DNA [196] ve protein gibi biyomoleküller metalik nanopartikül immobilizasyonunda bağlayıcı olarak kullanılmıştır. Örneğin avidin SERS platformunda hem nanopartikül bağlayıcısı hem de tanıyıcı element olarak görev yapmıştır [197, 198]. Avidin-biyotin tepkimesi çoklu kodlayıcı kürecik inşasında kullanılmıştır [200]. Bu çalışmada gümüş nanopartiküller farklı boyalar ve biyotin ile modifiye edilerek agregasyona uğratılmış daha sonra ise bu agregat yapı etiket olarak kullanılmış ve sonra avidin modifiye cam küreciklere kendiliğinden kurulum mekanizmasıyla bağlanmıştır.

Yukarıda belirtildiği gibi kimyasal ve elektrostatik yöntemlerle kendiliğinden kurulum mekanizmasıyla SERS substratlarının fabrikasyonu en çok kullanılan yöntemler olmasına rağmen daha farklı yaklaşımlar da incelenmiştir. Bu bağlamda sıvı damlacığının buharlaşması sonucu oluşan kapiler metalik nanopartiküllerin kurulumu için ele alınmıştır [201-203]. Halas ve ark. silikon yüzey üzerine CTAB kaplı nanopartikülleri damlatarak kurutmuşlar ve elde edilen bu yüzeyin hem SERS hem de yüzey zenginleştirilmiş infra-red (SEIR) spektroskopisi için ideal bir yüzey olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca konvektif yöntemlerle gümüş nanopartiküller ve bakteri hücrelerinin cam yüzeye kurulmasıyla SERS ile bakteri tanısı gerçekleştirilmiştir [203]. Bu yöntemde nanopartikül ve bakteri içeren karışım 24° açıyla tutulmuş iki cam yüzeyin arasına damlatılmış ve yüzeylerden biri sonra hareket ettirilerek ince bir film elde edilmiştir. Elde edilen SERS platform ile çok küçük miktarlardaki bakteri tanısı tekrarlanabilir bir şekilde yapılmıştır.

Bir başka yöntemde tek tabaka metalik nanopartiküller sıvı-sıvı ara yüzeyinden cam ya da silikon gibi bir katı yüzeye Langmuir-Blodgett gibi bir yöntemle transfer edilerek immobilize edilebilmektedir [204-206]. Bu yöntemle tek tabakalı yapılar oluşturulabilmekte ve ayrıca küresel, çubuk ve bunların karışımı altın nanopartiküllerin çok tabakalı yüzeyleri SERS platform olarak incelenmiştir [204]. Sonuçta tabaka sayısı arttıkça SERS performansının arttığı ve altın nanoçubukların küresel nanopartiküllerden daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir. Ayrıca çoklu tabaka çalışmalarında SERS performansını en çok en üstteki tabakanın en çok etkilediğini saptamışlardır.

Langmuir-Blodgett yaklaşımı ile elde edilen platformların SERS zenginleştirmesinde altın nanopartikülün büyüklük etkisi de incelenmiştir [205]. Buna göre 20 nm'lik altın nanopartiküller diğerlerine (16, 40 ve 70 nm'lik örnekler) göre en iyi SERS sonucunu vermiştir. Bir başka ilginç SERS platformhazırlama yöntemi ise sıvı-sıvı arayüzeyinde sıcaklık kontrolüyle yapılmasıdır [207]. Nanopartiküller ilk aşamada sıvı yüzeyden Langmuir-Blodgett yöntemi ile sıcaklığa cevap veren akıllı polimer membrane üzerine aktarılmıştır. Substratın farklı sıcaklıklardaki SERS performansları plazmon eşleşme kabiliyetleri değiştirilerek belirlenmiştir. Çok düşük sıcaklık değişimlerine bile çok farklı şiddette SERS spektraları elde edilmiştir.

Metalik nanopartiküllerin katı [208] , polimer film [209] ve blok kopolimer [210] üzerinde büyütülmesi bir diğer SERS substrat oluşturma yöntemidir. Örneğin silikon yüzey üzerinde gümüş nitrat ve hidroflorik asit kullanılarak yakalşık 100 nm çapında gümüş nanopartiküller kullanılarak SERS substratı olarak etkinlikleri incelenmiştir [211]. Ayrıca optik fiberler üzerine gümüş nitrat ve sodyum sitrat çözeltisine daldırmayla foto-tepkime [212, 213] sonucunda gümüş nanopartiküller immobilize edilmiştir.

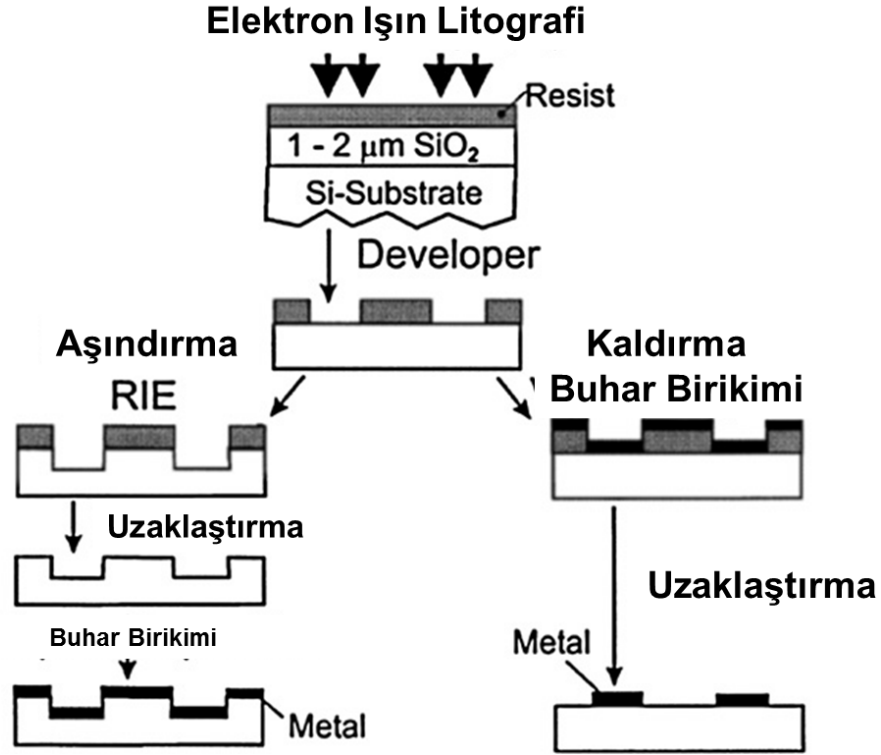
Kimyasal ve fotokimyasal yaklaşımlar daha önceden tohum (seed) şeklinde yüzeyde biriktirilmiş nanopartiküllerin büyütülmesi ya da modifiye edilmesinde de incelenebilir. Silikon yüzeye kendiliğinden kurulumla biriktirilen gümüş/altın alaşım nanopartiküller HAuCl_4 çözeltisi ile etkileştirilerek SERS zenginleştirmesine olan etkisi belirlenmiştir [214]. Yazarlar bu çalışmada SERS zenginleşmesindeki artışı küçük deliklerin oluşumuna bağlamışlardır. Uygulama süresinin artışı bu deliklerin ortadan kaybolmasına ve SERS etkinliğinde düşüşe neden olmuştur. Burada çözelti fazındaki

gümüş iyonları altın nanopartiküller üzerine birikmekte ve bundan dolayı SERS sinyal şiddetinde artış olmaktadır [215]. Benzer yaklaşım blok kopolimer içerisinde modifiye edilmiş altın nanopartiküller için uygulanmış ve daha iyi zenginleştirmeye beraber tekrarlanabilirlikte iyileşme sağlanmıştır [210].

2.3.2. Nanoyapılandırılmış Yüzeyler ve SERS Uygulamaları

Bu kısımda metalik nanoyapıların katı yüzey üzerine direkt olarak oluşturulması ve SERS platform olarak kullanılması üzerinde durulacaktır. Bu yaklaşım genel olarak yukarıdan-aşağı (top down) olarak kabul edilir ve daha önceki bölümde verilen kendiliğinden kurulum mekanizmalarındaki aşağıdan-yukarıya (bottom up) yaklaşımının tam tersi olarak algılanır. Bu kısımda başta elektron ışın litografi olmak üzere öncelikle litografik yöntemler ele alınacaktır. Sırasıyla diğer yöntemlerdeki gelişmeler de izleyen satırlarda incelenecektir.

En çok kullanılan nanolitografik yöntem elektron ışın litografidir (electron beam lithography, EBL). EBL yönteminde genel olarak 10-50 keV electron ışının kullanılarak electron resist kaplanmış SiO_x/Si yüzeylerde nanoyapılar oluşturulur. Standart litografide olduğu gibi EBL’de negatif ve pozitif resist malzemeler kullanılabilir. Elektron ışını pozitif resistin olduğu kısımları önceden belirlenen şekliyle aşındırır. Tersine negatif resist kullanıldığı durumda ise resistin olduğu kısım aynen durur. En çok kullanılan pozitif resist poli(metilmetakrilat)tır (PMMA). Genelde PMMA EBL ile aşındırıldıktan sonra Şekil 2.12’de verildiği şekliyle iki ayrı yol izlenerek SERS için substrat oluşturulur [160]. Sol tarafta izlenen yolda EBL işleminden sonra HF içeren banyo ile yüzeyin kimyasal olarak aşındırması sağlanır. Bir developer çözücüsüyle artık kalan fotoresist uzaklaştırılır ve nanodesenlenmiş yüzey metalik filmle kaplanır. Sağda gösterilen ikinci yöntemde ise EBL’den sonra metal birikimine ek olarak ayrıca uzaklaştırıcı çözücü kalan fotoresisti ve metalik yüzeyi uzaklaştırır. Sonuç olarak SiO_x/Si yüzeyin üzerinde metal birikimi SERS substrat olarak üretilmiş olur.



Şekil 2.12. İki ayrı strateji ile EBL kullanılarak SERS için substrat hazırlanması [117]

EBL yönteminin en büyük avantajı metalik yüzeylerin büyüklük ve şekilleri ile aralarındaki uzaklığın büyük bir doğrulukla kontrol edilebilmesidir [216-218]. Gunnarsson ve ark. 200 nm çapındaki küresel ve üçgen nanoyapılar arasındaki uzaklığın SERS performansına olan etkisini incelemişlerdir [219]. Nanoyapılar arasındaki uzaklığın 75 nm'den 205 nm'ye çıkması SERS sinyal şiddetinde 60 kat düşüşe neden olmuştur. Bu sonuçların elektrostatik modele uyduğu ve SERS zenginleştirmesinin nanoyapıların köşeleri ve nanoyapılar arasındaki indüklenmiş polarizasyon kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Benzer bir çalışmada ise 100 nm çapında altın nanospotlar oluşturulmuş ve SERS sonuçları önceki çalışmaya benzer sonuçlar göstermiştir [220].

Yu ve ark. EBL ile üretilen altın nanodisk ve nanodeliklerin SERS performanslarını nanoyapıların boyutu ve aralarındaki boşlukları parametre olarak incelemişlerdir [221]. Nanoyapılar arasındaki uzaklık azaldıkça SERS zenginleştirmesinde artış gözlenmiştir. Ayrıca nanodisklerin boyutları azaldıkça SERS sinyal şiddetleri artarken, nanodelikler için tam tersi bir sonuç alınmıştır.

Aperiyodik nanoyapılar EBL ve ilave 30 nm'lik nanoyapılar ile elde edilmiştir [222]. İlave nanoyapıların üç mertebe kadar SERS zenginleştirmesine katkı sağladığı deneysel ve sayısal modellemelerle gösterilmiştir. EBL ile aperiyodik nanoyapıların oluşturulmasında rasgele matrisler kullanılarak metalik nanoyapılar rasgele şekil ve büyüklükte oluşturulmuştur [223]. Çalışma kapsamında SERS performanslarına metal kaplamanın, metal büyüklük ve uzaklıkları ile aralarındaki bağlantının etkisi incelenmiştir.

Bir başka çalışmada ise EBL temelli SERS substratı açılal birikim yöntemiyle üretilmiştir ve 10^9 mertebesinde SERS zenginleştirmesi elde edilmiştir [224]. Çift maske yöntemiyle aralarındaki uzaklık yaklaşık 1 nm olan metalik nanopartikül dimerleri iki metalik tabaka ile iki farklı açı ile biriktirilmiştir. Böylelikle nanopartiküller arasındaki bu çok kısa uzaklık sayesinde bu platform kullanılarak çok büyük verim alınmıştır.

EBL yöntemine ek olarak optik litografi kullanılarak metalik nanoyapılar arasındaki nanoboşluklar kontrollü bir şekilde oluşturulabilmektedir [225]. Optik litografi ile altın yüzeye yazıldıktan sonra atomik tabaka birikimi (atomic layer deposition, ALD) ile çok ince bir alumina tabakası kaplanmıştır. Daha sonra bu alumina tabakasının üzerine gaz fazında altın biriktirilmiştir. Bu yüzey sonradan optik litografi ile öğütölmüş ve alumina tabaka ticari aşındırıcı ile giderilmiştir. Sonuçta alumina tabaka kalınlığına bağlı olmak üzere nanoboşluklar oluşturulmuştur.

Kontrollü büyüklükte nanopartikül dizilimlerinin (arrays) SERS platform olarak mikrofluidik cihazlarda kullanılması önemli avantajlar sunmaktadır. SERS aktif bölgenin küçük bir alanda olması hem cihaz boyutunu küçöltmekte hem de aynı platform üzerindeki farklı bölgelerde birden çok örneklem almayı sağlamaktadır. Bundan dolayı mikro-kontakt baskılama ile gümüş nanopartikül mikrodizilimleri oluşturulmaktadır. Kimyasal olarak poli(dimetil siloksan) (PDMS) ile modifiye edilmiş platform koloidal gümüş süspansiyon ile muamele edilmekte ve adsorplanan kolloid 4-merkaptopiridin ya da aminoetantiyol ile modifiye edilmiş altın kaplı silikon yüzeye transfer edilmektedir [226]. Böylelikle yüzeyin belli bölgeleri gümüş nanopartiküller ile kaplanmaktadır.

Dizilim oluşturmak için geliştirilen bir başka yöntemde ise gümüş ya da altın açılı biriktirme ile elektron ışın buharlaştırma sisteminde yapılmıştır [227]. Açılı biriktirme ile

uzunluğu 1 μm 'yi bulan metalik nanoçubuk yapılardan dizilim oluşturularak patojenik bakteri tanısında kullanılmıştır [228]. Bu fabrikasyon yönteminde kullanılan biriktirme açısı çubukların uzunluğunu ve boy/çap oranını belirlediğinden SERS performansını önemli ölçüde etkilemektedir.

Belirtilen nanopartikül dizilimlerler içeriklerinin tam olarak kontrol edilememesi ve buna bağılı olarak SERS performanslarında ciddi dalgalanmalar yaşanmaktadır. Bundan dolayı SERS aktif substrat olarak mikrofluidik sistemlerde kullanılabilecek yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bundan dolayı odaklanmış iyon ışın (focused ion beam, FIB) yöntemi plazmonik malzemeler üzerinde farklı büyüklük, şekil ve delik arası uzaklıkta nanodelik dizilim oluşturmak için önerilmiştir. Bir FIB cihazı bir Ga^+ iyon ışınından oluşur ve yüksek voltajda ($\sim 30 \text{ keV}$) hızlandırılarak özel lensler yardımıyla yüzeye odaklanılır. İyon ışını yüzeyi kontrollü bir şekilde istenilen derinlikte ve 10 nm çözünürlükte aşındırır [229]. Bilgisayar kontrolü FIB yöntemiyle farklı büyüklükte ve şekilde nanodelik diziliminin oluşumu kolaylıkla sağlanır. Bu yöntemle üretilen altın ve gümüş gibi nanodelik dizilimlerin geniş dalga boyu aralıklarında sıradışı optik geçirgenlik gösterdikleri belirtilmiştir [230]. Elde edilen malzemenin plazmonik özellikte olması SERS çalışmalarında kullanımını gündeme getirmiştir [159, 231, 232].

SERS yönteminin analitik bir yöntem olarak geniş alanlarda kabul görebilmesi için oluşturulan nanyapılı platformların morfolojilerinin çok iyi kontrol edilebilir olması gerekir. Bu bağlamda daha önceki bölümlerde anlatılan kendiliğinden kurulum ve nanofabrikasyonla ilgili çalışmalar birçok farklı platformla tekrarlanabilir sonuçlar sağlamıştır. Fakat en iyi tekrarlanabilir sonuçların alındığı EBL ve FIB gibi yöntemlerde büyük ölçekte platform oluşturmak mümkün değildir. Ayrıca bu yöntemler yüksek maliyeti de beraberinde getirmektedir. Bu bağlamda yeni yöntemlere ihtiyaç duyulduğu açıktır. Bir kalıp kullanarak metalik birikimin sağlanarak kontrollü bir şekilde ideal bir SERS platformu oluşturmak bu konudaki birçok zorluğu ortadan kaldırmıştır. Bu başlık altında çok fazla yöntem olduğundan burada en çok kullanılan birkaç yöntem ve bunların SERS uygulamaları üzerinde durulacaktır.

Metallerin elektrokimyasal olarak biriktirilmesinde anodik alumina oksit (anodic alumina oxide, AAO) ya da bir başka deyişle gözenekli anodik alumina (porous alumina oxide,

PAA) kullanılmakta ve bunlar yüksek SERS performansı sunmaktadır. AAO yüzey yüksek voltajda alüminanın asit içinde çözünmesiyle elde edilir. Elde edilen yapı bal peteğine benzer ve hekzagonal paketlenmiş ve nanometer seviyesinde çapa sahip porlardan meydana gelir. Porların çapı uygulanan voltaj, asit banyosu türü ve sıcaklığı gibi parametrelerle kontrol edilmektedir [233]. Ticari olarak satın AAO membranları metal biriktirme için temin etmek mümkündür. Metallerin elektrobirikimi 10-25 V gibi voltaj aralıklarında yapılmakta ve bundan sonra alumina tabakası fosforik asitle çözülmekte ve metalin nanotüp ya da nanoçubuk yapıları elde edilmektedir. Oluşan metalik nanoyapılar yüksek boy/çap oranında olmakta ve yüksek SERS performansı sunmaktadır [234]. Bu yöntemde metalik nanoçubuklar aşındırma süspansiyonu içerisinde geri kazanılabilmektedir. En yüksek SERS performansı AAO membrane üzerinde biriktirilmiş boy/çap oranı yüksek gümüş nanoteller için saptanmıştır [235]. PAA kalıp tamamen uzaklaştıktan sonra metalik nanoteller demet oluşturma eğilimindedirler ve aralarındaki boşluklar 1-4 nm gibi çok düşük seviyelerdedir. Bu durum SERS zenginleşmesine önemli katkı sunar. Elde edilen nanotellerin SERS özellikleri yüksek boy/çap oranından dolayı ağırlıklı olarak polarizasyona bağlıdır.

Kalıp olarak ayrıca polikarbonat membranlar (PCM) elektrobirikim ile metal nanotel ve nanotüp oluşturma amacıyla kullanılmıştır. PCM, düz membranın Ar⁺ gibi yüksek yüklü iyon ortamında tutulmasıyla üretilmiştir [236]. Bu membranlar 20-500 nm gözenek çap aralıklarıyla da ticari olarak satılmaktadır. Bu PCM nanogözeneklerinde elektrobiriktirme ile Ni, Fe, Pt, Au ve Ag gibi metaller başarıyla kullanılmıştır [237]. Altın biriktirilerek elde edilen substratın SERS performansı 4-merkaptopiridin tanısı için kullanılmıştır [152].

Polisitren (PS) mikroküreler elektrobirikimle SERS platformu hazırlamada yaygın olarak kullanılan malzemeler arasındadır [153, 238]. PS mikroküreler birçok farklı büyüklükte ticari olarak elde edilebilir ve süspansiyonları katı yüzeye kendiliğinden kurulum mekanizmasıyla kolaylıkla dağılabilir özelliktedir [239]. Burada küreler önce iletken yüzeye yayılır. Yüzeye yayma işlemi spin-kaplama ya da süspansiyonun kontrollü sıcaklık ve nem koşullarında buharlaştırılması ile yapılabilir. Daha sonra bu yüzey metal iyonları içeren çözeltiye daldırılarak elektrobirikim sağlanır [240]. PS mikroküreler kalıp

üzerine altın biriktirilerek elde edilen substratın SERS özellikleri mikroküre çapı ve altın film kalınlığı gibi parametrelerle incelenmiştir [153].

Blok kopolimerler ise kalıp olarak altının elektrokimyasal yöntemle biriktirilip SERS substrat olarak kullanımında denenmiş ve oluşturdukları 100 nm altındaki nanoyapılarla yüksek SERS zenginleşmesi sağlamışlardır [238].

SERS platformları direkt olarak buhar fazında katı yüzeyde ince metal filmlerin biriktirilmesiyle de oluşturulabilmektedir [136]. Metal film ince olduğunda, örneğin gümüş için yaklaşık 10 nm, buharlaşan metal biraraya gelerek adacıklar ya da partiküller oluşturur. Bu yöntem ile optik fiberler [241] ve nanoyapılı optik fiber demetler [242-246] şeklinde SERS substratları yoğun şekilde kullanılmaktadır.

Ayrıca gümüş nanoçubuklar eğik açı birikim (oblique angle deposition, OAD) yöntemiyle buhar fazında üretilmektedir [247]. Bu yöntemde kaplanacak substrat buharın gelişine göre belli eğim açısıyla tutulmaktadır ve sonuçta yüksek bir boy/çap oranına sahip gümüş nanoçubuklar eğik olarak yüzeyde biriktirilmektedir.

En çok kullanılan buhar fazı biriktirme yöntemi Van Duyne tarafından geliştirilen nanoküre litografisi (nanosphere lithography, NSL) olarak adlandırılan yöntemdir [147, 248]. Bu yöntem katı yüzeye kendiliğinden kurulum mekanizmasıyla nanoküreler yayıldıktan sonra üstünün buhar fazında direkt olarak metalle kaplanması temeline dayanır. Daha sonraki aşamada ise küreler uygun bir çözücü ile uzaklaştırılır. Böylelikle yüzeyde periyodik ve yüzeyde tek ya da iki tabaka küre bulunmasına bağlı olarak üçgen ya da altıgen metalik nanoyapılar oluşur [249, 250] Elde edilen yüzeylerden 10^8 mertebesinde SERS zenginleşmesi elde edilmiştir [251].

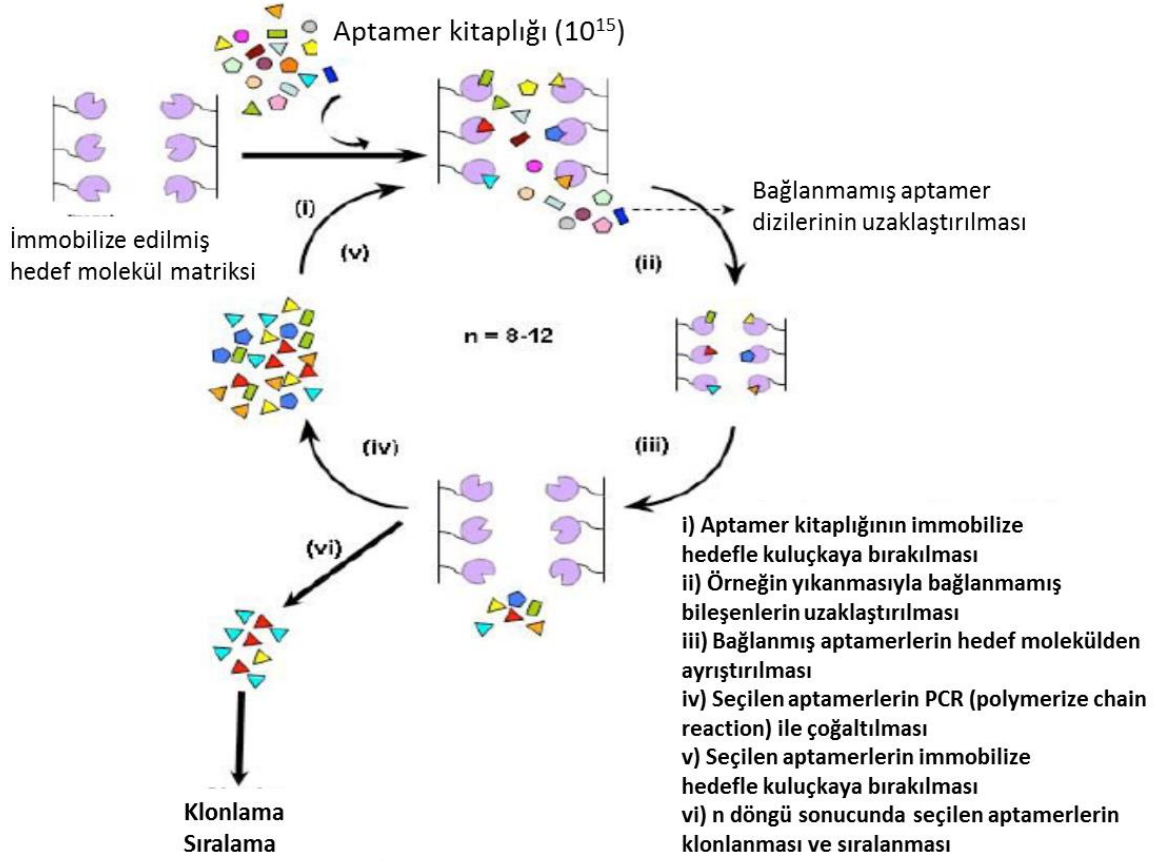
Yüksek tekrarlanabilirliğe sahip SERS platformların üretilebilmesi için silikon yüzeyler üzerine görünür ışık litografisiyle ticari olarak satılan nanoyapılar geliştirilmiştir. Öncelikle fotolitografi ile 2 μ m derinliğe sahip mikro-kuyular oluşturulmuş ve daha sonra bu yüzeyler gaz fazında altın ile kaplanmıştır. Patentlenen bu ürün yüksek tekrarlanabilirlikte SERS performansı göstermiştir [252, 253]. Bugünlerde bu substrat Klarite™ ticari adıyla Renishaw Inc. tarafından piyasaya sürülmektedir. Bu malzeme çok

üst düzeyde zenginleştirme imkanı sunmamasına rağmen tekrarlanabilirliğinin yüksek olması, floresans emisyon eksikliklerini gidermesi gibi üstünlüklere sahiptir [254].

2.3.3. Aptamerler ve SERS Uygulamaları

Aptamerler, spesifik hedef moleküllere bağlanabilen kısa zincirli DNA ya da RNA oligonükleik asitlerdir. Rastgele düzenlenmiş geniş havuzlardaki dizilerden oluşturulurlar [255]. Aptamerler ve bunların bir hedef moleküle spesifik olarak bağlanma özelliği ilk kez 1990 yılında keşfedilmiştir. Aynı yıl içerisinde iki ayrı grup birbirlerinden bağımsız olarak bu konuda çarpıcı araştırmalara imza atmışlardır [256, 257]. Ellington ve Szostak belli bir dizilimdeki kısa zincirli bir RNA molekülünün bir liganda spesifik olarak bağlanabileceğini göstermiştir [256]. Tuerk ve Gold ise RNA aptamerlerinin bu özelliğine bağlı olarak aptamerlerin sentezi ile ilgili önemli gelişmeler sağlamıştır [257]. O zamandan günümüze kadar geçen sürede aptamerler yoğun bir ilgi görmüş ve başta küçük moleküller olmak üzere proteinler, nükleik asitler, hücreler, dokular ve organlar olmak üzere çeşitli molekül ve makro yapılar ile çalışmalarda kullanılmıştır [255]. Aptamerler, biyoteknolojide ve tedavisel uygulamalarda bazı molekülleri (örneğin; biomolekül) tanımlama özellikleri sebebiyle sıklıkla kullanılırlar. Çabuk sentezlenmeleri ve bir deney tüpünde bile elde edilebilmeleri en büyük artılarıdır.

Aptamerler, laboratuvarında düzenlenmiş birer nükleik asit çeşidi olup ve SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment) adı verilen bir yöntemle elde edilirler [255]. Şekil 2.13'te SELEX süreci ile aptamer sentezinin aşamaları gösterilmektedir. SELEX süreci ile ilgili şu anki temel hedef döngü (n) sayısını düşürerek aptamerlerin daha hızlı bir şekilde üretimini sağlamaktır.



Şekil 2.13. SELEX sürecinin şematik gösterimi [258]

Aptamerler değerlendirilirken özellikleri ve performansları genel olarak en yakın rakipleri olan antikorlarla karşılaştırılır. Bu karşılaştırma özetle Çizelge 2.1’de verilmiştir. Hemen hemen tüm özelliklerde aptamerlerin antikorlara göre çok daha avantajlı olduğu açıkça görülmektedir. Bundan dolayı antikorların yerine aptamerler daha sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır.

Günümüzde aptamerler değişik nanoteknolojik yaklaşımlarla geliştirilerek SERS uygulamalarında kullanılmaktadır [259-261]. Negri ve ark. influenza virüsünün tanısını nükleoprotein üzerinden SERS-aptamer sistemi kullanarak yapmışlardır [262]. Bunun için ilk olarak gümüş nanoçubuklar SERS yüzeyi üzerine biriktirilmiş ve aptamerler immobilize edilerek influenza virüsünün nükleoprotein aptamere bağlanarak SERS sinyali ile belirlenmiştir. Böylelikle bu yaklaşım ile hedef molekülün spesifik olarak tanısında kullanılabileceğini göstermişlerdir. Ravindranath ve ark. ise SERS-aptamer sistemi kullanarak çoklu bakteri tanısını göstermişlerdir [263]. Bu çalışmada farklı

şekillerdeki altın ve gümüş nanopartiküller üzerine immobilize edilmiş antikor ve aptamerlerin Raman boylarıyla işaretlenerek çok çeşitli bakteri türlerini aynı anda SERS ile belirleyebileceklerini saptamışlardır. Bir başka çalışmada anodik alumina membrane kullanılarak 200 nm çapında metal nanotüp yapılar elde edilmiş ve yapılar aptamer ile modifiye edilerek oluşturulan optofluidik sistemle ile SERS ile vasopressin tanısı gerçekleştirilmiştir [264].

Bu kısımda aptamer-SERS çalışmalardan sadece birkaçı genel bir fikir verilmesi açısından verilmiştir. Daha ayrıntılı bilgi için ilgili literatüre başvurulabilir [265, 266].

Çizelge 2.1. Aptamerler ve antikorların genel özelliklerinin karşılaştırılması [267].

Özellikler	Aptamer	Antikor
Üretim	< 1 hafta (otomatik, in vitro)	10 hafta (in vivo)
Özgünlük ve afinite	Yüksek, Kd: piko-nanomolar	Yüksek, Kd: piko-nanomolar
Inhibisyon potansiyeli	Yüksek	Düşük
Molekül ağırlığı	6-25 kDa	150 kDa
Immunojenite & toksisite	Gözlenmemiş	İmmun tepkimeler var
Hedef bölgesi	Hücre içi ve dışı proteinler	Hücre dışı proteinler
Uygun kimyasal modifikasyon	Evet	Hayır
Fizikokimyasal kararlılık	Kararlı	Değişken

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalar temelde nanopartiküllerin sentezlenmesi, nanoyapılandırılmış yüzeylerin hazırlanması ve nanopartiküller ve yüzeyler biraraya getirilerek farklı malzemeler için SERS performanslarının belirlenmesi olarak üç ana başlık altında toplanabilir. İzleyen satırlarda bunlarla ilgili ayrıntılı açıklamalar verilmiştir.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Tez çalışmasında kullanılan bütün kimyasal maddeler satın alma yolu ile temin edilmiştir. Tüm çalışma boyunca kullanılan çözeltiler ve yıkama işlemleri için yüksek saflıkta (özgül direnci $> 18 \text{ M}\Omega$) deiyonize H_2O kullanılmıştır. Partikül sentezinde kullanılan $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), TMAOH (Sigma-Aldrich), propilen glikol (Aklar Kimya), sukkinik asit (BDH Chemicals), üre (Sigma-Aldrich), HAuCl_4 (Sigma-Aldrich), tri-sodyum sitrat (Sigma-Aldrich), CTAB (Merck), gümüş nitrat (BDH Chemicals), L-askorbik asit (Sigma-Aldrich) poli(vinilpirolidon) (PVP) (Sigma-Aldrich), poli(sodyum stirenesülfonat) (Sigma-Aldrich), NaBH_4 (Sigma-Aldrich) ve NaOH (Merck) doğrudan kullanılmıştır. BK7 cam slaytların temizliğinde Sigma-Aldrich firmasından temin edilen aseton (% 99 v/v), etil alkol (% 99 v/v), hidrojen peroksit (% 30 v/v), hidroklorik asit (% 37,8 v/v) ve nitrik asit kullanılmıştır ve bu yüzeyler LİNDE firmasından temin edilen yüksek saflıkta (%99.9) azot gazı ile kurutulmuştur. Aynı nükleotid dizilimine sahip FITC-aptamer (5'-Thiol-GGG GTT GGT TGT GTT GGG TGT TGT GT-FITC-3') ve Dy800-aptamer (5'-Thiol-GGG GTT GGT TGT GTT GGG TGT TGT GT-Dy800-3') ve dizilimin komplementer aptameri (5'-ACA CAA CAC CCA ACA CAA CCA ACC CC-3') Ella Biotech GmbH firmasından satın alınmıştır. Tez çalışmalarında kullanılan yüzeylerin temizleme işlemi için hava plazma sistemi (Diener Electronics, Almanya) kullanılmıştır. İstenilen kalınlıkta ve yönelimsel bir nanoyüzey oluşturmak için NANOVAK HV Yüksek Vakum Fiziksel Buharlaştırma Birikimi (Physical Vapor Deposition, PVD) cihazı ve ev yapımı eğik açılı biriktirme ekipmanı kullanılmıştır. Şekil 3.1.a'da plazma cihazı, Şekil 3.1.b'de yüksek vakum fiziksel buharlaştırma birikim cihazı gösterilmiştir. Biriktirme işleminde çok yüksek saflıkta (%99.9) altın ve gümüş kullanılmıştır. Biriktirme yaklaşık olarak 10^{-6} Torr buharlaştırma basıncı ve $0,1 \text{ Å/sn}$

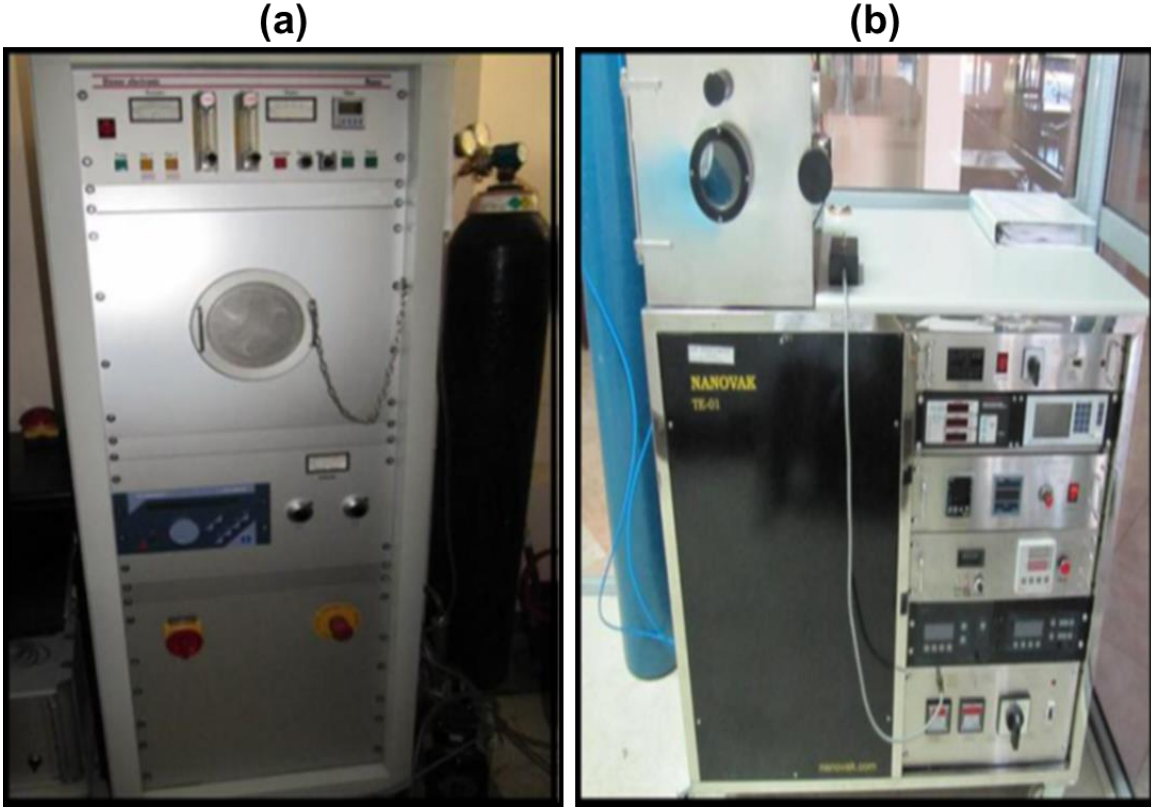
biriktirme hızında yapılmıştır. Eğik açı vakum biriktirme tekniği ile hazırlanan izotropik ve anizotropik nanoyüzeylerin karakterizasyonu JEOL JSM-6060 ve QUANTA 400F Field Emission taramalı elektron mikroskobu, SEM, ile gerçekleştirilmiştir. Nanopartiküller ise FEI Tecnai G² Spirit BioTwin CTEM (USA) ve FEI Tecnai G² F30 (USA) geçirimli elektron mikroskobu, TEM, ile görüntülenmiştir. Ayrıca nanopartiküllerin UV-vis spektrumları Jasco V530 spektrofotometresi ile elde edilmiştir.

Elde edilen altın nanoçubuk platformların X ışını kırınım desenleri (Rigaku Ultima-IV, USA) cihazında yapılmıştır. Yine aynı yüzeyin elipsometrik özellikleri Nanofilm Surface Science GP3 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. SERS platformları kullanılmadan önce 10 dakika boyunca UV-ozon uygulanarak temizlenmiştir (UVO cleaner, Model No:42-220, USA). Boyalı aptamerler ve diğer floresans molekül içeren yüzeyler Olympus BX-51 floresans mikroskobu kullanılarak incelenmiştir.

Partikül boyut dağılımları, yüzeyde oluşturulan altın ve gümüş nanoyapıların eğim açıları ve çapları ImageJ yazılımı ile incelenmiştir.

Tüm Raman çalışmaları 785 nm lazer kaynağına sahip Delta Nu Examiner Raman Mikroskop kullanılarak yapılmıştır. Sistem CCD detector ve motorize örnek haznesine sahiptir. Raman ölçümlerinde kullanılan parametreler şu şekildedir; 20X objektif, 30 µm spot büyüklüğü, 30 s lazer uygulama süresi, 150 mW lazer gücü. Tüm ölçümlere taban hizası doğrulaması (baseline correction) uygulanmıştır.

Elektrik alan modellemesi COMSOL yazılımı kullanılarak 10⁰ anizotropik altın yüzey taklit edilerek yapılmıştır. Bu modeled kullanılan dielektrik sabiti gibi temel özellikler ilgili literatürden alınmıştır [268].



Şekil 3.1. Yüzey hazırlamada kullanılan (a) plazma cihazı ve (b) yüksek vakum fiziksel buharlaşma birikim cihazı

3.2. Nanopartiküllerin Sentez ve Karakterizasyonu

Bu başlık altında farklı içerik ve morfolojiye sahip nanopartiküllerin tez kapsamında hangi yöntemlerle elde edildikleri özetlenecektir. Bu bağlamda aşağıda sırasıyla magnetik, altın ve gümüş nanopartiküllerin sentezi verilmiştir. Manyetik nanopartiküller plasmonik özellik taşımadıkları için Raman çalışmalarında kullanılmamıştır. Fakat bu nanopartiküller grubumuzca gerçekleştirilen diğer çalışma ve projelerde yoğun olarak kullanıldıklarından tez kapsamına alınmışlardır. Altın ve gümüş nanopartiküller ise Raman zenginleştirmesine olan sinerjik etkilerinin belirlenebilmesi amacıyla farklı şekillerde sentezlenmişlerdir.

3.2.1. Manyetik Nanopartiküllerin Sentezi

Tez kapsamında süperparamanyetik demir oksit nanopartiküller (**S**uperparamagnetic **I**ron **O**xide **N**anoparticles, SPIONs) eş-çöktürme ve solvotermal olarak iki farklı

yöntemle elde edilmiştir. Böylelikle iki farklı partikül boy ve morfolojisinde manyetik nanopartiküller sentezlenmiş olup grubumuzca gerçekleştirilen diğer çalışmalarda karşılaştırma amaçlı kullanılmışlardır. Bu kapsamda, ilk aşamada koloidal SPIONs örnekleri ayrıntıları Kang ve ark. [269] tarafından önerilen ikili-çöktürme tekniğiyle kısaca şu şekilde üretilmiştir; 0.0994 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve 0.2703 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bileşikleri $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ molar oranı 0.5 olacak şekilde 5 ml deiyonize su içerisinde çözölmüş ve çözelti içerisindeki çözönmüş oksijen 10 dakika boyunca içerisinde N_2 geçirilmek suretiyle uzaklaştırılmıştır. Benzer bir şekilde, kral suyu ile yıkanmış üç-boyunlu yuvarlak altlı şişede ise 50 ml 1 M NaOH çözeltisi hazırlanmış ve yüksek karışma hızında içerisinde 20 dakika boyunca N_2 geçirilmiştir. Daha sonra hazırlanmış olan Fe çözeltisi yüksek mekanik karıştırma eşliğinde (Heidolph Type RZR1, 2000 rpm, Almanya) ve N_2 akışı altında damla damla bu çözeltiye eklenmiştir. Topaklanma ve buna benzer istenmeyen durumları önlemek amacıyla bu aşamada özel çaba harcanmıştır. Fe çözeltisini damlalar halinde eklenmesiyle çözelti ilk olarak koyu kahverengi ve daha sonra siyah renk almıştır. Tepkime 30 dakikalık N_2 akışı ve karışma neticesinde sonlandırılmıştır. Sonuçta elde edilen manyetik nanopartikülleri manyetik olmayan bileşenlerden ayırmak amacıyla kuvvetli bir mıknatıs ile üç kez deiyonize su ile yıkama yapılmıştır. Sonuçta üretilen koloidal SPION stabilizasyonu sağlamak ve oksidasyonu önlemek amacıyla 0.1 M TMAOH çözeltisi içerisinde dağıtılmıştır.

Solvothermal yönteminde ise ayrıntıları Cheng ve ark. [37] tarafından önerilen yöntem temel alınmıştır. Bu kapsamda 30 mmol üre, 3 mmol $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1 mmol sukkinik asit 30 ml propilen glikol içinde tamamen çözönmüceye kadar magnet eşliğinde karıştırılmıştır. Daha sonra elde edilen bu şeffaf parlak sarı çözelti bu yöntem için özel yaptırılan yaklaşık 50 ml iç hacme sahip ve fotoğraf görüntüsü Şekil 3.2’de verilen TEFLON-paslanmaz çelik reaktöre alınmıştır. Tepkimenin gerçekleşmesi için reaktör 200 °C fırında 12 saat süreyle tutulmuştur. Böylelikle, ürenin sıcaklıkla parçalanmasına bağlı olarak sırasıyla $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ve $\text{Fe}(\text{OH})_2$ yan ürünleri oluşmuş ve nihai ürün olarak Fe_3O_4 (manyetit) elde edilmiştir. Tepkime sonunda elde edilen nanopartiküller kuvvetli bir mıknatıs kullanılarak, bir kere teknik etanol ve üç kez ise deiyonize su ile yıkanarak saflaştırılmıştır. Benzer şekilde stabilizasyonu sağlamak ve oksidasyonu önlemek amacıyla 0.1 M TMAOH çözeltisi içerisinde daha sonraki kullanıma kadar saklanmıştır.



Şekil 3.2. Solvotermal yöntemle mantetit sentezinde kullanılan TEFLON-paslanmaz çelik reaktör sistemi

3.2.2. Altın Nanopartiküllerin Sentezi

Tez kapsamında farklı şekil ve türdeki nanopartiküllerin altın ve gümüş nanoçubuk yapılar ile kombinasyonu sonucu oluşan yapının Raman zenginleşmesine olan etkisinin belirlenmesi temel hedefler arasındadır. Bu bağlamda belirtilen özellikte altın ve gümüş nanopartiküllerin üretimi farklı stratejiler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda altın için küresel (AuNP), çubuk (AuNR) ve kafes (AuNC) şekilde nanopartiküller elde edilmiştir.

AuNP sentezinde Turkevitch [270] tarafından tasarlanmış olan standart sitrat indirgeme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem kapsamında kısaca deiyonize su ortamında 50 ml 1 mM HAuCl_4 çözeltisi kaynama noktasına kadar ısıtılmış ve Au^{+3} iyonlarının indirgenmesi manyetik karıştırma eşliğinde 16.5 ml 0.01 M tri-sodyum sitrat çözeltisinin eklenmesiyle sağlanmıştır. Altın iyonları 10 dakika gibi kısa bir sürede tamamen indirgenmiş ve ısıtıcı devreden çıkartılarak tepkime sonlandırılmıştır. Elde edilen koyu kırmızı renkli AuNP çözeltisi ilave bir işlem yapmaksızın oda koşullarında daha sonraki kullanıma kadar saklanmıştır.

Bir diğer altın nanopartikül türü olan AuNR ise El-Sayed grubu tarafından geliştirilen iki aşamalı sentez protokolü ile hazırlanmıştır [149]. İlk aşamada tohum (seed) çözeltisi, 2.5 ml 1 mM HAuCl_4 , 2 ml 0.5 M CTAB ve 0.15 ml 0.02 M KBH_4 manyetik karıştırma eşliğinde sırasıyla eklenerek oluşturulmuştur. Böylelikle yaklaşık olarak 3-4 nm boyuna sahip nanopartiküllerden kahverengi-kırmızı renkte tohum çözeltisi hazırlanmıştır.

Düşük partikül boyutu ve buna bağlı olarak yüksek yüzey enerjilerinden dolayı oluşturulan bu çözelti en geç 3-4 saat içerisinde kullanılmalıdır. Daha sonra ise taze hazırlanan 18 µl tohum çözeltisi 2.5 ml 1 mM HAuCl₄, 2 ml 0.5 M CTAB, 0.5 ml 1 mM gümüş nitrat ve 0.25 ml 0.1 M L-askorbik asit içeren büyüme çözeltisine eklenmiş, yaklaşık 10 saniye karıştırılmış ve AuNR sentezi için 6 saat beklenmiştir. Bu süre sonunda elde edilen pembe-kırmızı renkli çözelti içerisindeki fazla olan CTAB ve yan ürün olarak oluşan AuNP'lerin uzaklaştırılması amacıyla iki kez 10000 rpm ve 20 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve deiyonize su ile yıkanmıştır. Sentezlenen AuNR çözeltisi oda koşullarında saklanmıştır. Buna ilave olarak farklı dalgaboylarındaki lazerlerle eşleşip (coupling) SERS zenginleştirmesini sağlamak amacıyla yukarıda elde edilen AuNR örneklerinin asit varlığında boylarının oksidasyon işlemiyle kısaltılması yoluna gidilmiştir. Bu amaçla ayrıntıları Zheng ve ark. tarafından verilen yöntem uygulanmıştır [271]. Daha önce sentezlenen AuNR çözeltisinden 1 ml alınarak oksidasyon için üzerine 10 µl 0.01 M HAuCl₄ çözeltisi eklenmiştir. AuNR boyunun zamanla kısaldığı çıplak gözle UV-Vis'de çapa bağlı pikin sola kaymasıyla (blue shift) izlenmiştir. İstenilen özelliğe sahip AuNR elde edildiğinde tepkimeyi kesmek amacıyla AuNP çözeltisi 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek saflaştırılmıştır.

AuNC'ler ise gümüş nanoküpler ile kloraurik asit (HAuCl₄) arasında gerçekleşen galvanik yerdeğiştirme tepkimesi esas alınarak sentezlenmiştir [272]. Bu bağlamda ilk aşamada gümüş nanoküpler daha önceki yayınlara göre elde edilmiş ve daha sonra 3 nM nanoküp içeren çözelti poli(vinilpirolidon) (PVP) içerisinde dağıtılmış ve manyetik karıştırıcı eşliğinde kaynama noktasına kadar ısıtılmıştır. Bir şırınga pompası kullanılarak bu çözeltiye 10 dakika süre içerisinde 3 ml 0.2 mM HAuCl₄ çözeltisi eklenmiştir. Reaksiyon yaklaşık 10 dakika içerisinde çözelti renginin kararlı bir hale gelmesiyle sonlandırılmıştır. Soğutulan çözelti santrifüj edilmiş ve doygun NaCl eklenerek AgCl uzaklaştırılmıştır. Saflaştırılan AuNC çözeltisi bir sonraki kullanıma kadar oda şartlarında saklanmıştır.

3.2.3. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

Raman zenginleştirmesinde sinerjistik katkı sunması açısından bu kapsamda gümüş nanopartiküllerin sentezi konusunda yapılan deneysel çalışmalar burada özetlenecektir.

Farklı şekildeki gümüş nanopartiküllerin etkisini belirlemek amacıyla küresel (AgNP), üçgen prizma (AgPR) ve çubuk (AgNR) şeklinde yapılar sentezlenmiştir.

İlk aşamada AgNP ayrıntıları Yang ve ark. tarafından verilen sitrat indirgeme metoduyla sentezlenmiştir [273]. Bu yöntemde 10 mM AgNO_3 ve 20 mM trisodyum sitrat içeren çözelti 70 °C'ye kadar ısıtılmış ve renk değişimi gözlemlendikten hemen sonra buz banyosunda soğutulmuştur. Elde edilen sarı renkli AgNP çözeltisi ek bir işlem yapılmadan daha sonraki kullanıma kadar oda şartlarında saklanmıştır.

Bir diğer gümüş nanopartikül çeşidi olan AgPR ise iki aşamalı olarak sentezlenmiştir [80]. İlk olarak çekirdek (tohum) çözeltisi basitçe 5 mL 2.5 mM trisodyum sitrat, 0.25 mL 500 mg/L poli(sodyum stirenesülfonat) ve 0.3 mL 10 mM NaBH_4 öncelikle karıştırılmış ve 5 mL 0.5 mM AgNO_3 çözeltisi içine damlatma hızı yaklaşık 2 mL/dakika olacak şekilde yavaşça ilave edilmiştir. Daha sonraki aşamada ise 5 mL saf su üzerine 45 µl 10 mM askorbik asit ve belli miktarda çekirdek çözeltisi ilave edilmiştir. Elde edilen karışım üzerine 0.5 mM AgNO_3 dakikada 1 mL'lik bir hızda yavaş yavaş ilave edilerek değişik AgPR elde edilmiştir. Elde edilen nanoprizma çözeltisi üzerine 0.5 mL 25 mM trisodyum sitrat ilave edilerek partiküller ayrıca stabilize edilmiştir.

Son olarak AgNR yine ıslak kimya yöntemi ile sentezlenmiştir [78]. Bu yöntem iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada 20 ml 0.25 mM AgNO_3 ve 0.25 mM tri-sodyum sitrat çözeltisine 0.6 ml 10 mM NaBH_4 eklenerek sonraki aşama için tohum (seed) nanopartikül (~4 nm) çözeltisi elde edilmiştir. Bu çözelti 2 saat bekletilerek, tepkimenin tamamlanması sağlanmıştır ve en geç 5 saat içinde de sonraki aşamada kullanılmıştır. Daha sonra ise AgNR sentezlemek için 0.25 ml 10 mM AgNO_3 , 0.5 ml 100 mM askorbik asit ve 10 ml 80 mM CTAB çözeltisi karıştırılarak büyüme (growth) çözeltisi elde edilmiştir. Bu çözeltiye önceden hazırlanan tohum çözeltisinden 0.05 ml ve 100 µl 1 M NaOH damlatılarak, çözeltinin rengi stabil kalıncaya kadar beklenmiştir. Elde edilen AgNR çözeltisi 10000 rpm'de santrifüj edilerek yan ürünler ve fazla CTAB uzaklaştırılmış ve deiyonize su ile yıkanmıştır. Sonraki kullanıma kadar oda şartlarında saklanmıştır.

3.3. Altın (Gold Nanorod Arrays, GNA) ve Gümüş (Silver Nanorod Arrays, SNA) Nanoçubuk Yapıların Yüzeyde Oluşturulması ve Karakterizasyonu

Bu kapsamda üretilen plazmonik özelliği sahip GNA ve SNA yüzeylerin temizliği büyük önem arz etmektedir. Bu aşamada elde edilen yüzeyler daha sonraki bölümlerde direkt olarak SERS performanlarının belirlenmesinde ya da aptamer molekülleri ile modifiye edildikten sonra SERS analizleri yapılacağından yüzeylerin kusursuz bir halde olması gerekir. Bundan dolayı alt-taş olarak kullanılan BK7 cam yüzeyler aşağıda belirtilen aşamalarda özenle temizlenmiştir.

Temizleme işleminden önce istenilen yapıda kaplamanın yapılabilmesi için cam yüzeyler uygun bir boyutta (2.5 cm x 2.5 cm) kesilmiştir. Daha sonra yüzeyler üzerindeki kaba kirliliklerin uzaklaştırılması amacıyla sabunlu suda sonike edilerek yıkanmıştır. Bu işlemi takiben yüzeyler sırasıyla deiyonize su, aseton ve etanol ile 10 dakika süresince ultrasonik banyoda yıkanmıştır. Cam yüzeyler üzerinde bulunan gözle görülemeyen organik kirlilikleri ve pürüzlülükleri uzaklaştırmak amacıyla yüzeyler hacimsel olarak 1:3 oranında H_2O_2 (% 30 v/v) ve H_2SO_4 (%70) içeren piranha çözeltisine 15 dakika daldırılarak temizlenmiştir. Daha sonra deiyonize su ve etil alkol ile yıkanmış ve kaplama işlemine kadar yüksek saflıkta etanol içinde oda koşullarında saklanmıştır. Kaplama işleminden önce kaplanacak yüzey üzerinden N_2 geçirilerek kurutma yapılmış ve yüzeylere fiziksel veya kimyasal olarak bağlı organik kirliliklerin uzaklaştırılmasını sağlamak amacıyla BK7 cam yüzeyler vakum ortamında 30 dakika boyunca 100 W oksijen plazması ortamında temizlenmiştir. Plazma sisteminden alınan yüzeyler üzerine herhangi bir kirliliğin birikimini engellemek amacıyla hızlı bir şekilde kaplama aparatına takılarak kaplama cihazına alınmıştır. Bu çalışma kapsamında elde edilen tüm altın ve gümüş yüzeyler BK7 cam slayt üzerinde fiziksel buhar biriktirme tekniği (Physical Vapour Deposition, PVD) yardımı ile hazırlanmıştır. Anizotropik altın ve gümüş yapıların üretimine olanak sağlayacak sistem çalışmanın bu iş paketinde tasarlanmış ve laboratuvarlarımızda üretilmiştir. Biriktirme işlemi (Yüksek Vakum) Fiziksel Buhar Birikimi (PVD; "Physical Vapor Deposition") cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PVD sisteminde buharlaşan altın ya da gümüş atomları ile yüzeylerin temas açısı kontrol edebilmektedir. Gaz fazındaki altın ya da gümüş molekülleri ile BK7 cam yüzeyler arasındaki açının istenilen eğim açısına ayarlanabilmesi ile anizotropik

altın ve gümüş nanoçubuklar yüzey difüzyonu ve kendilerini gölgeleme (self-shadowing) mekanizmaları temeline dayanarak üretilmiştir. Öncelikle %99.99 saflıktaki altın ve gümüş parçacıklar PVD sistemi içerisinde yer alan tungsten potaya özenle yerleştirilmiştir. Kaplanacak olan cam yüzeylerin buharlaşma kaynağına olan uzaklığı 2 cm olarak ayarlanmıştır. Biriktirme prosesi için optimum koşullar belirlenmiştir (10^{-6} Torr buharlaşma basıncı ve 0.1 Å/sn biriktirme hızı). Çalışmada farklı geliş açıları (5° , 10° , 20°) ile tek bir kalınlıkta (60 nm) altın ve gümüş biriktirilmiş ve yüzeyler üzerinde oluşan nanoyapılar taramalı elektron mikroskopu (Scanning Electron Microscope, SEM) ile karakterize edilmiştir. Ayrıca SERS performanslarının karşılaştırılması amacıyla düz (izotropik) altın ve gümüş yüzeyler (3 nm Cr, 32 nm Au ya da Ag) yine aynı sistem ve koşullarda hazırlanmıştır. Burada Cr kaplama altın ya da gümüşün yüzeye daha iyi bağlanmasını sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Yine karşılaştırma amaçlı olarak pürüzlü yüzeyler elde etmek amacıyla PS mikroküreler ($\sim 5 \mu$, 1.5 mg / ml) spin kaplama cihazı kullanılarak (Spincoat G3P-8, USA) cam yüzeye tek tabaka olarak yayılmıştır. Bu yüzeylere plazmonik özellik kazandırmak amacıyla yukarıda belirtilen koşullarda PVD cihazı kullanılarak 32 nm altın kaplanmıştır.

3.4. Nanopartiküller ile Kombine/Dekore Edilmiş GNAs ve SNAs Yapıların SERS Özellikleri

Tez kapsamında yukarıda belirtilen yöntemlerle elde edilen GNA ve SNA platformlar ve bunların plazmonik özelliğe sahip nanopartiküller kullanılarak Raman zenginleştirmesinde sinerjistik bir etki oluşturma potansiyeli incelenmiştir. Bu bağlamda elde edilen nanopartikül çözeltileri Raman boyası ya da toksin çözeltileriyle belirlenen nihai derişimlerde olacak şekilde karıştırılmış ve etkileşimin olması amacıyla 30 dakika bekletilmiştir. Tüm çözeltiler deiyonize su içerisinde hazırlanmıştır. Bu karışım daha sonra 10 dakika boyunca UV-ozon uygulanmış yüzeylere belli miktarda (3 μ l) damlatılmış ve kuruyuncaya kadar oda koşullarında laminar kabinde tutulmuştur. Kuruyan yüzeylerin Raman ölçümleri aynı gün içerisinde gerçekleştirilmiştir.

3.5. Aptamer ile Modifiye Edilmiş GNAs ve SNAs Yüzeylerin SERS Özellikleri

Bu kısımda ilk aşamada FITC-aptamer ve Dy800-aptamer çözeltileri fosfat tampon çözeltisi içerisinde pH 8 olacak şekilde istenilen derişimde hazırlanmıştır. Daha sonra

bu cözelti1er 10 dakika boyunca UV-ozon uygulanmış yüzeylere belli miktarda (3 µl) damlatılmış ve kuruyuncaya kadar oda koşullarında laminar kabinde tutulmuştur. Bu şekilde boyalı aptamerlerin tiyol grubu üzerinden yüzeylere bağlanması sağlanmıştır. Kuruma sonunda yüzeyler bağlanmayan aptamerlerin uzaklaştırılması amacıyla fosfat tamponuyla yıkanmış ve azot ile kurutulmuştur. Komplementer aptamer takıldıktan sonraki Raman spektrasının tayini için bu yüzeylere ayrıca sonradan yine fosfat tampon içerisinde komplementer aptamer (1 µM, 10 µl) damlatılmış ve yukarıdakine benzer şekilde kurutulmuş ve yıkanmıştır. Aptamerler floresans boyalı olduğu için aliminyum folyo ile sarılarak ışıkla teması engellenmiştir. Aptamer ile modifiye edilmiş tüm yüzeylerin Raman ölçümleri aynı gün içerisinde gerçekleştirilmiştir

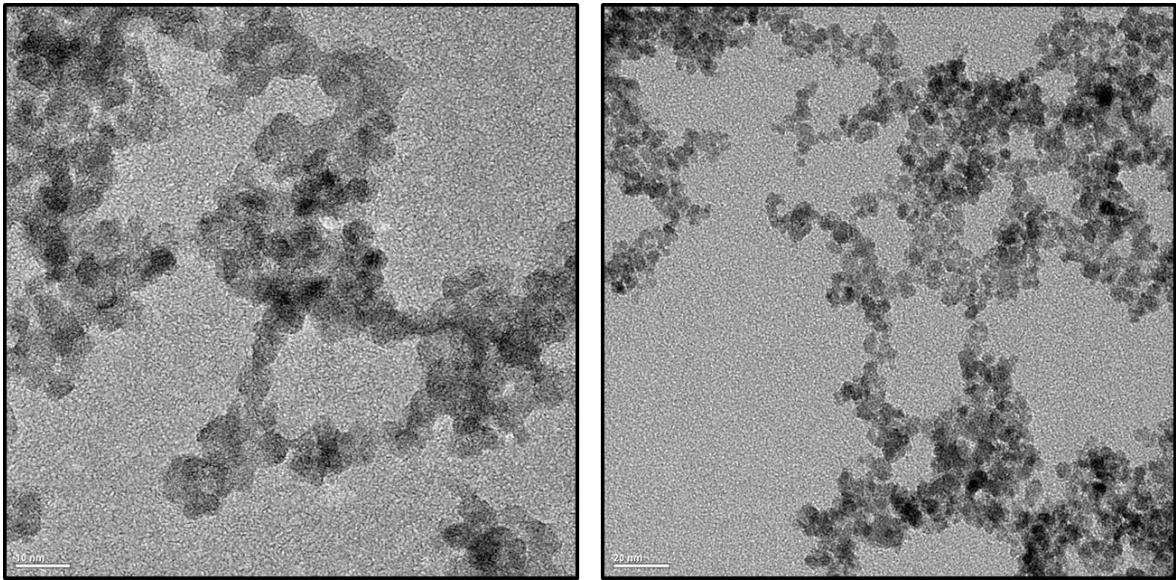
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Nanopartiküllerin Sentez ve Karakterizasyonu

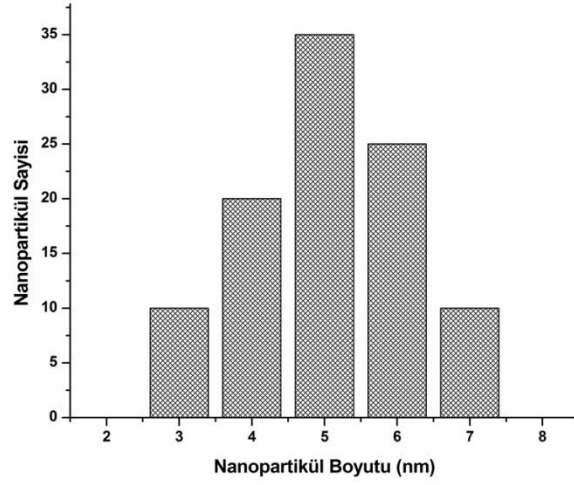
Bu kısımda deneysel kısımda sentez yöntemleri ayrıntılı olarak verilen manyetit, altın ve gümüş nanopartiküllerin karakterizasyon sonuçları ilgili analizlerle özetlenecektir.

4.1.1. Manyetik Nanopartiküllerin Sentezi

Manyetit nanopartiküller grubumuzca yapılan çalışmalarda özellikle nanopartiküllerin modifiye edilerek hücre içine transfer edilmesinde sıklıkla kullanılan nanomalzemelerdendir. Bundan dolayı manyetik nanopartiküller plazmonik özelliğe sahip olmadığı ve tez kapsamında SERS analizlerinde kullanılmadığı halde grubumuzca yapılan diğer çalışmalarda kullanılabilmesi için sentezlenmiştir. Bu bağlamda ilk aşamada manyetit nanopartiküller ikili çöktürme yöntemiyle elde edilmiştir. Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de sırasıyla bu yöntemle elde edilen nanopartiküllerin farklı büyütme ölçeklerindeki TEM görüntüleri ve partikül boyut dağılım grafikleri verilmiştir. Buradan partiküllerin homojen bir dağılımla ikili çöktürme yöntemiyle sentezlendikleri rahatlıkla söylenebilir. Partikül boyut dağılımı ile yapılan bu partiküllerin ortalama olarak 5.8 nm büyüklüğünde olduğu hesaplanmıştır.

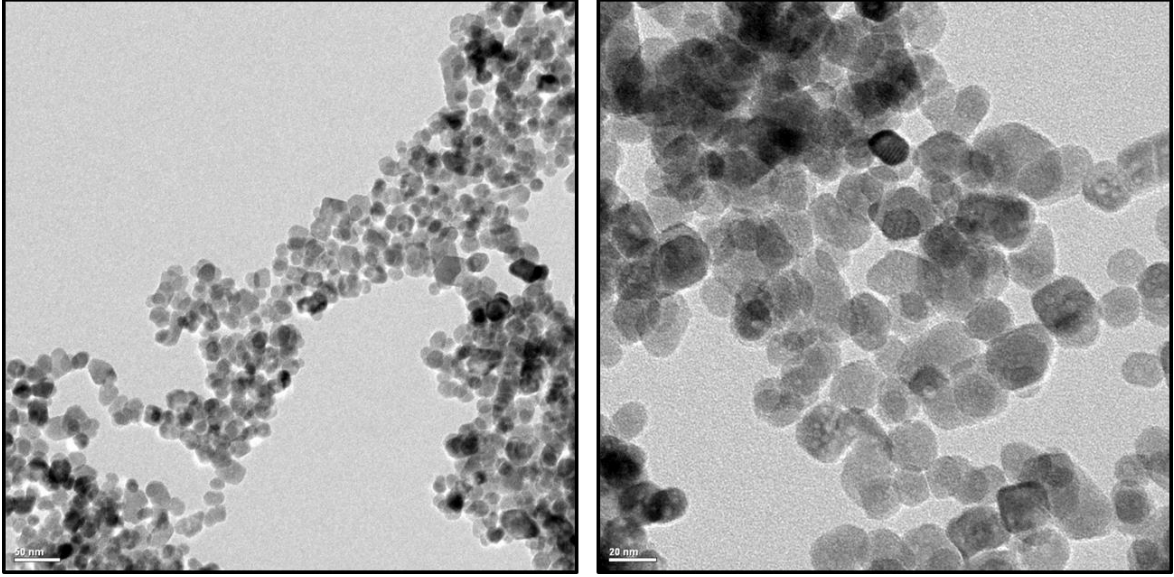


Şekil 4.1. Eş-çöktürme yöntemiyle elde edilen manyetit nanopartiküllerin farklı büyütme ölçeklerindeki TEM görüntüleri

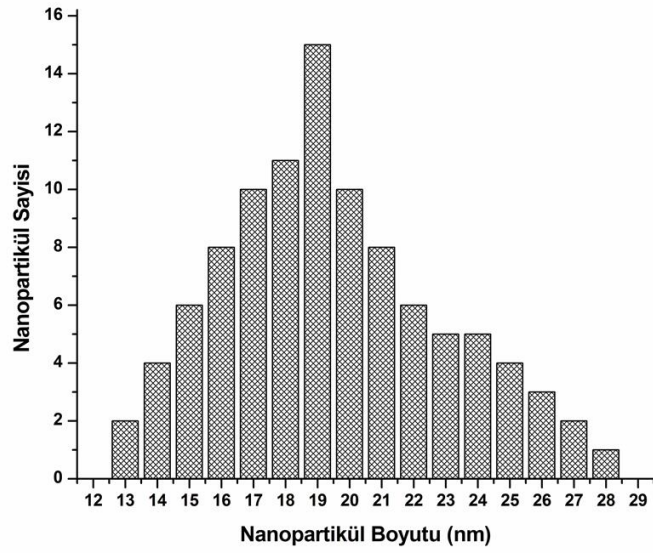


Şekil 4.2. Eş-çöktürme yöntemiyle elde edilen manyetit nanopatiküllerin boyut dağılım grafiği

Grubumuzca yapılan daha önceki çalışmalarda ikli çöktürme yöntemiyle sentezlenen manyetik nanopatiküllerin çok düşük partikül boyutlarına bağlı olarak düşük süperparamanyetik özellik gösterdikleri ve düşük manyetik doygunluk (~ 32 emu/g, magnetic saturation) değerlerine sahip oldukları belirtilmiştir [274]. Grubumuzdaki çalışmalarda bu partiküllerin manyetik doygunluk değerlerinin yüksek olması istenilen bir özelliktir. Bu bağlamda alternatif olarak solvotermal ile manyetit sentezi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te sırasıyla bu yöntemle elde edilen nanopatiküllerin farklı büyütmelerdeki TEM görüntüleri ve partikül boyut dağılım grafikleri verilmiştir. Partiküllerin son derece dar bir dağılım aralığında başarılı bir şekilde sentezlendikleri görülmektedir. Bu yöntemle sentezlenen manyetit nanopatiküller için ortalama büyüklük 18.8 nm olarak belirlenmiştir. TEM görüntüleri dikkatle incelendiğinde elde edilen partiküllerin gözenekli bir yapıda olduğu görülmektedir. Bu tamamen partikül üretim mekanizmasıyla ilgilidir. Sentez sırasında küçük partiküller Ostwald büyümesi (Ostwald ripening) ile biraraya gelerek kümelenmeler (cluster) oluşturur ve bunun sonucunda nanopatiküller arasında boşluklar meydana gelir [37].



Şekil 4.3. Solvotermal yöntemle elde edilen manyetit nanopatiküllerin farklı büyütmelerdeki TEM görüntüleri

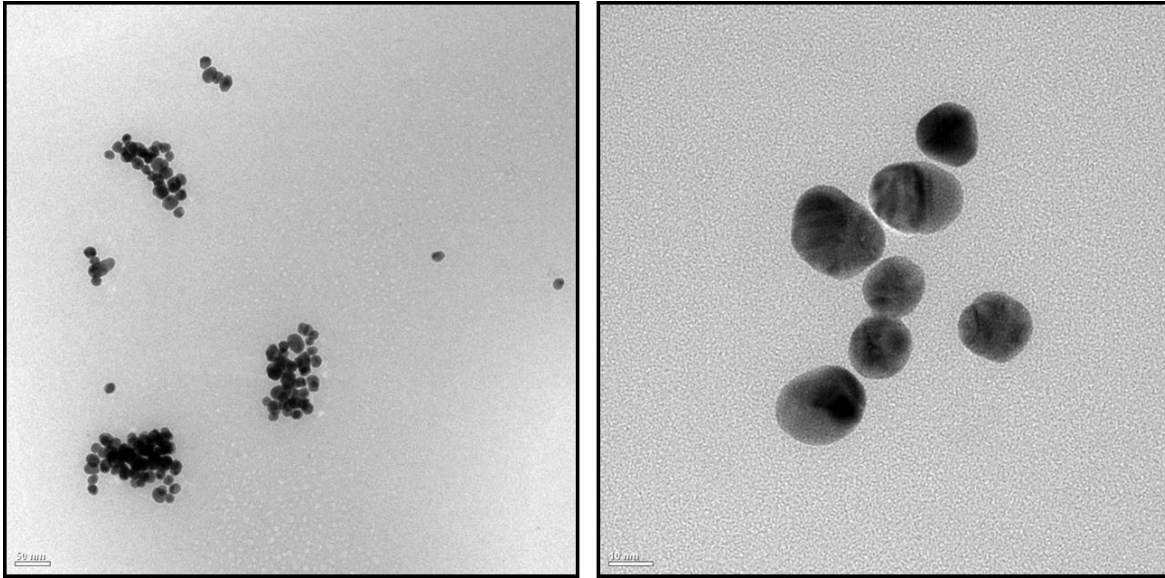


Şekil 4.4. Solvotermal yöntemle elde edilen manyetit nanopatiküllerin boyut dağılım grafiği

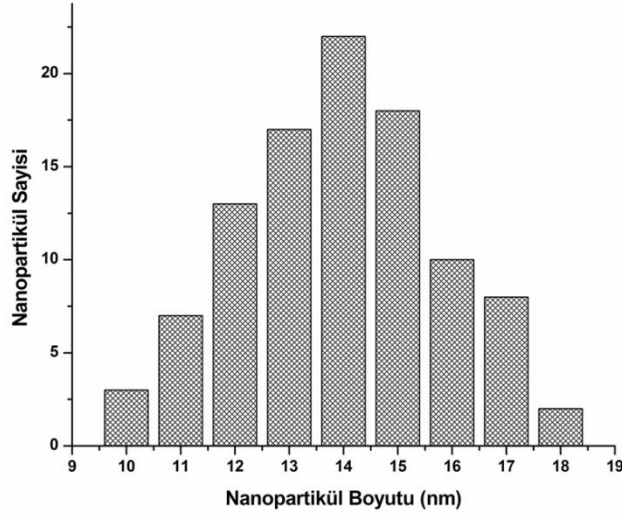
4.1.2. Altın Nanopartiküllerin Sentezi

Bu kapsamda GNA nanoçubuklarla kombine edilerek Raman zenginleştirmesini arttırmaya yönelik olarak kullanılacak olan altın nanopartiküllerin sentez sonuçları değerlendirilecektir. Altın nanopartiküller morfolojilerinin SERS performansına olan etkilerinin araştırılması amacıyla küresel (AuNP), küp (AuNC) ve çubuk (AuNR) şeklinde sentezlenmişlerdir. Şimdi bunlarla ilgili elde edilen sonuçları sırasıyla inceleyelim.

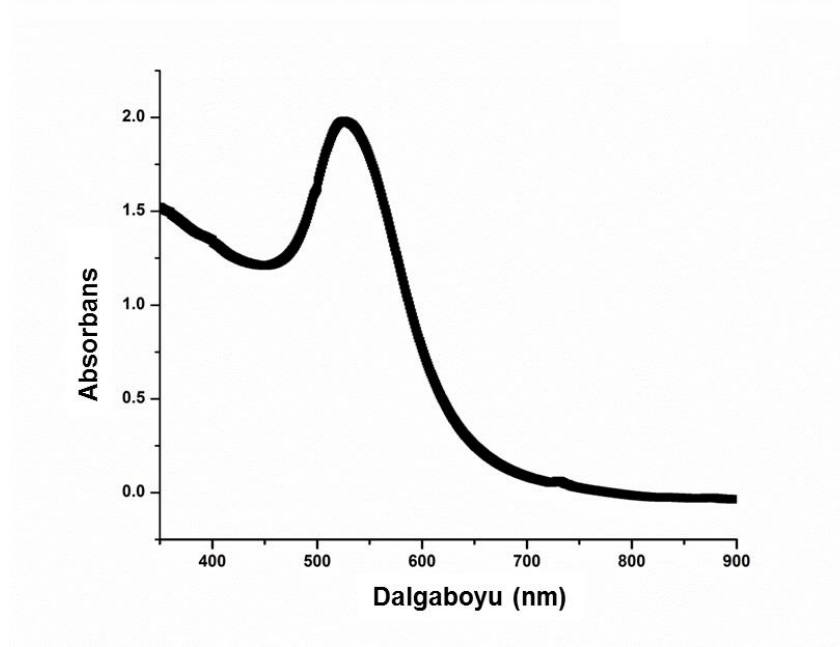
AuNP için elde edilen farklı büyüklüklerdeki TEM görüntüleri, partikül boyut dağılım grafikleri ve UV-vis spektrumu sırasıyla Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de sırasıyla verilmiştir. Sentez sonucunda koyu kırmızı renkte nanopartikül çözeltisi elde edilmiştir. TEM görüntülerinden bu nanopartiküllerin küresel formda oldukları rahatlıkla söylenebilir. Ayrıca partikül boyut dağılım grafiğinden AuNP için ortalama partikül büyüklüğü 14 nm olarak belirlenmiştir. Altın nanopartiküller SPR özellik gösterdiklerinden Uv-vis spektrumunda maksimum noktası 522 nm dalgaboyunda olacak şekilde bir absorpsiyon piki belirlenmiştir. Bu pikin keskin yapısı yapısı partikül boyut dağılımının son derece dar olduğunu göstermekte ve mevcut TEM sonucu bunu desteklemektedir.



Şekil 4.5. Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen AuNP örneğinin farklı büyütmelelerdeki TEM görüntüleri



Şekil 4.6. Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen AuNP örneğinin partikül boyut dağılım grafiği



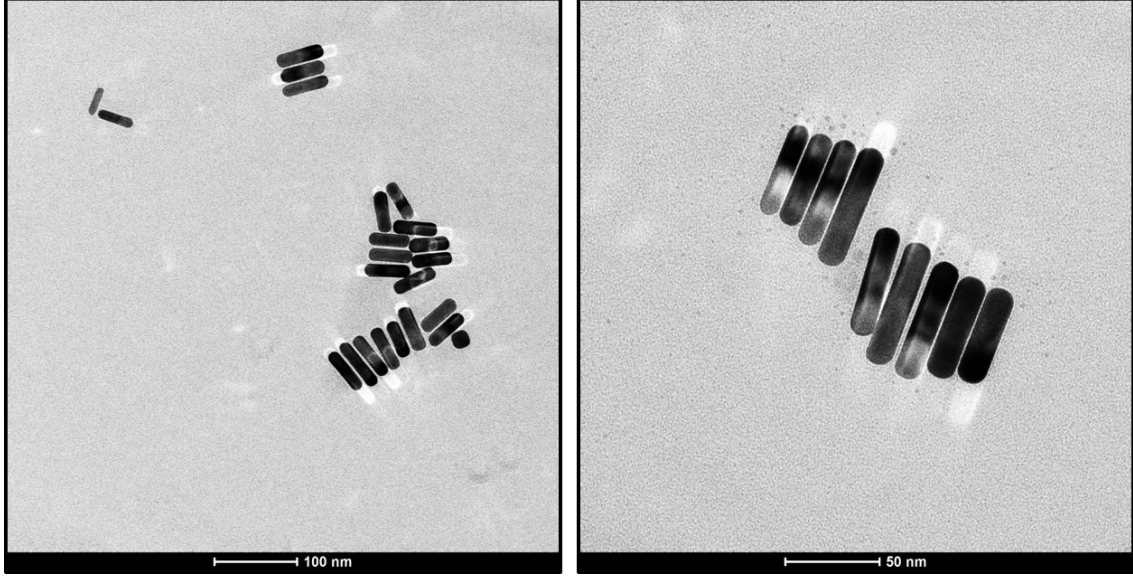
Şekil 4.7. Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen AuNP örneğinin UV-vis spektrumu

AuNR sentezinde ayrıntıları Dr. El-Sayed tarafından geliştirilen iki aşamalı sentez protokolü temel alınmıştır [149]. Bu kapsamda sentezlenen AuNR örneklerinin farklı büyütme ölçeklerindeki TEM görüntüleri ve çapa ve boya göre partikül boyut dağılım grafikleri

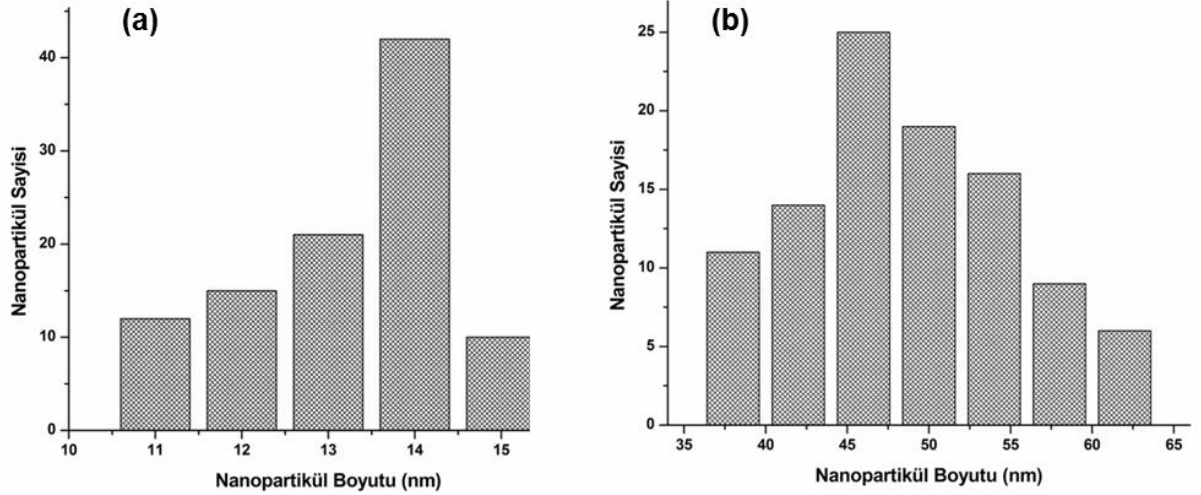
sırasıyla Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da verilmiştir. Buna göre TEM sonuçları elde edilen AuNR örneğinin başka morfolojide nanopartikül içermediğini ve tamamen çubuklardan oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca çapa ve boya göre yapılan analizlere göre elde edilen partikül boyut dağılımları nanoçubukların homojen bir çap ve boy dağılımına sahip olduklarını göstermektedir. Buna göre çapa ve boya göre ortalama partikül büyüklükleri sırasıyla 13.2 ve 50 nm olarak belirlenmiştir. Bu sonuca göre AuNR için boy/çap oranı (aspect ratio) yaklaşık 3.8 olarak hesaplanır.

Ayrıca farklı lazer dalga boylarına eşleme olması için AuNR örneklerin oksidasyon ile boyları kısaltılmaya çalışılmıştır. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de özetlenmiştir. Oksidasyon süresi arttıkça AuNR boyunda kısalma gözlenmiş ve değişim çıplak gözle ve UV-vis spektrumu ile izlenmiştir. Şekil 4.10'da bu değişimin optik olarak sonucu çıplak gözle kolaylıkla izlenebilmektedir. Şekil 4.11'de ise bu optik değişimlere karşılık gelen UV-vis spektrumları her bir örnek için ayrı ayrı verilmiştir. Dikkat edilecek olursa ok yönünde en son örnek hariç diğer tüm örneklerde tipik AuNR için gözlemlenen iki pik gözlenmiştir. Çapa (transverse) bağımlı olan ilk pik tüm örnekler için aynı maksimum absorpsiyon dalga boyu değerinde (508 nm) saptanmıştır ve bu pikte boy kısalmasına bağlı olarak bir değişim gözlenmemiştir. Bu durum AuNR çapının oksidasyon işlemiyle değişmediğini göstermektedir. Fakat, boya bağlı ikinci pik (longitudinal) oksidasyonla kısaltmaya bağlı olarak sola doğru kaymıştır (blue shift) [271]. Bu pik 800 nm'den zamanla 785, 655 ve son olarak 520 nm değerine gelmiştir. Bu sonucu desteklemek amacıyla ilgili AuNR örneklerinin TEM görüntüleri Şekil 4.12'de verilmiştir. TEM görüntüleri UV-vis spektrumları için yaptığımız çıkarımları tamamen doğrular niteliktedir. Buna göre boya bağlı pik 800 nm'den sırasıyla 785 nm ve 655 nm'ye ulaştığında AuNR çapı değişmemekte sadece partikül boyu kısalmaktadır. Buna göre 785 nm ve 655 nm'de boya bağlı maksimum absorpsiyon değerine sahip örnekler için boy/çap oranı (aspect ratio) sırasıyla 3.6 ve 1.6 olarak belirlenmiştir. Son örnekte ise uzun süreye bağlı olarak gerçekleşen ciddi kısalmadan dolayı UV-vis spektrumda boya bağlı pik ortadan kaybolmuş ve 520 nm'de tek bir pik gözlenmiştir (Şekil 4.11). Bu sonuç TEM görüntüsü ile desteklenmiş ve bu örnek için ortalama partikül boyutu 13 nm olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar ışığında oksidasyon

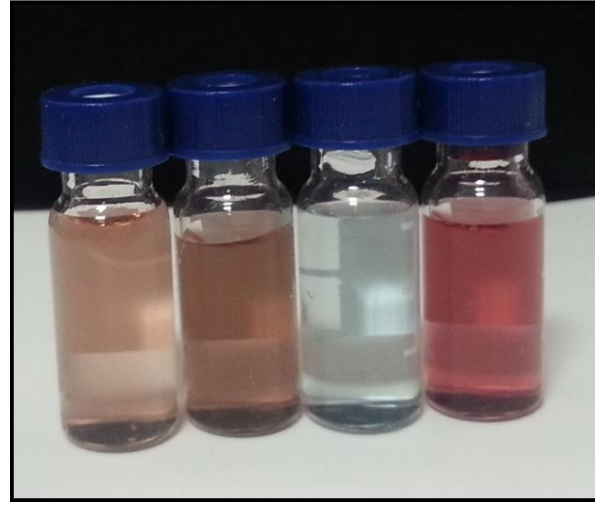
yöntemiyle istenilen lazer dalga boyuyla eşleşecek AuNR örneklerin sentezlenebileceğini rahatlıkla söyleyebiliriz.



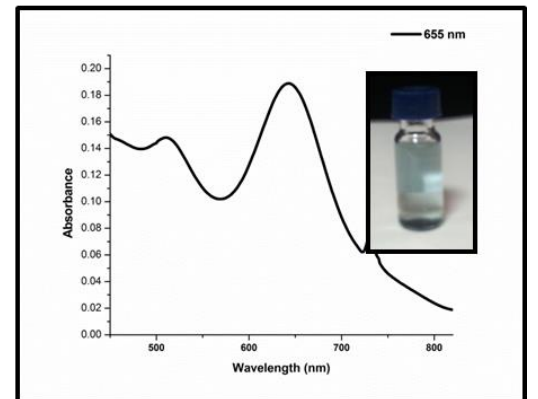
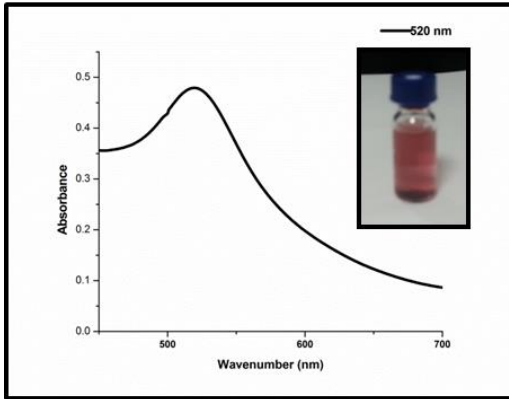
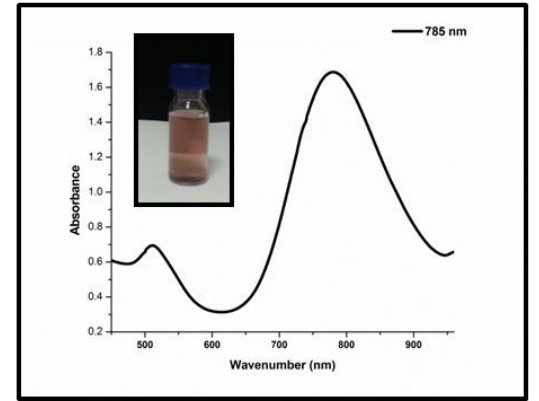
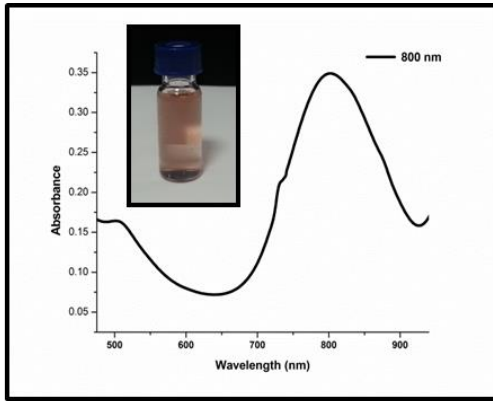
Şekil 4.8. Elde edilen AuNR örneğinin farklı büyütmelelerdeki TEM görüntüleri



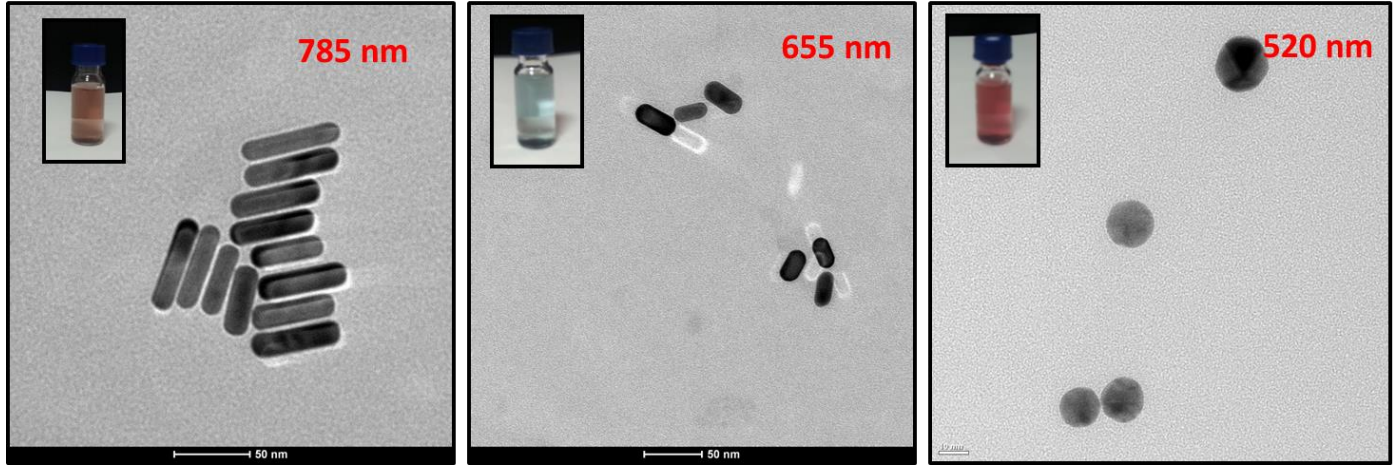
Şekil 4.9. Elde edilen AuNR örneğinin a) çapa b) boya göre partikül boyut dağılım grafiği



Şekil 4.10. NR boy kısaltma yöntemiyle farklı süreler için elde edilen farklı boylardaki AuNR örneklerinin fotoğraf görüntüleri. Ok yönünde AuNR boyu artmaktadır.

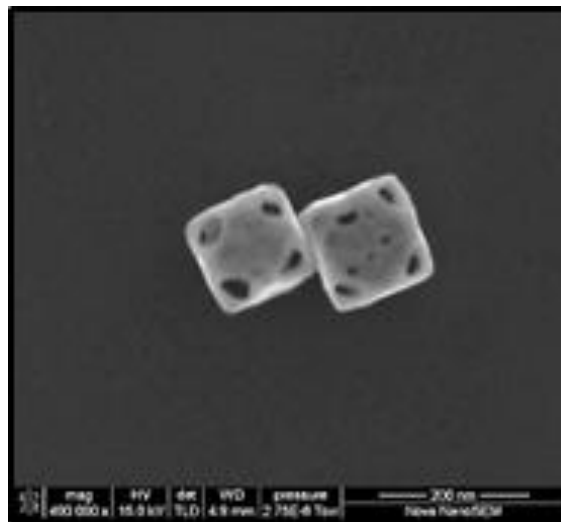


Şekil 4.11. NR boy kısaltma yöntemiyle elde edilen farklı boylardaki AuNR örneklerinin UV-Vis spektrumları ve fotoğraf görüntüleri. Ok yönünde AuNR boyu azalmaktadır.

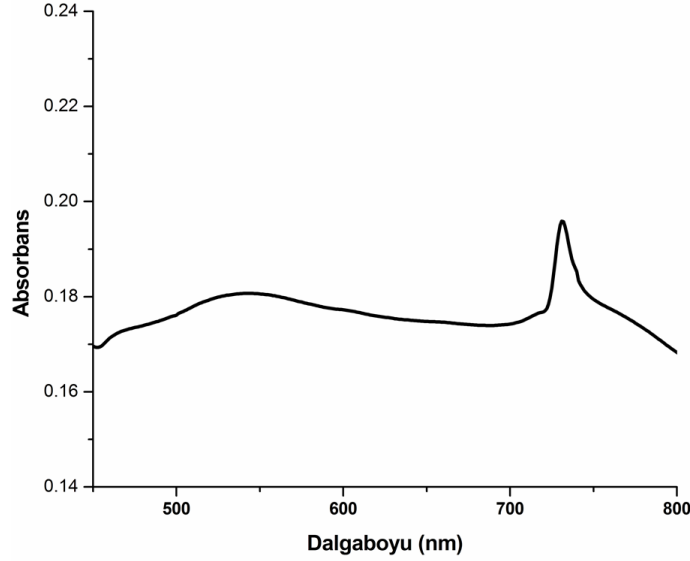


Şekil 4.12. NR boy kısaltma yöntemiyle elde edilen farklı boylardaki AuNR örneklerinin TEM görüntüleri. Ok yönünde AuNR boyu azalmaktadır.

Bu kısımda son olarak küp şeklinde bir yapıya sahip olan AuNC sentez ve karakterizasyonu üzerinde durulacaktır. Bu kapsamda AuNC için TEM görüntüleri ve Uv-Vis spektrumu sırasıyla Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'te verilmiştir. Buna göre sentezlenen AuNC örneklerinin yaklaşık olarak 150 nm büyüklükte olduğu ve küpün 3 boyutunun da yaklaşık aynı boyutlarda olduğunu rahatlıkla söyleyebiliriz. UV-vis spektrumunda 730 nm'de maksimum absorpsiyon için pik değeri saptanmıştır ve bu değer elde edilen TEM görüntüsünü destekler niteliktedir [272].



Şekil 4.13. Sentezlenen AuNC örneklerinin TEM görüntüleri



Şekil 4.14. Sentezlenen AuNC örneklerinin UV-vis spektrumu

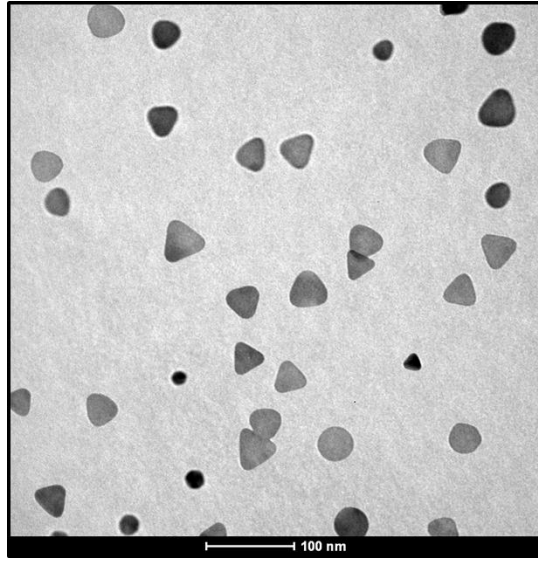
Altın nanopartiküller ile ilgili bu kısım özetlenmek gerekirse şu çıkarımlar yapılabilir. Tüm nanopartiküller istenilen şekil, büyüklük ve plazmonik özellikte kontrollü ve tekrarlanabilir bir şekilde sentezlenmiş ve bu sonuç yeterli veri ve analizlerle ispatlanmıştır.

4.1.3. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

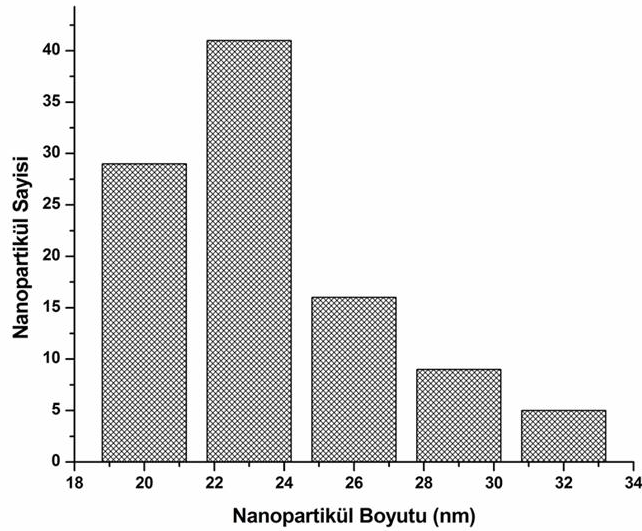
Altın nanopartiküllere benzer şekilde gümüş nanopartiküller de gümüş nanotel yüzeylerle kombine edilerek SERS zenginleştirmesine olan sinerjistik etki incelenmeye çalışılmıştır. Bu amaç doğrultusunda gümüş nanopartiküller prizma (AgPR), küre (AgNP) ve çubuk (AgNR) olmak üzere 3 farklı şekilde sentezlenmiştir. Şimdi sırasıyla bu nanopartiküllerin sentezi sonucu elde edilen verileri değerlendirelim.

Bu kapsamda ilk olarak AgPR ele alınacaktır. AgPR için elde edilen farklı büyüklüklerdeki TEM görüntüleri, partikül boyut dağılım grafikleri ve Uv-Vis spektrumu sırasıyla Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de verilmiştir. Sentez sonucunda koyu mavi renkte nanopartikül çözeltisi elde edilmiştir. TEM görüntülerinden bu nanopartiküllerin prizma şeklinde oldukları ve kuruma sonucu TEM grid üzerinde demetler halinde bulundukları görülmektedir. Ayrıca partikül boyut dağılım grafiğinden AgPR için ortalama partikül büyüklüğü 24 nm olarak belirlenmiştir. Gümüş nanopartiküller SPR

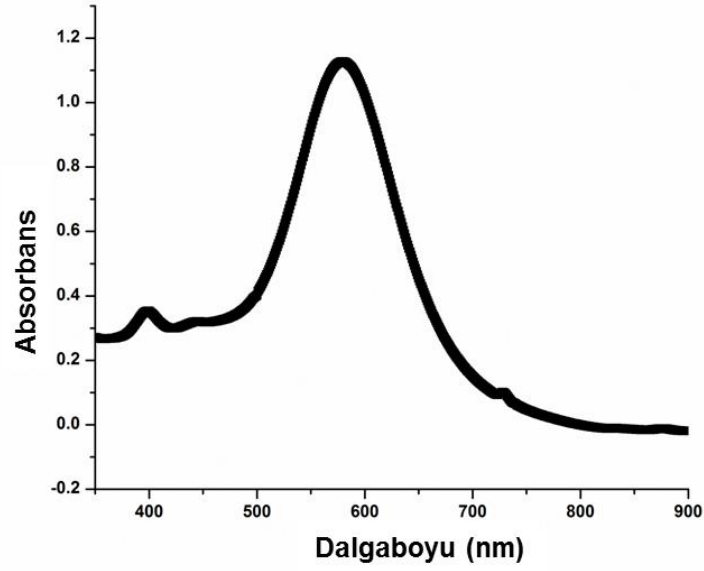
özellik gösterdiklerinden UV-vis spektrumunda maksimum noktası 580 nm dalgaboyunda olacak şekilde bir absorpsiyon piki belirlenmiştir.



Şekil 4.15. Sentezlenen AgPR örneklerinin farklı büyütmelerdeki TEM görüntüleri.

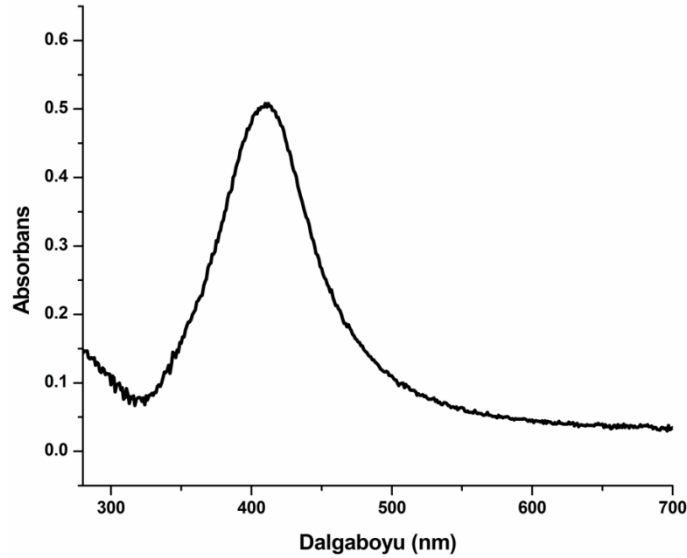


Şekil 4.16. Sentezlenen AgPR örneklerinin partikül boyut dağılım grafiği.



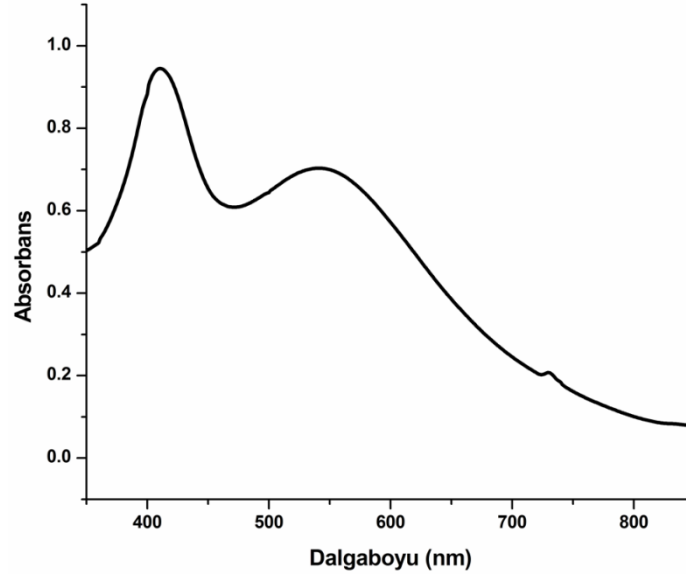
Şekil 4.17. Sentezlenen AgPR örneklerinin UV-vis spektrumu.

AgNP sentezi sonrasında parlak sarı renkte nanopartiküller elde edilmiştir. Şekil 4.18’de bu nanopartiküller için elde edilmiş UV-vis spektrumu verilmiştir. Spektrumdan maksimum absorpsiyon dalgaboyu 410 nm olan geniş bir pik elde edilmiştir.



Şekil 4.18. Sentezlenen AgNP örneklerinin UV-vis spektrumu.

Bu kısımda son olarak çubuk şeklinde bir yapıya sahip olan AgPR sentezi üzerinde durulacaktır. Sentez sonucunda yeşil renkte nanopartikül çözeltisi elde edilmiştir. Bu nanopartikül için elde edilen UV-vis spektrumu Şekil 4.19'da verilmiştir. Spektrumdan çap (transverse) ve boy (longitudinal) için olmak üzere sırasıyla 410 nm ve 542 nm'de olmak üzere iki adet pik gözlenmektedir.



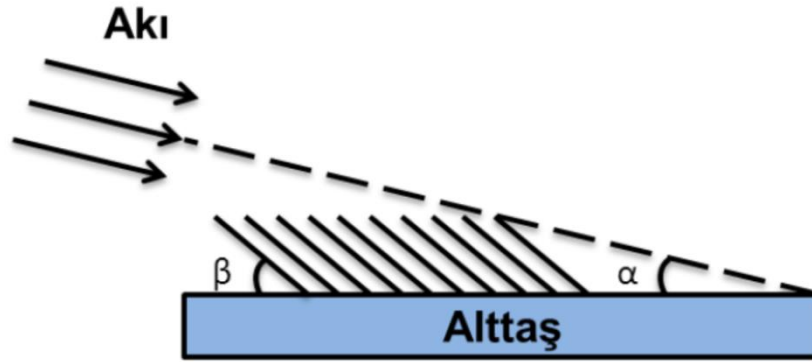
Şekil 4.19. Sentezlenen AgNR örneklerinin UV-Vis spektrumu.

Gümüş nanopartiküller ile ilgili bu kısım özetlenmek gerekirse şu çıkarımlar yapılabilir. Tüm nanopartiküller istenilen şekil, büyüklük ve plazmonik özellikte kontrollü ve tekrarlanabilir bir şekilde sentezlenmiş ve bu sonuç yeterli veri ve analizlerle ispatlanmıştır.

4.2. Altın (Gold Nanorod Arrays, GNA) ve Gümüş (Silver Nanorod Arrays, SNA) Nanoçubuk Yapıların Yüzeyde Oluşturulması ve Karakterizasyonu

Bu çalışma kapsamında buhar fazında eğik açı biriktirme (oblique angle deposition, OAD) ile cam yüzeyde oluşturulan altın ve gümüş nanoçubuk yapıların farklı şekil ve büyüklükteki altın ve gümüş nanopartiküllerle kombine edilmesiyle oluşturulan yapıların SERS performanslarının incelenmesi ve bu yapıların tanıda kullanılması hedeflenmektedir. Bu amaç doğrultusunda bu kısımda elde edilen altın (Gold Nanorod Arrays, GNA) ve gümüş (Silver Nanorod Arrays, SNA) nanoçubuk yapıların genel özellikleri verilecektir.

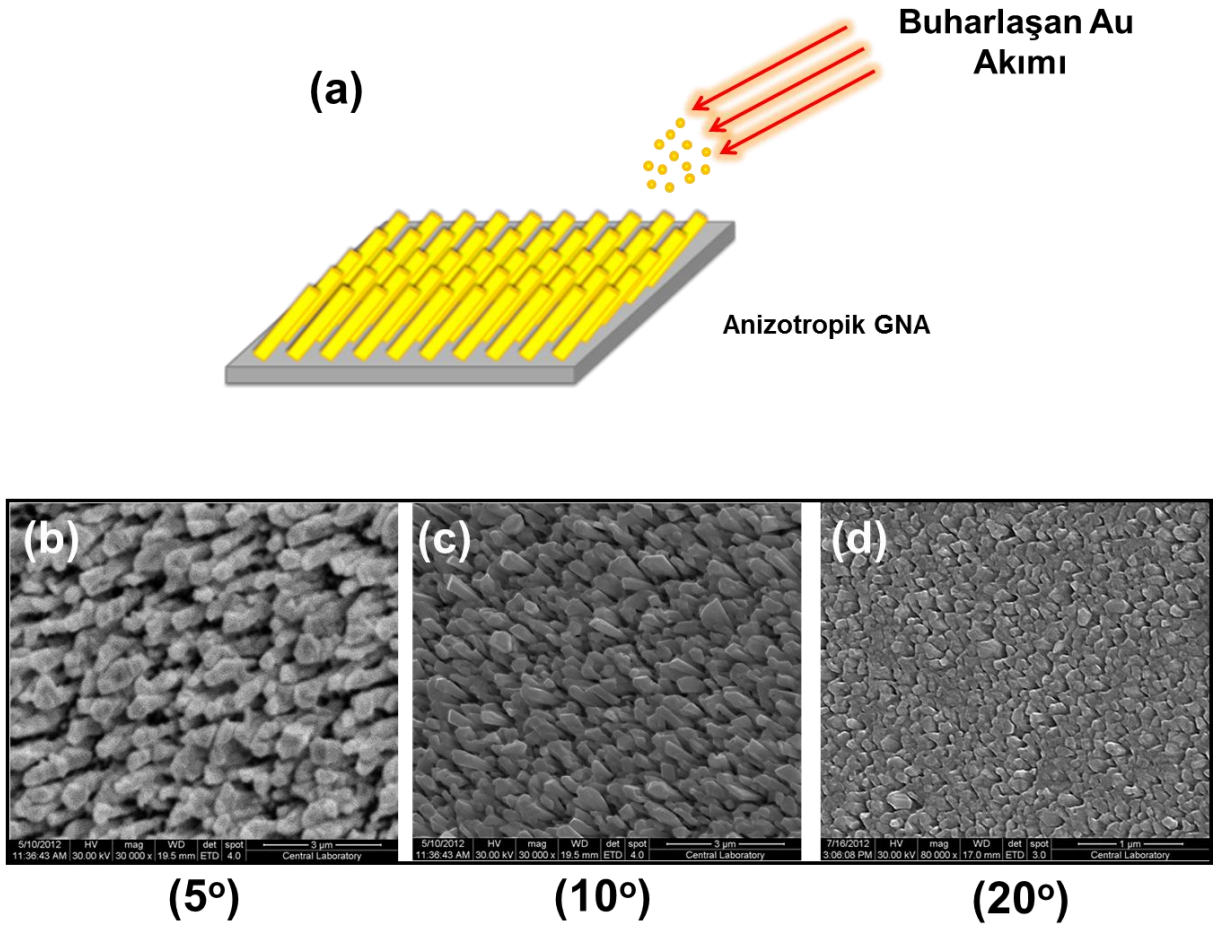
Şekil 4.20’de belirtildiği gibi OAD yönteminde buhar fazında oluşturulan akı yüzeye belli bir açı ile (α , buhar akısı açısı) ile gönderilerek yüzeyde biriktirilme sağlanır. Burada dikkat edilmesi gereken nokta α ile eğimli nanoçubuk açısını (β) karıştırmamaktır. α deney sırasında ayarlanan ve belirlenen bir açıyken β ise deneye sonrası elde edilen bir sonuçtur. Şekil 4.20’de gösterildiği gibi nanoçubuk yapılar temel olarak birbirini gölgeleme mekanizmasına göre oluşmaktadır. Yani yüzeyde açığa bağlı olarak küçük noktalar şeklinde oluşan yapılar kendilerinden belli bir mesafeye kadar başka bir yapının yapının oluşumunu gölgeleme yaparak engellemektedir. Bu şekilde yüzeyde belli bir yönde yönlenmiş (anizotropik) yapılar elde edilmektedir.



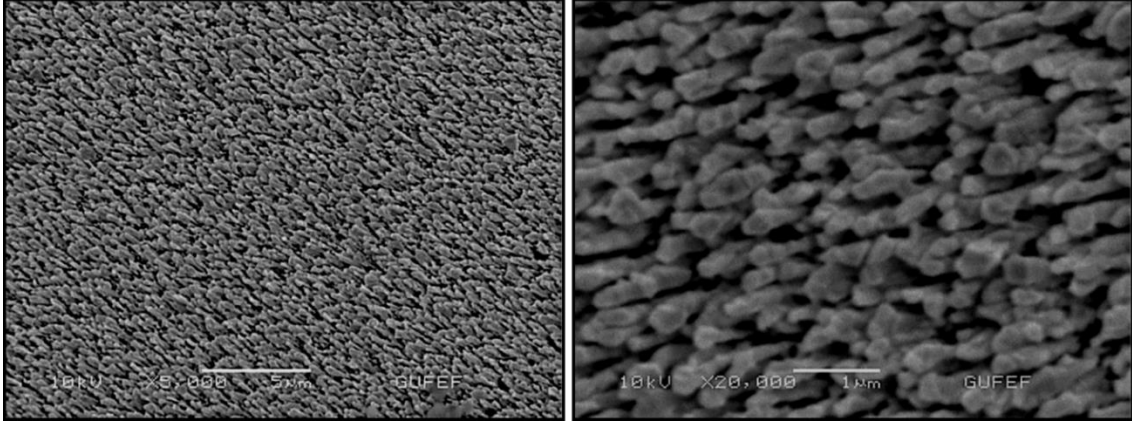
Şekil 4.20. Eğik açı vakum biriktirme tekniği ile anizotropik GNA ya da SNA nanoçubuk yapıların oluşumu. α :buhar akısının açısı, β =eğimli nanotel açısı.

Şekil 4.21’de bu kapsamda karşılaştırma yapılabilmesi için farklı α açıları (5° , 10° ve 20°) için elde edilmiş GNA nanotel yapıların üstten SEM görüntüleri ve bunların hangi mekanizmayla oluştuğunu gösteren bir çizim verilmiştir. Şekil 4.21 dikkatli incelendiğinde elde edilen GNA yapının morfolojisinin α açısına direkt olarak bağlı olduğunu rahatlıkla söyleyebiliriz. 5° ve 10° için elde edilen SEM görüntülerinde (Şekil 4.21b,c) çok yoğun paketlenmiş ve eğimli GNA yapıları kolaylıkla gözlemleyebiliyoruz. ImageJ yazılımı kullanılarak elde edilen nanoçubukların sayıca yoğunlukları $\alpha = 5^\circ$ ve $\alpha = 10^\circ$ için sırasıyla $3.86 \cdot 10^8$ nanoçubuk/cm² ve $5.63 \cdot 10^8$ nanoçubuk/cm² olarak belirlenmiştir. α açısının 10° ’den 20° ’ye çıkartılması ise yüzey morfolojisinde çok önemli değişimlerin yaşanmasına neden olmuştur. 20° için alınan SEM görüntülerinde GNA nanoyapılar yerine gözenekli bir altın yüzey elde edilmiştir (Şekil 4.21d). Bu değişiklik

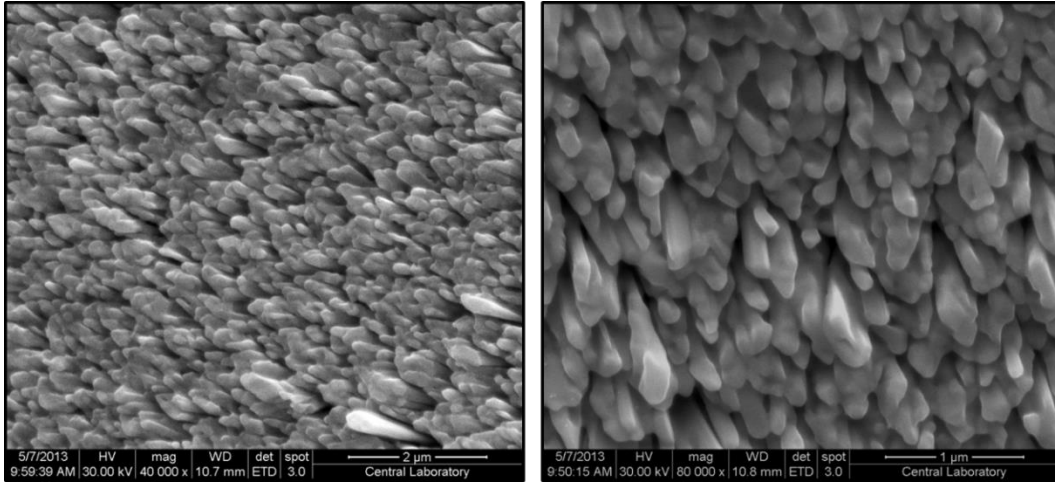
temelde artan açığa bağlı olarak kendiliğinden gölgeleme mekanizmasının ortadan kalkmasına bağlanabilir [275-277]. Ayrıca bunlara paralel olarak 5° , 10° ve 20° α değerleri için yine ImageJ yazılımı kullanılarak eğimli nanoçubuk açıları (β) sırasıyla 38 ± 4 , 62 ± 6 ve 82 ± 6 olarak belirlenmiştir. Bu sonuca bağlı olarak artan α değerine paralel olarak β değerinin de arttığı ve artışa bağlı olarak GNA yapının ortadan kalkmaya başladığını söyleyebiliriz. Ayrıca elde edilen nanoçubuk yapıların 50-200 nm aralığında bir çap değerinde olduklarında görüntülerden anlaşılmaktadır. GNA nanoyapıların yüzey morfolojilerinin daha iyi anlaşılabilmesini sağlamak amacıyla 5° , 10° ve 20° α değerleri için farklı büyütmelelerdeki SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'te verilmiştir.



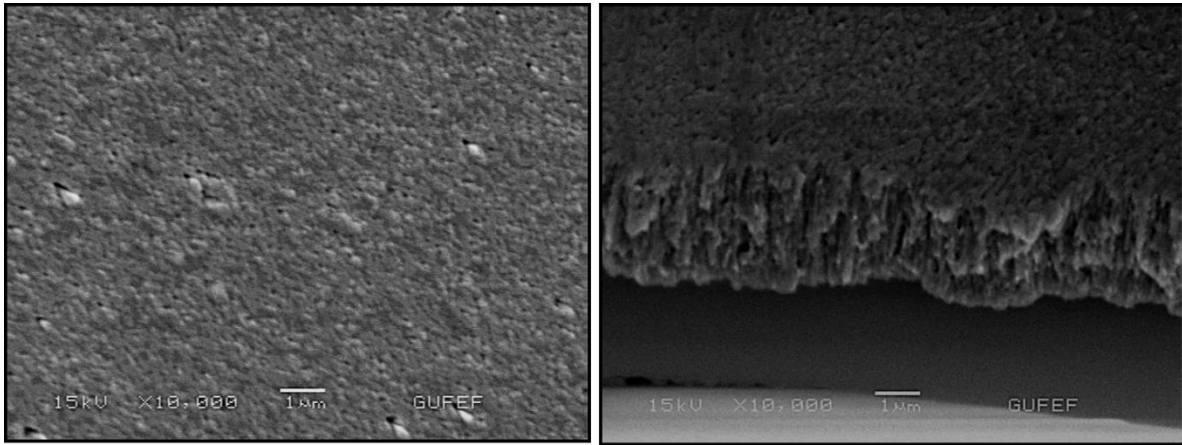
Şekil 4.21. Eğik açı vakum biriktirme tekniği ile anizotropik GNA ya da SNA nanotel yapıların oluşum mekanizması (a). ve (b, c ve d) farklı buhar akısının açısı (α) degerleri için elde edilen GNA nanoyapıların üstten SEM görüntüleri.



Şekil 4.22. 5° buhar akısı açısında (α) üretilen anizotropik GNA nanoçubuk yapıların farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.

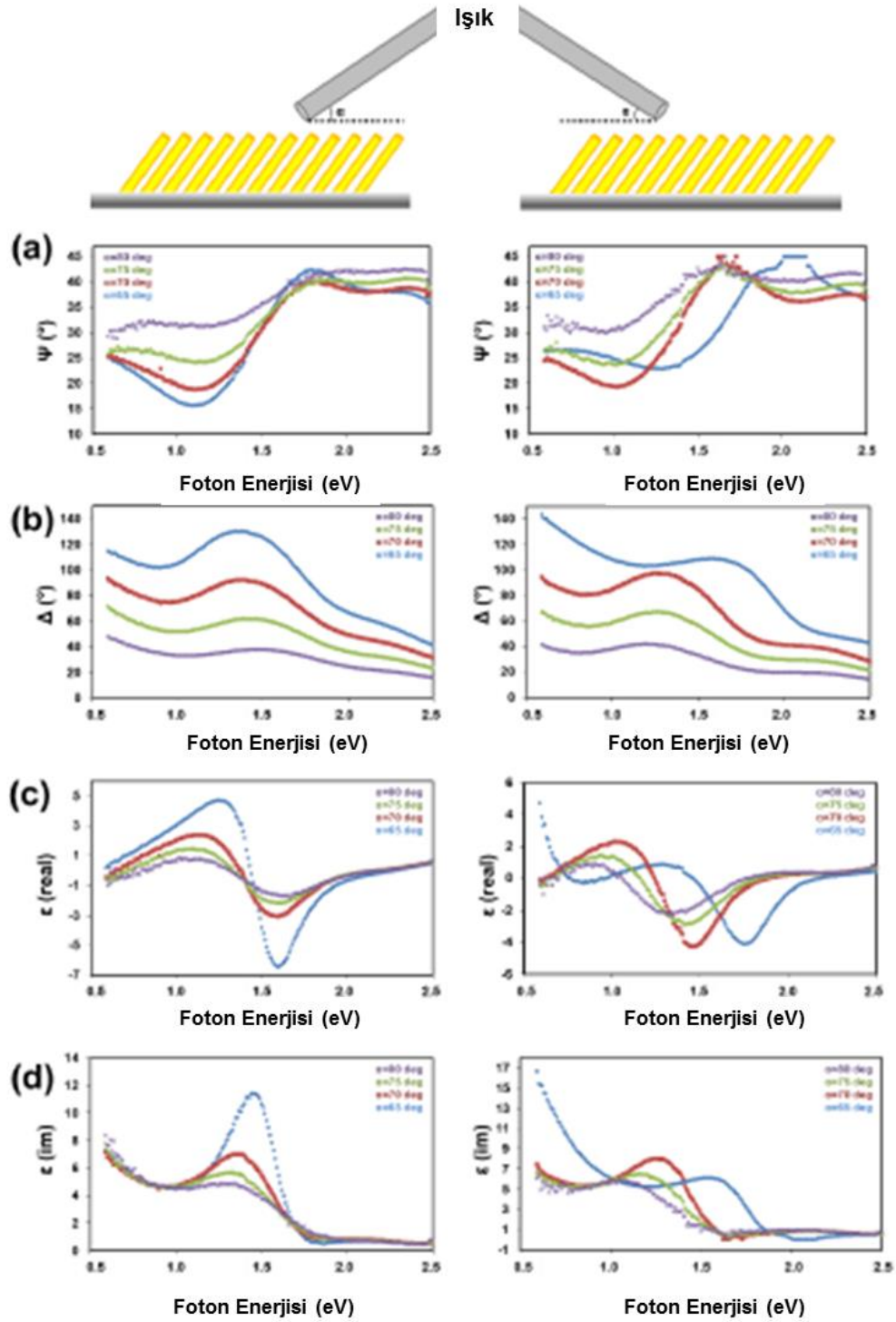


Şekil 4.23. 10° buhar akısı açısında (α) üretilen anizotropik GNA nanoçubuk yapıların farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.



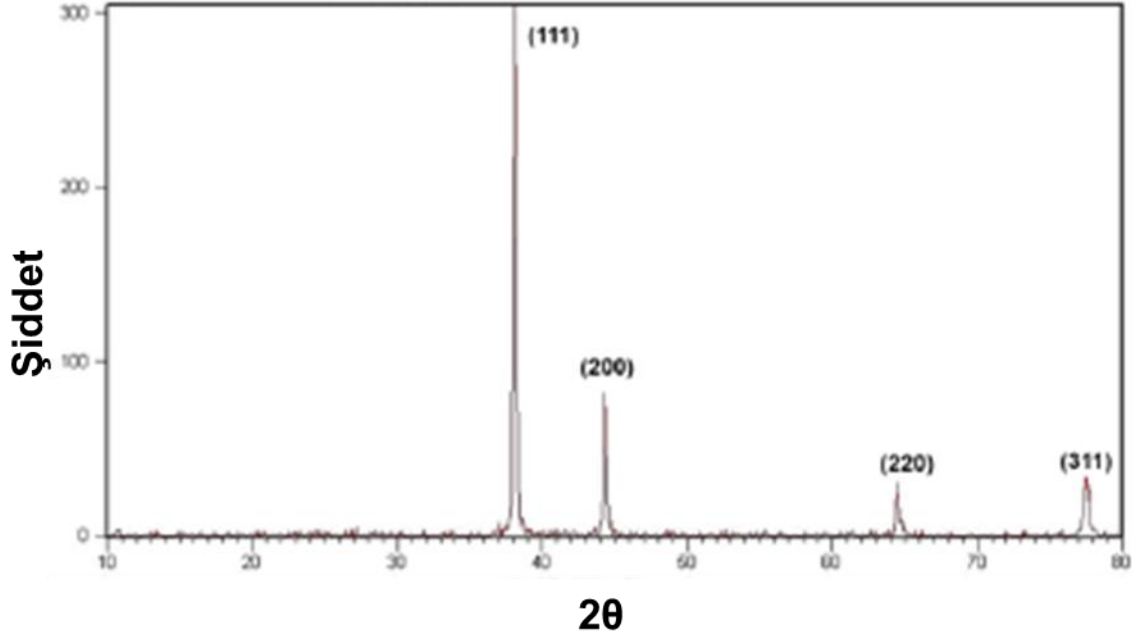
Şekil 4.24. 20° buhar akısı açısında (α) üretilen altın nanoyapıların farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.

Morfoloji ile ilgili yukarıdaki saptamalar yapıldıktan sonra elde edilen malzemenin plazmonik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla birtakım analizler gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda $\alpha = 10^\circ$ GNA nanoçubuk yapılar için ışığın geliş yönü ve açısı değiştirilerek birtakım elipsometrik parametrelerin (ψ , Δ , ϵ_{real} ve ϵ_{im}) değişimi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu doğrultuda alınan ölçümlerle ilgili veriler Şekil 4.25'te özetlenmiştir. Işığın geliş yönü olarak anizotropik yön (sol taraf) ve izotropik yön (sağ taraf) belirlenmiştir [278]. Buna göre bu parametrelerin değişiminden optik anizotropik yapıda olduğu anlaşılmaktadır. İlk olarak dielektrik fonksiyon sabitleri geniş foton enerji aralıkları için plazmonik malzemeler için istenilen özelliktedir (reel kısım negative, imajiner kısım pozitif ve sıfıra yakın). Anizotropik ekseninde ışık geldiği zaman yoğun polariton oluşumuna bağlı olarak kuvvetli bir plazmon rezonans oluşumu gözlenmiştir. İzotropik eksen boyunca ışık geldiğinde ise rezonans bandları daha yüksek enerjili değerlere çıkmakta ve genişlemektedir. Bu durum farklı mekanizmalarla açıklanabilir. Buna göre eğik nanoçubuklar arasındaki boşluklar ve gözenekli yapı fotonik ışık saçılmasına neden olmaktadır. Bu durum local foton şiddetini arttırmakta ve fotonik ışığı yakalayarak yüzey plazmonlarının daha çok uyarılmasını sağlamaktadır. Bu durum daha çok gelen ışığın anizotropik ekseninde olduğu durumda daha çok görülmektedir. Bu konfigürasyon ışığın yakalanması için uygun durumu oluşturmaktadır. Bir diğer açıklama ise ışığın polarizasyonu ve plazmonik davranış üzerine olan etkisi ile ilgilidir. Anizotropik ekseninde p-polarizasyon nanoçubuk düzlemine dik konumda elektrik alan vektörüne sahiptir. Bu da yüzey plazmonlarının uyarılmasını sağlamaktadır. Bu durumda s-polarizasyon ihmal edilebilir. Işığın izotropik eksen boyunca geldiği durumda ise p-polarizasyon nanoçubuk yüzeyine paralel olmakta ve gerekli yüzey plazmon uyarılmasını gerçekleştirememektedir. Bundan dolayı sadece s-polarizasyon ile uyarılma olmakta bu da anizotropik duruma göre oldukça düşük çıkmaktadır. Bu belirtilen durumların hepsinin bir dereceye kadar yüzey plazmon uyarılmasına bir dereceye kadar etkisinin olduğu düşünülmektedir. Anizotropik yüzeylerin plazmonik özellikleri çok araştırılan ve ilgi çeken bir konu olmasına rağmen bu mekanizmayla ilgili henüz tam kabul görmüş bir yaklaşım yoktur. Bundan dolayı bu konuda daha ayrıntılı değerlendirme yapılabilmesi için daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.



Şekil 4.25. GNA nanoçubuk yapılar ($\alpha = 10^\circ$) için elipsometrik parametrelerin ışığın geliş yönü ve geliş açısına göre değişimi.

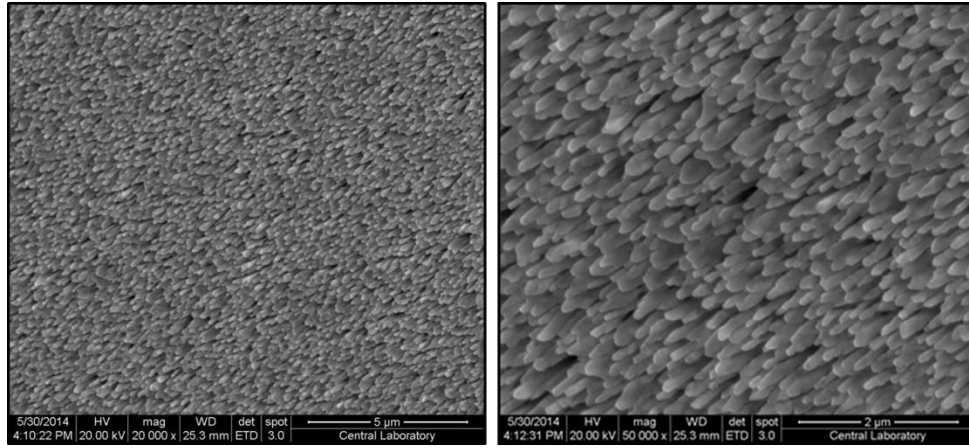
Şekil 4.26'da $\alpha = 10^\circ$ için elde edilen GNA yüzeyden alınan XRD (X ışını kırınım, X-ray diffraction) desenlerini gösteren grafik verilmiştir. Bu grafikten bu yüzey için 2θ açısının 38.2° , 44.4° , 64.6° , and 77.5° değerlerine karşılık gelen 111, 200 220 ve 311 kristal yapıları saptanmıştır. Bu kristal yapılarına karşılık gelen kart okumaları yapıldığında altın için olan JCPDS 4-784 kartıyla uyumlu olduğu ve kristal yapıların yığın altın için FCC (face-centered cubic) yapıda olduğu belirlenmiştir [279, 280].



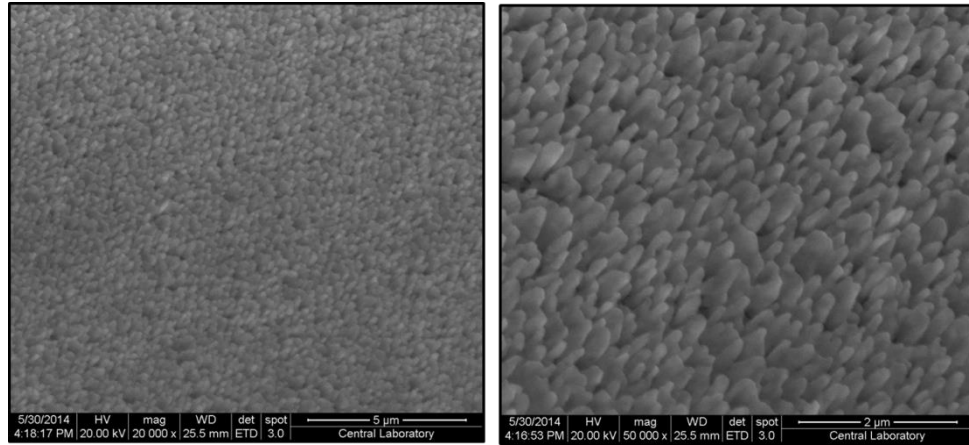
Şekil 4.26. 10° buhar akısı açısında (α) üretilen anizotropik GNA nanoçubuk yapıların XRD desenleri.

SNA nanoyapıların yüzey morfolojilerini daha iyi anlaşılabilmesini sağlamak amacıyla 5° , 10° ve 20° α değerleri için farklı büyütmelelerdeki SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.27, Şekil 4.28 ve Şekil 4.29'da verilmiştir. Buna göre ilgili görüntüler dikkatli incelendiğinde elde edilen GNA yapının morfolojisinin α açısına direkt olarak bağlı olduğunu rahatlıkla söyleyebiliriz. 5° ve 10° için elde edilen SEM görüntülerinde (Şekil 4.27 ve Şekil 4.28) çok yoğun paketlenmiş ve eğimli SNA yapıları kolaylıkla gözlemleyebiliyoruz. ImageJ yazılımı kullanılarak elde edilen nanoçubukların sayıca yoğunlukları $\alpha = 5^\circ$ ve $\alpha = 10^\circ$ için sırasıyla $2.62 \cdot 10^9$ nanoçubuk/cm² ve $3.04 \cdot 10^9$ nanoçubuk/cm² olarak belirlenmiştir. Bu değerlerin GNA için elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. α açısının 10° 'den 20° 'ye çıkartılması ise yüzey morfolojisinde kısmi değişimlerin

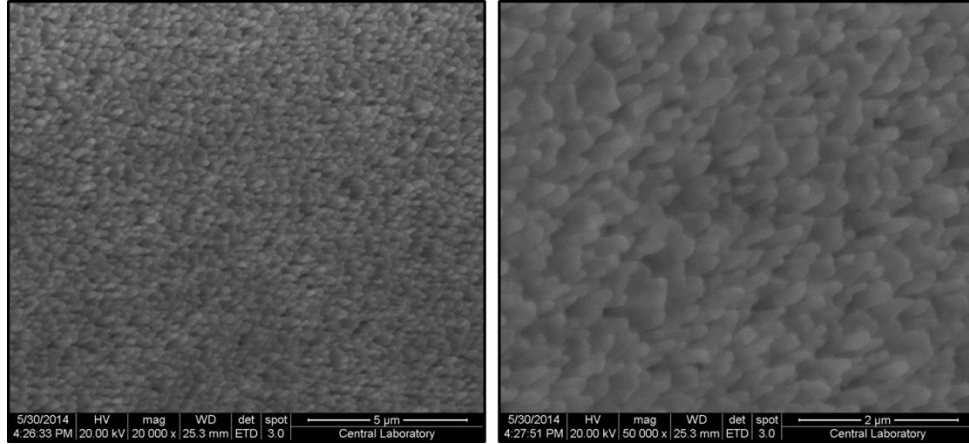
yaşanmasına neden olmuştur. 20° için alınan SEM görüntülerinde SNA nanoyapıların birbirine çok yakın durmasından dolayı çubuk yapılar birleşerek ortadan kaybolmuş ve gözenekli bir gümüş yüzey elde edilmiştir (Şekil 4.29). Bu değişiklik GNA için benzer şekilde belirtildiği gibi temelde artan açığa bağlı olarak kendiliğinden gölgeleme mekanizmasının ortadan kalkmasına bağlanabilir [275-277]. Ayrıca bunlara paralel olarak 5° , 10° ve 20° α değerleri için yine ImageJ yazılımı kullanılarak eğimli nanoçubuk açıları (β) sırasıyla 62 ± 8 , 77 ± 6 ve 83 ± 6 olarak belirlenmiştir. Bu sonuca bağlı olarak artan α değerine paralel olarak β değerinin de arttığı ve artışa bağlı olarak SNA yapının ortadan kalkmaya başladığını söyleyebiliriz. Ayrıca elde edilen nanoçubuk yapıların 40-150 nm aralığında bir çap değerinde oldukları görüntülerden anlaşılmaktadır.



Şekil 4.27. 5° buhar akışı açısında (α) üretilen anizotropik SNA nanoçubuk yapıların farklı büyütme ölçeklerinde çekilmiş SEM görüntüleri.



Şekil 4.28. 10° buhar akışı açısında (α) üretilen anizotropik SNA nanoçubuk yapıların farklı büyütme ölçeklerinde çekilmiş SEM görüntüleri.

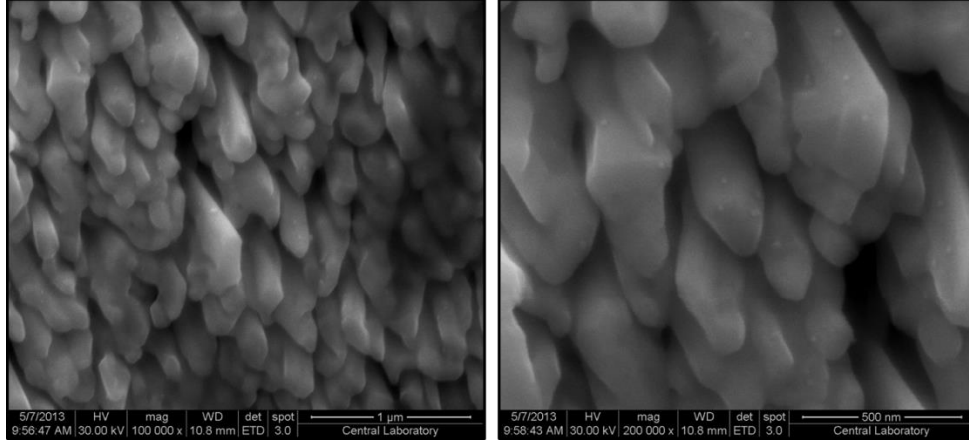


Şekil 4.29. 20° buhar akısı açısında (α) üretilen gümüş nanoyapıların farklı büyütme ölçeklerinde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.

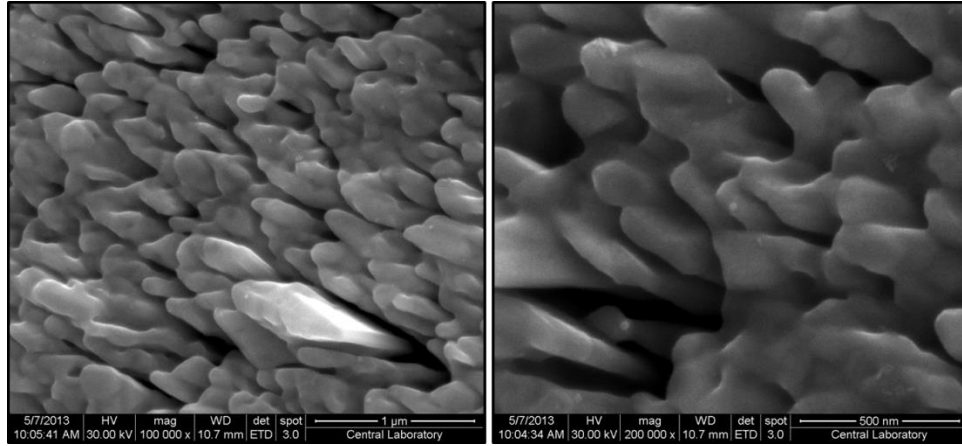
4.3. Nanopartiküller ile Kombine/Dekore Edilmiş GNA ve SNA Nanoçubuk Yapılar ve SERS Özellikleri

Bu başlık altında ilk aşamada nanopartikül ile kombine/dekore edilmiş GNA ve SNA nanoçubuk yapıların SERS performansları incelenecektir. Nanopartiküllerin yüzeyle beraber kullanımının SERS zenginleştirmesinde sinerjistik bir etki sağlaması planlanmaktadır.

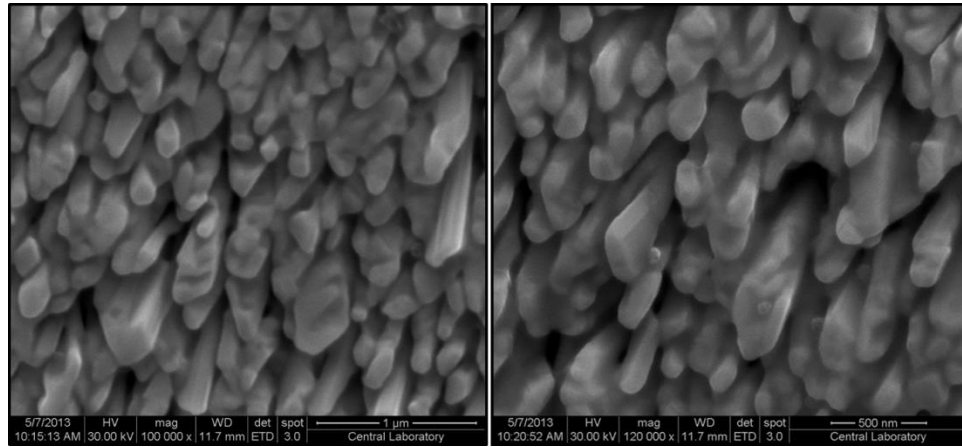
Daha önceki bölümlerde belirtildiği gibi nanopartikül kullanılarak yapılan SERS çalışmalarında temel sorun agregasyona bağlı olarak nanopartiküllerin kontrolsüz birikmeleri ve buna bağlı SERS sinyallerinde görülen tekrarlanabilirlik problemleridir [155, 156]. Bu bağlamda farklı şekillerdeki nanopartiküllerin 3-D anizotropik GNA ve SNA üzerinde nasıl bir şekilde biriktikleri önemlidir. Bundan dolayı 20 ppm AuNP, AuNR ve AuNC çözeltileri ile dekore/kombine edilmiş GNA nanoçubuk yüzeyin ($\alpha = 10^\circ$) SEM görüntüleri farklı büyütme ölçekleri için sırasıyla Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32’de verilmiştir. Bu üç şekil incelendiğinde nanopartiküllerin 3-D GNA nanoçubuklar üzerinde rasgele bir şekilde dağıldığı görülmektedir. Bu rasgele dağılım nanopartiküllerin agregasyona uğramasını engellemiş ve ilerleyen kısımlarda anlatılacağı gibi yüksek tekrarlanabilirlikte SERS zenginleşmesinde sinerjik etki yaratmıştır.



Şekil 4.30. AuNP ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuk yapıların ($\alpha = 10^\circ$) farklı büyütmelerde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.

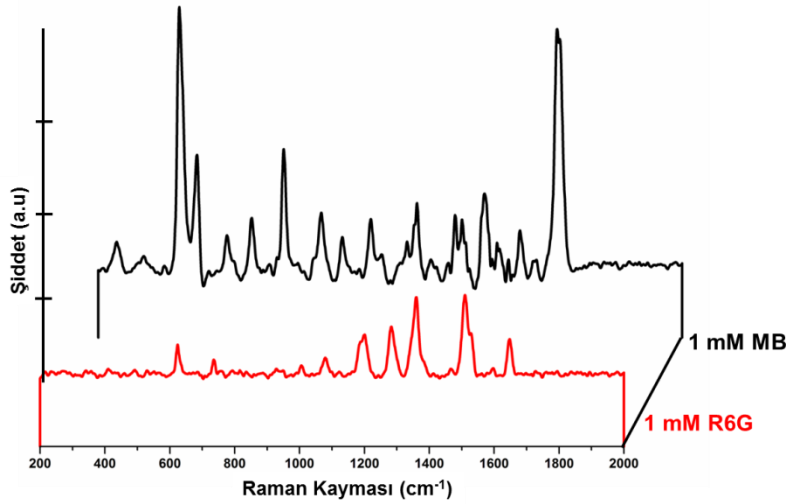


Şekil 4.31. AuNR ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuk yapıların ($\alpha = 10^\circ$) farklı büyütmelerde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.



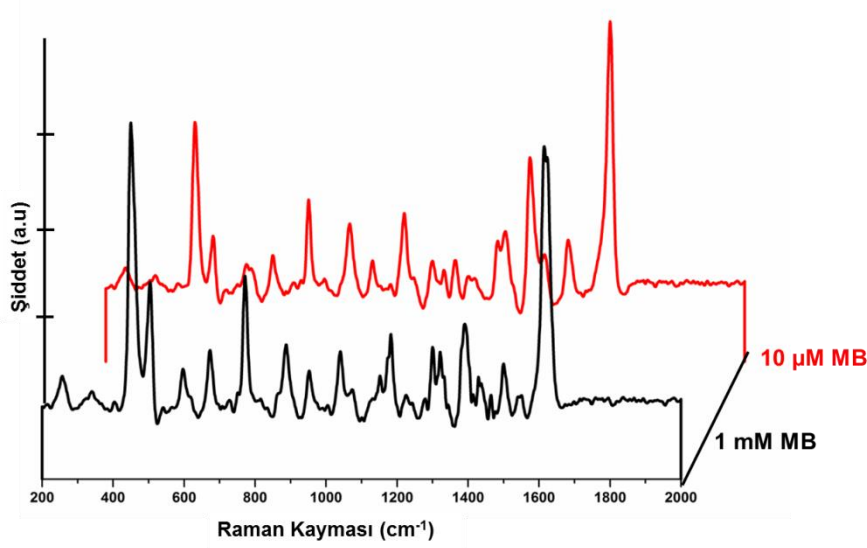
Şekil 4.32. AuNC ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuk yapıların ($\alpha = 10^\circ$) farklı büyütmelerde üstten çekilmiş SEM görüntüleri.

SERS çalışlarında genel anlamda izlenen mantığa göre ilk aşamada SERS için başta boyar maddeler (Raman reporter molecule) olmak üzere güçlü Raman sinyali veren malzemeler seçilir ve bunlar analiz edildikten sonra gerçek örneklerle (real samples) ilgili çalışmalara geçilir. Bu tez kapsamında da benzer bir yol izlenecektir. Bundan dolayı ilk olarak eldeki boyaların SERS performansı çıplak GNA nanoçubuklar için denenmiştir. Şekil 4.33'te aynı derişimdeki metilen mavisi (methylene blue, MB) ve rodamin 6-G (Rhodamine 6-G, R6G) için elde edilen SERS spektraları gösterilmiştir. Spektralar incelendiğinde MB spektrasının hem sinyal şiddeti hem de sinyal/gürültü (signal-to-noise ratio) oranı olarak daha iyi kalitede olduğu belirlenmiştir. Bundan dolayı bundan sonraki çalışmalarda Raman molekülü olarak MB kullanılacaktır.



Şekil 4.33. Aynı derişimlerde MB ve R6G için elde edilen SERS spektraları (GNA, $\alpha = 10^0$).

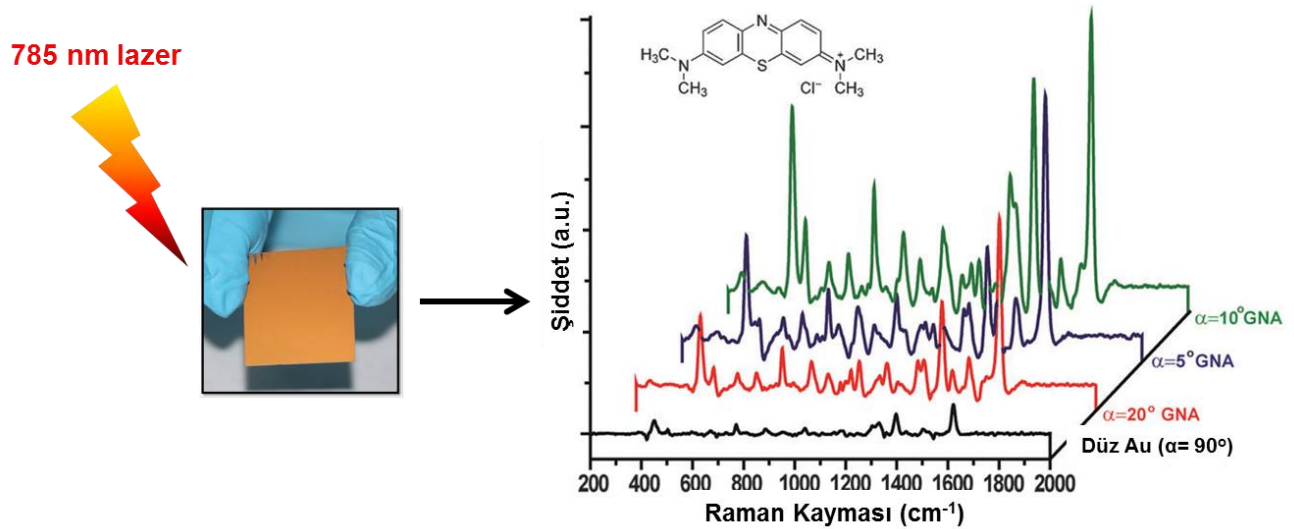
Daha sonraki aşamada ise MB ile hangi derişimde çalışılacağıının belirlenmesine yönelik araştırmalara gidilmiştir. Şekil 4.34'te farklı derişimlerdeki MB için elde edilen SERS spektraları verilmiştir. Elde edilen iki sinyalin de yüksek sinyal şiddetinde ve yüksek sinyal/gürültü oranında olduğu açıkça görülmektedir. Bu tarz durumlarda Raman çalışlarında olabildiğince düşük derişimde çalışılmak istenir. Çünkü yüksek derişimde moleküller yüzey üzerinde bir film tabakası oluşturarak Raman zenginleştirmesini engelleyebilir. Bundan dolayı 10 μ M MB derişimi ideal olarak kabul edilmiş ve izleyen çalışmalarda bu derişim kullanılmıştır.



Şekil 4.34. Farklı derişimlerdeki MB için elde edilen SERS spektraları (GNA, $\alpha = 10^\circ$).

SERS analizlerinde kullanılacak molekül ve uygun derişim belirlendikten sonra nanoçubuk yüzeylerin SERS performansları kısmına geçilebilir. Şekil 4.35'te farklı buhar akısı açısının (α) değerlerinde elde edilmiş GNA nanoyapıların SERS spektrası üzerine olan etkisi yüzeyin fotoğraf görüntüsüyle birlikte verilmiştir. Karşılaştırma yapılabilmesi için düz altın kaplı filmde alınan spektra da gösterilmiştir. MB'nin kimyasal yapısı iç-pencere olarak verilmiştir. Buradan elde edilen veriye göre tüm GNA nanoçubuk yüzeylerden elde edilen spektralar kesin ve yüksek sinyal/gürültü değerine sahiptir. Yapılan analizler sonucunda 1610 cm^{-1} 'de gözlenen en baskın pik ve bu bölgede alınan gürültü oranlandığında 5° , 10° ve 20° GNA nanoçubuk yüzeylerden alınan sinyallerin sinyal/gürültü oranları sırasıyla 36 ± 6 , 46 ± 4 ve 24 ± 8 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca elde edilen piklere karşılık gelen band karşılıkları benzer çalışmadakilerle uyum içerisindedir (Çizelge 4.1, inceleyiniz). 3-D GNA yapıların, özellikle 5° ve 10° ile büyütülen yüzeylerin, SERS amaçlı zenginleştirmede kullanılması düz yüzeyle karşılaştırıldığında önemli iyileştirme sağladığı açıktır. Daha önceki bölümde belirtildiği gibi 20° için GNA yapı oluşturulamamasına rağmen Raman sinyalinde önemli zenginleştirme sağlanmıştır. Bu sonucun eldesinde 20° için elde edilen filmin karmaşık ve pürüzlü yapısının etkin olduğu düşünülmektedir. 5° ve 10° için elde edilen GNA yapılarda yüksek Raman zenginleştirilmesi yüzey plazmonların ve buna bağlı olarak sıcak noktaların (hot spot) oluşumuna dayandırılmaktadır. Buradaki sıcak nokta

oluşumları GNA nanoçubuklar ve bunların uçlarındaki EM alan zenginleştirmesinden dolayı oluşmaktadır. Buna bağlı olarak yanyana duran nanoçubukların çap (transverse) ve boya (longitudinal) LSPR modları, uç-odaklama (tip-focusing), oyuk rezonanslar (cavity resonances) ve nano-anten etkileri sıcak nokta oluşumunda etkili olmuştur [281-283]. Ayrıca bunlara ek olarak GNA yapıyı oluşturan nanoçubukların düzgün dağılımları oluşan SPR'lerin nanoteller üzerinde/arasında ilerleyip çoğalmasını (propagation) sağlar. Tez kapsamında kullanılan GNA nanotel yapıların yüksek oranda SPR oluşturma yeteneğinin olduğu daha önceden ispatlanmıştı [278]. Sonuçta yukarıda belirtilen tüm gerekçelerin GNA nanotel yüzeyin SERS zenginleştirmesine bir dereceye kadar katkı sunduğu söylenebilir. 5° ve 10° GNA yüzeyler karşılaştırıldığında 10° için daha şiddetli bir Raman sinyali elde edilmiştir. Bu durum önceki bölümde belirtildiği üzere 10° GNA yüzeyin daha yüksek nanoçubuk yoğunluğuna sahip olmasına bağlanmaktadır.



Şekil 4.35. 10 μM MB için elde edilen SERS spektraları: GNA nanoyapılar için buhar akısı açısının (α) elde edilen SERS spektrası üzerine etkisi.

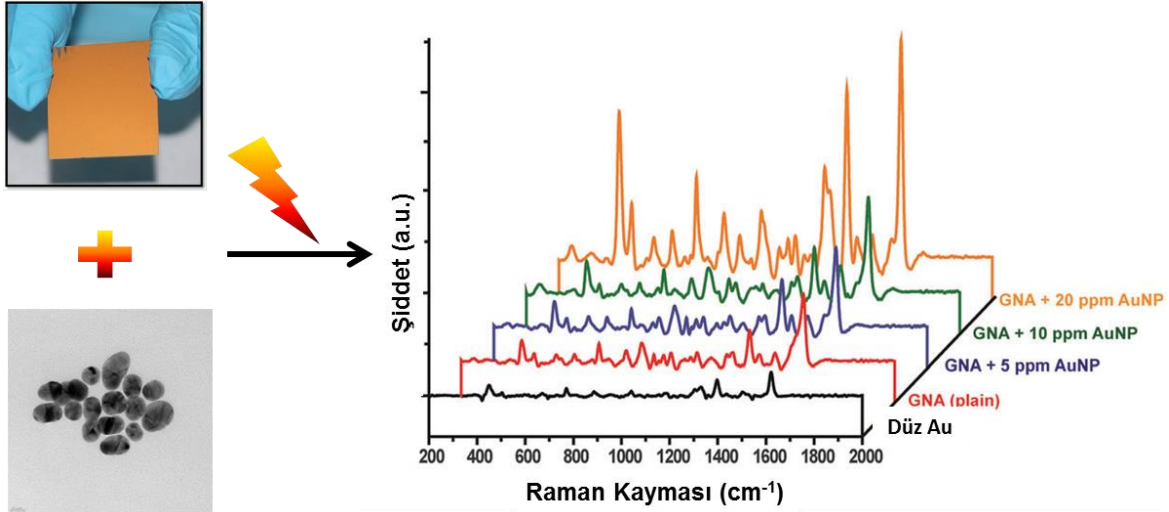
Elde edilen yüzeylerin SERS zenginleştirmesinin sayısal değerlerle karşılaştırmasını sağlamak amacıyla MB için 1610 cm⁻¹'deki pikin şiddeti temel alınarak SERS zenginleştirme faktörü (Enhancement Factor, EF) şu şekilde hesaplanmıştır;

$$EF = (N_{yığın} \times I_{GNA}) / (N_{GNA} \times I_{yığın}) \quad (13)$$

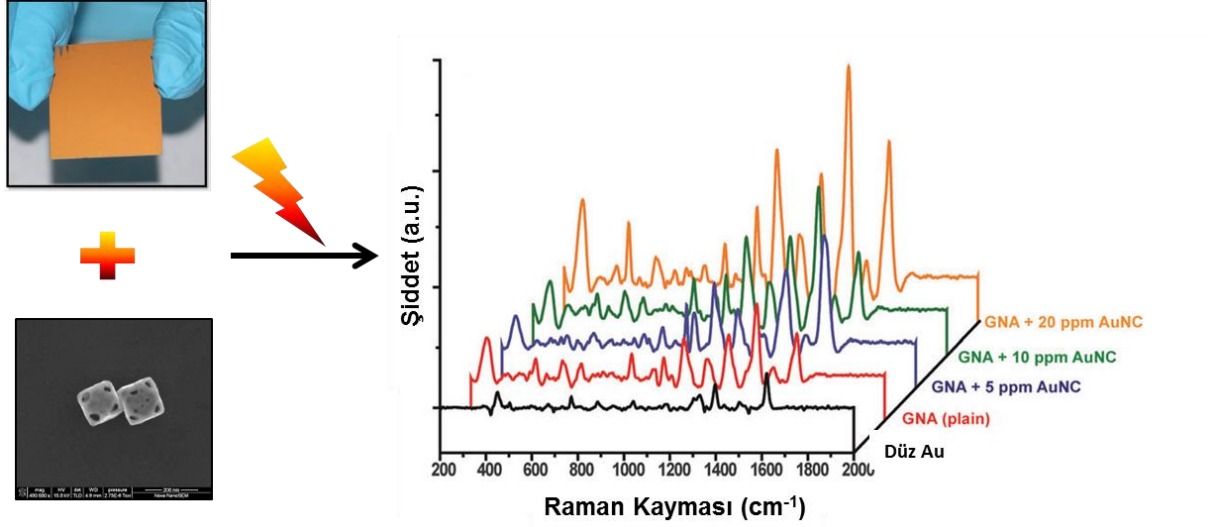
Burada $I_{yığın}$ ve I_{GNA} sırasıyla yığın MB ve GNA nanoçubuk kullanılarak elde edilen Raman şiddetlerini ve $N_{yığın}$ ve N_{GNA} ise sırasıyla yığın MB referans örnek ve GNA üzerindeki MB molekül sayısını ifade etmektedir. Referans örnek için Raman sinyali burada düz altın yüzeyde alınmıştır. Buna göre göre 10^0 , 5^0 ve 20^0 GNA nanoçubuklar için EF değerleri sırasıyla 7.2×10^5 , 2.2×10^5 ve 3.4×10^4 olarak belirlenmiştir. Burada bu değerlerin tüm yüzey için alınan ortalama bir değer olduğuna dikkat edilmelidir.

Yukarıda belirtildiği gibi GNA nanoçubuk yüzeyler kullanılarak kayda değer oranda SERS zenginleştirmesi sağlandı. Daha ileri bir zenginleştirmenin sağlanabilmesi amacıyla GNA yüzeyler farklı morfolojilerdeki nanopartiküllerle kombine edilerek SERS zenginleştirmeye olan etkileri araştırıldı. Bu bağlamda küresel (AuNP, Şekil 4.36), küp (AuNC, Şekil 4.37) ve çubuk (AuNR, Şekil 4.38) şeklindeki farklı derişimlerde (5-20 ppm) nanopartiküller MB ile karıştırılarak 10^0 GNA üzerine eklenerek SERS performansları araştırılmıştır. Karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla her grafikte düz altın ve çıplak GNA için elde edilen SERS spektraları da verilmiştir. Tüm nanopartikül çeşitleri için derişimin artmasıyla SERS sinyal şiddetinde kayda değer artışlar gözlenmiştir ve en şiddetli sinyaller tüm örneklerde 20 ppm derişimde elde edilmiştir. Buna göre 20 ppm nanopartikül durumunda elde edilen EF değerleri GNA + AuNR, GNA + AuNC ve GNA + AuNP için sırasıyla 5.3×10^6 , 2.2×10^6 ve 1.6×10^6 olarak saptanmıştır. Şimdi nanopartiküllerin oluşturduğu bu sinerjistik etkiyi değerlendirelim. Nanopartiküllerin oluşturduğu bu Raman zenginleştirmesi genel olarak GNA nanoçubuklar üzerindeyden yüzeyle ya da birbirleriyle oluşturdukları EM eşleşme etkisine (coupling effect) dayandırılabilir. Nanopartiküllerin yüzeye değdiği noktalar yoğun şekilde sıcak nokta oluşumuna katkı sunmakta SERS zeenginleştirmesini sağlamaktadır. AuNP kullanıldığında sinyal şiddetinde artış sağlanmakta fakat bu artış istenilen düzeyde olmamaktadır (Şekil 4.36). Öte yandan AuNC ve AuNR kullanıldığı durumlarda ise çok daha fazla sinyal zenginleşmesi sağlanmıştır. Bu durum bu nanopartiküllerin SPR özellikleri, büyüklükleri ve şekillerine bağlanabilir. AuNP'ler düz bir yüzeye sahip olup GNA yüzey üzerinde sıcak nokta oluşturma potansiyelleri düşüktür. Ayrıca bunanopartiküllerin SPR özellikleri kullanılan lazerin dalga boyuna uygun olmadığından uyarılmaları oldukça zordur. Öte yandan AuNC'ler küp şekillerinden dolayı keskin uçlara sahiptir ve bunlar yüksek oranda plazmon oluşumunu

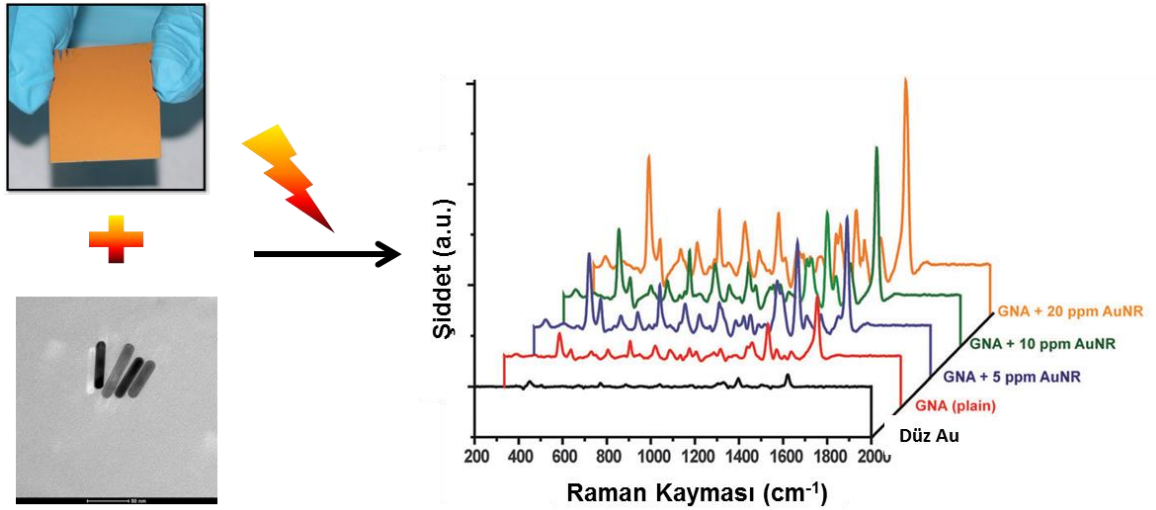
sağlar [284]. Ayrıca AuNC için elde edilen SPR özellikleri lazerle etkileşmesine olanak verecek durumdadır. Bundan dolayı AuNP ile kıyas edildiğinde daha iyi Raman zenginleştirmeleri elde edilmiştir (Şekil 4.37). AuNR kullanıldığında ise çok daha çarpıcı sonuçlar alınmıştır (Şekil 4.36). AuNR için elde edilen bu çarpıcı Raman zenginleştirmesi nanoçubukların hem boy hem de çap boyunca plazmon oluşturma yeteneklerine bağlanabilir [285-287]. Daha önceki bölümde AuNR için karakterizasyon yapılırken çapa bağlı ve boya bağlı olmak üzere iki ayrı pik absorpsiyon spektrumunda 508 nm ve 785 nm’de belirlenmiştir. Bu çalışmada 785 nm’lik lazer kullanıldığından AuNR’ler ile direkt olarak örtüşmektedir. Bu durum yüzey ile AuNR arayüzeyinde yoğun bir elektrik alan oluşmasını sağlamakta ve yüksek oranda SERS zenginleşmesini sağlamaktadır.



Şekil 4.36. 10 µM MB için elde edilen SERS spektraları: AuNP ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^0$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.



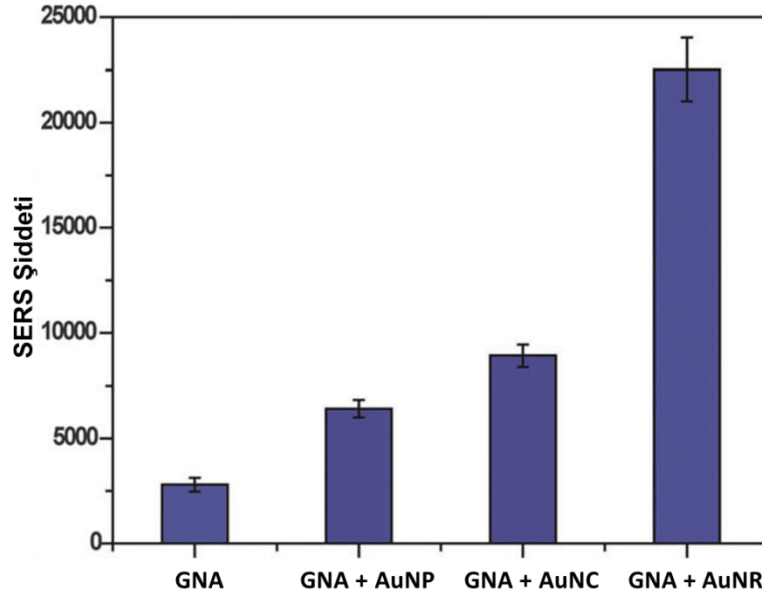
Şekil 4.37. 10 μM MB için elde edilen SERS spektraları: AuNC ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^0$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.



Şekil 4.38. 10 μM MB için elde edilen SERS spektraları: AuNR ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^0$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.

GNA nanoçubuk yüzeylerin farklı morfolojilerdeki altın nanopartiküllerle kombine edilerek çok daha yüksek SERS zenginleştirmesi elde edilebileceğini böylelikle ispatlamış olduk. Farklı nanopartiküllerin SERS sinyal şiddetini hangi ölçüde arttırdığı Şekil 4.39'da gösterilmiştir. Bu şekilde en baskın pik olarak öne çıkan 1610 cm^{-1} 'deki pikin şiddeti temel alınmıştır. Bu şekilde verilen hata eğrilerinden ayrıca görece standart

sapma (relative standart deviation, RSD) değerinin yaklaşık olarak %10 civarında olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.39. Farklı nanopartiküller ile kombine/dekore edilmiş GNA nanoçubukların ($\alpha=10^0$) 10 μ M MB ve 20 ppm nanopartikül derişimi için SERS şiddetlerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.1’de ise SERS spektralarından elde edilen piklerin hangi bandlara karşılık geldiği, piklerin görece şiddetleri ve bunların raporlanmış diğer çalışmalarla karşılaştırması verilmiştir. Birçok pik için elde edilen sonuçlar süreli yayınlardaki bilgilerle uyum içerisindedir. Bazı pikin süreli yayınlardakinden şiddetlerinin görece farklı olması molekül yüzey etkileşimi, kullanılan lazer dalgaboyu ve gücü gibi birçok deneysel parametreye göre değişmektedir. Burada esas olan genel anlamda SERS spektrasında elde edilen piklerin parmak izi (finger print) tanıya olanak verecek kalitede olmasıdır. Bu bağlamda pik analizleri bu kısımda elde edilen verilerin tatmin edici olduğunu ispatlamıştır.

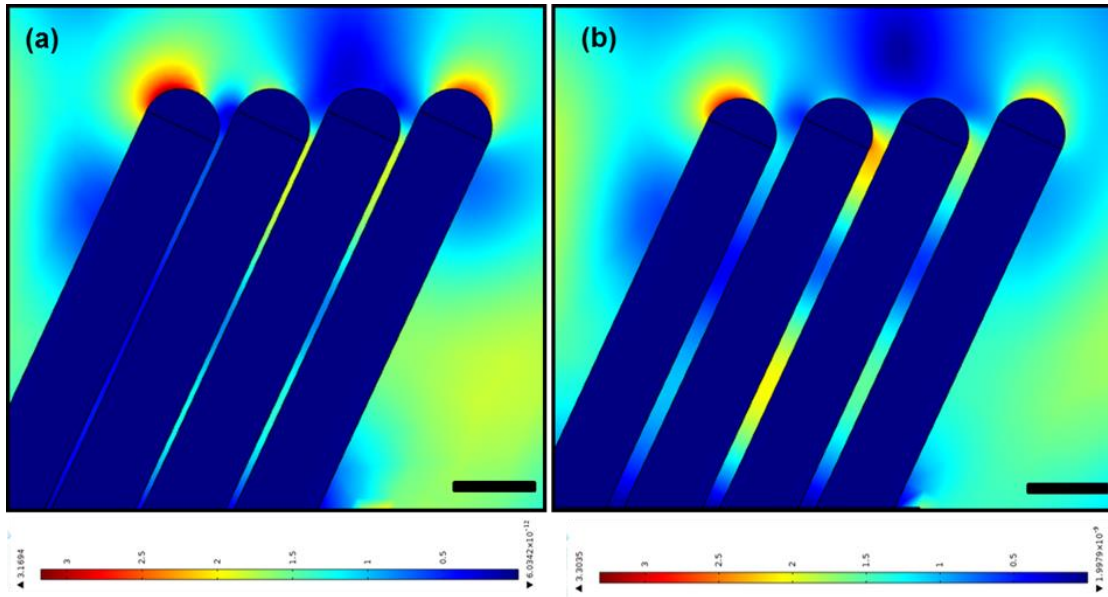
Çizelge 4.1. MB için elde edilen Raman kaymaları, göreceli şiddet ve band karşılıkları.

<i>Katı MB tozu (cm^{-1})</i> [288]	<i>10° GNA + 20 ppm AuNR + $10 \mu\text{M}$ MB (cm^{-1})</i>	<i>Raporlanmış sonuç (cm^{-1}) [289]</i>	<i>Band karşılıkları</i> [288, 290]
1618 (s)	1618 (s)	1617 (s) 1597 (w)	$\nu(\text{C-C})$ ring
1544 (w)	1575 (w)	1513 (w)	$\nu_{\text{asym}}(\text{C-C})$
1441 (w)	1436 (w)	1442 (m)	$\nu_{\text{asym}}(\text{C-N})$
1396 (m)	1395 (m)	1396 (m)	$\alpha(\text{C-H})$
1331 (w)	1315 (w)		
1272 (w)	1290 (w)	1301 (m)	
1181 (m)	1177 (w) 1149 (w)	1184 (m) 1121 (m)	$\nu(\text{C-N})$ $\gamma(\text{C-H})$
1067 (w)	1038 (w) 882 (w)	1030 (m)	$\beta(\text{C-H})$
768 (w)	770 (m)		
677 (w)	667 (w) 590 (w)	670 (w) 612 (m)	$\gamma(\text{C-H})$ $\delta(\text{C-S-C})$
497 (w)	500 (m)	502 (m)	$\delta(\text{C-N-C})$
445 (s)	449 (s)	449 (m)	$\delta(\text{C-N-C})$

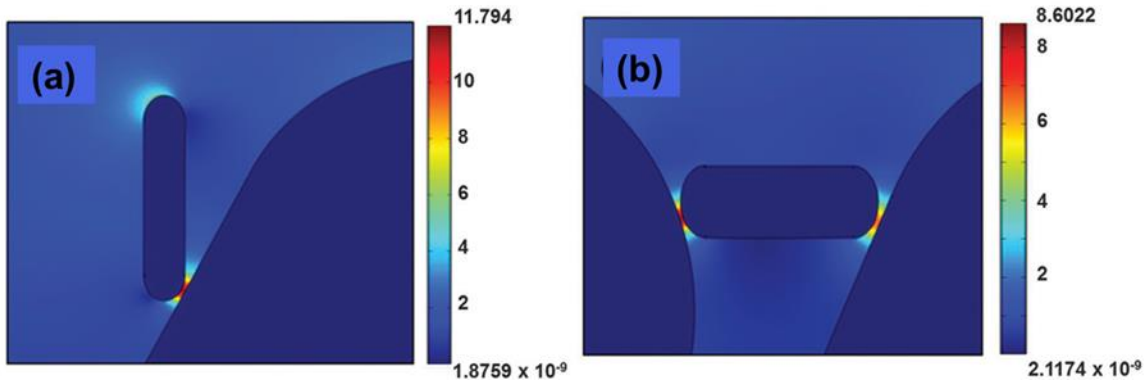
Kısaltmalar: s, (güçlü, strong); m, (orta, medium); w, (zayıf, weak); ν , (gerilme, stretching); α , (düzlem içi halka deformasyonu, in-plane ring deformation); β , (düzlem içi bükülme, in-plane bending); γ , (out-of-plane bending, düzlem dışı bükülme); ve δ , (yapı deformasyonu, skeletal deformation).

Yukarıda hem çıplak GNA ve hem de farklı şekillerdeki nanopartiküllerle dekore edilmiş GNA nanoçubukların SERS zenginleştirmeleri ve bu zenginleştirme mekanizması için deneysel verler ışığında değerlendirmeler yapıldı. Bu kısımda ise elde edilen bu sonuçları değerlendirmek amacıyla COMSOL programı kullanılarak hazırlanan modeller sunulacaktır. Bu amaçla elde edilen çıplak GNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^\circ$) ve bunların AuNR olduğu dekore edildiği durumlar için gerçek durumu taklit edecek tasarımlar yapılmıştır (Şekil 4.40 ve Şekil 4.41). Şekil 4.40'da çıplak GNA nanoçubuklar için teller arası uzaklığın etkisi araştırılmıştır. Burada nanoçubuk çapı olarak 100 nm alınmıştır. Her iki durumda da nanotellerin ucunda yüksek elektrik alan oluşmuştur ve bunlara paralel olarak sıcak nokta oluşumu bu kısımlarda beklenebilir. Bu durum yukarıda

belirtilen uç-odaklama ve nano-anten etkiyi açıklamaktadır. Ayrıca nanoçubuklar arasındaki mesafe 10 nm'den 20 nm'ye çıkarıldığında nanoçubuk-nanoçubuk arasındaki elektrik alan yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir. Bu durum oyuk rezonanslar mekanizmasına açıklık getirmektedir. Şekil 4.41'de ise AuNR olduğunda nanoçubuk yüzeyi ile nanopartikül arasındaki etkileşimler gösterilmiştir. Görüldüğü gibi nanoçubuk ile nanopartikül arasındaki uzaklık elektrik alan yoğunluğu bir başka deyişle sıcak nokta oluşumunu önemli ölçüde belirlemektedir. Ayrıca AuNR konumuna göre çapa ve boya bağlı rezonansların dağılımının önemli ölçüde değiştiği görülmektedir.

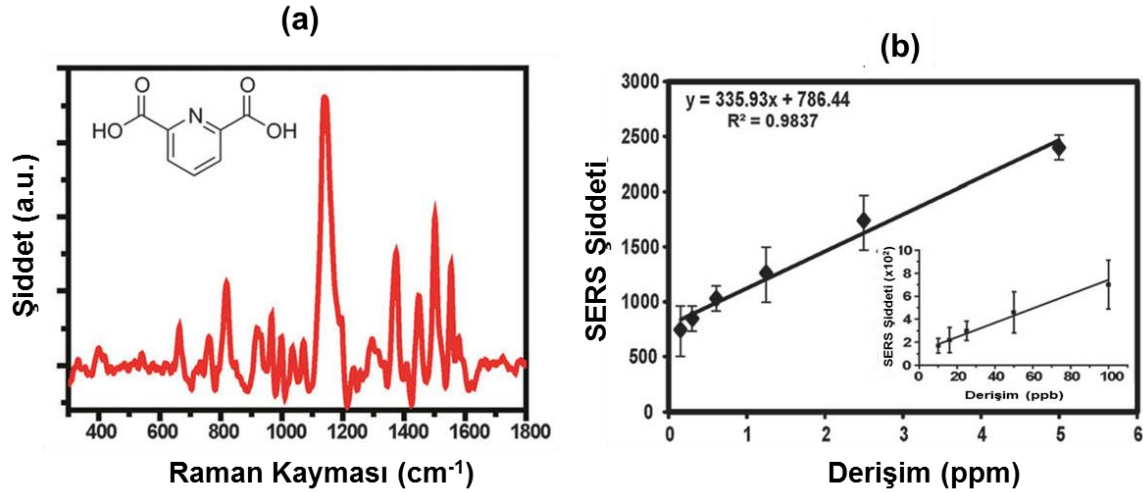


Şekil 4.40. Farklı nanoçubuk uzaklıkları için elektrik alan dağılımlarını gösteren COMSOL tasarımları ($\alpha = 10^0$). (a) 10 nm ve (b) 20 nm. Ölçek çizgisi 100 nm'dir.

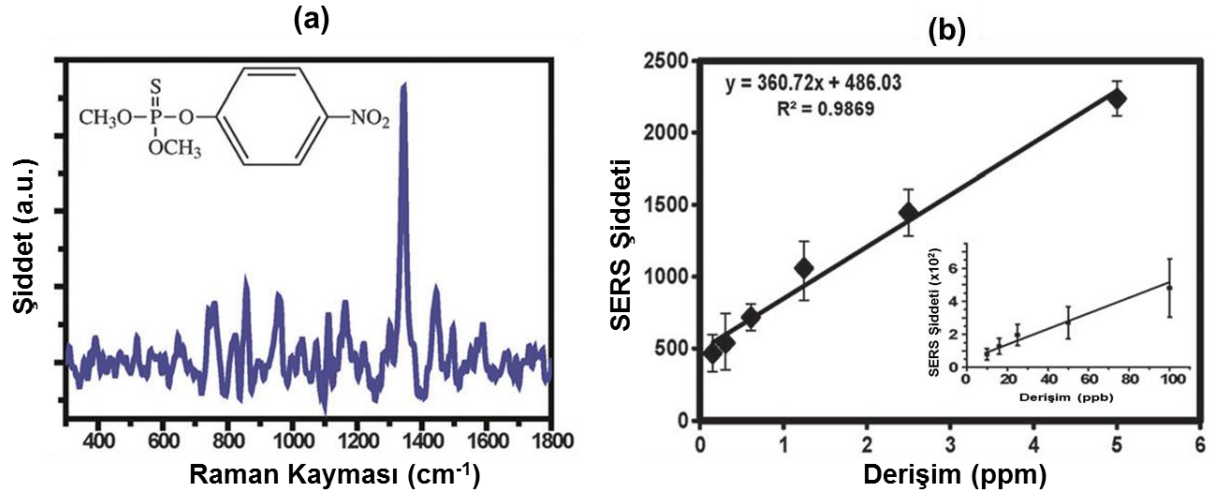


Şekil 4.41. Farklı AuNR duruşları için elektrik alan dağılımlarını gösteren COMSOL tasarımları.

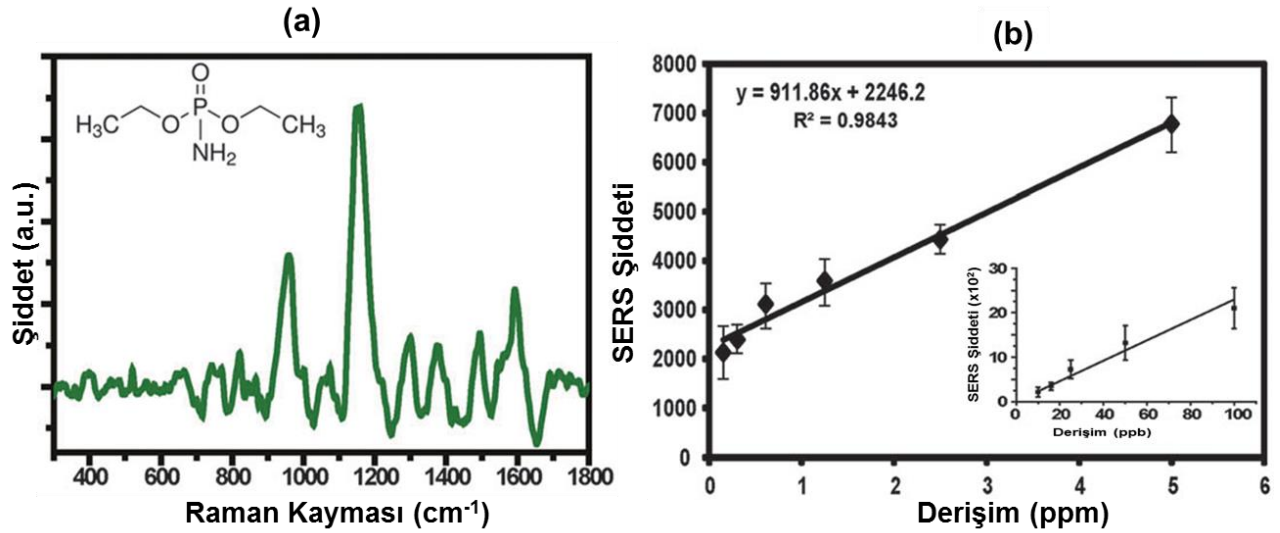
Çıplak GNA ve nanopartiküllerle kombine edilmiş GNA nanoçubukların deneysel SERS performansları ve bunların mekanizması hakkında açıklamalar yapıldıktan sonra bu yaklaşım kullanılarak gerçek örneklerle denemeler yapılmıştır. Gerçek örnek olarak kimyasal ve biyolojik silah ajanlarından olan dipikolinik asit (DIP), metil paratyon (MP) ve dietil fosforamidat (DP) analiz edilmiştir. Bu amaçla bu toksinler AuNR çözeltileri karıştırılmış ve nihai AuNR derişimi 20 ppm olacak şekilde çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler 10^0 GNA nanoçubuk yüzeylere damlatılarak SERS performansları incelenmiştir. Elde edilen örnek SERS spektraları ve geniş bir aralık kalibrasyon doğruları Şekil 4.42, Şekil 4.43 ve Şekil.4.44'te verilmiştir. Ayrıca toksinlerin kimyasal yapısı ise her şekil içinde iç-pencere olarak verilmiştir. Kalibrasyon doğruları çizilirken DIP, MP ve DP için sırasıyla 1150, 1340 ve 1170 cm^{-1} 'deki maksimum sinyal şiddetini veren baskın pikler kullanılmıştır. Tüm toksinler için doğrusal bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Ayrıca tanı limiti olarak yine tüm toksinlerde yaklaşık olarak 10 ppb mertebesine inilmiştir. Bu değer birçok kaynakta ölçülen değerlerin yaklaşık olarak 1/100'ü kadardır.



Şekil 4.42. DIP için örnek bir SERS spektrası (a) ve kalibrasyon doğrusu (b).



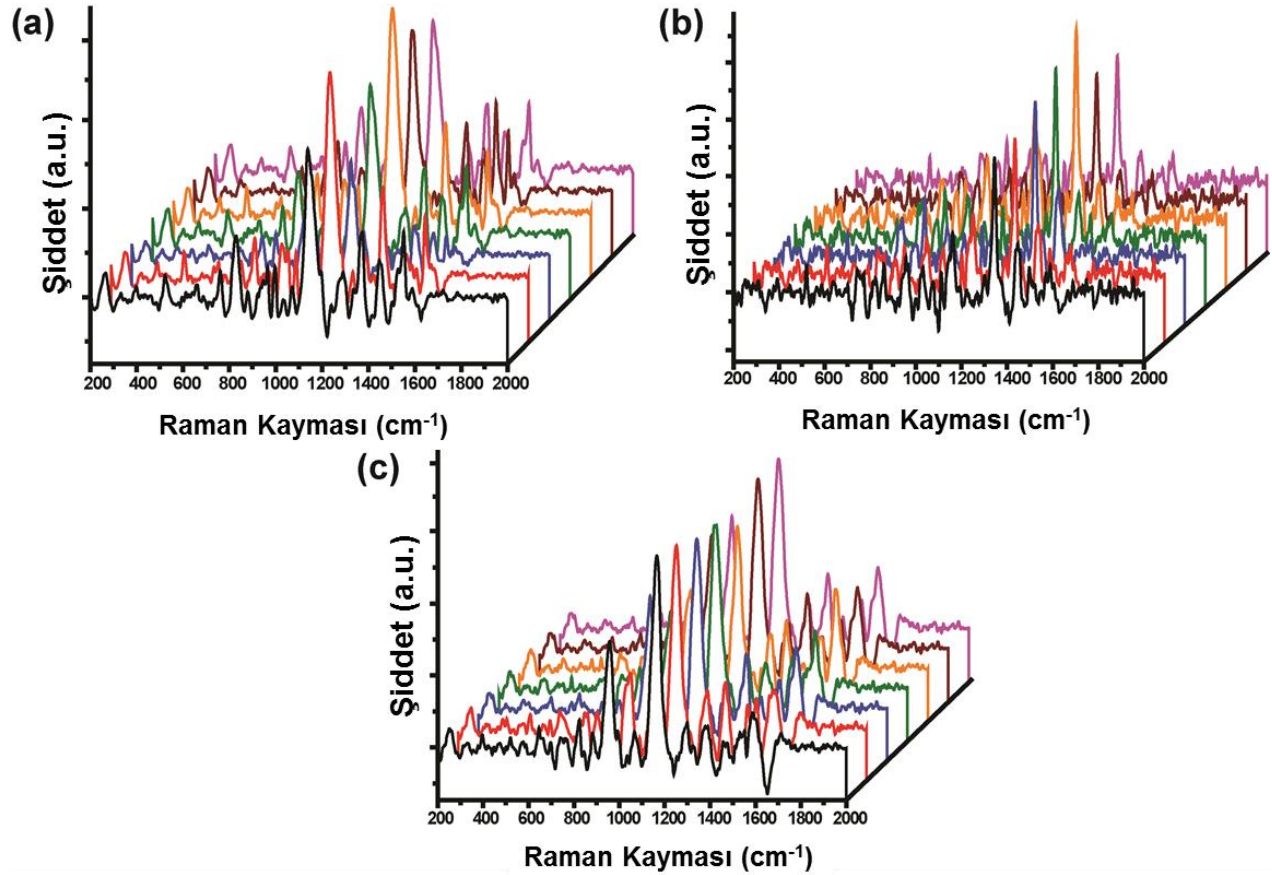
Şekil 4.43. MP için örnek bir SERS spektrası (a) ve kalibrasyon doğrusu (b).



Şekil 4.44. DP için örnek bir SERS spektrası (a) ve kalibrasyon doğrusu (b).

SERS çalışmalarında birçok durumda karşılaşılan temel sorun kullanılan platformun farklı bölgelerinde aynı şiddet ve yapıda sinyalin alınamamasıdır. Bu durum tekrarlanabilirlik ile ilgili problemler oluşturmakta ve platform olan güveni azaltmaktadır. Bu tez kapsamında nanopartiküllerle kombine edilmiş gerçek örneklerin tekrarlanabilirlikleri araştırılmıştır. Yüzeyin farklı bölgelerinden alınan SERS spektraları Şekil 4.45'te farklı toksin molekülleri için gösterilmiştir. Herbir toksin kendi grubu içerisinde dikkatle incelendiğinde farklı spektralar içinde pik şiddetlerinde bir değişim ya da kayma gözlenmemiştir. Üç toksin için de baskın pikleri temel alınarak hesaplanan %

RSD (görece standart sapma, relative standard deviation) değerleri %18 ve altındadır. Bu değer SERS çalışmaları oldukça kabul edilebilir bir değerdir.



Şekil 4.45. 5 ppm DIP (a), MP (b) ve DP (c) için tekrarlanabilir SERS spektraları ($\alpha = 10^\circ$ ve 20 ppm AuNR).

Gerçek örneklerle ilgili yapılacak değerlendirmede elde edilen piklerin süreli yayınlardaki diğer çalışmalarla karşılaştırılması yapılacaktır. Bu bağlamda DIP, MP ve DP için Raman kaymaları, göreceli şiddetleri ve band karşılıkları sırasıyla Çizelge 4.2, Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te verilmiştir. Elde edilen pikler süreli yayınlarla karşılaştırıldığında çok büyük oranda benzer oldukları gözlenmiştir. Küçük kaymalar ya da pik şiddetlerinde yaşanan farklılıklar yukarıda MB için anlatılan gerekçelere dayandırılabilir.

Çizelge 4.2. DIP için elde edilen Raman kaymaları, göreceli şiddet ve band karşılıkları.

<i>Katı DIP tozu (cm^{-1}) [291]</i>	<i>10° GNA + 20 ppm AuNR + 5 ppm DIP (cm^{-1})</i>	<i>Raporlanmış sonuç (cm^{-1}) [291]</i>	<i>Band karşılıkları [291]</i>
1569 (m)	1572 (m)	1576 (m)	$\nu(\text{C}-\text{C})$ ring
	1518 (m)		$\nu_{\text{asym}}(\text{C}-\text{C})$
1437 (m)	1445 (m)	1443 (w)	$\nu(\text{C}-\text{C})$ ring
1317 (m)	1370 (s)	1326 (m)	$\nu(\text{C}-\text{O})$
1289 (m)	1298 (m)	1271 (m)	$\beta(\text{C}-\text{H})$
1146 (m) 1080 (w)	1156 (s) 1073 (w)	1150 (m) 1060-1095 (m)	Trigonal ring breathing
987 (s) 933 (w)	998 (w) 953 (m)	996 (s) 938 (m)	Symmetric ring breathing $\gamma(\text{C}-\text{H})$
885 (m)	880 (w)	891 (m)	
844 (m)	817 (m)		$\beta(\text{C}-\text{CO}_2)$
748 (m)	739 (w)		$\delta(\text{O}-\text{C}-\text{O})$
639 (m)	655 (w)		$\gamma(\text{C}-\text{H})$

Kısaltmalar: s, (güçlü, strong); m, (orta, medium); w, (zayıf, weak); ν , (gerilme, stretching); α , (düzlem içi halka deformasyonu, in-plane ring deformation); β , (düzlem içi bükülme, in-plane bending); γ , (out-of-plane bending, düzlem dışı bükülme); ve δ , (yapı deformasyonu, skeletal deformation).

Çizelge 4.3. MP için elde edilen Raman kaymaları, göreceli şiddet ve band karşılıkları.

<i>Katı MP tozu (cm^{-1}) [292]</i>	<i>10° GNA + 20 ppm AuNR + 5 ppm MP (cm^{-1})</i>	<i>Raporlanan sonuç (cm^{-1}) [292, 293]</i>	<i>Band karşılıkları [293]</i>
1596 (w)	1587 (w)	1598 (m)	$\nu(\text{C}-\text{C})$ ring
1373 (s)	1342 (s)	1393 (s)	$\nu(\text{N}-\text{O})$
1216 (m)	1222 (w)	1246 (m)	$\nu(\text{C}-\text{O})$ ring
1107 (m)	1158 (m)	1132 (m)	$\nu(\text{C}-\text{N})$
1039 (m) 857 (w)	1028 (w) 853 (w)	1003 (m) 851 (w)	$\nu(\text{CH}_3-\text{O})$ $\nu(\text{N}-\text{O})$

Kısaltmalar: s, (güçlü, strong); m, (orta, medium); w, (zayıf, weak); v, (gerilme, stretching); α , (düzlem içi halka deformasyonu, in-plane ring deformation); β , (düzlem içi bükülme, in-plane bending); γ , (out-of-plane bending, düzlem dışı bükülme); ve δ , (yapı deformasyonu, skeletal deformation).

Çizelge 4.4. DP için elde edilen Raman kaymaları, göreceli şiddet ve band karşılıkları.

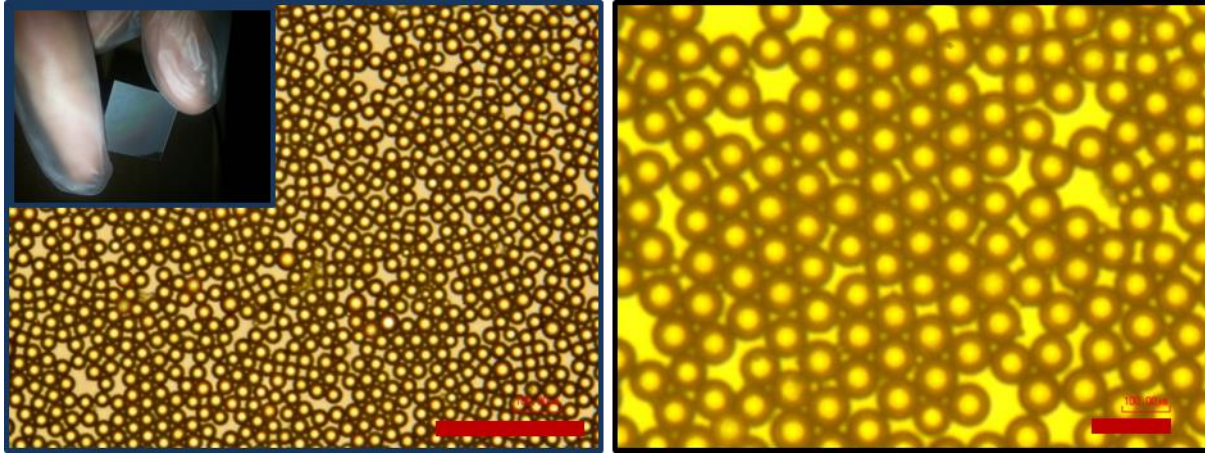
10° GNA + 20 ppm AuNR + 5 ppm DP (cm^{-1})	Raporlanmış sonuç (cm^{-1}) [294]	Band karşılıkları
1584 (m)		
1446 (w)		$\delta(\text{CH}_2)$
1372 (m)		$\nu(\text{C-O})$
1279 (m)		$\beta(\text{C-H})$
1148 (s) 1056 (w)	1050 (w)	$\gamma(\text{C-H})$ $\beta(\text{C-H})$
952 (m)	950 (s)	$\gamma(\text{C-H})$
736 (w)	720 (m)	$\nu(\text{P-O})$
643 (w)		$\gamma(\text{C-H})$

Kısaltmalar: s, (güçlü, strong); m, (orta, medium); w, (zayıf, weak); v, (gerilme, stretching); α , (düzlem içi halka deformasyonu, in-plane ring deformation); β , (düzlem içi bükülme, in-plane bending); γ , (out-of-plane bending, düzlem dışı bükülme); ve δ , (yapı deformasyonu, skeletal deformation).

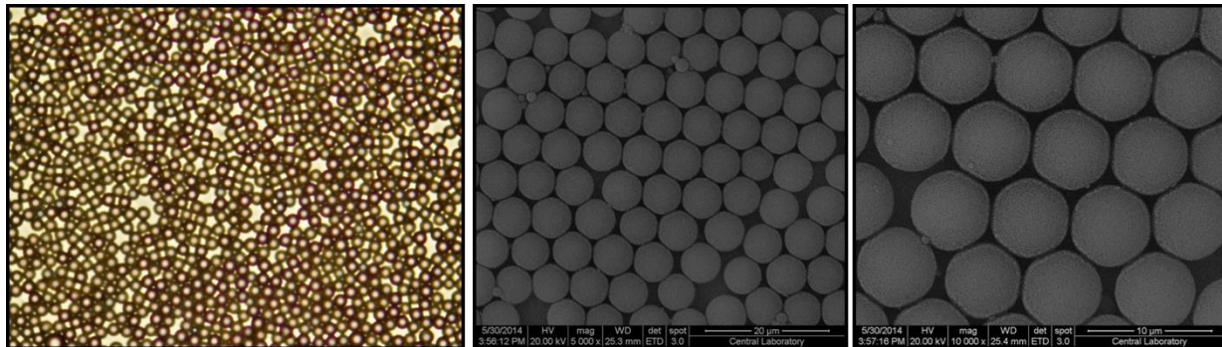
Gerçek örneklerle ilgili yukarıda yapılan çalışmaları topluca değerlendirmekte fayda olacaktır. Tüm bu SERS spektralleri ve sinyal analizleri ile ilgili değerlendirmeler göz önüne alınacak olursa MB gibi bir Raman molekülünde olduğu gibi gerçek moleküllerde de altın nanopartiküllerle kombine edilmiş GNA nanoçubu yüzeyler ideal bir SERS platform olarak rahatlıkla ve büyük bir etkinlikle kullanılabilir. Bu veriler önerilen yaklaşımın herhangi bir bileşik için de kullanılabileceğini ve şekilde üretilen bir nanoyapının evrensel bir SERS platformu olduğunu ispatlamıştır.

Tez kapsamında yukarıda verilen yaklaşımla karşılaştırma yapılması amacıyla 5 μm çapındaki polistiren (PS) mikroküreler spin kaplama ile cam yüzeye tek tabaka halinde yayılmıştır (Şekil 4.46). Bunun sonucunda opak görünümde PS ile kaplanmış yüzey elde edilmiştir. Optik mikroskop görüntüleri monolayer tabakayı göstermektedir. Elde

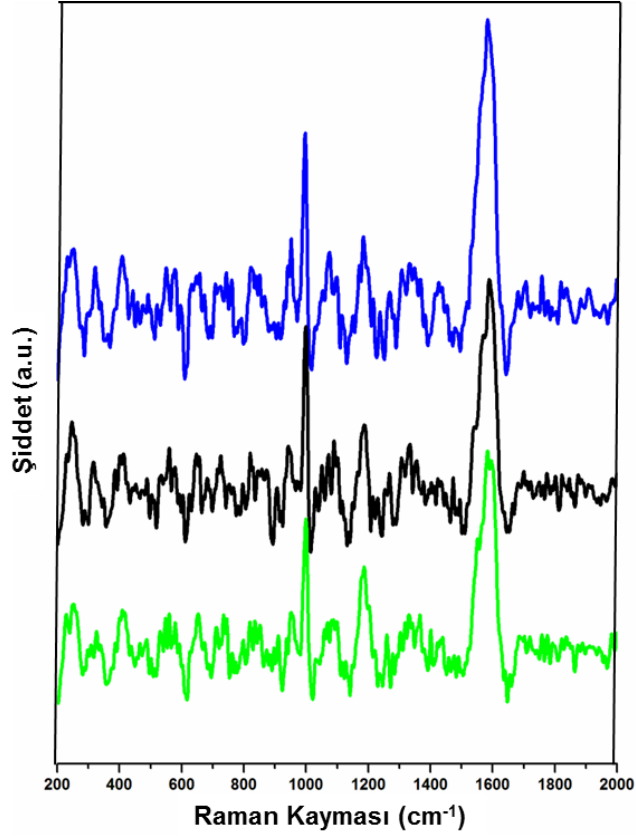
edilen bu yüzeye plazmonik özellik kazandırmak amacıyla PVD sistem içerisinde 32 nm kalınlığında altınla kaplanmıştır. Kaplamadan sonra yüzeylerin morfolojisinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir (Şekil 4.47). Burada tek tabaka görünümü daha iyi ve kesin göstermek amacıyla yüzeylerin SEM görüntüleri verilmiştir. Daha sonra elde edilen bu yüzeylerin SERS özellikleri yüzeye 10 μM MB damlatılarak araştırılmıştır. Elde edilen SERS spektralarından bazıları Şekil 4.48'de verilmiştir. Fakat bu yüzeyden elde edilen SERS spektralarında kayda değer bir zenginleştirme gözlenmemiştir. Elde edilen SERS spektralarının şiddeti düz altın yüzeye yakın çıkmıştır. Bu duruma PS kürelerin çaplarının (5 μm) çok büyük olmasından dolayı Raman zenginleştirme için uygun olacak etkileşimlerin gerçekleşmemesine bağlanmaktadır.



Şekil 4.46. Spin kaplama yöntemi ile cam yüzeyde oluşturulan tek tabaka PS mikrokürelerin (~5 μm) fotoğraf görüntüsü ve farklı büyütme ölçeklerindeki optik mikroskop görüntüleri. Ölçek çizgisi 50 ve 10 μm 'dir.



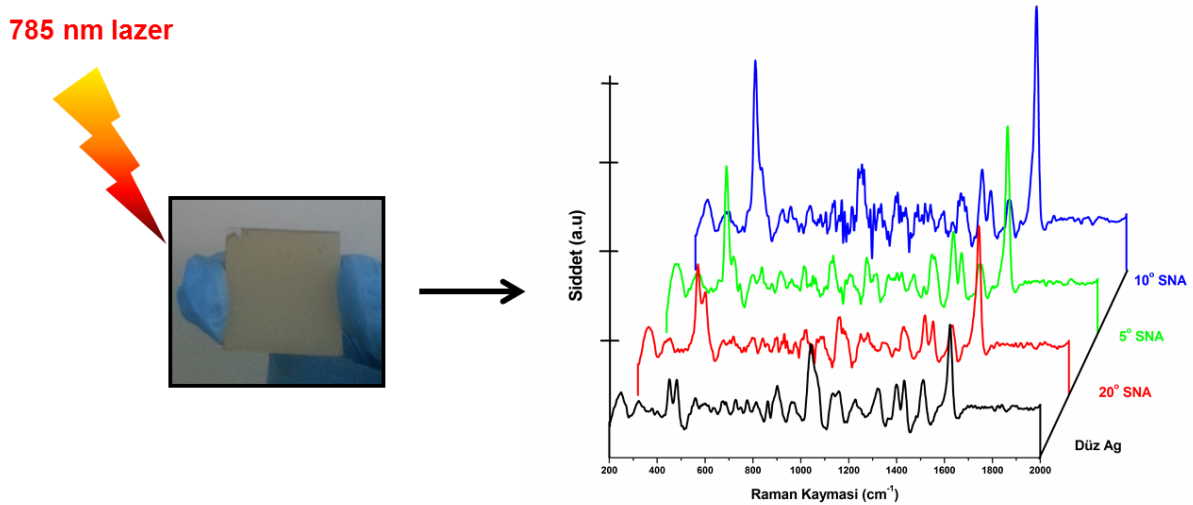
Şekil 4.47. PVD yöntemi ile altın kaplandıktan sonra (32 nm) tek tabaka PS mikrokürelerin (~5 μm) optik mikroskop ve farklı büyütme ölçeklerindeki SEM görüntüleri.



Şekil 4.48. Altın kaplandıktan sonra (32 nm) tek tabaka PS mikrokürelerden (~5 μm) elde edilen 10 μM MB SERS spektralleri.

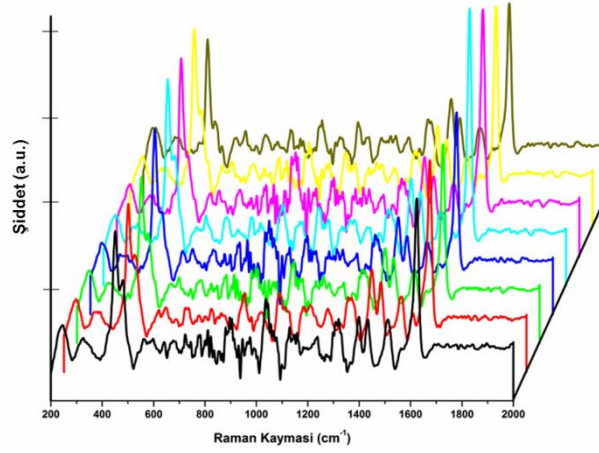
Bu kısımda yukarıda değişik şekilde altın nanopartüllerle kombine edilmiş GNA nanoçubuklara benzer şekilde gümüş nanopartiküller ve SNA nanoçubuklar SERS platform olarak kullanılmıştır. İlk aşamada çıplak SNA nanoçubuk yapıların SERS performanslarını belirleyebilmek amacıyla MB ile denemeler yapılmıştır (Şekil 4.49). Bu durumda GNA için elde edilen sonuçlara çok benzer sonuçlar SNA için de gözlenmiştir. 3-D SNA yapıların, özellikle 5° ve 10° ile büyütülen yüzeylerin, düz yüzeye karşılaştırıldığında önemli zenginleştirme sağladığı açıktır. 20° için SNA yapı oluşturulamamasına rağmen Raman sinyalinde önemli zenginleştirme sağlanmıştır. Bu sonucun eldesinde yine GNA durumuna benzer şekilde 20° için elde edilen filmin karmaşık ve pürüzlü yapısının etkin olduğu düşünülmektedir. 5° ve 10° için elde edilen SNA yapılarda yüksek Raman zenginleştirme yüzey plazmonların ve buna bağlı olarak sıcak noktaların (hot spot) oluşumuna dayandırılmaktadır. Buradaki sıcak nokta oluşumları SNA nanoçubuklar ve bunların uçlarındaki EM alan zenginleştirmesinden

dolayı oluşmaktadır. Buna bağlı olarak yanyana duran nanotellerin çap (transverse) ve boya (longitudinal) LSPR modları, uç-odaklama (tip-focusing), oyuk rezonanslar (cavity resonances) ve nano-anten etkilerinin sıcak nokta oluşumunda etkili olmuştur. Ayrıca bunlara ek olarak SNA yapıyı oluşturan nanotellerin düzgün dağılımları oluşan SPR'lerin nanoteller üzerinde/arasında ilerleyip çoğalmasını (propagation) sağlar. Buna göre 10° , 5° ve 20° SNA nanoçubuklar için EF değerleri sırasıyla 1.5×10^6 , 1.2×10^6 ve 9.2×10^5 olarak belirlenmiştir. Bu EF değerleri GNA için elde edilen değerlerle karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 2-3 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durum gümüş metalinin dielektrik sabitinden dolayı altına oranla daha fazla plazmonik etki ile uyarılmasına ve daha fazla EM alan oluşturmaya dayandırılmaktadır. Birçok farklı kaynaktan gümüşün altına göre çok daha fazla oranda SERS etkisi oluşturduğu belirtilmiştir [295, 296]. En baskın pik ve bu bölgede alınan gürültü oranlandığında 5° , 10° ve 20° GNA nanotel yüzeylerden alınan sinyallerin sinyal/gürültü oranları sırasıyla 26 ± 5 , 32 ± 4 ve 21 ± 5 olarak hesaplanmıştır. Buna göre bu değerler GNA karşılaştırıldığında daha düşük çıkmaktadır. Bu sonuç GNA ile elde edilen SERS sinyallerinin SNA ile kıyaslandığında daha gürültüsüz ve daha güvenilir olduğu sonucunu vermektedir. SNA nanoçubuk yapıları için bu durumu gümüş metalinin atmosfer ortamında oksijenle kolaylıkla oksitlenip, plazmonik özelliğini kaybetmesiyle açıklayabiliriz.



Şekil 4.49. 10 µM MB için elde edilen SERS spektraları: SNA nanoyapılar için buhar akısı açısının (α) elde edilen SERS spektrası üzerine etkisi.

Çıplak SNA yüzeyin farklı bölgelerinden alınan SERS spektraları Şekil 4.49'da ve bu spektraldaki farklı pikler kullanılarak hesaplanan RSD değerleri ise Çizelge 4.5'te verilmiştir. Spektralar incelendiğinde kabul edilebilir düzeyde tekrarlanabilir olmalarına karşın RSD değerleri GNA için hesaplanan değerlerden çok daha yüksek çıkmıştır. Burada dikkat edilmesi gereken nokta spektralarda kolaylıkla gözlenebilen gürültüdür. Bunlarla ilgili önceki satırlarda yeteri kadar açıklama yapıldığından tekrara düşmemek için bu kısımda daha fazla ayrıntı verilmeyecektir.



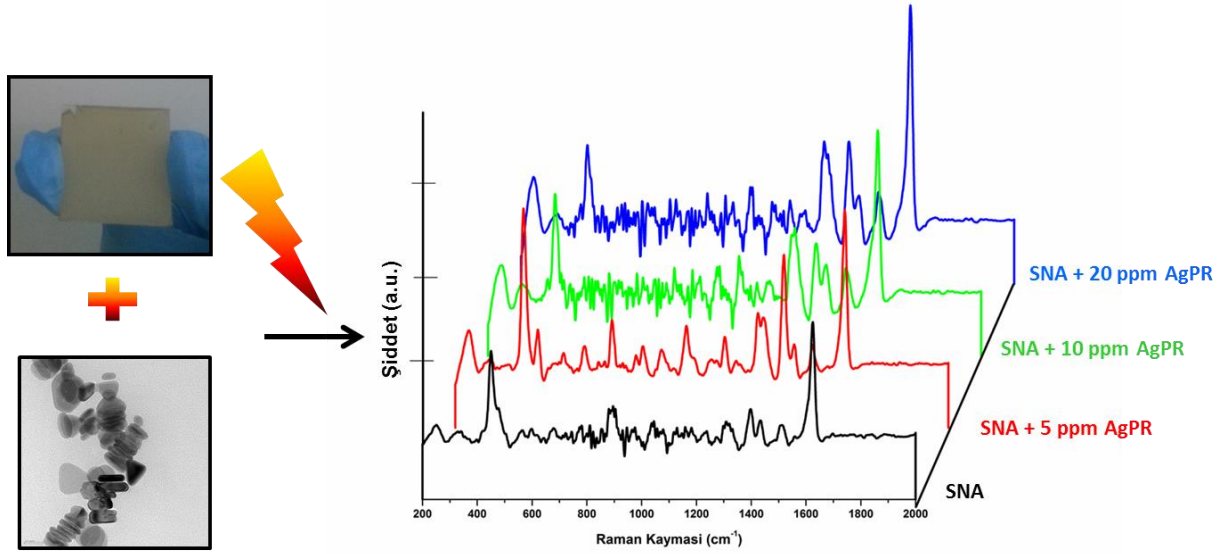
Şekil 4.50. SNA nanotel yüzeyleri için tekrarlanabilir SERS spektraları ($\alpha = 10^\circ$ ve $10 \mu\text{M}$ MB).

Çizelge 4.5. SNA nanoçubuk yüzeyler için elde edilen RSD değerleri.

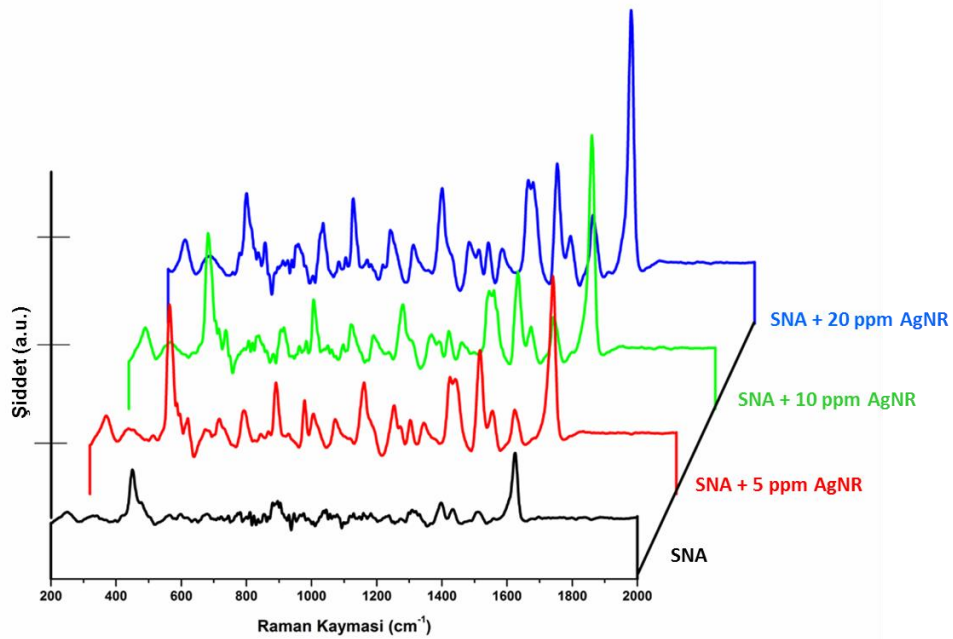
Pik Pozisyonu (cm^{-1})	1624	1398	450
RSD Değeri	0.16	0.15	0.13

Çıplak SNA nanoçubuk platformlar ile kayda değer oranda SERS zenginleştirilmesi sağlanmasına rağmen daha ileri bir zenginleştirmenin sağlanabilmesi amacıyla SNA

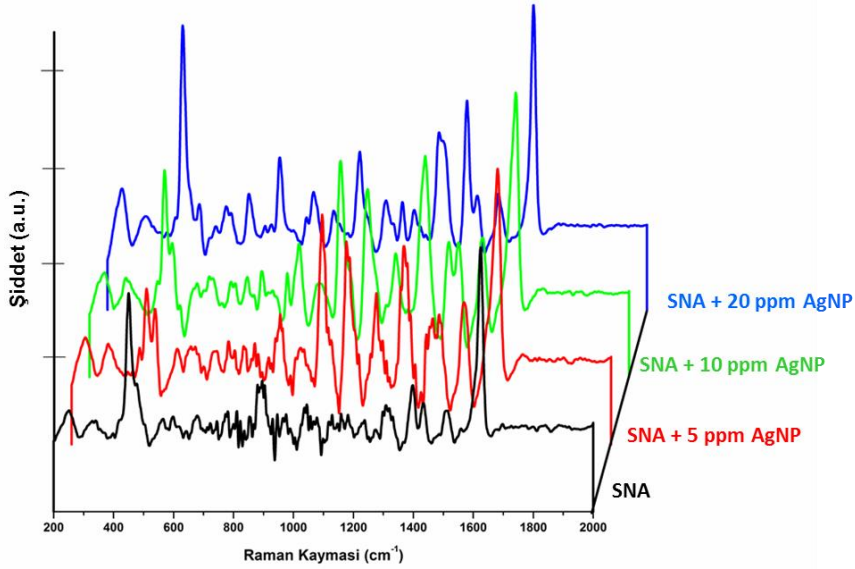
yüzeyler farklı şekillerdeki gümüş nanopartiküllerle kombine edilerek SERS zenginleştirmeye olan etkileri araştırılmıştır. Bu bağlamda prizma (AgPR, Şekil 4.51), çubuk (AgNR, Şekil 4.52) ve küresel (AgNP, Şekil 4.53) şeklindeki nanopartiküller farklı derişimlerde (5-20 ppm) MB ile karıştırılarak 10^0 SNA üzerine eklenerek SERS performansları araştırılmıştır. Karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla her grafikte çıplak SNA için elde edilen SERS spektraları da verilmiştir. Tüm nanopartikül çeşitleri için derişimin artmasıyla SERS sinyal şiddetinde kayda değer artışlar gözlenmiştir ve en şiddetli tüm örneklerde 20 ppm derişimde elde edilmiştir. Buna göre 20 ppm nanopartikül durumunda elde edilen EF değerleri SNA + AgNR, SNA + AgPR ve SNA + AgNP için sırasıyla 5.3×10^6 , 2.5×10^6 ve 1.8×10^6 olarak saptanmıştır. Şimdi nanopartiküllerin oluşturduğu bu sinerjistik etkiyi değerlendirelim. GNA için ve altın nanopartikül için belirtilen gerekçeler burada da geçerlidir. Nanopartiküllerin oluşturduğu bu Raman zenginleştirmesi genel olarak SNA nanotelleri üzerindeyden yüzeye ya da birbirleriyle oluşturdukları EM eşleşme etkisine (coupling effect) dayandırılabilir. Nanopartiküllerin yüzeye değdiği noktalar yoğun şekilde sıcak nokta oluşumuna katkı sunmakta SERS zenginleştirmesini sağlamaktadır. AgNP kullanıldığında sinyal şiddetinde artış sağlanmakta fakat bu artış istenilen düzeyde olmamaktadır (Şekil 4.53). Öte yandan AgPR ve AuNR kullanıldığı durumlarda ise çok daha fazla sinyal zenginleşmesi sağlanmıştır. Bu durum bu nanopartiküllerin SPR özellikleri, büyüklükleri ve şekillerine bağlanabilir. AgNP'ler düz bir yüzeye sahip olup SNA yüzey üzerinde sıcak nokta oluşturma potansiyelleri düşüktür. Ayrıca bu nanopartiküllerin SPR özellikleri kullanılan lazerin dalga boyuna uygun olmadığından uyarılmaları oldukça zordur. Öte yandan AgPR'ler prizma şekillerinden dolayı keskin uçlara sahiptir ve bunlar yüksek oranda plazmon oluşumunu sağlar [284]. Bundan dolayı AgNP ile kıyas edildiğinde daha iyi Raman zenginleştirmeleri elde edilmiştir (Şekil 4.51). AgNR kullanıldığında ise çok daha çarpıcı sonuçlar alınmıştır (Şekil 4.52). AgNR için elde edilen bu çarpıcı Raman zenginleştirmesi nanoçubukların hem boy hem de çap boyunca plazmon oluşturma yeteneklerine bağlanabilir [285-287].



Şekil 4.51. 10 μM MB için elde edilen SERS spektraları: AgPR ile kombine/dekore edilmiş SNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^0$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.



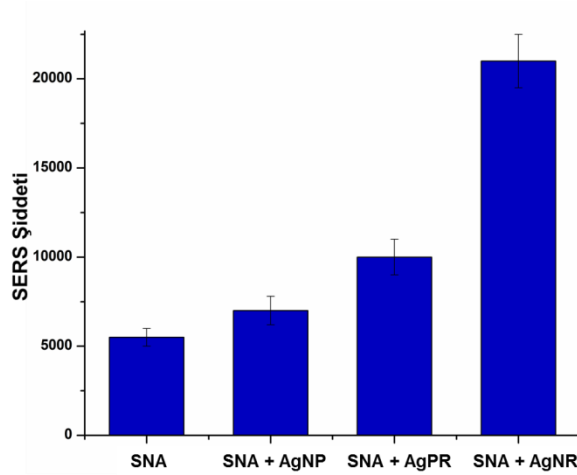
Şekil 4.52. 10 μM MB için elde edilen SERS spektraları: AgNR ile kombine/dekore edilmiş SNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^0$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.



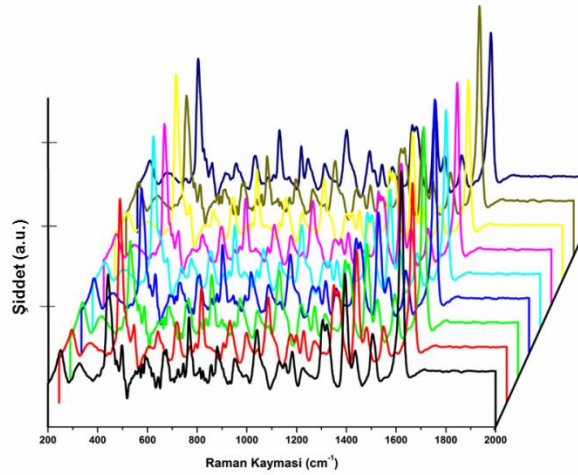
Şekil 4.53. 10 μM MB için elde edilen SERS spektraları: AgNP ile kombine/dekore edilmiş SNA nanoçubuklar ($\alpha = 10^0$) ve elde edilen SERS spektrası üzerine nanopartikül derişiminin etkisi.

SNA nanoçubuk yüzeylerin farklı morfolojilerdeki gümüş nanopartiküllerle kombine edilerek çok daha SERS zenginleştirmesi elde edilebileceğini böylelikle ispatlamış olduk. Farklı nanopartiküllerin SERS sinyal şiddetini hangi ölçüde arttırdığı Şekil 4.54'te karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Bu şekilde en baskın pik olarak öne çıkan 1610 cm^{-1} 'deki pikin şiddeti temel alınmıştır. Bu şekilde verilen hata eğrilerinden ayrıca RSD değerinin yaklaşık olarak %15 civarında olduğu anlaşılmaktadır.

Ayrıca nanopartiküllerle kombine SNA nanoçubuklar için tekrar deneyleri yapılmıştır (Şekil 4.55). Bu şekilde bu grup için önerilen yaklaşımın tekrarlanabilirliği test edilmiştir. Şekil 4.55'te elde edilen spektralar çıplak SNA ile alınanlarla karşılaştırıldığında sinyal şiddetlerindeki artış yanında sinyal/gürültü oranlarında da önemli iyileşmelerin sağlandığı görülmektedir. Bu AgNR kullanımının sağladığı yeni bir avantaj olarak görünmektedir. Şekil 4.55'teki spektralar kullanılarak elde edilen RSD değerleri ise Çizelge 4.6'da verilmiştir. RSD analizi hem deneyin bu yaklaşımla daha iyi tekrarlanabilir sonuç verdiğini hem de sinyal/gürültü oranında iyileşme sağlandığını göstermektedir.



Şekil 4.54. Farklı nanopartiküller ile kombine/dekore edilmiş SNA nanoçubukların ($\alpha=10^0$) 10 μ M MB ve 20 ppm nanopartikül derişimi için SERS şiddetlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.55. 10 μ M MB için elde edilen tekrarlanabilir SERS spektraları ($\alpha=10^0$ ve 20 ppm AgNR).

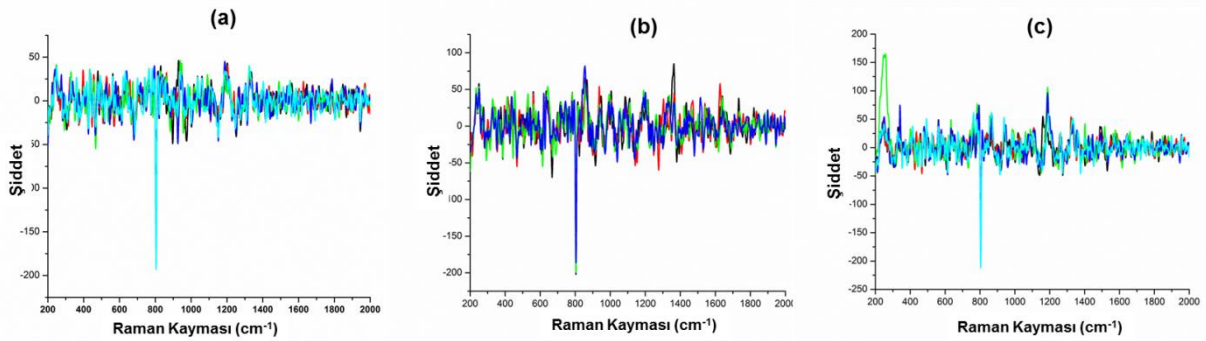
Çizelge 4.6. 10 μ M MB için elde edilen tekrarlanabilir SERS spektralarının RSD değerleri ($\alpha=10^0$ ve 20 ppm AgNR).

Pik Pozisyonu (cm^{-1})	1621	1394	1305	1183	769	443
RSD Değeri	0.12	0.10	0.08	0.13	0.07	0.16

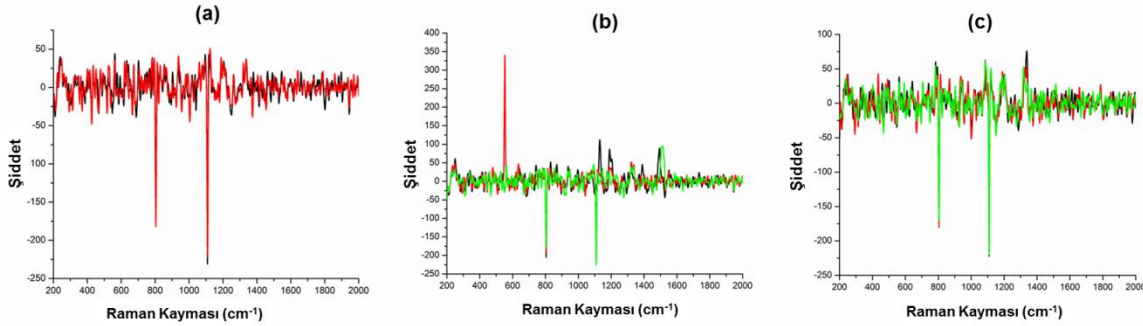
4.4. Aptamer ile Modifiye Edilmiş GNA ve SNA Platformlar ve SERS Özellikleri

Yukarıda GNA ve SNA platformların ve bu platformların altın ve gümüş nanopartiküllerle kombine edilerek elde edilen SERS sonuçları hem Raman molekülleri ve hem de gerçek örnekler için test edildi ve oldukça büyük zenginleşmenin gerçekleştiği ispat edildi. Bu son kısımda ise aptamerler kullanılarak yukarıda belirtilen yüzeylerin SERS sistemi olarak kullanılması üzerinde durulacaktır.

Bu bağlamda bu aşamada ilk olarak FITC boya takılmış aptamer (FITC-aptamer) tiyol grubu üzerinden GNA yüzey üzerine bağlanması sağlanmıştır. Daha sonra farklı α açıları için gerçekleştirilen bu yüzeylerin SERS performansları incelenmiştir. Şekil 4.56'da bu inceleme sonucu elde edilen Raman spektralleri verilmiştir. Farklı yüzeyler kullanılarak alınan bu spektrallerin hiçbirinden tanıya olanak sağlayacak Raman sinyalleri alınamamıştır. Bu durumun kullanılan FITC boyanın lazerin dalga boyuna uyumlu olmaması ve çok kuvvetli floresans etkiden dolayı Raman saçılmasının kapatılmasıyla ölçüm alınamamasına bağlanmaktadır. Bu durum düzeltilmesi amacıyla FITC-aptamer takılı GNA yüzeyler bu aptamere uyumlu olarak sentezlenen komplementer aptamer ile etkileştirilmiştir. Böylelikle bu etkileşimden dolayı Raman sinyalinin alınabileceği düşünülmüştür. Şekil 4.57'de buna göre elde edilen Raman spektralleri toplu olarak verilmiştir. Görüldüğü üzere bu yaklaşım Raman sinyal ölçümüne bir katkı sunmamıştır.

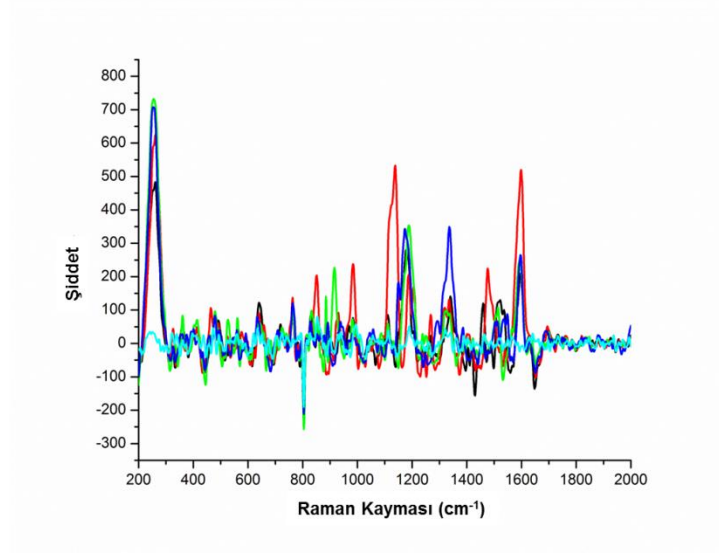


Şekil 4.56. FITC-aptamer (1 μ M) ile modifiye edilmiş GNAs nanoçubuk yüzeylerden elde edilen SERS spektralleri (a) $\alpha = 5^\circ$, (b) $\alpha = 10^\circ$ ve (c) $\alpha = 20^\circ$.

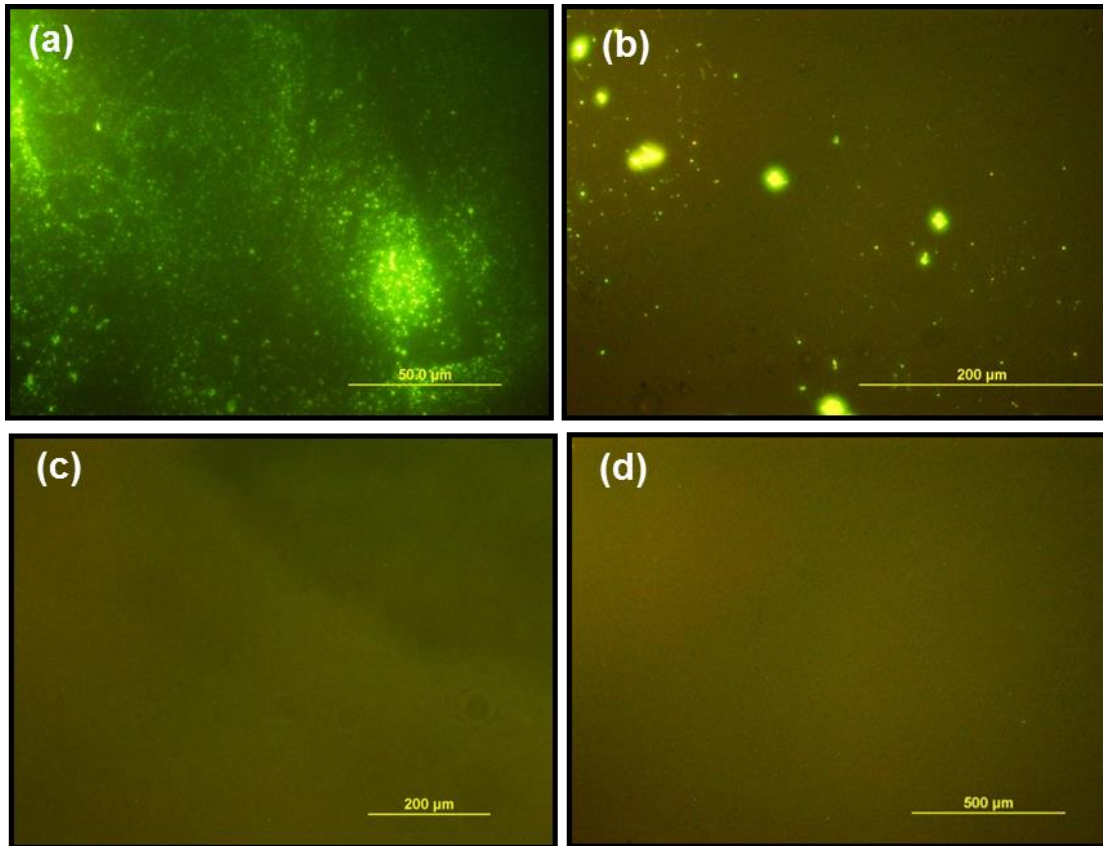


Şekil 4.57. FITC-aptamer (1 μM) ve komplementar aptamer ($> 1 \mu\text{M}$) ile modifiye edilmiş GNAs nanoçubuk yüzeylerden elde edilen SERS spektraları (a) $\alpha= 5^\circ$, (b) $\alpha= 10^\circ$ ve (c) $\alpha= 20^\circ$.

Daha sonra bu zorluğu aşmak amacıyla belli bir derişimdeki FITC boyalı albumin GNA yüzey üzerinde Raman spektrası incelenmiştir. Bunun sonucunda Şekil 4.58’da verilen Raman spektraları elde edilmiştir. Buradan açık şekilde görülen pikler belirlenmiş ve piklerin FITC boyalı albumin için karakteristik pikler olduğu yapılan Raman band incelemeleri ve süreli yayınlardaki çalışmalarla karşılaştırıldığında gözlenmiştir [297]. Bu çalışmada farklı yaklaşımlar kullanılarak FITC boyalı albuminin Raman sinyalindeki düşüş ve bunun arkasındaki fotoağarma açıklanmıştır. Bu bağlamda burada FITC aptamerin GNA yüzey üzerine bağlanıp bağlanmadığını tespit etmek gerekmektedir. Bundan dolayı farklı derişimlerde FITC-aptamer ile etkileştirilmiş GNA yüzeyleri floresans mikroskop incelemeleri yapılmıştır. Elde edilen floresans görüntülerden birer örnek ve karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla FITC-aptamer uygulanmamış çıplak yüzey (blank) ile birlikte Şekil 4.59’da verilmiştir. Buradan artan FITC-aptamer şiddetine bağlı olarak floresans şiddetinin arttığı görülmektedir. Bu sonuç bize FITC-aptamer bileşiğinin GNA yüzeye başarıyla bağlandığını ve Raman ile sinyal alınamamasının daha önce belirtildiği gibi FITC boyanın özelliğinden kaynaklandığı tezini kuvvetlendirmektedir.

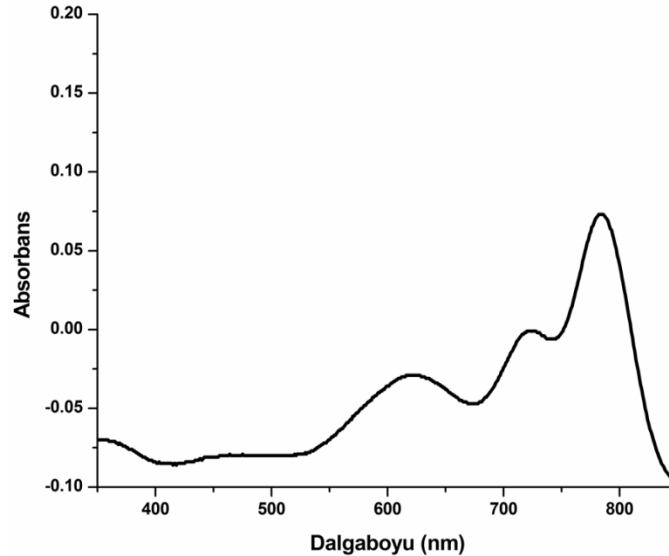


Şekil 4.58. FITC boyalı albumin (1 μM) ile modifiye edilmiş GNAs nanoçubuk yüzeyden elde edilen SERS spektraları ($\alpha = 10^\circ$).

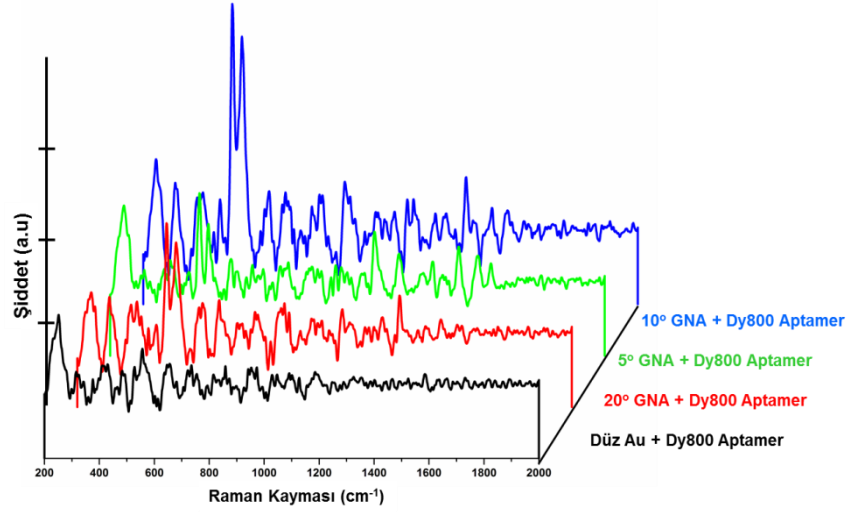


Şekil 4.59. Farklı derişimlerde FITC-aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubuk yüzeylerin floresans mikroskop görüntüleri. (a) 1 μM , (b) 0.1 μM , (c) 0.01 μM ve (d) 0 μM (blank).

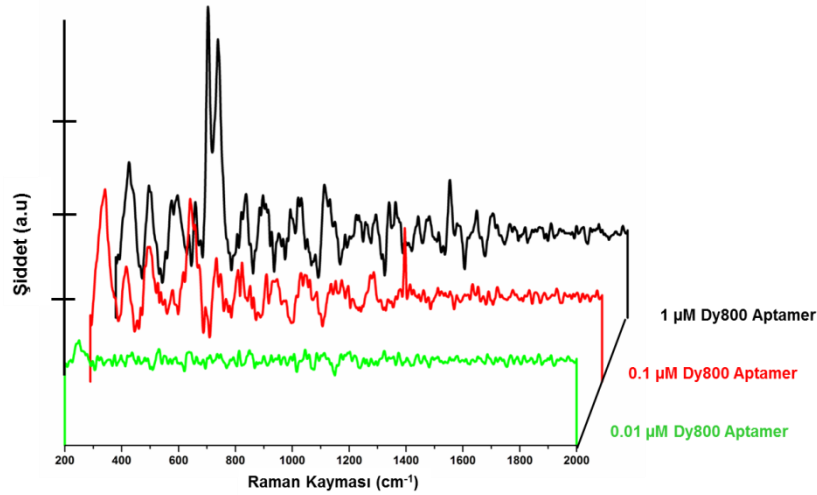
FITC-aptamer ile yukarıda yaşanan problemin giderilmesi amacıyla bu aşamada aynı nükleotid dizilimine sahip bir ucuna tiyol grubu diğer ucuna ise Dy800 boya takılı aptamer yine aynı firmadan temin edilmiştir. Şekil 4.60'da bu bileşen için elde edilen UV-vis spektrumu verilmiştir. Buradan bu boya için verilen yaklaşık 785 nm için maksimum absorpsiyon değerinde pik elde edilmiştir. Kullanılan lazer dalgaboyuna uyumlu olması açısından bu boya seçilmiştir. Daha sonra yukarıdakine benzer şekilde farklı GNA yüzeylere belirli bir derşimde hazırlanmış Dy800-aptamer uygulanmış ve elde edilen Raman spektraları Şekil 4.61'de verilmiştir. Karşılaştırma amacıyla düz yüzey için alınan spektra da eklenmiştir. Buna göre önceki bölümde yapılan denemelerdekine paralel sonuçlar burda da gözlenmiştir. 10^0 GNA yüzey kullanıldığında en yüksek Raman sinyal şiddeti edilmiştir. Bu konudaki değerlendirme daha önceki bölümlerde ayrıntılı olarak yapıldığında burada yer verilmeyecektir. Ayrıca burada elde edilen piklerin Raman pik karşılıkları ele alındığında bunların daha çok Dy800 kökenli oldukları belirlenmiştir. Şekil 4.62'de ise Dy800-aptamer molekülünün farklı derişimleri kullanılarak alınan Raman sinyalleri karşılaştırma amacıyla birlikte verilmiştir. Buradan derişimin artmasıyla sinyal şiddetinin arttığı ve bu yüzey için bu molekülün tanı limitinin 10^{-8} M mertebesinde olduğu söylenebilmektedir.



Şekil 4.60. Dy800-aptamer için elde edilen UV-Vis spektrumu.



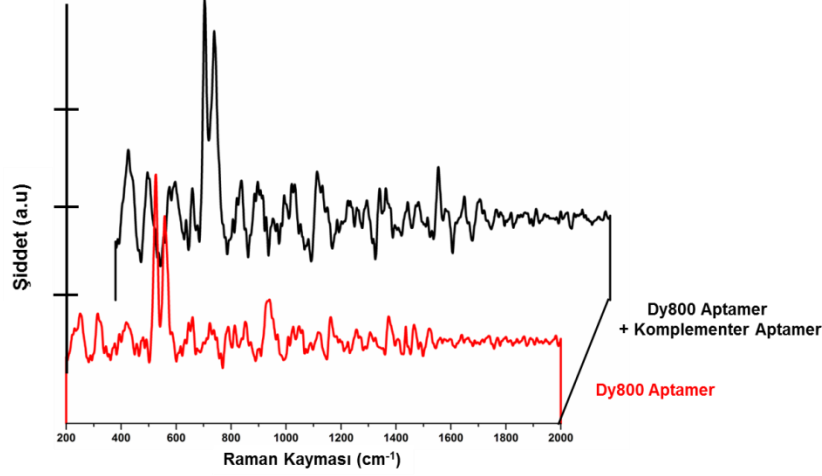
Şekil 4.61. 1 μM Dy800-aptamer için elde edilen SERS spektraları: GNA nanoçubuklar için buhar akışı açısının (α) elde edilen SERS spektrası üzerine etkisi.



Şekil 4.62. Farklı derişimlerde Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubukların ($\alpha = 10^\circ$) SERS spektrası üzerine etkisi.

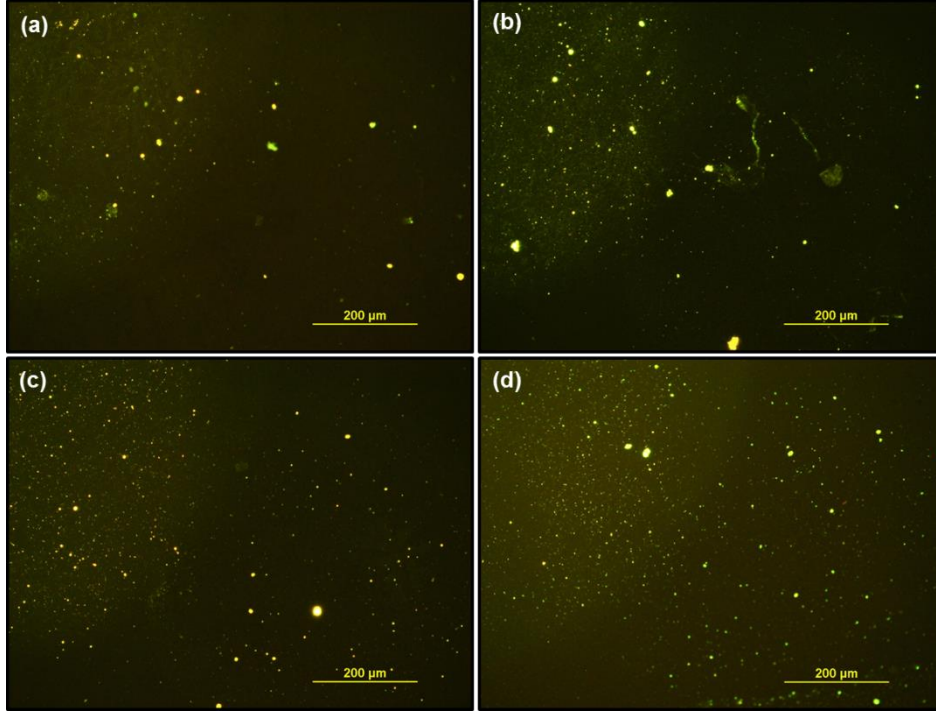
Yukarıda verilenlere ek olarak Dy800-aptamer ile modifiye edilen yüzeyler komplementer aptamer ile etkileştirilmiş ve bunların Raman performansları incelenmiştir (Şekil 4.63). Görüldüğü gibi komplementer aptamer kullanıldığında ilk duruma göre Raman sinyal şiddetinde yaklaşık olarak %20 oranında bir artış (maksimum sinyal şiddetine sahip pikler incelendiğinde) elde edilmiştir. Bu değişim temel olarak Dy800-aptamerin komplementer aptamer ile etkileştikten sonra morfolojide yaşanan değişime bağlı olarak GNA yüzey ile olan etkileşimin değişmesine bağlanmaktadır. Bu durumun

tam olarak anlaşılabilmesi için moleküler seviyede modellerin çıkartılması gerekmektedir. Bu çalışmalar tez kapsamının çok ötesinde olduğu için burada yer verilmeyecektir.

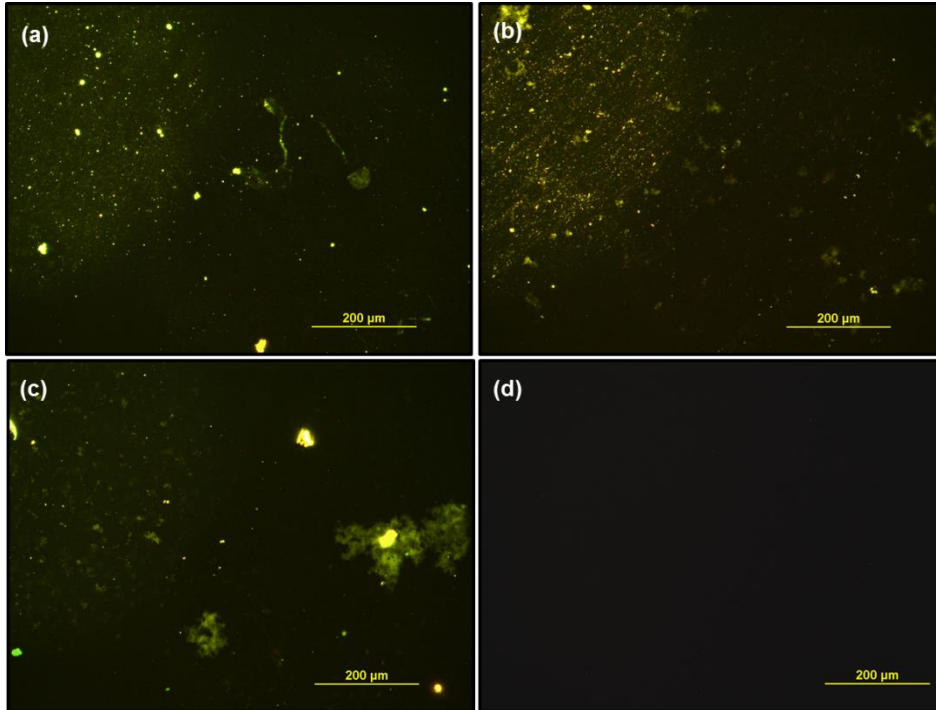


Şekil 4.63. Komplementer aptamerinin Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubukların ($\alpha = 10^0$) SERS spektrası üzerine etkisi.

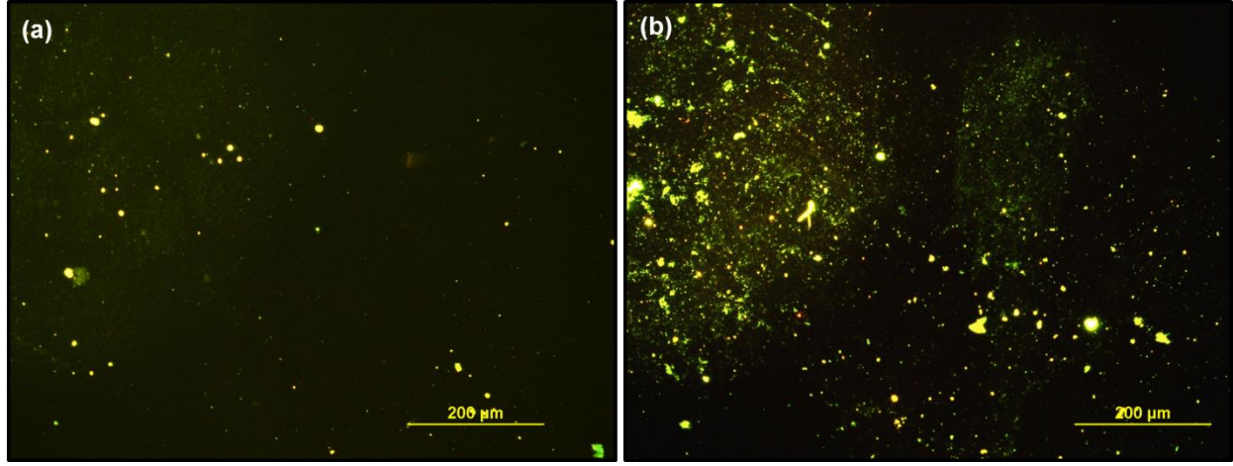
Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş GNA yüzeylerin Raman performansları incelendikten sonra bu yüzeylerin floresans özellikleri yukarıdakine benzer şekilde incelenmiştir. Bu kısımda ilk aşamada Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş farklı yüzeylerin floresans görüntüleri Şekil 4.64'te verilmiştir. Tüm yüzeyler için floresans uyarılmalar yüzeyden alınmıştır. Bu durum Dy800-aptamer moleküllerinin yüzeye tiyol grupları aracılığıyla bağlandığını desteklemektedir. Ayrıca farklı derişimlerde Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş GNAs nanoçubuk yüzeylerin ($\alpha = 10^0$) floresans mikroskop görüntüleri ise incelenmiştir (Şekil 4.65). Karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla Dy800-aptamer uygulanmamış yüzeyler de verilmiştir. Görüntüler dikkatle incelendiğinde artan derişime bağlı olarak floresans şiddetlerinin de arttığı söylenebilir. Son olarak ise komplementer aptamer değişiminin etkisi floresans mikroskop kullanılarak incelenmiştir (Şekil 4.63). Buna göre komplementer aptamer takıldıktan sonra floresans şiddetinde ciddi bir artış gözlenmiştir. Bu durum Raman deneylerinde yaşanan sinyal artışıyla paralellik göstermekte ve bu sonucu destekler niteliktedir.



Şekil 4.64. 1 μM Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş farklı GNA nanoçubukların floresans mikroskop görüntüleri. (a) $\alpha = 5^\circ$, (b) $\alpha = 10^\circ$, (c) $\alpha = 20^\circ$ ve (d) $\alpha = 90^\circ$.



Şekil 4.65. Farklı derişimlerde Dy800-aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubukların ($\alpha = 10^\circ$) floresans mikroskop görüntüleri. (a) 1 μM , (b) 0.1 μM , (c) 0.01 μM ve (d) 0 μM (blank).



Şekil 4.66. Komplementer aptamerinin Dy800 aptamer ile modifiye edilmiş GNA nanoçubukların yüzeylerin ($\alpha = 10^\circ$) floresans mikroskop görüntüleri ile etkisi. (a) Dy800 aptamer (b) Dy800 aptamer + Komplementer aptamer.

4.5. Genel Sonuçlar

Süperparamanyetik manyetit nanopartiküller ikili çöktürme ve solvotermal yöntem ile oldukça homojen bir nanopartikül boy dağılımında sırasıyla 5.8 ve 18.8 nm ortalama büyüklüğünde başarı ile sentezlenmiştir. Sentezlenen bu malzemeler plazmonik özelliğe sahip olmadıklarından tez kapsamında değerlendirilmemekle beraber grubumuzca yürütülmekte olan diğer çalışmalarda yoğun olarak kullanılmışlardır.

Raman sinyal şiddetine etkilerinin belirlenmesi amacıyla plazmonik altın nanopartiküller küresel (AuNP), küp (AuNC) ve çubuk (AuNR) olmak üzere üç farklı şekilde sentezlenmiştir. Altın nanopartiküller UV-vis ve TEM kullanılarak karakterize edilmiştir. Bu analizler sonucunda istenen özellikte elde edilen altın nanopartiküller sonraki aşamalarda kullanılmak üzere saklanmıştır.

Altın nanopartiküllere benzer şekilde plazmonik özellik gösteren gümüş nanopartiküller de küresel (AgNP), prizma (AgPR) ve çubuk (AgNR) şeklinde sentezlenmiş ve UV-vis ve TEM ile karakterize edilmiştir. Belirtilen analizler elde edilen nanopartiküllerin aranılan şekil ve özellikte olduğunu göstermiştir.

Oksidasyon yöntemi kullanılarak AuNR boylarının kısaltılmasıyla lazer dalgaboyu ile eşleşecek nanopartiküllerin sentezlenmesi yoluna gidilmiştir. Bu yöntemle süre ve asit

çözeltisi miktarı gibi parametrelerin değiştirilerek nanoçubukların boylarının kısaltılarak istenen plazmonik özellikte partiküllerin elde edilebileceği UV-vis ve TEM verileriyle ispatlanmıştır.

SERS platformu olarak kullanılmak üzere buhar fazında eğik açı biriktirme (oblique angle deposition, OAD) ile cam yüzeyde oluşturulan altın ve gümüş nanoçubuk yapılar PVD sistem içerisinde başarı ile üretilmiştir. Buhar biriktirme açısının yüzey morfolojisini belirleyen temel parameter olduğu saptanmıştır. 5° ve 10° buhar birikim açısı değerlerinde eğik nanoçubuk yapılar belli bir yönde yönelmiş (anizotropik) yapıda elde edilirken 20° için bu yapı gözlenmemiş yüzeyi pürüzlü bir yapı elde edilmiştir. ImageJ kullanılarak ortalama nanoçubuk çap, birikme açısı ve birim alandaki sayısal yoğunlukları belirlenmiştir. 10° için 5° 'ye göre daha fazla sayıda nanoçubuk sayısı daha düşük nanoçubuk çapı için belirlenmiştir.

GNA için gerçekleştirilen elipsometrik ölçümler bu malzemenin SERS için ideal bir platform olabileceğini ve plazmonik özelliklerinin büyük oranda ışığın geliş yönü ve açısına bağlı olduğunu göstermiştir.

GNA için yapılan XRD analizi kristal yapıların yığın altın için FCC (face-centered cubic) yapı ile uyumlu olduğunu belirtmiştir.

SNA için alınan SEM görüntüleri buhar biriktirme açısının yüzey morfolojisini belirleyen temel parameter olduğu saptanmıştır. GNA platformlara benzer şekilde 5° ve 10° buhar birikim açısı değerlerinde eğik nanoçubuk yapılar belli bir yönde yönelmiş (anizotropik) yapıda elde edilirken 20° için bu yapı gözlenmemiş yüzeyi pürüzlü bir yapı elde edilmiştir. ImageJ kullanılarak ortalama nanoçubuk çap, birikme açısı ve birim alandaki sayısal yoğunlukları belirlenmiştir. 10° için 5° 'ye göre daha fazla sayıda nanoçubuk sayısı daha düşük nanoçubuk çapı için belirlenmiştir. Ayrıca GNA ile karşılaştırıldığında SNA için nanoçubuk çapının daha düşük ve birim alandaki sayıca yoğunluğun daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Öncül SERS çalışmalarında MB, R6G ile kıyaslandığında daha şiddetli ve daha belirgin pikler sunduğundan MB Raman molekülü olarak seçilmiş ve $10 \mu\text{M}$ ideal çalışma derişimi olarak belirlenmiştir.

Farklı buhar biriktirme elde edilen GNA platformlarında ile yapılan SERS çalışmalarında 10^0 için hazırlanan yüzey yanyana duran nanotellerin çap (transverse) ve boya (longitudinal) LSPR modları, uç-odaklama (tip-focusing), oyuk rezonanslar (cavity resonances) ve nano-anten etkileri ile yüksek oranda sıcak nokta oluşturma kabiliyeti ile en yüksek SERS sinyal şiddetini yüksek bir sinyal/gürültü oranında vermiştir. Bu yüzey için 7.2×10^5 gibi son derece yüksek bir EF değeri hesaplanmıştır.

10^0 biriktirme açısıyla elde edilen platformlara farklı şekillerdeki altın nanopartiküllerle biraraya getirilmiş ve elde edilen SEM görüntüleri nanopartiküllerin yüzeyde rastgele dağıldıklarını göstermiştir. Yüksek derişimde AuNR ile kombine edilmiş GNA en yüksek SERS performansını 5.3×10^6 gibi bir EF değeri ile elde etmiştir. AuNR hem çap hem boy boyunca sıcak nokta oluşturma kabiliyetleri ve kullanılan lazer ile eşleşme özelliklerinin bu duruma sebep olduğu belirlenmiştir.

MB için yapılan Raman band karşılıkları beklendiği şekilde elde edilmiş ve sürekli yayınlarla uyumlu olduğu saptanmıştır.

COMSOL ile gerçekleştirilen modeller deneysel verilerle uyum göstermiş ve zenginleştirme için önerilen mekanizma ve önerileri desteklemiştir. Bu modeller zenginleştirmede hem GNA üzerindeki nanoçubuk yapıların hem de nanopartiküllerin etkin olduğunu göstermiştir.

GNA + AuNR kullanılarak DIP, MP ve DP gibi farklı toksinlerin tanısı ele alınarak önerilen sistemin gerçek numunelerin analizi için de kullanılabileceği belirlenmiştir. Buna göre SERS analizleri tüm toksinlerin yaklaşık olarak 10 ppb sınırına kadar parmak izi hassasiyetinde tanısının yapılabileceğini göstermiştir. Bu verilerle önerilen bu sistemin herhangi bir numunenin tanısında kullanılabileceği saptanmıştır. Ayrıca tüm toksinler için Raman band karşılıkları belirlenmiş ve benzer yayınlarla karşılaştırılmıştır. Bu kısımdaki denemelerle %18 ve altında RSD değerleri için yüksek tekrarlanabilir spektralar elde edilmiştir.

Karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla PS mikroküreler cam yüzeye tek tabaka halinde yayılmış ve üstü altın ile kaplanarak Raman performanları ölçülmüştür. Fakat istenen bir

düzeyde bir zenginleştirme sağlanamamıştır. Düz altın yüzeye yakın SERS zenginleştirilmesi elde edilmiştir.

SNA yüzeyler MB kullanılarak SERS platformu olarak test edilmiştir. Bunun sonucunda GNA için elde edilen sonuçlara benzer olarak 10^0 SNA en yüksek SERS performansını göstermiştir. Bu platform için EF 1.5×10^6 olarak hesaplanmıştır. Bu değer aynı şekilde elde edilen GNA platform ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 2-3 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durum gümüş metalinin dielektrik sabitinden dolayı altına oranla daha fazla plazmonik etki ile uyarılmasına ve daha fazla EM alan oluşturmaya dayandırılmaktadır.

10^0 biriktirme açısıyla elde edilen SNA platformlar farklı şekillerdeki gümüş nanopartiküllerle biraraya getirilmiş ve bunların SERS performansları incelenmiştir. Yüksek derişimde AgNR ile kombine edilmiş SNA en yüksek SERS performansını 5.3×10^6 gibi bir EF değeri ile elde etmiştir. AgNR hem çap hem boy boyunca sıcak nokta oluşturma kabiliyetleri ve kullanılan lazer ile eşleşme özelliklerinin buna sebep olduğu belirlenmiştir.

Hem çıplak hem de gümüş nanopartiküllerle kombine edilmiş SERS platformları ile yüksek tekrarlanabilirlik farklı pikler için elde edilen düşük RSD değerleri ile ispatlanmıştır.

Farklı buhar açısı biriktirmesi sonucu elde edilen GNA platformlar tiyol grubu üzerinden FITC-aptamer ile modifiye edilmiş Raman spektraları incelenmiştir. Buna göre FITC kaynaklı yüksek floresans etkiden dolayı Raman okumanın gerçekleştirelemediği saptanmıştır. FITC-albumin ile yapılan Raman çalışmaları ve floresans mikroskop görüntüleri bu durumu desteklemiştir. Komplementer aptamer kullanımı bu durumu değiştirmemiştir.

Dy800-aptamer kullanılarak FITC-aptamer için yapılan çalışmaların benzeri yapılmıştır. $0.01 \mu\text{M}$ mertebesine kadar bu aptamerin tanımlanabileceği SERS spektralarıyla belirlenmiştir. Bu aptamerin GNA SERS platformlarına bağlandığı floresans görüntüleriyle desteklenmiştir. Komplementer aptamer takıldıktan sonra SERS sinyal

şiddetinde kayda değer bir artış gözlenmiştir. Bu durum aptamerin morfolojisindeki değişime paralel olarak yüzeyle etkileşiminin artmasına bağlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Poole Jr CP, Owens FJ. Introduction to nanotechnology: John Wiley & Sons; 2003.
- [2] Vollath D. Nanomaterials: an introduction to synthesis, properties and applications: John Wiley & Sons; 2013.
- [3] Alexandridis P. Gold nanoparticle synthesis, morphology control, and stabilization facilitated by functional polymers. Chemical Engineering & Technology. 2011;34:15-28.
- [4] Xia Y, Xiong Y, Lim B, Skrabalak SE. Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanocrystals: Simple Chemistry Meets Complex Physics? Angewandte Chemie International Edition. 2009;48:60-103.
- [5] Sau TK, Rogach AL. Nonspherical Noble Metal Nanoparticles: Colloid-Chemical Synthesis and Morphology Control. Advanced Materials. 2010;22:1781-804.
- [6] Sohn B-H, Choi J-M, Yoo SI, Yun S-H, Zin W-C, Jung JC, et al. Directed self-assembly of two kinds of nanoparticles utilizing monolayer films of diblock copolymer micelles. Journal of the American Chemical Society. 2003;125:6368-9.
- [7] Burda C, Chen X, Narayanan R, El-Sayed MA. Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. Chemical reviews. 2005;105:1025-102.
- [8] Sau TK, Rogach AL, Jäckel F, Klar TA, Feldmann J. Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles. Advanced Materials. 2010;22:1805-25.
- [9] Talapin DV, Lee J-S, Kovalenko MV, Shevchenko EV. Prospects of colloidal nanocrystals for electronic and optoelectronic applications. Chemical reviews. 2009;110:389-458.
- [10] Majewski P, Thierry B. Functionalized magnetite nanoparticles—synthesis, properties, and bio-applications. Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences. 2007;32:203-15.
- [11] Neuberger T, Schöpf B, Hofmann H, Hofmann M, Von Rechenberg B. Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system. Journal of Magnetism and Magnetic Materials. 2005;293:483-96.
- [12] Laurent S, Forge D, Port M, Roch A, Robic C, Vander Elst L, et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. Chemical reviews. 2008;108:2064-110.

- [13] Stephen ZR, Kievit FM, Zhang M. Magnetite nanoparticles for medical MR imaging. *Materials Today*. 2011;14:330-8.
- [14] Pankhurst QA, Connolly J, Jones S, Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*. 2003;36:R167.
- [15] Sun S, Murray C, Weller D, Folks L, Moser A. Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices. *Science*. 2000;287:1989-92.
- [16] Miller M, Prinz G, Cheng S-F, Bounnak S. Detection of a micron-sized magnetic sphere using a ring-shaped anisotropic magnetoresistance-based sensor: a model for a magnetoresistance-based biosensor. *Applied Physics Letters*. 2002;81:2211-3.
- [17] Jain TK, Morales MA, Sahoo SK, Leslie-Pelecky DL, Labhasetwar V. Iron oxide nanoparticles for sustained delivery of anticancer agents. *Molecular pharmaceutics*. 2005;2:194-205.
- [18] Chourpa I, Douziech-Eyrolles L, Ngaboni-Okassa L, Fouquenot J-F, Cohen-Jonathan S, Soucé M, et al. Molecular composition of iron oxide nanoparticles, precursors for magnetic drug targeting, as characterized by confocal Raman microspectroscopy. *Analyst*. 2005;130:1395-403.
- [19] Yu MK, Jeong YY, Park J, Park S, Kim JW, Min JJ, et al. Drug-loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for combined cancer imaging and therapy in vivo. *Angewandte Chemie International Edition*. 2008;47:5362-5.
- [20] Wang X, Zhou L, Ma Y, Li X, Gu H. Control of aggregate size of polyethyleneimine-coated magnetic nanoparticles for magnetofection. *Nano Research*. 2009;2:365-72.
- [21] Deng Y, Qi D, Deng C, Zhang X, Zhao D. Superparamagnetic high-magnetization microspheres with an Fe₃O₄@ SiO₂ core and perpendicularly aligned mesoporous SiO₂ shell for removal of microcystins. *Journal of the American Chemical Society*. 2008;130:28-9.
- [22] Agrawal A, Sathe T, Nie S. Single-bead immunoassays using magnetic microparticles and spectral-shifting quantum dots. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007;55:3778-82.
- [23] Bulte JW. Intracellular endosomal magnetic labeling of cells. *Magnetic Resonance Imaging: Springer*; 2006. p. 419-39.
- [24] Modo M, Hoehn M, Bulte J. Cellular MR imaging. *Molecular imaging*. 2004;4:143-64.

- [25] Babes L, Denizot Bt, Tanguy G, Le Jeune JJ, Jallet P. Synthesis of iron oxide nanoparticles used as MRI contrast agents: a parametric study. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1999;212:474-82.
- [26] Sun X, Zheng C, Zhang F, Yang Y, Wu G, Yu A, et al. Size-controlled synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles coated with glucose and gluconic acid from a single Fe (III) precursor by a sucrose bifunctional hydrothermal method. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2009;113:16002-8.
- [27] Sun S, Zeng H. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*. 2002;124:8204-5.
- [28] Park J, Lee E, Hwang NM, Kang M, Kim SC, Hwang Y, et al. One-nanometer-scale size-controlled synthesis of monodisperse magnetic iron oxide nanoparticles. *Angewandte Chemie*. 2005;117:2932-7.
- [29] Chin AB, Yaacob II. Synthesis and characterization of magnetic iron oxide nanoparticles via w/o microemulsion and Massart's procedure. *Journal of materials processing technology*. 2007;191:235-7.
- [30] Albornoz C, Jacobo SE. Preparation of a biocompatible magnetic film from an aqueous ferrofluid. *Journal of magnetism and magnetic materials*. 2006;305:12-5.
- [31] Hee Kim E, Sook Lee H, Kook Kwak B, Kim B-K. Synthesis of ferrofluid with magnetic nanoparticles by sonochemical method for MRI contrast agent. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2005;289:328-30.
- [32] Salazar-Alvarez G, Muhammed M, Zagorodni AA. Novel flow injection synthesis of iron oxide nanoparticles with narrow size distribution. *Chemical engineering science*. 2006;61:4625-33.
- [33] Basak S, Chen D-R, Biswas P. Electrospray of ionic precursor solutions to synthesize iron oxide nanoparticles: modified scaling law. *Chemical engineering science*. 2007;62:1263-8.
- [34] Cornell RM, Schwertmann U. *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses*: John Wiley & Sons; 2006.
- [35] Gribanov N, Bibik E, Buzunov O, Naumov V. Physico-chemical regularities of obtaining highly dispersed magnetite by the method of chemical condensation. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 1990;85:7-10.
- [36] Cheng W, Tang K, Qi Y, Sheng J, Liu Z. One-step synthesis of superparamagnetic monodisperse porous Fe₃O₄ hollow and core-shell spheres. *Journal of Materials Chemistry*. 2010;20:1799-805.

- [37] Cheng C, Xu F, Gu H. Facile synthesis and morphology evolution of magnetic iron oxide nanoparticles in different polyol processes. *New Journal of Chemistry*. 2011;35:1072-9.
- [38] Boisselier E, Astruc D. Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity. *Chemical Society Reviews*. 2009;38:1759-82.
- [39] Daniel M-C, Astruc D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chemical reviews*. 2004;104:293-346.
- [40] Eustis S, El-Sayed MA. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical Society Reviews*. 2006;35:209-17.
- [41] Ghosh P, Han G, De M, Kim CK, Rotello VM. Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced drug delivery reviews*. 2008;60:1307-15.
- [42] Saha K, Agasti SS, Kim C, Li X, Rotello VM. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. *Chemical Reviews*. 2012;112:2739-79.
- [43] Niazov T, Pavlov V, Xiao Y, Gill R, Willner I. DNAzyme-functionalized Au nanoparticles for the amplified detection of DNA or telomerase activity. *Nano Letters*. 2004;4:1683-7.
- [44] Myroshnychenko V, Rodríguez-Fernández J, Pastoriza-Santos I, Funston AM, Novo C, Mulvaney P, et al. Modelling the optical response of gold nanoparticles. *Chemical Society Reviews*. 2008;37:1792-805.
- [45] Murphy CJ, Gole AM, Stone JW, Sisco PN, Alkilany AM, Goldsmith EC, et al. Gold nanoparticles in biology: beyond toxicity to cellular imaging. *Accounts of Chemical Research*. 2008;41:1721-30.
- [46] Mirkin CA, Letsinger RL, Mucic RC, Storhoff JJ. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *Nature*. 1996;382:607-9.
- [47] Liu J, Lu Y. Non-base pairing DNA provides a new dimension for controlling aptamer-linked nanoparticles and sensors. *Journal of the American Chemical Society*. 2007;129:8634-43.
- [48] Hill HD, Vega RA, Mirkin CA. Nonenzymatic detection of bacterial genomic DNA using the bio bar code assay. *Analytical chemistry*. 2007;79:9218-23.

- [49] Maier I, Morgan MR, Lindner W, Pittner F. Optical resonance-enhanced absorption-based near-field immunochip biosensor for allergen detection. *Analytical chemistry*. 2008;80:2694-703.
- [50] Ambrosi A, Castañeda MT, Killard AJ, Smyth MR, Alegret S, Merkoçi A. Double-codified gold nanolabels for enhanced immunoanalysis. *Analytical chemistry*. 2007;79:5232-40.
- [51] Schofield CL, Field RA, Russell DA. Glyconanoparticles for the colorimetric detection of cholera toxin. *Analytical chemistry*. 2007;79:1356-61.
- [52] Dong X, Lau CM, Lohani A, Mhaisalkar SG, Kasim J, Shen Z, et al. Electrical Detection of Femtomolar DNA via Gold-Nanoparticle Enhancement in Carbon-Nanotube-Network Field-Effect Transistors. *Advanced Materials*. 2008;20:2389-93.
- [53] Yan YM, Tel-Vered R, Yehezkeli O, Cheglakov Z, Willner I. Biocatalytic Growth of Au Nanoparticles Immobilized on Glucose Oxidase Enhances the Ferrocene-Mediated Bioelectrocatalytic Oxidation of Glucose. *Advanced Materials*. 2008;20:2365-70.
- [54] Medley CD, Smith JE, Tang Z, Wu Y, Bamrungsap S, Tan W. Gold nanoparticle-based colorimetric assay for the direct detection of cancerous cells. *Analytical chemistry*. 2008;80:1067-72.
- [55] Kneipp J, Kneipp H, Rice WL, Kneipp K. Optical probes for biological applications based on surface-enhanced Raman scattering from indocyanine green on gold nanoparticles. *Analytical chemistry*. 2005;77:2381-5.
- [56] Kneipp J, Kneipp H, McLaughlin M, Brown D, Kneipp K. In vivo molecular probing of cellular compartments with gold nanoparticles and nanoaggregates. *Nano Letters*. 2006;6:2225-31.
- [57] Wang Z, Ma L. Gold nanoparticle probes. *Coordination Chemistry Reviews*. 2009;253:1607-18.
- [58] Turkevich J, Stevenson PC, Hillier J. The size and shape factor in colloidal systems. *A General Discussion of the Faraday Society*. 1951;11:55.
- [59] Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. *Nature*. 1973;241:20-2.
- [60] Brust M, Walker M, Bethell D, Schiffrin DJ, Whyman R. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system. *J Chem Soc, Chem Commun*. 1994:801-2.

- [61] Lattes A, Rico I, De Savignac A, Samii A. Formamide, a water substitute in micelles and microemulsions< sup> xxx</sup> structural analysis using a diels-alder reaction as a chemical probe. *Tetrahedron*. 1987;43:1725-35.
- [62] Taleb A, Petit C, Pileni M. Optical properties of self-assembled 2D and 3D superlattices of silver nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*. 1998;102:2214-20.
- [63] Chen F, Xu G-Q, Hor T. Preparation and assembly of colloidal gold nanoparticles in CTAB-stabilized reverse microemulsion. *Materials Letters*. 2003;57:3282-6.
- [64] Meltzer S, Resch R, Koel BE, Thompson ME, Madhukar A, Requicha AA, et al. Fabrication of nanostructures by hydroxylamine seeding of gold nanoparticle templates. *Langmuir*. 2001;17:1713-8.
- [65] Mallick K, Wang Z, Pal T. Seed-mediated successive growth of gold particles accomplished by UV irradiation: a photochemical approach for size-controlled synthesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2001;140:75-80.
- [66] Pol V, Gedanken A, Calderon-Moreno J. Deposition of gold nanoparticles on silica spheres: a sonochemical approach. *Chemistry of materials*. 2003;15:1111-8.
- [67] Henglein A, Meisel D. Radiolytic control of the size of colloidal gold nanoparticles. *Langmuir*. 1998;14:7392-6.
- [68] Nakamoto M, Yamamoto M, Fukusumi M. Thermolysis of gold (I) thiolate complexes producing novel gold nanoparticles passivated by alkyl groups. *Chemical Communications*. 2002:1622-3.
- [69] Lee P, Meisel D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *The Journal of Physical Chemistry*. 1982;86:3391-5.
- [70] Evanoff DD, Chumanov G. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. *ChemPhysChem*. 2005;6:1221-31.
- [71] Creighton JA, Blatchford CG, Albrecht MG. Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*. 1979;75:790-8.
- [72] Plyuto Y, Berquier J-M, Jacquioud C, Ricolleau C. Ag nanoparticles synthesised in template-structured mesoporous silica films on a glass substrate. *Chem Commun*. 1999:1653-4.
- [73] Malynych SZ, Chumanov G. Vacuum deposition of silver island films on chemically modified surfaces. *Journal of Vacuum Science & Technology A*. 2003;21:723-7.

- [74] Mafuné F, Kohno J-y, Takeda Y, Kondow T, Sawabe H. Structure and stability of silver nanoparticles in aqueous solution produced by laser ablation. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2000;104:8333-7.
- [75] Huang H, Ni X, Loy G, Chew C, Tan K, Loh F, et al. Photochemical formation of silver nanoparticles in poly (N-vinylpyrrolidone). *Langmuir*. 1996;12:909-12.
- [76] Kotov NA, Zaniquelli MED, Meldrum FC, Fendler JH. Two-dimensional silver electrocrystallization under monolayers spread on aqueous silver nitrate. *Langmuir*. 1993;9:3710-6.
- [77] Sun Y, Xia Y. Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. *Science*. 2002;298:2176-9.
- [78] Jana NR, Gearheart L, Murphy CJ. Wet chemical synthesis of silver nanorods and nanowires of controllable aspect ratio Electronic supplementary information (ESI) available: UV–VIS spectra of silver nanorods. See <http://www.rsc.org/suppdata/cc/b1/b100521i>. *Chemical Communications*. 2001:617-8.
- [79] Hu JQ, Chen Q, Xie ZX, Han GB, Wang RH, Ren B, et al. A simple and effective route for the synthesis of crystalline silver nanorods and nanowires. *Advanced Functional Materials*. 2004;14:183-9.
- [80] Aherne D, Ledwith DM, Gara M, Kelly JM. Optical properties and growth aspects of silver nanoprisms produced by a highly reproducible and rapid synthesis at room temperature. *Advanced Functional Materials*. 2008;18:2005-16.
- [81] Tawfick S, De Volder M, Copic D, Park SJ, Oliver CR, Polsen ES, et al. Engineering of Micro-and Nanostructured Surfaces with Anisotropic Geometries and Properties. *Advanced Materials*. 2012;24:1628-74.
- [82] Ge L, Sethi S, Ci L, Ajayan PM, Dhinojwala A. Carbon nanotube-based synthetic gecko tapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104:10792-5.
- [83] Zheng Y, Gao X, Jiang L. Directional adhesion of superhydrophobic butterfly wings. *Soft Matter*. 2007;3:178-82.
- [84] Wolf S, Tauber R. *Silicon processing for the VLSI era Vol. 1 Process Technology*, 2000. Lattice Press.
- [85] Kawata H, Carter JM, Yen A, Smith HI. Optical projection lithography using lenses with numerical apertures greater than unity. *Microelectronic Engineering*. 1989;9:31-6.
- [86] Switkes M, Rothschild M. Immersion Lithography at 157 nm. *Journal of Vacuum Science & Technology B*. 2001;19:2353-6.

- [87] Levenson MD, Viswanathan N, Simpson RA. Improving resolution in photolithography with a phase-shifting mask. *Electron Devices, IEEE Transactions on*. 1982;29:1828-36.
- [88] Moormann C, Bolten J, Kurz H. Spatial phase-locked combination lithography for photonic crystal devices. *Microelectronic engineering*. 2004;73:417-22.
- [89] Bogaerts W, Baets R, Dumon P, Wiaux V, Beckx S, Taillaert D, et al. Nanophotonic waveguides in silicon-on-insulator fabricated with CMOS technology. *Lightwave Technology, Journal of*. 2005;23:401-12.
- [90] Chen X, Zaidi SH, Brueck S, Devine DJ. Interferometric lithography of sub-micrometer sparse hole arrays for field-emission display applications. *Journal of Vacuum Science & Technology B*. 1996;14:3339-49.
- [91] Lu C, Zhou J, Lipson RH, Ding Z. Simple method to fabricate large scale quantum dot architectures. *Materials Letters*. 2009;63:563-5.
- [92] Chou SY, Krauss PR, Renstrom PJ. 25-nanometer resolution. *Science* 272. 1996:85-7.
- [93] Chou SY, Krauss PR. Imprint lithography with sub-10 nm feature size and high throughput. *Microelectronic Engineering*. 1997;35:237-40.
- [94] Clavijo Cedeño C, Seekamp J, Kam A, Hoffmann T, Zankovych S, Sotomayor Torres C, et al. Nanoimprint lithography for organic electronics. *Microelectronic engineering*. 2002;61:25-31.
- [95] Guo L, Cheng X, Chao C. Fabrication of photonic nanostructures in nonlinear optical polymers. *journal of modern optics*. 2002;49:663-73.
- [96] Chao C-Y, Guo LJ. Biochemical sensors based on polymer microrings with sharp asymmetrical resonance. *Applied Physics Letters*. 2003;83:1527-9.
- [97] Guo LJ, Cheng X, Chou C-F. Fabrication of size-controllable nanofluidic channels by nanoimprinting and its application for DNA stretching. *Nano letters*. 2004;4:69-73.
- [98] Efimenko K, Rackaitis M, Manias E, Vaziri A, Mahadevan L, Genzer J. Nested self-similar wrinkling patterns in skins. *Nature materials*. 2005;4:293-7.
- [99] Bowden N, Huck WT, Paul KE, Whitesides GM. The controlled formation of ordered, sinusoidal structures by plasma oxidation of an elastomeric polymer. *Applied Physics Letters*. 1999;75:2557-9.
- [100] Harrison C, Stafford CM, Zhang W, Karim A. Sinusoidal phase grating created by a tunably buckled surface. *Applied Physics Letters*. 2004;85:4016-8.

- [101] Del Campo A, Greiner C. SU-8: a photoresist for high-aspect-ratio and 3D submicron lithography. *Journal of Micromechanics and Microengineering*. 2007;17:R81.
- [102] Rogers JA, Paul KE, Jackman RJ, Whitesides GM. Using an elastomeric phase mask for sub-100 nm photolithography in the optical near field. *Applied Physics Letters*. 1997;70:2658-60.
- [103] Xia Y, Whitesides GM. Soft lithography. *Annual review of materials science*. 1998;28:153-84.
- [104] Peng K, Yan Y, Gao S, Zhu J. Dendrite-Assisted Growth of Silicon Nanowires in Electroless Metal Deposition. *Advanced Functional Materials*. 2003;13:127-32.
- [105] Huang Z, Geyer N, Werner P, De Boer J, Gösele U. Metal-Assisted Chemical Etching of Silicon: A Review. *Advanced materials*. 2011;23:285-308.
- [106] Robbie K, Brett M, Lakhtakia A. Chiral sculptured thin-films. *Nature*. 1996;384:616-.
- [107] Hawkeye MM, Brett MJ. Glancing angle deposition: Fabrication, properties, and applications of micro-and nanostructured thin films. *Journal of Vacuum Science & Technology A*. 2007;25:1317-35.
- [108] Pursel S, Horn MW, Demirel MC, Lakhtakia A. Growth of sculptured polymer submicronwire assemblies by vapor deposition. *Polymer*. 2005;46:9544-8.
- [109] Malvadkar NA, Hancock MJ, Sekeroglu K, Dressick WJ, Demirel MC. An engineered anisotropic nanofilm with unidirectional wetting properties. *Nature materials*. 2010;9:1023-8.
- [110] Boduroglu S, Cetinkaya M, Dressick W, Singh A, Demirel M. Controlling the wettability and adhesion of nanostructured poly-(p-xylylene) films. *Langmuir*. 2007;23:11391-5.
- [111] Demirel M, Kao P, Malvadkar N, Wang H, Gong X, Poss M, et al. Bio-organism sensing via surface enhanced Raman spectroscopy on controlled metal/polymer nanostructured substrates. *Biointerphases*. 2009;4:35-41.
- [112] Raman CV, Krishnan KS. A new type of secondary radiation. *Nature*. 1928;121:501-2.
- [113] Fleischmann M, Hendra P, McQuillan A. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chemical Physics Letters*. 1974;26:163-6.

- [114] Jeanmaire DL, Van Duyne RP. Surface Raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*. 1977;84:1-20.
- [115] Albrecht MG, Creighton JA. Anomalous intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *Journal of the American Chemical Society*. 1977;99:5215-7.
- [116] Moskovits M. Surface roughness and the enhanced intensity of Raman scattering by molecules adsorbed on metals. *The Journal of Chemical Physics*. 1978;69:4159-61.
- [117] Fan M, Andrade GF, Brolo AG. A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*. 2011;693:7-25.
- [118] Pettinger B, Wenning U, Wetzel H. Surface plasmon enhanced Raman scattering frequency and angular resonance of Raman scattered light from pyridine on Au, Ag and Cu electrodes. *Surface Science*. 1980;101:409-16.
- [119] Hao E, Schatz GC. Electromagnetic fields around silver nanoparticles and dimers. *The Journal of chemical physics*. 2004;120:357-66.
- [120] Lombardi JR, Birke RL, Lu T, Xu J. Charge-transfer theory of surface enhanced Raman spectroscopy: Herzberg–Teller contributions. *The Journal of chemical physics*. 1986;84:4174-80.
- [121] Rubim JC, Corio P, Ribeiro MC, Matz M. Contribution of Resonance Raman Scattering to the Surface-Enhanced Raman Effect on Electrode Surfaces. A Description Using the Time Dependent Formalism. *The Journal of Physical Chemistry*. 1995;99:15765-74.
- [122] Lombardi JR, Birke RL. A unified approach to surface-enhanced Raman spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2008;112:5605-17.
- [123] Rubim JC. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) on silver electrodes as a technical tool in the study of the electrochemical reduction of cyanopyridines and in quantitative analysis. *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*. 1987;220:339-50.
- [124] Sheng R, Ni F, Cotton TM. Determination of purine bases by reversed-phase high-performance liquid chromatography using real-time surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analytical chemistry*. 1991;63:437-42.
- [125] Carron K, Mullen K, Lanouette M, Angersbach H. Selective-ultratrace detection of metal ions with SERS. *Applied spectroscopy*. 1991;45:420-3.

- [126] Vo-Dinh T. SERS chemical sensors and biosensors: new tools for environmental and biological analysis. *Sensors and Actuators B: chemical*. 1995;29:183-9.
- [127] Brolo AG, Irish DE, Smith BD. Applications of surface enhanced Raman scattering to the study of metal-adsorbate interactions. *Journal of molecular structure*. 1997;405:29-44.
- [128] Wu D-Y, Li J-F, Ren B, Tian Z-Q. Electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy of nanostructures. *Chemical Society Reviews*. 2008;37:1025-41.
- [129] Kneipp K, Wang Y, Kneipp H, Perelman LT, Itzkan I, Dasari RR, et al. Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Physical review letters*. 1997;78:1667.
- [130] Nie S, Emory SR. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *science*. 1997;275:1102-6.
- [131] Bell SE, Sirimuthu NM. Quantitative surface-enhanced Raman spectroscopy. *Chemical Society Reviews*. 2008;37:1012-24.
- [132] Reilly TH, Chang S-H, Corbman JD, Schatz GC, Rowlen KL. Quantitative evaluation of plasmon enhanced Raman scattering from nanoaperture arrays. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2007;111:1689-94.
- [133] Sharma B, Frontiera RR, Henry A-I, Ringe E, Van Duyne RP. SERS: materials, applications, and the future. *Materials today*. 2012;15:16-25.
- [134] Campion A, Kambhampati P. Surface-enhanced Raman scattering. *Chem Soc Rev*. 1998;27:241-50.
- [135] Stiles PL, Dieringer JA, Shah NC, Van Duyne RR. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Annual Review of Analytical Chemistry*. Palo Alto: Annual Reviews; 2008. p. 601-26.
- [136] Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman spectroscopy using metallic nanostructures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 1998;17:557-82.
- [137] Camden JP, Dieringer JA, Wang Y, Masiello DJ, Marks LD, Schatz GC, et al. Probing the structure of single-molecule surface-enhanced Raman scattering hot spots. *Journal of the American Chemical Society*. 2008;130:12616-7.
- [138] Moskovits M. Surface-enhanced spectroscopy. *Reviews of modern physics*. 1985;57:783.
- [139] Kneipp K, Moskovits M, Kneipp H. *Surface-enhanced Raman scattering: physics and applications*: Springer; 2006.

- [140] Pettinger B, Lipkowski J, Ross P. Adsorption of molecules at metal electrodes. VCH, New York. 1992:285.
- [141] Cotton TM, Kim J-H, Holt RE. Surface-enhanced resonance Raman scattering (SERRS) spectroscopy: a probe of biomolecular structure and bonding at surfaces. *Adv Biophys Chem.* 1992;2:115-47.
- [142] Nabiev I, Chourpa I, Manfait M. Applications of Raman and surface-enhanced Raman scattering spectroscopy in medicine. *Journal of Raman Spectroscopy.* 1994;25:13-23.
- [143] Moskovits M. Surface selection rules. *The Journal of Chemical Physics.* 1982;77:4408-16.
- [144] Kiefer W, Schlücker S. Surface enhanced Raman spectroscopy: analytical, biophysical and life science applications: John Wiley & Sons; 2013.
- [145] Kreibig U, Vollmer M. Optical properties of metal clusters. 1995.
- [146] Kelly KL, Coronado E, Zhao LL, Schatz GC. The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment. *The Journal of Physical Chemistry B.* 2003;107:668-77.
- [147] Camden JP, Dieringer JA, Zhao J, Van Duyne RP. Controlled plasmonic nanostructures for surface-enhanced spectroscopy and sensing. *Accounts of chemical research.* 2008;41:1653-61.
- [148] Gordon R, Sinton D, Kavanagh KL, Brolo AG. A new generation of sensors based on extraordinary optical transmission. *Accounts of chemical research.* 2008;41:1049-57.
- [149] Nikoobakht B, El-Sayed MA. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chemistry of Materials.* 2003;15:1957-62.
- [150] Rocha TC, Zanchet D. Growth aspects of photochemically synthesized silver triangular nanoplates. *Journal of nanoscience and nanotechnology.* 2007;7:618-25.
- [151] Jeong DH, Zhang YX, Moskovits M. Polarized surface enhanced Raman scattering from aligned silver nanowire rafts. *The Journal of Physical Chemistry B.* 2004;108:12724-8.
- [152] Batista EA, dos Santos DP, Andrade GF, Sant'Ana AC, Brolo AG, Temperini ML. Using polycarbonate membranes as templates for the preparation of Au nanostructures for surface-enhanced Raman scattering. *Journal of nanoscience and nanotechnology.* 2009;9:3233-8.

- [153] Cintra S, Abdelsalam ME, Bartlett PN, Baumberg JJ, Kelf TA, Sugawara Y, et al. Sculpted substrates for SERS. *Faraday discussions*. 2006;132:191-9.
- [154] Rycenga M, Camargo PHC, Xia Y. Template-assisted self-assembly: a versatile approach to complex micro- and nanostructures. *Soft Matter*. 2009;5:1129-36.
- [155] Aroca R, Alvarez-Puebla R, Pieczonka N, Sanchez-Cortez S, Garcia-Ramos J. Surface-enhanced Raman scattering on colloidal nanostructures. *Advances in colloid and interface science*. 2005;116:45-61.
- [156] Pieczonka NP, Aroca RF. Inherent Complexities of Trace Detection by Surface-Enhanced Raman Scattering. *ChemPhysChem*. 2005;6:2473-84.
- [157] Li JF, Huang YF, Ding Y, Yang ZL, Li SB, Zhou XS, et al. Shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy. *nature*. 2010;464:392-5.
- [158] Fan M, Brolo AG. Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2009;11:7381-9.
- [159] Brolo AG, Arctander E, Gordon R, Leathem B, Kavanagh KL. Nanohole-enhanced Raman scattering. *Nano Letters*. 2004;4:2015-8.
- [160] Kahl M, Voges E, Kostrewa S, Viets C, Hill W. Periodically structured metallic substrates for SERS. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 1998;51:285-91.
- [161] Baker GA, Moore DS. Progress in plasmonic engineering of surface-enhanced Raman-scattering substrates toward ultra-trace analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005;382:1751-70.
- [162] Aroca R. *Surface-enhanced vibrational spectroscopy*: John Wiley & Sons; 2006.
- [163] Moskovits M. Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2005;36:485-96.
- [164] Le Ru E, Etchegoin P. *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and related plasmonic effects*: Elsevier; 2008.
- [165] Freeman RG, Grabar KC, Allison KJ, Bright RM, Davis JA, Guthrie AP, et al. Self-assembled metal colloid monolayers: an approach to SERS substrates. *Science*. 1995;267:1629-32.
- [166] Ma Z, Tian L, Qiang H. A Facile Approach for Self-Assembled Gold Nanorods Monolayer Films and Application in Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2009;9:6716-20.

- [167] Toderas F, Baia M, Baia L, Astilean S. Controlling gold nanoparticle assemblies for efficient surface-enhanced Raman scattering and localized surface plasmon resonance sensors. *Nanotechnology*. 2007;18:255702.
- [168] Wang C, Chen Y, Ma Z, Wang T, Su Z. Generalized fabrication of surfactant-stabilized anisotropic metal nanoparticles to amino-functionalized surfaces: application to surface-enhanced Raman spectroscopy. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2008;8:5887-95.
- [169] Muniz-Miranda M, Pergolese B, Bigotto A, Giusti A. Stable and efficient silver substrates for SERS spectroscopy. *Journal of colloid and interface science*. 2007;314:540-4.
- [170] Makiabadi T, Bouvrée A, Le Nader V, Terrisse H, Louarn G. Preparation, optimization, and characterization of SERS sensor substrates based on two-dimensional structures of gold colloid. *Plasmonics*. 2010;5:21-9.
- [171] Zhai J, Wang Y, Zhai Y, Dong S. Rapid fabrication of Au nanoparticle films with the aid of centrifugal force. *Nanotechnology*. 2009;20:055609.
- [172] Lee SJ, Baik JM, Moskovits M. Polarization-dependent surface-enhanced Raman scattering from a silver-nanoparticle-decorated single silver nanowire. *Nano letters*. 2008;8:3244-7.
- [173] Lucotti A, Pesapane A, Zerbi G. Use of a geometry optimized fiber-optic surface-enhanced Raman scattering sensor in trace detection. *Applied spectroscopy*. 2007;61:260-8.
- [174] Andrade GF, Fan M, Brolo AG. Multilayer silver nanoparticles-modified optical fiber tip for high performance SERS remote sensing. *Biosensors and Bioelectronics*. 2010;25:2270-5.
- [175] Lucotti A, Zerbi G. Fiber-optic SERS sensor with optimized geometry. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2007;121:356-64.
- [176] Polwart E, Keir RL, Davidson CM, Smith WE, Sadler DA. Novel SERS-active optical fibers prepared by the immobilization of silver colloidal particles. *Applied spectroscopy*. 2000;54:522-7.
- [177] Yan H, Liu J, Yang C, Jin G, Gu C, Hou L. Novel index-guided photonic crystal fiber surface-enhanced Raman scattering probe. *Optics express*. 2008;16:8300-5.
- [178] Crespo-Biel O, Ravoo BJ, Reinhoudt DN, Huskens J. Noncovalent nanoarchitectures on surfaces: from 2D to 3D nanostructures. *Journal of Materials Chemistry*. 2006;16:3997-4021.

- [179] Ko H, Singamaneni S, Tsukruk VV. Nanostructured surfaces and assemblies as SERS media. *Small*. 2008;4:1576-99.
- [180] Addison CJ, Brolo AG. Nanoparticle-containing structures as a substrate for surface-enhanced Raman scattering. *Langmuir*. 2006;22:8696-702.
- [181] Fan M, Brolo AG. Self-Assembled Au Nanoparticles as Substrates for Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy: Optimization and Electrochemical Stability. *ChemPhysChem*. 2008;9:1899-907.
- [182] Musick MD, Keating CD, Lyon LA, Botsko SL, Pena DJ, Holliway WD, et al. Metal films prepared by stepwise assembly. 2. Construction and characterization of colloidal Au and Ag multilayers. *Chemistry of materials*. 2000;12:2869-81.
- [183] Caro C, López-Cartes C, Zaderenko P, Mejias JA. Thiol-immobilized silver nanoparticle aggregate films for surface enhanced Raman scattering. *Journal of Raman spectroscopy*. 2008;39:1162-9.
- [184] Kaminska A, Inya-Agha O, Forster RJ, Keyes TE. Chemically bound gold nanoparticle arrays on silicon: assembly, properties and SERS study of protein interactions. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2008;10:4172-80.
- [185] Driskell JD, Lipert RJ, Porter MD. Labeled gold nanoparticles immobilized at smooth metallic substrates: systematic investigation of surface plasmon resonance and surface-enhanced Raman scattering. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006;110:17444-51.
- [186] Daniels JK, Chumanov G. Nanoparticle-mirror sandwich substrates for surface-enhanced Raman scattering. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2005;109:17936-42.
- [187] Cheng H-W, Huan S-Y, Wu H-L, Shen G-L, Yu R-Q. Surface-enhanced Raman spectroscopic detection of a bacteria biomarker using gold nanoparticle immobilized substrates. *Analytical chemistry*. 2009;81:9902-12.
- [188] Zeng J, Jia H, An J, Han X, Xu W, Zhao B, et al. Preparation and SERS study of triangular silver nanoparticle self-assembled films. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2008;39:1673-8.
- [189] Zhao F, Xun JK, Liu SF. Gold Nanoparticle Aggregate Morphology with Controllable Interparticle Spacing Prepared by a Polyelectrolyte Network Template. *Australian Journal of Chemistry*. 2008;61:1-4.
- [190] Aroca RF, Goulet PJ, dos Santos DS, Alvarez-Puebla RA, Oliveira ON. Silver nanowire layer-by-layer films as substrates for surface-enhanced Raman scattering. *Analytical chemistry*. 2005;77:378-82.

- [191] Yuan W, Li CM. Direct modulation of localized surface plasmon coupling of Au nanoparticles on solid substrates via weak polyelectrolyte-mediated layer-by-layer self assembly. *Langmuir*. 2009;25:7578-85.
- [192] Han Y, Sukhishvili S, Du H, Cefaloni J, Smolinski B. Layer-by-layer self-assembly of oppositely charged Ag nanoparticles on silica microspheres for trace analysis of aqueous solutions using surface-enhanced Raman scattering. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2008;8:5791-800.
- [193] Gunawidjaja R, Kharlampieva E, Choi I, Tsukruk VV. Bimetallic Nanostructures as Active Raman Markers: Gold-Nanoparticle Assembly on 1D and 2D Silver Nanostructure Surfaces. *Small*. 2009;5:2460-6.
- [194] Khaing Oo MK, Han Y, Kanka J, Sukhishvili S, Du H. Structure fits the purpose: photonic crystal fibers for evanescent-field surface-enhanced Raman spectroscopy. *Optics letters*. 2010;35:466-8.
- [195] Yang L, Yan B, Premasiri WR, Ziegler LD, Negro LD, Reinhard BM. Engineering nanoparticle cluster arrays for bacterial biosensing: the role of the building block in multiscale SERS substrates. *Advanced Functional Materials*. 2010;20:2619-28.
- [196] Peng C, Song Y, Wei G, Zhang W, Li Z, Dong W-F. Self-assembly of λ -DNA networks/Ag nanoparticles: Hybrid architecture and active-SERS substrate. *Journal of colloid and interface science*. 2008;317:183-90.
- [197] Pieczonka NP, Goulet PJ, Aroca RF. Chemically selective sensing through layer-by-layer incorporation of biorecognition into thin film substrates for surface-enhanced resonance Raman scattering. *Journal of the American Chemical Society*. 2006;128:12626-7.
- [198] Goulet PJ, dos Santos DS, Alvarez-Puebla RA, Oliveira ON, Aroca RF. Surface-enhanced Raman scattering on dendrimer/metallic nanoparticle layer-by-layer film substrates. *Langmuir*. 2005;21:5576-81.
- [199] Kim K, Lee JW, Shin D, Kim KL, Shin KS. Surface potential of Au nanoparticles affected by layer-by-layer deposition of polyelectrolytes: a surface-enhanced Raman scattering study. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2010;114:9917-22.
- [200] Brady CI, Mack NH, Brown LO, Doorn SK. Self-assembly approach to multiplexed surface-enhanced Raman spectral-encoder beads. *Analytical chemistry*. 2009;81:7181-8.
- [201] Wang H, Kundu J, Halas NJ. Plasmonic nanoshell arrays combine surface-enhanced vibrational spectroscopies on a single substrate. *Angewandte Chemie International Edition*. 2007;46:9040-4.

- [202] Cerf A, Molnár G, Vieu C. Novel approach for the assembly of highly efficient SERS substrates. *ACS applied materials & interfaces*. 2009;1:2544-50.
- [203] Kahraman M, Yazici MM, Sahin F, Çulha M. Convective assembly of bacteria for surface-enhanced Raman scattering. *Langmuir*. 2008;24:894-901.
- [204] Oh MK, Yun S, Kim SK, Park S. Effect of layer structures of gold nanoparticle films on surface enhanced Raman scattering. *Analytica chimica acta*. 2009;649:111-6.
- [205] Wang Y, Chen H, Wang E. Facile fabrication of gold nanoparticle arrays for efficient surface-enhanced Raman scattering. *Nanotechnology*. 2008;19:105604.
- [206] Yun S, Park Y-K, Kim SK, Park S. Linker-molecule-free gold nanorod layer-by-layer films for surface-enhanced Raman scattering. *Analytical chemistry*. 2007;79:8584-9.
- [207] Lu Y, Liu GL, Lee LP. High-density silver nanoparticle film with temperature-controllable interparticle spacing for a tunable surface enhanced Raman scattering substrate. *Nano letters*. 2005;5:5-9.
- [208] Li X, Xu W, Zhang J, Jia H, Yang B, Zhao B, et al. Self-assembled metal colloid films: Two approaches for preparing new SERS active substrates. *Langmuir*. 2004;20:1298-304.
- [209] dos Santos DS, Goulet PJ, Pieczonka NP, Oliveira ON, Aroca RF. Gold nanoparticle embedded, self-sustained chitosan films as substrates for surface-enhanced Raman scattering. *Langmuir*. 2004;20:10273-7.
- [210] Sánchez-Iglesias A, Aldeanueva-Potel P, Ni W, Pérez-Juste J, Pastoriza-Santos I, Alvarez-Puebla RA, et al. Chemical seeded growth of Ag nanoparticle arrays and their application as reproducible SERS substrates. *Nano Today*. 2010;5:21-7.
- [211] Fang C, Agarwal A, Ji H, Karen W, Yobas L. Preparation of a SERS substrate and its sample-loading method for point-of-use application. *Nanotechnology*. 2009;20:405604.
- [212] Kitahama Y, Itoh T, Aoyama J-i, Nishikata K, Ozaki Y. SERRS fiber probe: fabrication of silver nanoparticles at the aperture of an optical fiber used for SNOM. *Chem Commun*. 2009:6563-5.
- [213] Zheng X, Guo D, Shao Y, Jia S, Xu S, Zhao B, et al. Photochemical modification of an optical fiber tip with a silver nanoparticle film: a SERS chemical sensor. *Langmuir*. 2008;24:4394-8.

- [214] JIN Y-L, QIN W, JIANG Y, WANG M, YAO J-L, HUANG J, et al. Surface Treatment and Surface Enhanced Raman Spectroscopic Studies on Au/Ag Alloy Nanoparticle Assembly. 2008.
- [215] Wang Y, Ren W, Dong S, Wang E. Characterization and optimization of AuNPs labeled by Raman reporters on glass based on silver enhancement. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2009;40:571-6.
- [216] De Jesus M, Giesfeldt K, Oran J, Abu-Hatab N, Lavrik N, Sepaniak M. Nanofabrication of densely packed metal-polymer arrays for surface-enhanced Raman spectrometry. *Applied spectroscopy*. 2005;59:1501-8.
- [217] Abu Hatab NA, Oran JM, Sepaniak MJ. Surface-enhanced Raman spectroscopy substrates created via electron beam lithography and nanotransfer printing. *Acs Nano*. 2008;2:377-85.
- [218] Oran JM, Hinde RJ, Abu Hatab N, Retterer ST, Sepaniak MJ. Nanofabricated periodic arrays of silver elliptical discs as SERS substrates. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2008;39:1811-20.
- [219] Gunnarsson L, Bjerneld E, Xu H, Petronis S, Kasemo B, Käll M. Interparticle coupling effects in nanofabricated substrates for surface-enhanced Raman scattering. *Applied Physics Letters*. 2001;78:802-4.
- [220] Liu Y-J, Zhang Z-Y, Zhao Q, Zhao Y-P. Revisiting the separation dependent surface enhanced Raman scattering. *Applied Physics Letters*. 2008;93:173106.
- [221] Yu Q, Guan P, Qin D, Golden G, Wallace PM. Inverted size-dependence of surface-enhanced Raman scattering on gold nanohole and nanodisk arrays. *Nano letters*. 2008;8:1923-8.
- [222] Gopinath A, Boriskina SV, Premasiri WR, Ziegler L, Reinhard BrM, Dal Negro L. Plasmonic nanogalaxies: multiscale aperiodic arrays for surface-enhanced Raman sensing. *Nano letters*. 2009;9:3922-9.
- [223] Wells SM, Retterer SD, Oran JM, Sepaniak MJ. Controllable nanofabrication of aggregate-like nanoparticle substrates and evaluation for surface-enhanced Raman spectroscopy. *Acs Nano*. 2009;3:3845-53.
- [224] Theiss J, Pavaskar P, Echternach PM, Muller RE, Cronin SB. Plasmonic nanoparticle arrays with nanometer separation for high-performance SERS substrates. *Nano letters*. 2010;10:2749-54.
- [225] Im H, Bantz KC, Lindquist NC, Haynes CL, Oh S-H. Vertically oriented sub-10-nm plasmonic nanogap arrays. *Nano letters*. 2010;10:2231-6.

- [226] Shin HS, Yang HJ, Jung YM, Kim SB. Direct patterning of silver colloids by microcontact printing: possibility as SERS substrate array. *Vibrational spectroscopy*. 2002;29:79-82.
- [227] Liu Y, Fan J, Zhao Y-P, Shanmukh S, Dluhy RA. Angle dependent surface enhanced Raman scattering obtained from a Ag nanorod array substrate. *Applied physics letters*. 2006;89:173134.
- [228] Chu H, Huang Y, Zhao Y. Silver nanorod arrays as a surface-enhanced Raman scattering substrate for foodborne pathogenic bacteria detection. *Applied spectroscopy*. 2008;62:922-31.
- [229] Brolo AG, Gordon R, Leathem B, Kavanagh KL. Surface plasmon sensor based on the enhanced light transmission through arrays of nanoholes in gold films. *Langmuir*. 2004;20:4813-5.
- [230] Ebbesen TW, Lezec H, Ghaemi H, Thio T, Wolff P. Extraordinary optical transmission through sub-wavelength hole arrays. *Nature*. 1998;391:667-9.
- [231] Bahns J, Imre A, Vlasko-Vlasov V, Pearson J, Hiller J, Chen L, et al. Enhanced Raman scattering from focused surface plasmons. *Applied physics letters*. 2007;91:081104.
- [232] Anema JR, Brolo AG, Marthandam P, Gordon R. Enhanced Raman scattering from nanoholes in a copper film. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2008;112:17051-5.
- [233] Martin CR. Nanomaterials--a membrane-based synthetic approach. DTIC Document; 1994.
- [234] Yao J-L, Tang J, Wu D-Y, Sun D-M, Xue K-H, Ren B, et al. Surface enhanced Raman scattering from transition metal nano-wire array and the theoretical consideration. *Surface science*. 2002;514:108-16.
- [235] Du Y, Shi L, He T, Sun X, Mo Y. SERS enhancement dependence on the diameter and aspect ratio of silver-nanowire array fabricated by anodic aluminium oxide template. *Applied Surface Science*. 2008;255:1901-5.
- [236] Ferain E, Legras R. Pore shape control in nanoporous particle track etched membrane. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 2001;174:116-22.
- [237] Schönenberger C, Van der Zande B, Fokkink L, Henny M, Schmid C, Krüger M, et al. Template synthesis of nanowires in porous polycarbonate membranes: electrochemistry and morphology. *The Journal of Physical Chemistry B*. 1997;101:5497-505.

- [238] Wang Y, Becker M, Wang L, Liu J, Scholz R, Peng J, et al. Nanostructured gold films for SERS by block copolymer-templated galvanic displacement reactions. *Nano letters*. 2009;9:2384-9.
- [239] Bartlett PN, Birkin PR, Ghanem MA. Electrochemical deposition of macroporous platinum, palladium and cobalt films using polystyrene latex sphere templates. *Chem Commun*. 2000:1671-2.
- [240] Abdelsalam ME, Bartlett PN, Baumberg JJ, Cintra S, Kelf TA, Russell AE. Electrochemical SERS at a structured gold surface. *Electrochemistry Communications*. 2005;7:740-4.
- [241] Stokes DL, Chi Z, Vo-Dinh T. Surface-enhanced-Raman-scattering-inducing nanoprobe for spectrochemical analysis. *Applied spectroscopy*. 2004;58:292-8.
- [242] White DJ, Stoddart PR. Nanostructured optical fiber with surface-enhanced Raman scattering functionality. *Optics letters*. 2005;30:598-600.
- [243] Hankus ME, Li H, Gibson GJ, Cullum BM. Surface-enhanced Raman scattering-based nanoprobe for high-resolution, non-scanning chemical imaging. *Analytical chemistry*. 2006;78:7535-46.
- [244] Guieu V, Lagugné-Labarthe F, Servant L, Talaga D, Sojic N. Ultrasharp Optical-Fiber Nanoprobe Array for Raman Local-Enhancement Imaging. *Small*. 2008;4:96-9.
- [245] Guieu V, Garrigue P, Lagugné-Labarthe F, Servant L, Sojic N, Talaga D. Remote surface enhanced Raman spectroscopy imaging via a nanostructured optical fiber bundle. *Optics express*. 2009;17:24030-5.
- [246] Guieu V, Talaga D, Servant L, Sojic No, Lagugné-Labarthe F. Multitip-localized enhanced Raman scattering from a nanostructured optical fiber array. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2008;113:874-81.
- [247] Chaney SB, Shanmukh S, Dluhy RA, Zhao Y-P. Aligned silver nanorod arrays produce high sensitivity surface-enhanced Raman spectroscopy substrates. *Applied Physics Letters*. 2005;87:031908.
- [248] Haynes CL, Van Duyne RP. Nanosphere lithography: a versatile nanofabrication tool for studies of size-dependent nanoparticle optics. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2001;105:5599-611.
- [249] Hulteen JC, Treichel DA, Smith MT, Duval ML, Jensen TR, Van Duyne RP. Nanosphere lithography: size-tunable silver nanoparticle and surface cluster arrays. *The Journal of Physical Chemistry B*. 1999;103:3854-63.

- [250] Jensen TR, Malinsky MD, Haynes CL, Van Duyne RP. Nanosphere lithography: tunable localized surface plasmon resonance spectra of silver nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2000;104:10549-56.
- [251] Haynes CL, Van Duyne RP. Plasmon-sampled surface-enhanced Raman excitation spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2003;107:7426-33.
- [252] Baumberg J, Mahnkopf S, Zoorob M, Lincoln J, Wilkinson J. Metal nano-void photonic crystal for enhanced raman spectroscopy. Google Patents; 2009.
- [253] Perney N, de Abajo FG, Baumberg J, Tang A, Netti M, Charlton M, et al. Tuning localized plasmon cavities for optimized surface-enhanced Raman scattering. *Physical Review B*. 2007;76:035426.
- [254] Xie F, Drozdowicz-Tomsia K, Goldys EM. A method to assess modifications of fluorophore radiative rate by plasmonic structures. *Chemical Physics Letters*. 2008;466:186-8.
- [255] Cho EJ, Lee J-W, Ellington AD. Applications of aptamers as sensors. *Annual Review of Analytical Chemistry*. 2009;2:241-64.
- [256] Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *nature*. 1990;346:818-22.
- [257] Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*. 1990;249:505-10.
- [258] Khan H, Missailidis S. Aptamers in oncology: a diagnostic perspective. *Gene Therapy and Molecular Biology*. 2008;12:111-28.
- [259] Wang Y-X, Ye Z-Z, Si C-Y, Ying Y-B. Application of aptamer based biosensors for detection of pathogenic microorganisms. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 2012;40:634-42.
- [260] Wang Y, Wei H, Li B, Ren W, Guo S, Dong S, et al. SERS opens a new way in aptasensor for protein recognition with high sensitivity and selectivity. *Chem Commun*. 2007:5220-2.
- [261] Chen J-W, Liu X-P, Feng K-J, Liang Y, Jiang J-H, Shen G-L, et al. Detection of adenosine using surface-enhanced Raman scattering based on structure-switching signaling aptamer. *Biosensors and Bioelectronics*. 2008;24:66-71.
- [262] Negri P, Kage A, Nitsche A, Naumann D, Dluhy RA. Detection of viral nucleoprotein binding to anti-influenza aptamers via SERS. *Chem Commun*. 2011;47:8635-7.

- [263] Ravindranath SP, Wang Y, Irudayaraj J. SERS driven cross-platform based multiplex pathogen detection. *Sensors and actuators B: Chemical*. 2011;152:183-90.
- [264] Huh YS, Erickson D. Aptamer based surface enhanced Raman scattering detection of vasopressin using multilayer nanotube arrays. *Biosensors and Bioelectronics*. 2010;25:1240-3.
- [265] Chen T, Shukoor MI, Chen Y, Yuan Q, Zhu Z, Zhao Z, et al. Aptamer-conjugated nanomaterials for bioanalysis and biotechnology applications. *Nanoscale*. 2011;3:546-56.
- [266] Chiu T-C, Huang C-C. Aptamer-functionalized nano-biosensors. *Sensors*. 2009;9:10356-88.
- [267] Mayer G, Grättinger M, Blind M. Aptamers: multifunctional tools for target validation and drug discovery. *Drug Plus Int*. 2003;2:6-10.
- [268] Johnson PB, Christy R-W. Optical constants of the noble metals. *Physical Review B*. 1972;6:4370.
- [269] Kang YS, Risbud S, Rabolt JF, Stroeve P. Synthesis and characterization of nanometer-size Fe₃O₄ and γ -Fe₂O₃ particles. *Chemistry of Materials*. 1996;8:2209-11.
- [270] CooperáStevenson P. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*. 1951;11:55-75.
- [271] Zheng Y, Xiao M, Jiang S, Ding F, Wang J. Coating fabrics with gold nanorods for colouring, UV-protection, and antibacterial functions. *Nanoscale*. 2013;5:788-95.
- [272] Yavuz MS, Cheng Y, Chen J, Cobley CM, Zhang Q, Rycenga M, et al. Gold nanocages covered by smart polymers for controlled release with near-infrared light. *Nature materials*. 2009;8:935-9.
- [273] Yang Y, Xiong L, Shi J, Nogami M. Aligned silver nanorod arrays for surface-enhanced Raman scattering. *Nanotechnology*. 2006;17:2670.
- [274] Utkan GG, Sayar F, Batat P, Ide S, Kriechbaum M, Pişkin E. Synthesis and characterization of nanomagnetite particles and their polymer coated forms. *Journal of colloid and interface science*. 2011;353:372-9.
- [275] Yilmaz M, Senlik E, Biskin E, Yavuz MS, Tamer U, Demirel G. Combining 3-D plasmonic gold nanorod arrays with colloidal nanoparticles as a versatile concept for reliable, sensitive, and selective molecular detection by SERS. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2014;16:5563-70.

- [276] Liu Y-J, Chu HY, Zhao Y-P. Silver nanorod array substrates fabricated by oblique angle deposition: morphological, optical, and SERS characterizations. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2010;114:8176-83.
- [277] Kubus L, Erdogan H, Piskin E, Demirel G. Controlling uni-directional wetting via surface chemistry and morphology. *Soft Matter*. 2012;8:11704-7.
- [278] Kubus L, Erdogan H, Cetin SS, Biskin E, Demirel G. Plasmon-Enhanced Photocatalysis on Anisotropic Gold Nanorod Arrays. *ChemCatChem*. 2013;5:2973-7.
- [279] Lo CK, Xiao D, Choi MM. Homocysteine-protected gold-coated magnetic nanoparticles: synthesis and characterisation. *Journal of Materials Chemistry*. 2007;17:2418-27.
- [280] Cho S-J, Idrobo J-C, Olamit J, Liu K, Browning ND, Kauzlarich SM. Growth mechanisms and oxidation resistance of gold-coated iron nanoparticles. *Chemistry of materials*. 2005;17:3181-6.
- [281] Wei W, Chen K, Ge G. Strongly Coupled Nanorod Vertical Arrays for Plasmonic Sensing. *Advanced Materials*. 2013;25:3863-8.
- [282] Doherty MD, Murphy A, McPhillips J, Pollard RJ, Dawson P. Wavelength dependence of Raman enhancement from gold nanorod arrays: quantitative experiment and modeling of a hot spot dominated system. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2010;114:19913-9.
- [283] Ghenuche P, Cherukulappurath S, Taminiau TH, van Hulst NF, Quidant R. Spectroscopic mode mapping of resonant plasmon nanoantennas. *Physical review letters*. 2008;101:116805.
- [284] Kumar GP. Plasmonic nano-architectures for surface enhanced Raman scattering: a review. *Journal of Nanophotonics*. 2012;6:064503-1--20.
- [285] Tripp RA, Dluhy RA, Zhao Y. Novel nanostructures for SERS biosensing. *Nano Today*. 2008;3:31-7.
- [286] Lal S, Grady NK, Kundu J, Levin CS, Lassiter JB, Halas NJ. Tailoring plasmonic substrates for surface enhanced spectroscopies. *Chemical Society Reviews*. 2008;37:898-911.
- [287] Kumar J, Thomas KG. Surface-enhanced Raman spectroscopy: investigations at the nanorod edges and dimer junctions. *The Journal of Physical Chemistry Letters*. 2011;2:610-5.
- [288] Xiao G-N, Man S-Q. Surface-enhanced Raman scattering of methylene blue adsorbed on cap-shaped silver nanoparticles. *Chem Phys Lett*. 2007;447:305-9.

- [289] Naujok RR, Duevel RV, Corn RM. Fluorescence and Fourier Transform surface-enhanced Raman scattering measurements of methylene blue adsorbed onto a sulfur-modified gold electrode. *Langmuir*. 1993;9:1771-4.
- [290] Ruan C, Wang W, Gu B. Single-molecule detection of thionine on aggregated gold nanoparticles by surface enhanced Raman scattering. *J Raman Spectrosc*. 2007;38:568-73.
- [291] Kolomenskii A, Schuessler H. Raman spectra of dipicolinic acid in crystalline and liquid environments. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2005;61:647-51.
- [292] Wang J, Kong LT, Guo Z, Xu JY, Liu JH. Synthesis of novel decorated one-dimensional gold nanoparticle and its application in ultrasensitive detection of insecticide. *J Mater Chem*. 2010;20:5271-9.
- [293] Alak AM, Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman spectrometry of organo phosphorus chemical agents. *Anal Chem*. 1987;59:2149-53.
- [294] Yan F, Wabuyele MB, Griffin GD, Vass AA, Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman scattering detection of chemical and biological agent simulants. *Sensors Journal, IEEE*. 2005;5:665-70.
- [295] Song C, Abell JL, He Y, Murph SH, Cui Y, Zhao Y. Gold-modified silver nanorod arrays: growth dynamics and improved SERS properties. *Journal of Materials Chemistry*. 2012;22:1150-9.
- [296] Erol M, Han Y, Stanley SK, Stafford CM, Du H, Sukhishvili S. SERS not to be taken for granted in the presence of oxygen. *Journal of the American Chemical Society*. 2009;131:7480-1.
- [297] Zhang D, Vangala K, Jiang D, Zou S, Pechan T. Drop coating deposition raman spectroscopy of fluorescein isothiocyanate labeled protein. *Applied spectroscopy*. 2010;64:1078-85.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Mehmet Yılmaz

Doğum Yeri : Şanlıurfa

Medeni Hali : Bekar

E-posta : ylmzmehmet@yahoo.com

Adresi : Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü Biyomühendislik
ABD Beytepe Çankaya ANKARA

Eğitim

Lise : Şanlıurfa Lisesi, 1999

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü, 2005

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü, 2009

Doktora : Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik ABD, 2014

Yabancı Dil Düzeyi

İngilizce (İyi, KPDS:88, TOEFL-IBT:83)

Almanca (Giriş düzeyi)

İş Deneyimi

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü (Araş. Gör.) (Aralık 2005-Haziran 2006)

Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü (Araş. Gör.) (Haziran 2006-Eylül 2011)

Deneyim Alanları

Nanopartiküller, Nanoyapılı Yüzeyler ve Uygulamaları (Sensör, Islanma vs.) Raman Spektroskopisi, Süperkritik Akışkanlar, Biyopolimerlerin Sentez ve Karakterizasyonu

Tezden Üretilen Projeler ve Bütçesi

-

Tezden Üretilmiş Yayınlar

3- A.N. Dizaji, M. Yilmaz, E. Piskin. Silver and gold deposition onto magnetite nanoparticles by using plant extracts as reducing and stabilizing agent.Sunuldu.

2- B. Nasserı, M. Yilmaz, M. Turk, I.C. Kocum, E. Piskin. Antenna-type radiofrequency generator in nanoparticle-mediated hyperthermia. Sunuldu.

1- M. Yilmaz, E. Senlik, E. Piskin, M.S. Yavuz, U. Tamer, G. Demirel. Combining 3-D plasmonic gold nanorod arrays with colloidal nanoparticles as a versatile concept for reliable, sensitive, and selective molecular detection by SERS. Phys. Chem. Chem. Phys., 2014, 16, 5563—5570.

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

6- M. Yilmaz, E. Biskin, G. Demirel. Uni-directional Gold and Silver Nanorod Arrays as Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) Substrates.1st International NanoBiotechnology Symposium - NanoBioTech 2014, Koycegiz-Mugla, Turkey, 2014.

- 5- A. Norouz Dizaji, M. Yilmaz, E. Piskin Silver or Gold Deposited Magnetite Nanoparticles : Green Synthesis Approach with Plant Extract. 1st International NanoBiotechnology Symposium - NanoBioTech 2014, Koycegiz-Mugla, Turkey, 2014.
- 4- M. Yilmaz, G. Demirel, E. Piskin. Fabrication and applications of uni-directional gold nanorod arrays based on gas phase deposition. Biosensors 2014, Melbourne, Australia, 2014.
- 3- B. Nasserli, M. Yilmaz, C. Kocum, M. Turk, E. Piskin. Hyperthermia with RF using nanoparticles. TERMIS–EU 2013, Istanbul, Turkey, p.731, 2013.
- 2- A.N. Dizaji, D.D. Usta, M. Yilmaz, T. Kutsal, M. Turk, E. Piskin. Magnetite-gold core/shell nanoparticles for delivery and imaging of plasmid DNA. TERMIS–EU 2013, Istanbul, Turkey, p.413, 2013.
- 1- A.N. Dizaji, M. Yilmaz , T. Kutsal , E. Piskin. Design and production of intelligent inorganic nanoparticles for delivery and imaging of plasmid DNA and antisense oligonucleotides to tumor cells. 18th International Biomedical Science and Technology Symposium, Tokat, Turkey, p.55, 2012.