TÜBİTAK

Kuvvet Modüleli Raman Spektroskopisi (FORMERS)

Program Kodu: 2504

Proje No: 115F603

Proje Yürütücüsü:
Doç. Dr. Alpan BEK

HAZİRAN 2018
ANKARA

Önsöz

Projemiz, kuvvet kipli Raman spektroskopisi için mikro-elektromekanik (MEMS) tabanlı bir aygıt üretimi gerçekleştirmek ve bu aygıtın çalışma prensibini göstermek amacıyla geliştirilmiştir (FORce ModulatEd Raman Spectroscopy - FORMERS). Yüzey artırımlı Raman spektroskopisinde (SERS) olduğu gibi plazmonik alan artırımı yöntemi kullanılarak moleküler yapı özelliklerini araştırmaya yarayan bir moleküler Raman spektrokopisi aygıtı üretimi hedeflenmiştir. Böyle bir aygıt şu avantajları sağlayacaktır: molekül duyarlığı, yapısal değişikliklere olan yüksek hassasiyet, etiketleme gerektirmeden çalışma olanağı, kolay üretim, tamamlayıcı veri kanallarıyla uyumluluk. Proje önerisi yalnızca seyahat desteği isteği ile TÜBİTAK-ARDEB-2504 programı Tübitak- İtalya Ulusal Araştırma Kurumu (CNR) ile İşbirliği Programı'na önerilmiş, kabul edilmiş ve desteklenmiştir. Proje ortakları Ankara'da Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fizik Bölümü Nanooptik Araştırma Laboratuvarı kurucusu Doç. Dr. Alpan Bek ve Trieste-İtalya'da CNR Malzeme Bilimleri Enstitüsü'nden (CNR-IOM) Dr. Marco Lazzarino'dur.

TÜBİTAK

İçindekiler

Önsöz ii

İçindekiler iii

Şekil Listesi iv

Özet v

Abstract vi

1. GİRİŞ 1

2. LİTERATÜR ÖZETİ 1

3. GEREÇ VE YÖNTEM 4

4. BULGULAR 5

4.1 FORMERS Aygıt Tasarım ve Üretimi 5

4.1.1 Mekanik tasarım 5

4.1.2 Aygıt Üretimi 10

4.2 FORMERS Aygıt Karakterizasyonu 11

4.2.1 FORMERS yardımlı Rayleigh ölçümleri 11

4.2.2 FORMERS yardımlı Raman ölçümleri 16

5. TARTIŞMA/SONUÇ 20

TÜBİTAK

Şekil listesi

Şekil 1. Ag ve Au kolloidlerin TEM görüntüsü 1

Şekil 2. Tek molekül SERS deney düzeneği 2

Şekil 3. Atomik kuvvet mikroskopu (AFM) manipülasyonu ile sıcak nokta oluşumu 3

Şekil 4. Kırılma eklem ile nanometre altı boşluk kontrolü ve MEMS rezonatör 4

Şekil 5. FORMERS tasarımı 6

Şekil 6. Rezonatör uzunluğuna bağlı salınım öz frekansı 7

Şekil 7. Rezonatör genişliğine bağlı salınım öz frekansı 7

Şekil 8. Maxwell denklemlerinin çözüldüğü hesap penceresi ve örgüsü 8

Şekil 9. İğne ucu ile duvar arasındaki bölgede sıcak nokta oluşumu ve alan artışı 9

Şekil 10. Dalgaboyuna ve konuma bağlı Raman artırım faktörü eğrileri 9

Şekil 11. Üretilen rezonatörüm taramalı elektron mikroskobu görüntüsü 10

Şekil 12. Sıcak nokta bölgesi açılı yakın plan görüntüsü 11

Şekil 13. Rezonatör hareketinin temsili gösterimi 11

Şekil 14. Statik ölçüm sisteminin şeması 12

Şekil 15. Dinamik ölçüm düzeneğinin şeması 12

Şekil 16. Rayleigh saçılmasıyla oluşturulmuş konfokal mikroskop görüntüleri 13

Şekil 17. Üretilen rezonatörlerden birine ait genlik-frekans ve gerilim-genlik eğrileri 13

Şekil 18. Sürüm voltajı-genlik ve kontak süresi-Raman sinyal eğrileri 14

Şekil 19. Artan sürüm voltajına bağlı rezonans eğrileri 15

Şekil 20. Benzotriazol Azo Raman spektrumu ve statik konfokal Raman haritası 16

Şekil 21. Harmonik Raman haritaları 17

Şekil 22. Raman şiddet maksimum değerlerinin ve farklarının gösterimi 17

Şekil 23. İlk 5 harmonikte alınmış Raman haritaları ve şiddetleri 18

Şekil 24. Artan sürme voltajı ile 1. ve 2. harmonik Rayleigh haritaları 18

Şekil 25. Rayleigh ve Raman görüntülerinin mekanizmasını açıklayan çizim 19

Şekil 26. Farklı harmoniklerde Raman sinyalinin dekonvolüsyonu 19

Özet

Projemiz, kuvvet kipli Raman spektroskopisi için mikro-elektromekanik (MEMS) tabanlı bir aygıt üretimi gerçekleştirmek ve bu aygıtın çalışma prensibini göstermek amacıyla geliştirilmiştir (FORce ModulatEd Raman Spectroscopy - FORMERS). Yüzey artırımlı Raman spektroskopisinde (SERS) olduğu gibi plazmonik alan artırımı yöntemi kullanılarak moleküler yapı özelliklerini araştırmaya yarayan bir moleküler Raman spektrokopisi aygıtı üretimi hedeflenmiştir. Ancak projemizde mekanik anlamda pasif bir yöntem olan SERS'ten farklı olarak moleküller hassas ayarlanmış bir dış kuvvet altında ve iyi tasarlanmış bir nanometrik bölgede incelenmiştir. FORMERS aygıtı özellikle biyolojik moleküllerin incelenmesinde kullanıldığında, bu moleküllerin detaylı yapıları ve dış kuvvetler altında geçirdikleri yapısal değişiklikler incelendiğinde işleyişleriyle ilgili çok değerli bilgilere erişilebilecektir. Bu inceleme Raman spektroskopisinin doğal olarak molekülün tipine ve daha önemlisi spesifik olarak yapısına ait benzersiz bir hassasiyete sahip olması sayesinde mümkündür. Proje için MEMS rezonatör tasarımı yapılmış, elektron demet litoğrafisi ve kuru aşındırma yöntemiyle üretilmiş ve plazmonik altın tabakalarla kaplanmıştır. Rezonatör boşluğuna sıvı damlatma yöntemleriyle molekül kaplama gerçekleştirilmiştir. Rezonatörlerden ters optik mikroskop ve Raman spektrometresi yardımıyla ölçümler gerçekleştirilmiştir. Deneylerimizde Benzotriazol azo molekülüne ait Raman sinyali yatay rezonatör yardımıyla frekans ve kuvvet kiplenmiş olarak ölçülebilmiştir.

Abstract

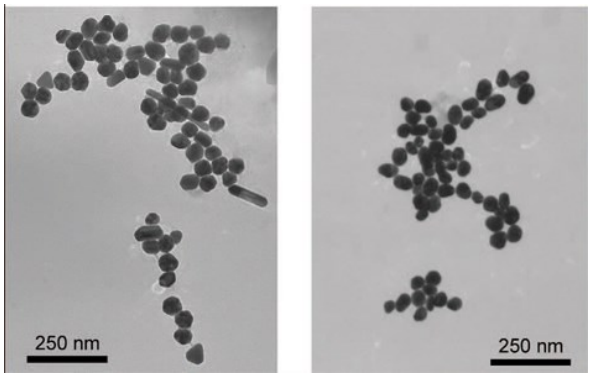
Our project is developed in order to fabricate a micro-electro-mechanical (MEMS) based “(FORce ModulatEd Raman Spectroscopy, FORMERS)” device and to demonstrate its function. This project aims in fabrication of a force modulated Raman spectroscopy based molecular investigation device by utilizing plasmonic enhancement methodology as in the case of surface enhanced Raman spectroscopy (SERS). Nevertheless, our project proposal aims for investigation of single molecules in a well-determined nanoscale location in space and under a well-determined external force unlike the stochastic and mechanically passive SERS technique. A FORMERS device can be used to investigate molecules of biological origin, those in which the molecular details such as conformation and interaction with its environment do play ultimate role in the functionality. This can be achieved with unparalleled accuracy due to the fact that Raman spectra are inherently specific to the molecule type and more importantly specific to its particular structure. MEMS resonator design was developed for the project, which were produced by electron beam lithography and dry etching method, and were covered with plasmonic gold layer. Molecule deposition at the resonator gap was performed by evaporation and drop cast method. An inverted optical microscope and Raman spectrometer was used for measurements on MEMS resonators. Plasmon enhanced frequency and force modulated Raman signal was detected from Benzotriazol azo using the resonator.

1. GİRİŞ

Son yıllarda taramalı tünelleme mikroskopisi, atomik kuvvet mikroskopisi ve floresans mikroskopisi gibi farklı yöntemlerle tek molekül tanısı gerçekleştirilebileceği gösterilmiştir. Düşük kesit alanına rağmen Raman spektroskopisi de yüzey artırımı (SERS) sayesinde tek molekül duyarlığına erişebilmiştir. Bu teknikte metalik yüzeylerin elektronik ve plazmonik çınlamalarında (rezonans) gerçekleşen alan artırımından yararlanılmaktadır. Üstte sayılan tekniklere göre Raman spektroskopisi incelenen moleküllerin kimyasal izleri sayesinde tespitlerini yüksek doğrulukta gerçekleştirmektedir. Bu nedenle günümüzde aktif olarak daha üstün özelliklere ve alan artırımına ulaşan yüzeylerin üretimi konusunda ve diğer moleküler tanı teknikleriyle Raman tekniğini birleştirme konusunda bilim dünyasında bir yarış sürmektedir. Projemizde bu doğrultuda Türkiye'den yüzey artırımlı Raman saçılması (SERS) ve plazmonik konusularında uzman bir ekip ile İtalya'dan mikro-elektro-mekanik sistemler (MEMS) ve sensörler konusunda uzman iki ekibin ortak çalışması ile özgün bir fikirle dünyada ilk kez kuvvet kipli Raman saçılması (FORMERS) yapmaya olanak sağlayan bir platform geliştirilmesi ve bu sayede moleküllerden kuvvete bağımlı Raman saçılması gerçekleştirilmesi hedeflenmektedir.

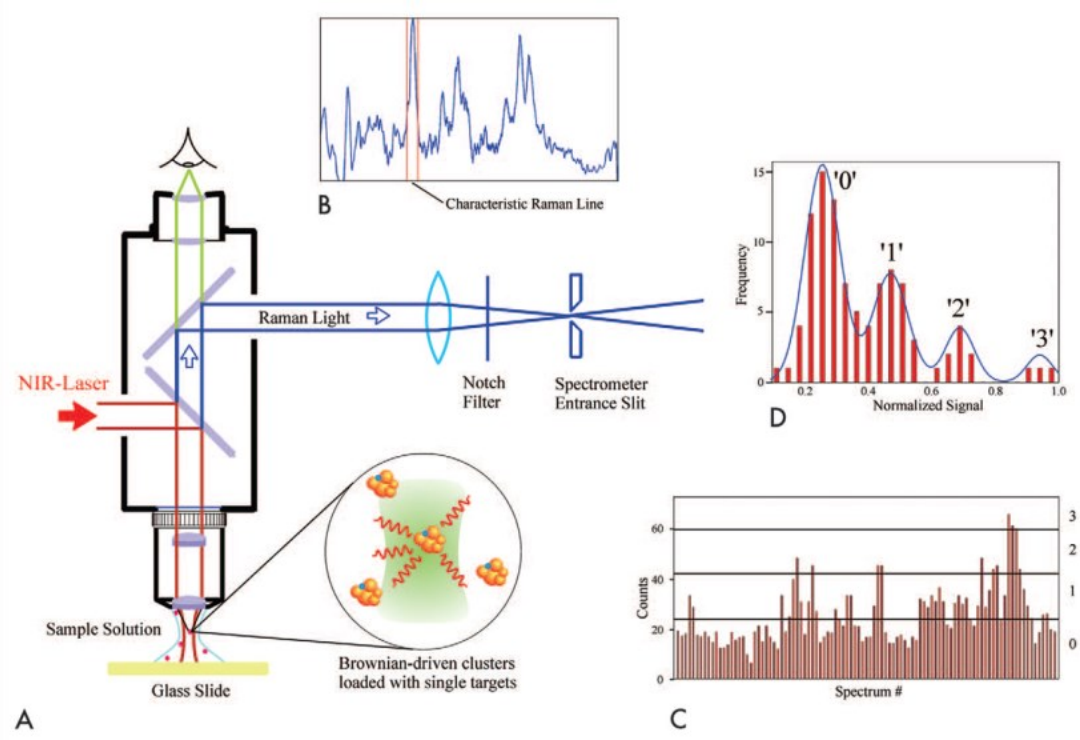
2. LİTERATÜR ÖZETİ

Projemizde geleneksel yüzey artırımlı Raman saçılmasının konuma ve kuvvete bağlı çözünürlük açısından gelişmemiş oluşundan yola çıkılmıştır. SERS'te en sık kullanılan yol altın ya da gümüş nano-parçacıklarla solüsyonda bilinmeyen analitlerin bir araya getirilmesi yöntemidir. Nanoparçacıkların dış etmenler ya da analit-nanoparçacık etkileşmesi sonucu olarak çökelmesi ile aralarında oluşan nanometre düzeyindeki boşluklara analitler hapsolur (Şekil 1).



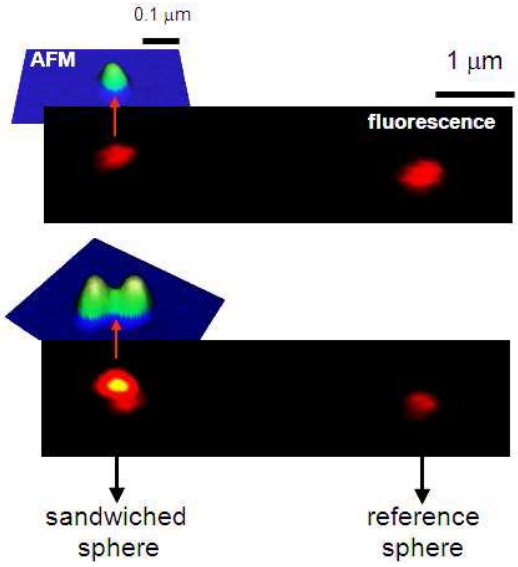
Şekil 1. SOL: Ag kolloidlerin TEM görüntüsü. SAĞ: Au kolloidlerin TEM görüntüsü.

Solüsyon lazer ışığı ile aydınlatıldığında metal nanoparçacıklarda serbest elektronların kolektif salınımları olan plazmonik çınlamalar uyarılır ve küçük ara boşluklarda yüksek alan genlik ve şiddeti meydana gelir. Bu yüksek alan şiddeti meydana gelen bölgelere literatürde "sıcak nokta" (hot spot) adı verilmektedir. Sıcak noktalarda Raman sinyali 10 büyüklük mertebesine kadar artırıma uğrayabilmektedir [(Blackie (2007)]. Ancak bu yöntemde analit moleküllerin konumları tam olarak belirlenememekte ve ölçüm odak noktasında bulunan sıcak noktaların ortalama sinyal şiddetleri belirlenebilmektedir. Dahası hedeflenen sıcak noktalardan gelen sinyalin lazerle aydınlanan tüm solüsyon bölgesinden kaynaklanan genel ard alan sinyalinden ayırdı mümkün değildir.



Şekil 2. Tek molekül SERS: (A) Deney düzeneği. (B) Crystal violet molekülüne ait tipik SERS sinyali; İstatiksel analizde kullanılan 1170 cm^{-1} Raman çizgisi gösterilmiştir. (C) 1 s aralıklarla alınmış Raman sinyali şiddeti ölçümünün zamana bağlı değişimi. (D) Raman sinyal istatistiği.

Bu çerçevede seyreltilmiş solüsyonlarda tek molekül tanısı alınan Raman verisinin istatistiksel analizi ile elde edilmiştir. Tek molekül tanısının tarihçesi 1997 yılına dayanır. [Kneip (1997)]. Burada oldukça seyreltik crystal violet molekülü ile gümüş nanoparçacıklar karıştırılmış ve Raman sinyali tepe şiddetleri zamana bağlı olarak incelenmiştir. Bu dağılımın istatistiksek analizinde tepe şiddetinin basamaklı olarak dağılmış olması tek molekül Raman saçılmasının bir imzası olarak yorumlanmıştır (Şekil 2). Ancak bu yaklaşım ile bireysel moleküllerin takip edilmesi ve kimyasal reaktivitelerinin evriminin çalışılması mümkün değildir.

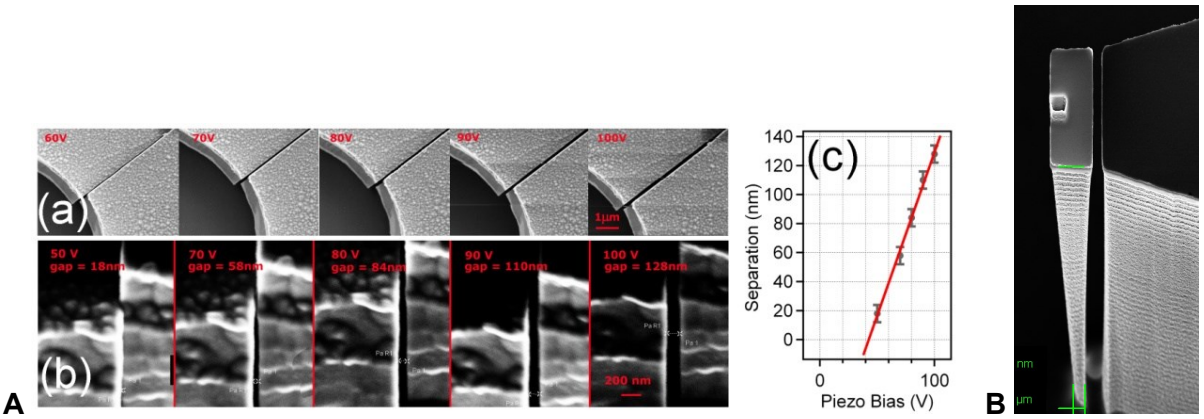


Şekil 3. Atomik kuvvet mikroskopu (AFM) manipülasyonu ile iki altın nanoparçacık arasında oluşturulan sıcak nokta

Alpan Bek (projenin Türk tarafı yürütücüsü) tarafından tanıtılmış olan alternatif bir yöntemde AFM'in üstün kontrolü sayesinde izole sıcak noktalar üretilmiştir [Bek (2008)]. Bu çalışmada önce metal bir nanoparçacık fluoresan bir nanoküreye AFM iğnesi kullanılarak yaklaştırılmış ve daha sonra öteki taraftan ikinci bir metal nanoparçacık yaklaştırılarak bir sandviç yapısı oluşturulmuştur. İki metal nanoparçacık arasında böylelikle oluşturulan sıcak noktada fluoresan nanokürede fluoresans şiddetinde artış gözlenmiştir. Bu yaklaşımda alan artışına maruz kalan moleküllerin konumu yüksek kesinlikle belirlidir. Yöntemin sorun olabilecek tarafları bu şekilde uyarım odak noktasında yalnızca bir tane sıcak nokta oluşturulması ve manipülasyonun otomasyonsuz olarak oldukça zaman ve emek yoğun bir çalışmaya malolmasıdır. Ne var ki eşi bulunmaz bir konumsal kesinlik ile yöntem optik yanıtın tek molekülden gelmesi sağlayabilecek niteliktedir.

İki kontak arasındaki mesafenin nanometre hassasiyette kontrol edilebilmesini sağlayan mikro-mekanik tabanlı daha genel bir yöntem Marco Lazzarino (projenin İtalyan yürütücüsü) tarafından geliştirilmiştir [Toffoli (2008)]. İlk tasarımda silisyum mikro kaldıraçlar kırılma eklemi konfigürasyonunda oluşturulmuştur. Atomik düzgünlükte 20 mikron uzunluğunda yüzeyler birbirlerine bakacak ve aralarında bir kaç nanometre boşluk kalacak şekilde nanometre altı bir konumsal kontrol hassasiyetiyle yan yana getirilmiştir (Şekil 4a). Aynı gurup bir kaç yıl sonra sıvı içinde salınan dikey yapılardan oluşan bir mikro-elektro-mekanik sistem (MEMS) geliştirmiştir [Melli (2011)]. Bu yapı 100 kHz – 10 MHz aralığında rezonans

frekansta dikey yapıdadır ve sabir bir duvara 100 nm mesafe kalacak şekikde üretilmiştir. Dışarıdan uygulanan bir titreşim ile salınım sağlanmıştır [Toffoli (2013)]. Yeterince yüksek sürme genliğinde salıngaç duvara temas etmekte dolayısıyla boşluk büyüklüğü 0-100 nm arasında kiplenebilmektedir (Şekil 4b). Bu yapılar kontrollü boşluklarda ve paralel olarak 1 mm^2'lik bir alan içinde yüzlerce üretilebilmektedir. Bu tür yapılara nano-elektro-mekanik sistemler (NEMS) adı verilmektedir.



Şekil 4. (A) Kırılma eklem ile nanometre altı boşluk kontrolü, **(B)** MEMS tabanlı ayarlanabilir boşluklu dikey rezonatör.

Kaynaklar

- Blackie, E. J. vd. 2007. J. Phys. Chem. C 111, 37, 13794–13803
- Bek A. vd., 2008. Nano Lett., 8, 485-490
- Kneipp K. vd. 1997. Phys. Rev. Lett., 78, 1667–1670
- Melli M., vd. 2011. ACS nano, 5, 7928–7935
- Toffoli V. vd. 2008. Nanotechnology 19 445502 (7pp)
- Toffoli V, vd. 2013. Microelectronic Engineering 111, 1-6

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Türk-İtalyan ortak çalışma ekibinin amacı MEMS aygıtların nanometre altı çözünürlükte mesafe hassasiyeti ile metal ikili nanoyapıların arttırım gücünün bir araya getirilerek sıcak noktalar oluşturarak tek ya da az sayıda molekülden kuvvete bağlı Raman saçılması ölçümü olmuştur. Projede plazmonik yapıların arasındaki mesafelerin belirli bir frekans ile kiplenmesi (modülasyonu), salınım genliğinin salınımı süren piezonun üzerindeki gerilim değişimi ile modülasyonu ve Raman sinyalinin bu frekansta geri kiplenmesi (demodülasyonu) ile ard alan gürültüsünden arındırılmış olarak sıcak noktadan kaynaklanan kuvvet kipli sinyalin ortaya çıkarılması yöntemi izlenmiştir. Yatay bir MEMS aygıt tasarlanmış, üretilmiş, üst yüzeyi plazmonik aktif bir metal ile kaplanarak değiştirilebilir ara boşluklu metal-metal ikili yapı üretilmiş, aygıt Raman aktif moleküllerle donatılmış ve piezo elektrik sürücü ile sürülmüştür. Mekanik rezonatör aygıtın rezonans frekansı ölçülmüş ve bulunan çınlama frekansında farklı genlik ve molekül üzerinde kuvvet ile salınım yaptırılmıştır. Bu salınım sırasında ters mikroskop ve Raman spektrometresi yardımıyla polarizasyona bağlı olarak alınan Raman sinyalleri mekanik salınım frakansında geri kiplenmiş ve iki boyutlu piezokızak tabla kullanılarak yüzey mikro-Raman haritalandırılması gerçekleştirilmiştir. Moleküllerin Raman bantlarından gelen saçılan fotonlar spektrometrede filtrelenerek tek kanallı detektörce izlenmiş ve bu şekilde toplanan entegre Raman bandının şiddetinin piezo sürme gerilimi ve dolayısıyla molekül üzerindeki kuvvete bağlı değişimi takip edilmiştir.

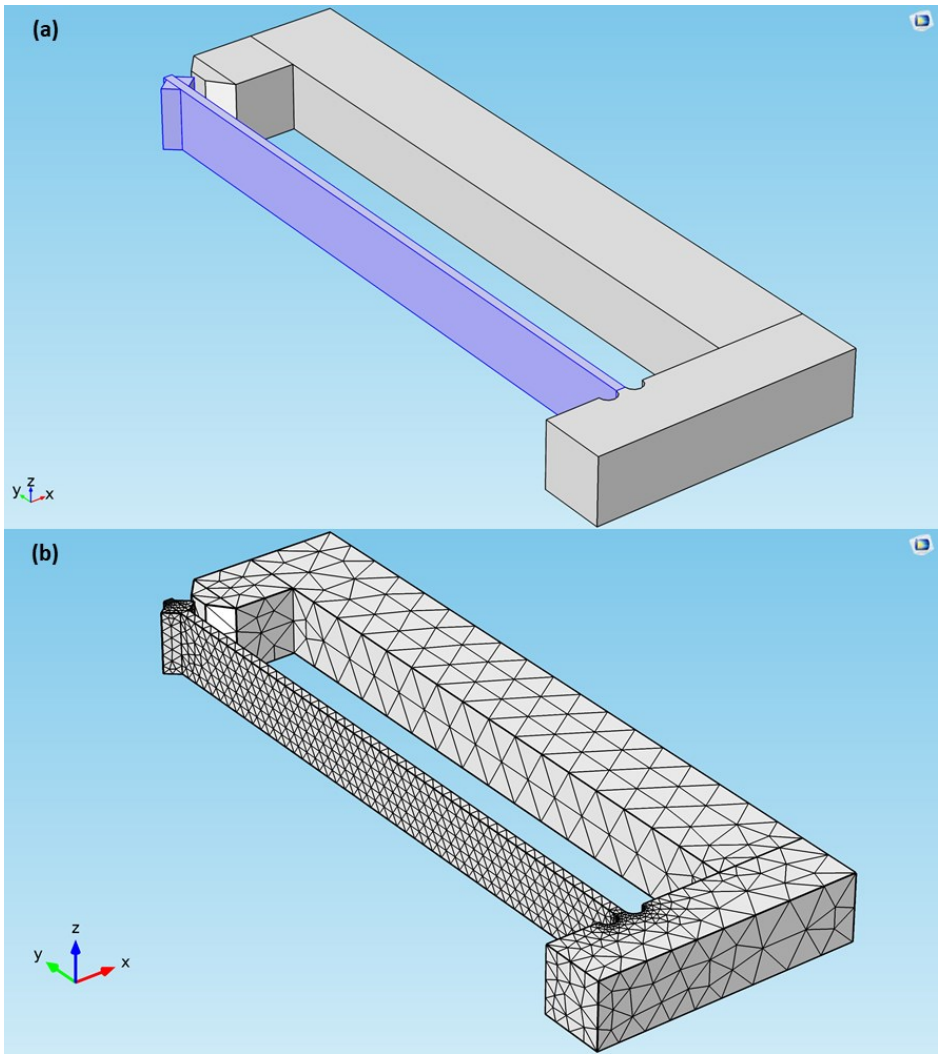
4. BULGULAR

Projemizde FORMERS aygıtının üretimini (İP1) ve karakterizasyonunu (İP2) hedef alan 2 iş paketi bulunmaktadır.

4.1 FORMERS Aygıt Tasarım ve Üretimi:

4.1.1 Mekanik tasarım:

Projenin ilk ilk iş paketinde gerçekleştirdiğimiz MEMS tasarımında amaç kHz mertebelerinde rezonans frekansı bulunan bir mekanik rezonatör üretmektir. Daha önceki deneyimlerimizden dikey rezonatör tasarımlarında frekansın MHz mertebelerinde kaldığını bildiğimizden ötürü tasarımımızı yatay mekanik rezonatör şeklinde geliştirmeye karar verdik. Şekil 5 planlanan rezonatörü göstermektedir.

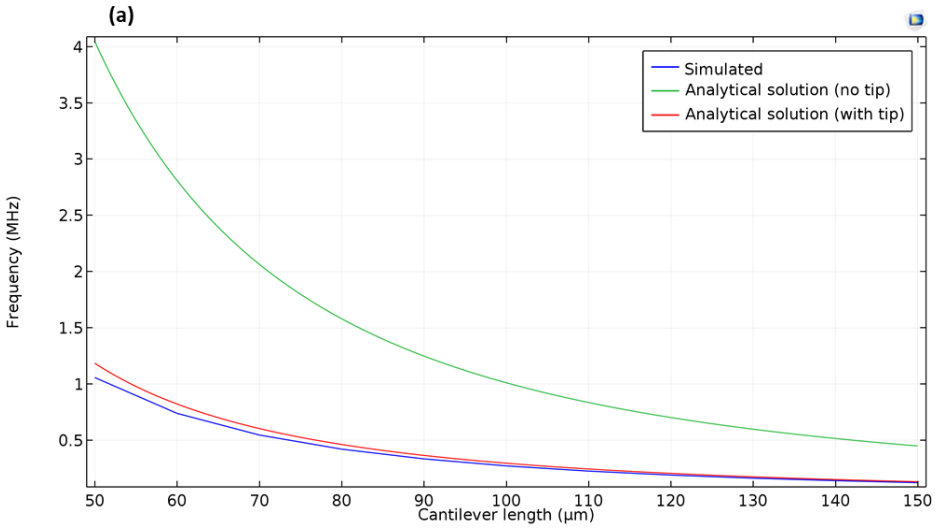


Şekil 5. (a) FORMERS tasarımı: yatay rezonatör **(b)** sonlu elemanlar yöntemiyle sayısal analiz için oluşturulan hesaplama örgüsü.

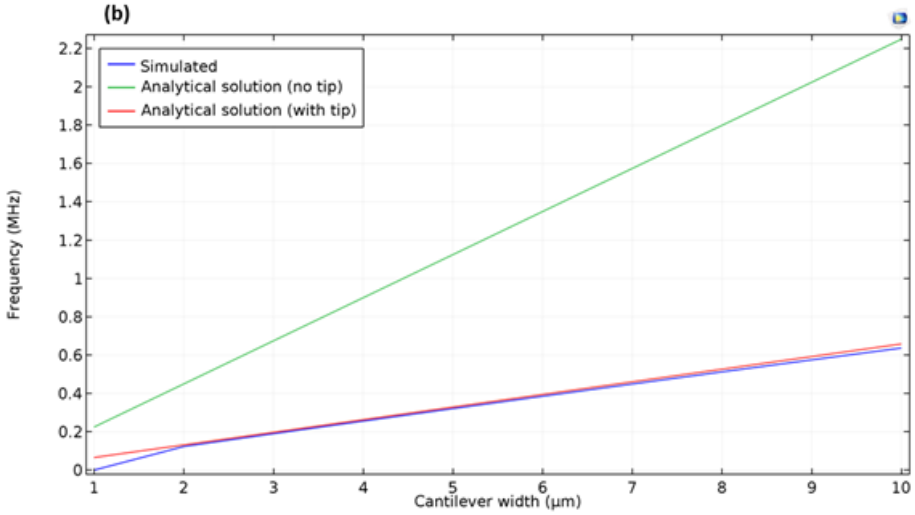
Bu tasarımda 150 mikronluk bir yatay rezonatör tasarlanmıştır. Rezonatörün doğal salınım frekansı yaklaşık 100 kHz olacaktır. Bu frekans Raman dedektörü olarak tek kanallı çığ etkili fotodiyotların kullanılabilmesine olanak sağlayacaktır. Böylece alınan sinyallerin rezonatörün ana ve ikinci harmonik frekanslarında demodüle edilebilmesini sağlayacaktır. Tasarım için analitik ve sayısal yaklaşımla hesaplamalar yapılmış hedeflenen frekans için gereken rezonatör uzunluğu aşağıdaki grafikten elde edilmiştir.

Tasarımda Raman artışı için üst yüzeye yapılmış olan ince altın kaplamanın etkileri göz ardı edilmiştir, bunun nedeni bu tabakanın rezonans frekansı üzerinde ihmal edilebilir bir etkisi olmasıdır. Toplam rezonatör kütlesi ile kaplamanın kütlesi karşılaştırıldığında bu sonuç ortaya çıkmaktadır. Ayrıca altın kaplamanın malzemenin elastik özellikleri üzerine etkisi de

ihmal edilebilir düzeydedir. Bunun nedeni kaplamanın, rezonatörün salınım eksenine dik olan bir yönde yapılmış olmasıdır. Üstelik kütle artışının rezonans frekansını düşürücü etkisi ile kaplama nedeniyle yay sabitinin artışından kaynaklı frekans yükselmesi etkileri birbirine ters yönde etkilerdir.



Şekil 6. Rezonatör uzunluğuna bağlı salınım öz frekansı.



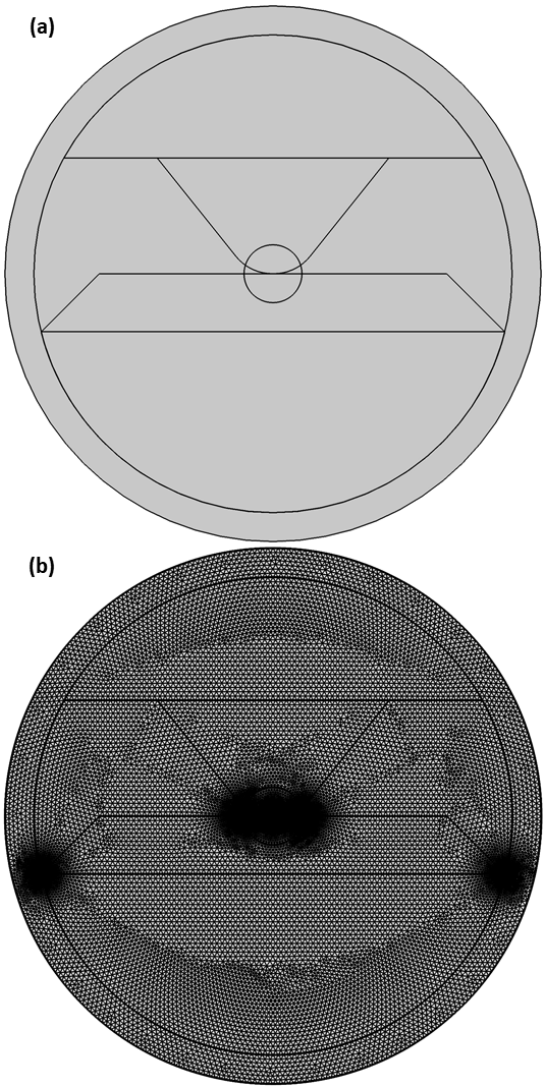
Şekil 7. Rezonatör genişliğine bağlı salınım öz frekansı.

Şekil 6 ve 7'de yeşil eğri iğnesiz analitik çözümden, kırmızı eğri iğne de hesaba katıldığında bulunan analitik çözümden, yeşil eğri de sonlu elemanlar tabanlı (finite elements - FE) sayısal yaklaşım hesabından (Şekil 5(b)) elde edilen sonuca göre çizilmiştir.
Kullanılan analitik fonksiyon aşağıdaki gibidir.

$$f = 0.162 * \sqrt{\frac{E}{\rho}} * \frac{T}{L^2} * 10^6$$

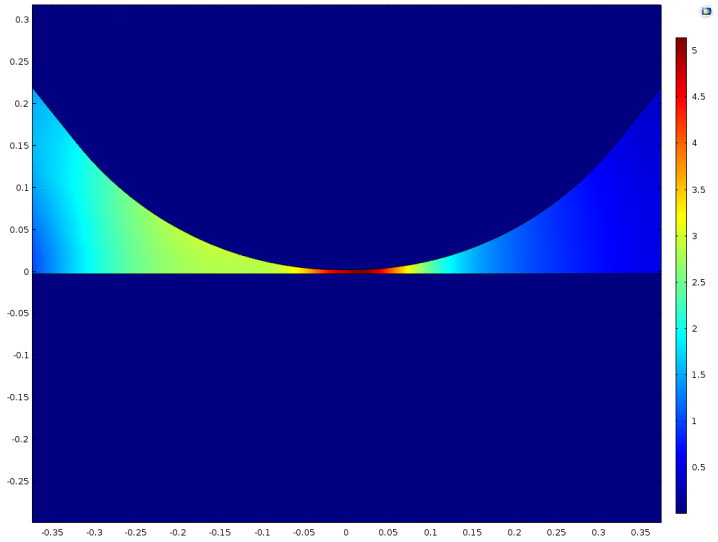
$$f_{corr} = 0.276 * \sqrt{\frac{E * W * T^3}{\rho * (\pi * H^3 * L^3 + 2.832 * W * T * L^4)}} * 10^6$$

Ayrıca beklenen alan artışı da yine sayısal olarak Maxwell denklemlerinin çözümünden elde edilmiştir. Sayısal hesap penceresi ve örgüsü Şekil 8'de verilmiştir.



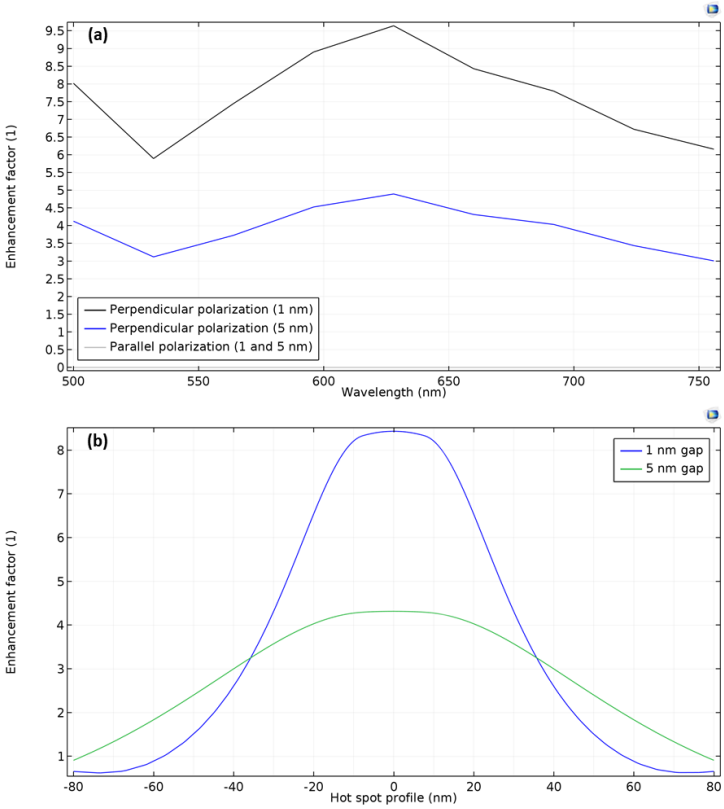
Şekil 8. (a) Maxwell denklemlerinin çözüldüğü hesap penceresi, **(b)** Hesap örgüsü.

Şekil 9'da iğne yaklaşımı durumunda beklenen sıcak nokta oluşumu ve alan artışını gösteren genlik dağılımı verilmektedir.



Şekil 9. İğne ucu ile duvar arasındaki bölgede sıcak nokta oluşumu ve alan artışı.

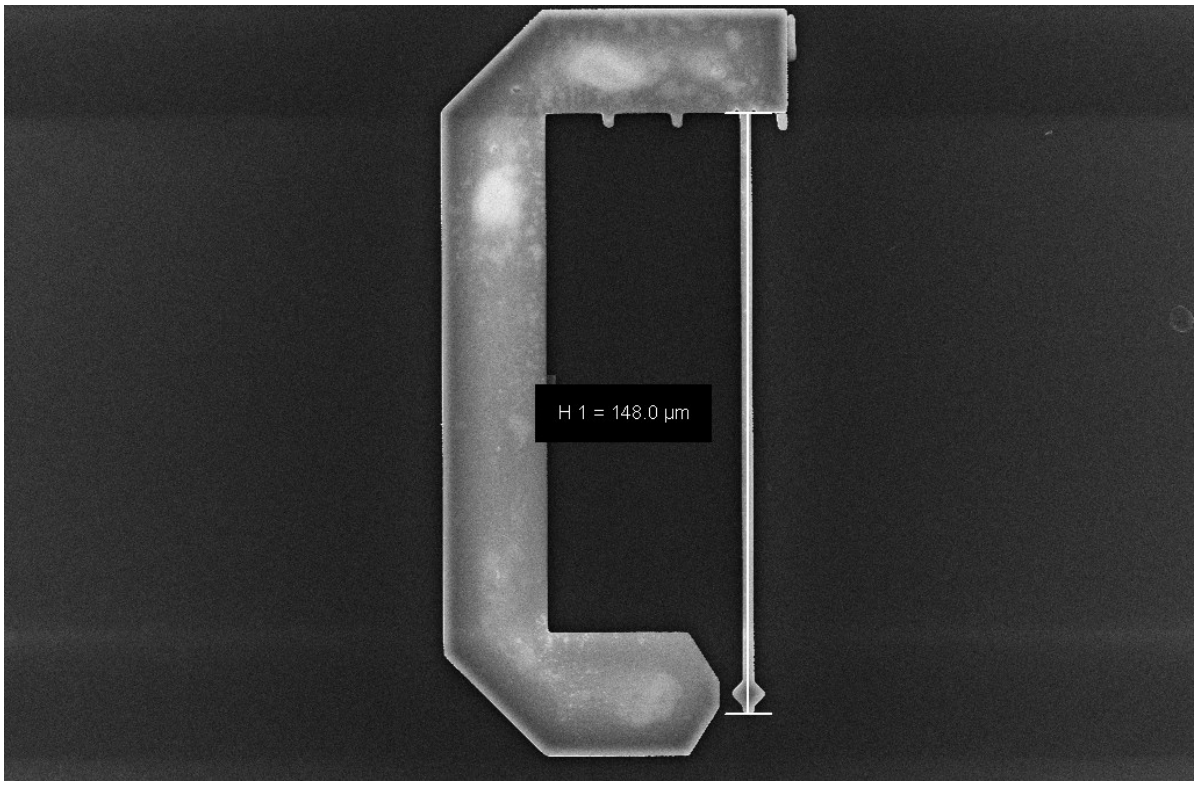
Bu simülasyonlar sonucu elde edilen dalgaboyuna ve konuma bağlı Raman artırım faktörü eğrileri Şekil 10'da verilmektedir.



Şekil 10. (a) iki dik polarizasyonda dalgaboyuna ve **(b)** iki ayrı aralık genişliğinde konuma bağlı Raman artırım faktörü eğrileri

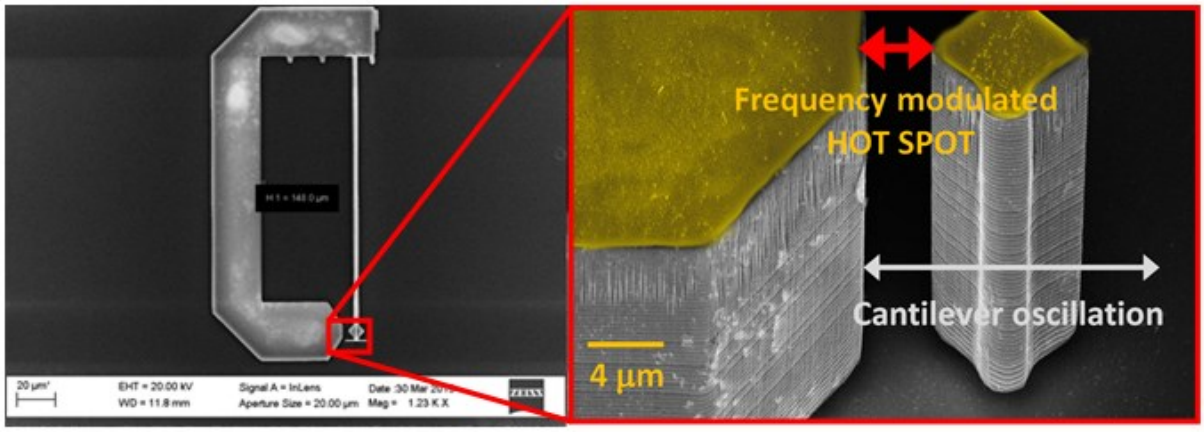
4.1.2 Aygıt Üretimi:

Üretim denemelerinde bu tür yatay rezonatör yapılar üretilebileceğini gördük. Şekil 11'de bu şekilde bir yapıya ait taramalı elektron mikroskopu görüntüsü bulunmaktadır:



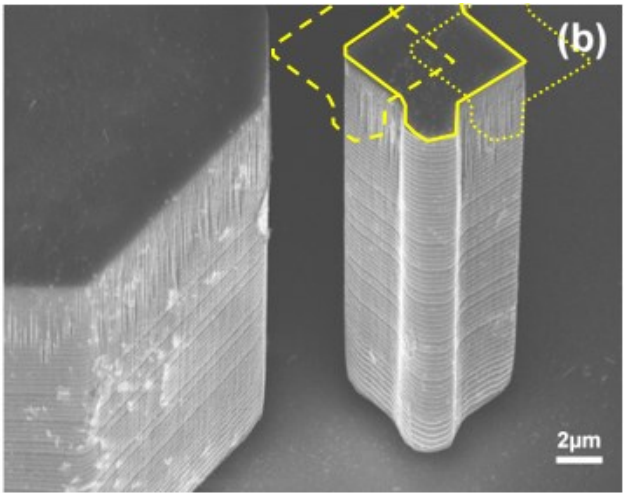
Şekil 11. Üretilen rezonatörüm taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.

Bu yapı yalıtkan-üzeri-Si (SOI) alttaş üzerine elektron demet litografisi ile tanımlanmış ve reaktif iyon aşındırma (RIE) ile oluşturulmuştur. Daha sonra seçici aşındırıcı olan HF ile yalıtkan (SiO2) tabaka aşındırılarak yatay mekanik rezonatörün alttaş ile olan bağlantısı kaldırılmıştır. Havada asılı serbest bir yatay rezonatör olarak görev yapması beklenmektedir. Moleküllerin yerleşeceği kısım sivriltilerek plazmonik yakın alan arttırımının dar bir alana sınırlandırılması sağlanmıştır. Aygıtın plazmonik sıcak noktalarla moleküller arasında etkileşim bölgesinin yakın plan üç boyutlu bir görüntüsü Şekil 12'de verilmektedir.



Şekil 12. Sıcak nokta bölgesi açılı yakın plan görüntüsü sıcak noktayı göstermektedir.

Bu aygıtın lateral yönde piezoelektrik sürücülerle sürülmesi sayesinde hareketinin temsili Şekil 13'teki gibidir.

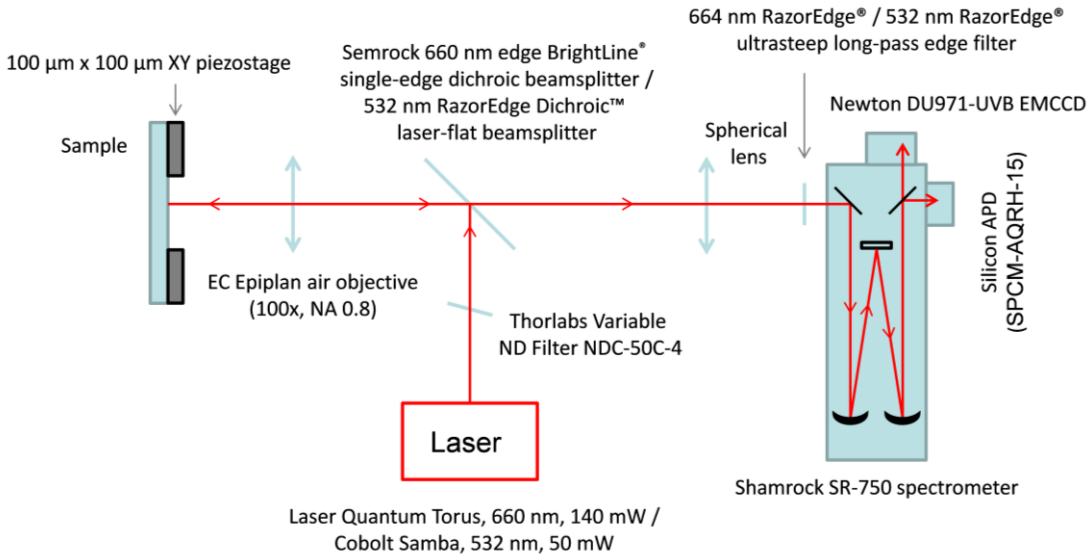


Şekil 13. Rezonatör hareketinin temsili gösterimi.

4.2 FORMERS Aygıt Karakterizasyonu:

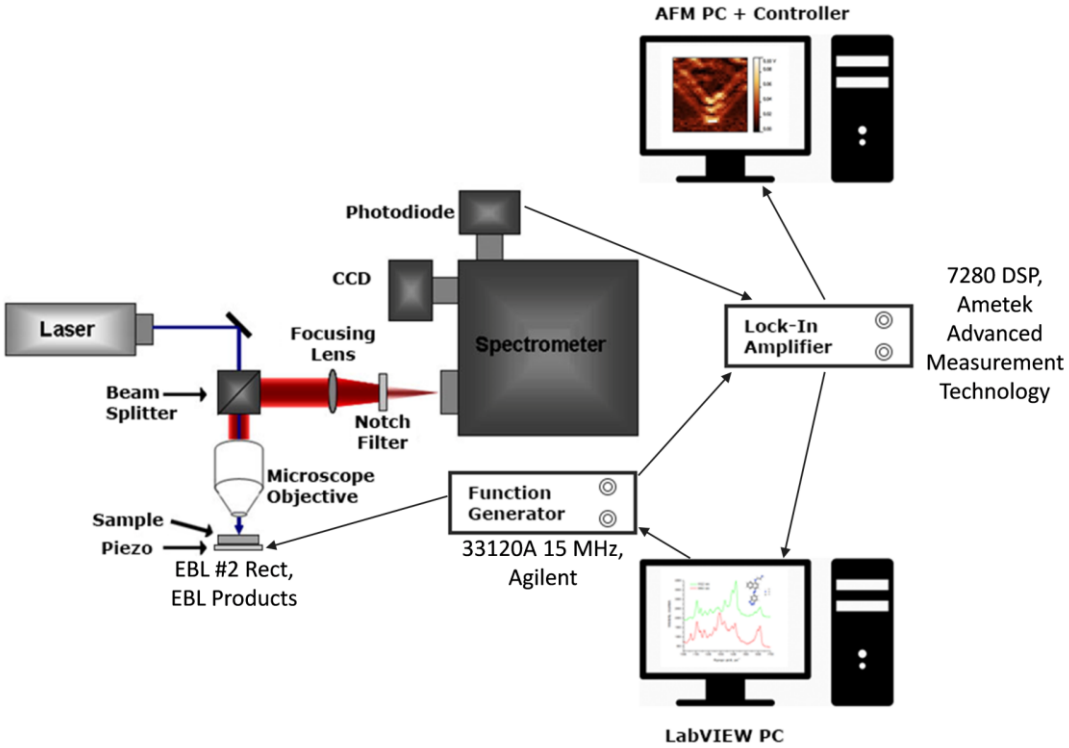
4.2.1 FORMERS yardımlı Rayleigh ölçümleri

Üretilen rezonatörün örnek taramalı konfokal mikroskop (scanning sample confocal microscopy- SSCM) görüntüleri alınmıştır. Şekil 14'te kurulan sistemin ayrıntıları görülmektedir.



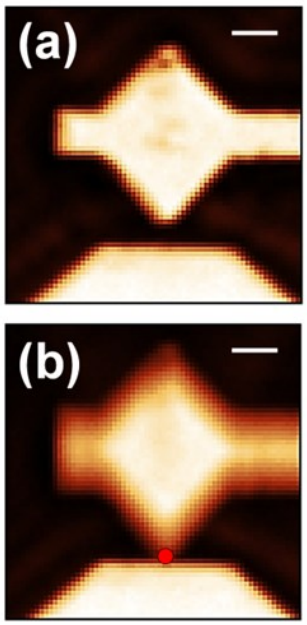
Şekil 14. Statik ölçüm sisteminin şeması.

Bu sistem temeline dayanan ancak dinamik ölçüm alabilecek şekilde gelişltirilmiş olan düzeneğin şeması Şekil 15'te verilmiştir.



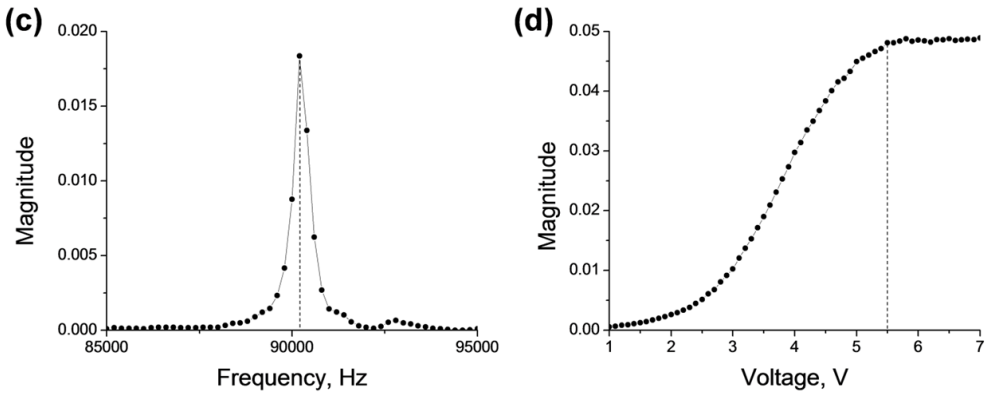
Şekil 15. Dinamik ölçüm düzeneğinin şeması.

Şekillerde gösterilmiş olan düzenek yardımıyla rezonatör durağanken ve sürüldüğünde Rayleigh saçılması ile aydınlatma dalgaboyunda alınmış görüntüler Şekil 16'da verilmektedir.



Şekil 16. Rayleigh saçılmasıyla oluşturulmuş konfokal mikroskop görüntüleri **(a)** statik rezonatör **(b)** salınan (dinamik) rezonatör

Üretilen rezonatöre ait genlik-frekans ve voltaj-genlik ölçüm eğrileri Şekil 17'de verilmektedir.

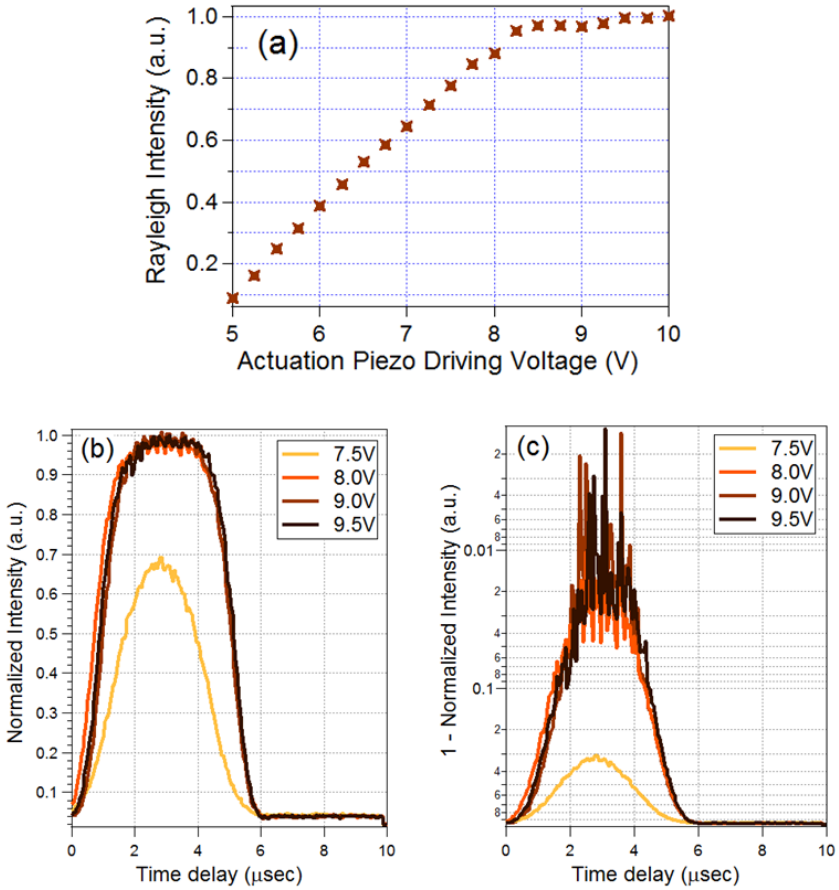


Şekil 17. Üretilen rezonatörlerden birine ait **(a)** genlik-frekans, **(b)** gerilim-genlik eğrileri.

Bu ölçümler 532 nm'lik yeşil lazer, Şekil 16(b)'de kırmızı nokta ile gösterilen konumdaki sabit duvar kenarına odaklanarak gerçekleştirilmiştir. 100X'lik bir hava objektifi (NA 0,8, EC Epiplan, Zeiss) kullanarak 350 nm'den küçük bir odak boyutu elde edilmiştir.

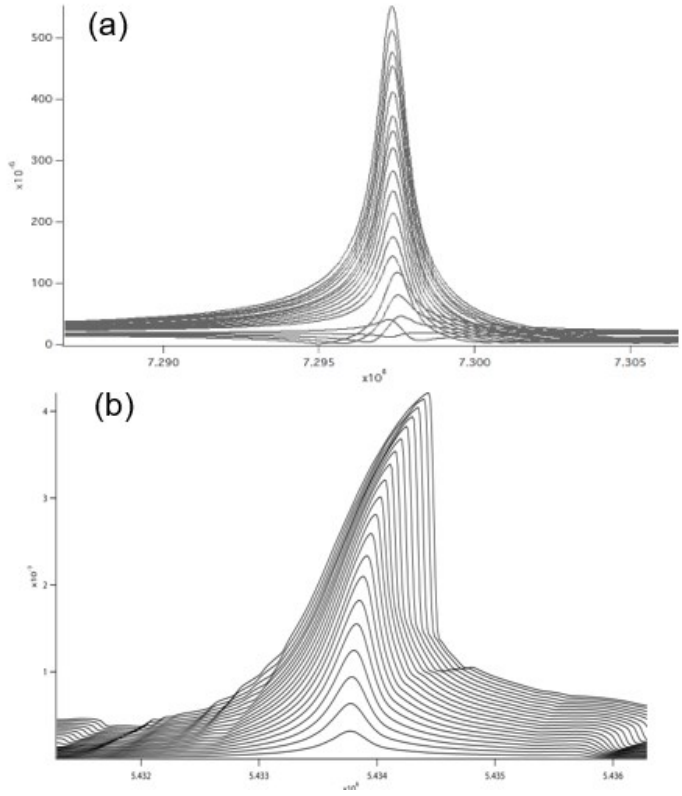
Üretilen bir diğer aygıta ait sürüm voltajı-genlik eğrisi ile bu aygıt kullanılarak sürüm voltajı ile yapılan bir kontak süresi ölçüm eğrileri Şekil 18'de verilmiştir. Rezonatör, rezonans frekansında harekete geçirilmiştir ve sürücü genliği 5-10 V aralığında değiştirilmiştir. 5 Volt'un

aşağısında salınım genliği düşüktür ve rezonatörün ucu lazer noktasına ulaşmaz. 8 V üzerinde rezonatör sabit duvara çarpar ve genlik artmaz. Asıl temas süresini değerlendirmek için lock-in yükselticiyi kapılı bir foton sayacı ile değiştirdik (SR400, Stanford Research Systems). Çığ etkili fotodiyottan üretilen atımlar, 50 ns'lik bir kapı genişliği kullanılarak sayılmış ve hem temas hem de temassız şartlar altında (yukarıdaki şekil) rezonatör hareketi sırasında çiftleme gecikmesi rezonans frekansında taranmıştır. Elde edilen dalgalar, $V_{piezo} \geq$ 8 V için uç duvarı temasına bağlı olarak doygunluğa ulaşıldığını açıkça göstermektedir ve rezonatörün sanal olarak temas ettiği zaman aralığının üst sınırını tahmin etmeye izin vermektedir. Temas sırasında bu nedenle bir süreliğine sıcak nokta oluşmaktadır. Gerçekte, sürülen rezonatör düzensiz bir hareket izlemektedir ve temas kesintisizdir, ancak optik çözünürlükteki esas sınırlamaya bağlı olarak bu kadar yüksek hassasiyette karakterizasyon mümkün olmamaktadır. Çalışmamızda Rayleigh şiddeti maksimum değerinin %5'i dâhilinde olduğunda plazmonik sıcak noktanın etkili olduğunu varsaymaktayız. Sonuç olarak, 8 µs'lik salınım için, salınım periyodunun %15'ine tekabül eden 1,5 µs'lik bir süre boyunca sıcak alan oluştuğu hesap edilmiştir.



Şekil 18. Üretilen rezonatörlerden bir diğerine ait **(a)** sürüm voltajı-genlik, **(b)** Kontak süresi-Raman sinyal şiddeti (doğrusal) **(c)** Kontak süresi-Raman sinyal şiddeti (logaritmik) eğrileri.

Yukarıdaki Şekil 18(a)'da incelenen rezonatör için 8 Volt sürme gerilimden yukarda uygulanan gerilimlerde rezonatörün sabit duvara yaslandığını ancak osilasyonun devam ettiğini görmekteyiz. Bu durumda moleküllerin osilatörün duvara temas halinde geçirdiği yaklaşık 1,5-2,0 μs boyunca oluşan sıcak noktanın etkisinde kaldıkları anlaşılmaktadır. Şekil 18(b) ve 18(c)'de bu durum daha net şekilde görülmektedir. Özellikle Şekil 18(c)'deki logaritmik eğriye bakıldığında oluşan sıcak nokta alanındaki zamana bağlı dalgalanmalar karakteristiğine uygun şekilde sıcak nokta oluştuğunun bir göstergesidir. Farklı sürüm voltajlarında rezonatörün sürüm frekansına bağlı verdiği yanıt incelendiğinde Şekil 19(a)'daki gibi rezonatör tek başına serbest iken simetrik bir rezonans eğrisi, ancak sabit bir duvar yanındayken ise Şekil 19(b)'deki gibi oldukça asimetrik bir rezonans eğrisi izlediği görülmektedir. Bu konudaki detayları içeren makalemizi yayınladık ([1] numaralı proje çıktısı). Rezonans tepe noktasındaki yüksek frekanslara olan kayma rezonatörün elastik özelliğinde voltajla artan bir sertleşmeye, bu da rezonatörle duvar arasında sıkışmış olan moleküller üzerinde artan sürme voltajıyla artan bir kuvvet uygulandığına işaret etmektedir.



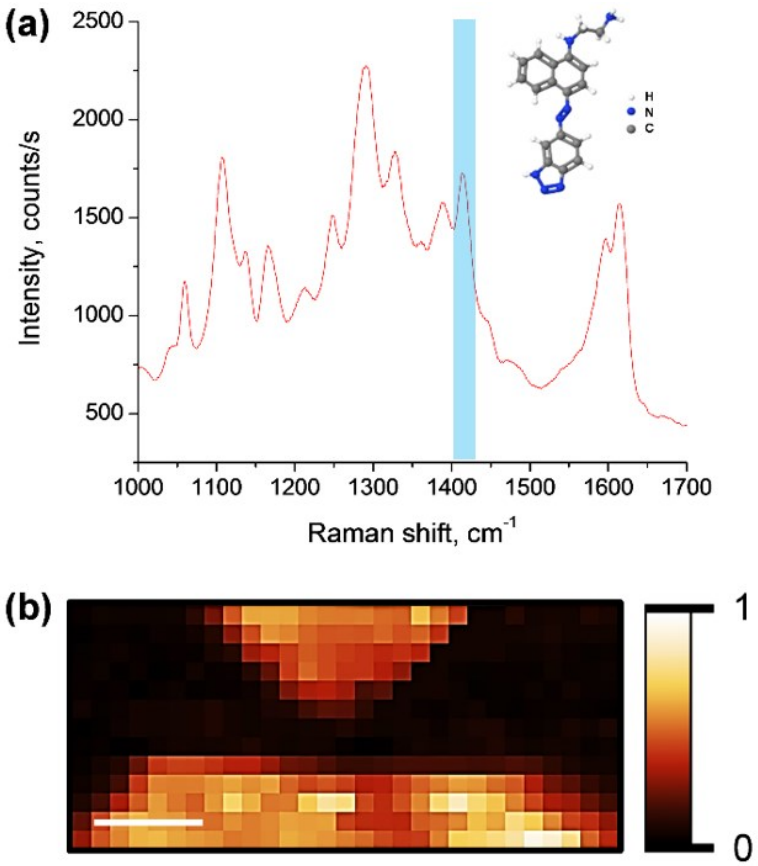
Şekil 19. Artan sürüm voltajına bağlı rezonans eğrileri (x ekseni frekans, y ekseni genlik) **(a)** Serbest rezonatör **(b)** Sabit duvar yakınındaki rezonatör

Özellikle Şekil 18 ve 19'da sunulan bilgiler ışığında az sayıda molekül üzerinde kuvvet modüleli Raman spektroskopisi yapmaya yarayacak bir aygıtın üretimini başarıyla gerçekleştirildiğimizi düşünüyoruz.

4.2.2 FORMERS yardımlı Raman ölçümleri:

Çalışmanın bu kısmında oldukça iyi bir raman üreticisi olan Benzotriazol azo (BT-azo) boyası kullanılmıştır. Bu molekül metanol içinde çözülerek FORMERS aygıtı bu çözeltiye daldırılmış ve molekülün tüm yüzeylere yapışması sağlanmıştır. Üretim optimizasyonunu takiben ince metal film ile kaplanması yapılmış, Raman saçıcı molekül yerleştirilerek yüzey Raman haritası DC yerine rezonatör ana ve üst harmonik frekanslarında çıkarılabilmiştir.

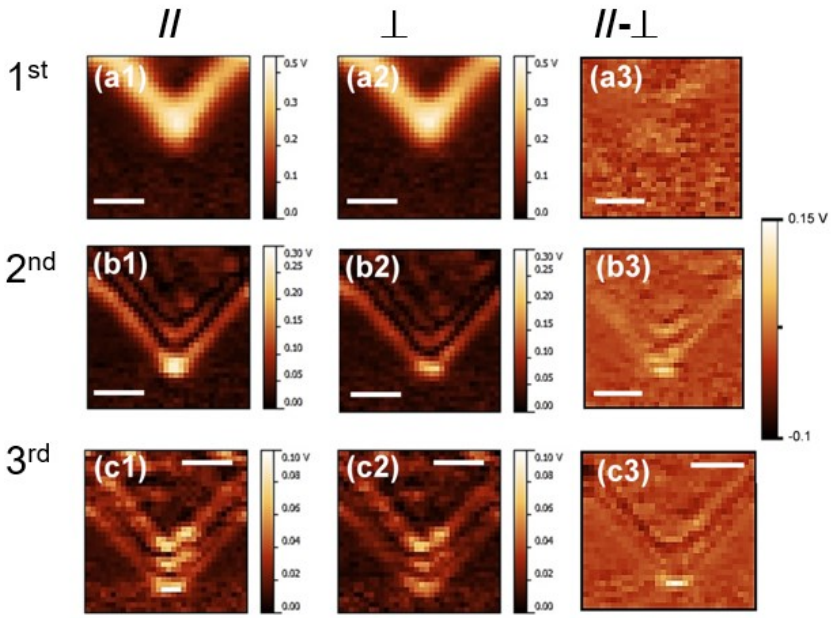
Şekil 20'de kullanılan boya molekülüne ait Raman spektrumu ve aygıtın üzerinde statik koşulda alınmış Raman haritası görülmektedir.



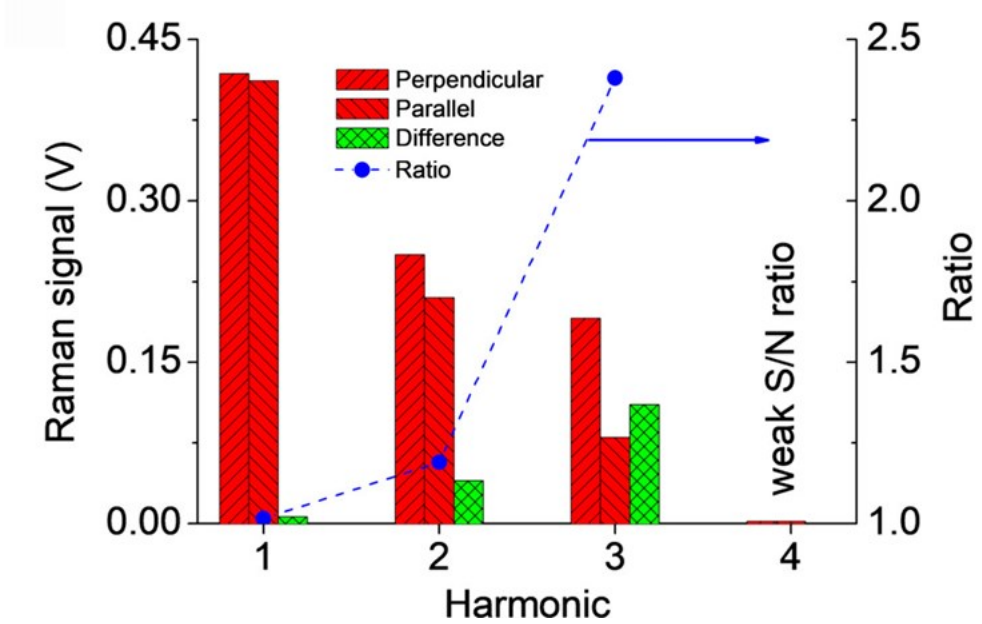
Şekil 20. (a) Benzotriazol azo Raman spektrumu **(b)** Statik koşulda alınmış konfokal Raman haritası (mavi bölgedeki 1420 cm^{-1} Raman bandı kullanılmıştır).

Aygıt rezonans frekansında sürülürken Raman sinyalinin üst harmonik frekanslarda polarizasyona bağımlı haritalanması ile fark ve oran değerlerinin harmoniğe bağlı gösterimi Şekil 21'de verilmektedir. Burada sırasıyla a,b ve c sıraları ilk, ikinci ve üçüncü harmoniği göstermektedir. Şekil 22'de harmoniklere göre Raman şiddet maksimum değerlerinin

polarizasyona göre gösterimi sunulmaktadır. Mavi noktalar iki polarizasyonun birbirine oranını, siyah noktalar birbirlerinden farkını göstermektedir.

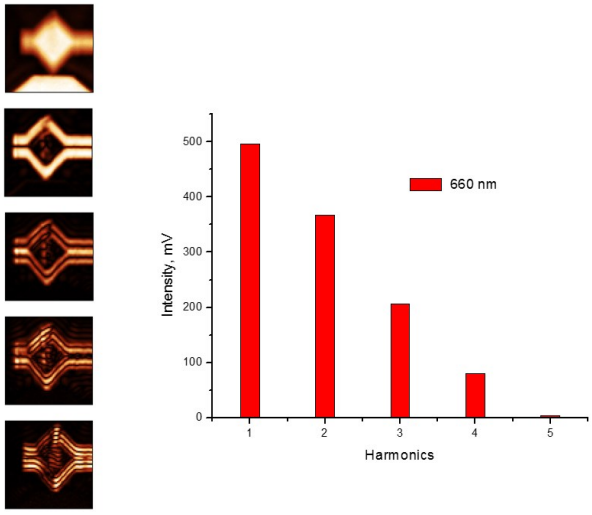


Şekil 21. Harmonik Raman haritaları. **(a)** temel **(b)** 2. **(c)** 3. Harmonik'te paralel, dik ve fark polarizasyon haritaları.



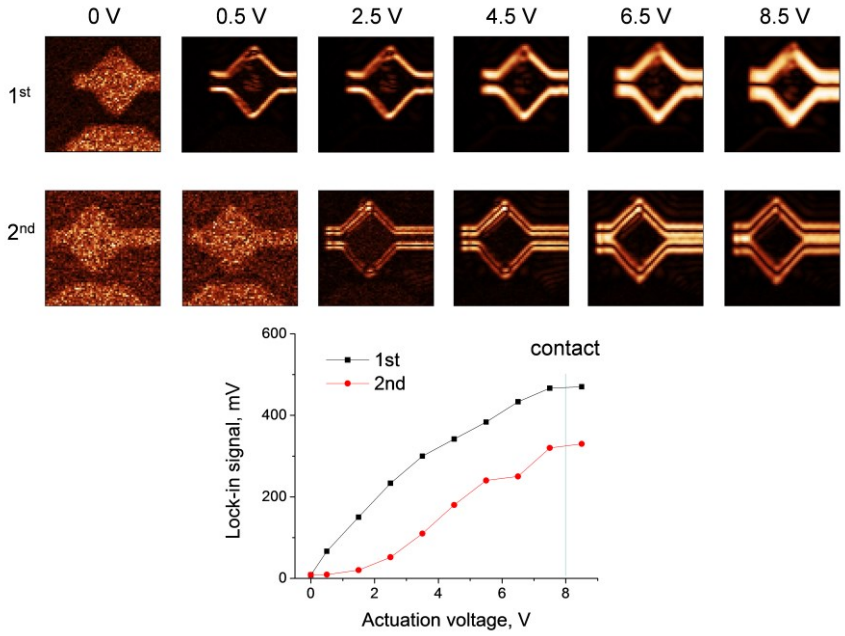
Şekil 22. Harmoniklere göre Raman şiddet maksimum değerlerinin (kırmızı barlar) ve farklarının (yeşil bar) polarizasyona göre gösterimi. Mavi noktalar iki polarizasyonun birbirine oranını göstermektedir.

Harmoniklerin lock-in tekniğinde frekans kilitli olarak ölçümlerinde birbirlerine göre mutlak şiddetlerinin bir analizi yapılmak istenirse Şekil 23'te sağ panelde bu bağıntının ilk 5 harmonik için harmonik sayısına aşağı yukarı doğrusal olarak bağlı olduğu görülecektir. Şekil 23'te sol panelde ise yukarıdan aşağıya ilk beş harmonik şiddet haritaları gösterilmektedir.



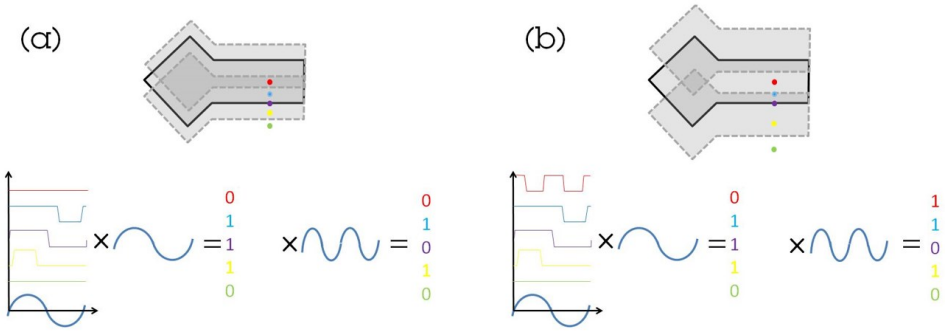
Şekil 23. Sağda ilk 5 harmoniğin lock-in tekniğinde frekans kilitli olarak ölçümde birbirlerine göre mutlak şiddetlerinin gösterimi, solda ise bu ilk 5 harmonikte alınmış Raman haritaları.

Artan sürme voltajı ve dolayısıyla salınım genliği ile 1. ve 2. harmonik Rayleigh sinyallerinin rezonatör rezonans frekansında elde eden haritaları Şekil 24'te göstermektedir.

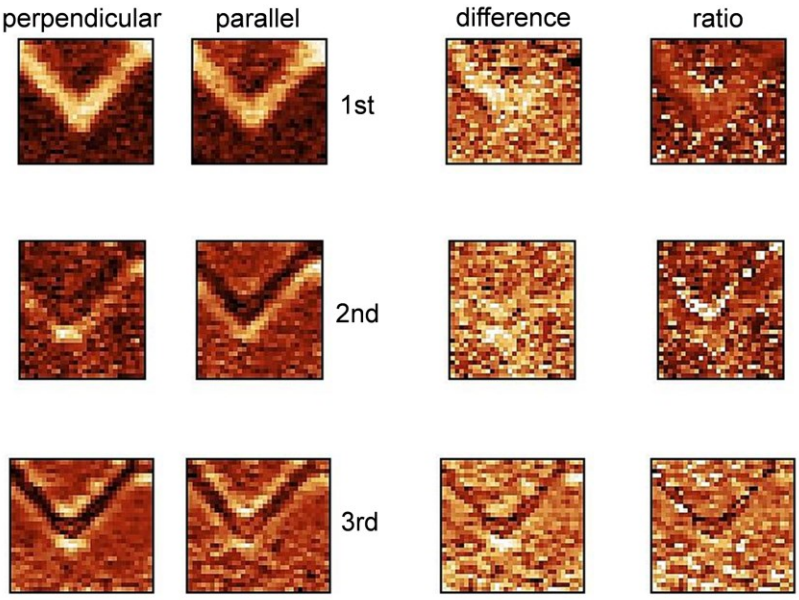


Şekil 24. Üstte, artan sürme voltajı ve dolayısıyla salınım genliği ile 1. ve 2. harmonik Rayleigh sinyallerinin rezonatör rezonans frekansında elde eden haritaları; altta sinyalin artan voltaja göre iki harmonikte değişimleri.

Elde edilen görüntüler hem harmonikler hem de genlik ile değişen bazı tuhaf yoğunluk modelleri göstermektedir. Bu şekillerin kaynağı, görüntü elde etme biçiminden kaynaklanmaktadır. Rayleigh saçılması sinyali, birkaç salınım döngüsü için her noktada toplanır ve sonra her harmonikte kilitleme tekniği ile dekonvolüsyon yapılır. Salınım nedeniyle Rayleigh saçılımı sabit olmayan bu konumlarda sinyal yüksektir. Bu, rezonatörün merkezinin (Şekil 25'teki kırmızı nokta) düşük voltajlar için birinci ve ikinci harmoniklerde neden karanlık olduğunu açıklar. Bununla birlikte daha yüksek voltajlarda genlikler rezonans frekansını iki katına çıkarmak için yeterlidir; bu, birinci harmonikte hala sıfır sinyal, ikinci harmonikte pozitif sinyal, üçüncü harmonikte sıfır ve dördüncü harmonikte pozitif sinyal oluşturur. Bu durum her salınım genliğinde aynıdır. Aynı mekanizma frekans modüle edilmiş Raman görüntülerinin oluşturulması sırasında da geçerlidir.



Şekil 25. Rayleigh ve Raman saçılma görüntülerinin oluşum mekanizmasını açıklayan çizim.



Şekil 26. İki dik polarizasyonda (aralığa dik veya paralel) farklı harmonikler kullanarak Raman sinyalinin (BT-Azo boyasının 1420 cm^{-1} tepe noktası) dekonvolüsyonu. Sağ panellerde hesaplanan fark ve oran haritaları verilmektedir.

Şekil 26'da gösterildiği gibi frekansın üst harmoniklerinde dekonvolüsyon yapılarak Raman haritaları oluşturulduğunda iki dik polarizasyon sinyali arası fark sinyalinde tam sıcak noktadan gelen yüksek bir Raman sinyali gözlenmektedir. Beklenildiği gibi sıcak nokta oluşturulan aralığa dik polarizasyonda iken oluşmakta, paralel polarizasyon sinyali ise tekniğin Şekil 25'te detaylandığı üzere yalnızca geometrisinden dolayı kenarlarda oluşan parazitik aydınlık bölge sinyalini içermektedir. Dik polarizasyon sinyalinden paralel polarizasyon sinyali çıkarıldığında sıcak noktanın oluştuğu görülmekte ve ispat edilmiş olmaktadır.

Bu projeden kaynaklı SCI endeksli yayın çıktılarımız (ortak proje yürütücüleri koyu işaretlenmiştir):

[1] Naumenko, D.; Toffoli, V.; Greco, S.; Dal Zilio, S.; **Bek, A.**; **Lazzarino, M.** "A Micromechanical Switchable Hot Spot for SERS Applications." Appl. Phys. Lett. 2016, 109, 131108 / DOI: 10.1063/1.4964123

[2] Greco, S.; Dal Zilio, S.; **Bek, A.**; **Lazzarino, M.**; Naumenko, D. "Frequency Modulated Raman Spectroscopy", ACS Photonics, 2018, 5, 312-317 / DOI: 10.1021/acsphotonics.7b01026

5. TARTIŞMA/SONUÇ

Projede MEMS tekniği ile yüzey artırımlı Raman sinyal frekans modülasyonu için geliştirilen rezonatör yatay tasarımı sayesinde mekanik rezonans frekansı dedektör yanıt hızının elverdiği durumda çalıştırılmış ve Raman sinyalinde temel ve ilk dört üst harmonikte demodülasyon ile projede göstermek istediğimiz frekans ve kuvvet kipli Raman spektroskopisi aygıtı FORMERS'in üretimi başarılmış, karakterize edilmiştir. Yapılan polarizasyona bağlı ölçümlerde beklenildiği gibi aygıtın yalnızca hareketli parçasından demodüle sinyal geldiği tespit edilmiş, bu sinyalin iki polarizasyondaki farkı alındığında farkın yalnızca beklenildiği gibi iki metal nanoyapı arasındaki sıcak noktadaki az sayıda molekülden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Geliştirdiğimiz rezonatörün farklı sürüm gerilimleri ile frekans-genlik eğrileri çıkarıldığında görülmüştür ki artan voltajla rezonans tepe noktası konumları gitgide artan frekanslarda oluşmaktadır. Bu da göstermektedir ki rezonatör mekanik olarak sertleşmekte, yani duvar ile arasındaki moleküller üzerine kuvvet uygulamaktadır. Böylelikle rezonatörün kuvvet modüleli olarak çalıştırılması mümkündür. Projede hedeflenen aygıt üretilmiştir. Ayrıca daha da artan kuvvet altında moleküllerden gelen Raman sinyalinin doyuma ulaştığı görülmektedir. Projede temel prensiplerini ortaya koyduğumuz moleküler düzeyde kuvvet uygulamaya izin veren MEMS tabanlı tasarımlar ile moleküllerin mekanik özelliklerinin Raman spektroskopisi yardımıyla saptanması konusu irdelenebilecektir.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Doç. Dr. ALPAN BEK
Proje No:	115F603
Proje Başlığı:	Kuvvet Modüleli Raman Spektroskopisi (Formers)
Proje Türü:	Uluslararası
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ORTA DOĞU TEKNİK Ü. FEN-EDEBİYAT F. FİZİK B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/07/2016 - 01/07/2018
Onaylanan Bütçe:	23000.0
Harcanan Bütçe:	22995.24
Öz:	Projemiz, kuvvet kipli Raman spektroskopisi için mikro-elektromekanik (MEMS) tabanlı bir aygıt üretimi gerçekleştirmek ve bu aygıtın çalışma prensibini göstermek amacıyla geliştirilmiştir (FORce ModulatEd Raman Spectroscopy - FORMERS). Yüzey artırımlı Raman spektroskopisinde (SERS) olduğu gibi plazmonik alan artırımı yöntemi kullanılarak moleküler yapı özelliklerini araştırmaya yarayan bir moleküler Raman spektrokopisi aygıtı üretimi hedeflenmiştir. Böyle bir aygıt şu avantajları sağlayacaktır: molekül duyarlığı, yapısal değişikliklere olan yüksek hassasiyet, etiketleme gerektirmeden çalışma olanağı, kolay üretim, tamamlayıcı veri kanallarıyla uyumluluk.
Anahtar Kelimeler:	Raman, spektroskopi, kuvvet, frekans, MEMS, plazmon
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- Frequency Modulated Raman Spectroscopy (Makale - Diğer Hakemli Makale), 2- A micromechanical switchable hot spot for SERS applications (Makale - İndeksli Makale),

TÜBİTAK