



# **Tek Molekül Tespiti İçin Frekans Kipli Raman Saçılması**

**Program Kodu: 2504**

**Proje No: 113F375**

Proje Yürütücüsü:  
**Doç. Dr. Alpan BEK**

NİSAN 2016  
ANKARA



## Önsöz

Projemiz, molekül ve malzeme tanımlamada parmak izi olarak kullanılan ve görülür spektral bölgede uygulanan Raman saçılması optik yönteminin mikro-elektro-mekanik ve plazmonik tekniklerle duyarlılığının ve saçılma kesit alanının artırılması amacıyla geliştirmiştir. Proje kapsamında az miktarda molekülden Raman sinyali plazmonik alan artırımının mekanik rezonatörler sayesinde frekans kipli olarak ölçülmesiyle yüksek duyarlık elde edilmiştir. Proje önerisi yalnızca seyahat desteği isteği ile Tübitak-Ardeb-2504 programı Tübitak- İtalya Ulusal Araştırma Konseyi (CNR) İşbirliği Programı'na önerilmiş, kabul edilmiş ve desteklenmiştir. Proje ortakları Ankara'da Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fizik Bölümü Nano Optik Araştırma Laboratuvarı'ndan Dr. Alpan Bek ve Trieste-İtalya'da Malzeme Bilimleri Enstitüsü'nden (CNR-IOM) proje konularında uzman olan Dr. Marco Lazzarino'dur.



## 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 Birinci Fremors Tasarımı	5
4.1.1 Mekanik Tasarım	5
4.1.2 Pentacene kaplama yöntemi	8
4.1.3 Plazmonik etkinlik	10
4.2 İkinci Fremors Tasarımı:	14
4.2.1 Mekanik tasarım	14
4.2.2 Raman sinyal üretici iyileştirmeleri	16
5. TARTIŞMA/SONUÇ	18

## Şekil listesi

Şekil 1. SOL: Ag kolloidlerin TEM görüntüsü. SAĞ: Au kolloidlerin ...	1
Şekil 2. Tek molekül SERS: (A) Deney düzeneği. (B) ...	2
Şekil 3. Atomik kuvvet mikroskopu (AFM) manipülasyonu ile ...	3
Şekil 4. (A) Kırılma eklem ile nanometre altı boşluk kontrolü, (B) MEMS...	4
Şekil 5. Mekanik rezonatör yapısı	5
Şekil 6. Plazmonik nanoyapı ikilisi için metal kaplama	5
Şekil 7. Üretilmiş mekanik rezonatörlerin mikroskop görüntüsü	6
Şekil 8. Üretilen NEMS aygıtların SEM görüntüsü	7
Şekil 9. NEMS aygıtların konfokal mikroskop görüntüleri	7
Şekil 10. Pantacene kaplı NEMS aygıt şeması	8
Şekil 11. NEMS aygıtı salınım için uyaran piezo sürücü	9
Şekil 12. Mekanik rezonans ölçümü	9
Şekil 13. MEEP bölüt ağı (mesh) yapısı	10
Şekil 14. Yapının plazmonik salınım kipleri	10
Şekil 15. Yapının saçılma ve sönümlenme kesit alanları	11
Şekil 16. NEMS aygıt üstten görünüm şeması	11
Şekil 17. Pentacene Raman spektrası	12
Şekil 18. Raman band büyüklüklerinin voltajla değişimi	12
Şekil 19. Rezonatör aralığı	13
Şekil 20. Geometrik faktör hesabı	14
Şekil 21. İkinci Fremors tasarımı: yatay rezonatör	15
Şekil 22. Üretilmiş ikinci tasarımın SEM görüntüsü	16
Şekil 23. Frekans ve voltaj yanıt eğrileri	17
Şekil 24. Konfokal lazer optik, Raman görüntüleri ve polarizasyon fark sinyali	18



## Özet

Projemiz, molekül ve malzeme tanımlamada parmak izi olarak kullanılan Raman saçılmasının mikro-elektro-mekanik ve plazmonik tekniklerle duyarlığının ve saçılma kesit alanının artırılması amacıyla geliştirmiştir. Yüksek duyarlıkta, az miktarda ve tek molekül tanısı moleküler tıp ve genetikte, besin teknolojisinde patojen bulgusunda, patlayıcı, bağımlılık yapıcı, bulaşıcı kimyasal tanısında önem kazanmaktadır. Proje kapsamında az miktarda molekülden Raman sinyalinin plazmonik alan artırımının mekanik rezonatörler sayesinde frekans kipli olarak ölçülmesiyle yüksek duyarlık elde edilmiştir. Bu duyarlık plazmonik alan artırımının polarizasyona bağımlılığı kullanılarak başarılmıştır. Proje için özgün iki mekanik rezonatör tasarımı yapılmış, elektron demet litoğrafisi ve kuru aşındırma yöntemiyle üretilmiş ve plazmonik altın tabakalarla kaplanmıştır. Rezonatör boşluğuna buharlaştırma ve sıvı damlatma yöntemleriyle molekül kaplama gerçekleştirilmiştir. Rezonatörler piezo kristallerle sürülmüş ve ters optik mikroskop ve Raman spektrometresi yardımıyla ölçümler gerçekleştirilmiştir. Deneylerimizde Pentasen molekülüne ait Raman sinyali dikey mekanik rezonatörlerde plazmonik artırımı olarak, Benzotriazol azo molekülüne ait Raman sinyali ise yatay rezonatör yardımıyla frekans kiplenmiş olarak ölçülebilmektedir.



## **Abstract**

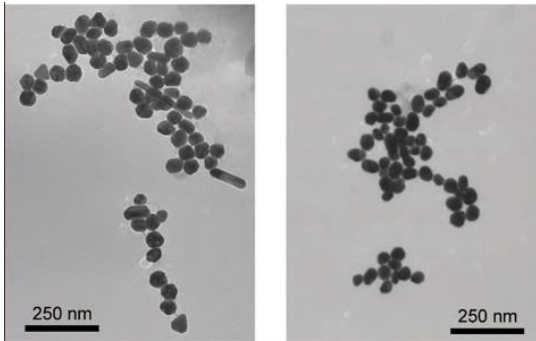
Our project is developed for identification of molecules and materials using Raman spectroscopy by improving the sensitivity via micro-electro-mechanical systems and plasmonics technology enabling increased scattering cross-sectional area. High precision detection of small amount of molecules is becoming essential in molecular medicine and genetic diagnosis, pathogen diagnostics in food technology and the diagnosis of infectious, explosive and addictive chemicals. A small amount of molecules was detected by measuring the frequency modulation in Raman signal due to the frequency modulated plasmonic enhancement of the excitation field by mechanical resonators. This precision is achieved using polarization dependence of plasmonic field enhancement. Two original mechanical resonator designs were 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. Mechanical resonators were driven by a piezo crystal, an inverted optical microscope and Raman spectrometer was used for measurements. Plasmon enhanced Raman signal of Pentacene was detected using a vertical mechanical resonator and frequency modulated Raman signal was detected from Benzotriazol azo using a horizontal resonator.

## 1. GİRİŞ

Son yıllarda tek molekül tanısı taramalı tünelleme mikroskopisi, atomik kuvvet mikroskopisi ve floresans mikroskopisi gibi farklı yöntemlerle gösterilmiştir. Düşük kesit alanına rağmen Raman spektroskopisi de yüzey arttırımı (SERS) sayesinde tek molekül duyarlığına erişebilmiştir. Bu teknikte metalik yüzeylerin elektronik ve plazmonik rezonanslarında gerçekleşen alan arttırımından yararlanılmaktadır. Üstte sayılan tekniklere göre Raman spektroskopisi gelişmiş ve oturmuş spektroskopik yanıyla incelenen moleküllerin kimyasal karakterizasyonunu yüksek doğrulukta gerçekleştirmektedir. Bu nedenle halen aktif olarak daha üstün özelliklere ve alan arttırımına ulaşan yüzey üretimi konusunda ve Raman spektroskopisi tekniğini diğer moleküler tanı teknikleriyle kombine etme konusunda bilim dünyasında yarış sürmektedir. Projemizde bu doğrultuda Türkiye’den arttırımlı Raman saçılması ve plazmonik konusunda uzman bir ekip ile İtalya’dan mikro-elektro-mekanik sistemler (MEMS) ve sensör teknolojisi konusunda uzman iki ekibin ortak çalışması ile özgün bir fikirle dünyada ilk kez frekans kipli Raman saçılması (FREMORS) yapmaya olanak sağlayan bir platform geliştirilmesi ve bu sayede tek ya da az sayıda molekülden Raman saçılması gerçekleştirilmesi hedeflenmektedir.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

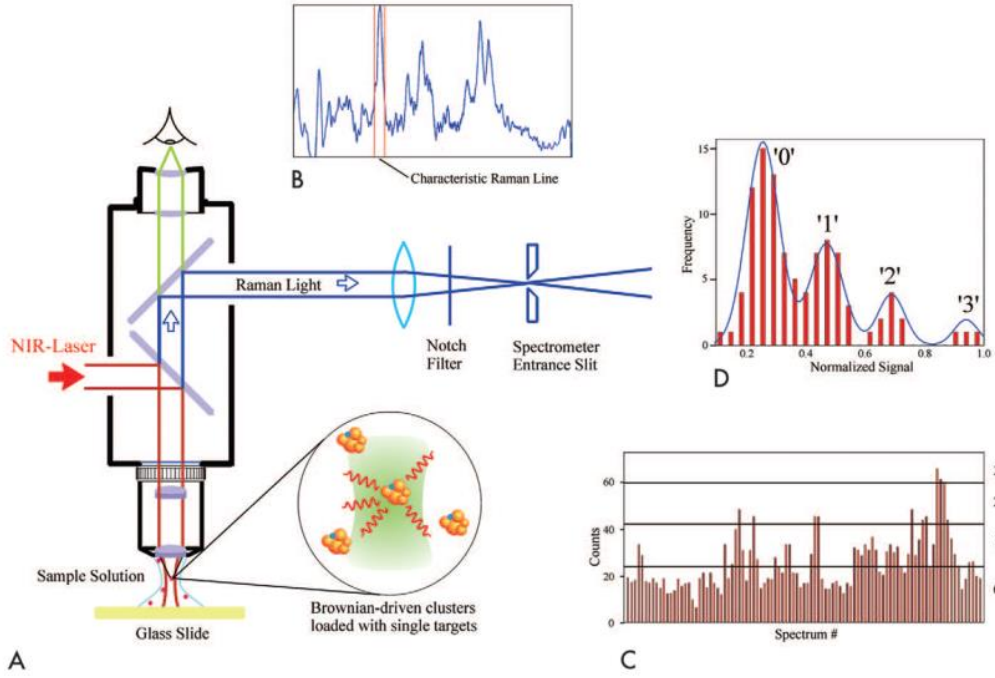
Projemizde geleneksel yüzey arttırımlı Raman saçılmasının konumsal çözünürlük açısından fakir oluşundan yola çıkılmıştır. SERS’te en sık kullanılan yol altın yada gümüş nanoparçacıkların solüsyonda bilinmeyen analitler ile bir araya getirilmesiyle dir. Nanoparçacıkların dış etmenler ya da analit-nanoparçacık etkileşmesi sonucu olarak çökmesi ve aralarındaki nanometre düzeyindeki boşluklara analitler hapsolür (Şekil 1).



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

Solüsyon lazer ışığı ile aydınlatıldığında metal nanoparçacıklarda plazmonik rezonanslar uyarılır ve küçük ara boşluklarda yüksek alan 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 yükselebilmektedir [(Blackie

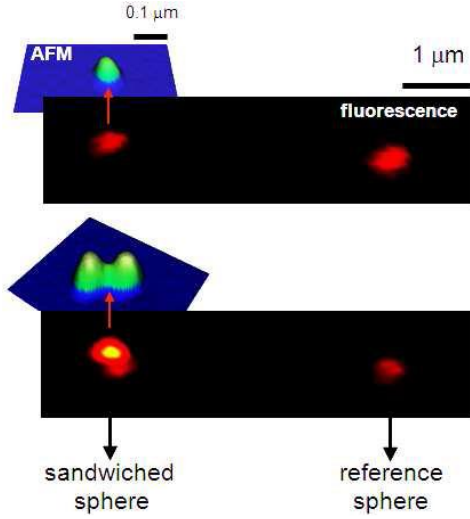
(2007)]. Ne yazık ki bu yöntemde analit moleküllerin tam olarak konumları belirlenememekte ve ortalama sinyal şiddetleri belirlenebilmektedir. Dahası hedeflenen sıcak noktalardan gelen sinyalin lazerle aydınlanan tüm solüsyon bölgesinden kaynaklanan genel ard alan sinyalinin ayırımı mümkün olmamaktadır.



Şekil 2. Tek molekül SERS: (A) Deney düzeneği. (B) Crystal violet molekülüne ait tipik SERS sinyali; İstatistiksel analizde kullanılan  $1170 \text{ cm}^{-1}$  Raman çizgisi gösterilmiştir. (C) 1 s aralıklarla alınmış Raman sinyali şiddeti ölçümünün zamana bağlı değişimi. (D) Raman sinyali 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 seyreklik crystal violet molekülü ile gümüş nanoparçacıklar karıştırılmış ve Raman sinyali tepe şiddetleri zamana bağlı olarak incelenmiştir. Bu dağılımın istatistiksel 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.



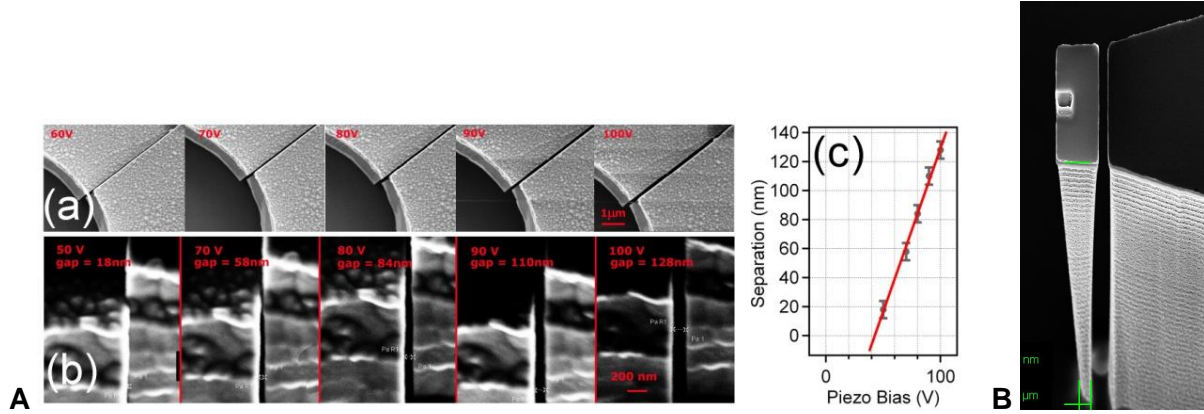


Şekil 3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) manipülasyonu ile iki altın nanoparçacık arasında oluşturulan sıcak nokta

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 floresan 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 floresan nanokürede floresans 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 grup 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 frekansına dikey yapıdadır ve sabir bir duvara 100 nm mesafe kalacak şekilde 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<sup>2</sup>'lik bir alan içinde yüzlerce üretilmektedir. 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.

### Kaynakça

- 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 NEMS aygıtların nanometre altı çözünürlükte mesafe hassasiyeti ile metal ikili nanoyapıların arttırım gücünün bir araya getirilerek sıcak noktalar oluşturarak tek ya da az sayıda molekülden Raman saçılması ölçümü olmuştur. Projede metal nanoyapıların arasındaki mesafelerin belirli bir frekans ile kiplenmesi (modülasyonu) ve Raman sinyalinin bu frekansta geri kiplenmesi (demodülasyonu) ile ard alan gürültüsünden arındırılmış olarak sıcak noktadan kaynaklanan sinyalin ortaya çıkarılması yöntemi izlenmiştir. NEMS 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 salınım yaptırılmıştır. Bu salınım sırasında ters mikroskop ve Raman spektrometresi yardımıyla polarizasyona bağlı olarak alınan Raman sinyalleri mekanik salınım frakansında geri

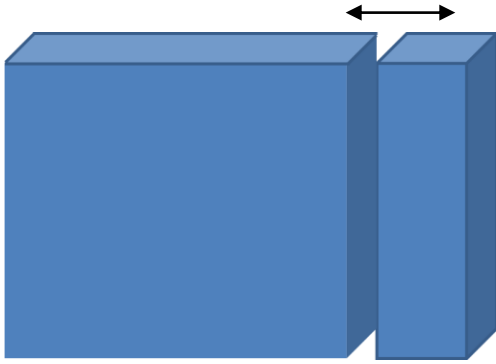
kiplenmiş ve iki boyutlu piezokızak tabla kullanılarak yüzey mikro-Raman haritalandırılması gerçekleştirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Birinci Fremors Tasarımı

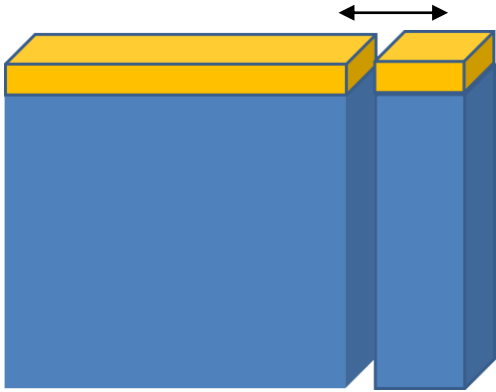
#### 4.1.1 Mekanik Tasarım

Proje kapsamında elektron demet litografisi tekniğiyle silisyum alttaş üzerine dikey sütun şeklinde mekanik rezonatörler için ve bu sütunların çok yakın aralığında dikey sabit duvar görevi görmek üzere dikdörtgen ve çokgen pozlama yapılmış ve bu şekilde oluşturulan fotorezist üzerine Nikel kaplanıp kaldırma yapılarak metal maske oluşturulmuş, metal maske yardımıyla da Bosch tekniği kullanılarak derin reaktif iyon aşındırma uygulanarak rezonatör yapısı üretilmiştir. Şekil 5'te ortaya çıkan silisyum mekanik rezonatör yapısı şematik olarak gösterilmiştir; solda sabit duvar, sağda ise yatayda mekanik salınım yapması tasarlanan dikey sütun görülmektedir:



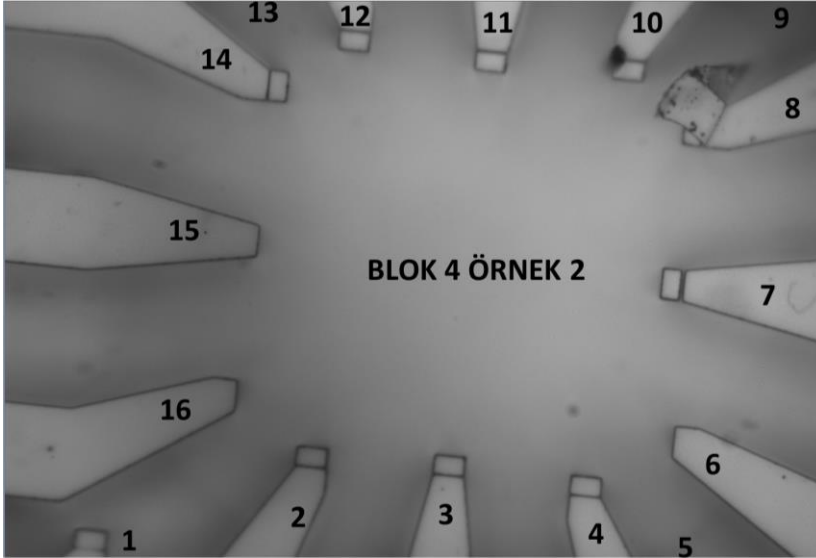
Şekil 5. Mekanik rezonatör yapısı

Daha sonra bu yapının üzerine termal buharlaştırma ile yaklaşık 50 nm kalınlığında altın kaplama yapılmış ve aşağıdaki şematik yapı elde edilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Plazmonik nanoyapı ikilisi için metal kaplama

Amaç bu altın tabaka yüzeyine yerleştirilecek bir molekülün yapacağı Raman saçılmasının kuvvetli plazmonik alan arttırımı sayesinde yükseltgenmesidir. İki altın yapı arasında kalan aralık bölgedeki plazmonik alan arttırımı iki altın tabakanın birbirlerine olan mesafesine son derece bağlıdır. Bu konuda daha önceki çalışmalarında ekibimiz nanoparçacıklar arasındaki mesafenin parçacıklar arasına yerleştirilen üçüncü bir floresan parçacığın floresans şiddetini doğrusal olmayan bir şekilde değiştirdiğini deneysel olarak göstermişti. Fremors projesinde ise bu kez mekanik rezonansa sahip bir sütunun rezonans frekansında yatayda yaptığı salınım sayesinde duvarla arasındaki aralığın genişliğinin değiştirilebileceğinden ve yerel elektromanyetik alan şiddetinin bu aralığa oldukça doğrusal olmayan şekilde bağlı olacağından hareketle bu kez aralığa yerleştirilen moleküllerin Raman saçılmasının sütunun mekanik rezonans frekansında modüle edilebilmiştir. Bosch tekniğiyle üretilen bu yapıların üstten standart aydınlık alan optik mikroskop görüntüsü aşağıdaki şekildedir (Şekil 7). Buradaki rezonatörler saat yönünün tersinde numaralandırılmıştır:



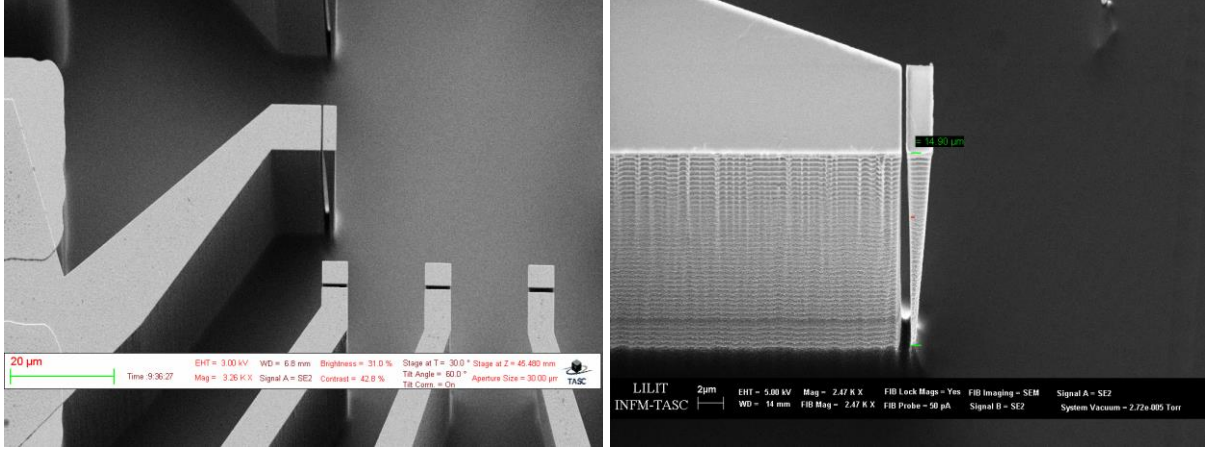
Şekil 7. Üretilmiş mekanik rezonatörlerin mikroskop görüntüsü

Üretimden çıkacak son ürüne ve üretim aşamasında yaşanabilecek sorunlara örnek teşkil etmesi açısından bu örnek seçilmiştir. Burada görüleceği üzere 6, 15 ve 16 numaralı kollarda litografik pozlamada, 8 ve 10 numaraları kollarda ise maske kaldırma aşamasında sorunlarla karşılaşmıştır. Üretimde gidilen en iyileştirmelerle dönem sonu gelinen aşamada bu örnekte gösterilenden daha kaliteli ve tekrar edilebilir mekanik rezonatör yapıları rutin olarak elde edilmiştir. En iyileştirme çalışmaları sonucu elde edilen üretim parametreleri şu şekildedir:

- 1) E-demet litografisi rezisti olarak: PMMA (AR-P 671.09) ve 1 dakikalık MIBK:IPA banyo.
- 2) 30 nm Ni kaplama ve sıcak asetonda kaldırma

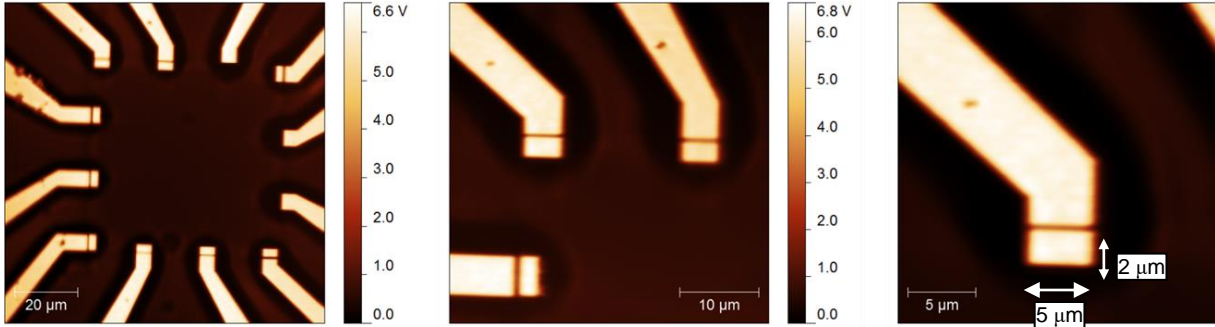
- 3) SF<sub>6</sub> ve O<sub>2</sub> aşındırma ve C<sub>4</sub>F<sub>8</sub> pasivasyon basamaklarından oluşan 50-60 döngü indüktif plazmalı reaktif iyon dağlama
- 4) C<sub>4</sub>F<sub>8</sub> kalıntılarının arındırma üzere son oksijen plazma basamağı
- 5) 1:3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> piranha solüsyonunda nikel maskenin temizlenmesi

Yukarıda özetlenen yöntemle üretilen silisyum sütun-duvar sistemine ait elektron mikroskopu görüntüleri (Şekil 8) aşağıda verilmektedir:



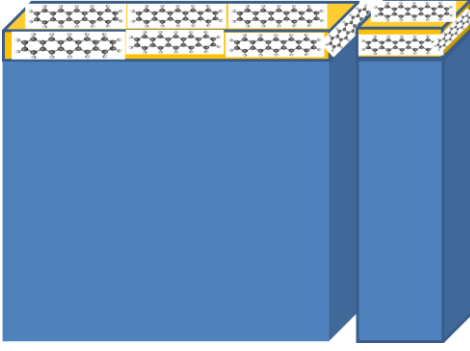
Şekil 8. Üretilen NEMS aygıtların SEM görüntüsü

Aşağıda böyle bir mekanik rezonatör yapının taramalı konfokal optik mikroskop ile alınmış görüntüleri verilmektedir (Şekil 9).



Şekil 9. NEMS aygıtların konfokal mikroskop görüntüleri

En sağ panelde görüldüğü üzere sütun yapılar yaklaşık olarak yatayda 5 mikrona 2 mikron dikeyde 15 mikron ebatlardadır ve duvar ile aralarında mikron altı (yaklaşık 200 nm) boşluk bulunmaktadır. Altın kaplanmış olan yapılara daha sonra 4 ayrı açıdan 2 nm kalınlığında pentacene molekülü kaplanmıştır (Şekil 10).



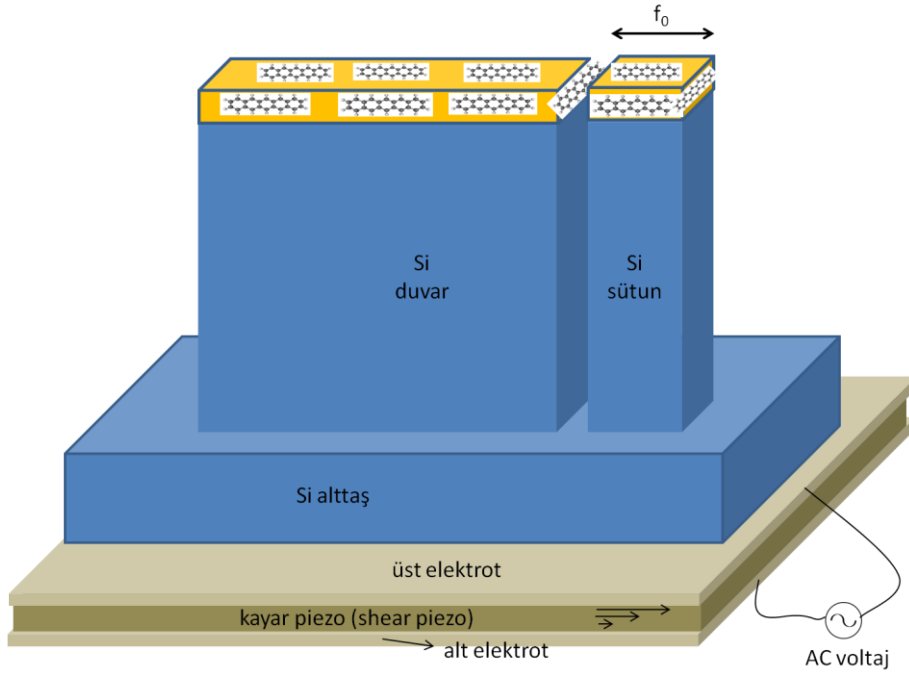
Şekil 10. Pentacene kaplı NEMS aygıt şeması

Kuvvetli bir Raman saçıcısı olan pentacene molekülü frekans modülasyonü çalışması için Raman aracı olarak kullanılmıştır. Yukarıdaki konfokal görüntüde pentacene molekülü kontrast vermemekte, optik görüntüdeki kontrastta altın kaplama baskın rol oynamaktadır.

#### 4.1.2 Pentacene kaplama yöntemi

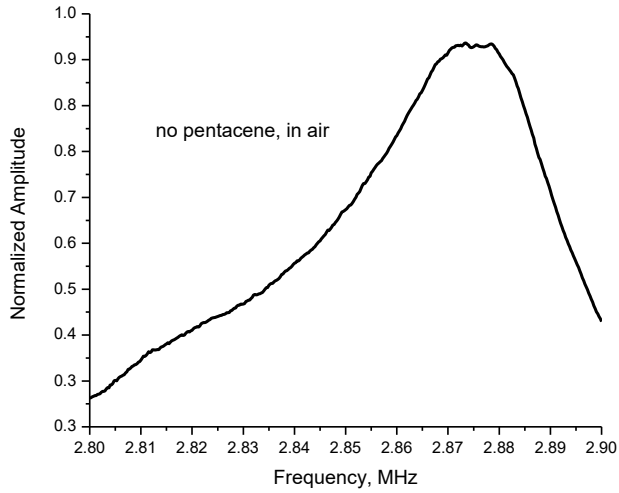
%99,995 saflıkta üç kere süblime sınıfı Pentacene satın alınmıştır (Sigma-Aldrich). Bu molekül azotlu eldiven kutusu'na (glove box) bağlı kendi üretimimiz olan bir termal buharlaştırıcıda buharlaştırılarak FREMORS aygıtına kaplanmıştır. Kaplama hız ve kalınlığı kuvars mikro tartı ile ölçülmüş ve atomik kuvvet mikroskopu ölçümleriyle kalibre edilmiştir. Kaplama hızı  $7 \times 10^{-7}$  mbar'lık kazan basıncında 0,1 Angstrom/s'ye ayarlanmıştır ve toplam 2 nm olarak gerçekleştirilmiştir.

Bu sırada Si mekanik rezonatör sütun ve Si alttaş alt ve üst elektrotlarla donatılmış bir kayar piezo kristalin üzerinde yapıştırılmıştır ve piezonun sütunu farklı frekanslarda mekanik olarak sürmesi sağlanmıştır (Şekil 11)



Şekil 11. NEMS aygıtı salınım için uyarıcı piezo sürücü

Bu şekilde piezoyla sürülen örnek bir sütunun ölçülen rezonans eğrisi aşağıda verilmiştir. Bu örnekte sütun üzerinde altın bulunmaktadır fakat pentacene molekülleri henüz yerleştirilmemiştir (Şekil 12).

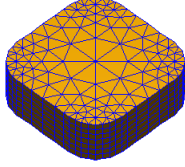


Şekil 12. Mekanik rezonans ölçümü

Bu ölçümden örnek sütunun yatay mekanik salınımının rezonans frekansının 2,87-2,88 MHz aralığında olduğu görülmektedir.

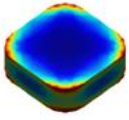
### 4.1.3 Plazmonik Etkinlik

Altın yapının plazmonik yanıtını hesaplamak üzere zamanda sonlu farklar yöntemiyle Maxwell denklemlerini çözmek üzere MEEP paketi kullanılmıştır. Bunun için önce altın yapı hesap kutularına bölünmüştür (Şekil 13)



Şekil 13. MEEP bölüt ağı (mesh) yapısı

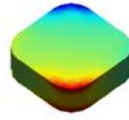
Sonra yapının plazmon salınım kipleri hesaplanmıştır (Şekil 14).



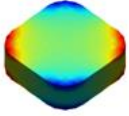
M-1



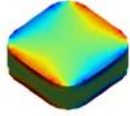
M-2



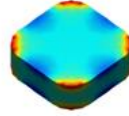
M-3



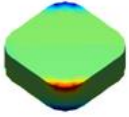
M-4



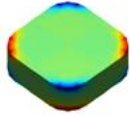
M-5



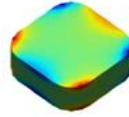
M-6



M-7



M-8

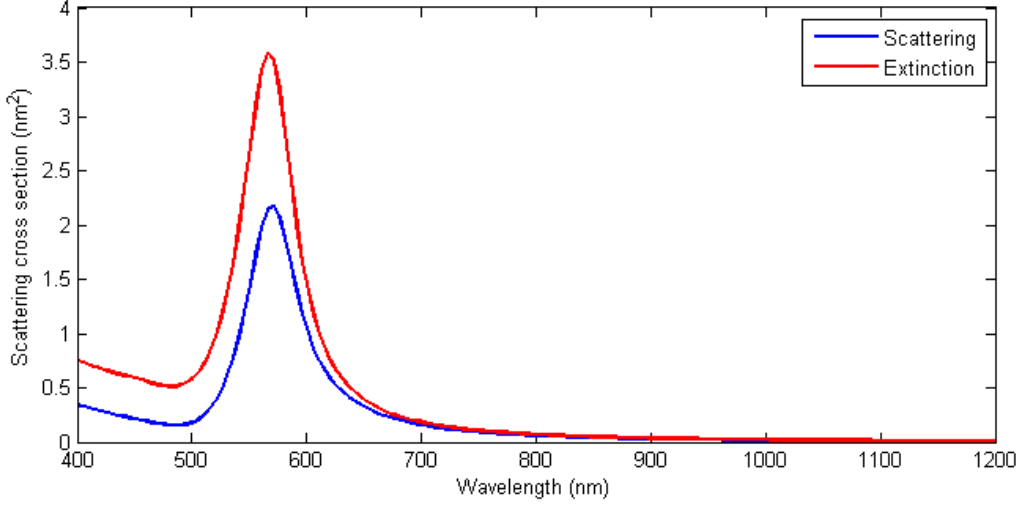


M-9

Şekil 14. Yapının plazmonik salınım kipleri

Bu kipler kullanılarak saçılma ve sönümlenme kesit alanlarına ulaşılmıştır (Şekil 15).

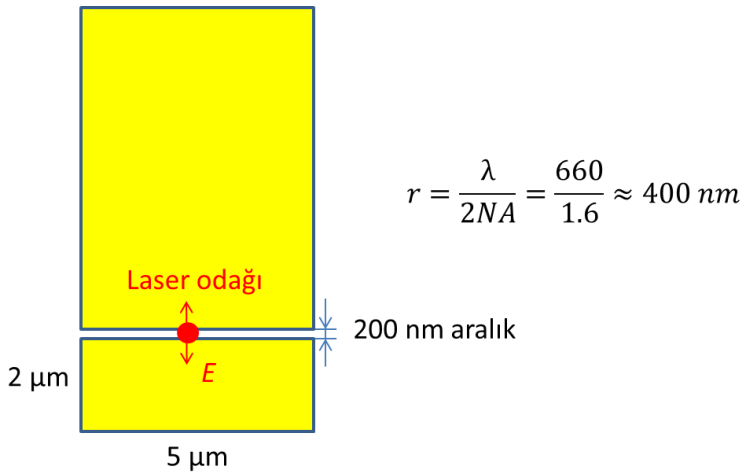




Şekil 15. Yapının saçılma ve sönmüleme kesit alanları

Yapının 550 - 600 nm civarında plazmon rezonansı bulunduğu görülmüştür.

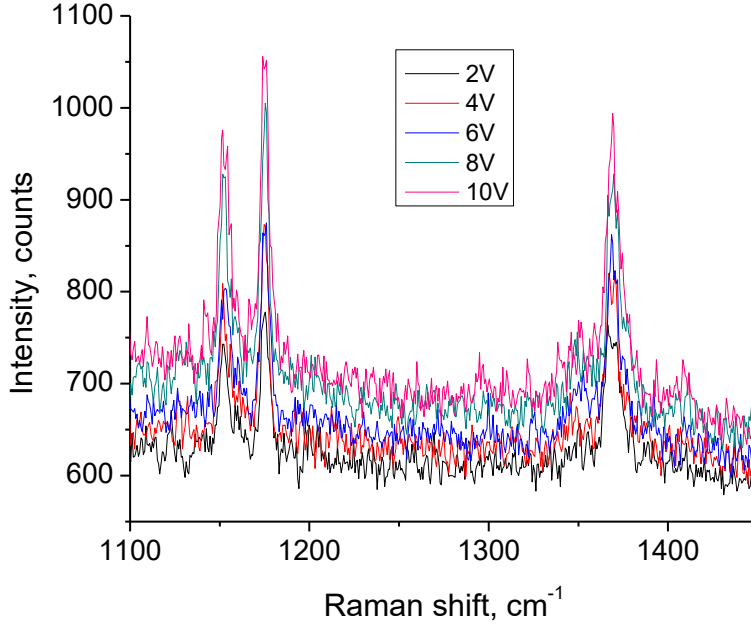
Mekanik ve plazmonik rezonans frekansları belirlenen pentacene kaplı sütun-duvar yapılarının üzerlerine aşağıdaki şematik üstten görünüm çiziminde olduğu şekilde 660 nm dalgaboyundaki tek kipli sürekli bir diyot lazeri odaklanmıştır (Şekil 16).



Şekil 16. NEMS aygıt üstten görünüm şeması

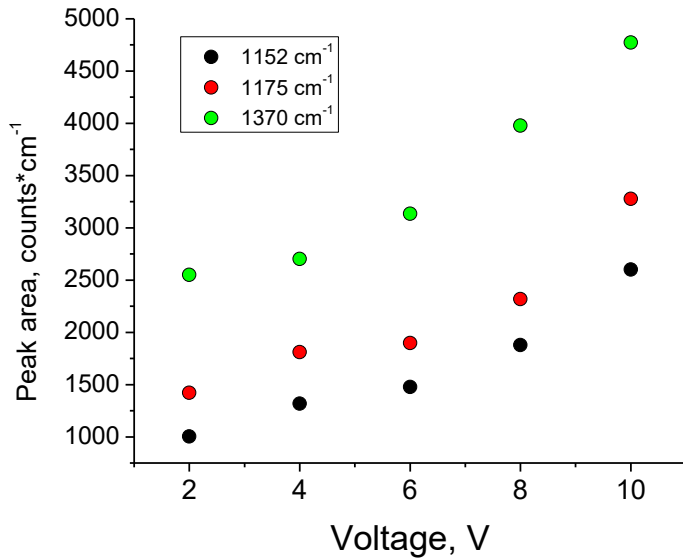
Odak çapı kullanılan 0,8 NA objektifle yaklaşık olarak 400 nm olarak hesaplanmıştır. Bu büyüklük sütun ile duvar arasındaki 200 nm boşluğu rahatlıkla doldurup üzerine çıkacak bir büyüklüktür. Daha sonra mekanik rezonatör sütun alttaki kayar piezoya sütunun rezonans frekansında AC voltajlar uygulanarak sürülmüş ve pentacene molekülünün Raman sinyali

kaydedilmiştir. Sürme voltajı ve buna bağlı olarak sütun salınım genliği değiştirilerek çeşitli Raman tayfları alınmıştır. Aşağıda bu tayfların grafiği verilmektedir (Şekil 17).



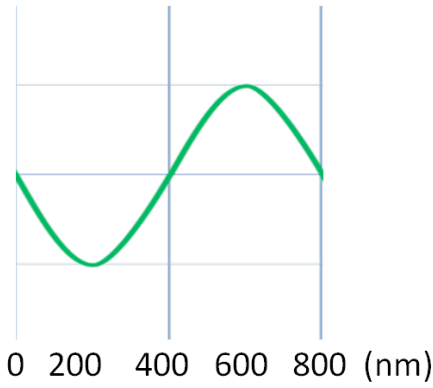
Şekil 17. Pentacene Raman spektrası

Görüleceği üzere her üç pentacene badında da ( $1152 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1175 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1370 \text{ cm}^{-1}$ ) piezoya uygulanan voltajla birlikte artan yönde bir değişim gözlenmiştir. Raman bandlarına ait sinyal tepelerinin toplam alanları voltaja göre çizildiğinde bu durum açıkça gözlenmektedir (Şekil 18).



Şekil 18. Raman band büyüklüklerinin voltajla değişimi

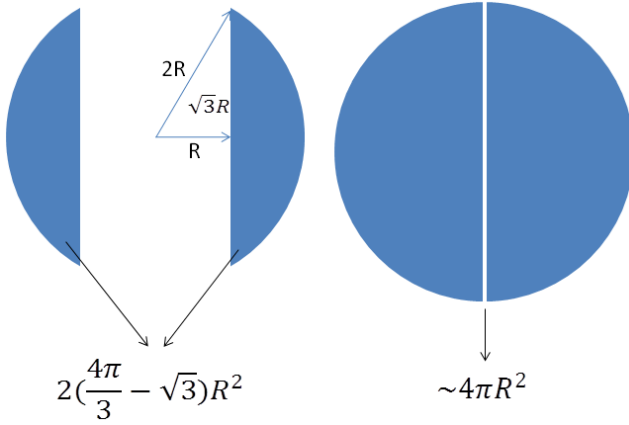
Her üç Raman sinyal şiddetindeki artışı da açıklayabilmek için Fremors projesi ana fikrini kurguladığımız plazmonik etkiyle elektromanyetik alan artışı oluştuğu sonucuna varabiliriz. Burada Raman spektroskopisi sırasında uzun pozlama süreleri ve CCD kamera dedektör kullanıldığından Raman sinyalindeki toplam DC artışı görmekteyiz. Detaylı irdelendiğinde mekanik rezonatörün bir periyot içinde oldukça kısa bir süre için duvar yakınında bulunduğu, dolayısıyla plazmonik altın aralığın her bir periyotta çok kısa bir süre için alan artışı için gerekli olan 10 nm'den küçük bir değere sahip olduğu hesaba katılabilir. Bu durumda tam bir periyot içinde altın parçacıklar arası mesafe toplam 800 nm değişime uğramakta, bu değişimin ise yalnızca  $2 \times 10 \text{ nm} = 20 \text{ nm}$ 'lik bir kısmı için Raman artışı meydana gelmektedir (Şekil 19).



Şekil 19. Rezonatör aralığı

Oranlandığında altın yapılar arasındaki aralık tam bir periyodun yalnızca ( $20 \text{ nm} / 800 \text{ nm} = 0,025$ ) yani %2,5'lik bir bölümünde Raman sinyalinde artış olabilecek kadar küçülmektedir. Toplam DC artışın her bir Raman bandında yaklaşık 2 kat olduğu düşünüldüğünde gerçekleşen plazmonik **Raman artırımının**  $2 / 0,025 = 80 \text{ kat}$  olarak gerçekleştiğini buluruz.

Sütun ile gövde arasına ortalanarak odaklanan ışık demetinin örtüştüğü örnek miktarı da değişmektedir. Bu durum gözlenen Raman artışının yalnızca aradaki boşlukta bulunan moleküllerdeki artıştan kaynaklı olmayıp üst yüzeyde moleküllerle kaplı alanın da salınım sırasında odak ile örtüşmesindeki artıştan da kaynaklanabileceğini göstermektedir. Şekil 20'de bu geometrik faktörü hesapladık.



Şekil 20. Geometrik faktör hesabı

İki durum arası geometrik artırım faktörü iki durumdaki alanların oranlanmasıyla bulunabilir.

$$\text{Bu oran} \quad \frac{2\left(\frac{4\pi}{3} - \sqrt{3}\right)R^2}{4\pi R^2} = \sim 20\%$$

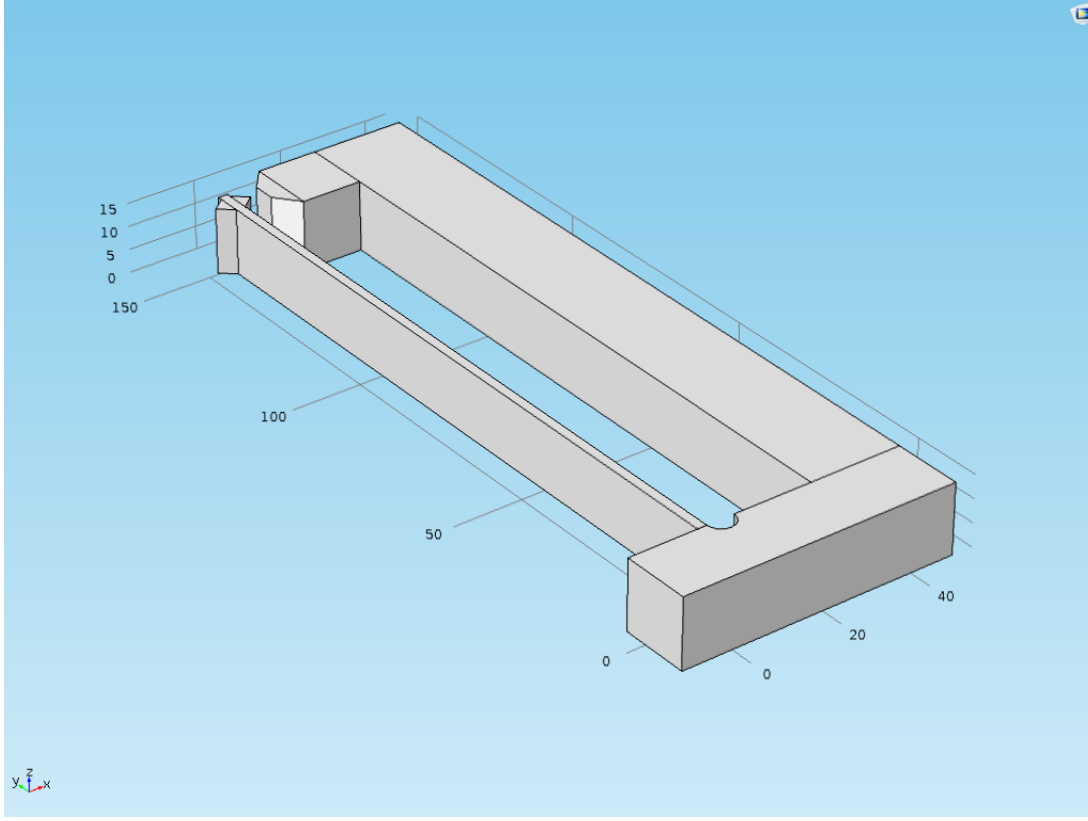
olarak bulunur. Bu da gerçek Raman artırımının daha önce hesaplandığı üzere 80 değil %20 x 80 = **16 kat** gerçekleştiğini göstermektedir.

FREMORS aygıtının aralık bölgesindeki moleküllerden de kaynaklansa sonuç olarak elde edilen DC Raman artırımının yalnızca 2 kat gerçekleşmesi FREMORS aygıtının başarısı için yeterli değildir. Bunda kullandığımız frekansı belirleyici olan geometri ve aygıt boyutlarının önemli bir faktör olduğunu düşünerek alternatif bir aygıt tasarımı gerçekleştirdik.

## 4.2 İkinci Fremors Tasarımı:

### 4.2.1 Mekanik tasarım

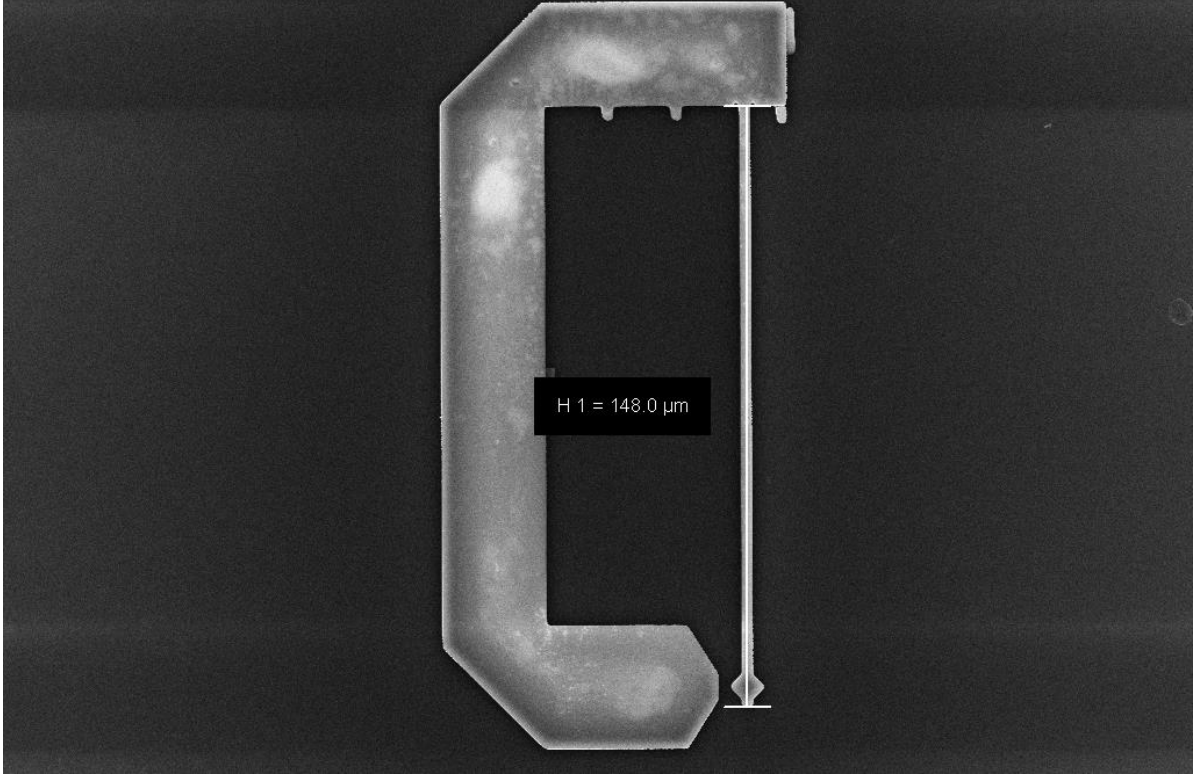
Projenin ikinci döneminde gerçekleştirdiğimiz yeni mekanik tasarımda amaç MHz mertebelerinde bulunan rezonans frekansını aşağılara çekebilme. Bunu gerçekleştirmenin bir yolu eski tasarımda sütun yüksekliğini arttırmak olarak görülmektedir. Eski tasarıma sadık kalınsaydı bu sütun yüksekliği dik doğrultuda standart üretim yöntemleriyle üretilemeyecek yüksek olurdu. Bu nedenle tasarımı dikey mekanik rezonatörden yatay mekanik rezonatöre değiştirmeye karar verdik. Şekil 21'deki çizim planlanan rezonatörü göstermektedir:



Şekil 21. İkinci Fremors tasarımı: yatay rezonatör

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 sağlamıştır. Böylece alınan sinyallerin rezonatörün ana ve ikinci harmonik frekanslarında demodüle edilebilmesini mümkün olmuştur. Bu tasarıma geçmeseydik hem MHz mertebesindeki yüksek frekanslarda çalışabilen hem de Raman dedektörü olabilecek duyarlıkta bir dedektör olmayışı nedeniyle DC Raman artışı ile sınırlı kalacaktık. Yeni tasarımı gerçekleştirerek proje önerisindeki demodülasyon fikrini sinayacak bir ortam yaratmış olduk.

Birinci tarasarımda kullanılan yöntemlerle aşağıda bu şekilde bir yapıya ait taramalı elektron mikroskopu görüntüsü bulunmaktadır (Şekil 22).



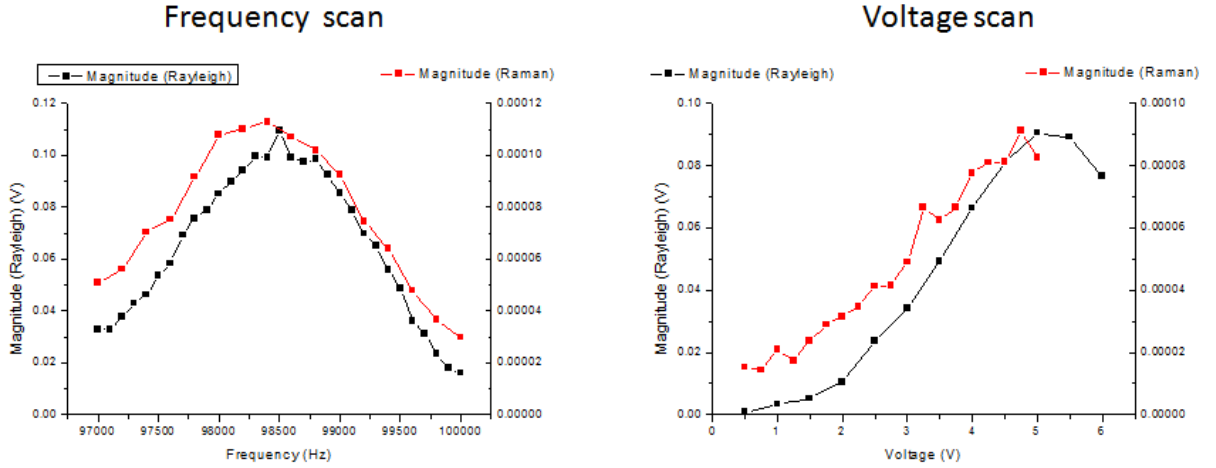
Şekil 22. Üretilmiş ikinci tasarımın SEM görüntüsü

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 ( $\text{SiO}_2$ ) tabaka aşındırılarak yatay mekanik rezonatörün alttaş ile olan bağlantısı kaldırılmıştır. Havada asılı serbest bir yatay rezonatör olarak görev yapması beklenmektedir. Moleküllerin yerleşeceği kısım (Şekilde altta) sivriltilerek plazmonik yakın alan arttırımının dar bir alana sınırlandırılması sağlanmıştır. Üretim optimizasyonunu takiben plazmonik parçacıklarla ya da ince metal film ile kaplanması yapılmış, Raman saçıcı molekül yerleştirilerek yüzey Raman haritası DC yerine rezonatör ana ve üst harmonik frekanslarında çıkarılmıştır.

#### 4.2.2 Raman sinyal üretici iyileştirmeleri

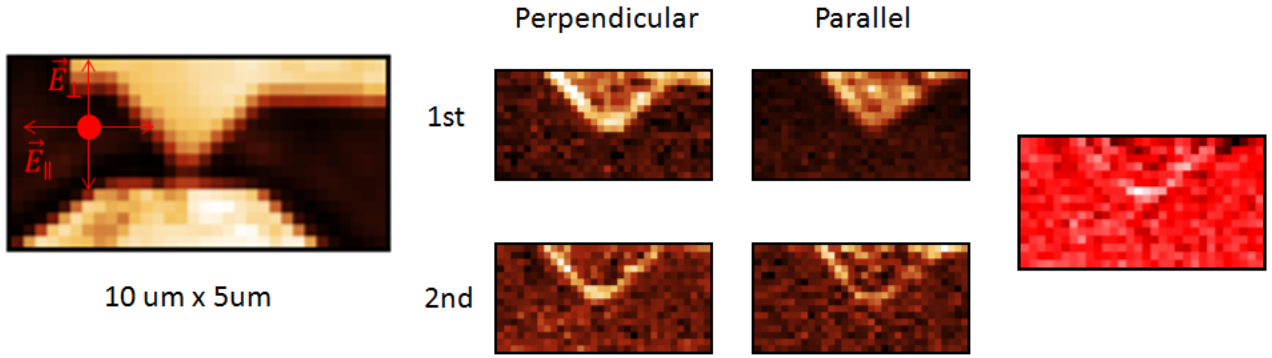
Pentacene molekülü her ne kadar Raman sinyali üreticisi olarak oldukça başarılıysa da kaplama tekniğinden kaynaklı olarak bazı dezavantajları bulunmaktadır. Sıcak noktaların olduğu aralığa yeterince molekül girmediğinden şüphelenmekteyiz. Bu nedenle oldukça iyi bir Raman üreticisi olan Benzotriazol azo (BT-azo) boyası kullanmaya karar verdik. Bu molekül metanol içinde çözülerek FREMORS aygıtı bu çözeltiliye daldırılmış ve molekülün tüm yüzeylere yapışması sağlanmıştır.

Aşağıdaki şekilde (Şekil 23) sol panelde üretilen aygıtın frekans yanıtı gösterilmektedir. Siyah noktalar yansımadaki (Rayleigh saçılması) modülasyona karşılık gelmekte, kırmızı noktalar ise Raman saçılması modülasyonuna denk gelmektedir. Sağ panelde ise yansıma ve Raman genliklerinin piezo modulatöre uygulanan voltaj ile değişimi gösterilmiştir.



Şekil 23. Frekans ve voltaj yanıt eğrileri

Bunun yanı sıra projede amaçlanan Raman haritaları elde edilmiştir. Haritalar aşağıdaki şekilde (Şekil 24) verilmiştir. Sol panelde 10 mikron x 5 mikron'luk bir geniş bir aygıt alanından alınan yansıma haritası gösterilmektedir. Bu harita klasik konfokal mikroskopi görüntüsüne denk gelmektedir. Konfokal mikroskopiden tek farkı odağın ayna ile değil örneğin piezo kaydırıcı ile piksel piksel taranmasıdır. Elde edilen görüntü sayesinde belirlenen sıcak nokta kontak bölgesinin daha sonra Raman spektrometresinden alınan sinyalin tek kanallı dedektörle ölçülerek üst kolun modüle edildiği ana frenakta ve bu frekansın ikinci harmoniğinde demodüle edilmesiyle Raman haritaları çıkarılmaktadır. Orta paneldeki dört görüntü paralel ve dik polarizasyon yönlerinde ana ve ikinci harmoniklerde alınan Raman tarama görüntüleridir. Burada aygıtın sabit duran alt tabanından beklenildiği gibi herhangi bir modülasyon sinyali gelmediğini gözlemliyoruz. İkinci gözlemimiz de üstte hareketli kolun ise kenarlarından modülasyon sinyali geldiğidir. Bu da odağın içine kolun girip çıkmasıyla oluşan beklenen bir durumdur. Esas ilgilendiğimiz sıcak noktada Raman artışı olup olmadığını ise iki ortogonal polarizasyonun ikinci harmonik demodülasyonunda fark sinyalini gösterdiğimiz sağ panelden irdelemek mümkündür. Burada Raman şiddetinin yoğun olduğu bölgenin hareketli kol ile sabit tabanın temas ederek oluşturduğu sıcak nokta olduğu ortaya çıkmaktadır.



Şekil 24. Konfokal lazer optik, Raman görüntüleri ve polarizasyon fark sinyali

## 5. TARTIŞMA/SONUÇ

Projede NEMS yapılar yardımıyla yüzey artırılmış Raman sinyal frekans modülasyonu için geliştirilen ilk dikey rezonatör aygıt tasarımı mekanik rezonans frekansı Raman ölçümüne elverişli tek kanal dedektörlerin yavaş kalması nedeniyle çok yüksek kalmıştır ve ölçümler CCD dedektör yardımıyla DC olarak yapılmıştır. Bu nedenle ikinci bir mekanik rezonatör tasarımı sayesinde mekanik rezonans frekansı düşürülerek dedektör yanıt hızının elverdiği durum yakalanmış ve Raman sinyalinde temel ve ikinci harmonikte demodülasyon ile projede göstermek istediğimiz FREMORS aygıtı üretimi başarılı ve karakterizasyonu yapılmıştır. 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. Proje sonunda önerilebilecek iki ana hususu dile getirmek gerekirse: tasarımdaki aygıt elektron demet litoğrafisi yerine konvansiyonel optik litoğrafi ile üretilebilirse aynı yonga üzerine yan yana yüzlercesi yerleştirilerek Raman tabanlı sensör geliştirilmesi mümkün olacaktır; ayrıca moleküler düzeyde madde manipülasyonuna izin veren aygıt yardımıyla plazmonik sıcak noktaya yerleştirilecek moleküller üzerindeki kuvvetler ile Raman sinyalinin değişimi takip edilerek temel araştırma alanında da moleküler mekanistik özelliklerin saptanması konusu irdelenebilecektir.



**TÜBİTAK  
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

Proje Yürütücüsü:	Doç. Dr. ALPAN BEK
Proje No:	113F375
Proje Başlığı:	Tek Molekül Tespiti İçin Frekans Kipli Raman Saçılması
Proje Türü:	Uluslararası
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ORTA DOĞU TEKNİK Ü. GÜNEŞ ENERJİSİ ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ (GÜNAM)
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/04/2014 - 15/04/2016
Onaylanan Bütçe:	6800.0
Harcanan Bütçe:	4720.57
Öz:	<p>Projemiz, molekül ve malzeme tanımlamada parmak izi olarak kullanılan Raman saçılmasının mikro-elektro-mekanik ve plazmonik tekniklerle duyarlılığının ve saçılma kesit alanının artırılması amacıyla geliştirmiştir. Yüksek duyarlıkta, az miktarda ve tek molekül tanıma moleküler tıp ve genetikte, besin teknolojisinde patojen bulgusunda, patlayıcı, bağımlılık yapıcı, bulaşıcı kimyasal tanısında önem kazanmaktadır. Proje kapsamında az miktarda molekülden Raman sinyalinin plazmonik alan artırımının mekanik rezonatörler sayesinde frekans kipli olarak ölçülmesiyle yüksek duyarlık elde edilmiştir. Bu duyarlık plazmonik alan artırımının polarizasyona bağımlılığı kullanılarak başarılmıştır. Proje için özgün iki mekanik rezonatör tasarımı yapılmış, elektron demet litoğrafisi ve kuru aşındırma yöntemiyle üretilmiş ve plazmonik altın tabakalarla kaplanmıştır. Rezonatör boşluğuna buharlaştırma ve sıvı damlatma yöntemleriyle molekül kaplama gerçekleştirilmiştir. Rezonatörler piezo kristallerle sürülmüş ve ters optik mikroskop ve Raman spektrometresi yardımıyla ölçümler gerçekleştirilmiştir. Deneylerimizde Pentasen molekülüne ait Raman sinyali dikey mekanik rezonatörlerde plazmonik artırımı olarak, Benzotriazol azo molekülüne ait Raman sinyali ise yatay rezonatör yardımıyla frekans kiplenmiş olarak ölçülebilmektedir.</p>
Anahtar Kelimeler:	Raman spektroskopisi, MEMS, SERS, tek molekül spektroskopisi
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır