



TAMPEREEN TEKNILLINEN YLIOPISTO  
TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

SOFIA SUOMALA  
POLYVINYYLIALKOHOLILLA STABILOITUJEN FLUORESOIVIEN  
KULTANANOKLUSTEREIDEN VALMISTUS JA KARAKTERISOINTI

Diplomityö

Tarkastaja: Associate Professor  
Juha Toivonen  
Tarkastaja ja aihe hyväksytty  
31. tammikuuta 2018

## TIIVISTELMÄ

**SOFIA SUOMALA:** Polyvinyylialkoholilla stabiloitujen fluoresoivien kultananoklustereiden valmistus ja karakterisointi

Tampereen teknillinen yliopisto

Diplomityö, 60 sivua

Lokakuu 2018

Teknis-luonnontieteellinen diplomi-insinöörin tutkinto-ohjelma

Pääaine: Teknillinen fysiikka

Tarkastaja: Associate Professor Juha Toivonen

Alle kahden nanometrin kokoiset yhteen kerääntyneistä atomeista koostuvat hiukkaset, nanoklusterit, muodostavat ominaisuuksiltaan ainutlaatuisen materiaaliluokan. Nanoklustereita voidaan valmistaa monista eri alkuaineista ja niiden yhdistelmistä, mutta erityisesti jalometallinanoklustereita on tutkittu laajasti. Nanoklustereiden pienen koon vuoksi niiden energiatilat ovat erillisiä jatkuvan vyön sijaan, minkä ansiosta ne voivat vuorovaikuttaa valon kanssa molekyylien tavoin. Tästä osoituksena on nanoklustereiden emittoima voimakas fluoresenssi. Suuren kappaleeseen verrattuna samasta materiaalista valmistetut nanoklusterit ovat erilaisia myös mm. optisilta, magneettisilta ja katalyyttisiltä ominaisuuksiltaan. Nanoklustereiden syntetisointiin on esitetty useita erilaisia menetelmiä käyttäen mm. kemikaaleja tai valoa. Syntetisoidut nanoklusterit tulee stabiloida jollakin yhteen kasvamista ehkäisevällä aineella, kuten esimerkiksi proteiinilla tai polymeerillä. Nanoklustereille on löydetty laajasti mahdollisia sovelluksia liittyen mm. kuvantamiseen, ympäristöön ja lääketieteeseen.

Tässä diplomityössä syntetisoitiin kultananoklustereita polyvinyylialkoholista valmistettuun, kultaioneja sisältävään polymeeriohukkalvoon käyttäen pienitehoista jatkuvatoimista laseria. Tietävästi tällä menetelmällä ja näistä materiaaleista syntetisoiduista nanoklustereista ei ole julkaistu aiempia tuloksia. Muodostuneiden kultananoklustereiden ominaisuuksia karakterisoitiin laboratoriossa käyttämällä mittausjärjestelyä, joka toimi fluoresenssimikroskooppina ja jolla pystyttiin samanaikaisesti seuraamaan näytteen fluoresenssiemissiospektriä. Virittävälle säteilylle altistetuista näytteistä havaittiin kirkas ja vakaa fluoresenssiemissio ja näytteisiin onnistuttiin tekemään yksinkertaista laserkirjoitusta, mikä osoittaa nanoklustereiden syntetisoinnin ja stabiloinnin onnistuneen. Virittäessä nanoklustereita laserilla, jonka aallonpituus oli 473 nm, niiden emittoiman fluoresenssisäteilyn maksimikohta oli noin 570 nm. Sekä näytteiden intensiteetin, että spektrin muuttumista ajan funktiona tutkittiin altistamalla ne lasersäteilylle eri tehoilla. Lisäksi näytteiden kemiallinen stabiilius osoitettiin pitkään säilytettyä näytettä tutkimalla. Mitattuja tuloksia analysoitiin mm. matemaattisilla soviteilla ja vertailulla aiempiin julkaisuihin.

## ABSTRACT

**SOFIA SUOMALA:** Synthetization and Characterization of Fluorescent Gold Nanoclusters Stabilized with Polyvinyl Alcohol

Tampere University of Technology

Master of Science Thesis, 60 pages

October 2018

Master's Degree Programme in Science and Engineering

Major: Advanced Engineering Physics

Examiner: Associate Professor Juha Toivonen

Nanoclusters consist of a small number of atoms and are less than two nanometers in size. They form a new material class with unique properties. Nanoclusters can be synthesized from multiple elements and their combinations, but noble metal nanoclusters have been studied most extensively. Because of their small size, nanoclusters have discrete energy levels instead of a continuous band. This leads to their molecule-like interaction with light and therefore to strong fluorescence emission. Compared to their bulk counterparts, nanoclusters of the same material exhibit unique optical, magnetic and catalytic properties. Several nanocluster synthetization methods have been developed, including reduction with light or chemicals. It is necessary to use a stabilizing agent, for example a suitable protein or polymer, to stabilize the nanoclusters after synthetization in order to prevent agglomeration. Various applications for nanoclusters have been suggested in imaging, environment, medicine and other fields.

In this Master of Science Thesis a low power continuous wavelength laser was used to synthesize gold nanoclusters in a polyvinyl alcohol thin film. No previous reports were found on this combination of materials and synthetization method. The formed nanoclusters were characterized using a custom-made fluorescence microscope setup that could simultaneously be used to monitor the emission spectrum of the sample. A strong and stable fluorescence emission was detected from the samples exposed to an exciting beam. Simple laser writing could also be created on the samples, which proves that the synthetization and stabilization of the nanoclusters was successful. Samples excited using a laser with the wavelength of 473 nm emitted fluorescence signal with a maximum at 570 nm. The evolution of the emission intensity and spectrum was studied as a function of time with different exciting laser powers. In addition, the chemical stability of the samples was shown by measurements of a sample that was stored for approximately six months after its preparation. Results of the measurements were analyzed by making mathematical fits and comparing to earlier publications.

## ALKUSANAT

Tämä diplomityö tehtiin Tampereen teknillisen yliopiston Fotoniikan laboratoriossa sovelletun optiikan tutkimusryhmässä. Suurimmat kiitokseni haluan osoittaa Associate Professor Juha Toivoselle diplomityöni ohjaamisesta ja mahdollisuudesta työskennellä tässä ryhmässä, johon tunsin itseni tervetulleeksi heti ensimmäisistä päivistä alkaen. Kiitos myös tohtori Mohammad Bitarafanille yhteistyöstä sekä monista arvokkaista ohjeista ja keskusteluista niin diplomityöhöni, kuin täydelliseen kahviin liittyen.

Aikani Fotoniikan laboratoriossa ei olisi ollut samanlaista ilman koko sovelletun optiikan ryhmää ja muuta henkilökuntaa. Työkavereiltani sain jokaisessa tilanteessa tarpeellisen määrän niin hyödyllisiä neuvoja, kuin aiheita naurullekin, mistä olen kiitollinen. Lopuksi haluan kiittää perhettäni. Kiitos, että olette aina luottaneet minuun ja valintoihini sekä olleet vankkumattomana tukena.

Tampereella, 21.11.2018

Sofia Suomala

## SISÄLLYSLUETTELO

1.	JOHDANTO .....	1
2.	NANOKLUSTERIT .....	3
	2.1 Määritelmä .....	3
	2.2 Rakenne .....	5
	2.3 Ominaisuudet .....	10
	2.4 Valmistaminen .....	14
	2.5 Sovellukset .....	17
	2.6 Karakterisointimenetelmiä .....	19
3.	NANOKLUSTERIT POLYMEERIKALVOSSA .....	22
	3.1 Spin-coating -menetelmä .....	22
	3.2 Polyvinyylialkoholi .....	23
	3.3 Polyvinyylialkoholikalvot .....	25
	3.4 Hopeananoklusterit polymeerikalvossa .....	26
	3.5 Mahdollisia sovelluksia .....	28
4.	MENETELMÄT .....	30
	4.1 Näytteenvalmistus .....	30
	4.2 Nanoklustereiden syntetisointi .....	31
	4.3 Mikroskopia ja spektroskopia .....	33
	4.4 Analysointimenetelmät .....	35
5.	TULOKSET .....	37
	5.1 Nanoklustereiden syntetisointi .....	37
	5.2 Laserin tehon vaikutus .....	39
	5.3 Fluoresenssispektroskopia .....	40
	5.4 Ohutkalvon karakterisointi .....	42
6.	TULOSTEN ANALYSOINTI .....	44
	6.1 Nanoklustereiden muodostuminen .....	44
	6.2 Emission intensiteetti ja stabiilius .....	46
	6.3 Emissiospektrit .....	48
	6.4 Ohutkalvon ominaisuudet .....	50
7.	YHTEENVETO .....	52
	LÄHTEET .....	54

## LYHENTEET JA MERKINNÄT

$\Delta E$	Emission energia
Ag	Hopea
Au	Kulta
$E_f$	Fermin energia
$k_B$	Boltzmannin vakio
LED	Valodiodi
N	Atomien määrä klusterissa
$N_E$	Vapaiden elektronien määrä
NA	Numeerinen aukko
PMAA	Polymetakryylihapo
PVA	Polyvinyylialkoholi
PVAc	Polyvinyyliasetaatti
PVOH	Polyvinyylialkoholi
$T_g$	Lasiirtymälämpötila

# 1. JOHDANTO

Nanometrien, eli metrin miljardisosien kokoluokassa asiat ja ilmiöt näyttävät hyvin erilaiselta kuin arkipäiväisessä elämässämme. Nanokokoluokan ilmiöitä on tutkittu vuosikymmenten ajan ja tulokset ovat olleet hämmästyttäviä. Kappaleen kokoa rajoitettaessa esiin nousee ilmiöitä, joita emme tavallisesti havaitse, kun kvantti-ilmiöt ja atomien väliset keskinäiset vuorovaikutukset muuttuvat tärkeiksi ja painovoiman merkitys häviää [1]. Nanometrien kokoluokkaan siirryttäessä materiaalin ominaisuudet voivat muuttua täysin erilaisiksi, kuin saman aineen suurella kappaleella. Esimerkiksi kulta on tunnetusti erittäin stabiili ja reagoimaton jalometalli, mutta nanokokoisena materiaalina se on erinomainen katalyytti, minkä lisäksi sen sulamispiste ja johtavuus ovat erilaisia [1].

Termiä nanoteknologia käytettiin ensi kerran vuonna 1974 ja sitä on kutsuttu jopa uudeksi teolliseksi vallankumoukseksi. Nanoteknologia on tekniikan ala, joka yhdistää fysiikan, kemian, materiaalitieteen ja biologian käytännön sovelluksiksi. Nanoteknologia tarjoaa uskomattoman laajat mahdollisuudet täysin uusiin keksintöihin tieteen ja teknologian eri aloilla kuten materiaalitekniikassa, lääketieteessä, energiantuotannossa ja tietotekniikassa. [1]

Nanoteknologiassa yleisimpiä nanomateriaaliluokkia ovat olleet dendrimeerit, kvanttipisteet, hiilinanoputket, fullereenit ja nanolangat [1]. Nanoklusterit muodostavat uudenlaisen nanomateriaalin, joka asettuu yksittäisten atomien ja nanohiukkasten välille. Nanoklusterin koon ylärajana pidetään tavallisesti kahta nanometriä. Nanoklusterit koostuvat alkaen muutamista atomeista muutama satoihin atomeihin saakka. Nanoklustereita pystytään valmistamaan monista eri alkuaineista ja niiden yhdistelmistä, mutta erityisen kiinnostavia ovat jalometallinanoklusterit. Niiden hyödyllisimpiin ominaisuuksiin lukeutuvat niiden erittäin pieni koko, voimakas fluoresenssiemissio, katalyyttisyys ja biologinen yhteensopivuus. [2]

Nanoklustereiden syntetisointiin on kehitetty suuri määrä eri menetelmiä. Nanoklustereita voidaan tuottaa pelkistämällä metalli-ioneja ja kasvattamalla niitä nanoklustereiksi käyttämällä mm. kemikaaleja tai sähkömagneettista säteilyä. Nanoklustereilla on taipumus kasvaa yhteen ja muodostaa suurempia hiukkasia, jolloin ne menettävät erityiset ominaisuutensa, minkä vuoksi syntetisoidut nanoklusterit tulee aina stabiloida. Usein nanoklusterit päällystetään jollakin yhteen kasvamista estävällä ligandilla, joka voi olla esimerkiksi polymeeri tai proteiini. Tällöin muodostuu rakenne, jossa metalliydintä ympäröi sitä suojaava ligandikerros. [3] Fluoresoivien nanoklustereiden karakterisoinnissa yksi oleellisimmista tekniikoista on fluoresenssispektroskopia, jonka avulla saadaan tietoa nanoklustereiden optisista ominaisuuksista ja sitä kautta myös rakenteesta [4].

Tässä diplomityössä valmistettiin kultananoklustereita polymeeriohukalvoon käyttäen uudenlaista materiaalien ja syntetisointimenetelmän yhdistelmää. Tavoitteena oli valmistaa fluoresoivia ja stabiileja kultananoklustereita sekä karakterisoida niiden ominaisuuksia. Aiemmin samassa tutkimusryhmässä on tehty tutkimuksia hopeananoklustereiden fotokemiallisesta syntetisoinnista polyvinyylialkoholi- ja polymetakryylikalvoihin [5; 6]. Aiempiin töihin pohjautuen tässä diplomityössä jatketaan aiheen tutkimista keskittyen hopeananoklustereiden sijaan kultananoklustereiden syntetisointiin ja karakterisointiin. Kultananoklustereiden syntetisoinnissa käytettiin pienitehoista jatkuvatoimista laseria. Nanoklustereiden pohjamateriaalina ollut polyvinyylialkoholi-polymeerikalvo toimi niitä stabiloivana aineena. Muodostuneita kultananoklustereita tutkittiin erityisesti fluoresenssimikroskopiaa ja –spektroskopiaa käyttäen.

Tämän diplomityön toisessa luvussa käsitellään nanoklustereiden taustaa teoreettisesti. Luvussa kerrotaan tarkemmin määritellen, mitä nanoklusterit ovat, millaisia ominaisuuksia niillä on, sekä miten niitä voidaan valmistaa, hyödyntää ja karakterisoida. Seuraavat luvut 2 ja 3 keskittyvät polymeerikalvoon stabiloitujen nanoklustereiden kannalta oleellisiin aiheisiin, kuten käytetyn polymeerin ominaisuuksiin ja aiemmin samankaltaisilla menetelmillä ja materiaaleilla tehtyihin tutkimuksiin. Luvussa 4 esitellään tässä työssä käytetyt menetelmät, kuten näytteenvalmistuksen vaiheet sekä karakterisoinnissa käytetyt mittausjärjestelyt. Mittauksissa saadut tulokset esitellään luvussa 5, minkä jälkeen niitä analysoidaan tarkemmin kuudennessa luvussa ennen työn päättävää yhteenvetoa.



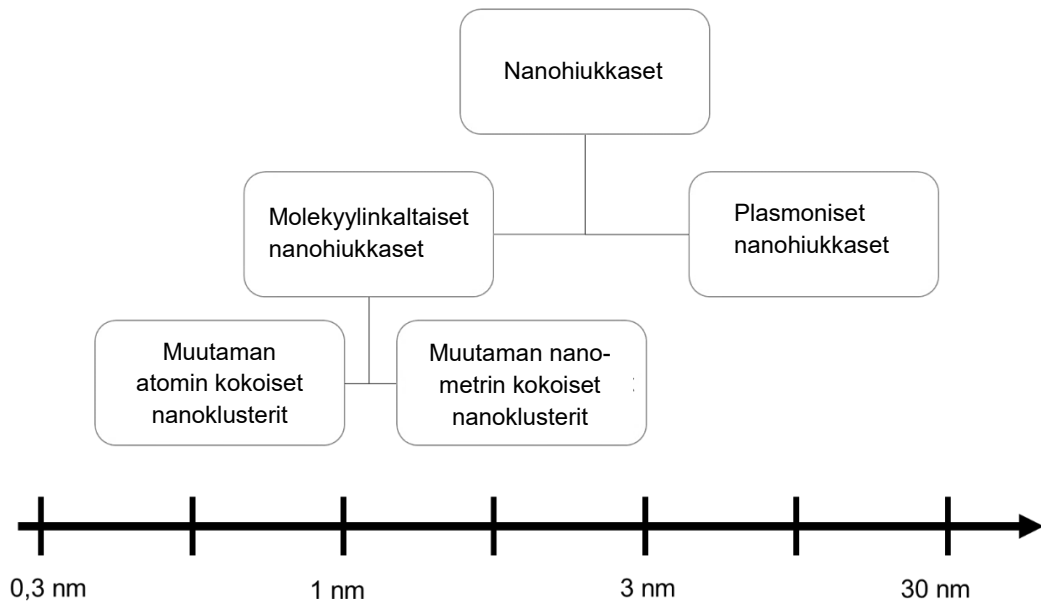
## 2. NANOKLUSTERIT

Nanoklustereita on valmistettu useista eri materiaaleista ja monet tässä luvussa esitellyistä teorioista ja menetelmistä pätevät nanoklustereihin yleisesti. Jalometallinanoklustereilla on kuitenkin erityisen kiinnostavia ominaisuuksia ja käyttökohteita, ja siksi niitä on tutkittu laajasti. Myös tämän diplomityön kokeellisessa osassa käsitellään kultananoklustereiden syntetisointia ja karakterisointia. Sen vuoksi tässä luvussa keskitytään erityisesti kultananoklustereihin, mutta sivutaan myös muista aineista valmistettuja nanoklustereita. Luvun kahdessa ensimmäisessä osiossa määritellään tarkemmin, mikä erottaa nanoklusterin nanohiukkasista tai molekyyleistä ja milloin metallista tulee nanoklusteri. Lisäksi käydään läpi niiden tärkeimmät rakenteelliset seikat atomien määrän ja elektronirakenteen kannalta. Nanoklustereiden optiset, magneettiset ja katalyyttiset ominaisuudet käsitellään tämän jälkeen. Seuraavissa osissa esitellään kirjallisuusesimerkein nanoklustereiden mahdollisia valmistustapoja ja niille löydettyjä sovelluksia, minkä jälkeen perehdytään siihen, millaisilla menetelmillä nanoklustereita voidaan karakterisoida.

### 2.1 Määritelmä

Klusterilla tarkoitetaan yhteen kerääntyneiden samanlaisten tai samankaltaisten aineen osien ryhmää. Fysiikassa ja kemiassa tämä tavallisesti tarkoittaa atomien tai molekyylien ryhmittymää. Klusterit ovat mielenkiintoinen materiaalin muoto, joka ei esiinny luonnossa, mutta niitä voidaan valmistaa synteettisesti suuresta osasta alkuaineita. [7] Nanohiukkset ovat atomiryhmiä, joiden koko on tavallisesti vaihdellut 10-100 nm välillä. Kaikki nanohiukkaset voidaan edelleen jakaa suuriin nanohiukkasiin ja pieniin nanohiukkasiin – eli nanoklustereihin (kuva 1). [8] Myös suurilla, niin kutsutuilla plasmonisilla nanohiukkasilla, on mielenkiintoisia suuremmista materiaalinäytteistä poikkeavia ominaisuuksia, mutta niiden fysikaalinen perusta on erilainen kuin nanoklustereilla. Tässä työssä ei kuitenkaan käsitellä plasmonisia nanohiukkasia, vaan keskitytään nanoklustereihin.

Nanoklustereiden ja -hiukkasten tutkimus on edennyt rinnakkain ja nykyään niiden kokoero on entisestään kaventunut [7]. Klusteri, nanoklusteri ja nanohiukkanen ovat osittain päällekkäisiä nimityksiä, joita toisinaan käytetään eri lähteissä eri tavoin. Määritelmien mukaan nanohiukkasta voidaan pitää klusterina ja nanoklusteria äärimmäisen pienenä nanohiukkasena. Tässä työssä pitäydytään käyttämästä melko epämääräistä termiä klusteri ja viitataan termillä ”nanoklusteri” alle 2 nm kokoisiin hiukkasiin ja termillä ”nanohiukkanen” tätä suurempiin. Muita ehdotettuja ja toisinaan kirjallisuudessa vastaan tulevia nimiä nanoklustereille ovat muun muassa nanomolekyyli, tekoatomi (engl. artificial atom), kvanttipiste (engl. quantum dot), superatomi (engl. superatom) ja kvanttiklusteri (engl. quantum cluster) [2; 8].



**Kuva 1** Nanohiukkaset voidaan luokitella plasmonisiin ja molekyylinkaltaisiin nanohiukkasiin eli nanoklustereihin niiden koon perusteella.

Nanoklustereiden ja nanohiukkasten selkeimpänä erona pidetään sitä, kuinka tarkasti niiden koostumus voidaan määrittää. Nanoklustereiden kokoa ja koostumusta voidaan usein hallita ja tutkia yksittäisen atomin tarkkuudella, mikä ei nanohiukkasten tapauksessa ole mahdollista. [7] Nanoklusterit toimivatkin puuttuvana linkkinä metalliatomien ja nanohiukkasten välillä ja niiden avulla voidaan ymmärtää paremmin aineen ominaisuuksissa tapahtuvia muutoksia siirryttäessä yksittäisistä atomeista nanohiukkasten kokoluokkaan. [8]

Vaikka myös molekyylien voidaan ajatella olevan atomien ryhmittymiä, ovat ne ja nanoklusterit rakenteensa ja ominaisuuksiensa perusteella kaksi eri asiaa. Klustereiden vuorovaikutus toistensa kanssa on voimakkaampaa kuin molekyylien, ja ne pyrkivät usein yhdistymään ja kasvamaan suuremmiksi klustereiksi. Molekyylit esiintyvät stabiilina luonnossa ja ovat koostumukseltaan määrättyjä, joten niillä on tavallisesti vain hyvin vähän isomeerejä. Klusterit sen sijaan valmistetaan laboratoriossa ja niiden kokoa ja koostumusta voidaan hallita jopa atomin tarkkuudella ja saada aikaan lukuisia eri isomeerejä. Molekyyleissä atomien väliset sidokset ovat useimmin kovalenttisia tai ionisia, mutta klustereissa sidokset voivat olla näiden lisäksi Van der Waals -voimiin perustuvia tai metallisia. [7]

Mikäli nanoklusterin tarkka koostumus tiedetään, käytetään niistä usein merkintää  $X_N$ , jossa  $X$  on alkuaine ja  $N$  klusterissa olevien atomien määrä. Esimerkiksi  $Au_{25}$  on tasan kahdestakymmenestäviidestä kulta-atomista koostuva nanoklusteri. Aina nanoklusterin tarkkaa kokoa ei kuitenkaan tiedetä tai niillä on jonkinlainen kokojakauma. Esimerkiksi

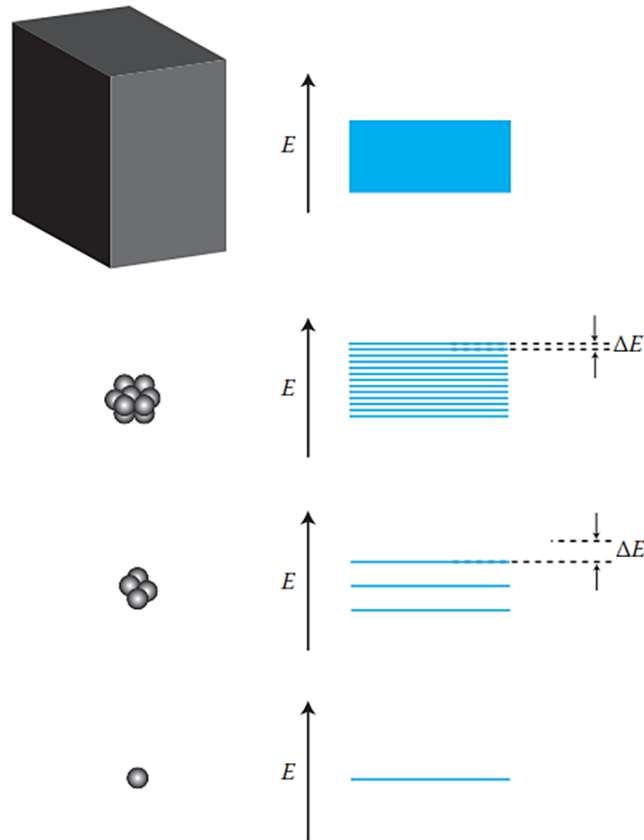
tässä työssä tuntemattoman kokoisten nanoklustereiden pohjamateriaalina toimii polyviinyylialkoholi- eli PVA-kalvo, jolloin näihin klustereihin viitataan yksinkertaisesti Au@PVA-nanoklustereina.

## 2.2 Rakenne

### Atomien määrä

Metallien rakennetta kuvataan yleisesti elektronikaasuna. Mallin mukaan metalliatomien valenssielektronit pääsevät kulkemaan metallissa vapaasti, eivätkä ne ole sitoutuneet tiettyyn atomiin, vaan muodostavat tiheydeltään tasaisen kaasun materiaalin sisään. [9] Nämä johtavat elektronit voivat kulkea materiaalissa minne tahansa Paulin kieltoäännön rajoissa, minkä ansiosta metallit ovat tunnetusti erinomaisia johteita [10].

Nanometrien kokoluokassa metallin ominaisuudet muuttuvat radikaalisti, mikä voidaan selittää tarkastelemalla elektronien energiatiloja ja niiden tiheyttä. Materiaalissa elektronit ovat järjestäytyneet energiatasolle, joilla on keskenään eri energia. Tilatiheysfunktio on malli, joka kertoo elektronin mahdollisten energiatilojen määrän tietyllä energiavälillä tilavuutta kohden kiinteässä aineessa. Tavallisessa kiinteässä aineessa mahdollisia energiatiloja on pienelläkin energiavälillä niin paljon, että ne muodostavat jatkuvan energiovyyön (ks. kuvan 2 ylin piirros). Atomeilla ja molekyyyleillä mahdollisia tiloja on määrällisesti vähemmän. Sen vuoksi ne ovat erillisiä yhtenäisen vyyön sijaan, eli niiden tilatiheys on hyvin pieni. [1] Tilannetta on havainnollistettu kuvan 2 alaosassa.



**Kuva 2** Suurilla kappaleilla energiatilat muodostavat jatkuvan vyön, mutta hiukkasen koon pienentyessä energiatilat muuttuvat erillisiksi ja ovat yhä kauempana toisistaan. (Alkuperäinen kuva [1]).

Fermin energialla ( $E_F$ ) tarkoitetaan ylimmän miehitetyn tilan energiaa. Huoneenlämpötilassa kullan Fermin energia on 5,3 eV. Fermin energia ei riipu materiaalin koosta, joten korkeimman miehitetyn tilan energia on sama suurella ja nanokokoisella kultanäytteellä, jolla energiatiloja on määrällisesti vähemmän. Tämä johtaa siihen, että pienellä hiukkasella sen energiatilat ovat kauempana toisistaan, eivätkä enää voi muodostaa jatkuvaa vyötä. Energiatilojen välistä keskimääräistä eroa energiassa voidaan arvioida yhtälöllä

$$\Delta E \approx E_F/N_E, \quad (1)$$

jossa  $E_F$  on Fermin energia ja  $N_E$  vapaiden elektronien määrä näytteessä. [1]

Elektronin käytössä oleva lämpöenergia on suuruudeltaan  $k_B T$ , jossa  $T$  on lämpötila ja  $k_B$  Boltzmannin vakio [1]. Jos energiatilojen välinen ero on suurempi, kuin saatavilla oleva keskimääräinen lämpöenergia, elektronit eivät lämmön vaikutuksesta voi virittyä korkeammalle energiatilalle, jolloin metalli ei enää toimi johteena. Tästä syystä pienimpiä nanoklustereita ei pidetä metallisina. [8] Asettamalla tämä tilanne kriittiseksi rajaksi ja vertaamalla saatavilla olevaa lämpöenergiaa energiatilojen väliseen eroon saadaan

$$E_F/N_E = k_B T. \quad (2)$$

Sijoittamalla tähän kullan Fermi energia, Boltzmannin vakio ja tyypillinen huoneen lämpötila (298 K) saadaan klusterin kriittiseksi kooksi arviolta 200-300 kulta-atomia [11], sillä jokaisella kulta-atomilla on keskimäärin yksi vapaana elektronina toimiva valensielektroni [1]. Kullan hilarakenteen ja hilavakion perusteella tiedetään, että kuutionanometrissä kultaa on noin 59 vapaata elektronia [12]. Näin kriittiseksi kultahiukkasen kooksi voidaan edelleen arvioida 2 nm. Samaan arvioon päästään useita erilaisia reittejä käyttäen [11-13], joten 2 nm on usein kirjallisuudessa käytetty kriittinen raja molekyylin-kaltaisille nanoklustereille [2-4; 8].

### Elektronirakenne

Pienimpien nanoklustereiden emission energiaa  $\Delta E$  voidaan kuvata hyvin yhtälöllä

$$\Delta E = E_F/N^{1/3}, \quad (3)$$

jossa  $N$  on atomien määrä klusterissa ja  $E_F$  Fermi energia [14]. Säteilyn energia riippuu klusterin koosta siten, että pienimmillä klustereilla energia on suurempi. [8]. Nanoklusterin energiatilat ovat selkeästi erillisiä ja niitä kuvaa klassinen harmoninen potentiaali (kuva 3).



**Kuva 3** *Potentiaalikuopan muoto on erilainen eri kokoisilla hiukkasilla. Alkuperäinen kuva [8].*

Kullan tapauksessa klusterin koon ollessa noin 23 kulta-atomia, elektronien vaikutus ytimen sähkökenttään ja epäharmoniset ominaisuudet vääristävät potentiaalikuopan muotoa Woods-Saxon -potentiaaliksi. Tämän kokoluokan klustereiden emission energiaa voidaan kuvata yhtälön 3 muokatulla versiolla:

$$\Delta E = \frac{E_F}{N^{1/3}} \left[ 1 - U(l_e^2 - l_g^2 - \frac{n+2}{3}) \right], \quad (4)$$

jossa  $U$  on potentiaalivääristymiseen liittyvä parametri (suuruudeltaan noin 0,03),  $l_e$  on virittyneen ja  $l_g$  perustilan kulmaliikemäärän kvanttiluku ja  $n$  kuoren numero. [14]

Yhtälöt 3 ja 4 perustuvat niin kutsuttuun vapaaelektronin- eli jellium-malliin. Tämä malli on pohjimmiltaan sama kuin Druden vapaaelektronimalli, ja se pohjautuu samoihin ole-

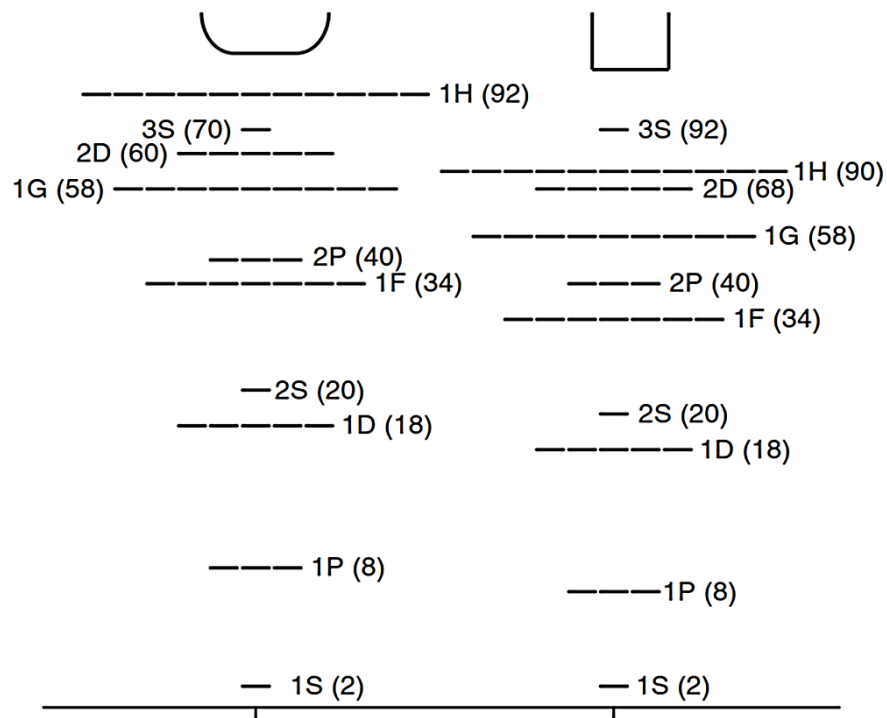
tuksiin. Jellium-mallissa nanoklustereiden oletetaan olevan keskenään samanlaisia sähköisesti varattuja palloja, jotka muodostavat tasaisen positiivisen taustan. Klusterissa olevien metalliatomien valenssielektronit toimivat vapaina elektroneina, jotka muodostavat positiivisesti varautunutta ydintä ympäröiviä orbitaaleja. Jellium-mallin mukaiset orbitaalit nimetään vastaavasti kuin atomien orbitaalit, mutta atomiorbitaalin pääkvanttiluku  $n_{\text{atom}}$  ja jelliumorbitaalin pääkvanttiluku  $n$  riippuvat toisistaan siten, että  $n = n_{\text{atom}} - l$ , missä  $l$  on kulmaliiikemäärän kvanttiluku. [8; 15] Yksinkertaisten oletustensa ansiosta jellium-malli sopii kaiken kokoisten klustereiden [16] ominaisuuksien arviointiin, mutta toisaalta mallin heikkous on se, ettei nanoklusteria ympäröivän aineen vaikutusta oteta lainkaan huomioon [12].

Kokeellisissa tutkimuksissa on havaittu pienten, tietyillä polymeereillä ja dendrimeereillä stabiloitujen kultananoklustereiden emission energian korreloivan klusterissa olevien atomien määrän kanssa jellium-mallin ennustamalla tavalla [17; 18]. Tämä osoittaa, että tämä yksinkertainen malli ennustaa hyvin sekä pienten kultananoklustereiden lähes harmonisen potentiaalin mukaisen elektronirakenteen, että dendrimeerillä stabiloitujen nanoklustereiden tapauksessa myös niiden pallomaisen muodon [8; 18].

Jelliumorbitaalien ja yksittäisten atomien elektronirakenteen samankaltaisuuden vuoksi metallinanoklustereita voidaan pitää keinotekoisina atomeina [8] tai ”superatomeina” [7]. Atomeja elektronirakenteeltaan muistuttavia nanoklustereita on mahdollista suunnitella ja valmistaa halutulla koostumuksella ja halutun kokoisina. Siksi nanoklustereita onkin ehdotettu käytettävän uuden, kolmiulotteisen aineiden jaksollisen järjestelmän rakentamiseksi. Tavallisen jaksollisen järjestelmän rivien ja sarakkeiden lisäksi aineita voitaisiin järjestellä kolmannessa ulottuvuudessa, jonka muodostaisivat nanoklustereista valmistetut, fysikaalisilta ja kemiallisilta ominaisuuksiltaan ainutlaatuiset superatomit. [7]

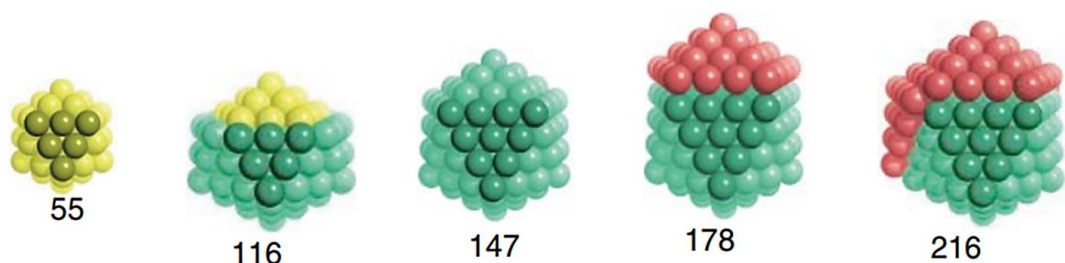
### Stabiilius

Natriumnanoklustereilla tehdyssä tutkimuksessa on havaittu, että tietyn kokoiset klusterit ovat muita kokoja stabiilimpia. Nämä muita kokoja stabiilimmat koot ovat klusterit, joiden atomien määrä  $N$  on yksi ”taikaluvuista” (engl. magic number), joita ovat  $N = 2, 8, 18, 20, 34, 40, 58$ , jne. [8; 19; 20] Näiden kokojen stabiilius voidaan selittää jellium-mallin mukaisten elektronikuorten täyttymisellä [8], minkä voi myös helposti havaita jellium-systeemin elektronirakennetta esittävästä kuvasta 4. Tilanne on analoginen atomien elektronikuorten täyttymisen ja stabiiliuden kanssa [20]. Myös kullasta ja muista metalleista kaasufaasiin valmistetuilla paljalla nanoklustereilla on tutkimuksissa havaittu erityisen stabiileja rakenteita, kun vapaiden elektronien määrä (kullan tapauksessa usein sama kuin atomien määrä) kuuluu edellä mainittuihin taikalukuihin tai on lähellä niitä [20-22].



**Kuva 4** Muodoltaan pyöreäpohjaisen potentiaaliakuopan (vas.) ja suorakulmaisen potentiaaliakuopan (oik.) elektronirakenteita vertaamalla huomataan eroja tilojen energioissa. Elektronikuorten täytyminen johtaa erityisen stabiileihin nanoklustereihin. Alkuperäinen kuva [19].

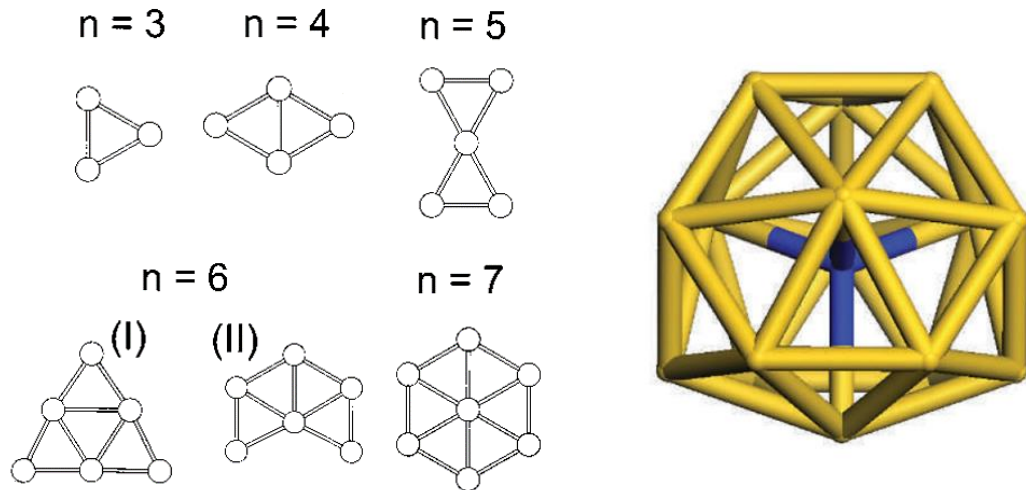
Lisäksi nanoklustereilla on tutkittu myös toisenlaisia taikalukuja, jotka pohjautuvat niiden geometriaan. Nämä ”geometriset taikaluvut” kertovat, montako atomia muodostaa yhdessä kokonaisen symmetrisen geometrisen kappaleen, esimerkiksi kaksikymmentähokkaan (kuva 5). Natriumnano-klustereilla tehdyissä tutkimuksissa havaittiin erityisen korkeita sulamislämpötiloja, kun nanoklusterin koko oli 55 tai 147 atomia, mikä viittaa niiden parempaan stabiiliuteen. [23] Kullalla geometristen taikalukujen ansiosta erityisen stabiileja nanoklustereita ovat  $\text{Au}_{13}$ ,  $\text{Au}_{147}$ , sekä erityisesti  $\text{Au}_{55}$  [8].



**Kuva 5** Sopiva lukumäärä atomeja voi muodostaa symmetrisen geometrisen muodon, joka tuottaa erityisen stabiilin nanoklusterin. Alkuperäinen kuva [23].

## Muoto

Nanoklustereiden muodon tutkiminen on vaikeaa ja vaatii teoreettisen ja kokeellisen tutkimuksen yhdistämistä [7; 16]. Joidenkin nanoklustereiden geometrinen muoto on tutkimuksissa onnistuttu selvittämään tarkasti. Esimerkiksi paljaiden kultananoklustereiden on havaittu muodostavan seitsemään atomiin saakka tasomaisia rakenteita, jotka on esitetty kuvassa 6 vasemmalla [7; 21; 24]. Laserhöyrystyksellä valmistettujen kultananoklustereiden on huomattu muodostavan häkkimäisiä rakenteita (kuvassa 6 oikealla), kun niiden koko on 14-18 atomia, kun taas  $\text{Au}_{20}$ -klusteri on nelitahokas [7; 22].



**Kuva 6** Pienimmillä kultananoklustereilla on havaittu tasomaisia rakenteita (vas.) [24]. Oikealla on esitetty 16 kulta- ja yhdestä kupariatomista (sininen) koostuva erittäin stabiili häkkimäinen rakenne [22].

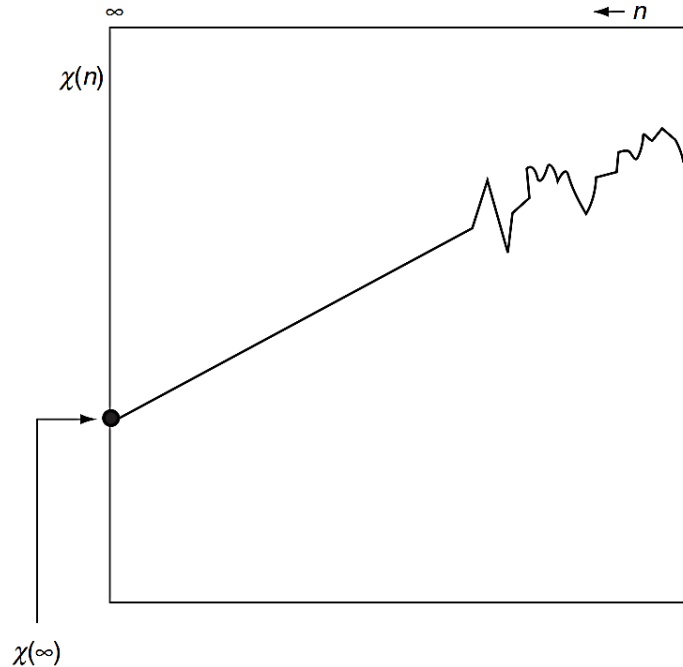
Kaasufaasiin ja nesteeseen tai kiinteään aineeseen valmistettujen klustereiden ominaisuuksien vertailu ei kuitenkaan ole suoraviivaista niitä ympäröivien väliaineiden vaikutuksen vuoksi [25]. Sen vuoksi edellä mainitut havainnot klustereiden muodoista ovat mielenkiintoisia esimerkkejä, mutta eivät suoraan kerro eri menetelmällä valmistetuista tai eri tavoin stabiloiduista nanoklustereista. Suurempien ja eri ligandeilla päällystettyjen kultananoklustereiden muotoa on yritetty tutkia mm. erilaisilla laskennallisilla menetelmillä [22; 26].

## 2.3 Ominaisuudet

Materiaalien ominaisuudet muuttuvat hätkähdyttävästi siirryttäessä tarkastelussa tavallisesta kiinteästä aineesta nanometrien kokoluokkaan. Tavalliseen kiinteään aineeseen verrattuna niistä valmistettujen nanoklustereiden optiset, magneettiset, sähköiset, kemialliset ja termodynaamiset ominaisuudet voivat olla yllättävän erilaisia. Esimerkiksi materiaalit, jotka normaalisti ovat metallisia, voivat nanoklustereina esiintyä eristeinä tai tavallisesti kemiallisesti reagoimattomat materiaalit voivat käyttäytyä reaktiivisesti. [7] Pienimmillä klustereilla jopa yhden atomin lisääminen tai poistaminen voi aiheuttaa suuren muutoksen klusterin ominaisuuksissa. Ominaisuudet eivät myöskään aina muutu lineaarisesti



klusterin koon funktiona, vaan vaihtelevat atomien määrän mukaan (kuva 7), mistä esimerkkinä voidaan pitää erityisen hyvää stabiiliutta, kun nanoklusteri muodostuu taikalukuihin kuuluvasta määrästä atomeja, mutta huonompaa stabiiliutta näiden kokojen välissä. [7]

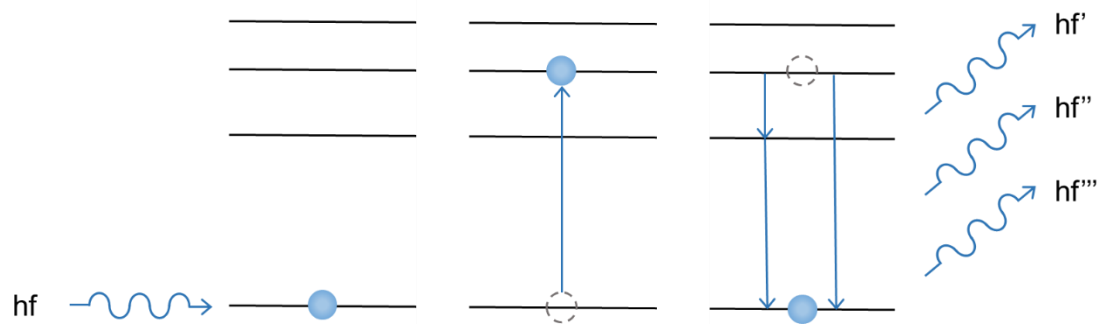


**Kuva 7** Kuvaajassa on esitetty periaate mielivaltaisen ominaisuuden  $\chi(\mathbf{n})$  riippuvuudesta klusterin atomien määrästä  $n$ . Kuvaajan oikeassa reunassa, pienillä nanoklustereilla on erityisiä, täsmällisesti koosta riippuvia ominaisuuksia. Suuremmilla hiukkasilla riippuvuus koosta ei enää vaihtelee äkillisesti, vaan ominaisuudet lähestyvät tasaisesti tavallista suuren materiaalikappaleen saamaa arvoa,  $\chi(\infty)$ .

### Optiset ominaisuudet

Yksi nanoklustereiden tunnetuimmista ominaisuuksista on niiden molekyylien kaltainen fotoluminesenssi. Fotoluminesenssilla tarkoitetaan aiemmin absorboidun, virittävän sähkömagneettisen säteilyn energian emittoimista [27]. Nanoklustereiden vuorovaikutus fotonien kanssa perustuu elektronien siirtymiin energiatasojen välillä, mikä mahdollistaa mm. fotoluminesenssin. Toisin kuin nanoklustereilla, suuremmilla nanohiukkasilla emissiosäteily on peräisin johtavien elektronien kollektiivisen värähtelyn aikaansaamasta pinta-plasmoni-ilmiöstä. Plasmonia ei kuitenkaan voi esiintyä nanoklustereissa niiden pienen koon ja epäjatkuvien energiatilojen vuoksi. [28]

Termi fotoluminesenssi sisältää kaksi erilaista mekanismia: fluoresenssin ja fosforensin. [27] Nanoklustereiden voimakas emissio on peräisin fluoresenssi-ilmiöstä [2], jossa atomi, molekyyli tai molekyylin kaltainen hiukkanen absorboi virittävän fotonin, ja sen jälkeen emittoi yhden tai useamman fotonin suuremmalla aallonpituudella (kuva 8) [29]. Nanoklustereiden fluoresenssin ominaisuudet riippuvat vahvasti niiden koosta, niitä ympäröivistä ligandeista ja kemiallisesta ympäristöstä. Eri kokoisilla ja eri tavoin stabiloiduilla kultananoklustereilla on havaittu fluoresenssiemissiota eri aallonpituuksilla UV-alueelta infrapuna-aallonpituuksiin saakka. [8];[2] Aineen kvanttihyötysuhde tarkoittaa niiden absorboituneiden fotonien osuutta, jotka saavat aikaan fotonin emittoitumisen [17]. Kvanttihyötysuhdetta käytetään usein nanoklusterin emissioon karakterisointiin ja eri nanoklustereiden ja muiden fluoresoivien aineiden vertailuun. Useiden tutkittujen nanoklustereiden kvanttihyötysuhde on suuruusluokaltaan  $10^{-3}$  [2; 4], mutta pienillä, dendrimeerillä päällystetyillä nanoklustereilla on mitattu jopa 70% kvanttihyötysuhde [8].



**Kuva 8** Fluoresenssissa hiukkanen absorboi fotonin, jonka energia on  $hf$  ja virittyy ylempälle energiatilalle. Tämän jälkeen se emittoi yhden tai useamman fotonin, joilla on alkuperäisestä poikkeava taajuus. [29]

Fluoresenssiprosessin päätyttyä ja systeemin emittoitua fotonin se palautuu takaisin perustilalle ja voi absorboida jälleen seuraavan fotonin. Käytännössä sykli ei kuitenkaan voi tapahtua loputtoman monta kertaa. Tavallisten käytössä olevien fluoresoivien väriaineiden tapauksessa arviolta 10 000 – 40 000 syklin jälkeen väriainemolekyyli hajoaa tai muuttuu pysyvästi, eikä enää emittoi fluoresenssisignaalia. Haalistuminen (engl. photobleaching) on termi, jolla viitataan kaikkiin eri fluoresenssiemission loppumiseen vaikuttaviin mekanismeihin. Suurin osa haalistumisesta liitetään yleensä molekyylien triplettiloihin. Triplettilat ovat pitkäikäisiä, jolloin virittyneellä molekyylillä on suurempi todennäköisyys vuorovaikuttaa muiden molekyylien kanssa hajoamiseen tai muuttumiseen johtavalla tavalla. Myös kemialliset reaktiot, kuten vuorovaikutus happimolekyylin kanssa, voivat johtaa aineen muuttumiseen fluoresoimattomaksi. Uusien fluoresoivien väriaineiden kehityksessä yhtenä tavoitteena on haalistumisen estäminen, mikä johtaa parempaan fotokemialliseen vakauteen. [30]

Ligandien, eli nanoklustereita ympäröivien stabiloivien aineiden vaikutus nanoklustereiden fluoresenssiominaisuuksiin on merkittävä. Tutkimusten perusteella on päätelty, että kultananoklustereiden fluoresenssiemissio voi olla peräisin joko metalliytimen energiatilojen kvantittumisilmiöistä tai metalliytimen ja ympäröivän ligandin vuorovaikutuksesta.

[28; 31] Ligandien vaikutusta nanoklusterin emissioon on selitetty ligandien ja metallin välisellä varaustensiirrolla, jossa elektroni siirtyy nanoklusteria ympäröivältä ligandilta metalliytimeen [4]. Tiolipäällysteisillä kultananoklustereilla tehdyssä tutkimuksessa havaittiin, että ligandi voi parantaa nanoklusterin emission voimakkuutta elektronisiirron kautta kahdella tavalla: kulta-rikki –sidosten välityksellä tai luovuttamalla elektroneja suoraan metalliytimeen runsaasti elektroneja sisältäviltä atomeilta (esim. happi tai typpi) tai funktionaalisilta ryhmiltä [31]. Myös polymeerillä stabiloiduilla kultananoklustereilla tehdyssä tutkimuksessa on havaittu paljon elektroneja luovuttavan polymeerin kasvattavan sekä kultananoklusterin emission intensiteettiä että kvanttihyötysuhdetta [17].

Kaksifotoniabsorptiolla (engl. two-photon absorption, TPA) tarkoitetaan ilmiötä, jossa hiukkanen virittyy korkeammalle energiatasolle absorboimalla kaksi fotonia, joiden taajuus voi olla keskenään sama tai eri. Nanoklustereiden virittäminen kahdella fotonilla yhden sijaan johtaa suurempaan läpäisyvyvyyteen näytteessä ja parantaa paikkaresoluutiota pienentämällä sirontaa, mikä voi olla hyödyksi lääketieteellisissä kuvantamis- ja hoitomenetelmissä [2; 28]. Monilla kulta- ja hopeananoklustereilla on havaittu kahden fotonin virittämää emissiota, mutta kaksifotoniabsorptiossa fluoresenssin kvanttihyötysuhde on pieni, noin  $10^{-7} - 10^{-8}$  [2; 13].

### **Magneettiset ominaisuudet**

Suurena kappaleena kulta on diamagneettinen, eli ulkoista magneettikenttää heikosti hylkivä aine, mutta kultananoklustereilla on havaittu diamagneettisuuden lisäksi myös muita magneettisuuden muotoja. Esimerkiksi tietyillä tioleilla stabiloitujen kultananoklustereiden on havaittu käyttäytyvän ferromagneettisesti, eli ne ovat magneettisia myös ilman ulkoista sähkökenttää. Toisessa tutkimuksessa  $Au_{25}$ -nanoklustereiden huomattiin olevan paramagneettisia, eli ulkoinen magneettikenttä vetää niitä heikosti puoleensa. [2] Myös muilla alkuaineilla, muun muassa litiumilla, vanadiinilla ja mangaanilla, on havaittu eroja magneettisissa ominaisuuksissa nanoklusterin ja suuren kappaleen välillä [7].

Magneettisissa materiaaleissa atomeilla on pariton määrä elektroneja, mikä saa aikaan magneettisen momentin [7]. Nanoklustereissa magneettisen momentin suurus atomia kohden on yksittäisen atomin ja suuren kappaleen saaman arvon väliltä. Lisäksi se vaihtelee nopeasti nanoklusterin atomien määrän funktiona, minkä vuoksi nanoklusterin magneettiset ominaisuudet riippuvat sen koosta. [2; 7] Myös tutkimuksissa havaittuja kultananoklustereiden koosta riippuvia magneettisia ominaisuuksia on selitetty kulta-atomin magneettisella momentilla [2]. Tiolilla stabiloitujen kultananoklustereiden tapauksessa havaittiin Au-S –sidosten aiheuttamavan paikallisia sähkövarausten vajauksia, jotka saavat aikaan nanoklusterin magneettisuuden. Nanoklustereiden magneettisiin ominaisuuksiin vaikuttavat voimakkaasti siis sekä niiden koko, että käytetty stabilointimentelmä. [2]

### **Katalyyttiset ominaisuudet**

Klustereiden kemiallinen reaktiivisuus perustuu niiden pinta-atomien suureen määrään suhteessa klusterin sisällä oleviin atomeihin, minkä ansiosta ne voivat mahdollistaa uusia reittejä kemiallisille reaktioille ja alentaa niiden aktivoitumiseen vaadittavaa energiaa

[32]. Esimerkiksi kulta on jalometallina tavallisesti reagoimaton, mutta nanometrien kokuokassa siitä tulee erinomainen katalyytti [7]. Nanokokoisen kullan katalyyttiominaisuuksia on selitetty kahdella tekijällä. Ensimmäinen on se, että suhteessa nanoklusterin pieneen kokoon sen pinta on epätasainen ja sisältää paljon virheitä, joihin happi voimakkaasti sitoutuu. Tämän lisäksi nanoklusterin pinnassa oleva jännitys lisää pinta-atomien reaktiivisuutta [33]. Katalyyttisen ominaisuutensa vuoksi kultananoklusterit ovat herättäneet laajasti kiinnostusta moniin sovelluksiin.

## 2.4 Valmistaminen

Nanoklustereita pystytään valmistamaan monista eri alkuaineista, mutta erityistä kiinnostusta ovat herättäneet metallinanoklusterit. Näistä erityisesti kupari-, hopea- ja kultananoklustereita on tutkittu paljon, [28] mutta myös nanoklustereita, jotka sisältävät useampaa kuin yhtä metallia on tutkittu mielenkiintoisin tuloksin. Nanoklustereiden valmistus sisältää tavallisesti kaksi vaihetta: nanoklustereiden syntetisoinnin ja stabiloinnin.

Erilaisia menetelmiä nanoklustereiden valmistamiseen ja niiden syntetisointiin on esitetty valtava määrä. Tässä kappaleessa esitellään lyhyesti erilaisia lähestymistapoja nanoklustereiden syntetisointiin ja stabilointiin keskittyen erityisesti kulta ja hopeananoklustereilla saavutettuihin tuloksiin, mutta sivutaan myös muita metallinanoklustereita. On tärkeää muistaa, että jalometallinanoklustereiden muodostumismekanismia ei vielä täydellisesti tunneta, minkä vuoksi syntetisointi- ja stabilointimenetelmien vaikutuksen ennustaminen on vaikeaa. Siksi tulevaisuudessa tutkijoilla on edessään tärkeä haaste nanoklustereiden syntetisointi- ja stabilointimenetelmien tutkimisessa ja selittämisessä. [34]

Ensimmäiset nykyisenkaltaiset nanoklusterit valmistettiin kaasufaasiin [7]. Kaasufaasissa nanoklustereita voidaan valmistaa erilaisilla sputterointi- ja höyrytämismenetelmillä, kuten laserhöyrytämällä ja magnetronsputteroinnilla. Näillä menetelmillä valmistetut klusterit kerrostetaan usein jonkin pohjamateriaalin päälle, jolloin niitä voidaan hyödyntää esimerkiksi katalyytitutkimuksissa. [32] Nämä paljaat nanoklusterit kuitenkin kiinnittyvät helposti toisiinsa muodostaen suurempia klusteriryppäitä, eikä niiden valmistaminen suurella konsentraatiolla ole realistista kaasufaasimenetelmien pienen tuoton takia. [25]

Nanoklustereiden syntetisointiin neste- ja kiinteässä faasissa on kaksi pohjimmiltaan erilaista periaatetta: pelkistäminen (engl. bottom-up, alhaalta ylös,) ja etsaus (engl. top-down, ylhäältä alas) [2]. Pelkistämismenetelmällä tarkoitetaan klustereiden tuottamista metalli-ioneista. Sen vaiheisiin kuuluu metalli-ionin pelkistäminen metalliatomiksi ja sen jälkeen metallinanoklustereiden muodostuminen ja kasvu. Etsausmenetelmän periaate on nanoklustereiden tuottaminen suuremmista nanohiukkasista. Molemmilla periaatteilla nanoklustereita valmistettaessa voidaan eri parametrien avulla vaikuttaa muodostuvien nanoklustereiden koostumukseen, kokoon ja siten myös niiden absorptioon ja emission ominaisuuksiin. Siksi syntetisointiprosessien ymmärtäminen ja kontrollointi on erittäin tärkeää. [34]

**Etsauksessa** nanoklusterit tuotetaan irrottamalla nanohiukkasen pinnasta atomeja kemiallisesti. Esimerkiksi Au<sub>25</sub> ja Au<sub>8</sub>-nanoklustereita on valmistettu käyttämällä glutationipeptidiä kultananohiukkasen etsaukseen. Kyseisessä tutkimuksessa samoista lähtöaineista saatiin tuotettua erikokoisia nanoklustereita säätämällä liuoksen pH:ta. [35] Muissa tutkimuksissa kultananoklustereita on valmistettu etsaamalla nanohiukkasia käyttäen esimerkiksi polyeetteri-imidiä (PEI) [36] ja kaliumsyaniidia [37].

**Kemiallinen pelkistäminen** on yksi yleisimmistä pelkistämismenetelmistä. Kemiallinen pelkistäminen vaatii metallin esiasteen, pelkistävän aineen sekä nanoklustereita stabiloivan aineen [34]. Kultaionien kemialliseen pelkistämiseen on yleisesti käytetty natriumboorihydridiä (NaBH<sub>4</sub>) [3; 28; 38]. Muita esimerkkejä aineista, joita on nanoklustereiden valmistuksessa käytetty pelkistiminä, ovat THPC (tetrakis(hydroksimetyyli)fosforikloridi) [39], sitraatti [40] ja erilaiset alkoholit [25].

**Sähkökemiallinen** menetelmä on yksinkertainen ja helposti säädeltävä menetelmä eri kokoisten ja –muotoisten nanoklustereiden tuottamiseen. Menetelmässä metallianodista tuotetaan elektrolyytisesti ioneja, jotka pelkistetään sopivien kemiakaalien läsnä ollessa. Muun muassa hopeasta ja kuparista on valmistettu nanoklustereita sähkökemiallisella menetelmällä. [41; 42]

**Sonokemiallinen** pelkistäminen perustuu intensiteetiltään voimakkaan ultraäänen käyttöön. Nesteessä ultraääni saa aikaan kuplien muodostumisen, korkean lämpötilan ja paineen, mikä vaikuttaa nanoklustereiden syntymiseen. Ultraääntä on käytetty muun muassa fluoresoivien, polymeerillä stabiloitujen hopea- ja palladiumnanoklustereiden valmistamiseen. [43; 44]

Nesteessä gammasäteily tuottaa vapaita elektroneja, joiden on mahdollista pelkistää positiivisesti varattuja metalli-ioneita. Tätä nanoklustereiden valmistusmenetelmää kutsutaan **radiolyyttiseksi** menetelmäksi, ja sillä on tutkimuksissa tuotettu polymeerillä stabiloituja fluoresoivia hopeananoklustereita. [45; 46]

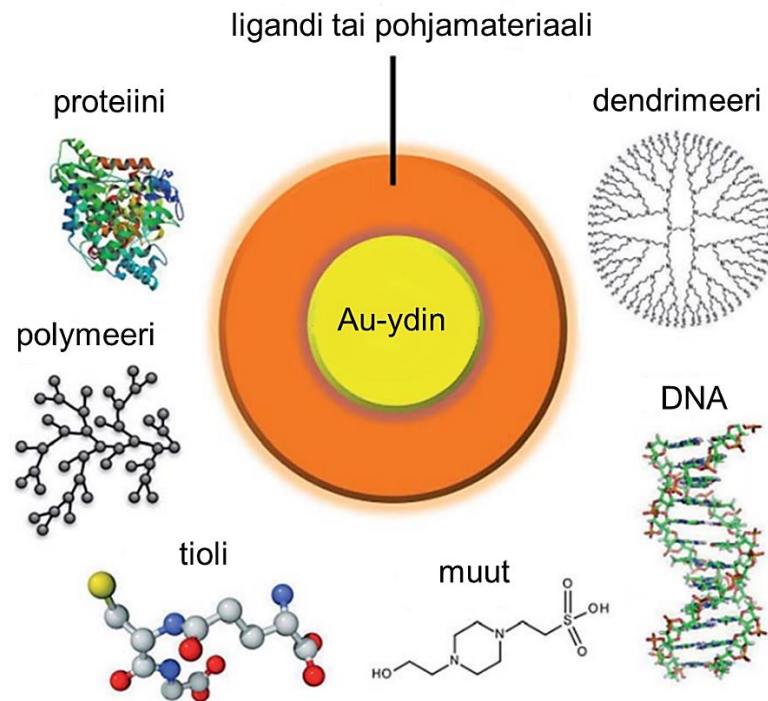
**Mikroaaltojen** nesteeseen tuottamaa lämpöä voidaan käyttää metallinanoklustereiden kemiallisen syntetisoinnin tehostamiseen sopivan ligandin läsnä ollessa. Tutkimusryhmät ovat valmistaneet kulta- ja hopeananoklustereita tällä menetelmällä, jonka etuja ovat sen nopeus ja kontrolloitavuus. [47; 48]

**Fotokemiallinen pelkistäminen**, eli valolla pelkistäminen on menetelmä, jossa metalli-ionit pelkistetään valoa käyttäen. Menetelmän etuja on sen kontrolloitavuus ja mahdollisilta epäpuhtauksilta välttyminen. Polymeerillä stabiloituja hopeananoklustereita on valmistettu vesiliuokseen fotokemiallisesti pelkistäen sekä UV-säteilyä, että näkyvää valoa käyttäen. [49; 50] Hopean lisäksi myös kuparista ja kullasta on tutkimuksissa valmistettu fluoresoivia nanoklustereita UV-säteilyä käyttäen [17; 51].

Koska nanoklustereilla on tapana kerääntyä yhteen ja muodostaa suurempia klustereita pienentääkseen pintaenergiaansa, on niiden stabilointi välttämätöntä niiden erityisten molekyylinkaltaisten ominaisuuksien säilyttämiseksi ja hyödyntämiseksi [34]. Aineista,

jotka stabiloivat nanoklustereita muodostamalla sen pinnalle kasvua estävän suojaavan kerroksen käytetään usein nimitystä ligandi. Ligandeilla on stabiloinnin lisäksi myös suuri vaikutus nanoklusterin fluoresenssin ominaisuuksiin ja jopa sen syntyyn. Eri ligandilla päällystetyt nanoklusterit voivatkin käyttäytyä täysin eri tavalla, vaikka ne muuten koostuisivat täsmälleen samasta määrästä atomeja. [3] Sopivan ligandin valitseminen on tärkeää, sillä ligandit vaikuttavat myös nanoklusterin geometriaan [28] sekä nanoklusterin vuorovaikutukseen ympäristönsä kanssa ja siten sen mahdollisiin sovelluksiin. [3]

Ligandeina on käytetty monia orgaanisia ja epäorgaanisia aineita kuten tioleita [38], dendrimeerejä [50], polymeerejä [51] ja DNA:ta [52] (kuva 9). BSA, joka on naudan verestä saatava proteiini ja L-dopa, joka on mm. Parkinsonin taudin hoidossa käytetty lääkeaine, ovat esimerkkejä aineista, jotka voivat toimia samanaikaisesti sekä pelkistäväinä että stabiloivana aineena nanoklustereiden valmistuksessa [53; 54].



**Kuva 9** Kultananoklustereiden stabiloinnissa voidaan käyttää monenlaisia aineita, kuten proteiineja ja polymeerejä. Alkuperäinen kuva [3]

Uusia menetelmiä ja materiaaleja kehitetään jatkuvasti, mutta nanoklustereiden tutkimuksessa on voitettavana vielä tärkeitä haasteita. Yksi kriittinen haaste on oppia tuottamaan vain yhden kokoisia nanoklustereita, jolloin välttyttäisiin ylimääräiseltä erotteluvaiheelta halutun lopullisen kokojakauman saamiseksi. Tämän lisäksi tuotettujen nanoklustereiden puhtaus ja valmistaminen yhä monipuolisemmin eri metalleista ovat mielenkiintoisia kehityskohteita. [28] Myös nanoklustereiden emission kirkkauden parantaminen on jatkuvan kehityksen kohteena. Siihen on esitetty monenlaisia ratkaisuja, kuten esimerkiksi kultananoklustereiden tapauksessa erilaisia hapetus- ja lämpökäsittelyitä, ligandikuoren kovettamista sekä kultananoklusterin seostamista hopea-atomeilla. Tutkimuksissa on havaittu yllättäviä tuloksia, kun osa kulta-atomeista korvataan vähemmän jalolla hopealla.

[4] Esimerkiksi vuonna 2014 julkaistussa tutkimuksessa havaittiin, että  $Au_{25}$ -nanoklusterin seostaminen täsmälleen kolmellatoista hopea-atomilla  $Ag_{13}Au_{12}$ -nanoklusteriksi johtaa jopa 200-kertaiseen kvanttihyötysuhteeseen puhtaaseen kultananoklusteriin verrattuna [55].

## 2.5 Sovellukset

Nanoklustereille on esitetty lukuisia sovelluskohteita eri tieteenaloilla, muun muassa kuvantamisessa, aineiden havaitsemisessa ja lääketieteessä. Nanoklustereiden kiinnostavimpia ominaisuuksia sovellusten kannalta ovat niiden kirkas ja stabiili fluoresenssi, pieni koko sekä myrkyttömyys.

### Kuvantaminen

Yksi tärkeimmistä käyttökohteista nanoklustereille on niiden käyttäminen loisteaineena kuvantamisessa, erityisesti biologisissa tutkimuksissa. Biologisten kudosten oma fluoresenssi on yleensä melko heikkoa, eikä sen avulla saada tarpeeksi tarkkaa tietoa biologisista rakenteista ja niiden funktioista, minkä vuoksi fluoresoivien väriaineiden käyttö on välttämätöntä. [4] Aiemmin kuvantamisessa on hyödynnetty mm. orgaanisia väriaineita ja puolijohdekvanttipisteitä. [28] Orgaaniset väriaineet ovat laajassa käytössä, mutta niiden valmistaminen on ongelmallista ympäristövaikutusten ja monimutkaisen prosessin vuoksi. Lisäksi ne voivat olla myrkyllisiä eläville soluille ja ovat erityisen alttiita haalistumiselle, mikä vaikeuttaa tarkkaa kuvantamista. Kvanttipisteet ovat myös yleisesti käytetty loisteaine, mutta ne ovat erittäin myrkyllisiä eläimille ja kasveille. Ihmisessä ne aiheuttavat vaurioita erityisesti keuhkoille, maksalle ja munuaisille ja saattavat johtaa syöpään. Nanoklustereilla ei ole samanlaisia myrkyllisiä haittavaikutuksia ja toisin kuin kvanttipisteet, ne ovat tarpeeksi pieniä päästäkseen myös yksittäisten solujen sisään. [34]

### Aineiden havaitseminen

Toinen mahdollinen käyttökohde nanoklustereille on metalli-ionien ja muiden aineiden havaitseminen. Erilaisten aineiden tarkasta havaitsemisesta on hyötyä erityisesti ympäristön tarkkailussa, lääketieteellisessä diagnosoinnissa [3], sekä lääke- ja kaivosteollisuudessa [34]. Tavallisia tapoja aineiden pitoisuuksien havaitsemiseen ovat esimerkiksi erilaiset induktiiviset plasmaspektrometrimenetelmät ja atomiabsorptiospektroskopia, joiden käyttö vaatii sekä suuren ja hintavan instrumentin, että usein pitkän ja monimutkaisen näytteenvalmistusprosessin ja suuren määrän tutkittavaa näytettä. [34]

Nanoklustereita on ehdotettu käytettäväksi aineiden havaitsemiseen edellä mainittujen menetelmien sijaan, sillä niiden valmistus ja käyttö on helpompaa ja helposti muokattavissa erilaisiin tarkoituksiin. [34] Nanoklustereita on mahdollista hyödyntää aineiden havaitseminen jopa erittäin pieninä pitoisuuksina nanoklustereiden fluoresenssiemission muutoksen perusteella. Havaitseminen voi perustua fluoresenssin intensiteetin kasvuun (engl. turn-on detection) tai pienentymiseen (engl. turn-off detection) havaittavan aineen ollessa läsnä. Nanoklustereita on käytetty erityisesti myrkyllisten ja ympäristölle haitallisten metalli-ionien ilmaisemiseen, mutta niiden avulla voidaan tunnistaa myös muita

aineita, kuten pieniä molekyyliä, proteiineja ja DNA:ta. [28] Esimerkiksi kultananoklustereita on onnistuneesti käytetty kupari- [56], elohopea- ja hopeaionien havaitsemiseen pieninä pitoisuuksina vesinäytteistä [57].

## Katalyyysi

Kiinteänä aineena kulta on stabiili ja kemiallisesti reagoimaton, joten sen ajateltiin pitkään olevan yksi huonoimmista katalyyteistä. 1980-luvulla kuitenkin havaittiin, että nanometrien kokoluokassa, alle 300 atomista koostuvina klustereina esiintyvä kulta on erinomainen katalyytti. [58] Koska nanoklusterilla on paljon pinta-atomeja suhteessa materiaalin sisällä oleviin atomeihin, ne voivat mahdollistaa uusia polkuja reaktioille ja alentaa niiden aktivoitumiseen vaadittavaa energiaa [32]. Kultananoklustereiden on raportoitu toimivan katalyyttinä muun muassa hiilimonoksidin ja alkoholien hapettamisessa sekä hiilidioksidin pelkistämässä [59; 60]. Kullan lisäksi myös hopea-, kupari- ja palladiumnanoklustereita voidaan käyttää katalyyttinä erilaisissa hapetus- ja pelkistymisreaktioissa. [2]

Nanoklustereiden ja -hiukkasten katalyyttiominaisuudet ja tehokkuus riippuvat niiden koosta [2]. Toisin kuin nanohiukkasilla, nanoklustereiden koko voidaan usein määrittää atomin tarkkuudella, minkä vuoksi ne tarjoavat nanohiukkasia paremmat mahdollisuudet erilaisten reaktioiden katalyyysin täsmälliseen tutkimiseen ja hallitsemiseen [60]. Mahdollisuus vaikuttaa tuotettujen nanoklustereiden kokojakaamaan johtaa aiempaa parempaan ja haluttaessa säädeltävään selektiivisyyteen [32].

Teollisuuden sovelluksissa nanoklustereiden käyttö katalyyttinä suurempien nanohiukkasten sijaan voisi johtaa merkittäviin taloudellisiin säästöihin prosessissa tarvittavan jalometallin määrän vähentyessä. Koska nanoklustereiden pinnalla olevat atomit ovat pääosassa katalyyttisissä reaktioissa, katalyytin hintaa voitaisiin edelleen laskea valmistamalla nanoklusterin ydin edullisemmasta materiaalista ja pinnoittamalla se kullalla tai muulla jalometallilla. Nanoklustereiden koostumusta säätelämällä ja käyttämällä useampaa kuin yhtä alkuainetta voidaan saada aikaan hiukkasia, jotka eivät esiinny stabiilina luonnossa. Taloudellisen säästön lisäksi nämä seostetut nanoklusterit voivat johtaa entistä parempiin synergisiin katalyyssiominaisuuksiin alkuaineiden toimiessa yhdessä tehokkaammin, kuten on raportoitu esimerkiksi  $\text{Pd}_1\text{Au}_{24}$ - [60] ja  $\text{Pd}_6\text{Ru}_6$ -nanoklustereiden tapauksessa. Suurin haaste nanoklustereiden käytössä katalyyttinä teollisuudessa on niiden riittävän tehokas valmistaminen ja erottelu koon perusteella tarvittavan konsentraation ja kokojakauman saavuttamiseksi. [32]

## Lääketiede

Kuvantamisen ohella nanoklustereille on löydetty myös muita mahdollisia sovelluksia lääketieteessä. Peptidipäällysteisiä kultananoklustereita on esimerkiksi onnistuttu sitouttamaan lääkeaineeseen, jolloin niitä voitiin käyttää lääkkeen kuljettamiseen ja vapauttamiseen kohteena olevien bakteerien läsnä ollessa [61]. Tutkimuksia on tehty myös kultananoklustereiden potentiaalisesta hyödyntämisestä syöpähoidoissa. Pienen kokonsa ansi-



oista nanoklustereihin pohjautuvia materiaaleja voitaisiin käyttää syöpälääkkeen kuljettamiseen kohdistetusti syöpäsolujen sisään ja siten parantaa hoidon tehokkuutta, minkä lisäksi nanoklustereiden fluoresenssi mahdollistaa solujen samanaikaisen kuvantamisen [62; 63]. Lääkeaineen kuljettamisen lisäksi nanoklustereiden on havaittu voivan tehostaa sädehoidon vaikutusta kerääntymällä syöpäkasvaimeen ja vahingoittamalla syöpäsolujen DNA:ta valosähköisen ilmiön ja Comptonin sironnan aiheuttaman toissijaisen säteilyn kautta [64].

### **Energiantuotanto**

Nanoklusterit voivat potentiaalisesti olla hyödyksi myös ympäristöystävällisten energialähteiden kehittämisessä. Vedyn käyttöä pidetään mahdollisena vaihtoehtona energiantuotantoon ja varastointiin tulevaisuudessa [65]. Esimerkiksi kulta- ja palladiumnanoklusteriin pohjautuvien materiaalien käyttö vedyn tuottamisessa on tutkimuksissa osoitettu mahdolliseksi [66; 67]. Metallinanoklustereiden molekyylinkaltaiset ominaisuudet tekevät niistä mielenkiintoisen materiaalin myös aurinkokennojen kehittämiseen. Muun muassa kulta- ja platinananoklustereita on tutkimuksissa käytetty aurinkokennojen materiaalina [68-70].

Nanoklustereiden ainutlaatuisille ominaisuuksille on tähän mennessä löydetty paljon merkittäviä käyttökohteita ja uusia kehitetään jatkuvasti. Nanoklustereiden valmistaminen eri kokoisina, eri koostumuksilla ja hyvin erilaisiin pohjamateriaaleihin mahdollistaa valtavan määrän sovelluksia eri tieteenaloilla. Tulevaisuudessa nanoklustereille ja niihin pohjautuville materiaaleille on odotettavissa yhä monipuolisempia ja toimivampia sovelluksia muun muassa lääketieteessä, materiaalitekniikassa ja energiantuotannossa.

## **2.6 Karakterisointimenetelmiä**

Spektroskopia on atomien, molekyylien tai muiden näytteiden absorboiman, sirottaman tai emittoiman sähkömagneettisen säteilyn mittaamista ja tulkitsemista. Säteilyn absorptio tai emissio perustuu muutoksiin näytteen energiatiloissa. Koska jokaisella näytteellä on tunnusomaiset energiatilansa, voi spektroskopisia menetelmiä käyttää aineiden tunnistamiseen ja niiden elektronirakenteen tutkimiseen. [27]

Erilaiset näytteet absorboivat UV-säteilyä ja näkyvää valoa vain tietyillä aallonpituusalueilla, jolla fotoneiden energiaa on sopiva atomin tai molekyylin virittämiseen. Absorptiospektrin mittauksessa käytetään halutulla aallonpituusalueella riittävän tehokasta valonlähdettä, jonka säteilystä osan näyte absorboi ja jäljelle jäävä osa havaitaan detektorilla. Absorptio esitettynä aallonpituuden funktiona, eli absorptiospektri, on tunnusomainen eri näytteille. Absorptiospektroskopiaa voidaan käyttää myös näytteen kvantitatiiviseen tutkimukseen sopivilla kalibrointivaiheilla. [27] Koska nanoklustereiden optiset ominaisuudet ovat riippuvaisia niiden koosta, on absorptiospektroskopia tehokas työkalu nanoklustereiden karakterisointiin ja elektronirakenteen tutkimiseen. Suuremmilla metallinahiukkasilla absorptiospektriä hallitsee plasmoniresonanssin absorptiopiikki, joka katoaa pienemmillä molekyylinkaltaisilla nanoklustereilla. Tutkimalla näitä piikkejä ja

niiden muutoksia saadaan tietoa nanoklustereiden koosta ja muodostumisesta, [33; 71] ja absorptiospektroskopia on yksi tavallisimmista nanoklustereiden karakterisointimenetelmistä [11; 13; 17; 31; 50]

Fluoresenssi on luminesenssin muoto, jossa atomi tai molekyyli absorboi virittävän fotonin ja sen jälkeen emittoi säteilyä pienemmällä energialla. Fluoresenssispektroskopiassa virittävä säteily halutulla aallonpituudella ohjataan näytteelle, joka emittoi fluoresenssisäteilyä. Emittoitunut valo erotellaan virittävästä säteilystä suotimella tai monokromaattorilla ja havaitaan detektorilla. Fluoresenssispektroskopia on erityisen herkkä menetelmä, koska näytettä virittävällä ja sen emittoimalla säteilyllä on eri aallonpituus. Sen vuoksi fluoresenssisignaalin voi mitata suoraan lähes ilman taustasignaalia, jolloin saavutetaan parempi herkkyys, kuin vertailemalla kahta keskenään lähes saman suuruista signaalia, kuten absorptiospektroskopiassa. Lisäksi aineiden tunnistamista helpottaa tutkimuksen riippuminen sekä näytteen eksitaatio- että emissiospektristä. Sen ansiosta samalla aallonpituudella viritetyt aineet, jotka fluoresoivat eri aallonpituudella on helppo erottaa toisistaan. Vastaavasti myös samaa aallonpituutta emittoivat näytteet voivat vaatia eri aallonpituuden virittyäkseen. [27] Nanoklustereiden tutkimuksessa fluoresenssispektroskopia on tärkeä ja paljon käytetty menetelmä, sillä sen avulla saadaan tietoa klustereiden energiatasoista, koosta ja fluoresenssin intensiteetin kautta myös kvanttihyötysuhteesta [17; 31; 51; 52].

Nanoklustereiden fluoresenssiemissiota voidaan tutkia spektroskopian lisäksi myös fluoresenssimikroskopiolla. Tässä menetelmässä fluoresoivaa näytettä valaistetaan virittävällä aallonpituudella, emittoitu valo erotellaan virittävästä valosta värinerottelupeilillä ja linsien muodostama suurennettu kuva havaitaan silmin tai kameralla. Värinerottelupeilin lisäksi käytössä on yleensä kaksi filteriä: yksi, jolla valitaan halutut aallonpituudet virittävästä valonlähteestä, ja toinen, joka estää lyhyempien aallonpituuksien pääsyn detektorille. Virittävän ja emittoituvan valon aallonpituuksien välisen eron ja tehokkaan suodattamisen ansiosta fluoresenssimikroskopiassa saavutetaan erittäin hyvä kontrasti näytteen ja taustan välillä, ja jopa yksittäisen fluoresoivan molekyylin havaitseminen on mahdollista. [30]

Fluoresenssimikroskoopin suositellussa rakenteessa objektiivia käytetään kuvantamisen ja suurentamisen lisäksi näytteen valaisemiseen. Näin virittävästä valosta täytyy suodattaa pois vain hyvin pieni, näytteestä heijastunut osa verrattuna järjestelyyn, jossa virittävällä valolla läpivalaistetaan näytettä vastakkaiselta puolelta. Kun objektiivia hyödynnetään näin sekä valon kohdistamiseen, että keräämiseen, on sen ominaisuuksilla merkittävä vaikutus lopulliseen kuvaan. Tärkein ominaisuus objektiivissa on numeerinen aukko (NA), joka määrittää sekä erotuskyvyn että valon keräystehokkuuden. Öljyimmersio-objektiivin käyttö auttaa valon keräämisessä, sillä objektiivilinssin ja näytteen peitelasin välissä olevan öljyn taitekerroin vastaa lasin taitekerrointa, mikä ehkäisee valon taittumista ja heijastumista rajapinnoista. [30] Nanoklustereiden tutkimuksessa fluoresenssimikroskopiolla voidaan esimerkiksi havaita jopa yksittäisiä fluoresoivia ja tuikkivia nanoklustereita nesteessä [50], tutkia nanoklustereiden kulkeutumista elävissä soluissa [28; 63] tai nähdä erilaisia nanoklustereista koostuvia rakenteita kiinteissä materiaaleissa [6; 72].

Myös elektroneja kuvantamiseen valon sijaan käyttävät elektronimikroskoopit ovat käytössä nanoklustereiden karakterisoinnissa. Pyyhkäisyelektronimikroskoopissa (engl. scanning electron microscope, SEM) elektronisuihkulla skannataan tyhjiössä olevan näytteen pintaa. Elektronit vuorovaikuttavat pinnan atomien kanssa eri tavoilla ja syntynyt signaali havaitaan detektorilla. SEM antaa tarkkaa tietoa näytteen pinnan muodoista ja koostumuksesta. [73] Tutkimuksissa, joissa metallinanoklustereita on syntetisoitu kiinteään materiaaliin, on käytetty SEM:iä kullin ja hopean läsnäolon vahvistamiseen näytteessä ja nanoklusterirakenteiden muodon tutkimiseen [72; 74]. Läpäisyelektronimikroskoopissa (engl. transmission electron microscope, TEM) elektronisuihku kulkee ohuen näytteen läpi, jolloin havaittu signaali sisältää tietoa näytteen sisäisestä rakenteesta ja kemiallisesta koostumuksesta [73]. TEM:iä on nanoklustereiden tutkimuksissa usein käytetty erityisesti eri menetelmillä tuotettujen nanoklustereiden kokojakauman selvittämiseen [28; 51; 61; 63; 75]

Atomivoimamikroskooppi eli AFM (engl. atomic force microscope) käyttää näytteen tutkimiseen muutaman sadan mikrometrin kokoista uloketta, jonka pohjassa on erittäin terävä neula. Neulalla skannataan näytteen pintaa kohdistuen siihen vakiona pysyvä voima, jolloin neula liikkuu pystysuunnassa näytteen pinnanmuotojen mukaan. Neulan liikettä voidaan seurata optisesti, esimerkiksi laserin heijastusta käyttäen, tai itse ulokkeessa olevia sähköisiä sensoreita käyttäen. Tuloksena saadaan hyvin tarkka kuva näytteen pinnasta. Paras AFM-menetelmällä saavutettu resoluutio on noin 0.01 nm, ja sillä pystytään näkemään jopa yksittäisiä atomeja. [1] Kiinteään pohjamateriaaliin syntetisoitujen nanoklustereiden karakterisoinnissa on käytetty atomivoimamikroskooppia klustereiden ja pohjamateriaalin ominaisuuksien ja niiden välisten vuorovaikutusten, sekä klustereiden yhteen kasvamisen tutkimiseen [32; 74]

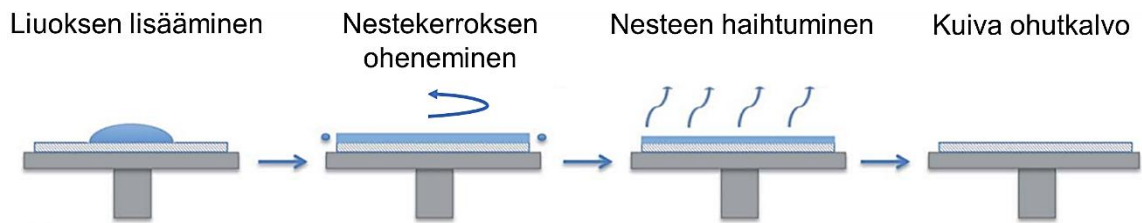
## 3. NANOKLUSTERIT POLYMEERIKALVOSSA

Tässä kappaleessa käsitellään erilaisia erityisesti polymeerikalvoon syntetisoituihin nanoklustereihin liittyviä aiheita. Ensimmäisenä esitellään työssä tärkeässä roolissa oleva spin-coating -pinnoitusmenetelmä. Sen jälkeen esitellään polymeerien ja erityisesti polyvinyylialkoholin ominaisuuksia. Tämän jälkeen käsitellään tarkemmin polyvinyylialkoholikalvojen muodostumista kuivumisen aikana. Neljännessä kappaleessa kerrotaan aiemmin samassa tutkimusryhmässä tehdyistä tutkimuksista, joissa tutkimuksen kohteena olivat fotokemiallisella pelkistämällä valmistetut samankaltaiset, mutta hopeaa sisältävät näytteet. Lopuksi esitellään muutamia eri yhteyksissä ehdotettuja käyttökohteita fluoresoivia nanoklustereita sisältäville polymeerikalvoille.

### 3.1 Spin-coating -menetelmä

Spin-coating on yleinen pinnoitusmenetelmä, jolla voidaan tuottaa ohut ja tasainen kalvo tasomaisen alustan pinnalle. Menetelmää voidaan käyttää eri materiaalien pinnoittamiseen hyvin monenlaisilla eri aineilla, usein erityisesti polymeereillä. [76] Käytännössä menetelmällä pinnoittaminen on suhteellisen helppoa ja yksinkertaista, ja sillä saavutetaan hyvälaatuisia, tasaisia ohutkalvoja ja lisäksi sen toistettavuus on erinomainen. Menetelmän huonona puolena erityisesti teollisen käytön kannalta on se, että materiaalia kuluu runsaasti enemmän, kuin mitä lopulliseen pinnoitteeseen todellisuudessa jää. Lisäksi jokainen näyte täytyy käsitellä yksitellen, mikä voi olla hidasta. Tutkimuksen kannalta nämä eivät kuitenkaan ole suuria haittoja. [77] Spin-coating –menetelmää käytetään monilla teollisuuden ja tekniikan aloilla, mutta erityisesti se on käytössä elektroniikan, nanoteknologian ja puolijohdetekniikan sovelluksissa ja esimerkiksi polymeeripohjaisten aurinkokennojen kehityksen kannalta se on ollut erittäin merkittävässä roolissa [76; 77].

Pinnoituksen vaiheet on esitetty kuvassa 10. Pinnoitusprosessissa pinnoituksessa käytettävää liuosta laitetaan tasaisesti alustan päälle, tavallisesti peittäen se kokonaan. Laitteisto kiihdyttää alustan nopeasti haluttuun pyörimisnopeuteen. [78] Vaihtoehtoisesti neste voidaan lisätä alustalle vasta, kun se pyörii jo halutulla nopeudella [77]. Pyörimisen ansiosta neste virtaa alustan keskeltä kohti reunoja ja ylimääräinen neste poistuu reunojen yli. Muodostunut kalvo ohenee edelleen, kunnes saavutetaan tasapainotilanne. Tasapainossa nestekerros ei enää ohene, tai se voi olla muuttunut kokonaan kiinteäksi liuottimen haihtuessa. Lopullinen kalvo muodostuu, kun pinnoite on kokonaan kuivunut. [78] Tuotettujen kalvojen paksuus voi olla kymmenistä nanometreistä yli mikrometriin [79].



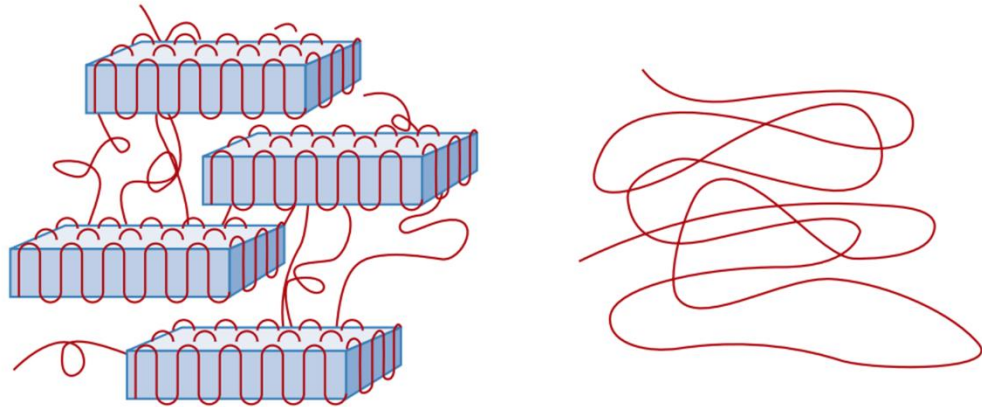
**Kuva 10** Spin-coating –pinnoituksen vaiheet ovat pinnoituksessa käytettävän nesteen lisääminen pinnoitettavalle pinnalle, pyöriminen ja kuivuminen. Alkuperäinen kuva [93]

Laitteisto käyttää suuria pyörimisnopeuksia, yleensä vähintään 600 rpm (kierrosta minuutissa), mutta usein yli 2000 rpm [76; 79]. Kalvon paksuus riippuu pyörimisnopeudesta, mutta koko pinnoitusprosessin täydellinen matemaattinen mallintaminen on haastavaa [78]. Samalla laitteistolla valmistetun paksuimman ja ohuimman mahdollisimman kalvon paksuusero on suhteellisen pieni, mutta tällä välillä kalvon paksuutta voidaan säädellä tarkasti [79]. Lopullisen kalvon tarkka paksuus riippuu kuitenkin pyörimisnopeuden lisäksi myös pinnoitusmateriaalin konsentraatiosta, moolimassasta ja viskositeetistä sekä liuottimen haihtumisnopeudesta. Suhteellisen vähän lopputulokseen vaikuttavia tekijöitä ovat käytetyn liuoksen määrä ja pyörimisaika. [76; 77; 80] Yleensä noin 30 sekunnin pyörimisaika on riittävä useimmille liuottimille [79].

## 3.2 Polyvinyylialkoholi

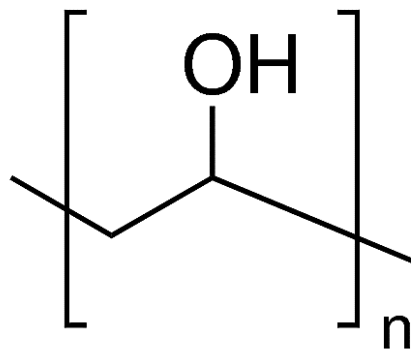
Polymeerit ovat materiaaliluokka, johon sisältyy orgaanisia ja epäorgaanisia muovi- ja kumimateriaaleja. Niiden rakenne on usein ketjumainen suuri molekyyli, joka perustuu hiileen ja vetyyn. Polymeereillä on tavallisesti pieni tiheys ja ne ovat helposti muokattavia. Lisäksi ne ovat kemiallisesti vakaita, sähköä eristäviä ja niiden lujuus on tavallisesti muita materiaaleja alhaisempi. Polymeerimolekyylit voivat tyypillisesti olla ketjumaisia, haarautuneita, ristosilloittuneita tai verkkomaisia. Niiden muoto yhdessä koostumuksen ja moolimassan kanssa määrittelee polymeerin fysikaaliset ominaisuudet. [81]

Tavallisesti pienet molekyylit tuottavat kiteisen rakenteen ja suuret molekyylit amorfisen (kuva 11). Polymeerit ovat tavallisesti amorfisia, mutta myös kiteiset rakenteet ovat niissä mahdollisia. Useat polymeerit ovatkin osittain kiteisiä materiaaleja, jolloin niillä on kiteisiä alueita muun amorfisen materiaalin seassa. Kiteisyys syntyy polymeeriin viilentymisen ja jäähmettymisen aikana, mikäli polymeeriketjuilla on riittävästi aikaa ja sopiva koostumus, jotta ne voivat järjestyä kideiseksi rakenteeksi. Ketjumaisilla polymeereillä kiteytyminen tapahtuu helpommin, sillä niillä molekyylien liikkeet ovat vähemmän rajoitettuja. Kiteisyyden aste vaikuttaa materiaalin mekaanisiin ja termisiin ominaisuuksiin. Polymeerin viilentyessä se muuttuu ensin nesteestä kumimaiseksi materiaaliksi ja lopulta jäykäksi kiinteäksi aineeksi. Muutos kumimaisesta jäykäksi materiaaliksi tapahtuu niin kutsutussa lasisiirtymälämpötilassa,  $T_g$ . Tavallisesti polymeerin lasisiirtymälämpötila on noin 0.5 – 0.8 kertaa sen sulamislämpötila Kelvineissä. [81]



**Kuva 12** Kuvassa on esitetty puolikiteisen (vas.) ja täysin amorfisen (oik.) polymeerin rakenteen periaate. [81]

Polyvinyylialkoholi (engl. poly(vinyl alcohol)) on vesiliukoinen, osittain kiteinen polymeeri, jolla on varsin yksinkertainen, monomeereistä koostuva ketjurakenne. Siitä käytetään usein lyhenteitä PVA ja PVOH. Sen monomeeri, vinyylialkoholi  $C_2H_4O$  (kuva 12), ei esiinny yksin vakaana yhdisteenä. PVA:n valmistuksessa vinyyliasetaatti polymerisoi- tuu polyvinyyliasetaatiksi (PVAc) joka edelleen muuntuu PVA:ksi hydrolyysissä. Hydrolyysireaktio ei etene aivan loppuun saakka, joten PVA on itse asiassa PVA:sta ja PVAc:stä muodostunut sekapolymeeri. Hydrolyysiaste vaikuttaa mm. polymeerin vesiliukoisuuteen. Kaupallisesti saatavilla olevissa PVA-laaduissa hydrolyysin aste on korkea, yli 98,5 %. Koska PVA:n muodostumiseen tarvitaan kaksi peräkkäistä kemiallista reaktiota, polymerisaatio ja hydrolyysi, sen molekyylimassa vaihtelee ja muodostaa todellisuudessa melko leveän jakauman. [80] Tässä työssä käytetyn PVA:n moolimassa on noin 93 500 g/mol, joten yksi ketju sisältää siis noin 2120 monomeeriyksikköä.



**Kuva 11** Polyvinyylialkoholin ketjumainen molekyylirakenne koostuu kuvassa esitetyistä yksiköistä. [92]

Tavallinen kaupallisesti saatavilla oleva polyvinyylialkoholi on valkoista tai kellertävää jauhetta. Tärkeimmät sen ominaisuuksiin vaikuttavat tekijät ovat polymerisaation ja hydrolyysin aste. [82] PVA:n lasisiirtymälämpötilan, noin 85 °C, yläpuolella PVA on täysin vesiliukoinen. Polyvinyylialkoholilla on hyvät mekaaniset ominaisuudet ja se on erityisen toimiva materiaali kalvojen valmistamiseen. Veteen liotettu PVA muodostaa kuivuuksaan

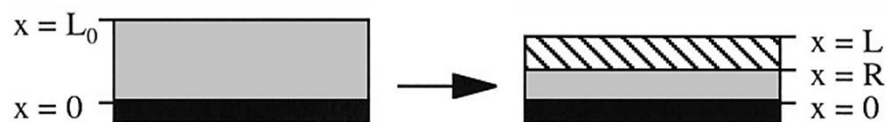
lasimaisen läpinäkyvän kalvon. Liuoksen kuivumisprosessi on tärkeä, sillä se määrittää lopullisen kalvon rakenteen ja ominaisuudet. [83]

PVA:n käyttökohteet ovat hyvin laajat. Teollisuudessa sitä käytetään mm. liimojen, tekstiilien ja paperin valmistuksessa. Lisäksi PVA toimii mm. sakeuttamis- ja sidosaineena esimerkiksi erilaisissa kankaissa, keraamimateriaaleissa, lakoissa, pakkausmateriaaleissa ja kosmetiikassa. [82] PVA:lla on monia käyttökohteita biolääketieteellisissä sovelluksissa, koska se ei ole ihmiselle myrkyllistä tai aiheuta syöpää ja sen prosessointi on helppoa. PVA:ta on käytetty esimerkiksi piilolinssien ja keinotekoisien elinten materiaalina. [80]

### 3.3 Polyvinyylialkoholikalvot

Polymeeriliuoksen kuivuminen on tärkeä vaihe kalvon muodostuksessa, minkä vuoksi sitä on tutkittu useissa julkaisuissa. PVA-liuoksen kuivumisprosessi määrittää kalvon lopullisen rakenteen ja ominaisuudet. Prosessin tärkeimpiä parametreja ovat alkuperäinen PVA-konsentraatio, lämpötila ja suhteellinen kosteus. PVA- ja vesimolekyylien välinen vuorovaikutus määrittää polymeeriketjujen käyttäytymisen vesiliuoksessa. Veden haihtuminen liuksesta muuttaa ketjujen dynamiikkaa ja aiheuttaa heterogeenisiä rakenteita lopulliseen kalvoon. [84]

Huoneenlämpötilassa monet polymeerit ovat lasimaisia, mutta muuttuvat kumimaiseksi sopivassa liuottimessa [85]. Polyvinyylialkoholiliuoksen kuivuessa se muuttuu asteittain kiinteäksi, jolloin sen kiteisyyden aste kasvaa [84; 85]. Ilmiön taustalla ovat muutokset PVA:n lasisiirtymälämpötilassa. Veden haihtuessa sen konsentraatio liuoksessa pienenee, mikä aiheuttaa lasisiirtymälämpötilan nousun. Lasisiirtymälämpötilan noustessa PVA-polymeeriketjut muuttuvat kiinteiksi ja muodostavat kalvon. [84] Koska liuottimen haihtuminen tapahtuu nopeimmin liuoksen ja ilman rajapinnassa, polymeeri muuttuu lasimaiseksi ensin pinnasta, mutta liuoksen keskeltä materiaali on vielä kumimaisista (kuva 13). Näin liuoksen pintaan muodostuu lasimainen kuori, joka alkaa toimia kuivumista hidastavana esteenä. Kuoren paksuus kasvaa, kunnes polymeeri on kokonaan kuivunut ja muuttunut lasimaiseksi. [85]



**Kuva 13** Kuivumisen aikana PVA-liuoskerros ohenee alkuperäisestä paksuudesta  $L_0$  paksuuteen  $L$ . Liuos pysyy nestemäisenä paksuuteen  $R$  saakka, jonka päälle muodostuu kuorimainen kerros. [85]

Edellä kuvattu prosessi voi johtaa lopullisessa kalvossa esiintyviin heterogeenisyyksiin, kun kuivumisen aikana muodostuneet kiteet estävät vesimolekyylien vapaan diffuusion. Tällöin polymeerin ja liuottimen pitoisuuksien erot eri osissa näytettä eivät pääse tasoit-

tumaan, vaan esiintyvät myös lopullisessa polymeerikalvossa. [83] Vuonna 2013 julkaisussa tutkimuksessa havaittiin veden haihtumisen aiheuttama muuttuva heterogeenisyys PVA-liuoksissa kaikilla tutkituilla konsentraatioilla. Pienempien alkuperäisten PVA-konsentraatioiden havaittiin vähentävän kalvonmuodostuksen aikana esiintyviä heterogeenisyyksiä ja hidastavan veden haihtumisnopeuden muuttumista. [84]

Toisessa julkaisussa polyvinyylialkoholin kuivumisprosessia tutkittiin magneettiresonanssikuvantamisella. Tutkimuksessa havaittiin riittävän hitaasti kuivuneiden kerrosten tuottavan koostumukseltaan tasaisen kalvon, mutta nopeammin kuivuneilla liuoksilla näin ei tapahtunut. [86] Myös liuoksen kontakti pystysuoran seinämän kanssa aiheuttaa merkittäviä heterogeenisyyksiä lopulliseen kalvoon. Tutkijat havaitsivat kapillaarivirtauksen kohti kontaktipintaa, mikä saa aikaan gradientin polymeerin pitoisuudessa. Seinämän korkeudesta ja polymeerin alkuperäisestä pitoisuudesta riippumatta kuivuva kalvo koki samanlaiset vaiheet konsentraation muutoksissa. [87] Kokonaisuudessaan polymeerin kuivuminen ja kalvon muodostuminen on monimutkainen prosessi, jota on mm. yritetty mallintaa matemaattisesti useissa tutkimuksissa. [85; 88]

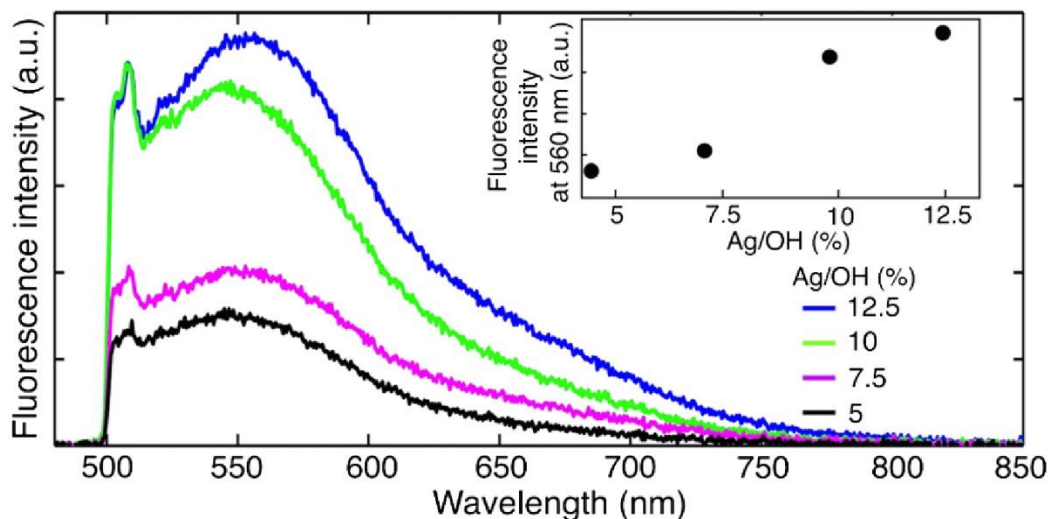
### 3.4 Hopeananoklusterit polymeerikalvossa

Tässä työssä nanoklusterit syntetisoitiin polymeerikalvoon fotokemiallista pelkistämistä käyttäen. Jatkovatoiminen lasersäde kohdistettiin kulta-ioneja sisältävään polyvinyylialkoholi-polymeerikalvoon, jolloin ne pelkistyivät atomeiksi ja yhdistyvät nanoklustereiksi. Ympäröivä polymeerikalvo stabiloii nanoklusterit ja estää niiden kasvun suuremmiksi nanohiukkasiksi. Samankaltaista menetelmää on aiemmin käytetty erilaisille yhdistelmille metallia ja polymeeriä. Kirjallisuudesta löytyy useita mainintoja kultananoklustereista, nanoklustereiden fotokemiallisesta pelkistämisestä [17; 72] sekä polyvinyylialkoholin käytöstä nanoklustereiden ja -hiukkasten stabilointiin [5; 89], mutta ei juuri tästä materiaalien ja syntetisointimenetelmän yhdistelmästä. Tämän vuoksi kultananoklustereiden syntetisoinnista polyvinyylialkoholihutkalvoon laserilla tehtyä fotokemiallista pelkistämistä käyttäen voidaan pitää uutena saavutuksena. Ilman aiempia kirjallisuusviitteitä näiden nanoklustereiden muodostumista on haastavaa ymmärtää ja selittää täysin. Järkevänä lähtökohtana voidaan kuitenkin pitää aiemmin samassa tutkimusryhmässä tehtyjä tutkimuksia hopeananoklustereilla.

Vuonna 2016 julkaistiin tutkimus, jossa ensimmäistä kertaa syntetisoitiin hopeananoklustereita polyvinyylialkoholi-kalvoon käyttäen laseria. Skannaamalla näytettä laserilla (405 nm) pystyttiin kirjoittamaan fluoresoivia kuvioita näytteeseen. Menetelmästä käytetään usein nimitystä laserkirjoitus (engl. direct laser writing). Kun näytettä valaistiin virittävällä valodiodilla aallonpituudella 470 nm, havaittiin kirkas fluoresenssisignaali laserille altistuneilta alueilta, mikä osoitti fluoresoivien nanoklustereiden syntetisoinnin ja stabiloinnin onnistuneen. Lisäksi huomattiin, ettei fluoresoivien rakenteiden tuottaminen onnistunut pelkkää polymeeriä sisältävään näytteeseen, mikä osoitti hopean roolin fluoresenssisignaalin synnissä. Samaa johtopäätöstä tukivat tulokset, joiden mukaan emittoitu intensiteetti oli suurempi enemmän hopeaa sisältävillä näytteillä (kuva 14). Tämän joh-



dosta voitiin vakuuttua siitä, että laserille altistetut alueet todella sisälsivät alle 2 nm kokoisia hopeananoklustereita. Muodostuneiden nanoklustereiden karakterisoinnissa havaittiin niillä olevan leveäkaistainen fluoresenssiemissio ja erinomainen fotostabiilius. [5]

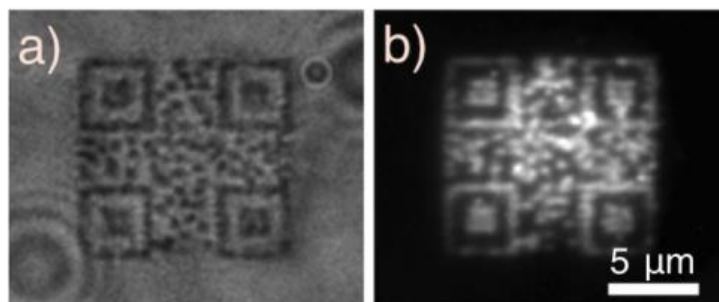


**Kuva 14** PVA-kalvoon syntetisoitujen hopeananoklustereiden emittoima intensiteetti riippui hopean konsentraatiosta näytteessä. Spektreissä noin 510 nm kohdalla havaittu piikki selitettiin Raman-sironnalla. [5]

Aiemmin samassa tutkimusryhmässä on syntetisoitu hopeananoklustereita PMAA-kalvoon. Vuonna 2014 julkaistussa tutkimuksessa hopeananoklustereiden muodostumisen havaittiin koostuvan kolmesta vaiheesta, kun Ag@PMAA-näytteet altistettiin lasersäteelle. Aluksi havaitun fluoresenssin intensiteetti laskee nopeasti, mikä selitettiin näytteenvalmistuksessa syntyneiden epävakaiden nanoklustereiden haalistumisella. Sen jälkeen intensiteetti kasvaa maksimiarvoonsa, kun stabiilit fluoresoivat nanoklusterit muodostuvat fotokemiallisen pelkistymisen vaikutuksesta. Kolmannessa vaiheessa stabiilitkin nanoklusterit alkavat menettää fluoresenssiikykyään ja intensiteetti laskee eksponentiaalisesti. Laserilla näytteeseen kirjoitetut mikrorakenteet olivat kuitenkin erittäin fotostabiileja verrattuna orgaanisiin väriaineisiin, ja säilyttivät fluoresenssiominaisuutensa pitkään. [6]

Toisessa tutkimuksessa vastaavanlaisiin Ag@PMAA-kalvoihin syntetisoitiin mikrometrien kokoluokassa olevia kuvioita laserin valoa moduloimalla. Tietokoneella generoitu hologrammi syötettiin valoa moduloivalle laitteelle ja muokattu säde ohjattiin objektiivilinssin läpi näytteelle. Menetelmällä saatiin tuotettua PMAA-kalvoon mikrokokoisia fluoresoivia kuvioita, mm. QR-koodi (kuva 15). Nanoklusterit emittoivat laajalla, näkyvän valon alueella olevalla kaistalla. Moduloidulla lasersäteellä muodostettuja rakenteita voitiin virittää LED-valodiodilla fluoresenssimikroskooppikuvien ottamista varten. Nanoklustereiden fotostabiiliuden havaittiin olevan erittäin hyvä verrattuna yleisesti käy-

tettyyn fluoresoivaan väriaineeseen. Menetelmä osoittautui nopeaksi ja kustannustehokkaaksi, sillä siinä koko kuvio voitiin valottaa kalvoon samalla kertaa, ilman hidasta skannaamista piste kerrallaan. [90]



**Kuva 15** Hopeaioneja sisältävään PMAA-kalvoon syntetisoitiin mikrometriä kokoinen rakenne, joka näkyy sekä a) läpivalaisu- että b) fluoresenssimikroskooppikuvassa. [90]

Mikrokokoisia fluoresoivia kuvioita Ag@PMAA-kalvoihin oli aiemmin valmistettu piste pisteeltä skannaamalla. Vuonna 2014 julkaistussa tutkimuksessa fluoresoivia nanoklustereita syntetisoitiin Ag@PMAA-kalvoihin suuritehoisella laserilla. Näytettä laserin suhteen skannaamalla kalvoon voitiin valmistaa halutunlaisia pysyviä kuvioita. Näiden laserkirjoittamalla tuotettujen kuvioiden havaittiin koostuvan lähes pelkästään hopeasta, koska laser oli poistanut melkein kaiken materiaalin sille altistuneilta alueilta. Fluoresenssin intensiteetin huomattiin kasvavan suuremman hopeakonsentraation mukana, mikä vahvistaa hopeananoklustereiden olevan fluoresenssiemission aiheuttajia. Syntyneet, erittäin fotostabiilit nanoklusterit absorboivat aallonpituuksia 420–520 nm ja emittoivat fluoresenssia 500–850 nm kaistalla, emission maksimikohdan ollessa noin 650 nm. Näiden polymeerikalvoon syntetisoitujen hopeananoklustereiden optisten ominaisuuksien havaittiin olevan samanlaisia kuin aiemmin kirjallisuudessa raportoiduilla vesiliukoisilla hopeananoklustereilla. Lisäksi fluoresenssia havaittiin alueilta, johon ei oltu tehty laserkirjoitusta. Tulosten perusteella pääteltiin laserkirjoituksen todennäköisesti stabiloivan näytteenvalmistuksen aikana syntyneitä nanoklustereita, ei syntetisoivan niitä.

### 3.5 Mahdollisia sovelluksia

Yleisesti metallinanoklustereiden kiinnostavimpia ominaisuuksia sovellusten kannalta on niiden kirkas fluoresenssi, pieni koko, stabiilius ja biologinen yhteensopivuus. Nanoklustereiden stabilointi polymeerikalvoon puolestaan mahdollistaa pysyvien fluoresoivien rakenteiden syntetisoinnin, mikä ei esimerkiksi vesiliukoisilla nanoklustereilla ole mahdollista. Lisäksi käytetylle polymeerille tyypilliset ominaisuudet avaavat mahdollisuuksia uudennlaisille käyttökohteille. Polymeerejä käytetään valtavan laajasti erilaisissa sovelluksissa ja joissakin tapauksissa mahdollisuus tuottaa niihin fluoresoivia ja stabiileja rakenteita uudennlaisen, funktionaalisen materiaalin tuottamiseksi voi olla hyödyksi.

Nanoklustereita sisältävän komposiittimateriaalin mahdolliset sovellukset riippuvat valituista materiaaleista, nanoklustereiden koosta ja materiaalin pintaenergiasta. Nanoklustereiden pienen koon ansiosta näiden materiaalien selvä etu on se, miten vähän metallia

tarvitaan ainutlaatuisen fysikaalisen tai kemiallisen ominaisuuden tuottamiseen. [25] Polymeerikalvoon syntetisoitujen kultananoklustereiden valmistuksessa ja spektreissä on joitakin eroja vastaaviin hopeananoklustereihin verrattuna, mutta niiden mahdolliset sovellukset ovat pitkälti samanlaisia.

Aiemmissa julkaisuissa nanoklustereista koostuvien mikrorakenteiden mahdolliseksi sovellukseksi on ehdotettu mikrometriä kokoisten etikettien ja aitousmerkkien valmistamista. Esitetyllä menetelmällä ainutlaatuinen fluoresoiva merkintä voidaan kirjoittaa suoraan ohutkalvoon, jolloin se on käyttökelpoinen ja luettavissa heti. Fluoresoivista nanoklustereista koostuva opinen merkintä olisi ominaisuuksiltaan täysin uniikki, ja sen nanoklustereiden kokojakaamaa, koostumusta ja niiden muodostaman mikrorakenteen muotoa olisi erittäin vaikea kopioida. [6; 25; 90] Lisäksi polymeeriin stabiloitujen nanoklustereiden mahdollisia käyttökohteita voisi löytyä kuvantamisesta ja optisesta datansäilytyksestä. [5]

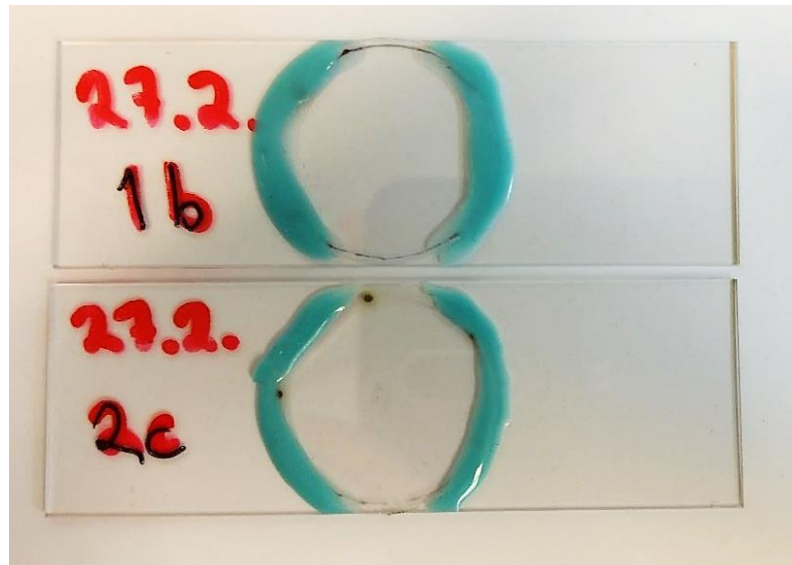
Samankaltaista lähestymistapaa käytettiin vuonna 2011 julkaistussa artikkelissa, jossa kahden fotonin absorptioon perustuvaa laserkirjoitusta käytettiin johtavien kultananorakenteiden syntetisoimiseen polymeerikalvoon. Näin valmistetulla optisella metamateriaalilla on ainutlaatuisia sähkömagneettisia ominaisuuksia ja sitä voitaisiin hyödyntää eri sovelluksissa, kuten nanoluokan optisessa sieppaamisessa (engl. nanoscale optical trapping), ultrakompaktien aaltoputkien [25;72] (engl. ultracompact waveguide) valmistamisessa ja optisen tehon rajoittamisessa suojaamistarkoituksessa. Lisäksi mahdollisuus tuottaa kultananorakenteita polymeerimateriaaleihin voisi olla hyödyllistä uusilla aloilla kuten taipuisan elektroniikan ja nanofotoniikan kehityksessä. [72]

## 4. MENETELMÄT

Tässä työssä valmistettiin spin-coating –menetelmällä kultaioneja sisältävä polyvinyylialkoholi-ohutkalvo mikroskooppilasin pinnalle. Kultaioneista syntetisoitiin kulta-nanoklustereita laseria käyttäen. Näytteiden karakterisoinnissa tärkeimmässä roolissa oli laboratorioissa itse rakennettu mittaajärjestely, joka kohdisti lasersäteen näytteelle ja muodosti näytteestä suurennettun kuvan kameralle. Näytteiden emittoimaa säteilyä voitiin tutkia siten fluoresenssimikroskopian avulla, minkä lisäksi säteilyn spektrin karakterisointiin käytettiin spektrometriä.

### 4.1 Näytteenvalmistus

Tässä työssä näytteinä käytettiin mikroskooppilasin pinnalle spin-coating –menetelmällä valmistettuja läpinäkyviä polymeeriohutkalvoja, jotka sisälsivät kultaioneja (kuva 16). Lähtöaineina käytettiin PVA-polymeerijauhetta ja  $\text{HAuCl}_4$ -suolaa. Näytteenvalmistus suoritettiin kokonaan Tampereen teknillisen yliopiston ISO 6-standardin mukaisessa puhdistilassa näytteiden mahdollisimman korkean laadun takaamiseksi.



**Kuva 16** Ohutkalvolla pinnoitetut lasiekot liimattiin mikroskooppilasiin.

Näytteenvalmistus aloitettiin liuottamalla 240 mg PVA-jauhetta 8 ml:aan deionisoitua vettä. Polymeerin liottamiseksi seosta lämmitettiin 70 °C:een saakka samalla sekoittaen. Erillisessä astiassa liuotettiin 230 mg  $\text{HAuCl}_4$ -kiteitä 8 ml:aan deionisoitua vettä. Molemmat liuokset yhdistämällä saatiin polymeerikalvon valmistamiseen käytettävä liuos, jossa kullan osuus kultaionien ja vinyylialkoholiyksiköiden lukumäärästä oli noin 12.5%. Työtä varten valmistettiin myös muita näytteitä pienemmillä kultapitoisuuksilla.

Polymeerikalvojen pohjana toimi pyöreä mikroskooppilasi, jonka halkaisija oli 25 mm ja paksuus 0,17 mm. Ennen pinnoitusta lasi puhdistettiin huuhtomalla sitä asetonilla. Tämän jälkeen mahdolliset asetonijäämät puhdistettiin huuhtomalla lasi etanolilla. Viimeisenä lasi huuhdottiin vielä vedellä ja kuivattiin puhaltamalla typpeä. Lasilevyn pinnoittamiseen käytettiin spin-coating –laitteistoa, joka näkyy kuvassa 17.

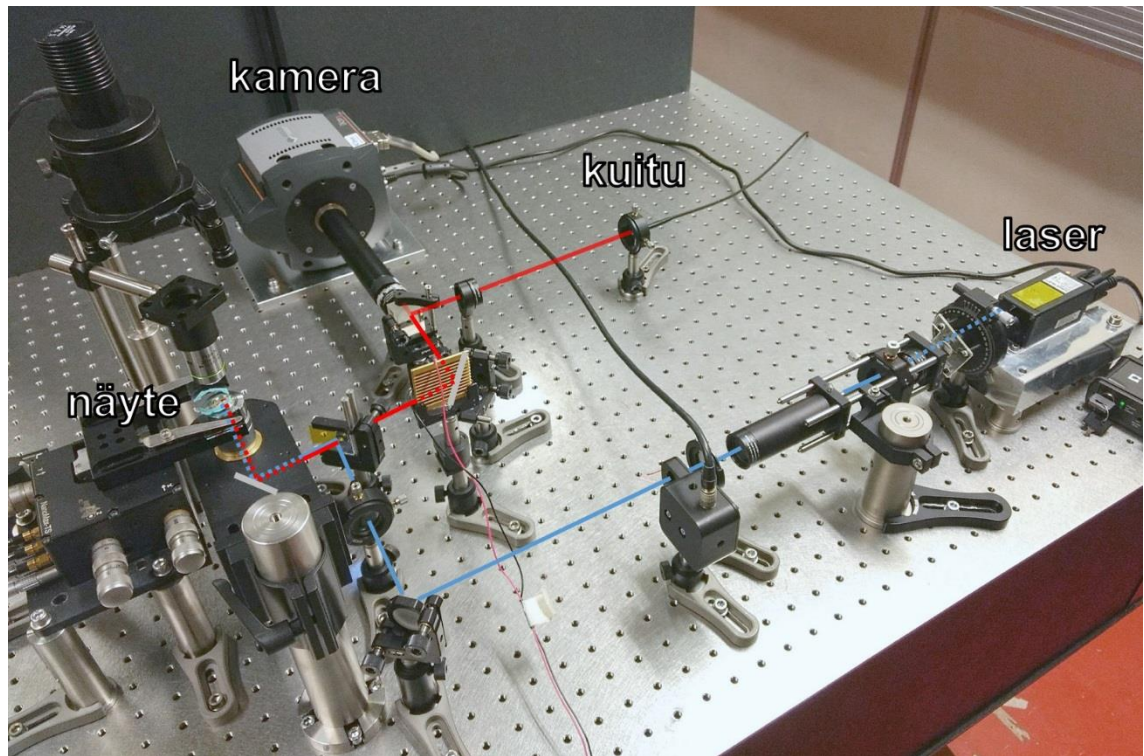


***Kuva 17** Työssä käytettiin puhdistilassa olevaa spin-coating –laitteistoa lasikiekkojen pinnoittamiseen.*

Pinnoitusprosessissa lasilevy asetettiin alustalle, joka piti sen paikoillaan alipaineen avulla. Lasilevy peitettiin valmistetulla Au-PVA –liuoksella, jonka jälkeen sitä pyöritettiin 120 sekunnin ajan 1500 rpm –kierrosnopeudella. Pinnoituksen päättymisen jälkeen näytteiden annettiin kuivua vähintään 12 tunnin ajan typpikaapissa valolta suojattuna. Kuivuneet näytteet liimattiin mikroskoopin aluslasiin kiinni siten, että pinnoite jäi kahden lasilevyn väliin. Näytteet säilytettiin valolta suojattuna.

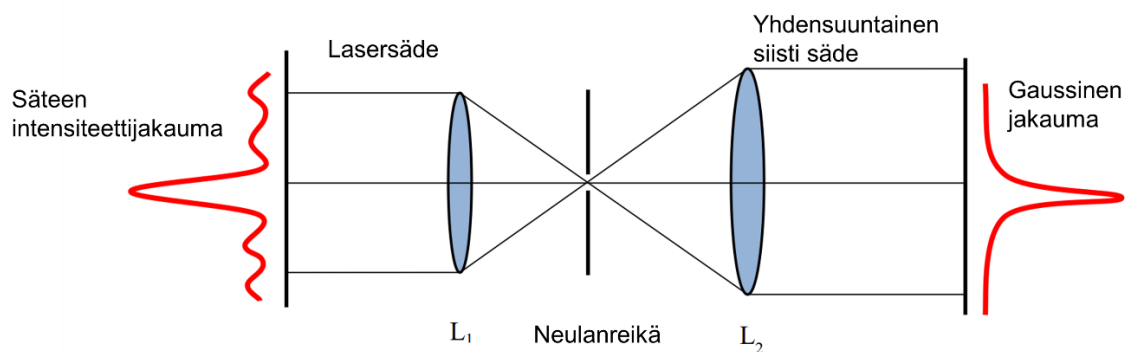
## **4.2 Nanoklustereiden syntetisointi**

Mittauksissa käytettiin itse rakennettua mittausjärjestelyä, jolla pystyttiin samanaikaisesti syntetisoimaan nanoklustereita laseria käyttäen sekä seuraamaan niiden emissiota kameran ja spektrometrin avulla. Kuvassa 18 näkyy mittausjärjestely, johon on selvyiden vuoksi nimetty vain olennaisimmat laitteet ja komponentit, sekä merkitty lasersäteen ja näytteeltä kerätyn emissiosignaalin reitit.



**Kuva 18** Mittausjärjestelyä esittävään valokuvaan on merkitty tärkeimmät komponentit ja nanoklustereiden syntetisointiin käytetyn laserin säteen (sininen) ja näytteestä kerätyn fluoresenssiemission (punainen) reitit.

Nanoklustereiden syntetisointiin käytettiin jatkuvatoimista laseria, jonka aallonpituus oli 473 nm ja suurin mahdollinen teho 120 mW. Lasersäteen pääsyä näytteelle kontrolloitiin sähköisellä sulkijalla, jota voitiin kontrolloida manuaalisesti tai asettamalla haluttu aukio-oloaika. Syntetisointiin käytettyä tehoa säädeltiin polarisaattorilla. Polarisaattorin jälkeen lasersäde eteni linssi-neulanreikä –systemiin, joka puhdisti säteen intensiteettijakaumaa Gaussiseksi profiiliksi (kuva 19). Systemissä myös lasersäteen halkaisija kasvoi linsien eri polttovälin ansiosta. Tarvittaessa lasersäteen kokoa rajoitettiin iiriksen avulla.



**Kuva 19** Linssien  $L_1$  ja  $L_2$  sekä neulanreiän muodostama systemi puhdistaa lasersäteen intensiteettijakauman ja suurentaa säteen kokoa. [91]

Puhdistettu lasersäde ohjattiin peilien avulla objektiivilinsin takapuolelle. Yksi lasersäteen reitillä olevista komponenteista oli puoliläpäisevä peili, joka heijasti takaisin sen raja-aallonpituutta 532 nm lyhyemmät aallonpituudet ja päästi läpi sitä pidemmät. Säteen

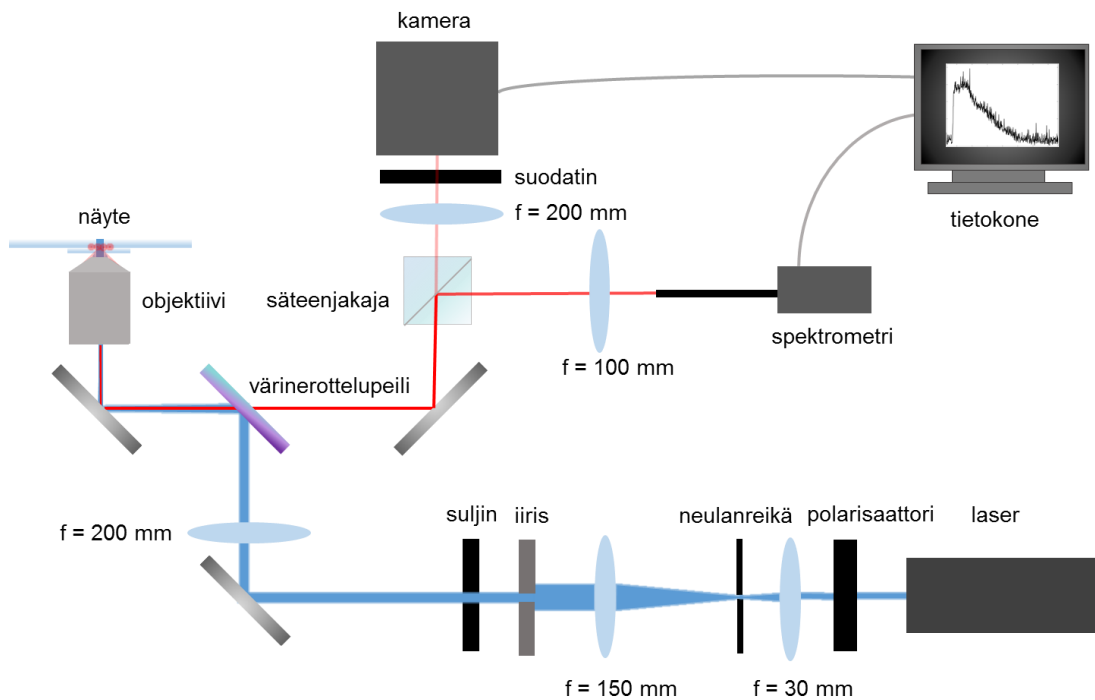
reitillä ennen objektiivia ollut linssi kohdisti säteen objektiiville siten, että sen etupuolella näytteelle osuva säde oli yhdensuuntainen.

Objektiivin etupuolella, eli tässä järjestelyssä käytännössä objektiivin yläpuolella, oli näyte, johon lasersäde tuli objektiivin läpi. Näyte oli näytteenpidikkeessä siten, että pyöreä mikroskooppilasi oli alimpana, lähimpänä objektiivia. Mikroskooppilasi oli paksuudeltaan sopiva käytettäväksi öljyimmersio-objektiivin kanssa. Näytteenpidikettä pystytettiin liikuttamaan x-, y-, ja z-suunnissa manuaalisesti, mikä mahdollisti mikroskooppikuvan tarkentamisen ja näytteen skannaamisen lasersäteen suhteen.

### **4.3 Mikroskopia ja spektroskopia**

Fluoresoivan näytteen emittoimaa säteilyä kerättiin öljyimmersio-objektiivilla, jonka numeerinen aukko oli 1.4. Puoliläpäisevä peili toimi ensimmäisenä suodattimena, joka erotelti takaisinpäin heijastuneen virittävän säteilyn ja näytteen emittoimat aallonpituudet toisistaan. Tavallisen peilin avulla valo ohjattiin kuvan muodostavan linssin läpi kameralle. Kirjoituksessa käytetyn 473 nm valon pääsy kameralle estettiin sopivalla suotimella, jotta voitiin varmistua havaitun valon olevan peräisin ainoastaan näytteen emittoimasta fluoresenssista. Mittauksissa fluoresenssin havaitsemiseen ja tarkkailuun käytettiin iXon3-EMCCD –kamera. EMCCD (engl. electron multiplying CCD) eli elektroneita monistava CCD-kamera on erittäin herkkä ja nopea laite, joka signaalin vahvistamisen ansiosta voi havaita jopa yksittäisen fotonin.

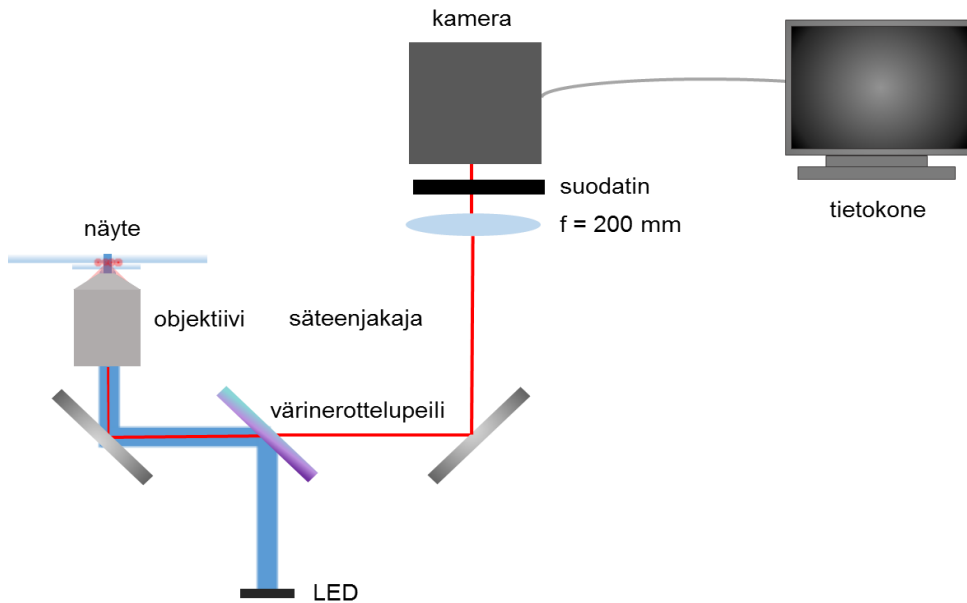
Kun näytteiden spektriä haluttiin tutkia, lisättiin mittausjärjestelyyn säteenjakaja ennen kameraa. Säteenjakaja ohjasi 70% säteilystä kohti spektrometriä ja 30% kameralle. Spektrometrille menevä säteily kohdistettiin optisen kuidun päähän sopivaa linssiä käyttäen. Kuitu ohjasi säteilyn AvaSpec-2048 –spektrometrille, jonka aallonpituusalue oli 339-1100 nm. Mittausjärjestelyn periaate on esitetty kuvassa 20.



**Kuva 20** Kuvassa on esitetty mittausjärjestelyn periaate, kun laseria käytettiin nanoklustereiden syntetisointiin tai niiden stabiiliuden tutkimiseen.

Osassa mittauksista haluttiin nähdä nanoklustereiden emittoima fluoresenssisignaali, mutta välttää nanoklustereiden synty, kasvu ja haalistuminen välittömästi valon vaikutuksesta. Silloin nanoklustereiden fluoresenssin virittämiseen käytettiin valodiodia, joka oli mahdollista lisätä järjestelyyn ja käyttää pienitehoisena valonlähteenä laserin sijaan. LED toimi sinisellä aallonpituusalueella ja sen spektrin keskusaallonpituus oli 455 nm. Tämä versio mittausjärjestelystä on esitetty kuvassa 21.





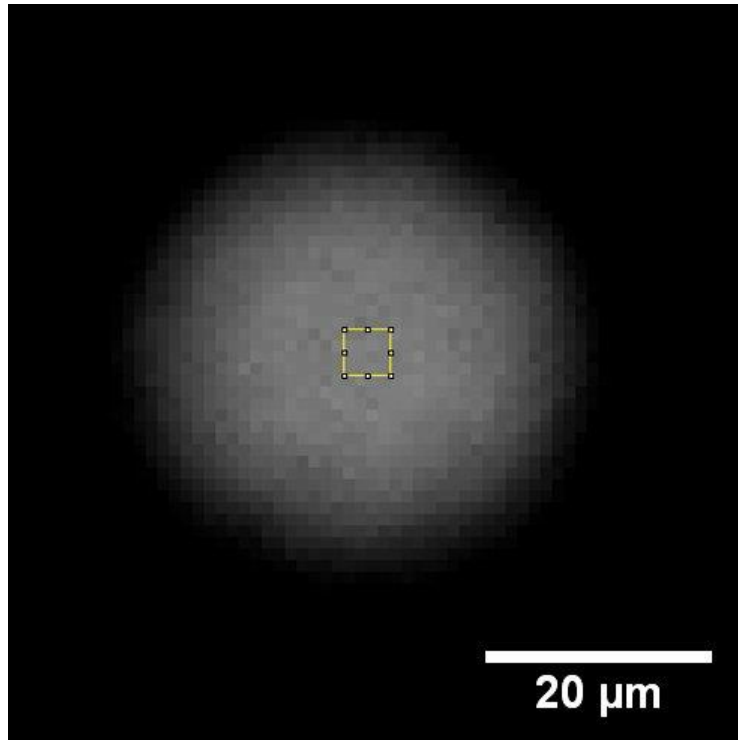
**Kuva 21** Mittausjärjestelyssä käytettiin osassa mittauksista valodiodia aiemmin laserilla syntetisoitujen nanoklusterirakenteiden emission virittämiseen.

Samassa mittausjärjestelyssä näytteen yläpuolelle oli lisäksi kiinnitetty vihreä valodiodeja ja toinen, pienemmän numeerisen aukon objektiivi. Aallonpituudeltaan suurempi vihreä valo ei heijastunut puoliläpäisestä peilistä, vaan eteni kameralle saakka. Tämän ansiosta järjestelyä voitiin tarvittaessa käyttää myös tavallisena läpivalaisumikroskooppina polymerikalvon tutkimiseen.

#### 4.4 Analysointimenetelmät

Suurin osa tässä työssä kerätystä datasta oli kameralla otettuja mustavalkoisia mikroskooppikuvien sarjoja. Mittauksia tehtäessä kamerasetukset ja laserin teho valittiin siten, että kuvan saturaation välttyttiin. Silloin näytteen emittoiman signaalin intensiteetti tallentui kuvaan pikselien harmaasävyarvoiksi. Mittauksissa käytettiin useimmiten kamerasetusta binning-toimintoa, joka yhdisti  $8 \times 8$  pikselin kokoisen alueen keräämään intensiteetin yhdeksi pikseliksi lopulliseen kuvaan. Tämä pienensi tallennettavan tiedoston kokoa ja paransi heikon signaalin intensiteettiä.

Kuvasarjojen analysoinnissa käytettiin ilmaiseksi saatavilla olevaa ImageJ-ohjelmistoa. Mittauksessa tallennettujen mustavalkoisten kuvasarjojen intensiteetti mitattiin lopullisesta kuvasta  $4 \times 4$  pikselin kokoiselta alueelta, joka binning-toiminnon takia vastaa kamerasetusta keräämää intensiteettiä yhteensä  $32 \times 32$  pikselin kokoiselta alueelta. Mittauksissa käytetyt pikselit valittiin kuvasta valotetun alueen keskeltä kohdasta, jolla laserin säteen teho voitiin olettaa vakioksi (kuva 22). Käsittelemällä sarjan jokainen kuva tällä tavalla saatiin selville pienen näytteen alueen emittoiman fluoresenssisignaalin intensiteetti ajan funktiona, kun kuvien tallennustaajuus tiedettiin. ImageJ-ohjelmistoa käytettiin myös muussa kuvankäsittelyssä havainnollisempien kuvien luomiseksi.



**Kuva 22** Nanoklustereiden emittoiman fluoresenssiemission intensiteetti mitattiin kuvaan merkityltä alueelta tallennetuista mustavalkoisista mikroskooppikuvista. Kuva on näyttökaappaus kuvien käsittelyyn käytetystä ImageJ-ohjelmistosta.

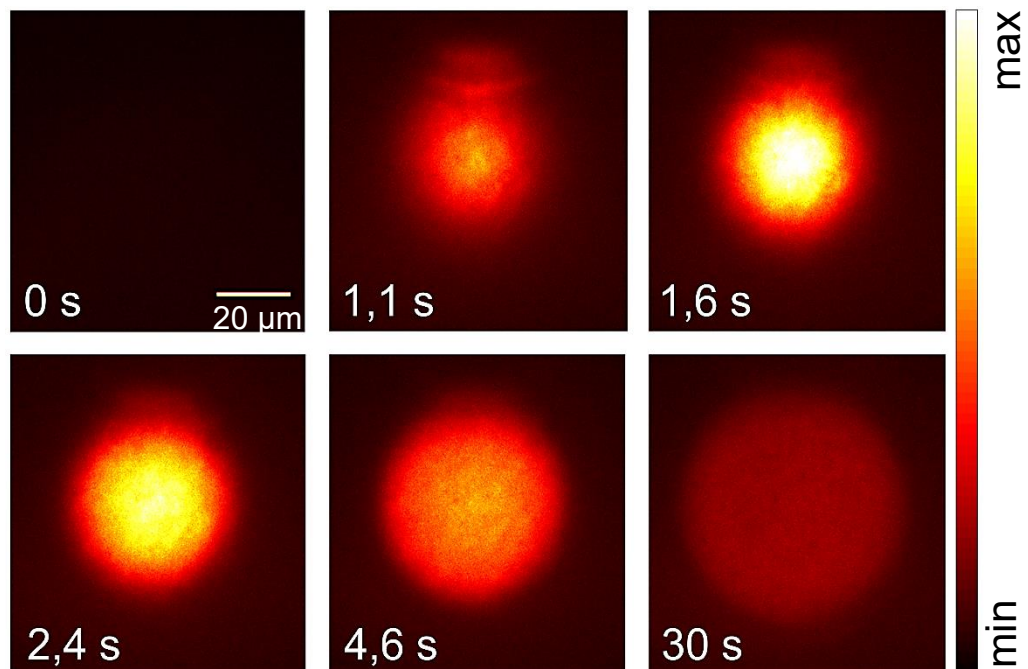
Muu työtä varten kerätty data, kuten spektrit ja optisen mikroskoopin kuvat, oli valmiiksi melko käyttökelpoisessa muodossa. Datan analysointi, kuten spektrien toisistaan vähentäminen ja matemaattisten sovitteiden tekeminen sekä kuvaajien piirtäminen tehtiin pääsääntöisesti Matlab-ohjelmistolla.

## 5. TULOKSET

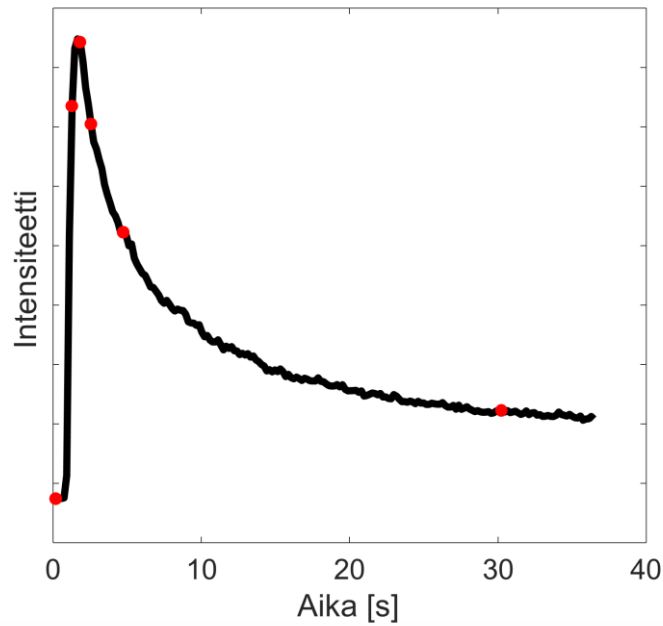
Tässä kappaleessa esitellään mittauksissa saadut tulokset. Työssä tutkittiin näytteiden emittoimaa fluoresenssisäteilyä, sekä laserin tehon vaikutusta siihen. Sekä lasersäteelle altistetun näytteen fluoresenssiemission intensiteettiä, että emissiospektrin muutosta seurattiin ajan funktiona. Näiden jälkeen esitellään lyhyesti polyvinyylialkoholi-kalvon homogeenisuuteen liittyvä mittaus. Viimeisenä tuloksena näytetään tulos mittauksesta, jossa tutkittiin noin puoli vuotta aiemmin valmistetun näytteen fluoresenssiominaisuuksia.

### 5.1 Nanoklustereiden syntetisointi

Lasersäteelle altistetuista Au@PVA-näytteistä havaittiin selvä fluoresenssiemissio. Sen intensiteettiä tutkittiin fluoresenssimikroskooppikuvien perusteella. Kuvassa 23 näkyy kuusi valikoitua kuvaa tyypillisestä mittaussarjasta, jossa Au@PVA-näyte altistettiin lasersäteelle. Alun perin mustavalkoiset kuvat on väritetty keinotekoisesti havainnollisuuden vuoksi. Kuvista nähdään emission kasvun olevan voimakkainta alueen keskellä, kuten on odotettavissa lasersäteen Gaussisen intensiteettijakauman perusteella. Koko kuvasarjasta mitattu intensiteetti on esitetty kuvassa 24.



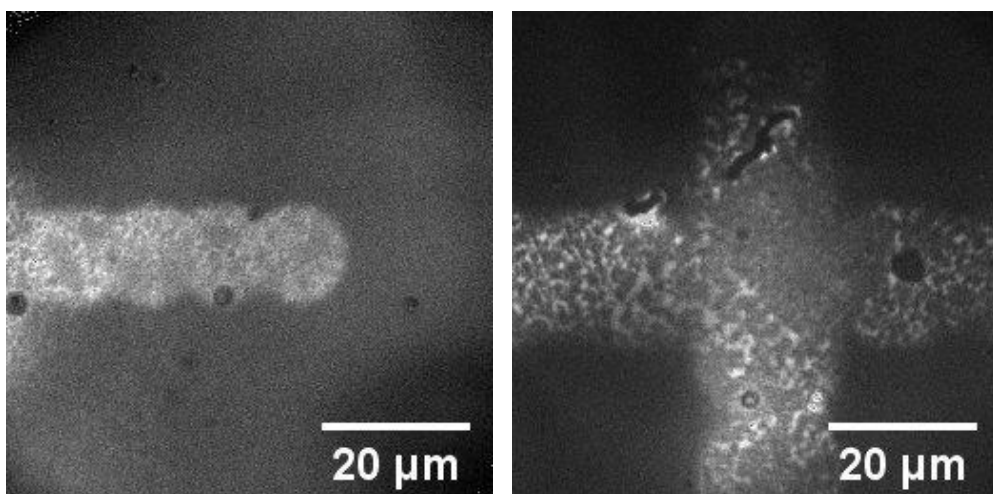
**Kuva 23** Kuvasarjasta valitut mikroskooppikuvat on tätä työtä varten väritetty keinotekoisesti. Koko kuvasarjasta mitatut intensiteetit on esitetty ajan funktiona kuvassa 24.



**Kuva 24** Kuvassa on esitetty nanoklustereiden emittoiman säteilyn intensiteetti ajan funktiona, kun näytteeseen kohdistettiin lasersäteilyä teholla 3,6 mW. Punaisilla pisteillä on merkitty kuvaa 23 vastaavat ajanhetket käyrästä.

Intensiteetti on mitattu alkuperäisistä mustavalkokuvista ImageJ-ohjelmistolla aiemmin esitellyllä tavalla. Intensiteetin maksimiarvo saavutettiin 1,6 sekunnissa, jonka jälkeen intensiteetti laskee eksponentiaalisesti. Mittauksessa käytetyn laserin aallonpituus oli 473 nm ja teho 3,6 mW.

Näytepidikkeen tasoa liikuttamalla voitiin näytteisiin tehdä karkeaa laserkirjoitusta. Esimerkkejä tällä menetelmällä aikaansaaduista yksinkertaisista, mutta selvästi fluoresoivista rakenteista on esitetty kuvassa 25. Rakenteiden kuvaamisessa käytettiin valodiodia fluoresenssin virittämiseen.

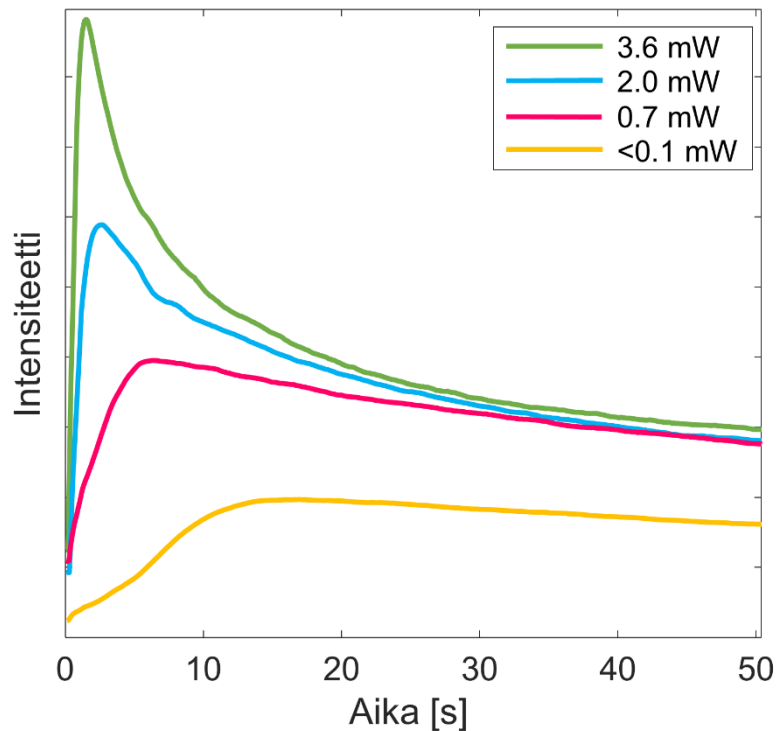


**Kuva 25** Fluoresenssimikroskooppikuvia rakenteista, jotka onnistuttiin syntetisoimaan Au@PVA-näytteisiin rajoittamalla laserin tehoa ja säteen kokoa.

Rakenteet tehtiin näytteeseen rajoittamalla laserin tehoa alle yhteen milliwattiin, käyttämällä iiristä näytteelle pääsevän säteen läpimitan pienentämiseen ja liikuttamalla näytettä säteen suhteen. Tässä tapauksessa lasersäteen halkaisija näytteellä oli noin 15-20  $\mu\text{m}$ . Näytetasoa oli tässä järjestelyssä mahdollista siirtää vain manuaalisesti mikrometriruuviavien avulla, minkä vuoksi ainoastaan hyvin yksinkertaiset liikkeet olivat mahdollisia. Valodiodin aiheuttama epätasainen valaistus huononsi kuvien laatua ja siksi kontrastia ja kirkkautta on paranneltu jälkikäteen havainnollisuuden vuoksi.

## 5.2 Laserin tehon vaikutus

Laserin tehon vaikutusta kultananoklustereiden syntyyn tutkittiin seuraamalla näytteen emittoiman intensiteetin kehitystä, kun se altistettiin lasersäteilylle eri tehoilla. Kuvassa on esitetty tulokset noin 5% kultaa sisältävälle näytteelle laserin tehoilla  $< 0,1\text{mW}$  –  $3,6\text{mW}$ . Kuvaan 26 on piirretty tyypillinen tulos jokaista tutkittua tehoa vastaavista mittauksista. Mittauksissa lasersäteen teho kohdistui näytteellä noin  $2000\ \mu\text{m}^2$  kokoiselle alueelle.



**Kuva 26** Kuvaajassa on esitetty nanoklusreiden emittoiman fluoresenssisignaalin intensiteetti ajan funktiona, kun se altistettiin lasersäteelle eri tehoilla.

Kuvaajassa eri mittausten intensiteetti on normalisoitu, sillä jokaisessa mittauksessa käytettiin eri kameran asetuksia. Käyrät on kerrottu vakijotekijöillä paremman visualisoinnin aikaansaamiseksi, minkä lisäksi näytteen havaittiin luminoivan eri intensiteeteillä eri kohdissa. Tämän vuoksi eri mittauksissa saavutettuja maksimi-intensiteettejä ei voi tämän kuvaajan perusteella vertailla keskenään. Sen sijaan kuvaaja näyttää laserin tehon vaikutuksen intensiteetin maksimin saavuttamiseen kuluneeseen aikaan ja käyrän muotoon.

Myös laserin intensiteetin vaikutus emission maksimi-intensiteettiin on johdonmukainen. Samojen mittausten maksimi-intensiteetit on koottu taulukkoon ilman normalisointia. Maksimi-intensiteettien arvot ovat keskiarvoja kolmesta eri mittauksesta.

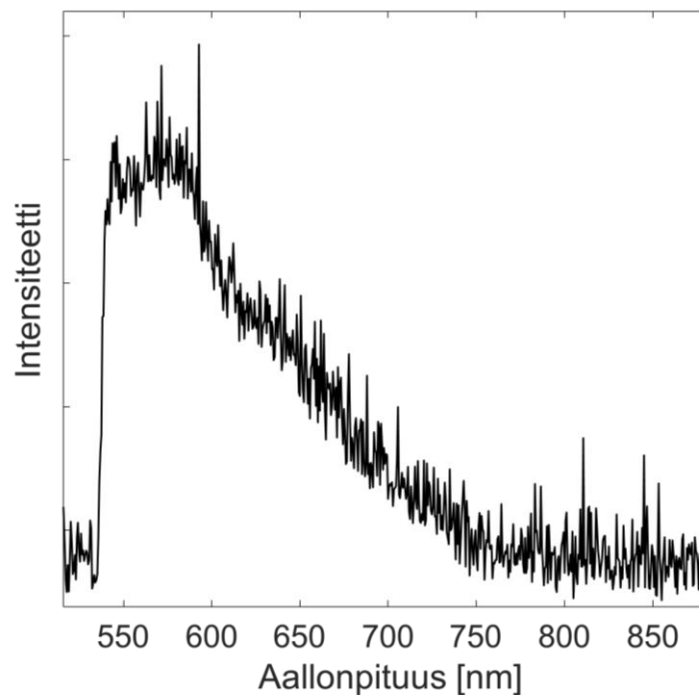
**Taulukko 1** Taulukossa on esitetty kuvaa 26 vastaavien mittausten asetukset ja kolmen mittauksen keskimääräinen maksimi-intensiteetti ilman normalisointia.

Laserin teho [mW]	Valotusaika [s]	Maksimi-intensiteetti
3,6	0,04	168
2,0	0,06	148
0,7	0,08	130
< 0,1	0,1	120

Tuloksista nähdään selvästi, että fluoresenssiemission keskimääräinen maksimi-intensiteetti kasvaa laserin tehon kasvaessa. Erot ovat selkeitä, vaikka mittauksissa on käytetty pidempää valotusaikaa pienemmille laserin teholle, mikä on tärkeää ottaa huomioon taulukkoa luettaessa.

### 5.3 Fluoresenssispektroskopia

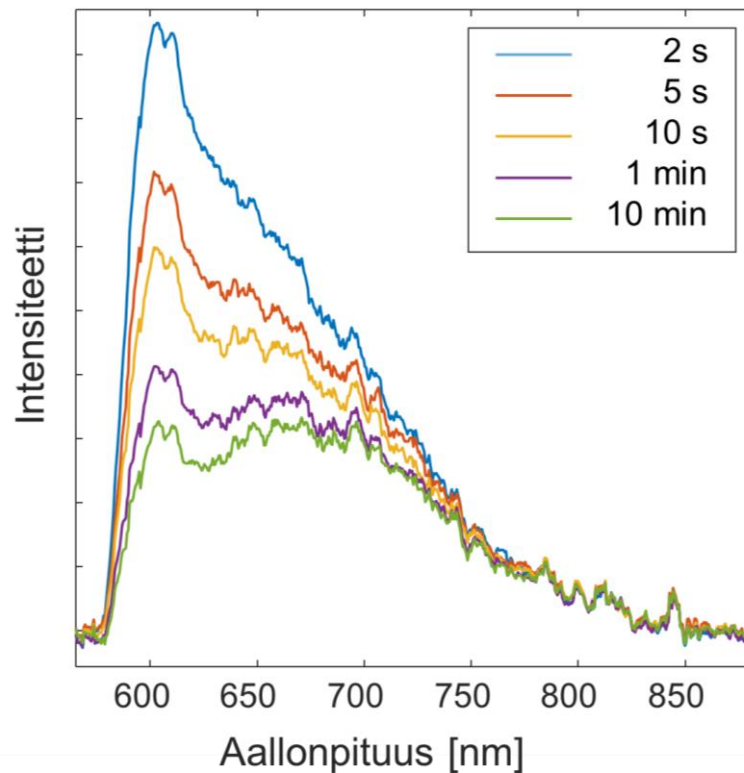
Näytteen emissiospekttriä laservalotuksen aikana oli mahdollista tutkia samalla mittausjärjestelyllä. Näyte altistettiin lasersäteilylle ja spektri tallennettiin samalla, kun nano-klustereiden muodostumista seurattiin kameran avulla. Kuvassa 27 on esitetty tyypillinen emissiospektri, kun valonlähteenä käytettiin aallonpituudeltaan 473 nm laseria.



**Kuva 27** Au@PVA-näytteen emittoima tyypillinen spektri, kun näyte altistettiin 473 nm lasersäteilylle.

Spektrissä vasemmalla oleva jyrkkä reuna on peräisin mittauksessa käytetystä optisesta suotimesta. Spektrin tallentamiseen käytetty integrointiaika mittauksessa oli 1 s. Näytteen huomataan emittoivan fluoresenssia alle 550 nanometristä aina noin 750 nanometriin saakka. Emission maksimikohta on noin 570 nm kohdalla.

Spektrin muuttumista laservalotuksen aikana tutkittiin tallentamalla useita peräkkäisiä spektrejä laserin ollessa päällä. Selvyyden vuoksi vain osa tallennetuista spektreistä on esitetty kuvassa 28.



**Kuva 28** Kuvaajassa on esitetty lasersäteelle altistetun näytteen emittoima spektri eri ajanhetkillä laserin päälle kytkemisen jälkeen.

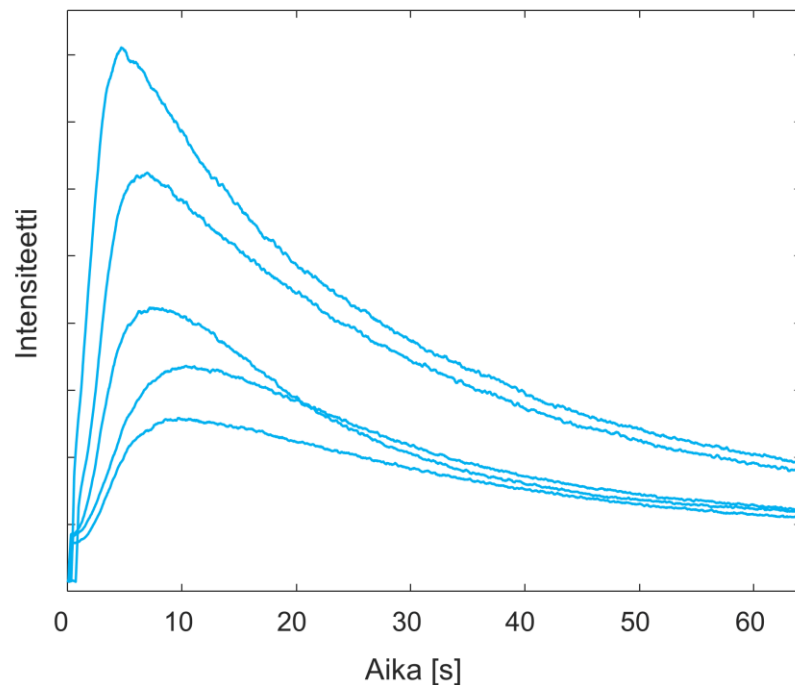
Spektrikuvaajia on keskiarvoistettu, jotta niiden erottaminen toisistaan kuvaajassa on helpompaa. Myös tässä kokeessa spektrometrin integrointiaika oli 1 s. Mittauksen maksimi-intensiteetti saavutettiin 2 s päästä laserin päälle kytkemisestä, ja sitä edeltävä mittaus on jätetty kuvasta pois, jotta intensiteetin lasku huippuarvosta alaspäin olisi nähtävissä selkeämmin.

Kuvaajan perusteella spektrissä ei tutkitussa ajassa tapahdu muutoksia n. 730 nm suuremmilla aallonpituuksilla. Spektrin muoto säilyy pääpiirteissään samankaltaisena, eikä selkeitä uusia piikkejä ilmesty tai vanhoja katoa kymmenen minuutin mittaisen kokeen aikana. Intensiteetin laskun huomataan kuitenkin olevan voimakkaampaa lyhyemmilla aallonpituuksilla.

## 5.4 Ohutkalvon karakterisointi

Useimmilla näytteillä optisella mikroskoopilla tutkittaessa ei huomattu suuria epätasaisuuksia PVA-kalvossa lukuun ottamatta pieniä epäpuhtauksia ja näytteen reunoilla esiintyviä rajoja. Joissakin kohdissa, yleensä näytteen reunojen lähellä, kulta oli kiteytynyt, mutta tämä havaittiin myös paljaalla silmällä poikkeavana värinä muuten läpinäkyvässä kalvossa.

Polymeerikalvon homogeenisuutta ja intensiteettimittausten yhteneväisyyttä tutkittiin toistamalla samaa mittausta useita kertoja peräkkäin samasta näytteestä. Oletuksena oli, että homogeeninen polymeerikalvo sisältäisi keskimäärin saman verran kultaioneja joka kohdassa näytettä, ja laservalotus tuottaisi siis yhteneväisen fluoresenssiemission koko näytteen pinta-alalta. Mittaussarjan tulokset on esitetty kuvassa 29.

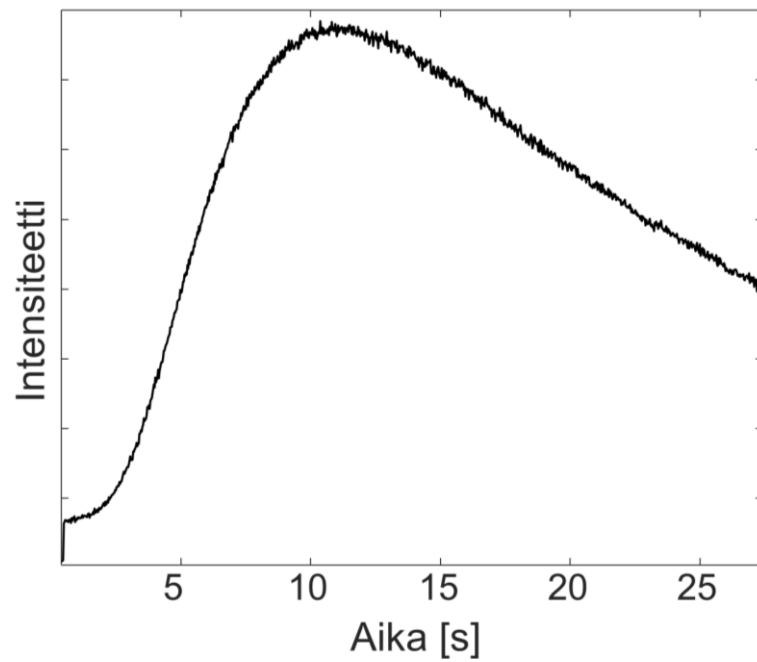


**Kuva 29** Tuloksissa havaittiin vaihtelua, kun sama mittausta toistettiin useita kertoja eri kohdista näytettä.

Mittaukset tehtiin satunnaisesti eri kohdasta samaa näytettä laserin teholla 3,8 mW ja muuttamatta kameran asetuksia.

Ensimmäiset tällä menetelmällä valmistetut Au@PVA-näytteet tehtiin joulukuussa 2017. Näytteiden ominaisuuksien säilyvyyttä tutkittiin mittaamalla emission intensiteettiä samoista näytteistä toukokuussa 2018, eli noin puoli vuotta myöhemmin. Mittauksessa saatu tulos on esitetty kuvassa 30.





**Kuva 30** Kuvassa on noin 6 kk aiemmin valmistetun ja sen jälkeen pimeässä säilytetyn näytteen emittoima intensiteetti ajan funktiona.

Nousuaika maksimi-intensiteettiin on mittauksen perusteella 10,8 s. Laserin teho oli 0,7 mW. Mittauksessa havaittiin selkeä fluoresenssiemissio.

## 6. TULOSTEN ANALYSOINTI

Tässä luvussa perehdytään tarkemmin edellisessä luvussa esitettyihin mittaustuloksiin. Tulokset käydään läpi edellistä lukua vastaavassa järjestyksessä. Tuloksia analysoidaan matemaattisesti sekä vertailemalla sopiviin kirjallisuuslähteisiin. Lisäksi pohditaan mahdollisia selityksiä havaittuihin ilmiöihin ja tuloksiin, sekä käydään läpi erilaisia mittauksiin liittyviä mahdollisia ongelmia ja virheiden aiheuttajia.

### 6.1 Nanoklustereiden muodostuminen

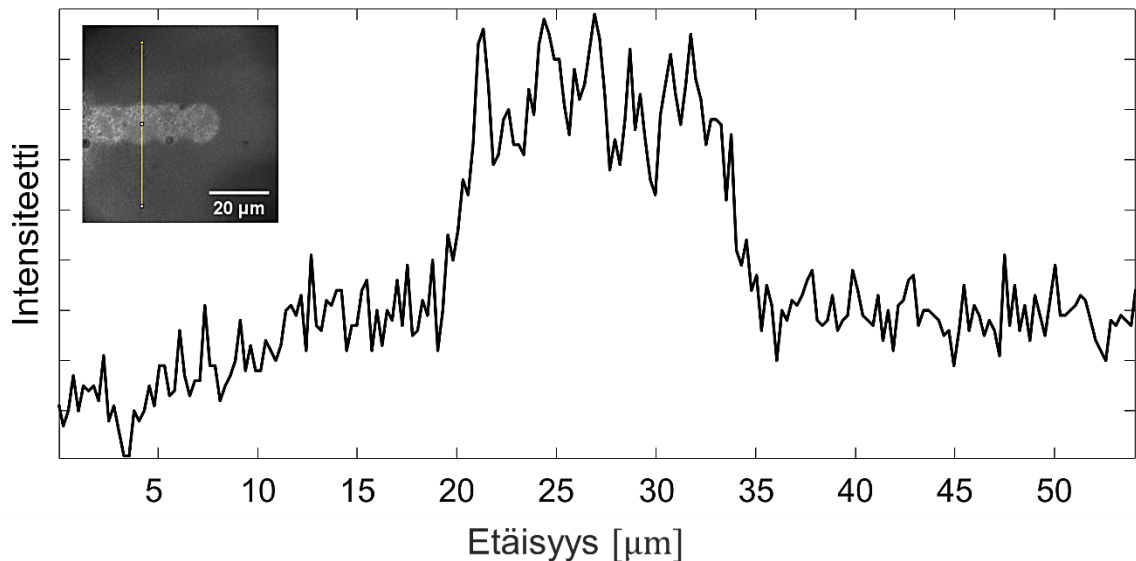
Ennen näytteiden tutkimista ei tiedetty, onnistuisiko fluoresoivien nanoklustereiden syntetisointi ja stabilointi työssä käytetyillä materiaaleilla ja menetelmillä. Koska mittauksissa kameralle päässeestä valosta oli suodatettu laserin valo pois, on kuvissa näkyvä valo peräisin ainoastaan laserin aikaansaamasta fluoresenssista näytteessä. Havaittu kirkas fluoresenssi osoittaa selvästi fluoresoivien nanoklustereiden syntetisoinnin ja stabiloinnin onnistuneen tässä työssä käytetyllä menetelmällä.

Emission intensiteetin kasvu ajan funktiona osoittaa nanoklustereiden syntymisen lasersäteilyn vaikutuksesta. Aiemmissa, hopeananoklustereilla tehdyssä tutkimuksessa havaittiin heti laservalotuksen alkaessa pieni lasku emission intensiteetissä. Kyseisessä tutkimuksessa intensiteetin laskun pääteltiin olevan peräisin näytteenvalmistuksen aikana muodostuneiden epästabiilien nanoklustereiden haalistumisesta. Vasta tämän jälkeen alkoi intensiteetin kasvu, kun stabiilit nanoklusterit muodostuivat laserin vaikutuksesta. [6] Tässä työssä samanlaista laskua ei havaittu missään mittauksessa, vaan fluoresenssi alkoi aina kasvaa, kun laser kytkettiin päälle. Syynä voi mahdollisesti olla vastaavan ilmiön suuri nopeus, jonka vuoksi tämän kaltaista intensiteetin laskua ei tässä työssä tehdyissä mittauksissa nähty. Toinen mahdollinen selitys on se, että tässä työssä käytetyillä menetelmillä ja materiaaleilla fluoresoivia nanoklustereita ei synny näytteenvalmistuksen aikana.

Laservalotuksen jatkuessa fluoresenssisignaali saavuttaa maksimiarvonsa ja sen jälkeen laskee eksponentiaalisesti. Tämä voi mahdollisesti johtua nanoklustereiden kasvamisesta suuremmiksi fluoresoimattomiksi nanohiukkasiksi tai laserin aikaansaamasta nanoklustereiden haalistumisesta ja fluoresenssiominaisuuksien menettämisestä. Erityisesti nanoklustereiden kasvu suuremmiksi nanohiukkasiksi voi johtua siitä, että tässä työssä sekä laserkirjoitukseen, että fluoresenssin virittämiseen käytettiin samaa aallonpituutta.

Myös yksinkertaisen laserkirjoituksen tekeminen näytteeseen onnistui, mikä osoittaa syntyneiden nanoklustereiden olevan stabiileja polymeerikalvossa. LED-valonlähteellä pystyttiin virittämään laserilla aikaansaatuja nanoklusterirakenteita ilman erittäin nopeaa fluoresenssin intensiteetin laskua, joka nähtiin laservalotuksen aikana. Muokkaamattomasta mikroskooppikuvasta fluoresoivan rakenteen yli mitattu intensiteettiprofiili näkyy

kuvassa 31. Pienessä kuvassa oleva keltainen viiva näyttää suoran, jolta intensiteettiprofiili mitattiin. Kuvaajan perusteella laserilla kirjoitettu rakenne on leveydeltään noin 15 mikrometriä.



**Kuva 31** Näytteeseen laserilla tehdystä fluoresoivasta rakenteesta mitattiin fluoresenssiprofiili keltaisen viivan osoittamalta janalta.

Lisäksi on huomattavaa, että jälkeäkään näistä selvästi fluoresoivista nanoklusterirakenteista tai muita laserin aiheuttamia muutoksia ei pystytty havaitsemaan käytettäessä samaa mittausjärjestelyä läpivalaisumikroskooppina. Tämä osoittaa, että lopputuloksena todella on fluoresoivia nanoklustereita sisältävä polymeerikalvo. Laserin teho ei tässä tapauksessa ole niin suuri, että se poistaisi materiaalia tai muuten vahingoittaisi sille altistuneen polymeerikalvon, kuten aiemmissa tutkimuksissa on havaittu tapahtuvan.

Ag@PVA-näytteillä tehdyissä tutkimuksissa havaittiin laserin poistavan näytteestä merkittävän määrän materiaalia, ja esimerkiksi näytteeseen laserilla eri skannausnopeuksilla kirjoitettujen viivojen syvyydeksi mitattiin 32-38 nm kalvossa, jonka kokonaispaksuus oli 58 nm. [5] Vielä merkittävämpi laserin aikaansaama materiaalin poistaminen havaittiin Ag@PMAA-näytteillä, joilla lasersäde poisti lähes kaiken materiaalin sille altistuneelta alueelta [74]. Tässä työssä kultanäytteillä tehdyissä tutkimuksissa polymeerikalvo ei optisella mikroskoopilla havaittavalla tavalla muutu nanoklustereiden fotokemiallisen syntetisoinnin aikana.

Aiempiin hopealla tehtyihin tutkimuksiin verrattuna kultaa sisältäviin näytteisiin oli helpompi syntetisoida nanoklustereita. Laboratoriossa havaittiin pienimmänkin testatun laserin tehon saavan aikaan fluoresenssiemission, joten laserin tehoa jouduttiin polarisaattorilla rajoittamaan pieneksi liian nopean haalistumisen välttämiseksi. Aiemmissa, Ag@PVA-näytteillä tehdyissä kokeissa nanoklusterirakenteiden syntetisointiin käytettiin laserin intensiteettejä 6-9 MW/cm<sup>2</sup> [5]. Hopealla ja PMAA-polymeereillä tehdyssä samankaltaisessa tutkimuksessa laserkirjoitukseen käytettiin laserin intensiteettinä 480 GW/m<sup>2</sup> eli 48 MW/cm<sup>2</sup> [74]. Tässä työssä suurin käytetty intensiteetti oli karkeasti arvioiden 4,3 MW/m<sup>2</sup> eli 4,3 kW/cm<sup>2</sup>. Tämä intensiteetti voidaan olettaa vakioksi säteen

keskellä pienellä alueella, mikä otettiin huomioon myös mittaustulosten käsittelyssä. Kultananoklustereiden syntetisoinnissa käytetty laserin intensiteetti oli siis noin kolme kertaluokkaa pienempi, kuin hopeananoklustereiden.

## 6.2 Emission intensiteetti ja stabiilius

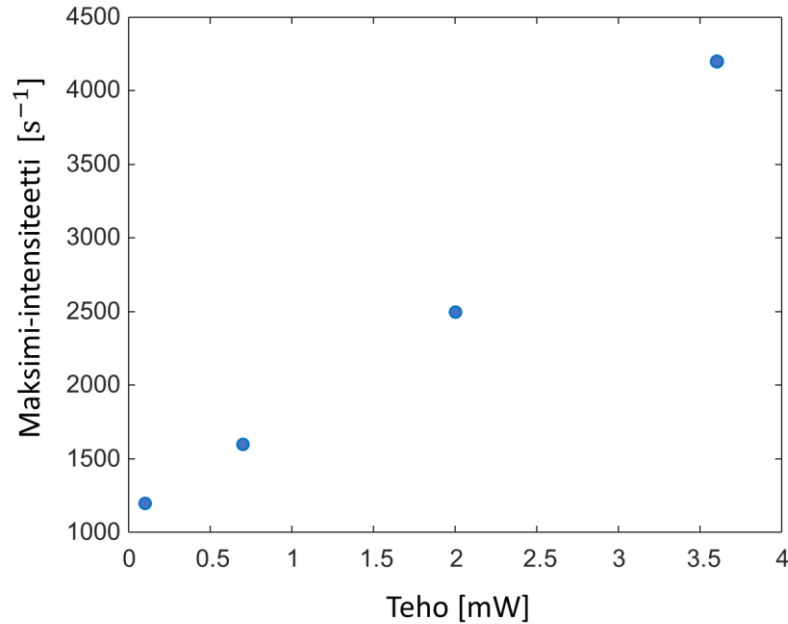
Kuvaajasta (kuva 26) luetut nousuajat laserin päälle kytkemisestä fluoresenssiemission maksimi-intensiteettiin eri laserin tehoilla on merkitty taulukkoon 2.

*Taulukko 2 Taulukkoon on kerätty fluoresenssiemission nousuajat maksimi-intensiteettiin laserin eri tehoilla*

Laserin teho [mW]	Aika [s]
3,6 mW	1,3
2,0 mW	2,3
0,7 mW	6,0
< 0.1 mW	16,5

Laserin tehon vaikutus fluoresenssiemission on helppo havaita mittaustulosten perusteella näillä laserin tehoilla. Kuten on odotettavissa, suuremmalla laserin teholla maksimi-intensiteetti saavutetaan selvästi nopeammin. Nousuaika maksimi-intensiteettiin kertoo optimaalisen laservalotuksen keston, mikäli menetelmällä halutaan valmistaa mahdollisimman kirkkaasti fluoresoivia nanoklustereita tai niistä koostuvia rakenteita. Syntetisointiprosessissa laservalotuksen optimaalinen aika on lyhyempi suuremmilla laserin tehoilla, mutta pienempi teho ja pidempi nousuaika tarjoavat paremman kontrolloitavuuden.

Samoista mittaustuloksista laskettiin myös käytetyllä valotusajalla normeerattu maksimi-intensiteetti kullekin käyrälle taulukon 1 tietojen perusteella. Tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 32.



**Kuva 32** Kuvaajaan on piirretty valotusajalla normeerattu emission maksimi-intensiteetti laserin tehon funktiona.

Koska eri laserin tehoilla tehdyissä mittauksissa käytettiin eri valotusaikoja, tekee kuvan tallentamiseen kuluneella ajalla jakaminen maksimi-intensiteeteistä vertailukelpoisia keskenään. Kuvaajasta nähdään fluoresenssin saavuttaman maksimi-intensiteetin olevan suoraan verrannollinen virittämiseen käytetyn laserin tehoon tällä alueella, mikä on odotettu tulos.

Kuvasta 26 nähdään myös, että suurempi teho aiheuttaa jyrkemmän laskun intensiteetin maksimikohdan jälkeen. Kahdelle mitatuista intensiteetikäyristä tehtiin sovite muotoa:

$$y = a * e^{-t/\tau_1} + b * e^{-t/\tau_2}, \quad (5)$$

jossa  $t$  on aika,  $a$  ja  $b$  ovat amplitudiparametreja ja  $\tau_1$  ja  $\tau_2$  ovat haalistumisen aikavakiot. Sovitteen perusteella saatiin aikavakioiden arvoiksi saatiin taulukkoon Taulukko 3 kerätyt tulokset.

**Taulukko 3** Taulukossa on esitetty kahdella laserin teholla mitattuun intensiteetikäyrään tehtyjen sovitteiden perusteella lasketut aikavakioiden arvot.

Teho [mW]	$\tau_1$ [s]	$\tau_2$ [s]
3,6	10,2	1105
2,0	23,6	2584

Kaksiterminen eksponentiaalinen hajoaminen kuvaa hyvin intensiteetin laskua ajan funktiona. Kaksi erilaista aikavakiota viittaa kahteen erilaiseen nanoklusteripopulaatioon. Ensimmäisen aikavakion  $\tau_1$  melko pienet arvot viittaavat tämän nanoklusteripopulaation nopeaan tuhoutumiseen. Toiselle aikavakiolle  $\tau_2$  saadut arvot taas ovat hyvin suuria,

mikä viittaa erittäin stabiileihin nanoklustereihin. Pienemmällä laserin teholla molemmat aikavakiot ovat suurempia, mikä on odotettu tulos.

Kuvaajassa (kuva 26) intensiteetikäyrät on piirretty noin 50 sekuntiin asti, jotta mittauksen alussa ilmenneet intensiteettien väliset erot olisivat helpommin erotettavissa. Mittauksissa kuitenkin tallennettiin dataa tätä pidemmälle. Taulukkoon 4 on merkitty jokaisella teholla mitatun intensiteetikäyrän arvo suhteessa sen maksimi-intensiteettiin, kun laserin päälle kytkemisestä on kulunut 200 sekuntia.

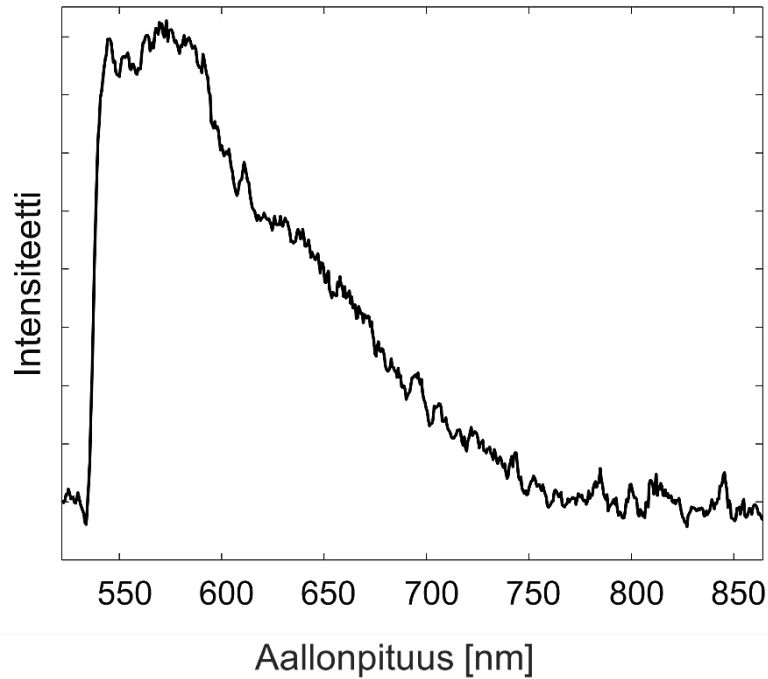
**Taulukko 4** Taulukossa on esitetty kunkin intensiteetikäyrän arvo 200 s jälkeen valotuksen aloittamisesta suhteessa käyrän maksimiarvoon.

Teho [mW]	$I(200\text{ s})/I_{\text{max}}$
3,6	37 %
2,0	46 %
0,7	58 %
< 0,1	60 %

Tuloksista nähdään, että kultananoklusterit säilyttävät fluoresenssiominaisuutensa erittäin hyvin lasersäteilylle altistettuna. Kaikkien laserin tehoon liittyvien mittausten perusteella Au@PVA-nanoklusterit ovat erittäin fotostabiileja.

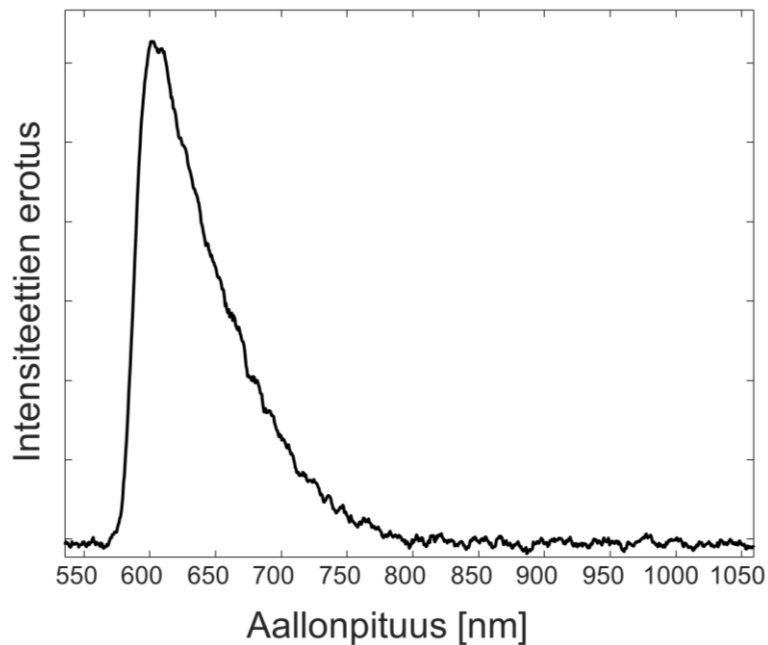
### 6.3 Emissiospektrit

Siistimmäksi käsitelty tyypillinen emissiospektri on esitetty kuvassa 32. Emission maksimikohta on noin 570 nm, kun virittävä aallonpituus on 473 nm. Aiemmin kultananoklustereilla on raportoitu fluoresenssiemissiota useilla eri aallonpituuksilla UV-aallonpituuksista infrapuna-alueelle saakka [3].



**Kuva 33** Kuvassa on esitetty Au@PVA-näytteen tyypillinen emissiospektri, joka on keskiarvoistettu.

Samaan kuvaajaan piirretyistä eri hetkillä tallennetuista spektreistä (kuva 28) havaittiin spektrin suurempi muutos lyhyemmillä aallonpituuksilla. Kuvaajan ylimmän ja alimman spektrin vähentäminen toisistaan vahvistaa havainnon. Kuvassa 33 on esitetty 2 s ja 10 min kohdalla mitattujen spektrien erotus.



**Kuva 34** Kuvaaja esittää spektrissä tapahtunutta muutosta 10 minuutin jälkeen laserin päälle kytkemisestä.

Kuvaajasta nähdään, että emissio laskee eniten 600 nm kohdalla. Emission lasku voi olla peräisin nanoklustereiden kasvamisesta tai haalistumisesta. Noin 800 nm:stä alkaen

erotus pysyy nollassa, eli näillä aallonpituuksilla näyte ei fluoresoi tai fluoresenssi pysyy vakiona ajan suhteen.

## 6.4 Ohutkalvon ominaisuudet

Aiemmin samalla menetelmällä ja samoilla pinnoitusprosessin parametreilla on valmistettu hopeaioneja sisältäviä polyvinyylialkoholikalvoja. Näiden kalvojen paksuudeksi määriteltiin atomivoimamikroskoopilla n. 58 nm. [5] Tässä työssä käytettyjen ohutkalvojen paksuuden voidaan olettaa olevan lähellä tätä arvoa.

Tässä työssä tutkitussa polyvinyylialkoholi-ohutkalvossa esiintyi intensiteettimittausten perusteella epähomogeenisuutta. Kuvaajasta (kuva 29) nähdään emission maksimi-intensiteetin vaihtelevan huomattavasti näytteen eri kohdissa. Suurin tässä mittaussarjassa havaittu intensiteetti oli yli kaksi kertaa suurempi pienimpään verrattuna. Myös eri mittauskertojen välillä fluoresenssin nousuaika maksimi-intensiteettiin vaihtelee noin viiden ja kymmenen sekunnin välillä. Havainto johtuu todennäköisesti polymeerikalvon epätasaisesta paksuudesta. Paksuudeltaan epätasainen ohutkalvo ei estä kultananoklustereiden syntetisointia, mutta se vaikeuttaa yhdenmukaisten mittaustulosten saamista. Oletuksena on, että paksummassa kalvossa yhdensuuntainen lasersäde osuu useampiin kultananoklustereihin ja virittää siten voimakkaamman fluoresenssisignaalin. Siksi erityisesti kultakonsentraation vaikutuksen tutkiminen osoittautui haastavaksi.

Syitä ohutkalvon epähomogeenisuudelle voi olla monia. Ohutkalvon alustana toiminut mikroskoopin peitelasi ei välttämättä ole optimaalinen spin-coating –pinnoituksessa käytettäväksi. On mahdollista, että pinnoituksessa ylimääräinen neste ei pääse poistumaan lasikiekon rosoisen reunan yli kokonaan, vaan osa siitä heijastuu takaisin kohti lasikiekon keskiosaa aiheuttaen epätasaisuuksia ohutkalvon paksuuteen. Toinen selittävä tekijä voi olla pinnoituksessa käytetyn nesteen ominaisuudet ja pinnoitusprosessin parametrit. On mahdollista, ettei käytetty näytteenvalmistusmenetelmä riitä luottamaan PVA-jauhetta riittävän hyvin, tai jauheen laadussa voi olla ongelmia. Käytetyn pyörimisnopeuden pitäisi kuitenkin olla riittävä useimmille pinnoituksessa käytettäville liuottimille [79]. Lisäksi aiemmissä tutkimuksissa on havaittu PVA-liuoksen haihtuvan epätasaisesti. Tutkimusten perusteella nestemäinen PVA-kerros alkaa kuivua ensin pinnasta, ja estää nesteen normaalin liikkeen pinnan alapuolella, jolloin syntyy myös lopullisessa pinnoitteessa esiintyviä epähomogeenisuuksia. [88]

Lisäksi tutkimuksen jatkuttua jo useita kuukausia havaittiin H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>-kiteiden väärä säilytys- ja käsittelytapa. Käytetty kultasuola on erittäin herkkä kosteudelle, ja absorboi itseensä vettä jopa tavallisesta huoneilmasta, jossa yhdistettä oli säilytetty ja käsitelty. Koska näytteisiin käytetty määrä suolaa mitattiin punnitsemalla kiteet, aiheutti niiden absorboiman veden massa virhettä näytteen lopulliseen kultakonsentraatioon. Koska kemikaalia käsiteltiin huoneilmassa useita kertoja ja näytteitä valmistettiin monessa erässä kuukausien aikana, on näytteiden todellisen kultakonsentraation laskeminen erittäin vaikeaa. Tämän vuoksi tässä työssä näytteille ilmoitetut kultapitoisuudet eivät ole tarkkoja arvoja, vaan sisältävät jonkin verran virhettä.



Au@PVA-näytteiden ominaisuuksien säilyvyyttä tutkittiin mittaamalla fluoresenssin intensiteetti n. 6 kk aiemmin valmistetuista näytteistä. Näytteet oli koko tämän ajan säilytetty valolta suojattuna, eikä niihin oltu syntetisoitu nanoklustereita aiemmin. Näytteen emittoimasta intensiteetistä pian valmistuksen jälkeen ei ole saatavilla vertailukelpoista dataa mm. mittausjärjestelyn muutosten takia. Sen vuoksi tämän mittauksen perusteella ei voida sanoa, onko fluoresenssissa tapahtunut muutoksia kyseisenä aikana.

Vanhasta näytteestä havaittiin kuitenkin edelleen selvä fluoresenssisignaali, kun siihen kohdistettiin lasersäteilyä, mikä osoitti nanoklustereiden syntetisoinnin olevan mahdollista vielä pitkän ajan kuluttua näytteen valmistamisesta. Mittaus vahvisti oletuksen kultaioneita sisältävien PVA-ohutkalvojen erinomaisesta kemiallisesta stabiiliudesta. Syynä tähän ovat todennäköisesti polymeerikalvon stabiilivat ja ympäristöltä suojaavat ominaisuudet sekä kullan kemiallinen stabiilius.

## 7. YHTEENVETO

Kooltaan atomien ja nanohiukkasten väliin sijoittuva uusi materiaaliluokka, nanoklusterit, on herättänyt laajaa kiinnostusta ainutlaatuisten ominaisuuksiensa vuoksi. Alle kahden nanometrin kokoiset nanoklusterit poikkeavat ominaisuuksiltaan merkittävästi saman materiaalin suuremmista kappaleista. Niitä ei myöskään pidä sekoittaa molekyyliin tai nanohiukkasiin, vaan kyseessä on oma materiaaliluokkansa. Nanoklustereita on tutkittu laajasti ja niille on löydetty valtava määrä eri syntetisointi- ja stabilointimenetelmiä sekä sovelluksia mm. kuvantamisessa ja ympäristön tarkkailussa. Erityisesti kultananoklustereilla on mielenkiintoisia ominaisuuksia, kuten esimerkiksi niiden emittoima molekyylin kaltainen fluoresenssi.

Eräs menetelmä nanoklustereiden syntetisointiin on ionien pelkistäminen atomeiksi fotokemiallisesti joko näkyvää valoa tai UV-säteilyä käyttäen, mitä seuraa atomien yhteenkasvu nanoklustereiksi. Nanoklustereiden pienen koon ja niiden erityisten ominaisuuksien säilyttämiseksi ne tulee aina stabiloida jollakin liiallista yhteenkasvamista estävällä aineella. Samassa tutkimusryhmässä on aiemmin tehty tutkimuksia polyvinyylialkoholikalvoon laservalotuksella syntetisoiduilla hopeananoklustereilla. Näiden nanoklustereiden pohjamateriaalina toimiva polyvinyylialkoholiohukkalvo valmistettiin spin-coating –menetelmällä ja se toimi nanoklustereita stabiloivana ja suojaavana materiaalina. Tutkimuksessa havaittiin näin valmistettujen hopeananoklustereiden olevan erittäin fotostabiileja ja emittoivan kirkkaan fluoresenssisignaalin. Aiemmin tehdyn työn pohjalta jatkaen tässä diplomityössä keskityttiin hopean sijaan kultananoklustereiden syntetisointiin ja karakterisointiin. Tässä työssä käytettiin tietävästi ensimmäistä kertaa laservalotusta kultananoklustereiden syntetisointiin kiinteään materiaaliin.

Uusi materiaaliyhdistelmä osoittautui onnistuneeksi, ja näytteisiin pystyttiin tuottamaan fluoresoivia nanoklustereita. Fluoresenssin ominaisuuksia laserin tehon funktiona tutkimalla havaittiin odotetusti voimakkaampi fluoresenssisignaali ja intensiteetin nopeampi nousu maksimiarvoonsa, kun laserin teho oli suurempi. Hopeanäytteisiin verrattuna kultananoklustereiden syntetisointi onnistui huomattavasti pienemmällä laserin intensiteetillä. Pienempi intensiteetti mahdollistaa helpomman ja laajemman nanoklustereiden syntetisointiprosessin, sillä siihen voidaan käyttää edullista pienitehoista laseria, eikä sen sädettä ole tarpeen kohdistaa erittäin pienelle alueelle näytteellä intensiteetin maksimimiseksi.

Virittämällä kultananoklustereita aallonpituuden 473 nm laserilla havaittiin niiden emittoivan fluoresenssisignaalia noin välillä 550 – 750 nm, emission maksimikohdan ollessa noin 570 nm. Laservalotuksen jatkuessa fluoresenssin intensiteetti pieneni, ja suurin muutos spektrissä tapahtui 600 nm kohdalla. Syntetisoitujen kultananoklustereiden havaittiin olevan erittäin fotostabiileja laservalotuksen aikana. Niiden intensiteettikäyrään voitiin sovittaa kaksiterminen eksponenttifunktio, mikä viittaa kahteen erilaiseen nanoklusteripopulaatioon. Myös näytteiden kemiallinen stabiilius on erinomainen, sillä jopa kuusi

kuukautta aiemmin valmistetuista näytteistä havaittiin voimakas fluoresenssisignaali. Sekä fluoresenssin fotostabiilius, että kultaa sisältävän polymeerikalvon kemiallinen stabiilius ovat sovellusten kannalta positiivisia ja lupaavia ominaisuuksia.

Aiemmissa, hopeananoklustereilla tehdyissä tutkimuksissa laserin polymeerikalvoon jättämät jäljet näkyivät selvästi läpivalaisumikroskoopin kuvassa. Lisäksi atomivoimamikroskoopilla tehdyillä mittauksilla vahvistettiin, että laser oli poistanut merkittävän määrän materiaalia sille altistuneilta alueilta. [91] Tässä työssä läpivalaisumikroskoopilla ei kuitenkaan nähty polymeerikalvossa minkäänlaisia muutoksia alueilla, joilta havaittiin voimakas fluoresenssisignaali. Kultananoklustereiden tapauksessa syntetisoinnissa käytetyn laserin teho oli riittävän pieni, jotta hopeananoklusterinäytteillä havaitulta näkyvältä polymeerin tuhoutumiselta vältyttiin. Tämä havainto on rohkaiseva, sillä se osoittaa uuden, fluoresoivia kultananoklustereita sisältävän polymeerimateriaalin valmistamisen onnistuneen. Tällöin mahdollisia sovelluksia voisi löytyä kohteista, joissa voidaan hyödyntää samanaikaisesti sekä fluoresoivien nanoklustereiden, että niiden pohjamateriaalina toimivan polymeerin tyypillisiä ominaisuuksia. Tarkempaa tietoa polymeerikalvon paksuuden muuttumisesta olisi mahdollista saada atomivoimamikroskoopilla. Tällöin voitaisiin vahvistaa oletus siitä, että polyvinyylialkoholikalvo todella säilyy muuttumattomana, kun siihen syntetisoidaan kultananoklustereita.

Lisäksi tässä työssä syntetisoituja nanoklustereita voitaisiin karakterisoida edelleen tutkimalla niiden absorptio- ja eksitaatiospektriä. Tässä työssä syntetisointiin ja fluoresenssin virittämiseen käytettiin vain yhtä laserin aallonpituutta, mikä asetti rajoituksia mahdollisille mittauksille. Muut aallonpituudet voisivat tuottaa mielenkiintoisia tuloksia sekä nanoklustereiden syntetisoinnissa että virittämisessä. Tämän lisäksi TEM- ja AFM-mittaukset voisivat antaa lisää tietoa ohutkalvon ominaisuuksista ja laservalotuksen siihen aiheuttamista mahdollisista muutoksista. Ohutkalvon valmistusprosessin parametreja muuttamalla voitaisiin saada aikaan yhtenäisempiä PVA-kalvoja, joiden emissiota mittaamalla kultakonsentraation vaikutus olisi mahdollista selvittää onnistuneesti. Mikäli nanoklustereiden syntetisointiin käytettyä mittausjärjestelyä kehitetään edelleen, olisi näytteisiin mahdollista tehdä monimutkaisempaa ja tarkempaa laserkirjoitusta mikrokoisten fluoresoivien rakenteiden tuottamiseksi.

Kokonaisuudessaan tässä diplomityössä osoitettiin kullin ja polyvinyylialkoholin olevan sopiva materiaaliyhdistelmä fluoresoivien kultananoklustereiden fotokemialliseen syntetisointiin. Mahdollisten sovellusten kannalta tulokset syntetisoitujen kultananoklustereiden fotostabiiliudesta, voimakkaasta fluoresenssiemissiosta ja syntetisointiin vaadittavasta pienestä intensiteetistä ovat lupaavia.

## LÄHTEET

- [1] B. Rogers, S. Pennathur, J. Adams, *Nanotechnology: Understanding Small Systems*, 2nd ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2011, 364 p.
- [2] A. Mathew, T. Pradeep, *Noble Metal Clusters: Applications in Energy, Environment, and Biology*, *Particle & Particle Systems Characterization*, Vol. 31, No. 10, 2014, pp. 1017-1053.
- [3] J. Sun, Y. Jin, *Fluorescent Au nanoclusters: recent progress and sensing applications*, *Journal of Materials Chemistry C*, Vol. 2, No. 38, 2014, pp. 8000-8011.
- [4] A. Cantelli, G. Guidetti, J. Manzi, V. Caponetti, M. Montalti, *Towards Ultra-Bright Gold Nanoclusters*, *European Journal of Inorganic Chemistry*, Vol. 2017, No. 44, 2017, pp. 5068-5084.
- [5] N. Karimi, P. Kunwar, J. Hassinen, R.H.A. Ras, J. Toivonen, *Micropatterning of silver nanoclusters embedded in polyvinyl alcohol films*, *Optics Letters*, Vol. 41, No. 15, 2016, pp. 3627-3630.
- [6] P. Kunwar, J. Hassinen, G. Bautista, R.H.A. Ras, J. Toivonen, *Sub-micron scale patterning of fluorescent silver nanoclusters using low-power laser*, *Scientific Reports*, Vol. 6, 2016, pp. 23998.
- [7] P. Jena, A.W. Castleman, Chapter 1 - Introduction to Atomic Clusters, in: P. Jena, A.W. Castleman (ed.), *Nanoclusters*, Elsevier, 2010, pp. 1-36.
- [8] J. Zheng, P.R. Nicovich, R.M. Dickson, *Highly Fluorescent Noble-Metal Quantum Dots*, *Annual Review of Physical Chemistry*, Vol. 58, No. 1, 2007, pp. 409-431.
- [9] H.P. Myers, *Introductory Solid State Physics*, 2nd ed. Taylor & Francis, 1997.
- [10] C. Kittel, *Introduction to Solid State Physics*, 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc., 1968.
- [11] H. Qian, M. Zhu, Z. Wu, R. Jin, *Quantum Sized Gold Nanoclusters with Atomic Precision*, *Accounts of Chemical Research*, Vol. 45, No. 9, 2012, pp. 1470-1479.
- [12] R. Jin, *Quantum sized, thiolate-protected gold nanoclusters*, *Nanoscale*, Vol. 2, No. 3, 2010, pp. 343-362.
- [13] S.H. Yau, O. Varnavski, T. Goodson, *An Ultrafast Look at Au Nanoclusters*, *Accounts of Chemical Research*, Vol. 46, No. 7, 2013, pp. 1506-1516.
- [14] J. Zheng, C. Zhou, M. Yu, J. Liu, *Different sized luminescent gold nanoparticles*, *Nanoscale*, Vol. 4, No. 14, 2012, pp. 4073-4083.

- [15] F. Baletto, R. Ferrando, Structural properties of nanoclusters: Energetic, thermodynamic, and kinetic effects, *Reviews of Modern Physics*, Vol. 77, No. 1, 2005, pp. 371-423.
- [16] M.L. Cohen, M.Y. Chou, W.D. Knight, W.A. De Heer, *Physics of metal clusters*, *The Journal of physical chemistry*, Vol. 91, No. 12, 1987, pp. 3141-3149.
- [17] L. Li, Z. Li, H. Zhang, S. Zhang, I. Majeed, B. Tan, Effect of polymer ligand structures on fluorescence of gold clusters prepared by photoreduction, *Nanoscale*, No. 5, 2013, pp. 1986.
- [18] J. Zheng, C. Zhang, R.M. Dickson, Highly Fluorescent, Water-Soluble, Size-Tunable Gold Quantum Dots, *Physical Review Letters*, Vol. 93, No. 7, 2004, pp. 077402.
- [19] A.C. Reber, S.N. Khanna, A.W. Castleman, Chapter 9 - Superatoms: From Motifs to Materials, in: P. Jena, A.W. Castleman (ed.), *Nanoclusters*, Elsevier, 2010, pp. 365-381.
- [20] M. Walter, J. Akola, O. Lopez-Acevedo, P.D. Jadzinsky, G. Calero, C.J. Ackerson, R.L. Whetten, H. Granbeck, H. Häkkinen, A unified view of ligand-protected gold clusters as superatom complexes, *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol. 105, No. 27, 2008, pp. 9157.
- [21] K.J. Taylor, C.L. Pettiette-Hall, O. Cheshnovsky, R.E. Smalley, Ultraviolet photoelectron spectra of coinage metal clusters, *The Journal of chemical physics*, Vol. 96, No. 4, 1992, pp. 3319-3329.
- [22] P. Pyykkö, Magic nanoclusters of gold, *Nature Nanotechnology*, Vol. 2, 2007, pp. 273.
- [23] H. Haberland, T. Hippler, J. Donges, O. Kostko, M. Schmidt, B. von Issendorff, Melting of Sodium Clusters: Where Do the Magic Numbers Come from? *Physical Review Letters*, Vol. 94, No. 3, 2005, pp. 035701.
- [24] S. Gilb, P. Weis, F. Furche, R. Ahlrichs, M.M. Kappes, Structures of small gold cluster cations ( $Au_n^+$ ,  $n < 14$ ): Ion mobility measurements versus density functional calculations, *The Journal of Chemical Physics*, Vol. 116, No. 10, 2002, pp. 4094-4101.
- [25] J.P. Wilcoxon, B.L. Abrams, Synthesis, structure and properties of metal nanoclusters, *Chemical Society Reviews*, Vol. 35, No. 11, 2006, pp. 1162-1194.
- [26] D. Jiang, The expanding universe of thiolated gold nanoclusters and beyond, *Nanoscale*, Vol. 5, No. 16, 2013, pp. 7149-7160.
- [27] H.H. Willard, L.L. Merrit Jr., J.A. Dean, F.A. Settle Jr., *Instrumental Methods of Analysis*, 7th ed. Wadsworth, Inc., Belmont, California, 1988, 895 p.
- [28] L. Zhang, E. Wang, Metal nanoclusters: New fluorescent probes for sensors and bioimaging, *Nano Today*, Vol. 9, No. 1, 2014, pp. 132-157.

- [29] P.A. Tipler, R.A. Llewellyn, *Modern Physics*, 5th ed. W. H. Freeman and Company, New York, 2008, 680 p.
- [30] J.W. Lichtman, J. Conchello, Fluorescence microscopy, *Nature Methods*, Vol. 2, 2005, pp. 910.
- [31] Z. Wu, R. Jin, On the Ligand's Role in the Fluorescence of Gold Nanoclusters, *Nano Letters*, Vol. 10, No. 7, 2010, pp. 2568-2573.
- [32] E.C. Tyo, S. Vajda, Catalysis by clusters with precise numbers of atoms, *Nature Nanotechnology*, Vol. 10, 2015, pp. 577.
- [33] Y. Lu, W. Chen, Sub-nanometre sized metal clusters: from synthetic challenges to the unique property discoveries, *Chemical Society Reviews*, Vol. 41, No. 9, 2012, pp. 3594-3623.
- [34] G. Ou, J. Zhao, P. Chen, C. Xiong, F. Dong, B. Li, X. Feng, Fabrication and application of noble metal nanoclusters as optical sensors for toxic metal ions, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Vol. 410, No. 10, 2018, pp. 2485-2498.
- [35] H. Muhammed, M. Abubaker, R. Subramani, S. Sudarson Sekhar, P. Samir Kumar, P. Thalappil, Two distinct fluorescent quantum clusters of gold starting from metallic nanoparticles by pH-dependent ligand etching, *Nano Research*, Vol. 1, No. 4, 2008, pp. 333-340.
- [36] H. Duan, S. Nie, Etching Colloidal Gold Nanocrystals with Hyperbranched and Multivalent Polymers: A New Route to Fluorescent and Water-Soluble Atomic Clusters, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 129, No. 9, 2007, pp. 2412-2413.
- [37] J.P. Wilcoxon, J.E. Martin, F. Parsapour, B. Wiedenman, D.F. Kelley, Photoluminescence from nanosize gold clusters, *The Journal of chemical physics*, Vol. 108, No. 21, 1998, pp. 9137-9143.
- [38] S. Yukatsu, N. Yuichi, T. Hironori, K. Masayuki, T. Toshiharu, T. Tatsuya, Extremely High Stability of Glutathionate-Protected Au<sub>25</sub> Clusters Against Core Etching, *Small*, Vol. 3, No. 5, 2007, pp. 835-839.
- [39] L. Shang, R.M. Dorlich, S. Brandholt, R. Schneider, V. Trouillet, M. Bruns, D. Gerthsen, G.U. Nienhaus, Facile preparation of water-soluble fluorescent gold nanoclusters for cellular imaging applications, *Nanoscale*, Vol. 3, No. 5, 2011, pp. 2009-2014.
- [40] T.A.C. Kennedy, J.L. MacLean, J. Liu, Blue emitting gold nanoclusters templated by poly-cytosine DNA at low pH and poly-adenine DNA at neutral pH, *Chemical Communications*, Vol. 48, No. 54, 2012, pp. 6845-6847.
- [41] N. Vilar-Vidal, M.C. Blanco, M.A. Lapez-Quintela, J. Rivas, C. Serra, Electrochemical Synthesis of Very Stable Photoluminescent Copper Clusters, *The Journal of Physical Chemistry C*, Vol. 114, No. 38, 2010, pp. 15924-15930.

- [42] B.S. Gonzalez, M.C. Blanco, M. Lopez-Quintela, Single step electrochemical synthesis of hydrophilic/hydrophobic Ag<sub>5</sub> and Ag<sub>6</sub> blue luminescent clusters, *Nanoscale*, Vol. 4, No. 24, 2012, pp. 7632-7635.
- [43] H. Xu, K.S. Suslick, Sonochemical Synthesis of Highly Fluorescent Ag Nanoclusters, *ACS Nano*, Vol. 4, No. 6, 2010, pp. 3209-3214.
- [44] N. Arul Dhas, A. Gedanken, Sonochemical preparation and properties of nanostructured palladium metallic clusters, *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 8, No. 2, 1998, pp. 445-450.
- [45] H. Xu, K.S. Suslick, Water-Soluble Fluorescent Silver Nanoclusters, *Advanced Materials*, Vol. 22, No. 10, 2010, pp. 1078-1082.
- [46] B.G. Ershov, A. Henglein, Reduction of Ag<sup>+</sup> on Polyacrylate Chains in Aqueous Solution, *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 102, No. 52, 1998, pp. 10663-10666.
- [47] T. Liu, Y. Su, H. Song, Y. Lv, Microwave-assisted green synthesis of ultrasmall fluorescent water-soluble silver nanoclusters and its application in chiral recognition of amino acids, *Analyst*, Vol. 138, No. 21, 2013, pp. 6558-6564.
- [48] L. Shang, L. Yang, F. Stockmar, R. Popescu, V. Trouillet, M. Bruns, D. Gerthsen, G.U. Nienhaus, Microwave-assisted rapid synthesis of luminescent gold nanoclusters for sensing Hg<sub>2</sub><sup>+</sup> in living cells using fluorescence imaging, *Nanoscale*, Vol. 4, No. 14, 2012, pp. 4155-4160.
- [49] L. Shang, S. Dong, Facile preparation of water-soluble fluorescent silver nanoclusters using a polyelectrolyte template, *Chemical Communications*, No. 9, 2008, pp. 1088-1090.
- [50] J. Zheng, R.M. Dickson, Individual Water-Soluble Dendrimer-Encapsulated Silver Nanodot Fluorescence, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 124, No. 47, 2002, pp. 13982-13983.
- [51] H. Zhang, X. Huang, L. Li, G. Zhang, I. Hussain, Z. Li, B. Tan, Photoreductive synthesis of water-soluble fluorescent metal nanoclusters, *Chemical Communications*, Vol. 48, No. 4, 2012, pp. 567-569.
- [52] J.T. Petty, J. Zheng, N.V. Hud, R.M. Dickson, DNA-Templated Ag Nanocluster Formation, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 126, No. 16, 2004, pp. 5207-5212.
- [53] A.J. Ho, H. Chang, W. Su, DOPA-Mediated Reduction Allows the Facile Synthesis of Fluorescent Gold Nanoclusters for Use as Sensing Probes for Ferric Ions, *Analytical Chemistry*, Vol. 84, No. 7, 2012, pp. 3246-3253.
- [54] J. Xie, Y. Zheng, J.Y. Ying, Protein-Directed Synthesis of Highly Fluorescent Gold Nanoclusters, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 131, No. 3, 2009, pp. 888-889.

- [55] S. Wang, X. Meng, A. Das, T. Li, Y. Song, T. Cao, X. Zhu, M. Zhu, R. Jin, A 200-fold Quantum Yield Boost in the Photoluminescence of Silver-Doped Ag<sub>x</sub>Au<sub>25-x</sub> Nanoclusters: The 13 th Silver Atom Matters, *Angewandte Chemie International Edition*, Vol. 53, No. 9, 2014, pp. 2376-2380.
- [56] Z. Lin, F. Luo, T. Dong, L. Zheng, Y. Wang, Y. Chi, G. Chen, Recyclable fluorescent gold nanocluster membrane for visual sensing of copper(ii) ion in aqueous solution, *Analyst*, No. 10, 2012, pp. 2394.
- [57] Y. Zhang, H. Jiang, X. Wang, Cytidine-stabilized gold nanocluster as a fluorescence turn-on and turn-off probe for dual functional detection of Ag<sup>+</sup> and Hg<sub>2</sub><sup>+</sup>, *Analytica Chimica Acta*, Vol. 870, 2015, pp. 1-7.
- [58] M. Haruta, When Gold Is Not Noble: Catalysis by Nanoparticles, *The Chemical Record*, Vol. 3, No. 2, 2003, pp. 75-87.
- [59] M. Hiroyuki, M. Ryosuke, M. Yoji, Kobayashi Shū, Aerobic Oxidation of Alcohols at Room Temperature and Atmospheric Conditions Catalyzed by Reusable Gold Nanoclusters Stabilized by the Benzene Rings of Polystyrene Derivatives, *Angewandte Chemie*, Vol. 119, No. 22, 2007, pp. 4229-4232.
- [60] G. Li, R. Jin, Atomically precise gold nanoclusters as new model catalysts, *Accounts of Chemical Research*, Vol. 46, No. 8, 2013, pp. 1749-1758.
- [61] Q. Li, Y. Pan, T. Chen, Y. Du, H. Ge, B. Zhang, J. Xie, H. Yu, M. Zhu, Design and Mechanistic Study of a Novel Gold Nanocluster-Based Drug Delivery System, 2018.
- [62] C. Wang, J. Li, C. Amatore, Y. Chen, H. Jiang, X. Wang, Gold nanoclusters and graphene nanocomposites for drug delivery and imaging of cancer cells, *Angewandte Chemie International Edition*, Vol. 50, No. 49, 2011, pp. 11644-11648.
- [63] Y. Wang, J. Chen, J. Irudayaraj, Nuclear targeting dynamics of gold nanoclusters for enhanced therapy of HER2 breast cancer, *ACS nano*, Vol. 5, No. 12, 2011, pp. 9718-9725.
- [64] X. Zhang, J. Chen, Z. Luo, D. Wu, X. Shen, S. Song, Y. Sun, P. Liu, J. Zhao, S. Huo, Enhanced Tumor Accumulation of Sub-2 nm Gold Nanoclusters for Cancer Radiation Therapy, *Advanced healthcare materials*, Vol. 3, No. 1, 2014, pp. 133-141.
- [65] Q. Li, B. Guo, J. Yu, J. Ran, B. Zhang, H. Yan, J.R. Gong, Highly Efficient Visible-Light-Driven Photocatalytic Hydrogen Production of CdS-Cluster-Decorated Graphene Nanosheets, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 133, No. 28, 2011, pp. 10878-10884.
- [66] Y. Chen, P.V. Kamat, Glutathione-Capped Gold Nanoclusters as Photosensitizers. Visible Light-Induced Hydrogen Generation in Neutral Water, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 136, No. 16, 2014, pp. 6075-6082.
- [67] Ö Metin, Ş Şahin, S. Özkar, Water-soluble poly(4-styrenesulfonic acid-co-maleic acid) stabilized ruthenium(0) and palladium(0) nanoclusters as highly active catalysts in



hydrogen generation from the hydrolysis of ammonia–borane, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 34, No. 15, 2009, pp. 6304-6313.

[68] D. Zhang, W.C.H. Choy, C.C.D. Wang, X. Li, L. Fan, K. Wang, H. Zhu, Polymer solar cells with gold nanoclusters decorated multi-layer graphene as transparent electrode, *Applied Physics Letters*, Vol. 99, No. 22, 2011, pp. 223302.

[69] T.C. Wei, C.C. Wan, Y.Y. Wang, Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)-capped platinum nanoclusters on indium-tin oxide glass as counterelectrode for dye-sensitized solar cells, *Applied Physics Letters*, Vol. 88, No. 10, 2006, pp. 103122.

[70] Y. Chen, H. Choi, P.V. Kamat, Metal-Cluster-Sensitized Solar Cells. A New Class of Thiolated Gold Sensitizers Delivering Efficiency Greater Than 2%, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 135, No. 24, 2013, pp. 8822-8825.

[71] C.M. Aikens, Electronic Structure of Ligand-Passivated Gold and Silver Nanoclusters, *The Journal of Physical Chemistry Letters*, Vol. 2, No. 2, 2011, pp. 99-104.

[72] S. Shukla, X. Vidal, E.P. Furlani, M.T. Swihart, K. Kim, Y. Yoon, A. Urbas, P.N. Prasad, Subwavelength Direct Laser Patterning of Conductive Gold Nanostructures by Simultaneous Photopolymerization and Photoreduction, *ACS Nano*, Vol. 5, No. 3, 2011, pp. 1947-1957.

[73] T.G. Rochow, E.G. Rochow, *An Introduction to Microscopy of Light, Electrons, X-Rays, or Ultrasound*, 1st ed. Plenum Press, 1978.

[74] P. Kunwar, J. Hassinen, G. Bautista, R.H.A. Ras, J. Toivonen, Direct Laser Writing of Photostable Fluorescent Silver Nanoclusters in Polymer Films, *ACS Nano*, Vol. 8, No. 11, 2014, pp. 11165-11171.

[75] I. Diez, R.H.A. Ras, Fluorescent silver nanoclusters, *Nanoscale*, Vol. 3, No. 5, 2011, pp. 1963-1970.

[76] K. Norrman, A. Ghanbari-Siahkali, N.B. Larsen, 6 Studies of spin-coated polymer films, *Annual Reports Section "C" (Physical Chemistry)*, Vol. 101, No. 0, 2005, pp. 174-201.

[77] F.C. Krebs, Fabrication and processing of polymer solar cells: A review of printing and coating techniques, *Solar Energy Materials and Solar Cells*, Vol. 93, No. 4, 2009, pp. 394-412.

[78] D.B. Hall, U. Patrick, J.M. Torkelson, Spin coating of thin and ultrathin polymer films, *Polymer Engineering & Science*, Vol. 38, No. 12, 1998, pp. 2039-2045.

[79] Spin Coating: A Guide to Theory and Techniques, Ossila Ltd, verkkolähde. Saatavilla (katsottu 12.07.2018): <https://www.ossila.com/pages/spin-coating#spin-coating-general-theory>.

[80] C.M. Hassan, N.A. Peppas, Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods, in:

Biopolymers · PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2000, pp. 37-65.

[81] W.D. Callister, D.G. Rethwisch, *Materials Science and Engineering*, 8th ed. John Wiley & Sons, 2011, 885-122 p.

[82] M.L. Hallensleben, F. Robert, M. Florian, *Polyvinyl Compounds, Others*, in: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2015.

[83] S. Ghoshal, P. Denner, S. Stapf, C. Mattea, *Study of the Formation of Poly(vinyl alcohol) Films*, *Macromolecules*, Vol. 45, No. 4, 2012, pp. 1913-1923.

[84] C. Mattea, S. Ghoshal, E. PabjaÅ„czyk, S. Stapf, *Poly(vinyl alcohol)film formation process using single-sided low-field NMR relaxometry: Effect of initial concentration*, 2013, 27-30 p.

[85] M.O. Ngui, S.K. Mallapragada, *Quantitative analysis of crystallization and skin formation during isothermal solvent removal from semicrystalline polymers*, *Polymer*, Vol. 40, No. 19, 1999, pp. 5393-5400.

[86] E. Ciampi, P.J. McDonald, *Skin Formation and Water Distribution in Semicrystalline Polymer Layers Cast from Solution: A Magnetic Resonance Imaging Study*, *Macromolecules*, Vol. 36, No. 22, 2003, pp. 8398-8405.

[87] A. Babaie, B. Stoeber, *Concentration Field Evolution during the Drying of a Thin Polymer Solution Film near the Contact Line*, *Langmuir*, Vol. 31, No. 33, 2015, pp. 9033-9040.

[88] S. Wong, S.A. Altinkaya, S.K. Mallapragada, *Understanding the effect of skin formation on the removal of solvents from semicrystalline polymers*, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, Vol. 43, No. 22, 2005, pp. 3191-3204.

[89] C. Sun, R. Qu, C. Ji, Y. Meng, C. Wang, Y. Sun, L. Qi, *Preparation and property of polyvinyl alcohol-based film embedded with gold nanoparticles*, *Journal of Nanoparticle Research*, Vol. 11, No. 4, 2009, pp. 1005-1010.

[90] P. Kunwar, L. Turquet, J. Hassinen, R.H.A. Ras, J. Toivonen, G. Bautista, *Holographic patterning of fluorescent microstructures comprising silver nanoclusters*, *Optical Materials Express*, Vol. 6, No. 3, 2016, pp. 946-951.

[91] N. Karimi, *Direct Laser Writing of Fluorescent Microstructures containing Silver Nanoclusters in Polyvinyl Alcohol Films*, Master of Science, 2014.

[92] Poly(vinyl alcohol), Sigma-Aldrich, verkkolähde. Saatavilla (katsottu 17.8.2018): <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/341584?lang=fi&region=FI>.

[93] D.T.W. Toolan, J.R. Howse, *Development of in situ studies of spin coated polymer films*, *Journal of Materials Chemistry C*, Vol. 1, No. 4, 2013, pp. 603-616.