

**UNIVERSITATEA “BABEȘ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE FIZICĂ
SPECIALIZAREA BIOFIZICĂ ȘI FIZICĂ MEDICALĂ
2022**

LUCRARE DE DISERTAȚIE

DETECTIA SERS A MOLECULELOR ANIONICE PRIN ACTIVAREA NANOSTRUCTURILOR DE ARGINT CU ADIONI CATIONICI

**Coordonator științific
Prof.dr.
Nicolae LEOPOLD**

**Absolvent
Florin-Petrică BÂRTA**

Cuprins

Abstract	3
Introducere	4
CAPITOL 1. TEORIE	5
1.1 Spectroscopia Raman	5
1.2. Spectroscopia Raman amplificată de suprafață (SERS)	9
1.2.2 Teoriile electromagnetice și chimice	13
CAPITOLUL 2. METODE EXPERIMENTALE	16
2.1 Sinteza substratului metalic solid.....	16
2.3 Achiziționarea spectrelor SERS.....	19
2.4 Moleculele anionice testate	20
CAPITOL 3. REZULTATE ȘI DISCUȚII	22
3.1 Acidul uric	22
3.2 Acidul salicilic	31
3.3 Rozbengal.....	39
Bibiografie	46

Abstract

Surface-Enhanced Raman Scattering is a powerful technique used to establish the chemical composition of some solutions, because of its increased specificity and selectivity and also being able to detect low concentrations of analytes. However, the role of cations in the SERS enhancement of anionic molecule SERS spectra is not fully understood. Literature studies showed that Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} lead to an enhancement of the SERS spectra of organic acids and anionic dyes in colloidal silver nanoparticles (AgNPs). The role of cations could be a result of morphological changes in the AgNPs or simply a promotion of the adsorption of anionic molecules to AgNPs surface. In this study, I tested the role of cations such as Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} in the SERS enhancement of the SERS spectra of uric acid, salicylic acid and Rose bengal using a solid silver substrate as an enhancement substrate. Silver nanowires (AgNw) synthesized using convective self assembly method were immersed in solution of the test molecules with and without cations. The SERS spectra acquired on AgNw after a 15 minutes immersion were compared to the results obtained when cit-AgNPs were used as enhancement substrates. No SERS spectra of uric acid, salicylic acid and Rose bengal were obtained when no cations was used.

When cations were added the SERS spectra of uric acid, salicylic acid and Rose bengal was observed. Ca^{2+} is the cations that lead to the enhancement of the SERS spectra of all three molecules. The fluorescence quenching of Reose bengal in the presence of Ca^{2+} shows that Rose Bengal chemisorps onto AgNw in the presence of Ca^{2+} .

The adsorption of uric acid, salicylic acid and Rose Bengal onto silver solid subatrate promoted by cations such as Ca^{2+} , Mg^{2+} and Zn^{2+} excludes the role of cations in the SERS enhancement as colloidal aggregates.

INTRODUCERE

Spectroscopia Raman amplificată de suprafață (SERS) este o tehnică utilizată în determinarea compoziției chimice a unor soluții datorită specificității și selectivității crescute a acestei metode. Mai mult, SERS este o tehnică capabilă să detecteze concentrații foarte mici de analiți, până la ordinul de o singură moleculă.

SERS necesită utilizarea unui substrat metalic pentru amplificarea semnalului provenit de la moleculele adsorbite pe suprafața metalică. Diferite substraturi metalice, fie solide, fie sub formă de soluții coloidale sunt folosite pentru detectarea prin SERS a diferitelor molecule. Soluțiile coloidale folosite pentru amplificarea semnalului SERS sunt stabilizate în general de surfactanți anionici. Astfel, moleculele anionice sunt de multe ori îndepărtate din jurul nanoparticulelor ca urmare a respingerii electrostatice dintre surfactant și molecula anionică de interes. Ca urmare, studiile din literatură privind detecția speciilor anionice prin SERS sunt mai puține față de cele privind detecția moleculelor cationice din cauza repulsiei electrostatice dintre analiții anionici și surfactanții folosiți pentru stabilizarea nanoparticulelor în soluție. Studii recente din literatură au detectat o varietate de molecule anionice folosind spectroscopia SERS, prin promovarea adsorbției acestor molecule la suprafața nanoparticulelor metalice prin intermediul unor cationi precum Ca^{2+} , Mg^{2+} . Concentrațiile de cationi folosite în aceste studii au fost mici, de ordinul submilimolar pentru a evita agregarea coloidului metalic. Pentru a evita schimbările morfologice și fizico-chimice ale substratului metalic coloidal în condiții de variații de pH sau concentrații mari de analiți, substraturile metalice solide sunt o alternativă. Ca urmare, un substrat metalic solid conduce la creșterea reproductibilității spectrelor SERS.

În cadrul acestei lucrări s-a urmărit efectul cationilor în amplificarea spectrelor SERS a unor acizi organici anionici, precum acidul salicilic și acidul uric și a unor coloranți anionici (Rose Bengal) folosind ca substrat de amplificare un substrat solid. Modelul se bazează pe importanța adionilor în activarea nanoparticulelor de argint, teorie dezvoltată de Otto et al. privind importanța efectului chimic în amplificarea SERS.

Primul capitol prezintă o scurtă introducere în Spectroscopia Raman oferind o imagine de ansamblu asupra efectului Raman și aplicațiile acestuia în diferite domenii, continuând cu descrierea Spectroscopiei Raman amplificată de suprafață (SERS). Cele două teorii care stau la

baza amplificării SERS sunt discutate împreună cu contribuțiile acestora la amplificarea finală a spectrelor SERS.

În al doilea capitol sunt prezentate metodele experimentale folosite pentru evidențierea efectului cationilor în amplificarea spectrelor SERS a unor molecule anionice folosind ca substrat de amplificare un substrat solid. De asemenea, al doilea capitol tratează metoda de sinteză a substratului solid prin metoda convective self-assembly.

Ultimul capitol prezintă rezultatele studiului privind amplificarea SERS a spectrelor acizilor organici anionici și a unor coloranți anionici în prezența cationilor în prezența unui substrat metalic solid. Este discutată acțiunea cationilor de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} asupra spectrelor moleculelor anionice, precum acid uric, acid salicilic, dar și un colorant anionic, Rose bengal. Rezultatele obținute în analiza efectului cationilor asupra promovării efectului SERS a moleculelor anionice în prezența unui substrat metalic solid au fost comparate cu rezultatele obținute folosind un coloid de nanoparticule de argint ca substrat de amplificare, rezultate prezentate în lucrarea de licență.

Concluziile oferă atât o imagine de ansamblu despre importanța cationilor în amplificarea spectrelor SERS a moleculelor anionice, cât și necesitatea alegerii cationului potrivit pentru a obține rezultate optime în cazul fiecărei molecule în parte.

CAPITOL 1. TEORIE

1.2 Spectroscopia Raman

Spectroscopia optică implică analiza spectrului optic care se generează ca urmare a interacțiunii luminii cu materia. Există o multitudine de forme de spectroscopii, avându-se în vedere tipul eșantionului investigat, procesele fizice subiacente care pot să apară în timpul interacțiunii luminii cu materia sunt: absorbția, emisia sau împrăștierea; procesele liniare sau neliniare; etc.

Interacțiunea moleculelor cu lumina poate fi determinată prin intermediul nivelurilor energetice ale moleculei respective, dar și de gradul de libertate pe care îl are molecula. Acestea se pot asocia fie cu mișcarea electronilor (niveluri de energie electronică), fie a atomilor din moleculă (niveluri de energie de rotație, vibrațională sau de translație).

Spectroscopia reprezintă o tehnică de detecție a compoziției chimice a probei, astfel că, fiecare moleculă are nivele energetice, rotaționale și vibraționale bine definite, pe baza cărora aceasta interacționează cu materia.

Pentru a avea posibilitatea de a vizualiza diferite niveluri energetice, dar și tranziții dintre molecule este potrivit să utilizăm diagrama Jablonski, materializată în *Figura 1.1*. Utilizarea acestui tip de diagramă este foarte importantă și des întâlnită în spectroscopia moleculară.

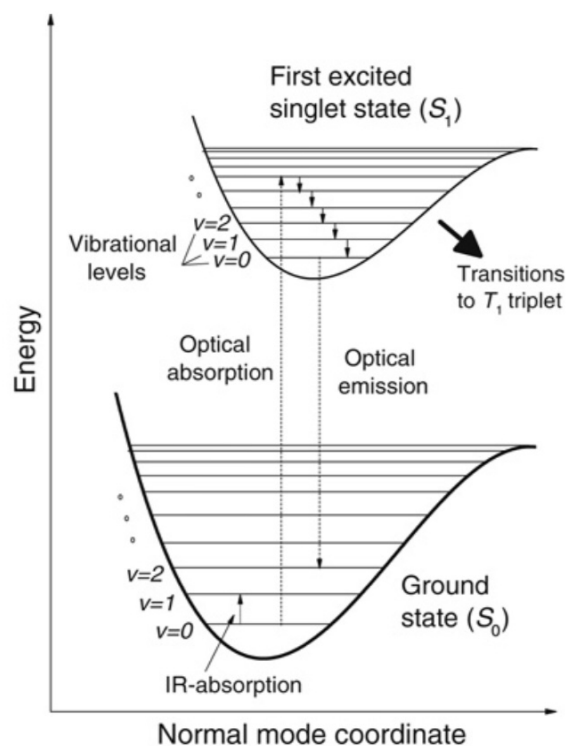


Figura 1.1. Diagrama Jablonski care descrie structura energetică a unei molecule.

Stările electronice pe care le poate avea o moleculă sunt reprezentate schematic la fel ca niște curbe îndrăznețe care arată energia stării pe care o au în funcție de coordonatele nucleare (atomice). Minimele de energie din aceste curbe corespund poziției de echilibru pe care o au atomii. În ceea ce privește starea motorială (starea vibrațională), fiecare dintre stările electronice create este materializată prin intermediul unor linii subțiri, tranziția stărilor fiind reprezentată prin săgeți. Indiferent de nivelul energetic (vibrațional sau electronic) acestaeste materializat prin intermediul unor linii orizontale.

Dintre toate tipurile de spectroscopii, spectroscopia Raman reprezintă una dintre metodele cele mai des folosite în analiza structurii chimice a probei. Procesul Raman a fost observat prima dată folosind instrumente optice rudimentare, precum filtre de culoare, folosind lumina provenită de la Soare ca sursă de lumină. Noul efect a fost observat ca urmare a detecției radiației cu energie mai mare decât fotonii incidenti (efect denumit ulterior anti-Stokes). „Conversia ascendentă” Raman observată de ochi în mai multe lichide organice a implicat un

proces de împrăștiere inelastică. De asemenea, analizarea și măsurarea unor semnale (fotoni) rezultați din efectul Raman poartă denumirea de Spectroscopie Raman.

Împrăștierea Rayleigh implică un tip de împrăștiere a radiațiilor electromagnetice sau a luminii, având particule mai mici decât undele radiatiei. În ceea ce privește frecvența luminoasă aceasta se află sub frecvența de rezonanță pe care o are particula de împrăștiere, iar cantitatea de împrăștiere poate să fie invers proporțională cu partea a patra din lungimea de undă. Distincția dintre împrăștierea Stokes și anti-Stokes este materializată în cadrul *Figurii 1.2*.

În momentul în care există o energie distinctă între starea vibrațională rezultantă și cea vibrațională inițială se concretizează o modificare de frecvență a fotonului emis. Diferența dintre inversul acestor două lungimi de undă se numește deplasare Raman, această valoare este direct legată de energie. Lungimea de undă este de ordinul nanometrelor, iar Raman Shift este exprimat în cm^{-1} , de aceea este necesară o conversie între cele două unități.

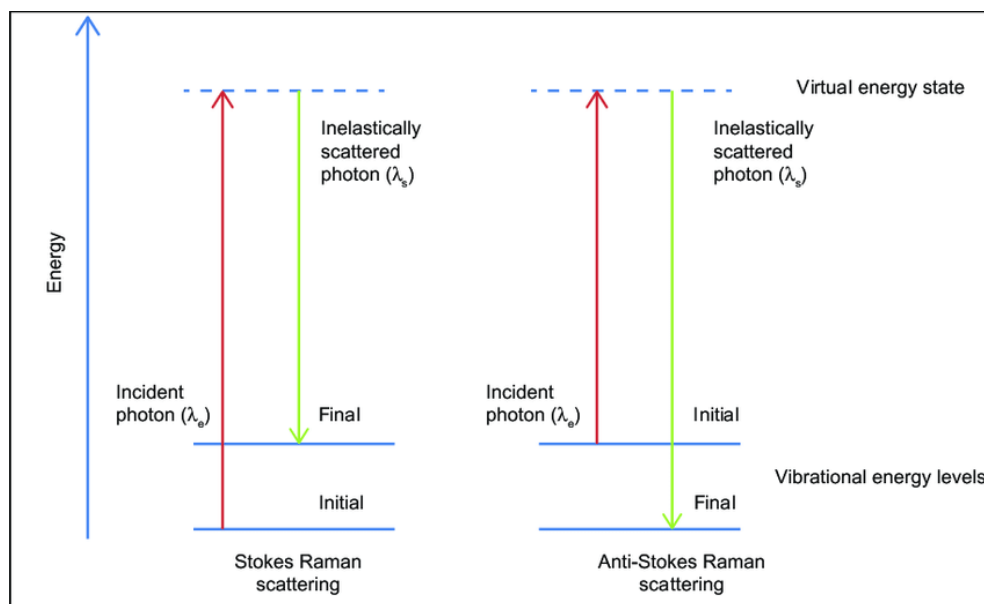


Figura 1.2. Nivelele energetice implicate în împrăștierea Stokes și anti-Stokes a fotonilor pe probă.

Un alt aspect interesant al împrăștierii inelastice este faptul că fotonul împrăștiat poate să aibă o energie mai mică sau mai mare decât fotonul incident.

Dacă fotonul împrăștiat are mai puțină energie decât fotonul incident (ES-energia emisă < EL-energia incidentă), atunci molecula este excitată la un nivel de energie mai mare de către

EL - ES. Acesta se numește proces Stokes și corespunde cu excitația moleculei de la starea de bază vibrațională $v=0$ la prima stare excitată $v=1$ a unui mod vibrațional cu energie $\omega v = EL - ES$, unde ωv este energia vibrației.

Dacă fotonul împrăștiat are mai multă energie decât fotonul incident ($ES > EL$), atunci molecula s-a relaxat de la o stare vibrațională excitată ($v=1$) la starea sa de bază ($v=0$). Energia vibrației este dată de $\omega v = ES - EL$.

În mod specific acest fapt poate să apară doar atunci când se exercită o excitație termică, fapt care implică ideea că un semnal anti-Stokes poate să depindă de un echilibru de temperatură (T) prin intermediul factorului Boltzmann: $\exp(-v / (k_B T))$. Cu cât energiile vibraționale sunt mai mari, cu atât intensitatea varfurilor este mai slabă, de aceea partea Stokes a spectrului Raman este mai puternică decât partea anti-Stokes.

Modul de reprezentare clasică a împrăștiilor având ca bază teoria clasică a electromagnetismului este unul uzitat, iar descrierea de tip cuantic a unui câmp electromagnetic poate să fie posibilă, însă fără să adauge noi informații. Pentru a putea crea legătura de polarizabilitate Raman cu caracteristicile microscopice specifice, adică vibraționale a fost creat un tratament clasic în ceea ce privește molecula. Acest tip de extensie implică anumite limitări:

- Nu poate să prezică o magnitudine corectă în ceea ce privește polarizabilitatea Raman Stokes.
- Se bazează pe cunoașterea polarizabilității optice liniare $\alpha_L(\omega_L)$ și dependența sa de structura moleculară.
- Chiar dacă $\alpha_L(\omega_L)$ este cunoscut, expansiunea lui Taylor este posibil să fie întotdeauna valabilă.
- Expansiunea Taylor implică cunoștințe anterioare privind vibrațiile diferiților eigenvectori, informații disponibile doar pentru moleculele foarte simple, mici. Dar acest lucru nu este cunoscut și, prin urmare, realizarea unei expansiuni a lui Taylor de acest fel rămâne de cele mai multe ori o construcție destul de „formală”, cu o utilizare limitată.

Din cauza limitărilor amintite anterior, abordarea clasică este foarte utilă atunci când se aplică cu atenție, detaliind aspectele unei probleme.

Bazele abordării cuantice a împrăștierii Raman pot fi identificate în teoria polarizabilității dezvoltată de Placzek. Această abordare tratează doar molecula cuantică din punct de vedere mecanic, dar nu și câmpul electromagnetic. Astfel, acest tip de abordare mai este denumit și semiclassical, putând fi utilizat pentru o justificare riguroasă a abordării clasice. Deși este rar utilizat în contextul SERS, este posibilă utilizarea unui tratament cuantic complex și pentru câmpul electromagnetic.

Din punctul de vedere al mecanicii cuantice, procesele de împrăștiere sunt descrise de probabilitățile de tranziție între o stare inițială $|i\rangle$ (a energiei ω_i) și o stare finală $|f\rangle$ (a energiei ω_f), care sunt de obicei calculate folosind teoria perturbațiilor.

Caracteristicile expresiei cuantice sunt reprezentate de numitorii de energie. Când aceștia sunt mici, ei apar în mod obișnuit când frecvența ω_L este aproape de o frecvență reală de tranziție electronică, ω_r sau ω_i , atunci se așteaptă un răspuns rezonant. Aceasta oferă o explicație calitativă pentru împrăștierea Raman rezonantă (RRS).

De fapt, o contribuție majoră a abordării semi-clasice este descrierea corectă a RRS, care nu poate fi realizată în mod clasic. Efectul Raman are la bază împrăștierea inelastică (împăștiere Stokes și anti-Stokes) a fotonilor pe probă, mai exact a a luminii monocromatice, provenind de obicei de la un laser ce emite în domeniu vizibil, infraroșu apropiat, sau ultraviolet. Lumina laser interacționează cu vibrațiile moleculare, cu fononii sau alte excitații din sistem, rezultând în modificarea în sus sau în jos a energiei fotonilor laserului.

Modificarea energetică a fotonilor poate să ofere informații privind modul de vibrație al structurilor din sistem și structura chimică a acestora. Datorită modului de aplicare cu ușurință, precum și a specificității crescute, spectroscopia Raman poate fi aplicabilă pe diferite materiale cum ar fi biomoleculele, lichidele, alimentele, gazele, cristalele, ceramica, etc.

1.2. Spectroscopia Raman amplificată de suprafață (SERS)

La fel ca spectroscopia Raman, spectroscopia Raman amplificată de suprafață (SERS) reprezintă o tehnică de emisie care implică împrăștierea inelastică a energiei laser incidente, care rezultă în vârfuri spectrale, datorită modurilor vibraționale ale moleculei, care sunt deplasate în frecvență de la energia incidentă.

SERS implică prezența unui substrat metalic, fie el lichid sau solid, care poate conduce la amplificarea semnalului Raman al probei. De asemenea tehnica SERS implică absorbția unor molecule de analit pe un substrat SERS. După producerea acestui fenomen, semnalul de tip Raman pe care îl va avea analitul va fi îmbunătățit, intensitatea semnalului rezultat va deveni comparabilă cu cea creată prin intermediul fluorescenței. Vârfulurile spectrale realizate prin intermediul SERS sunt mai înguste, față de cele de fluorescență concretizate în benzi mai largi de emisie.

Pentru a face posibilă o analiză cumulativă a multicomponentelor se utilizează o rezoluție înaltă a spectrelor de tip SERS. Alte avantaje ale SERS sunt viteza analizei, simplitatea manipulării eșantionului și apariția spectrometrelor Raman, portabile, disponibile în comerț.

Una dintre principalele caracteristici ale SERS este reprezentată de natura sa interdisciplinară, SERS existând la limita dintre fizică, chimie, inginerie, plasmonică, biologie, tehnologie, știința coloidelor.

Amplificarea semnalelor din SERS se realizează datorită interacțiunii electromagnetice a luminii cu metalele, ceea ce produce amplificări mari ale câmpului laser prin excitații cunoscute în general drept rezonanțe plasmatice. Pentru a facilita absorbția, moleculele trebuie să absoarbă pe suprafața metalului sau în apropierea acestuia.

Dispersarea Raman îmbunătățită de suprafață sau SERS rezumă foarte bine aceste trei pietre de temelie ale efectului:

- Suprafața (S): SERS este o tehnică de spectroscopie de suprafață; moleculele trebuie să fie pe (sau aproape de) suprafață. Acesta reprezintă un punct major pentru aplicațiile SERS. Trebuie să se asigure că moleculele care urmează să fie detectate pot atașa suprafața substratului metalic. Transferul de molecule de la un volum la o suprafață implică o temă recurentă în implementările practice ale SERS.

- Amplificată (E): Îmbunătățirea semnalului este asigurată de rezonanțele plasmonice din substratul metalic. Rezonanța plasmotică este o proprietate simplă pentru efectele asociate interacțiunii dintre metale și radiațiile electromagnetice.

- Raman (R): acest tip de tehnică implică măsurarea semnalelor de tip Raman ale diferitelor molecule (analize sau sonde SERS). Spectroscopia Raman reprezintă studierea împrăștierii luminii inelastice, oferind o anumită perspectivă asupra structurii chimice (structurii vibraționale).

S-ul final din SERS poate reprezenta Scattering (Împrăștierea) sau Spectroscopie, în funcție de preferința de subliniere a efectului optic sau tehnica și aplicațiile sale (spectroscopie).

Această caracterizare a efectului trebuie să transmită o proprietate particulară a SERS, natura sa multidisciplinară. Chiar dacă este un subiect tipic în chimie, fizică sau fizică chimică, unele dintre aspectele sale, cum este teoria electromagnetică a rezonanțelor de timp plasmonic, sunt de ordin fizic, absorbția moleculară pe diferite suprafețe sunt de natură chimică.

”Un „substrat SERS” este o denumire generală pentru orice structură de susținere a rezonanței plasmonice care va produce amplificări adecvate Raman.”¹ Substraturile SERS se clasifică în trei forme specifice, astfel:

- Particule metalice (nano-particule) în diferite soluții, soluții coloidale.
- Structuri metalice „plane”, tablele de nano-particule metalice pe un substrat plan (de exemplu, siliciu, sticlă, metalic).
- Electrozii metalici.

În dezvoltarea istorică a SERS, electrozii au jucat un rol important. Rămâne o abordare importantă, de exemplu, pentru metale, altele decât (cel mai des utilizate) argint și aur, investigarea mecanismelor de îmbunătățire a substanțelor chimice și aplicațiile SERS pentru electrochimie în sine, ca instrument de monitorizare a aspectelor specifice ale reacțiilor electrochimice.

În ceea ce privește clasele de substraturi SERS, soluțiile care au în componența lor coloizi metalici (din aur sau argint) au un rol important în cadrul SERS din cele mai vechi timpuri, precum și în studiile de actualitate. Coloizii de acest tip pot fi atașați unui substrat specific, fiind un mijloc mai ușor de fabricare a celui de-al doilea tip (structuri metalice plane)

¹E LERU. "A quick overview of surface-enhanced Raman spectroscopy", Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, 2009

sau uscați. Acest tip de abordare împreună cu abordarea filmelor insulare de tip metalic constituie din cele mai vechi timpuri un exemplu principal de structură metalică plană. Recent atunci când și-au făcut apariția nanotehnologiile a apărut și o serie de structuri metalice plane, ordonate.

Pentru obținerea unei activități de tip SERS optime, a fost creată o nanoparticulă de Ag și Au care a fost sintetizată în apă având un pH de 10,3. Timpuri mai lungi de iradiere au produs, de regulă, nanoparticule Au și Ag mai mici (NPs). Mărimea efectului SERS poate să depindă de mărimea particulelor și de lungimea de undă a excitației. Dacă particulele sunt prea mici, conductivitatea eficientă precum și proprietățile de împrăștiere a luminii se diminuează, ducând la îmbunătățirea SERS. "Pe măsură ce particulele cresc în dimensiune, efectul SERS crește, de asemenea, depinde de numărul de electroni disponibili."²

"Pe lângă metalele nobile, metalele alcaline sunt substraturi bune pentru SERS."³ Pentru aluminiu (Al), reactivitatea ridicată cu cantități minime de oxigen poate reprezenta o problemă. Îmbunătățirea electromagnetică a insulelor Al pe posturile în aer a fost observată de Liao și Stern. Experimentele Raman, rezistența la curent continuu, reflectivitatea optică și pasivarea oxigenului pe filmele cu indiu depuse la rece au relevat aceleași tendințe calitative ca și cele raportate aici pentru argint.

Este cunoscut faptul că pentru aceste metale cu electroni aproape liberi, îmbunătățirea electromagnetică clasică contribuie la SERS, în timp ce sunt de așteptat contribuții mai slabe pentru metalele de tranziție. Intensitatea Raman pentru piridina absorbită a fost îmbunătățită cu cel puțin un ordin de mărime după ce a luat în considerare creșterea zonei electrodului. Nu se cunosc detalii despre ecranizarea și cuplarea electronilor-fotonului de suprafață la metalele de tranziție.

Corespondența aproximativă dintre benzile de excitație ale transferului de sarcină în complexe Ag-C, H, H și profilul de excitație SERS al Etype C, H, ridică problema energiei excitațiilor de transfer de sarcină în complexe C, H, cu alte metale. Nu există benzi de absorbție de peste o lungime de undă de 400 nm față de metalele de tranziție, iar benzile de absorbție ale complexelor metalice nobile din regiunea vizibilă sunt suprimate prin oxidare.

² Lara K. Rotter, Naxhije Berisha, Hsiao-Ting Hsu, Kathleen H. Burns, Chrysafis Andreou, Moritz F. Kircher. "Visualizing surface marker expression and intratumoral heterogeneity with SERS-NPs imaging", *Nanotheranostics*, 2022

³ A Otto, I Mrozek, H Grabhorn, W Akemann. "Surface-enhanced Raman scattering", *Journal- 11 - Exclude quotes Off Exclude bibliography Off Exclude matches Off of Physics: Condensed Matter*, 1992

Aceste diferențe între complexe cu grupa I, (Cu, Ag, Au) și atomii de grupa VI(11) Ni, Pd și Pt se pot înțelege cu exemplul rezultatelor SCF-Xor-SW ale energiilor orbitale în Ni și Cu și Ni, Pd, Pt complexe cu o porțiune de C, B.

În ciuda limitelor pe care le are, sensibilitatea SERS, dar și selectivitatea sa spectrală excepțională, au făcut din SERS o tehnică atractivă pentru detectarea unei game largi de specii chimice. Acestea includ toluenul, etilbenzenul, benzenul și xilenele, hidrocarburi aromatice policiclice (HAP), compuși organici volatili (COV), cum ar fi solvenți clorinați și eter metil-t-butilic (MTBE), metale grele, nutrienți ionici, pesticide, cationi/anioni toxici sau radioactivi, medicamente și produse farmaceutice și materiale explozive. În plus, SERS a fost combinat cu alte tehnici analitice, cum ar fi cromatografia de gaze (GC), cromatografia cu strat subțire (TLC), cromatografia lichidă (LC) și microfluidică (FIA) și electrochimie. Pentru ca SERS să detecteze cu succes analiții chimici, trebuie îndeplinite următoarele cerințe.

- Un substrat ce oferă o amplificare mare este esențial, dar trebuie să ofere reproductibilitate bună.
- Analitul trebuie să fie absorbit pe suprafață în mod eficient.
- Măsurătorile SERS cantitative necesită realizarea unei curbe de calibrare anterior măsurătorii propriu zise și este dependentă de set-up-ul experimental folosit, fiind sensibilă la mici modificări ale acestuia.

De asemenea, evoluțiile tehnologice ale instrumentației au furnizat, în ultimii treizeci de ani, contribuții importante în domeniul spectroscopiilor Raman/SERS. Poate fi observată introducerea unor dispozitive cuplate, încărcate (CCD-uri), care prin configurația de tip multicanal a îmbunătățit calitatea spectrelor studiate, introducând filtrele cu crestături de tip holografic și lasere ieftine și compacte pentru excitație valabile pentru mai multe lungimi de undă de emisie.

Instrumentele portabile Raman au devenit disponibile de la începutul anilor 2000. Ceea ce este important este faptul că scăderea costurilor pentru instrumentele de tip Raman și miniaturizarea acestora beneficiază de îmbunătățirea celor două componente, detectorul de tip CCD și sursa laser, acestea fiind determinate de modul de comercializare a produselor electronice, cum sunt camera digitală și playerul de disc compact.

Deși cunoscută și utilizată de mult timp, teoria fizică din spatele amplificării SERS nu este cunoscută pe de-a-ntregul. Doar două teorii sunt susținute în ceea ce privește efectul SERS: teoria electromagnetică și teoria chimică.

1.2.2 Teoriile electromagnetice și chimice

În spectroscopia Raman, intensitatea Raman medie a unei molecule este direct proporțională cu densitatea de putere a laserului precum și cu secțiunea transversală a moleculei. Acest fapt simplu poate fi generalizat la SERS. În termeni simpli, intensitatea SERS pentru un anumit mod vibrațional al unui analit dat ar trebui să fie proporțională cu intensitatea laserului și cu secțiunea transversală normală a Raman, dar afectată de un factor de amplificare (EF).

În mod tradițional EF-urile SERS sunt separate în două contribuții multiplicative specifice, astfel:

- Factorul de amplificare electromagnetică (EM), fiind considerat, de departe, principalul aport. O caracteristică specifică substratului este reprezentată de localizarea luminii în cadrul suprafeței substratului independent de tipul moleculei. Datorită cuplării unor câmpuri electromagnetice incidente și a substratului SERS, poate fi separat în câte doi factori multiplicativi de îmbunătățire, unul pentru câmpul Raman și unul pentru câmpul incident.

EM are la bază îmbunătățiri ale câmpului de tip local care pot să apară în apropierea suprafețelor metalice în momentul în care rezonanțele descoperite de plasma (LSP) sunt excitate.

Teoria electromagnetică explică rezultatele optime de amplificare ale SERS obținute în cazul nanoparticulelor nobile, pe baza oscilației plasmonilor de suprafață. REZONANȚA PLASMONICĂ DE SUPRAFAȚĂ reprezintă electroni semi-liberi din structura metalelor care, la interacțiunea cu radiația, generează o mișcare care conduce la un câmp electromagnetic amplificat la suprafața metalului. Susținând această teorie, majoritatea experimentelor SERS care au folosit ca substrat metalic nanoparticule, au agregat colodiul înaintea utilizării, pentru a putea crește câmpul electromagnetic de la suprafața clusterilor.

Deși teoria electromagnetică explică amplificările uriașe ale semnalului SERS, nu poate explica selectivitatea amplificărilor SERS a anumitor molecule (lipsa amplificării SERS a apei sau a surfactantului nanoparticulei).

- O altă contribuție (multiplicativă) la EF este așa-numitul factor de amplificare chimică (CE). Contribuția sa este considerată a fi mult mai mică decât efectul EM. Factorul CE este uneori privit ca o modificare a polarizabilității electronice a sondei, ceea ce poate induce răspândirea Raman la lungimi de undă unde moleculele neadsorbite nu ar fi rezonante. Cea mai acceptată explicație pentru acest lucru este așa-numitul mecanism de transfer al taxelor (CT). Acesta necesită ca molecula să fie adsorbită chimic la suprafață (de unde și denumirea de amplificare chimică). Deseori molecula poate fi adsorbită în mod direct la suprafață fie prin intermediul fizisorbției sau al chemisorbției (prin crearea unor legături chimice cu metalul).

Atât în teoria electromagnetică cât și în cea chimică a fost demonstrată necesitatea apropierii moleculei de substratul metalic. În cazul efectului chimic este necesară adsorbția la suprafața metalică.

Diferența dintre teoria electromagnetică și cea chimică nu este clară, astfel că orientarea moleculei față de un câmp local poate să facă o îmbunătățire diferită a benzii Raman funcție de tensorul de polarizare. Originea efectului este de tip electromagnetic, depinzând de moleculă și orientarea sa pe suprafață.

Teoria chimică este susținută de experimentele de amplificare SERS realizate pe electrozi, a cărui potențial a fost variat. S-au observat variații în intensitatea SERS a moleculelor adsorbite pe suprafața electrozilor, în funcție de potențialul acestora.

Studii recente au demonstrat necesitatea adionilor din săruri pentru amplificarea semnalului SERS, fără a agrega coloidul⁴⁵. Publicațiile recente susțin importanța adionilor în detecția SERS a moleculelor anionice și cationice.⁶ Înregistrarea spectrelor SERS ale acizilor organici (ex. acid fumaric, acidul uric, acidul salicilic) este mediată de adsorbția cationilor precum Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} sau Pb^{2+} pe suprafața nanoparticulelor de argint.

⁴ Iancu, S.D., et al., *The role of Ag(+), Ca(2+), Pb(2+) and Al(3+) adions in the SERS turn-on effect of anionic analytes*. Beilstein J Nanotechnol, 2019. **10**: p. 2338-2345.

⁵ Leopold, N., et al., *The role of adatoms in chloride-activated colloidal silver nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering enhancement*. Beilstein J Nanotechnol, 2018. **9**: p. 2236-2247.

⁶ Stefancu, A., et al., *Specific and selective sers active sites generation on silver nanoparticles by cationic and anionic adatoms*. Romanian Reports in Physics, 2018. **70**(4).

Facilitarea adsorbției de tip anionic de către adatomii cu încărcare pozitivă, cum sunt Ag^+ , Ca^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , poate furniza site-uri de adsorbție caracteristice moleculelor de tip anionic.”Activarea efectului SERS este explicată în contextul mecanismului chimic al SERS, adatomii care formează site-uri SERS active pe suprafața de argint permițând un transfer de sarcină între adsorbat și suprafața de argint.”⁷

SERS constă într-o tehnică ultrasensibilă, așa cum s-a dovedit mai ales prin detectarea, sub concentrația nanomolară a coloranților cationici, cum ar fi rodamina 6G sau violetul de cristal. Studiile privind tehnica SERS evidențiază importanța cupajului electronic dintre nano-suprafața metalică și adsorbant, acest tip de cuplare cu suprafața de argint fiind mediat de o serie de adatomii cum sunt Ag^+ , Cl^- , I^- , Br^- .

În acest context, multe rapoarte explică îmbunătățirea SERS prin formarea unor complexe stabile de suprafață cu rigurozitate la scară atomică, Ag^+ este o moleculă organică care permite transferul de sarcină între moleculă și suprafața metalului, ceea ce duce la un efect de împrăștiere Raman rezonant.

O serie de experimente de tip SERS pe un electrod de argint sau nanoparticule de argint coloidal (AgNPs), reprezintă dovada complexelor de suprafață a acestei tehnici. Ionii adsorbiți (Ag^+) au capacitatea de a fi generați pe suprafețe metalice prin intermediul unor anioni nucleofili co-adsorbiți (Cl^- , I^- , Br^- , SCN^-), fapt care creează formarea complexelor ionice pe o suprafață AgNPs. Agentul de fixare fotografică, tiosulfatul poate să dizolve ionii Ag^+ stingând complet semnalul de tip SERS.

Mai mult, agregarea nanoparticulelor a fost complet exclusă, deoarece AgNPs au fost imobilizate pe suprafața de sticlă. Absorbția competitivă a speciilor anionice pe suprafața nanoparticulelor face detectarea SERS dificilă, deoarece coloidele SERS cele mai utilizate conțin agenți de acoperire anionici, cum ar fi citratul sau clorura.

Acidului uric, acidului fumaric, citratului și acidului salicilic poate fi detaliată prin intermediul unui model de adsorbție caracteristica adiunii, spectrele de tip SERS fiind realizate doar după ce cit-AgNPs se activează cu adății Ag^+ , Ca^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} . Chemisorbția caracteristică analitelor de tip anionic este promovată de către aditiile anionice, oferind efectul de activare SERS. Generarea intrisecă privind aditiile de Ag^2 prin intermediul dizolvării parțiale a cit-AgNPs într-un mediu acid conduc la activarea unui spectru SERS, a unui agent de captare a citratului.

⁷ Andrei Stefancu, Stefania D. Iancu, Nicolae Leopold. " *Selective Single Molecule SERRS of Cationic and Anionic Dyes by Cl and Mg Adions: An Old New Idea* ", The Journal of Physical Chemistry C, 2021

CAPITOLUL 2. METODE EXPERIMENTALE

2.1 Sinteza substratului metalic solid

A fost testat rolul cationilor în amplificarea SERS a spectrelor moleculelor anionice folosind ca substrat metalic un substrat solid, ușor de produs. Substratul metalic folosit pentru amplificarea semnalului Raman a moleculelor anionice a fost un substrat solid de tip nanowire de argint (AgNws) depuse pe un coverglass prin metoda convective self assembly (CSA). Pentru sinteza AgNws primul pas a constat în sintezacoloidului de nanoparticule de argint redus cu citrat (cit-AgNPs). Pentru sintetizarea coloidului cit-AgNPs au fost parcurși următorii pași: 0.017 g de AgNO_3 au fost dizolvați în 90 mL apă ultrapură (rezistivitate $> 18 \text{ M}\Omega$) și amestecați continuu. În timpul fierberii primului tip de soluție, peste aceasta au fost adăugați 2mL de citrat de sodiu, având o concentrație de 1%. Soluția și-a schimbat rapid culoare din transparent la gri cu tente gălbui.

”Această soluție coloidală a fost menținută la temperatura camerei până în momentul utilizării ei.”⁸ ”Mai întâi, 2 ml de soluție coloidală cit-AgNPs a fost concentrat prin centrifugare la 7300 xg timp de 15 min.”⁹ A fost pipetat supernatantul, iar AgNP a fost repus în 50 μL de apă ultrapură ($>18\text{M}\Omega$). Pentru toate filmele de AgNws, s-a utilizat un coverglass nemodificat. Coverglass-ul a fost curățat timp de 15 minute folosind UV-Ozone cleaner, metodă care a schimbat hidrofobicitatea suprafeței coverglass-ului. Pentru sinteza AgBws coverglass-ul curățat a fost așezat o măsută motorizată. O sticlă de acoperire în imediata apropiere a coverglass-ului a fost montată la un unghi de 45° . Între sticla de acoperire și coverglass a fost pus un volum de 3 μL cit-AgNPs concentrat. Măsuța motorizată a fost controlată de un program, care i-a impus deplasarea cu un pas de 0.25 mm cu o viteză de 5 mm s^{-1} , urmată de o pauză de 5 s, pe perioada căreia cit-AgNPs au fost urcate pe coverglass. Procedura a fost repetată de 16 ori, formându-se în acest mod 16 linii de argint pe coverglass.

⁸ Corina D. Bocsa, Vlad Moisoiu, Andrei Stefancu, Loredana F. Leopold, Nicolae Leopold, Daniela Fodor. "Knee osteoarthritis grading by resonant Raman and surfaceenhanced Raman scattering (SERS) analysis of synovial fluid" , Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2019

⁹ Andrei Stefancu, Oana M. Biro, Otto TodorBoer, Ioan Botiz, Emiliano Cortés, Nicolae Leopold. "Halide–Metal Complexes at Plasmonic Interfaces Create New Decay Pathways for Plasmons and Excited Molecules" , ACS Photonics, 2022

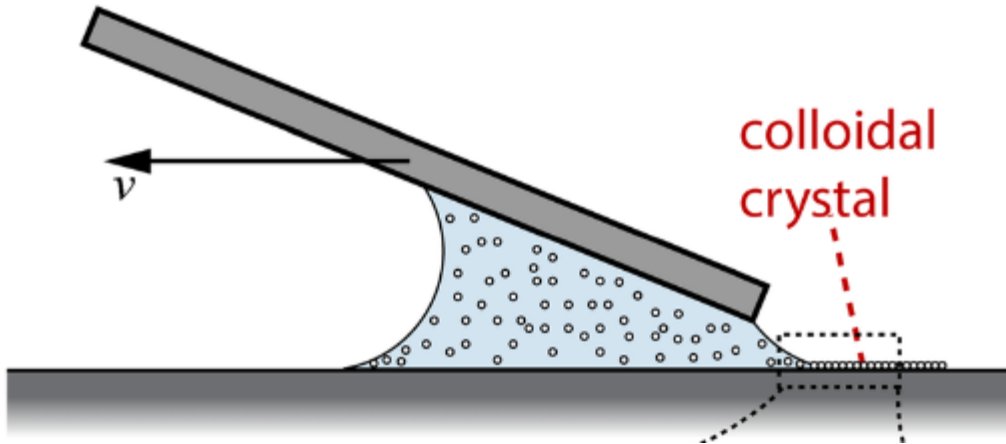


Figura 2.1 Tehnica convective self assembly

Imaginile substratelor metalice au fost achiziționate folosind obiectivele cu mărire de 5X, 20X și 100X pentru a determina morfologia substratului AgNws.

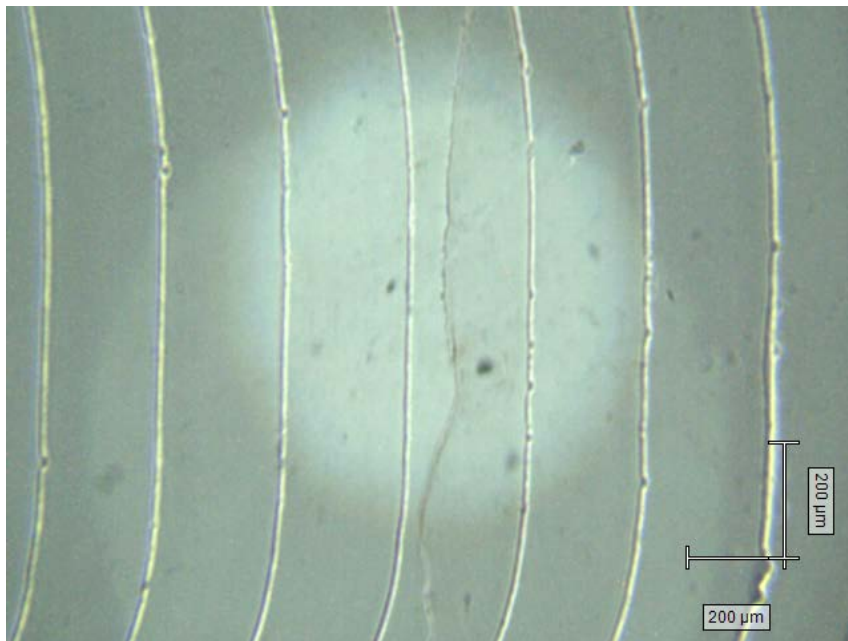


Figura 2.2. Imagine optică a substratului AgNws cu obiectiv de 5X

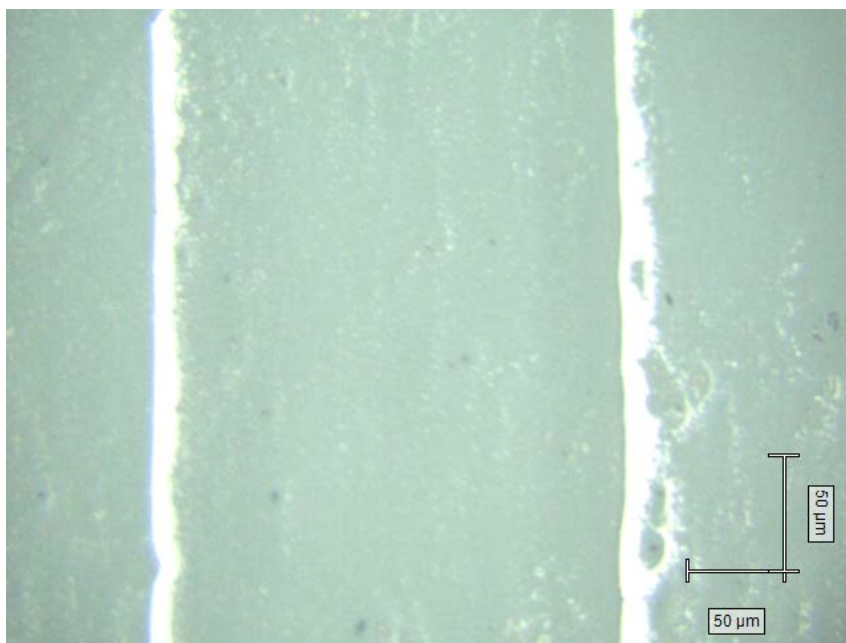


Figura 2.3 Imagine optică a substratului AgNws cu obiectiv de 20X

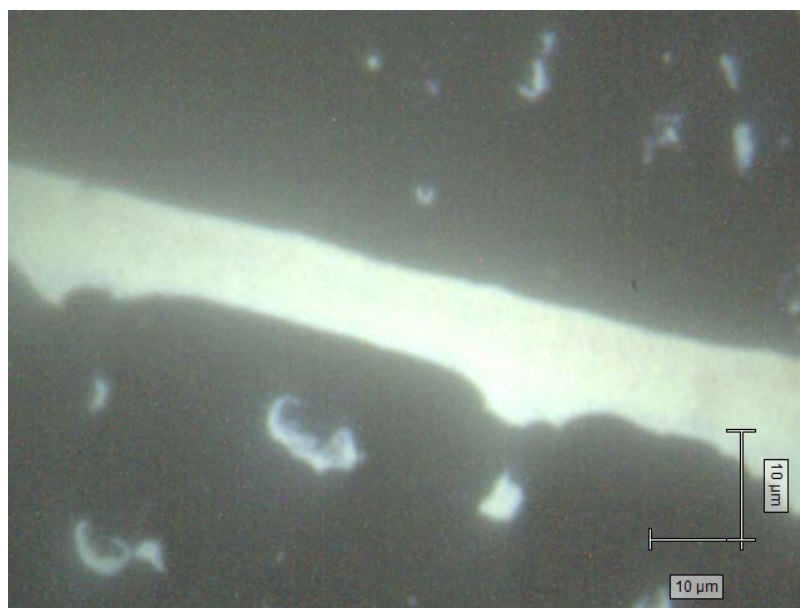


Figura 2.4. Imagine optică a substratului AgNws cu obiectiv de 100X

Se observă formarea liniilor de argint cu o grosime de ordinul de aproximativ $5 \mu\text{m}$. De asemenea, imaginile optice prezintă și formarea unor mici insule între liniile de argint.

2.3 Achiziționarea spectrelor SERS

Toate spectrele SERS au fost achiziționate folosind un spectrometru InVia Raman Renishaw cuplat la un microscop Leica care face parte din Institutul de Fizică Ioan Ursu, din cadrul Facultății de Fizică. Achiziția spectrelor a utilizat o sursă de excitare concretizată într-o linie laser cu lungimea de 532 nm.

Spectrele SERS ale acidului uric, acid salicilic, dar și câțiva coloranți sub forma lor cloridă: roz bengal, au fost achiziționate în lipsa și în prezența cationilor Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} și Pb^{2+} .

Spectrele SERS ale analiților au fost măsurate în domeniul de concentrație 10^{-7} - 10^{-4} M. Efectul cationilor (Ca^{2+} , Mg^{2+}) a fost testat prin adăgarea sărurilor $Ca(NO_3)_2$, $MgSO_4$, $ZnSO_4$, $Pb(NO_3)_2$ în concentrație de 10^{-4} M la amestecul în care a fost imersat substratul AgNws..

Pentru fiecare moleculă test s-a realizat o soluție de concentrația dorită, într-un volum de 2 ml apă ultrapură, care a fost introdusă într-un Petridish cu diametru de 25 mm. AgNws a fost imersat în soluția care conține analitul timp de 5 minute. După cele 15 minute substratul AgNws a fost scos și palsat pe o lamelă de microscop. Liniile AgNws au fost focalizate folosind obiectivul cu mărire 20x. Pentru fiecare moleculă au fost achiziționate mai multe spectre SERS de-a lungul unei linii AgNW aleator alese.

După achiziționarea spectrelor SERS acestea au fost procesate în vederea analizării rezultatelor. Pașii de procesare au constat în tăierea spectrelor de la 100 până la 1800 cm^{-1} pentru a putea fi delimitate zonele de interes; reducerea baseline folosind funcția rubber band; normalizarea spectrelor folosind o normalizare de tip vector și gaussian smoothing cu valoarea 2.

Spectrele sunt prezentate ca spectru mediu împreună cu deviația standard a măsurătorilor spectrelor SERS de-a lungul liniei. S-a urmărit atât evaluarea calitativă a semnalului SERS, cât și variația semnalului de-a lungul substratului metalic.

2.4 Moleculele anionice testate

Pentru realizarea experimentului s-au utilizat următoarele molecule anionice: acid uric, acid salicilic, dar și a unui colorant sub formă de sare roz bengal,.

2.4.1 Acidul uric (figura 2.2) este un compus heterociclic format din **carbon**, **azot**, **oxigen** și **hidrogen** cu formula $C_5H_4N_4O_3$. Este un acid organic care constituie produsul final de metabolizare a nucleoproteinelor, iar sărurile sale se numesc urați.

Compusul este prezent în urină și este rezultatul degradării bazelor azotate purinice din acidii nucleici (ADN și ARN) din organism. În sângele uman, concentrația acidului uric normal este de 3.6 - 6,8 mg/dl la bărbați și 2,5 - 6,8 mg/dl la femei. Astfel, acidul uric conținut în sânge este filtrat de către rinichi, care îl elimină prin urină.

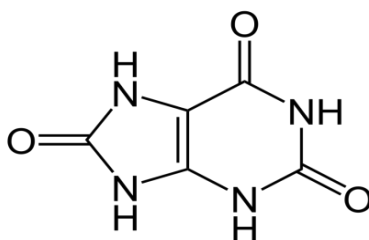


Figura 2.4.1. Structura chimică a acidului uric.

2.4.2 Acidul salicilic (figura 2.4) este un hidroxiacid aromatic, cu formula moleculară $C_7H_6O_3$. Grupa sa hidroxil (-OH) este substituită în poziția orto pe nucleul aromatic față de grupa carboxil (-COOH). Fiind un compus cristalin, acesta are o importanță ridicată în sinteza organică. De asemenea, poate fi și hormon la unele plante. Sărurile care derivă de la acidul salicilic, dar și esterii se numesc salicilați. Acidul salicilic este folosit pentru reducerea febrei și ușurarea durerilor, dar poate fi folosit și pe post de conservant alimentar.

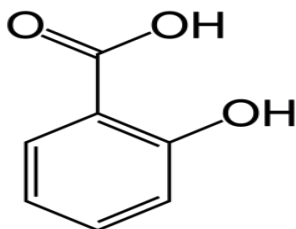


Figura 2.4.2 Structura chimică a acidului salicilic.

2.4.3 Roz bengal (figura 2.7) reprezintă o pată și este utilizată pentru a prepara furaminifera pentru analizele microscopice, oferind o distincție în ceea ce privește formele care erau moarte sau vii la momentul în care s-a realizat colectarea. Sarea de sodiu fiind utilizată în picături oculare pentru colorarea celulelor corneene și conjunctivale este deteriorate, adică pentru identificarea stării de deteriorare a ochiului.

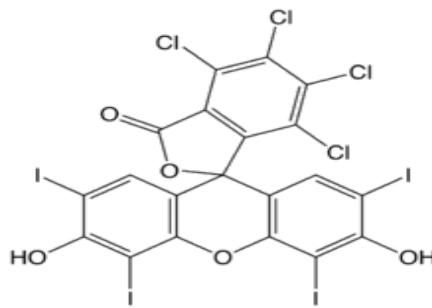


Figura 2.4.3 Structura chimică a roz bengalului.

CAPITOL 3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

În literatura de specialitate studiile pe moleculele cationice sunt mult mai multe decât cele realizate având la bază tehnica SERS asupra analiților anionici. Adsorbția competitivă a speciilor anionice pe suprafața nanoparticulelor face detecția SERS dificilă, deoarece nanoparticulele de argint sunt frecvent stabilizați de surfactanți anionici precum Cl⁻ sau citrate. În acest studiu am arătat că putem obține spectre SERS ale moleculelor anionice precum acidul uric, acidul salicylic și roz bengal prin promovarea adsorbției acestora pe suprafața nanostructurilor de argint prin intermediul cationilor. În cele ce urmează vom discuta despre acțiunea cationilor Zn²⁺, Ca²⁺, Pb²⁺, Mg²⁺ asupra moleculelor anionice prezentate mai sus.

3.1 Acidul uric

AgNws au fost imersate într-o soluție de acid uric de concentrație 10⁻⁴M. După 15 minute AgNws au fost scoase și plasate pe o lamelă de microscop. Linia laser 532 nm a fost focalizată pe liniile de argint ale substratului AgNWs folosind un obiectiv cu mărire 20x. S-a ales aleatoriu o linie a substratului pentru care s-au achiziționat spectre SERS de-a lungul liniei. Pentru analizarea adsorbției acidului uric pe suprafața nanostructurilor de argint s-a analizat prezența și distribuția liniei SERS 635 cm⁻¹, bandă caracteristică acidului uric.

Figura 3.1.1. prezintă spectrul SERS mediu împreună cu deviația standard a acidului uric achiziționate de-a lungul unei linii ale substratului AgNWs.

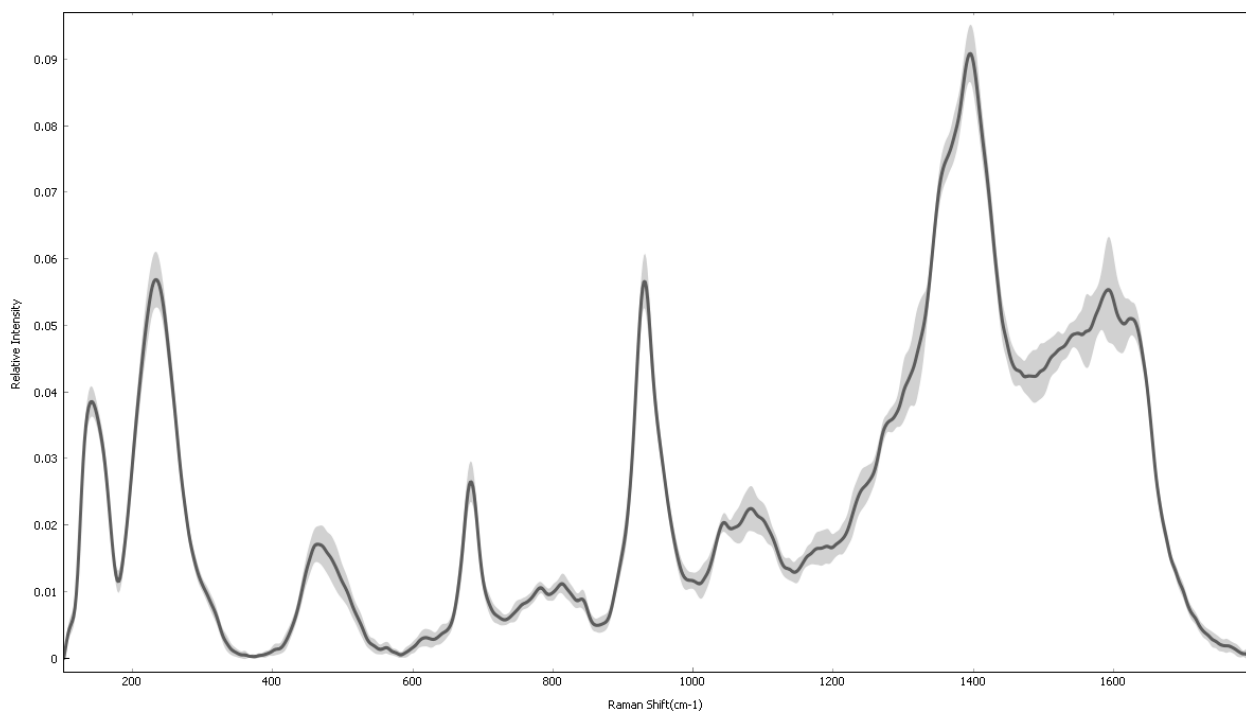


Figura 3.1 Spectrul SERS mediu împreună cu deviația standard a 10-4M acidului uric

Spectrul este dominat de benzile SERS caracteristice citratului ($930, 1360 \text{ cm}^{-1}$), surfactantul nanostructurilor de argint. Nu au fost detectate benzi SERS caracteristice acidului uric. Prin urmare, acidul uric nu a adsorbit la suprafața nanostructurilor de argint.

Figura 3.1.2 prezintă distribuția spectrului citratului de-a lungul liniei substratului solid încodat în culori false. Se observă o distribuție uniformă a spectrului SERS de-a lungul liniei.

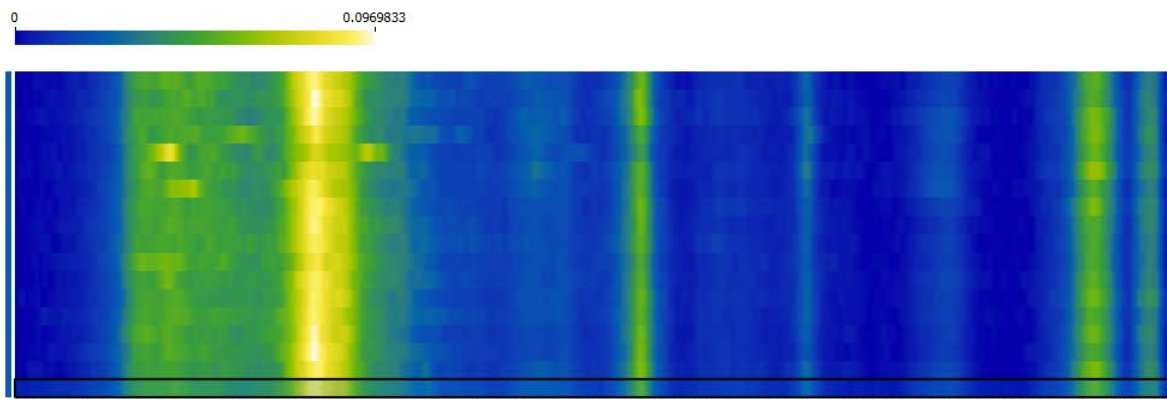


Figura 3.1.2 Distribuția spectrului

A fost urmărită distribuția benzii 635 cm^{-1} caracteristică acidului uric. *Figura 3.1.3.* prezintă distribuția benzii 635 cm^{-1} pe linia substratului AgNws. Se observă că intensitatea benzii este apropiată de 0, ceea ce arată faptul că acidului uric nu a adsorbit pe suprafața nanostructurilor.

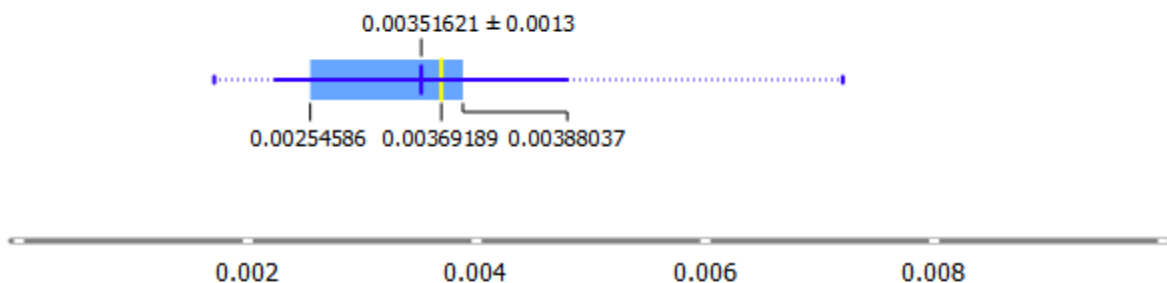


Figura 3.1.3. Distribuția benzii SERS 635 cm^{-1}

În continuare s-a urmărit influența cationilor (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+}) în adsorbția acidului uric la suprafața nanostructurilor de argint, adsorbție urmărită prin intermediul benzii SERS caracteristice de la 635 cm^{-1} . 3 soluții diferite de acid uric 10^{-4} M au fost preparate în 3 Petri-dish-uri diferite. În fiecare Petri dish s-a adăugat câte un cation diferit în concentrație de 10^{-4} M . Protocolul de achiziție a spectrelor SERS folosit în cazul acidului uric a fost repetat în prezența cationilor.

În cazul cationului de calciu, se observă apariția benzilor SERS caracteristice acidului uric ($635, 811, 1130\text{ cm}^{-1}$). Acest efect SERS turn-on în prezența cationilor de Ca^{2+} apare ca urmare a promovării adsorbției acidului uric la suprafața nanostructurilor de argint. Ca^{2+} promovează adsorbția acidului uric pe substratul solid, efect similar cu comportamentul în detecția SERS folosind cit-AgNPs.

Complexarea acidului uric de cationii de Ca^{2+} este puțin probabilă, întrucât nu se observă deplasări spectrale comparativ cu benzile SERS caracteristice acidului uric publicate în literatură. De asemenea, agregarea substratului ca efect principal ce conduce la amplificarea

spectrului SERS a acidului uric este exclusă, întrucât spectrele SERS au fost achiziționate folosind un substrat solid.

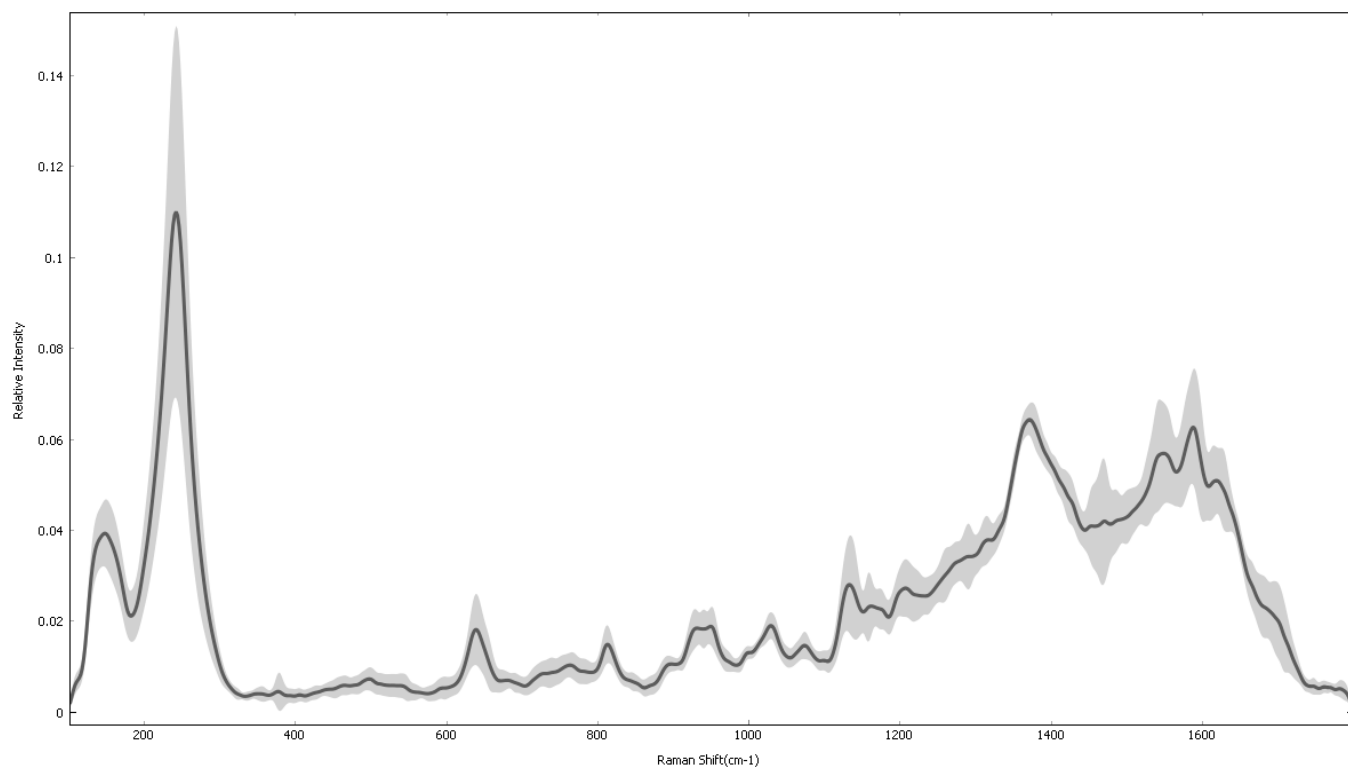


Figura 3.1.4 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard al acidului uric în prezența cationul de Ca^{2+}

S-a urmărit uniformitatea distribuției semnalului SERS a acidului uric adsorbit la suprafața nanostructurilor de argint prin intermediul Ca^{2+} . În acest scop s-a reprezentat distribuția spectrului SERS a acidului uric de-a lungul liniei substratului metalic, spectru reprezentat în culori false.

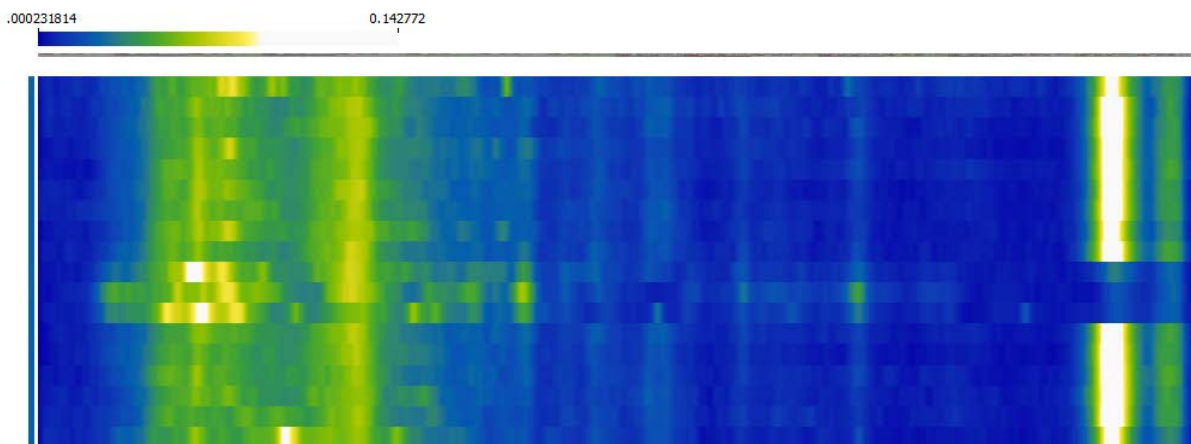


Figura 3.1.5 Distribuția spectrului în prezența Ca^{2+}

Se observă o distribuție uniformă a semnalului, forma spectrală fiind constantă de-a lungul liniei. 2 puncte prezintă un spectru SERS diferit, un spectru ce reprezintă impurități și nu au putu fi atribuite unor alte molecule.

Variația distribuției semnalului SERS al acidului uric a fost urmărită folosind banda SERS 635 cm^{-1} ca marker. În figura 3.1.6 este prezentată distribuția benzii 635 cm^{-1} de-a lungul liniei substratului metalic.

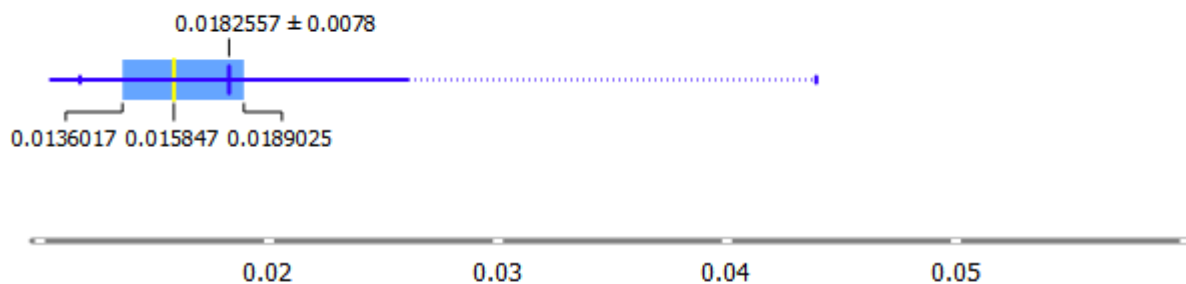


Figura 3.1.6 Distribuția benzii 635 cm^{-1} în prezența Ca^{2+}

Valoarea variației benzii 635 cm^{-1} este 0.14% din intensitatea semnalului, lucru care arată o distribuție uniformă a spectrului SERS.

În cazul Zn^{2+} nu se observă amplificarea semnalului SERS a acidului uric. *Figura 3.1.7* prezintă spectrul SERS mediu împreună cu deviația standard a acidului uric achiziționat în prezența Zn^{2+} . Spectrul este dominat de benzile SERS ale citratului ($930, 1360\text{ cm}^{-1}$). Nu se observă diferențe semnificative în spectrul SERS achiziționat la imersarea substratului AgNws în soluția de acid uric și după adugarea Zn^{2+} .

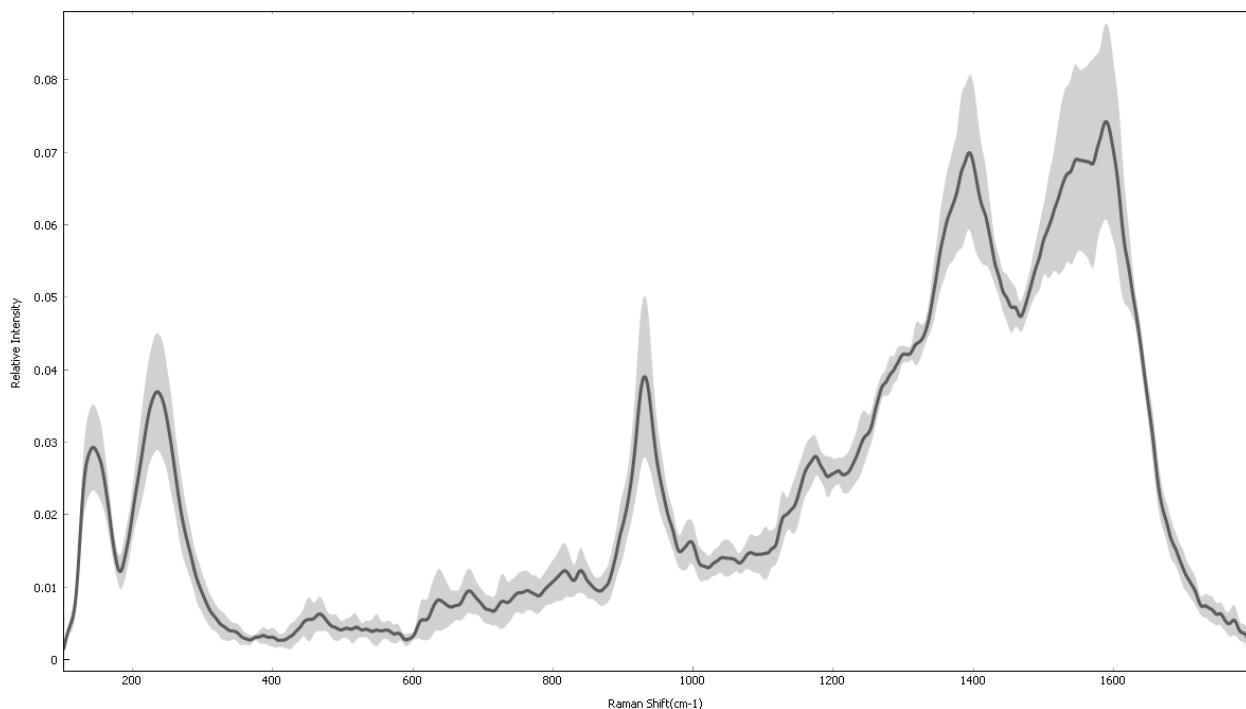


Figura 3.1.7 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard a acidului uric în prezența cationul de Zn^{2+}

Spectrul este dominat de benzile SERS caracteristice citratului ($930, 1360\text{ cm}^{-1}$), surfactantul nanostructurilor de argint. Nu au fost detectate benzi SERS caracteristice acidului uric. Prin urmare, Zn^{2+} nu conduce la adsorbția acidului uric la suprafața nanostructurilor de argint.

Figura 3.1.8 prezintă distribuția spectrului citratului de-a lungul liniei substratului solid încodat în culori false. Se observă o distribuție uniformă a spectrului SERS de-a lungul liniei. Similar cu spectrul SERS a citratului obținut la imersarea AgNw în acidul uric, citratul este distribuit uniform de-a lungul AgNw după cum arată spectrul SERS.

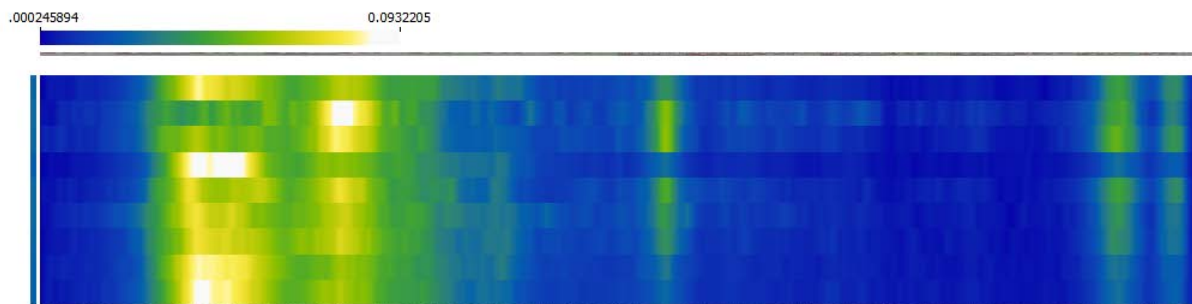


Figura 3.1.8 Distribuția spectrului în prezența Zn^{2+}

A fost urmărită distribuția benzii 635 cm^{-1} caracteristică acidului uric. *Figura 3.1.8.* prezintă distribuția benzii 635 cm^{-1} pe linia substratului AgNws. Se observă că intensitatea benzii este apropiată de 0, ceea ce arată faptul că acidului uric nu a adsorbit pe suprafața nanostructurilor.

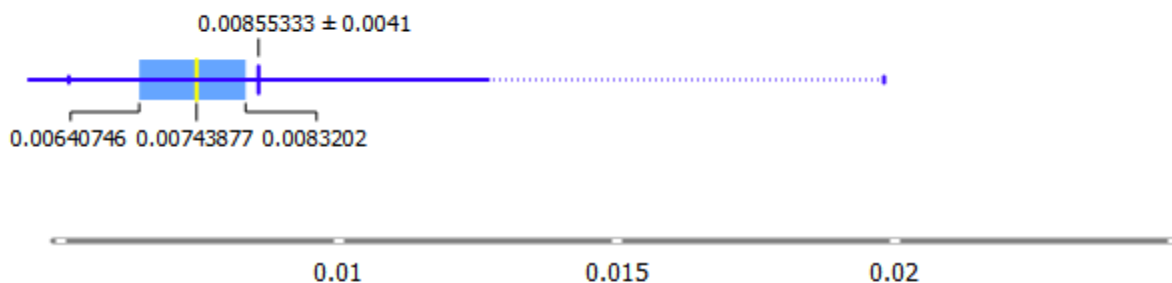


Figura 3.1.8 Distribuția benzii 635 cm^{-1} în prezența Zn^{2+}

Când s-a folosit Mg^{2+} pentru adsorbția acidului uric la suprafața nanostructurilor de argint, s-a observat o ușoară amplificare a semnalului SERS a acidului uric. *Figura 3.1.9* prezintă spectrul SERS mediu împreună cu deviația standard a acidului uric achiziționat în prezența Mg^{2+} . Se observă prezența benzilor SERS caracteristice acidului uric ($635, 811, 1130\text{ cm}^{-1}$), întrucât Mg^{2+} promovează adsorbția acidului uric la suprafața nanostructurilor de argint. Totuși, semnalul

SERS al acidului uric adsorbit pe suprafața nanostructurilor de argint este mult mai slab atunci când adsorbția e promovată de Mg^{2+} comparativ cu Ca^{2+} .

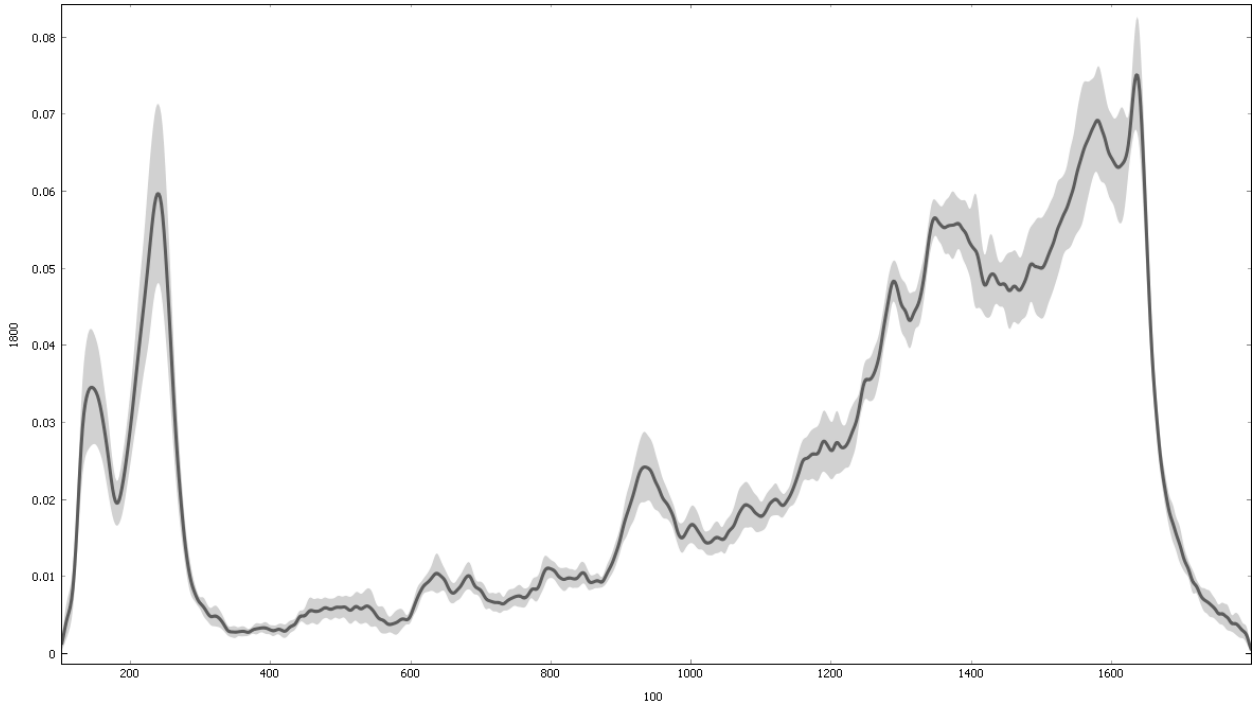


Figura 3.1.9 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard a acidului uric în prezența cationului de Mg^{2+}

Figura 3.1.10 arată uniformitatea distribuției semnalului SERS a acidului uric adsorbit la suprafața nanostructurilor de argint prin intermediul Mg^{2+} . În acest scop a fost reprezentată distribuția spectrului SERS a acidului uric de-a lungul liniei substratului metalic, spectru reprezentat în culori false.

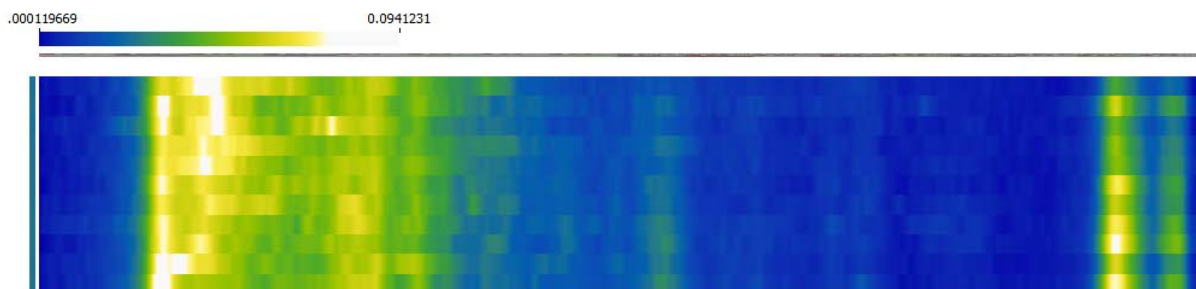


Figura 3.1.10 Distribuția spectrului în prezența Mg^{2+}

Se observă o distribuție uniformă a semnalului, spectrul SERS al acidului uric fiind detectat în fiecare punct de achiziție, după cum se arată prin intermediul benzii.

Variația distribuției semnalului SERS a acidului uric a fost urmărită folosind banda SERS 635 cm^{-1} ca marker. În figura 3.1.10 este prezentată distribuția benzii 635 cm^{-1} de-a lungul liniei substratului metalic.

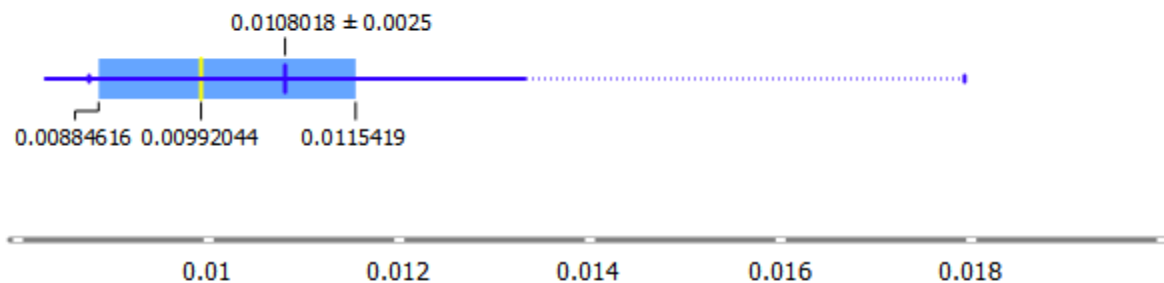


Figura 3.1.11 Distribuția benzii 635 cm^{-1} în prezența Mg^{2+}

Valoarea variației benzii 635 cm^{-1} este 0.23 % din intensitatea semnalului, lucru care arată o distribuție uniformă a spectrului SERS. Mg^{2+} promovează adsorbția acidului uric pe substratul solid, efect similar cu comportamentul în detecția SERS folosind cit-AgNPs.

În concluzie, adsorbția acidului uric la suprafața AgNws este promovată de Ca^{2+} , în timp ce Mg^{2+} oferă o adsorbție slabă, iar Zn^{2+} nu influențează contactul dintre acidul uric și AgNws. Influența cationilor asupra adsorbției acidului uric la suprafața AgNws este similară cu comportamentul observat la suprafața AgNPs în soluție (Figura 3.1.12). Totuși ordinea promovării adsorbției acidului uric la suprafața metalică este diferită în cazul AgNws față de cit-AgNPs. Dacă în soluție coloidală Ca^{2+} nu amplifică semnalul SERS a acidului uric, ci doar a citratului, pentru AgNw Ca^{2+} este cationul optim pentru promovarea adsorbției acidului uric pe AgNws. În cazul Zn^{2+} o ușoară amplificare a semnalului SERS a acidului uric a fost observată pentru cit-

AgNPs în timp ce pe substratul solid Zn²⁺ nu a avut nicio influență. Mg²⁺ promovează adsorbția acidului uric pe cit-AgNPs și pe AgNw.

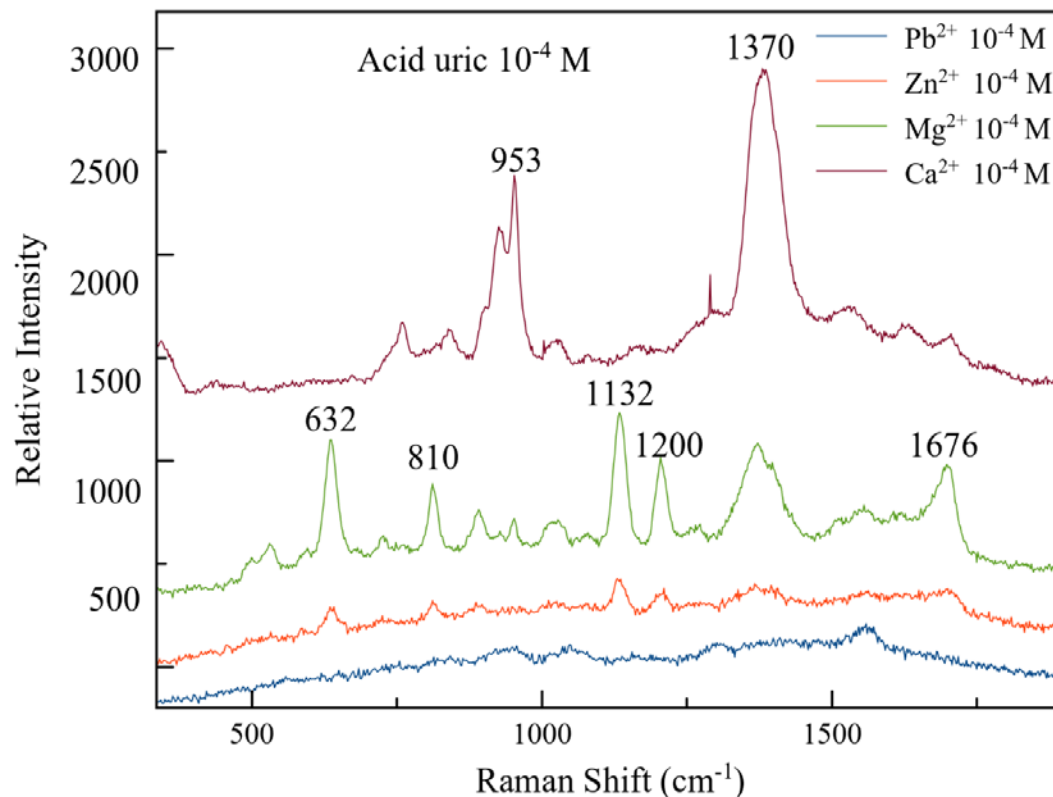


Figura 3.1.12 Spectrul SERS al acidului uric 10⁻⁴ M obținut folosind ca substrat metallic cit-AgNPs activate cu Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺ 10⁻⁴M

În comparație cu achiziția spectrelor SERS în soluție, substratul solid oferă avantajul reproductibilității mari, variația semnalului SERS a acidului uric fiind de ordinul de 0.14 % în prezența Ca²⁺. Mai mult, AgNws nu sunt sensibile la variații de mediu precum AgNPs.

3.2 Acidul salicilic

S-a evaluat efectul cationilor asupra amplificării spectrelor SERS ale moleculei de acid salicilic. 2 substraturi AgNws au fost imersate în soluții de acid salicilic 10⁻⁴M. Pentru două

dintre substrat în soluția de imersare au fost agăuțați cationii Ca^{2+} , Zn^{2+} , concentrație finală 10^{-4} M sub formă de sare. Protocolul de achiziție a fost prezentat în secțiunea materiale și metode.

Primul pas a constat în analizarea spectrului SERS al acidului salicilic în absența cationilor.

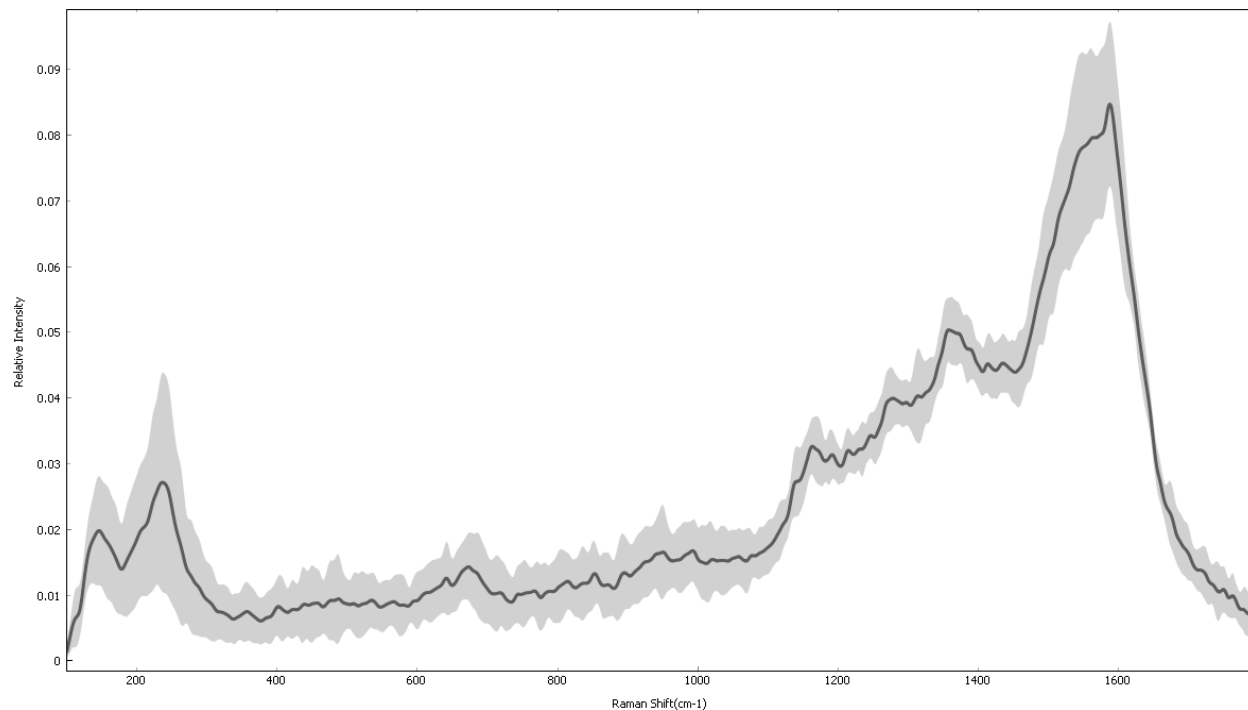


Figura 3.2.1 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard a acidului salicilic

Figura 3.2.1. prezintă spectrul SERS mediu împreună cu deviația standard a acidului salicilic achiziționate de-a lungul unei linii ale substratului AgNWs. Nu s-a observat nicio bandă SERS caracteristica acidului salicilic sau citratului.

Figura 3.2.2. prezintă distribuția spectrului citratului de-a lungul liniei substratului solid încodat în culori false. Se observă o distribuție uniformă a spectrului SERS de-a lungul liniei.

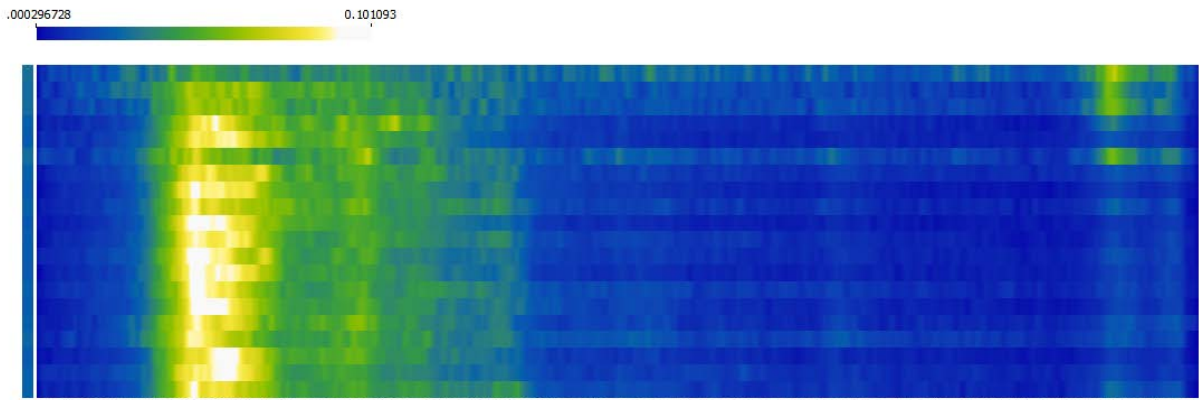


Figura 3.2.2 Distribuția spectrului acidului salicilic

A fost urmărită distribuția benzii 1580 cm^{-1} caracteristică acidului salicilic. *Figura 3.1.3.* prezintă distribuția benzii 1580 cm^{-1} pe linia substratului AgNws. Chiar dacă intensitatea benzii 1580 cm^{-1} este diferită de 0, aceasta nu poate fi atribuită acidului salicilic, întrucât se observă în analiza vizuală a spectrului acidului SERS lipsa semnalului caracteristic acidului salicilic.

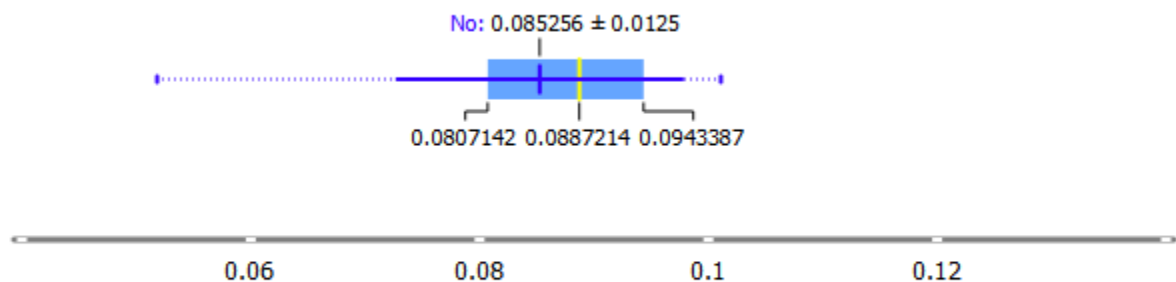


Figura 3.2.3 Distribuția benzii 1580 cm^{-1}

Mai departe s-a urmărit determinarea influenței cationilor asupra detecției SERS a acidului salicilic folosind un substrat solid de tip AgNws. În cazul cationului de calciu, se observă prezența benzilor SERS caracteristice acidului salicilic (855 , 1139 , 1390 și 1582 cm^{-1}), întrucât Ca^{2+} promovează adsorpția acidului salicilic la suprafața nanostructurilor de argint. Pe lângă aceste benzi specifice acidului salicilic se observă și benzile de la 950 și 1360 cm^{-1} , caracteristice citratului. Banda vibrațională de la 1360 prezintă o vibrație COO^- , această grupare

fiind prezentă atât la acidul salicilic, cât și la citrat, prin urmare, această bandă este mai intensă datorită numărului mare de grupări adsorbite pe suprafața AgNws. Astfel, Ca^{2+} conduce la adsorbția atât a citratului cât și a acidului salicilic pe suprafața metalică de argint.

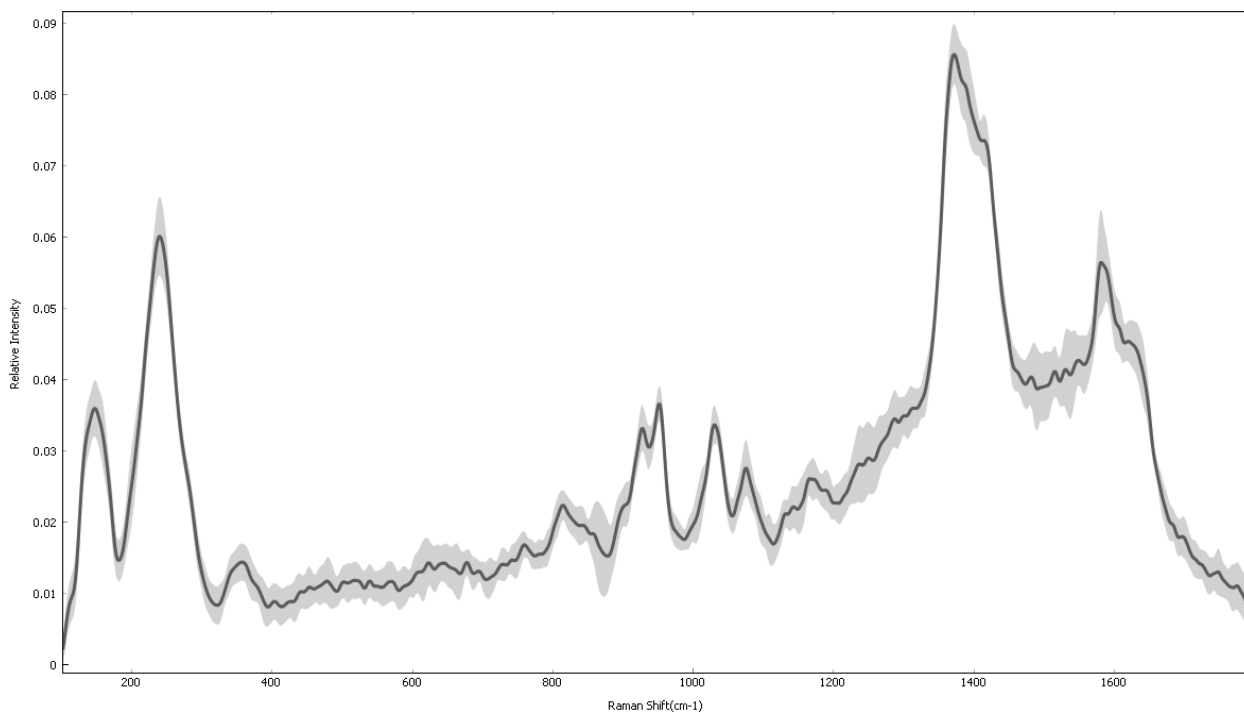


Figura 3.2.4 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard a acidului salicilic în prezența cationului de Ca^{2+}

A fost urmărită distribuția benzii 1580 cm^{-1} caracteristică acidului salicilic. *Figura 3.2.5.* prezintă distribuția benzii 1580 cm^{-1} pe linia substratului AgNws. Se observă o distribuție uniformă a semnalului, spectrul SERS al acidului salicilic fiind detectat în fiecare punct de achiziție.

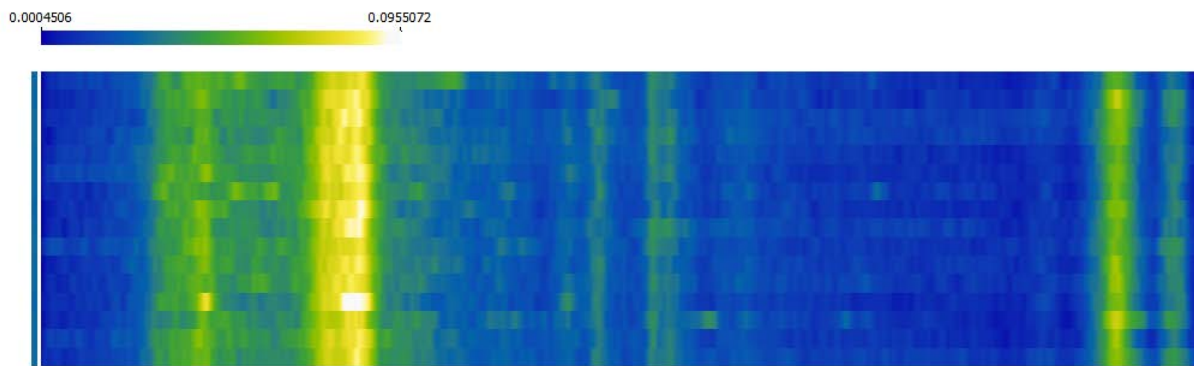


Figura 3.2.5 Distribuția spectrului acidului salicilic în prezența cationului de Ca^{2+}

Variația distribuției semnalului SERS a acidului salicilic a fost urmărită folosind banda SERS 1580 cm^{-1} ca marker. În *Figura 3.2.6* este prezentată distribuția benzii 1580 cm^{-1} de-a lungul liniei substratului metalic. Valoarea variației benzii 1580 cm^{-1} este 0.43% din intensitatea semnalului, lucru care arată o distribuție uniformă a spectrului SERS.

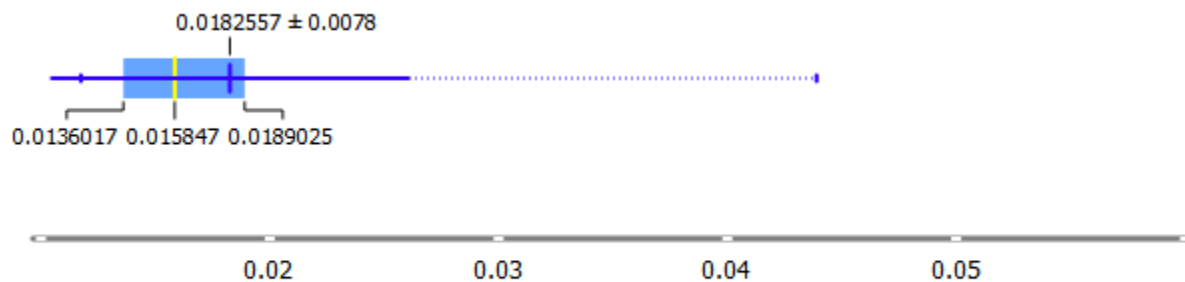


Figura 3.2.6 Distribuția benzii 1580 cm^{-1} în prezența Ca^{2+}

În cazul Zn^{2+} se observă amplificarea semnalului SERS a acidului salicilic și a citratului, însă semnalul SERS este foarte slab. *Figura 3.2.7* prezintă spectrul SERS mediu împreună cu deviația standard a acidului salicilic achiziționat în prezența Zn^{2+} .

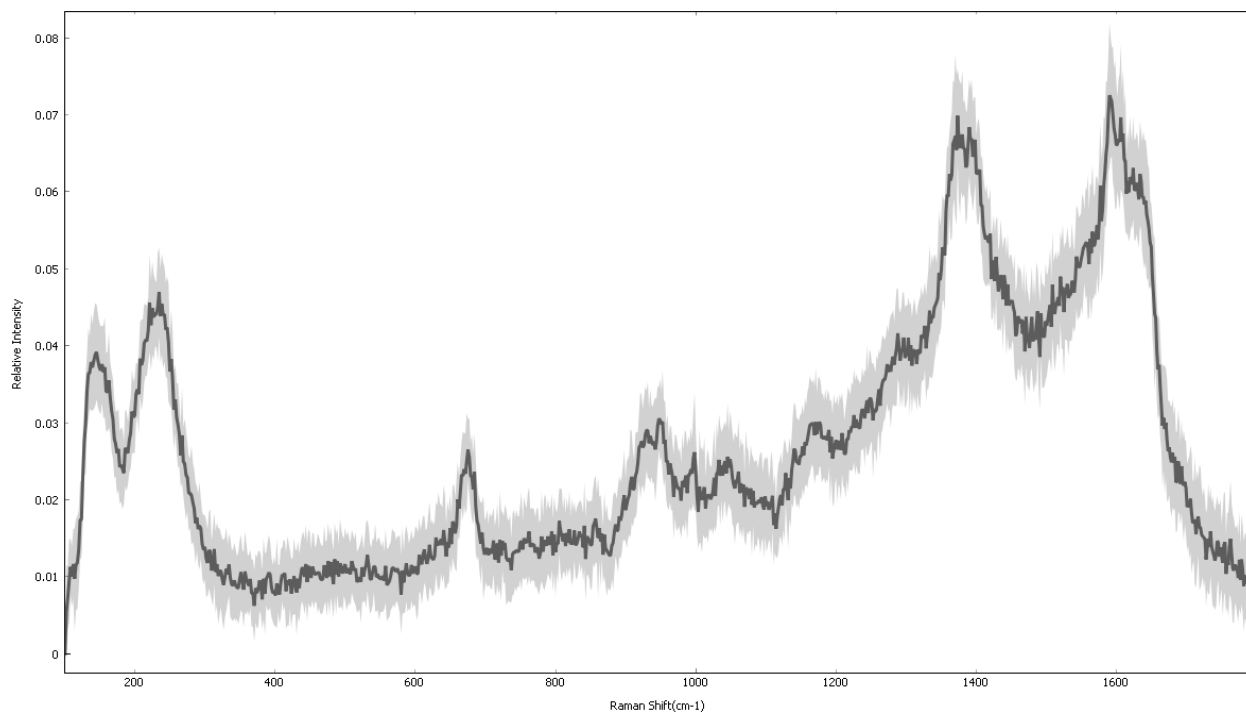


Figura 3.2.7 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard a acidului salicilic în prezența cationului de Zn^{2+}

Spectrul este dominat de benzile SERS caracteristice citratului (930, 1360 cm^{-1}), surfactantul nanostructurilor de argint, cu o contribuție minoră de la acidul salicilic la 1585 cm^{-1} . *Figura 3.2.8* prezintă distribuția spectrului citratului de-a lungul liniei substratului solid încodat în culori false. Chiar dacă spectrul SERS prezintă o amplificare slabă a semnalului și este zgomotos, se observă o distribuție uniformă a spectrului SERS de-a lungul liniei analizate din substratul AgNws

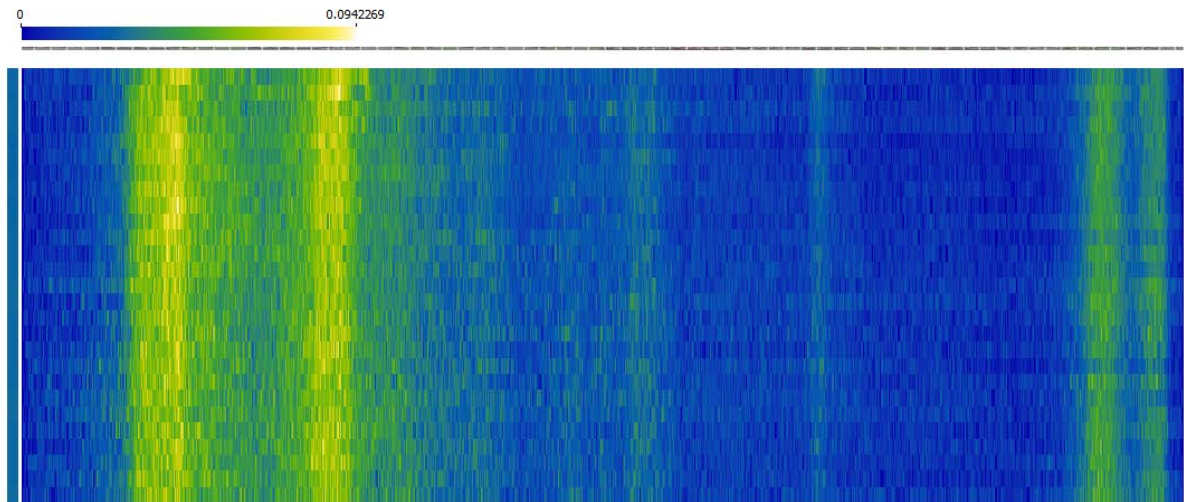


Figura 3.2.8 Distribuția spectrului acidului salicilic în prezența cationului de Zn^{2+}

A fost urmărită distribuția benzii 1580 cm^{-1} caracteristică acidului salicilic. *Figura 3.2.9* prezintă distribuția benzii 1580 cm^{-1} pe linia substratului AgNws. Se observă că intensitatea benzii este apropiată de 0, ceea ce arată faptul că acidul salicilic nu a adsorbit pe suprafața nanostructurilor.

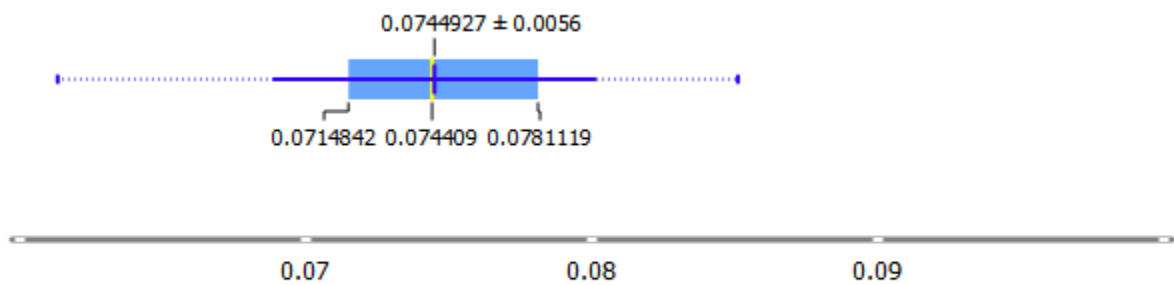


Figura 3.2.9 Distribuția benzii 1580 cm^{-1} în prezența Zn^{2+}

În concluzie, pentru adsorbția acidului salicilic la suprafața AgNws Ca^{2+} promovează adsorbția, în timp ce Zn^{2+} are o influență minimă asupra contactului dintre acid salicilic și AgNws. Influența cationilor asupra adsorbției acidului salicilic la suprafața AgNws este similară cu comportamentul observat la suprafața AgNPs în soluție.

În comparație cu achiziția spectrelor SERS în soluție, substratul solid oferă avantajul reproductibilității mari, variația semnalului SERS a acidului salicilic mai mult, AgNws nu este sensibil la variații de mediu precum AgNPs. Totuși și în cazul substratului lichid se obține semnal de la cationul de Ca^{2+} .

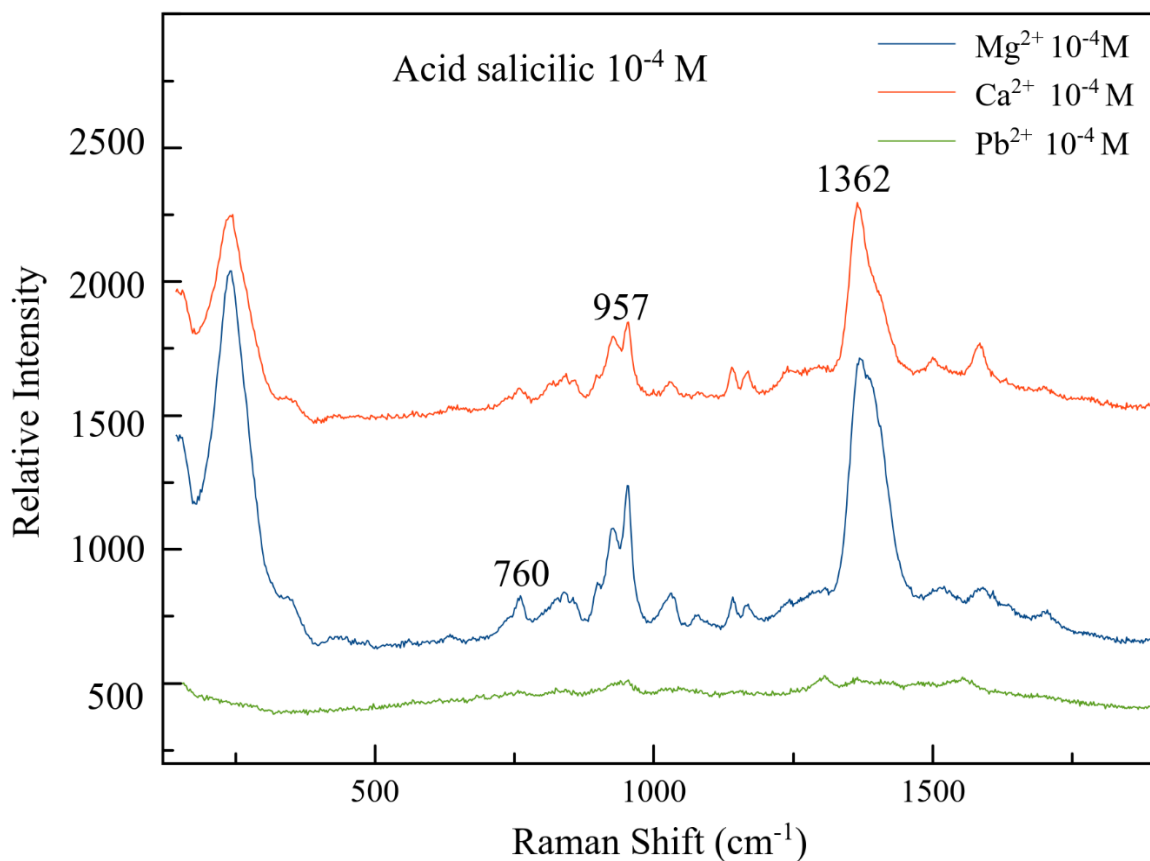


Figura 3.2.10 Spectrul SERS al acidului salicilic 10^{-4} M obținut folosind ca substrat metallic cit-AgNPs activate cu Ca^{2+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} 10^{-4} M

3.3 Rozbengal

S-a evaluat efectul cationilor asupra amplificării semnalului SERS pentru roz bengal (RB) Se observă amplificarea semnalului SERS a RB indiferent de cationul utilizat. Protocolul de achiziție a spectrelor SERS a fost prezentat în secțiunea materiale și metode. A fost testată influența cationilor Zn^{2+} 10^{-4} M asupra amplificării SERS a spectrului RB 10^{-7} M. Analiza cantitativă a varianței semnalului RB a fost analizată prin intermediul benzii SERS de la 1610 cm^{-1} .

Spectrul SERS al RB se diferențiază prin prezența benzilor vibraționale situate la 1100 , 1331 , 1492 , 1614 cm^{-1} .

În absența cationilor spectrul este dominat de fluorescența caracteristică a colorantului RB, arătând că RB nu este adsorbit la suprafața AgNws. *Figura 3.3.1* prezintă spectrul SERS al RB achiziționat folosind ca substrat metalic AgNws.

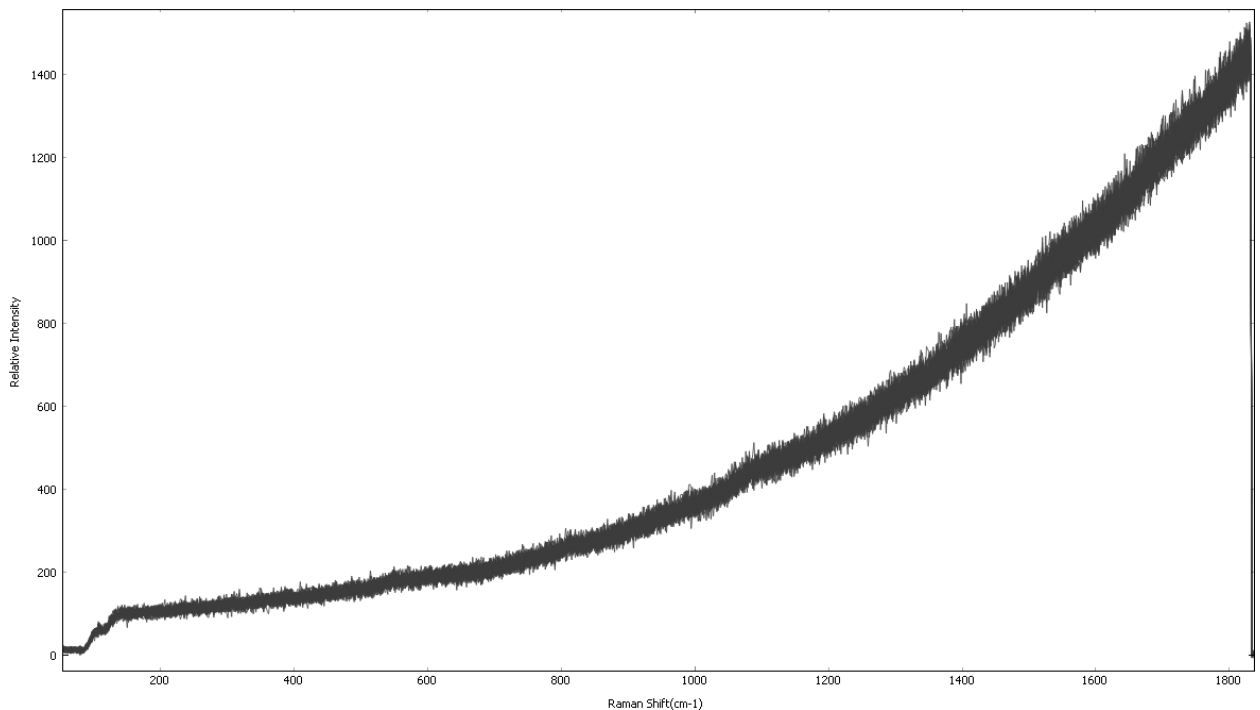


Figura 3.3.1 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard a roz bengalului

Figura 3.3.2 prezintă distribuția fluorescenței de-a lungul liniei substratului AgNws. Se observă o distribuție uniformă a semnalului fluorescent care arată distribuția uniformă a moleculelor RB pe linia substratului, fără ca RB să fie chemisorbit pe suprafața metalică.

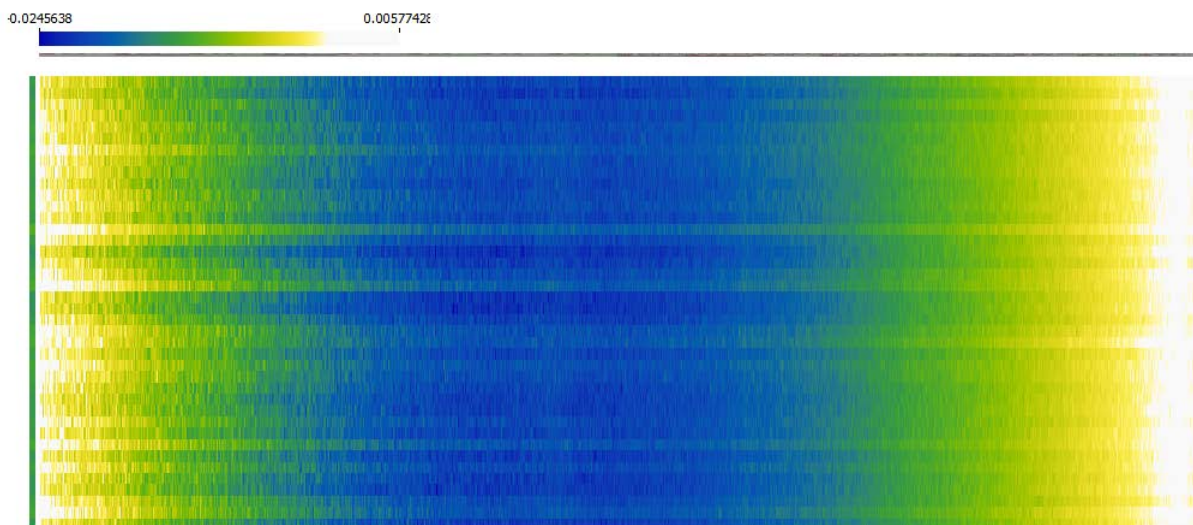


Figura 3.3.2 Distribuția spectrului roz benganelui

Atunci când s-a folosit ca adion cationul de Ca^{2+} cu o concentrație 10^{-4} M se observă apariția spectrului SERS caracteristic RB, determinat de benzile vibraționale situate la 1100, 1331, 1492, 1614 cm^{-1} . De asemenea, se observă reducerea semnalului fluorescent caracteristic RB, ceea ce demontrează adsorbția RB la suprafața metalică. Așadar, cationul de Ca^{2+} promovează adsorbția RB la suprafața metalică.

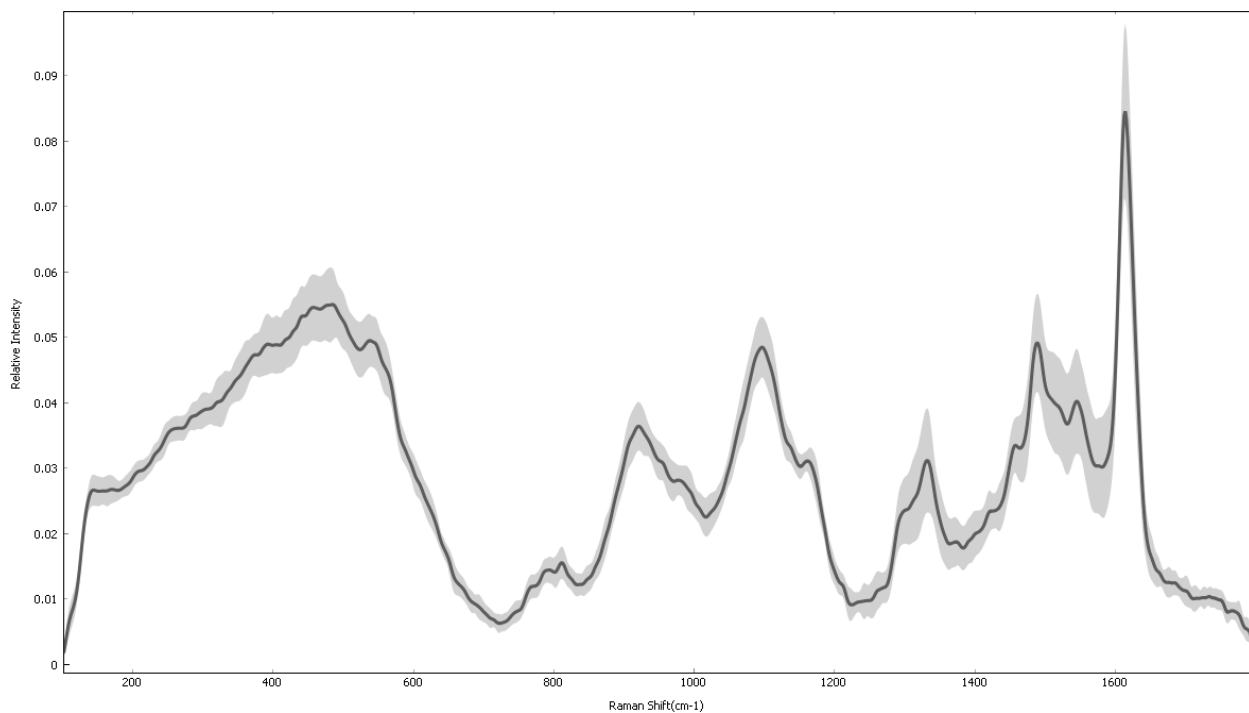


Figura 3.3.4 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard a roz bengalului în prezența cationului de Ca^{2+}

A fost urmărită distribuția benzii 1610 cm^{-1} caracteristică RB. *Figura 3.3.5.* prezintă distribuția benzii 1610 cm^{-1} pe linia substratului AgNws. Se observă o distribuție uniformă a semnalului, spectrul SERS al roz bengalului fiind detectat în fiecare punct de achiziție.

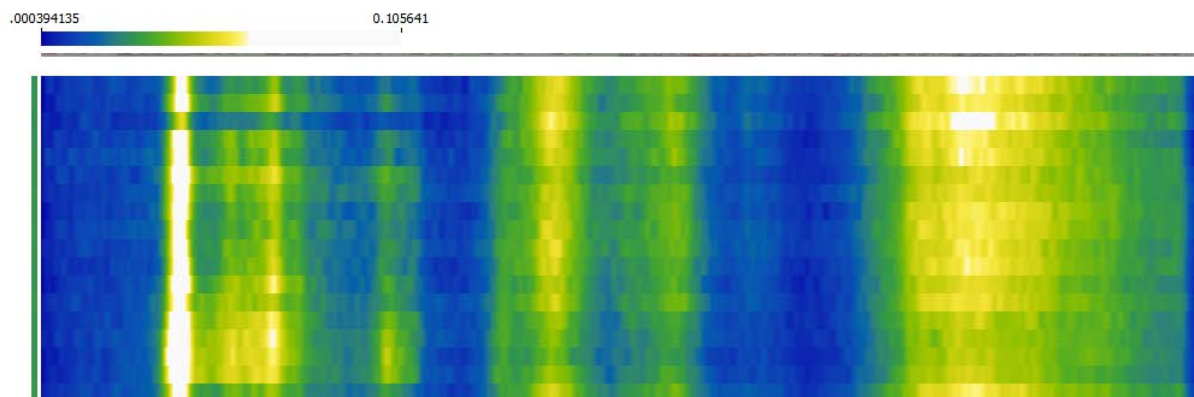


Figura 3.3.5 Distribuția spectrului roz bengalului în prezența cationului de Ca^{2+}

Variația distribuției semnalului SERS al RB a fost urmărită folosind banda SERS 1610 cm^{-1} ca marker. În *Figura 3.3.6* este prezentată distribuția benzii 1610 cm^{-1} de-a lungul liniei substratului metalic. Valoarea variației benzii 1610 cm^{-1} este 0.15 % din intensitatea semnalului, lucru care arată o distribuție uniformă a spectrului SERS.

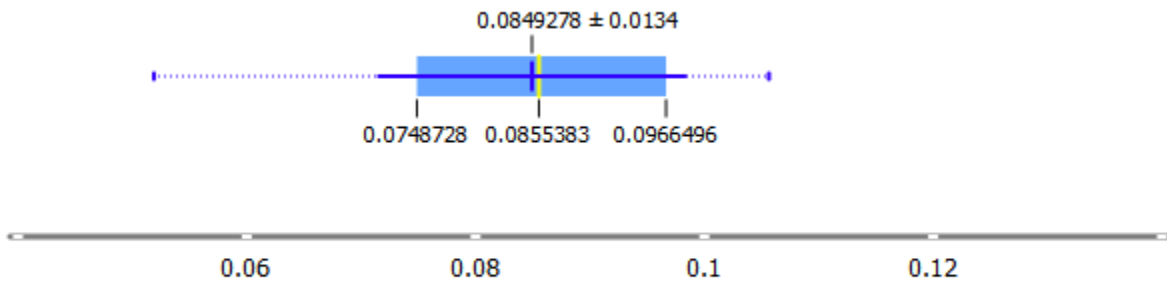


Figura 3.3.6 Distribuția benzii 1610 cm^{-1} în prezența Ca^{2+}

Similar cu efectul cationului de Ca^{2+} , cationul Zn^{2+} conduce la amplificarea semnalului SERS a RB și la reducerea fundalului fluorescent. Acest efect susține adsorbția RB la suprafața metalică prin intermediul Zn^{2+} .

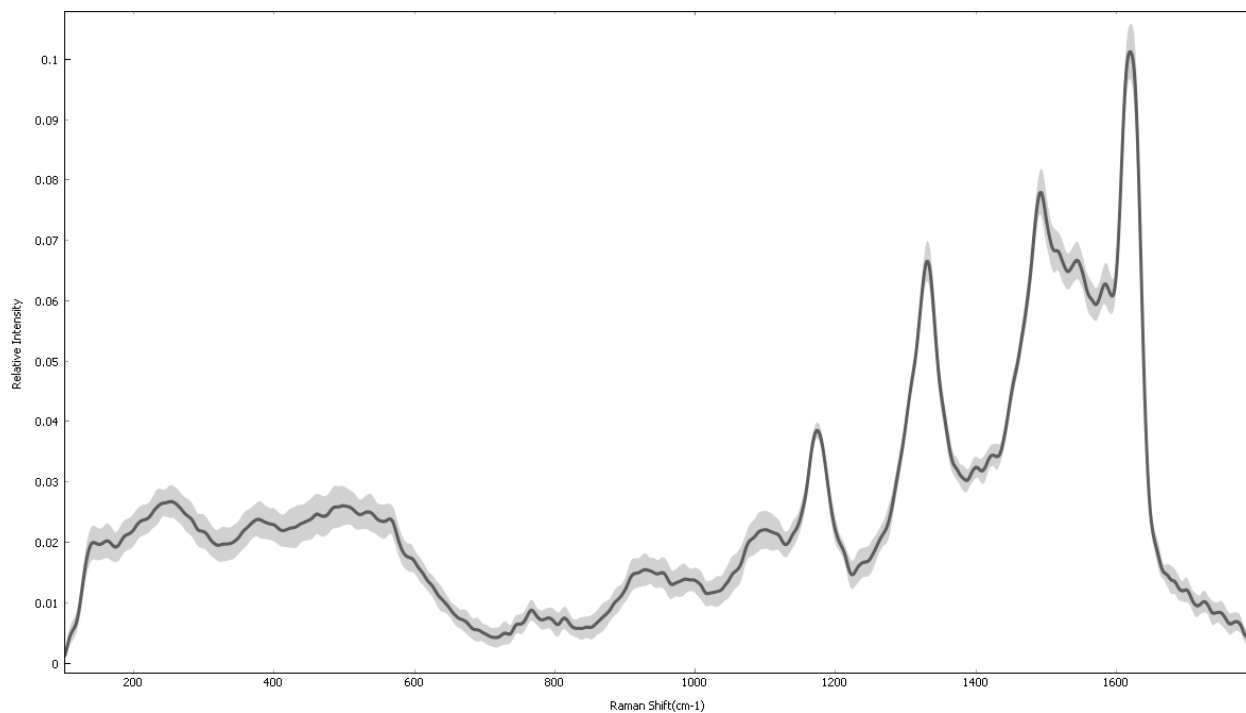


Figura 3.3.7 Spectrele SERS medii împreună cu deviația standard a roz bengalului în prezența cationului de Zn^{2+}

A fost urmărită distribuția benzii 1610 cm^{-1} caracteristică RB în prezența cationului de Zn^{2+} . *Figura 3.3.8.* prezintă distribuția benzii 1610 cm^{-1} pe linia substratului AgNws. Se observă o distribuție uniformă a semnalului, spectrul SERS al roz bengalului fiind detectat în fiecare punct de achiziție.

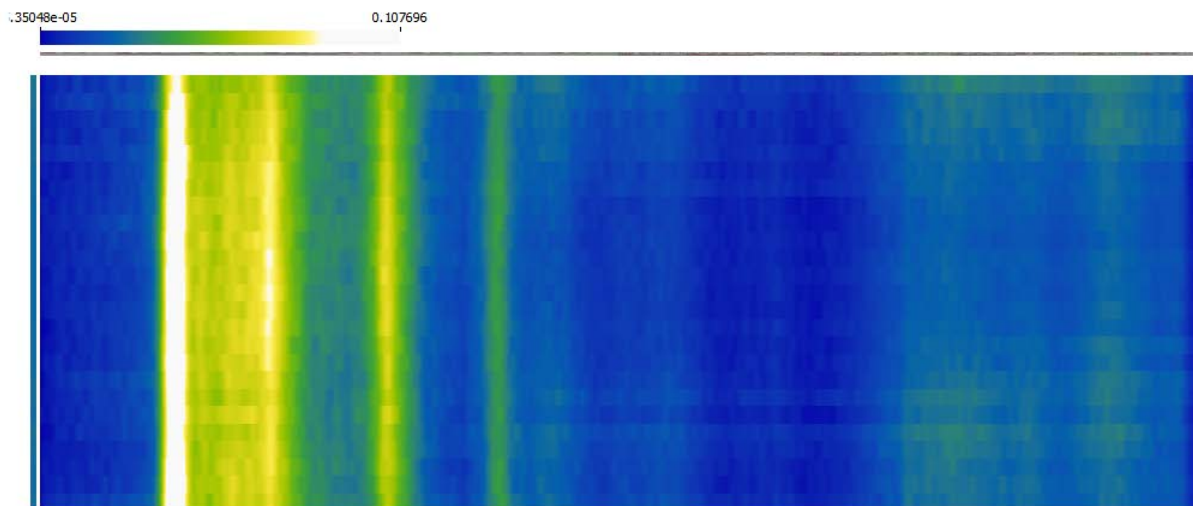


Figura 3.3.8 Distribuția spectrului roz bengalului în prezența cationului de Zn^{2+}

Variația distribuției semnalului SERS al RB a fost urmărită folosind banda SERS 1610 cm^{-1} ca marker. În *Figura 3.3.9* este prezentată distribuția benzii 1610 cm^{-1} de-a lungul liniei substratului metalic. Valoarea variației benzii 1610 cm^{-1} este aproape de 0.

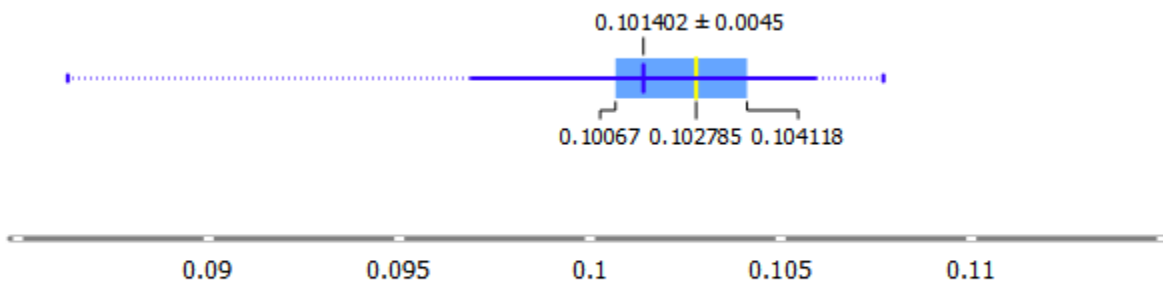
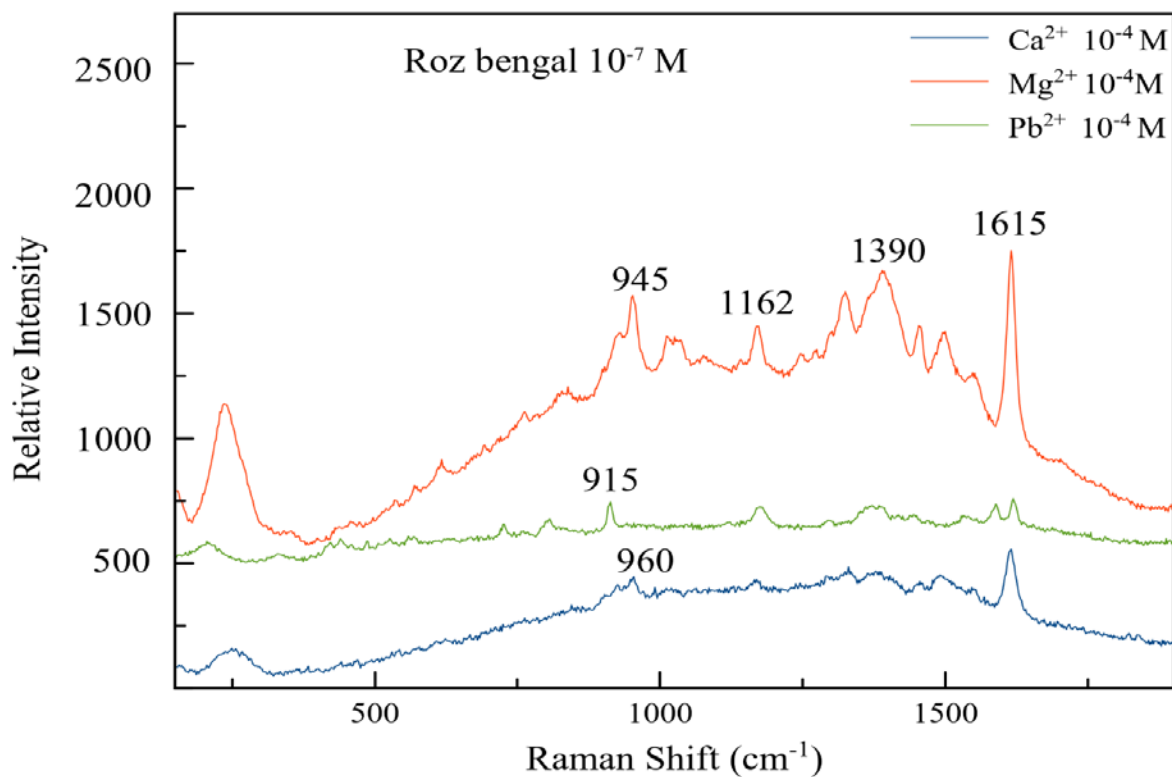


Figura 3.3.6 Distribuția benzii 1580 cm^{-1} în prezența Zn^{2+}

Diferența dintre substratul metalic și cel lichid în cazul roz bengalului este intensitatea mult mai mare a pikurilor în cazul substratului metalic. De asemenea, în acest caz oferă avantajul reproductibilității mari, variația semnalului SERS a RB AgNws nu este sensibil la variații de mediu precum AgNPs.



BIBIOGRAFIE

1. Otto, A., et al., *Surface-enhanced Raman scattering*. Journal of Physics: Condensed Matter, 1992. **4**(5): p. 1143-1212.
2. Otto, A., A. Bruckbauer, and Y.X. Chen, *On the chloride activation in SERS and single molecule SERS*. Journal of Molecular Structure, 2003. **661-662**: p. 501-514.
3. Iancu, S.D., et al., *The role of Ag(+), Ca(2+), Pb(2+) and Al(3+) adions in the SERS turn-on effect of anionic analytes*. Beilstein J Nanotechnol, 2019. **10**: p. 2338-2345.
4. Leopold, N., et al., *The role of adatoms in chloride-activated colloidal silver nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering enhancement*. Beilstein J Nanotechnol, 2018. **9**: p. 2236-2247.
5. Stefanescu, A., et al., *Specific and selective sers active sites generation on silver nanoparticles by cationic and anionic adatoms*. Romanian Reports in Physics, 2018. **70**(4).
6. Mosier-Boss, P.A., *Review of SERS Substrates for Chemical Sensing*. Nanomaterials (Basel), 2017. **7**(6).
7. Pilot, R., et al., *A Review on Surface-Enhanced Raman Scattering*. Biosensors (Basel), 2019. **9**(2).
8. Kneipp, J., et al., *Novel optical nanosensors for probing and imaging live cells*. Nanomedicine, 2010. **6**(2): p. 214-26.
9. Otto, A., *The 'chemical' (electronic) contribution to surface-enhanced Raman scattering*. Journal of Raman Spectroscopy, 2005. **36**(6-7): p. 497-509.
10. Eric Le Ru, Pablo Etchegoin, *Principles of Surface Enhanced Raman Spectroscopy and related plasmonic effects*.
11. Corina D. Bocsa, Vlad Moisoiu, Andrei Stefanescu, Loredana F. Leopold, Nicolae Leopold, Daniela Fodor. "Knee osteoarthritis grading by resonant Raman and surface-enhanced Raman scattering (SERS) analysis of synovial fluid" , Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2019
12. Andrei Stefanescu, Stefania D. Iancu, Nicolae Leopold. " Selective Single Molecule SERRS of Cationic and Anionic Dyes by Cl and Mg Adions: An Old New Idea " , The Journal of Physical Chemistry C, 2021
13. Andrei Stefanescu, Oana M. Biro, Otto TodorBoer, Ioan Botiz, Emiliano Cortés, Nicolae Leopold. "Halide–Metal Complexes at Plasmonic Interfaces Create New Decay Pathways for Plasmons and Excited Molecules" , ACS Photonics, 2022
14. E LERU. "A quick overview of surface-enhanced Raman spectroscopy" , Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, 2009
15. Lara K. Rotter, Naxhije Berisha, Hsiao-Ting Hsu, Kathleen H. Burns, Chrysafis Andreou, Moritz F. Kircher. "Visualizing surface marker expression and intratumoral heterogeneity with SERRS-NPs imaging" , Nanotheranostics, 2022

16. Lucretia Avram, Stefania D. Iancu, Andrei Stefanu, Vlad Moisoiu et al. "SERS-Based Liquid Biopsy of Gastrointestinal Tumors Using a Portable Raman Device Operating in a Clinical Environment" , Journal of Clinical Medicine, 2020
17. A Otto, I Mrozek, H Grabhorn, W Akemann. "Surface-enhanced Raman scattering" , Journal Exclude quotes Off Exclude bibliography Off Exclude matches Off of Physics: Condensed Matter, 1992
18. https://ro.wikipedia.org/wiki/Acid_uric
19. https://ro.wikipedia.org/wiki/Acid_fumaric
20. https://ro.wikipedia.org/wiki/Acid_oxalic
21. https://ro.wikipedia.org/wiki/Acid_salicilic
22. <https://ro.wikipedia.org/wiki/Aspirin%C4%83>
23. <https://ro.wikipedia.org/wiki/Metiloranj>
24. https://en.wikipedia.org/wiki/Rose_bengal
25. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methylene-blue>