

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

LINA RAMANAUSKAITĖ

**PLAZMONINIŲ NANOSTRUKTŪRŲ SINTEZĖ,
CHARAKTERIZAVIMAS IR TAIKYMAS PAVIRŠIUMI
STIMULIUOTAI RAMANO SPEKTROKOPIJAI**

Daktaro disertacijos santrauka
Fiziniai mokslai, chemija (03P)

2016, Kaunas

Disertacija rengta 2012–2016 metais Kauno technologijos universitete, Matematikos ir gamtos mokslų fakulteto Mikrosistemų ir nanotechnologijų mokslo centre. Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo Taryba.

Mokslinis vadovas:

prof. habil. dr. Valentinas SNITKA (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, chemija – 03 P).

Chemijos mokslo krypties disertacijos gynimo taryba:

prof. habil. dr. Algirdas ŠAČKUS (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, chemija, 03P) – **pirmininkas**;

prof. dr. Vytautas GETAUTIS (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, chemija, 03P);

dr. Arūnas JAGMINAS (Fizinių ir technologijos mokslų centras, fiziniai mokslai, chemija, 03P);

dr. Marco LAZZARINO (Italijos nacionalinė mokslinių tyrimų taryba, medžiagų mokslo institutas (IOM–CNR), Italija), fiziniai mokslai, chemija, 03P);

prof. habil. dr. Vytautas MICKEVIČIUS (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, chemija, 03P).

Lietuvių kalbos redaktorė:

Violeta Meiliūnaitė

Leidykla „Technologija“

Disertacija bus ginama viešajame Chemijos mokslo krypties tarybos posėdyje, kuris įvyks 2017 m. sausio 20 d. 10 val. Kauno technologijos universitete, Disertacijų gynimo salėje.

Adresas: K. Donelaičio g. 73-403, LT-44249, Kaunas, Lietuva.

Tel. (370) 37 30 00 42; faks. (370) 37 32 41 44, el. paštas: doktorantura@ktu.lt

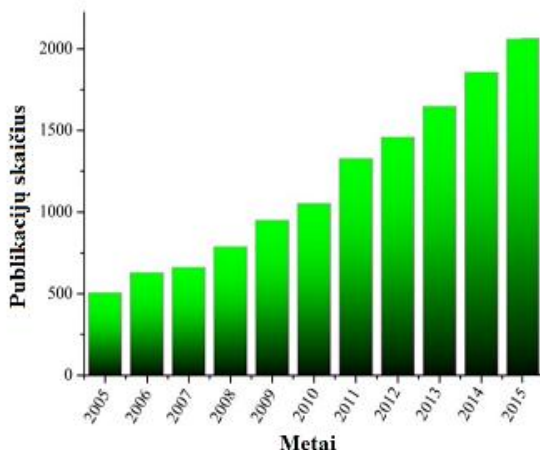
Disertacijos santrauka išsiųsta 2016 m. gruodžio 20 d.

Su disertacija galima susipažinti internetinėje svetainėje <http://ktu.edu>, Kauno technologijos universiteto bibliotekoje (K. Donelaičio g. 20, LT-44239, Kaunas).

ĮVADAS

Temos aktualumas. Pastaraisiais metais nanotechnologijų srityje ypač padaugėjo mokslinių tyrimų, kurie leido pasiūlyti inovatyvius sprendimus analitiniam mokslui. Dauguma šiuo metu naudojamų prietaisų ir metodų, skirtų objektams charakterizuoti nanoskalėje, suteikia informacijos apie tiriamų objektų formą, morfologiją, elektrines ir mechanines savybes. Tai – atominės jėgos mikroskopija (AJM), skenuojančioji elektroninė mikroskopija (SEM), transmissinė elektroninė mikroskopija (TEM) ir skenuojančioji tunelinė mikroskopija (STM). Vis dėlto prietaisų ir metodų, leidžiančių gauti įvairiapusę informaciją apie tiriamų objektų (tarp jų ir bioobjektų) savybes (fizikines savybes, cheminę sudėtį) kartu su nanometrine skiriamąja geba, vis dar trūksta. Paviršiumi stimuliuota Ramano spektroskopija (PSRS) yra jautrus analitinis įrankis, leidžiantis gauti įvairiapusę informaciją apie molekulių konformaciją ir jų cheminę sudėtį. Dėl šių savybių PSRS atveria galimybę aptikti sprogmenų, narkotikų, toksinių ir kitų medžiagų pėdsakus ant paviršių, skysčiuose ir garuose. Be to, kadangi rinkoje atsiranda vis naujų produktų, kuriuose yra nanodalelių, kyla būtinybė tirti, koks jų poveikis žmonių sveikatai, kaip nanodalelės veikia biocheminius organizmo procesus. Tačiau PSRS susiduria su tokiais iššūkiais kaip menkas PSRS substratų nanostruktūrų atsikartojamumas ir jautrumas. Tai – problema, nes komerciniai PSRS substratai yra brangūs, turi griežtą galiojimo laiką, jiems laikyti ir taikyti PSRS tyrimuose reikalingos specialios sąlygos. Be to, dauguma tokių substratų yra dvimatės (2D) plokščios sistemos, apribojančios PSRS aktyviąją zoną iki dvimatės Dekarto erdvės. Dėl šios priežasties trimačių (3D) PSRS substratų kūrimas siekiant išplėsti „karštų taškų“ kiekį į trečiojo matmens zoną pagal z ašį yra ypač svarbus jautrių PSRS jutiklių kūrimui ir vystymui.

Per pastarąjį dešimtmetį mokslinių publikacijų, nagrinėjančių PSRS sritį, skaičius sparčiai didėjo (1 pav.). Ši tendencija rodo, kad PSRS taikymas turėtų tapti nauju proveržiu medicinos, diagnostikos, maisto ir kosmetikos pramonės, ekologijos, teismo ekspertizės ir netgi kosmologijos srityse. Būtent dėl to yra labai svarbu kurti ir vystyti pigius, jautrius ir atsikartojančiomis nanostruktūromis pasižyminčius 3D PSRS jutiklius.



1 pav. Didėjantis susidomėjimas PSRS metodu. Grafikas iliustruoja mokslinių publikacijų skaičiaus augimą per pastarąjį dešimtmetį (2005–2015). Duomenys gauti iš *Thomson Reuters™ Web of Science* duomenų bazės, įvedus raktinius žodžius „*surface enhanced Raman spectroscopy*“ (žiūrėta 2016 m. vasario 11 d.)

Darbo tikslas. Susintetinti kontroliuojamos formos jautrius 3D PSRS jutiklius molekuliniais pėdsakams aptikti, biomolekulių sąveikai su nanostruktūriniu paviršiumi tirti ir lokalioms cheminėms reakcijoms atlikti.

Darbo uždaviniai:

1. Ištirti nanostruktūrinių hibridinių plėvelių, susintetintų zolio-gelio metodu, formavimosi mechanizmą, kuris atvertų galimybę naujiems 3D PSRS jutikliams kurti ir vystyti.
2. Ištirti metalų plazmoninių nanostruktūrų formavimosi mechanizmą ant silicio plokštelių, kuris suteiktų galimybę kurti ir vystyti didelio ploto, pigius, jautrius ir atsikartojančiomis struktūromis pasižyminčius PSRS jutiklius.
3. Ištirti susintetintų PSRS jutiklių efektyvumą naudojant juos molekuliniais pėdsakams aptikti.
4. Ištirti biomolekulių elgseną bio-nano sąsajoje, leidžiančią detaliau suvokti biomolekulių dinaminį procesą nanolygmenyje, jų orientavimąsi ant nanostruktūrinių paviršių.
5. Ištirti nanocheminių reakcijų, stimuliuotų lokaliu plazmonu (LP), mechanizmą.

Mokslinis naujumas. Disertacijoje pristatomas naujas 3D PSRS jutiklių sintezės metodas taikant zolio-gelio technologiją. Pirmą kartą nagrinėta L-alanil-L-triptofano sąveika su nanostruktūriniu sidabrinio PSRS jutikliu. Pristatomas naujas lokalis grafo oksido (GO) redukcijos ir policiklinių aromatinių angliavandenių (PAA) sintezės ant PSRS jutiklio metodas.

Praktinė vertė. Disertacijoje pristatomi valdomų nanostruktūrų sintezės metodai, taikytini molekuliniais pėdsakams aptikti. Disertacijoje pateikiami rezultatai išplečia žinias apie baltymų/peptidų sąveiką su nanostruktūriniais paviršiais. Darbe pasiūlytas metodas, suteikiantis galimybę lokaliai modifikuoti fizikines ir chemines GO savybes. Gauti rezultatai yra reikšmingi nanostruktūrinių organinių puslaidininkių kūrimui ir vystymui. Dalis gautų rezultatų buvo panaudoti vykdant nacionalinį projektą „Nanoplazmonikos ir zondinės mikroskopijos taikymas biologinių struktūrų tyrimams“ (NanoProt, 2013–2015). Nauja patirtis ir žinios, gautos disertacijos rengimo metu, yra taikomos vykdant tarptautinį Europos kosmoso agentūros (EKA) projektą „Pažangių metodų, skirtų molekulinio užterštumo analizei paviršiumi ir smaigaliu stimuliuota Ramano spektroskopija, vystymas“ (CONRAM, 2016–2017).

Darbo aprobavimas ir publikavimas. Darbo rezultatai yra publikuoti penkiuose moksliniuose straipsniuose, įtrauktuose į *Thomson ReutersTM Web of Science* duomenų bazę. Rezultatai taip pat pristatyti trylikoje tarptautinių konferencijų ir dviejuose seminaruose.

Darbo struktūra ir apimtis. Disertaciją sudaro tokie skyriai: Įvadas, Literatūros apžvalga, Naudotos medžiagos ir taikyti metodai, Rezultatai ir jų aptarimas, Išvados ir Literatūros sąrašas (265 šaltiniai). Disertacijos apimtis 110 puslapių, pateiktos 47 iliustracijos ir 9 lentelės.

Ginamieji teiginiai:

1. Sukurta nauja metodika aktyvų hibridinių plėvelių, kurios veikia kaip PSRS jutikliai, sintezei.

2. Sukurta nauja metodika plazmoninių sidabro ir aukso nanostruktūrų, kurios veikia kaip PSRS jutikliai, sintezei. Sidabro trikampėmis nanodalelėmis funkcionalizuoti PSRS jutikliai Ramano signalą sustiprina 10^7 laipsniu ir leidžia aptikti molekulinis pėdsakus ant paviršiaus ir skystyje.

3. Susintetinti PSRS jutikliai leidžia aptikti α -sinukleino pėdsakus (1 fM) vandenyje ir benzilpenicilino pėdsakus (0,25 pM) vandenyje ir piene.

4. Analizuojant Ramano ir PSRS spektrus iširta L-alanil-L-triptofano sąveika su nanostruktūriniu sidabro paviršiumi ir nustatytas dipeptido orientavimasis ant nanostruktūrinio sidabrinio PSRS jutiklio.

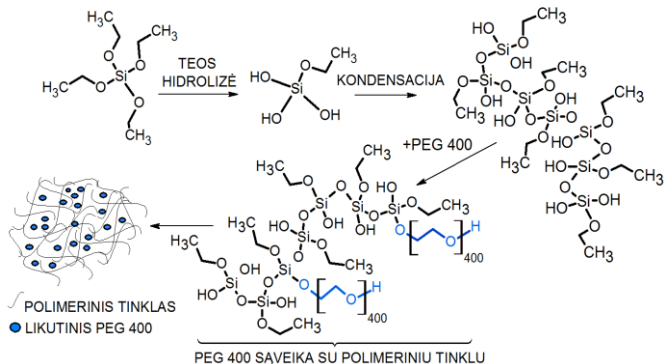
5. Sukurta nauja metodika grafeno oksido fizikinių ir cheminių savybių modifikacijai, inicijuotai lokalaus plazmono.

6. Pademonstruota galimybė atlikti chemines reakcijas nanolygmenyje taikant susintetintas plazmonines sidabro nanostruktūras.

1. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

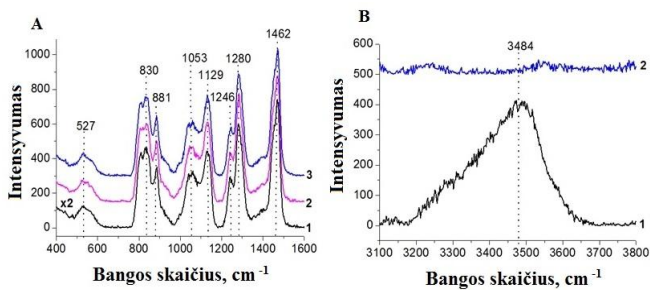
1.1. PSRS jutiklių sintezė taikant zolio-gelio technologiją

Eksperimento tikslas buvo susintetinti kontroliuojamos struktūros PSRS jutiklius, taikant zolio-gelio technologiją ir tiesioginę sidabro jonų redukciją. Metodas apima alkoksido hidrolizę, vandens ir alkoholio kondensaciją. Kai polietilenglikolis (PEG 400) įvedamas į reakcijos sistemą, jis chemiškai sąveikauja su zolio dalelėmis ir formuoja hibridinį polimerinį tinklą [2]. Vis dėlto dalis nesureagavusio PEG 400 lieka įstrigusi porų kanaluose [3] (2 pav.).



2 pav. PEG 400 ir polimerinio tinklo sąveikos iliustracija

Plėvelių terminio apdorojimo metu nesureagavęs PEG 400 nėra iki galo pašalinamas iš polimerinės matricos. Tai patvirtina kaitintų plėvelių Ramano spektroskopijos matavimų rezultatai, pateikti 3 pav.

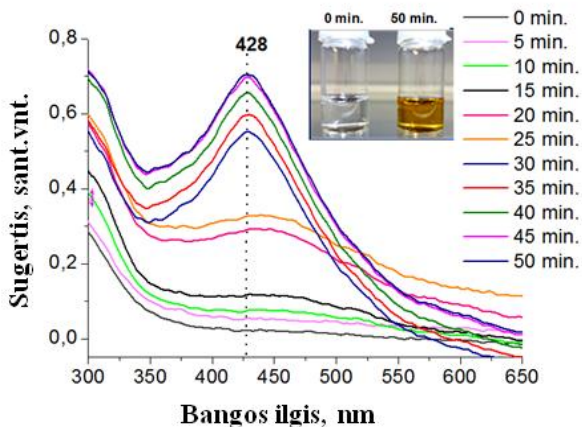


3 pav. Plėvelių, modifikuotų PEG 400, Ramano spektrai po kaitinimo 300 °C temperatūroje: (A) plėvelė, susintetinta naudojant zolio : PEG santykį 1 : 0,05 (1); plėvelė, susintetinta naudojant zolio : PEG santykį 1 : 0,1 (2); plėvelė, susintetinta naudojant zolio : PEG santykį 1 : 0,15 (3); (B) plėvelė, susintetinta naudojant zolio : PEG santykį 1 : 0,1 prieš plėvelės funkcionalizavimą (1) ir po plėvelės funkcionalizavimo (2) sidabro nanodalelėmis

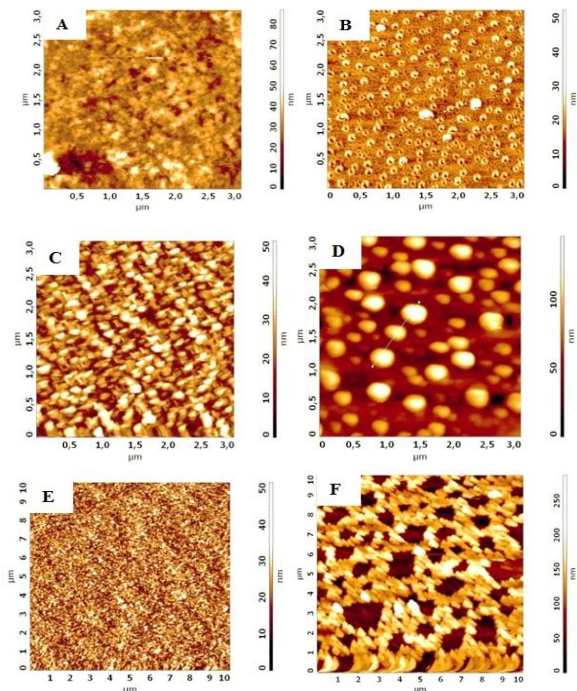
Kaip matyti iš 3 pav. (A), Ramano spektre esančios smailės ties 830 cm^{-1} , 1053 cm^{-1} , 1129 cm^{-1} priklauso grynam polietilenglikoliui [4]. Smailė, matoma ties 1462 cm^{-1} , priklauso C–H virpesiams, o smailės ties 1246 cm^{-1} ir 1280 cm^{-1} yra būdingos C–O–C ryšių virpesiams. Platus petys ties $500\text{--}550\text{ cm}^{-1}$ būdingas Si–O–Si virpesiams [5]. Kaip matyti iš 3 pav. (B, 1), petys ties 3484 cm^{-1} priklauso polietilenglikolio –OH virpesiams. Vis dėlto, Ramano spektre šis virpesys nefiksuoja, kai plėvelė yra įmerkama į AgNO_3 tirpalą. Tai rodo, kad –OH grupės yra atsakingos už sidabro jonų redukciją.

Gauti Ramano spektroskopijos rezultatai leido iškelti hipotezę, kad likutinis PEG 400 gali redukuoti sidabro jonus ir suformuoti sidabro nanodaleles ant hibridinės plėvelės. Siekiant patvirtinti, kad PEG 400 gali redukuoti sidabro jonus, AgNO_3 (1M) tirpalas buvo sumaišytas su grynu PEG 400 (1:1, v/v). Redukcijos reakcija buvo stebėta realiu laiku, taikant UV-Vis spektroskopijos metodą. Kaip matyti iš 4 pav., smailė ties 428 nm yra būdinga sidabro nanodalelėms, todėl šis rezultatas patvirtino, kad PEG 400 gali redukuoti sidabro jonus.

5 pav. pateikti hibridinių plėvelių morfologijos tyrimo rezultatai AJM prieš jų įmerkimą (A, C, E) ir po jų įmerkimo (B, D, F) į AgNO_3 tirpalą. Tyrimas atskleidė, kad tuo atveju, kai zolio / PEG 400 santykis yra 1 : 0,05 (v : v), ant plėvelių formuojasi žiedinės sidabro nanodalelės. Kai zolio / PEG 400 santykis yra 1 : 0,10 (v : v), ant plėvelių formuojasi sferinės sidabro nanodalelės. Kai zolio / PEG 400 santykis yra 1 : 0,15 (v:v), ant plėvelių susidaro savitvarkis sidabro nanodalelių tinklas.

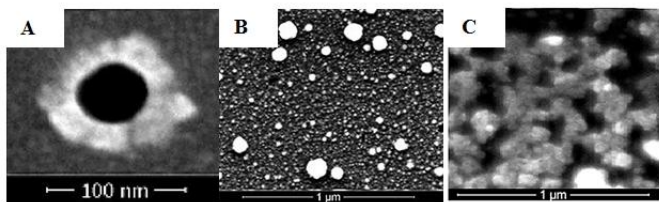


4 pav. Sidabro nanodalelių formavimosi realiu laiku UV-Vis spektras



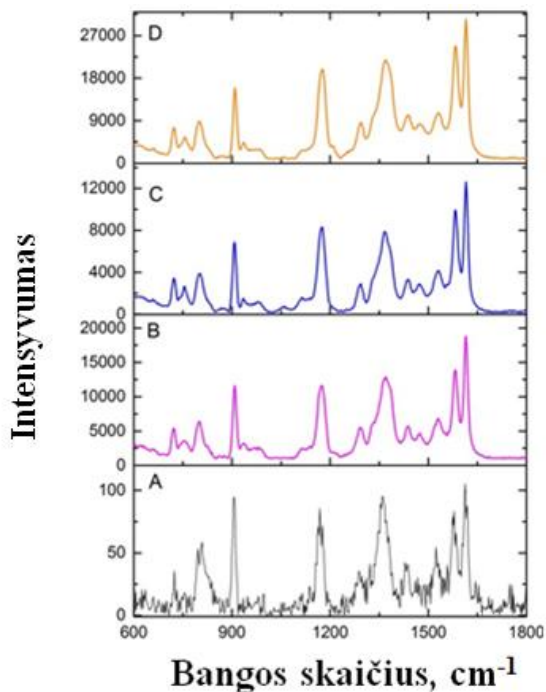
5 pav. Plėvelių, funkcionalizuotų skirtingomis sidabro nanostruktūromis, AJM nuotraukos: plėvelė, susintetinta naudojant zolio / PEG 400 santykį 1 : 0,05 (v : v) prieš (A) ir po (B) įmerkimo į AgNO_3 tirpalą; plėvelė, susintetinta naudojant zolio / PEG 400 santykį 1 : 0,10 (v : v) prieš (C) ir po (D) įmerkimo į AgNO_3 tirpalą; plėvelė, susintetinta naudojant zolio / PEG 400 santykį 1 : 0,15 (v : v) prieš (E) įmerkimą ir po įmerkimo (F) į AgNO_3 tirpalą

Kad sintezės metu buvo gautos skirtingos sidabro nanostruktūros, patvirtino ir SEM tyrimas (6 pav.).



6 pav. Hibridinių plėvelių, funkcionalizuotų sidabro nanostruktūromis, SEM nuotraukos: (A) sidabro nanožiedas; (B) sferinės sidabro nanodalelės; (C) savitvarakis sidabro nanodalelių tinklas

Visų trijų tipų sidabro nanostruktūromis funkcionalizuotos plėvelės buvo taikytos kaip PSRS jutikliai naudojant kristalinio violetinio (CV) analizę. Tyrimų rezultatai pateikti 7 pav.



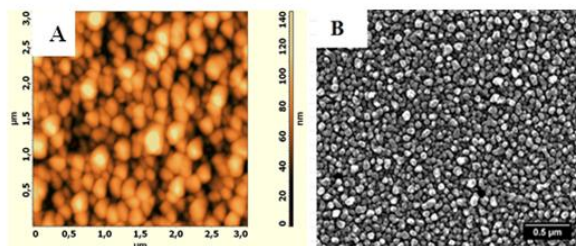
7 pav. CV analizės suvidurkinti PSRS spektrai, užfiksuoti 50 skirtingų bandinio taškų ant objektinio stikliuko (A); sidabro žiedais funkcionalizuotos plėvelės (B); sferinėmis sidabro nanodalelėmis funkcionalizuotos plėvelės (C); savitvarkiu sidabro nanodalelių tinklu funkcionalizuotos plėvelės (D)

Kaip matyti iš 7 pav., plėvelė, funkcionalizuota žiedinėmis sidabro nanostruktūromis, CV analizės Ramano signalą stiprino 200 kartų (B), plėvelė, funkcionalizuota sferinėmis sidabro nanodalelėmis, – 120 kartų (C), o plėvelė, funkcionalizuota savitvarkiu sidabro nanodalelių tinklu, – 270 kartų (D).

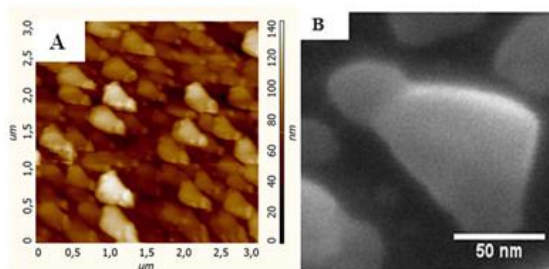
2.2. Sidabrinių ir auksinių PSRS substratų sintezė ant silicio plokštelių

Sidabrinių PSRS jutiklių sintezė buvo paremta tiesiogine sidabro jonų redukcija ant HF apdorotų Si plokštelių. Pirmojoje sintezės stadijoje HF pašalina oksido sluoksnį nuo Si plokštelės. Antrojoje – elementinis silicis redukuoja sidabro jonus ir ant Si plokštelės formuojasi sidabro nanodalelės.

Eksperimento tikslas buvo susintetinti PSRS jutklus, funkcionalizuotus sidabro trikampėmis nanodalelėmis ir pasižyminčius dideliu „karštų taškų“ tankiu, kuris užtikrintų jų jautrumą mažų koncentracijų analičių (nM, pM) aptikimui. Taikant atitinkamas sintezės sąlygas (reagentų koncentracijas, Si plokštelių laikymo laiką reakcijos tirpale), ant [111] orientacijos kristalografinių Si ašių turėtų formuotis trikampės sidabro nanodalelės. Tokios struktūros turi savybę koncentruoti optinį lauką kiekvienoje trikampio viršūnėje ir nanometriniuose tarpuose tarp atskirų trikampių. Dėl to tokiomis nanostruktūromis funkcionalizuoti PSRS jutkliai pasižymi dideliu „karštų taškų“ tankiu ir didesniu jautrumu, lyginant juos su PSRS jutkliais, funkcionalizuotais sferinėmis nanodalelėmis. Vis dėlto, kaip parodė AJM (8 pav., A) ir SEM (8 pav., B) tyrimai, taikant sintezės sąlygas, nurodytas metodikoje nr. 1 (disertacijos 2.2.2 skyriaus 2.2. lentelė), buvo susintetintos nereguliarios formos sidabro nanodalelės. To priežastis – per didelė AgNO_3 koncentracija ir per ilgas Si plokštelės laikymo laikas reakcijos tirpale. Atsižvelgiant į tai, buvo paruošta metodika nr. 2, kurioje AgNO_3 koncentracija buvo sumažinta, o Si plokštelių laikymo trukmė reakcijos tirpale sutrumpinta. Kaip matyti iš 9 pav., AJM (A) ir SEM (B) tyrimai parodė, kad taikant šį protokolą, ant Si plokštelių formuojasi trikampės sidabro nanodalelės.

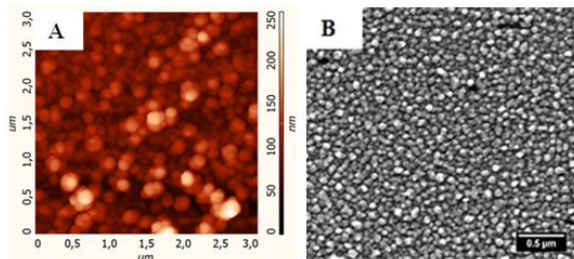


8 pav. Sidabrinų PSRS jutklių, susintetintų pagal metodiką nr. 1, AJM (A) ir SEM (B) nuotraukos



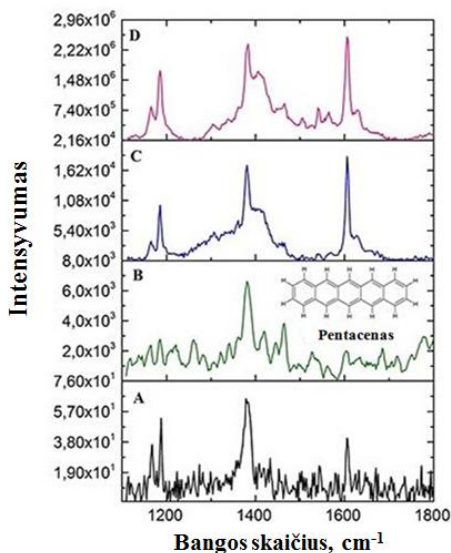
9 pav. Sidabrinų PSRS jutklių, susintetintų pagal metodiką nr. 2, AJM (A) ir SEM (B) nuotraukos

Auksinių PSRS jutiklių sintezė rėmėsi aukso jonų redukcija ant HF apdorotų Si plokštelių. Po to, kai HF pašalina oksido sluoksnį nuo Si plokštelės, elementinis silicis redukuoja aukso jonus ir ant Si plokštelės formuojasi aukso nanodalelės. Kaip matyti iš 10 pav., tyrimai AJM (A) ir SEM (B) parodė, kad ant Si plokštelių formavosi sferinės aukso nanodalelės.

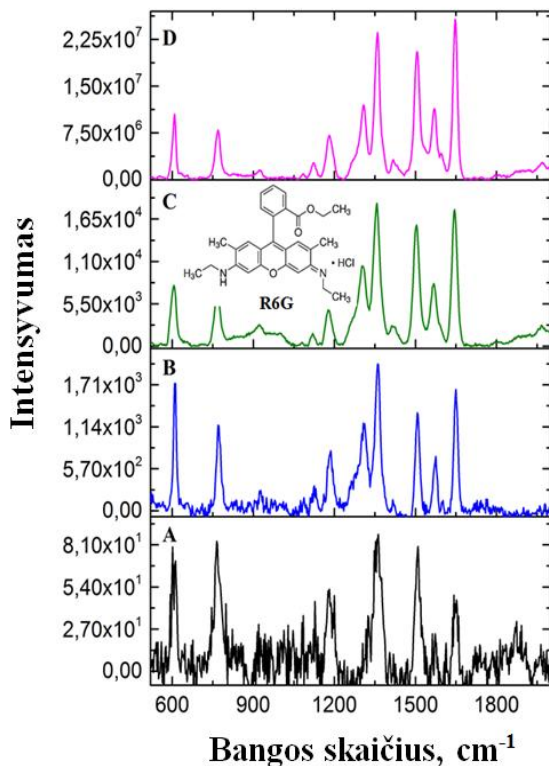


10 pav. Auksinių PSRS jutiklių AJM (A) ir SEM (B) nuotraukos

Siekiant nustatyti, kurie iš susintetintų PSRS jutiklių labiausiai stiprina Ramano signalą, ant auksinių ir sidabrinų PSRS jutiklių buvo suformuoti pentaceno ir R6G analizių monosluoksniai ir atlikti PSRS matavimai (11 pav. ir 12 pav.).



11 pav. Pentaceno monosluoksnio PSRS spektrai ant: Si plokštelės (A), auksinio PSRS jutiklio (B), nereguliarios formos sidabro nanodalelėmis funkcionalizuoto PSRS jutiklio (C) ir trikampėmis sidabro nanodalelėmis funkcionalizuoto PSRS jutiklio



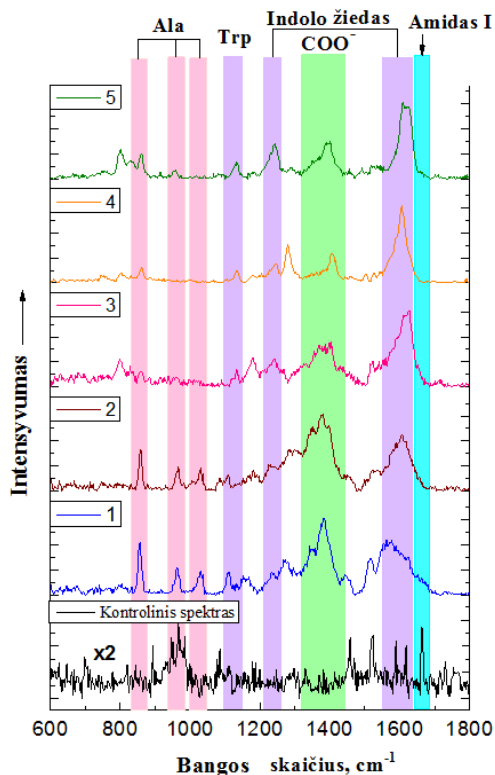
12 pav. R6G monosluoksniu PSRS spektrai ant: Si plokštelės (A), auksinio PSRS jutiklio (B), nereguliosios formos sidabro nanodalelėmis funkcionalizuoto PSRS jutiklio (C) ir trikampėmis sidabro nanodalelėmis funkcionalizuoto PSRS jutiklio (D)

Kaip matyti iš 11 pav. (D) ir 12 pav. (D), didžiausias pentaceno ir R6G dažų molekulių Ramano signalo stiprinimas buvo stebimas ant sidabro trikampėmis nanodalelėmis funkcionalizuoto PSRS jutiklio.

2.3. L-alanil-L-triptofano sąveika su sidabriniais nanostruktūriniais PSRS jutiklio paviršiumi

Biomolekulės–nanostruktūrinio paviršiaus sąveikos mechanizmo tyrimui buvo pasirinktas L-alanil-L-triptofano dipeptidas ir sidabro trikampėmis nanodalelėmis funkcionalizuotas PSRS jutiklis. Dipeptido Ramano spektrai buvo fiksuoti vandenyje, penkiuose skirtinguose bandinio taškuose. Kaip matyti iš 13 pav., skirtingose bandinio vietose dipeptido spektrai skiriasi. Šie spektriniai skirtumai yra susiję su dipeptido orientavimu ant nanostruktūrinio paviršiaus.

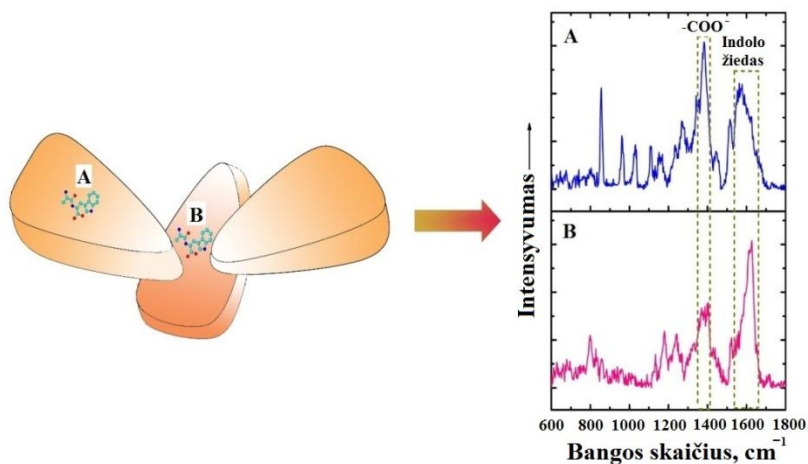
Amido virpesių spektrinis regionas Ramano spektre apibūdina antrinę peptidų ir baltymų struktūrą. Kontroliniame Ramano spektre, kai baltymo tirpalas yra užneštas ant Si plokštelės, amido I virpesiai matomi ties 1666 cm^{-1} . Vis dėlto visuose PSRS spektruose šie virpesiai nestebimi. Taip yra todėl, kad triptofano indolo žiedas atitolina peptidinį ryšį nuo nanostruktūrinio paviršiaus. Dėl šios priežasties peptidinys ryšys neturi tiesioginio kontakto su jutiklio paviršiumi ir jo virpesiai nėra stiprinami [6].



13 pav. L-alanil-L-triptofano Ramano ir PSRS spektrai, registruoti vandenyje penkiose skirtingose bandinio vietose (1–5). Ramano signalo kaupimo laikas: 1 s

Kitas svarbus spektrinis regionas, nusakantis galimą dipeptido orientavimąsi ant nanostruktūrinio paviršiaus, yra ties $1381\text{--}1396\text{ cm}^{-1}$ ($-\text{COO}^-$ virpesiai) ir $1570\text{--}1608\text{ cm}^{-1}$ (indolo žiedo virpesiai). Atsižvelgiant į skirtingus šių virpesių smalių intensyvumus PSRS spektruose, buvo pasiūlyti du galimi dipeptido orientavimosi ant PSRS jutiklio modeliai (14 pav.). Kaip matyti iš 14 pav., tuo atveju, kai dipeptidas adsorbuojasi ant nanodalelės, labiausiai yra

stiprinami karboksilo grupės virpesiai. Kai dipeptidas patenka tarp dviejų nanodalelių, „karštame taške“ atsiduria aromatinė dipeptido dalis, todėl labiausiai yra stiprinami indolo žiedo virpesiai.

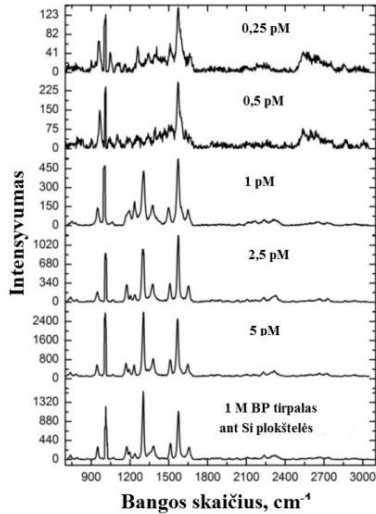


14 pav. L-alanil-L-triptofano orientavimosi ant nanostruktūrinio sidabrinio paviršiaus modeliai: (A) dipeptidui adsorbuojantis ant nanodalelės; (B) dipeptidui adsorbuojantis tarp nanodalelių

Remiantis gautais rezultatais galima teigti, kad dipeptido spektras, jį registruojant skirtingose bandinio vietose, skiriasi. Šiuos skirtumus lemia skirtinga dipeptido orientacija ant nanostruktūrinio paviršiaus.

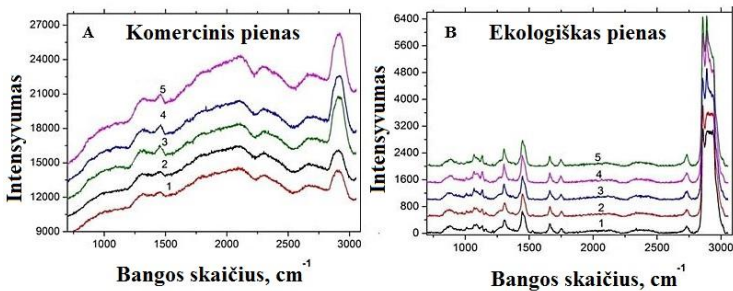
2.4. Benzilpenicilino pėdsakų aptikimas karvės piene

Benzilpenicilinas (BP) yra antibiotikas, naudojamas veterinariniam infekcijų gydymui. Vis dėlto po gyvulio gydymo kurso antibiotikų pėdsakų galima aptikti jo mėsoje, piene. Eksperimento tikslas buvo aptikti ir identifikuoti BP pėdsakus karvės piene. Tyrimui buvo pasirinktas dviejų rūšių pienas – komercinis, pirktas prekybos centre, ir pienas iš ekologinio ūkio. BP aptikimui pieno mėginiuose buvo pasirinktas PSRS jutiklis, funkcionalizuotas trikampėmis sidabro nanodalelėmis. Siekiant nustatyti, ar pasirinktas jutiklis gali aptikti BP, esant mažoms jo koncentracijoms (pM), buvo paruošti penkių koncentracijų (5 pM, 2,5 pM, 1 pM, 0,5 pM ir 0,25 pM) vandeniniai antibiotiko tirpalai ir atlikti PSRS matavimai. Kaip matyti iš 15 pav., pasirinktas PSRS jutiklis gali aptikti BP esant pikomolinei jo koncentracijai.



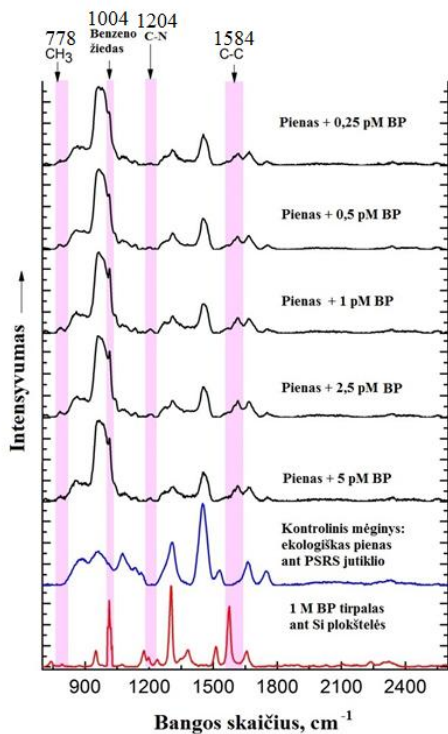
15 pav. Skirtingų koncentracijų BP Ramano (ant Si plokštelės) ir PSRS spektrai. Ramano signalo kaupimo laikas: 1 s

Toliau buvo užrašyti komercinio ir ekologiško pieno PSRS spektrai. Kaip matyti iš 16 pav., komercinio pieno PSRS spektre stebimas fluorescencijos fonas (A), o ekologiško pieno atveju šis reiškinys nebuvo fiksuotas (B). Viena iš galimų priežasčių fluorescenciniam fonui atsirasti PSRS spektruose gali būti pieno pasterizavimas. Yra žinoma, kad šio proceso metu taikoma aukšta temperatūra sukelia laktozės destrukciją. Dėl šios priežasties piene atsiranda laktozės destrukcijos produktų. Kai kurie iš jų – fluorescuojantys [7, 8]. Vis dėlto, siekiant išsiaiškinti tikrą fluorescencijos fono atsiradimo PSRS spektruose priežastį, būtina atlikti papildomus tyrimus, o tai nebuvo šio eksperimento tikslas.



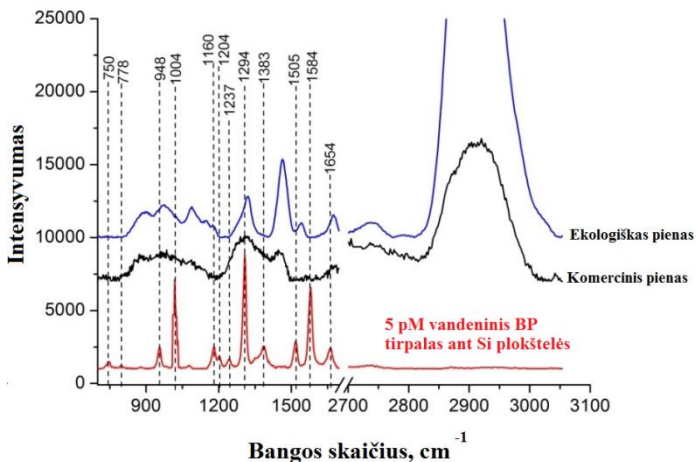
16 pav. Komercinio (A) ir ekologiško (B) pieno PSRS spektrai, užrašyti penkiuose skirtinguose bandinio taškuose (1-5). Ramano signalo kaupimo laikas: 1 s

Kitas eksperimento uždavinys – BP aptikimas pieno mėginiuose. Siekiant nustatyti, ar smailės, būdingos BP virpesiams, yra aptinkamos ir identifikuojamos pieno spektruose, ekologiško pieno mėginiai buvo papildyti skirtingų koncentracijų vandeniniais BP tirpalais (angl. *spiked sample*). Kaip matyti iš 17 pav., smailės ties 778 cm^{-1} , 1004 cm^{-1} , 1204 cm^{-1} ir 1584 cm^{-1} būdingos antibiotikui, buvo užfiksuotos BP papildytuose pieno mėginiuose. PSRS matavimai parodė, kad BP gali būti identifikuoti pieno mėginiuose, kai jo koncentracija piene yra $\geq 0,25$ μM .



17 pav. Ekologiško pieno, prisodrinto skirtingų koncentracijų BP tirpalais, PSRS spektrai. Ramano signalo kaupimo laikas: 1 s

Paskutinis eksperimento žingsnis – BP identifikavimas komerciniame piene. Kaip matyti iš 18 pav., jame BP pėdsakų neaptikta.



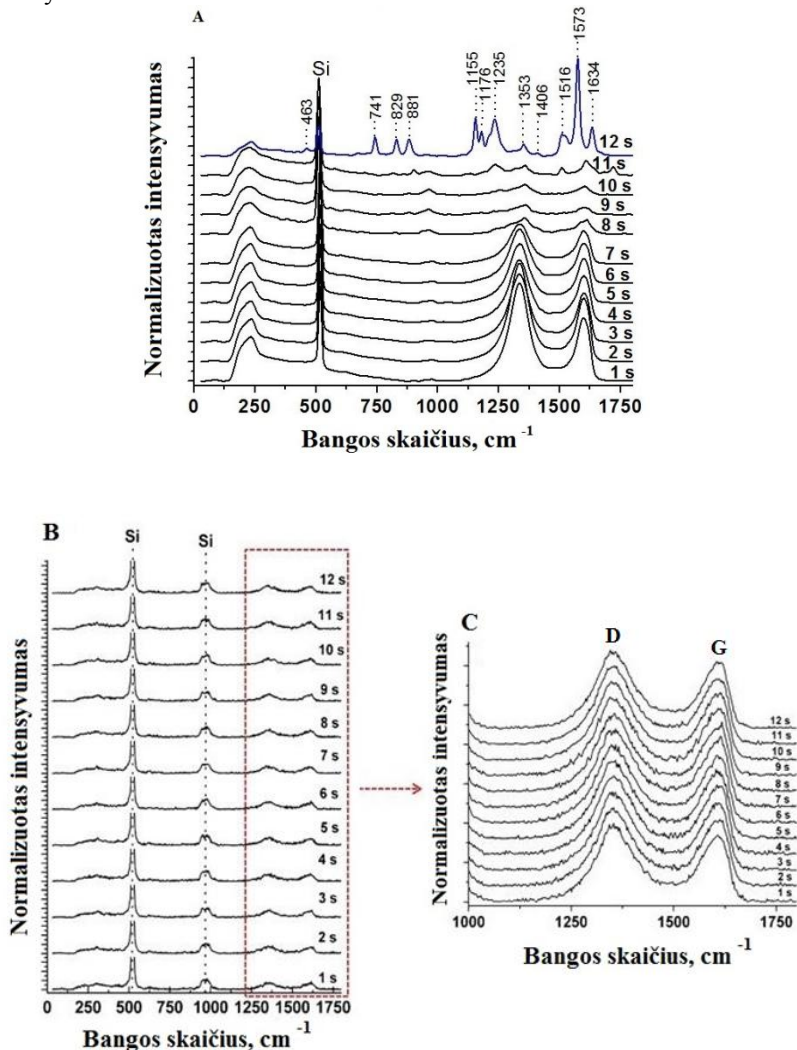
18 pav. BP, komercinio ir ekologiško pieno PSRS spektrai. Ramano signalo kaupimo laikas: 1 s

Eksperimentas atskleidė, kad PSRS jutiklis yra tinkamas BP antibiotiko pėdsakams piene aptikti.

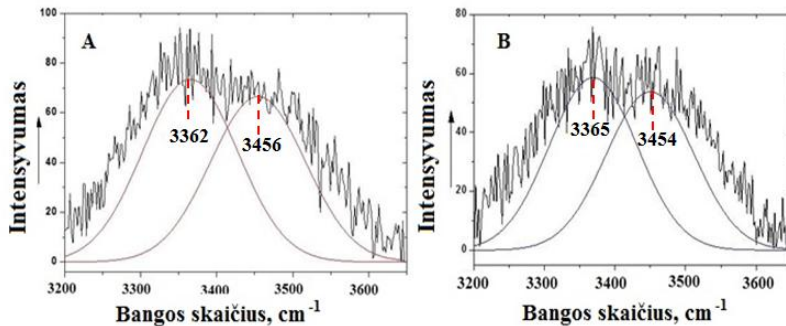
2.5. Lokaliu plazmonu stimuliuota grafeno oksido nanochemija

Eksperimento tikslas buvo atlikti lokalaus plazmono (LP) inicijuotą grafeno oksido (GO) redukciją ir policiklinių aromatinių angliavandenilių (PAA) sintezę ant PSRS jutiklio. Sidabro trikampėmis nanodalelėmis funkcionalizuotas PSRS jutiklis buvo pasirinktas kaip substratas, ant kurio buvo vykdomos lokali cheminės reakcijos. Buvo iškelta hipotezė, kad GO, įstrigę nanometriniuose tarpuose tarp sidabro nanodalelių, gali būti lokaliai redukuotas ir suskaidytas į PAA. GO iš vandeninio jo tirpalo buvo nusodintas ant PSRS jutiklio. Lazero spindulys buvo sufokusuotas į vieną jutiklio tašką, ir GO Ramano spektrai buvo registruojami realiaame laike. Kaip matyti iš 19 pav. (A), po 12 sekundžių GO spektre atsirado naujų smailių, rodančių, kad GO struktūra pakito. Ant kontrolinio mėginio, kai GO buvo nusodintas ant Si plokštelės, šis reiškinys nefiksuotas (19 pav., B, C). Mechanizmas, kuriam veikiant vyksta GO struktūros pokyčiai, apima du etapus: GO redukciją ir redukuoto GO destrukciją susidarant PAA. Buvo iškelta hipotezė, kad energija, generuojama LP, sukelia vandens molekulių skilimą, ir susidarę •OH radikalai pirmiausia inicijuoja GO redukciją. Siekiant patvirtinti šią hipotezę, reikėjo nustatyti, ar bandinyje yra vandens. Kaip matyti iš 20 pav., vandens spektras buvo fiksuotas ir testiniame, ir kontroliniame mėginyje, kai GO buvo nusodintas ant Si plokštelės. Kad GO redukuojasi, parodė GO D ir G smailių santykio kitimas laike vykdant GO kaitinimą lazeriu.

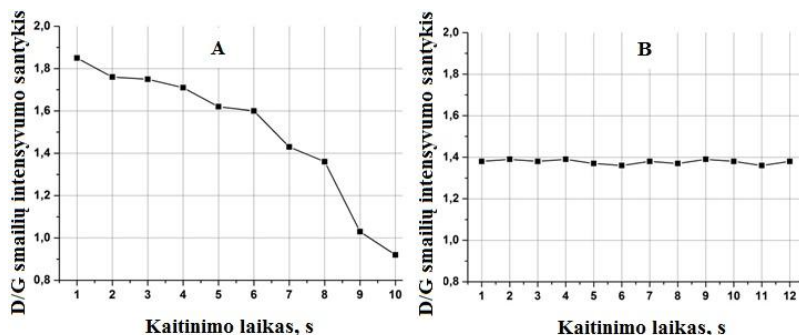
Kaip matyti iš 21 pav., kai GO buvo kaitinamas lazeriu ant PSRS jutlikio, šis santykinis kito, rodydamas, kad vyko GO redukcija. Kontroliniame mėginyje šis reiškinys nebuvo fiksuotas.



19 pav. GO, nusodinto ant PSRS jutlikio, Ramano spektrai, rodantys jo struktūros pokyčius laike kaitinant lazeriu (A); GO, nusodinto ant Si plokštelės, Ramano spektrai, rodantys, kad kaitinant lazeriu GO struktūra laike nekinta (B, C)

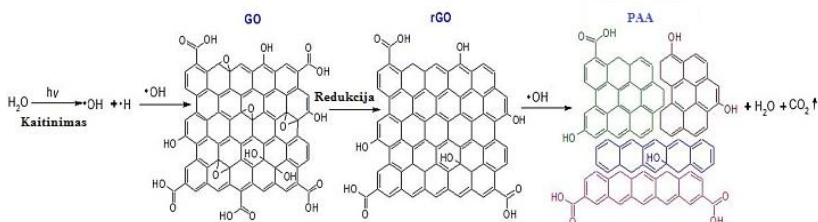


20 pav. Vandens Ramano spektrai: (A) testiniame mėginyje, kai GO nusodintas ant PSRS jutiklio; (B) kontroliniame mėginyje, kai GO nusodintas ant Si plokštelės



21 pav. GO D ir G smalių intensyvumo santykio kitimas laike vykdant GO kaitinimą lazeriu: (A) testiniame mėginyje, kai GO nusodintas ant PSRS jutiklio; (B) kontroliniame mėginyje, kai GO nusodintas ant Si plokštelės

Remiantis gautais rezultatais, buvo sukurtas LP iniciuotų lokalių cheminių reakcijų mechanizmo modelis (22 pav.).



22 pav. LP stimuliuotų GO redukcijos ir destrukcijos reakcijų mechanizmas

Kaip matyti iš 22 pav., LP inicijuoja vandens skilimą. Susidarę •OH radikalai atakuoja GO. Dėl šios priežasties GO redukuojasi. LP generuojami •OH radikalai toliau atakuoja susidariusį redukuotą GO, kuris galiausiai skyla, ir susidaro PAA. Tyrimo metu nustatyta, kad LP stimuliuotos reakcijos vyksta tik „karštuose taškuose“, kai atstumai tarp nanodalelių yra < 10 nm.

IŠVADOS

1. Pasiūlyta nauja metodika aktyvų hibridinių plėvelių sintezei. Nustatyta, kad skirtingos PEG 400 koncentracijos zolyje leidžia kontroliuoti nanodalelių formą ir susintetinti sidabro nanožiedais, sferinėmis nanodalelėmis ir savitvarkiu sidabro nanodalelių tinklu funkcionalizuotas plėveles. Tokių struktūrų susiformavimas ant hibridinių plėvelių patvirtintas AJM ir SEM tyrimais. Ištirtas hibridinių plėvelių, funkcionalizuotų sidabro nanodalelėmis, formavimosi mechanizmas. Sidabro nanodalelių kokybinis vertinimas atliktas UV-Vis spektroskopijos metodu. Nustatyta, kad absorbcinės smailės ties 472–478 nm yra būdingos sidabro nanodalelėms. Taikant susintetintas hibridines plėveles kaip PSRS jutiklius, nustatyta, kad didžiausias Ramano signalo stiprinimas kristalinio violetinio analitei yra stebimas ant savitvarkiu sidabro nanodalelių tinklu funkcionalizuotų hibridinių aktyvų plėvelių (270 kartų). Nustatyta, kad sferinėmis sidabro nanodalelėmis funkcionalizuotos plėvelės Ramano signalą kristalinio violetinio analitei stiprina 100, o sidabro nanožiedais – ~200 kartų.

2. Pasiūlyta nauja metodika sidabro ir aukso plazmoninių struktūrų sintezei, taikant tiesioginę metalų jonų redukciją ant HF apdorotų silicio plokštelių. Nustatyta, kad kontroliuojant sintezės sąlygas (AgNO₃ koncentraciją, Si plokštelių išlaikymo trukmę reakcijos tirpale), galima gauti nereguliarios formos ir trikampes sidabro ir sferines aukso nanodaleles. Susintetintos plazmoninės struktūros buvo ištirtos AJM ir SEM metodais. Kokybiniam plazmoninių struktūrų vertinimui buvo atlikti tyrimai EDS ir UV-Vis metodais, kurie patvirtino, kad ant Si plokštelių susiformavo sidabro ir aukso nanodalelės. Nustatyta, kad didžiausias Ramano signalo stiprinimas pentaceno ($2,73 \times 10^6$) ir rodamino dažų ($2,25 \times 10^7$) analitėms stebimas taikant sidabro trikampėmis nanodalelėmis funkcionalizuotas Si plokšteles kaip PSRS jutiklius.

3. Nustatyta, kad taikant Si plokšteles, funkcionalizuotas sidabro trikampėmis nanodalelėmis, kaip PSRS jutiklius, galima aptikti α -sinukleino pėdsakus vandenyje (1 fM) ir benzilpenicilino pėdsakus vandenyje ir piene (0,25 pM). Nustatyta, kad taikant šio tipo PSRS jutiklius galima identifikuoti lipidinės membranos, suformuotos ant tokio jutiklio, virpesius.

4. Ištirta L-alanil-L-triptofano dipeptido sąveika su nanostruktūriniu sidabro paviršiumi. Dipeptido charakterizavimas Ramano spektroskopijos metodu buvo atliktas pirmą kartą. Nustatyta, kad dipeptido spektrai skirtingose bandinio vietose skiriasi, kai matavimai atliekami vandenyje. Šiuos skirtumus lemia dipeptido lokacija ant nanostruktūrinio paviršiaus. PSRS matavimai parodė, kad

tuo atveju, kai dipeptidas adsorbuojasi ant nanodalelės, labiausiai stiprinami karboksilo grupės virpesiai. Tuo atveju, kai dipeptidas „stringa“ tarp dviejų nanodalelių, labiausiai stiprinami indolo žiedo virpesiai. Amido I virpesio smailės nebuvimas visuose PSRS spektruose atskleidė, kad L-alanil-L-triptofano peptidinė jungtis neturi tiesioginio kontakto su PSRS jutiklio paviršiumi.

5. Ištirtas cheminių reakcijų, inicijuotų lokaliu plazmonu, mechanizmas. Sukurta nauja metodika lokaliai GO modifikacijai ant PSRS jutiklio tirti. Nustatyta, kad GO redukciją ir jo destrukciją susidarant PAA sukelia lokalus plazmonas. Esminis ingredientas, lemiantis GO redukciją ir PAA sintezę, yra •OH radikalai, susidarę skylant vandens molekulėms, veikiamoms lokalaus plazmono. Tai, kad reakcijos metu susidarė PAA, patvirtino voltamperinių charakteristikų tyrimai.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Sweetenham, C. S., & Notingher, I. (2011). Combined atomic force microscopy-Raman mapping of electric field enhancement and surface-enhanced Raman scattering hot-spots for nanosphere lithography substrates. *Journal of Nanophotonics*, 5(1), 059504-059504-6.

2. Kuraoka, K., Ueda, T., Sato, M., Okamoto, T., & Yazawa, T. (2005). Preparation and properties of organic-inorganic hybrid flexible hardcoat films. *Journal of materials science*, 40(13), 3577–3579.

3. Sun, J., Fan, W., Wu, D., & Sun, Y. (1998). Structure Control of SiO₂ Sol-Gels via Addition of PEG. *Studies in Surface Science and Catalysis*, 118, 617–624.

4. Jung, H. Y., Gupta, R. K., Oh, E. O., Kim, Y. H., & Whang, C. M. (2005). Vibrational spectroscopic studies of sol-gel derived physical and chemical bonded ORMOSILs. *Journal of non-crystalline solids*, 351(5), 372–379.

5. Manara, D., Grandjean, A., & Neuville, D. R. (2009). Advances in understanding the structure of borosilicate glasses: A Raman spectroscopy study. *American Mineralogist*, 94(5–6), 777–784

6. Kurouski, D., Postiglione, T., Deckert-Gaudig, T., Deckert, V., & Lednev, I. K. (2013). Amide I vibrational mode suppression in surface (SERS) and tip (TERS) enhanced Raman spectra of protein specimens. *Analyst*, 138(6), 1665–1673.

7. Berg, H. E. (1993). Reactions of lactose during heat treatment of milk: a quantitative study. *Landbouwniversiteit te Wageningen*.

8. Morales, F. J., Romero, C., & Jiménez-Pérez, S. (1996). Fluorescence associated with Maillard reaction in milk and milk-resembling systems. *Food Chemistry*, 57(3), 423–428.

MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS

STRAIPSNIAI

„Thomson ReutersTM Web of Science“ duomenų bazės leidiniuose, turinčiuose citavimo indeksą:

1. Ramanauskaitė, L., Xu, H., & Snitka, V. (2016). Localized Plasmon-Stimulated Nanochemistry of Graphene Oxide on a SERS Substrate. *ChemPhysChem*. (IF: 3.419)
2. Ramanauskaitė, L., & Snitka, V. (2015). Surface enhanced Raman spectroscopy of L-alanyl-L-tryptophan dipeptide adsorbed on Si substrate decorated with triangular silver nanoplates. *Chemical Physics Letters*, 623, 46–50. (IF: 1,897)
3. Ramanauskaitė, L., & Snitka, V. (2015). The synthesis of controlled shape nanoplasmonic silver-silica structures by combining sol-gel technique and direct silver reduction. *Nanoscale research letters*, 10(1), 1. (IF: 2,779)
4. Snitka, V., Naumenko, D. O., Ramanauskaitė, L., Kravchenko, S. A., & Snopok, B. A. (2012). Generation of diversiform gold nanostructures inspired by honey's components: Growth mechanism, characterization, and shape separation by the centrifugation-assisted sedimentation. *Journal of colloid and interface science*, 386(1), 99–106. (IF: 1,217)
5. Snitka, V., Naumenko, D., Ramanauskaitė, L., Kravchenko, S. A., & Snopok, B. A. (2011). Composite silicate films with gold nanoparticles for surface-enhanced Raman spectroscopy: synthesis using natural products. *Theoretical and Experimental Chemistry*, 47(5), 296–302. (IF:0,637)

PRANEŠIMAI TARPTAUTINĖSE MOKSLINĖSE KONFERENCIJOSE

1. BIT's 2nd Annual World Congress of Smart Materials (2016), Singapūras. Tema: Photonic Nanostructures for Surface Enhanced Raman Spectroscopy. Autoriai: Valentinas Snitka, Lina Ramanauskaitė. *Kviestinis pranešimas*.
2. EMN Hong Kong meeting, Energy Materials Nanotechnology (2015), Honkongas, Kinija. Tema: Synthesis of hybrid Graphene-Porphyrin nanofiber structures by ionic self-assembly. Autoriai: Valentinas Snitka, Lina Ramanauskaitė, Nora Grincevičiūtė. *Kviestinis pranešimas*.
3. META'15, the 6th International Conference on Metamaterials, Photonic Crystals and Plasmonics (2015), Niujorkas, JAV. Tema: Investigation of amyloidogenic proteins interaction with lipid bilayers using local plasmonic probes. Autoriai: V. Snitka, L. Ramanauskaitė, N. Grinceviciute and H. Xu.
4. EMN Phuket Meeting (2015), Puketas, Tailandas. Tema: Plasmonic Nanoprobes for Surface Enhanced Raman Spectroscopy of Biological

Molecules. Autoriai: Valentinas Snitka, [Lina Ramanauskaitė](#), N. Grincevičiūtė, H. Xu. *Kviestinis pranešimas*.

5. ImagineNano2015_Bio&Med (2015), Bilbao, Ispanija. Tema: Investigation of bilayer lipid membranes on nanostructured Au and Ag substrates by surface enhanced Raman spectroscopy. Autoriai: Nora Grincevičiūtė, [Lina Ramanauskaitė](#), Valentinas Snitka.

6. ImagineNano2015_PPM (2015), Bilbao, Ispanija. Tema: Novel plasmonic probes for Tip-Enhanced Raman Spectroscopy. Autoriai: Valentinas Snitka, [Lina Ramanauskaitė](#), H. Xu, Rasa Žūkienė, Tomas Gadiškauskas.

7. ImagineNano2015_Chemistry (2015), Bilbao, Ispanija. Tema: The synthesis of nano-wedges decorated substrates for the detection of molecular traces by surface enhanced Raman spectroscopy. Autoriai: [Lina Ramanauskaitė](#), H. Xu, Rasa Žūkienė, Valentinas Snitka.

8. 2nd International Workshop on Metallic Nano-Objects: From Fundamentals to Applications (2014), Lille, France. Tema: Ring type plasmonic nanostructures for Surface Enhanced Raman Spectroscopy. Autoriai: [Lina Ramanauskaitė](#), Valentinas Snitka.

9. 13th International Conference on Near Field Optics, Nanophotonics, and Related Techniques (2014), Jutá, JAV. Tema: Surface Enhanced Raman Spectroscopy of L-alanyl-L-tryptophan dipeptide. Autoriai: [Lina Ramanauskaitė](#), Valentinas Snitka.

10. XIIIth International Conference of Lithuanian Biochemical Society (2014), Birštonas, Lietuva. Tema: The effect of bovine serum albumin-coated zinc oxide nanoparticles on cell viability and ROS generation. Autoriai: Rasa Žūkienė, Nora Grincevičiūtė, [Lina Ramanauskaitė](#), Valentinas Snitka.

11. Nanotechnology: Research and Development (2014), Vilnius, Lithuania. Tema: 'State-of-the art review in bionanotechnology imaging. Authors: V. Snitka, D. Verdes, [L. Ramanauskaitė](#).

12. 5th international conference on Advanced Nanomaterials (2014), Aveiras, Portugalija. Tema: Sol-Gel Derived Nanostructured Silica Films Decorated with Silver Nanoparticles. Autoriai: [L. Ramanauskaitė](#), V. Snitka.

13. ENM spring meeting / Energy materials nanotechnology (2014), Las Vegas, JAV. Tema: Photonic nanostructures for surface enhanced Raman spectroscopy. Autoriai: Valentinas Snitka, [Lina Ramanauskaitė](#). *Kviestinis pranešimas*.

CURRICULUM VITAE

Pavardė, vardas:	Ramanauskaitė, Lina
Tautybė:	lietuviė
Gimimo metai ir vieta:	1986 10 13, Kaunas
El. paštas:	lina.ramanauskaite@ktu.lt
Išsilavinimas:	2005–2009 Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas: taikomosios chemijos bakalauras 2009–2011 Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas: taikomosios chemijos magistras 2012–2016 Kauno technologijos universitetas, Matematikos ir gamtos mokslų fakultetas, Mikrosistemų ir nanotechnologijų mokslo centras, chemijos doktorantūros studijos
Mokslinių interesų sritys:	paviršiumi ir smaigaliu stimuliuota Ramano spektroskopija (SERS, TERS), nanochemija, analizinė chemija, nanotoksikologija
Tarptautinės mokslinės stažuotės:	Ciuricho universitetas, chemijos katedra (Šveicarija, 2014). Trukmė: 1 savaitė. Medžiagų mokslo institutas (Triestas, Italija, 2015). Trukmė: 1 savaitė.

RESUME

The relevance of the work. In recent years, research in nanotechnology has grown rapidly thus proposing novel solutions and innovations in analytical science. Most of the existing devices and methods used for the characterization of the target objects at the nanoscale provide information about the shapes, surface morphology, electrical and mechanical properties of the nanoobjects. These include atomic force microscopy (AFM), scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), and scanning tunneling microscopy (STM). However, there is a lack of devices providing complementary information about the physical properties and chemical composition of the objects (including bioobjects) with a nanometric resolution at the same time. Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) is a powerful analytical tool enabling to obtain diverse information about the conformation of the molecules as well as their chemical composition with a high sensitivity. Such capabilities make SERS attractive for the detection of molecular traces (explosives, drugs or toxic substances) on the surfaces, vapours or liquids. Moreover, increasing number of products that contain nanoparticles require extensive research focused on their influence on humans health and mechanisms by which they affect biochemical processes in the body. However, SERS still faces challenges, such as low reproducibility and sensitivity of the SERS substrates, while commercially available SERS substrates are expensive and require special storage and measurements conditions. Additionally, most of such substrates are two dimensional (2D) planar systems limiting the SERS-active area to a single Cartesian plane. For this reason, the fabrication of 3D SERS sensors with the goal to expand the content of hot spots into the third dimension along the z-axis is an important issue in the development of highly-sensitive SERS substrates. Considering to this, the key point of this work is to design, develop and investigate the novel SERS sensors for emerging areas such as highly sensitive detection of molecular traces as well as the interaction mechanisms at bio-nano interface. Moreover, the novel methodologies for the local modification of materials at nano-level can provide groundbreaking solutions for the development of the next generation devices, such as nanostructured organic semiconductors.

During the last decade, the number of scientific publications in the field of SERS has grown intensively (Fig. 1). Such tendency shows that SERS technique is going to be a new breakthrough in analytical science in various areas of application including medicine, diagnostics, food and cosmetics industry, ecology, forensic expertise, and even space. Therefore, the development of new methodologies for the fabrication of cheap, reproducible and highly-sensitive SERS substrates is of a great importance.

The aim of the work. To synthesize and investigate porous hybrid plasmonic nanostructures for shape-controllable and highly efficient 3D SERS substrates and to apply them for the detection of molecular traces, investigation of biomolecules interaction with nanostructured surface and investigation of phenomena of local plasmon stimulated chemical reactions.

The work addresses the following five objectives:

1. To investigate the formation of sol-gel based nanostructured hybrid films with the potential applicability for the development of novel 3D SERS substrates.

2. To investigate the formation of noble metals plasmonic nanostructures on silicon wafers that would open up the possibility for the development of large area, inexpensive, highly sensitive and reproducible SERS substrates.

3. To investigate the effectiveness of the synthesized SERS substrates for the detection of molecular traces.

4. To investigate the behaviour of the biomolecules at the bio-nano interface that would provide a unique opportunity for detailed understanding of biomolecules dynamic processes, their orientation and location on the nanostructured surfaces.

5. To investigate the mechanism of the nano-chemical reactions, driven by localized surface plasmon (LSP).

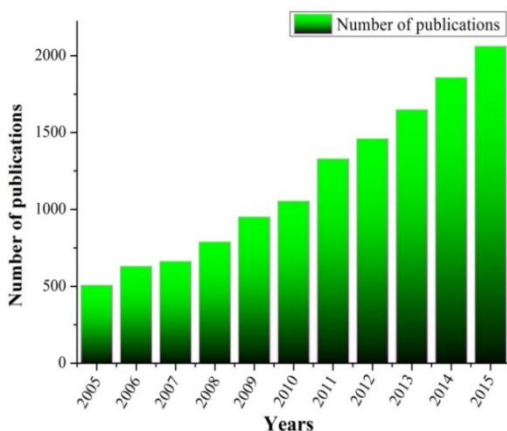


Fig. 1. Growing interest in SERS technique. The plot shows the number of publications during the period 2005-2015. The data are obtained from *Thomson Reuters™ Web of Science* citation indexing service for the key words „*surface enhanced Raman spectroscopy*“ (accessed on February 11, 2016)

Scientific novelty of the dissertation. In this work, novel methodologies for the synthesis of hybrid porous nanostructures have been proposed. From the analytical chemistry point of view, the interaction of L-alanyl-L-tryptophan dipeptide with nanostructured silver surface has been investigated for the first time. The possibility to perform nano-chemical reactions on the SERS substrate has been demonstrated. The novel methodology for the local reduction of graphene oxide (GO) on the nanostructured silver surface has been developed. The novel methodology for the LSP stimulated synthesis of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) has been developed.

Practical significance of the dissertation. The results presented in this work propose inexpensive and reproducible approaches for the synthesis of the SERS sensors applicable for the detection of molecular traces; expand the knowledge of proteins interaction with nanostructured surfaces; propose the novel method for the local modification of electrical conductivity of GO which can be used for the further development of nanostructured organic semiconductors on graphene substrate. Part of the results obtained during the preparation of the dissertation were used in the successfully implemented project „*Nanoscopic investigation of structural transformations of proteins at the nano-bio-interfaces*“ (*NanoProt, 2013-2015*). The new knowledge and experience gained during the PhD research are applied in the project „*Development of advanced methods for molecular contamination analysis by surface and tip enhanced Raman for space applications (CONRAM, 2016-2017)*“ funded by European Space Agency (ESA).

Approval and publication of research results. The results of the research are presented in 5 publications. All of them are published in the journals listed in the *Thomson ReutersTM Web of Science* publications database with citation index. The results of research are presented in 13 international conferences (4 of them are invited talks) and 2 seminars.

Overview of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, review of literature associated with the topic of the dissertation, applied methods and materials, the results and discussion section, conclusions and a list of references which includes 265 literature sources. The dissertation comprises 110 pages, 47 illustrations, and 9 tables.

Statements for defence:

1. The novel methodology for the synthesis of sol-gel technique based porous hybrid organic-inorganic films for SERS applications has been developed.

2. The novel methodology for the synthesis of noble metals nanostructures on the silicon wafers for SERS applications has been developed. The enhancement of Raman signal for the pentacene analyte deposited on triangular silver nanoparticles decorated SERS substrate was found to be 10^7 . Such enhancement factor is sufficient for the detection of molecular traces on the surface and in liquid.

3. The SERS substrates based on developed methodology allow detection of α -synuclein (up to 1 fM) and benzylpenicillin (up to 0.25 pM) traces in water and milk respectively.

4. The mechanism of L-alanyl-L-tryptophan interaction with nanostructured silver surface and its orientation on silver SERS substrate has been investigated and the relation with Raman (SERS) spectra has been established.

5. The novel methodology for the LSP stimulated reduction of GO and its local chemical-physical characteristics modification has been developed.

6. The possibility to perform nano-chemical synthesis on the silver SERS substrate based on the developed methodology has been demonstrated.

CONCLUSIONS

1. A novel approach for the sol-gel based 3D nanostructured hybrid film synthesis decorated with silver nanoparticles has been developed. It was demonstrated that the control of PEG 400 concentrations in the sols allows the synthesising of the SERS substrates decorated with ring-shaped, spherical and self-assembled silver nanoparticles. The formation of such structures was confirmed by AFM and SEM measurements. The presence of silver nanoparticles was confirmed by UV-Vis measurements showing the plasmon at 472-478 nm common for silver nanoparticles. The highest relative enhancement of Raman signal for crystal violet analyte was observed on self-assembled silver nanoparticle decorated SERS substrate (~270 times), while the SERS substrates decorated with silver nanorings and spherical nanoparticles exhibited the relative enhancement of the Raman signal for the same analyte of ~200 and 120 times, respectively.

2. A novel methodology for the synthesis of silver and gold plasmonic nanostructures (SERS substrates) based on the direct silver ions reduction on HF etched silicon wafers has been developed. It was demonstrated that the control of AgNO_3 concentration as well as exposure time of the silicon wafers in the reaction solution allows the synthesising of the SERS substrates decorated with

irregular-shapes and triangular silver nanoparticles. The fabricated SERS substrates were characterised by AFM and SEM that confirmed the formation of such nanostructures. The EDX and UV-Vis measurements revealed the presence of silver/gold nanoparticles formed on the silicon wafers. The relative enhancement of the Raman signal was tested with two target analytes: pentacene and R6G. It was demonstrated that the highest enhancement for both analytes was observed on silver nanotriangle decorated SERS substrates: 2.73×10^6 for pentacene and 2.25×10^7 for R6G.

3. It has been shown that silver SERS substrates decorated with triangular silver nanoparticles are able to detect the traces of α -synuclein in water (up to 1 fM). It was also demonstrated that the same substrates are able to detect trace concentrations (up to 0.25 pM) of benzylpenicillin in water and milk samples. It was demonstrated that the silver SERS substrates decorated with triangular silver nanoparticles are able to detect the vibrations of the lipid membrane on which it is deposited.

4. The interaction of L-alanyl-L-tryptophan dipeptide with a nanostructured silver surface has been investigated. The characterisation of L-alanyl-L-tryptophan dipeptide by Raman and surface enhanced Raman spectroscopies has been carried out for the first time. It was found that the SERS spectra of the dipeptide differ at the different points of the sample when the measurements are carried out in water. It was determined that this phenomenon is related to the orientation as well as its location on the SERS surface. SERS measurements revealed that in the case when the dipeptide is adsorbed on the silver nanoparticle, the most enhanced vibrations of carboxyl in the SERS spectra are observed; in the case when the dipeptide is located in between the nanoparticles, the most enhanced vibrations of the indole ring are seen in the SERS spectra. The absence of amide I vibrations in all the SERS spectra revealed that the dipeptide has no direct contact with the silver SERS surface

5. A mechanism of the nanochemical reactions driven by LSP has been investigated. A novel approach for the local reduction of graphene oxide on silver SERS substrate has been developed. It was found that the reduction of GO and the synthesis of PAHs was driven by LSP. The key ingredient inducing the reduction of GO and the synthesis of PAHs was found to be \bullet OH radicals. The presence of new compounds was confirmed by the appearance of new peaks in the SERS spectra as well as by the measurements of I-V characteristics.

UDK 543.064 + 543.424.2] (043.3)

SL344. 2016-11-24, 2 leidyb. apsk. 1. Tiražas 50 egz. Užsakymas 428

Išleido Kauno technologijos universitetas, K. Donelaičio g. 73, 44249 Kaunas
Spausdino leidyklos „Technologija“ spaustuvė, Studentų g. 54, 51424 Kaunas