



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

# I. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2015eko maiatzaren 13, 14 eta 15  
Durango, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

## INGENIARITZA ETA ARKITEKTURA

**Raman Espektroskopian  
Oinarrituriko Biosentsorea Zuntz  
Optikoa Erabiliz**

*M. Azkune, G. Aldabaldetrekue,  
G. Durana, I. Bikandi, A. Berganza  
eta J. Zubia*

655-660 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.i.90>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



## Raman Espektroskopian Oinarrituriko Biosentsorea Zuntz Optikoa Erabiliz

Azkune M, Aldabaldetrekua G, Durana G, Bikandi I, Berganza A, Zubia J  
*Euskal Herriko Unibertsitatea, Bilboko IGET, Urkixo Zumarkalea z/g, E-48013 Bilbo,*  
*mazkune001@ikasle.ehu.es*

### Laburpena

Gainazalak anplifikaturiko Raman espektroskopiaren (SERS) eta polimerozko nukleo hutsezko zuntz optiko mikroegituratuen (HC-mPOF) konbinaketak, sustantzia kimiko edo biologikoen azterketarako sentikortasun handiko neurketa-plataforma indartsua eskaintzen du, espezifikotasun molekularra, sentsibilitatea eta fidagarritasuna altuak izanik. Lan honetan, *Kagome* sareta duen HC-mPOFa erabiliaz, denboran egonkorra eta erreproduzigarria den metileno urdin disoluzioaren Raman seinalea neurtu da, zilarrezko nanopartikulekin nahastuta. Laginarekin izandako interakzio luzearen eta argi sakabanatuaren gidapenaren ondorioz, jasotako seinalearen handiagotzea erakusten dute emaitzek.

Hitz gakoak: Gainazalak anplifikaturiko Raman espektroskopia, polimerozko nukleo hutsezko zuntz optiko mikroegituratuak, Raman

### Abstract

*The combination of Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) and Hollow Core microstructured Polymer Optical Fibers (HC-mPOF) offers a strong platform for sensitive molecular fingerprinting of chemical and biological compounds, allowing molecular specificity, high sensitivity and reliability. In this work, employing Kagome lattice HC-mPOFs, we report reproducible and time-stable experimental Raman spectra of Methylene Blue target molecule. This is achieved by filling the holes of the HC-mPOF with the analyte solution, together with Ag nanoparticles. The results show an increase in the received signal due to large interaction length with the sample and the guidance of the scattered light.*

*Keywords: SERS, Hollow Core microstructured Polymer optical Fiber, Raman*

### 1. Sarrera

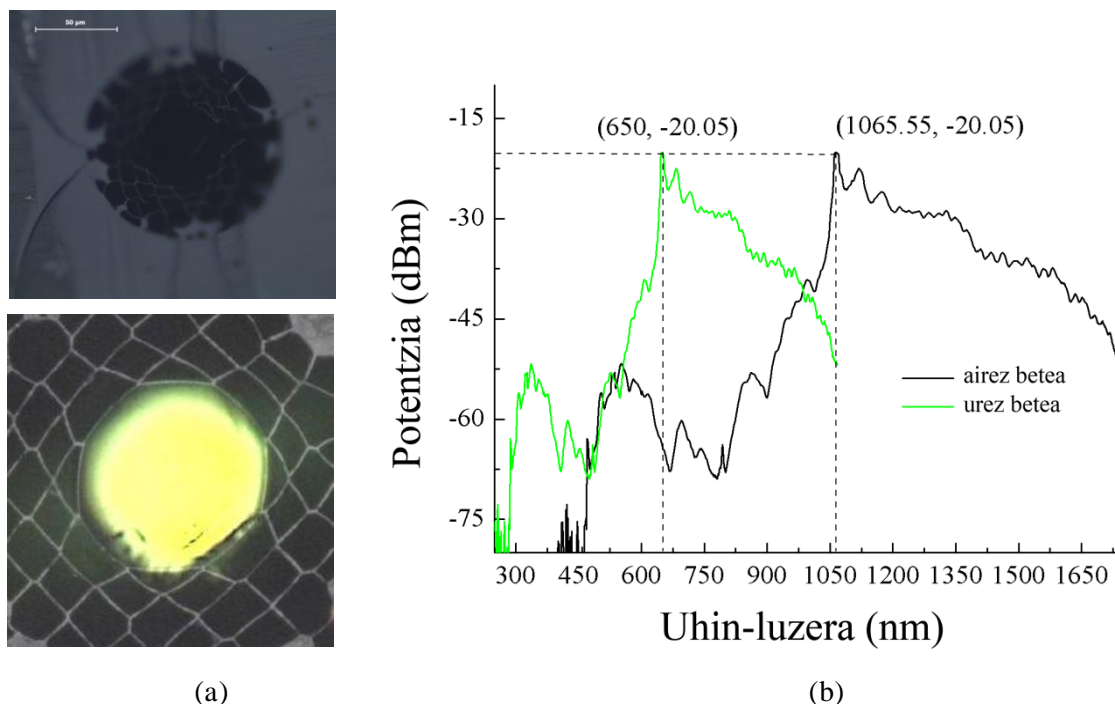
Raman efektua, 1922an aurkitua (Raman eta Krishnan, 1928) ez da azken hamarkada hauek arte oso erabilia izan. Izan ere, modu inelastikoan dispersaturiko argiak sorturiko seinalea oso ahula izanik, anplifikatzeko moduen beharra agerikoa izan da. Batez beste, molekula baten Raman zeharkako sekzioa  $\sigma_R$  bada, zeinak fotoi erasotzaileekiko Raman fotoi sakabanatuen zatidura deskribatzen duen, normalean oso balio baxua izaten da,  $10^{-29}$  cm<sup>2</sup> molekula bakoitzeko. Mugatze hau, gainazalak anplifikaturiko Raman espektroskopiaren (SERS) aurkikuntzak gaintu zuen 1974an (Fleischmann et al., 1974). Neurtu gura den molekulak (TM, *target molecule*) azalera ximurreko metal batekin kontaktuan edo distantzia oso laburrean aurkitzen direnean posible da Raman seinalea  $10^{12}$  aldiz anplifikatzea plasmoi-efektuen eta lotura kimikoen ezarpenei esker (Chang, 1982).

SERS efektuen anplifikazio-maila ordea ez da batere egonkorra. Seinalea anplifikatzen den maila, argi erasotzaileak bere bidean iragaten dituen gunen beren (HS, *Hot Spot*) menpe egongo da, hau da, metalezko nanopartikulak (NP) eta TM kontaktuan dauden guneen menpe. Menpekotasun honek disoluzioen neurketak egitea zailtzen du, fidagarritasuna galtzen baita neurketa batetik bestera. Eragozpen hau polimerozko nukleo hutsezko zuntz mikroegituratuen (HC-mPOF, *Hollow Core microstructured Polymer Optical Fibers*) erabilerarekin gaintu daiteke.

Zuntz-paradigma berri honetan, espektroaren banda konkretu batzuk soilik konfinatzen dira nukleoan, "banda debekatu" efektua dela eta. Horren ondorioz maiztasun zehatz batzuetan gertatzen da soilik argi-transmisioa nukleoan zehar (Russell, 2003). Gainera, nukleo barruko argiaren konfinamenduari esker, teknika horrek zuntzaren luzeraren adinako interakzioa eskaintzen du analitoarekin, distantzia hau oso luzea izanik. Horrez gain, nukleo zein

estaldurako zuloen bolumen txikiak direla eta, nahikoa da disoluzio-bolumen oso txikiarekin irakurketa zehatzak lortzeko. Bestalde, mota honetako zuntzek, argia gidatzeko duten ahalmenagatik, argi erasotzailea zein argi dispersatua gidatuko dute espektroskopiaoren norabidean, irakurketa maximoa izanik.

1. irudia. a)HC-mPOF-aren zeharkako irudia (argi gabe eta argiarekin). b)HC-mPOF-aren transmisio-leihoak nukleo hutsean eta likidoz beteriko nukleoan.



## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

SERS efektua eta nukleo hutsezko zuntz mikroegituratuak batzearen ideiak azken urteetan indarra hartu du. Yan et al.-ek (2006) beirazko zuntz mikroegituratua erabili zuten. Lehen saiakera honetan, zuntzaren nukleoko paretak urre NPez estali ondoren, Rhodamina disoluzioz zuntza bete eta lehortzen utzi zuten. Ondoren Raman espektroa neurtu eta amplifikazio nabaria ikusi zuten.

Ikerketa aitzindari honen ondoren, nukleoa hutsa izan beharrean likidoz betetzen aritu ziren zenbait ikerketa-talde (Yang et al., 2011) eta guztietan emaitza itxaropentsuak lortu zituzten. Ikerketa horietan, beirazko zuntz mikroegituratuak erabili ziren bai nukleo solidozko bai nukleo hutsezko diseinuekin, baina guztietan printzipio bera erabiliz. NPen tamaina egokia, zuntzaren diseinua zein SERSa lortzeko metodologia dira lan hauek jorratzen dutena.

Beirazko zuntzen mugak gainditzeko asmoz Cox et al.-ek (2007), piridinaren SERS seinalea neurtu zuten HC-mPOF erabiliz. Egileek polimerozko zuntz optikoen erabileraren bideragarritasuna frogatu zuten. Beirarekin alderatuz, polimeroa merkeagoa, mardulagoa eta funtzionalagarriagoa da, sustantzia dopagarriak nahastea ahalbidetzen baitu.

Teknika horri esker, likido-bolumen baxua behar duten eta sentsibilitate altua lortzen duten sentsoreen garapena posible litzateke medikuntzan, gaixotasunak eragiten dituzten sustantzien kontzentrazio-mailak neurtzeko; biologia zelular ikerkuntzan ere oso preziatuak lirateke horrelako sentsoreak, gaur egun sektore hauek dituzten zenbait arazo eta mugei aurre egingo bailieke.

Honenbestez, ikerketaren helburua SERS efektuan oinarritutako sentsore baten diseinuaren lehen pausua finkatzea da. Horretarako aski ezaguna den TM bat aukeratu eta zuntzak dakartzan

aukera berriak aztertu nahi dira, dispositibo sentikor merke eta fidagarri bat lortzeko asmoarekin.

### 3. Ikerketaren muina

#### 3.1 Neurketen prestaketa

Lan honetan aurkezten diren emaitzak, ondorengo ekipu eta baliabideekin neurtuak izan dira:

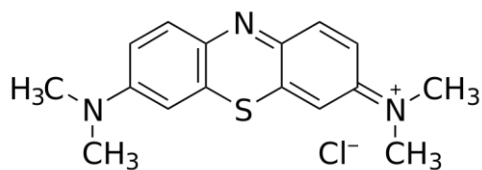
- *Zuntza*: Esperimentu honetan, *Kagome* saretako HC-mPOF erabili da. 1a. irudian ikus daitekeen bezala, nukleoak  $35\mu\text{m}$ -tako diametroa du eta estaldura 3 eraztunez osatua dago. Gainera, PMMAz (Polimetil metakrilatoa) egina dago. Material eta sareta egitura honek, 1b. irudiko transmisio-leihoak ahalbidetzen ditu nukleo hutsean eta likidoz beteriko nukleoaren kasuan. Bertan ikus daitekeen bezala, transmisio-leiho horien kokapena uhin-luzera laburragoetara aldatzen da nukleoa likidoz betetzen denean, banda debekatuen desplazamendu bat gertatzen baita.

#### 2. irudia. Laborategiko Raman ekiporekin muntaia.

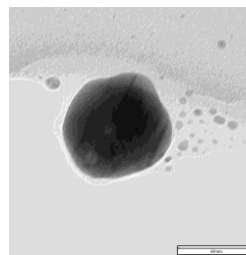


- *Neurketa-ekipoa*: Ikerketa honetako neurketa guztiak, *Renishaw inVia Raman Microscope* ekipoarekin egin dira, 2. irudian ikus daitekeen bezala. Raman ekipu horretara 785 nm-ko eta 300 mW-ko laserra konektatu da. Uhin-luzera hori egokia da, izan ere, likidoz beteriko nukleoari dagokion transmisio-leihoan aurkitzen da eta fluoreszentzia baxua sortzen du. Beraz, argi transmisioa ziurtatuta daukagu.
- *Disoluzioa*: Kasu honetan, zilarrezko NPk eta metileno urdina erabili dira disoluzioa osatzeko. Ikerketaren asmoa zuntzaren eragina neurtzea denez, bibliografian ondo dokumentaturiko SERS-aktiboa den TMA aukeratu da, metileno urdina (Xiao eta Man, 2007). NPei dagokienez, batez besteko diametroa 80 nm-koa da eta azido-erredukzio prozeduraz lortu dira.

## 3. irudia. a) Metileno urdinaren osaketa kimikoa. b) zilarrezko NParen TEM irudia.



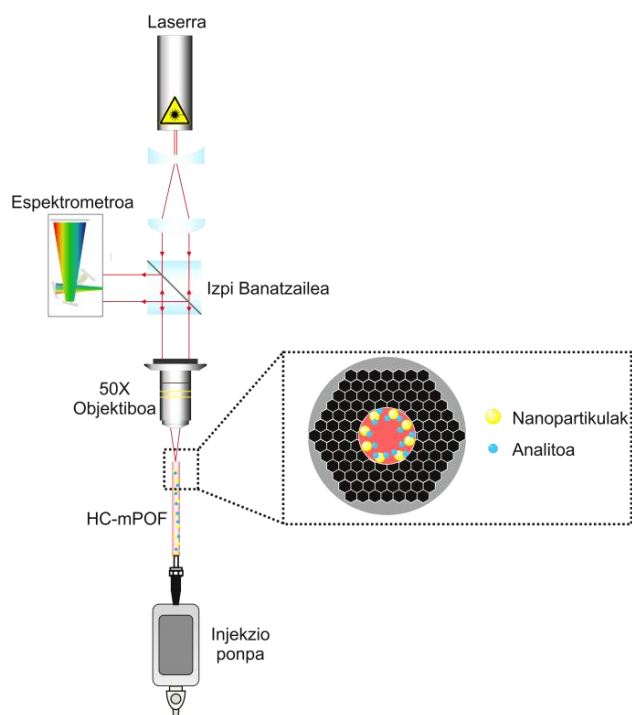
(a)



(b)

- Muntaia experimentalta:* 4. irudian eskematikoki ikus daitekeen moduan, aurreko azpi-ataletan azaldu diren osagaiak honako konfigurazioan ipini dira neurketak egiteko asmotan (zuntza erabili ordez, disoluzioz betea dagoen kubeta erabili nahiko bagenu, 4. irudian egin beharko litzatekeen aldaketa bakarra zuntza eta injekzio-ponpa kendu eta bertan kubeta ipintzea litzateke). Alde batetik, lehen gakoa laserraren argia HC-mPOFan egokiro akoplatzea da nukleoko moduak soilik kitzikatzeko. Bestetik, HC-mPOFaren bi muturren artean zulo guztiak likidoz beteak egon behar dutenez, bigarren gakoa injekzio-ponpan dago. Izan ere, dispositibo honek presioa konstante mantendu behar du aske dagoen muturraren gainazalean likidoa egonkor mantentzeko.
- Neurketa-metodologia:* Aurrez azaldu den muntaia erabiliz, neurketak honako baldintzetan egin dira. Lehenik eta behin, ura oinarri duen disoluzioa osatu da. Ondoren Raman seinalea neurtu da bi konfiguraziotan, kubetan eta HC-mPOFan. Neurketak gela ilun batean egin dira, kanpoko argi zaratarik egon ez dadin. Kubeta-neurketarako 20x-ko objektiboa erabili da eta HC-mPOF erabili den kasuan, argia nukleora bideratzea oso garrantzitsuaenez, 50x-ko objektiboa. Bi kasuetan 785 nm-ko laserra erabili da potentzia maximoaren % 0.5ean. Denboran erreproduzigarritasuna bermatzeko, neurketak bi minutuko tartearekin errepikatu dira 5. irudian agertzen diren irakurketak lortuz. Espektroak ez dira prozesatu manipulazio minimoa mantentzeko asmotan.

## 4. irudia.SERS neurketak egin diren muntaia experimentalta



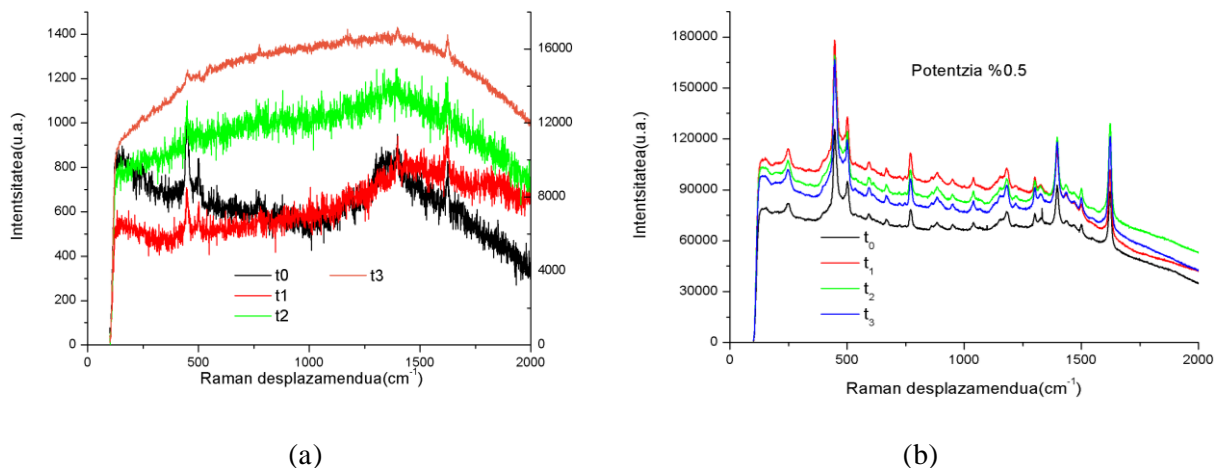
### 3.2 Emaitzak

Disoluzioa kubetan dagoenean, 5a. irudiko grafikoak erakusten duen bezala, seinalea ia sumaezina da eta identifika daitekeen gailur bakarrenetarikoa  $445\text{ cm}^{-1}$ -ekoa da, C-N-C bibrazioari dagokiona, hain zuzen ere.

Zuntza erabili den kasuan ordea, 5b. irudian, TMaren espektro egokia ikus daiteke, gailur guztiak identifikagarriak izanik eta kubetaren kasuan baino magnitude orden batzuk handiagoa izanik. Kasu honetan, gailur esanguratsuenak,  $445\text{ cm}^{-1}$ -ean, C-N-C bibrazioari dagokiona, eta  $1618\text{ cm}^{-1}$ -ean,  $\nu(\text{C-C})$  eraztunari dagokiona, aurkitzen dira. Y ardatzeko balioak unitate arbitrarioak dira, intentsitate-kontaktak alegia, eta Raman sakabanaketaren ondorioz jasotako fotoiekin lotuta daude. Jasotako Raman seinalearen amplifikazioa bi efektutan oinarritzen da: lehena argia eta disoluzioaren interakzio luzean datza eta bigarrena dispersaturiko argiaren gidapenean.

Emaitzen erreproduzigarritasunari dagokionez, kubetaren kasuan, denbora ezberdinetan errepikatutako neurketek aldakortasun handia erakusten dute seinalearen itxuran. Zuntzean neurturikoeak, aitzitik, itxura eta amplifikazio-maila oso antzekoak dituzte, sentsore batek eskaini beharko lukeen fidagarritasuna bermatuz.

#### 5. irudia. a) Metileno urdinaren Raman espektroa kubetan eginiko neurketan. b) Metileno urdinaren Raman espektroa HC-mPOF-en eginiko neurketan.



### 4. Ondorioak

Emaitzak erreparatuz, argi ikus daiteke HC-mPOFaren erabilerak abantaila aunitz eskaintzen duela kontzentrazio baxuko disoluzioen SERS-neurketak burutzeko orduan. HC-mPOFan oinarritutako neurketa-plataformak amplifikazio itzela eta erreproduzigarritasuna eskaintzen ditu, zeinak funtsezko ezaugarriak diren sentsoreentzat.

### 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Hurrengo pausua sentsore sentikorragoak eta sendoagoak diseinatzea litzake, kontzentrazio baxuagoko disoluzioak neurtu ahal izateko, bizitza errealeko aplikazioetan erabilgarriak izan daitezten. Horretarako, beste modu berriak probatu behar dira, HC-mPOFaren barne-paretak NPez estali eta TMA bakarrik duen disoluzioa injektatuz, adibidez.

Etorkizun urrunago batean, medikuntzan edo biologia-ikerkuntzan inplantatuko diren sentsoreen fabrikazioa legoke. Horretarako, HC-mPOFen beste geometria batzuk erabil daitezke edo PMMA materiala dopatu, sentsore sentikorragoak garatzeko.

## 6. Erreferentziak

- Chang, R.(1982): Surface enhanced Raman scattering, Springer, AEB.
- Cox, F.M.; Argyros, A.; Large, M. C. J. eta Kalluri, S. (2007): Surface enhanced Raman scattering in a hollow core microstructured optical fiber, *Opt. Express, OSA*, vol 15, 13675-13681.
- Fleischmann, M.; Hendra, P. J. & McQuillan, A. (1974): Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode, *Chemical Physics Letters, Elsevier*, vol. 26, 163-166.
- Raman, C. V. eta Krishnan, K. S. (1928): A new type of secondary radiation, *Nature, Nature Publishing Group*, vol. 121, 501-502.
- Russell, P. (2003): Photonic crystal fibers, *Science, American Association for the Advancement of Science*, vol. 299, 358-362.
- Xiao, G. N. eta Man, S.-Q. (2007): Surface-enhanced Raman scattering of methylene blue adsorbed on cap-shaped silver nanoparticles, *Chemical Physics Letters*, vol. 447, 305 – 309.
- Yan, H.; Gu, C.; Yang, C.; Liu, J.; Jin, G.; Zhang, J.; Hou, L. eta Yao, Y. (2006): Hollow core photonic crystal fiber surface-enhanced Raman probe, *Applied Physics Letters*, vol. 2006, 89.
- Yang, X.; Shi, C.; Newhouse, R.; Zhang, J. eta Gu,C. (2011): Hollow-Core Photonic Crystal Fibers for Surface-Enhanced Raman Scattering Probes, *International Journal of Optics*, vol. 2011.

## 7. Eskerrak eta oharrak

Euskal Herriko Unibertsitateko UFI11/16 eta US13/09 programei eta baita Eusko Jaurlaritzako IT664-13 eta ETORTEK 14/13 talde-proiektuari esker burutu da lan hau.