

UNIVERSITATEA “BABEȘ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE FIZICĂ
SPECIALIZAREA BIOFIZICĂ ȘI FIZICĂ MEDICALĂ

LUCRARE DE DISERTAȚIE

Coordonator științific
Prof. Dr. Nicolae Leopold

Absolvent
Alexandra-Maria Chiriac

2023

UNIVERSITATEA “BABEȘ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE FIZICĂ
SPECIALIZAREA BIOFIZICĂ ȘI FIZICĂ MEDICALĂ

LUCRARE DE DISERTAȚIE

**STUDIUL TRANSFERULUI DE SARCINĂ LA INTERFAȚA NANOPARTICULĂ-
MOLECULĂ PRIN EFECTUL CHEMICAL INTERFACE DAMPING**

Coordonator științific

Prof. Dr. Nicolae Leopold

Dr. Ștefania-Dana Iancu

Absolvent

Alexandra-Maria Chiriac

2023

Cuprins

Abstract	4
Introducere	5
1. Teorie	7
1.1. Rezonanța plasmonică de suprafață.....	7
1.2. Modelul Drude	9
1.3. Microscopia Hiperspectrală CytoViva	16
1.4. Spectroscopia amplificată de suprafață Raman (SERS).....	19
2. Literatura actuală.....	23
3. Metode și materiale utilizate	27
3.1. Sinteza nanoparticulelor de argint.....	27
4. Rezultate și Discuții.....	32
4.1. Molecule tiolate	34
4.2. Molecule netiolate	42
Concluzii	47
Bibliografie.....	48

Abstract

The decay of excited plasmons in metallic nanoparticles is caused by both radiative and nonradiative mechanisms. One of the nonradiative decay processes known as chemical interface damping (CID), involves coherent electron oscillations being scattered from the nanoparticle surface into accessible adsorbate energy levels. When this scattering leads to changes in the momentum of the electron, it results in the creation of a hole and an electron in the metal. In such cases, the Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) effect is not observed, but rather CID takes place.

The objective of this study was to investigate the appearance of CID effect for silver nanoparticles (AgNPs) when interacting with thiolated and non-thiolated molecules and to establish if the CID prevents the SERS effects.

To measure the CID of the surface plasmon resonance (SPR) modes of individual nanoparticles dark field microscopy was employed. The time evolution of the position and half-width at half maximum (hwhm) of the SPR band, indicative of CID occurrence, were employed to assess the behavior of individual AgNP. Three thiolated molecules, namely thiobenzoic acid, 4-mercaptobenzoic acid, and cysteine, known to spontaneously adsorb on the silver surface, were studied, along with two non-thiolated molecules: salicylic acid and sodium citrate. For both CID and SERS effects to occur, the molecules needed to adsorb onto the AgNPs. Consequently, salicylic acid and citrate exhibited neither CID nor SERS. In contrast, thiobenzoic acid and 4-mercaptobenzoic acid showed CID, as indicated by the broadening of the SPR band. Thiobenzoic acid exhibited no SERS effect at low concentration, whereas mercaptobenzoic acid, which displayed a small CID effect, showed SERS enhanced, their SERS spectra were detected, but no CID effect was observed.

In summary, this study demonstrates the occurrence and specific conditions under which CID and SERS are observed for particular molecules. The results indicate that certain molecules exhibit CID but not SERS, while others exhibit SERS but no CID.

Introducere

Nanoparticulele metalice, cum ar fi nanoparticulele de argint, pot cupla radiația incidentă din domeniul vizibil cu oscilația colectivă a plasmonilor. Acest efect este utilizat în diverse tehnici de spectroscopie de suprafață, care urmăresc fie detecția unor molecule, precum spectroscopia amplificată de suprafață Raman (SERS), fie transferul electronic de la interfață, urmărit prin modificarea energiei de rezonanță a mișcărilor colective a electronilor. Prin adsorbția unor molecule pe suprafața metalică, electronii din metal pot fi împrăștiați pe nivelele energetice disponibile ale adsorbatului. În cazul transferului electronic din metal pe nivelul LUMO al moleculei adsorbite, apare decoerența mișcării colective a plasmonilor, efect numit chemical interface damping (CID). CID poate fi urmărit prin modificarea benzii de rezonanță plasmonică a nanoparticulelor de argint, mai exact prin modificarea lărgimii acesteia. Mai mult, în urma saltului electronului din nanoparticulă (NP) în moleculă poate apărea defazarea impulsului acestuia, urmând ca în momentul reîntoarcerii electronului în metal el să nu se poată recombina cu golul lăsat. În acest caz, nu apare amplificarea semnalului Raman a moleculei adsorbite la suprafață.

Lucrarea de față urmărește analiza a două efecte de suprafață, CID și SERS pentru interacțiunea moleculelor tiolate (acid tiobenzoic, acid 4-mercaptobenzoic, cisteină) și netiolate (citrat de sodiu, acid salicilic) cu suprafața nanoparticulelor de argint.

Deoarece, numărul studiilor legate de efectul de chemical interface damping (CID), au început să crească începând cu anul 2017, putem spune că acest domeniu este în dezvoltare, și încă nu este pe deplin înțeles. Prin urmare, scopul nostru a fost acela de a monitoriza prezența efectului CID și SERS la o serie de molecule, și la final să fim capabili să prezicem sau să anticipăm rezultatul unui experiment.

Literatura de specialitate s-a focusat pe determinarea apariției efectului CID pentru molecule ce sunt cunoscute să adsorbă spontan la suprafețele metalice, precum dodecanethiol-ul (DDT) [1] [2], 4-mercaptobenzoic acid, biotin [3]. În aceste cazuri au fost observate deplasări ale benzii rezonanței plasmonice de suprafață (SPR) a nanoparticulelor de aur către energii mai mici (shift către roșu), împreună cu lărgirea SPR, indicând apariția efectului CID.

Înțelegerea condițiilor în care apare CID, este o parte fundamentală pentru eventualele aplicații medicale ale nanoparticulelor metalice. Un exemplu în acest sens ar fi biosenzorul bazat pe rezonanța plasmonică a nanoparticulelor de aur care prezintă sensibilitate pentru diferite concentrații de kanamicină, realizat de către Kaefer et. al[4].

Astfel, prin lucrarea aceasta, am vrut să înțelegem în ce condiții apare efectul CID, și pentru ce tip de molecule.

Primul capitol prezintă aspecte teoretice ce țin de cele două efecte urmărite în această lucrare. Mai exact, se axează pe descrierea rezonanței plasmonice, a modelului Drude, principiului de funcționare al microscopului hiperspectral CytoViva, care are la bază microscopia în câmp întunecat, și nu în ultimul rând, descrierea spectroscopiei Raman amplificată de suprafață (SERS).

În capitolul doi al acestei lucrări voi prezenta două articole din literatură care stau la baza înțelegerii efectului pe care îl au moleculele tiolate asupra benzii SPR a nanoparticulelor metalice.

În capitolul trei sunt descrise metodologiile aplicate în acest studiu și limitările acestora, respectiv despre materialele pe care le-am folosit și nu în ultimul rând despre sinteza nanoparticulelor de argint.

Ultimul capitol prezintă măsurătorile efectului CID, realizate cu ajutorul microscopului hiperspectral, în care am urmărit variațiile aduse de moleculele tiolate (acid tiobenzoic, acid 4-mercaptobenzoic și cisteină), respectiv netiolate (acid salicilic și citrat de sodiu), în poziția benzii SPR, și mai ales în lărgimea la jumătatea intensității maxime a acesteia (fwhm). Acidul tiobenzoic (TBA) a fost singura moleculă care a produs variații semnificative ale benzii SPR, producând apariția efectului CID. Acidul 4-mercaptobenzoic (MBA) și cisteina, doar au adsorbit pe suprafața nanoparticulelor de argint (AgNPs), producând o variație a poziției benzii SPR, dar nu și o lărgire a acesteia. În cazul moleculelor netiolate, nu am avut variații nici în poziția și nici în lărgimea benzii. În paralel, am achiziționat spectre SERS pentru toate moleculele analizate, și am observat că pentru TBA, nu am avut semnal SERS decât pentru concentrația de 10^{-3} M, care a produs agregarea AgNPs, deci s-a modificat semnificativ rezonanța plasmonică a substratului. Pentru celelalte molecule tiolate, MBA și cisteină, care nu au prezentat CID, am obținut semnal SERS. În cazul acidului salicilic și al citratului de sodiu, nu am obținut efect CID, iar semnalul SERS a apărut doar după adăugarea de Ca^{2+} , care facilitează adsorbția pe suprafața AgNPs.

Concluzionând, TBA a fost singura moleculă pentru care am obținut CID, în timp ce MBA și cisteina, prezintă semnal SERS instant, iar acidul salicilic și citratul doar după adăugarea Ca^{2+} . Astfel, cele două efecte se exclud reciproc.

1. Teorie

1.1. Rezonanța plasmonică de suprafață

La aplicarea unui câmp electro-magnetic asupra nanoparticulelor se va induce oscilația electronilor din banda de conducție. Oscilația indusă este cu atât mai eficientă, cu cât energia radiației electro-magnetice este mai aproape de rezonanța plasmonică a nanoparticulelor. După ce are loc excitarea rezonanței plasmonice, electronii își pierd rapid energia, într-un interval de ordinul fs, și din acest motiv este foarte dificil să se realizeze măsurători temporale. Alternativa fiind măsurarea lărgimii benzii rezonanței plasmonice (SPR) a nanoparticulelor, care este direct proporțională cu rata de amortizare plasmonică:

$$\Gamma = \Gamma_b + \Gamma_{rad} + \Gamma_{surf} + \Gamma_{CID} \quad (1)$$

Γ_b , Γ_{rad} , Γ_{surf} și Γ_{CID} , reprezintă canale de amortizare [1]

Atenuarea brută Γ_b (bulk damping) reprezintă împrăștierea electronilor, care are loc în urma ciocnirii cu fononi termici și a altor impurități prezente. În cazul acestei atenuări, energia este disipată sub formă de căldură.[1]

Atenuarea radiației, Γ_{rad} reprezintă componenta radiativă a dezexcitării, datorată emisiei secundare de lumină.[1]

Atenuarea Γ_{surf} , descrie amortizarea printr-un efect de margine, împrăștierea plasmonilor la suprafața nanoparticulelor.[1]

Amortizarea chimică de interfață (chemical interface damping), Γ_{CID} , reprezintă atenuarea energetică a SPR datorată împrăștierii electronilor pe nivele energetice acceptoare ale adsorbatului (molecule, ioni).[1]

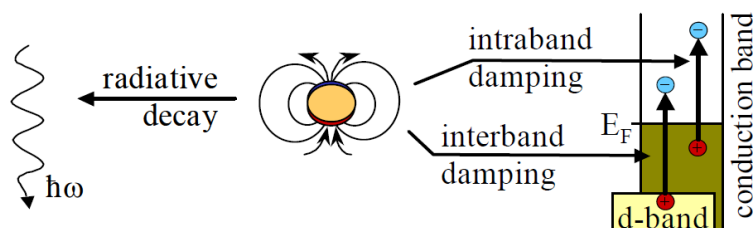


Fig. 1. 1. Moduri radiative și neradiative de dezexcitare a rezonanței plasmonice [5]

Pentru a înțelege dezexcitarea neradiativă, vom considera electronii din banda de conducție ca fiind independenți. Astfel plasmonul este apoi o suprapunere a mai multe oscilații electronice independente. Amortizarea neradiativă se datorează astfel unui defazaj al oscilației electronilor individuali. Din cauza principiului de excluziune al lui Pauli, electronii pot fi excitați în stările libere în banda de conducție. Aceste excitații pot fi împărțite în excitații inter și intrabandă în funcție de originea electronului, fie în banda d, fie în banda de conducție. În mod efectiv, mișcările electronilor din banda de conducție în particula reprezintă un curent $\vec{j}(t)$ (dependent de timp), care va simți o rezistență a metalului (dependentă de frecvență). Conductivitatea dependentă de frecvență $\sigma(\omega)$ este descrisă de partea imaginară a funcției dielectrice $\Im(\epsilon) = \sigma/\epsilon_0\omega$. Energia se disipă prin canalele neradiative și este transformată ulterior în căldură. [5]

Procesul de chemical interface damping (CID) constă într-un transfer direct de energie către adsorbat. Se poate considera că CID este de fapt o împrăștiere inelastică a electronilor de la suprafața nanoparticulelor, care transferă energia în orbitalii moleculari disponibili în imediata vecinătate a suprafeței de la suprafață. Cu toate că CID are cea mai mare contribuție în transferul energiei către moleculele adsorbite, este și cel mai puțin înțeles mecanism dintre toate efectele care contribuie la disiparea energiei (Fig. 1.1).

S-a observat că CID trece peste pasul intermediar de formare a perechilor de electron-gol (Fig. 1.2). [3]

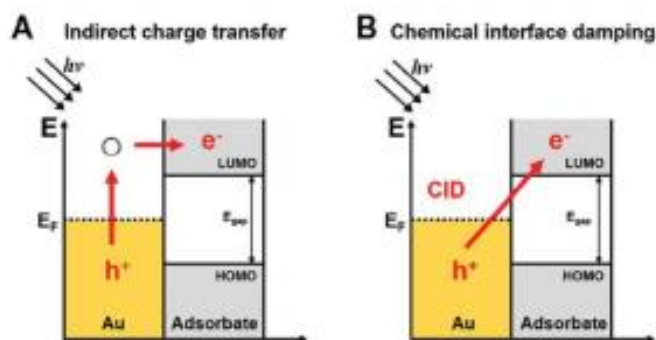


Fig. 1. 2. Reprezentarea schematică a transferului indirect și direct în nanoparticulele de Au (A) Transfer indirect cu pasul intermediar de formare a perechii electro-gol în nanoparticulă (B) Transfer direct prin generarea de hot electroni direct în orbitalul LUMO al adsorbatului [3]

Efectul CID conduce la decoerența oscilației plasmonilor de suprafață și implicit la scăderea frecvenței de oscilație a acestora. Efectul CID poate fi urmărit doar la nivel de particulă izolată prin deplasarea frecvenței de oscilație a SPR, însoțită de modificarea semi-lărgimii benzii SPR (hwhm).

În studiul realizat de către Benjamin Forester et al., s-a observat că în momentul în care se adaugă dodecanethiol peste nanobastonase de aur, apare o deplasare în banda SPR, și o lărgire a acesteia. Acest lucru se datorează fie stratului de alkanethiol care mărește indicele de refracție în jurul nanoparticulei, fie grupării tiol, care dezlocuiește un electron din banda de conducție a aurului [1]. A doua variantă fiind mai plauzibilă, în urma rezultatelor pe care le-am obținut și noi.

1.2. Modelul Drude

Cum am precizat și mai sus, modelul Drude este un model simplificat bazat pe teoria cinetică a gazului. Acest model presupune prezența electronilor independenți și liberi, care au în comun un timp de relaxare. Bazându-se pe principiul de excluziune a lui Pauli, Sommerfeld a adus unele corecții legate de structura benzilor materialului, și sunt încorporate în mod obișnuit într-o masă efectivă m^* , care este diferită de masa electronului liber. [5]

În cadrul teoriei Drude-Sommerfeld, imaginea de bază a proprietăților metalelor este un gaz independent, cu electronii aproximați punctiform. Electronii se mișcă liberi și se ciocnesc fie cu ionii rețelei, fie cu alți electroni sau cu alte defecte prezente în solid. Aceste ciocniri au loc cu o rată de $\gamma_0 = \tau^{-1}$, unde τ reprezintă timpul de relaxare. Fiecare ciocnire duce la pierderea completă a informației despre direcție, și are ca rezultat o orientare aleatoare a vitezei electronului. [5]

Prin aplicarea unui câmp electric exterior, electronii sunt accelerați între ciocniri, rezultând o mișcare de drift. Însă, doar electronii din apropierea nivelului Fermi contribuie la această mișcare, din cauza principiului de excluziune a lui Pauli, care nu permite ca electronii din profunzime să își schimbe starea electronică. [5]

Modelul Drude-Sommerfeld prezice destul de bine numeroase proprietăți ale metalelor, inclusiv proprietățile lor optice care sunt descrise de funcția dielectrică dependentă de frecvența $\epsilon(\omega)$. [5]

Ecuția care rezultă este:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_{\infty} - \frac{\omega_p^2}{\omega(\omega + i\gamma_0)} \approx \varepsilon_{\infty} - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} + i \frac{\gamma_0 \omega_p^2}{\omega^3} \quad (2) \quad [5]$$

Termenul ω_p se numește frecvența de plasmă și este dată de ecuația $\omega_p = \sqrt{ne^2/\varepsilon_0 m^*}$, unde n reprezintă densitatea electronilor de conducție, iar m^* reprezintă masa efectivă a acestora. [5]

Termenul γ_0 reprezintă rata de relaxare a electronilor, iar ε_{∞} reprezintă contribuția electronilor legați la polarizabilitate și ar trebui să fie 1 dacă electronii din banda de conducție sunt singurii care contribuie la funcția dielectrică. [5]

Din cauza timpilor de defazare extrem de rapizi prezenți în plasmonii din nanoparticule, de ordinul 1-10 fs, este destul de greu de realizat o măsurare a defazării în domeniul timp. Prin urmare, se preferă determinarea timpului de defazare prin investigarea spectrului în domeniul frecvențelor, în loc să se măsoare defazarea plasmonică în timp. [6]

Timpul și frecvența sunt strâns legați prin intermediul transformatei Fourier F . Considerăm un câmp electric oscilant $E(t)$ cu o frecvență proprie ω_0 . În cazul în care oscilația este amortizată și scade exponențial cu o constantă de timp T , transformata Fourier F ne sugerează că în spectrul de frecvență se observă forma liniei de rezonanță, sau linia Lorentz. [5]

Dacă considerăm un câmp electric oscilant $E(t)$, având frecvența proprie ω_0 , a cărei oscilație începe să scadă cu timpul T , transformata Fourier F ne spune că spectrul de frecvență va avea o formă asemănătoare unei linii Lorentziene:

$$E(t) = (E_0 e^{-i\omega_0 t}) e^{-\frac{t}{T}} \quad (3) \quad [5]$$

$$\Rightarrow E'(\omega) = F(E(t)) = \frac{E_0}{\sqrt{2\pi}} \frac{\frac{1}{T}}{(\omega - \omega_0)^2 + \left(\frac{1}{T}\right)^2} \quad (4) \quad [5]$$

Aplicarea transformării Fourier la sinusoida amortizată exponențial are ca rezultat forme de linii Lorentziene. Lățimea benzilor plasmonice este legată de rata semnalului din domeniul timpului scade; cu cât semnalul este mai rapid, cu atât peak-ul este mai larg. Putem înțelege această afirmație și astfel, amortizarea rapidă a semnalului îngreunează determinarea exactă a frecvenței

și, prin urmare, poziția peak-ului în domeniul frecvenței este mai greu de definit, iar banda este mai largă.

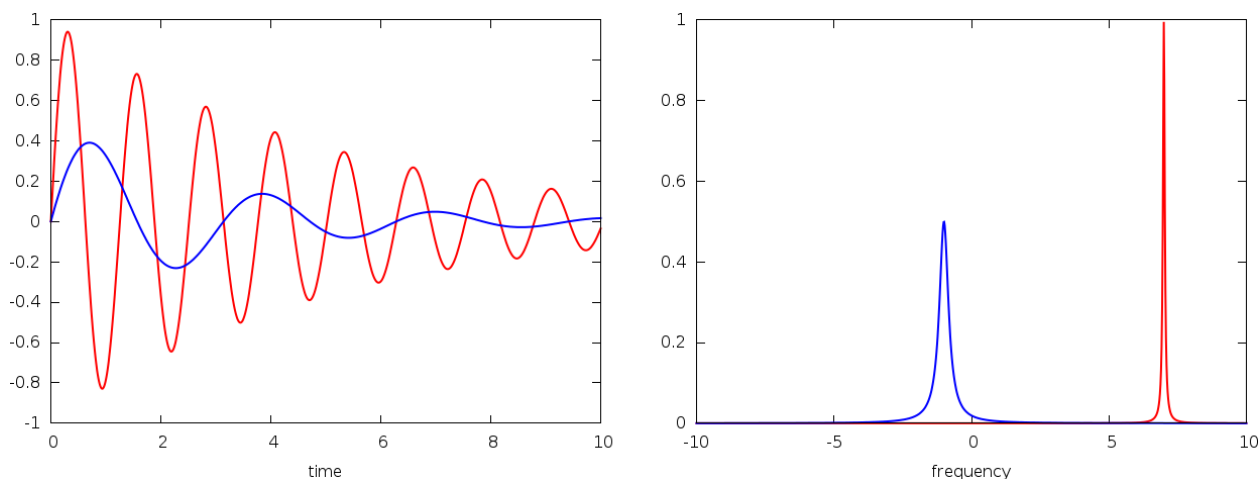


Fig. 1.3. Unde sinusoidale cu amortizarea exponențială, frecvențe și rate de amortizare diferite, reprezentate în timp (partea stângă) și în frecvențe (partea dreaptă) [7]

În partea stângă a Figurii 1.3 sunt arătate două unde sinusoidale cu amortizarea exponențială, cu frecvențe și rate de amortizare diferite. Sinusoida albastră are o frecvență mai mică și o rată de dezintegrare mai rapidă decât cea roșie. După cum se observă în figura de mai sus, frecvența mai mică a semnalului albastru înseamnă că peak-ul lorentzian obținut după transformarea Fourier este mai aproape de poziția de frecvență zero comparativ cu semnalul roșu, care are o frecvență mai mare. Amortizarea semnalelor înseamnă că peak-urile nu mai sunt infinit de subțiri, ci prezintă o lățime. Rata de amortizare mai rapidă a semnalului albastru în comparație cu cea roșie se traduce prin faptul că peak-ul albastru este mai larg decât cel roșu după transformarea Fourier. [7]

Linia Lorentziană este caracterizată de o poziție centrală ω_0 și de lățimea la semiînălțime (FWHM) $\Delta\omega$. Putem folosi relația lui Planck $E = h\nu = \hbar\omega$ pentru a exprima frecvențe în unități de energie. Astfel, semilărgimea benzii plasmonice poate fi exprimată:

$$\Gamma = \hbar\Delta\omega \quad (5) \quad [5]$$

Semilărgimea benzii plasmonice corespunde energiei $E'(\omega)$ din ecuația (4) la care $E'(\omega)$ atinge jumătate din valoarea maximă. Tot din ecuația (4) se observă că energia maximă corespunde frecvenței ω_0 . Pentru această frecvență numitorul ecuației (4) este $1/T$. Analizând ecuația (4), $E'(\omega)$ va atinge jumătatea valorii maxime pentru $(\omega - \omega_0)^2 = \left(\frac{1}{T}\right)^2$.

Semilărgimea $\Delta\omega$ poate fi exprimată $\Delta\omega = 2 \cdot (\omega - \omega_0) = 2 \cdot \frac{1}{T} = \frac{2}{T}$.

Astfel, semilărgimea benzii plasmonice poate fi exprimată:

$$\Gamma = \hbar\Delta\omega = \hbar \cdot \frac{2}{T} \quad (6) \quad [5]$$

De unde, $T = \frac{4.125}{\pi\Gamma} \text{ eV} \cdot \text{fs} = \frac{1314}{\Gamma} \text{ meV} \cdot \text{fs}$

În relația de mai sus am folosit constanta Planck transformată din $J \cdot s$ în $\text{eV} \cdot \text{fs}$:

$$6.6 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} = 6.6 \cdot 10^{-34} \cdot \frac{1}{1.6 \cdot 10^{-19}} \text{ eV} \cdot \frac{1}{10^{-15}} \text{ fs} = 4.125 \text{ eV} \cdot \text{fs}$$

În concluzie, pentru convertirea semilărgimii FWHM în timpul de amortizare T putem folosi relația următoare:

$$T(\text{fs}) = \frac{1316}{\Gamma/\text{meV}} \quad (7) \quad [5]$$

Relația de mai sus, $\Delta\omega = \frac{2}{T}$ poate fi dedusă și din ecuația unui oscilator amortizat de o forță externă. Ecuația ce descrie un oscilator armonic atenuat acționat extern descris de:

$$x'' + (2/T)\dot{x} + \omega_0^2 x = F_{ext} \quad (8) \quad [5]$$

A considerat cazul în care lipsește excitația externă F_{ext} , iar amortizarea este mică ($2/T$), și a ajuns la ecuația care descrie un oscilator cu frecvența ω_0 care descrește în funcție de constanta de timp T:

$$-\omega^2 + (2/T)i\omega + \omega_0^2 = (F_0/x_0) e^{-\alpha} \quad (9) \quad [5]$$

Rezolvând termenul α după o parte imaginară și o parte reală, acesta a descris amplitudinea de oscilație asemănător cu rezonanța x_0 :

$$x_0 = F_0 / \sqrt{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \omega^2 \left(\frac{2}{T}\right)^2} \quad (10) \quad [5]$$

și o schimbare de fază Φ între forța de mișcare și amplitudinea oscilației:

$$\tan\Phi = \frac{\omega \left(\frac{2}{T}\right)}{\omega_0^2 - \omega^2} \quad (11) \quad [5]$$

Astfel rezultă că atunci când avem o atenuare slabă, amplitudinea maximă se află la aproximativ $\omega_{\max}=\omega_0$, iar la $\omega = \omega_0 \pm (1/T)$ amplitudinea scade la jumătate din această valoare. Astfel, lățimea completă la jumătatea maximului $\Delta\omega$ a acestei rezonanțe este dată de aceeași relație ca cea dedusă pentru spectrul Fourier al oscilatorului atenuat:

$$\Delta\omega = 2/T \quad (12)[5]$$

Amplitudinea maximă relativă pentru $\omega=0$ reprezintă factorul de calitate Q , care înseamnă energia de transfer de la forța de mișcare la oscilator.

Concluzia la care a ajuns Sönnichsen a fost aceea că atât lățimea de undă cât și timpul de defazare nu au niciun sens în ceea ce privește proprietățile oscilatorului individual. El a observat că pentru o singură rezonanță a unui oscilator individual măsurat în spectroscopia particulelor individuale, lărgimea de undă măsurată este lărgimea de undă omogenă, adică timpul de defazare a oscilatorului intrinsec T_2 . [5]

Acesta a punctat faptul că nu există o diferență între defazarea colectivă și cea dată de un singur electron în defazarea generală a unei cvasiparticule asociată cu o oscilație colectivă a mai multor electroni. Există două moduri prin care se poate descompune oscilația colectivă. Primul ar fi un proces elastic care duce la apariția unei schimbări în faza oscilației colective, fără a influența energia oscilatorilor. Al doilea proces este inelastic și are drept efect reducerea energiei oscilatorilor. [5]

Se preferă folosirea aproximării electronice independente, în locul acestui model colectiv. În cazul acestei aproximări, interacțiunea unui electron cu ceilalți electroni este descrisă de corecții independente de timp pentru cantități precum rata de relaxare sau masa efectivă. [5]

Această aproximare se folosește frecvent pentru a descrie proprietățile optice, electrice și termodinamice ale unor metale, dar și pentru a descrie amortizarea inelastică, neradiativă a particulelor plasmonice oscilante. [5]

Atenuarea neradiativă (fără emisie de fotoni) a oscilației colective a conducției este mai bine înțeleasă, dacă electronii sunt tratați ca în modelul Drude-Sommerfeld, plasmonul fiind acum o

suprapunere a mai multor oscilații electronice independente. O astfel de abordare neglijează unele efecte, cum ar fi împrăștierea colectivă cu fononi, dar se dovedește a fi mai utilă pe viitor. [5]

În situația dată, atenuarea neradiativă este reprezentată de o defazare a oscilației electronilor individuali. După cum am mai menționat, în cazul modelului Drude-Sommerfeld, această atenuare apare din cauza ciocnirii fononilor, ionilor de rețea sau alte impurități. [5]

Principiul de excluziune a lui Pauli precizează faptul că electronii pot fi excitați doar în stările libere din banda de conducție. În funcție de originea electronului excitat, există excitații interbandă, în cazul în care electronul provine din banda de valență, respectiv excitații intrabandă, dacă electronul se afla în banda de conducție. [5]

Mișcarea electronilor de conducție duce la apariția unui curent în particulă, care simte rezistență din partea metalului. În mod normal, partea imaginară a funcției dielectrice este cea care descrie dependența de frecvență a conductivității. Energia care a fost disipată pe canalele neradiative se va transforma în căldură.

Sönnichsen a pornit de la un model quasistatic simplu, atribuit lui Lord Rayleigh, pentru particulele plasmonice care neglijează efectele datorate autoinducției câmpurilor electromagnetice. [5]

Acest lucru înseamnă că doar o regiune din spațiu este investigată, o regiune mult mai mică decât lungimea de undă a luminii, deci energia electromagnetică este constantă în toată regiunea de interes.

Se consideră a fi o simplificare rezonabilă pentru particulele metalice cu diametrul sub 40 nm.

Pentru o sferă de metal care are constanta dielectrică relativă la mediu $\epsilon_r = \epsilon_r' + i\epsilon_r'' = \epsilon_{metal}/\epsilon_{medium}$ și volumul V , putem scrie polarizabilitatea α ca:

$$\alpha = \epsilon_0 3V \frac{\epsilon_r - 1}{\epsilon_r + 2} \quad (\text{relația Clausius - Mossotti}) \quad (13) [5]$$

Absorbția și împrăștierea secțiunii transversale sunt, conform lui Bohren și Huffman:

$$C_{sca} = \frac{k^4}{6\pi} |(\alpha/\epsilon_0)|^2 = \frac{k^4}{6\pi} (3V)^2 \frac{(\epsilon_r' - 1)^2 + \epsilon_r''^2}{(2 + \epsilon_r')^2 + \epsilon_r''^2} \quad (14) [5]$$

$$C_{abs} = k\Im(\alpha/\epsilon_0) = k3V \frac{3\epsilon_r''}{(2 + \epsilon_r')^2 + \epsilon_r''^2} \quad (15) [5]$$

$$k = \frac{2\pi}{\lambda}$$

Din aceste ecuații este evident faptul că împrăștierea și absorbția prezintă rezonanța plasmonică în apropierea frecvenței E_{res}/\hbar , unde $\Re(\epsilon_r) = \epsilon'_r = -2$. Au fost calculate în vid energiile rezonante pentru particulele libere, iar particulele de argint au energia de 3.48 eV, iar energia pentru cele de aur este de 2.6 eV. [5]

Pentru secțiunea transversală de extincție se aplică o integrală:

$$\int_0^{\infty} C_{ext}(\lambda) d\lambda = V \cdot C \quad (16) [5]$$

unde C depinde doar de proprietățile DC ale materialului.

Acest lucru înseamnă că energia totală scoasă dintr-un fascicul de lumină de către o particulă este proporțională doar cu volumul V. În cazul sferelor de aur cu diametrul de 100 nm, 90% din extincția integrată este reprezentată de rezonanța plasmonică. Prin urmare, doar 10% sunt împrăștiate sau absorbite de alte procese. [5]

Rezolvând ecuațiile lui Maxwell se poate afla răspunsul unei sfere metalice la aplicarea unui câmp electromagnetic extern. În cazul particulelor neîncărcate într-un mediu omogen există o soluție analitică. Această soluție analitică din electrodinamică este atribuită lui Mie [8]. El a fost primul care a folosit această soluție în problema împrăștierii luminii în cazul sferelor metalice.

Utilizând simetria sferică, putem considera o extensie multipolară a câmpurilor, pe care o notăm cu n. Rezonanța plasmonică de tip Rayleigh corespunde modelului dipol n=1. În cadrul teoriei Mie, împrăștierea și eficacitatea extincției sunt calculate cu:

$$Q_{sca}^{(n)} = \frac{2}{x^2} (2n + 1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \quad (17) [5]$$

$$Q_{ext}^{(n)} = \frac{2}{x^2} (2n + 1) \text{Re}(a_n + b_n) \quad (18) [5]$$

Unde $x = kr = \hbar\omega r N_{medium}/(\hbar c)$, k este vectorul undă, r este raza particulei, N este indicele de refracție, iar a_n și b_n sunt coeficienții Mie, care au următoarele formule:

$$a_n = \frac{m\psi_n(mx)\psi'_n(x) - \psi_n(x)\psi'_n(mx)}{m\psi_n(mx)\xi'_n(x) - \xi_n(x)\psi'_n(mx)} \quad (19) [5]$$

$$b_n = \frac{\psi_n(mx)\psi'_n(x) - m\psi_n(x)\psi'_n(mx)}{\psi_n(mx)\xi'_n(x) - m\xi_n(x)\psi'_n(mx)} \quad (20) [5]$$

Unde $m = \sqrt{\epsilon_r} = N_{\text{particle}}/N_{\text{medium}}$ iar ψ_n și ξ_n sunt funcțiile Riccati-Bessel.

Folosirea acestor ecuații ne permite să calculăm împrăștierea secțiunii transversale într-o direcție relativ dreaptă. [5]

1.3. Microscopia Hiperspectrală CytoViva

Aparatul pe care l-am folosit în analiza nanoparticulelor a fost microscopul hiperspectral CytoViva. Acesta se bazează pe microscopia în câmp întunecat, iar tehnologia pe care o folosește a fost dezvoltată pentru a face o caracterizare și o cartografiere spectrală a probelor la scară nano. [9]

La o primă vedere am putea spune că imaginile pe care le obținem folosind microscopul hiperspectral sunt extrem de asemănătoare cu cele pe care le obținem folosind microscopul optic tradițional. Dar, există o diferență majoră între acestea, și anume, pentru fiecare pixel al imaginii hiperspectrale obținem un spectru care reprezintă răspunsul reflectanței complete a zonei spațiale a pixelului respectiv, în intervalul spectral Vis-NIR (visible near-infrared 400 nm-1000 nm) sau SWIR (short wave infrared 900 nm-1700 nm). Ceea ce înseamnă că putem realiza măsurători spectrale nedistructive ale elementelor la scară nanometrică pe toată aria câmpului focal. [9]

Folosind microscopia în câmp întunecat și tehnologia de imagistică hiperspectrală, se pot analiza materiale plasmonice sau nanomateriale care au capacitatea de a împrăști lumina. Un alt avantaj pe care sistemul hiperspectral îl are, este că spre deosebire de alte tehnici de imagistică, nu este necesară o pregătire specială a probei. [10]

Folosind imagistica spectrală, se pot obține informații legate de coerența nanoparticulelor din punct de vedere al dimensiunii sau a chimiei suprafeței. Putem vedea modificările în timp real pe care le suferă nanomaterialele atunci când apar schimbări în mediul acestora. [10]

Acest lucru este foarte important în analiza pe care am încercat să o facem deoarece, unul dintre scopuri a fost să vedem cum este influențat spectrul rezonanței plasmonice atunci când nanoparticulele interacționează cu diferite substanțe chimice, de exemplu proteine.

Componentele care alcătuiesc microscopul hiperspectral CytoViva sunt reprezentate în Figura 1.4, iar acestea sunt: o sursă de lumină cu halogen de mare putere (1), un ghid de lumină lichidă (2), optică de iluminare la scară nanometrică brevetată de CytoViva (3), o masă motorizată (4), un

suport pentru accesoriile microscopului (5), camera optică (6), un monocromator (7) care este cuplat la o cameră digitală sensibilă (8). [11]

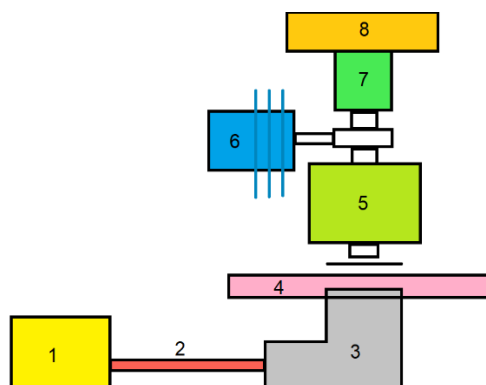


Fig. 1. 4. Componentele microscopului hiperspectral CytoViva, folosit pentru a vizualiza nanoparticulele metalice în această lucrare [11]

Se utilizează o sursă de lumină cu halogen, pentru a evita apariția unor benzi distincte care sunt prezente în lumina altor surse, ca de exemplu surse de iluminare cu xenon sau halogenuri metalice.

În Figura 1.5 este ilustrat aparatul CytoViva pe care l-am folosit pentru analiza nanoparticulelor.



Fig. 1. 5. Aparatul CytoViva pe care l-am folosit pentru a vizualiza nanoparticulele metalice.

După cum am spus, aparatul CytoViva are la bază principiul microscopiei în câmp întunecat. Microscopul cu reflexie în câmp întunecat folosește lumina care se propagă pe o direcție oblică pentru a crește contrastul pentru probele care nu se observă bine în condiții normale de iluminare.

Acest microscop se folosește de obicei pentru a observa probele netransparente. Fundalul negru pe care îl obținem se datorează faptului că lumina cu care iluminăm proba, nu va fi colectată de lentilele obiectivului. [12]

Între condensor și lentilă se introduce un inel perforat care nu permite trecerea în totalitate a luminii, iar aceasta va trece doar la periferie, însă nu va trece direct prin obiectiv, ci doar printr-o zonă circulară a acestuia. Lumina care trece este focalizată de către condensor spre probă, iar aici rămâne cea mai mare parte din lumină. Partea care nu rămâne la nivelul probei, este împrăștiată către lentila obiectivului. Doar lumina împrăștiată este capturată de ocular, iar lumina directă este blocată. Deci, doar anumite zone de pe probă vor da semnal și se vor observa detalii fine dar cu o iluminare scăzută. Astfel, microscopia în câmp întunecat ne oferă un contrast mai mare, potrivit pentru probele care au un contrast scăzut, și un indice de refracție similar cu cel al fundalului. [12]

Mersul luminii în microscopul cu câmp întunecat este ilustrat în Figura 1.6.

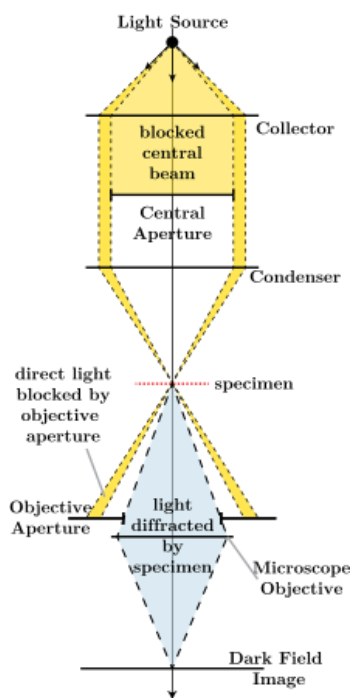


Fig. 1. 6. Diagrama mersului luminii în microscopul cu câmp întunecat [12]

1.4. Spectroscopia amplificată de suprafață Raman (SERS)

Ca urmare a împrăștierii inelastice a luminii pe probă, spectroscopia Raman oferă informații calitative și cantitative despre probă. Pentru ca împrăștierea Raman să apară, variația polarizabilității moleculei trebuie să fie nenulă în timpul vibrației legăturilor moleculare. Polarizabilitatea reprezintă o măsură a ușurinței cu care norul electronic este deformat de către un câmp electric, creând un moment de dipol indus μ :

$$\mu = \alpha \cdot E \quad (21)$$

unde α este polarizabilitatea moleculei. [13]

Polarizabilitatea moleculei sub un câmp electric cu frecvența ν_0 de forma

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (22)$$

Poate fi dezvoltată în serie Taylor:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)_0 q + \dots \quad (23)$$

unde α_0 este polarizabilitatea moleculei în starea de echilibru la poziția de echilibru, R_e și q este deplasarea față de poziția de echilibru $q = R - R_e = A \cos(2\pi\nu_i t)$, unde ν_i este frecvența vibrației moleculei ca urmare a iradierii acesteia cu radiație laser. [13]

Prin urmare, putem spune că momentul de dipol indus este format din 3 termeni (radiație Rayleigh, împrăștiere Stokes și împrăștiere anti-Stokes):

$$\mu = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_i t) + \frac{1}{2} E_0 A \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)_0 [\cos 2\pi(\nu_i - \nu_0)t + \cos 2\pi(\nu_i + \nu_0)t] \quad (24)$$

Fotonii radiației monocromatice ajunși pe probă, se pot comporta în două moduri: fie pot pierde energie, pe care o cedează moleculei care este excitată din nivelul de bază pe primul nivel vibrațional excitat (împrăștiere Stokes), fie pot primi energie de la moleculele care sunt implicate în procesul invers (împrăștiere anti-Stokes). Cu toate acestea, cei mai mulți fotoni sunt împrăștiați elastic pe probă (radiație Rayleigh) și nu oferă informație structurală despre moleculele din probă. [14]

În Figura 1.7 este reprezentarea grafică a celor trei fenomene.

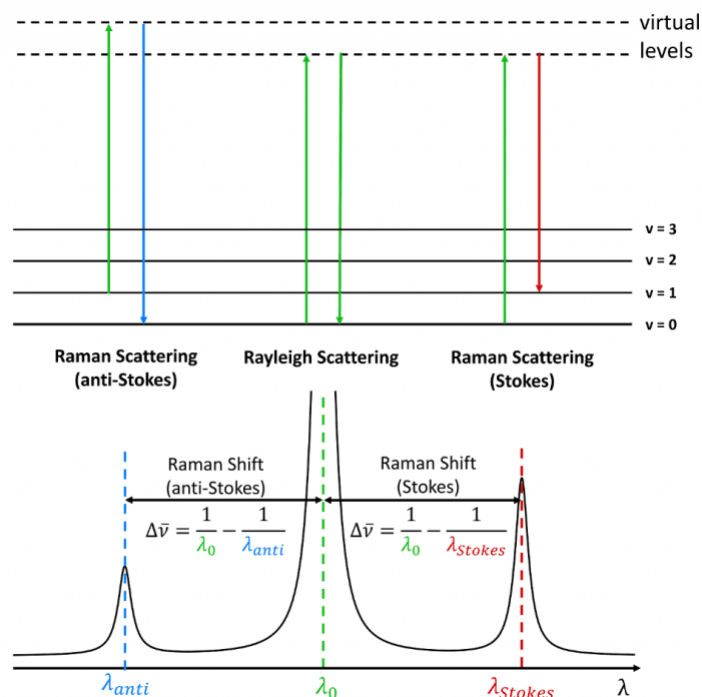


Fig. 1.7. Tranzițiile electronice posibile în spectroscopia Raman.

Senzitivitatea tehnicii Raman este scăzută deoarece doar 1 din 10^6 fotoni sunt împrăștiți inelastic pe probă. Prin urmare, pentru a detecta concentrații mici de molecule, este nevoie de o metodă de amplificare a semnalului Raman, precum: SERS, tip-enhanced Raman scattering (TERS), Raman resonant, Surface plasmon polariton enhanced Raman scattering, Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy (SERRS).

Există două teorii ale efectului de amplificare Raman, prima fiind teoria electromagnetică, iar cea de-a doua fiind teoria chimică. Ambele teorii susțin necesitatea unor structuri metalice cu mărimi nanometrice în apropierea moleculei, sau chiar ca, aceste structuri să fie adsorbite de molecule. [15] [16]

Relația dintre puterea de împrăștiere Raman și SERS este dată de următoarea ecuație:

$$P_{SERS} = G_{SERS} P_{Raman} = G_{SERS}^{EM} G_{SERS}^{Chem} P_{Raman} \quad (25)$$

Unde P_{SERS} este puterea Raman, P_{Raman} este puterea SERS, G_{SERS} este numit factorul de amplificare SERS, fiind un rezultat a două mecanisme: amplificarea electromagnetică, care oferă un factor de amplificare electromagnetică G_{SERS}^{EM} și amplificare chimică, cu factorul de amplificare chimică G_{SERS}^{Chem} . [17]

a) Teoria electromagnetică

- Este o caracteristică a substratului și nu ține cont de molecula țintă;

- G_{SERS}^{EM} poate atinge valori de 10^{10} ;
- Apare ca urmare a localizării luminii la suprafața substratului, mai exact a cuplării fotonilor cu electronii de suprafață;
- Molecula trebuie să se afle în apropierea nanostructurii, mai precis, în zona de acțiune a câmpului electromagnetic generat de vibrația plasmonică (1-10 nm). La scală nanometrică, acest efect este considerat unul cu acțiune la distanță lungă (comparat cu o legătură chimică). [15]

Sumarizat, câmpul electromagnetic generat în jurul nanostructurii ca urmare a exercitării plasmonilor de suprafață cu radiație laser va modifica eficiența împrăștierii Raman, deoarece puterea radiației împrăștiate de un dipol este dependentă de mediul în care aceasta se află.

b) Efectul chimic

- Necesită o interacțiune fizico-chimică între moleculă și substrat metalic;
- Este dependent de tipul moleculei și de nivelele ei energetice;
- G_{SERS}^{Chem} este considerat a fi de ordinul 10^3 - 10^4 ;
- Distanța dintre moleculă și substrat este de ordinul a câțiva Angstromi.

Mecanismul chimic cuprinde la rândul său două tipuri de interacțiuni între moleculă și substrat: fizisorpția și chemisorpția.

Fizisorpția presupune o interacțiune slabă van der Waals între moleculă și substrat metalic, fără schimbarea nivelelor energetice ale moleculei.

Mecanismul chimic din SERS presupune transferul unei sarcini electrice între metal și moleculă adsorbită la suprafața metalică, efect denumit **charge transfer**. Efectul clasic constă în transferul electronic rezonant între nivelele highest occupied molecular orbitals (HOMO) și lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) al complexului metal-adsorbat. [18]

Otto [19] a pornit de la ideea că efectul SERS al primului strat este de obicei atribuit transferului dinamic de sarcină (DCT) între metal și adsorbat, potrivit modelului lui Persson. Cu toate acestea, experimentele demonstrează că nu există un efect SERS de prim strat la suprafețele netede ale metalelor nobile, în ciuda rezistenței suprafeței cauzate de adsorbați, care este cauzată și de DCT conform Persson. Cu toate acestea, atât SERS cât și SEIRA (adsorbție în infraroșu amplificată pe suprafață) pentru etilena pe Cu depozitat la rece, afișează la acoperiri scăzute aceleași moduri Raman active, care pot fi asociate doar DCT. Diferențele care apar sunt atribuite evenimentelor

speciale de dublă împrăștiere prin DCT și rugozității suprafeței la scară atomică, care împiedică defazarea curenților optici din rezonanța electromagnetică.

Schimbarea de fază a curenților optici prin DCT către moleculă, care este și baza rezistenței electrice a suprafeței, exclude împrăștierea Raman (valabil doar pentru suprafețe netede). În cazul suprafețelor rugoase, din punct de vedere atomic există procese de împrăștiere dublă prin DCT și rugozitatea suprafeței, care nu defazează rezonanța electromagnetică și explică efectul de prim strat al SERS.

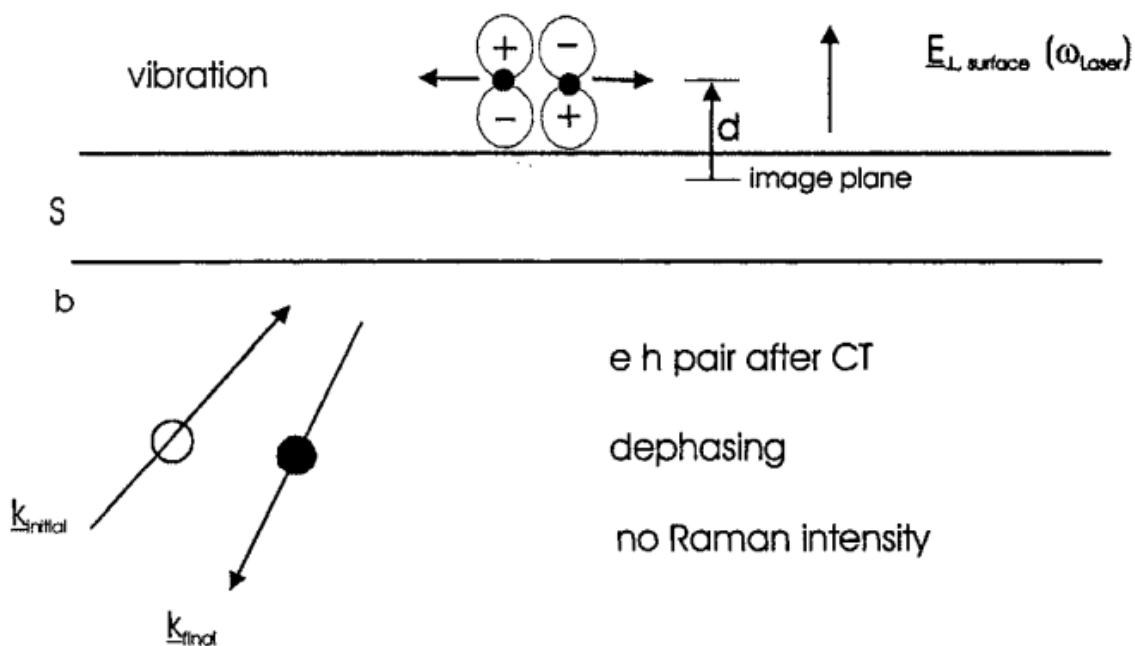


Fig. 1.8. Reprezentarea schematică a transferului electronic de la metal la moleculă adsorbită, indicând lipsa efectului SERS ca urmare a defazajului electronului în timpul transferului de sarcină, conform lui Persson [19]

Figura 1.8, rezumă faptul că dacă există un defazaj al electronului în urma transferului de sarcină în moleculă adsorbită, atunci electronul și golul nu se rearanjează și astfel nu vom avea semnal SERS.

2. Literatura actuală

Studiile care se axează pe monitorizarea efectului de chemical interface damping au început să ia amploare începând cu anul 2017, și prin urmare putem spune că este un domeniu relativ la început. Cu toate acestea am ales câteva studii care pun în evidență efectul pe care îl are gruparea tiol asupra nanoparticulelor metalice.

Un prim studiu despre care voi vorbi este al lui Seong Woo Moon și Ji Won Ha [3] care au urmărit efectul pe care îl are biotina, albumina serică bovină (BSA), respectiv combinația dintre cele două biotină-BSA, asupra nanorodurilor de Au.

Aceștia au folosit microscopul în câmp întunecat împreună cu microscopia electrică de scanare (SEM), pentru a face măsurătorile.

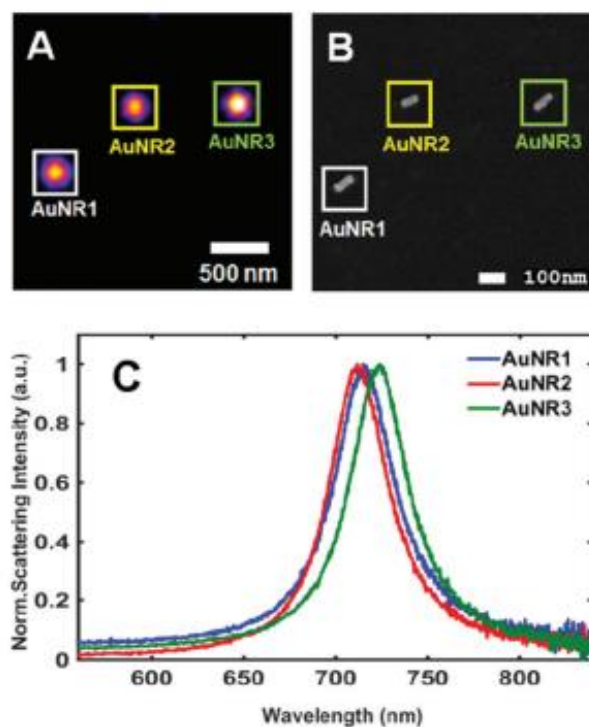


Fig. 2.1. (A) Imagini în câmp întunecat ale nanorodurilor de Au (AuNRs). (B) Imagini SEM corelate pentru aceleași AuNRs ca cele din (A). (C) Spectrele celor trei AuNRs. [3]

În Figura 2.1 sunt prezentate imaginile în câmp întunecat a trei AuNRs, imaginile SEM corelate ale acestora, împreună cu spectrele lor de extincție. Și se poate observa că maximul intensității se află în regiunea 700-750 nm.

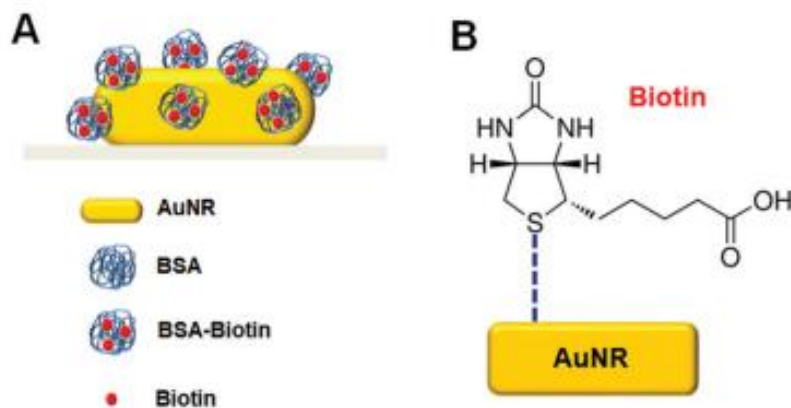


Fig. 2.2. (A) Schema interacțiunii AuNR cu BSA-biotin. (B) Legătura chimică dintre S din biotină și AuNR [3]

Figura 2.2 ne prezintă modul în care biotin-BSA a adsorbit la suprafața AuNRs datorită grupării tiol (SH), care prezintă o afinitate crescută pentru suprafețe metalice.

Pentru a vedea dacă a avut sau nu loc CID, aceștia au luat în considerare modificările în poziția benzii SPR și în lărgimea acesteia, deoarece sunt principalii semnalizatori ai apariției CID.

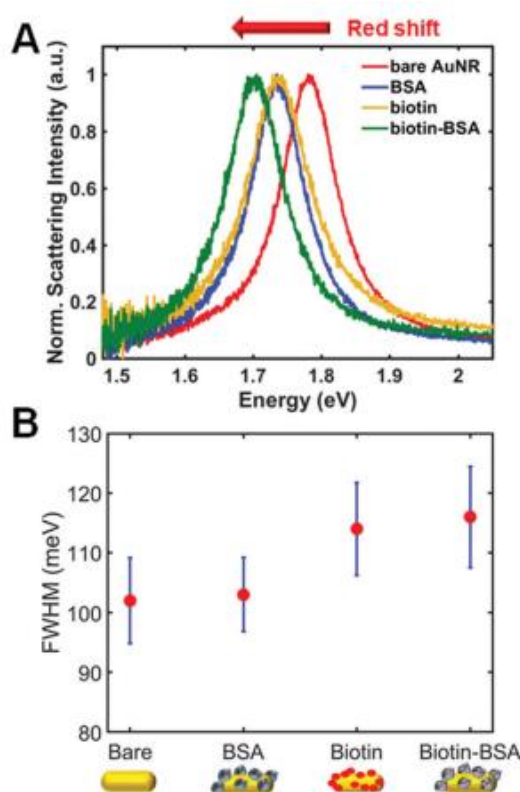


Fig. 2.3. (A) Spectrul de extincție al nanobastonașelor de aur în prezența diferiților adsorbați (BSA, biotin și BSA-biotin). (B) Variația fwhm a benzii SPR a nanobastonașelor de aur datorită interacțiunii cu BSA, biotin și BSA-biotin [3]

Și cum putem vedea din Figura 2.3, în acest caz atât BSA cât și biotina au produs o deplasare către lungimi de undă mai mari, respectiv energii mai mici a benzii SPR a AuNRs, dar și o lărgire a acesteia, ceea ce înseamnă că a apărut un efect CID, datorită grupării tiol în ambele cazuri, deoarece și BSA este o proteină biotinilată. Combinația celor două a adus însă cele mai mari modificări în banda SPR a AuNRs.

În urma acestui studiu, s-a demonstrat că moleculele tiolate au efect asupra benzii SPR a nanorodurilor de Au, în acest caz, adică are loc o adsorbție spontană la suprafața nanorodurilor.

Un alt studiu pe care îl voi menționa este cel al lui Benjamin Foerster et. al [1], în care au măsurat influența pe care o are dodecanethiol (DDT) asupra benzii SPR a nanorodurilor de aur.

Măsurătorile au fost efectuate folosind un microscop în câmp întunecat, iar sursa a fost lumina albă. Iar cu ajutorul unui spectrometru au înregistrat lumina împrăștiată de către nanoroduri, spectru pe care ulterior l-au aproximat cu o linie Lorentziană (Figura 2.4).

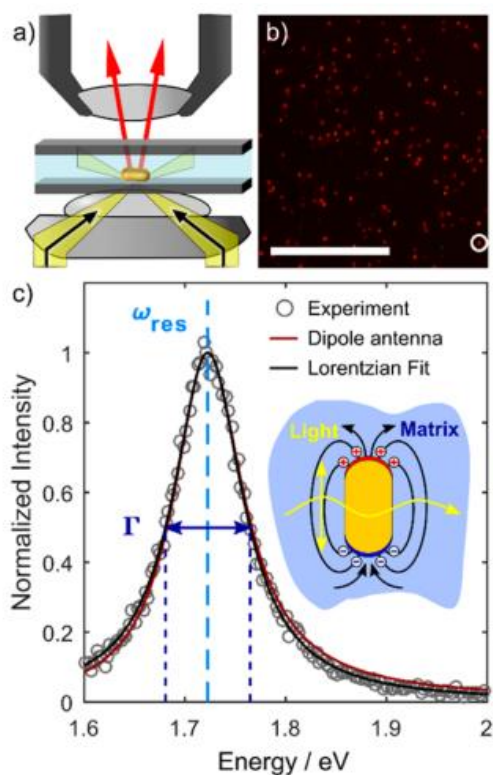


Fig. 2.4. (a) Schema microscopiei în câmp întunecat, (b) Imaginea luminii împrăștiată de nanorodurile de aur, (c) Spectrul rezultat (cercuri), cu roșu este un spectru aproximat folosind modelul antenei dipolare, iar cu albastru este reprezentată aproximarea cu o Lorentziană

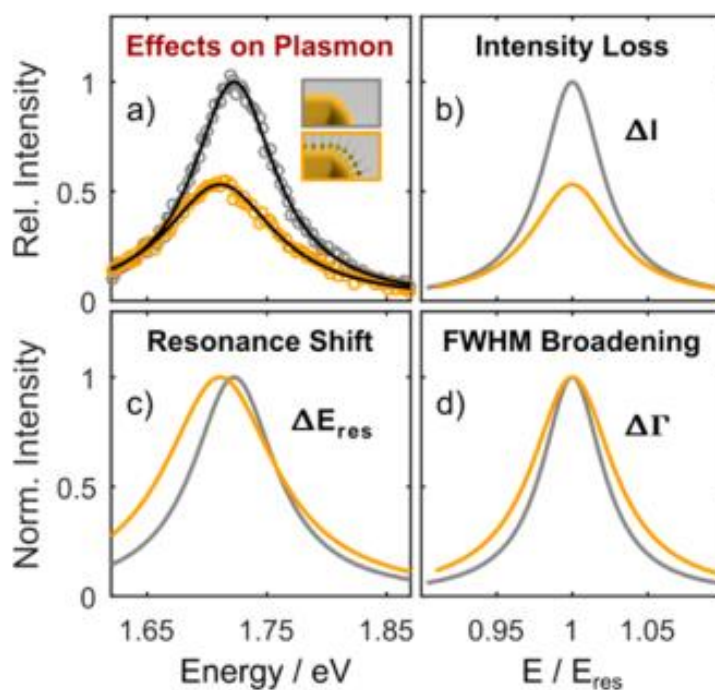


Fig. 2.5. Schimbările produse de adsorbția DDT-ului asupra benzii SPR a AuNR, scăderea în intensitate, deplasarea spre energii mai mici și lărgirea acesteia

După cum se poate vedea în Figura 2.5, DDT-ul a produs o scădere în intensitatea benzii SPR a nanorodurilor de aur, respectiv o deplasare spre energii mai mici (lungimi de undă mai mari), și o lărgire semnificativă a acesteia.

Prin urmare, s-a putut spune că a avut loc un efect de chemical interface damping, adică a avut loc un schimb electronic între nanorodurile de aur și DDT, care a dus la o decoerență a plasmonilor.

3. Metode și materiale utilizate

3.1. Sinteza nanoparticulelor de argint

Nanoparticulele de argint (AgNPs) au fost sintetizate astfel: în 98 ml de apă ultrapură s-au adăugat 17mg de AgNO_3 sub amestecare continuă. Soluția a fost încălzită la $100\text{ }^\circ\text{C}$, după care s-au adăugat 2 ml de citrat de sodiu 1%. Sinteza a fost continuată pentru 30 de minute. [20]

3.2. Imagistică hiperspectrală


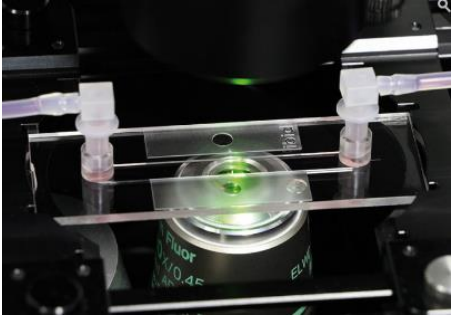
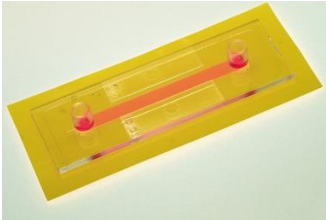
Datele hiperspectrale au fost achiziționate folosind sistemul CytoViva de imagistică hiperspectrală ce constă într-o cameră hiperspectrală ce achiziționează spectre de reflectanță în domeniul spectral 400-1000 nm (domeniul vizibil și infraroșu apropiat) cuplată la un microscop Olympus BX43 echipat cu un condensor CytoVita cu tehnică patentată de enhanced dark field. Proba a fost focalizată folosind o cameră optică și un obiectiv Plan FLUO 40x/0.60. După alegerea zonei de interes și focalizarea atât a camerei optice cât și a condensorului, au fost achiziționate imaginile hiperspectrale folosind o rețea de difracție și o cameră CCD cu o rezoluție spectrală de 2 nm. Datele sunt stocate sub forma unui cub de date ce conține câte un spectru de reflectanță pentru fiecare pixel al imaginii. Ca sursă de lumină s-a folosit o lampă cu halogen cu putere de 150 W. Datele au fost vizualizate folosind soft-ul Envi 4.8 cu ajutorul căruia s-au selectat AgNPs de interes, al cărui spectru de împrăștiere a fost salvat.

Având în vedere că această tehnică folosește un microscop optic, imaginea optică și hiperspectrală rezultată nu detectează în mod direct fiecare AgNP, ci vedem de fapt interacțiunea fiecărei AgNP cu radiația incidentă. Mai exact, detectăm frecvența de rezonanță plasmonică a fiecărei AgNP.

Pentru a putea analiza independent fiecare AgNP, proba a fost diluată de 1000x înaintea achiziționării datelor. Din această soluție 1 μl a fost uscat la temperatura camerei pe o lamelă de microscop.

În continuare, a fost testată influența moleculelor (acid tiobenzoic, acid 4-mercaptobenzoic, cisteină, acid salicilic și citrat) asupra benzii SPR. În acest sens au fost testate mai multe metodologii de preparare a probelor, după cum este descris în Tabelul 1.

Tabel 1. Metodologiile de preparare a probelor pentru achizițiile hiperspectrale, împreună cu observațiile adiacente.

	Metodologiile de preparare a probelor	Observații
	Uscare soluției pentru AgNPs	-prin uscarea mai multor straturi apar pelicule ce interferează cu lumina împrăștiată de AgNP -se pot forma cristale
	imersarea AgNP depuse pe lamelă 30 de minute în soluția de interes	formarea bulelor de apă aflate pe lamelă când aplicăm uleiul de imersie
Interacțiuni moleculă-AgNP în timp real	construirea unei incinte ce permite urmărirea în timp real a interacțiunii moleculă-AgNP 	schimbarea lichidului din incintă aplică presiune asupra pereților incintei (figura 3.1) ce duc la dezlipirea acestora
Fig. 3.1. Imaginea incintei pe care am confecționat-o		
	utilizarea canalelor microfluidice închise 	-necesită cantitate crescută de AgNPs - timp lung de uscare a AgNPs, din cauza incintei închise (figura 3.2) - depunerea AgNPs pe toți pereții incintei ce conduce la îngreunarea focalizării unui singur plan de AgNPs
Fig.3.2. Imaginea canalului microfluidic[21]		
	canale microfluidice de tip 'sticky slides' ce se lipsesc pe lamele de microscop.	metoda optimă
	Fig. 3.3. Sticky slide[22]	

Metoda optimă găsită pentru preparare, așa cum se vede și în Tabelul 1, a fost următoarea: nanoparticulele de argint sintetizate cu citrat (CitAgNPs) au fost centrifugate la 7300-xg timp de 15 minute, după care s-a îndepărtat supernatantul și au fost redispersate în apă. După aceea, 1 μ l de CitAgNPs a fost diluat într-un ml de apă ultrapură, iar pe o lamelă curățată în prealabil cu ultrasunete, s-au uscat nanoparticulele. După uscare, lamela a fost spălată cu apă ultrapură pentru a îndepărta eventualele nanoparticule care nu au aderat de suprafața acesteia. După care, de lamelă se lipește un sticky slide (figura 3.3) care conține un canal microfluidic. Cu ajutorul unor tuburi se introduce prima dată apă ultrapură ca și control, ansamblul astfel format se plasează sub microscopul hiperspectral CytoViva, și se efectuează o achiziție hiperspectrală a regiunii selectate (figura 3.4).



Fig. 3.4. Vederea de ansamblu a set-up-ului experimental.

Pasul următor constă în eliminarea apei din canalul microfluidic și înlocuirea acesteia cu soluții ale moleculelor de interes, urmând ca timp de aproximativ 40 de minute, să se repete achizițiile hiperspectrale pentru aceeași regiune din 5 în 5 minute.

Setul de imagini hiperspectrale astfel formate se va analiza, și se vor alege nanoparticule care au maximul intensității benzii SPR în regiunea 520-550 nm. Pentru aceste nanoparticule, se va salva în format ASCII spectrul de împrăștiere, și folosind un script scris în Python se vor tabula intensitatea maximă a benzii SPR și lățimea acesteia la semiînălțimea benzii (FWHM), iar aceste valori se vor compara cu cele inițiale, pentru a cuantifica modificările apărute. Se va urmări astfel evoluția în timp a benzii SPR a respectivelor nanoparticule (Figura 3.5).

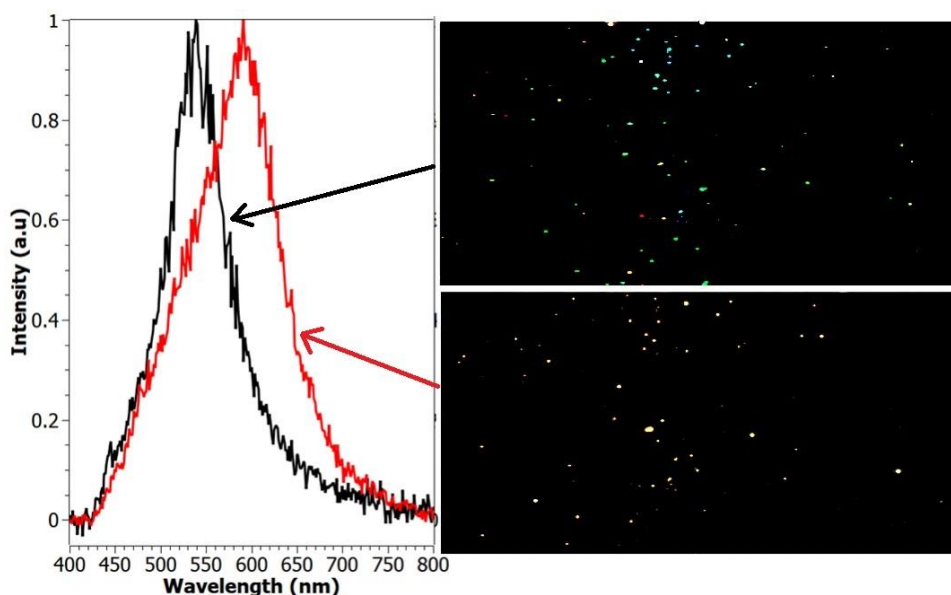


Fig. 3.5. Spectrul de extincție al CitAgNPs în apă (negru), respectiv după adsorbția acidului tiobenzoic (roșu) după 40 de minute

Folosind programul GraphPad (Prism 6), am reprezentat diferențele în lărgimea spectrelor și în poziția maximului în funcție de lungimea de undă, atât în nm cât și în eV, respectiv meV, pentru a le putea compara cu literatura.

3.3. Spectroscopia amplificată de suprafață Raman (SERS)

Spectrele SERS au fost achiziționate folosind un spectrometru Raman portabil BWTEk, cuplat la un laser cu emisie la 532 nm (180 mW). Linia laser a fost focalizată pe probă printr-un microscop optic cu un obiectiv de 20X (N.A. 0.4). Fiecare spectru SERS reprezintă o medie a 3 achiziții, cu timp de integrare de 5 secunde fiecare.

Au fost achiziționate spectre SERS ale citratului, acidului salicilic, acidului tiobenzoic, acidului 4-mercaptobenzoic și cisteinei. Coloidul cit-AgNPs a fost folosit ca substrat de amplificare a semnalului SERS. Măsurătorile au fost achiziționate în stare lichidă. În acest sens, 900 μ l cit-AgNPs au fost amestecați cu 100 μ l moleculă de interes. După care, 10 μ l din acest amestec au fost puși pe o lamelă de microscop acoperită cu folie de aluminiu pentru achiziția spectrelor SERS. Spectrele SERS în soluție coloidală au fost achiziționate pentru trei concentrații diferite în cazul tuturor moleculelor, 10^{-5} M, 10^{-4} M, respectiv 10^{-3} M.

De asemenea, au fost achiziționate spectre SERS ale citratului, acidului salicilic, acidului tiobenzoic, acidului 4-mercaptobenzoic și cisteinei, la concentrația de 10^{-3} M, folosind un substrat solid de nanolinii de argint (AgNWs) pe post de substrat metalic. Pentru aceste achiziții, substratul solid a fost imersat timp de 30 de minute în 2 ml de soluție ce conținea molecula de interes. După 30 de minute, substratul a fost scos din soluția de imersie și spălat cu apă. După spălarea cu apă, au fost achiziționate spectre SERS de pe substratul solid.

3.4. Spectroscopia de absorbție UV-Vis

Spectrele de absorbție UV-Vis au fost achiziționate folosind un spectrometru Jasco, ce achiziționează lumina transmisă prin probă în domeniul spectral 190-900 nm. Au fost achiziționate spectre de absorbție UV-Vis pentru toate soluțiile analizate prin spectroscopia SERS în soluție coloidală, în vederea determinării apariției agregatelor. Pentru măsurătorile UV-Vis toate probele au fost diluate de 10x în apă ultrapură.

4. Rezultate și Discuții

Obiectivul lucrării a fost analizarea unei căi de dezexcitare neradiativă a plasmonilor de suprafață, respectiv efectul chemical interface damping (CID) și influența acestui efect asupra amplificării SERS a moleculelor adsorbite pe suprafața nanoparticulelor de argint (AgNPs). În acest sens, am analizat cele două efecte, CID și SERS pentru două grupe de molecule ce sunt cunoscute să interacționeze diferit cu suprafața de argint: molecule tiolate, respectiv molecule netiolate. Moleculele tiolate pe care le-am analizat au fost: acidul tiobenzoic (TBA), acid 4-mercaptobenzoic (MBA) și cisteina, care chemisorb spontan pe suprafața AgNPs. Moleculele netiolate analizate sunt: acidul salicilic și citratul de sodiu, pentru care literatura arată că efectul SERS este obținut doar după adsorbția indusă la suprafața de argint.[23]

Transferul de sarcină dintre AgNPs și moleculele analizate reprezintă efectul chimic de amplificare SERS. În cazul schimbării impulsului electronului în timpul transferului de sarcină, efectul SERS este inhibat. Mai mult, electronul nu se poate recombina cu golul lăsat în metal, ceea ce conduce la decoerența plasmonilor de suprafață (efect CID), efect observat prin analiza lărgimii benzii plasmonice a AgNPs.

Pentru a determina care sunt moleculele pentru care apare efectul CID ce conduce la lipsa efectului SERS, am analizat variația lărgimii și poziției benzii SPR a AgNPs izolate în timpul interacțiunii cu moleculele tiolate și netiolate. Pentru a vedea dacă relația teoretică dintre CID și SERS se confirmă experimental, am achiziționat spectre SERS ale moleculelor de interes atât în soluție coloidală, cât și pe substrat solid sub formă de linii de argint (AgNWs), unde banda plasmonică este modificată datorită aglomerării AgNPs.

Figura 4.1 indică măsurătorile benzii de rezonanță plasmonică a AgNPs (SPR) în timp, în prezența apei, reprezentând controlul negativ pentru apariția efectului CID. Se observă deplasarea benzii SPR a AgNPs între -12 nm–9 nm, respectiv -0.04 eV–0.08 eV, și lărgirea acesteia cu maxime de -13 nm–12 nm, respectiv -14 meV–24 meV. Aceste valori au fost considerate ca fiind erori de măsurătoare, în continuare considerându-se ca efect CID orice valoare mai mare decât cele obținute în cazul controlului negativ.

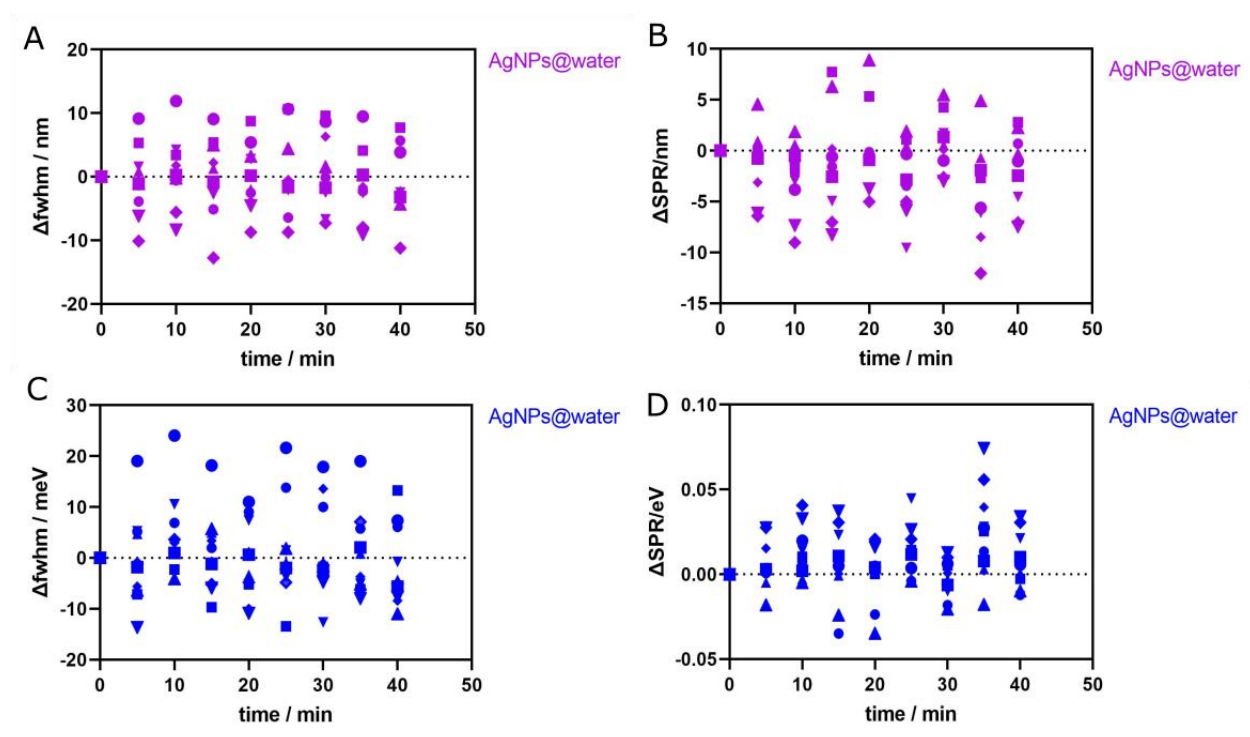


Fig. 4.1. Variația lățimii benzii de rezonanță plasmonică a nanoparticulelor de argint la jumătate din maximul înălțimii (fwhm) față de măsurătoarea inițială în prezența apei reprezentată în nm (A) și meV (C). Deplasarea maximului benzii de rezonanță plasmonică a nanoparticulelor de argint (SPR) în prezența apei față de măsurătoarea inițială reprezentată în nm (B) și eV (D)

4.1. Molecule tiolate

Moleculele tiolate analizate au fost TBA, MBA și cisteina (Figura 4.2).

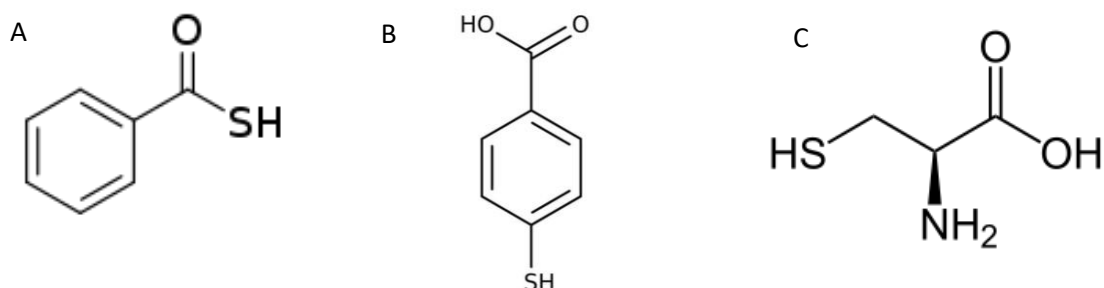


Fig. 4.2. Structura moleculară a (A) acidului tiobenzoic, (B) acidului 4-mercaptobenzoic, (C) cisteinei

Chemisorbția moleculelor tiolate conduce la efect CID doar în cazul TBA. În schimb, MBA și cisteina, deși se află la suprafața AgNPs, după cum se observă din modificarea poziției maximului mișcării rezonante a plasmonilor, nu produc decoerența acestora.

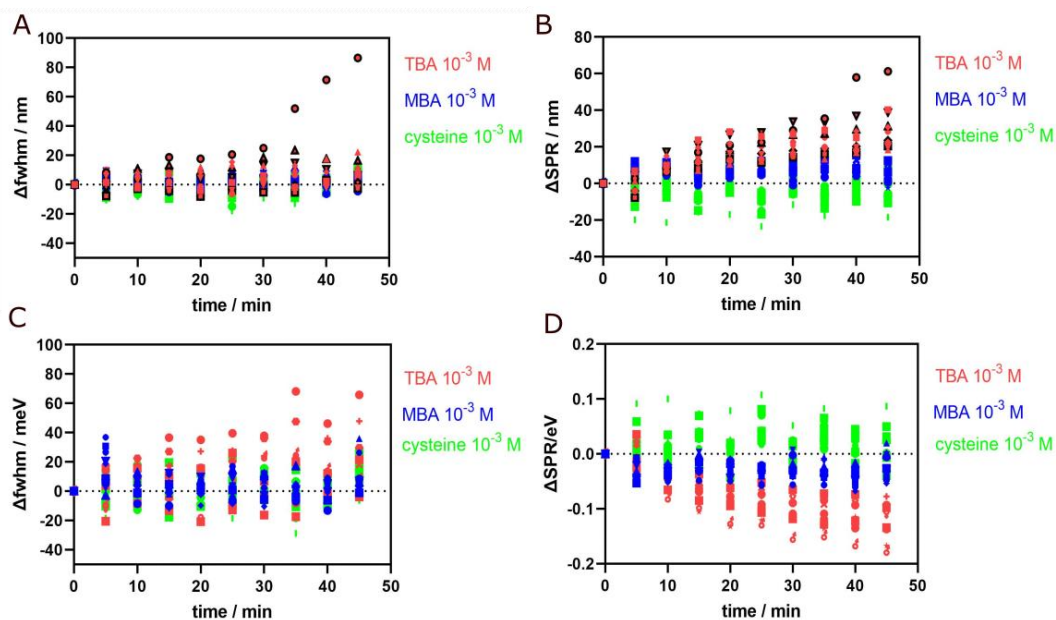


Fig. 4.3. Variația lățimii benzii de rezonanță plasmonică a nanoparticulelor de argint (AgNPs) la jumătate din maximul înălțimii (fwhm) în prezența acidului tiobenzoic (TBA), acidului 4-mercaptobenzoic (MBA), respectiv cisteină, la concentrația de 10^{-3} M, reprezentată în nm (A) și meV (C). Deplasarea maximului benzii de rezonanță plasmonică a

AgNPs (SPR) în prezența acidului tiobenzoic (TBA), acidului 4-mercaptobenzoic (MBA), respectiv cisteină, la concentrația de 10^{-3} M, în nm (B) și eV (D)

Figura 4.3 prezintă evoluția în timp a poziției benzii și variația lățimii benzii SPR a AgNPs ca urmare a interacțiunii moleculelor tiolate 10^{-3} M (TBA, MBA și cisteină) cu AgNP. În cazul TBA și MBA s-a observat o deplasare către roșu a maximului benzii SPR (-8–62 nm TBA; -3–16 nm MBA). De asemenea, pentru TBA deplasarea benzii SPR a fost însoțită de lărgirea benzii (-9–87 nm) indicând decoerența rezonanței plasmonilor ca urmare a efectului CID. În cazul MBA, lărgirea benzii plasmonice a fost în limita celor obținute în cazul controlului negativ cu apă, astfel nu putem spune ca am avut efect CID. Pe de altă parte, în cazul cisteinei s-a observat o deplasare către albastru a benzii SPR (-24–9 nm), care a condus la îngustare acesteia (-18–11 nm). Acest efect poate fi rezultatul dizolvării AgNP în prezența cisteinei.

Teoria propusă de Otto și Persson [19], concluzionează că efectul CID observat pentru TBA ar exclude apariția efectului SERS, acest efect fiind observat doar pentru MBA și cisteină. Ca urmare, am achiziționat spectrele SERS ale acestor molecule, pentru a vedea dacă există o corelație între efectul CID și transferul electronic care apare la SERS.

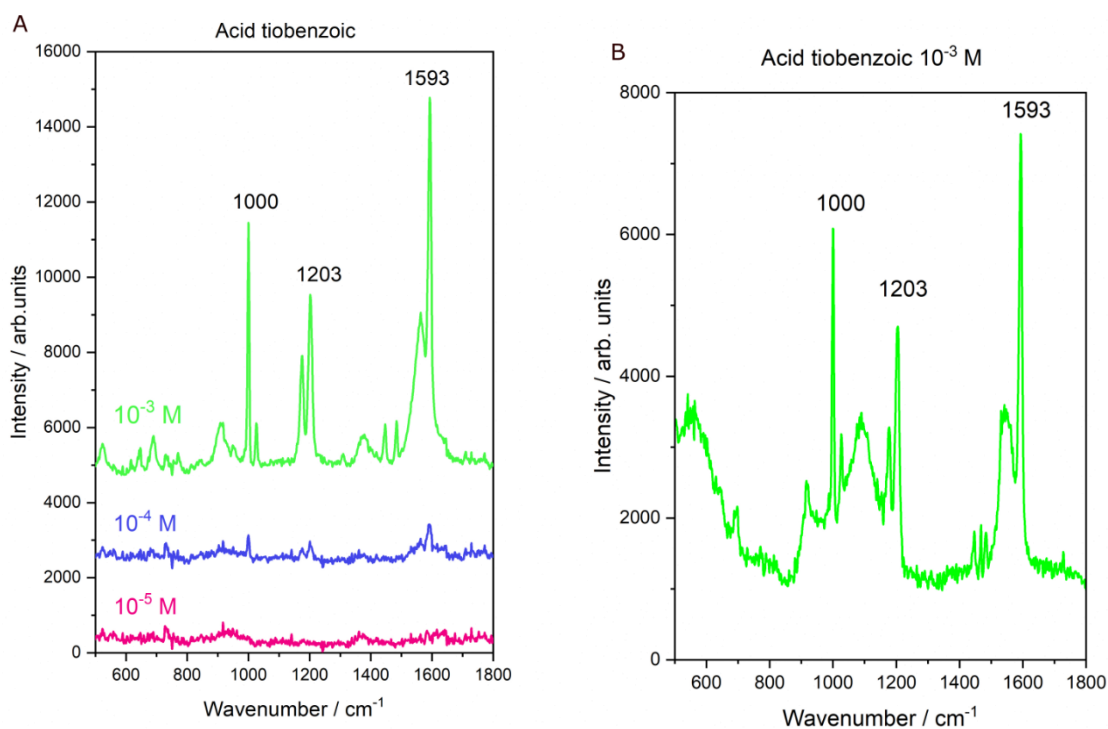


Fig. 4.4. Spectrele SERS ale acidului tiobenzoic la diferite concentrații (roz 10^{-5} M, albastru 10^{-4} M, verde 10^{-3} M) achiziționate în soluție coloidală de nanoparticule de argint (AgNPs) (A) și pe substrat nano-linii de argint (AgNWs) (B). Spectrele au fost achiziționate folosind linia laser 532 nm și reprezintă o mediere a 3 achiziții a câte 5 secunde fiecare.

Figura 4.4 prezintă spectrele SERS ale TBA achiziționate în soluție coloidală și pe substrat solid. Pentru concentrația de 10^{-3} M, apare efect SERS atât pentru coloid, cât și pentru substratul solid, deoarece se observă apariția benzilor SERS caracteristice TBA ($1000, 1203, 1593 \text{ cm}^{-1}$) [24]. În cazul concentrațiilor scăzute (10^{-4} M, 10^{-5} M) de TBA nu a fost detectată amplificarea SERS a vibrațiilor TBA.

Acidul tiobenzoic se leagă covalent de suprafața de argint, acest lucru făcând posibilă adsorbția lui pe AgNPs. Cu toate acestea, am văzut în Figura 4.4, că am obținut semnal SERS doar pentru concentrații mari ale acestuia (10^{-3} M). Acest lucru se datorează modificării morfologiei AgNPs, în urma căreia se modifică rezonanța plasmonică a substratului. În urma agregării nanoparticulelor, banda SPR, bine definită în cazul nanoparticulelor, devine o bandă largă, caracteristică agregatelor.

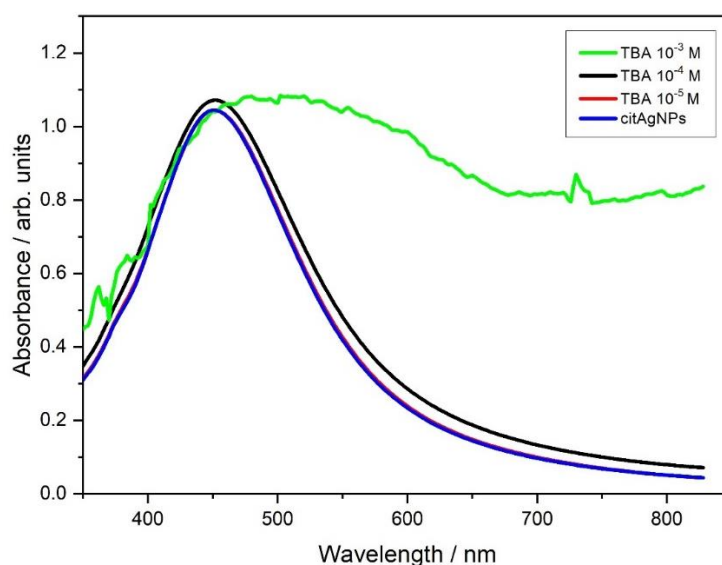


Fig. 4.5. Spectrele de absorbție UV-Vis ale soluției coloidale de nanoparticule de argint (citAgNPs) la diferite concentrații de acid tiobenzoic (0, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)

Spectrele de absorbție UV-Vis prezintă modificarea domeniului rezonanței plasmonice a amestecului CitAgNPs și TBA 10^{-3} M, fiind și singura concentrație la care am observat semnalul SERS (Figura 4.5). Astfel, putem spune că apariția efectului SERS la această concentrație nu poate fi corelată cu observarea apariției efectului CID, întrucât la CID am analizat nanoparticule izolate (single), iar în cazul SERS, soluția coloidală prezintă o bandă modificată. Același efect este observat și în cazul substratului AgNWs, unde banda plasmonică este modificată și nu se corelează cu efectul observat la microscopia hiperspectrală.

Deoarece am văzut că există o agregare în cazul TBA, ceea ce înseamnă că rezonanța plasmonică se deplasează spre lungimi de undă mai mari, am achiziționat spectre SERS folosind ca radiație incidentă, linia laser de 638 nm (Figura 4.6).

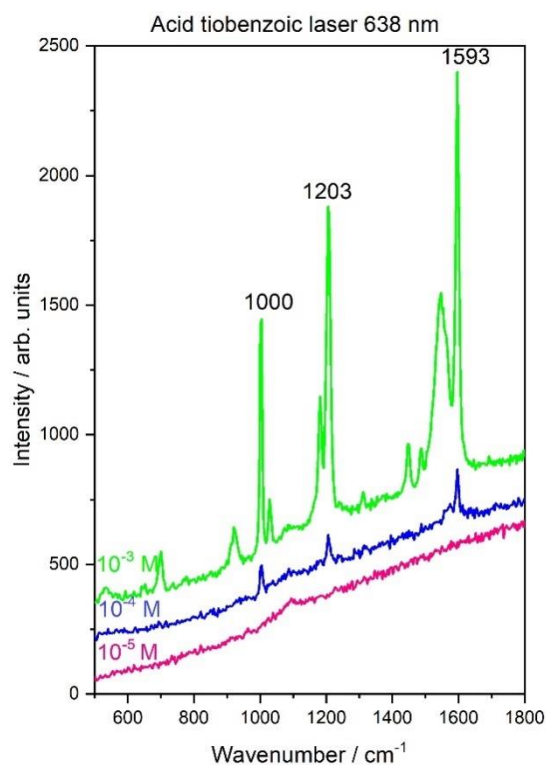


Fig. 4.6. Spectrele SERS ale acidului tiobenzoic la diferite concentrații (roz 10^{-5} M, albastru 10^{-4} M, verde 10^{-3} M) achiziționate în soluție coloidală de nanoparticule de argint (AgNPs). Spectrele au fost achiziționate folosind linia laser 638 nm și reprezintă o medie a 3 achiziții a câte 5 secunde fiecare.

Folosind o linie laser excitatoare din afara benzii plasmonice a nanoparticulelor, obținem efectul SERS și pentru concentrații ale moleculelor ce nu determină agregarea nanoparticulelor. Efectul SERS apare atât pentru TBA 10^{-3} M, cât și pentru concentrații mai mici de 10^{-4} M, întrucât radiația 638 nm cade în afara benzii plasmonice și nu induce CID.

Pentru a determina dacă efectul CID apare în cazul TBA 10^{-4} M, unde efectul SERS nu este detectat în lipsa agregării soluției, am analizat variația benzii plasmonice a AgNP izolate pentru diferite concentrații TBA.

Pe măsură ce am crescut concentrația, într-un interval de la 10^{-4} M până la 10^{-2} M, au crescut atât diferențele în poziția benzii SPR, cât și lățimea acesteia care este principalul indicator al apariției efectului CID (Figura 4.7). Totuși, pentru concentrația de 10^{-2} M, observăm că au scăzut valorile, ceea ce ne indică posibilitatea dizolvării AgNPs din cauza concentrației prea mari, fiind vorba de un acid.

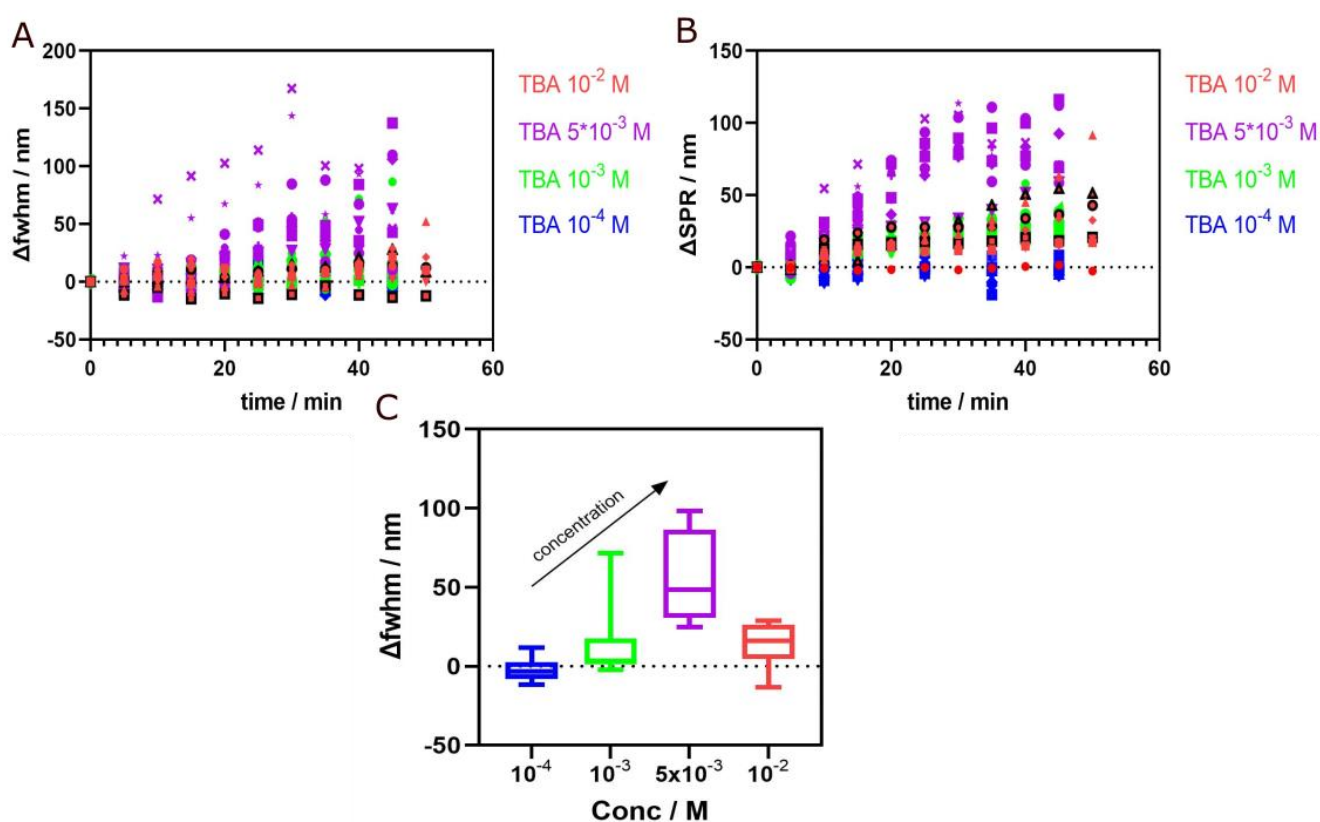


Fig. 4.7. Variația în nm a poziției benzii SPR (A), respectiv a lărgimii benzii SPR (B) și (C), la adăugarea acidului tiobenzoic la diferite concentrații

Comparând concentrațiile mai mici de TBA, cum ar fi 10^{-4} M, se observă încă apariția efectului CID, însă nu și spectrul SERS. În acest caz, soluția coloidală a fost stabilă, TBA neinducând agregarea.

În continuare, am analizat apariția efectului SERS pentru MBA, unde observăm benzi de vibrație caracteristice MBA pentru toate concentrațiile analizate (10^{-5} – 10^{-3} M).

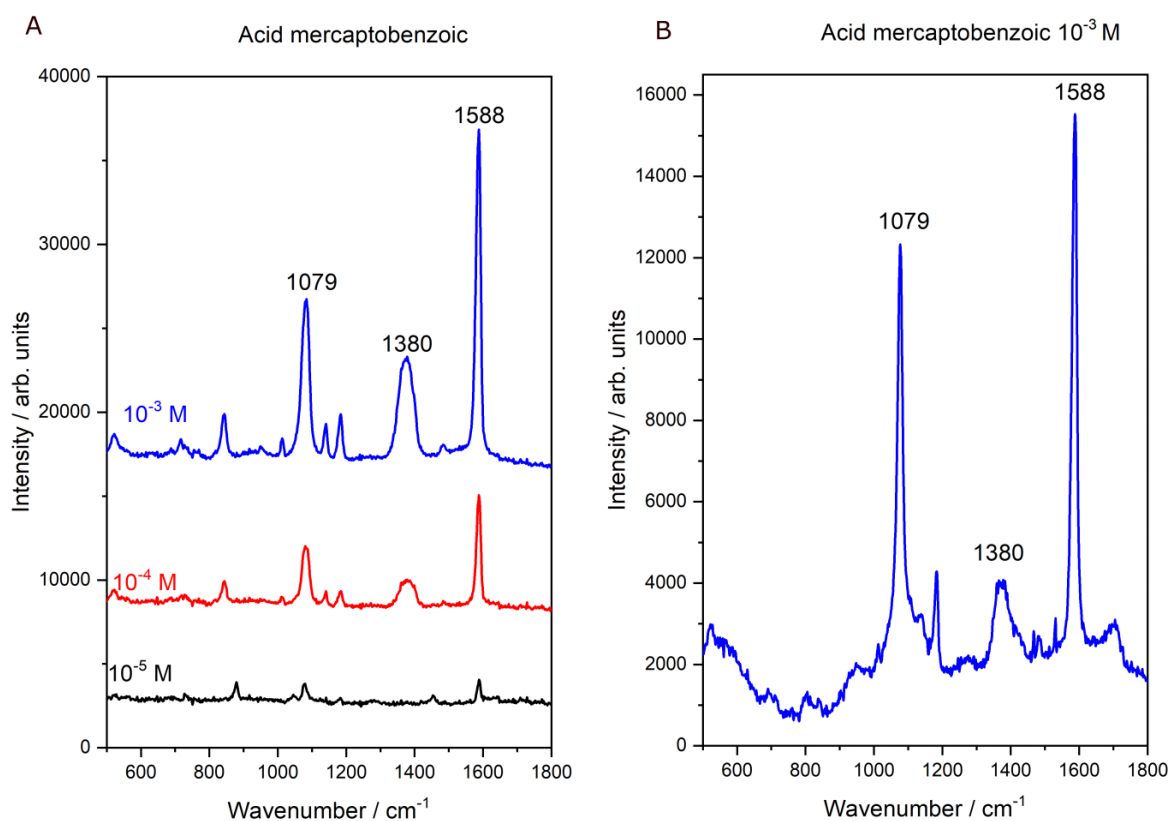


Fig. 4.8. Spectrele SERS ale acidului 4-mercaptobenzoic la diferite concentrații (negru 10^{-5} M, roșu 10^{-4} M, albastru 10^{-3} M) achiziționate în soluție coloidală de nanoparticule de argint (AgNPs) (A) și pe substrat nano-linii de argint (AgNWs) (B). Spectrele au fost achiziționate folosind linia laser 532 nm și reprezintă o mediere a 3 achiziții a câte 5 secunde fiecare.

Figura 4.8 prezintă spectrele SERS ale MBA achiziționate în soluție coloidală și pe substrat solid. Se observă benziile caracteristice MBA (1079 , 1380 , 1588 cm^{-1}) [25], pentru toate concentrațiile folosite. De asemenea, observăm o dependență a intensității semnalului în funcție de concentrația MBA.

Pe de altă parte, pentru cisteină nu am obținut semnal SERS nici pentru concentrații mari, nici în coloid și nici pe substrat solid (figura 4.9).

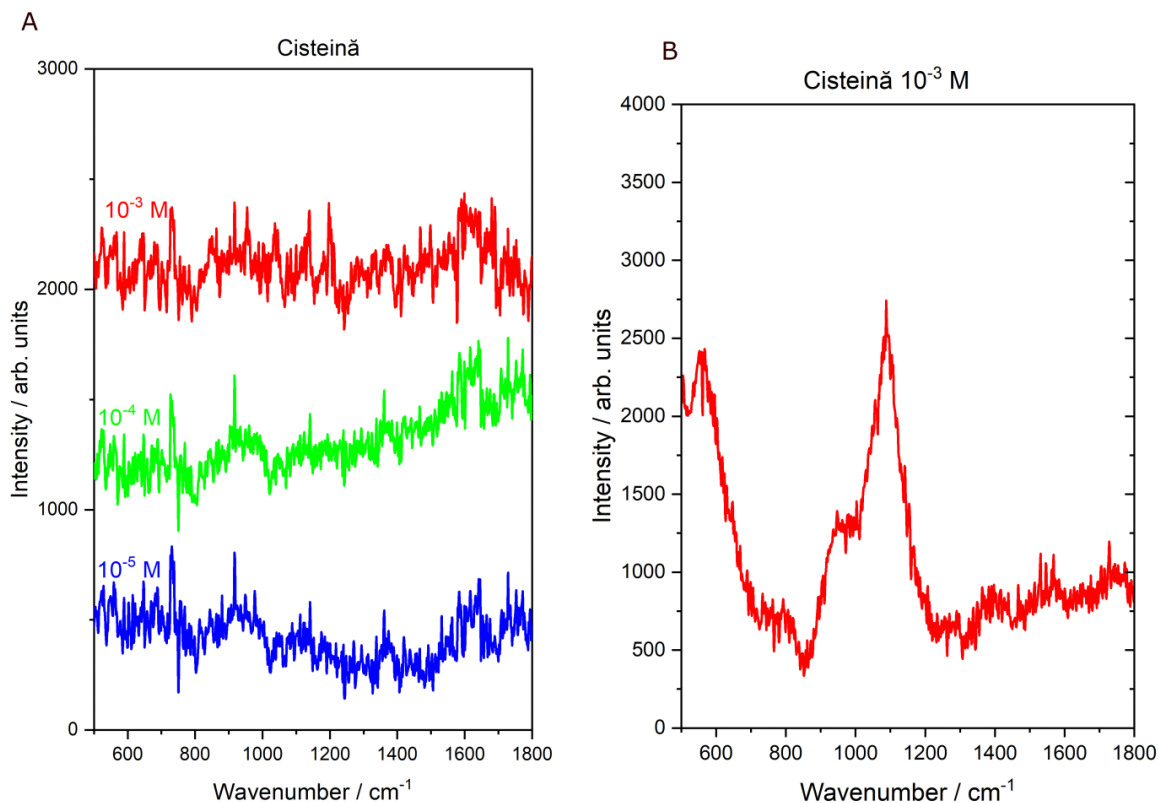


Fig. 4.9. Spectrele SERS ale cisteinei la diferite concentrații (albastru 10^{-5} M, verde 10^{-4} M, roșu 10^{-3} M) achiziționate în soluție coloidală de nanoparticule de argint (AgNPs) (A) și pe substrat nano-linii de argint (AgNWs) (B). Spectrele au fost achiziționate folosind linia laser 532 nm și reprezintă o mediere a 3 achiziții a câte 5 secunde fiecare.

Pentru a determina dacă spectrele SERS achiziționate în soluție coloidală pot fi corelate cu rezultatele CID, am analizat banda plasmonică a ansamblului coloidal format de AgNP și moleculele analizate. În cazul agregării acestora, după cum este cazul pentru TBA și cisteină, rezultatele obținute la spectroscopia SERS nu pot fi corelate cu rezultatele de la microscopie hiperspectrală, întrucât domeniul rezonanței plasmonice diferă între cele două ansambluri.

În acest sens, am achiziționat spectre UV-Vis pentru soluțiile ce au fost analizate la spectroscopia SERS (Figura 4.10).

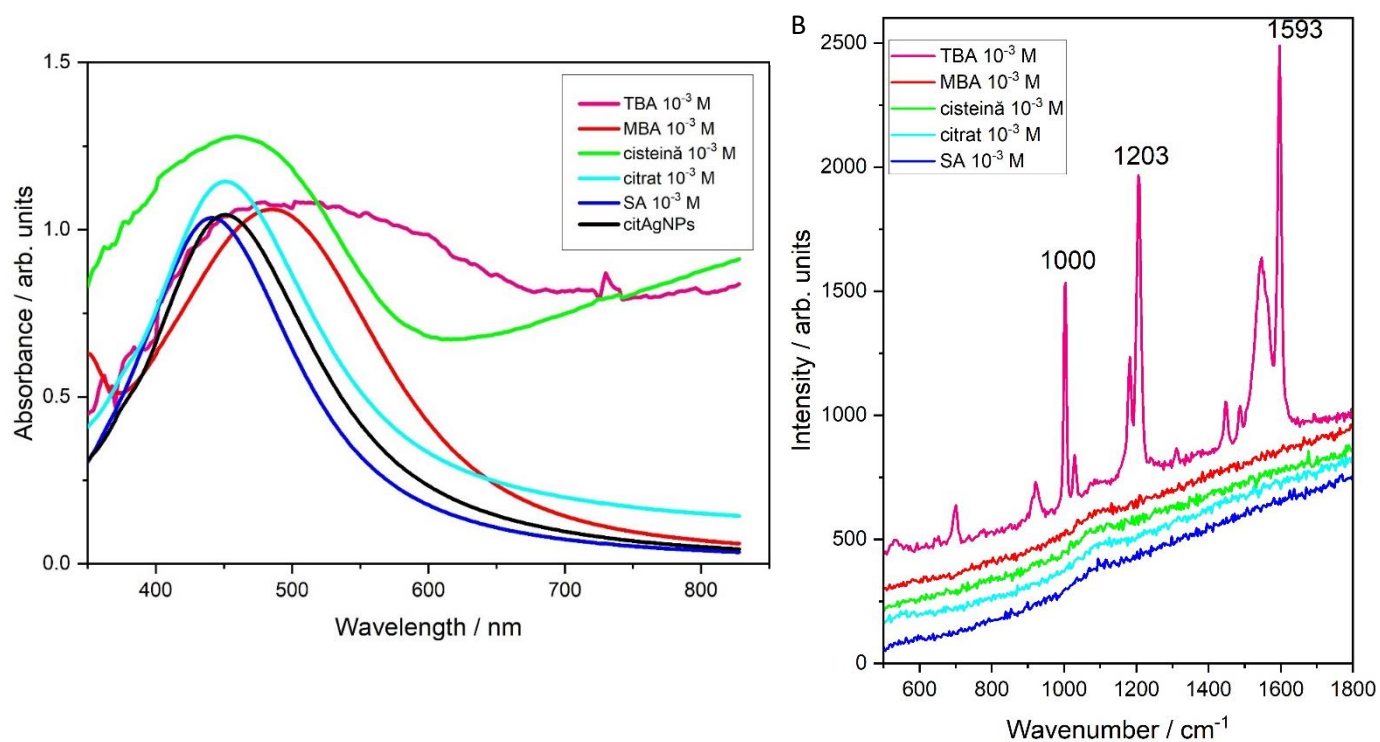


Fig. 4.10. (A) Spectrele de absorbție UV-Vis și (B) Spectrele SERS ale soluției coloidale de AgNPs împreună cu acid salicilic, citrat, cisteină, acid mercaptobenzoic și acid tiobenzoic 10⁻³ M

Pentru MBA nu se observă agregarea coloidului, doar o ușoară deplasare a benzii SPR. Efectul CID este mult mai slab decât în cazul TBA, iar efectul SERS apare pronunțat, având o dependență de concentrația MBA.

Pe de altă parte, cisteina are de asemenea grupări SH ce asigură adsorbția pe suprafața de argint. Totuși atât lipsa efectului CID, cât și SERS nu poate fi explicată în acest studiu.

4.2. Molecule netiolate

Moleculele netiolate pe care le-am folosit în această lucrare sunt acidul salicilic și citratul de sodiu (figura 4.11), în concentrație de 10^{-3} M fiecare. Moleculele netiolate analizate sunt: acidul salicilic și citratul de sodiu, pentru care efectul SERS a fost obținut doar după adsorbția indusă la suprafața de argint. Am ales aceste molecule deoarece există multe informații SERS despre ele. [23]

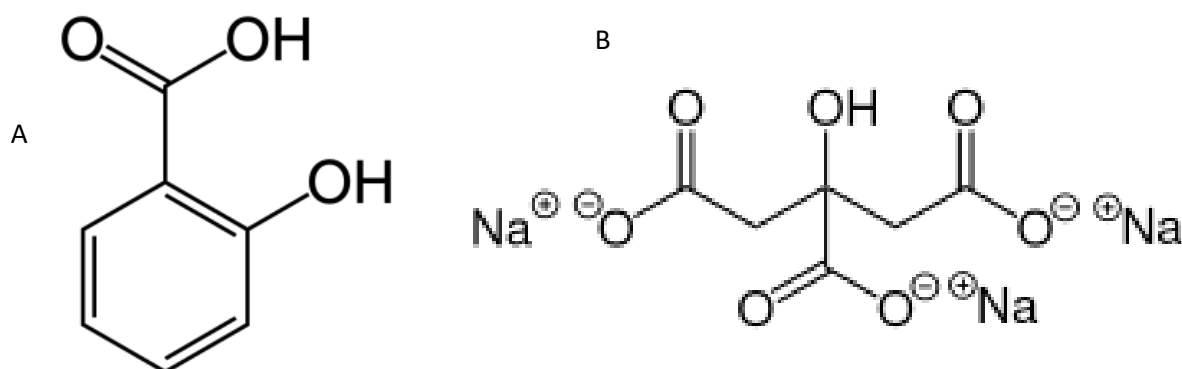


Fig. 4.11. Structura moleculară a (A) acidului salicilic și (B) citratului de sodiu.

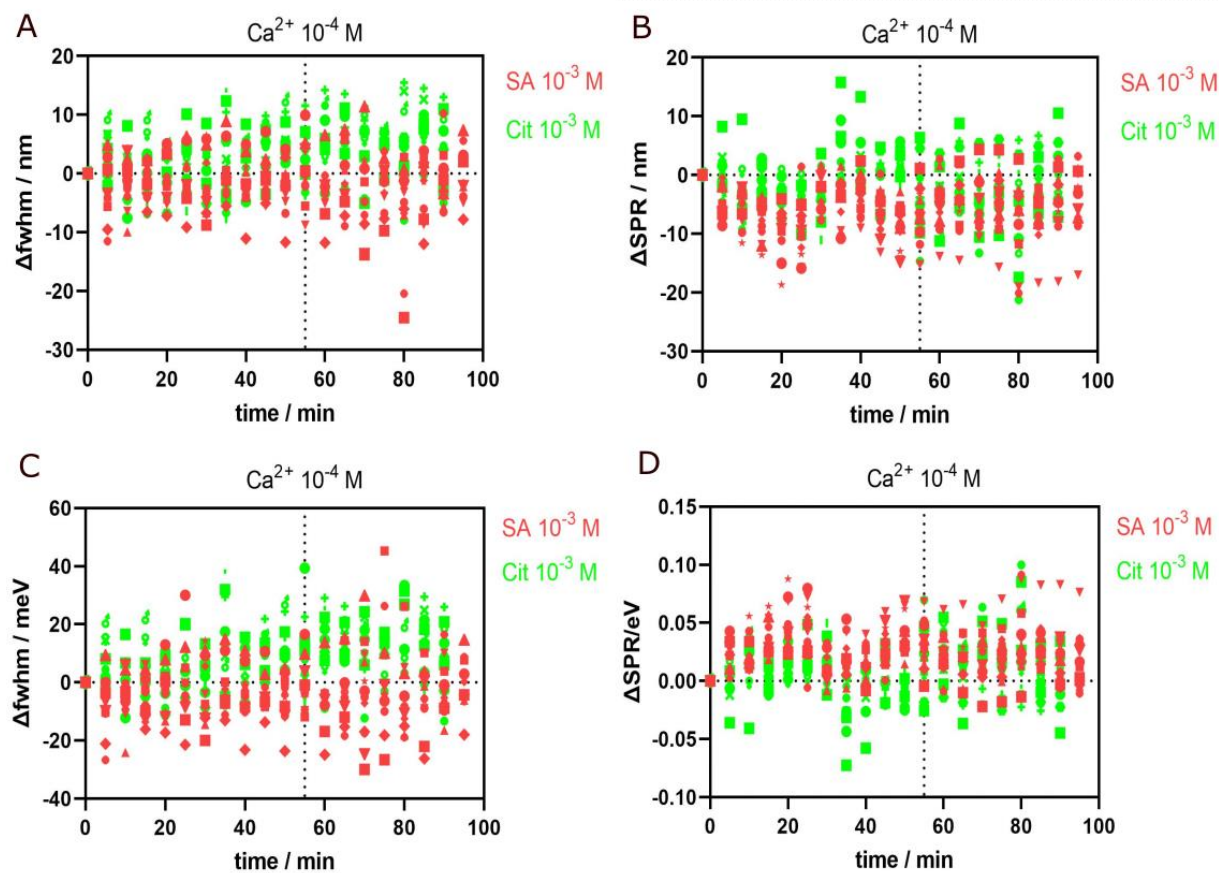


Fig. 4.12. Variația lățimii benzii de rezonanță plasmonică a nanoparticulelor de argint la jumătate din maximul înălțimii (fwhm) în prezența acidului salicilic (SA), respectiv a citratului de sodiu (cit), la concentrația de 10^{-3} M, reprezentată în nm (A) și meV (C). Deplasarea maximului benzii de rezonanță plasmonică a nanoparticulelor de argint (SPR) în prezența acidului salicilic (SA), respectiv citratului de sodiu (cit) la concentrația de 10^{-3} M, în nm (B) și eV (D)

În cazul celor două molecule netiolate (Figura 4.12), acidul salicilic, respectiv citratul de sodiu nu am obținut diferențe considerabile față de cele obținute în apă, ceea ce înseamnă că nu avem un efect CID. Pentru aceste molecule am adăugat și Ca^{2+} 10^{-4} M, deoarece în cazul SERS s-a observat că în momentul în care se adaugă diferiți anioni se poate observa o creștere a intensității benzii. Totuși, adionii de Ca^{2+} nu conduc la apariția efectului CID pentru moleculele de citrat și acid salicilic.

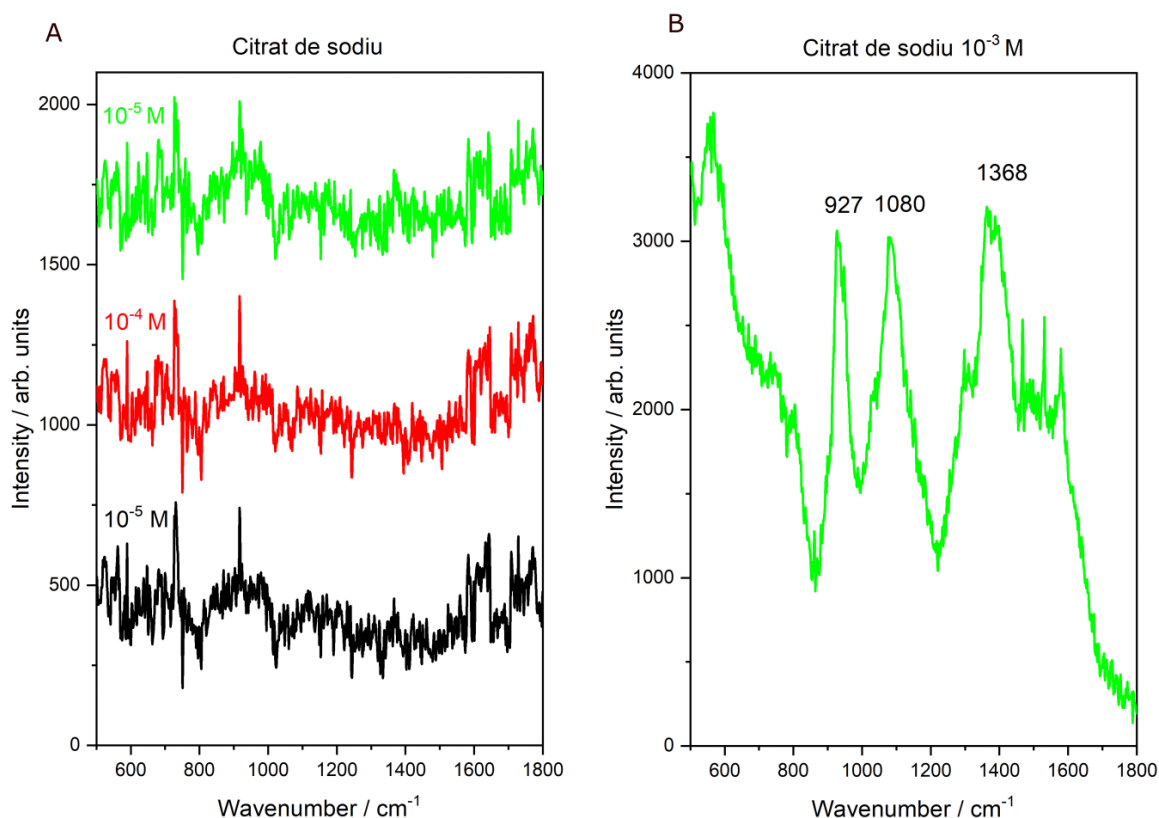


Fig. 4.13. Spectrele SERS ale citratului de sodiu la diferite concentrații (negru 10^{-5} M, roșu 10^{-4} M, verde 10^{-3} M) achiziționate în soluție coloidală de nanoparticule de argint (AgNPs) (A) și pe substrat nano-linii de argint (AgNWs) (B). Spectrele au fost achiziționate folosind linia laser 532 nm și reprezintă o mediere a 3 achiziții a câte 5 secunde fiecare.

În Figura 4.13, se poate vedea că nu am obținut semnal SERS pentru citratul de sodiu pentru nicio concentrație folosită. Pe substratul solid am obținut trei lungimi de undă caracteristice citratului de sodiu, cea de la 927 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} , 1368 cm^{-1} [23], din cauza sistemului care diferă.

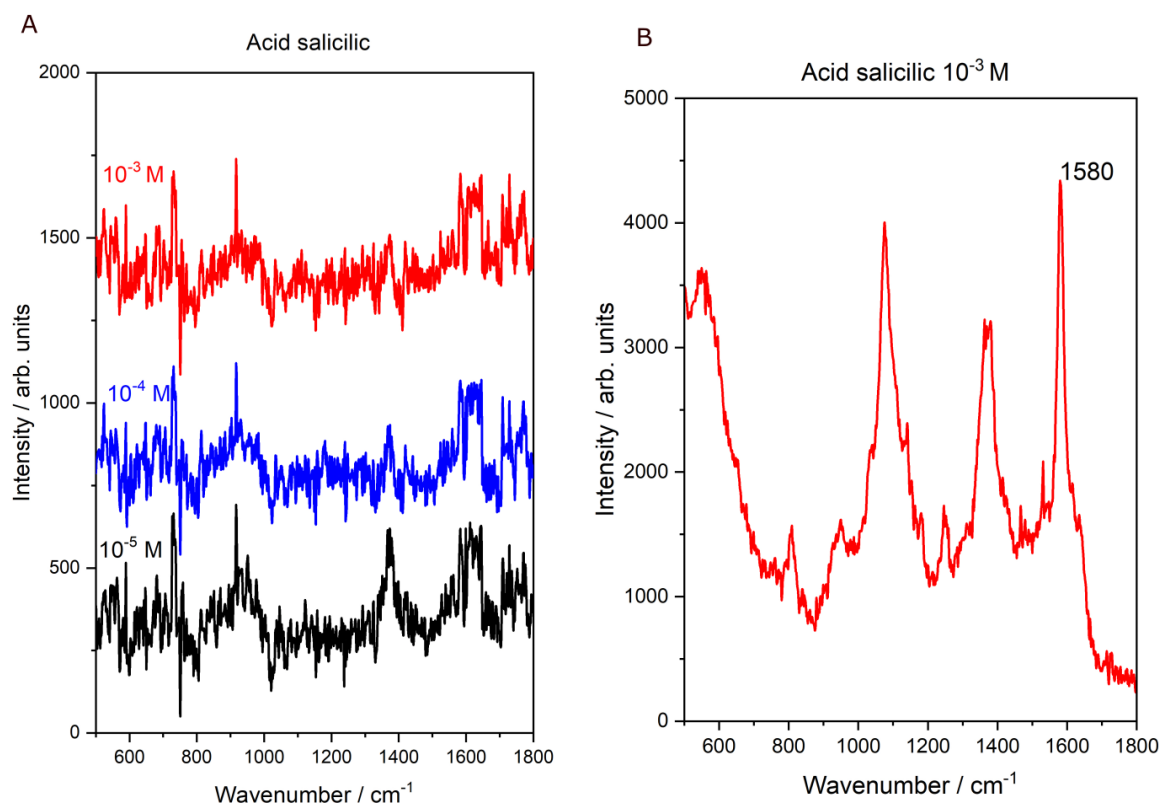


Fig. 4.14. Spectrele SERS ale acidului salicilic la diferite concentrații (negru 10^{-5} M, albastru 10^{-4} M, roșu 10^{-3} M) achiziționate în soluție coloidală de nanoparticule de argint (AgNPs) (A) și pe substrat nano-linii de argint (AgNWs) (B). Spectrele au fost achiziționate folosind linia laser 532 nm și reprezintă o mediere a 3 achiziții a câte 5 secunde fiecare.

Din câte putem vedea din Figura 4.14, nu am obținut semnal SERS pentru acidul salicilic pentru nicio concentrație folosită. Pe substratul solid am obținut doar o bandă caracteristică acidului salicilic, cea de la 1580 cm^{-1} [23], probabil din cauza sistemului care diferă.

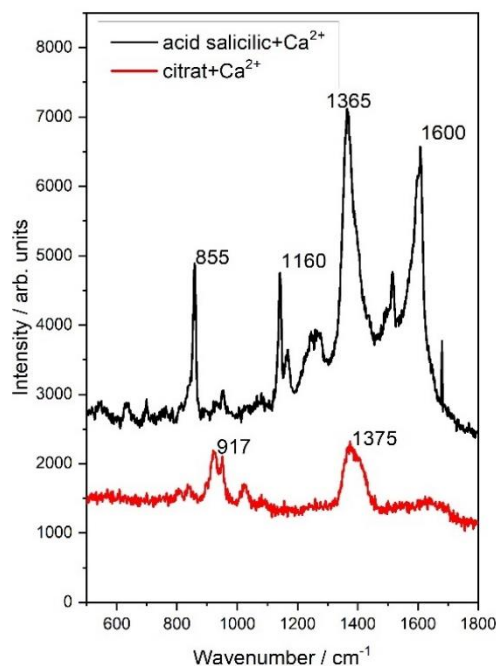


Fig. 4.15. Spectrele SERS ale acidului salicilic 10^{-3} M cu Ca^{2+} 10^{-4} M (negru) și citratului 10^{-3} M cu Ca^{2+} 10^{-4} M (roșu) achiziționate în soluție coloidală, folosind linia laser 532 nm

Din Figura 4.15 putem observa că am avut semnal SERS pentru acidul salicilic, respectiv pentru citrat doar în momentul în care am adăugat Ca^{2+} 10^{-4} M. Putem spune astfel, că adsorbția acestor molecule a fost indusă de către Ca^{2+} . Adsorbția spontană fiind inexistentă, după cum am văzut mai sus.

În cazul citratului și acidului salicilic nu observăm efect CID. Acest lucru era de așteptat întrucât cele două molecule nu sunt cunoscute să adsorbă spontan pe suprafața de argint. Lipsa adsorbției conduce la lipsa ambelor efecte, atât CID, cât și SERS.

Totuși, spectrul SERS apare atunci când adăugăm Ca^{2+} în soluție, după cum am văzut în figura 4.15. Acest efect nu este un rezultat al agregării după cum se observă în spectrele UV-Vis de mai jos (Figura 4. 16).

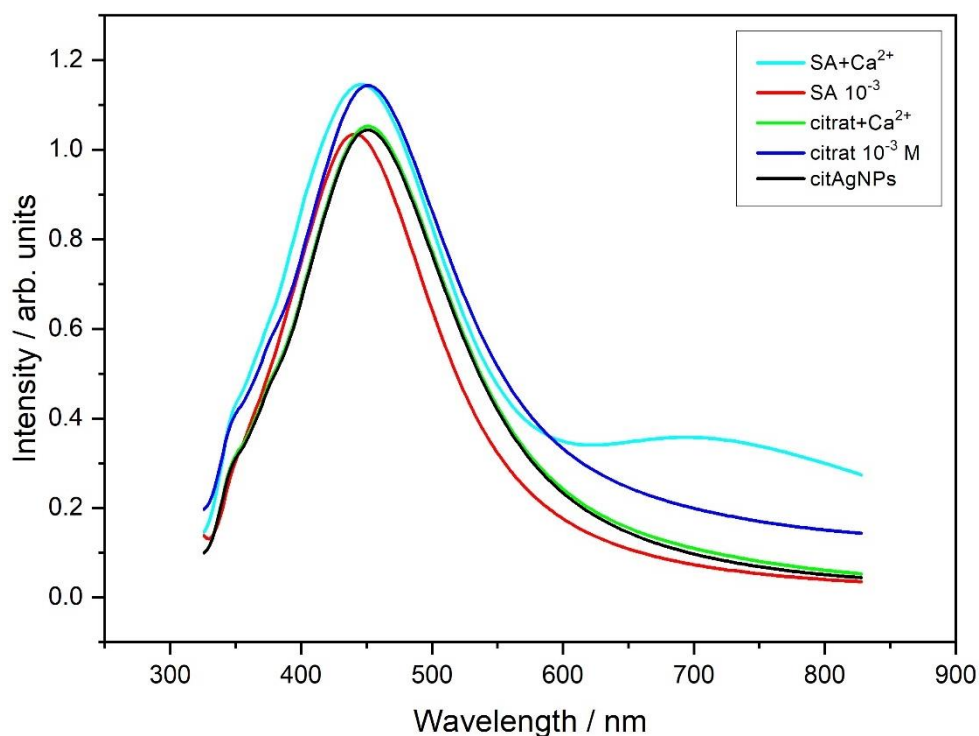


Fig. 4.16. Spectrele de absorbție UV-Vis ale soluției coloidale de citAgNPs și împreună cu citrat 10^{-3} M, respectiv acid salicilic 10^{-3} M

Așadar Ca^{2+} joacă rolul de punte între citrat, acid salicilic, și AgNPs, după cum au arătat și alte studii recente [23]. Deci Ca^{2+} face ca citratul, respectiv acidul salicilic să adsoarbă pe suprafața de argint. În acest caz, deși avem citrat pe suprafață, nu apare un efect CID, dar avem efect SERS .

Concluzii

Acest studiu analizează una dintre căile de dezexcitare neradiativă a oscilației plasmonilor nanoparticulelor de argint, respectiv transferul energetic, în prezența moleculelor tiolate (acid tiobenzoic, acid 4-mercaptobenzoic, cisteină), respectiv molecule netiolate (acid salicilic, citrat de sodiu). Sunt evidențiate două efecte complementare, CID, unde împrăștierea electronului pe nivelul LUMO al adsorbatului conduce la schimbarea impulsului acestuia, și efectul SERS, când electronul împrăștiat și golul lăsat în metal se recombina.

Poziția și lățimea benzii de rezonanță plasmonică (SPR) a nanoparticulelor de argint (AgNPs) izolate a fost urmărită în prezența moleculelor tiolate și netiolate. Moleculele tiolate chemisorb spontan pe suprafața metalică. Cu toate acestea, doar în cazul acidului tiobenzoic s-a observat apariția efectului CID, urmărit prin lărgirea benzii SPR și deplasarea acesteia către lungimi de undă mai mari. În schimb, pentru niciuna dintre moleculele netiolate, acid salicilic și citrat de sodiu, nu a fost observat efectul CID, banda SPR fiind constantă în timp.

Pentru a determina dacă efectul CID conduce la inhibarea efectului SERS, am achiziționat spectre SERS pentru acidul tiobenzoic, acidul 4-mercaptobenzoic, cisteină, acidul salicilic și citratul de sodiu. Pentru concentrații mici ale acidului tiobenzoic (10^{-5} M, 10^{-4} M) unde sistemul coloidal este stabil, se observă efectul CID, fără o amplificare SERS. În schimb, pentru acid tiobenzoic 10^{-3} M, care a dus la agregarea nanoparticulelor, și modificarea domeniului rezonanței plasmonice, s-a obținut efect SERS. Totuși apariția efectului SERS la această concentrație nu poate fi corelată cu observarea apariției efectului CID, întrucât la CID am analizat nanoparticule izolate, iar în cazul SERS, soluția a agregat.

Chiar dacă MBA adsoarbe spontan la suprafața AgNPs, această moleculă nu conduce la apariția efectului CID, spectrul SERS fiind în schimb vizibil. În cazul cisteinei, nu am obținut nici efect CID, și nici semnal SERS.

Pentru moleculele netiolate, care nu adsorb spontan, citrat de sodiu și acid salicilic, nu s-a observat nici efect CID, nici SERS, probabil datorită lipsei adsorbției acestora pe suprafață. Adăugând Ca^{2+} , spectrele SERS ale acestor molecule sunt observate, fără a avea efect CID.

În concluzie, pentru moleculele la care am văzut efect CID, nu am obținut semnal SERS, și pentru moleculele la care am avut semnal SERS, nu am avut CID. Rezultatul este în acord cu teoria descrisă de Otto și Persson. [19]

Bibliografie

- [1] B. Foerster, A. Joplin, K. Kaefer, S. Celiksoy, S. Link, and C. Sönnichsen, "Chemical interface damping depends on electrons reaching the surface," *ACS nano*, vol. 11, no. 3, pp. 2886–2893, 2017.
- [2] S. A. Lee and S. Link, "Chemical interface damping of surface plasmon resonances," *Accounts of Chemical Research*, vol. 54, no. 8, pp. 1950–1960, 2021.
- [3] S. W. Moon and J. W. Ha, "Single-particle correlation study: chemical interface damping induced by biotinylated proteins with sulfur in plasmonic gold nanorods," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 21, no. 13, pp. 7061–7066, 2019.
- [4] K. Kaefer *et al.*, "Implantable sensors based on gold nanoparticles for continuous long-term concentration monitoring in the body," *Nano Letters*, vol. 21, no. 7, pp. 3325–3330, 2021.
- [5] C. Sönnichsen, *Plasmons in metal nanostructures*. Cuvillier Verlag, 1998.
- [6] W. Demtröder and W. Demtröder, "Applications of laser spectroscopy," *Laser spectroscopy: basic concepts and instrumentation*, pp. 806–842, 1996.
- [7] B. Duggan, "UCSD SSPPS NMR Facility: Processing: the fourier transform," *UCSD SSPPS NMR Facility*, Nov. 05, 2015. <http://sopnmr.blogspot.com/2015/11/processing-fourier-transform.html> (accessed Jun. 12, 2023).
- [8] U. Kreibig, "Hundert Jahre Mie-Theorie. Optische Eigenschaften von Nanopartikeln," *Physik in unserer Zeit*, vol. 39, no. 6, pp. 281–287, 2008, doi: 10.1002/piuz.200801185.
- [9] "CytoViva | Enhanced Darkfield Hyperspectral Microscopy," *CytoViva, Inc.* <https://www.cytoviva.com> (accessed Apr. 18, 2023).
- [10] "CytoViva | Hyperspectral Microscopy | Applications," *CytoViva, Inc.* <https://www.cytoviva.com/applications> (accessed Apr. 18, 2023).
- [11] "CytoViva | Hyperspectral Microscope," *CytoViva, Inc.* <https://www.cytoviva.com/hyperspectral-system-components> (accessed Apr. 18, 2023).
- [12] "Dark-field microscopy," *Wikipedia*. Apr. 05, 2021. Accessed: Apr. 18, 2023. [Online]. Available: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Dark-field_microscopy&oldid=1016072717
- [13] J. R. Ferraro, *Introductory raman spectroscopy*. Elsevier, 2003.
- [14] B. Schrader, "General survey of vibrational spectroscopy," *Infrared and Raman spectroscopy: methods and applications*, pp. 7–62, 1995.
- [15] M. Muniz-Miranda, F. Muniz-Miranda, and A. Pedone, "Spectroscopic and computational studies on ligand-capped metal nanoparticles and clusters," *Metal Nanoparticles and Clusters: Advances in Synthesis, Properties and Applications*, pp. 55–87, 2018.
- [16] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, "Ultrasensitive chemical analysis by Raman spectroscopy," *Chemical reviews*, vol. 99, no. 10, pp. 2957–2976, 1999.
- [17] R. Pilot, R. Signorini, C. Durante, L. Orian, M. Bhamidipati, and L. Fabris, "A review on surface-enhanced Raman scattering," *Biosensors*, vol. 9, no. 2, p. 57, 2019.
- [18] C. Boerigter, U. Aslam, and S. Linic, "Mechanism of charge transfer from plasmonic nanostructures to chemically attached materials," *ACS nano*, vol. 10, no. 6, pp. 6108–6115, 2016.
- [19] A. Otto, "Theory of first layer and single molecule surface enhanced Raman scattering (SERS)," *physica status solidi (a)*, vol. 188, no. 4, pp. 1455–1470, 2001.
- [20] P. C. Lee and D. Meisel, "Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols," *ACS Publications*, May 01, 2002. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/j100214a025> (accessed Jun. 04, 2023).
- [21] "μ-Slide I Luer | Channel Slide for Flow Assays," *ibidi*. <https://ibidi.com/channel-slides/50--slide-i-luer.html> (accessed May 13, 2023).
- [22] "sticky-Slide I Luer | Self-Adhesive Underside," *ibidi*. <https://ibidi.com/sticky-slides/63-sticky-slide-i-luer.html> (accessed May 23, 2023).

- [23] S. D. Iancu, A. Stefancu, V. Moisiu, L. F. Leopold, and N. Leopold, "The role of Ag⁺, Ca²⁺, Pb²⁺ and Al³⁺ adions in the SERS turn-on effect of anionic analytes," *Beilstein J. Nanotechnol.*, vol. 10, no. 1, pp. 2338–2345, Nov. 2019, doi: 10.3762/bjnano.10.224.
- [24] M. R. López-Ramírez, D. Aranda, I. López-Tocón, J. Soto, J. L. Castro, and J. C. Otero, "Differentiated adsorption of thiobenzoic acid and thiobenzamide on silver nanoparticles determined by SERS spectroscopy," *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 246, p. 119048, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.saa.2020.119048.
- [25] C. Li *et al.*, "Dataset demonstrating the working-principles of surface-exposed nanoparticle sheet enhanced Raman spectroscopy (SENSERS) for Solvent-Free SERS," *Data in Brief*, vol. 23, p. 103746, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.dib.2019.103746.

DECLARAȚIE PE PROPRIE RĂSPUNDERE

Subsemnatul, Chiriac Alexandra-Maria, declar că Lucrarea de disertație pe care o voi prezenta în cadrul examenului de finalizare a studiilor la Facultatea de Fizică, din cadrul Universității Babeș-Bolyai, în sesiunea iulie 2023, sub îndrumarea Prof. Dr. Nicolae Leopold, reprezintă o operă personală. Menționez că nu am plagiat o altă lucrare publicată, prezentată public sau un fișier postat pe Internet. Pentru realizarea lucrării am folosit exclusiv bibliografia prezentată și nu am ascuns nici o altă sursă bibliografică sau fișier electronic pe care să le fi folosit la redactarea lucrării.

Prezenta declarație este parte a lucrării și se anexează la aceasta.

Data,

05.07.2023

Nume,

Alexandra-Maria Chiriac

Semnătură

