

Universitatea „Babeş-Bolyai” Cluj-Napoca

Facultatea de Fizică

Specializarea Fizică medicală

LUCRARE DE LICENȚĂ

Dezvoltare de senzori plasmonici flexibili și portabili integrați în pansament steril

Coordonator științific:

CS I Dr Monica Focșan

Absolvent:

Vătămanu Alexandru

Cluj-Napoca

2023

Universitatea „Babeş-Bolyai” Cluj-Napoca

Facultatea de Fizică

Specializarea Fizică medicală

LUCRARE DE LICENȚĂ

Dezvoltare de senzori plasmonici flexibili și portabili integrați în pansament steril

Coordonator științific:

CS I Dr Monica Focșan

Absolvent:

Vătămanu Alexandru

Cluj-Napoca

2023

Abstract

Diabetes is one of the fastest spreading health conditions of current times. Because of it, many people nowadays rely on medication to live a normal life. Identifying it in the early stages could greatly improve the quality of life for many people. Bearing this in mind, I sought to develop a technology to establish if a person has diabetes by measuring the sugar concentration in their sweat, with the help of Raman spectroscopy. To achieve this, the first step of my work was to synthesize gold nanobipyramids, for their known SERS applications. Precisely, I synthesized reproducible gold nanobipyramids through a StG (seed-to-growth) protocol. After the synthesis the AuBPs were physico-chemically characterized. The +30 mV zeta potential proved their stability and the UV-Vis extinction spectra proved their plasmonic response is tunable. The next step was immobilizing them in cotton substrates, which was done using a dip coater. The new substrates with AuBPs in them were characterized as well, showing that the optical properties haven't changed substantially. As the last step, 4-MBA was introduced in the substrates and Raman spectra were done for all the substrates with different plasmonic responses, responses caused by the differently tuned AuBPs. For this evaluation a 785 nm laser was used and the resulting spectra showed a good amplification for the AuBPs with the plasmonic response near 785 nm. Thus, the cotton substrates with immobilized AuBPs proved their potential to be used as detection tools in the biomedical applications.

Cuprins

Introducere	4
Capitolul I. Partea teoretică	6
I.1 Proprietăți optice ale nanobipiramidelor.....	6
I.2 Spectroscopia Raman amplificată de suprafață (Surfaced Enhanced Raman Spectroscopy - SERS) .	8
Capitolul II. Partea experimentală	11
II.1 Sinteza nanobipiramidelor de aur.....	11
II.2 Caracterizarea fizico-chimică a nanobipiramidelor de aur	14
II.3 Imobilizarea controlată a nanobipiramidelor pe pansament de bumbac.....	18
II.4 Validarea SERS a pansamentului plasmonic dezvoltat	24
Capitolul III: Concluzii finale și perspective de viitor	28
Anexe	29
Bibliografie	33

Introducere

Una dintre problemele de sănătate cu cele mai rapide expansiuni, și anume diabetul, a atras atenția comunităților medicale și științifice, devenind un punct de interes major ¹. După statisticile World Health Organization (WHO), cazurile de diabet sunt în creștere, având în prezent 422 de milioane de persoane diagnosticate (https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1), ceea ce înseamnă că 1 din 11 persoane depind de medicamente și sunt susceptibile la diverse complicații legate de boală, diabetul fiind un factor de risc pentru boli cardiovasculare, pierderea vederii, insuficiență renală, etc. Nivele ridicate de glucoză în sânge sunt indicatori ai diabetului și reprezintă factorul determinant pentru diagnostic. Fiind un metabolit cheie și un nutrient primar în metabolism, monitorizarea glucozei în fluidele corporale este esențială în prevenirea, diagnosticarea în timp util, și tratamentul acestei boli potențial letale. Strategiile curente existente implică analiza aleatoare a nivelului de zahăr din sânge, rezultate puternic afectate de momentul în care a avut loc examinarea. În plus, metodele de analiză clinică au nevoie de echipamente speciale, personal specializat, protocoale laborioase de preparare a mostrelor, timp de analiză îndelungat, etc., factori care conduc implicit la un preț ridicat. Deși auto testarea a contribuit semnificativ spre progresul monitorizării nivelului de zahăr din sânge, această metoda este invazivă și dureroasă deoarece mostra de sânge se obține prin înțeparea degetului cu un ac, ceea ce a dus la descurajarea testărilor frecvente în rândul pacienților diagnosticați ². În schimb, transpirația, deși este un biofluid ce poate fi folosit cu ușurință, folosind metode non-invazive de diagnostic, rămâne în mare parte neutilizată ³.

În acest context, dezvoltarea unui nanoplatforme senzorialice, inovative, versatile, non-invazive, ieftine, dar eficiente, care oferă rezultate în timp real reprezintă o prioritate în contextul actual pentru îmbunătățirea controlului glicemic și, implicit, a stării de sănătate a pacientului. Lucrarea de licență intitulată **“Dezvoltare de senzori plasmonici flexibili și portabili integrați în pansament steril”** își propune să pună bazele spre dezvoltarea unui concept nou de biosenzor flexibil cu răspuns plasmonic controlabil și reproductibil care oferă monitorizare a glucozei din transpirație non-invaziv, sensibil, rapid, în timp real și sigur. Pentru realizarea acestui deziderat mi-am propus să integrez nanobipiramide de aur presintetizate chimic, având rol de amplificatori

eficienți biosenzoristici ⁴, în bumbac, care este un material natural abundent cu multe avantaje, printre care regenerabilitatea, flexibilitatea, abundența, biodegradabilitatea, și grupul hidroxil de pe suprafață permite modificarea acestuia cu ușurință ⁵. În plus, implementarea duală a tehnicilor de analiză de Rezonanță Plasmonică Localizată de Suprafață (LSPR) – Spectroscopie Raman cu Amplificată Suprafață (SERS) asigură atât senzitivitate și specificitate ridicată a biosenzorului – înafară de detecția sensibilă a glucozei, biosenzorul nostru miniatural, flexibil, elastic va fi capabil să-i identifice amprenta moleculară, și promovează portabilitatea și capabilitățile de detecție rapidă on-site folosind spectrometre portabile. Astfel, ne propunem să depășim limitările aparatelor disponibile în prezent de monitorizare a glucozei prin proiectarea unui biosenzor nou robust inovativ non-invaziv cu capacități îmbunătățite de detecție duală LSPR-SERS.

Lucrarea de față este structurată în trei capitole. Primul capitol oferă o prezentare generală a proprietăților de interes a nanoparticulelor metalice, explicând modul în care forma și mărimea acestora le determină proprietățile. În plus, punctează fundamentele spectroscopiei Raman și avantajele acesteia, și cum nanoparticulele metalice pot fi folosite în amplificarea semnalului Raman, prin SERS.

Al doilea capitol descrie protocolul urmat pentru sinteza nanobipiramidelor de aur utilizate în această lucrare, urmat de caracterizarea lor (spectrul de absorbție UV-Vis și potențialul Zeta). Soluțiile coloidale au fost centrifugate pentru a putea elimina CTAB-ul din acestea, apoi caracterizate din nou. În urma caracterizării am prezentat metodele folosite pentru înglobarea nanobipiramidelor în pansamente de bumbac și după alegerea metodei optime am caracterizat optic (spectrul de absorbție UV-Vis) pansamentele plasmonice rezultate. În final, în pansamentele plasmonice am picurat soluție de 4-MBA și am realizat spectrele Raman ale acestora folosind un laser de 785 nm pentru a le pune în evidență proprietățile SERS.

Ultimul capitol prezintă concluziile finale și perspectivele de viitor ale lucrării de față.

Capitolul I. Partea teoretică

Nanoparticulele reprezintă un domeniu de interes în prezent deoarece când reducem mărimea la ordinul nanometrilor sunt evidențiate proprietăți magnetice, electrice, optice, și structurale excepționale⁶. Aceste proprietăți s-au dovedit utile în diverse aplicații biomedicale precum diagnostică moleculară, imagistică celulară, și terapie localizată în funcție de forma, structura, și compoziția nanoparticulelor⁷. Dintre nanoparticule, cele sintetizate din metale nobile se remarcă datorită proprietăților lor plasmonice, mai specific a rezonanței plasmonice de suprafață.

I.1 Proprietăți optice ale nanobipiramidelor

Nanosferele de aur pot prezenta orice culoare din spectrul vizibil mulțumită modului prin care acestea interacționează cu radiația electromagnetică. Spectrul de extincție al nanosferelor este determinat de rezonanța plasmonică de suprafață (eng. Localized Surface Plasmon Resonance - LSPR), fenomen care apare în prezența particulelor metalice, când norul electronic al acestora interacționează (este excitat prin rezonanță) cu radiația electromagnetică incidentă, fenomen ce provoacă o oscilație a norului electronic (Figura 1⁸).

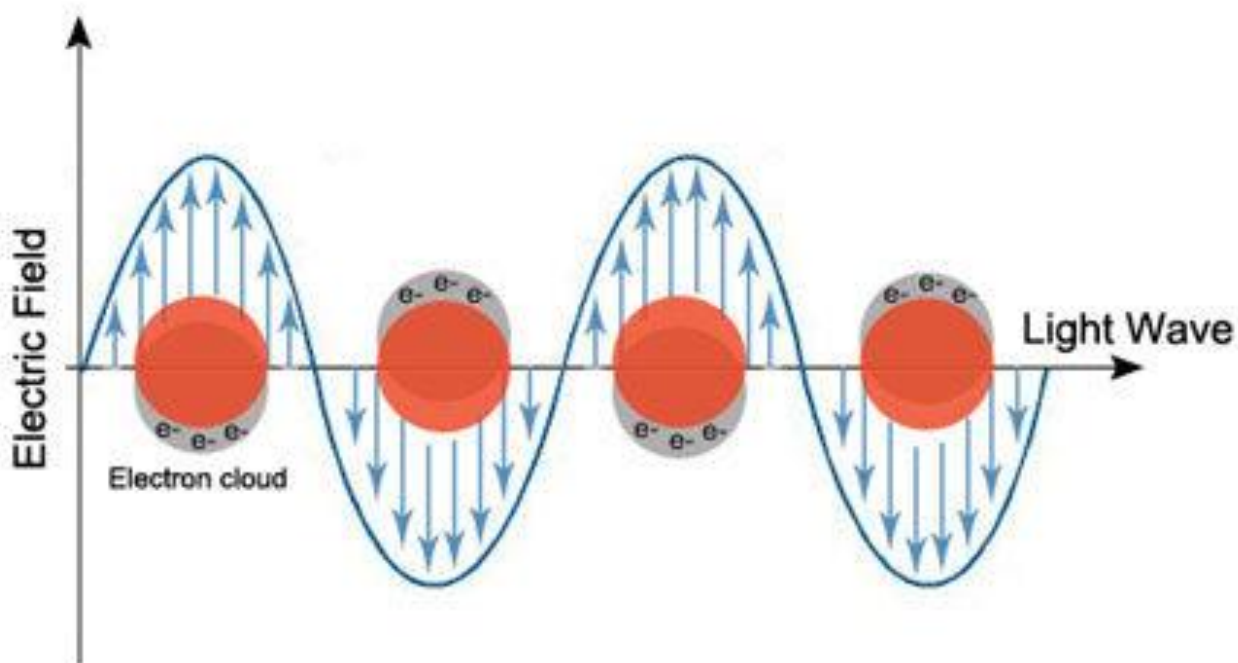


Figura 1 Oscilația norului electronic al nanosferelor cauzată de radiația electromagnetică

În funcție de forma nanoparticulelor, spectrul de extincție poate prezenta una sau mai multe maxime. În cazul nanosferelor, spectrul de extincție prezintă un singur maxim, iar pentru nanoparticulele anizotrope (precum nanobipiramidele sau nanorodurile) spectrul poate prezenta mai multe maxime.

Particulele cu care am lucrat, nanobipiramidele de aur, prezintă 2 maxime, un maxim corespunzător oscilațiilor transversale ale norului electronic (Figura 2A) (energii mai mari, lungimi de undă mici) și un maxim corespunzător oscilațiilor longitudinale ale norului electronic (Figura 2B) (energii mai mici, lungimi de undă mari).

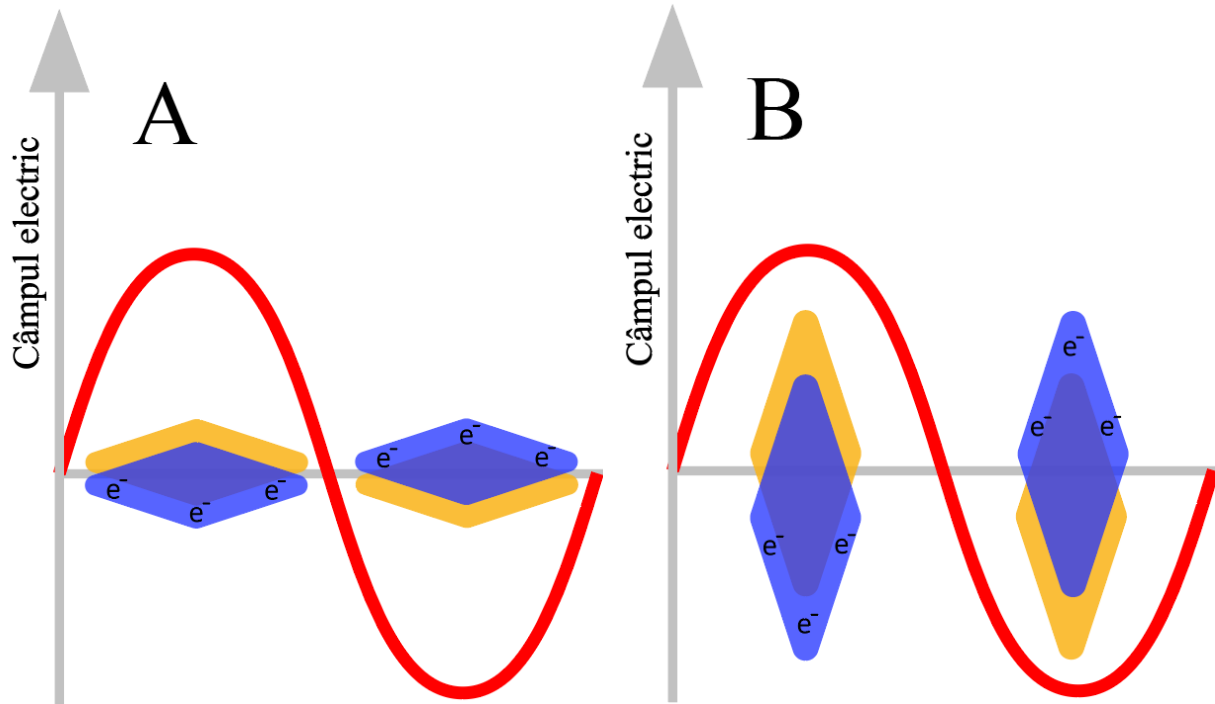


Figura 2 A. Oscilații plasmonice transversale ale nanobipiramidelor; B. Oscilații plasmonice longitudinale ale nanobipiramidelor

Prima oară fenomenul a fost descris de teoria Mie⁹, care a studiat extincția în cazul nanosferelor, și care a determinat că extincția este alcătuită atât de absorbția cât și de împrăștierea luminii de un material. Rezolvând ecuațiile lui Maxwell, pentru nanoparticulele sferice, avem următoarea ecuație:

$$C = 9 \frac{\omega}{c} \varepsilon_m^{3/2} V_0 \frac{\varepsilon_0}{(\varepsilon_1 + 2\varepsilon_m)^2 + \varepsilon_2^2}$$

Unde C reprezintă coeficientul de extincție (suma dintre absorbție și împrăștierea Rayleigh), ω reprezintă frecvența radiației electromagnetice de excitare, c reprezintă viteza luminii, ε_m reprezintă constanta dielectrică a mediului din vecinătatea nanoparticulelor, V reprezintă volumul nanoparticulelor, ε_1 și ε_2 reprezintă partea reală și imaginară a funcției dielectrice dependente de frecvența a materialului ($\varepsilon_m = \varepsilon_1 + i\varepsilon_2$)¹⁰. Astfel se observă că spectrul de extincție este sensibil la materialul, forma, și mărimea nanoparticulelor, cât și la mediul în care acestea se regăsesc. Nanoparticulele de aur, argint și cupru prezintă benzi plasmonice puternice

și înguste în spectrul vizibil, pe când alte metale prezintă benzi plasmonice slabe și late în domeniul UV¹¹.

I.2 Spectroscopia Raman amplificată de suprafață (Surface Enhanced Raman Spectroscopy - SERS)

Spectroscopia Raman este o tehnică puternică de analiză folosită în studiul vibrațiilor moleculare cu scop de a procura informații legate de structura chimică a unei probe. În spectroscopia Raman împrăștierea luminii apare când proba de analizat este iradiată cu un fascicul laser. Când lumina fascicului laser interacționează cu proba, are loc fenomenul cunoscut sub denumirea de împrăștiere Raman. Împrăștierea Raman implică împrăștierea inelastică a fotonilor, când fotonii incidenti schimbă energie cu proba (Figura 3¹²).

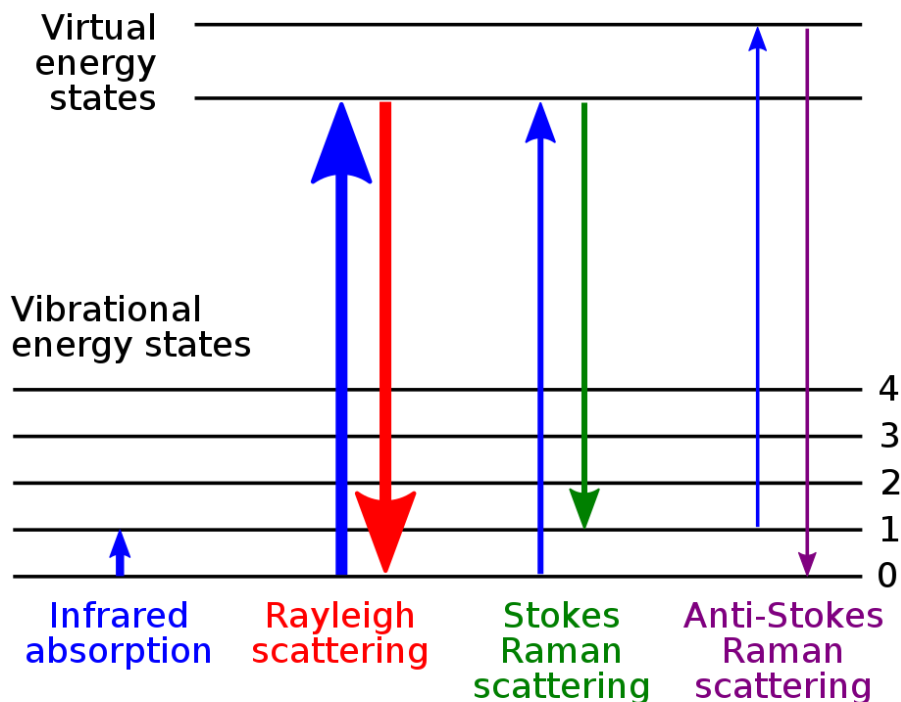


Figura 3 Schema energetică a împrăștierei Raman comparativ cu împrăștierea Rayleigh

Majoritatea fotonilor suferă împrăștiere elastică (împrăștiere Rayleigh), unde fotonii împrăștiați au energia egală cu energia fotonilor incidenti. Totuși, o mică parte din fotonii împrăștiați suferă împrăștiere inelastică, rezultând în împrăștiere Raman. În acest caz fotonii împrăștiați au energii diferite față de energiile fotonilor incidenti datorată interacțiunilor cu vibrația moleculară, rotația moleculară, și a altor forme de mișcări moleculare. Diferența de

energie dintre fotonii incidenti și cei împrăștiati corespund cu nivelele energetice de vibrație moleculară ale probei. Aceste variații de energii se numesc shift Raman. Când fotonii cedează energie sistemului are loc împrăștiere Stokes (fotonul împrăștiat are energie mai mică/lungime de undă mai mare decât fotonul incident) iar când fotonii primesc energie de la sistem are loc împrăștierea anti-Stokes (fotonul împrăștiat are energie mai mare/lungime de undă mai mică decât fotonul incident)¹³.

Prin analiza luminii împrăștiate, spectroscopia Raman poate identifica și caracteriza compuși diferiți, indiferent de starea de agregare în care se găsesc. Spectroscopia Raman oferă o analiză non-destructivă și non-invazivă, făcând-o o opțiune de dorit în domenii precum știința materialelor, farmaceutică, monitorizare a mediului, și criminalistică.

Deși aduce multe informații utile despre o probă, efectul Raman este foarte slab. Comparativ, fluorescența este între 6 și 10 ordine de mărime mai puternică¹⁴. Pentru a rezolva acest neajuns probele de analizat sunt poziționate în vecinătatea unei suprafețe metalice pentru a amplifica semnalul Raman. Acest efect, cunoscut sub denumirea de împrăștiere Raman amplificare de suprafață (eng. Surface Enhanced Raman Scattering - SERS), a fost observat prima oară în 1974 de Fleischmann, Hendra, și McQuillan, care au observat că suprafața rugoasă a electrozilor de argint influențează intensitatea semnalului Raman a moleculei de piridină¹⁵. Ulterior, doi echipe de cercetare independente au confirmat observațiile făcute de Fleischmann, Hendra, și McQuillan, punând în evidență că amplificarea semnalului nu depinde doar de creșterea concentrației analitului, ci și de amplificarea împrăștierii Raman în sine¹⁶. Inițial au fost estimați factori de amplificare de ordinul 10^3 până la 10^5 , dar totuși studiile recente au raportat amplificări ale semnalului Raman de ordinul 10^{10} până la 10^{11} .

Ca fenomenul SERS să aibă loc moleculele trebuie să fie absorbite eficient pe o suprafață metalică rugoasă (e.g. Cu, Au, Ag). Suprafețele metalice netede nu împrăștie lumina deoarece oscilațiile electronilor de suprafață rezultate în urma interacțiunii cu lumina incidentă sunt paralele cu suprafața. Pentru a descrie mecanismul SERS, comunitatea științifică acceptă două teorii¹⁷: amplificarea electromagnetică (en. electromagnetic enhancement - EM) și mecanismul chimic (en. chemical mechanism - CM), respectiv.

Amplificarea electromagnetică este legată de substratul metalic și nu are legătură cu analitul. Aceasta apare datorată excitării rezonante a plasmonilor de suprafață a suprafeței

metalice, astfel generând o amplificare considerabilă a câmpului electromagnetic. Mecanismul nu necesită ca moleculele să fie în contact cu suprafața metalică. Pentru a înțelege mai bine acest proces, problema a fost abordată teoretic pentru cazul simplu al unei nanoparticule metalice sferice izolate, pentru a determina măcar ordinul de mărime al câmpului electric¹⁸.

$$E^2 \propto E_0^2 \left| \frac{\epsilon_m - \epsilon_0}{\epsilon_m - 2\epsilon_0} \right|^2$$

unde E_0 reprezintă câmpul incident, ϵ_m și ϵ_0 reprezintă constantele dielectrice ale metalului și a mediului înconjurător al nanoparticulei, respectiv. Considerând $\epsilon_m = -2\epsilon_0$, E poate ajunge la valori foarte ridicate. Secțiune eficace de extincție și împrăștiere a nanoparticulei reprezintă un factor important în amplificarea electromagnetică, care contribuie cel mai mult la efectul SERS, ajungând la factori de amplificare¹⁹ până la ordine de 10^{12} .

În comparație, mecanismul chimic este explicat de interacția dintre substanța de analizat și suprafața metalică, în special de transferul de sarcină dintre cele două, fapt ce provoacă schimbarea polarizabilităților moleculelor. Procesul este dependent de zonă și de molecule, căci analitul trebuie pus în contact direct cu suprafața metalică. Amplificarea semnalelor ajunge la ordine de mărime de 10^2 - 10^4 , în funcție de analit²⁰.

Substratele active SERS sunt folosite în diverse domenii. Răspunsul lor depinde de răspunsul LSPR (subiect ce va fi dezvoltat ulterior), ceea ce produce un interes ridicat spre controlul parametrilor care influențează răspunsul LSPR, parametri precum mărimea și forma nanoparticulelor, constanta dielectrică a mediului, distanța dintre nanoparticule, pentru a maximiza și a face reproductibil semnalul SERS.

În mod obișnuit substraturile SERS sunt realizate prin depunerea nanoparticulelor metalice pe suporturi solide, astfel realizând și condiția de suprafață rugoasă pentru amplificarea semnalului Raman. În cadrul acestei lucrări pansamente din bumbac vor îndeplini rolul de suport solid pentru depunerea nanoparticulelor.

Capitolul II. Partea experimentală

II.1 Sinteza nanobipiramidelor de aur

Pentru a sintetiza nanobipiramidele de aur am folosit metoda seed-to-growth (StG), sinteză în doi pași, primul pas fiind sinteza germeilor (eng. seeds) și al doilea fiind sinteza soluției de creștere (eng. growth) ²¹. Germeii i-am primit ca atare fiind deja sintetizați de Andreea Câmpu în cadrul Institutului de Cercetări Interdisciplinare în Bio-Nano-Științe. Soluția de creștere este mediul în care introducem germeii de aur, și conține ioni de aur care se vor atașa de germeni. Soluția de creștere constă în CTAB, care este un surfactant și un agent stabilizator; sursa de ioni de aur, HAuCl_4 ; AgNO_3 , sare care permite depunerea ionilor de aur pe germeni într-o singură direcție; HQL, un agent reducător care limitează formarea de nanosfere și încetinește reacția de reducere a ionilor de aur pentru a asigura puritate optică mai bună. Concret vorbind, sinteza este realizată cu 4 mL de CTAB cu concentrația 45 mM, 40 μL de HAuCl_4 cu concentrația 25 mM, 30 μL de AgNO_3 cu concentrația 5 mM, și 60 μL de HQL cu concentrația 0.4 M. Elementele soluției de creștere sunt adăugate succesiv, una după alta, în ordinea în care au fost prezentate anterior (Figura 4A) . După adăugarea fiecărui constituent soluția se amestecă bine. La final, se adaugă soluția de germeni, cantități variabile, în cazul meu am folosit cantități cuprinse între 10 μL și 200 μL . Cantitățile diferite de germeni determină cantitatea de ioni de aur depusă pe fiecare nanobipiramidă, cu atât sunt mai puțini germeni cu atât fiecărui germen îi va reveni mai mulți ioni de aur, deci vor fi mai mari (acest lucru va fi foarte relevant pentru caracterizarea optică a acestora). În urma sintezei, soluțiile obținute sunt introduse la cuptor la temperatura de 45°C timp de 50 de minute (Figura 4B).

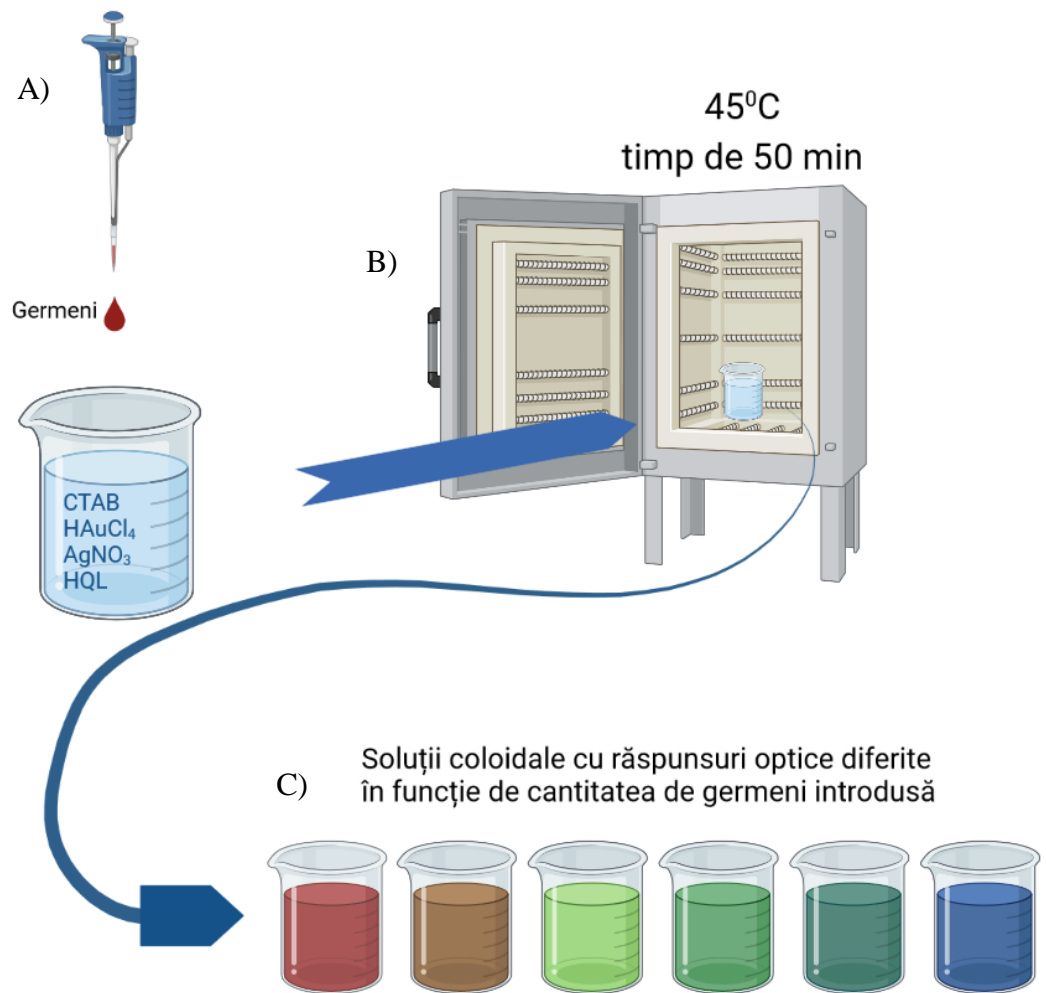


Figura 4 Sinteza nanobipiramidelor schematizată

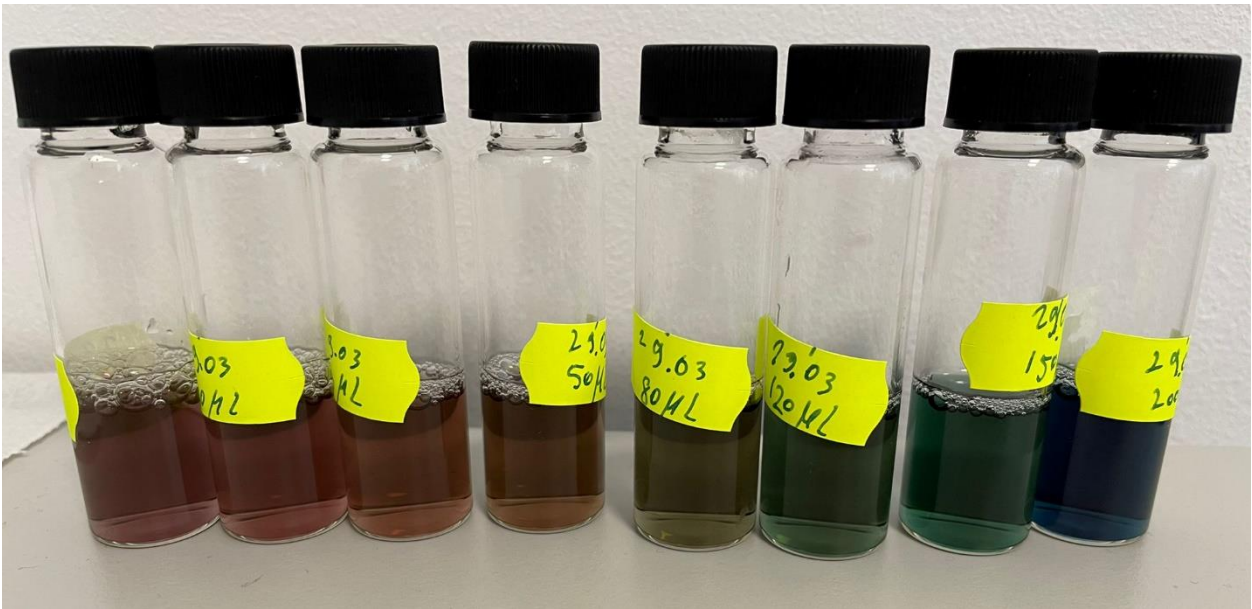


Figura 5 Soluții coloidale de nanobipiramide de aur sintetizate cu cantități diferite de germeni

La final, soluțiile vor avea culori diferite, culori determinate de mărimea diferită a nanobipiramidelor (Figura 4C și Figura 5).

Soluțiile rezultate conțin CTAB, ceea ce poate reprezenta o problemă deoarece acesta cristalizează la temperatura camerei și, fiind surfactant, produce spumă, ceea ce nu este de dorit. Pentru a elimina CTAB-ul din soluții, acestea sunt centrifugate timp de 15 minute la 8000 de rotații pe minut, astfel nanobipiramidele se vor depune pe fundul compartimentelor iar surfactantul poate fi extras și înlocuit cu apă ultrapură. Procesul se repetă de 1-2 ori pentru a ne asigura că am eliminat majoritatea surfactantului (Figura 6).

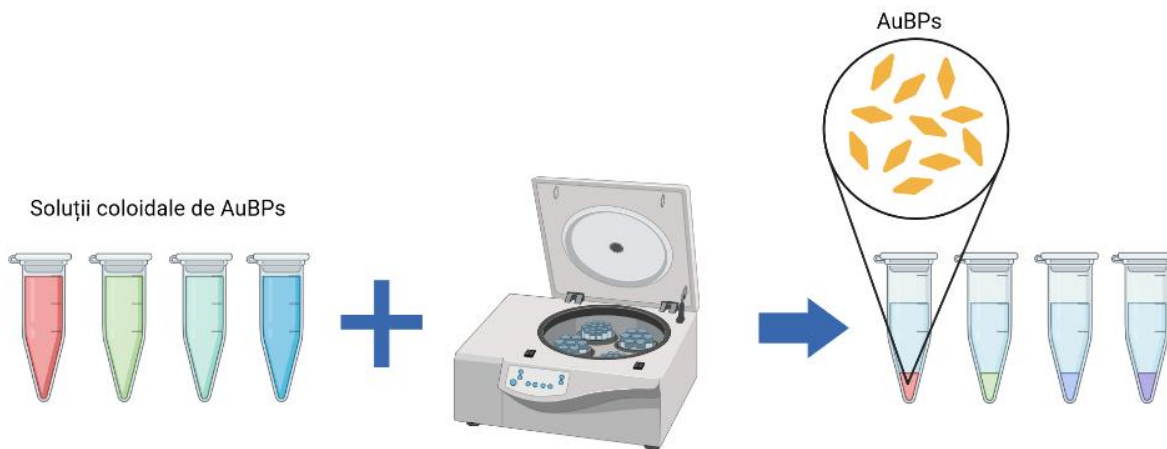


Figura 6 Procesul de centrifugare al soluțiilor coloidale de nanobipiramide de aur

Pentru a confirma dacă surfactantul a fost înlăturat cu succes este suficient să verificăm spectrele de extincție a soluțiilor coloidale în domeniul UV, căci CTAB-ul are maximul de absorbție în domeniul UV²². În Figura 7 se observă clar cum intensitatea spectrului de extincție a soluției coloidale spălate scade considerabil în domeniul UV, ceea ce ne demonstrează că CTAB-ul a fost înlăturat cu succes.

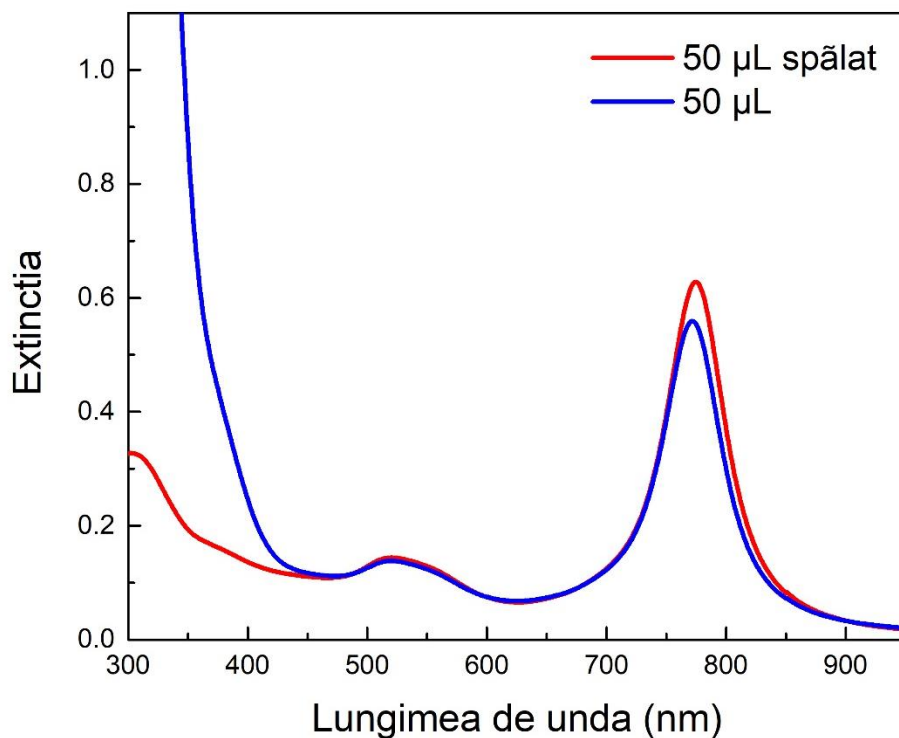


Figura 7 Spectrul de extincție a soluției coloidale de nanobipiramide sintetizată cu 50 μL de germeni

II.2 Caracterizarea fizico-chimică a nanobipiramidelor de aur

După cum am observat în capitolul anterior, nanobipiramidele de aur pot avea diverse culori din spectrul vizibil, fapt ce se datorează proprietăților lor optice unice²³. Dat fiind mărimea lor nanometrică, spectrul de absorbție a nanobipiramidelor este dat de LSPR (Localized Surface Plasmon Resonance – Rezonanță plasmonică localizată de suprafață), care rezultă din oscilația colectivă a electronilor din banda de valență în urma excitării rezonante cu o sursă de radiație electromagnetică. În cazul bipiramidelor, spectrul de extincție va prezenta două maxime, corespunzând oscilației plasmonice pe axa transversală (banda plasmonică transversală) și axa longitudinală (banda plasmonică longitudinală), respectiv. Cum sintezele sunt realizate cu

aceeasi germeni, vârful din graficul de extincție al nanobipiramidelor corespunzător oscilației transversale rămâne constant, la aproximativ 512 nm, iar în funcție de lungimea nanobipiramidelor, vârfurile corespunzătoare oscilațiilor longitudinale se vor găsi la lungimi de undă diferite (Figura 8).

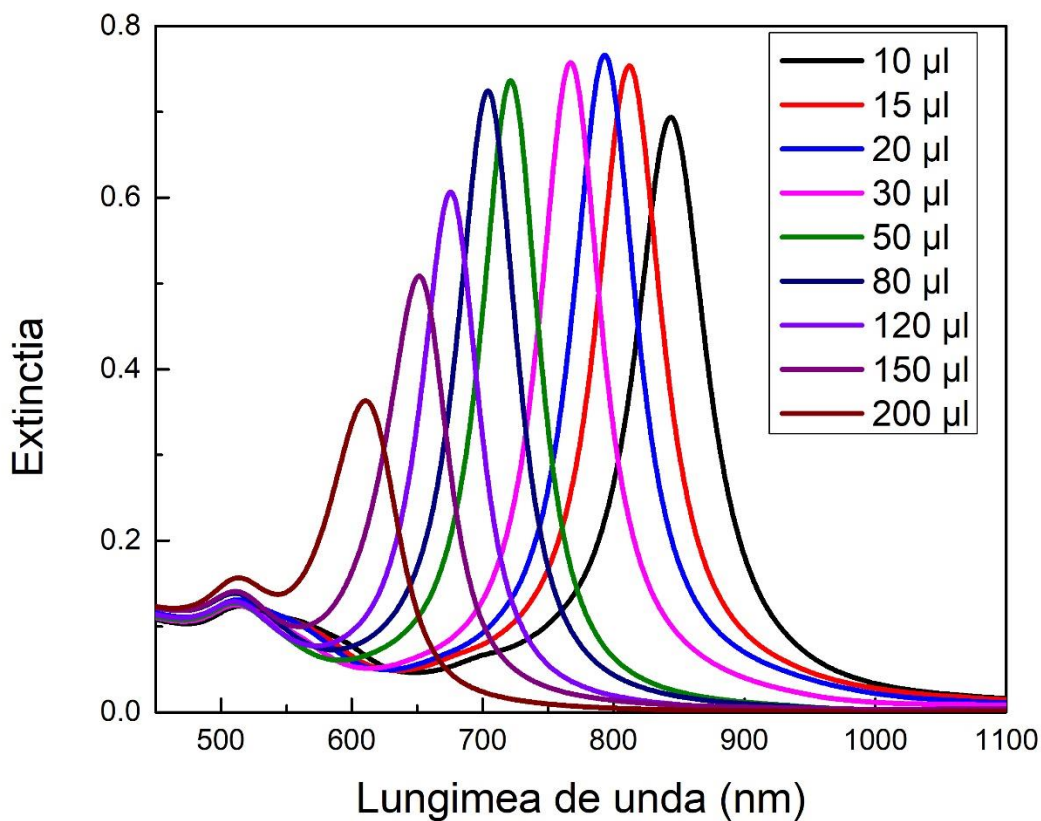


Figura 8 Spectrul de extincție a soluțiilor coloidale de nanobipiramide rezultate din sinteze în care s-au folosit cantități diferite de germeni

Cum am menționat anterior, banda plasmonică transversală este identică pentru toate sintezele. Putem observa că cu cât cantitatea de germeni adăugată în soluția de creștere este mai mică (deci nanobipiramidele sunt mai mari), cu atât banda plasmonică longitudinală se află la lungimi de undă mai mari (deci energii mai mici). Acest lucru ne demonstrează că putem tuna lungimea de undă la care regăsim banda plasmonică longitudinală, deci implicit răspunsul plasmonic al nanobipiramidelor.

De asemenea, trebuie să ne asigurăm că în urma centrifugării nanobipiramidele nu își pierd proprietățile fizico-chimice. Centrifugarea este esențială pentru înlăturarea CTAB-ului din soluție, deoarece pe lângă faptul că este un surfactant care cristalizează la temperatura camerei, acesta prezintă maxime de absorbție în domeniul UV (ceea ce ne permite să evaluăm cantitativ cât de eficient l-am înlăturat din soluție). În graficul de mai jos sunt evidențiate spectrele de extincție ale aceeași sinteze, înainte și după centrifugare. Spectrul nu s-a schimbat semnificativ, doar că maximul benzii plasmonice longitudinale a shiftat 3 nm spre domeniul IR. Shiftul observat este produs de schimbarea constantei dielectrice a mediului (mediul diferă, fiind mai multă apă și mai puțin surfactant).

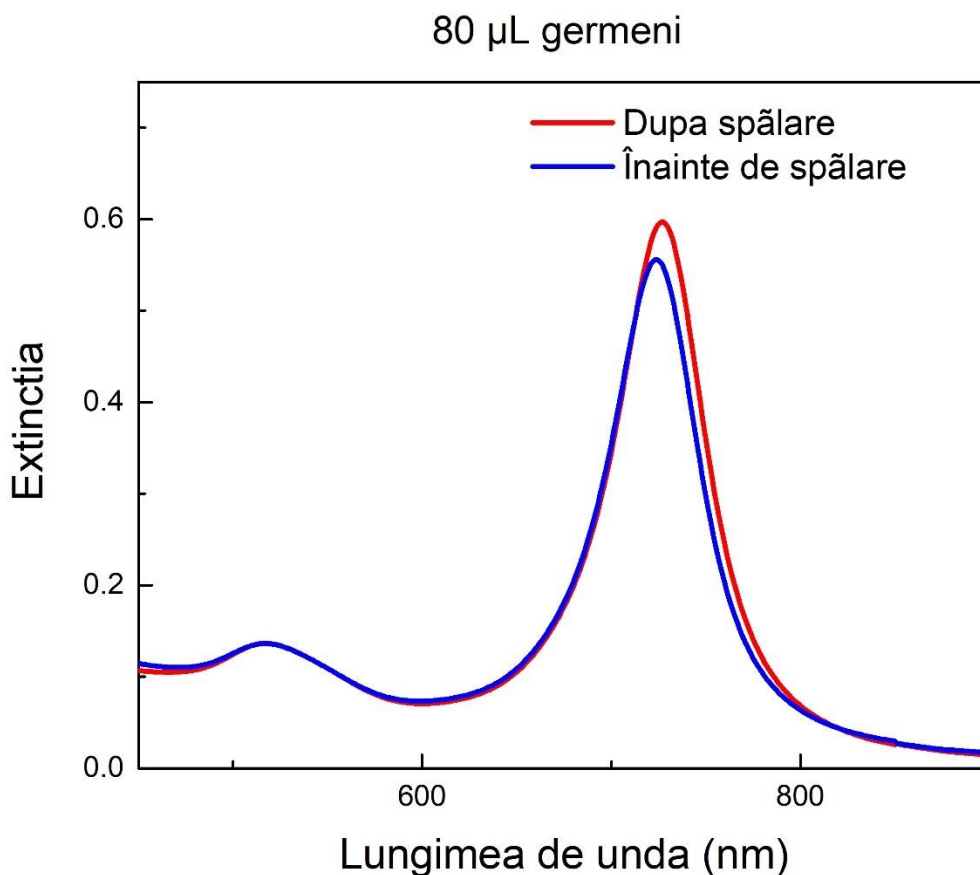


Figura 9 Spectrul de extincție înainte și după spălarea nanobipiramidelor

După ce ne-am asigurat că putem centrifuga soluția coloidală de nanobipiramide fără să-i alterăm proprietățile trebuie să ne asigurăm că aceste proprietăți sunt stabile în timp. Pentru nanoparticule, lăsate suficient timp, există riscul ca acestea să agrege, fapt ce ar schimba spectrul

de extincție. În schimb, dacă forța de repulsie dintre nanobipiramide este suficient de puternică acestea nu vor agrega, iar pentru a determina tăria forței de repulsie trebuie să măsurăm potențialul Zeta. Dacă acesta este pe 30 mV (sau sub -30 mV), putem considera că nanoparticulele sunt stabile²⁴.

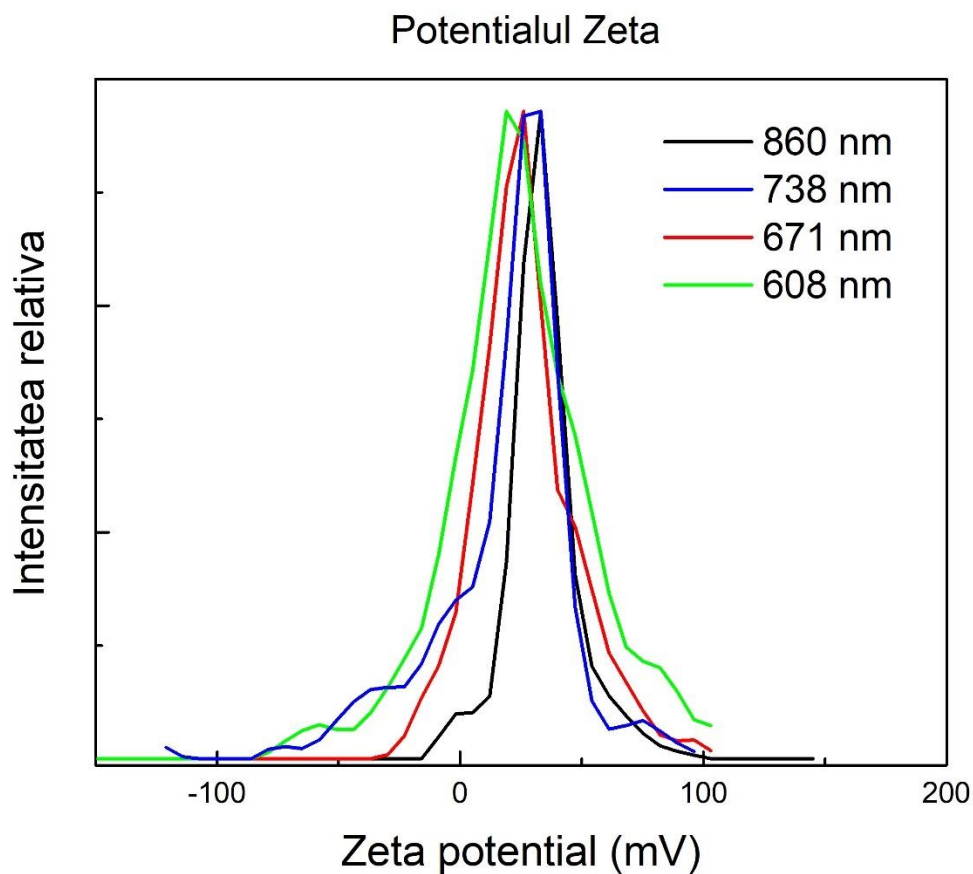


Figura 10 Potențialul zeta a 4 seturi de nanobipiramide cu răspuns plasmonic diferit

În Figura 10 sunt reprezentate analiza potențialului zeta a 4 tipuri de nanobipiramide de mărimi diferite (identificate după maximul benzii plasmonice longitudinale, maxime regăsite la 607 nm, 671 nm, 738 nm, și 860 nm, respectiv). Observăm că nanoparticulele sunt la limita stabilității și că prezintă un potențial zeta pozitiv (ceea ce ne indică că ar trebui să poată fi introduse într-o substanță cu potențial negativ fără probleme).

II.3 Imobilizarea controlată a nanobipiramidelor pe pansament de bumbac

Următorul pas de realizat a fost imobilizarea nanobipiramidelor în pansamente de bumbac, pansamente de bumbac procurate de la farmacia locală.

Prima problemă pe care mi-am pus-o a fost dacă, teoretic, nanobipiramidele pot fi înglobate în pansamentul de bumbac, mai exact dacă nu există forțe de repulsie electrostatică. Consultând literatura am găsit că potențialul zeta al bumbacului este negativ²⁵, iar anterior am determinat că potențialul zeta al nanobipiramidelor este pozitiv, deci cel puțin teoretic nu ar trebui să existe probleme.

Am încercat depunerea nanobipiramidelor în bumbac prin diverse metode. Inițial am „picurat” diferite cantități de soluție coloidală pe pătrățelele de bumbac cu latura de aproximativ 3 centimetri folosind eprubeta, ulterior lăsând să se usuce la temperatura camerei. Pentru cantități mici (e.g. 50 μL) metoda a fost satisfăcătoare, dar pentru cantități mai mari de soluție coloidală (e.g. 200 μL) în timpul uscării nanobipiramidele se „scurgeau” la periferia pătrățelelor de bumbac și în compartimentul în care erau lăsate la uscat. În urma acestei observații am schimbat metoda de depunere. Acum creștem cantitatea iterativ, punând 50 de μL de soluție coloidală pe pătrățelul de bumbac, apoi îl punem la cuptor timp de 30 de minute la 30°C, măsurăm spectrul de absorbție, și repetăm procesul.

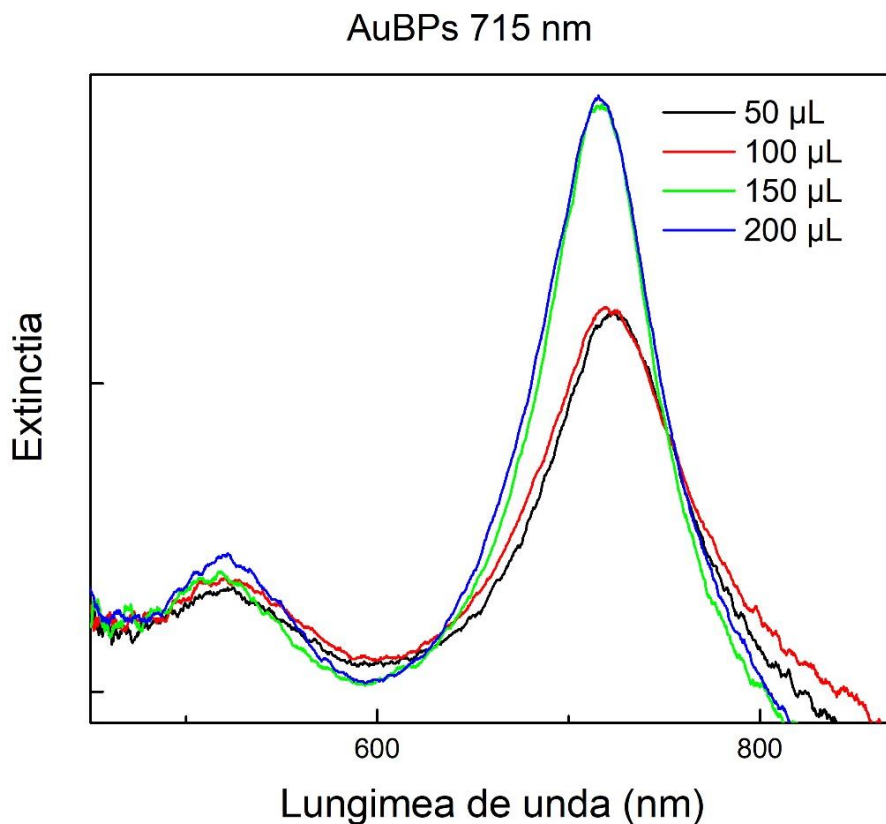


Figura 11 Spectre de extincție ale nanobipiramidelor immobilizate în bumbac

În Figura 11 este reprezentat spectrul de extincție al nanobipiramidelor immobilizate pe pansamentul de bumbac prin metoda adăugării de soluție coloidală în mod iterativ. Soluția coloidală folosită are maximul benzii plasmonice longitudinale la 715 nm, iar nanobipiramidele immobilizate în pansamentul de bumbac au maximul de absorbție în jur de 720 nm (pentru cazul în care am picurat 50 μL , respectiv 100 μL de soluție coloidală pe pătrățelele de bumbac) și 716 nm (pentru cazul în care am picurat 150 μL , respectiv 200 μL de soluție coloidală pe pătrățelele de bumbac). Acest lucru ne confirmă că, pentru cantități relativ mari de nanobipiramide adăugate pe pansamentul de bumbac, spectrul lor de absorbție nu se schimbă semnificativ. În schimb se poate observa o creștere a densității optice, ceea ce înseamnă că numărul de nanobipiramide immobilizate a crescut, de asemenea.

În Figura 12 se regăsesc spectrele de extincție a pansamentului de bumbac cu nanobipiramide în urma adăugării a 200 μL de soluție coloidală. Spectrele în bumbac sunt shiftate față de spectrele în soluția coloidală în limita de 5 nm, ceea ce ne confirmă că putem folosi pansamentul de bumbac.

200 μ L soluție nanobipiramide picurată în bumbac

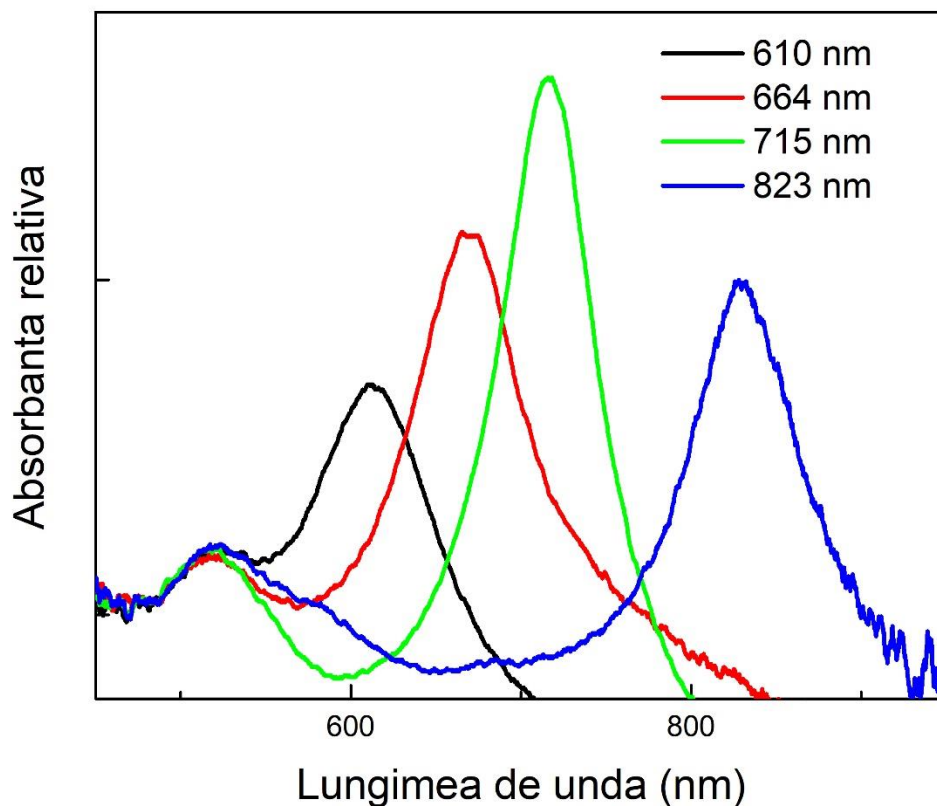


Figura 12 Spectrul de extincție al pansamentelor de bumbac în care au fost picurate 200 μ L de soluție coloidală

Deși metoda anterioară oferă rezultate relativ satisfăcătoare, problema reală este lipsa reproductibilității (erori de pipetare, picurat în zone diferite ale pansamentului de bumbac etc.). Pentru a rezolva această problemă procesul de imobilizare a nanobipiramidelor trebuie automatizat. Din acest motiv am renunțat la metoda picurării cu pipeta și am folosit metoda de imersii urmate de uscări repetate folosind Holmarc Dip Coating Unit with Infrared Heater Model: HO-TH-028BT (ilustrat în figura de mai jos).



Figura 13 Holmarc Dip Coating Unit with Infrared Heater²⁶

În această metodă am folosit șase fâșii de bumbac, dintre care cinci au fost imersate în 5 mL de soluții coloidale (imersate inițial de 3 ori, dar concentrația de coloizi fiind mică au fost necesare încă trei imersii pentru a avea un răspuns plasmonic satisfăcător), soluții cu răspunsuri plasmonice la 643 nm, 727 nm, 775 nm, 836 nm, și 939 nm (soluții sintetizate cu 200 μL , 80 μL , 50 μL , 30 μL , și 10 μL soluție de germeni, respectiv). Ultima fâșie de bumbac a fost folosită ca referință pentru SERS.



Figura 14 Stânga: Fâșii de bumbac imersate în soluții coloidale cu răspunsuri plasmonice diferite. Dreapta: Fâșie de bumbac folosită ca referință.

În Figura 15 sunt ilustrate spectrele de extincție a pansamentelor de bumbac în care am imobilizat nanobipiramide de mărimi diferite.

Spectrul de extincție al nanobipiramidelor în bumbac

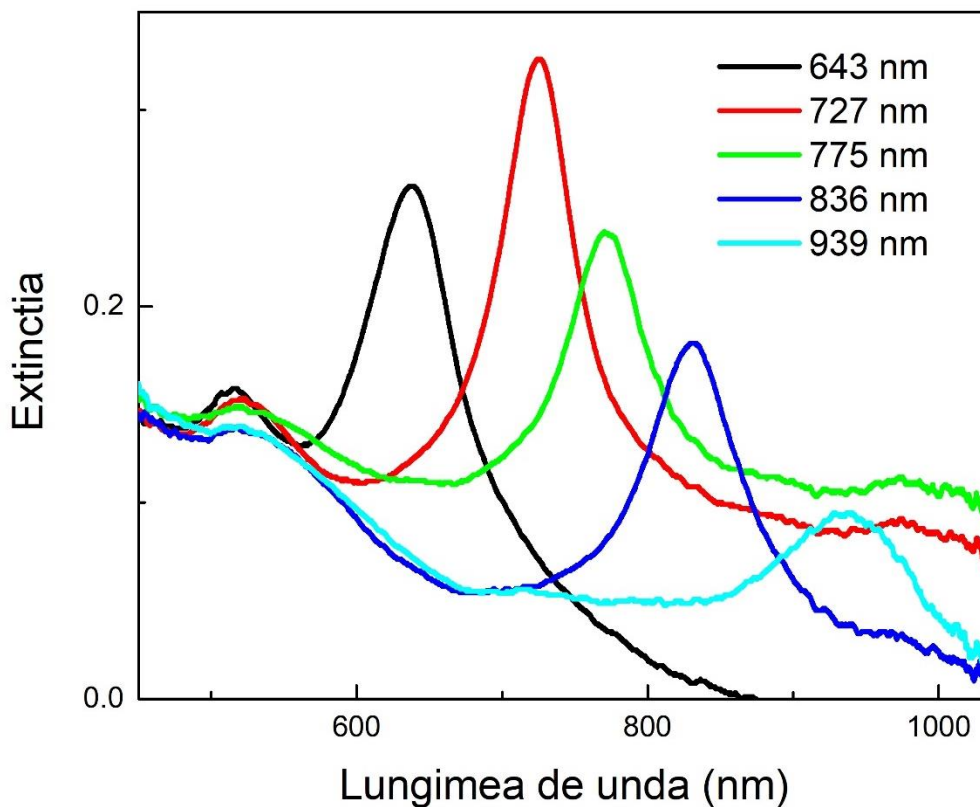


Figura 15 Spectrele de extincție a pansamentelor plasmonice rezultate prin dip coating

Shiftul benzilor plasmonice longitudinale a fost de 5 nm pentru pansamentul cu nanobipiramide care aveau maximul de extincție la 643 nm, iar pentru celelalte shiftul a fost de 2-4 nm, în toate cazurile shiftul a fost spre lumină albastră. Shiftul benzilor plasmonice este datorat schimbării mediului în care se află nanobipiramidele, deci implică și a constantei dielectrice a mediului înconjurător, parametru care afectează răspunsul plasmonic. Spectrele rezultate sunt asemănătoare cu spectrele soluțiilor coloidale, ceea ce este de dorit, iar shiftul benzilor plasmonice este mic (Figura 16).

Comparatie spectre în bumbac vs în soluție coloidală

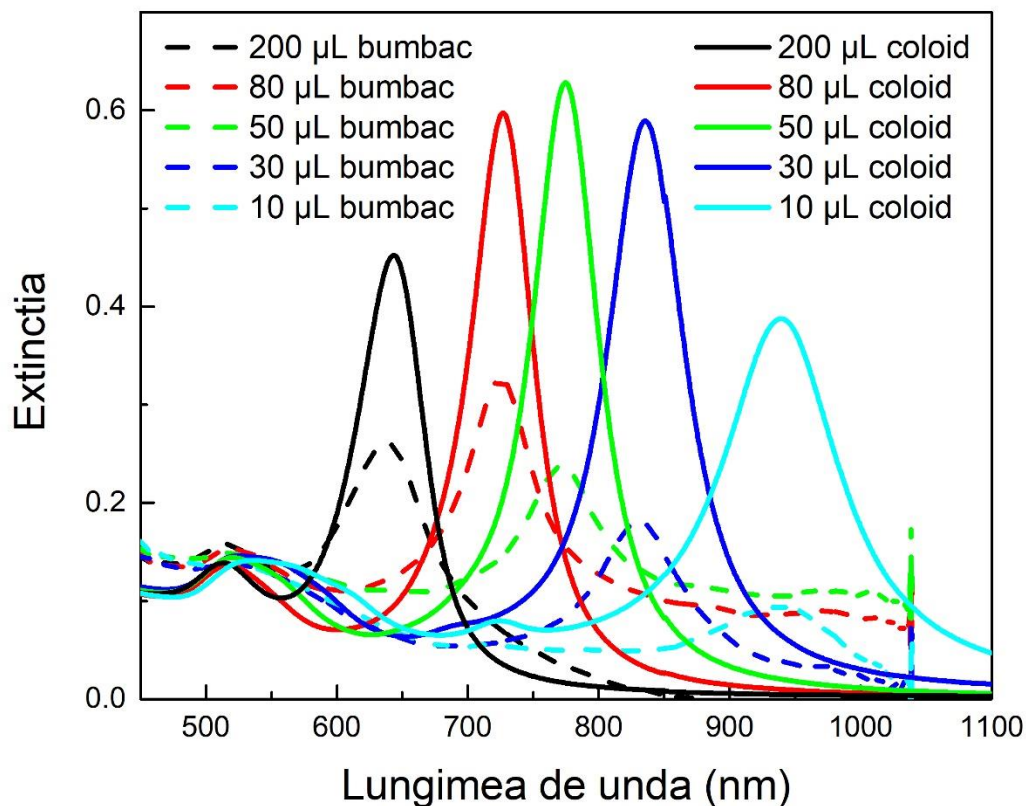


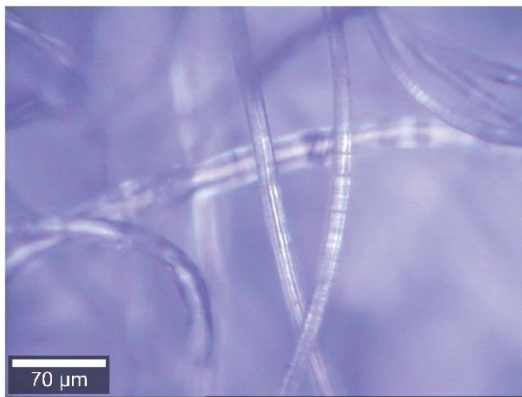
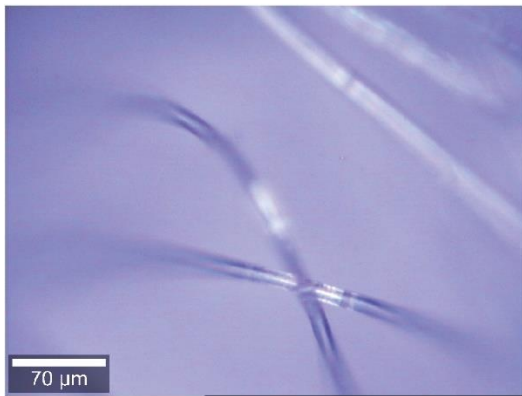
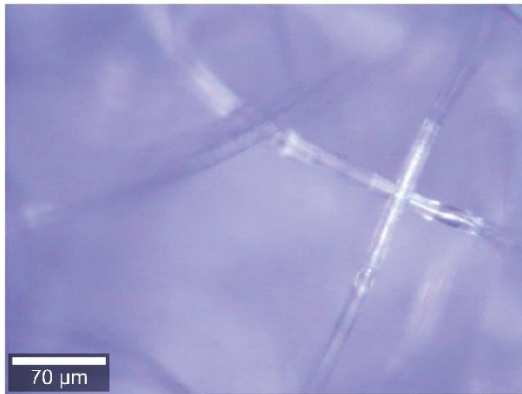
Figura 16 Spectrele de absorbție ale nanobipiramidelor în soluție coloidală (linie continuă) și în pansamentul de bumbac (linie punctată)

II.4 Validarea SERS a pansamentului plasmonic dezvoltat

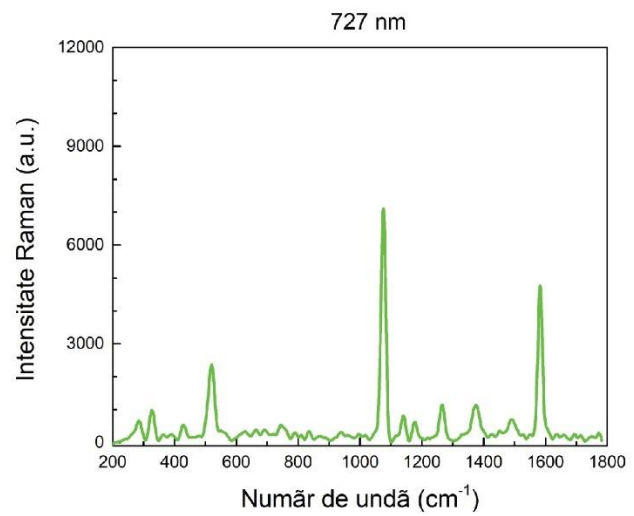
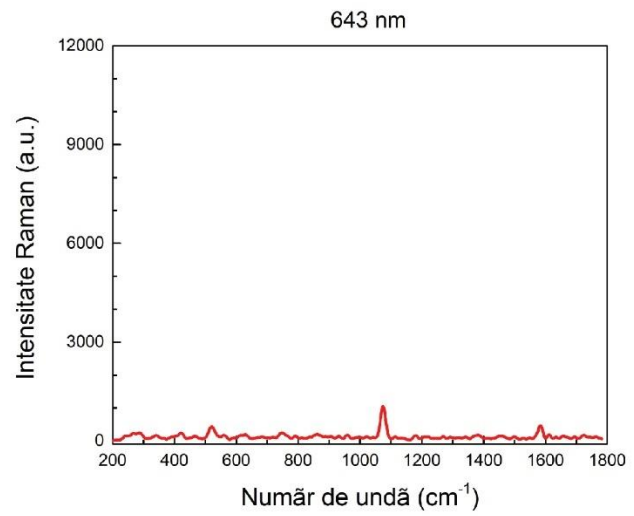
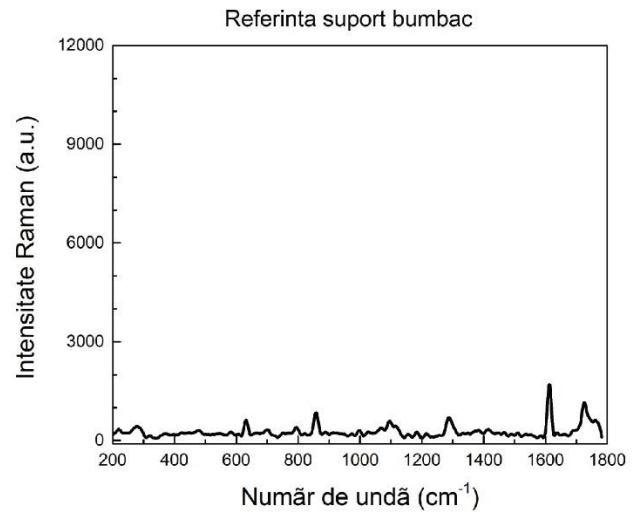
În urma sintetizării nanobipiramidelor, caracterizării lor, și imobilizării lor în pansamente de bumbac, a rămas să pun în evidență ce mi-am propus de la început: abilitatea nanobipiramidelor de a amplifica semnalul Raman.

Pentru a pune în evidență proprietățile SERS ale nanobipiramidelor am picurat cu pipeta câte 20 de μL de soluție de 4-MBA (4-mercaptobenzoic acid) concentrație 10^{-5} M în pansamentele plasmonice și am realizat spectre Raman ale acestora. Pentru obținerea spectrelor am iradiat probele cu un laser cu maximul de emisie la 785 nm.

Coloana 1



Coloana 2



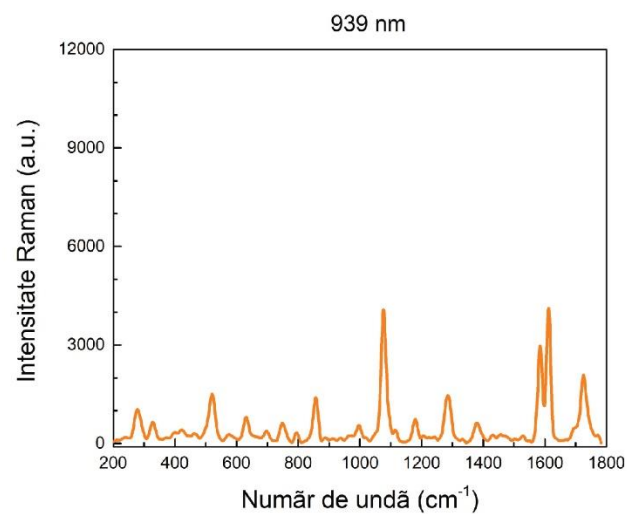
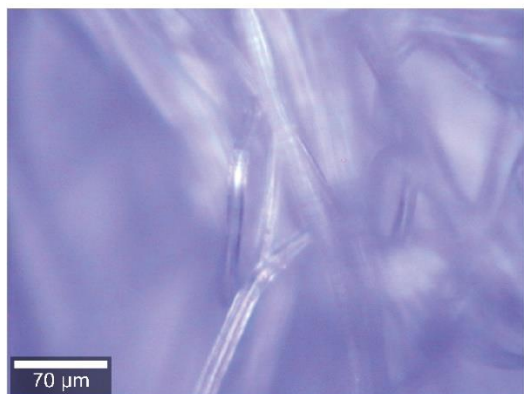
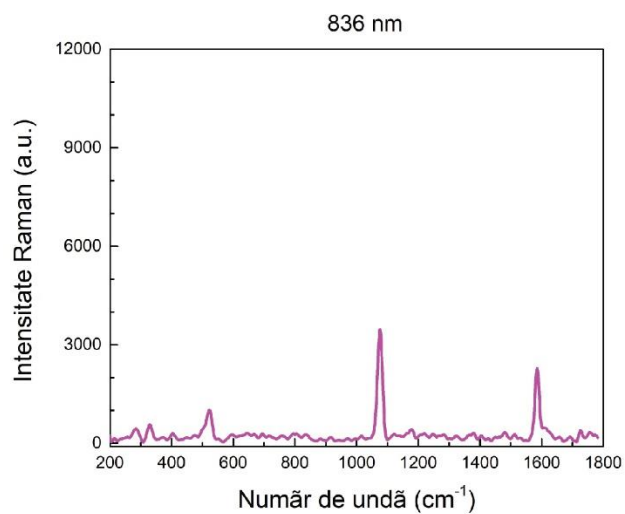
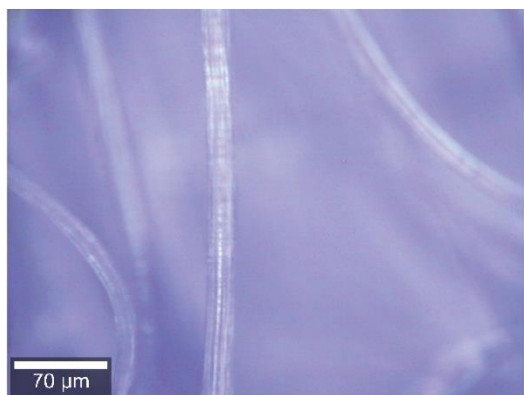
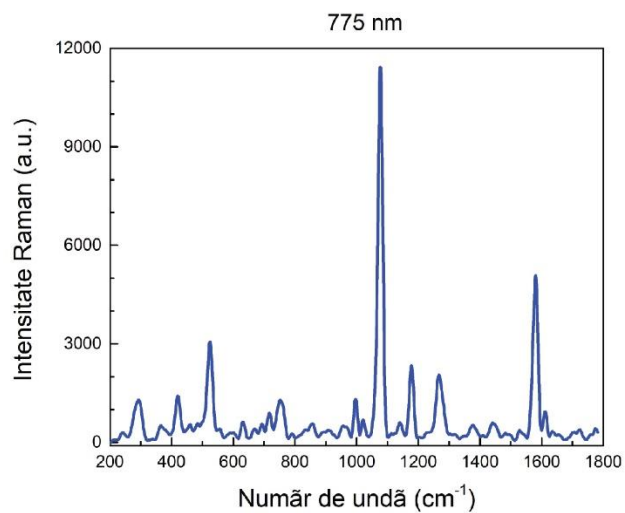
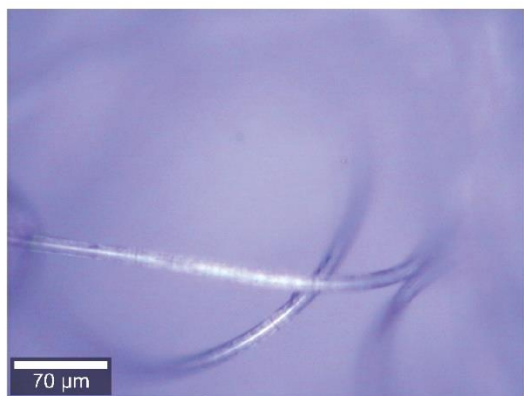


Figura 17 (Coloana 1) Imagini optice obținute la microscop ale pansamentelor plasmonice ; (Coloana 2) Spectrele Raman ale pansamentelor plasmonice identificate după răspunsul plasmonic al nanobipiramidelor folosite

În spectrele Raman de mai sus putem identifica trei peak-uri de interes, unul la 1077 cm^{-1} , unul la 1583 cm^{-1} , iar celălalt la 1612 cm^{-1} . Peak-urile de la 1077 cm^{-1} și de la 1583 cm^{-1} sunt cele mai intense și cum nu apar în măsurătoarea de referință putem afirma că sunt datorate prezenței 4-MBA în pansamentele plasmonice. Peak-ul de la 1612 cm^{-1} , deși de intensitate mică (fapt ce poate face identificarea lui dificilă fiindcă se află lângă un peak de intensitate mare), este de interes deoarece îl putem identifica și în măsurătoare de referință, ceea ce înseamnă că acest peak este datorat bumbacului.

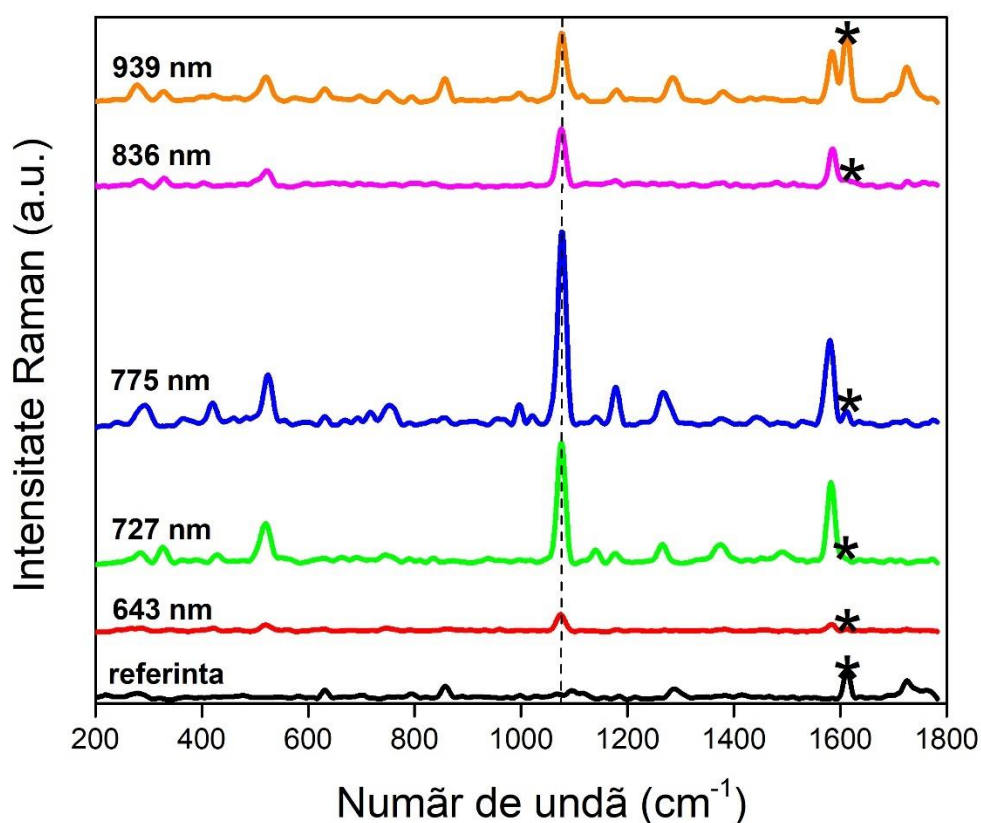


Figura 18 Spectrele Raman ale tuturor pansamentelor plasmonice în care cu linie punctată am evidențiat peak-ul cu care identificăm 4-MBA și cu stele am evidențiat peak-ul corespunzător bumbacului

În spectrele Raman de mai sus se poate observa o dependență a semnalului în funcție de banda plasmonică longitudinală a nanobipiramidelor. Cel mai bun răspuns este dat de pansamentul plasmonic cu banda plasmonică longitudinală aflată la 775 nm , ceea ce este și normal, deoarece este cea mai apropiată de maximul de emisie al laserului folosit (785 nm). Cu

atât banda plasmonică longitudinală a pansamentelor se îndepărtează de 785 nm cu atât intensitatea semnalului scade.

Capitolul III: Concluzii finale și perspective de viitor

În acest studiu am sintetizat nanobipiramide de aur cu răspuns plasmonic tunabil și care sunt stabile în timp, fapt confirmat de potențialul Zeta. Nanobipiramidele sintetizate au fost imobilizate în pansamente de bumbac, pansamentele plasmonice rezultate fiind stabile (lucru confirmat de potențialul Zeta negativ al bumbacului și pozitiv al nanobipiramidelor) și păstrează proprietățile optice ale nanobipiramidelor (fapt confirmat de spectrele de extincție ale soluțiilor coloidale de nanobipiramide și a pansamentelor plasmonice). În final am demonstrat abilitățile de amplificare a semnalului Raman deținut de aceste pansamente, și am dedus ce nanoparticule trebuie folosite pentru a avea o amplificare cât mai mare (banda plasmonică longitudinală trebuie să fie cât mai apropiată de maximumul de emisie al laserului folosit în excitarea analitului), în acest studiu unde am folosit laser cu maxim de emisie la 785 nm pansamentul cu banda plasmonică longitudinală aflată la 775 nm a oferit cea mai bună amplificare a semnalului.

Pentru viitor îmi propun să funcționez pansamentele plasmonice cu glucoză oxidază pentru determinarea cantității de glucoză din transpirație, cu rol de a determina dacă un individ suferă sau nu de diabet.

Anexe

Anexa 1

Spectrometrul Jasco V-670 UV-Vis-NIR



Figura 19 Spectrometrul UV-Vis-NIR folosit pentru obținerea spectrelor de extincție ale soluțiilor coloidale de nanobipiramide

Spectrele de extincție UV-Vis-NIR ale nanoparticulelor de aur coloidal AuBPs au fost măsurate la temperatura camerei utilizând un spectrometru UV-Vis-NIR cu dublă rază, modelul V-670 de la Jasco International CO., Ltd, Tokyo, Japonia, cu o lățime de bandă de 2 nm și o rezoluție spectrală de 1 nm.

Anexa 2

Spectrometrul Optic Portabil Ocean Optics UV-Vis-NIR USB 4000

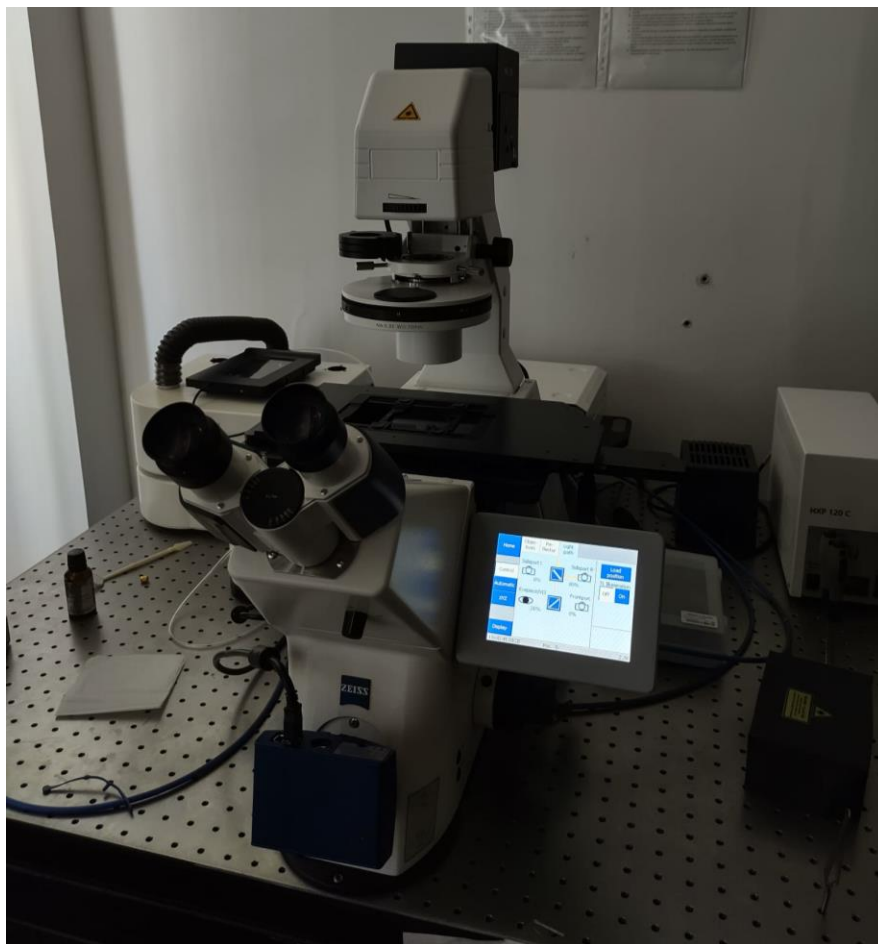


Figura 20 Spectrometrul UV-Vis-NIR cuplat cu microscop folosit pentru obținerea spectrelor de extincție ale pansamentelor plasmonice

Răspunsurile plasmonice ale nanobipiramidelor immobilizate în pansamente de bumbac au fost colectate folosind un spectrometru optic UV-Vis portabil Ocean Optics USB 4.000, cuplat la un microscop ZEISS Axio Observer Z1 printr-o fibră optică cu un diametru de bază de 600 μm . Spectrele de extincție au fost înregistrate în modul de absorbție, utilizând 3 acumulări și un timp de integrare de 50 ms, rezoluția spectrală a spectrofotometrului fiind de 0,2 nm.

Potențialul Zeta – Zetasizer Nano ZS90 Malvern Instrument



Figura 21 Instrumentul folosit pentru a măsura potențialul Zeta al nanobipiramidelor

Potențialul Zeta este o măsură a sarcinii particulei și este utilizat pentru evaluarea interacțiunilor electrostatice de respingere sau atracție dintre particule. Este definit în legătură cu dublul strat electric din jurul particulei, format din regiunea Stern, în care ionii sunt strâns legați, și regiunea cu ioni slab legați. Limita virtuală a acestei regiuni difuze este denumită suprafața forfecării hidrodinamice. Potențialul Zeta reprezintă de fapt potențialul electric existent la această limită. În elaborarea lucrării am folosit aparatul Zetasizer Nano ZS90 pentru a măsura potențialul zeta al nanobipiramidelor de aur.

Anexa 4

Spectrometrul Raman portabil Raman Systems R3000CN



Figura 22 Spectrometrul Raman portabil cuplat la diodă laser și laptop folosiți pentru obținerea spectrelor SERS ale pansamentelor plasmonice

Spectrele SERS ale pansamentelor plasmonice în care am picurat 4-MBA au fost realizate folosind spectrometrul Raman portabil Raman Systems R3000CN, echipat cu o diodă laser care emite la 785 nm cuplată printr-o fibră optică cu diametrul de bază de 100 μm . Măsurătorile laser au fost achiziționate la puterea laserului de 200 mW și cu timp de integrare a spectrului de 10s.

Bibliografie

- ¹ Omorogieva Ojo, “Recent Advances in Nutrition and Diabetes,” *Nutrients* 13, no. 5 (May 2021): 1573, <https://doi.org/10.3390/nu13051573>.
- ² Lutz Heinemann, “Finger Pricking and Pain: A Never Ending Story,” *Journal of Diabetes Science and Technology* 2, no. 5 (September 2008): 919–21, <https://doi.org/10.1177/193229680800200526>.
- ³ Amay J. Bandodkar et al., “Wearable Sensors for Biochemical Sweat Analysis,” *Annual Review of Analytical Chemistry* 12, no. 1 (2019): 1–22, <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061318-114910>.
- ⁴ Andreea Campu et al., “Gold NanoBipyramids Performing as Highly Sensitive Dual-Modal Optical Immunosensors,” *Analytical Chemistry* 90, no. 14 (July 17, 2018): 8567–75, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01689>.
- ⁵ Xiaoran Tian et al., “Fabrication of Plasmonic Cotton Gauze-Ag Composite as Versatile SERS Substrate for Detection of Pesticides Residue,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 257 (August 5, 2021): 119766, <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119766>.
- ⁶ Mostafa A. El-Sayed, “Small Is Different: Shape-, Size-, and Composition-Dependent Properties of Some Colloidal Semiconductor Nanocrystals,” *Accounts of Chemical Research* 37, no. 5 (May 1, 2004): 326–33, <https://doi.org/10.1021/ar020204f>.
- ⁷ “Nanotechnology Applications in Cancer - PubMed,” accessed May 10, 2023, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17439359/>.
- ⁸ “Gold Nanoparticle Properties,” Cytodiagnosics Inc, accessed May 10, 2023, <https://www.cytodiagnosics.com/pages/gold-nanoparticle-properties>.
- ⁹ Gustav Mie, “Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen,” *Annalen der Physik* 330, no. 3 (1908): 377–445, <https://doi.org/10.1002/andp.19083300302>.
- ¹⁰ Marie-Christine Daniel and Didier Astruc, “Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology,” *Chemical Reviews* 104, no. 1 (January 2004): 293–346, <https://doi.org/10.1021/cr030698+>.
- ¹¹ “Raman Spectroscopy,” in *Wikipedia*, May 8, 2023, https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Raman_spectroscopy&oldid=1153819516.
- ¹² “Raman Spectroscopy,” in *Wikipedia*, May 8, 2023, https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Raman_spectroscopy&oldid=1153819516.
- ¹³ H. Edwards, “Modern Raman Spectroscopy—a Practical Approach. Ewen Smith and Geoffrey Dent. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, 2005. Pp. 210. ISBN 0 471 49668 5 (Cloth, Hb); 0 471 49794 0 (Pbk),” *Journal of Raman Spectroscopy - J RAMAN SPECTROSC* 36 (August 1, 2005): 835–835, <https://doi.org/10.1002/jrs.1320>.
- ¹⁴ “Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy - 1st Edition,” accessed May 16, 2023, <https://www.elsevier.com/books/principles-of-surface-enhanced-raman-spectroscopy/le-ru/978-0-444-52779-0>.
- ¹⁵ M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, “Raman Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode,” *Chemical Physics Letters* 26, no. 2 (May 15, 1974): 163–66, [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(74\)85388-1](https://doi.org/10.1016/0009-2614(74)85388-1).
- ¹⁶ David L. Jeanmaire and Richard P. Van Duyne, “Surface Raman Spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, Aromatic, and Aliphatic Amines Adsorbed on the Anodized Silver Electrode,” *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 84, no. 1 (November 10, 1977): 1–20, [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(77\)80224-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(77)80224-6).
- ¹⁷ Cheng Zong et al., “Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Bioanalysis: Reliability and Challenges,” *Chemical Reviews* 118, no. 10 (May 23, 2018): 4946–80, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00668>.
- ¹⁸ Christy L. Haynes, Adam D. McFarland, and Richard P. Van Duyne, “Surface-Enhanced Raman Spectroscopy,” *Analytical Chemistry* 77, no. 17 (September 1, 2005): 338 A–346 A, <https://doi.org/10.1021/ac053456d>.
- ¹⁹ P. Alonso-González et al., “Resolving the Electromagnetic Mechanism of Surface-Enhanced Light Scattering at Single Hot Spots,” *Nature Communications* 3, no. 1 (February 21, 2012): 684, <https://doi.org/10.1038/ncomms1674>; Song-Yuan Ding et al., “Nanostructure-Based Plasmon-Enhanced Raman Spectroscopy for Surface Analysis of Materials,” *Nature Reviews Materials* 1, no. 6 (April 26, 2016): 1–16, <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.21>.

-
- ²⁰ Roberto Pilot et al., "A Review on Surface-Enhanced Raman Scattering," *Biosensors* 9, no. 2 (June 2019): 57, <https://doi.org/10.3390/bios9020057>.
- ²¹ Julien R. G. Navarro et al., "Synthesis, Electron Tomography and Single-Particle Optical Response of Twisted Gold Nano-Bipyramids," *Nanotechnology* 23, no. 14 (March 2012): 145707, <https://doi.org/10.1088/0957-4484/23/14/145707>.
- ²² Nur Ain Asyiqin Anas et al., "Investigating the Properties of Cetyltrimethylammonium Bromide/Hydroxylated Graphene Quantum Dots Thin Film for Potential Optical Detection of Heavy Metal Ions," *Materials* 13, no. 11 (June 6, 2020): 2591, <https://doi.org/10.3390/ma13112591>.
- ²³ K. Kaur, "Optical Biosensing Using Localized Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles," 2011, <https://www.semanticscholar.org/paper/Optical-Biosensing-Using-Localized-Surface-Plasmon-Kaur/141f51816210aed7750c926a385329b87e51abc7>.
- ²⁴ Larsson, Mats, Adrian Hill, and John Duffy. "Suspension stability; why particle size, zeta potential and rheology are important." *Annual transactions of the Nordic rheology society* 20, no. 2012 (2012): 6.
- ²⁵ Thomas Luxbacher et al., "THE ZETA POTENTIAL OF TEXTILE FABRICS: A REVIEW," 2016.
- ²⁶ "Dip Coating Unit with with Infrared Dryer (Touch Screen)," accessed June 23, 2023, https://www.holmarc.com/dip_coating_unit_IR_touch.php.

DECLARAȚIE PE PROPRIE RĂSPUNDERE

Subsemnatul, Vătămanu Alexandru, declar că Lucrarea de licență 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 CS I Dr Monica Focșan, 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,
28.6.2023

Nume,
Vătămanu Alexandru

Semnătură

