

Universitatea „Babeş-Bolyai” Cluj-Napoca

Facultatea de Fizică

Specializarea Fizică

LUCRARE DE LICENŢĂ

Coordonator științific:

Prof. dr. Nicolae Leopold

Lect. dr. Ștefania Dana Iancu

Absolvent:

Codarcea Veronica-Sânziana

Cluj-Napoca

2025

Universitatea „Babeş-Bolyai” Cluj-Napoca

Facultatea de Fizică

Specializarea Fizică

LUCRARE DE LICENŢĂ

Studiul interacţiunii dintre coloranţi și suprafața nanoparticulelor de argint în prezența ionilor halogenură (Cl^- , Br^- , I^-) și a ionului de calciu

Coordonator științific:

Prof. dr. Nicolae Leopold

Lect. dr. Ștefania Dana Iancu

Absolvent:

Codarcea Veronica-Sânziana

Cluj-Napoca

2025

Abstract

The recent scientific exploration of metallic nanostructures has proven to be both beneficial and innovative across a wide range of fields, largely due to their exceptional versatility and the numerous ways in which they can be engineered. Among their many applications, these nanoparticles play a central role in surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS), a phenomenon primarily governed by two enhancement mechanisms: the electromagnetic and the chemical. While it is generally accepted that both mechanisms contribute to the overall SERS signal, emphasis has traditionally—and somewhat conveniently—been placed on the more extensively studied and better understood electromagnetic theory.

Electromagnetic enhancement is often attributed to the presence of so-called “hot spots”—localized regions of intense electromagnetic field—typically found in the narrow gaps between closely spaced nanoparticles. As such, nanoparticle aggregation is frequently cited as a key factor in the generation of these hot spots.

In this study, we investigate molecular processes occurring at the surface of silver nanoparticles using cationic and anionic dyes as probe molecules. The introduction of halide ions and calcium ions (Ca^{2+}) alters the electronic surface properties of the nanoparticles, which in turn affects the affinity and adsorption behavior of the dyes. These interactions were examined using SERS, fluorescence spectroscopy, and surface-enhanced fluorescence (SEF).

Specifically, we aim to highlight the role of nanoparticle charging and discharging by modulating the Fermi level of silver nanoparticles through the addition of halide (Cl^- , Br^- , I^-) and calcium (Ca^{2+}) ions. The effect of these adions on the adsorption behavior of the cationic dye Nile Blue and the anionic dye Rose Bengal was studied both in aqueous solution and in colloidal suspensions of citrate-capped silver nanoparticles synthesized via the Lee–Meisel method.

Raman spectroscopy was employed using excitation wavelengths tailored to each dye—532 nm for Rose Bengal and 633 nm for Nile Blue—taking advantage of their fluorescent properties to enhance signal sensitivity. In parallel, UV-Vis absorption spectroscopy was used to monitor nanoparticle aggregation, which we sought to minimize in order to isolate chemical effects from electromagnetic contributions.

The experimental results were abundant, diverse, and at times unexpected. While the adsorption of Nile Blue behaved as anticipated based on previous studies, Rose Bengal exhibited unusual and reproducible deviations in the presence of specific adions. These findings underscore the need for further investigation into the phenomenon of metal-enhanced fluorescence and the specific conditions—particularly involving iodide and calcium ions—that may influence or trigger it.

Cuprins

Abstract.....	3
Introducere	5
1. Aspecte teoretice.....	7
1.1. Spectroscopia Raman	7
1.2. Efectul SERS.....	11
1.3. Proprietățile nanoparticulelor de argint	15
1.4. Nivelul Fermi al nanoparticulelor de argint.....	15
1.5. Spectroscopia de absorbție UV-Vis	17
1.6. Surface-enhanced fluorescence (SEF).....	20
2. Procedee experimentale.....	22
2.1. Sinteza nanoparticulelor de argint	22
2.2. Caracteristicile coloranților	23
2.2.1. Nile Blue	23
2.2.2. Rose Bengal	23
2.3. Achiziționarea spectrelor	24
2.3.1. Achiziționarea spectrelor Raman și SERS	24
2.3.2. Achiziționarea spectrelor UV-Vis.....	26
3. Rezultate și discuții	27
3.1. Nile Blue	27
3.2. Rose Bengal	37
Concluzii și perspective de viitor	53
Bibliografie	55

Introducere

Recenta exploatare științifică a nanostructurilor metalice s-a dovedit a fi benefică și inovatoare în multiple domenii, în special datorită versatilității acestora, și posibilității de a fi manipulate în nenumărate moduri. Aceste nanoparticule sunt esența efectului SERS (spectroscopia Raman amplificată la suprafață), iar teoriile care stau la baza acestuia sunt teoria electromagnetică și teoria chimică. În general, cercetătorii sunt de acord că aceste teorii contribuie amândouă la generarea semnalului SERS, însă accentul a căzut implicit și convenabil pe teoria mai studiată și mai înțeleasă, cea electromagnetică.

Amplificarea electromagnetică a semnalului Raman este deseori atribuită unor hotspot-uri electromagnetice, identificate ca zona interspațială dintre două nanoparticule lipite. Astfel, agregarea nanoparticulelor este deseori considerată responsabilă pentru apariția acestor hotspot-uri. În această lucrare sunt analizate procese moleculare la interfața nanoparticulelor de argint, folosind coloranți anionici și cationici ca molecule test. Prin adăugarea ionilor halogenură și ioni de calciu Ca^{2+} sunt modificate proprietățile suprafeței nanoparticulei. Modificarea proprietăților electronice ale suprafeței influențează în mod specific afinitatea moleculelor test, adsorbția/desorbția acestora fiind interogată prin metodele SERS, fluorescență și SEF (fluorescență amplificată de suprafață).

Prezenta lucrare este împărțită în patru capitole. Primul capitol se concentrează pe prezentarea fundamentelor teoretice necesare pentru a înțelege pe deplin esența lucrării. Prin urmare, am elaborat metodele spectroscopice de analiză utilizate, informații despre nanoparticulele de argint și nivelul Fermi al acestora, mai exact modificarea nivelului Fermi prin adăugarea de ioni în amestecul coloidal.

Al doilea capitol se axează pe partea experimentală, în care se explică parcursul procesului de sintetizare al nanoparticulelor de argint (cit-AgNPs), dar și detalii despre coloranții utilizați, Nile Blue (NB) și Rose Bengal (RB). Tot în acest capitol, am descris modul în care am preparat soluțiile pentru fiecare măsurătoare datorită diferențelor de volum necesare pentru fiecare colorant, dar și pentru fiecare aparat. În plus, am descris achiziționarea spectrelor UV-Vis și Raman sau SERS pentru NB și Rose Bengal

Al treilea capitol conține rezultatele experimentelor, împărțite în funcție de substanță. Pentru Nile Blue, am comparat influența ionilor halogenură (Cl^- , Br^- , I^-) asupra fenomenului de adsorbție, adăugați atât înainte, cât și după cationul de calciu Ca^{2+} , și influența adăugării secvențiale a

$\text{Cl}^- \rightarrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{I}^-$ asupra intensității semnalului SERS. Aceste măsurători au fost monitorizate prin intermediul măsurătorilor UV-Vis pentru a determina dacă cit-AgNPs agregă sau nu. Concomitent, pentru Rose Bengal, am determinat într-un mod asemănător influența secvenței mai sus menționate asupra adsorbției sale, cu mențiunea ideii de a dezlocui RB prin intermediul I^- . Rezultatul neobișnuit de amplificare a fluorescenței a dus la centrifugarea probelor, și analiza supernatantului prin metoda Raman.

Ultimul capitol prezintă concluziile care reies în urma acestor experimente, și necesitatea continuării acestor experimente pentru a determina concret sursa rezultatelor inedite.

1. Aspecte teoretice

1.1. Spectroscopia Raman

Efectul Raman a fost observat experimental pentru prima dată în 1928, de către C.V. Raman și K.S. Krishnan în India. Totuși, descoperirea teoretică i se atribuie teoreticianului austriac Adolf Smekal, care a intuit, utilizând teoria cuantică, posibilitatea existenței acestui efect.

Efectul Raman are loc în momentul în care fotonii sunt împrăștiați inelastic pe molecule. Atunci când o probă este iradiată cu o sursă de lumină monocromatică la o anumită lungime de undă, majoritatea fotonilor incidenți fie trec prin aceasta nedeviați, fie sunt împrăștiați elastic, fără pierderi de energie. Totuși, o fracțiune foarte mică (aproximativ 1 la 1 milion de fotoni incidenți) din acești fotoni sunt împrăștiați inelastic la interacțiunea cu proba, producând efectul Raman „scattering” sau împrăștiere Raman.

Radiația electromagnetică este usual caracterizată de lungimea sa de undă. În spectroscopie, accentul cade însă pe analiza interacțiunilor energetice dintre lumină și molecule. Din acest motiv, se preferă utilizarea frecvenței sau a numărului de undă, care sunt mărimi direct proporționale cu energia.

$$E = h\nu = hc\tilde{\nu} \quad (1)$$

unde h este constanta lui Planck, $h = 6.626 \times 10^{-34}$ Js, c este viteza luminii în vid, $c \approx 3 \times 10^8$ m/s și $\tilde{\nu}$ este numărul de undă, exprimat în cm^{-1} .

Împrăștierea Raman și absorbția infraroșu (IR) sunt două metode complementare utilizate pentru a analiza compoziția moleculară, oferind informații despre modurile de vibrație și roto-vibrație ale grupărilor moleculare. În funcție de proprietățile de simetrie ale moleculelor, anumite moduri de vibrație pot fi active fie doar IR, fie doar Raman. Astfel, cele două tehnici se completează reciproc, oferind o imagine completă asupra structurii moleculare. [1]

Un exemplu de diferențiere între aceste două metode de analiză este felul în care vibrația moleculelor oferă semnal – pentru spectroscopia IR, doar modurile de vibrație care generează o schimbare în momentul de dipol al moleculei sunt active. Pe de altă parte, în cazul spectroscopiei Raman, doar modurile de vibrație care modifică polarizabilitatea moleculei produc efectul de împrăștiere Raman.

Polarizabilitatea este o mărime tensorială care măsoară flexibilitatea norului electronic al unei molecule, ușurința cu care pot fi distorsionați pentru a induce un moment de dipol atunci când sunt introduși într-un câmp electric.

$$\mu = \alpha E \quad (2)$$

În această ecuație, μ reprezintă momentul de dipol indus, α reprezintă polarizabilitatea și E reprezintă intensitatea câmpului electric. Ecuația (2) reprezintă proporționalitatea dintre momentul de dipol indus și intensitatea câmpului electric, cu tensorul polarizabilitate drept constantă de proporționalitate.

Se consideră o moleculă diatomică care vibrează (oscilează); polarizabilitatea se poate exprima ca o serie Taylor:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q}\right)_0 q + \dots \quad (3)$$

unde α_0 este polarizabilitatea moleculei în poziția de echilibru, q reprezintă diferența dintre distanța intermoleculară în procesul de oscilație și distanța intermoleculară la echilibru.

Presupunând că oscilațiile sunt armonice, deplasarea q se exprimă astfel:

$$q = q_0 \cos(2\pi c \tilde{\nu} t) \quad (4)$$

unde q_0 este amplitudinea maximă a vibrației (oscilației), $c\tilde{\nu}$ este frecvența vibrației.

De asemenea, câmpul electric oscilează în timp după formula:

$$E = E_0 \cos(2\pi c\tilde{\nu}_l t) \quad (5)$$

cu $c\tilde{\nu}_l$ – frecvența luminii incidente.

Utilizând aceste formule, putem determina momentul de dipol indus:

$$\mu = E_0 \alpha_0 \cos(2\pi c\tilde{\nu}_l t) + \frac{1}{2} E_0 q_0 \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 \{ \cos [2\pi c(\tilde{\nu}_l - \tilde{\nu}_0)t] + \cos[2\pi c(\tilde{\nu}_l + \tilde{\nu}_0)t] \} \quad (6)$$

Această ecuație arată că în procesul de împrăștiere sunt generate trei frecvențe de oscilație diferite, $c\tilde{\nu}_l$, $c(\tilde{\nu}_l - \tilde{\nu}_0)$ și $c(\tilde{\nu}_l + \tilde{\nu}_0)$. Aceste oscilații se produc simultan, astfel încât molecula împrăștie radiație la toate aceste trei frecvențe.

Corespunzătoare frecvenței $c\tilde{\nu}_l$ este împrăștierea Rayleigh, radiație împrăștiată la aceeași frecvență cu cea a radiației incidente.

Frecvențele $c(\tilde{\nu}_l - \tilde{\nu}_0)$ și $c(\tilde{\nu}_l + \tilde{\nu}_0)$ sunt atribuite împrăștiilor Raman, numite Stokes, respectiv anti-Stokes, care sunt „shift”-uri de la frecvența radiației excitante cu o cantitate egală cu frecvența vibrației moleculare (Figura 1.1).

Aceste deplasări în frecvențe înseamnă deplasări în energie. Fotonii incidenți primesc sau cedează energie la ciocnirea cu molecula. Pentru frecvențele mai sus menționate, energiile corespunzătoare sunt:

$$hc(\tilde{\nu}_l - \tilde{\nu}_0) = hc\tilde{\nu}_{final} \quad (7)$$

$$hc(\tilde{\nu}_l + \tilde{\nu}_0) = hc\tilde{\nu}_{final} \quad (8)$$

Deplasarea Raman poate fi exprimat ca diferența dintre energia de vibrație a moleculei după ciocnire și energia de vibrație a moleculei înainte de ciocnire raportat la produsul dintre constanta lui Planck și viteza luminii:

$$\tilde{\nu}_i - \tilde{\nu}_{final} = \frac{E_1 - E_0}{hc} \quad (9)$$

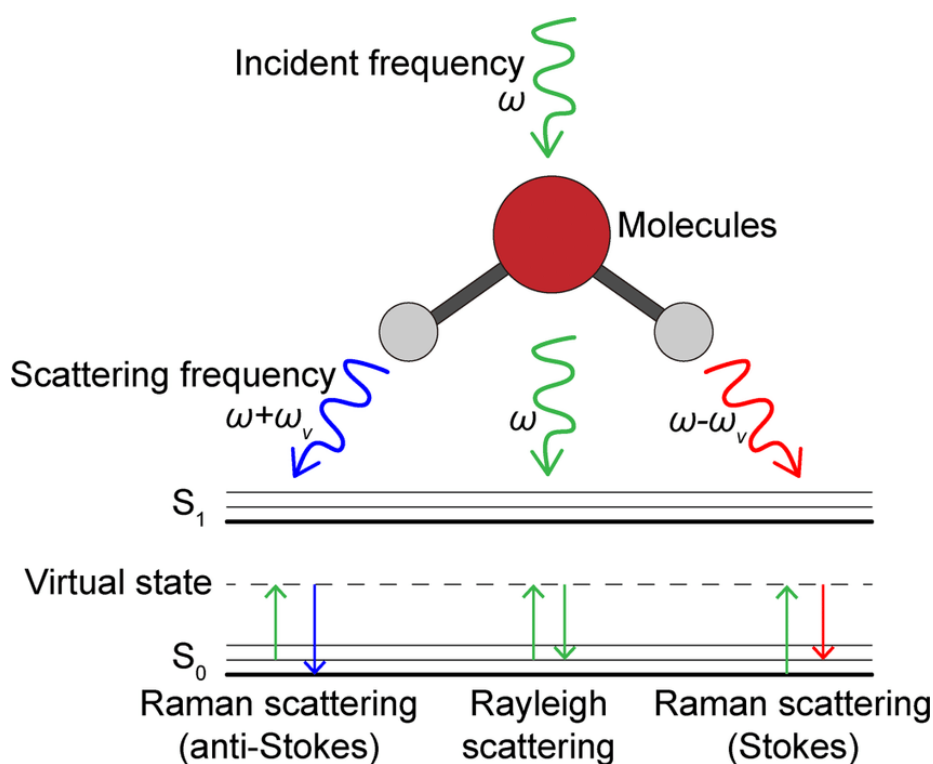


Figura 1.1 – Comparația dintre împrăștierea Rayleigh, Stokes și anti-Stokes, dispusă energetic. [1]

În cazul împrăștierii Raman de tip Stokes, tranziția are loc astfel: electronii aflați inițial în starea vibrațională $v = 0,1,2,3\dots$ a nivelului electronic fundamental a stării electronice fundamentale absoarbe radiație electromagnetică și sunt excitați către un nivel vibrațional virtual. De aici, ei se dezexcită către un nivel vibrațional superior celui inițial, dar real, tot al nivelului electronic fundamental. În cazul împrăștierii anti-Stokes, procesul este invers, electronii de pe un nivel

vibrațional $v = 1, 2, 3, 4 \dots$ sunt excitați în același mod, pe un nivel vibrațional superior, virtual, însă dezexcitarea se realizează pe nivelul energetic vibrațional inferior celui initial.

Diferența de intensitate dintre împrăștierea Stokes și cea anti-Stokes este determinată de câștigul sau pierderea de energie a fotonului detectat față de cel incident, ca urmare a modificării nivelului vibrațional cu +1 sau -1. Din punct de vedere statistic, la temperatura camerei este mai puțin probabil ca o moleculă să se afle inițial într-o stare excitată. În plus, considerând faptul că împrăștierea Raman este un fenomen care se întâmplă pentru aproximativ un foton dintr-un milion de fotoni care interacționează cu molecula, banda corespunzătoare împrăștierii Rayleigh este cea mai intensă, situată la mijlocului spectrului, între benzile Stokes și anti-Stokes. [2], [3], [4]

1.2. Efectul SERS

Spectroscopia Raman amplificată pe suprafață (SERS) este un efect observat pentru prima dată în 1974, când Fleischmann a obținut un semnal Raman neobișnuit de intens al piridinei adsorbită pe un electrod rugos de argint. Teoria sa susținea faptul că suprafața mărită datorată rugozității electrodului de argint permite mai multor molecule de piridină să adsoarbă, astfel amplificând semnalul Raman. Ulterior, teoria aceasta a fost contestată de Van Duyne și Creighton, care afirmă faptul că semnalul SERS poate fi obținut și pe suprafețe metalice puțin rugoase. Astfel, s-a concluzionat ca amplificarea semnalului nu ar depinde direct de aria respectivei zone analizate.

Spre deosebire de spectroscopia Raman, unde intensitatea semnalului variază în funcție de parametri precum secțiunea eficace a moleculei, intensitatea laserului excitant sau concentrația probei, în SERS se pot obține semnale de până la $10^6 - 10^{11}$ ori mai intense, chiar și pentru concentrații foarte mici ale analitului. [2]

Prin urmare, SERS reprezintă o amplificare semnificativă a semnalului Raman în prezența unor suprafețe metalice, în special din argint, aur sau cupru. În literatura de specialitate, se discută mai multe teorii pentru a explica acest fenomen de amplificare. Două dintre aceste teorii și totodată cele mai importante sunt teoria electromagnetică și teoria chimică.

Teoria electromagnetică a SERS se referă la amplificarea semnalului datorită cuplării radiației electromagnetice cu oscilațiile plasmonilor. Cuplajul este eficient în condiții de rezonanță de frecvență.

Plasmonii sunt oscilațiile colective ale electronilor de conducție, limitate la suprafața nanoparticulelor, de unde și termenul de rezonanță plasmonică de suprafață. [2]

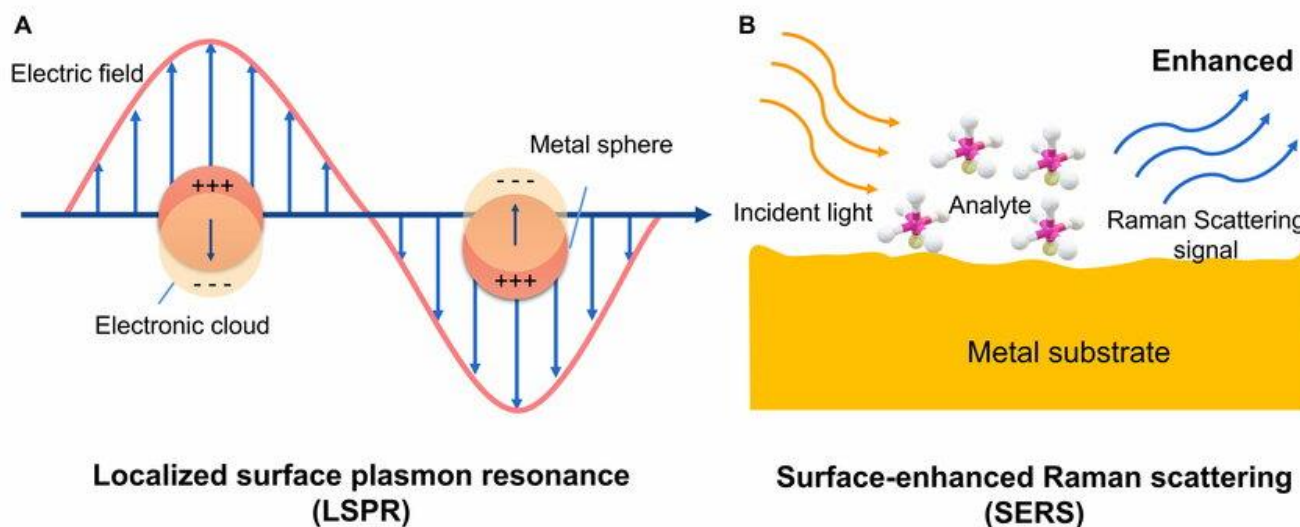


Figura 1.2 – (A) Reprezentarea schematică a oscilațiilor plasmonice de suprafață într-o nanoparticulă. (B) Reprezentare ilustrativă pentru amplificarea electromagnetică SERS pe un substrat rugos. [5]

Pentru simplitatea explicației, se consideră nanoparticula metalică de formă sferică. Atunci când aceasta este supusă unei excitații laser, influența câmpului electric asupra acesteia variază în funcție de distanța câmpului față de suprafața sferică, de direcția câmpului electric și de constantele dielectrice ale mediului și sferei. Excitarea nanoparticulelor cu un laser de o frecvență rezonantă cu oscilațiile plasmonice modifică poziția norului de electroni liberi, astfel încât acesta să interacționeze cu electronii analitului, și să accentueze polarizarea din proximitatea acestuia. [2]

Amplificarea semnalului SERS în **teoria electromagnetică** este influențată, deci, de distanța dintre analit și suprafața nanoparticulei – cu cât distanța este mai mică, cu atât semnalul este mai puternic. Pentru a crește intensitatea amplificării în teorie electromagnetică se dorește formarea ”hot spots” între nanoparticule, sau zone în care două sau mai multe nanoparticule se ating sau interacționează,

fie prin agregare, fie prin formarea unor structuri solide cu tipar controlat. Aceste zone prezintă un câmp electromagnetic amplificat ca urmare a suprapunerii mai multor câmpuri electromagnetice de

la nanostructurile ce formează hot-spot-ul. Ca urmare, semnalul SERS al unei molecule blocată în hot spot va fi net amplificat.. [3]

Factorul de amplificare al semnalului SERS datorită teoriei electromagnetice este de ordinul $10^6 - 10^8$, atât cu, cât și fără considerarea influenței interacțiunii dintre nanoparticule. [2]

Teoria chimică este legată de structura energetică a moleculei la suprafață, și este o parte importantă din interpretarea corectă și completă a spectrelor, oferind informații despre structura electronică a analitului. Această teorie de amplificare a semnalului conține, de fapt, trei fenomene cu pondere de contribuție ambiguă în proces: interacțiuni chimice statice (static chemical interactions, SCI), transferul de sarcină (charge transfer, CT) și împrăștiere Raman cu rezonanță moleculară (molecular resonance Raman scattering, MRRS) (Figura 1.3). [6] Cu toate acestea, dintre cele trei fenomene menționate, cel mai important rol este frecvent atribuit transferului de sarcină, dar este relevant a se menționa dificultatea pe care au întâmpinat-o alți cercetători în a distinge contribuțiile fiecărui mecanism în parte. [6] [7] [8]

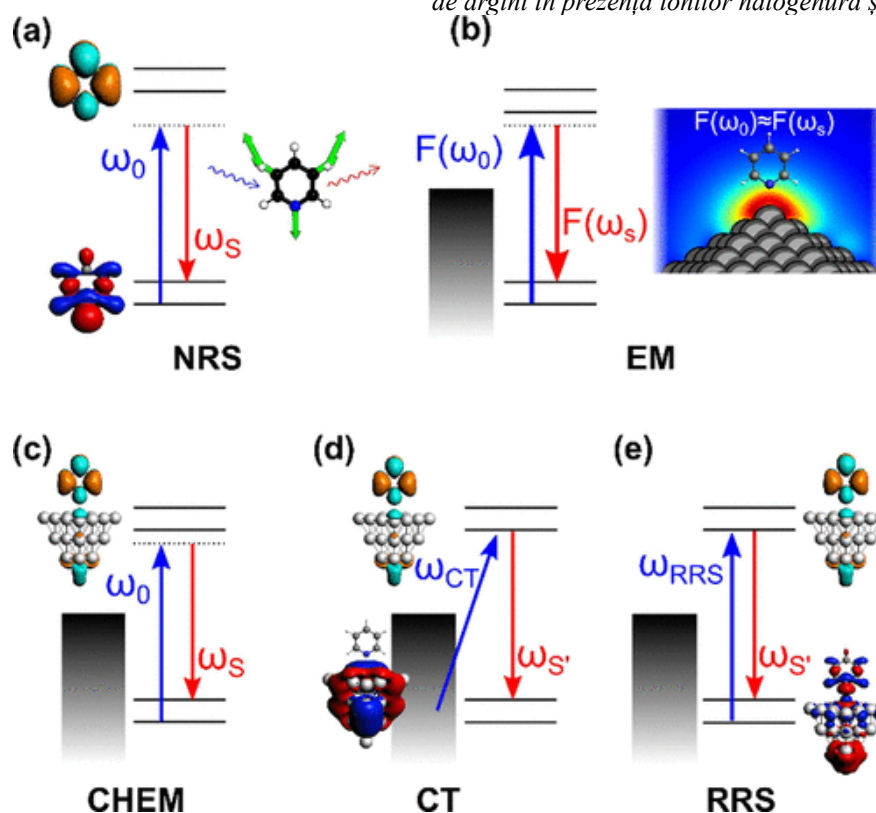


Figura 1.3 – Diagrama energetică a mecanismelor de amplificare a semnalului SERS. a) Împrăștierea Raman normală; b) mecanismul electromagnetic; c) mecanismul de interacțiuni chimice statice; d) transferul de sarcină; e) Molecular Resonant Raman Scattering. [6]

Mecanismul transferului de sarcină implică formarea unor legături covalente între suprafața metalică și analit în momentul adsorbției sale la nanoparticulă. Prin intermediul acestor legături, transferul de sarcină (electroni sau goluri) se poate realiza facil între metal și analit, mai exact datorită hibridizării orbitalilor HOMO și LUMO a moleculelor adsorbite la suprafața nanoparticulei. [7]

Teoria chimică explică modificarea intensității unor benzi caracteristice moleculelor în funcție de modificarea potențialului electrochimic, sau a nivelului Fermi. [7] Influența atât fizică (utilizare de electrozi), cât și chimică (prin intermediul adăugării unor ioni în soluție) a potențialului electrochimic formează site-uri active, care promovează efectul SERS și contribuie la fluctuațiile intensității moleculelor analizate. [2] [9] Ioni adăugați pentru sporirea efectului SERS trebuie să fie în concordanță cu sarcina analitului – pentru un colorant anionic, apariția site-urilor active și implicit a benzilor SERS este realizată prin intermediul cationilor, iar rolul anionilor este de a modifica nivelul Fermi al nanoparticulelor și de a promova adsorbția. În caz contrar, pentru un colorant cationic,

anionii modifică nivelul Fermi al nanoparticulelor și facilitează adsorbția colorantului.

Împreună cu contribuția teoriei electromagnetice, amplificarea semnalului SERS ajunge la ordinul 10^{11} , această metodă de analiză fiind capabilă de a detecta molecule isolate adsorbite la suprafața nanoparticulelor. [8]

1.3. Proprietățile nanoparticulelor de argint

Nanoparticulele sunt structuri fine, neregulate, de dimensiuni reduse (2-200 nm), care pot lua diferite forme în funcție de aplicațiile în care urmează să fie utilizate. Formele nanoparticulelor metalice variază, și pot fi manipulate prin metoda de sinteză folosită, pentru a obține nanostructuri regulate: modele mai simple precum sfere, triunghiuri, cuburi, bastonașe/roduri "rods", sau modele mai complexe, cum ar fi "stele", dendrite, biprisme, "cuști" sau flori. [10]

Proprietățile nanoparticulelor de argint sunt diferite pentru fiecare variabilă modificată din pașii sintetizării acestora. În funcție de temperatură, solvent, agent de reducere, surfactant, nanostructurile pot lua diferite forme, diferite comportamente la interacțiunea cu lumina, diferite culori ale coloidului. Aceste caracteristici reflectă versatilitatea lor: nanoparticulele de argint au fost și sunt în continuare documentate și exploatate, dovadă fiind utilizarea lor în domenii variate (precum în medicină, inginerie medicală, fabricarea senzorilor, optoelectronică) datorită proprietăților sale optice, chimice, fizice. [10]

1.4. Nivelul Fermi al nanoparticulelor de argint

Nivelul Fermi, cunoscut și sub numele de potențial electrochimic, reprezintă un concept teoretic utilizat pentru a descrie proprietățile electronice ale solidelor. El corespunde celei mai înalte energii ocupate de electroni într-un material la temperatura de zero absolut, delimitând astfel nivelurile energetice ocupate de cele goale.

Atunci când discutăm despre modificarea nivelului Fermi în cazul nanostructurilor, ne referim, de fapt, la transferul de sarcină (pozitivă sau negativă) între nanoparticule și moleculele din mediul înconjurător. Acest transfer are loc în scopul atingerii unei stări de echilibru electrochimic între nanostructură și mediu. Astfel, interacțiunile la scară nanometrică pot influența poziția nivelului Fermi, afectând direct comportamentul electronic și reactivitatea materialului. [11]

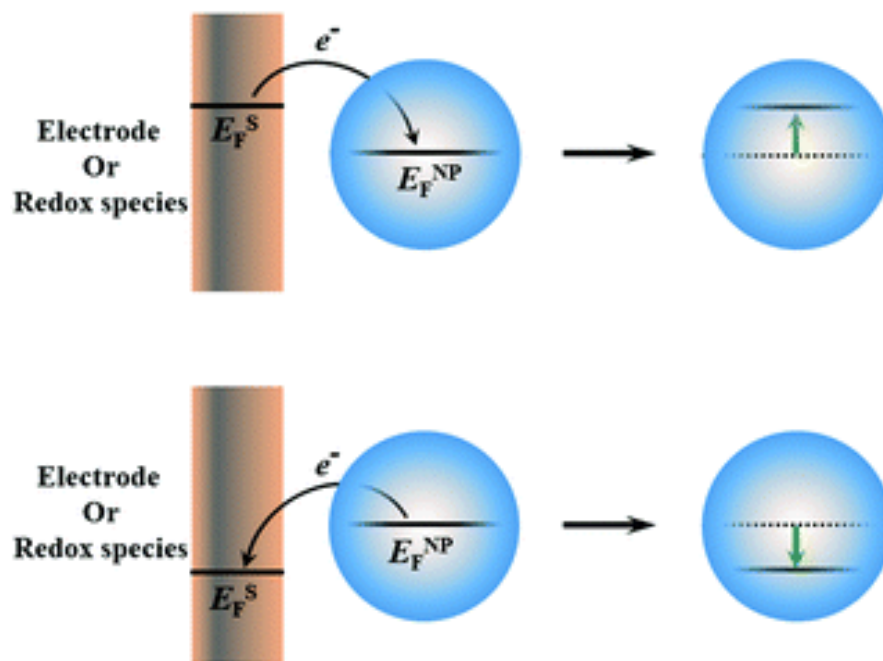


Figura 1.4 – Modificarea nivelului Fermi al unei nanoparticule de argint (AgNP) în cazul aplicării unor procese electrochimice. [4]

Scăderea nivelului Fermi corespunde transferului de electroni de la nanoparticulă și implică posibilitatea apariției pe suprafața nanoparticulelor a unor ioni Ag^+ . Ca urmare, acest mecanism va facilita adsorbția speciei anionice, iar creșterea nivelului Fermi corespunde adsorbției moleculei cationice. În literatura de specialitate se menționează faptul că adaosul sau extragerea de electroni din nivelul Fermi al nanoparticulelor metalice prin intermediul proceselor electrochimice duce la modificarea benzilor de absorbție a rezonanței plasmonice, și implicit modificarea spectrelor de absorbție ale nanoparticulelor. [11]

1.5. Spectroscopia de absorbție UV-Vis

Spectroscopia UV-Vis își are numele de la domeniul radiației incidente utilizate, ultraviolet-vizibil. Această metodă de analiză structurală a materialelor se bazează pe iradierea unor probe cu fotoni din domeniul UV-Vis, pentru a induce tranziții electronice (tranziții combinate între nivelele electronice și vibraționale ale moleculei).

În urma absorbției radiației, electronii trec într-o stare excitată. Ulterior, aceștia vor reveni la starea fundamentală, iar diferența de energie dintre cele două nivele energetice se va regăsi în emisia unui foton.

Diferența de energie dintre o stare inițială și o stare finală a sistemului se poate scrie:

$$\Delta E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (10)$$

Unde ν , respectiv λ sunt frecvența, respectiv lungimea de undă a fotonului, h este constanta lui Planck și c este viteza luminii.

Absorbția radiației UV sau vizibile conduce la promovarea electronilor în stări energetice superioare. Înregistrarea acestor tranziții oferă informații valoroase despre: structura vibronică a moleculelor, spectrele de absorbție și emisie, concentrația substanțelor dintr-o soluție. [12]

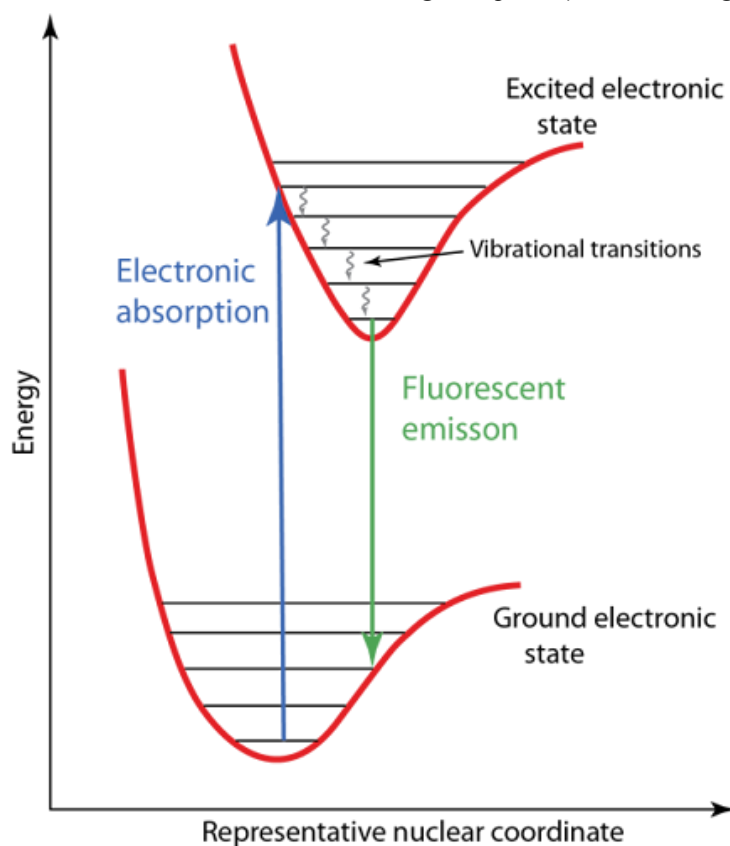


Figura 1.5 – Tranzițiile vibronice (vibraționale și electronice) care au loc la absorbția luminii.

[13]

Spectrometrul UV-Vis este alcătuit dintr-o sursă de lumină, un monocromator (utilizat cu scopul de a transforma lumina albă incidentă într-o sursă de lumină monocromatică), suportul celor două probe (o cuvă cu lichidul de referință și una cu soluția pe care dorim să o analizăm) și detectorul, la care ajung fotonii rămași în urma împrăștierei sau absorbției de către probă.

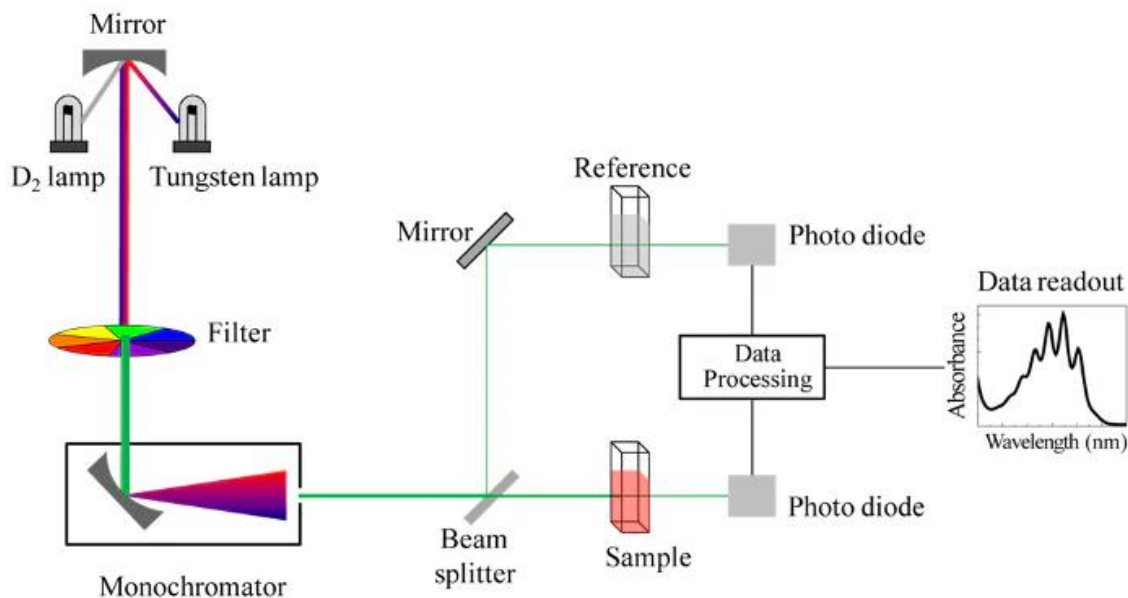


Figura 1.6 – Schema de funcționare al unui spectrometru UV-Vis. [14]

Absorbanta (A) măsoară câtă lumină a fost absorbită de către probă, în raport cu cantitatea de lumină incidentă și cu cantitatea de lumină care a ajuns la detector. Pentru valori ale absorbantei mai mici de 1.5, această valoare este proporțională cu concentrații moleculelor, conform legii Beer-Lambert:

$$A = \epsilon c L = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) = \log_{10} \left(\frac{1}{T} \right) = -\log_{10} T \quad (11)$$

Unde ϵ este absorbivitatea molară, c este concentrația probei analizate, L este grosimea cuvei, I este intensitatea luminii care ajunge la detector, I_0 este intensitatea luminii incidente și T este transmitanța.

1.6. Surface-enhanced fluorescence (SEF)

Surface-enhanced fluorescence (SEF), sau metal-enhanced fluorescence (MEF) este un fenomen în care semnalul fluorescent al unui fluorofor este amplificat atunci când se află în proximitatea unor nanostructuri metalice (de ordinul zecilor de nanometri). Acest fenomen este însoțit de creșterea intensității randamentului cuantic (Quantum yield, QY) și de descreșterea timpului de viață al fluorescenței. [15]

Interacțiunea dintre specia fluorescentă analizată și suprafața metalică se poate petrece în trei moduri: prin transfer de energie, prin fenomene electromagnetice de suprafață sau prin modificarea ratei de dezexcitare radiativă. [16] Transferul de energie este mecanismul cel mai dependent de distanță, datorită cuplajului dintre fluorofor și sarcina electrică a suprafeței nanoparticulei. Fiind tot un efect de suprafață, ca și SERS, SEF se bazează de asemenea pe rezonanța plasmonică localizată pentru amplificarea fluorescenței. În acest caz, fluorescența emisă de analit este proporțională cu secțiunea sa eficace, cu pătratul câmpului electric localizat și cu randamentul său cuantic. Modificarea ratei de dezexcitare radiativă se referă la creșterea valorii randamentului cuantic prin adăugarea unei noi valori a ratei radiative, care depinde de distanța față de suprafața metalică. [15] [16]

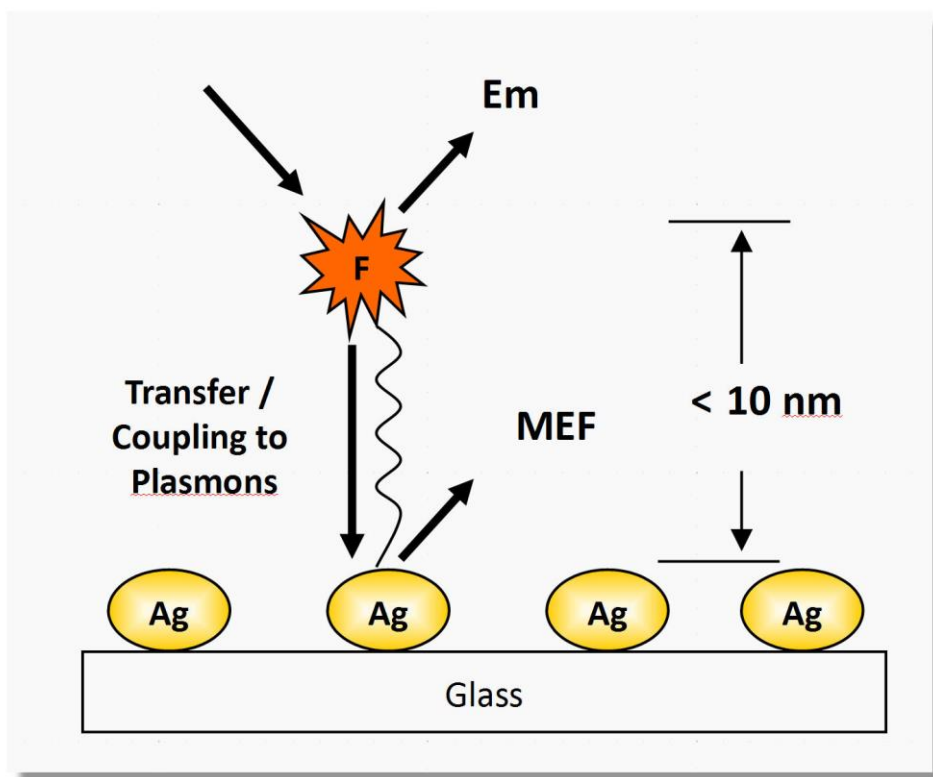


Figura 1.7 – Importanța distanței în activarea MEF. [17]

Principala caracteristică prin care se distinge amplificarea de fluorescență și stingerea emisiei de fluorescență (scăderea drastică) al unui fluorofor este distanța față de suprafața metalică, fapt dovedit experimental de către Drexhage, în 1974. În acest experiment, cercetătorul a plasat o probă radioactivă de europiu în fața unei oglinzi la diverse distanțe față de aceasta, și a măsurat variația timpilor de viață a emisiilor radioactive. Înlocuind proba de europiu cu o specie fluorescentă și oglinda cu nanoparticule metalice, unda de emisie radiativă a probei se reflectă în nanoparticulă, apoi lovește analitul, defazat față de dipolul oscilant al acestuia. Timpul de viață de fluorescență crește (fluorescența scade) atunci când unda electromagnetică se întoarce defazat spre fluorofor, și scade (fluorescența este amplificată) când unda este în fază. [15]

2. Procedee experimentale

În cadrul lucrării experimentale, am urmărit influența a patru ioni asupra adsorbției coloranților pe suprafața nanoparticulelor de argint: Nile Blue (cationic) și Rose Bengal (anionic) pe suprafața nanoparticulelor de argint stabilizate cu citrat (cit-AgNPs): anionul clorură (Cl^-), cationul calciu (Ca^{2+}), anionul iodură (I^-) și anionul bromură (Br^-).

2.1. Sinteza nanoparticulelor de argint

Nanoparticulele de argint (AgNPs), au fost sintetizate utilizând metoda Lee-Meisel: în 98 ml de apă ultrapură, s-a dizolvat 17 mg de azotat de argint (AgNO_3) și a fost amestecată cu ajutorul unui agitator magnetic. Soluția aceasta a fost încălzită la până la fierbere. Ulterior au fost adăugați 2 ml de citrat de sodiu, de concentrație 1%, utilizat ca surfactant și agent reducător. Sinteza a fost continuată pentru 30 de minute.

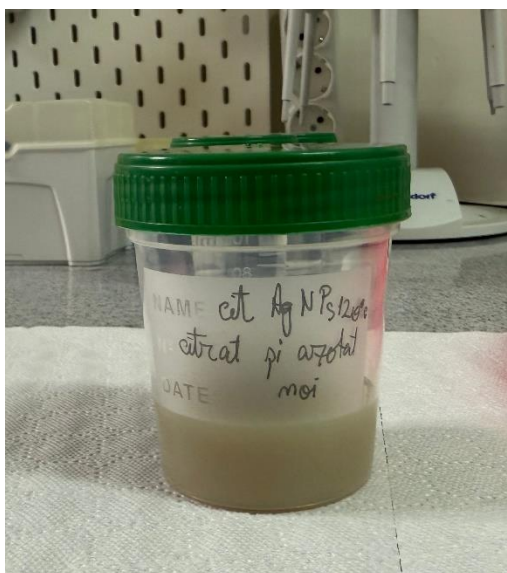


Figura 2.1 – Soluția coloidală de nanoparticule de argint utilizată.

2.2. Caracteristicile coloranților

2.2.1. Nile Blue

Nile Blue este un colorant cationic, sintetic, des utilizat pentru colorarea probelor biologice, în special datorită emisiei sale fluorescente. Cunoscut și sub numele de Nile Blue A sau clorură de Nile Blue, acest colorant are o culoare albastră spre indigo. Aplicațiile sale sunt vaste, printre care numărându-se indicarea pH-ului unor soluții, fotosensibilizator în cadrul terapiei fotodinamice [18], sau detecția impurităților și a toxinelor care ar putea exista în apă. [19]

2.2.2. Rose Bengal

Rose Bengal este un colorant anionic derivat din fluoresceină, de culoare roz, sintetizat încă din secolul 19, când a fost utilizat ca și colorant pentru materiale textile. Solubil în apă, acest colorant este extrem de popular, datorită prețului său redus și a disponibilității sale. În domenii medicale și de cercetare, Rose Bengal este folosit ca instrument de diagnostic cu privire la afecțiuni oculare, și a fost observat comportamentul toxic față de anumite celule canceroase. [20] Asemănător cu Nile Blue, este folosit ca și colorant pentru diverse probe biologice și pentru terapie fotodinamică. [21]

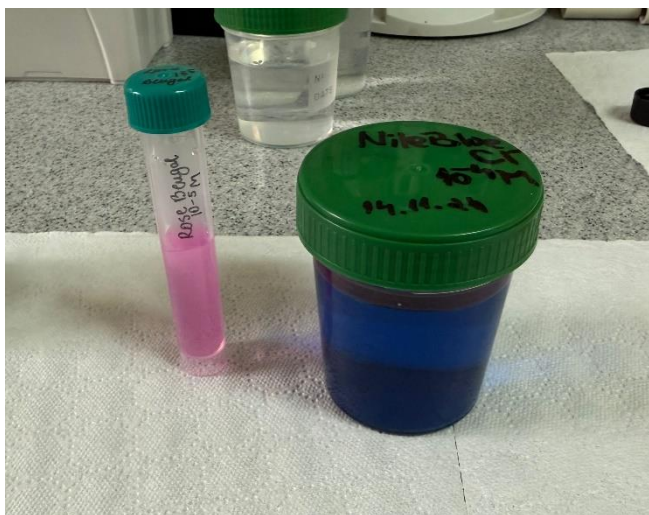


Figura 2.2 – Soluțiile stoc Rose Bengal de concentrație 10^{-5} M, Nile Blue de concentrație 10^{-4} M.

2.3. Achiziționarea spectrelor

2.3.1. Achiziționarea spectrelor Raman și SERS

Măsurătorile Raman și SERS au fost realizate cu ajutorul microscopului confocal Renishaw inVia, utilizând laserul de 532 nm (verde) pentru probele care conțin Rose Bengal, și laserul de 633 nm (roșu) pentru cele cu Nile Blue.

Pentru probele care conțin Nile Blue, s-a urmărit evoluția semnalului SERS după adăugarea soluțiilor de Cl^- , Ca^{2+} , Br^- , I^- , atât în prezența, cât și în absența nanoparticulelor de argint. Fiecare soluție finală a avut un volum total de 100 μl , fiind preparată prin adăugarea a 10 μl de Nile Blue de concentrație de 10^{-6} M în 90 μl apă ultrapură sau coloid de argint.

Măsurătorile individuale a colorantului cu apă, și a unuia dintre ioni s-a efectuat în urma extragerii a 10 μl din amestecul Nile Blue și apă, și a adăugării a alți 10 μl de Cl^- , Ca^{2+} , Br^- sau I^- , păstrând volumul total de de 100 μl .

În cazul măsurătorilor secvențiale, aceeași metodă a fost aplicată, însă ionii au fost adăugați în ordine succesivă ($\text{Cl}^- \rightarrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{I}^-$), iar după fiecare adăugare, s-au eliminat 10 μl din soluția anterioară, menținând constant volumul total. Între fiecare soluție de ioni adăugată timpul de așteptare este de 2-4 minute.

Același protocol experimental a fost aplicat și pentru amestecurile de colorant cu nanoparticulele de argint, iar suplimentar, a fost înregistrat spectrul Raman al coloidului simplu, fără colorant sau ioni adăugați, pentru a putea identifica eventualele contribuții proprii ale acestuia în spectrele finale.

Probele care conțin Rose Bengal au fost analizate în mod similar cu cele conținând Nile Blue, cu excepția măsurătorilor în prezența KBr. Concentrația finală în soluție a Rose Bengal este de 10^{-6} M.

Pentru a realiza o comparație între comportamentul diferiților coloranți, a fost inclus și colorantul Rhodamina 6G, la o concentrație finală mult mai mică decât Rose Bengal (10^{-9} M) datorită fluorescenței sale puternice. Această substanță este un colorant cationic, asemănător cu Nile Blue, dar peak-ul său de excitație este în apropiere de 532 nm, asemănător cu Rose Bengal. Datorită acestor asemănări am dorit să urmărim comportamentul R6G în aceleași soluții.

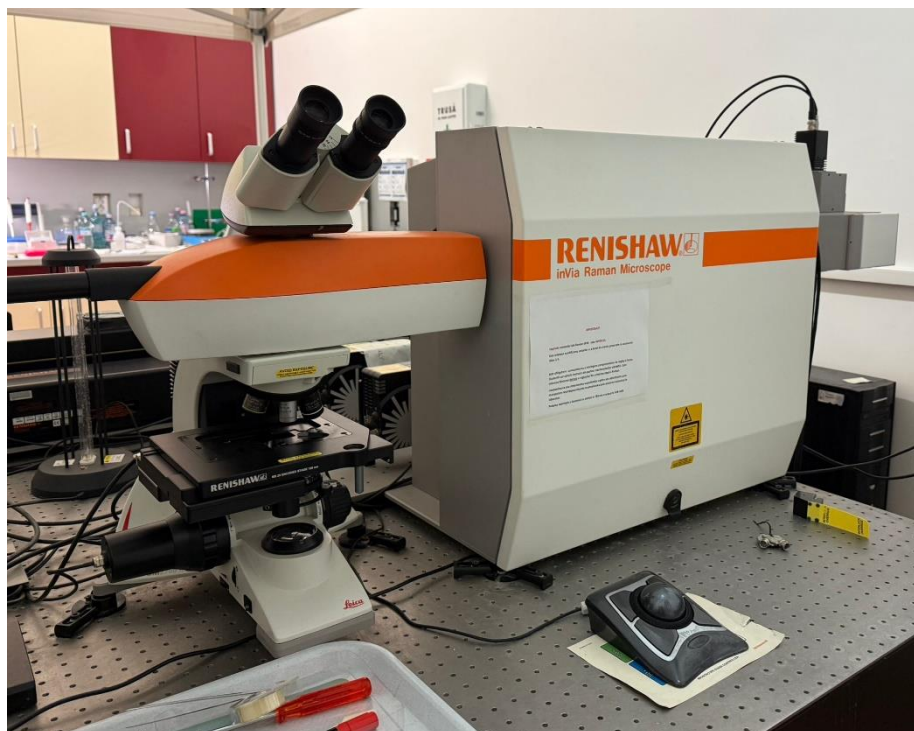


Figura 2.3 – Microscopul confocal Renishaw inVia.

2.3.2. Achiziționarea spectrelor UV-Vis

Caracterizarea coloranților Rose Bengal și Nile Blue s-a realizat cu ajutorul spectroscopiei de absorbție UV-Vis, cu scopul de a determina banda de absorbție specifice fiecărui colorant. Aceste informații au fost esențiale pentru alegerea lungimii de undă optime a laserului în vederea achiziției spectrelor SERS.

Pentru această analiză, s-a utilizat spectrometrul Jasco V-630, care acoperă un domeniu spectral de la 190 nm la 900 nm. De asemenea, au fost înregistrate spectre UV-Vis ale soluțiilor pregătite pentru pentru experimentele SERS, cu scopul de a observa eventuale modificări ale poziției maximului de absorbție în funcție de ionii adăugați în soluție.

Măsurătorile UV-Vis au fost realizate păstrând volumul final de 1 ml, dar variind concentrația amestecurilor finale. Soluțiile care conțin Rose Bengal de volum final 100 μ l au fost preluate ca atare din cuva în care au fost preparate, și diluate în 900 μ l de apă ultrapură. Soluțiile care conțin Nile Blue au fost dublate ca volum, păstrând proporțiile utilizate pentru măsurătorile Raman, și ulterior diluate în 800 μ l de apă ultrapură.



Figura 2.4 – Spectrometrul Jasco V-630, utilizat pentru achiziționarea spectrelor de absorbție UV-Vis.

3. Rezultate și discuții

Ionii halogenură contribuie la amplificarea semnalului SERS al colorantului cationic Nile Blue, iar prezența concomitentă a ionilor Ca^{2+} determină o creștere suplimentară a intensității acestui semnal. În schimb, pentru colorantul anionic Rose Bengal, ionii Ca^{2+} favorizează adsorbția acestuia pe suprafața nanoparticulelor de argint, ceea ce se reflectă în amplificarea semnalului SERS și în diminuarea fluorescenței. Adăugarea ionilor halogenură în acest caz nu produce desorbția completă a colorantului, ci mai degrabă conduce la inhibarea efectului SERS și la accentuarea fluorescenței. Interacțiunea analit-nanoparticulă a fost urmărită analizând două procese: SERS, respectiv fluorescență. Este cunoscut faptul că adsorbția coloranților pe suprafețe metalice este însoțită de stingerea emisiei fluorescente. **Astfel, prin variația emisiei fluorescente a Nile Blue și Rose Bengal, am dorit să evaluăm poziționarea analiților față de suprafața nanoparticulei și să urmărim dacă această poziționare influențează efectul SERS, care este cunoscut ca fiind un efect first layer.**

De asemenea, pentru a determina dacă variația emisiei fluorescente și emisia SERS apar ca urmare a adsorbției moleculelor pe suprafața metalică, am analizat folosind spectroscopia de fluorescență supernatantul, în vederea determinării cantității de molecule neadsorbite.

3.1. Nile Blue

Literatura de specialitate indică un posibil efect de stingere a fluorescenței ca urmare a interacțiunii unor ioni cu structura moleculei. Pentru a evita acest efect, care ar putea fi interpretat cu o adsorbție a Nile Blue pe suprafața nanoparticulei, inițial am analizat influența ionilor utilizați, Ca^{2+} de concentrație 5×10^{-4} M, Cl^- de concentrație 10^{-3} M, Br^- de concentrație 10^{-3} M, I^- de concentrație 10^{-3} M în emisia fluorescentă a 10^{-7} M Nile Blue (Figura 3.1.1).

În stare incipientă, am achiziționat spectrele amestecurilor de Nile Blue diluat în apă cu săruri anionice.

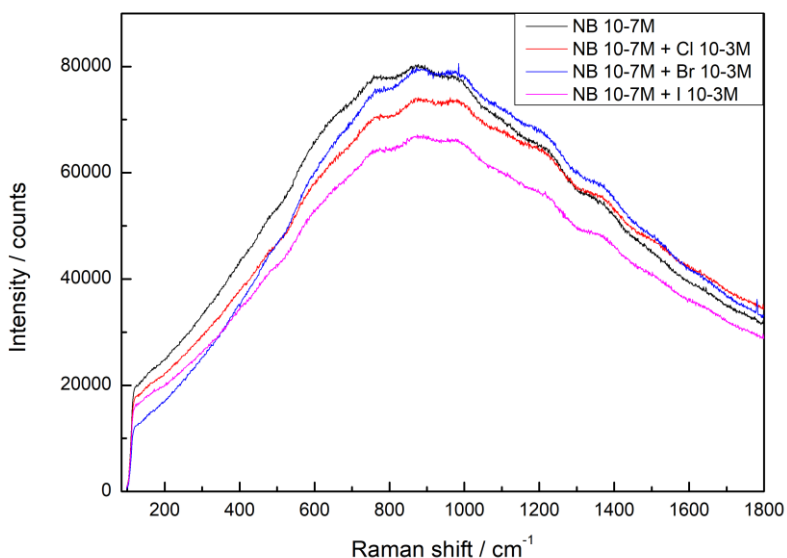


Figura 3.1.1 – Efectul ionilor Cl^- , Br^- , I^- asupra emisie fluorescențe. Spectrele de fluorescență au fost achiziționate pentru Nile Blue 10^{-7} M cu și fără ionii menționați de concentrație 10^{-3} M.

În Figura 3.1.1 se observă modificarea intensității fluorescenței colorantului în prezența ionilor. O ușoară scădere se observă în prezența Cl^- și I^- , dar nu și în cazul Br^- . Totodată, spectrul amestecului de Nile Blue și Br^- prezintă un shift subtil spre numere de undă mai mari. Fluorescența Nile Blue a scăzut cu 10% în prezența ionilor de Cl^- și 20 % în prezența ionilor de I^- . Astfel, în cazul analizării semnalului fluorescent al Nile Blue în prezența AgNPs, o scădere a fluorescenței cu doar 10-20% nu va fi luată în considerare ca fiind relevantă.

În continuare, am dorit determinarea efectului ionilor Cl^- , Br^- și I^- , în efectul SERS și de emisie fluorescentă a Nile Blue (Figura 3.1.2). Prin amestecarea Nile Blue cu cit-AgNPs se observă emisia fluorescentă a Nile Blue, fără apariția efectului SERS.

În urma adăugării Cl^- , semnalul fluorescent scade semnificativ, de aproape 6 de ori, o scădere mult mai mare comparativ cu efectul produs doar de Cl^- . Acest lucru indică adsorbția Nile blue pe suprafața

nanoparticulelor de argint. În același timp, după adsorbția Nile blue pe nanoparticulele de argint apare efectul SERS, observat prin benzile corespunzătoare Nile Blue de la 591 cm^{-1} , 665 cm^{-1} , 1493 cm^{-1} și 1651 cm^{-1} [22]. În același mod, adăugarea Br^- scade și mai puternic emisia fluorescentă, ceea ce poate fi datorită unui număr mai mare de molecule Nile Blue adsorbite, sau un transfer de sarcină promovat între Nile Blue și AgNPs. Pe de altă parte, deși prezent, semnalul SERS al Nile Blue este mai scăzut în prezența Br^- , comparativ cu Cl^- .

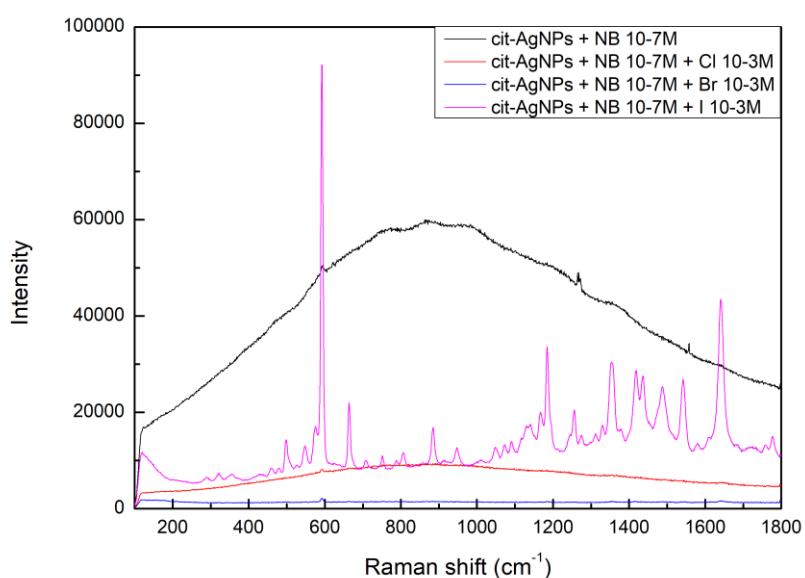


Figura 3.1.2 – Spectrele Nile Blue în coloid, de concentrație 10^{-7} M. Ulterior au fost adăugați ionii Cl^- , Br^- , I^- de concentrație 10^{-3} M, pentru a modifica proprietățile electronice ale suprafeței de argint.

Adăugarea I^- activează și amplifică semnificativ semnalul SERS, în ciuda faptului că am utilizat aceeași concentrație de anioni. Acest comportament ar putea fi explicat prin capacitatea I^- de a ceda sarcină către nanoparticulă, mutând nivelul Fermi către valori mai ridicate comparativ cu Br^- și Cl^- . Astfel, adsorbția Nile Blue, colorant cationic, este promovată. Mai mult, față de ceilalți anioni I^- prezintă o afinitate la suprafață mai puternică, ceea ce poate duce la un număr mai mare de ioni I^- pe

suprafața de argint comparative cu Br^- și Cl^- , și implicit probabil și la un număr mai mare de molecule cationice Nile Blue adsorbite. În plus, se observă banda specifică legăturii Ag-I de la 120 cm^{-1} , ceea ce înseamnă că I^- a fost supus procesului de chemisorbție la suprafața nanoparticulei și a format legături metalice cu argintul. [23]

Dorind să observăm influența fiecărui anion în parte, am grupat măsurătorile în funcție de anionul folosit.

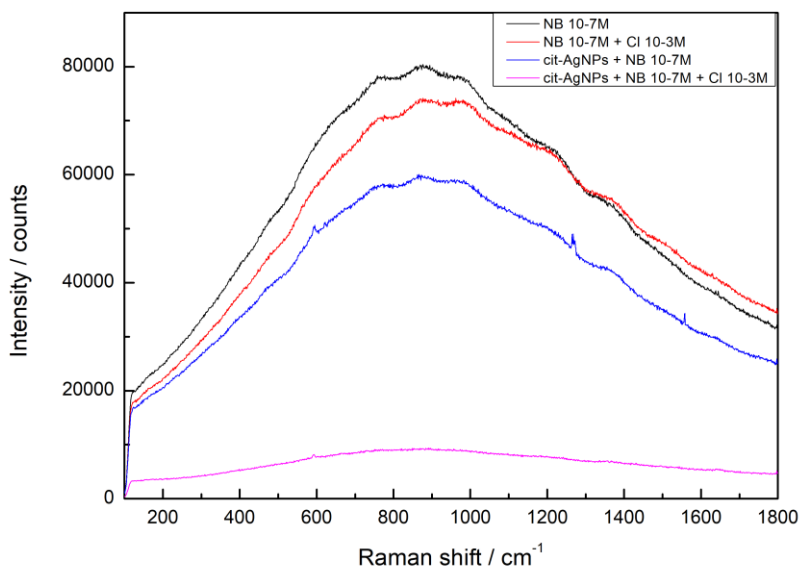


Figura 3.1.3 – Nile Blue de concentrație 10^{-7} M , peste care s-a adăugat Cl^- , de concentrație 10^{-3} M . Nile Blue în soluție coloidală, de aceeași concentrație, peste care s-a adăugat Cl^- . Se observă scăderea drastică a semnalului fluorescent în prezența Cl^- .

Adăosul de Cl^- în soluțiile cu Nile Blue scade fluorescența caracteristică, în cazul soluției cu coloid scăderea este drastică, de aproximativ 12 ori (Figura 3.1.3), ceea ce indică adsorbția Nile Blue pe suprafața nanoparticulelor de argint. Mai mult, această scădere este mult mai mare (12 ori vs. 1 ori) comparativ cu efectul individual al Cl^- asupra emisiei fluorescente Nile Blue. În apă, amestecul de Nile Blue și Cl^- prezintă o deplasare a fluorescenței spre numere de undă mai mari.

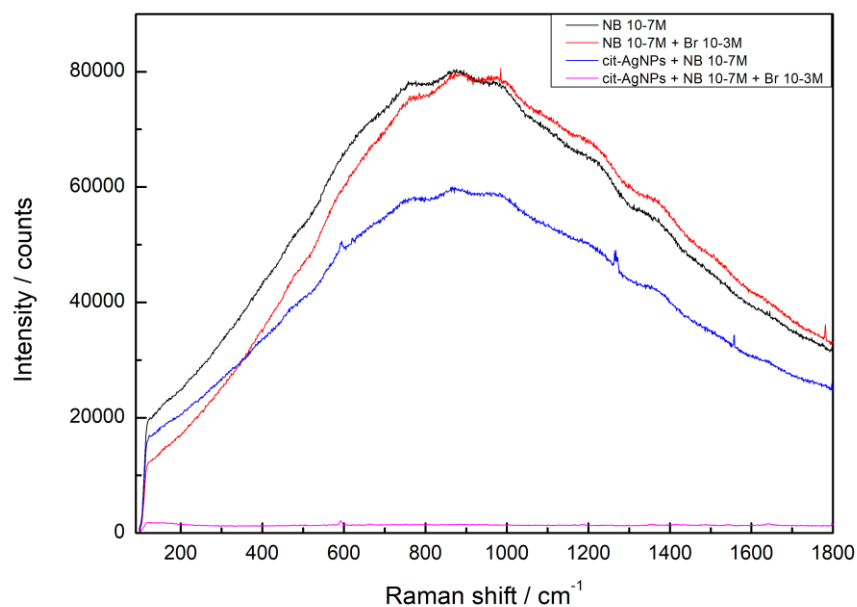


Figura 3.1.4 - Nile Blue de concentrație 10^{-7} M, peste care s-a adăugat Br^- , de concentrație 10^{-3} M. Nile Blue în soluție coloidală, de aceeași concentrație, peste care s-a adăugat Br^- .

Semnalul fluorescent a dispărut, însă semnalul SERS este foarte slab.

Asemănător cu adăugarea de Cl^- , introducerea Br^- în soluția Nile Blue diluat în apă produce o deplasare a fluorescenței spre numere de undă mai mari, iar în coloid, fluorescența amestecului este foarte redusă, iar benzile SERS colorantului sunt foarte slabe în intensitate (Figura 3.1.4).

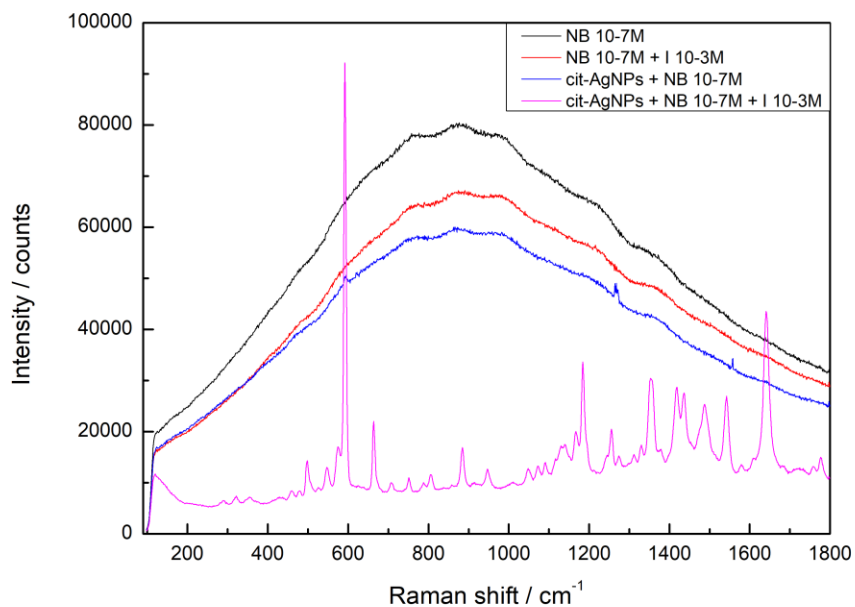


Figura 3.1.5 - Nile Blue de concentrație 10^{-7} M, peste care s-a adăugat I^- de concentrație 10^{-3} M. Nile Blue în soluție coloidală, de aceeași concentrație, peste care s-a adăugat I^- . În prezența I^- , apare semnal SERS foarte puternic, fără fluorescență.

Spre deosebire de celelalte halogenuri, I^- are o afinitate la suprafață mult mai mare, astfel încât dezlocuirea citratului este sporită, iar adsorbția Nile Blue este puternică, așa cum se observă în Figura 3.1.5. Fluorescența a dispărut, iar banda intensă de la 591 cm^{-1} confirmă adsorbția colorantului. În plus, se observă și banda de la 120 cm^{-1} corespunzătoare legăturii metalice Ag-I. Ordinea coeficienților de amplificare SERS pentru Nile Blue este Cl^- , Br^- , I^- . Acest efect poate fi un rezultat al perturbării potențialului electrochimic al nanoparticulei mai pronunțat de către iod comparativ cu ceilalți doi ioni halogenură.

Cunoscând faptul că ionul pozitiv de Ca^{2+} promovează adsorbția ionilor halogenură pe suprafața nanoparticulelor, am urmărit dacă o adsorbție promovată a acestor ioni halogenură ajută adsorbția Nile Blue pe suprafața de argint.

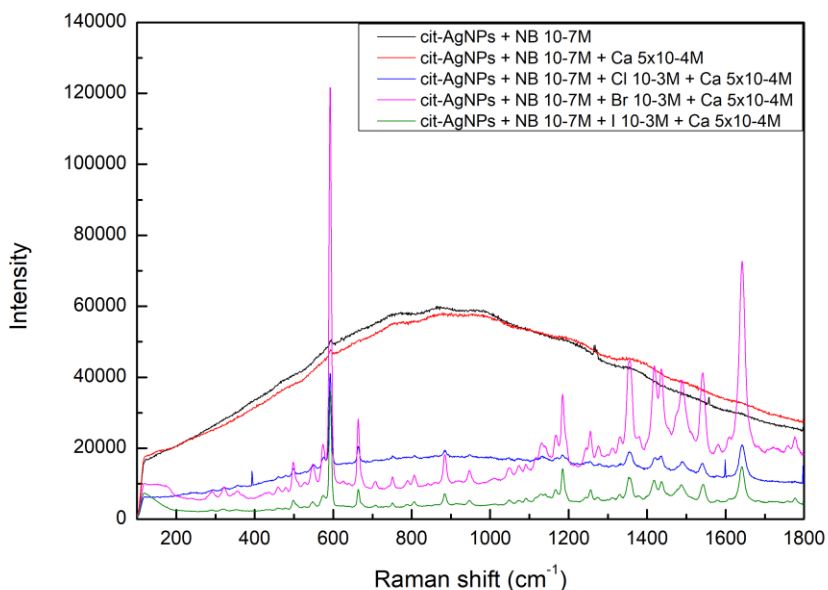


Figura 3.1.6 – Spectrul Nile Blue în coloid, de concentrație 10^{-7} M. Măsurătoarea a fost repetată pentru soluția coloidală cu Ca^{2+} adăugat. Spectrele amestecului coloidal în prezența fiecărui ion halogenură (Cl, Br, I) cu concentrație de 10^{-3} M, respectiv a Ca^{2+} cu concentrație de 5×10^{-4} M. Se observă influența Ca^{2+} și a anionilor în apariția efectului SERS.

După adăugarea Ca^{2+} în soluțiile preparate anterior, se observă modificări în spectrele SERS ale Nile Blue (Figura 3.1.6). În primul rând, amestecul care conține doar NB în coloid alături de cation prezintă o ușoară deplasare a fluorescenței, spre numere de undă mai mari. În cazul soluției cu Cl^- și Br^- , adăugarea de Ca^{2+} conduce la amplificarea suplimentară a benzilor SERS caracteristice Nile Blue. Pe de altă parte, prin adăugarea Ca^{2+} , spectrul SERS al Nile Blue în prezența I^- este mai scăzut comparativ cu în lipsa Ca^{2+} . Acest efect poate fi explicat prin dizolvarea nanoparticulelor în prezența acestei concentrații de Ca^{2+} și I^- , lucru care se observă și prin scăderea intensității maximului de rezonanță plasmonică (Figura 3.1.9).

Având în vedere sarcinile ionilor și a colorantului, considerăm că ordinea în care am adăugat substanțele în coloid este importantă, astfel am repetat aceste măsurători, adăugând cationul de calciu înaintea anionilor halogenură.

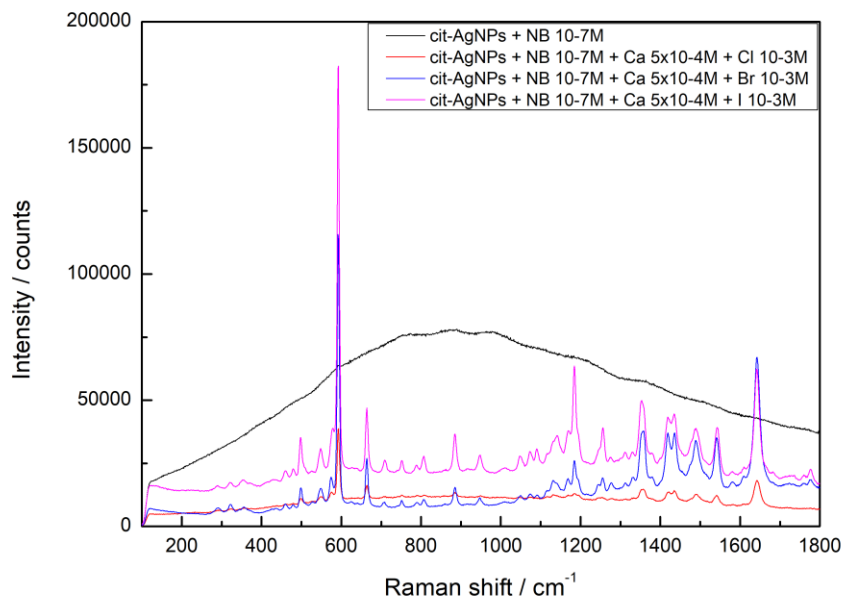


Figura 3.1.7 – Spectrul Nile Blue în coloid, de concentrație 10^{-7} M. Spectrele amestecului coloidal în prezența Ca^{2+} cu concentrație de 5×10^{-4} M, respectiv în prezența fiecărui ion halogenură (Cl^- , Br^- , I^-) cu concentrație de 10^{-3} M.

Schimbarea ordinii în care am introdus ionii în soluțiile coloidale cu Nile Blue a generat doar o modificare față de spectrele achiziționate anterior: intensitatea semnalelor SERS. Adăugarea cationului de calciu înaintea ionilor halogenură a amplificat semnalul colorantului, iar maximele de intensitate sunt ordonate în funcție de afinitatea la suprafață a anionilor (Cl^- , Br^- , I^-), spre deosebire de măsurătorile anterioare, unde inversarea ionilor ne-a oferit rezultate aleatorii (Br^- a prezentat cel mai puternic semnal SERS, iar I^- cel mai slab semnal SERS).

Prin adăugarea iodului, nivelul Fermi al nanoparticulei crește către un potențial chimic suficient pentru a transfera electroni către oxigen și a începe dizolvarea NPs, care în final poate scădea nivelul Fermi. Adăugarea Ca^{2+} produce o dizolvare suplimentară a nanoparticulelor.

Adăugarea inițială a Ca^{2+} scade nivelul Fermi prin dizolvarea ușoară a NPs. Adăugarea ulterioară a I^- crește nivelul Fermi al NPs, însă pornind de la o valoare amai mică decât cea inițială, este posibil ca nivelul Fermi final să nu fie suficient pentru ca NPs să transfere electroni către oxigen și să se dizolve suplimentar.

Ca un ultim pas în analiza influenței ionilor asupra adsorbției Nile Blue la suprafața nanoparticulelor, am adăugat secvențial Cl^- , Ca^{2+} și I^- alături de Nile Blue în soluție coloidală, măsurători ilustrate în Figura 3.1.8.

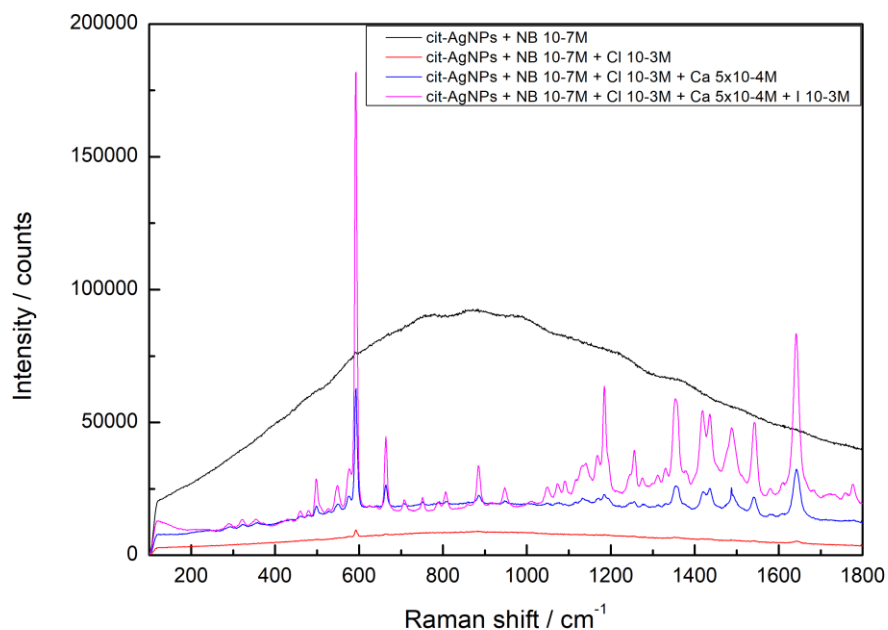


Figura 3.1.8 – Măsurători ale colorantului Nile Blue 10^{-7} M în coloid. Măsurători achiziționate secvențial în urma adăugării Cl^- de concentrație 10^{-3} M, urmat de Ca^{2+} de concentrație 5×10^{-4} M, și în final I^- de concentrație 10^{-3} M. Intensificarea benzilor SERS a colorantului apare abia după adăugarea cationului de calciu.

După cum ne-am așteptat, și am observat de asemenea în Figura 3.1.2, soluția coloidală cu NB și-a pierdut o mare majoritate din emisia fluorescentă în momentul introducerii anionului de clor. În absența Ca^{2+} , semnalul SERS este foarte slab, singura bandă vizibilă fiind cea de la 591 cm^{-1} . În momentul adăugării cationului de calciu, numărul hot-spot-urilor active SERS de la suprafața nanoparticulelor se mărește semnificativ, și permite anionilor de clor să adsoarbă, cu scopul de a

facilita adsorbția speciilor cationice [23], fapt care se reflectă în apariția multiplelor benzi ale Nile Blue, acum vizibile.

Ulterior introducerii I^- peste amestecul conținând deja Cl^- și Ca^{2+} , intensitatea benzilor SERS s-a triplat, datorită afinității sale la suprafață mai puternică decât cea a Cl^- , care este dezlocuit. Acest lucru ne este confirmat de prezența benzii specifice legăturii Ag-I, de la 120 cm^{-1} . Acest comportament nu este departe de ce am intuit, luând în considerare studiile precedente și proprietățile ionilor halogenură proporționale cu numărul atomic. Polarizabilitatea crește cu numărul atomic, astfel iodura prezintă polarizabilitatea cea mai mare comparativ cu clorura și bromura.

Pentru a fi siguri că efectul de adsorbție la suprafață se întâmplă în principal prin adsorbție, am efectuat măsurători UV-Vis cu scopul de a urmări prezența sau lipsa agregării nanoparticulelor în momentul adăugării fiecărui ion în parte, și secvențial.

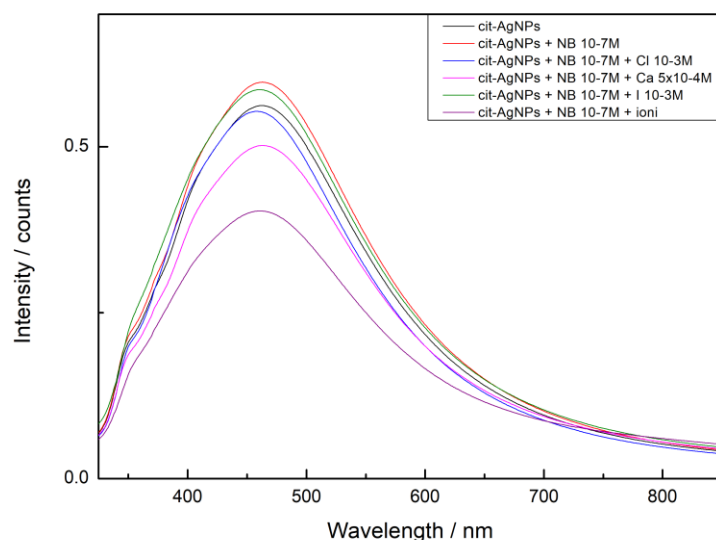


Figura 3.1.9 – Spectrul de absorbție al cit-AgNPs, înainte și după adăugarea Nile Blue, concentrație finală de 10^{-7} M. Separat, măsurători ale Nile Blue în coloid cu Cl^- de concentrație 10^{-3} M, Ca^{2+} de concentrație 5×10^{-4} M, respectiv I^- de concentrație 10^{-3} M. Spectrul de absorbție al amestecului alcătuit din nanoparticule de argint, colorantul Nile Blue de concentrație 10^{-7} M, și ionii de Cl^- , Ca^{2+} și I^- în concentrațiile menționate. Se observă scăderea în intensitate a spectrelor de absorbție care conțin Ca^{2+} .

În prezența ionilor halogenură, modificările în intensitate a spectrelor de absorbție față de intensitatea amestecului alcătuit din coloid și Nile Blue de intensitate 10^{-7} M sunt ne semnificative, putând fi atribuite unor variații în procesul de pipetare, sau fluctuații normale în cadrul măsurătorilor aparatului. Spectrul de absorbție corespunzător amestecului dintre coloid și colorant cu Cl^- , Ca^{2+} și I^- prezintă o scădere mai accentuată comparativ cu maximul benzilor amestecului cu anioni, fapt care inițial poate duce cu gândul la agregarea nanoparticulelor, însă cationul de calciu în prezența I^- a fost dovedit să faciliteze dizolvarea treptată a nanoparticulelor, prin creșterea și scăderea succesivă a nivelului Fermi și promovarea chemisorbției anionului. [24] În plus, agregarea nanoparticulelor s-ar fi reflectat în spectru prin apariția unei benzi de absorbție între 600 și 800 nm, dar în Figura 3.1.9 se observă contrarul.

Astfel, putem concluziona faptul că prin adăugarea de Cl^- , Ca^{2+} și I^- în amestecul dintre cit-AgNPs și Nile Blue, efectul SERS nu este activat de agregarea nanoparticulelor, ci este activat de adsorbția analitului la suprafața metalică, prin modificarea nivelului Fermi al nanoparticulei. Ionul Ca^{2+} facilitează un transfer oxidativ de electroni, de la metal la oxigenul ambiental. [25] În schimb, ionii halogenură, odată adsorbiți, cedează tranzient electroni nanoparticulei și determină o creștere a nivelului Fermi (potențialul electrochimic). Astfel, analitul anionic va adsorbi la un potențial electrochimic mai pozitiv (generat de “electron depletion” la adăugarea de Ca^{2+}). Analitul cationic Nile Blue prezintă afinitate pentru suprafața metalică cu potențial electrochimic mai negativ (generat de transferul electronic de la ionii halogenură la suprafața de argint).

3.2. Rose Bengal

Pornind de la rezultatele măsurătorilor realizate pentru Nile Blue, am dorit să observăm dacă există modificări în rolurile ionilor utilizați atunci când folosim un colorant anionic, respectiv Rose Bengal. Totodată, întrebarea principală care a determinat această parte a experimentului este dacă se poate ca I^- să dezlocuiască Rose Bengal de la suprafața nanoparticulei de argint, datorită caracterului său puternic electronegativ.

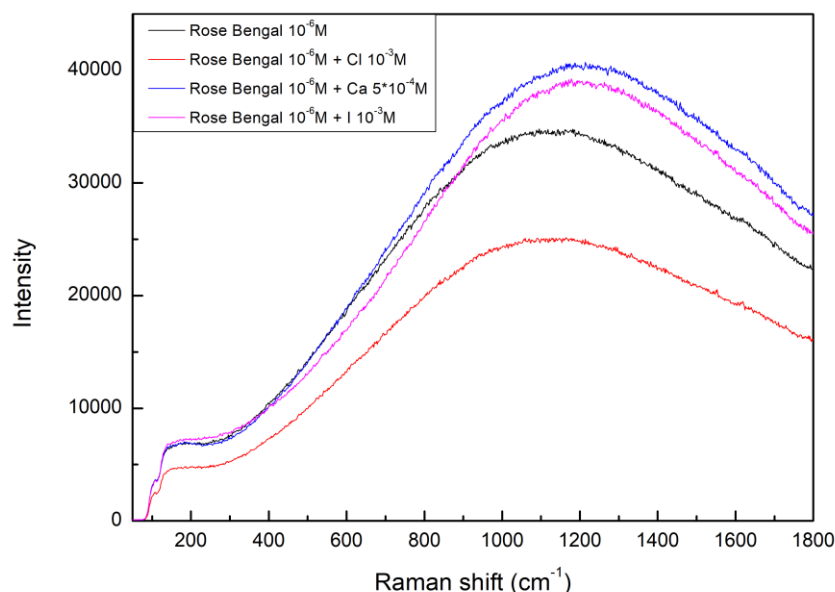


Figura 3.2.1 – Influența ionilor de Cl⁻ de concentrație 10⁻³ M, Ca²⁺ de concentrație 5x10⁻⁴ M și I⁻ de concentrație 10⁻³ M asupra fluorescenței a Rose Bengal diluat în apă, de concentrație finală 10⁻⁶ M. Prezența Cl⁻ înjumătățește semnalul fluorescent al RB, spre deosebire de Ca²⁺ și I⁻, care îl amplifică ușor.

Prin urmare, am efectuat măsurători pentru a determina influența ionilor de Cl⁻, Ca²⁺ și I⁻ de concentrații 10⁻³ M, 5x10⁻⁴ M, respectiv 10⁻³ M asupra emisieii fluorescente a Rose Bengal diluat în apă, cu concentrația finală de 10⁻⁶ M (Figura 3.2.1). Scăderea semnalului din cauza anionului de clor pare drastică, dar este de fapt o scădere de aproximativ 15%. Prezența cationului de calciu și a anionului de iod este însoțită de un shift subtil spre numere de undă mai mari, dar și de o amplificare de 13%. Aceste creșteri și descreșteri sunt nesemnificative considerând măsurătorile care vor urma, în prezența nanoparticulelor.

În continuare am evaluat rolul Cl⁻, I⁻ și Ca²⁺ în interacțiunea Rose Bengal cu suprafața nanoparticulelor de argint. Fiind un colorant anionic, ne așteptăm ca adăugarea de Ca²⁺ să amplifice semnul SERS al Rose Bengal. În schimb, Cl⁻ și I⁻ având afinitate puternică pentru suprafața de argint, ne așteptăm să dezlocuiască Rose Bengal de la suprafață, acesta fiind eliberat în soluție.

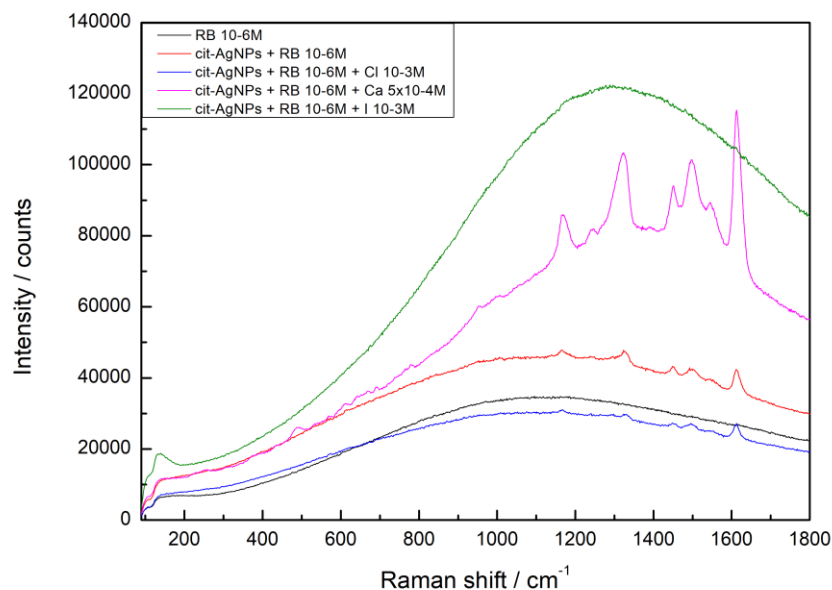


Figura 3.2.2 – Spectrul Rose Bengal în apă și coloid, de concentrație finală 10^{-6} M. Spectrele RB în coloid, alături de $\text{Cl}^- 10^{-3}$ M, $\text{Ca}^{2+} 5 \times 10^{-4}$ respectiv $\text{I}^- 10^{-3}$ M.

În Figura 3.2.2 se poate observa faptul că în prezența nanoparticulelor de argint, fluorescența RB este ușor amplificată (comparativ cu spectrul RB în apă), cu câteva benzi SERS caracteristice observabile. Adăugarea de Cl^- înjumătățește fluorescența amestecului, iar intensitatea benzilor de la 1168 cm^{-1} , 1330 cm^{-1} și 1616 cm^{-1} rămâne proporțională cu semnalul fluorescent. Această scădere a emisiei fluorescente nu este un rezultat al adsorbției Rose Bengal pe suprafață, ci un efect al interacțiunii Cl^- cu Rose Bengal, întrucât același ordin de mărime în reducerea fluorescenței Rose Bengal a fost observat și pentru colorantul singur (Figura 3.2.1.). Diferența evidentă se observă în urma introducerii cationului de calciu în soluția coloidală cu RB. Deși fluorescența colorantului este în continuare puternică, benzile caracteristice Rose Bengal (1168 cm^{-1} , 1330 cm^{-1} , 1454 cm^{-1} , 1506 cm^{-1} și 1616 cm^{-1} , [26]) sunt foarte intense.

În urma adăugării I^- , benzile SERS RB dispar (figura 3.2.2), dar banda de la 120 cm^{-1} specifică legăturii Ag-I ne indică faptul că anionul de iod a adsorbit la suprafața nanoparticulelor, dezlocuind RB. Mai mult, fluorescența RB este semnificativ mai crescută decât pentru RB 10^{-6} M, indicând un efect de amplificare a emisiei fluorescente. Fluorescența de trei ori mai puternică decât soluția coloidală cu colorant ridică semne de întrebare în legătură cu fenomenele care se întâmplă la suprafața nanoparticulei în momentul adăugării I^- .

În continuare, în mod asemănător măsurătorilor cu Nile Blue, am dorit să observăm influența ionilor adăugați secvențial în soluția coloidală cu Rose Bengal. În amestec, am introdus ionii în ordinea $\text{Cl}^- \rightarrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{I}^-$, cu scopul de a urmări creșterea nivelului Fermi și facilitarea adsorbției cationilor prin adăugarea Cl^- , activarea efectului SERS prin adăugarea Ca^{2+} și clarificarea rolului I^- .

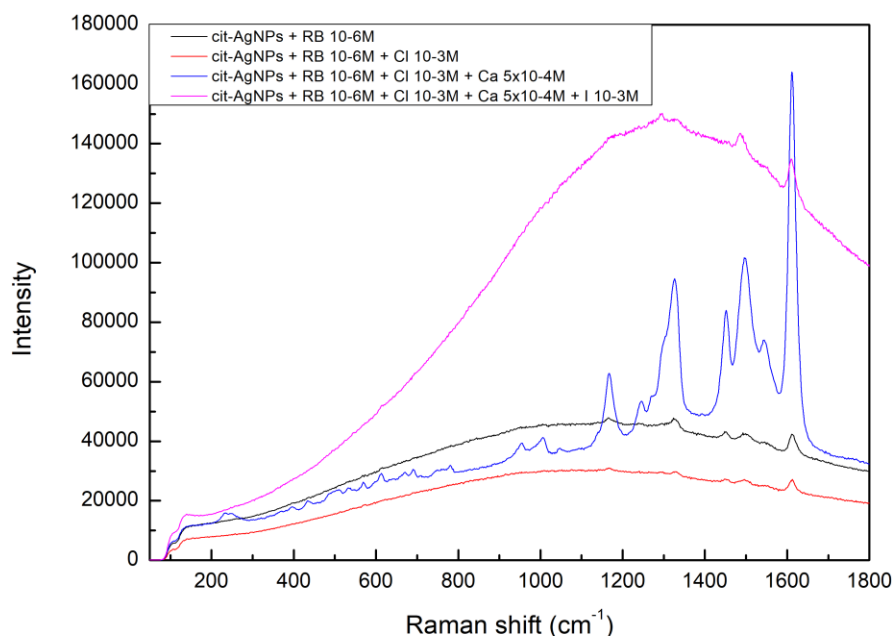


Figura 3.2.3 – Spectrul Rose Bengal în soluție coloidală, de concentrație finală 10^{-6} M, peste care s-a adăugat în ordine: Cl^- de concentrație 10^{-3} M, Ca^{2+} de concentrație 5×10^{-4} M, și I^- de concentrație 10^{-3} M.

La prima vedere, spectrul din Figura 3.2.3 este aproximativ identic cu cel din Figura 3.2.2, însă se disting mici diferențe. Rolul important al Ca^{2+} este reiterat, spectrul corespunzător pasului în care este adăugat cationul fiind singurul în care raportul dintre semnalul SERS și fluorescență este foarte mare. Diferența dintre această măsurătoare în prezența Ca^{2+} și cea din figura anterioară este prezența benzii specifice legăturii metalice dintre Ag și Cl, de la 240 cm^{-1} , vizibilă în acest caz datorită dezlocuirii parțiale a citratului în favoarea anionului de clor, dar și datorită coadsorbției Cl^- și RB. Dezlocuirea o anumită parțială deoarece benzile de la 956 cm^{-1} și 1057 cm^{-1} corespund citratului [27]

Se poate concluziona că adaosul de Ca^{2+} a promovat adsorbția trei anioni (cit^{3-} , Cl^- și RB^-).

Bineînțeles, intensitatea benzilor fiecărei legături dintre analiți și nanoparticulă reflectă ponderile adsorbției anionilor la suprafață. În ciuda concentrațiilor utilizate pentru fiecare anion în parte (10^{-3} M citrat, 10^{-3} M Cl^- , 10^{-6} M RB), intensitățile benzilor nu urmăresc ordinea concentrațiilor.

În urma adăugării I^- , benzile RB sunt slab vizibile (Figura 3.2.3), în schimb fluorescența a crescut de patru ori comparativ cu amestecul simplu de nanoparticule și RB. Prezența fluorescenței poate fi explicată prin dezlocuirea colorantului de către I^- din primul layer de la suprafața nanoparticulei, dovada fiind banda caracteristică Ag-I de la 120 cm^{-1} ca urmare a adsorbției competitive a moleculelor cu aceeași sarcină (în acest caz negativă) [23]. Desorbția RB este o teorie perfect plauzibilă, însă nu poate explica obținerea unei fluorescențe mai mari decât fluorescența emisă de RB 10^{-6} M, în special luând în considerare faptul că în majoritatea literaturii de specialitate, anionul I^- a fost demonstrat să reducă fluorescența în loc să o amplifice. [28], [29]

Comportamentul său atipic față de cel studiat de nenumărate ori a influențat următorii pași ai acestei părți experimentale, dorind să confirmăm sau să infirmăm teoria desorbției a Rose Bengal sau să descoperim un alt efect al adăugării de I^- .

Un prim pas înspre înțelegerea efectului anionului I^- a fost reproducerea amestecului final, care conține nanoparticule de argint reduse cu citrat, Rose Bengal, Cl^- , Ca^{2+} și I^- . Este important a se menționa parametrii de achiziție ai primei măsurători: am achiziționat 3 spectre timp de 10 secunde, la o putere de 50% a laserului de 532 nm, 180 mW. Reluând măsurătorile ulterior, acești parametri au dus la suprasaturarea detectorului, fiind obligați să reducem puterea laserului la 18 mW.

În acest punct, noii parametri de achiziție sunt: 10 secunde, 3 achiziții, puterea laserului 18 mW.

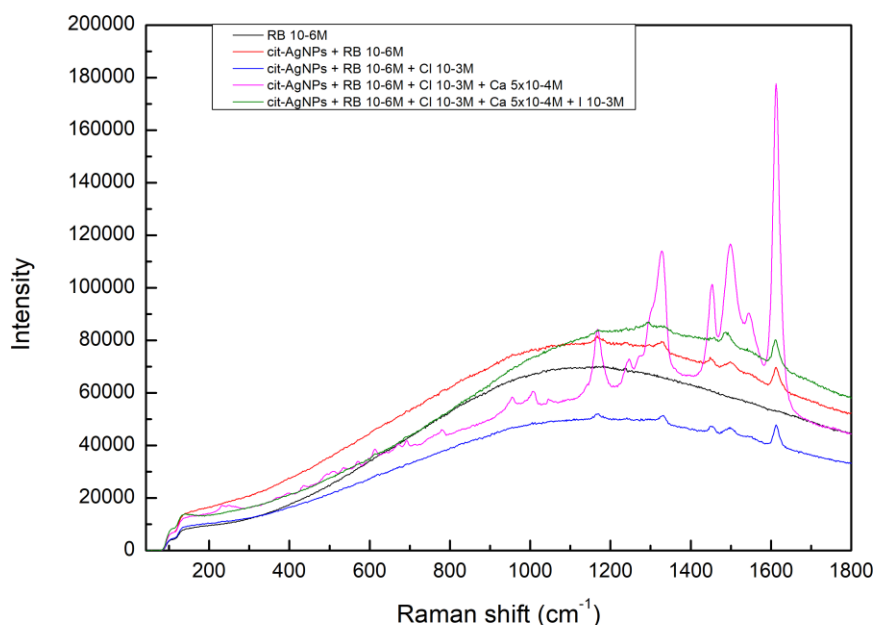


Figura 3.2.4 – Prima repetiție a măsurătorii secvențiale, care include nanoparticule de argint, RB de concentrație finală de 10^{-6} M, $\text{Cl}^- 10^{-3}$ M, $\text{Ca}^{2+} 5 \times 10^{-4}$ M și $\text{I}^- 10^{-3}$ M. Spectrul simplu a RB diluat în apă pentru referința intensității fluorescenței.

Cu acești noi parametri, am putut obține spectrele din Figura 3.2.4, în ciuda intensității reduse. Observațiile prezente la Figura 3.2.3 sunt aplicabile și în acest caz, iar pentru soluția finală care conține toți ionii de interes, fluorescența este în continuare amplificată, deși semnificativ mai puțin.

În Figura 3.2.5 și Figura 3.2.6 se observă reprezentarea grafică a altor două măsurători ale aceleiași soluții finale, cu parametri de achiziție diferiți (10 secunde, 3 achiziții, 18 mW putere respectiv 1 secundă, 1 achiziție, 90 mW putere). Aceeași tendință este evidențiată, de activare a semnalului SERS în momentul adăugării Ca^{2+} , iar la adăugarea I^- semnalul SERS dispare, respectiv fluorescența este ușor amplificată.

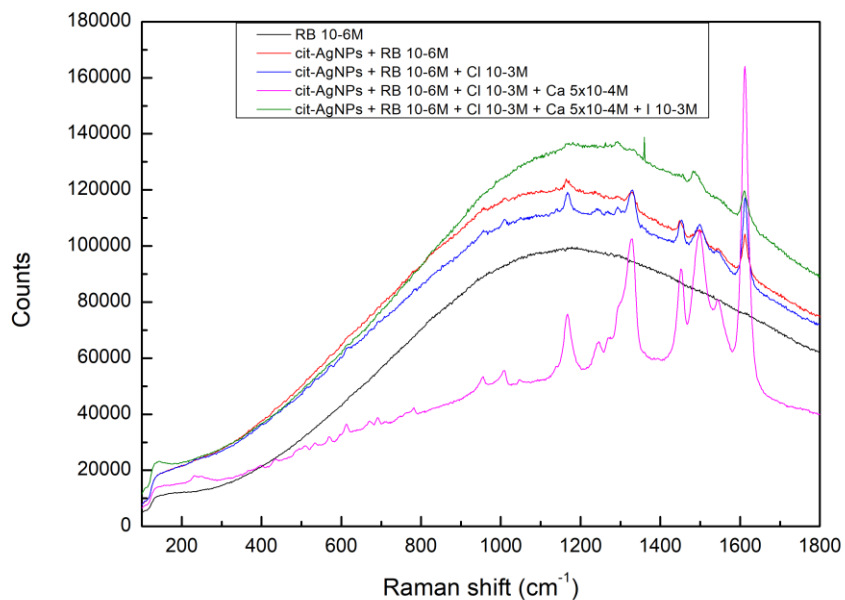


Figura 3.2.5 – A doua repetiție a măsurătorii secvențiale, care include nanoparticule de argint, RB de concentrație finală de 10^{-6} M, Cl^- 10^{-3} M, Ca^{2+} 5×10^{-4} M și I^- 10^{-3} M. Spectrul simplu a RB diluat în apă pentru referința intensității fluorescenței.

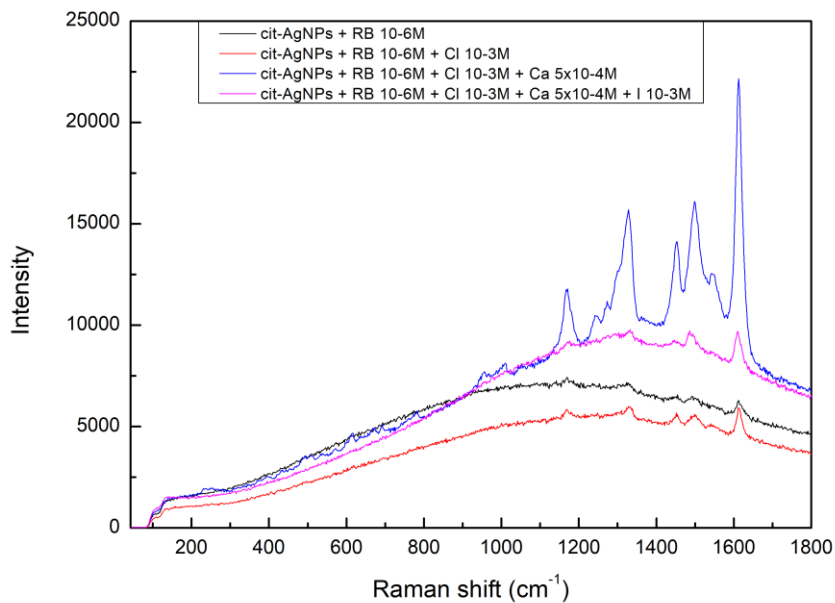


Figura 3.2.6 – A treia repetiție a măsurătorii secvențiale, care include nanoparticule de argint, RB de concentrație finală de 10^{-6} M, Cl^- 10^{-3} M, Ca^{2+} 5×10^{-4} M și I^- 10^{-3} M.

Acest efect este consistent și la concentrații mai mari, respectiv mai mici ale colorantului. La concentrația de 10^{-5} M, fluorescența Rose Bengal este mare chiar și cu parametri de achiziție reduși, însă principala diferență este lipsa semnalului SERS la adăugarea Ca^{2+} , suprafața activă de argint fiind probabil prea mică pentru a adsorbi toate moleculele RB. Ca urmare, multe molecule rămân libere în soluție și emit semnal fluorescent care acoperă semnalul SERS. Amplificarea fluorescenței în prezența iodului este, totuși, în continuare prezentă.

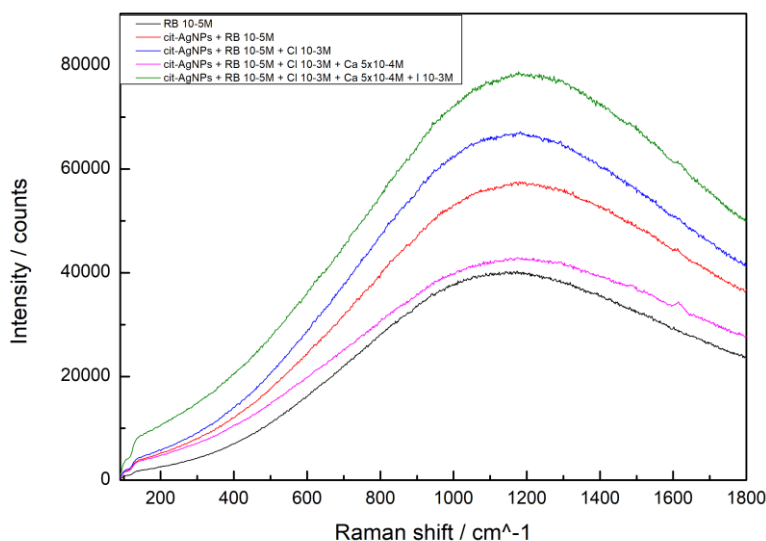


Figura 3.2.7 – Măsurătorile amestecului secvențial studiat, Rose Bengal 10^{-5} M în coloid, alături de Cl^{-} 10^{-3} M, Ca^{2+} 5×10^{-4} M și I^{-} 10^{-3} M. RB diluat în apă pentru referință a intensității semnalului fluorescent.

La concentrații mai mici, observăm tot aceleași rezultate ca și cele precedente (Figura 3.2.8).

Reproductibilitatea și consistența la diferite concentrații ale colorantului ne oferă încredere în ideea că rezultatele obținute sunt viabile și pot fi cercetate în continuare.

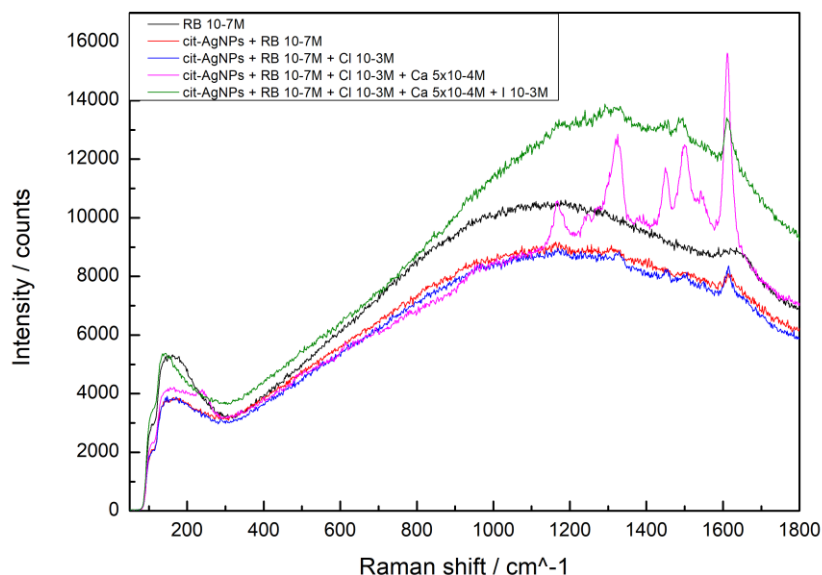


Figura 3.2.8 – Măsurătorile amestecului coloidal cu RB de concentrație 10^{-7} M, împreună cu $\text{Cl}^- 10^{-3}$ M, $\text{Ca}^{2+} 5 \times 10^{-4}$ M și $\text{I}^- 10^{-3}$ M. RB diluat în apă pentru a compara semnalul fluorescent înainte și după amplificarea sa.

Următorul pas realizat în căutarea unei explicații pentru efectul de amplificare a fluorescenței amestecului coloidal cu Rose Bengal a fost centrifugarea probelor pentru prelevarea supernatantului ce conține moleculele libere neadsorbite sau desorbite de la suprafața nanoparticulelor și analiza prin spectroscopie de fluorescență. Prin centrifugare, putem determina dacă Rose Bengal a rămas adsorbit pe suprafața nanoparticulelor iar efectul prezent este SEF, caz în care s-ar observa doar spectrul apei, sau dacă I^- a dezlocuit RB de la suprafața nanoparticulei, deci în supernatant ar exista molecule de RB și am observa o intensitate a supernatantului comparabilă cu cea a RB diluat în apă.



Figura 3.2.9 – Spectrele achiziționate în urma primei centrifugări a soluțiilor care conțin nanoparticule de argint, RB de concentrație 10^{-6} M, Cl^- , Ca^{2+} , I^- . Se observă atât benzi caracteristice RB, cât și fluorescență și spectrul apei.

Centrifugarea probelor s-a efectuat la temperatura camerei, timp de 5 minute, ajungând la 15000xg. În urma centrifugării, am extras supernatantul, având grijă să nu se reamestece nanoparticulele precipitate. 10 μl din supernatant au fost folosiți pentru măsurătorile Raman.

Figura 3.2.9 reprezintă prima măsurătoare efectuată a supernatantului extras în urma centrifugării. Rezultatele sunt contradictorii, fiind prezente atât benzi SERS ale colorantului, cât și fluorescență și spectrul apei. Se pare că în supernatantul amestecului final ar mai exista puține molecule de colorant, însă benzile SERS rămase ne indică ineficiența acestei prime centrifugări. Pentru a obține rezultate de încredere, au fost efectuate trei măsurători repetitive adiționale. În aceste trei măsurători ulterioare, benzile SERS au dispărut total. Semnalul fluorescent în prezența Cl^- , Ca^{2+} , I^- a fost amplificat față de intensitatea supernatantului RB în apă sau coloid. Există posibilitatea ca centrifugarea să afecteze structural ansamblul format din nanoparticule, anioni și ionii adsorbiți, dar și molecula de colorant în apă, al cărei semnal a fost de asemenea amplificat. O repetiție (C din Figura 3.2.10) nu a indicat fluorescență amplificată, însă diversitatea rezultatelor a fost prea mare între aceste patru măsurători

totale pentru a trage concluzii în completă cunoștință de cauză. Astfel, din nefericire, nu s-a putut confirma sau infirma niciuna din teoriile menționate.

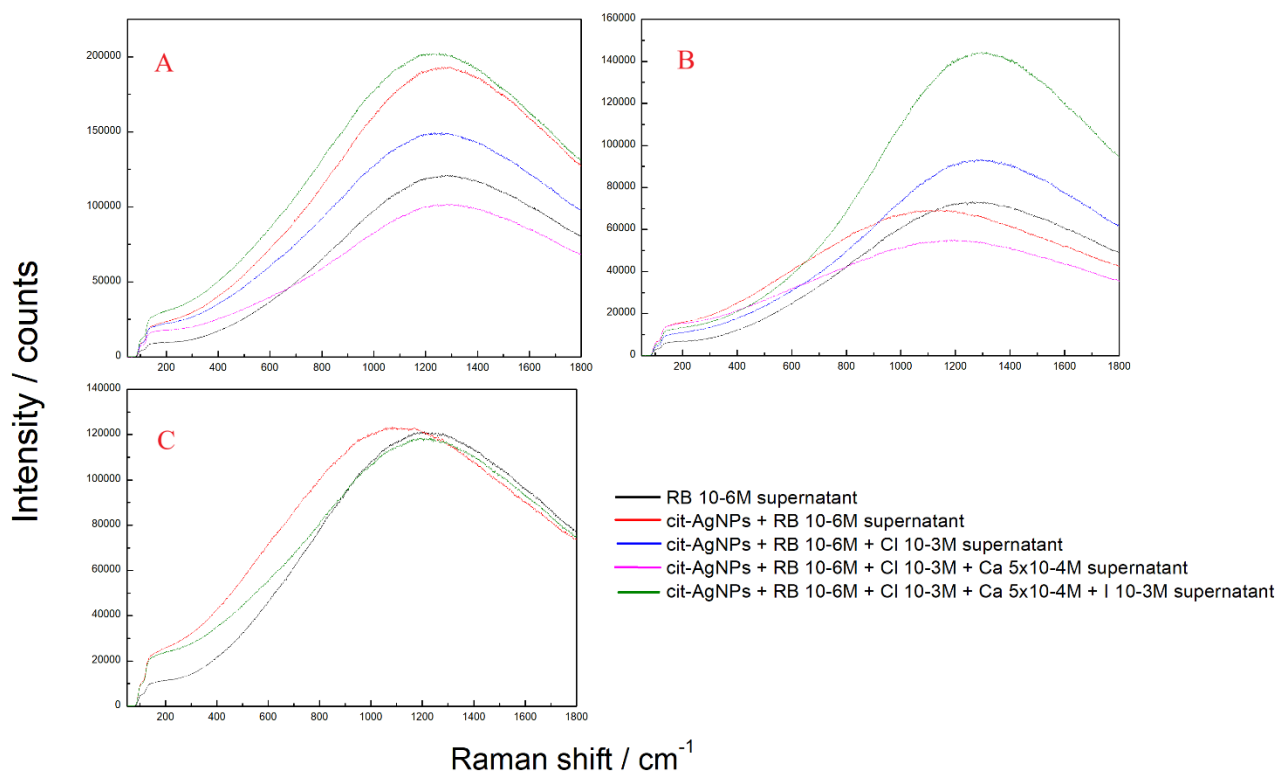


Figura 3.2.10 – Spectrele achiziționate pentru trei repetiții diferite a procesului de centrifugare al amestecului alcătuit din coloid, Rose Bengal 10⁻⁶ M, Cl⁻ 10⁻³ M, Ca²⁺ 5x10⁻⁴ M și I⁻ 10⁻³ M. A) Prima repetiție, vizibilă amplificarea semnalului fluorescent în prezența Cl⁻, Ca²⁺, I⁻, comparabil cu fluorescența RB în coloid. B) A doua repetiție a cetrifugării, semnalul fluorescent e amplificat tot în prezența I⁻, dar de aproximativ 2 ori mai intens decât semnalul RB sau RB în coloid. C) O a treia repetiție a centrifugării amestecului, dar semnalul este puternic fluorescent pentru RB, RB în coloid și amestecul final în prezența Cl⁻, Ca²⁺, I⁻.

Am dorit să eliminăm riscul erorii de pipetare și am utilizat filtre Vivaspin pentru a asigura extragerea unui supernatant fără urme de nanoparticule. Mărimea filtrului este de 100 kDa; de asemenea, centrifugarea s-a realizat la 7000 rpm, la temperatura camerei, timp de 20 de minute, pentru a evita filtrarea incompletă sau nepotrivită.

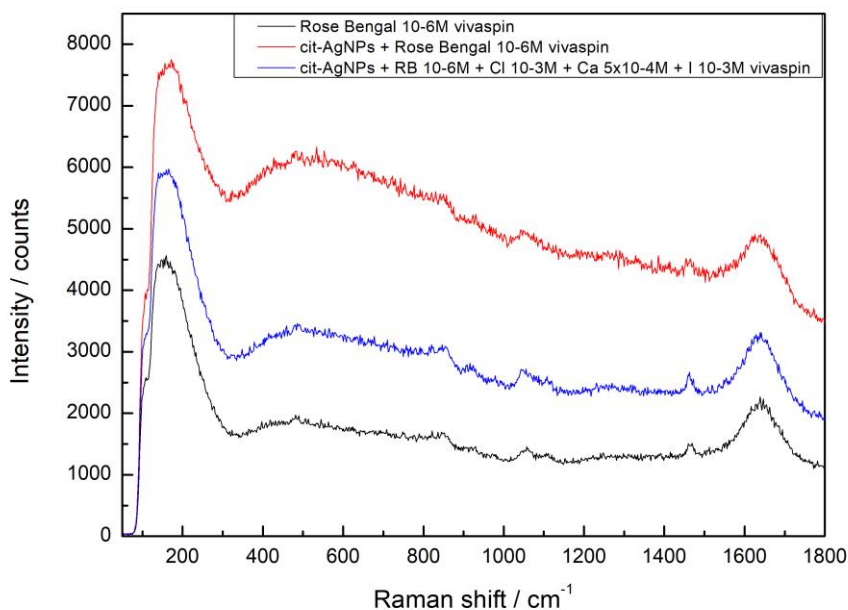


Figura 3.2.10 – Spectrul Rose Bengal în apă și coloid, și Rose Bengal în coloid alături de Cl⁻, Ca²⁺, I⁻, după centrifugarea celor trei amestecuri utilizând centrifuga Vivaspin.

Este vizibil doar spectrul apei pentru toți supernatanții, indicând filtrarea totală a Rose Bengal diluat în apă.

Figura 3.2.10 ne indică nereușita acestei metode, observându-se doar spectrul apei. La prima vedere, rezultatele par să confirme adsorbția totală a colorantului la suprafața nanoparticulelor, însă spectrul supernatantului extras în urma centrifugării Rose Bengal diluat în apă indică faptul că moleculele au fost complet filtrate. Acestea fie au format complecși dimeri [30] în urma centrifugării, fie mărimea

moleculilor este prea mare, deci nu au putut trece prin filtrul ales de 100 kDa. În orice caz, aceste rezultate nu sunt valide pentru scopul pe care dorim să îl atingem.

În acest punct al procesului experimental, cunoaștem faptul că măsurătorile secvențiale reiterează rolul cationului de calciu în activarea semnalului SERS, și rolul anionilor halogenură în creșterea nivelului Fermi al nanoparticulelor cu scopul adsorbției facile a cationului. În general ni s-au arătat mai multe întrebări decât am primit răspunsuri. Rezultatele centrifugării prin două metode a confirmat ideea amplificării semnalului fluorescent în prezența celor trei ioni de interes (Cl^- , Ca^{2+} și I^-), însă motivul pentru care fluorescența crește din nou după centrifugare rămâne în continuare un semn de întrebare.

Cunoscând faptul că efectul SEF depinde de distanța analitului față de nanoparticulă și de potrivirea nivelului Fermi al nanoparticulei cu emisia fluorescentă a analitului, am ales un alt analit ce absoarbe și emite lumină în același domeniu spectral ca Rose Bengal, dar are sarcină diferită, astfel interacțiunea cu suprafața NP va fi diferită. În acest caz am utilizat R6G al cărui bandă de absorbție maximă este la 530 nm. Astfel, putem observa comportamentul acestui colorant în soluție coloidală, peste care adăugăm aceiași ioni în aceeași ordine ca în cazul Rose Bengal, cu excitația laserului de 532 nm.

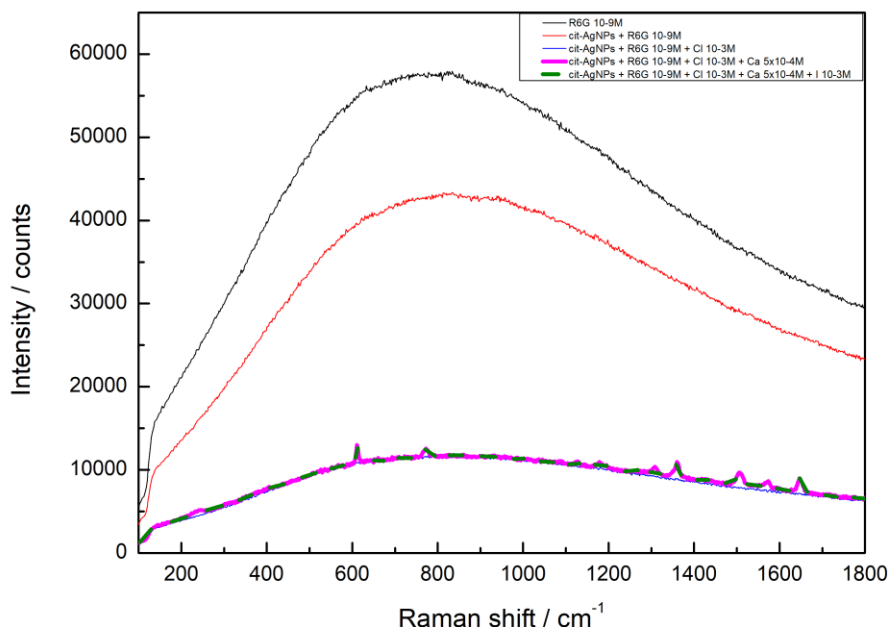


Figura 3.2.11 – Spectrele Rhodaminei 6G de concentrație 10^{-9} M în apă și în soluție coloidală. Spectrele R6G în coloid, alături de Cl^- , Ca^{2+} , I^- , nu prezintă aceleași rezultate ca în cazul Rose Bengal, de amplificare a fluorescenței.

După cum se observă în Figura 3.2.11, în prezența celor trei ioni (Cl^- , Ca^{2+} și I^-), benzile colorantului sunt slabe, însoțite de un fundal fluorescent. În cazul în care efectul de amplificare a fluorescenței ar fi avut loc și pentru Rhodamina 6G, factorul principal care ar fi generat acest lucru, ar fi fost potrivirea energetică cu banda plasmonică a nanoparticulelor și maximul benzii de absorbție al colorantului. În acest caz, moleculele de R6G sunt adsorbite pe suprafața nanoparticulelor. Deși avem potrivirea benzii plasmonice cu excitația de lungime de undă rezonantă, nu există amplificare a fluorescenței, cel mai probabil din cauza distanței reduse dintre analit și suprafața nanoparticulei, fapt care duce la efectul de stingere a fluorescenței. Similar ca în cazul Nile Blue, unde banda de absorbție diferă de cea a R6G, efectul de stingere nu este influențat de potrivirea energetică, ci doar de adsorbție.

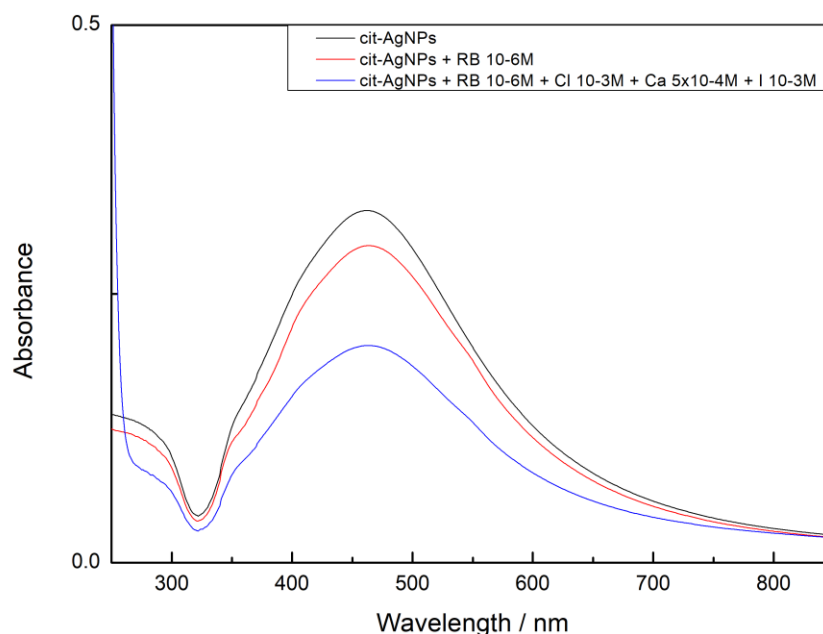


Figura 3.2.12 – Spectrul de absorbție al coloidului în absența și în prezența a Rose Bengal. Spectrul de absorbție al soluției alcătuită din coloid, Rose Bengal 10^{-6} M, Cl^{-} 10^{-3} M, Ca^{2+} 5×10^{-4} M și I^{-} 10^{-3} M, care este mai slab în intensitate.

Asemănător cu rezultatul obținut în urma efectuării spectrelor UV-Vis pentru Nile Blue, scăderea intensității benzii de absorbție a Rose Bengal în prezența ionilor de Cl^{-} , Ca^{2+} , I^{-} nu este datorată agregării, dovadă fiind lipsa altor benzi la lungimi de undă mai mari, ci este datorată influenței cationului de calciu și a anionului de iod în modificarea nivelului Fermi al nanoparticulelor, ducând la începerea dizolvării lor, și implicit la o intensitate a benzii plasmonice mai mică. [24]

Cu toate aceste informații, putem afirma faptul că în prezența ionilor Cl^{-} , Ca^{2+} și I^{-} , fluorescența unui colorant anionic precum Rose Bengal poate apărea ulterior adsorbției la suprafața nanoparticulelor, de intensitate mărită față de fluorescența intrinsecă a colorantului diluat în apă sau în soluție coloidală. Efectul SEF pare să fie activat de I^{-} , care se deosebește de ceilalți ioni halogenură menționați (Cl^{-} , Br^{-}) prin secțiunea sa eficace mare, aflându-se mai jos în tabelul periodic. Literatura de specialitate menționează două posibile influențe a semnalului SEF: dependența fluorescenței de concentrația KI [31] și dependența fluorescenței de distanța dintre fluorofor și nanoparticulă. [15] Concentrația de KI din volumul soluției finale este de 10^{-3} M, sau 1 mM, apropiată de valoarea de 5 mM menționată în

literatură. Distanța dintre fluorofor și nanoparticulă consider că este influențată de anionul halogenură utilizat; dovada este scăderea fluorescenței în prezența Cl^- prezentă în toate spectrele achiziționate. În acest caz, mărimea Γ în combinație cu efectele datorate adaosului de Cl^- și Ca^{2+} se încadrează în parametrii optimi de amplificare a fluorescenței, situând analitul la distanța ideală față de nanoparticulele de argint pentru activarea efectului SEF.

Concluzii și perspective de viitor

Scopul acestei lucrări a fost studiul fundamental al interacțiunii coloranților Nile Blue și Rose Bengal cu suprafața nanoparticulelor de argint în prezența ionilor halogenură Cl^- , Br^- , I^- și a cationului de calciu Ca^{2+} , în vederea îmbunătățirii controlului tehnicilor spectroscopice de suprafață cum ar fi spectroscopia amplificată de suprafață Raman (SERS).

Măsurătorile efectuate pentru colorantul Nile Blue scot în evidență necesitatea utilizării anionilor de Cl^- , Br^- , I^- care pot crește nivelul Fermi al nanoparticulei de argint, creând astfel un dezechilibru energetic între NP și soluție. Pentru echilibrare, molecula Nile Blue va fi adsorbită, iar spectrul SERS al Nile Blue amplificat. Mai mult, adăugarea Ca^{2+} amplifică acest efect ca urmare a unei adsorbții promovate a ionilor halogenură. Totuși, secvența de adăugare este importantă în menținerea structurilor stabile și a evita o dizolvare accentuată a NPs. Polarizabilitatea ionilor halogenură determină, de asemenea, intensitatea semnalului SERS, care crește cu polarizabilitatea ($\text{Cl}^- \rightarrow \text{Br}^- \rightarrow \text{I}^-$).

Pe de altă parte, pentru colorantul anionic Rose Bengal, adsorbția lui pe suprafața de argint a fost promovată de adăugarea de Ca^{2+} . După cum ne așteptam, pentru I^- cu o afinitate mai mare pentru suprafața de argint apare competitivitatea la suprafață, iar spectrul SERS al Rose Bengal este înlocuit de banda SERS Ag-I, indicând prezența I^- în first layer. Totuși această dezlocuire nu produce desorbția completă a Rose Bengal, întrucât este observată o emisie fluorescentă semnificativ mai mare decât pentru soluția de Rose Bengal inițială, indicând un posibil efect de amplificare a fluorescenței la suprafața nanoparticulei. Emisia fluorescentă a supernatantului a arătat rezultate contradictorii, fie că nu ar fi molecule libere de Rose Bengal în urma adăugării I^- , fie o emisie fluorescentă amplificată, ceea ce a îngreunat interpretarea acestui efect.

În concepția noastră, I^- influențează distanța dintre nanoparticulă și analit, creând distanța optimă pentru existența SEF. Repetarea experimentului și obținerea aceluiași rezultat indiferent de parametrii de achiziție sau de concentrația Rose Bengal face ca acest experiment să fie reproductibil. În plus, prin repetarea experimentului cu un colorant de sarcină opusă (Rhodamina 6G), dar cu maximul benzii de absorbție apropiat de Rose Bengal, nu a fost observat SEF. Acest fapt accentuează importanța sarcinii moleculei de interes, și nu doar a rezonanței dintre lungimea de undă a excitației laser și banda de absorbție a colorantului.

Acest studiu are nevoie de aprofundare, luând în considerare mai mulți parametri de analiză care pot influența rezultatele, dar și caracterizarea detaliată a substanțelor utilizate. Un aspect pe care l-aș prioritiza ar fi variația concentrației de KI din amestecul final care conține Rose Bengal, pentru a determina pragul peste care I^- nu mai promovează fluorescența, ci o diminuează semnificativ (quenching). Totodată, consider că atât analiza mai multor coloranți de sarcină negativă, cât și repetarea experimentelor folosind nanoparticule de aur (AuNPs) ne poate oferi informații importante legate de condițiile activării efectului SEF. De asemenea, îmi doresc extinderea acestei tematici de cercetare în domeniul medical, datorită proprietăților inedite ale nanoparticulelor de argint, dar și aplicațiilor deja puse în practică a fluoroforilor.

Bibliografie

- [1] „FIG. 1. Scheme and Jablonski diagram illustrating Raman scattering and...”, ResearchGate. Data accesării: 4 mai 2025. [Online]. Disponibil la: https://www.researchgate.net/figure/Scheme-and-Jablonski-diagram-illustrating-Raman-scattering-and-Rayleigh-scattering_fig1_351094707
- [2] N. Leopold, *Surface-enhanced Raman Spectroscopy: Selected Applications*. Napoca Star, 2009.
- [3] M. Moskovits, „Surface-enhanced spectroscopy”, *Rev. Mod. Phys.*, vol. 57, nr. 3, pp. 783–826, iul. 1985, doi: 10.1103/RevModPhys.57.783.
- [4] G. Keresztury, „Raman Spectroscopy: Theory”, în *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, 1 ed., J. M. Chalmers și P. R. Griffiths, Ed., Wiley, 2001. doi: 10.1002/0470027320.s0109.
- [5] „(PDF) Noble metal nanomaterials for the diagnosis and treatment of hematological malignancies”, *ResearchGate*, doi: 10.31083/j.fbl2702040.
- [6] I. Chaudhry, G. Hu, H. Ye, și L. Jensen, „Toward Modeling the Complexity of the Chemical Mechanism in SERS”, *ACS Nano*, vol. 18, nr. 32, pp. 20835–20850, aug. 2024, doi: 10.1021/acsnano.4c07198.
- [7] S. M. Morton și L. Jensen, „Understanding the Molecule–Surface Chemical Coupling in SERS”, *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 131, nr. 11, pp. 4090–4098, mar. 2009, doi: 10.1021/ja809143c.
- [8] D. J. Trivedi, B. Barrow, și G. C. Schatz, „Understanding the chemical contribution to the enhancement mechanism in SERS: Connection with Hammett parameters”, *J. Chem. Phys.*, vol. 153, nr. 12, p. 124706, sep. 2020, doi: 10.1063/5.0023359.
- [9] A. Stefanu și colab., „Fermi Level Equilibration at the Metal–Molecule Interface in Plasmonic Systems”, *Nano Lett.*, vol. 21, nr. 15, pp. 6592–6599, aug. 2021, doi: 10.1021/acs.nanolett.1c02003.
- [10] K. Khurana și N. Jaggi, „Localized Surface Plasmonic Properties of Au and Ag Nanoparticles for Sensors: a Review”, *Plasmonics*, vol. 16, nr. 4, pp. 981–999, aug. 2021, doi: 10.1007/s11468-021-01381-1.
- [11] A. N. Singh, H. Devnani, S. Jha, și P. P. Ingole, „Fermi level equilibration of Ag and Au plasmonic metal nanoparticles supported on graphene oxide”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 20, nr. 41, pp. 26719–26733, oct. 2018, doi: 10.1039/C8CP05170D.
- [12] M. Picollo, M. Aceto, și T. Vitorino, „UV-Vis spectroscopy”, *Phys. Sci. Rev.*, vol. 4, nr. 4, apr. 2019, doi: 10.1515/psr-2018-0008.
- [13] „Electronic Spectra of Molecules”. Data accesării: 6 mai 2025. [Online]. Disponibil la: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/molecule/molelect.html>
- [14] „UV/Vis Lectures”. Data accesării: 6 mai 2025. [Online]. Disponibil la: <https://agora.cs.wcu.edu/~huffman/lectures/uvvis.html>
- [15] K. Aslan, I. Gryczynski, J. Malicka, E. Matveeva, J. R. Lakowicz, și C. D. Geddes, „Metal-enhanced fluorescence: an emerging tool in biotechnology”, *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 16, nr. 1, pp. 55–62, feb. 2005, doi: 10.1016/j.copbio.2005.01.001.
- [16] W. Deng, F. Xie, H. T. M. C. M. Baltar, și E. M. Goldys, „Metal-enhanced fluorescence in the life sciences: here, now and beyond”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 15, nr. 38, pp. 15695–15708, 2013, doi: 10.1039/C3CP50206F.
- [17] „Chris D. Geddes”. Data accesării: 14 iunie 2025. [Online]. Disponibil la: <https://chrisgeddes.com/research.html>

- [18] PubChem, „Nile Blue”. Data accesării: 26 mai 2025. [Online]. Disponibil la: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16938>
- [19] V. Martinez și M. Henary, „Nile Red and Nile Blue: Applications and Syntheses of Structural Analogues”, *Chem. – Eur. J.*, vol. 22, nr. 39, pp. 13764–13782, 2016, doi: 10.1002/chem.201601570.
- [20] S. Demartis, A. Obinu, E. Gavini, P. Giunchedi, și G. Rassu, „Nanotechnology-based rose Bengal: A broad-spectrum biomedical tool”, *Dyes Pigments*, vol. 188, p. 109236, apr. 2021, doi: 10.1016/j.dyepig.2021.109236.
- [21] PubChem, „Rose Bengal”. Data accesării: 26 mai 2025. [Online]. Disponibil la: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71553>
- [22] „(PDF) Surface Enhanced Raman Scattering Effect of Au-Ag Alloy Films Based on Kretschmann Configuration”, *ResearchGate*, doi: 10.7503/cjcu20140297.
- [23] A. Stefancu, S. D. Iancu, V. Moisoiu, și N. Leopold, „Specific and selective SERS active sites generation on silver nanoparticles by cationic and anionic adatoms”, *Rom Rep Phys*, vol. 70, nr. 4, 2018.
- [24] A. Stefancu și S. D. Iancu, „Tuning the potential of nanoelectrodes to maximum: Ag and Au nanoparticles dissolution by I-adsorption via Mg²⁺ adions”, *Romanian Rep. Phys.*, vol. 73, nr. 2, p. 502, 2021.
- [25] A. M. Chiriac, R. A. Ciceo-Lucacel, S. D. Iancu, și N. Leopold, „Citrate-reduced silver nanoparticles: Synthesis temperature dependent properties”, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 709, p. 163759, nov. 2025, doi: 10.1016/j.apsusc.2025.163759.
- [26] H. R. Zhu și L. Parker, „A spectroscopic study of rose bengal”, *Chem. Phys. Lett.*, vol. 162, nr. 6, pp. 424–430, oct. 1989, doi: 10.1016/0009-2614(89)87002-2.
- [27] C. H. Munro, W. E. Smith, M. Garner, J. Clarkson, și P. C. White, „Characterization of the Surface of a Citrate-Reduced Colloid Optimized for Use as a Substrate for Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering”, *Langmuir*, vol. 11, nr. 10, pp. 3712–3720, oct. 1995, doi: 10.1021/la00010a021.
- [28] L. Feng și colab., „Silver nanoclusters with enhanced fluorescence and specific ion recognition capability triggered by alcohol solvents: a highly selective fluorimetric strategy for detecting iodide ions in urine”, *Chem. Commun.*, vol. 53, nr. 68, pp. 9466–9469, aug. 2017, doi: 10.1039/C7CC04924B.
- [29] G. K. Rollefson și R. W. Stoughton, „The Quenching of Fluorescence in Solution. III. The Nature of the Quenching Process”, ACS Publications. Data accesării: 10 iunie 2025. [Online]. Disponibil la: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja01851a009>
- [30] C.-C. Chang, Y.-T. Yang, J.-C. Yang, H.-D. Wu, și T. Tsai, „Absorption and emission spectral shifts of rose bengal associated with DMPC liposomes”, *Dyes Pigments*, vol. 79, nr. 2, pp. 170–175, nov. 2008, doi: 10.1016/j.dyepig.2008.02.003.
- [31] A. Chmyrov, T. Sandén, și J. Widengren, „Iodide as a Fluorescence Quencher and Promoter—Mechanisms and Possible Implications”, *J. Phys. Chem. B*, vol. 114, nr. 34, pp. 11282–11291, sep. 2010, doi: 10.1021/jp103837f.

DECLARAȚIE PE PROPRIE RĂSPUNDERE

Subsemnatul, Codarcea Veronica-Sânziana, declar că **Lucrarea de absolvire/Lucrarea de licență/Proiectul de diplomă/Lucrarea de disertație** pe care o voi prezenta în cadrul examenului de finalizare a studiilor la Facultatea de Fizică, din cadrul Universității Babeș-Bolyai, în sesiunea iulie 2025, sub îndrumarea prof. dr. Nicolae Leopold și lect. dr. Ștefania Dana Iancu, 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,

23.06.2025

Nume,

Codarcea Veronica-Sânziana

Semnătură

