

**POLITECNICO DI MILANO**

Facoltà di Ingegneria dei Sistemi  
Dipartimento di Fisica  
Corso di Laurea Specialistica in Ingegneria Fisica



*Sviluppo di sistemi nanoparticella/fluoroforo per  
la generazione di  
Metal Enhanced Fluorescence (MEF)*

Relatore: Prof. Mirella Del Zoppo  
Correlatori: Ing. Eleonora Valeria Canesi  
Ing. Andrea Lucotti

Tesi di Laurea di:  
Martina CAPSONI  
matr. 733897

Anno Accademico 2009 - 2010



# Indice

<b>1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>Fluorescenza</b>	<b>17</b>
2.1	Fenomeno di fluorescenza . . . . .	17
2.2	Processo di fluorescenza . . . . .	17
2.2.1	Assorbimento . . . . .	17
2.2.2	Diagramma di Jabłoński . . . . .	18
2.2.3	Emissione spontanea . . . . .	19
2.3	Caratteristiche dell'emissione di fluorescenza . . . . .	20
2.3.1	Stokes shift . . . . .	20
2.3.2	Spettri di emissione . . . . .	21
2.4	Tempo di vita e resa quantica di fluorescenza . . . . .	22
2.4.1	Quenching della fluorescenza . . . . .	23
2.4.2	Scala dei tempi dei processi molecolari in soluzione . . . . .	24
2.5	Resonance energy transfer (RET) . . . . .	24
<b>3</b>	<b>Nanoparticelle metalliche</b>	<b>27</b>
3.1	Storia . . . . .	27
3.2	Sistemi colloidali . . . . .	28
3.2.1	Teoria dei sistemi colloidali . . . . .	28
3.3	Teoria sulle nanoparticelle . . . . .	35
3.3.1	Modello di Drude-Lorentz-Sommerfeld: oscillazione di plasma nel caso di piccole particelle metalliche sferiche . . . . .	35
3.3.2	Teoria di Mie . . . . .	38
3.3.3	Enhancement elettromagnetico . . . . .	39
3.4	Variabili che influenzano la risonanza plasmonica . . . . .	41
3.4.1	Effetto del solvente . . . . .	41
3.4.2	Dimensione delle nanoparticelle . . . . .	41
3.4.3	Tipo di metallo . . . . .	43
3.4.4	Forma delle nanoparticelle . . . . .	43
<b>4</b>	<b>Metal Enhanced Fluorescence (MEF)</b>	<b>45</b>
4.1	Resa quantica e tempo di vita . . . . .	45
4.2	Effetti di particelle metalliche sulle transizioni di un fluoroforo . . . . .	48
4.3	Quenching . . . . .	48
4.4	Resonance energy transfer . . . . .	49
4.5	Conclusione . . . . .	50
4.6	Applicazioni . . . . .	51

<b>5</b>	<b>Applicazione alle celle solari</b>	<b>55</b>
5.1	Introduzione alle celle fotovoltaiche . . . . .	55
5.2	Fenomeni dell'Up- e Down-Conversion . . . . .	60
5.3	Celle solari e nanoparticelle metalliche . . . . .	63
5.4	Uso del MEF negli LSC . . . . .	64
<b>6</b>	<b>Descrizione generale degli esperimenti</b>	<b>67</b>
6.1	Determinazione delle condizioni sperimentali . . . . .	67
6.2	Utilizzo di uno strato silice-filico come spaziatore tra matrice di fluorofori e nanoparticella . . . . .	76
6.3	Sintesi di un fluoroforo funzionalizzato . . . . .	77
6.4	Strutture solide multistrato . . . . .	79
<b>7</b>	<b>Strutture multistrato: analisi dei dati</b>	<b>85</b>
7.1	Descrizione dell'esperimento . . . . .	85
7.2	Analisi dei dati . . . . .	86
7.3	Considerazioni finali . . . . .	99
<b>8</b>	<b>Procedure di sintesi</b>	<b>101</b>
8.1	Sintesi di nanoparticelle d'oro circondate da una shell di silice . .	101
8.2	Sintesi di un fluoroforo funzionalizzato . . . . .	102
8.3	Strutture multistrato . . . . .	104
<b>9</b>	<b>Conclusione</b>	<b>107</b>
<b>A</b>	<b>Spettroscopia Raman</b>	<b>111</b>
A.1	Raman scattering . . . . .	111
A.2	Descrizione classica dell'effetto Raman . . . . .	111
<b>B</b>	<b>Materiali utilizzati</b>	<b>119</b>
B.1	Fluorofori . . . . .	119
B.2	Polimeri . . . . .	128
<b>C</b>	<b>Strumentazione utilizzata</b>	<b>131</b>
C.1	Spettrofotometro UV-Vis Jasco V-570 . . . . .	131
C.2	Spettrofluorimetro Jasco FP 6600 . . . . .	133
C.3	Raman dispersivo LabRAM HR800 . . . . .	134
C.4	Spin coating Laurell WS-400-6NPP-LITE . . . . .	138
	<b>Bibliografia</b>	<b>139</b>

# Elenco delle figure

2.1	Diagramma di Jabłoński. Con la lettera S sono indicati gli stati di singoletto mentre con T quello di tripletto. Inoltre con il pedice numerico si indicano i vari livelli energetici da quello fondamentale $S_0$ a quelli con energie superiori $S_1$ e $S_2$ . Ognuno di essi, sia per il singoletto che per il tripletto, è composto da un certo numero di sottolivelli vibrazionali enumerati in ordine crescente. Le transizioni sono disegnate con linee verticali perchè si considera il processo di assorbimento di luce istantaneo dato che la transizione avviene nell'ordine dei $10^{-15}$ s che è un tempo troppo breve per avere un significativo spostamento del nucleo (principio di Franck-Condon) [Lakowicz, 1999]. . . . .	19
2.2	Spettri di assorbimento UV-Vis ed emissione della rodamina 6G.	20
2.3	A sinistra è rappresentato il principio di Franck-Condon mentre a destra la mirror symmetry degli spettri di assorbimento e di emissione [Lakowicz, 1999]. . . . .	21
2.4	Diagramma di Jabłoński semplificato [Lakowicz, 1999]. . . . .	22
2.5	Diagramma di Jabłoński che mostra il quenching collisionale e il trasferimento di energia di fluorescenza per risonanza (FRET) [Lakowicz, 1999]. . . . .	24
2.6	Sovrapposizione tra gli spettri di assorbimento UV-Vis ed emissione della molecole donore ed accettore nel caso di RET [Lakowicz, 1999]. . . . .	25
3.1	Vetrata della Cattedrale del Duomo di Milano raffigurante la nascita di Sant'Eligio, patrono degli orafi, realizzata da Niccolò da Varallo (1480-1486). Il colore rosso è dovuto all'oro colloidale disperso nel vetro. . . . .	27
3.2	Nanoparticella metallica in soluzione: in evidenza l'interazione elettrostatica fra il metallo $M^+$ e l'agente riducente utilizzato durante la sintesi $X^-$ . . . . .	29
3.3	Andamento del potenziale in funzione della distanza dalla nanoparticella metallica (si noti il cambiamento di pendenza a cavallo del piano di Stern. . . . .	30
3.4	$V(1)$ e $V(2)$ , derivando da due differenti potenziali repulsivi sommati al potenziale attrattivo comune $V_A$ , danno luogo a due andamenti diversi dei potenziali netti. Nel caso del potenziale $V(2)$ il colloide non è stabile poichè non si crea la barriera di potenziale.	31

3.5	Andamento del potenziale d'interazione fra due particelle in soluzione: la distanza di equilibrio è il valore di $r$ tale per cui la $dE/dr = 0$ . Per $dE/dr < 0$ si ha repulsione mentre per $dE/dr > 0$ si ha attrazione. . . . .	32
3.6	Curve di potenziale calcolate per vari valori del potenziale $\psi_d$ per un sistema a 298 K fra due particelle dal diametro di $10^{-7}$ m. Sulla destra è riportata una scala delle energie termiche da confrontare con il valore del massimo per valutare la stabilità del sistema. . . . .	32
3.7	Curve di potenziale per vari valori del parametro $\kappa$ calcolate a 289K per due particelle con diametro di $10^{-7}$ m. All'aumentare dello spessore dello strato diffuso, cioè al diminuire di $\kappa$ , aumenta la stabilità del sistema. . . . .	33
3.8	Schema generale di sintesi chimica di nanoparticelle metalliche. Si parte da ioni metallici in soluzione e tramite un agente riducente si formano inizialmente degli aggregati di atomi del metallo che poi si accrescono man mano che altri ioni metallici vengono ridotti sulla superficie del cluster. . . . .	33
3.9	Andamento dell'energia libera all'aumentare del raggio della particella corrispondente ad un certo numero di atomi. Per raggi maggiori del raggio critico $r_c$ l'accrescimento della particella è favorito perchè comporta una diminuzione dell'energia libera. . . . .	34
3.10	Spostamento della nube elettronica rispetto alla posizione del nucleo dopo l'interazione con un campo elettromagnetico incidente $E$ . . . . .	35
3.11	Modello quasi-statico per una particella immersa in un campo elettrico. . . . .	40
3.12	Il campo elettrico all'esterno di una nanosfera metallica è dato dalla somma del campo incidente $E_0$ e del campo del dipolo oscillante $E_{sp}$ sviluppato dalle oscillazioni plasmoniche. . . . .	40
3.13	Andamento teorico del picco di risonanza plasmonica al variare dell'indice di rifrazione del mezzo in cui sono immerse le nanoparticelle. Si può considerare per il mezzo $\epsilon_m = n^2$ con $n$ indice di rifrazione del mezzo (non assorbente) [Brust,1994 [18]; Frohlich,1958]. Le due rette sono ricavate entrambe utilizzando l'equazione 3.33 ma solo in una si è tenuto conto anche delle transizioni interbanda come nella equazione 3.34. Con questo modello non si prendono però in considerazione gli effetti di smorzamento dovuti alle dimensioni delle particelle quindi si può pensare che esso sia adatto a prevedere il comportamento di nanoparticelle con diametro intorno ai 40 nm. I dati sperimentali sono in buon accordo con la teoria. . . . .	42
3.14	Valori del diametro medio delle nanoparticelle in funzione del massimo di assorbimento. . . . .	42
3.15	Al variare delle dimensioni delle nanoparticelle varia la posizione del picco di scattering [Wilson]. . . . .	43
3.16	Picchi di risonanza plasmonica per varie geometrie di nanoparticelle di argento in soluzione acquosa. . . . .	44
4.1	Diagrammi di Jabłoński semplificati in presenza e in assenza di metallo [Lakowicz,1999]. . . . .	46

4.2	Effetto dell'incremento del rate di decadimento radiativo indotto dal metallo sul tempo di vita e la resa quantica dei fluorofori per vari valori della resa quantica naturale [Lakowicz,2001]. . . . .	47
4.3	Effetti dovuti alle particelle metalliche sulle transizioni di un fluoroforo. Le particelle metalliche possono causare il fenomeno di quenching ( $k_{nr}$ ), concentrare il campo incidente ( $E_m$ ) e aumentare il rate di decadimento radiativo ( $\Gamma_m$ ) [Lakowicz,2001]. . . . .	48
4.4	Confronto degli effetti sulla resa quantica e sul tempo di vita in presenza di quenchers o di colloidali metallici [Lakowicz,2001]. . . . .	49
4.5	Enhancement nel rate di trasferimento di energia RET in presenza di particelle d'argento [Lakowicz,2001]. . . . .	50
4.6	Effetto dell'orientazione del fluoroforo sul suo rate di decadimento vicino ad una superficie metallica.[Lakowicz,2001] . . . . .	51
5.1	Generazione dell'eccitone. . . . .	56
5.2	Separazione dell'eccitone. . . . .	57
5.3	Confronto tra le lunghezze d'onda assorbite dalle celle solari di silicio e di plastica. . . . .	59
5.4	Dispositivi a interfaccia doppia (a) ed eterogiunzione dispersa (b). . . . .	59
5.5	Schematizzazione del processo di up-conversion per annichilazione di stato di tripletto. . . . .	61
5.6	Schema semplificato della singlet fission a sinistra. A destra, diagramma di Jablonski della singlet fission (SF), processo in rosso. Legenda: S e Q: livelli energetici relativi a molecole diverse della stessa specie o non; F: fluorescenza; IC: conversioni energetiche interne; ISC: intersystem crossing; PH: fosforescenza. . . . .	62
5.7	Struttura di una cella solare organica a sinistra e di una cella solare che utilizza nanoparticelle d'argento a destra. . . . .	63
5.8	Esempio di struttura di una Dye-Sensitized Solar Cell con nanoparticelle d'argento. . . . .	64
5.9	Schematizzazione del funzionamento di un LSC collegato ad una cella solare. La luce solare incide dall'alto e solo la parte riemessa che è soggetta alla riflessione totale (2) raggiunge la cella, mentre la restante (1) viene persa. . . . .	64
6.1	Andamento del fattore d'intensificazione della fluorescenza della fucsina in funzione dello spessore di un layer di silice con funzione di spaziatore tra un monostrato di molecole ed un film di isole d'argento di 40 Å[Lakowicz, 2001]. . . . .	68
6.2	Andamento del fattore d'intensificazione della fluorescenza dell'Alexa Fluor-555 etichettata con l'anticorpo anti-Rabbit IgG in funzione dello spessore di un layer di silice con funzione di spaziatore tra un film nanostrutturato d'oro di 10 nm e le molecole [Zhang, 2007]. . . . .	68
6.3	STEM nanoparticelle metalliche ottenute con il metodo di sintesi di Turkevich. . . . .	69
6.4	STEM nanoparticelle metalliche ottenute con il metodo di sintesi di Turkevich. . . . .	70
6.5	Spettro di assorbimento UV-Vis delle nanoparticelle d'oro . . . . .	70
6.6	Struttura della rodamina 6G. . . . .	71

6.7	Risultato dell'articolo 'Plasmon-enhancement fluorescence of dye molecules' di M.Iosin et al.[Iosin,2008]. . . . .	72
6.8	Risultato da me ottenuto rifacendo l'esperimento dell'articolo 'Plasmon-enhancement fluorescence of dye molecules' di M.Iosin et al.Spettri di assorbimento UV-Vis della sola rodamina 6G (rosso) e della rodamina 6G con le nanoparticelle d'oro (verde). . . . .	72
6.9	Spettri di assorbimento UV-Vis delle sole nanoparticelle d'oro (spettro blu), della sola rodamina 6G (spettro rosso) e delle nanoparticelle d'oro con la rodamina 6G (spettro verde). . . . .	73
6.10	Struttura della rodamina B. . . . .	74
6.11	Spettri di fluorescenza del rodamina B senza (blu) e con le nanoparticelle d'oro (rosso). . . . .	74
6.12	Struttura della rosa bengala. . . . .	75
6.13	Spettri di fluorescenza del rosa bengala senza (blu) e con le nanoparticelle d'oro (rosso). . . . .	75
6.14	Struttura dell'esperimento con la shell di silice. . . . .	76
6.15	Struttura della resorufina. . . . .	77
6.16	Sovrapposizione degli spettri di assorbimento delle nanoparticelle d'oro sintetizzate in toluene (blu) e della resorufina (rosso). . . . .	77
6.17	Schema di sintesi della resorufina $\omega$ -mercaptoalchil sostituita. . . . .	78
6.18	Struttura generale dei campioni. . . . .	79
6.19	Immagine TEM delle nanoparticelle d'oro ricoperte dal TOAB. Immagine presa dall'articolo 'Surface binding proprieties of tetraoctylammonium bromide-capped gold nanoparticles' di K.G.Thomas et al. [Thomas, 2002]. . . . .	80
6.20	Struttura delle nanoparticelle ottenute tramite la sintesi in acqua con il trisodio citrato (a sinistra) ed in toluene con il TOAB (a destra). . . . .	80
6.21	Immagine SEM delle nanoparticelle d'oro ricoperte di TOAB. Veduta generale. . . . .	81
6.22	Immagine SEM del film di nanoparticelle su vetro. La freccia blu indica la matrice organica che ingloba le nanoparticelle e che ricopre tutto il vetrino, invece quella blu mostra una nanoparticella completamente ricoperta dal blend. . . . .	81
6.23	Confronto tra gli spettri di assorbimento UV-Vis delle nanoparticelle d'oro sintetizzate in toluene in soluzione (blu) e filmate su un vetrino da microscopio tramite spin coating (rosso). . . . .	82
6.24	Foto del film di nanoparticelle sul vetrino. . . . .	82
6.25	AFM del substrato di nanoparticelle d'oro ottenuto per spin coating. . . . .	83
6.26	Struttura del Lumogen F Red 305 [Seybold, 1989]. . . . .	84
6.27	Spettri di assorbimento del substrato di nanoparticelle d'oro (verde) e del Lumogen F Red 305 (rosso). . . . .	84
7.1	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm. . . . .	88
7.2	Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm. . . . .	88



7.3	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm. . . . .	89
7.4	Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm. . . . .	89
7.5	Confronto spettri di emissione di fluorescenza del Lumogen F Red 305 su vetrino con eccitatrici a 550 nm (blu) e 514 nm (rosso). . .	90
7.6	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con il Raman. . . . .	91
7.7	Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con il Raman. . . . .	91
7.8	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm. . . . .	92
7.9	Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm. . . . .	93
7.10	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm. . . . .	93
7.11	Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm. . . . .	94
7.12	Confronto spettri di emissione di fluorescenza del Lumogen F Red 305 su vetrino con eccitatrici a 550 nm (blu) e 514 nm (rosso). . .	94
7.13	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con il Raman. . . . .	95
7.14	Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con il Raman. . . . .	95
7.15	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice 550 nm per i casi di spessore spesso (rosso) e sottile (verde). . . . .	96
7.16	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice 514 nm per i casi di spessore spesso (rosso) e sottile (verde). . . . .	97
7.17	Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con il Raman ed eccitatrice 514 nm per i casi di spessore spesso (rosso) e sottile (verde). . . . .	97
8.1	$\omega$ -bromododecil resorufina. Le lettere sono il riferimento per i picchi dello spettro NMR. . . . .	104
8.2	Struttura schematica degli esperimenti su substrati solidi. . . . .	104
A.1	Rappresentazione di una generica molecola biatomica, con masse $m_1$ e $m_2$ , tenute assieme da un legame chimico schematizzato da una molla di costante elastica $K$ . . . . .	112

A.2	Andamento del potenziale per una molecola biatomica in funzione della distanza $R$ tra gli atomi. L'energia di dissociazione è quel valore di energia tale per cui i due atomi sono posti ad una distanza infinita. . . . .	112
A.3	Potenziale armonico descritto in funzione dello scostamento $r$ dall'equilibrio, definito come $R-R_0$ . . . . .	113
A.4	Oscillatore armonico quantizzato. I valori di $v$ sulla scala delle ordinate indicano livelli vibrazionali crescenti. . . . .	115
A.5	Livelli energetici elettronici reali ( $g$ ed $e$ ), virtuali ( $m'$ e $m$ ) e livelli vibrazionali ( $\nu = 1$ e $\nu = 2$ ) per una molecola che riceve una radiazione incidente con frequenza $\nu$ . . . . .	115
A.6	Il fattore di intensificazione della radiazione SERS alla frequenza Stokes $I_{\text{SERS}}(\nu_s)$ , proporzionale al segnale misurato, è dovuto al prodotto dei fattori di intensificazione del campo, uno alla frequenza del laser $\nu_L$ e l'altro alla frequenza Stokes $\nu_s$ della molecola. . . . .	117
A.7	Schematizzazione del complesso a trasferimento di carica responsabile dell'enhancement chimico. . . . .	117
B.1	Struttura del Lumogen F Red 305 [Seybold, 1989]. . . . .	119
B.2	Spettro di assorbimento UV-Vis del Lumogen F Red 305 in matrice di PS in un film sottile su vetro. . . . .	120
B.3	Spettro di fluorescenza del Lumogen F Red 305 in matrice di PS in un film sottile su vetro. . . . .	120
B.4	Struttura della resorufina. . . . .	121
B.5	Spettro di assorbimento UV-Vis della resorufina. . . . .	121
B.6	Spettro di fluorescenza della resorufina. . . . .	122
B.7	Struttura della rodamina 6G. . . . .	122
B.8	Spettro di assorbimento UV-Vis della rodamina 6G. . . . .	123
B.9	Spettro di fluorescenza della rodamina 6G. . . . .	123
B.10	Struttura della rodamina B. . . . .	124
B.11	Spettro di assorbimento UV-Vis della rodamina B. . . . .	124
B.12	Spettri di fluorescenza della rodamina B. . . . .	125
B.13	Struttura della rosa bengala. . . . .	125
B.14	Spettro di assorbimento UV-Vis del rosa bengala. . . . .	126
B.15	Spettri di fluorescenza del rosa bengala. . . . .	126
B.16	Polistirene. . . . .	128
B.17	Poli-vinil-alcol. . . . .	129
C.1	Spettrometro UV-VIS della JASCO V-570: tale spettrometro fornito di lampada alogena come sorgente permette di coprire anche il range del NIR. . . . .	131
C.2	Schema di funzionamento dello spettrometro JASCO V-570. . . . .	132
C.3	L'intensità della radiazione incidente $I_0$ e trasmessa $I$ è funzione della concentrazione $c$ , dello spessore attraversato $l$ e del coefficiente di estinzione molare $\epsilon$ della specie. Da notare la dipendenza dei parametri dalla lunghezza d'onda $\lambda$ . . . . .	133
C.4	Spettrofluorimetro Jasco FP 6600. . . . .	133

C.5	Schema ottico dello spettrofluorimetro Jasco FP 6600. Legenda: L: lampada allo Xenon; G1 e G2: reticolo di diffrazione; S1 e S2: fenditure di selezione del monocromatore; M: specchio (1: elissoidale, 0,2,8: sferico, 3,6,7: piano); DG: piano diffusivo; PM1 e PM2: tubi fotomoltiplicatori; BS: beam splitter. . . . .	134
C.6	Raman dispersivo LabRAM HR800 in modalità micro con micro- scopio Olympus BX41 e stage per misure di mapping. . . . .	135
C.7	Elementi principali dello spettrometro dispersivo LabRAM HR800. Le quote sono riportate in mm. . . . .	135
C.8	Monocromatore Czerny-Turner asimmetrico. . . . .	137
C.9	Illustrazione del processo di spin coating. . . . .	138
C.10	Spin coating della Laurell WS-400-6NP-LITE. . . . .	139



# Elenco delle tabelle

8.1	Concentrazione, velocità e spessore relativi ad ogni singolo strato.	105
8.2	Concentrazione di polistirene, concentrazione di Lumogen e spessore ottenuto relativi ad ogni singola serie. . . . .	105
B.1	Caratteristiche del Lumogen F Red 305. . . . .	120
B.2	Caratteristiche della resorufina. . . . .	121
B.3	Caratteristiche della rodamina 6G. . . . .	123
B.4	Caratteristiche della rodamina B. . . . .	124
B.5	Caratteristiche rosa bengala. . . . .	127
B.6	Caratteristiche PS. . . . .	128
B.7	Caratteristiche PVA. . . . .	129
C.1	Laser disponibili sullo spettrometro Raman dispersivo LabRAM HR800 . . . . .	136
C.2	Per valori crescenti della densità ottica dei filtri D, a pari valore della potenza iniziale del laser $P_0$ , diminuisce la potenza effettiva P incidente sul campione. . . . .	138



# Capitolo 1

## Introduzione

In questa tesi si è affrontato lo studio del fenomeno dell'intensificazione dell'emissione di fluorescenza da parte di molecole organiche poste in vicinanza di nanostrutture metalliche, noto come Metal Enhanced Fluorescence (MEF). Le nanostrutture metalliche, se illuminate da una sorgente luminosa, generano nello spazio circostante un campo elettrico, che sommandosi a quello dell'eccitatrice, dà luogo ad un campo totale locale amplificato. Inoltre esse influenzano, tramite un accoppiamento di tipo dipolare con le molecole, la velocità di decadimento radiativo dei fluorofori. L'insieme di questi due effetti, per distanze relative tra metallo e molecola dell'ordine dei 5-20 nm, dà luogo all'aumento della resa quantica (numero di fotoni emessi rispetto al numero di fotoni assorbiti).

Fino ad ora il MEF è stato utilizzato essenzialmente in campo biomedico nella realizzazione di biosensori per l'angiografia retinale e l'imaging vascolare, negli immunosondaggi e nelle tecniche di rilevazione del DNA o di medicinali nell'organismo. Un ulteriore ambito applicativo risulta essere quello delle celle solari. L'uso di nanostrutture metalliche all'interno delle celle fotovoltaiche non è una novità, infatti vi sono già alcuni esempi che mostrano come tale inserimento porti ad un complessivo miglioramento delle prestazioni. Accanto all'inserimento di nanoparticelle nelle celle solari stesse, di interesse potrebbe essere il loro utilizzo nei Luminescent Solar Concentrators (LSCs). Essi sono dispositivi utilizzati in combinazione con la cella fotovoltaica e consistono in matrici piane di polimero contenenti molecole luminescenti che assorbono la luce solare e riemettono poi fotoni di lunghezza d'onda diversa che vengono reindirizzati verso le celle ad essi annesse. Se all'interno dei concentratori solari luminescenti sono contenute molecole in grado di trasformare parte della radiazione solare, che altrimenti verrebbe persa perchè non assorbibile dal materiale della cella, in fotoni da quest'ultima utilizzabili, si aumenta l'efficienza. L'aggiunta delle nanoparticelle metalliche, poste ad una opportuna distanza dalle molecole, indurrebbe queste ultime ad emettere più fotoni e migliorerebbe anche la direzionalità della radiazione riemessa, con un complessivo aumento della quantità di fotoni assorbibili dalla cella.

Questo lavoro di tesi è stato rivolto allo studio del fenomeno fisico del MEF ed all'implementazione di tecniche per realizzare, in modo controllato e riproducibile, sistemi nanoparticella/fluoroforo (molecola fluorescente) per la generazione di tale fenomeno.

Sono state inizialmente determinate le condizioni sperimentali sotto le quali si ottiene un incremento nell'emissione di fluorescenza ed è stata verificata la necessità di posizionare le molecole organiche ad un'opportuna distanza dalle nanoparticelle metalliche. Però il soddisfacimento di tale requisito non è risultato banale e per questo sono stati sperimentati diversi metodi. Il primo è stato quello di utilizzare come spaziatore uno strato silice-filico circondante le nanoparticelle in soluzione e di inglobare i fluorofori in una shell di silice; il secondo, la sintesi chimica di un nuovo materiale composto da strutture costituite da nanoparticelle d'oro e fluorofori legati covalentemente mediante una catena alchilica con ruolo di spaziatore; ed infine il terzo, la deposizione su un substrato di nanoparticelle d'oro per spin coating (tecnica largamente utilizzata per la produzione di dispositivi opto-elettronici basati su materiali organici) di due film di diversi polimeri, di cui uno con funzione di spaziatore e l'altro di matrice contenente i fluorofori. Quest'ultimo metodo ha portato i migliori risultati, non soltanto perchè ha permesso d'implementare un sistema facilmente riproducibile per l'osservazione dell'aumento della fluorescenza, ma anche di definire l'andamento di tale intensificazione al variare della distanza metallo-molecole e del numero di molecole nella matrice.

La tesi è strutturata nel seguente modo. Nei capitoli 2,3,4 si affrontano gli aspetti di tipo teorico e riguardano rispettivamente il fenomeno della fluorescenza, le nanoparticelle metalliche e il fenomeno del MEF; il capitolo 5 riguarda le celle solari organiche, le loro implementazioni ed il possibile utilizzo del MEF al loro interno; nei capitoli 6-7 si descrivono gli esperimenti svolti e si mostrano e commentano i risultati ottenuti; ed infine nel capitolo 8 sono spiegate in dettaglio le procedure relative alle sintesi ed alla preparazione dei campioni. Nelle conclusioni (capitolo 9) viene riassunto il lavoro svolto, sottolineando i risultati raggiunti, e vengono indicate le possibili prospettive future. Vi sono poi tre appendici, una riguardante la spettroscopia Raman, una le caratteristiche principali dei materiali utilizzati nelle procedure sperimentali e l'ultima la descrizione della strumentazione usata per le misure e la preparazione dei campioni.



## Capitolo 2

# Fluorescenza

### 2.1 Fenomeno di fluorescenza

Luminescenza è il termine generale con cui si indica l'emissione di luce da una qualsiasi sostanza elettronicamente eccitata [Lakowicz, 1999]. In base alla natura degli stati eccitati che entrano in gioco se ne distinguono due tipologie: la fluorescenza e la fosforescenza.

Il nome fluorescenza deriva dal minerale di calcio e fluoro detto fluorite dal quale questo fenomeno è stato scoperto. Gli stati eccitati in questo caso sono di singoletto e l'elettrone nell'orbitale eccitato ha spin opposto rispetto a quello nell'orbitale di ground-state. Per questo la diseccitazione è permessa secondo le regole di selezione dello spin ed avviene rapidamente con la generazione di un fotone. Il rate di emissione è tipicamente dell'ordine dei  $10^{-8} \text{ s}^{-1}$  mentre il tempo di vita dei 10 ns (si definisce tempo di vita di un fluoroforo il tempo medio che intercorre tra il processo di eccitazione e il ritorno del sistema all'equilibrio).

La fosforescenza, invece, è l'emissione di luce che avviene da livelli eccitati di tripletto ed in cui l'elettrone nello stato eccitato ha lo stesso spin di quello nel ground-state. Poiché le transizioni verso lo stato di equilibrio in questo caso sono proibite, il rate di emissione è più basso ed è dell'ordine dei  $10^{-3} - 10^0 \text{ s}^{-1}$  e per questo il tempo di vita tipico varia dai millisecondi ai secondi.

### 2.2 Processo di fluorescenza

I due fenomeni fisici che costituiscono il processo della fluorescenza sono l'assorbimento e l'emissione spontanea (SE). Essi sono indipendenti l'uno dall'altro.

#### 2.2.1 Assorbimento

Il rate di assorbimento [Le Ru, 2009, Prasad, 2004], cioè la probabilità che un fotone incidente con energia  $\hbar\omega_L$  venga assorbito da una molecola, è espresso dalla seguente relazione:

$$\Gamma_{\text{Abs}} = \frac{P_{\text{Abs}}}{\hbar\omega_L} \quad (2.1)$$

dove  $P_{\text{Abs}}$  è la potenza assorbita misurata in  $W$  che può essere scritta come :

$$P_{\text{Abs}} = \sigma_{\text{Abs}} S_{\text{Inc}} \quad (2.2)$$

dove  $\sigma_{\text{Abs}}$  è la sezione d'urto di assorbimento in  $m^2$  e  $S_{\text{Inc}}$  è la densità di potenza d'eccitazione della radiazione incidente in  $Wm^2$ . Sostituendo si ha che

$$\Gamma_{\text{Abs}} = \frac{\sigma_{\text{Abs}} S_{\text{Inc}}}{\hbar\omega_L} \quad (2.3)$$

Valori tipici di  $\Gamma_{\text{Abs}}$  sono dell'ordine dei  $10^{-9} s^{-1}$  se si considera una  $\lambda = 514nm$ ,  $\sigma_{\text{Abs}} = 4 \cdot 10^{-16} cm^2$  e  $S_{\text{Inc}} = 10^{-10} Wm^2$ .

La radiazione incidente viene assorbita solo in parte e la probabilità di transizioni elettroniche nel sistema è data da  $\Gamma_{\text{Abs}}$ . Infatti, quando si illuminano delle molecole, i fotoni del fascio incidente possono essere assorbiti e/o scatterati elasticamente o anelasticamente. In entrambi i casi essi inizialmente 'spariscono' venendo poi trasformati in calore e/o in altri fotoni che generalmente hanno un'energia ed una direzione differente.

Si possono definire i concetti di potenza incidente  $P_{\text{Inc}}$  e potenza trasmessa  $P_{\text{Tra}}$ . La  $P_{\text{Tra}}$  è sempre inferiore alla  $P_{\text{Inc}}$  e la loro differenza è detta potenza di estinzione  $P_{\text{Ext}}$ . Se, come in molti casi accade, contribuiscono all'estinzione solo l'assorbimento ottico e lo scattering, per la legge di conservazione dell'energia si può scrivere che

$$P_{\text{Ext}} = P_{\text{Abs}} + P_{\text{Sca}} \quad (2.4)$$

dove  $P_{\text{Abs}}$  è la potenza assorbita e  $P_{\text{Sca}}$  è quella legata allo scattering. Si può anche definire la sezione d'urto di estinzione  $\sigma_{\text{Ext}}$  in relazione a quelle di assorbimento  $\sigma_{\text{Abs}}$  e di scattering  $\sigma_{\text{Sca}}$  nel seguente modo:

$$\sigma_{\text{Ext}} = \sigma_{\text{Abs}} + \sigma_{\text{Sca}} \quad (2.5)$$

Generalmente per le molecole il fenomeno di scattering è trascurabile rispetto all'assorbimento per cui si può approssimare  $\sigma_{\text{Ext}} \approx \sigma_{\text{Abs}}$ . Invece, per oggetti con dimensioni superiori, come ad esempio le nanoparticelle, lo scattering non può essere trascurabile.

## 2.2.2 Diagramma di Jabłoński

I processi che avvengono tra l'assorbimento e l'emissione di luce, con il conseguente ritorno all'equilibrio, sono illustrati dal diagramma di Jabłoński raffigurato in figura 2.1.

A temperatura ambiente l'energia termica ( $k_B T$ ) non è abbastanza elevata nè per indurre transizioni verso livelli energetici superiori nè per popolare in modo significativo gli stati vibrazionali eccitati del livello di ground. Normalmente l'assorbimento di luce avviene nelle molecole che si trovano nella configurazione di minima energia vibrazionale e vengono eccitate su un alto sottolivello vibrazionale di un livello energetico superiore a quello di ground. Dopo ciò avvengono diversi processi di diseccitazione: infatti gli elettroni eccitati rilassano rapidamente sul più basso sottolivello vibrazionale di  $S_1$  tramite conversioni intrabanda (che avvengono in circa  $10^{-12} s$  o meno) prima di tornare allo stato di equilibrio tramite il processo di emissione (si ricordi che l'emissione avviene in

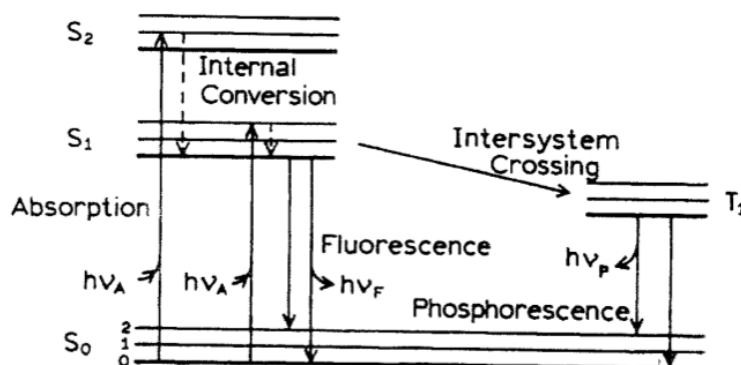


Figura 2.1: Diagramma di Jabłoński. Con la lettera S sono indicati gli stati di singoletto mentre con T quello di tripletto. Inoltre con il pedice numerico si indicano i vari livelli energetici da quello fondamentale S<sub>0</sub> a quelli con energie superiori S<sub>1</sub> e S<sub>2</sub>. Ognuno di essi, sia per il singoletto che per il tripletto, è composto da un certo numero di sottolivelli vibrazionali enumerati in ordine crescente. Le transizioni sono disegnate con linee verticali perché si considera il processo di assorbimento di luce istantaneo dato che la transizione avviene nell'ordine dei 10<sup>-15</sup> s che è un tempo troppo breve per avere un significativo spostamento del nucleo (principio di Franck-Condon) [Lakowicz, 1999].

circa 10<sup>-8</sup> s). La fluorescenza è il risultato della transizione dal più basso livello vibrazionale di S<sub>1</sub> verso quello più basso di S<sub>0</sub>.

In realtà dal livello S<sub>1</sub> gli elettroni possono essere anche soggetti al fenomeno di intersystem crossing cioè ad una conversione interna di spin, che li porta sul primo stato di tripletto T<sub>1</sub> per poi tornare al ground state. Questo processo dà luogo all'emissione di fosforescenza che generalmente è spostata a maggiori lunghezze d'onda (energie inferiori) rispetto a quelle dell'assorbimento.

I due processi descritti sono quelli principali ma ve ne sono anche altri che non vengono trattati.

### 2.2.3 Emissione spontanea

La definizione della probabilità del fenomeno dell'emissione spontanea (SE) [Le Ru, 2009] risulta essere più complicata rispetto al caso dell'assorbimento poiché esso risulta dalla competizione tra i diversi canali di rilassamento.

Sia  $\Gamma_{\text{Rad}}$  il rate (probabilità per unità di volume in s<sup>-1</sup>) di decadimento radiativo (comprende tutti quei processi descritti in precedenza, mostrati tramite il diagramma di Jabłoński, durante i quali si generano fotoni) e sia  $\Gamma_{\text{NR}}$  il rate di decadimento non radiativo (processo in cui l'energia viene rilasciata sotto forme diverse dalla radiazione). Si definisce quindi rate di decadimento la probabilità di rilassamento  $\Gamma_{\text{Tot}}$  data da:

$$\Gamma_{\text{Tot}} = \Gamma_{\text{Rad}} + \Gamma_{\text{NR}} \quad (2.6)$$

Si noti che la grandezza  $\Gamma_{\text{Tot}}^{-1}$  rappresenta il tempo di vita del livello eccitato cioè il tempo medio che un elettrone passa sullo stato eccitato prima di rilassare verso il livello energetico fondamentale. Inoltre se sono presenti fenomeni di decadimento non radiativo  $\Gamma_{\text{Rad}}^{-1}$  non può essere direttamente misurato.

## 2.3 Caratteristiche dell'emissione di fluorescenza

Il fenomeno della fluorescenza presenta delle caratteristiche generali che vengono discusse qui di seguito.

### 2.3.1 Stokes shift

Si definisce Stokes shift il fenomeno per il quale il picco di emissione di fluorescenza è spostato verso lunghezze d'onda più elevate rispetto a quello di assorbimento ed fu osservato per la prima volta da G.G.Stokes nel 1852. Esso si verifica perchè la transizione di SE avviene tra livelli energetici più vicini rispetto a quelli del processo di assorbimento. Infatti, una volta eccitati, gli elettroni rilassano rapidamente verso il più basso sottolivello vibrazionale di  $S_1$  (per maggior chiarezza si veda la figura 2.1) e poi da quest'ultimo sugli alti livelli vibrazionali di  $S_0$  con successive perdite di energia per termalizzazione per raggiungere poi il sottolivello più basso. Non bisogna però dimenticare altri possibili effetti dovuti al solvente, all'energy transfer ed ad altro ancora. L'evidenza sperimentale di questo fenomeno è osservabile in figura 2.2 dove sono sovrapposti lo spettro di assorbimento e quello di emissione di fluorescenza del rosa bengala in funzione della lunghezza d'onda.

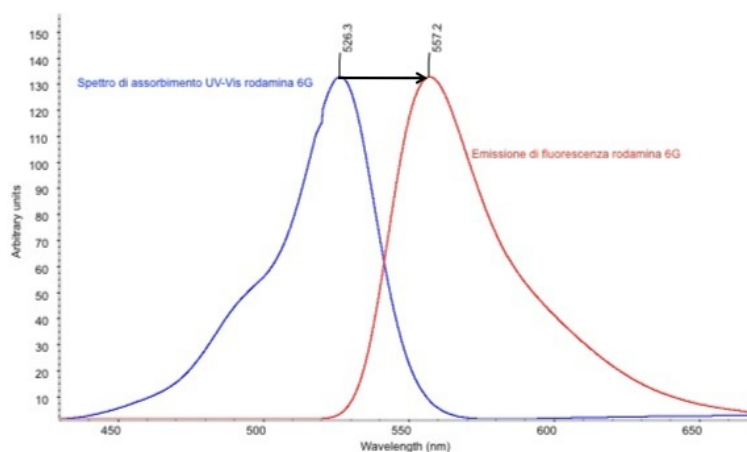


Figura 2.2: Spettri di assorbimento UV-Vis ed emissione della rodamina 6G.

Si nota chiaramente che il picco di assorbimento non coincide con quello di emissione, anzi, quest'ultimo è spostato verso una lunghezza d'onda maggiore.

### 2.3.2 Spettri di emissione

Un'altra caratteristica tipica degli spettri di fluorescenza è la loro indipendenza dalla lunghezza d'onda ( $\lambda$ ) di eccitazione. Ciò implica che, qualsiasi sia la  $\lambda$  del fascio incidente, l'andamento dell'intensità di emissione in funzione della lunghezza d'onda rimanga invariato. Questa regola è nota come regola di Kasha nonostante fu Vavilov nel 1926 a riportare per primo che l'efficienza quantica è generalmente indipendente dalla lunghezza d'onda d'eccitazione. La ragione di ciò si può ritrovare nel fatto che la radiazione incidente promuove elettroni sui livelli vibrazionali di  $S_1$  superiori al primo ma poi questo eccesso di energia viene rapidamente dissipato con il rilassamento di questi sul più basso livello vibrazionale di  $S_1$  (si faccia riferimento a figura 2.1). Queste transizioni sono probabilmente il risultato di un'ampia sovrapposizione tra i numerosi stati con energie simili. Quindi, grazie a questo rapido movimento degli elettroni, la configurazione elettronica che precede il fenomeno di emissione di fluorescenza risulta la medesima qualsiasi sia l'energia iniziale degli elettroni. Esistono però alcune eccezioni come nel caso di fluorofori con due stati di ionizzazione i cui spettri di assorbimento ed emissione sono diversi o se questi emettono dal livello  $S_2$  anzichè da  $S_1$ .

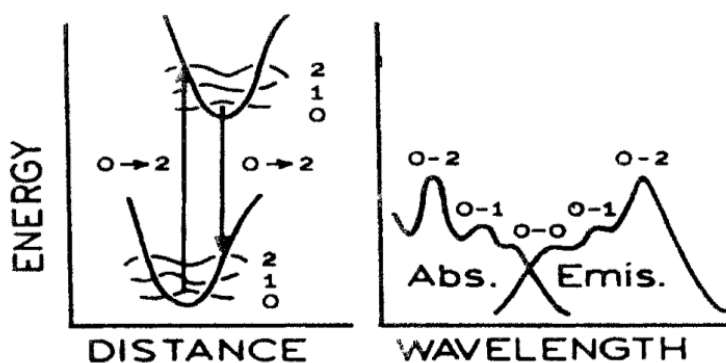


Figura 2.3: A sinistra è rappresentato il principio di Franck-Condon mentre a destra la mirror symmetry degli spettri di assorbimento e di emissione [Lakowicz, 1999].

Solitamente gli spettri di assorbimento e di emissione sono simmetrici (mirror symmetry) sia perchè vengono coinvolte le stesse transizioni elettroniche sia per le somiglianze tra i livelli energetici vibrazionali di  $S_0$  e  $S_1$ . Ciò è in accordo con il principio di Franck-Condon che afferma che tutte le transizioni elettroniche sono verticali poichè esse avvengono, data la rapidità del processo, senza un sostanziale spostamento dei nuclei dalla loro posizione. Da ciò risulta che, se la probabilità di una particolare transizione tra due livelli vibrazionali è elevata in assorbimento, la stessa transizione ha alta probabilità in emissione. Anche qui esistono delle eccezioni ad esempio quando le molecole presentano una disposizione geometrica differente tra la configurazione eccitata e quella fondamentale.

## 2.4 Tempo di vita e resa quantica di fluorescenza

I più importanti parametri relativi ad un fluoroforo sono resa quantica e tempo di vita [Lakowicz, 1999, 2001].

In figura 2.4 è rappresentato un diagramma di Jabłoński semplificato che mostra i processi di emissione radiativa, il cui rate viene indicato con  $\Gamma_{\text{Rad}}$ , e non radiativa verso  $S_0$  indicata con  $k_{\text{nr}}$  (in questo termine sono considerati tutti i differenti processi di decadimento non radiativo).

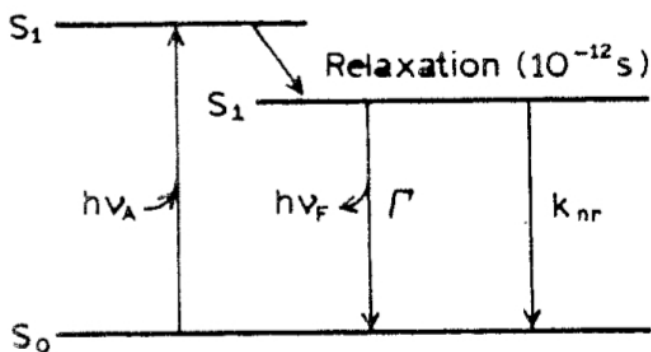


Figura 2.4: Diagramma di Jabłoński semplificato [Lakowicz, 1999].

La resa quantica di fluorescenza  $Q$  è definita come il rapporto tra il numero di fotoni emessi rispetto al numero di fotoni assorbiti. Assorbimento ed emissione possono essere definiti tramite  $\Gamma_{\text{Rad}}$  e  $k_{\text{nr}}$  da cui si ottiene che  $Q$  è data da:

$$Q = \frac{\Gamma_{\text{Rad}}}{\Gamma_{\text{Rad}} + k_{\text{nr}}} = \frac{\Gamma_{\text{Rad}}}{\Gamma_{\text{Tot}}} \quad (2.7)$$

dove  $\Gamma_{\text{Tot}} = \Gamma_{\text{Rad}} + k_{\text{nr}}$  e rappresenta il numero totale di fotoni assorbiti.

$Q$  può assumere valori compresi tra 0 e 1 ed esso si avvicina sempre più ad 1 quanto più  $k_{\text{nr}}$  è inferiore a  $\Gamma_{\text{Rad}}$ . Sostanze la cui resa è prossima ad uno presentano quindi una maggiore luminosità. Si può inoltre notare che  $Q$  sarà sempre inferiore all'unità a causa del fenomeno dello Stokes shift, sempre presente in qualsiasi sostanza (si veda il paragrafo 2.3.1).

Tramite  $Q$  [Le Ru, 1999, Prasad, 2004] si può ricavare la potenza irradiata  $P_{\text{Fluo}}$  che è l'energia per unità di tempo trasportata dai fotoni di fluorescenza e misurata in W. Essa è data da:

$$P_{\text{Fluo}} = Q \cdot P_{\text{Abs}} = Q \cdot \sigma_{\text{Abs}} \cdot S_{\text{Inc}} \quad (2.8)$$

dove  $P_{\text{Abs}}$  è la potenza assorbita,  $\sigma_{\text{Abs}}$  è la sezione d'urto di assorbimento e  $S_{\text{Inc}}$  è la densità di potenza di eccitazione della radiazione incidente (per la seconda uguaglianza si faccia riferimento alla relazione 2.2). Se si definisce poi  $\sigma_{\text{Fluo}}$  la sezione d'urto totale di fluorescenza (per totale si intende il conteggio di tutti i fotoni di fluorescenza con qualsiasi energia e direzione) come:

$$\sigma_{\text{Fluo}} = Q \cdot \sigma_{\text{Abs}} \quad (2.9)$$

allora la relazione 2.8 può anche essere scritta nel seguente modo:

$$P_{\text{Fluo}} = \sigma_{\text{Fluo}} \cdot S_{\text{Inc}} \quad (2.10)$$

L'altro parametro fondamentale è il tempo di vita  $\tau$  che è definito come il tempo medio che le molecole passando nello stato eccitato prima di ritornare alla loro configurazione di equilibrio, ma che può anche essere interpretato come il tempo che il fluoroforo ha a disposizione per interagire con l'ambiente circostante. Tipicamente è dell'ordine dei 10 ns ed è esprimibile come:

$$\tau = \frac{1}{\Gamma_{\text{Rad}} + k_{\text{nr}}} = \frac{1}{\Gamma_{\text{Tot}}} \quad (2.11)$$

Si sottolinea che tempo medio significa che solo alcune molecole al tempo  $t = \tau$  emetteranno i loro fotoni, altre lo faranno prima ed altre ancora dopo.

In assenza di processi non radiativi il tempo di vita del fluoroforo è chiamato tempo di vita intrinseco o naturale  $\tau_n$  ed è dato da:

$$\tau_n = \frac{1}{\Gamma_{\text{Rad}}} \quad (2.12)$$

$\tau_n$  può anche essere scritto tramite le definizioni di  $\tau$  (2.11) e di  $Q$  (2.7) secondo:

$$\tau_n = \frac{\tau}{Q} \quad (2.13)$$

Non si dimentichi che i valori di resa quantica e tempo di vita possono venire modificati dall'ambiente circostante come nel caso dell'aumento del rate di conversione interna o del fenomeno di quenching (trattato nel prossimo sottoparagrafo).

### 2.4.1 Quenching della fluorescenza

L'intensità di fluorescenza può essere ridotta da un gran numero di cause tramite diversi meccanismi. In generale questo fenomeno è chiamato quenching.

Si parla di quenching collisionale quando un fluoroforo eccitato viene deattivato dal contatto con un'altra molecola della soluzione, chiamata quencher. Tra i quenchers più comuni si possono enumerare molecole quali l'ossigeno, gli alogeni e le amine. Tale processo è raffigurato in figura 2.5 tra i percorsi di decadimento non radiativi. In esso le molecole non vengono chimicamente alterate e l'energia viene rilasciata sotto forma di calore. Analiticamente è descritto dall'equazione di Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K \cdot [Q] = 1 + k_q \cdot \tau_0 \cdot [Q] \quad (2.14)$$

dove  $I_0$  è l'intensità di fluorescenza in assenza di quenchers,  $I$  l'intensità in presenza di quenchers,  $K$  la costante di quenching di Stern-Volmer,  $[Q]$  la concentrazione dei quenchers,  $k_q$  la costante biomolecolare di quenching e  $\tau_0$  il tempo di vita senza quenchers. Si noti che  $I_0$  diminuisce linearmente all'aumentare del numero di quenchers.

Oltre a quello collisionale vi sono altri numerosi processi di quenching che portano alla riduzione dell'intensità di fluorescenza tra i quali la formazione di complessi non-fluorescenti tra fluorofori e quenchers (in questo caso si parla di





sovrappone a quello di assorbimento di un'altra molecola detta accettore, come si vede in figura 2.6. L'accettore non deve necessariamente essere fluorescente.

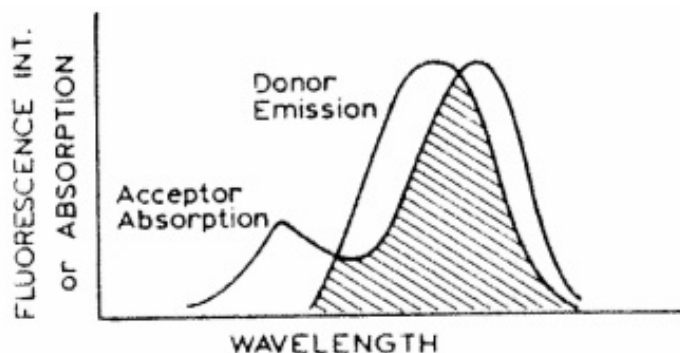


Figura 2.6: Sovrapposizione tra gli spettri di assorbimento UV-Vis ed emissione della molecole donore ed accettore nel caso di RET [Lakowicz, 1999].

In questo processo di trasferimento di energia non vengono generati dei fotoni e quindi esso non è il risultato di un'emissione dal donore con successivo riassorbimento da parte dell'accettore. Il riassorbimento dell'energia dipende invece dalla concentrazione complessiva degli accettori (più accettori maggiore probabilità di RET) e da altri fattori non molecolari come ad esempio la dimensione del campione. L'accoppiamento tra donore e accettore, poichè non vengono generati fotoni, è di tipo dipolare quindi, la probabilità di questo evento, dipende non solo dall'estensione della sovrapposizione tra i loro spettri ma anche dalla distanza tra le due parti. Il rate di trasferimento energetico  $k_T(r)$  è espresso da una legge del tipo:

$$k_T(r) = \frac{1}{\tau_D} \cdot \left(\frac{R_0}{r}\right)^6 \quad (2.15)$$

dove  $R_0$  è la distanza di Förster che descrive la sovrapposizione tra gli spettri (valori tipici sono dell'ordine di 30-60 Å),  $r$  è la distanza reale tra donore ed accettore e  $\tau_D$  è il tempo di vita del donore in assenza di energy transfer. L'efficienza  $E$  del trasferimento di energia di una singola coppia donore-accettore a una distanza fissata  $r$  è:

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (2.16)$$

Quindi la probabilità di trasferimento decresce assai velocemente con la distanza  $r$  (si noti che  $r$  è alla sesta potenza).



## Capitolo 3

# Nanoparticelle metalliche

### 3.1 Storia

Il primo utilizzo delle nanoparticelle d'oro risale all'epoca medioevale quando esse venivano inconsapevolmente utilizzate nelle vetrate delle antiche cattedrali per il loro intenso colore e la ridotta percentuale di luce diffusa.



Figura 3.1: Vetrata della Cattedrale del Duomo di Milano raffigurante la nascita di Sant'Eligio, patrono degli orafi, realizzata da Niccolò da Varallo (1480-1486). Il colore rosso è dovuto all'oro colloidale disperso nel vetro.

Nel corso dei secoli i metodi di preparazione per ottenere colloidali per vetrate di vari colori e sfumature sono andati sempre più affinandosi. Tuttavia tali metodi sono stati tramandati tra gli artigiani solo per via orale al fine di mantenerne la segretezza. Solo dal 1675 si hanno le prime notizie attendibili circa le ricette impiegate. Furono Andreas Cassius e Johan Knuckel che per primi descrissero come una mistura di diossido di stagno ed oro in soluzione fosse in grado di produrre un intenso colore porpora, detto “porpora di Cassio”, utilizzato per colorare vetri e indumenti. La preparazione prevedeva la riduzione di sali d'oro attraverso Sn(II) derivante dall'ossido in modo da ottenere piccolissime particelle d'oro in grado di dare questo colore caratteristico. Tuttavia la reale presa di coscienza del fatto che il color porpora dipendesse dall'oro e dalle sue

dimensioni si ebbe nel 1802 con Richter, e soltanto nel 1834 con Faraday ci fu il primo studio “scientifico” sulle colorazioni dei colloidi di oro. Egli dimostrò, preparando delle soluzioni che andavano dal rosso al blu, che il colore dei colloidi era dovuto alle dimensioni delle nanoparticelle e non ad un particolare stato di ossidazione del metallo.

La prima vera teoria sulle particelle metalliche e sul colore dei colloidi metallici fu quella di Mie (1908). Egli infatti fu in grado di giustificare quantitativamente i colori delle nanoparticelle risolvendo il problema dello scattering e dell'assorbimento della luce da parte di piccole sfere metalliche, mettendo in relazione la funzione dielettrica al picco dello spettro di assorbimento.

Oggi giorno l'introduzione delle microscopie TEM (Transmission Electron Microscopy), AFM (Atomic Force Microscopy) e STM (Scanning Tunneling Microscopy) ha permesso di raggiungere la risoluzione atomica dando un forte impulso alla ricerca sulle nanoparticelle metalliche. La possibilità di analizzare con grande precisione questi sistemi ha inoltre evidenziato i limiti delle interpretazioni teoriche del passato ed ha permesso lo sviluppo di modelli sempre più completi e sofisticati in grado di descrivere correttamente le proprietà osservate.

## 3.2 Sistemi colloidali

Si parla di sistema colloidale [Kalunde, 2001; Lucotti, 2005; Pesapane, 2005; Morganti, 2010; Shaw, 1992] quando una specie chimica è ben dispersa in una differente fase continua. Questa dispersione è caratterizzata da moti browniani e le particelle che la costituiscono non risentono del potenziale gravitazionale grazie alle loro piccole dimensioni inferiori al micron. Un'altra caratteristica è l'elevato valore del rapporto superficie/volume e per questo hanno un ruolo fondamentale le proprietà e i fenomeni di superficie. Un particolare caso di sistema colloidale è quello delle nanoparticelle metalliche in soluzione che rientra nella categoria di colloidi liofobi.

### 3.2.1 Teoria dei sistemi colloidali

#### **Il doppio strato elettrico: strato di Helmholtz e strato diffusivo**

Le particelle di un sistema colloidale in sospensione, ottenute per riduzione chimica, presentano un'interfaccia carica chiamata “doppio strato elettrico” (figura 3.2) fondamentale per la loro stabilità. Tale interfaccia si forma durante il processo di sintesi ed è dovuta all'interazione fra la superficie metallica della nanoparticella e l'agente riducente utilizzato.

La teoria di Helmholtz del 'doppio strato elettrico' afferma che lo spazio circostante una particella può essere suddiviso in due zone da un piano immaginario detto di Helmholtz. Quella più vicina alla superficie, chiamata strato di Helmholtz, è a sua volta divisa in due: per distanze inferiori all'Amstrong (piano interno dello strato di Helmholtz) lo spazio è occupato dagli ioni adsorbiti cioè legati elettrostaticamente ai cationi metallici, mentre per distanze comprese tra 1-5 Å (piano esterno) gli ioni si muovono liberamente risentendo solo in parte delle forze elettrostatiche. A distanze ancora superiori si ha la seconda zona denominata strato diffusivo in cui gli ioni della soluzione sono soggetti solo ai moti browniani causati dall'agitazione termica poichè troppo lontani per risenti-

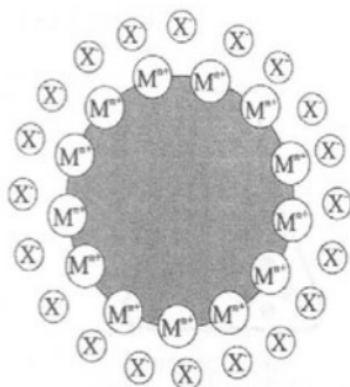


Figura 3.2: Nanoparticella metallica in soluzione: in evidenza l'interazione elettrostatica fra il metallo  $M^+$  e l'agente riducente utilizzato durante la sintesi  $X^-$ .

re delle forze elettromagnetiche dovute alla nanoparticella. Si noti che in figura 3.3 anzichè strato Helmholtz c'è scritto strato di Stern ma sono la stessa cosa.

La trattazione analitica più semplice della teoria del 'doppio strato diffusivo' è stata fatta da Gouy e Chapman agli inizi del '900 e si basa sulle seguenti ipotesi:

- la superficie della nanoparticella è assunta planare e uniformemente carica
- gli ioni della parte diffusiva sono approssimabili come cariche puntiformi distribuite secondo la statistica di Boltzmann
- il solvente influenza il doppio strato solo attraverso la sua costante dielettrica
- si assume la presenza di un singolo tipo di elettrolita simmetrico

Sulla base di queste assunzioni si ottiene come risultato un andamento del potenziale nello strato diffusivo del tipo:

$$\psi = \psi_d \cdot (r/x) \cdot \exp[-\kappa(x - r)] \quad (3.1)$$

dove  $\psi_d$  è il potenziale sul piano di Helmholtz,  $r$  è il raggio della particella,  $x$  la variabile che misura la distanza della particella dalla superficie, mentre  $1/\kappa$  è un parametro che quantifica l'estensione dello strato diffusivo detto distanza di Debye.

Nel caso in cui però non vengano rispettate tutte le ipotesi sopra elencate non è più possibile utilizzare questa equazione per descrivere l'andamento del potenziale nella zona dello strato diffusivo; in tal caso infatti si deve rinunciare a soluzioni analitiche e ricorrere a complesse integrazioni numeriche.

### Stabilità dei colloidi

Una delle caratteristiche più peculiari dei colloidi metallici è la loro stabilità che permette alle particelle di non aggregare rimanendo ben disperse. Ciò è

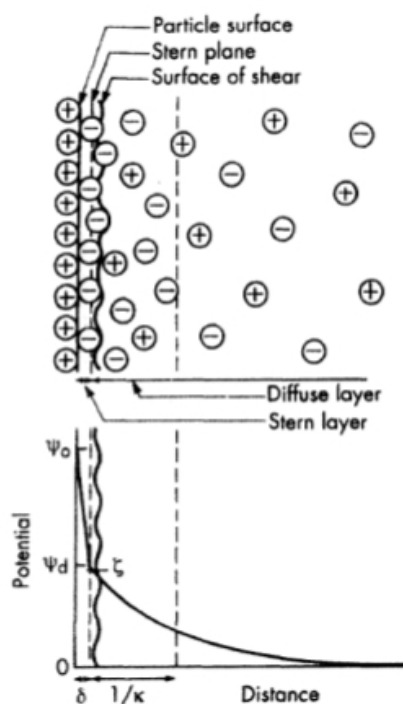


Figura 3.3: Andamento del potenziale in funzione della distanza dalla nanoparticella metallica (si noti il cambiamento di pendenza a cavallo del piano di Stern).

dovuto al bilanciamento delle forze in gioco: quella attrattiva di Van der Waals a corto raggio dovuta alla naturale attrazione elettrostatica tra due corpi (il suo andamento è proporzionale a  $1/r^7$ ) e quella elettrostatica repulsiva generata dal doppio strato di carica che decresce esponenzialmente con la distanza (figura 3.4). Quindi, come si vede in figura 3.5, per brevi distanze prevale il contributo attrattivo mentre a distanze intermedie quello repulsivo.

Guardando il potenziale dal punto di vista di una particella in movimento che arriva da grandi distanze con un'energia circa pari a  $k_B T$  (energia termica), essa vede un primo stato di equilibrio instabile (buca di potenziale poco profonda) dal quale facilmente potrà uscire grazie alla sua energia, una barriera di potenziale ed un altro stato di equilibrio però, questa volta, stabile. Quest'ultimo è una profonda buca di potenziale che rappresenta lo stato per l'aggregazione. Un discorso a parte bisogna farlo per la barriera di potenziale più o meno alta che è indice della stabilità del colloide. Infatti all'aumentare del massimo aumenta la barriera da superare per promuovere l'aggregazione delle due particelle. Per avere una stima seppur approssimata della stabilità di un colloide si può confrontare il massimo del potenziale con l'energia cinetica (termica) media delle particelle ( $k_B T$ ). Se tale valore risulta maggiore rispetto all'energia cinetica allora il sistema è stabile, altrimenti il colloide tenderà a coagulare più il potenziale è inferiore all'energia delle particelle. In buona approssimazione l'altezza della barriera di energia potenziale che ostacola l'aggregazione dipende

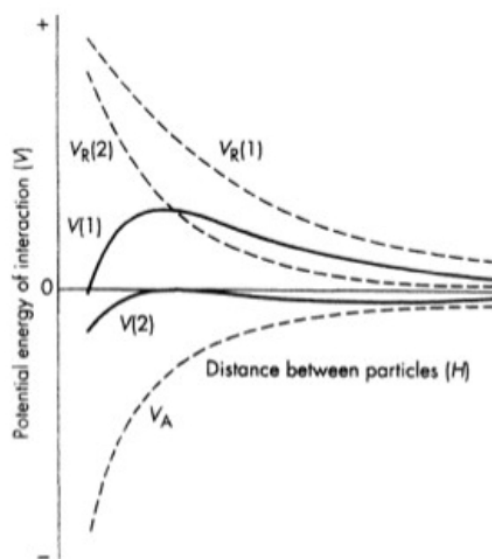


Figura 3.4:  $V(1)$  e  $V(2)$ , derivando da due differenti potenziali repulsivi sommati al potenziale attrattivo comune  $V_A$ , danno luogo a due andamenti diversi dei potenziali netti. Nel caso del potenziale  $V(2)$  il colloide non è stabile poiché non si crea la barriera di potenziale.

dal tipo di colloide, dal valore di  $\psi_d$  (cioè dalla carica superficiale che lo stabilizza) e dallo spessore dello strato diffusivo  $1/\kappa$ , come mostrato nelle figure 3.6 - 3.7, dove sono riportate curve di potenziale calcolate analiticamente dalle teorie di Deryagin-Laundau (1941) [Deryagin,1941] e Verwey-Overbeek (1948) [Verwey,1948].

Il comportamento delle curve di potenziale, e quindi degli stessi colloidi al variare del parametro  $\kappa$ , merita un ulteriore commento. Infatti numerosi studi sperimentali e teorici sulla stabilità dei colloidi in soluzione hanno permesso di comprendere la loro forte sensibilità alla quantità e valenza dell'elettrolita. Si definisce allora una grandezza caratteristica detta concentrazione di coagulazione critica che è la concentrazione di elettrolita al di sopra della quale si ha il cosiddetto effetto di compressione dello strato diffusivo. Questo effetto fa sì che le nanoparticelle si possano avvicinare molto le une alle altre, a causa dello screening dovuto al troppo elettrolita, aumentando così la probabilità di aggregazione.

### Sintesi dei colloidi

Diversissimi sono i metodi per produrre nanoparticelle metalliche ma quello più usato è il metodo di sintesi chimica in soluzione in quanto è particolarmente veloce, economico ed ottimale dal punto di vista del controllo dei parametri sperimentali che possono essere facilmente variati al fine di ottenere nanoparticelle con concentrazione, dimensione, forma e stabilità diverse.

Il processo di sintesi può essere suddiviso in due parti: lo stadio di nucleazione

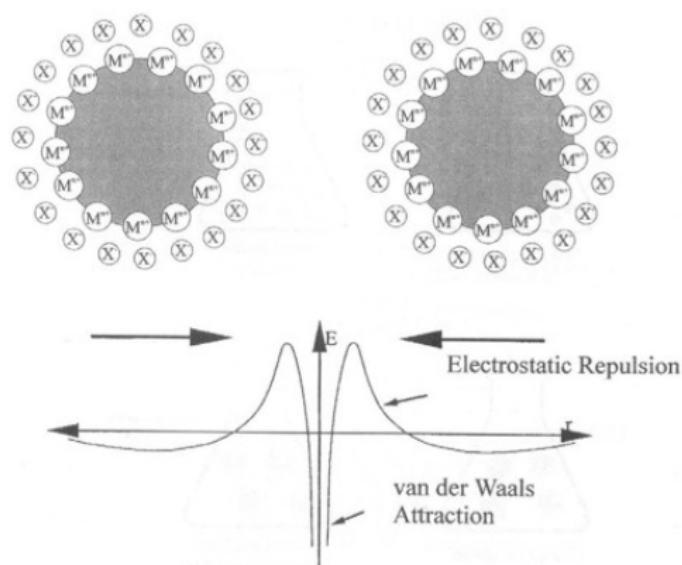


Figura 3.5: Andamento del potenziale d'interazione fra due particelle in soluzione: la distanza di equilibrio è il valore di  $r$  tale per cui la  $dE/dr = 0$ . Per  $dE/dr < 0$  si ha repulsione mentre per  $dE/dr > 0$  si ha attrazione.

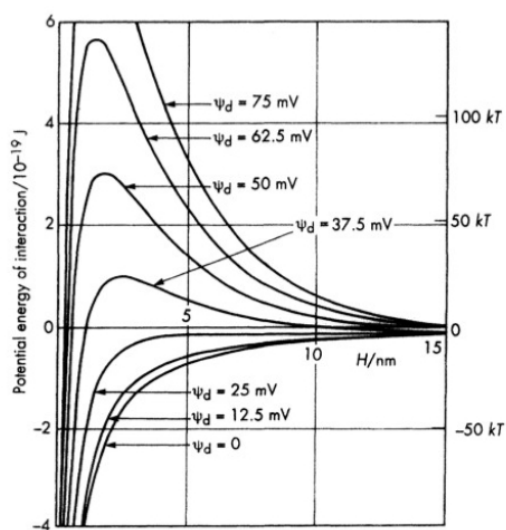


Figura 3.6: Curve di potenziale calcolate per vari valori del potenziale  $\psi_d$  per un sistema a 298 K fra due particelle dal diametro di  $10^{-7}$  m. Sulla destra è riportata una scala delle energie termiche da confrontare con il valore del massimo per valutare la stabilità del sistema.



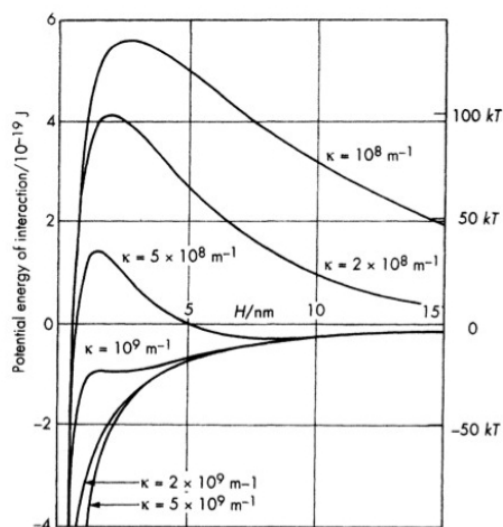


Figura 3.7: Curve di potenziale per vari valori del parametro  $\kappa$  calcolate a 289K per due particelle con diametro di  $10^{-7}$ m. All'aumentare dello spessore dello strato diffuso, cioè al diminuire di  $\kappa$ , aumenta la stabilità del sistema.

degli ioni metallici e quello di accrescimento degli aggregati (figura 3.8).

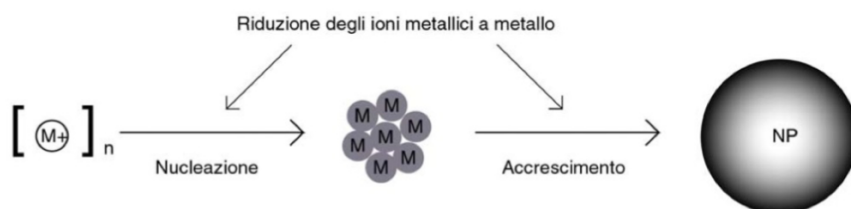


Figura 3.8: Schema generale di sintesi chimica di nanoparticelle metalliche. Si parte da ioni metallici in soluzione e tramite un agente riducente si formano inizialmente degli aggregati di atomi del metallo che poi si accrescono man mano che altri ioni metallici vengono ridotti sulla superficie del cluster.

### Stadio di nucleazione

La fase iniziale è quella della nucleazione che porta alla formazione dei primi aggregati grazie alle collisioni tra gli ioni metallici dispersi in soluzione. Essi, infatti, muovendosi in modo casuale, hanno una certa probabilità di urtare un altro ione ma non tutte le collisioni portano all'aggregazione. L'urto deve essere abbastanza energetico da far superare la barriera di potenziale repulsivo e da far avvicinare le due particelle affinché si crei un forte legame chimico (cioè, supposto uno ione fermo e l'altro in moto, quest'ultimo, superata la barriera, deve cadere nella profonda buca di potenziale, di cui si è parlato nella sezione

sulla stabilità dei colloidi). Per meglio capire il processo si faccia riferimento alla figura 3.5.

Dal punto di vista termodinamico l'energia libera di Gibbs  $G$  necessaria per formare un nucleo sferico di raggio  $r$  da una soluzione sovrassatura è esprimibile come:

$$\Delta G = -\Delta G_V + \Delta G_S = -4/3\pi r^3 \Delta G_V + 4\pi r^2 \Delta G_S \quad (3.2)$$

dove il primo termine è il contributo di volume mentre il secondo rappresenta l'energia necessaria per creare una nuova superficie. Dalla figura 3.9 si vede che esiste una dimensione minima di  $r$  al di sotto della quale le particelle non sono stabili e facilmente disaggregano (per  $\Delta G > 0$  che significa  $\Delta G_S > \Delta G_V$ , quindi è favorita la formazione di superfici) mentre arrivati ad un certo raggio critico  $r_c$  (oltre il quale prevale il contributo negativo di volume per cui si ha  $\Delta G < 0$ ) si stabilizzano e aumentano in dimensione. La cinetica di nucleazione è del primo ordine ed il numero di nuclei che si formano nel tempo è dato da:

$$N_{\bar{t}} = N_{\infty}(1 - e^{-kt}) \quad (3.3)$$

in cui  $N_{\bar{t}}$  è il numero di nuclei formati al tempo  $\bar{t}$ ,  $N_{\infty}$  il numero di nuclei formati al termine della reazione e  $k$  la costante cinetica del primo ordine. Quest'ultima cresce con la temperatura secondo la legge di Arrhenius:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (3.4)$$

dove  $A$  è una costante detta fattore di frequenza,  $R$  è la costante cinetica dei gas,  $T$  è la temperatura ed  $E_a$  è l'energia di attivazione del processo di nucleazione che dipende dal tipo di ioni metallici.

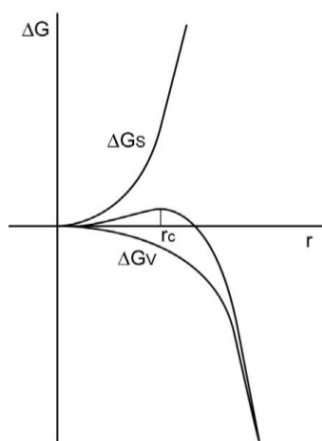


Figura 3.9: Andamento dell'energia libera all'aumentare del raggio della particella corrispondente ad un certo numero di atomi. Per raggi maggiori del raggio critico  $r_c$  l'accrescimento della particella è favorito perché comporta una diminuzione dell'energia libera.

### Stadio di accrescimento

Come si è visto dall'equazione 3.2, oltre una certa dimensione critica, i primi aggregati crescono in dimensione assumendo la forma più consona per minimizzare l'energia libera. L'accrescimento ha termine con l'esaurimento del reagente.

## 3.3 Teoria sulle nanoparticelle

### 3.3.1 Modello di Drude-Lorentz-Sommerfeld: oscillazione di plasma nel caso di piccole particelle metalliche sferiche

Un approccio semplice sebbene approssimato per lo studio di piccole particelle metalliche è il modello di Drude-Lorentz-Sommerfeld [Fort,2008; Klabunde,2001; Moores,2006] che permette di ottenere un valido risultato per la costante dielettrica  $\epsilon(\omega)$ . Esso tiene conto solo delle transizioni elettroniche intrabanda nonostante sia stato dimostrato che anche le transizioni interbanda hanno una certa rilevanza soprattutto per i metalli nobili.

Gli elettroni di conduzione nei metalli sono debolmente legati ai nuclei per cui possono essere considerati liberi. Ciò fa sì che, sotto l'azione di una radiazione elettromagnetica, la nuvola elettronica di densità di carica si muova, oscillando, in modo significativo dalla posizione di equilibrio. Si generano così delle rarefazioni e delle concentrazioni di carica che creano delle forze di richiamo volte a ripristinare la neutralità. Queste oscillazioni se sono nel bulk vengono dette "onde di plasma", se sono localizzate su una superficie vengono denominate "plasmoni di superficie".

Nel caso particolare delle nanoparticelle metalliche il campo elettrico dell'onda incidente sulla particella, che ha dimensioni inferiori alla lunghezza d'onda della radiazione, sposta collettivamente gli elettroni di conduzione mentre i nuclei atomici sono considerati fissi, come schematizzato in figura 3.10. Lo squilibrio

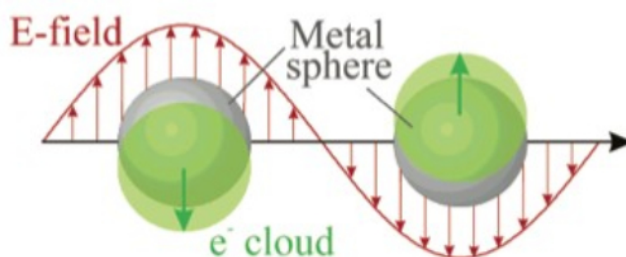


Figura 3.10: Spostamento della nuvola elettronica rispetto alla posizione del nucleo dopo l'interazione con un campo elettromagnetico incidente E.

di carica elettrica tra la superficie e l'interno della particella dà quindi origine ad una forza di richiamo. Allora se la frequenza della radiazione incidente  $\omega$  è in risonanza con le oscillazioni collettive  $\omega_p$ , cioè  $\omega \approx \omega_p$ , anche un debole campo elettrico può portare a forti oscillazioni generando plasmoni di superficie, che in questo caso sono detti risonanti. Si crea in questo modo un dipolo oscillante in

grado di riemettere un campo elettromagnetico nel mezzo in cui la nanoparticella è posta.

Per valutare la risposta ad un campo elettrico esterno si calcolano i contributi delle varie forze su un singolo elettrone e poi si moltiplica per il numero di elettroni. In un legame chimico gli elettroni che si spostano dalla posizione di equilibrio risentono di una forza di richiamo elastica di costante  $k$  dovuta alle cariche positive dei nuclei mentre nei metalli la carica nucleare è schermata dalla nuvola di elettroni di conduzione e quindi non risentono di questa forza di richiamo.

Si tenga inizialmente conto della della forza elastica di richiamo per vedere la sua influenza sul sistema in oggetto. In seguito si introdurrà l'ipotesi di elettroni liberi ponendo cioè  $k = 0$ . Il campo elettrico della radiazione monocromatica incidente di frequenza  $\omega$  ha la seguente espressione:

$$E(t) = E_0 e^{-i\omega t} \quad (3.5)$$

mentre l'equazione del moto dell'elettrone

$$m_e \frac{\partial^2 x}{\partial t^2} + \gamma \frac{\partial x}{\partial t} + kx = q_e E_0 e^{-i\omega t} \quad (3.6)$$

in cui  $m_e$ ,  $\gamma$ ,  $k$ ,  $q_e$  sono rispettivamente la massa dell'elettrone, il fattore di smorzamento viscoso, la costante elastica della forza di richiamo e la carica dell'elettrone. La costante  $k$  tiene conto della forza di richiamo dei nuclei e della polarizzazione sulla superficie metallica indotta dalla radiazione e il fattore di smorzamento  $\gamma$  dei fattori che rallentano od ostacolano il moto dell'elettrone come imperfezioni reticolari, collisioni con altri elettroni o fononi ed anche dell'effetto di confinamento superficiale.

La soluzione complessa dell'equazione 3.6 è la seguente:

$$x(t) = \frac{q_e}{m_e} \frac{E(t)}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega_d \omega} \quad (3.7)$$

con  $\omega_0 = \sqrt{k/m_e}$  frequenza di risonanza di un oscillatore di costante elastica  $k$  e massa  $m_e$  e  $\omega_d = \gamma/m_e$  frequenza di smorzamento.

Per legare il moto dell'elettrone alla risposta ottica macroscopica si introduce il concetto di momento di dipolo che per un singolo elettrone che è dato dalla relazione:

$$\mu = q_e x \quad (3.8)$$

Allora la polarizzazione complessiva del mezzo  $P$  è:

$$P = N\mu = Nq_e x = \frac{Nq_e^2}{m_e} \frac{E(t)}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega_d \omega} \quad (3.9)$$

dove  $N$  è il numero di oscillatori, cioè di elettroni, per unità di volume.

$P$  è legato alla funzione dielettrica complessa  $\epsilon$  tramite la seguente relazione:

$$\epsilon(\omega) = 1 + \frac{P}{\epsilon_0 E} \quad (3.10)$$

in cui  $\epsilon_0$  è la costante dielettrica del vuoto. Sostituendo nella 3.10 la 3.9 si ottiene l'espressione della funzione dielettrica complessa dei metalli:

$$\epsilon(\omega) = 1 + \frac{Nq_e^2/m_e\epsilon_0}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega_d\omega} = 1 + \frac{\omega_p^2}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega_d\omega} \quad (3.11)$$

in cui  $\omega_p = \sqrt{Nq_e^2/m_e\epsilon_0}$  è detta frequenza di plasma o onda di plasma e rappresenta la frequenza di oscillazione caratteristica della nuvola elettronica. Distinguendo la parte reale  $\epsilon_1(\omega)$  da quella immaginaria  $\epsilon_2(\omega)$  si ha:

$$\epsilon_1(\omega) = 1 + \frac{\omega_p^2(\omega_0^2 - \omega^2)}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \omega_d^2\omega^2} \quad (3.12)$$

$$\epsilon_2(\omega) = \frac{\omega_p^2\omega_d\omega}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \omega_d^2\omega^2} \quad (3.13)$$

Nel caso di elettroni liberi in banda di conduzione, come detto, si può trascurare la forza di richiamo dei nuclei atomici ponendo  $k = 0$  e quindi  $\omega_0 = 0$ . Per cui le relazioni sopra diventano:

$$\epsilon_1(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + \omega_d^2} \quad (3.14)$$

$$\epsilon_2(\omega) = \frac{\omega_p^2\omega_d}{\omega(\omega^2 + \omega_d^2)} \quad (3.15)$$

Una ulteriore approssimazione, giustificata se si considerano frequenze nel visibile, è considerare  $\omega \ll \omega_d$  (modello quasi-statico di Rayleigh). Avremo quindi come espressioni finali:

$$\epsilon_1(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad (3.16)$$

$$\epsilon_2(\omega) = \omega_d \frac{\omega_p^2}{\omega^3} \quad (3.17)$$

Quanto detto finora vale per i metalli 'bulk' ma nel nostro caso le dimensioni nanometriche della particella sono dello stesso ordine di grandezza del libero cammino medio dell'elettrone  $l_b$ . Ciò vuol dire che, quando il diametro  $2r$  della nanoparticella di raggio  $r$  è minore di  $l_b$ , gli elettroni di conduzione saranno scatterati dalla superficie della particella prima che da una qualsiasi altra collisione. Si introduce allora un libero cammino medio effettivo così definito:

$$\frac{1}{l_{\text{eff}}} = \frac{1}{r} + \frac{1}{l_b} \quad (3.18)$$

da cui si ottiene che la frequenza di smorzamento, rapporto fra la velocità degli elettroni al livello di Fermi  $v_F$  e il libero cammino medio, è data dall'espressione:

$$\omega_d = \frac{v_F}{l_{\text{eff}}} \quad (3.19)$$

### 3.3.2 Teoria di Mie

La teoria di Mie [Kelly,2002; Lakowicz,2004; Moores,2006] è una delle poche che dà una soluzione esatta del problema elettromagnetico di particelle sferiche. La sua soluzione è abbastanza complessa poiché è espressa mediante le funzioni sferiche di Bessel e le armoniche sferiche.

Questo modello riguarda la descrizione delle proprietà di scattering di una sfera dielettrica o metallica di dimensioni arbitrarie ma può essere facilmente esteso ai casi di sfere multilayer o di più sfere. Il caso più semplice considera materiali omogenei, isotropi e non magnetici le cui proprietà ottiche sono espresse tramite la funzione dielettrica dipendente dalla frequenza  $\epsilon(\omega)$  e la dipendenza temporale è troncata al secondo ordine (approssimazione armonica). La parte più delicata di tale teoria è la determinazione delle condizioni al contorno alle interfacce e/o all'infinito. La maggior difficoltà sta infatti nel risolvere il problema di Maxwell in modo tale che vengano soddisfatte tutte le condizioni al contorno. Si deve sottolineare inoltre che nella trattazione campo elettrico e magnetico sono scritti in termini di coordinate sferiche cioè come serie infinita di un set completo di vettori delle armoniche sferiche.

Tra i risultati ottenuti è molto importante quello relativo all'influenza della dimensione della nanoparticella sulla frequenza di assorbimento plasmonica. Si ricava infatti che il coefficiente di estinzione, per una nanoparticella le cui dimensioni siano tali da poter trascurare i dipoli elettrici di ordine superiore al primo poiché le sue dimensioni sono di molto inferiori alla lunghezza d'onda del campo incidente, è dato dall'espressione:

$$C_{\text{ext}} = \frac{12\pi}{c} r^3 \epsilon_m^{3/2} \omega \frac{\epsilon_2}{(\epsilon_1 + 2\epsilon_m)^2 + \epsilon_2^2} \quad (3.20)$$

da cui si vede che la diminuzione delle dimensioni della particella portano all'aumento della frequenza di smorzamento  $\omega_d$  modificando così la funzione dielettrica e causando l'allargamento della banda e la diminuzione del massimo di assorbimento. La posizione del picco dovrebbe però essere poco perturbata per piccoli cambiamenti di  $\omega_d$  ma per grandi smorzamenti si ha uno shift, ben visibile anche sperimentalmente, verso energie minori.

L'estinzione totale di una nanoparticella è costituita da due contributi: il primo è quello dello scattering dovuto alla diseccitazione dei plasmoni per meccanismi radiativi, il secondo è quello di assorbimento tramite meccanismi di diseccitazione non radiativi che dissipano calore. Ad una certa lunghezza d'onda incidente quindi, il dipolo indotto in una nanosfera, oltre a generare un campo esterno, incide sulle sezioni d'urto di assorbimento e di scattering. Per nanoparticelle con diametro molto minore della lunghezza d'onda incidente si ha

$$\sigma_{\text{Abs}} = \frac{2\pi}{\lambda \epsilon_0 \sqrt{\epsilon_m}} \left| \Im \frac{p}{E_0} \right| = \frac{8\pi^2 \sqrt{\epsilon_m}}{\lambda} r^3 \left| \Im \left( \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \right) \right| \quad (3.21)$$

$$\sigma_{\text{Scat}} = \frac{8\pi^3}{3\lambda^4 \epsilon_0^3} \frac{p^2}{E_0^2} = \frac{128\pi^5 \epsilon_m^2}{3\lambda^4} r^6 \left| \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \right|^2 \quad (3.22)$$

Da queste due espressioni si vede che il plasmone ha il picco di risonanza alla medesima lunghezza d'onda per assorbimento, scattering e, come si vede nel prossimo paragrafo, anche per l'intensità del campo elettrico locale. È anche

molto importante notare che  $\sigma_{\text{Abs}} \propto r^3$  mentre  $\sigma_{\text{Scat}} \propto r^6$ . Quindi per particelle molto piccole è dominante l'assorbimento mentre, all'aumentare del raggio della sfera, il contributo di scattering comincia a farsi sentire fino a divenire predominante per particelle di diametro intorno ai 100 nm.

### 3.3.3 Enhancement elettromagnetico

Il campo elettromagnetico all'esterno di una nanoparticella metallica  $E_M$  è dato dalla somma del campo incidente  $E_0$  e del campo dovuto al dipolo oscillante generato dall'eccitazione plasmonica  $E_{\text{sp}}$  [Kneipp,1996, 1997]. Quindi si ha:

$$E_M = E_0 + E_{\text{sp}} \quad (3.23)$$

Nel caso semplice di nanoparticelle, con diametri fino a 40 nm, il modello quasi-statico di Rayleigh è un'ottima approssimazione per cui si possono trascurare effetti di ritardo dovuti a campi elettromagnetici autoindotti (figura 3.11), cioè sulla superficie della nanoparticella, le cui dimensioni sono inferiori alla lunghezza d'onda della radiazione incidente, si approssima costante la fase del campo elettrico  $E_0$ . Questa ipotesi permette di usare l'equazione dell'elettrostatica per calcolare la risposta di una sfera metallica ad un campo elettrico ed allora la polarizzabilità  $\alpha$  della sfera metallica con costante dielettrica complessa  $\epsilon = \epsilon_1 + i\epsilon_2$  è data dalla relazione di Lorentz:

$$\alpha = 3V\epsilon_0\epsilon_m \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} = 4\pi r^3 \epsilon_0 \epsilon_m \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \quad (3.24)$$

dove  $\epsilon_m$  è la costante dielettrica del mezzo e  $r$  il raggio della particella. Nella sfera immersa nel campo  $E_0$  viene indotto un momento di dipolo  $p$  localizzato al centro della sfera che ha la seguente espressione ottenuto dalla definizione di  $p$  ( $p = \alpha E_0$ ) e dalla relazione 3.24:

$$p = 4\pi r^3 \epsilon_0 \epsilon_m \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} E_0 \quad (3.25)$$

Esso genera un campo elettrico

$$E_{\text{sp}} = r^3 \epsilon_0 \epsilon_m \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} E_0 \frac{1}{(r+d)^3} \quad (3.26)$$

dove  $d$  è la distanza tra la superficie della particella ed un punto nello spazio ad essa circostante come si vede in figura 3.12.

Da questa equazione possiamo vedere che il campo generato dalla nanoparticella è massimo quando  $\epsilon_1 \approx -2\epsilon_m$  e  $\epsilon_2$  è piccola. Ci si rende conto quindi che la frequenza di risonanza plasmonica prevista dal modello Drude-Lorentz-Sommerfeld deve essere corretta per il caso specifico di sistema nanometrico. Dalla equazione 3.16 si vede che i modi collettivi sono in risonanza quando  $\omega = \omega_p$  che si ottiene se  $\epsilon_1 = 1$ . Nel caso delle nanoparticelle, come appena visto, l'intensificazione del campo si ha quando  $\epsilon_1 = -2\epsilon_m$ . Inserendo questa condizione nell'equazione 3.16 si ha che:

$$-2\epsilon_m = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad (3.27)$$

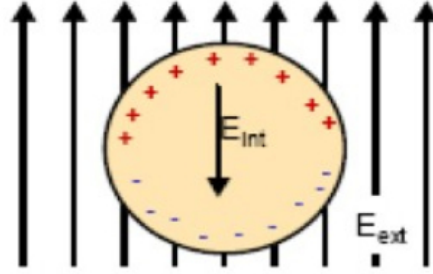


Figura 3.11: Modello quasi-statico per una particella immersa in un campo elettrico.

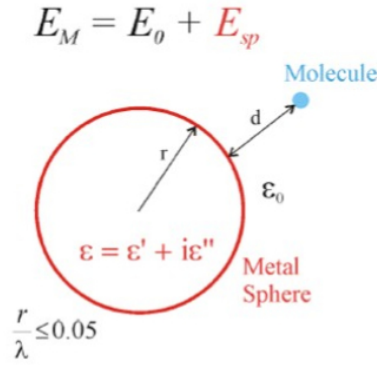


Figura 3.12: Il campo elettrico all'esterno di una nanosfera metallica è dato dalla somma del campo incidente  $E_0$  e del campo del dipolo oscillante  $E_{sp}$  sviluppato dalle oscillazioni plasmoniche.

da cui si ricava la frequenza di risonanza del plasmon di superficie per una nanosfera:

$$\omega = \frac{\omega_p}{\sqrt{1 + 2\epsilon_m}} \quad (3.28)$$

cioè  $\omega$  è inferiore a  $\omega_p$  e l'assorbimento ha il massimo a lunghezze d'onda della radiazione visibile.

Per valutare l'enhancement del campo elettrico supponiamo  $E_{sp} \ll E_0$ . Allora il fattore di intensificazione, definito come il rapporto tra il campo fuori la nanoparticella irradiata e quello della radiazione incidente, è

$$A(\omega) = \frac{E_M(\omega)}{E_0(\omega)} \approx \frac{E_{sp}(\omega)}{E_0(\omega)} = \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \left(\frac{r}{r+d}\right)^3 \quad (3.29)$$

mentre l'intensità della radiazione elettromagnetica risulta:

$$G_{em}(\omega) = |A(\omega)|^2 = \left| \frac{\epsilon(\omega) - \epsilon_m}{\epsilon(\omega) + 2\epsilon_m} \right|^2 \left(\frac{r}{r+d}\right)^6 \quad (3.30)$$



### 3.4 Principali variabili che influenzano la risonanza plasmonica

L'ampiezza e la frequenza delle oscillazioni plasmoniche [Colbey,2009; Kelly,2002; Underwood 1994], che influiscono direttamente sulle proprietà ottiche, dipendono principalmente da quattro fattori: forma, dimensione, tipo di metallo e solvente.

#### 3.4.1 Effetto del solvente

L'espressione della frequenza di risonanza del plasmone di superficie ottenuta in precedenza e qui di seguito riportata:

$$\omega = \frac{\omega_p}{\sqrt{1 + 2\epsilon_m}} \quad (3.31)$$

può essere riscritta in funzione della lunghezza d'onda, ottenendo

$$\lambda = \lambda_p \sqrt{1 + 2\epsilon_m} \quad (3.32)$$

da cui si verifica facilmente l'influenza della costante dielettrica del solvente sulla posizione del picco di assorbimento plasmonico. In figura 3.13 si vede il grafico ottenuto utilizzando la relazione 3.32 e si nota un aumento praticamente lineare della lunghezza d'onda del picco di assorbimento all'aumentare della  $\epsilon_m$  del solvente. Questo risultato non rispecchia esattamente l'evidenza sperimentale in quanto non si è tenuto conto degli effetti di smorzamento e delle transizioni elettroniche interbanda trascurate nel modello di Drude-Lorentz-Sommerfeld ma importanti per i metalli nobili. Considerando anche questi due contributi la relazione si riscrive nel seguente modo

$$\lambda = \lambda_p \sqrt{\epsilon_\infty + 2\epsilon_m} \quad (3.33)$$

dove si è inserita  $\epsilon_\infty$  quale costante dielettrica alla alte frequenze.

Bisogna anche tenere conto che ogni fattore che influenza la costante dielettrica del mezzo avrà un effetto sulla posizione del plasmone. Quindi se le particelle sono disperse in un solvente, oltre che dalla sua natura intrinseca, il plasmone sarà influenzato dalla presenza o meno di una qualsiasi altra specie carica. Infine non bisogna dimenticare che sulla nanoparticella sono adsorbite delle specie cariche per la sua stabilità che possono modificare il valore locale della  $\epsilon$  rispetto a quello medio del mezzo. Per cui l'espressione 3.33 deve essere modificata in base al caso studiato.

#### 3.4.2 Dimensione delle nanoparticelle

Anche piccole variazioni in dimensione hanno un' influenza importante sulle proprietà ottiche e sul colore delle nanoparticelle. All'aumentare del raggio, infatti, aumenta la lunghezza d'onda di risonanza plasmonica: ciò comporta un red-shift del picco di assorbimento ed anche un allargamento del picco stesso.

In figura 3.15 è riportato un esempio della variazione del coefficiente di scattering al variare delle dimensioni delle nanoparticelle di argento in acqua per due geometrie fissate.

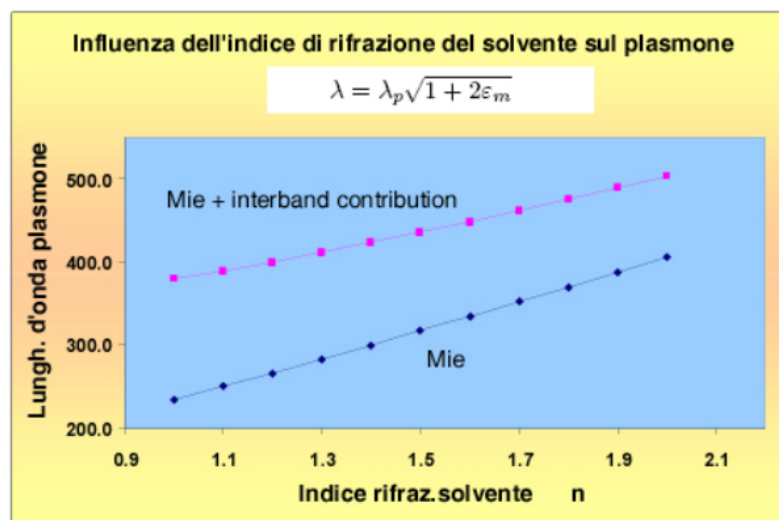


Figura 3.13: Andamento teorico del picco di risonanza plasmonica al variare dell'indice di rifrazione del mezzo in cui sono immerse le nanoparticelle. Si può considerare per il mezzo  $\epsilon_m = n^2$  con  $n$  indice di rifrazione del mezzo (non assorbente) [Brust,1994 [18]; Frohlich,1958]. Le due rette sono ricavate entrambe utilizzando l'equazione 3.33 ma solo in una si è tenuto conto anche delle transizioni interbanda come nella equazione 3.34. Con questo modello non si prendono però in considerazione gli effetti di smorzamento dovuti alle dimensioni delle particelle quindi si può pensare che esso sia adatto a prevedere il comportamento di nanoparticelle con diametro intorno ai 40 nm. I dati sperimentali sono in buon accordo con la teoria.

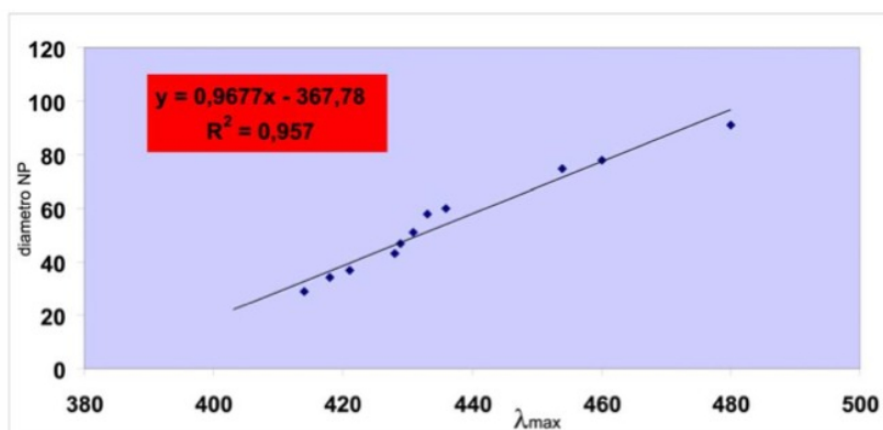


Figura 3.14: Valori del diametro medio delle nanoparticelle in funzione del massimo di assorbimento.

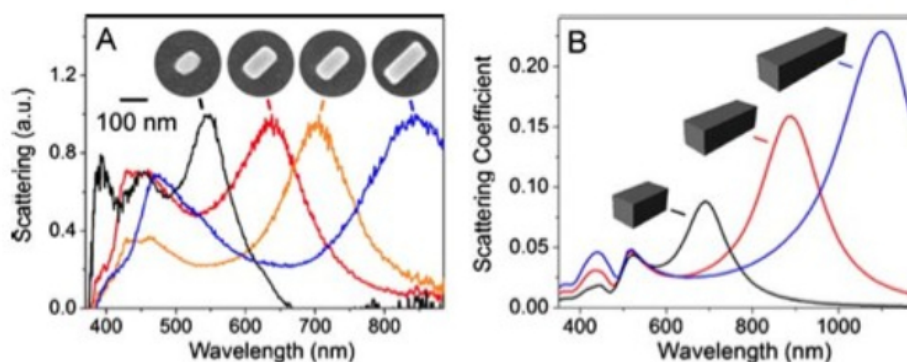


Figura 3.15: Al variare delle dimensioni delle nanoparticelle varia la posizione del picco di scattering [Wilson].

### 3.4.3 Tipo di metallo

Ovviamente anche il tipo di ioni che costituiscono le nanoparticelle influiscono sulla risonanza plasmonica. Infatti, in base alla specie chimica, le particelle crescono con dimensioni e forme diverse, parametri che, come già visto, modificano  $\omega_p$ .

### 3.4.4 Forma delle nanoparticelle

Un' altro importante fattore da considerare è l'influenza della geometria delle nanoparticelle sulla risonanza del plasmone. Se le particelle sono di forma non sferica entrano in gioco complessi fattori geometrici. Ad esempio la polarizzabilità delle particelle dipende dalla loro forma: lungo l'asse maggiore di uno sferoide la condizione di risonanza subisce un red-shift rispetto al caso della sfera. Oppure per particelle di forme ancora più particolari entrano in gioco anche effetti di punta (cioè il campo elettrico nelle vicinanze di uno spigolo è più intenso di quello vicino ad una superficie piana) e l'induzione di un momento di dipolo di ordine superiore al primo.

In figura 3.16 si mostrano varie geometrie di nanoparticelle di argento, ottenibili in soluzione al variare dei parametri operativi e i relativi picchi di risonanza plasmonica. Gli spettri in rosso riportano il contributo di assorbimento, quelli in blu il contributo di scattering, mentre quelli in nero il contributo di estinzione, somma dei primi due.

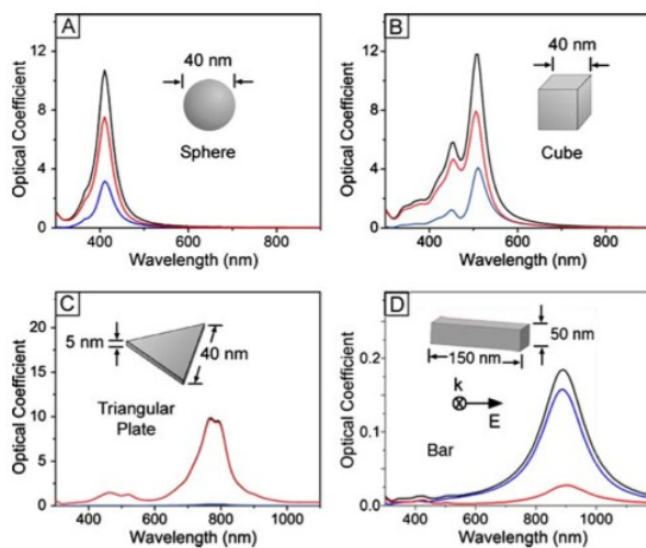


Figura 3.16: Picchi di risonanza plasmonica per varie geometrie di nanoparticelle di argento in soluzione acquosa.

## Capitolo 4

# Metal Enhanced Fluorescence (MEF)

Fino ad ora nanoparticelle metalliche e molecole con proprietà di fluorescenza sono state studiate separatamente, ma cosa accade se si costituisce un sistema con la presenza di entrambe?

Esperimenti [Lakowicz,2001] hanno mostrato che nelle vicinanze di nanostrutture metalliche si hanno principalmente due effetti: aumento o diminuzione del campo elettrico sentito dal fluoroforo e aumento o diminuzione del rate di decadimento radiativo. Per capire in che modo la vicinanza di superfici metalliche influisce sulla fluorescenza rivediamo alcuni concetti già visti nei capitoli 2 e 3 ma ponendo l'attenzione sugli aspetti significativi.

Un fluoroforo [Geddes,2002; Lakowicz,2004; Prasad, 2004] può essere pensato come un dipolo oscillante ad alta frequenza che può interagire con il dipolo indotto nel metallo. Ciò modifica il rate di emissione e la distribuzione spaziale dell'energia irradiata. Gli effetti sul campo elettrico e sul rate di decadimento non dipendono solo dalla distanza ma anche dalla geometria delle nanoparticelle e possono essere dell'ordine di  $10^3$  volte.

### 4.1 Resa quantica e tempo di vita

I due parametri fondamentali per un fluoroforo, resa quantica e tempo di vita, vengono modificati dalla presenza di strutture metalliche nel modo descritto di seguito. Si indicano con il pedice  $_0$  i parametri in assenza di strutture metalliche e con il pedice  $_m$  quelli in presenza. Siano  $\Gamma_{\text{Rad}}$  il rate di decadimento radiativo e  $k_{\text{nr}}$  il rate complessivo di tutti i processi di deattivazione che riducono il numero di fotoni di fluorescenza.

La resa quantica di fluorescenza di un fluoroforo  $Q_0$ , che rappresenta la competizione tra processi radiativi e non radiativi, è stata già definita come:

$$Q_0 = \frac{\Gamma_{\text{Rad}}}{\Gamma_{\text{Rad}} + k_{\text{nr}}} \quad (4.1)$$

e il tempo di vita di fluorescenza o tempo di decadimento  $\tau_0$  come

$$\tau_0 = \frac{1}{\Gamma_{\text{Rad}} + k_{\text{nr}}} \quad (4.2)$$

Le variazioni indotte dalla presenza di un metallo sono tenute in conto nelle espressioni di  $Q$  e  $\tau$  tramite il termine  $\Gamma_m$  che rappresenta un canale di decadimento radiativo aggiuntivo dovuto all'interazione tra le due parti, come si vede dalla figura 4.1. Allora le relazioni 4.1 e 4.2 diventano:

$$Q_m = \frac{\Gamma_{\text{Rad}} + \Gamma_m}{\Gamma_{\text{Rad}} + \Gamma_m + k_{\text{nr}}} \quad (4.3)$$

$$\tau_m = \frac{1}{\Gamma_{\text{Rad}} + \Gamma_m + k_{\text{nr}}} \quad (4.4)$$

La grandezza  $\Gamma_{\text{Rad}}$  non viene sostanzialmente modificata dalla presenza del

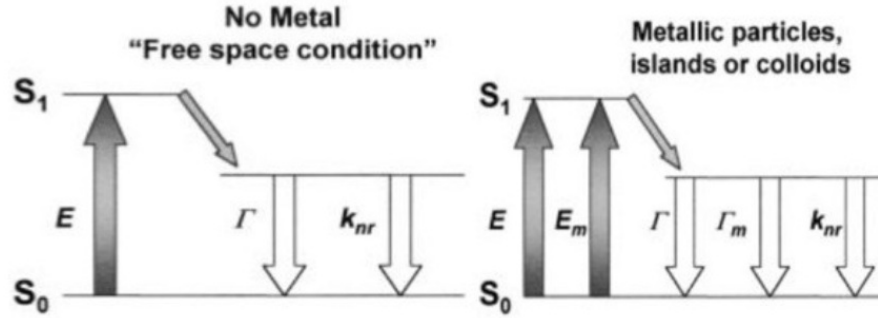


Figura 4.1: Diagrammi di Jabłoński semplificati in presenza e in assenza di metallo [Lakowicz,1999].

metallo poichè essa dipende dal coefficiente di estinzione che risente molto poco dell'ambiente circostante, mentre invece lo è  $k_{\text{nr}}$ . In particolare  $Q$  e  $\tau$  aumentano al diminuire di  $k_{\text{nr}}$  e viceversa. Da ciò si può chiaramente capire perchè fluorofori con  $Q_0$  piccolo,  $k_{\text{nr}}$  grande, sono più facilmente influenzati: infatti, più è alto il valore di  $k_{\text{nr}}$ , più facile è modificarne valore.

Dalla figura 4.2 si vede che all'aumentare di  $\Gamma_m$   $\tau_m$  diminuisce mentre  $Q_m$  aumenta grazie alla presenza del metallo. Inoltre, per valori di  $Q_0$  elevato il tempo di vita viene fortemente modificato, come si vede dalla rapida decrescita al variare di  $\Gamma_m$ , invece  $Q_m$  rimane pressochè invariato per valori di  $Q_0$  vicini all'unità mentre aumenta per valori di molto inferiori ad uno.

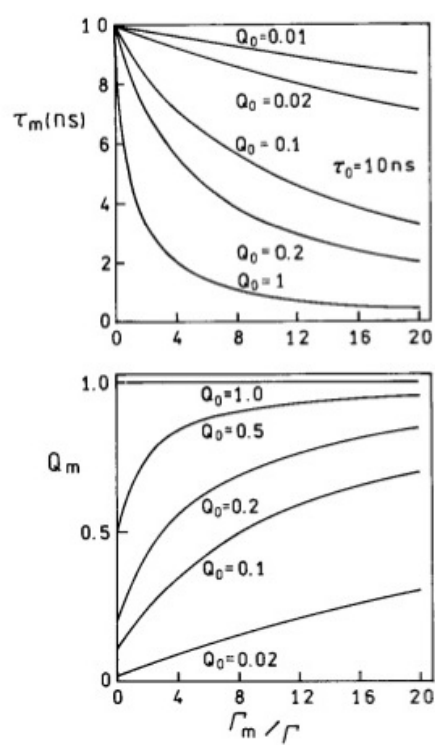


Figura 4.2: Effetto dell'incremento del rate di decadimento radiativo indotto dal metallo sul tempo di vita e la resa quantica dei fluorofori per vari valori della resa quantica naturale [Lakowicz,2001].

## 4.2 Effetti di particelle metalliche sulle transizioni di un fluoroforo

Il più importante parametro nell'interazione molecole-metallo è la distanza  $d$  infatti, al suo variare, si osservano differenti effetti sul comportamento delle molecole fluorescenti. Per  $d < 50 \text{ \AA}$ , l'effetto complessivo, che decresce come  $d^{-3}$ ,

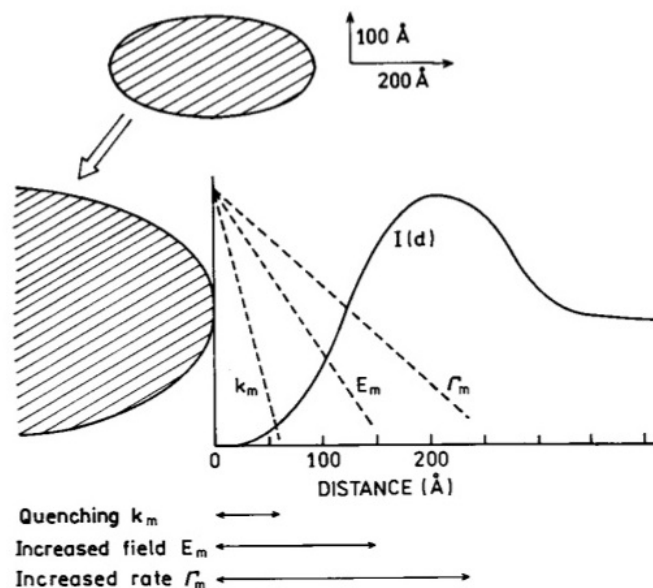


Figura 4.3: Effetti dovuti alle particelle metalliche sulle transizioni di un fluoroforo. Le particelle metalliche possono causare il fenomeno di quenching ( $k_{nr}$ ), concentrare il campo incidente ( $E_m$ ) e aumentare il rate di decadimento radiativo ( $\Gamma_m$ ) [Lakowicz,2001].

è di quenching cioè di smorzamento delle oscillazioni del dipolo di fluoroforo a causa di un accoppiamento dipolare con il metallo. Tale accoppiamento dà luogo al trasferimento di energia dal fluoroforo al plasmone di superficie della nanostruttura, come nel caso del RET, con conseguente riduzione del decadimento radiativo e del tempo di vita nella molecola. Per  $d$  compreso nel range tra  $50\text{-}200 \text{ \AA}$ , invece, esperimenti mostrano un enhancement delle fluorescenza che implica l'aumento di  $Q$ , dovuto alla presenza di un campo elettrico locale amplificato dal metallo, e la diminuzione di  $\tau$  causata dall'accoppiamento elettromagnetico. Infine per distanze ancora superiori i fluorofori sono troppo distanti dal metallo per risentire dei suoi effetti e quindi si comportano come in loro assenza.

## 4.3 Quenching

Il fenomeno di quenching, caratteristico delle brevi distanze tra fluoroforo e metallo, induce tre contributi fondamentali: riduce il tempo di vita, diminuendo



quindi la probabilità di processi di deattivazione quali il quenching collisionale, aumenta la fotostabilità del fluoroforo e il numero di cicli di eccitazione-decadimento. Tutti e tre sono dovuti, come detto del paragrafo precedente, all'accoppiamento dipolare tra le due parti. Nella figura 4.4 è raffigurato il con-

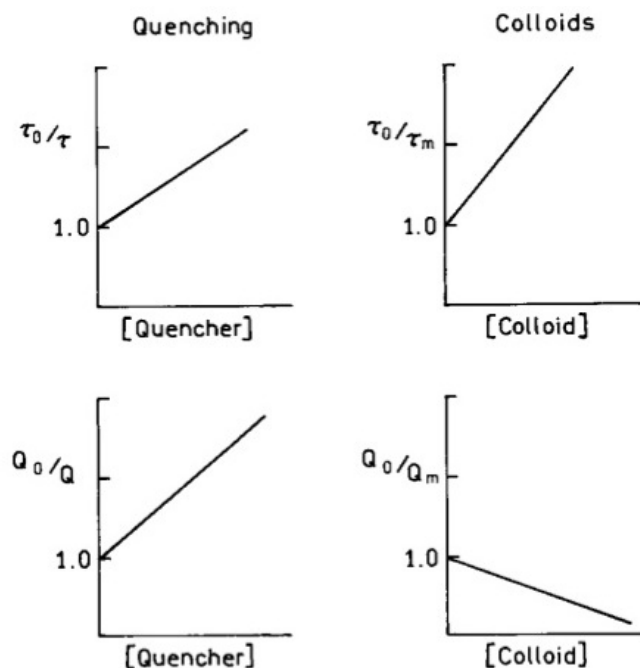


Figura 4.4: Confronto degli effetti sulla resa quantica e sul tempo di vita in presenza di quenchers o di colloidi metallici [Lakowicz,2001].

fronto tra ciò che accade al tempo di vita ed alla resa quantica in presenza di quenchers o di colloidi metallici. Dai grafici a sinistra si vede che all'aumentare della concentrazione dei quenchers entrambi i parametri diminuiscono rispetto al caso senza, invece, nel caso di particelle colloidali,  $\tau_m$  diminuisce mentre  $Q_m$  aumenta all'aumentare della concentrazione. Gli effetti dei colloidi metallici sui fluorofori sono quelli auspicabili per osservare un'enhancement della fluorescenza.

#### 4.4 Resonance energy transfer

Anche il fenomeno del RET viene modificato. Teoricamente è stato predetto che il rapporto tra il rate di trasferimento in presenza di metallo  $k_T^m$  e in sua assenza  $k_T^0$  può raggiungere valori dell'ordine di  $10^4$  (figura 4.5). Questa grande variazione è dovuta alla risonanza tra il plasmone del metallo e l'energia di transizione dei fluorofori. In realtà anche in condizioni di non completa risonanza e nel caso di distanze di poco superiori alla distanza di Förster con diverse orientazioni dei donori e degli accettori rispetto a particelle metalliche, è stato riscontrato un piccolo aumento di questo fenomeno.

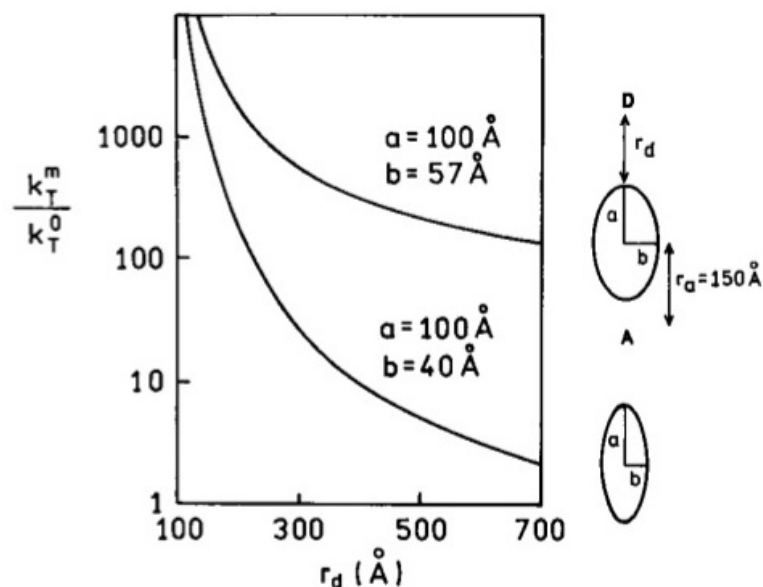


Figura 4.5: Enhancement nel rate di trasferimento di energia RET in presenza di particelle d'argento [Lakowicz,2001].

## 4.5 Conclusione

Per riassumere si può quindi dire che il fenomeno della fluorescenza sotto certe condizioni in presenza di strutture metalliche migliora nei seguenti due aspetti: fotostabilità ed efficienza quantica. L' aumento del rate di decadimento radiativo porta ad un notevole aumento nel numero di fotoni emessi da ogni singolo fluoroforo e la diminuzione del tempo di vita aumenta la fotostabilità permettendo un maggior numero di cicli di assorbimento ed emissione. Quindi l'unione di questi due effetti porta ad aumentare il numero di fotoni di fluorescenza emessi. Ciò è principalmente influenzato da un corretto posizionamento in distanza e orientazione tra fluoroforo e metallo, dalla fabbricazione di nanostrutture con forme desiderate e dal direzionamento della radiazione generata. I fluorofori si devono perciò trovare ad una distanza relativa dal metallo compresa tra 50 e 200Åe il loro momento di dipolo deve essere perpendicolare a quello del metallo per evitarne la cancellazione, come si vede in figura 4.6. Ciò porta ad una miglioramento nell'emissione di fluorescenza superiore a  $10^7$  volte ed un aumento di  $10^3$  volte della probabilità di decadimento radiativo.

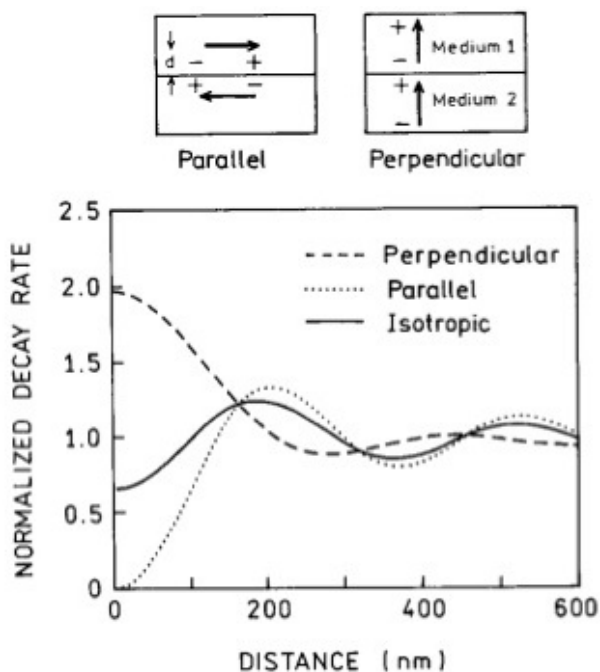


Figura 4.6: Effetto dell'orientazione del fluoroforo sul suo rate di decadimento vicino ad una superficie metallica.[Lakowicz,2001]

Un'appropriata fabbricazione di nanoparticelle metalliche con ben studiate forma e dimensioni, su base di calcoli teorici, possono portare ad un incremento fino a 140 volte l'intensità locale [Lakowicz,2001].

Infine progettare strutture in grado di direzionare l'emissione di fluorescenza in piccoli angoli può apportare un ulteriore incremento di un fattore 10 [Lakowicz,2001].

## 4.6 Applicazioni

L'utilizzo del fenomeno del metal-enhanced fluorescence ha trovato soprattutto applicazione a partire dagli anni Novanta nell'ambito della diagnostica medica e delle biotecnologie, dove viene usato nei sensori e nelle tecniche di detezione di molecole [Alsan, 2005[6]].

La fluorescenza è una tecnica di rilevamento altamente sensibile anche a livello di singole molecole ma è soggetta ad una serie di limitazioni che ne riducono le potenzialità. Infatti il rilevamento di una molecola fluorescente è principalmente limitato dalla sua efficienza quantica, dall'autofluorescenza del campione e/o dalla fotostabilità delle molecole. Tramite lo studio dell'interazione fluoroforo-metallo e delle implicazioni da esso derivanti (vedi paragrafi precedenti), si è osservato che una nanostruttura metallica modifica favorevolmente le proprietà spettrali delle molecole ad essa vicine: ne aumenta la fotostabilità e ne diminuisce il tempo di vita, inducendo così un incremento del rate di decadimento radiativo, ed aumenta la distanza per il resonant energy transfer.

Accanto alla scoperta dei vantaggi di tale fenomeno, sono state sviluppate numerose tecniche di preparazione di nanostrutture metalliche in soluzione o depositate su vetro [Alsan, 2004, 2005 [3-4]; Dorfman, 2006; Geddes, 2003[34]]; esse vanno da tecniche complesse e costose, come l'elettrochimica e la litografia, a quella ormai più diffusa ed economica della sintesi chimica di nanoparticelle metalliche in soluzione. Quest'ultima permette l'ottenimento di aggregati metallici con forme e dimensioni ben controllate.

Qui di seguito vengono elencate alcune delle applicazioni del MEF nel campo delle biotecnologie.

- *Proteine ultra-luminose per gli immunosondaggi o per sondaggi di speci biologiche con specifici anticorpi.* Le proteine usate per gli immunosondaggi o per sondaggi di speci biologiche con specifici anticorpi vengono normalmente etichettate tramite molecole fluorescenti, quali la fluoresceina, che sono soggette ad un forte fenomeno di autoassorbimento che ne riduce la luminosità diminuendone l'individuazione. Grazie alla presenza ad esempio di films con isole d'argento, il fenomeno dell'autoassorbimento può essere fortemente ridotto, aumentando la probabilità d'individuazione.
- *Detezione del DNA.* Questa tecnica è alla base di un ampio range di applicazioni biotecnologiche e diagnostiche, dove l'aumento della sensibilità è particolarmente utile per l'individuazione di un ridotto numero di coppie di sequenze di DNA. Per questa applicazione sono anche state sintetizzate delle nanoparticelle d'oro con attaccato un filamento di DNA [Lin, 2009]. Il rilevamento della coppia di sequenze avviene nel seguente modo: una sequenza è legata chimicamente alla nanostruttura metallica l'altra invece è attaccata ad un fluoroforo: quando le due sequenze complementari si uniscono, la molecola fluorescente si trova ad una distanza tale dal metallo per cui emetterà un segnale luminoso facilmente detettabile, prova dell'avvenuto rilevamento della sequenza complementare a quella posta sull'argento [Chen, 2007, Geddes, 2003 [34]].
- *Matrice immunologica planare per la detezione del marker cardiaco mioglobina.* Il principio di base è lo stesso del caso della detezione del DNA ma il setup è leggermente diverso. Il sistema infatti è costituito da un substrato di vetro sul quale sono deposte delle isole d'argento alle quali sono attaccate gli anticorpi per la cattura della mioglobina. Il tutto viene immerso in soluzione contenente la mioglobina da individuare e gli anticorpi complementari a quelli posti sull'argento ai quali sono attaccate le molecole fluorescenti. Quando la mioglobina viene bloccata tra i due anticorpi, grazie alla vicinanza dei fluorofori al metallo, verrà generato un segnale luminoso fino a 10-20 volte più intenso rispetto al caso in assenza delle isole d'argento. Questa tecnica ha anche un ulteriore vantaggio che è quello della rapidità di risposta che permette quindi di ottenere il risultato dell'indagine in tempi molto più brevi rispetto alle altre tecniche [Alsan, 2005[5], 2006[7]].
- *Biosensore.* Vengono preparate delle soluzioni contenenti colloidi d'oro o d'argento, già largamente utilizzati in medicina poichè non tossici, con annessi gli anticorpi necessari all'individuazione di precise speci. Le nanoparticelle metalliche vengono o ricoperte con uno strato di silice e l'anticorpo o gli viene direttamente attaccato quest'ultimo. Il principio di base

è sempre lo stesso cioè un'intensa emissione di luce, indicazione dell'aver trovato la specie cercata, viene emessa una volta che l'anticorpo complementare con annesso fluoroforo si trova vicino al metallo. Tipici utilizzi sono nell'angiografia retinale, per il rilevamento di medicinali, per l'imaging vascolare e come agente di contrasto per la tomografia ottica [Alsan, 2005[2], Geddes,2003 [35-36]] .

Accanto alle applicazioni nell'ambito biologico, il fenomeno del MEF è stato utilizzato anche nei *microscopi confocali a scansione laser* nei quali, il confinamento dell'emissione di fluorescenza nelle immediate vicinanze della superficie di contatto tra il substrato, composto da metallo nanostrutturato e film di silice con funzione di spaziatore, e l'oggetto di studio, produce un miglioramento della risoluzione longitudinale con il conseguente aumento della risoluzione laterale se l'oggetto ha superfici curve [Alschinger,2003].

Infine il fenomeno del MEF trova applicazione anche nel campo del *fotovoltaico* di cui si parla nel seguente capitolo paragrafo 5.4-5.5.



## Capitolo 5

# Applicazione alle celle solari

### 5.1 Introduzione alle celle fotovoltaiche

Le celle fotovoltaiche sono dei dispositivi in grado di raccogliere la radiazione solare e trasformarla in corrente elettrica. L'effetto fotovoltaico fu scoperto da Becquerel nel 1839 ma è stato necessario aspettare fino al 1954 con Chapin perché il fotovoltaico si trasformasse in una vera e propria tecnologia di conversione della luce solare in elettricità.

Il fenomeno della generazione di corrente elettrica indotta da radiazione luminosa è legato al funzionamento di un diodo in condizione di illuminazione. Alla base di tutto si ha una giunzione p-n, ovvero un elemento costituito dall'accoppiamento di due materiali semiconduttori differentemente drogati. Analogamente al caso inorganico, anche i materiali organici coniugati, in quanto presentano carattere semiconduttivo, possono realizzare giunzioni p-n ed essere quindi utilizzati nei dispositivi fotovoltaici [Gratzel, 2003; Gregg, 2003].

I vantaggi di utilizzare celle fotovoltaiche organiche [Kippelen, 2009; Spanggaard, 2004] sono principalmente due: la possibilità di fare il processo in soluzione, cosa che riduce notevolmente i costi di produzione, e di agire abbastanza facilmente sulla struttura chimica dei componenti per ottimizzarne le proprietà fisiche. Nonostante le celle solari cosiddette di terza generazione, organiche o ibride, abbiano efficienze limitate, negli ultimi anni la ricerca scientifica ha portato a fare numerosi passi in avanti per migliorarne le prestazioni.

Il fenomeno del MEF, oggetto di questa tesi, per le sue caratteristiche sembra adeguato per un'eventuale implementazione delle celle organiche o ibride, come verrà discusso nel paragrafo 5.4 .

Il funzionamento di tali celle può essere schematizzato nei seguenti passaggi:

- Assorbimento della luce solare
- Generazione dell'eccitone
- Separazione dell'eccitone nei portatori di carica
- Trasporto ed accumulo delle cariche sugli elettrodi

## Assorbimento della luce solare

Alla base del meccanismo di funzionamento di una cella fotovoltaica ci sono vari processi fisici primo dei quali l'assorbimento della radiazione solare. Questa è composta da fotoni che colpiscono la cella e cedono la propria energia agli elettroni, in modo che questi vengano eccitati e si portino dalla banda di valenza a quella di conduzione. Affinchè questo fenomeno possa avvenire i fotoni devono avere energia uguale o superiore alla differenza in energia delle due bande, detta energy gap del materiale. Per ottimizzare di questo processo il materiale da utilizzare in una cella fotovoltaica deve avere una banda di assorbimento d'intensità elevata con un intervallo spettrale il più possibile esteso e corrispondente a quello dello spettro solare, così da massimizzare il numero di fotoni raccolti.

## Generazione dell'eccitone

Quando un elettrone passa dalla banda di valenza a quella di conduzione lascia dietro di sé una lacuna (fig. 5.1). L'elettrone eccitato nel HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) e la lacuna nel LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) risentono della reciproca attrazione coulombiana, essendo le due cariche di segno opposto, ed insieme costituiscono uno stato legato neutro detto eccitone. Esso per l'attrazione elettrostatica si troverà in uno stato ad energia inferiore rispetto alla differenza energetica HOMO-LUMO.

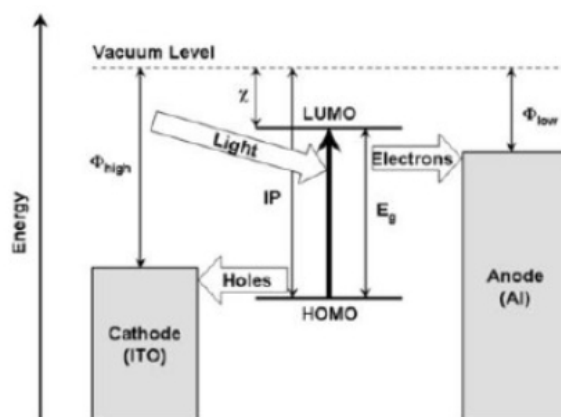


Figura 5.1: Generazione dell'eccitone.

## Separazione dell'eccitone nei portatori di carica

L'eccitone in sé non può contribuire al trasporto della corrente, perciò occorre che i due portatori, elettrone e lacuna, vengano separati (figura 5.2). Per riuscire a rompere le coppie elettrone-lacuna bisogna fornire una determinata energia almeno pari al loro potenziale d'attrazione. Poiché nei semiconduttori inorganici l'energia di legame dello stato legato è relativamente bassa (qualche meV), è sufficiente l'energia termica a temperatura ambiente (25 meV) per ottenere



la separazione dei portatori ed è per questo motivo che nei dispositivi inorganici si ha l'immediata generazione di cariche libere a seguito dell'assorbimento. Nei semiconduttori organici, invece, l'energia di legame dell'eccitone è dell'or-

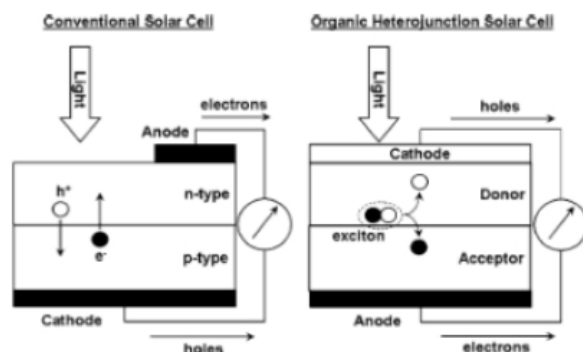


Figura 5.2: Separazione dell'eccitone.

dine di qualche centinaio di meV, molto superiore a quella dei semiconduttori inorganici, ed a temperatura ambiente non è possibile la dissociazione: questa può avvenire solo in corrispondenza di una interfaccia. Esistono diversi tipi di interfacce come ad esempio metallo-semiconduttore o dovuta alla presenza di difetti o tra materiali con diversa affinità elettronica, tipicamente due diversi semiconduttori. Occorre però che l'eccitone raggiunga tali interfacce prima della ricombinazione. Poiché esso è una specie neutra il suo moto non è influenzato da nessun campo elettrico ma è puramente diffusivo e, sapendo che la lunghezza media di diffusione è pari a circa 10 nanometri, si avrà che solo gli eccitoni generati ad una distanza inferiore dall'interfaccia riusciranno ad essere separati. Per risolvere questa problematica non è però possibile costruire celle con spessori dello strato attivo dell'ordine di grandezza della distanza di diffusione degli eccitoni, poiché l'assorbimento della radiazione solare risulterebbe troppo limitato. L'alternativa più comunemente utilizzata è allora quella di uno strato organico costituito da due diversi materiali, miscelati tra loro al fine di massimizzare la densità delle interfacce. Questo sistema viene definito eterogiunzione dispersa (bulk heterojunction). Nei sistemi ad eterogiunzione tipicamente proposti, uno solo dei due materiali è coinvolto nell'assorbimento della radiazione ed è costituito da un polimero con carattere di donatore di elettroni (tipo p). Una volta generato l'eccitone, la carica negativa viene appunto "donata" al secondo materiale, chiamato per questo motivo accettore di elettroni (tipo n). Il materiale donatore è quindi responsabile anche del trasporto delle lacune, mentre quello accettore del trasporto di elettroni.

### Trasporto delle cariche

Le cariche derivanti dalla dissociazione dell'eccitone, per dare contributo alla corrente elettrica, devono raggiungere gli elettrodi ma diverse problematiche limitano l'efficienza di tale processo. In primo luogo è frequente la ricombinazione delle cariche stesse che avviene quando un elettrone incontra una lacuna. Inoltre bisogna considerare la mobilità dei portatori di carica nei due diversi materiali

che limita la corrente elettrica che fluisce nel circuito esterno. Da ultimo, essendo il moto delle singole cariche indotto dal campo elettrico presente all'interno dello strato, di fondamentale importanza è il potenziale di built-in (differenza di potenziale ai lati della giunzione), risultante dalla funzione lavoro degli elettrodi scelti. È dunque necessario un compromesso tra la massimizzazione del potenziale di built-in e l'ottimizzazione del trasferimento di carica dai materiali organici agli elettrodi.

### Le cause di perdita di efficienza

Nella cella fotovoltaica organica, come abbiamo visto, il meccanismo di trasformazione della radiazione solare in energia elettrica è complesso e per questo sono molteplici le cause della perdita d'efficienza nella conversione [Kroon, 2008].

Partendo dal raggiungimento da parte della radiazione solare della cella fotovoltaica, la prima causa di perdita d'efficienza risiede nell'assorbimento solo parziale della radiazione da parte del materiale attivo: una parte della radiazione incidente viene riflessa o assorbita dai materiali di protezione e funzionali alla parte attiva e una parte attraversa lo strato attivo senza essere assorbita sia per un assorbimento nullo in quella zona dello spettro sia per la ridotta densità ottica del film causata dalla necessità di mantenere ridotto lo spessore.

Una seconda causa di inefficienza risiede nella non separazione dell'eccitone nelle sue componenti elettrone e lacuna. Come si è detto, la distanza di migrazione dell'eccitone prima del suo rilassamento allo stato fondamentale è di circa 10 nm, quindi, se l'eccitone non raggiunge una interfaccia in cui è possibile la separazione delle cariche, l'energia di ricombinazione verrà persa sotto forma d'energia termica.

Una ulteriore causa sta nel processo di separazione delle coppie elettrone-lacuna: infatti, una volta avvenuta la dissociazione dell'elettrone e della lacuna, formanti l'eccitone, nei due materiali donatore ed accettore, le cariche continuano a sentire la reciproca attrazione di tipo coulombiano fino a quando non si trovano ben distanti dall'interfaccia tra i due materiali. Può quindi accadere che le due cariche appena dissociate si ricongiungano prima di essere trasportate.

Oltre alle coppie elettrone-lacuna è possibile anche la ricombinazione di cariche libere durante il trasporto agli elettrodi. Se le cariche non hanno la possibilità di seguire cammini percolativi che le portino direttamente agli elettrodi, la probabilità di avere una ricombinazione cresce sensibilmente.

Tenendo conto di tutte le possibili cause d'inefficienza è possibile adottare tecniche che permettano, almeno in parte, di ridurre gli effetti per ottenere il massimo di efficienza dalla cella.

### Tipologie di dispositivi

Una cella fotovoltaica è costituita da uno strato di materiale attivo posto tra due elettrodi, uno dei quali deve essere trasparente per permettere ai fotoni solari di raggiungere il materiale assorbitore. La struttura di base ha subito diverse implementazioni nel corso del tempo riguardanti sia il materiale attivo, sia eventuali altri strati interposti tra elettrodi e materiale.

Le celle costituite da materiali organici sono limitate nel loro funzionamento ad uno stretto range di frequenze utili (figure 5.3) ed inoltre, dalle considerazioni esposte precedentemente, risulta evidente come un dispositivo costituito da uno

strato organico monocomponente sarà caratterizzato da prestazioni molto limitate, in quanto la separazione dell'eccitone può avvenire solo all'interfaccia tra il materiale organico ed uno degli elettrodi (giunzione Schottcky). Un moderato

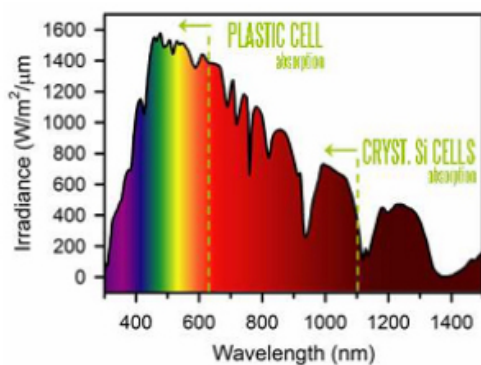


Figura 5.3: Confronto tra le lunghezze d'onda assorbite dalle celle solari di silicio e di plastica.

miglioramento si è avuto con l'introduzione di uno strato attivo costituito da film sovrapposti di due materiali diversi (fig. 5.6a): in questo caso, la separazione degli eccitoni avviene lontano dagli elettrodi, evitando quindi eventuali processi di degrado degli stessi ed il trasporto di elettroni e lacune avviene in due materiali differenti, consentendo così l'ottimizzazione di tale processo. D'altro canto, l'interfaccia presente nella cella è comunque limitata ad un singolo piano; di conseguenza solo una minima percentuale degli eccitoni (quelli generati vicino all'interfaccia) saranno efficacemente separati. Per superare questo vincolo,

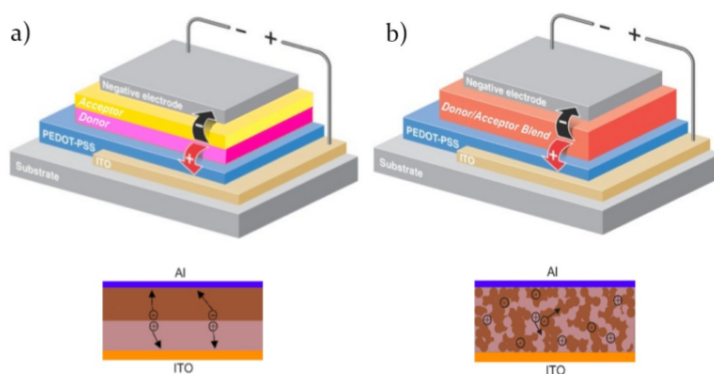


Figura 5.4: Dispositivi a interfaccia doppia (a) ed eterogiunzione dispersa (b).

sono stati introdotti film organici ad eterogiunzione dispersa (fig. 5.6b). Essendo questi ultimi basati su una miscela accettore-donore, hanno il vantaggio di avere un'area d'interfaccia molto elevata presso la quale si possono separare un maggior numero di eccitoni. Anche il trasporto di cariche agli elettrodi

è notevolmente facilitato da un'interfaccia ad eterogiunzione dispersa, a patto di avere cammini percolativi continui nello stesso materiale dall'interfaccia fino all'elettrodo d'interesse. Le celle ibride sono eterogiunzioni disperse in cui uno dei materiali, solitamente l'accettore, è costituito da un ossido.

Ulteriori miglioramenti sono stati ottenuti introducendo strati con diversa funzionalità nella struttura di base della cella, come ad esempio, un film tra il catodo ed il materiale organico di poli(3,4-etilendiossitiolfene):poli(stirensolfonato) (PEDOT:PSS), materiale noto come buon trasportatore di lacune. Il ruolo preciso di tali strati non è ancora stato del tutto chiarito, ma è noto come essi aumentino le prestazioni delle celle.

## 5.2 Fenomeni dell'Up- e Down-Conversion

La generazione di fotoni con energia superiore a quella dell'eccitazione che li ha prodotti è chiamato fenomeno di up-conversion ed è solitamente associata all'uso di sorgenti coerenti ad alta potenza come i laser. Infatti la probabilità di tale processo è drammaticamente bassa quando la potenza d'eccitazione scende sotto diversi  $MW/cm^2$  se non addirittura  $GW/cm^2$ . Anche riuscendo ad abbassare l'intensità della luce richiesta intorno ai  $kW/cm^2$ , vi sono diverse condizioni che limitano l'intervallo di frequenze, in cui il sistema può operare, ad uno strettissimo intervallo. Questo fenomeno sarebbe molto interessante da utilizzare per aumentare l'efficienza delle celle solari [Trupke, 2002, Wuerfel, 2000] ma bisogna sviluppare nuovi materiali e metodi in grado di abbassare significativamente la potenza operativa richiesta e utilizzare processi che non richiedono la coerenza. Una possibile strategia per convertire i fotoni verso più alta energia si basa sulla mutua annichilazione di stati di tripletto in materiali organici multicomponente. La possibilità di ottenere fotoni ad alta energia, a seguito di processi di annichilazione di stati di tripletto metastabili, fu studiata approfonditamente nei poliaceni ciclici [Birks, 1976] a partire dagli anni '70, però non è mai stata sfruttata tecnologicamente a causa del coefficiente di assorbimento estremamente basso di questi stati, che ne rende quasi impossibile l'eccitazione diretta.

Il principio di base, sta nel mantenere elevate densità di stati di tripletto eccitati indirettamente, via trasferimento d'energia risonante a partire da una seconda molecola che agisca da donore. Lo schema generale di funzionamento (figura 5.3) di questi sistemi è quindi un processo a quattro passaggi:

- i) assorbimento della luce da parte di una prima molecola (di solito della famiglia delle metallo-porfirine) attraverso transizioni permesse di singoletto;
- ii) processo di intersystem crossing, favorito da un'efficace accoppiamento spin-orbita dovuto alla presenza di atomi pesanti che sposta l'eccitazione dagli stati di singoletto a quelli di tripletto;
- iii) trasferimento d'energia risonante agli stati di tripletto della seconda molecola che agisce in questo passaggio da accettore (di solito molecole della famiglia degli idrocarburi ciclici aromatici);
- iv) annichilazione tripletto-tripletto che produce stati di singoletto eccitati nella seconda molecola, dai quali avverrà l'emissione ad alta energia.

Sfruttando questa strategia A. Balushev ed il gruppo di Castellano hanno ottenuto per la prima volta up-conversion con efficienza tale da rendere visibile, ad occhio nudo, la fluorescenza degli stati di singoletto ad alta energia con potenze d'eccitazione confrontabili con l'irraggiamento solare ( $0.1 W/cm^2$ ). Questi

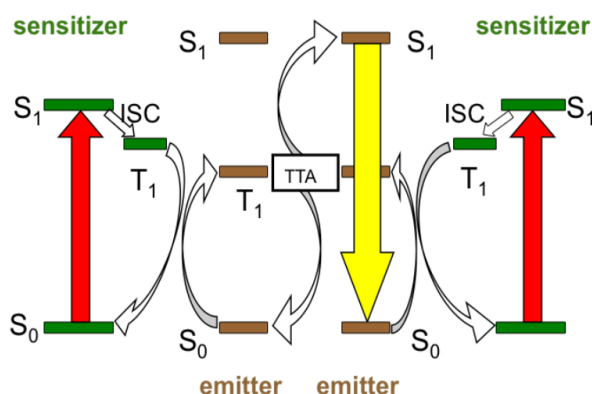


Figura 5.5: Schematizzazione del processo di up-conversion per annichilazione di stato di tripletto.

risultati sono stati ricavati lavorando in soluzione e, almeno in alcuni casi, utilizzando sorgenti di luce non coerenti [Balushev, 2005, 2006, 2007; Islagulov, 2005]. In questi primi lavori i donori erano costituiti da Ru-bipiridina o da macrocicli di metallo-porfirine, mentre l'accettore era semplicemente antracene o qualche suo derivato. Si è così avuta up-conversion dal verde al blu. Successivamente si è ottenuta l'up-conversion di luce rossa (700 nm) in luce giallo-verde (600-480 nm) per mezzo di una palladio porfirina come donore ed una molecole della classe dei tetraceni come accettore [Balushev, 2007].

Inoltre sono stati studiati sistemi allo stato solido. L'up-conversion non coerente in film polimerici (verde-blu) è stata dimostrata per la prima volta nel 2007 con potenze d'eccitazione di circa  $10 \text{ mW/cm}^2$  [Islagulov, 2007] utilizzando del palladio porfirina commerciale ed il difenil-antracene. Tra il 2008 e il 2009 si è provato a raggiungere, come nel caso delle soluzioni, l'up-conversion di lunghezze d'onda maggiori (rosso-verde). Tuttavia, l'efficienza complessiva di questi sistemi rimane almeno due ordini di grandezza inferiore a quella delle corrispondenti soluzioni [Monguzzi, 2009]. Ciò è dovuto principalmente alla bassa velocità di diffusione dei tripletti in matrici amorfe, che limita fortemente la possibilità d'incontro di stati di tripletto eccitati.

Oltre al fenomeno dell'up-conversion vi sono sistemi e condizioni particolari per cui è possibile osservare anche un fenomeno di down-conversion che, a differenza del primo, produce fotoni ad energia molto inferiore rispetto a quelli assorbiti.

Generalmente tutte le molecole riemettono a lunghezze d'onda leggermente superiori a quelle assorbite (fenomeno dello Stokes shift, paragrafo 2.3.1) ma le cause di riduzione in energia nella down-conversion sono diverse dalle perdite dovute alla termalizzazione dei processi intrabanda. Le totalità dei processi e delle condizioni sotto le quali questo complesso fenomeno avviene, non sono ancora completamente chiare, ma tra di essi, quello più importante, è la singlet fission. La prima volta che venne citata fu nel 1965 [Smith, 2010] per spiegare la fotofisica dei cristalli di antracene e negli anni successivi fu utilizzata nelle

teorie sui cristalli molecolari. Successivamente negli anni '80 fu osservata in un carotenoide contenente batteri e in un polimero coniugato. Solo, a partire dal 2004, l'interesse per lo studio di tale fenomeno è stato accresciuto dall'idea che possa essere utilizzato per migliorare l'efficienza delle celle fotovoltaiche. Infatti, analisi quantitative hanno mostrato che il limite di Shockley-Queisser, per il quale una cella fotovoltaica a singolo stadio converte in energia elettrica solo un terzo dell'energia luminosa assorbita, viene aumentato a circa un mezzo in celle dove le molecole sensitizer (quelle che inizialmente assorbono il fotone) sono capaci di dar luogo ad un numero sostanzioso di processi di singlet fission.

Il fenomeno della single fission consiste nella generazione di due molecole eccitate su uno stato di tripletto a partire da una sola delle due molecole eccitata su uno stato di singoletto e l'altra nello stato fondamentale (figura 5.4): ciò è permesso per le regole di selezione dello spin. Dopo ciò, poichè il rilassamento

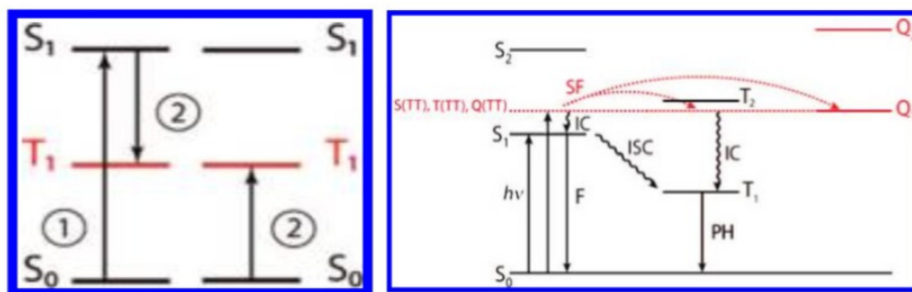


Figura 5.6: Schema semplificato della singlet fission a sinistra. A destra, diagramma di Jablonski della singlet fission (SF), processo in rosso. Legenda: S e Q: livelli energetici relativi a molecole diverse della stessa specie o non; F: fluorescenza; IC: conversioni energetiche interne; ISC: intersystem crossing; PH: fosforescenza.

dagli stati di tripletto sul ground state non sono permessi per le regole di selezione dello spin e se nel frattempo non avvengono altri processi di perdita non radiativa di energia, le due molecole ritorneranno alla configurazione d'equilibrio emettendo ognuna un fotone di fosforescenza, la cui energia sarà di molto inferiore rispetto al fotone che, assorbito, aveva eccitato una delle due molecole su uno stato di singoletto. Da questo processo, quindi, si ottiene la generazione di due fotoni ad energia più bassa rispetto al singolo fotone incidente.

Le condizioni sotto le quali il processo della siglet fission è osservabile, non sono state ancora del tutto comprese ma, tra di esse, si possono sicuramente enumerare le seguenti:

- i) avviene in sistemi contenenti un certo numero di molecole della stessa specie o non, che siano soggette ad un rilevante accoppiamento spin-orbita e che non siano di dimensioni troppo piccole;
- ii) è necessario l'ausilio di energia termica poichè la somma delle energie dei due stati di tripletto è superiore all'energia dello stato di singoletto eccitato inizialmente;
- iii) il rilassamento sugli stati eccitati di tripletto deve avvenire rapidamente per evitare processi di conversione interna d'energia, di rilassamento vibrazionale o di fluorescenza.

### 5.3 Celle solari e nanoparticelle metalliche

Il fenomeno della risonanza plasmonica (paragrafo 3.3.1), caratteristico delle nanostrutture metalliche, sta prendendo sempre più piede nelle implementazioni delle celle solari inorganiche [Catchpole, 2008] ma in particolare in quelle organiche (figura 5.7).

Il moto collettivo degli elettroni sulla superficie del metallo, indotto dalla radiazione luminosa, genera un campo elettrico intensificato attorno alle nanoparticelle, portando ad un aumento nell'assorbimento di luce da parte del dispositivo ed eccitando extra elettroni nella cella [Service, 2008]. A questo si aggiungono,

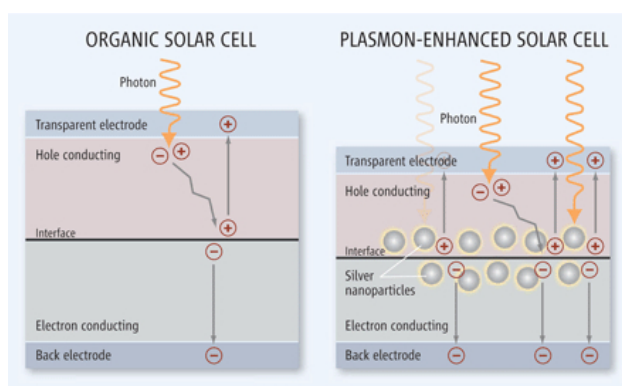


Figura 5.7: Struttura di una cella solare organica a sinistra e di una cella solare che utilizza nanoparticelle d'argento a destra.

grazie all'interazione tra i plasmoni superficiali e gli eccitoni fotogenerati, una diminuzione dei processi di ricombinazione elettrone-lacuna ed un più efficiente trasporto delle cariche agli elettrodi [Lee, 2009 [65]; Wu, 2011], portando così ad un complessivo aumento della fotocorrente. Infine le strutture metalliche inglobate all'interno delle celle aiutano ad intrappolare [Catchpole, 2008] ed a direzionare [Ray, 2008; Westphalen, 2000] la luce, migliorando le performance del dispositivo.

Un esempio di utilizzo di nanoparticelle metalliche aggiunte all'interno di celle fotovoltaiche organiche o ibride sono le Dye-Sensitized Solar Cells (DSSCs) (figura 5.8). Il loro funzionamento di base [Standridge, 2009] è schematizzabile nei seguenti passaggi:

- i) assorbimento dei fotoni da parte dei dyes;
- ii) iniezione da parte dei dyes degli elettroni eccitati dalla radiazione nel anodo fatto di  $\text{TiO}_2$ ;
- iii) ritorno all'equilibrio dei dyes tramite un materiale mediatore che gli cede elettroni mentre l'elettrone iniettato nell'anodo raggiunge il collettore.

La presenza di nanoparticelle metalliche, poste ad un'opportuna distanza dai dyes, permettono di ottenere un complessivo aumento nell'assorbimento della luce da parte di quest'ultimi.

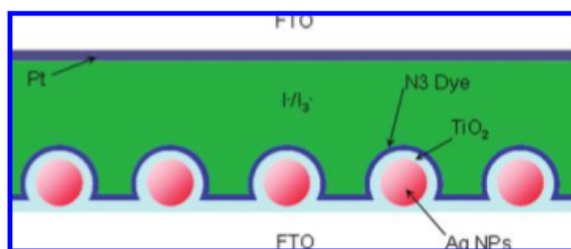


Figura 5.8: Esempio di struttura di una Dye-Sensitized Solar Cell con nanoparticelle d'argento.

#### 5.4 Uso del MEF nei concentratori solari luminescenti contenenti molecole per l'up- o down-conversion

L'applicazione principale per cui il fenomeno del Metal-Enhanced-Fluorescence di molecole organiche è stato da me studiato, è un suo possibile utilizzo all'interno dei concentratori solari luminescenti (LSCs) [Saraidarov, 2010].

Gli LSCs [Slooff, 2008], studiati a partire dagli anni '70, che consistono in una matrice piana di polimero trasparente contenente particelle luminescenti che assorbono la luce incidente ed in parte la riemettono. Le celle solari, connesse ad

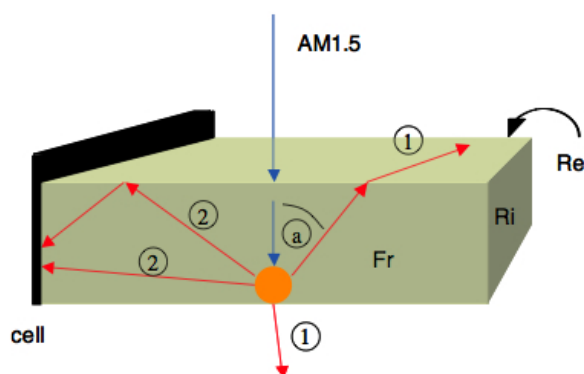


Figura 5.9: Schematizzazione del funzionamento di un LSC collegato ad una cella solare. La luce solare incide dall'alto e solo la parte riemessa che è soggetta alla riflessione totale (2) raggiunge la cella, mentre la restante (1) viene persa.

uno o più bordi del LSC (figura 5.9), ricevono parte della luce riemessa reindirizzata verso di esse per riflessione interna totale. Questi dispositivi concentrano la luce incidente e permettono di ridurre le dimensioni delle celle a pari potenza ma non di superare il limite di efficienza di Shockley-Queisser.



Dagli anni '70 sono stati studiati i fenomeni di up- e down-conversion di molecole organiche, le quali, sotto particolari condizioni (paragrafo 5.2), possono emettere fotoni di energia rispettivamente superiore od inferiore rispetto a quella assorbita. L'idea è che, se l'energia dei fotoni riemessi da tali molecole è dell'ordine del gap energetico del materiale di cui è costituita la cella, allora essi possono essere da questa assorbiti. Per cui, se le molecole nella matrice polimerica del concentratore solare luminescente sono scelte in modo che assorbano i fotoni altrimenti persi e che ne riemettono di utilizzabili, si sfrutterebbe maggiormente l'ampio range dello spettro solare. Inoltre, tale sistema potrebbe essere implementato tramite l'inserimento nei dispositivi LSCs, oltre che di molecole con le caratteristiche sopra descritte, anche di nanoparticelle metalliche che aumentano la resa quantica dei fluorofori per effetto del MEF e favoriscono la direzionalità della radiazione riemessa. Ciò non soltanto incrementerebbe il numero di fotoni che possono essere assorbiti dalla cella per effetto sia dell'incremento dei fotoni generati da ogni singola molecola sia del più ampio utilizzo della radiazione solare, ma ridurrebbero anche le perdite degli LCS grazie ad un opportuno direccionamento della radiazione verso la cella annessa.

In conclusione, per ottenere un miglioramento delle prestazioni delle celle fotovoltaiche bisogna scegliere molecole che assorbano nell'intorno della risonanza plasmonica [Kim, 2010] ed emettano ad una lunghezza d'onda che può essere assorbita dal materiale costituente la cella. Inoltre bisogna posizionarle stabilmente alla distanza ottimale dalla nanostruttura metallica per massimizzare sia l'enhancement nell'emissione sia la direzionalità della radiazione. In questo modo si otterrebbe un miglior utilizzo di una fonte d'energia pulita quale il sole ed un aumento complessivo nell'efficienza delle celle solari senza particolari costi aggiuntivi.



## Capitolo 6

# Descrizione generale degli esperimenti

Il fine del mio lavoro di tesi è stato quello di studiare il fenomeno fisico del MEF, cioè l'aumento dell'emissione di fluorescenza di molecole organiche fluorescenti mediante la loro vicinanza a nanoparticelle o substrati nanostrutturati d'oro, e d'implementare differenti sistemi nanoparticella/fluoroforo, tecnologicamente utilizzabili, che soddisfino le condizioni sperimentali per la sua generazione. Dopo l'identificazione di tali condizioni sperimentali sotto le quali si osserva tale fenomeno, sono state seguite tre differenti strade qui di seguito descritte.

### 6.1 Determinazione delle condizioni sperimentali: rifacimento dell'esperimento descritto nell'articolo 'Plasmon-enhancement fluorescence of dye molecules' di M.Iosin et al.

Mentre nell'articolo 'Plasmon-enhancement fluorescence of dye molecules' di M.Iosin et al. [Iosin,2008] si riportano enhancement osservabili per molecole direttamente adsorbite su nanostrutture di metallo, negli altri lavori [Lakowicz,2001; Narband,2009] l'intensificazione nell'emissione di fluorescenza è stata ottenuta in particolari condizioni, quando cioè la distanza relativa tra fluoroforo e nanoparticella metallica è compresa nel range tra 20-80 Å nel caso dell'argento (figura 6.1) [Lakowicz,2001] e 50-150 Å per l'oro (figura 6.2) [Kim, 2010; Zhang, 2007 [112]] (vedi paragrafo 4.3). Questi valori, ed in particolare il punto di massima intensificazione, dipendono in parte anche dalle dimensioni delle nanostrutture metalliche: più grandi sono più il picco del massimo si sposta a distanze superiori [Kim, 2010]. Fuori dal range d'intensificazione si ha che, per distanze inferiori, l'effetto osservato è quello del quenching mentre, per distanze superiori, le molecole non risentono della presenza del colloide metallico e si comportano come in sua assenza.

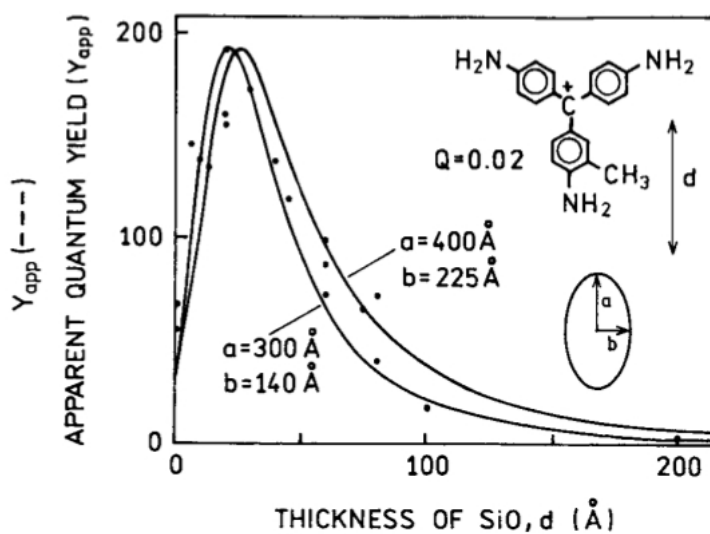


Figura 6.1: Andamento del fattore d'intensificazione della fluorescenza della fucsina in funzione dello spessore di un layer di silice con funzione di spaziatore tra un monostrato di molecole ed un film di isole d'argento di 40 Å [Lakowicz, 2001].

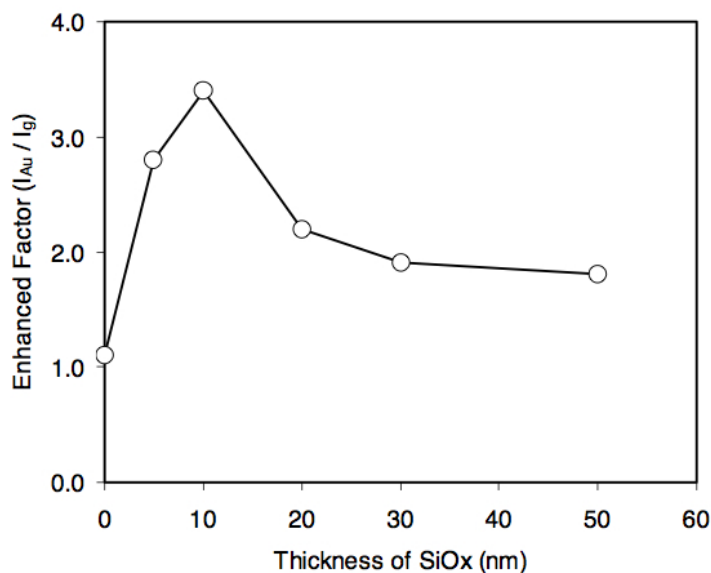


Figura 6.2: Andamento del fattore d'intensificazione della fluorescenza dell'Alexa Fluor-555 etichettata con l'anticorpo anti-Rabbit IgG in funzione dello spessore di un layer di silice con funzione di spaziatore tra un film nanostrutturato d'oro di 10 nm e le molecole [Zhang, 2007].

Si è deciso di ripetere l'esperimento dell'articolo di Iosin per verificare la necessità di utilizzare un qualche tipo di spaziatore per posizionare le molecole distanti dalla superficie metallica.

Il primo passo è stato quello di sintetizzare delle nanoparticelle d'oro in soluzione acquosa, di 18 nm di diametro medio, che presentino una risonanza plasmonica relativamente piccata nell'intorno di 520 nm. Per la preparazione di questo colloide è stato utilizzato il metodo di sintesi di Turkevich [Turkevich,1951] con il trisodio citrato (paragrafo 8.1) che ha permesso di ottenere nanoparticelle di forma circa pseudo-sferica (figure 6.3-6.4). Lo spettro di assorbimento di tali nanoparticelle d'oro è rappresentato in figura 6.5, dove si può notare che il picco di risonanza plasmonica cade a 518 nm ed è abbastanza stretto intorno a questa lunghezza d'onda.

La molecola fluorescente utilizzata è la rodamina 6G (figura 6.6) che, in so-

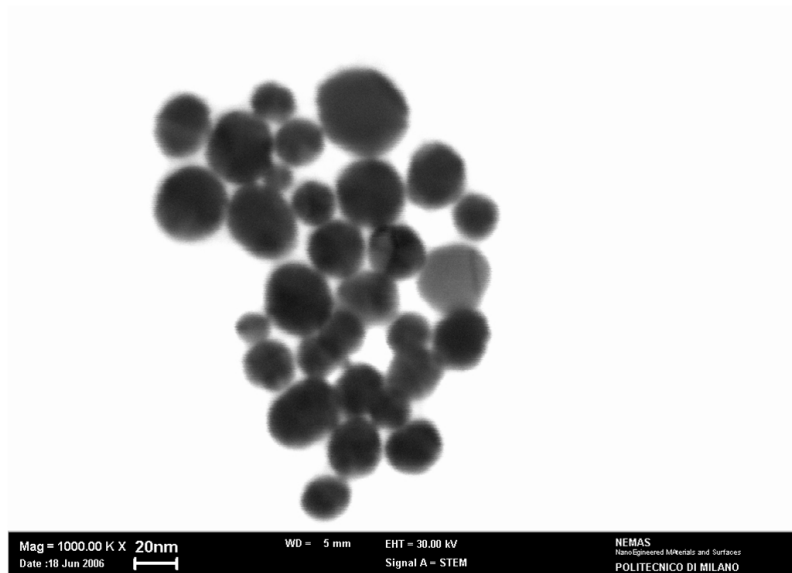


Figura 6.3: STEM nanoparticelle metalliche ottenute con il metodo di sintesi di Turkevich.

luzione acquosa, si presenta di color rosa intenso e la cui resa quantica, molto elevata, è prossima all'unità.

L'esperimento è consistito nel confrontare l'intensità di fluorescenza, misurata con lo spettrofluorimetro, di una soluzione acquosa di rodamina 6G  $3 \cdot 10^{-6}$  M con una soluzione acquosa in cui sono state mescolate la rodamina 6G e le nanoparticelle d'oro precedentemente descritte. La molarità dei fluorofori di questa seconda soluzione è la stessa della prima,  $3 \cdot 10^{-6}$  M, per poter così confrontare l'intensità d'emissione nei due casi. Il tutto è stato ripetuto più volte, ma il risultato ottenuto (figura 6.8) è sempre stato discordante rispetto a quello dell'articolo in cui si afferma di aver riscontrato un enhancement nell'emissione delle molecole di 2,8 volte (figura 6.7). Si è infatti sempre ottenuta una riduzione della fluorescenza di circa il 43%. Per la misura di fluorescenza con

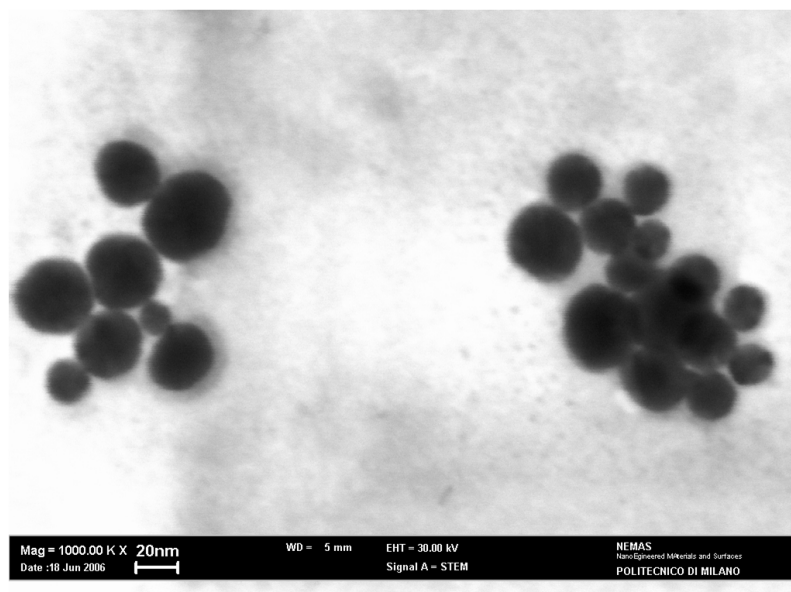


Figura 6.4: STEM nanoparticelle metalliche ottenute con il metodo di sintesi di Turkevich.

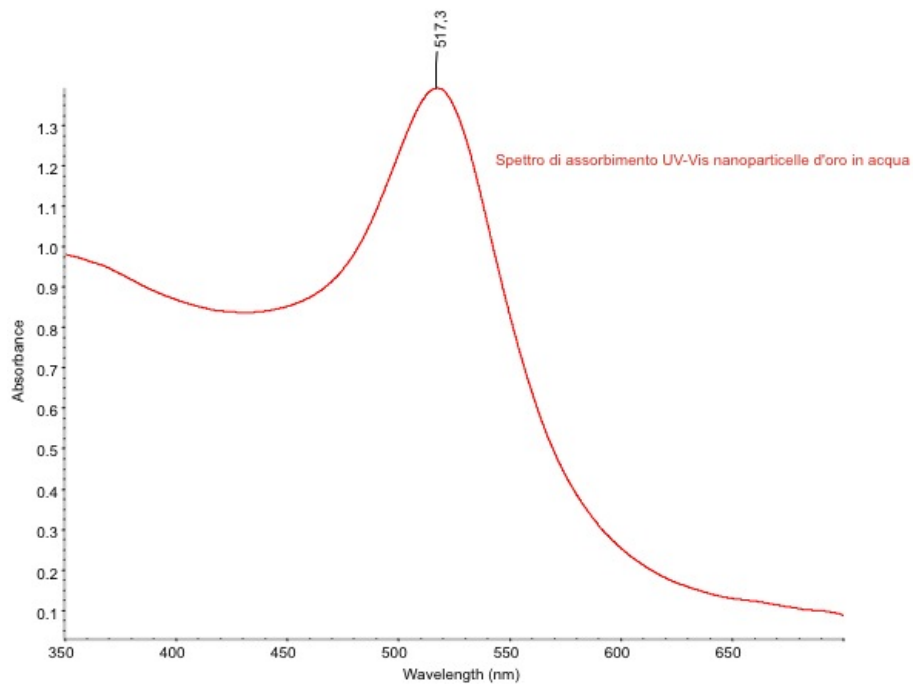


Figura 6.5: Spettro di assorbimento UV-Vis delle nanoparticelle d'oro

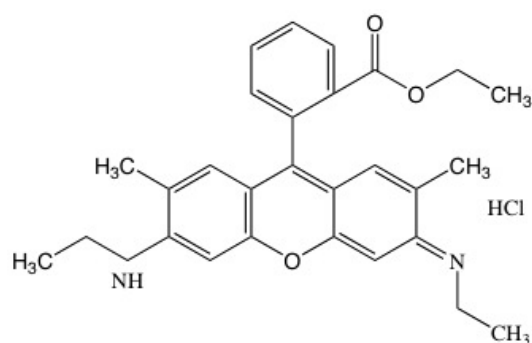


Figura 6.6: Struttura della rodamina 6G.

lo spettrofluorimetro, sono state prese le dovute precauzioni: al posto di una cuvetta con sezione quadrata ne è stata utilizzata una con sezione triangolare che riduce l'effetto dell'autoassorbimento delle molecole stesse, grazie al minore cammino ottico della radiazione d'eccitazione all'interno del campione. Per questo motivo, la diminuzione osservata è da ritenersi causata dal quenching dovuto alle nanoparticelle d'oro.

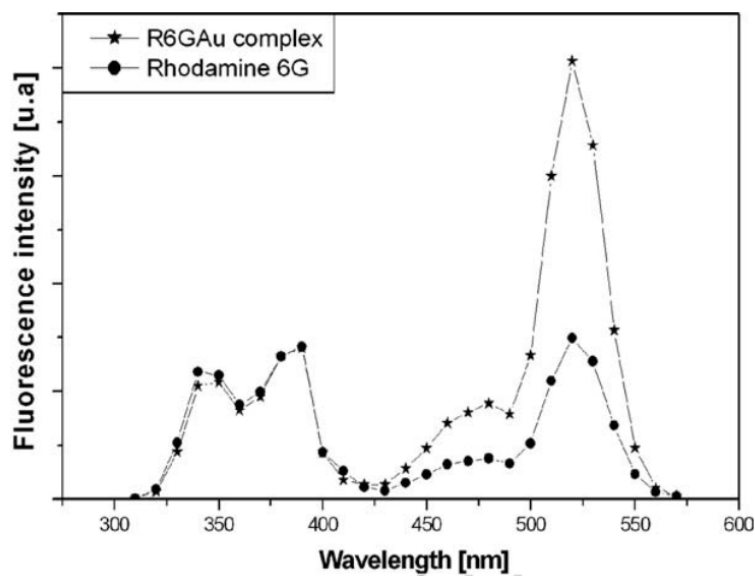


Figura 6.7: Risultato dell'articolo 'Plasmon-enhancement fluorescence of dye molecules' di M.Iosin et al.[Iosin,2008].

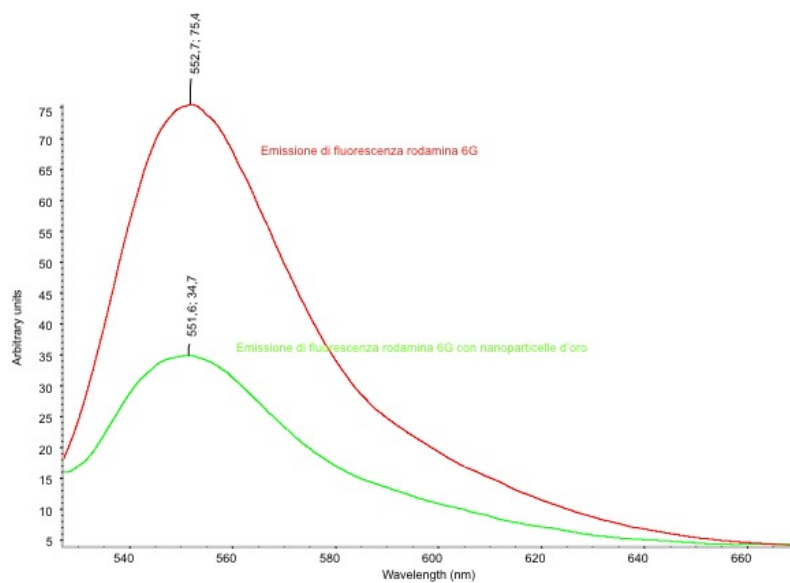


Figura 6.8: Risultato da me ottenuto rifacendo l'esperimento dell'articolo 'Plasmon-enhancement fluorescence of dye molecules' di M.Iosin et al. Spettri di assorbimento UV-Vis della sola rodamina 6G (rosso) e della rodamina 6G con le nanoparticelle d'oro (verde).



L'interazione tra le nanoparticelle d'oro e la rodamina 6G è stata poi studiata più in dettaglio tramite l'analisi dell'assorbimento. Dalla figura 6.9 si

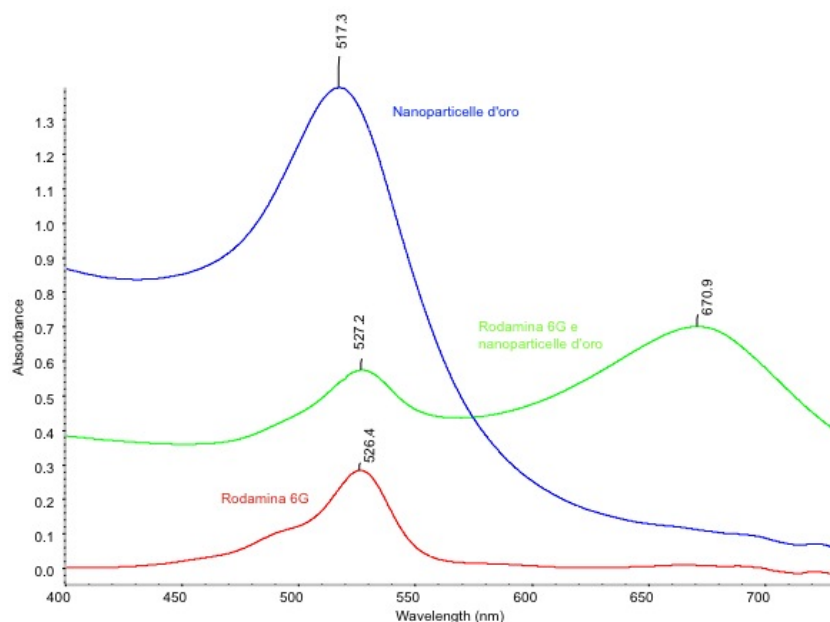


Figura 6.9: Spettri di assorbimento UV-Vis delle sole nanoparticelle d'oro (spettro blu), della sola rodamina 6G (spettro rosso) e delle nanoparticelle d'oro con la rodamina 6G (spettro verde).

può dedurre che la risonanza plasmonica delle nanoparticelle in presenza delle molecole fluorescenti si sposta a causa dell'aggregazione delle stesse. Questa è dovuta probabilmente ai controioni cloro della rodamina 6G (vedi figura 6.6) che si sostituiscono per ragioni energetiche agli anioni citrato sulla superficie delle nanoparticelle, modificando le condizioni di stabilità del sistema ed inducendo quindi l'aggregazione. Nello spettro della soluzione contenente sia la rodamina 6G che le nanoparticelle d'oro è inoltre presente anche un picco relativo al fluoroforo alla sua propria lunghezza d'onda. A questo riguardo, sulla base dei dati raccolti, non si possono fare affermazioni conclusive sulla natura di tale picco. Esso potrebbe essere originato o da fluorofori che non adsorbendosi sulle nanoparticelle rimangono liberi in soluzione o da quelli nei quali non avviene charge transfer con le nanoparticelle (si veda parte relativa all'enhancement chimico nell'Appendice A). Il probabile fenomeno di chemisorbimento, riportato in letteratura [Hildebrandt, 1984], in questo caso non è verificabile né tramite lo spettro di assorbimento UV-Vis né tramite quello di fluorescenza, in quanto non è presente un sostanziale shift del picco in lunghezza d'onda tra il caso senza e con le nanoparticelle. Per cui l'eventuale modifica dei livelli elettronici della molecola potrebbe esserci ma dare un segnale con un'intensità relativa molto inferiore rispetto al caso delle molecole libere e quindi non essere visibile negli spettri perché coperto dal segnale più intenso [Chandrasekharan, 2000].

Lo stesso esperimento è stato poi ripetuto in tutti i suoi passi anche con altri fluorofori, rodamina B (figura 6.10) e rosa bengala (figura 6.12), usando però concentrazioni molari diverse rispetto a quelle dell'articolo ma scelte in modo tale da avere un'intensità di fluorescenza abbastanza elevata. I risultati ottenuti, riportati nelle figure 6.11-6.12, mostrano una diminuzione della fluorescenza in entrambi i casi: per la rodamina B è del 38% mentre per il rosa bengala è il 23,6%.

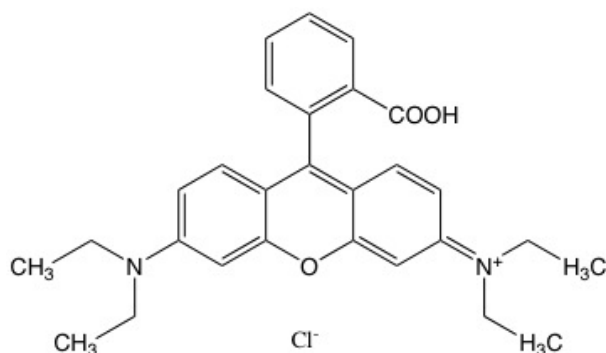


Figura 6.10: Struttura della rodamina B.

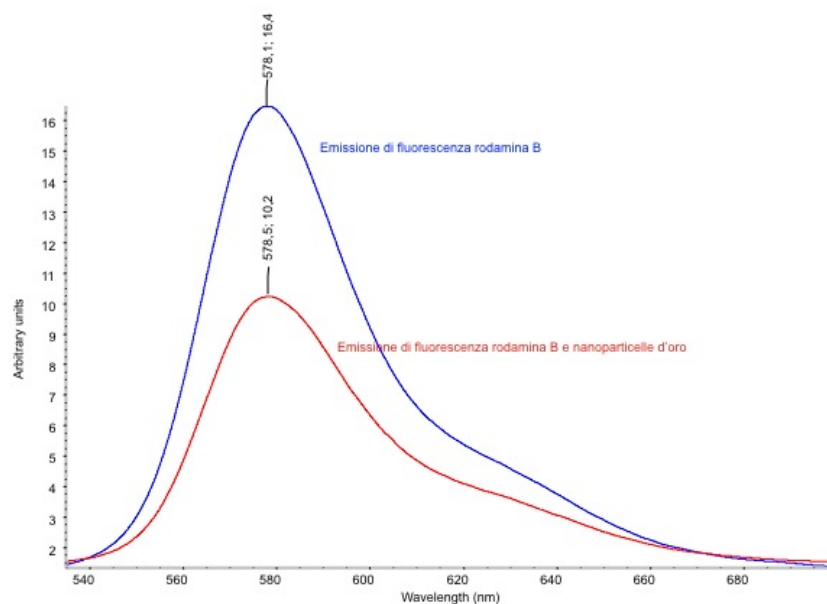


Figura 6.11: Spettri di fluorescenza del rodamina B senza (blu) e con le nanoparticelle d'oro (rosso).

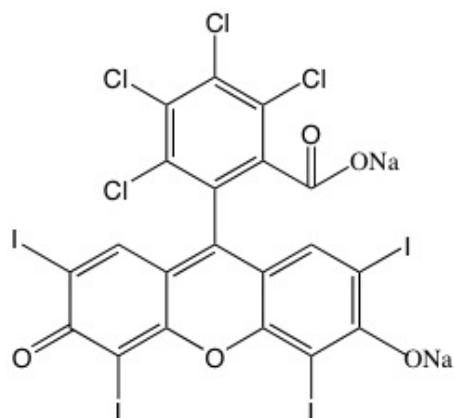


Figura 6.12: Struttura della rosa bengala.

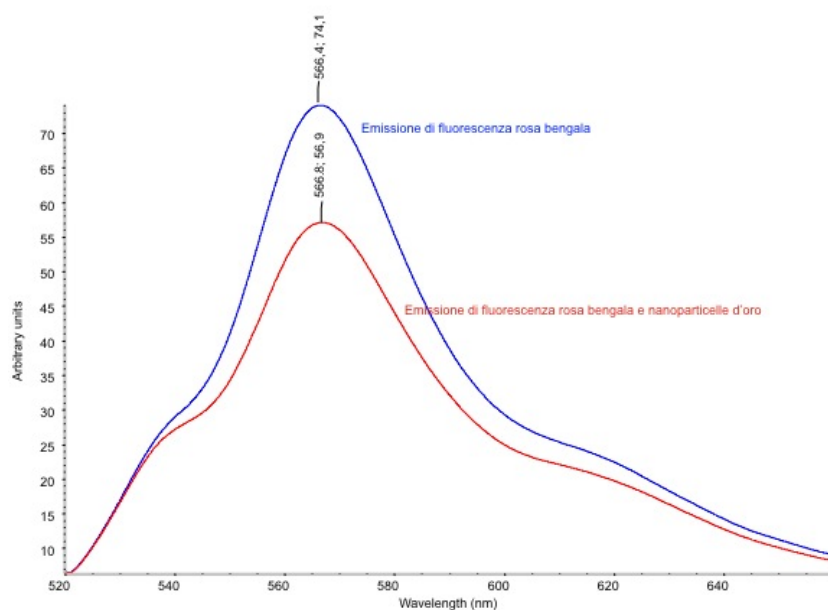


Figura 6.13: Spettri di fluorescenza del rosa bengala senza (blu) e con le nanoparticelle d'oro (rosso).

Dai risultati ottenuti tramite questo esperimento, si è verificata la necessità di introdurre uno spaziatore tra metallo e molecola per ridurre l'effetto del quenching e favorire quello d'intensificazione. Per questo gli sforzi successivi sono stati volti a trovare differenti sistemi, semplici e riproducibili, composti da nanoparticella-spaziatore-molecola fluorescente.

## 6.2 Utilizzo di uno strato silice-filico come spaziatore tra matrice di fluorofori e nanoparticella

Un primo modo per posizionare in modo stabile ad una distanza appropriata le molecole attorno alle nanoparticelle disperse in soluzione, ispirato da analoghi lavori di letteratura, è stato quello di ricoprire queste con uno strato silice-filico [Alsan, 2006 [8-9];Coenen, 1987; Marzán,1996; Lu,2002;Tunc,2005] (con la funzione di spacer) e poi di far crescere sopra a quest'ultimo, come rappresentato in figura 6.14, uno strato di silice inglobante i fluorofori [J.-L. Gong, 2006; Mulvaney,2003; Noginov, 2009].

Come nell'esperimento precedente, sono state scelte le nanoparticelle d'oro perchè, sebbene presentino un effetto di quenching fino a distanze superiori rispetto a quelle d'argento, l'oro ha una maggiore stabilità intrinseca e nel tempo (infatti è poco soggetto a fenomeni quale l'ossidazione) ed esistono una grande varietà di processi di sintesi chimica per ottenere queste nanostrutture di dimensioni controllate senza e con shell di diverse forme. Da letteratura [Lakowicz,2001] è stato inoltre appreso che per osservare un maggior aumento della fluorescenza, è meglio utilizzare fluorofori a bassa resa quantica intrinseca (il motivo è stato discusso nel paragrafo 4.1) [Kim, 2010] e per questa ragione, invece della rodamina 6G la cui resa è di 0,95, si è scelto il rosa bengala (figura 6.10) che presenta una resa di 0,1 [Seybold,1969]. Per la formazione della shell di silice si è utilizzato il metodo di Stober descritto nel capitolo 8, paragrafo 8.1.

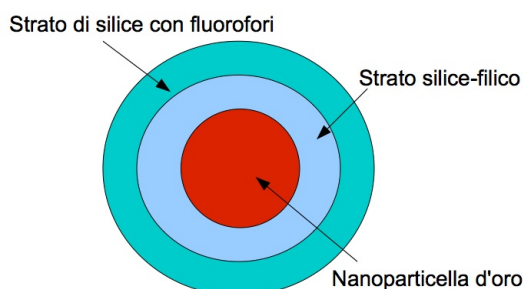


Figura 6.14: Struttura dell'esperimento con la shell di silice.

Una volta sintetizzate le nanoparticelle d'oro con shell di silice contenente i fluorofori, è stato verificata tramite spettroscopia di assorbimento e fluorescenza la presenza di tali molecole all'interno della matrice. Dalle misure di assorbimento UV-Vis, non è risultato possibile determinare il numero (o molarità) delle molecole di rosa bengala realmente inglobate nella shell, a causa del loro ridotto numero, ma gli spettri di fluorescenza hanno mostrato un chiaro, seppur non molto intenso, segnale di fluorescenza. Considerando quindi il limitato numero di molecole nella matrice e la bassa resa quantica di fluorescenza delle stesse, questo risultato può essere interpretato come un'intensificazione dell'emissione di fluorescenza dei fluorofori in quanto posti ad un'opportuna distanza dal metallo.

Tale metodologia non è stata ulteriormente implementata per la grande difficoltà riscontrata nella quantificazione dell'enhancement.

### 6.3 Sintesi di un fluoroforo funzionalizzato

La seconda strada seguita per interporre uno spaziatore tra nanoparticelle e molecole è stata la funzionalizzazione della molecola fluorescente tramite una catena alchilica con un gruppo tiolo terminante, che permettesse l'autoadsorbimento sulla superficie delle nanoparticelle d'oro.

Le nanoparticelle d'oro in questo caso sono state sintetizzate in toluene con il tetraottil-ammonio-bromuro (TOAB), poichè la molecola funzionalizzata risulta solubile solo in solventi organici e non in acqua. Come molecola fluorescente si è scelta la resorufina (figura 6.15) sia perchè è in risonanza con il

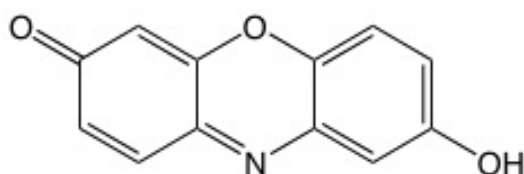


Figura 6.15: Struttura della resorufina.

plasmon delle nanoparticelle d'oro sintetizzate in toluene [Kim, 2010] come si vede dalla sovrapposizione tra gli spettri di assorbimento delle nanoparticelle e della molecola (figura 6.16), sia per la sua bassa resa quantica, sia per la presenza di un gruppo idrossilico (OH) che permette la reazione della resorufina con un  $\alpha, \omega$ -dibromoalcano in ambiente basico [Shen, 2009]. La scelta

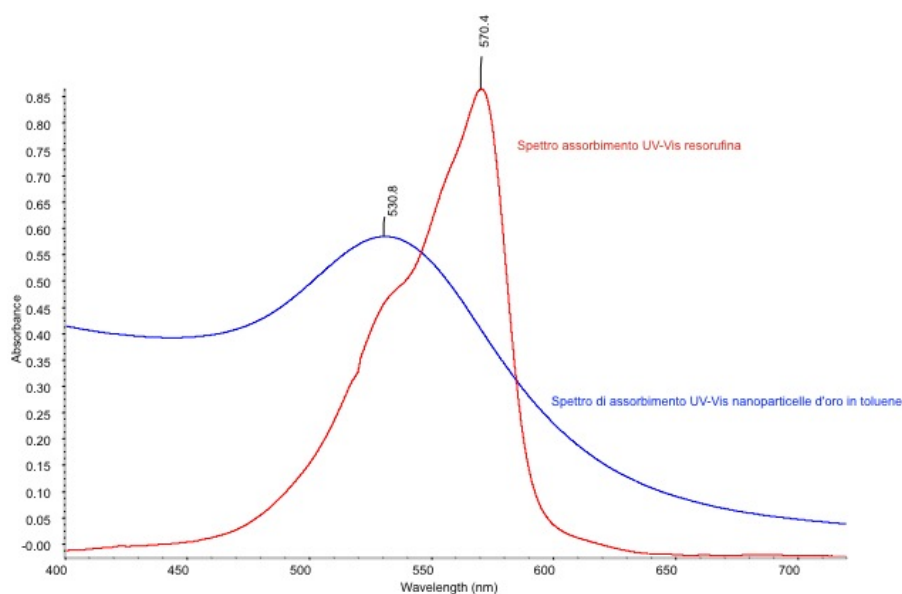


Figura 6.16: Sovrapposizione degli spettri di assorbimento delle nanoparticelle d'oro sintetizzate in toluene (blu) e della resorufina (rosso).

di utilizzare come catena alchilica il di-bromo-dodecano [Kitson,1997], la cui lunghezza è di circa un nanometro, e non una catena più lunga, è dovuta al fatto che altrimenti tali catene tendono a ripiegarsi su loro stesse non garantendo più di avere posizionato le molecole lontano dalla superficie metallica. Il tiolo (SH), necessario per l'adsorbimento del fluoroforo alla nanoparticella [Ionita,2008; Kalsin,2006; Sendroiu,2009; Thomas,2003; Wang, 2007; Werts,2004; Zanchet,2000], può essere ottenuto per successiva reazione del bromo-terminale con tiourea [Touaibia,2004]. Lo schema di sintesi è riportato in figura 6.17.

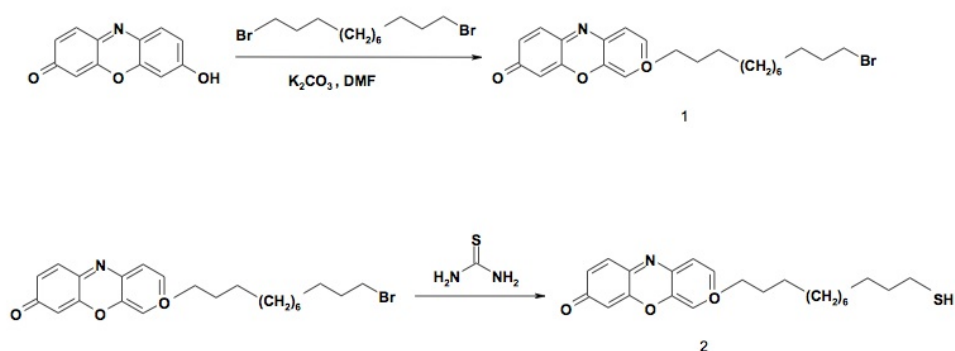


Figura 6.17: Schema di sintesi della resorufina  $\omega$ -mercaptoalchil sostituita.

La sintesi del fluoroforo funzionalizzato è risultata in realtà abbastanza complessa per la formazione di un gran numero di sottoprodotti la cui formazione e contenuto era fortemente dipendente da piccole variazioni nelle condizioni sperimentali. Questo ha portato per ogni passaggio a basse rese di reazione e ad un difficile isolamento dei prodotti desiderati.

Date le difficoltà incontrate nella procedura di sintesi, si è preferito optare per un diverso metodo basato sulla produzione di un multistrato di nanoparticelle/isolante/fluoroforo al fine di determinare sperimentalmente, per il sistema in esame, la distanza ottimale per generare un enhancement di fluorescenza. Il risultato di questo studio costituirà la linea guida per la scelta della lunghezza dello spaziatore, al fine di eseguire una sintesi mirata del fluoroforo funzionalizzato secondo lo schema qui proposto.

## 6.4 Strutture solide multistrato: descrizione e caratterizzazione

Accanto alla sintesi della molecola funzionalizzata, si è studiato il modo di ottenere l'effetto di enhancement della fluorescenza di molecole organiche utilizzando una struttura solida multistrato [Chowdhury, 2008; Knob, 2010; Renier, 2010; Sokolov, 1998], facilmente e velocemente realizzabile, in cui il primo layer è un substrato d'oro nanostrutturato, il secondo un eventuale spaziatore formato da un film di polimero ed il terzo una matrice, anch'essa di polimero, inglobante i fluorofori (figura 6.18).

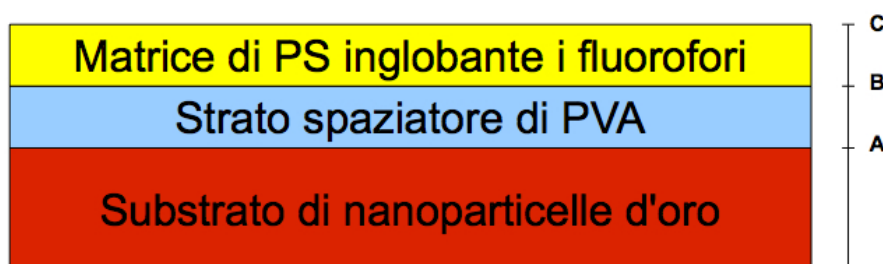


Figura 6.18: Struttura generale dei campioni.

La procedura sperimentale generale per la preparazione dei campioni è qui di seguito descritta. Ogni strato è stato ottenuto con la tecnica dello spin coating che permette, se vengono mantenute invariate le condizioni sperimentali (concentrazione e quantità della soluzione, velocità e tempo di rotazione e tipo di substrato), di avere una buona riproducibilità. Quindi si è prima deposto uno strato di nanoparticelle d'oro su un vetrino da microscopio, poi un eventuale layer di poli-vinil-alcol (PVA) di spessore variabile con funzione di spaziatore ed infine un film di polistirene (PS) inglobante i fluorofori.

Le nanoparticelle d'oro utilizzate nella formazione del primo layer sono state sintetizzate in toluene con il tetraottil-ammonio-bromuro (TOAB) (paragrafo 8.2). In soluzione si dovrebbero presentare monodisperse, di forma circa sferica e diametro medio tra 5 e 6 nm (figura 6.19) con frequenza di plasma a 530 nm<sup>1</sup> [Thomas, 2002]. Esse sono state scelte perchè le catene alchiliche che le circondano per stabilizzarle (figura 6.20), hanno una migliore affinità con il substrato di vetro rispetto a quelle in acqua (paragrafo 8.1), circondate da ioni di trisodio citrato. Ciò è probabilmente dovuto al fatto che queste catene, presenti in eccesso, formano una sorta di blend, nel quale le nanoparticelle sono (ragionevolmente) omogeneamente disperse (figura 6.21), e contribuiscono quindi ad una buona filmabilità. L'immagine SEM della struttura ottenuta (figura 6.16) verifica tale ipotesi, infatti si osserva sia il blend organico che ricopre interamente la superficie (freccia blu) sia il fatto che le nanoparticelle sono tutte quasi interamente ricoperte da tale matrice (freccia rossa). Nei film ottenuti, come si

<sup>1</sup>Questi dati sono relativi all'articolo 'Surface binding properties of tetraoctylammonium bromide-capped gold nanoparticles' di K.G.Thomas et al. [Thomas, 2002].

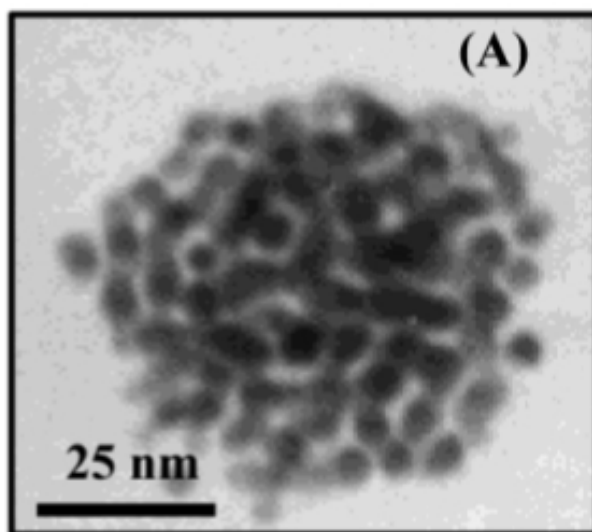


Figura 6.19: Immagine TEM delle nanoparticelle d'oro ricoperte dal TOAB. Immagine presa dall'articolo 'Surface binding properties of tetraoctylammonium bromide-capped gold nanoparticles' di K.G.Thomas et al. [Thomas, 2002].

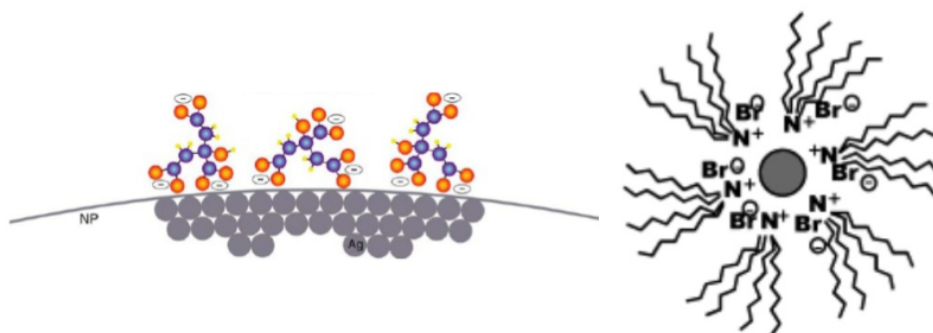


Figura 6.20: Struttura delle nanoparticelle ottenute tramite la sintesi in acqua con il trisodio citrato (a sinistra) ed in toluene con il TOAB (a destra).

può vedere dall'immagine SEM di figura 6.22 (purtroppo l'immagine non ha una buona risoluzione a causa della non conduttività della matrice organica sopra le nanoparticelle che, sotto l'azione del fascio di elettroni del SEM, si carica, rendendo impossibile la visualizzazione della zona indagata), le nanoparticelle non sembrano avere la forma circa sferica che ci si aspetterebbe e questo è probabilmente dovuto all'aggregazione delle stesse. Si è confrontato l'assorbimento delle nanoparticelle in soluzione o nel film tramite gli spettri di assorbimento UV-Vis (figura 6.23). Qui si vede che il picco di assorbimento si sposta, da 530,8 nm a 552,3 nm, e si allarga; ciò è principalmente dovuto a due effetti, il cambiamento di indice di rifrazione del mezzo che le circonda e soprattutto l'aggregazione.



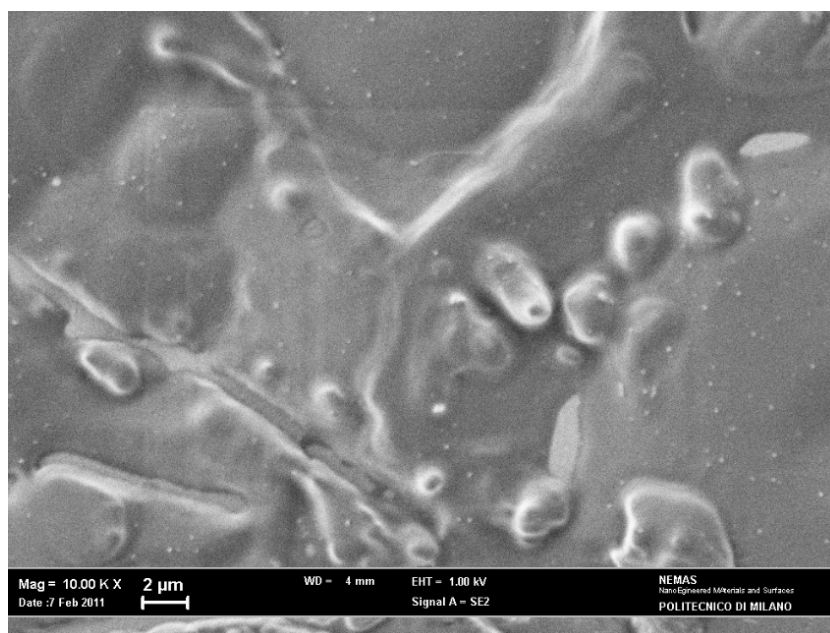


Figura 6.21: Immagine SEM delle nanoparticelle d'oro ricoperte di TOAB. Veduta generale.

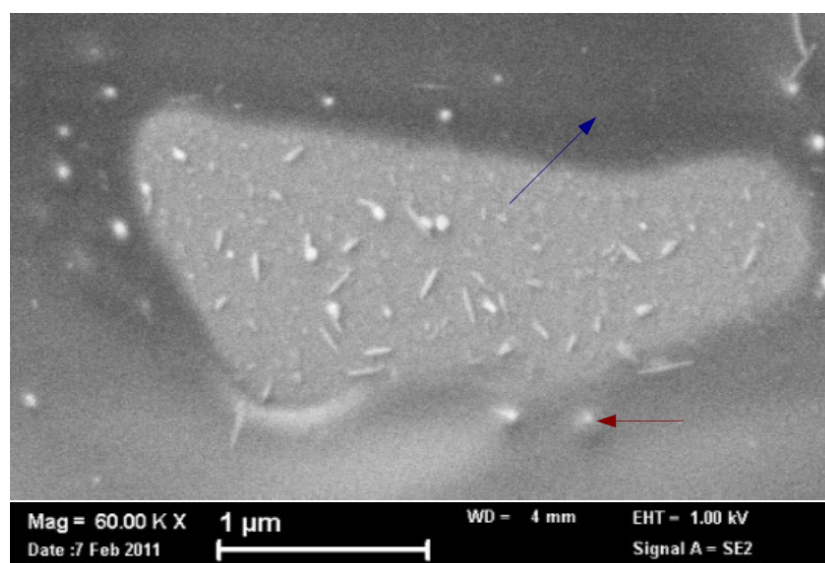


Figura 6.22: Immagine SEM del film di nanoparticelle su vetro. La freccia blu indica la matrice organica che ingloba le nanoparticelle e che ricopre tutto il vetrino, invece quella blu mostra una nanoparticella completamente ricoperta dal blend.

I substrati ottenuti si presentano opachi ed omogenei (figura 6.24) e con la

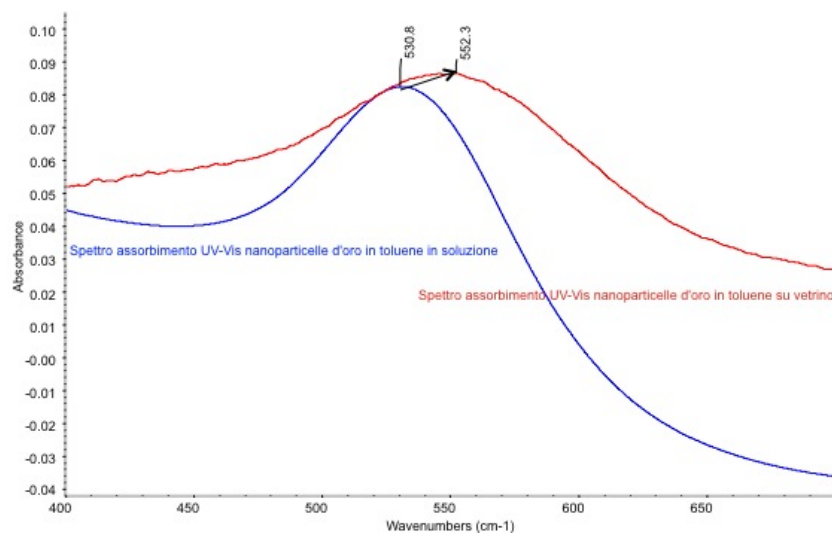


Figura 6.23: Confronto tra gli spettri di assorbimento UV-Vis delle nanoparticelle d'oro sintetizzate in toluene in soluzione (blu) e filmate su un vetrino da microscopio tramite spin coating (rosso).

tecnica AFM (figura 6.25) si è ottenuta una rappresentazione tridimensionale della loro topografia in una piccola area ( $50 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$ ). Da questa si nota che le singole nanoparticelle non sono visibili perchè immerse nel materiale organico che presenta una certa rugosità. Lo spessore medio del layer è dell'ordine dei 650 nm, come verificato da misure con il profilometro.



Figura 6.24: Foto del film di nanoparticelle sul vetrino.

Per la scelta dei polimeri da utilizzare nei due strati sovrastanti è stato necessario fare una accurata scelta, principalmente per due ragioni. La prima è

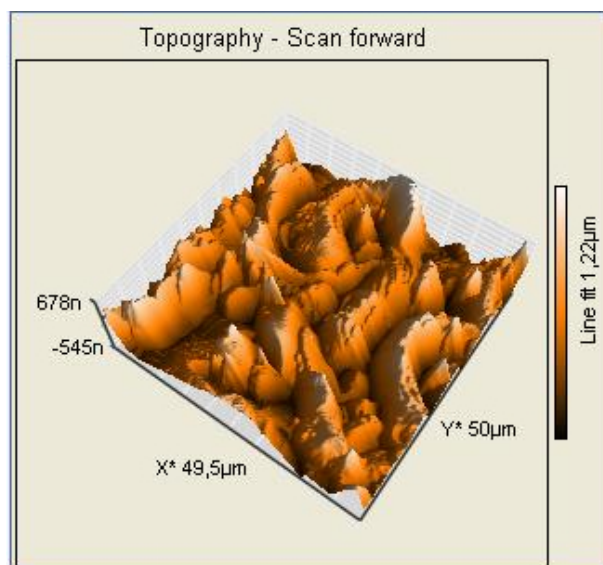


Figura 6.25: AFM del substrato di nanoparticelle d'oro ottenuto per spin coating.

la solubilità delle nanoparticelle del substrato in solventi organici; ciò implica che, se il polimero che deve formare il film sovrastante è solubile in un solvente organico, durante la deposizione per spin coating lo strato di nanoparticelle può essere danneggiato e/o risultare disomogeneo. La seconda riguarda invece la restrizione nella scelta dei due polimeri: quello deposto come primo strato deve essere insolubile nel solvente usato nel secondo layer al fine di evitare la compenetrazione tra gli strati, questa caratteristica è nota come ortogonalità dei solventi. Per questi motivi sono stati scelti il PVA disciolto in acqua per lo strato spaziatore ed il PS in toluene come matrice per i fluorofori.

Nella preparazione dei campioni sono stati mantenuti costanti tutti i parametri sperimentali, eccetto la velocità di rotazione dello spin coating per la formazione dello strato di PVA (paragrafo 8.3). Così sono stati ottenuti set di campioni con identica struttura, ad eccezione dello spessore dello strato spaziatore, ed è stato dunque possibile comparare le misure delle diverse intensità di fluorescenza. Le variazioni della velocità di rotazione hanno permesso di ottenere film con spessori differenti: con l'aumentare del numero di giri per minuto, a pari concentrazione di soluzione, si è passati da spessori di circa 62 nm a circa 18 nm<sup>2</sup>. L'altra variabile che si sarebbe potuta modificare allo stesso fine, è la concentrazione della soluzione ma è stato osservato, tramite microscopio ottico, che la copertura ottenuta con concentrazioni superiori è risultata talvolta incompleta e disuniforme. Per questo motivo si è preferito lasciarla invariata.

Come molecola fluorescente si è deciso di usare il Lumogen F Red 305 (figura 6.26), non soltanto perchè il suo assorbimento è abbastanza in risonanza con la frequenza di plasma delle nanoparticelle del substrato (figura 6.27), ma

<sup>2</sup>Queste stime sono state ricavate tramite misure con il profilometro

anche perchè ha una buona solubilità in toluene (80 g/l), solvente utilizzato per disciogliere il PS.

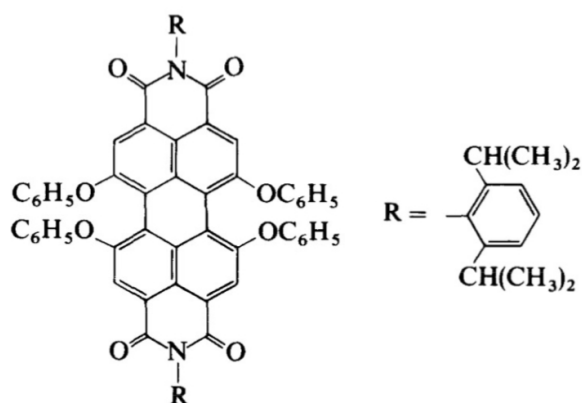


Figura 6.26: Struttura del Lumogen F Red 305 [Seybold, 1989].

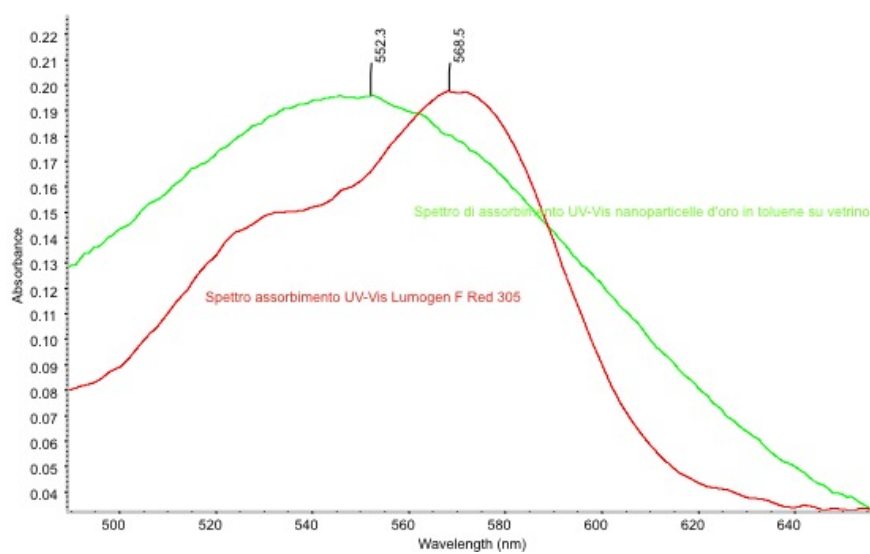


Figura 6.27: Spettri di assorbimento del substrato di nanoparticelle d'oro (verde) e del Lumogen F Red 305 (rosso).

## Capitolo 7

# Strutture multistrato: analisi dei dati

Per studiare l'andamento dell'intensità dell'emissione di fluorescenza delle molecole del Lumogen F Red 305 in funzione della loro distanza dalle nanoparticelle d'oro, nella struttura multistrato descritta nel capitolo precedente, è stato fatto variare lo spessore del film intermedio, che quindi svolge la funzione di spaziatore tra metallo e fluorofori.

### 7.1 Descrizione dell'esperimento

L'andamento dell'intensità di fluorescenza in funzione della distanza tra nanoparticelle e molecole è stato ricavato utilizzando i risultati delle misure relativi a quattro campioni con spessori dello spacer leggermente diversi ed un quinto campione con uno spessore dello spaziatore molto spesso. Come riferimento dell'intensità di fluorescenza del Lumogen, non è stato possibile avere un campione senza lo strato sottostante di nanoparticelle, perchè la diversa riflettività diffusa di campioni senza e con il metallo non permette di mettersi nelle stesse condizioni sperimentali e quindi di poter confrontare i dati. Per questo motivo si è pensato di porsi nella condizione in cui la distanza metallo-fluorofori è talmente elevata che, un'eventuale interazione tra le due parti, risulterebbe trascurabile. Ciò è stato ottenuto formando un film di PVA molto spesso dell'ordine del micron (il quinto campione di cui si è scritto prima). Per quanto riguarda gli altri quattro, il primo è privo dello strato di PVA, il secondo ha un spaziatore di circa 18 nm, il terzo 48 nm ed il quarto 62 nm. Per ottenere queste stime di spessore sono state fatti numerosi tentativi utilizzando differenti tecniche quali SEM, AFM e profilometro. La misura con il SEM non è stata possibile a causa della non conducibilità sia del blend organico, nel quale le nanoparticelle sono disperse, sia dei polimeri, PVA e PS, i quali, caricandosi sotto l'effetto del fascio di elettroni, non hanno permesso di avere un'immagine chiara della sezione della struttura. Con l'AFM, invece, il problema riscontrato è stata il ridotto range di scansione superficiale: infatti l'elevata rugosità del substrato di nanoparticelle rende necessario mediare nell'intorno del gradino di spessore su distanze di molto superiori ai 50  $\mu\text{m}$ , limite massimo di questo strumento. Soltanto con il profi-

lometro è stato possibile ottenere il risultato cercato. Esso, infatti, permette di superare le varie problematiche ed, in particolare, di fare scansioni orizzontali sulla superficie dell'ordine del millimetro. L'unica limitazione rispetto agli altri due strumenti è che la risoluzione non può scendere al di sotto di una decina di nanometri ma, nonostante questo, si è comunque riusciti ad ottenere valori conformi con i dati di letteratura [Biju, 2001; Hall, 1998; Lakowicz, 2003], sulla base di numerose misure ripetibili.

L'emissione di fluorescenza è stata misurata sia con lo spettrofluorimetro che utilizzando uno spettrometro Raman (spettroscopia Raman, appendice A).

L'utilizzo dello spettrofluorimetro porta alcuni vantaggi: oltre ad essere uno strumento specifico per questo tipo di misura, permette di selezionare la lunghezza d'onda dell'eccitatrice e di ottenere, come risultati, valori d'intensità mediati su un'area abbastanza ampia e regolabile. Con questa apparecchiatura la misura è stata effettuata ponendo il campione in verticale in modo tale che il fascio illuminasse la superficie del film contenente i fluorofori. Grazie ad un goniometro, posto sotto il porta-campione, è stato possibile selezionare l'angolo d'incidenza, e quindi quello d'uscita, del fascio. Perciò è stato scelto un angolo di 20 gradi sia per evitare di raccogliere la luce riflessa specularmente, che è composta principalmente dai fotoni incidenti non assorbiti, sia per mettersi in una condizione in cui la luce rilevata fosse abbastanza intensa da dare un buon segnale in uscita. In questo modo e con i parametri selezionati, lo spot sul campione risultava essere dell'ordine delle decine di  $\text{mm}^2$ .

Lo strumento Raman, normalmente utilizzato per misure di spettroscopia Raman<sup>1</sup>, permette anche di fare dei mapping sia di spettri Raman sia di fluorescenza su aree di diverse dimensioni. Esso è stato usato proprio in questa modalità, cioè per mappare l'intensità di fluorescenza in 35 punti equidistanti all'interno di un'area di circa  $774 \mu\text{m}^2$  e dai risultati ottenuti è poi stato calcolato il valor medio riportato nei grafici seguenti. Tramite il microscopio ottico, annesso allo strumento, è stato possibile scegliere una zona omogenea in cui fare il campionamento. Questo è stato utile perchè l'area di misura scelta era molto piccola ma si voleva comunque ottenere un valore mediato.

Per osservare il fenomeno del MEF bisogna mettersi il più possibile in risonanza con la frequenza di plasma delle nanoparticelle che in questo caso è di circa 550 nm (figura 6.23). Con lo spettrofluorimetro, come detto, è possibile scegliere la lunghezza d'onda d'eccitazione desiderata, mentre con lo strumento Raman la linea eccitatrice a disposizione più vicina a questa lunghezza d'onda è la 514 nm. Per questo motivo le misure con lo spettrofluorimetro sono state realizzate sia a 550 nm, in risonanza con la frequenza di plasma, sia a 514 nm per poter così confrontare l'andamento dell'intensità ottenuto con i due strumenti.

## 7.2 Analisi dei dati

I grafici seguenti riportano in ordinata il valore d'intensità del massimo della banda d'emissione di fluorescenza e in ascissa sia lo spessore dello strato spaziatore sia la distanza media tra nanoparticelle e molecole. In quest'ultimo caso come zero del riferimento è stata presa la superficie superiore del strato di nanoparticelle (sezione A, figura 6.18) ed i valori sull'ascissa sono la somma dello

<sup>1</sup>Questi spettri mostrano le frequenze di oscillazione dei moti vibrazionali del campione

spessore dello strato di PVA e del valor medio dello spessore di quello di PS (somma del segmento AB e della metà di BC, figura 6.18). Queste due differenti rappresentazioni della stessa misura sono dovute alla natura stessa dei dati ottenuti. Infatti, ogni punto sul grafico rappresenta il valore d'intensità del massimo mediato dallo stesso strumento sull'area di misura. A sua volta questo valor medio è la media pesata, del rate di decadimento radiativo, dei contributi delle singole molecole in base alla loro distanza relativa dalle nanoparticelle. Quest'ultimo concetto si può spiegare in modo semplice considerando i seguenti due aspetti. Il primo è che lo strato di PS contenente i fluorofori ha uno spessore non approssimabile a zero, per cui alcune molecole sono più vicine al metallo, altre meno ed altre ancora in una posizione intermedia. Il secondo è che il fattore d'intensificazione dell'emissione di fluorescenza ha un andamento non lineare fortemente dipendente dalla posizione della molecola rispetto alle nanoparticelle<sup>2</sup>. Quindi, in base alla distanza dal substrato, ogni molecola risente in maniera diversa della presenza delle nanostrutture metalliche ed il suo contributo all'emissione è proporzionale al fattore d'intensificazione per quella distanza.

L'esperimento svolto sul set di differenti campioni è stato ripetuto variando la quantità di fluorofori nello strato di PS ed utilizzando due strumenti di misura molto diversi tra loro. L'accordo dei risultati ottenuti nei vari casi, dà adito ad affermare che questi sistemi, seppur nella loro semplicità e velocità di preparazione, siano ottimali per generare e quantificare in modo riproducibile il fenomeno del MEF.

La prima serie di campioni sono stati realizzati con lo strato di PS inglobante le molecole fluorescenti di circa 70 nm. Per ogni campione sono state ottenute tre tipi di misure: la prima con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm, la seconda sempre con lo spettrofluorimetro ma eccitatrice a 514 nm e la terza con il Raman eccitando a 514 nm. In tutti e tre i casi, l'andamento della curva d'intensificazione è risultato conforme con quello che ci si aspettava e con curve simili ottenute in altri esperimenti riportati in letteratura [Lakowicz, 2001; Renier, 2010; Zhang, 2007 [112]]. Esso è caratterizzato da un aumento non lineare del fattore d'intensificazione fino alla distanza ottimale, che dipende da moltissimi parametri, e da una successiva decrescita, sempre non lineare, fino a distanze in cui l'interazione metallo-molecole non agisce più e quindi l'intensificazione risulta nulla. Tali curve sono il risultato dei contributi delle transizioni dipolari nelle molecole e nel metallo e sono anche legate alla presenza di un solvente [Vukovic, 2009].

Nelle figure 7.1-7.2 sono rappresentati i dati derivanti dalla misura con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm. In questo caso il massimo d'intensificazione si trova per uno spessore dello spaziatore di 48 nm e per una distanza media di 85 nm, mentre il fattore d'intensificazione massima risulta di 1,42.

---

<sup>2</sup>In realtà vi sono altri fattori da cui questa curva d'intensificazione dipende come ad esempio la dimensione delle nanoparticelle, il tipo di metallo ed altro ancora.

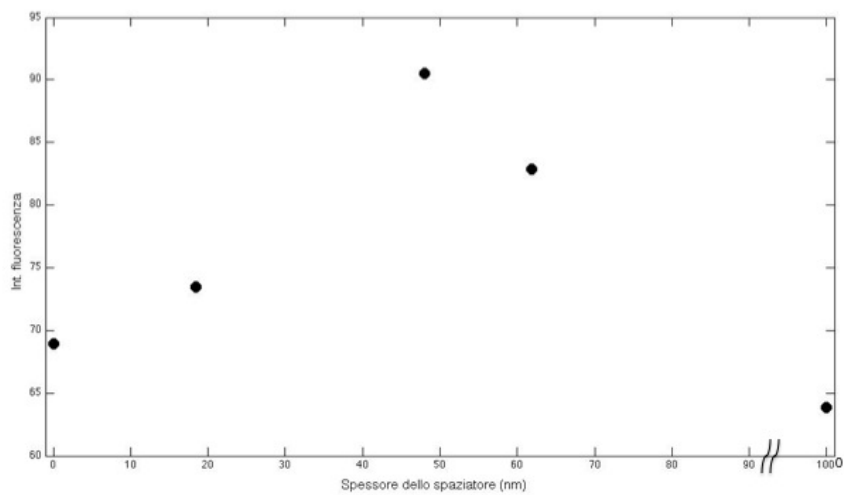


Figura 7.1: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm.

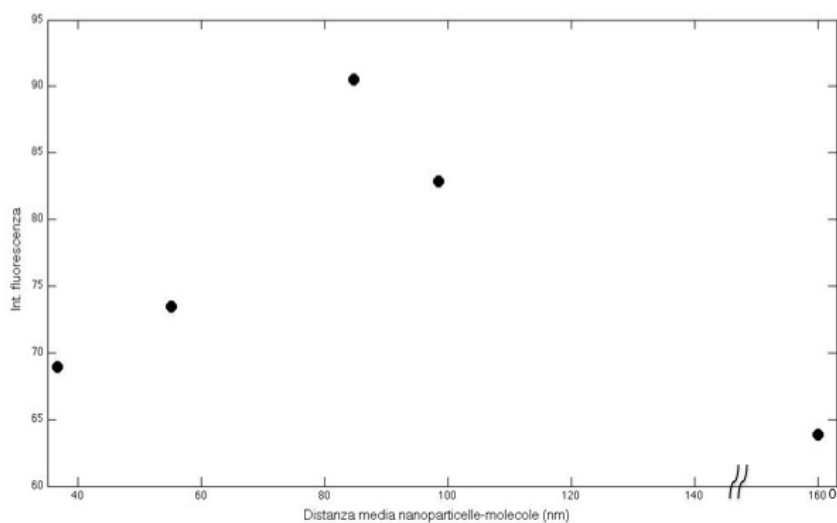


Figura 7.2: Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm.



Nei grafici delle figure 7.3-7.4 è rappresentato il caso della misura con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm. Anche qui il massimo cade a 48 nm di spessore dello spaziatore e 85 nm di distanza media e l'intensificazione massima è di 1,46. A differenza del caso con eccitatrice a 550 nm, l'intensità di

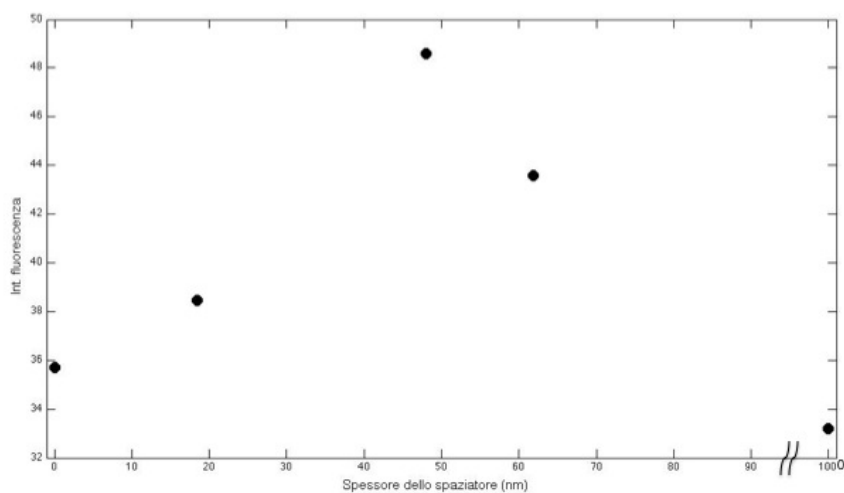


Figura 7.3: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm.

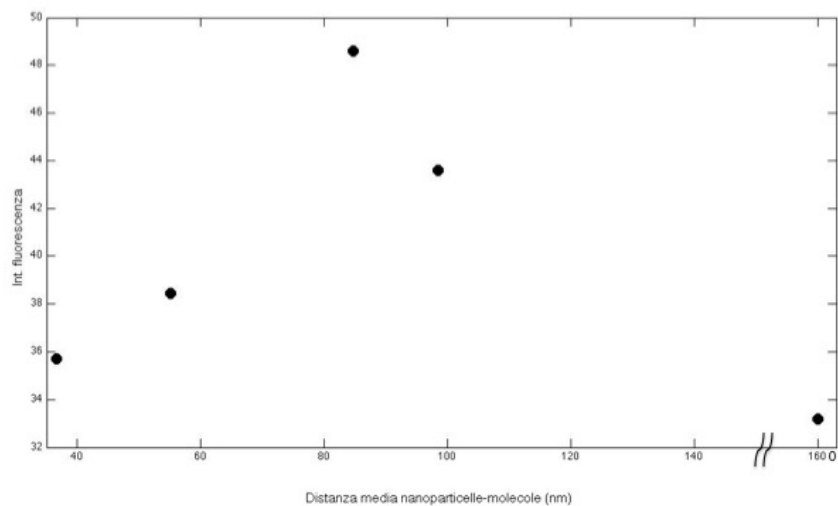


Figura 7.4: Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm.

emissione per ogni punto risulta inferiore sia perchè si sta eccitando leggermente fuori dalla frequenza di risonanza di plasma (550 nm) sia perchè si è anche abbastanza lontani dalla lunghezza d'onda di assorbimento della molecola (568 nm) (vedi figura 6.27). Quest'ultima causa è stata verificata comparando la diminuzione percentuale dell'intensità di fluorescenza nei casi a 550 nm e a 514 nm del solo Lumogen in matrice di PS su vetro con quella dei campioni multistrato. Per questi ultimi essa risulta mediamente del 47%, mentre per la sola molecola, vedi figura 7.5, del 41%. Da questo si può quindi dedurre che la ragione principale di diminuzione in intensità è la riduzione nel numero di fotoni assorbiti dal campione. Il motivo per cui la risonanza con la frequenza di plasma non incide così fortemente, come ci si sarebbe potuto aspettare, è probabilmente dovuto al fatto che l'assorbimento delle nanoparticelle su vetrino (figura 6.27) è abbastanza largo intorno al massimo di assorbimento ed anche a 514 nm esso rimane buono.

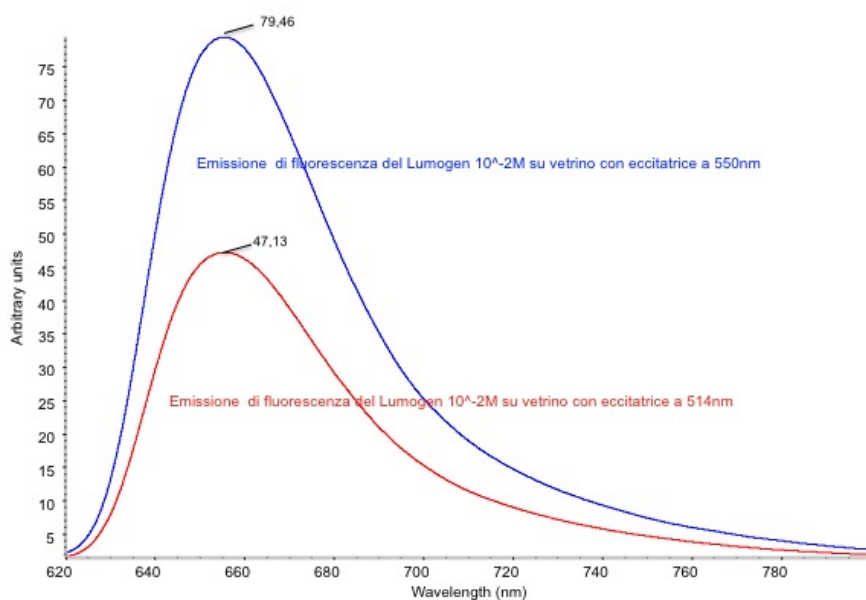


Figura 7.5: Confronto spettri di emissione di fluorescenza del Lumogen F Red 305 su vetrino con eccitatrici a 550 nm (blu) e 514 nm (rosso).

La misura fatta con lo strumento Raman e linea laser eccitatrice a 514 nm, (figure 7.6-7.7) mostra lo stesso tipo di andamento di quella fatta con lo spettrofluorimetro nelle stesse condizioni (figure 7.3-7.4): i massimi nei due grafici infatti si trovano rispettivamente a 48 e 85 nm. Il fattore d'intensificazione massima qui è di 1,59. Tramite questa seconda misura, data la similitudine del risultato ottenuto, è stato quindi possibile verificare la validità dei risultati sopra mostrati.

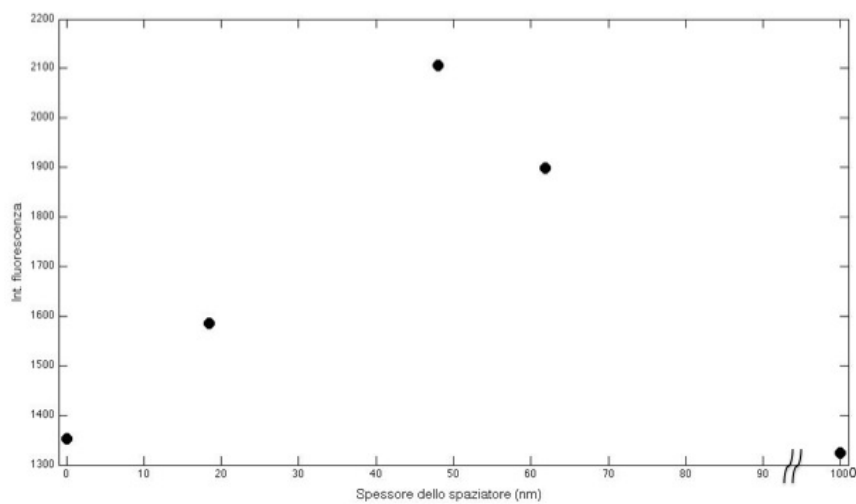


Figura 7.6: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con il Raman.

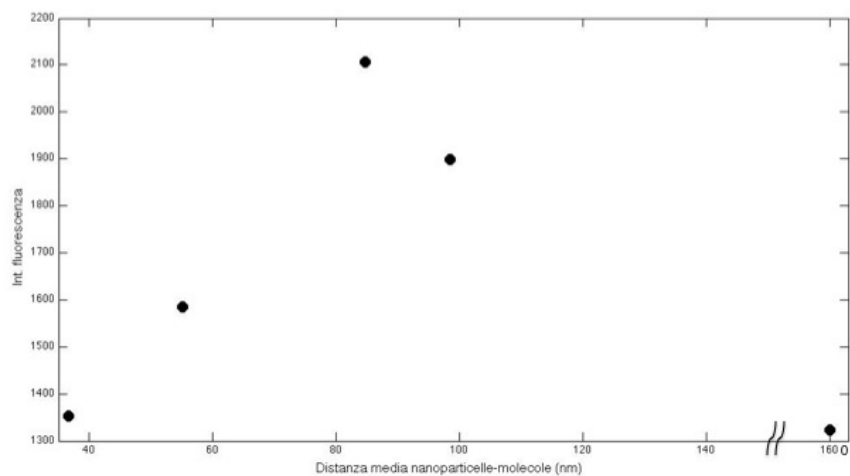


Figura 7.7: Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con il Raman.

L'esperimento, come detto, è stato poi rifatto nello stesso identico modo, facendo le stesse misure, usando però strutture multistrato con uno spessore del layer di PS più sottile ma con lo stesso rapporto polimero-molecole. Questo film, di spessore dell'ordine di 44 nm, è stato ottenuto, sempre per spin coating, riducendo soltanto la concentrazione della soluzione.

Nelle figure 7.8-7.9 sono riportati i risultati ottenuti con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm. In questo caso il massimo d'intensità è a 18 nm per lo spessore dello spaziatore e di 40 nm per la distanza media metallo-fluoroforo ed il fattore d'intensificazione massima è di 1,45.

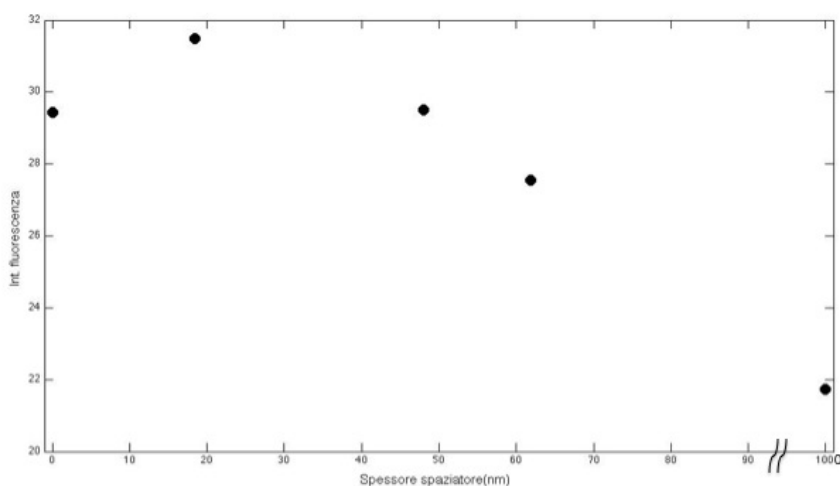


Figura 7.8: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm.

Anche usando l'eccitatrice a 514 nm, con lo spettrofluorimetro si ottengono (figure 7.10-7.11) i massimi dell'emissione negli stessi punti (18,4 nm e 40,4 nm) ed un fattore di aumento massimo di 1,44. Come per la serie di misure con lo strato più spesso di PS contenente i fluorofori, sono state indagate le cause della diminuzione nell'emissione tra le misure con eccitatrice a 550 nm e quelle a 514 nm. Come nel caso precedente è stata riscontrata una riduzione d'intensità: nel film di sole molecole su vetro è del 44% (figura 7.12), nei campioni multilayer è del 48%. Perciò, il non eccitare i fluorofori alla loro frequenza massima di assorbimento, risulta anche qui essere la causa principale di riduzione nell'emissione.

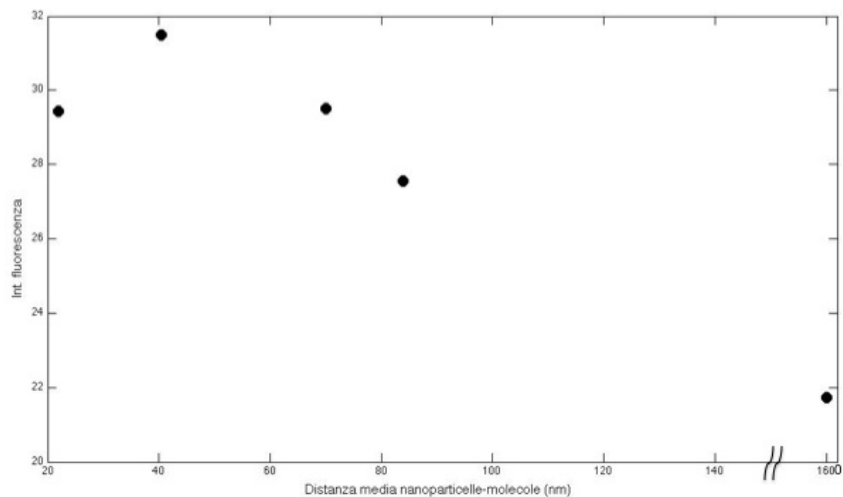


Figura 7.9: Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 550 nm.

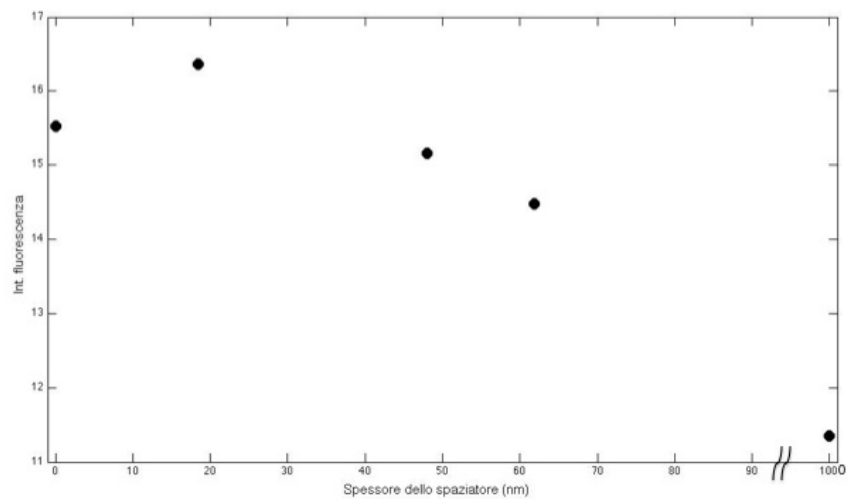


Figura 7.10: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm.

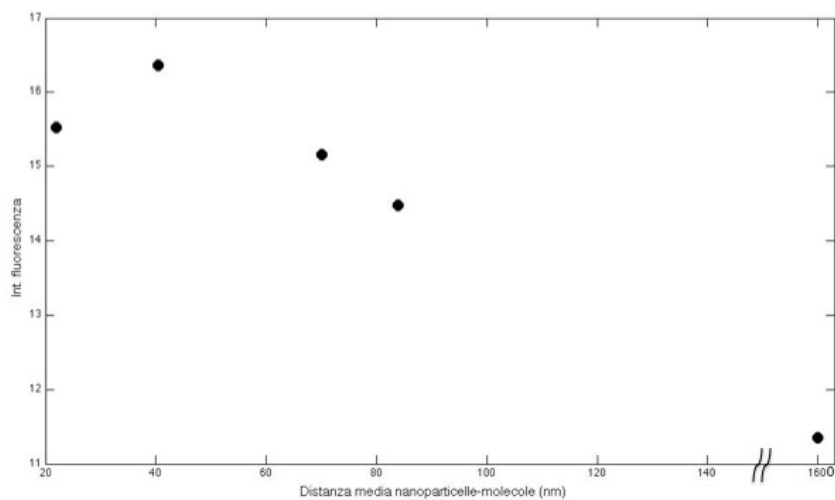


Figura 7.11: Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice a 514 nm.

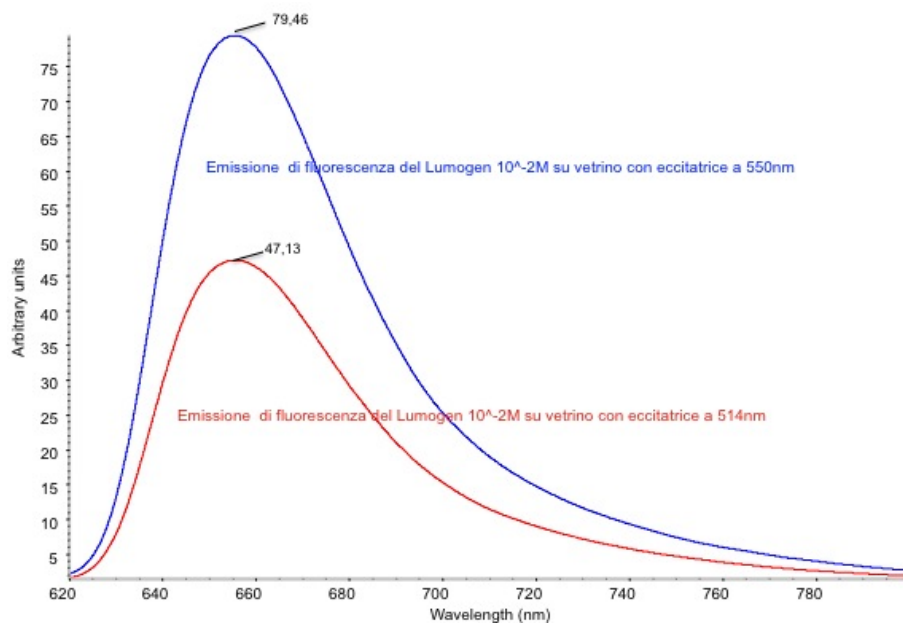


Figura 7.12: Confronto spettri di emissione di fluorescenza del Lumogen F Red 305 su vetrino con eccitatrici a 550 nm (blu) e 514 nm (rosso).

Anche questa serie è stata analizzata con il Raman e l'andamento ricavato (figure 7.13-7.14) è, anche in questo caso, il medesimo delle misure con lo spettrofluorimetro con i massimi in 18 nm e 40 nm e fattore d'intensificazione massima di 1,39.

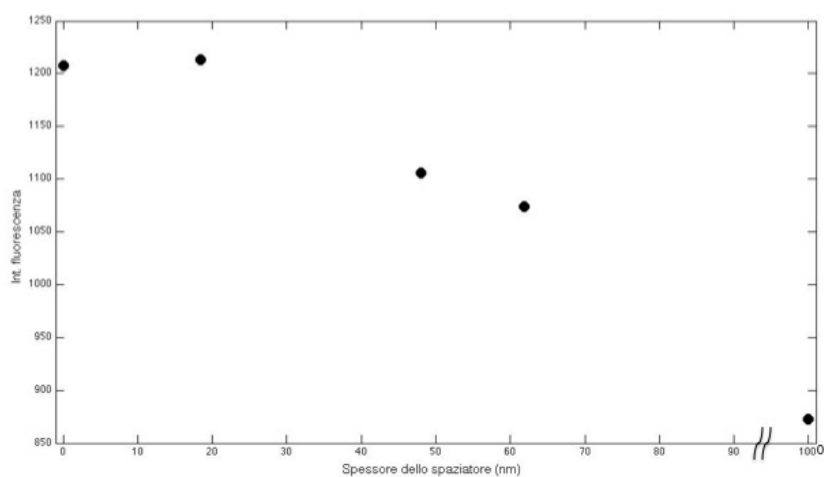


Figura 7.13: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con il Raman.

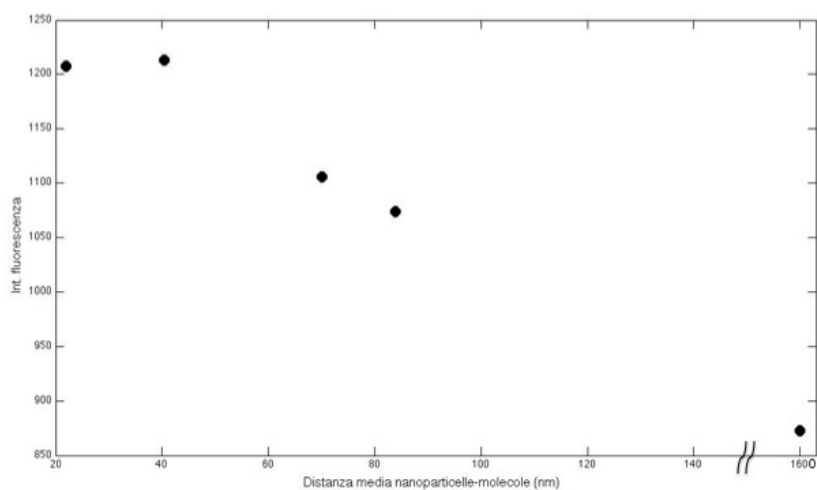


Figura 7.14: Intensità di fluorescenza in funzione della distanza media tra nanoparticelle e molecole misurata con il Raman.

I dati ottenuti nelle due serie, quella con spessore dello strato di PS di 73 nm e quella di 44 nm, non possono essere utilizzati insieme per costruire la curva di intensificazione per il tipo di struttura studiata. Infatti tale curva, caso per caso, dipende da numerosi parametri, distanza ed orientazione tra cromoforo e nanoparticella, dimensione, forma e numero delle nanoparticelle ed anche dal mezzo circostante. Tutte queste variabili influenzano direttamente i rate di decadimento radiativo e non radiativo che, insieme con il coefficiente di assorbimento, generano andamenti della curva d'intensificazione anche molto diversi tra di loro [Vukovic, 2009]. Anche facendo l'ipotesi semplificativa che in entrambe le strutture studiate l'andamento generale del fattore d'intensificazione sia il medesimo, il confronto diretto non risulta possibile perchè gli intervalli d'integrazione sulla curva, legati allo spessore dello strato con le molecole, sono diversi tra di loro. Per spiegare meglio il concetto si preferisce fare un esempio. Si prenda come zero di riferimento la superficie superiore del substrato di nanoparticelle (sezione A, figura 6.18) e si consideri per la prima serie di misure il campione senza lo strato spaziatore. Il suo valore d'intensità di fluorescenza sarà dato dall'integrale della curva tra 0 e 73 (spessore massimo del layer con i fluorofori). Se invece si guarda lo stesso campione della seconda serie, l'integrale si estende da 0 a 44, quindi su una regione molto più piccola e, se anche si considerasse il secondo punto (spaziatore di 18 nm), integrerei da 18 a 62. In entrambi i casi il valore dell'integrale non sarebbe comparabile con quello ottenuto per la prima serie perchè l'intervallo d'integrazione risulta sempre differente. Sebbene il confronto diretto tra le due curve non sia possibile, si possono comunque fare alcune osservazioni generali (figure 7.15-7.16-7.17).

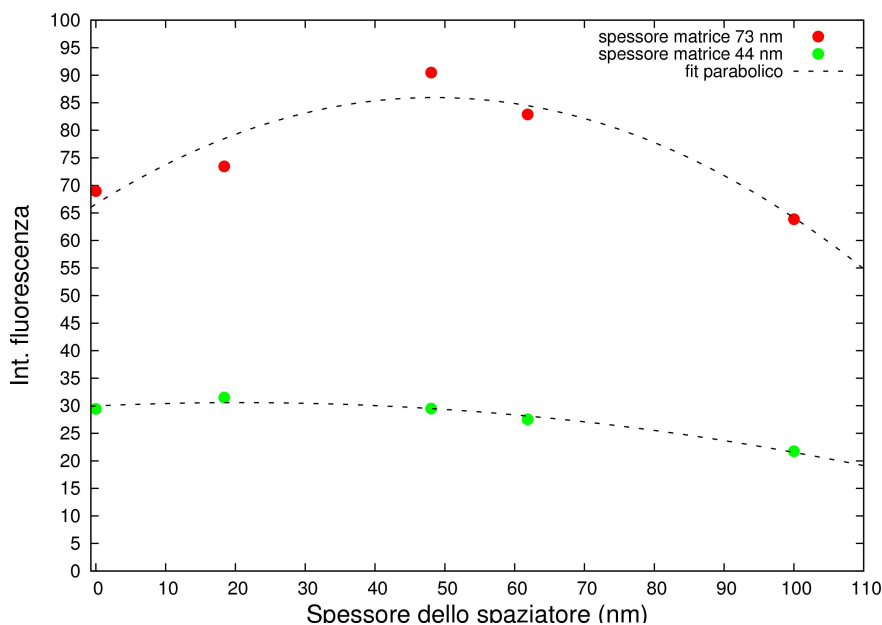


Figura 7.15: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice 550 nm per i casi di spessore spesso (rosso) e sottile (verde).



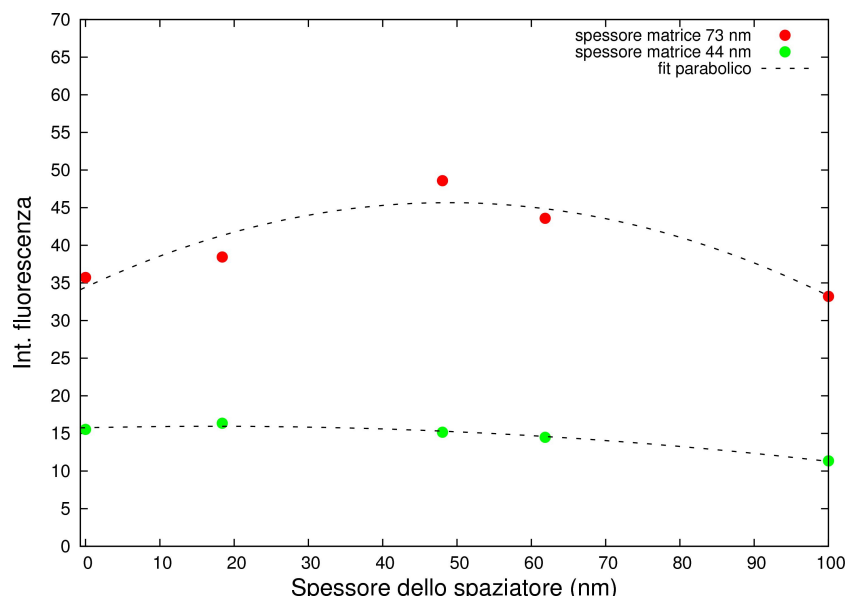


Figura 7.16: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con lo spettrofluorimetro ed eccitatrice 514 nm per i casi di spessore spesso (rosso) e sottile (verde).

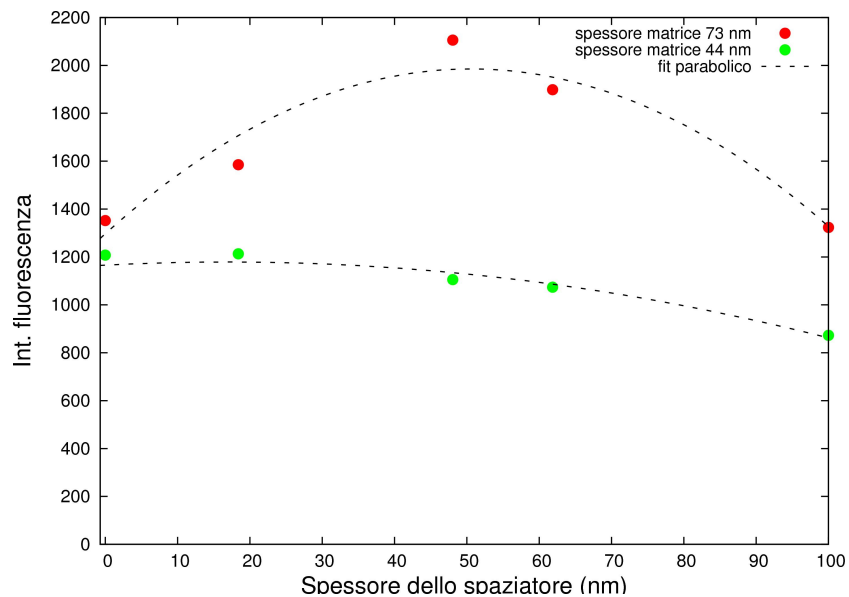


Figura 7.17: Intensità di fluorescenza in funzione dello spessore dello spaziatore misurata con il Raman ed eccitatrice 514 nm per i casi di spessore spesso (rosso) e sottile (verde).

La prima riguarda i diversi valori d'intensità: infatti la curva relativa allo strato di PS e molecole più sottile è spostata verso valori d'intensità di fluorescenza più bassi rispetto al caso con lo strato più spesso e questo è dovuto al fatto che nello strato più sottile sono presenti meno molecole e quindi il segnale risulta più debole. La seconda, quella più importante, è che in tutti e tre i casi l'andamento della curva è nel complesso simile (il fit utilizzato in tutti i casi è dello stesso tipo<sup>3</sup>), anche se il picco di massima intensità si trova a spessori diversi dello spaziatore. Questo ragionevolmente è dovuto al fatto che ognuno dei punti delle curve è l'integrale su un intervallo più spesso o più sottile di una curva che non è necessariamente la stessa e quindi esso può cadere in punti diversi da caso a caso.

Data la concordanza complessiva dell'andamento della curva d'intensificazione della fluorescenza misurata con due diversi strumenti su strutture con diverso numero di molecole, risulta chiara l'ottima riproducibilità e affidabilità di tali strutture per generare il fenomeno del MEF.

---

<sup>3</sup>Il fit utilizzato è di tipo parabolico ma, dato che il punto a 100 nm corrisponde in realtà a circa 800 nm, è chiaro che la discesa è molto più lenta della salita, per cui l'andamento reale non è di tipo parabolico.

### 7.3 Considerazioni finali

Tramite la tecnica dello spin coating è stato possibile preparare, in modo semplice, veloce e riproducibile, delle strutture multistrato per ottenere un effetto di aumento dell'emissione di fluorescenza delle molecole di Lumogen F Red 305 inglobate nella matrice polimerica di PS.

Le misure sui campioni sono state realizzate con due diversi strumenti, spettrofluorimetro e spettrometro Raman, che presentano caratteristiche molto diverse tra loro ma con entrambi sono stati ottenuti risultati simili; essi sono inoltre conformi con gli andamenti teorici e quelli ottenuti in altri esperimenti di letteratura [Lakowicz, 2001; Renier, 2010; Zhang, 2007 [112]]. Anche il fattore di massima intensificazione trovato, di circa 1,4, è in accordo con il fatto che molecole con resa quantica molto elevata, come il Lumogen che ha una resa dello 0,9, vengono intensificate molto meno dalla presenza di nanostrutture metalliche rispetto a quanto lo sono molecole con resa quantica inferiore (paragrafo 4.1). Inoltre, il motivo per cui il picco di massima intensificazione risulta spostato verso distanze maggiori, rispetto ai dati riportati in letteratura [Renier, 2010; Zhang, 2007 [112]], può essere spiegato dal fatto che gli aggregati di nanoparticelle sul substrato usato hanno dimensioni superiori rispetto alle nanoparticelle singole e ciò sposta verso distanze più grandi il picco del massimo. A questo si aggiunge che, per l'elevata rugosità dello substrato metallico, è probabile che la distanza media tra nanoparticelle e molecole non sia quella dello spessore dello strato spaziatore ma, in alcuni punti, anche molto più sottile. Quindi in realtà, con un substrato di questo tipo, non è possibile stimare con esattezza la reale distanza tra le due parti e definire in modo univoco il punto di massima intensificazione.

Dalla comparazione tra le misure realizzate eccitando a 550 nm e a 514 nm è stato possibile osservare che la diminuzione in intensità tra il primo ed il secondo caso è dovuta principalmente alla non perfetta corrispondenza tra la lunghezza d'onda dell'eccitatrice e del massimo di assorbimento della molecola. Al contrario, l'assorbimento delle nanoparticelle è molto largo e quindi la non completa risonanza con l'eccitatrice non ha un effetto così drastico.

Infine un ultimo commento si può fare riguardo all'impossibilità di usare i risultati delle due diverse serie di campioni per costruire la curva di intensificazione per il tipo di struttura studiata ma è comunque stato utile per verificare che in entrambi i casi l'andamento generale dell'emissione di fluorescenza è lo stesso. Anche se non è possibile realizzare un singolo strato di molecole e poi variare lo spessore dello spaziatore per misurare l'intensità ad ogni distanza ed ottenere così l'andamento generale dell'emissione di fluorescenza in funzione della distanza nanoparticelle-molecole, con le due diverse prove fatte si possono ricavare delle indicazioni sui parametri da utilizzare. Per esempio, per avere una più alta intensità d'emissione, bisogna utilizzare uno strato più spesso di polimero e molecole, invece se si vuole ottenere un'intensificazione massima per distanze minori, è necessario realizzare uno strato sottile.



## Capitolo 8

# Procedure di sintesi

### 8.1 Sintesi di nanoparticelle d'oro circondate da una shell di silice

La struttura è composta di tre parti:

- nanoparticelle d'oro con diametro medio di 20nm
- strato silice-filico
- matrice di silice con inglobate molecole di fluoroforo

La sintesi di questa complessa struttura è articolata in tre fasi: la prima è la sintesi di nanoparticelle d'oro secondo la ricetta di Turkevich, la seconda consiste nella formazione dello strato silice-filico con successiva idrolisi, mentre la terza consiste nell'ottenere una matrice di silice contenente il fluoroforo.

#### **Parte 1: Metodo di Turkevich per la preparazione di nanoparticelle d'oro con riducente il trisodio citrato [Turkevich,1951]**

1. Preparazione di una soluzione di  $5 * 10^{-5}$  M di  $\text{HAuCl}_4$  in acqua (19,7 mg di  $\text{HAuCl}_4$  in 190 ml di acqua).
2. Preparazione di una soluzione all'1% di trisodio citrato (100 mg di trisodio citrato in 10 ml di acqua).
3. Si porti la soluzione di  $\text{HAuCl}_4$  ad ebollizione agitando meccanicamente ed si aggiunga la soluzione del punto 2 appena questa comincia a bollire.
4. Si continui a scaldare e si mantiene in agitazione fino a quando il colore della soluzione cambia evidentemente verso un rosso intenso. Da questo momento in poi si mantengono le stesse condizioni per circa un'ora.
5. Si spegna la piastra riscaldante e si mantenga l'agitazione fino al completo raffreddamento.
6. Si aggiunga eventualmente acqua fino a riottenere il volume iniziale di 200 ml.

### Parte 2: Preparazione dello strato silice-filico e idrolisi [Buining 1997; Jana,2007; Kotal, 2005; Philipse,1988; 17]

1. Mescolando vigorosamente, si aggiunga 500 ml della soluzione  $5 \cdot 10^{-4}$ M di nanoparticelle d'oro alla soluzione acquosa 2,5ml (1 mM) di 3-amminopropil-trimetossisilano (3APTES).
2. Si lasci sotto agitazione per 15 minuti.
3. Lavaggio: si centrifughi, si rimuova il soprannatante, si aggiunga acqua/etanolo (1:1), si ridisperda e si sonichi. Si ripeta per quattro volte la stessa procedura alternando lavaggi con sola acqua e acqua/etanolo (1:1).

### Parte 3: Shell di silice contenente il fluoroforo rosa bengala [Coenen,1988; Li, 2010; Liz-Marzán,1996; Lu,2002; Kah, 2008; Mulvaney, 2003; Xu,2007; Zhang, 2007 [113]]

1. Si ridisperdano le nanoparticelle centrifugate in 500 ml di una soluzione acqua/etanolo 1:4 in volume.
2. Si aggiungano 0,3 ml di TES (tetraetossisilano) e 2 ml di ammoniaca (soluzione in acqua 30% in peso).
3. Si aggiunga mescolando alla soluzione del punto 2 del rosa bengala per ottenere una soluzione con concentrazione di tale fluoroforo  $10^{-2}$ M.
4. Si continui a mescolare con agitatore magnetico per circa 12 ore.

La quantità di TES utilizzata è stata calcolata tramite la formula trovata in letteratura [Coenen,1988; Lee [65]; Li,2010; Liz-Marz'an,1996] che permette, scelto lo spessore della shell di silice, di sapere quanti ml di TES ( $V_{TES}$ ) utilizzare:

$$V_{TES} = \frac{\overline{V}_{TES} \cdot \overline{V}_{Au}}{\overline{V}_{SiO_2}} [Au] \cdot 10^3 \left[ \left( \frac{R_{tot}}{R_{Au}} \right)^3 - 1 \right] \quad (8.1)$$

dove  $\overline{V}_{TES}$  è il volume molare di TES,  $\overline{V}_{Au}$  il volume molare di oro,  $\overline{V}_{SiO_2}$  il volume molare di silice,  $[Au]$  il numero di moli di oro,  $R_{tot}$  il raggio complessivo della nanoparticella d'oro più la shell di silice e  $R_{Au}$  il raggio della nanoparticella d'oro supposta sferica

## 8.2 Sintesi di un fluoroforo funzionalizzato

### Preparazione di nanoparticelle d'oro in toluene [Brust,1994 [19]]

L'ottenimento di nanoparticelle d'oro in toluene avviene tramite trasferimento di ioni tetracloroaurici da fase acquosa ad organica (toluene) tramite il tetraottilammonio-bromuro (TOAB) la riduzione all'interfaccia acqua-toluene dell'agente riducente, boroidruro di sodio, che si trova in fase acquosa. Per permettere quindi un'effettiva riduzione di tutti gli ioni metallici è necessaria una vigorosa agitazione della miscela che consente una sufficiente mescolanza delle due fasi immiscibili sulla superficie interfacciale dove avviene effettivamente la riduzione. Il procedimento di sintesi consiste in:

1. Si prepari una soluzione  $5 \cdot 10^{-2}$  M di tetraottil-ammonio-bromuro (TOAB) in toluene (80 ml).
2. Si prepari una soluzione  $3 \cdot 10^{-2}$  M di  $\text{HAuCl}_4$  in acqua distillata (30 ml).
3. Si prepari una soluzione 0,4 M di  $\text{NaBH}_4$  in acqua distillata (25ml).
4. Si uniscano le soluzioni ottenute ai punti 1 e 2 e si agitano vigorosamente per 10 minuti in un beker con ancoretta magnetica (fase di trasferimento dell'oro nella fase organica).
5. Si aggiunga a questa soluzione quella preparata al punto 3 goccia a goccia nell'arco di tempo di circa 30 minuti (si agiti vigorosamente in modo da permettere un buon mescolamento tra le due fasi)
6. Dopo la fine del gocciolamento si agiti per altri 20 minuti.
7. Si estragga la fase organica e si lavi la stessa una volta con acido solforico per la neutralizzare e poi cinque volte con acqua distillata per eliminare i possibili residui di acido solforico.
8. Si anidrifichi la fase organica con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  .

## Procedure di sintesi

Tutte le reazioni sono state condotte in ambiente inerte facendo cicli vuoto-argon e sfiammando opportunamente la vetreria prima di ogni reazione; è stata utilizzata vetreria codata per permettere la connessione alla linea dell'argon.

### $\omega$ -bromododecil resorufina (1)

In un pallone da 50 ml vengono posti in agitazione e scaldati a  $80^\circ\text{C}$  1 g di resorufina (4,7 mmol), 4,477 g di di-bromo-dodecano (18,8 mmol) e 0,876 g di carbonato di potassio in 18,5 ml di DMF. La miscela viene lasciata reagire per circa 48 ore. Riportata a temperatura ambiente, la miscela di reazione viene diluita in 150 ml di etil-acetato, lavata prima con una soluzione acquosa di idrossido di sodio 1 M, poi con acqua e sale e infine anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Dopo l'evaporazione del solvente, il grezzo viene purificato mediante cromatografia flash su gel di silice usando come eluente una miscela etere di petrolio e etil-acetato 3:1 a dare 793 mg del composto desiderato (pari a 3,72 mmol) con resa del 79,3%. Poiché il prodotto contiene ancora impurezze si purifica il prodotto una seconda volta mediante con cromatografia flash su gel di silice usando come eluente nuovamente 3:1 di etere di petrolio ed etil-acetato. Si ottengono così 152 mg del composto (pari a 0,33 mmol).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\delta$ , 7,26 ppm,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,694 (d, 1H,  $J=8,860$  Hz,  $\text{H}_\text{H}^1$ ), 7,419 (d, 1H,  $J=9,844$  Hz,  $\text{H}_\text{I}$ ), 6,930 (q, 1H,  $J=2,953$ ,  $\text{H}_\text{G}$ ), 6,841(d, 0,5H,  $J=1,969$ ,  $\text{H}_\text{L}$ ), 6,809 (q, 1,4H,  $J=2,215$ ,  $\text{H}_\text{F}$ ), 6,319 (d, 0,9H,  $J=2,461$ ,  $\text{H}_\text{M}$ ), 4,064 (t, 1,9H,  $J=6,399$ ,  $\text{H}_\text{A}$ ), 3,405 (t, 1,6H,  $J=6,891$ ,  $\text{H}_\text{B}$ ), 1,846 (q, 3,6H,  $J=7,219$ ,  $\text{H}_\text{C}$ ), 1,443 (q, 4H,  $J=7,876$ ,  $\text{H}_\text{D}$ ), 1,298 (s, 9,9H,  $\text{H}_\text{E}$ ).

<sup>1</sup>Per le lettere si faccia riferimento alla figura 8.1

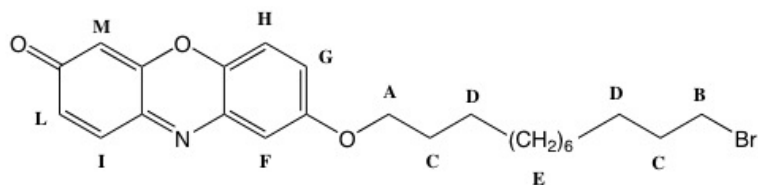


Figura 8.1:  $\omega$ -bromododecil resorufina. Le lettere sono il riferimento per i picchi dello spettro NMR.

### $\omega$ -mercaptododecil resorufina (2)

In un pallone da 25 ml vengono posti sotto agitazione 100 mg di (1) (0,217 mmol) e 24 mg di tiourea (0,31 mmol) in 5 ml di etanolo. La miscela viene lasciata reagire a refluxo tutta la notte. Vengono poi aggiunti 5 ml di una soluzione acquosa di NaOH (ottenuta da 2 g di NaOH in 10 ml di acqua) e viene lasciata a refluxo per altre 4 ore. La reazione viene spenta con HCl al 10% (ottenuta da 1,35 ml di HCl in 3,65 ml di acqua) e la fase organica viene estratta con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$  e anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Dopo l'evaporazione del solvente, il grezzo viene purificato mediante cromatografia flash su gel di silice usando come eluente una miscela etere di petrolio e etil-acetato 3:2.

## 8.3 Strutture multistrato

La struttura generale dei substrati multistrato è riportata in figura 8.2. Essa è composta da tre film sovrapposti ottenuti tramite la tecnica dello spin coating su un substrato di vetro.

Il primo è uno strato di nanoparticelle concentrate ottenute tramite la sintesi

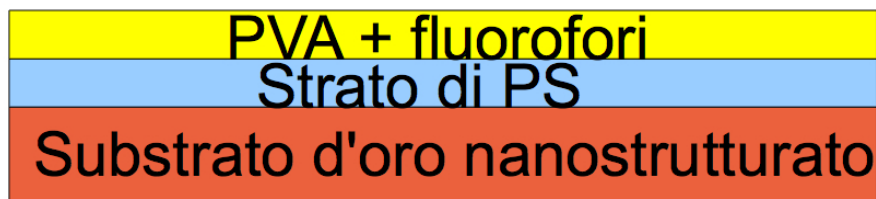


Figura 8.2: Struttura schematica degli esperimenti su substrati solidi.

in toluene con il tetraottil-ammonio-bromuro, descritta nel paragrafo 8.2, e si ottiene depositando una goccia di tale soluzione su un vetrino precedentemente lavato con etanolo ed utilizzando la seguente ricetta con lo spin coating:

- 1 minuto a 6100 rpm con accelerazione massima
- 15 secondi a 6000 rpm con accelerazione massima

Il secondo layer, quello di poli-vinil-alcol (PVA), è stato fatto variare in spessore da un campione all'altro. Per far ciò sono state utilizzate due soluzioni a



differenti concentrazioni e diverse velocità di rotazione dello spinner [Biju, 2001; Lakowicz, 2003]. Nella tabella 8.1 sono riportate concentrazione della soluzione, velocità di rotazione e spessore ottenuto misurato con il profilometro<sup>2</sup>. La ricetta generale per la formazione di tali strati prevede:

- 1 minuto alla velocità di tabella 8.1 con accelerazione massima
- 15 secondi a 6000 rpm con accelerazione massima

Concentrazione	Velocità (rpm)	Spessore medio (nm)
0,1 wt%	3000	18,4
0,1 wt%	2000	48
0,1 wt%	1400	62
0,5 wt%	1000	798

Tabella 8.1: Concentrazione, velocità e spessore relativi ad ogni singolo strato.

Infine, il terzo ed ultimo film costituito da polistirene (PS) e molecole di Lumogen F Red 305, è stato ottenuto nel seguente modo [Hall, 1998]:

- 1 minuto a 3000 rpm con accelerazione massima
- 15 secondi a 6000 rpm con accelerazione massima

Sono state realizzate due serie del set di campioni precedentemente descritti che differiscono soltanto per lo spessore dell'ultimo layer. Per ottenere i due diversi spessori si è utilizzata la stessa procedura ma è stata modificata la concentrazione della soluzione come riportato nella tabella 8.2:

Concentrazione di PS	Concentrazione di Lumogen	Spessore medio (nm)
0,5 wt%	$10^{-2}M$	73
0,25 wt%	$5 \cdot 10^{-3}M$	44

Tabella 8.2: Concentrazione di polistirene, concentrazione di Lumogen e spessore ottenuto relativi ad ogni singola serie.

<sup>2</sup>I valori riportati sono una media delle misure ottenute.



## Capitolo 9

# Conclusione

Il fenomeno oggetto di questo lavoro di tesi è l'intensificazione dell'emissione di fluorescenza di molecole organiche (MEF) quando sono poste in vicinanza di nanostrutture metalliche caratterizzate da plasmoni di superficie. Gli esperimenti realizzati sono stati volti alla ricerca di sistemi semplici e riproducibili per ottenere tale effetto.

Il MEF è già stato utilizzato in molte applicazioni nell'ambito della diagnostica biomedica e delle biotecnologie e ha anche già preso piede nel campo fotovoltaico, come ad esempio nelle Dye-Sensitized Solar Cells (DSSC) e nei Luminescent Solar Concentrators (LSC). Proprio in relazione a quest'ultimo ambito, si potrebbe pensare ad inserire all'interno dei LSCs molecole in grado di convertire l'energia di fotoni della luce solare, non assorbibili dalla cella, in fotoni con energie o più alte o più basse che siano però utilizzabili da questa. Aggiungendo anche delle nanostrutture metalliche, poste ad un'opportuna distanza, si può aumentare la resa quantica dei fluorofori e migliorare la direzionalità della radiazione. In questo modo si utilizza meglio l'ampio range dello spettro solare, si riducono in parte le perdite e si migliora l'efficienza complessiva del dispositivo.

Il mio lavoro è consistito sia nello studio del fenomeno fisico del MEF, sia nello sviluppo di strutture nanoparticella/molecola fluorescente, ottenibili mediante tecniche di processing comunemente utilizzate nell'ambito del fotovoltaico organico

Inizialmente tramite il rifacimento dell'esperimento descritto nell'articolo 'Plasmon-enhancement fluorescence of dye molecules' di M.Iosin et al., rifatto con differenti molecole, sono state determinate le condizioni sperimentali per l'osservazione del MEF. Ciò ha permesso di stabilire che, se i fluorofori sono adsorbiti sulla superficie di nanoparticelle d'oro, si ha quenching della fluorescenza e quindi se ne riduce la resa quantica di emissione. Le successive prove sono dunque state rivolte a trovare il modo di interporre uno spaziatore tra metallo e molecole. Sono state seguite diverse strade: i) l'uso di uno strato silice-filico circondante nanoparticelle in soluzione, ii) di una catena alchilica attaccata chimicamente tra fluoroforo e nanoparticella iii) e di un film di polimero in una struttura multistrato.

L'esperimento con lo strato silice-filico, frapposto tra la nanoparticella ed la matrice di silice contenente i fluorofori, sebbene non abbia permesso la quanti-

ficazione dell'intensificazione, ha confermato la necessità di trovare il modo per separare le molecole dal metallo.

La via più 'elegante', quella di costituire per via chimica il sistema molecola fluorescente, catena alchilica e nanoparticella d'oro, non ha purtroppo portato alla verifica del risultato cercato. Infatti la molecola funzionalizzata, senza annessa nanoparticella, è stata ottenuta in quantità molto limitata e non facilmente isolabile dagli altri prodotti di reazione. A questo si è aggiunta la successiva consapevolezza, acquisita tramite gli esperimenti svolti sulle strutture multistrato, che la distanza molecola/nanoparticella massima ottenibile con tale tecnica (all'incirca un nanometro) risulta insufficiente per ottenere un sostanziale aumento dell'emissione. Per questo motivo si è deciso di non ottimizzare il processo di sintesi, allo scopo di superare le criticità identificate, concentrandosi su strategie alternative.

Risultati positivi si sono invece trovati dallo studio delle strutture multistrato, composte da un substrato di nanoparticelle sottostante a due film di polimero, uno con funzione di spaziatore e l'altro di matrice contenente i fluorofori. Si è infatti riusciti non solo ad implementare una struttura riproducibile, facile e veloce da preparare, ma anche a definire l'andamento dell'emissione di fluorescenza al variare della distanza tra nanoparticelle d'oro e layer di molecole. Dai risultati ottenuti si sono ricavate indicazioni utili per successivi sviluppi al fine di migliorarne le prestazioni. In primo luogo, per ottenere un fattore d'intensificazione maggiore, il fluoroforo deve essere scelto con una bassa resa quantica, una buona risonanza con la frequenza di plasma delle nanoparticelle e deve essere eccitato nell'intorno della sua lunghezza d'onda d'assorbimento. Qui, infatti, è stata usata una molecola con un'alta resa quantica ed il fattore d'enhancement massimo misurato è stato solo di 1,4, minore rispetto ai valori riportati in letteratura. Inoltre è stato verificato che la riduzione in intensità, causata dall'eccitare le molecole fuori dal loro assorbimento, era di circa il 40%, mentre la non risonanza con il massimo dell'assorbimento delle nanoparticelle, poichè queste presentavano una banda del plasmone molto larga, ha inciso in piccola misura. In secondo luogo, da misure effettuate su due diverse implementazioni della stessa struttura (differenti nello spessore dello strato di matrice di polimero contenente fluorofori), si sono dedotte alcune caratteristiche generali per la preparazione di campioni in base alle prestazioni volute. Ad esempio, a seconda che si voglia un'intensificazione massima a distanze minori od un'emissione più intensa, si dovranno usare differenti spessori degli strati. È stato infatti riscontrato che, con la matrice di polimero e molecole più spessa, l'intensità nel punto di massimo, che corrisponde a 48 nm di spessore dello spaziatore, è nettamente superiore al caso con lo strato più sottile.

I risultati ottenuti in questo lavoro di tesi, seppur preliminari, favoriscono un buon punto di partenza per degli sviluppi futuri.

Innanzitutto si potrebbe ripetere la sintesi chimica per la funzionalizzazione delle molecole fluorescenti, per poter verificare se anche con uno spaziatore di circa un solo nanometro è possibile ottenere un accettabile aumento dell'emissione di fluorescenza. Infatti, se fosse sufficiente, questo sarebbe un modo ottimale per posizionare i fluorofori in modo stabile ad una ben definita distanza da una nanostruttura metallica. A tale proposito, oltre alla possibilità di scegliere una molecola diversa da quella da noi utilizzata, si potrebbe pensare di usare al posto delle nanoparticelle d'oro, che determinano quenching la fluorescenza fino ad

elevate distanze (fino ad una decina di nanometri), quelle d'argento altrettanto facili da sintetizzare ma con una distanza di quenching inferiore.

Per quanto riguarda invece le strutture multistrato, seguendo le indicazioni sperimentali dedotte dalle prove svolte, si potrebbe proseguire nell'ottimizzare la loro procedura di preparazione. Inoltre sarebbe consigliabile cercare di utilizzare ed implementare altri tipi di substrati nanostrutturati, con il fine di avere superfici meno rugose. In vista di un possibile utilizzo nei concentratori solari luminescenti, una volta ottimizzato il sistema, dal substrato metallico alla procedura di preparazione di campioni, si potrebbe pensare di utilizzare in queste strutture multistrato molecole fluorescenti capaci di convertire l'energia dei fotoni assorbiti verso livelli energetici più alti o più bassi (up- e down-converter), tali da poter essere assorbiti dai materiali comunemente utilizzati in ambito fotovoltaico organico.



## Appendice A

# Spettroscopia Raman

### A.1 Raman scattering

La spettroscopia Raman [Long, 2002] sfrutta il fenomeno fisico, scoperto nel 1928 da Chandrasekhara Venkata Raman, della diffusione della luce. Egli, usando la luce solare come sorgente, un telescopio come collettore ed una lastra fotografica come detettore, osservò che una piccola frazione della radiazione diffusa da certi materiali aveva energia diversa da quella incidente e che la differenza di energia era legata alla composizione chimica del materiale. Incidendo con un fascio laser sul materiale campione, si può infatti osservare la diffusione da parte di quest'ultimo di linee spettrali a frequenze maggiori, minori ed uguali rispetto alla frequenza della linea eccitatrice.

Quando la frequenza della luce diffusa è la stessa di quella incidente si parla di scattering Rayleigh, nel caso di frequenze minori scattering Raman Stokes mentre nel caso frequenze maggiori scattering Raman anti-Stokes. Lo scattering Rayleigh, che rappresenta il maggiore contributo nel processo diffusivo data la sua alta probabilità, è dovuto allo scattering elastico tra molecola e fotone, mentre gli scattering Stokes ed anti-Stokes sono legati ad un'interazione di tipo anelastico in cui la molecola rispettivamente cede od acquista energia vibrazionale dalla radiazione laser incidente. Da queste variazioni in energia è possibile ricavare informazioni dettagliate sugli stati vibrazionali del materiale ottenendone delle vere e proprie 'impronte digitali'.

### A.2 Descrizione classica dell'effetto Raman

Per descrivere le vibrazioni di una molecola biatomica eteronucleare, essa viene rappresentata da due masse  $m_1$  e  $m_2$  legate da una molla di costante elastica  $K$  (figura A.1). E il potenziale intramolecolare che descrive il legame chimico tra le due parti è mostrato in figura A.2 e da questa si può notare che il suo andamento nell'intorno della posizione di equilibrio  $R_0$  può essere approssimato a quello di una parabola (potenziale armonico). Ciò permette di semplificare la trattazione di piccole oscillazioni attorno a  $R_0$  per le quali il problema può essere ricondotto a quello di un semplice oscillatore armonico di costante elastica  $K$  e di massa ridotta  $m_r$ . Il potenziale armonico, che viene quindi preso come riferimento per la trattazione classica dell'effetto Raman, ha un andamento come quello ripor-

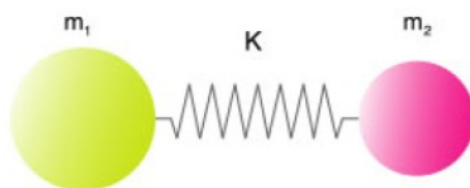


Figura A.1: Rappresentazione di una generica molecola biatomica, con masse  $m_1$  e  $m_2$ , tenute assieme da un legame chimico schematizzato da una molla di costante elastica  $K$ .

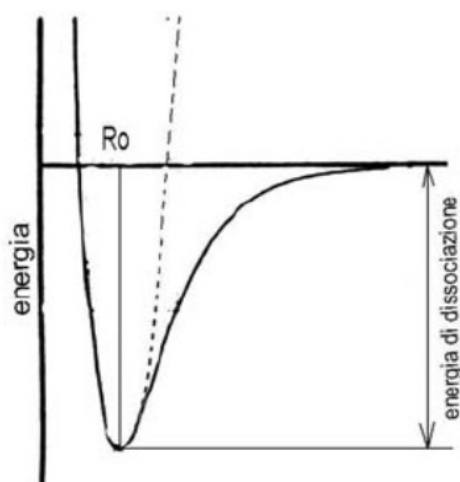


Figura A.2: Andamento del potenziale per una molecola biatomica in funzione della distanza  $R$  tra gli atomi. L'energia di dissociazione è quel valore di energia tale per cui i due atomi sono posti ad una distanza infinita.

tato in figura A.3, dove esso è definito in funzione dello scostamento  $r$  rispetto alla posizione di equilibrio ( $r=R-R_0$ ). Risolvendo il problema dell'oscillatore armonico, si ottiene che la frequenza di oscillazione propria della molecola è:

$$\nu = \frac{1}{2 \cdot \pi} \cdot \sqrt{\frac{K}{m_r}} \quad (\text{A.1})$$

Sotto l'azione di un campo elettrico, nella molecola biatomica viene indotto un momento di dipolo

$$\Delta\mu = \alpha E \quad (\text{A.2})$$

dove  $\alpha$  è il tensore di polarizzabilità molecolare ed  $E$  il campo elettrico incidente di frequenza  $\omega_L$  definito da:

$$E = E_0 \cos(\omega_L t) \quad (\text{A.3})$$

Sostituendo l'equazione (A.3) nella (A.2) si ha che:

$$\Delta\mu = \alpha E_0 \cos(\omega_L t) \quad (\text{A.4})$$



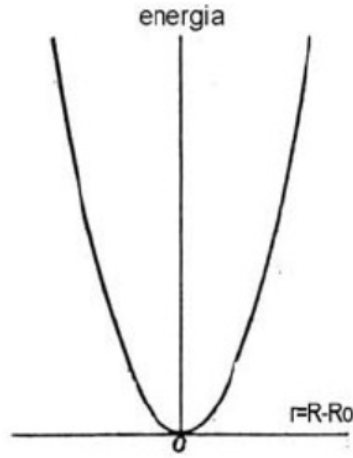


Figura A.3: Potenziale armonico descritto in funzione dello scostamento  $r$  dall'equilibrio, definito come  $R-R_0$ .

Sia  $\omega_m$  la frequenza di vibrazione molecolare di una generica coordinata vibrazionale  $Q$  che può essere espressa come:

$$Q = Q_0 \cos(\omega_m t) \quad (\text{A.5})$$

Sviluppando in serie di Taylor la polarizzabilità in funzione  $Q$  ed utilizzando la (A.5), si ottiene la seguente espressione:

$$\alpha = \alpha_0 + \frac{\partial \alpha}{\partial Q} Q + \dots = \alpha_0 + \frac{\partial \alpha}{\partial Q} Q_0 \cos(\omega_m t) \quad (\text{A.6})$$

Inserendo ora la (A.6) nella (A.4) si ottiene:

$$\Delta\mu = \alpha_0 E_0 \cos(\omega_L t) + E_0 Q_0 \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \cos(\omega_m t) \cos(\omega_L t) \quad (\text{A.7})$$

da cui l'espressione finale del momento di dipolo indotto dalla radiazione incidente:

$$\Delta\mu = \alpha_0 E_0 \cos(\omega_L t) + \frac{1}{2} \frac{\partial \alpha}{\partial Q} E_0 [\cos(\omega_L - \omega_m)t + \cos(\omega_L + \omega_m)t] \quad (\text{A.8})$$

L'equazione (A.8) dimostra quindi che il dipolo indotto nella molecola oscilla a tre frequenze distinte, per cui la radiazione elettromagnetica riemessa oscilla a sua volta a tre frequenze differenti, una è quella eccitatrice ( $\omega_L$ ) e le altre sono legate alle vibrazioni molecolari ( $\omega_m$ ). Nell'equazione (A.8) i tre termini corrispondono rispettivamente allo scattering Rayleigh ( $\omega_L$ ), a quello Raman Stokes ( $\omega_L - \omega_m$ ) ed a quello Raman anti-Stokes ( $\omega_L + \omega_m$ ). Poichè per il campo elettrico  $E$  generato dal dipolo oscillante vale la seguente relazione:

$$E \propto \frac{\partial^2 \mu}{\partial t^2} \quad (\text{A.9})$$

poichè l'intensità della radiazione è proporzionale al modulo quadro del campo, si hanno le seguenti relazioni di proporzionalità per le radiazioni Stokes e anti-Stokes:

$$I_{\text{Stokes}} \propto (\omega_L - \omega_m)^4 \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)^2 I_0 \quad (\text{A.10})$$

$$I_{\text{antiStokes}} \propto (\omega_L - \omega_m)^4 \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)^2 I_0(\omega_L) \exp(-h\nu_m/k_B T) \quad (\text{A.11})$$

Le equazioni (A.10) ed (A.11) mostrano che la condizione necessaria per avere una transizione Raman attiva è che un particolare modo vibrazionale  $Q_i$  deve modificare la polarizzabilità nell'intorno dello stato d'equilibrio, cioè  $Q_i$  è Raman attiva se:

$$\left. \frac{\partial \alpha}{\partial Q_i} \right|_0 \neq 0 \quad (\text{A.12})$$

In generale tutti i (3N-6) modi normali vibrazionali di una molecola, nell'ipotesi di piccole oscillazioni, possono essere trattati come oscillatori armonici indipendenti e disaccoppiati fra loro. Quindi la (A.12) vale per tutte le coordinate  $Q_i$  della molecola e la frequenza di oscillazione comparirà nello spettro Raman in corrispondenza di un picco se almeno una delle componenti del tensore  $\frac{\partial \alpha}{\partial Q_i}$  è diversa da 0.

## Descrizione quantistica dell'effetto Raman

La descrizione quantistica dell'effetto Raman si riduce alla risoluzione del problema di un oscillatore armonico quantistico in cui, a differenza del caso classico, l'energia è quantizzata sia per i fotoni ( $E_{\text{ph}} = h\nu_0$ , dove  $h$  è la costante di Planck e  $\nu_0$  la frequenza di oscillazione del campo elettrico prima chiamata  $\omega_L$ ) sia per i livelli energetici vibrazionali (vedi figura A.4). L'espressione per quest'ultimi è:

$$E_v = (v + 1/2)h\nu_0 \quad (\text{A.13})$$

dove  $v$  è il numero quantistico associato ad ogni singolo livello vibrazionale. I livelli sono dunque equispaziati ed il passaggio tra un livello e l'altro è permesso solo se viene fornita un'energia almeno pari ad  $h\nu_0$ . Quindi lo scattering Raman può essere descritto dallo schema a livelli energetici vibrazionali ed elettronici riportato in figura A.5, dove all'interno dello stato ground elettronico  $g$  sono evidenziati due livelli vibrazionali  $v = 0$  e  $v = 1$ . Se un fotone di energia  $h\nu_0$  colpisce il campione la molecola passa ad uno stato virtuale (non stazionario)  $m'$  o  $m$  da cui poi decade in modo rapido e spontaneo. Ora si possono meglio definire i tre contributi che si creano quando una radiazione elettromagnetica colpisce una molecola, come è stato già anticipato discutendo l'equazione (A.8). Essi sono:

- Scattering Rayleigh: la molecola riemette un fotone con la stessa frequenza di quello incidente  $\nu_0$  ritornando allo stato elettronico fondamentale  $g$ .
- Scattering anti-Stokes: la molecola ricade in un livello vibrazionale inferiore  $v=0$  rispetto a quello iniziale  $v=1$  emettendo un fotone con frequenza minore,  $\nu_0 + \nu_{\text{vib}} = \nu_{\text{antiStokes}}$ .
- Scattering Stokes: la molecola ricade in un livello vibrazionale superiore  $v=1$  da quello iniziale  $v=0$ , emettendo un fotone con frequenza minore,  $\nu_0 - \nu_{\text{vib}} = \nu_{\text{Stokes}}$ .

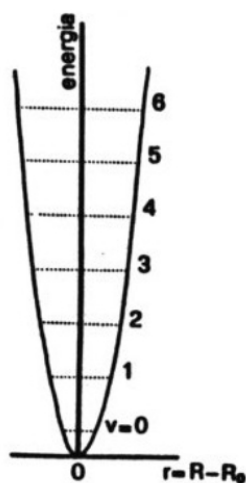


Figura A.4: Oscillatore armonico quantizzato. I valori di  $v$  sulla scala delle ordinate indicano livelli vibrazionali crescenti.

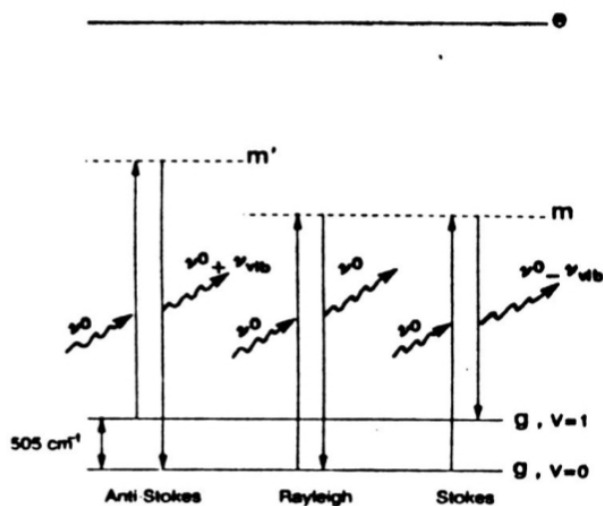


Figura A.5: Livelli energetici elettronici reali ( $g$  ed  $e$ ), virtuali ( $m'$  e  $m$ ) e livelli vibrazionali ( $\nu = 1$  e  $\nu = 2$ ) per una molecola che riceve una radiazione incidente con frequenza  $\nu$ .

## SERS (Surface Enhanced Raman Scattering)

### Introduzione

L'effetto SERS (Surface Enhanced Raman Scattering) [Etchegoin,2009] fu osservato per la prima volta nel 1974 e consiste in un'intensificazione di diversi

ordini di grandezza del segnale Raman di una molecola. Tale intensificazione è dovuta all'interazione elettromagnetica tra la luce e il substrato metallico su cui l'analita è posto.

Analizzando singolarmente le parole che compongono l'acronimo è possibile spiegare più in dettaglio le proprietà di questo effetto:

**Surface (S)**: il SERS è una tecnica spettroscopica di superficie. La molecola da analizzare deve essere adsorbita sul metallo oppure essere molto vicina ad esso in modo tale che l'intensità elettromagnetica del campo, che decresce in maniera sensibile con la distanza, non sia eccessivamente ridotta.

**Enhanced (E)**: l'amplificazione del campo elettromagnetico è dovuta alle risonanze plasmoniche generate dalla superficie metallica. Migliori valori di enhancement si ottengono su superfici nanostrutturate.

**Raman (R)**: la tecnica prevede un'intensificazione dei segnali Raman. Le posizioni delle bande caratteristiche negli spettri SERS saranno quindi esattamente uguali a quelle dei corrispettivi spettri Raman<sup>1</sup> fornendo lo stesso grado di informazioni sulla struttura chimica del materiale analizzato, ma dando al contempo la possibilità di effettuare analisi a concentrazioni molto basse che non danno segnali apprezzabili se si usa il solo effetto Raman.

**Scattering (S)**: con questo termine si ricorda che la natura del processo è (analogamente al caso del Raman) quella della diffusione anelastica mediata dai modi vibrazionali caratteristici dell'analita.

## Cause dell'intensificazione

L'intensificazione del segnale Raman è dovuto principalmente a due contributi: il fattore elettromagnetico e quello chimico legato alla polarizzabilità  $\alpha$ .

### Intensificazione elettromagnetica

Analogamente a quanto avviene per il campo incidente su nanoparticelle metalliche (vedi paragrafo 3.3.3 nel capitolo 3) anche le radiazioni derivanti dallo scattering Raman subiranno un'intensificazione (figura A.6) [Etchegoin,2009; Kneipp,2001]. Esse infatti essendo a una frequenza diversa da quella incidente, verranno amplificate indipendentemente da essa, ma essendo di poco differenti da quella dell'eccitatrice, sono anch'esse in buona risonanza con i plasmoni. Naturalmente saranno maggiormente intensificate le frequenze Raman più vicine a quella dell'eccitatrice, per cui l'intensificazione globale attribuibile all'enhancement elettromagnetico, considerando le linee Stokes, è:

$$G_{em}(\omega) = |A(\omega)|^2 = \left| \frac{\epsilon(\omega) - \epsilon_m}{\epsilon(\omega) + 2\epsilon_m} \right|^2 \left| \frac{\epsilon(\omega_S) - \epsilon_m}{\epsilon(\omega_S) + 2\epsilon_m} \right|^2 \left( \frac{r}{r+d} \right)^6 \quad (\text{A.14})$$

Questo modello può spiegare fattori di enhancement mediati sulla superficie di  $10^6$  volte.

### Intensificazione chimica

Il tensore di polarizzabilità  $\alpha$  è riconducibile ad un altro meccanismo di intensificazione che dà un proprio contributo all'effetto SERS [Kneipp,2001]. Quest'ul-

<sup>1</sup>A meno di effetti di solvente o d'interazioni chimiche con il substrato metallico che possono modificare la struttura vibrazionale del campione in esame.

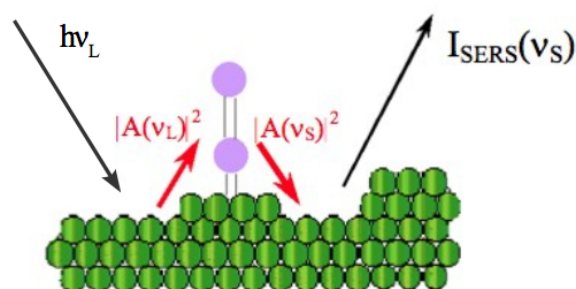


Figura A.6: Il fattore di intensificazione della radiazione SERS alla frequenza Stokes  $I_{\text{SERS}}(\nu_s)$ , proporzionale al segnale misurato, è dovuto al prodotto dei fattori di intensificazione del campo, uno alla frequenza del laser  $\nu_L$  e l'altro alla frequenza Stokes  $\nu_s$  della molecola.

timo è legato all'adsorbimento chimico, che si crea tra superficie metallica ed analita, che è in grado di aumentare la sezione d'urto Raman creando nuovi stati elettronici che possono essere in risonanza con la radiazione incidente. L'interazione che si crea, infatti, porta ad una parziale sovrapposizione degli orbitali atomici dei due elementi, cosa che facilita il trasferimento di carica tra le due specie. Tale processo di trasferimento è schematizzabile nei seguenti passaggi (figura A.1). Un fotone incidente di energia  $h\nu_L$  eccita un elettrone della banda

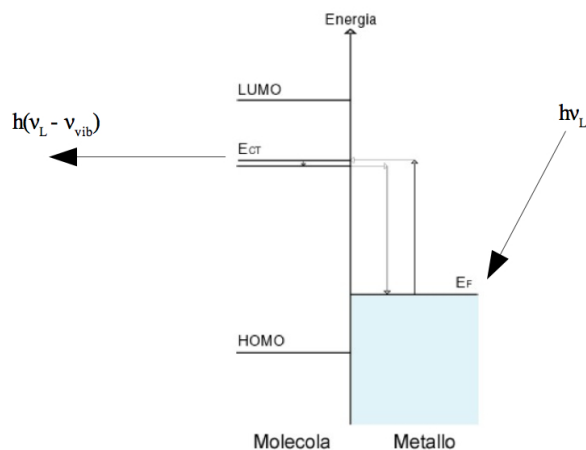


Figura A.7: Schematizzazione del complesso a trasferimento di carica responsabile dell'enhancement chimico.

di conduzione del metallo su un livello eccitato (transizione intra-banda). Grazie alla creazione di nuovi livelli elettronici, creati dall'interazione tra metallo e molecola, l'elettrone può transire su un livello vibrazionale eccitato dei livelli formati (livelli di 'Charge Transfer',  $E_{ct}$ ). Durante la diseccitazione, l'elettrone compie il percorso inverso tornando al metallo con la contemporanea emissione

di un fotone Raman che ha un'energia vibrazionale diversa da quella iniziale. Tale energia è pari a  $h(\nu_L - \nu_{\text{vib}})$  dove  $\nu_{\text{vib}}$  è la frequenza relativa al più basso sottolivello vibrazionale del livello elettronico sul quale l'elettrone rilassa prima di tornare al ground state. L'intensificazione chimica è quindi dovuta essenzialmente ad una nuova condizione di risonanza che si crea tra radiazione incidente e il gap  $|E_F - E_{CT}|$  creatosi dal complesso metallo-molecola. Questo tipo di enhancement è chiamato anche di "primo strato" in quanto coinvolge esclusivamente le molecole adsorbite sulla superficie metallica. Ciò permette di intuire che i siti di adsorbimento e l'orientazione della molecola adsorbita (cioè il tensore di polarizzabilità  $\alpha$ ) sulla superficie hanno un ruolo fondamentale nella definizione del complesso metallo-molecola. Generalmente questa l'intensificazione non è superiore a  $10^2$  volte.

### Calcolo dell'enhancement

Per stimare il fattore d'intensificazione globale dovuto all'effetto SERS si definiscono i fattori d'intensificazione chimica ed elettromagnetica come segue:

$$I_C = \frac{\sigma_{\text{ads}}^R}{\sigma_{\text{free}}^R} \quad (\text{A.15})$$

$$I_{EM} = |A(\omega)|^2 \cdot |A(\omega_S)|^2 \quad (\text{A.16})$$

dove  $\sigma_{\text{ads}}^R$  è la sezione d'urto Raman della molecola adsorbita,  $\sigma_{\text{free}}^R$  la sezione d'urto Raman della sola molecola,  $|A(\omega)|$  il fattore d'intensificazione del campo totale sulla superficie delle nanoparticelle e  $|A(\omega_S)|$  l'intensificazione del campo totale alla frequenza della linea Stokes.

Dalle formule (A.15) e (A.16) si può definire il fattore d'intensificazione globale dato dal prodotto dei due contributi:

$$I_{\text{tot}} = I_C \cdot I_{EM} = \frac{\sigma_{\text{ads}}^R}{\sigma_{\text{free}}^R} \cdot |A(\omega)|^2 |A(\omega_S)|^2 = \frac{\sigma_{\text{eff}}^{\text{SERS}}}{\sigma_{\text{free}}^R} \quad (\text{A.17})$$

In realtà il calcolo esatto dell'intensificazione totale del segnale Raman dovuto all'effetto SERS, è molto più complicato ma questo risultato ne è una buona stima. È però possibile con il metodo del riferimento interno avere una buona indicazione dell'enhancement del segnale.

## Appendice B

# Materiali utilizzati

### B.1 Fluorofori

Durante il mio lavoro di tesi sono stati utilizzati differenti fluorofori che fanno parte della famiglia dei dyes aromatici.

#### Lumogen F Red 305

Struttura chimica (figura B.1):

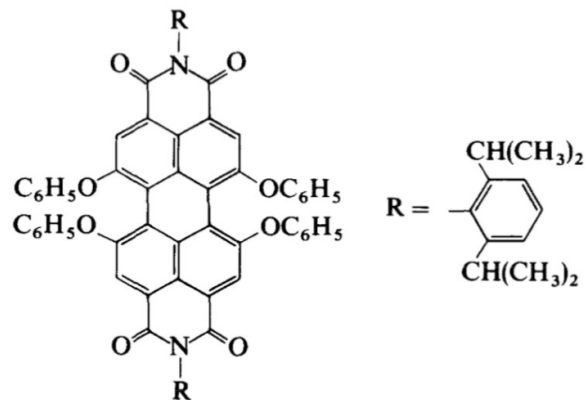


Figura B.1: Struttura del Lumogen F Red 305 [Seybold, 1989].

Spettri di assorbimento UV-Vis e fluorescenza in matrice di PS in un film sottile su vetro (figure B.2-B.3):

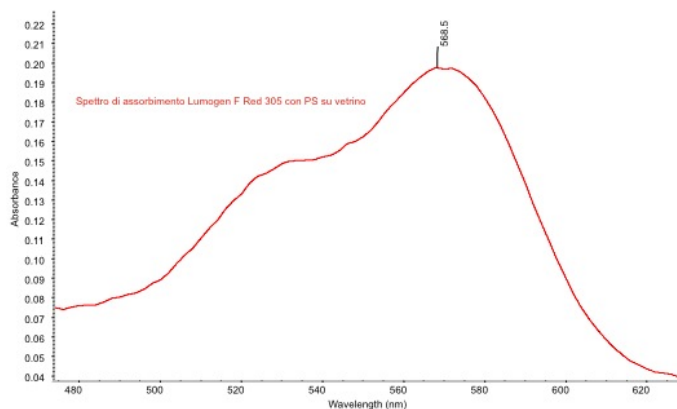


Figura B.2: Spettro di assorbimento UV-Vis del Lumogen F Red 305 in matrice di PS in un film sottile su vetro.

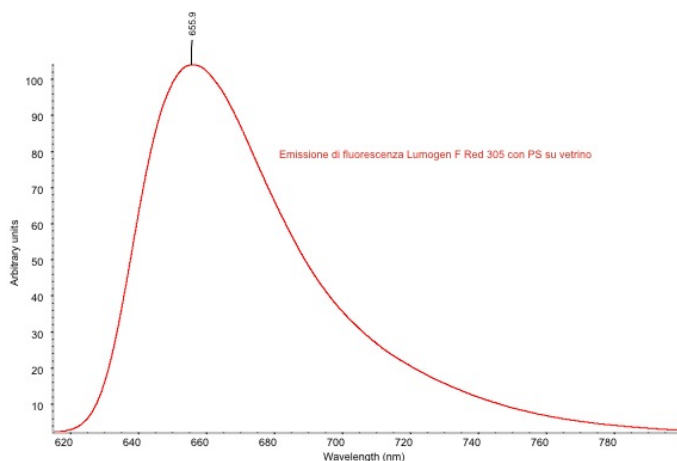


Figura B.3: Spettro di fluorescenza del Lumogen F Red 305 in matrice di PS in un film sottile su vetro.

Formula molecolare	$C_{71}H_{90}N_2O_8$
Massa molare	1111,494 g/mol
$\lambda_{MAX}$ assorbimento in matrice polistirene	568,5 nm
$\lambda_{MAX}$ emissione in matrice polistirene	655,9 nm
Resa quantica [BAFS-The Chemical Company]	0,9

Tabella B.1: Caratteristiche del Lumogen F Red 305.



**Resorufina**

Struttura chimica (figura B.4):

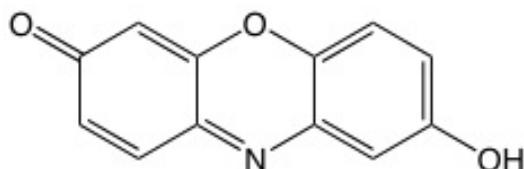


Figura B.4: Struttura della resorufina.

Spettri di assorbimento UV-Vis e fluorescenza in soluzione a pH 9<sup>1</sup> (figure B.5-B.6):

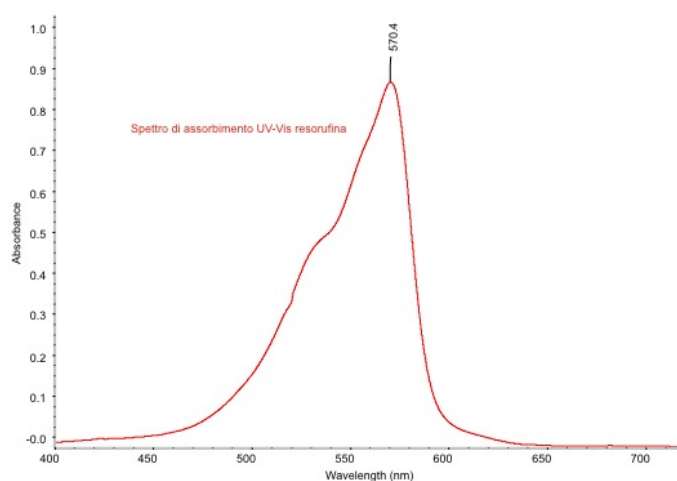


Figura B.5: Spettro di assorbimento UV-Vis della resorufina.

Formula molecolare	$C_{18}H_{17}NO_8$
Massa molare	375,33 g/mol
$\lambda_{MAX}$ assorbimento in acqua a pH 9	570,4 nm
$\lambda_{MAX}$ emissione in acqua a pH 9	647,8 nm
Coefficiente di estinzione (da spettro UV-Vis)	$155350 \text{ M}^{-1}\text{mm}^{-1}$
Resa quantica a pH 9.5 [Villegas, 2001]	0,09

Tabella B.2: Caratteristiche della resorufina.

<sup>1</sup>La lunghezza d'onda di assorbimento e di emissione dipende dal pH della soluzione.

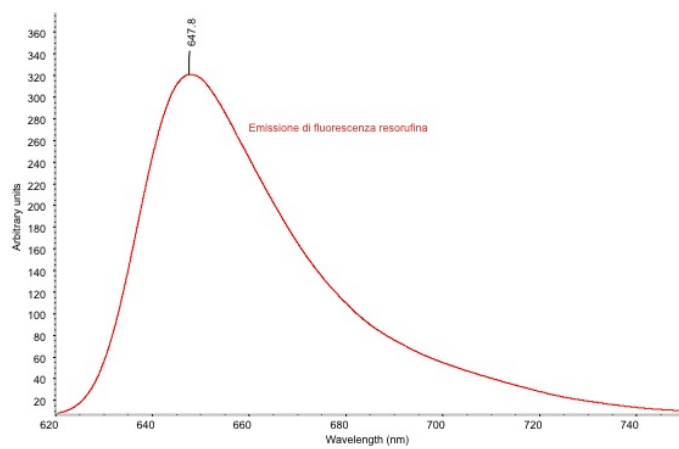


Figura B.6: Spettro di fluorescenza della resorufina.

### Rodamina 6G

Struttura chimica (figura B.7):

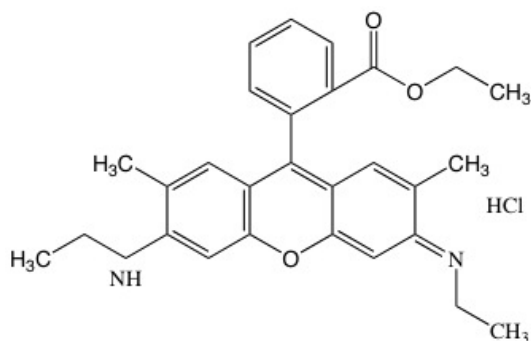


Figura B.7: Struttura della rodamina 6G.

Spettri di assorbimento UV-Vis e fluorescenza in soluzione (figure B.8-B.9):

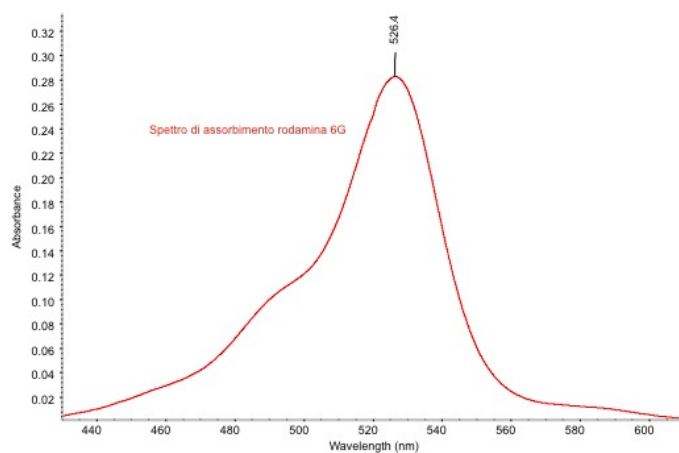


Figura B.8: Spettro di assorbimento UV-Vis della rodamina 6G.

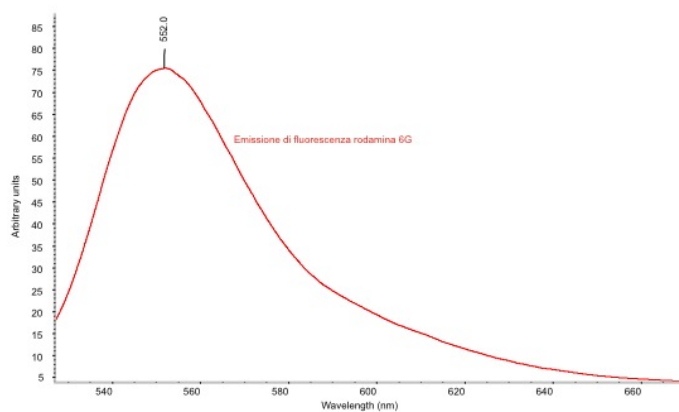


Figura B.9: Spettro di fluorescenza della rodamina 6G.

Formula molecolare	$C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$
Massa molare	479,02 g/mol
$\lambda_{MAX}$ assorbimento in acqua	526,4 nm
$\lambda_{MAX}$ emissione in acqua	552,0 nm
Coefficiente di estinzione (da spettro UV-Vis)	$125400 M^{-1}mm^{-1}$
Resa quantica [Kubin,1982]	0,95

Tabella B.3: Caratteristiche della rodamina 6G.

**Rodamina B**

Struttura chimica (figura B.10):

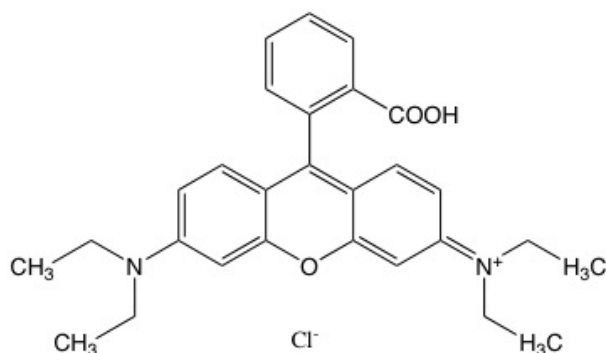


Figura B.10: Struttura della rodamina B.

Spettri di assorbimento UV-Vis e fluorescenza in soluzione (figure B.11-B.12):

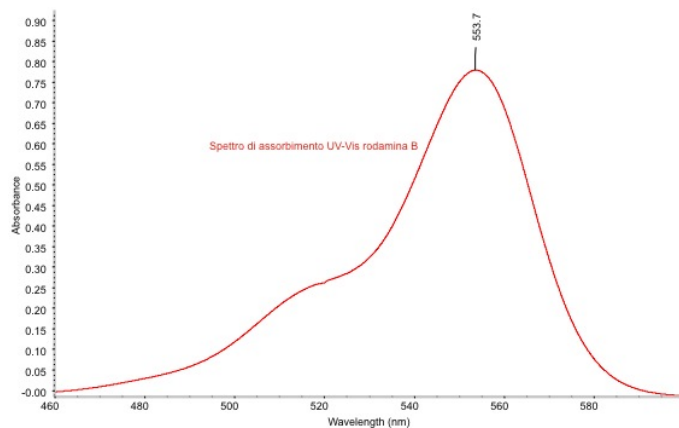


Figura B.11: Spettro di assorbimento UV-Vis della rodamina B.

Formula molecolare	$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$
Massa molare	479,02 g/mol
$\lambda_{MAX}$ assorbimento in acqua	553,7 nm
$\lambda_{MAX}$ emissione in acqua	578,1 nm
Coefficiente di estinzione (da spettro UV-Vis)	$141200 \text{ M}^{-1}\text{mm}^{-1}$
Resa quantica [Arbeloa, 1989]	0,7

Tabella B.4: Caratteristiche della rodamina B.

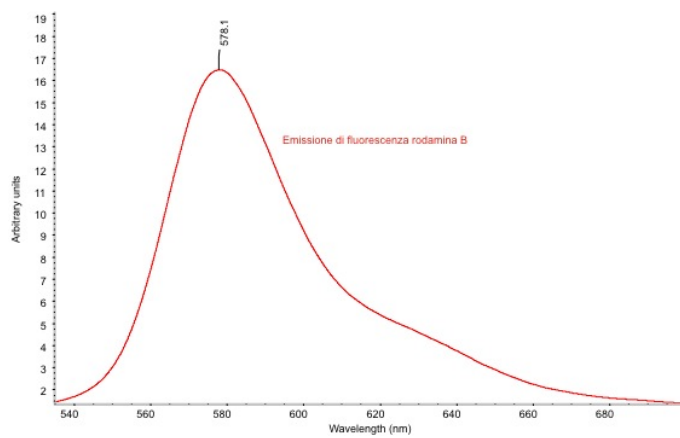


Figura B.12: Spettri di fluorescenza della rodamina B.

### Rosa bengala

Struttura chimica (figura B.13):

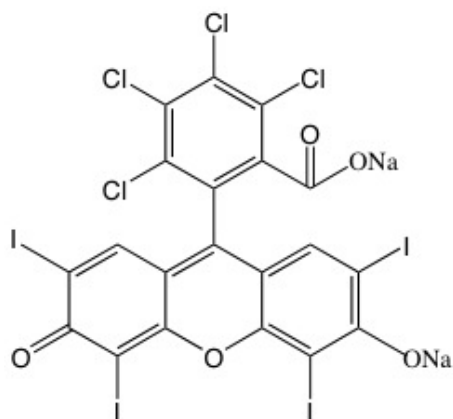


Figura B.13: Struttura della rosa bengala.

Spettri di assorbimento UV-Vis e fluorescenza in soluzione (figure B.14-B.15):

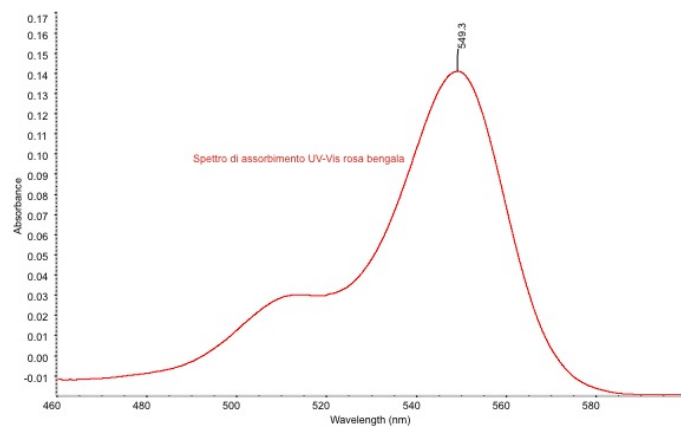


Figura B.14: Spettro di assorbimento UV-Vis del rosa bengala.

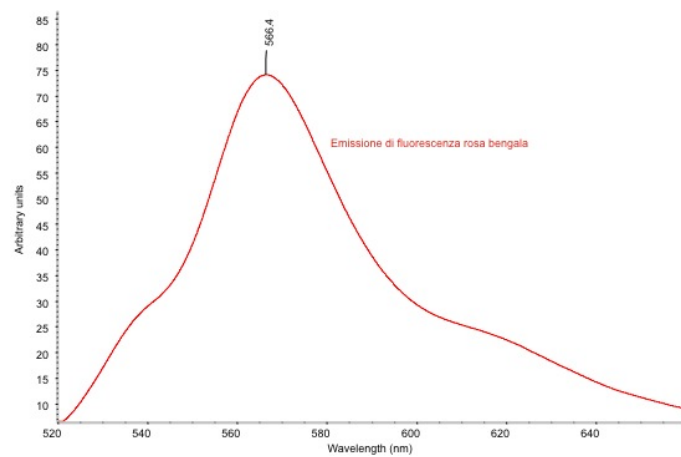


Figura B.15: Spettri di fluorescenza del rosa bengala.

Formula molecolare	$C_{20}H_4Cl_4I_4O_5$
Massa molare	973,67 g/mol
$\lambda_{MAX}$ assorbimento in acqua	549,3 nm
$\lambda_{MAX}$ emissione in acqua	566,4 nm
Coefficiente di estinzione (da spettro UV-Vis)	$17480 M^{-1}mm^{-1}$
Resa quantica [Seybold,1969]	0,11

Tabella B.5: Caratteristiche rosa bengala.

## B.2 Polimeri

### Polistirene (PS)

Struttura chimica (figura B.16):

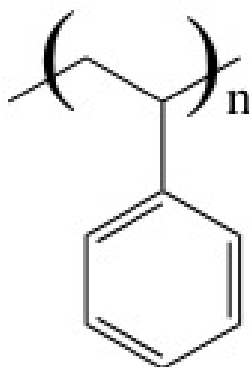


Figura B.16: Polistirene.

Caratteristiche (tabella B.6):

Formula molecolare	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)$
Peso molecolare medio	192000 g/mol
Indice rifrazione	1,55
Densità	$1,05 \text{ g cm}^{-3}$
Punto di fusione	$240^\circ\text{C}$
Temperatura di transizione vetrosa	$95^\circ\text{C}$

Tabella B.6: Caratteristiche PS.



**Poli-vinil-alcool (PVA)**

Struttura chimica (figura B.17):

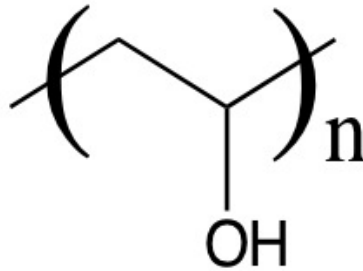


Figura B.17: Poli-vinil-alcool.

Caratteristiche (tabella B.7):

Formula molecolare	$(C_2H_4O)_x$
Peso molecolare medio	124000-186000 g/mol
Indice di rifrazione	1,55
Densità	1,19-1,31 g cm <sup>-3</sup>
Punto di fusione	230°C

Tabella B.7: Caratteristiche PVA.



## Appendice C

# Strumentazione utilizzata

Di seguito sono riportate delle brevi descrizioni con le principali caratteristiche delle apparecchiature di misura utilizzate durante il lavoro di tesi.

### C.1 Spettrofotometro UV-Vis Jasco V-570

Lo spettrometro utilizzato per effettuare misure di assorbimento è quello riportato in figura C.1 e il suo schema di funzionamento è raffigurato in figura C.2. Le lampade al deuterio D2 ed alogena WI servono per coprire l'intero



Figura C.1: Spettrometro UV-VIS della JASCO V-570: tale spettrometro fornito di lampada alogena come sorgente permette di coprire anche il range del NIR.

range spettrale, emettendo radiazione rispettivamente nell'UV e nel VIS-NIR. Lo specchio sferico M1 seleziona la sorgente che illumina la fenditura d'ingresso del monocromatore indirizzando la radiazione verso lo specchio piano M2 che la invia a sua volta sulla torretta filtri F. Le fenditure S1 e S2 sono variabili in larghezza ed altezza mediante un disco rotante, mentre il monocromatore di tipo Czerny-Turner utilizza due reticoli disperdenti G1 e G2 con cambio programmabile tra 800 e 900 nm per coprire tutto il range spettrale. Dopo che la radiazione è stata dispersa viene riflessa tramite delle ottiche (da M4 fino a M7)

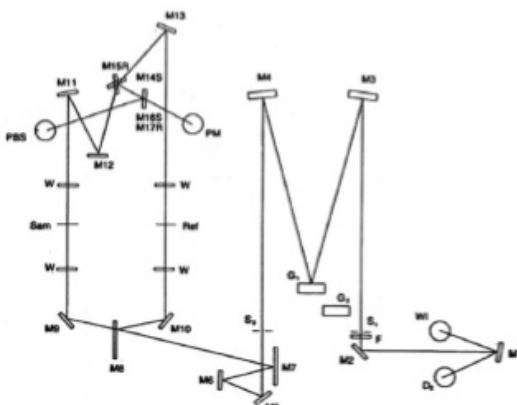


Figura C.2: Schema di funzionamento dello spettrometro JASCO V-570.

per arrivare poi allo specchio semiriflettente M8 che la separa in due parti, una diretta verso il campione (Sam) e l'altra verso il riferimento (Ref). A questo punto l'ottica di raccolta a specchi (da M11 a M17) presenta l'immagine dei due raggi sulla stessa superficie del rivelatore selezionato, che può essere un fotomoltiplicatore per UV e VIS o PbS per il NIR. Da ciò consegue che un singolo rivelatore vede alternativamente il segnale del campione, del riferimento e del buio che poi viene sottratto. I due segnali analogici relativi a campione ed al riferimento vengono trattati per fornire l'informazione nella scala di riferimento prescelta (assorbanza, %T, %R,...). Attraverso il software Spectra Manager è possibile ovviamente controllare i parametri operativi dello spettrometro e gestire gli spettri acquisiti. Il campione, in base al tipo di misura, è posto o in cuvette di quarzo di spessore 1 cm o nella sfera integratrice.

Si ricorda che il fenomeno dell'assorbimento, schematizzato in figura C.3, segue la nota legge di Lambert-Beer secondo la quale l'assorbanza  $A$  ha una dipendenza dall'intensità della radiazione incidente  $I_0$  e trasmessa  $I$  di tipo logaritmico.

In particolare l'assorbanza  $A$  risulta in questo modo proporzionale ad un coefficiente di estinzione molare  $\epsilon$  ( $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ ), al cammino ottico nella cuvetta  $l$  e alla concentrazione  $c$  (M), secondo la relazione:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = c \cdot l \cdot \epsilon \quad (C.1)$$

*Caratteristiche tecniche principali dello spettrometro JASCO V-570 UV-VIS-(NIR):*

- **Intervallo spettrale:** 190 ÷ 2500 nm
- **Risoluzione:** 0,1 ÷ 10 nm per UV-VIS; 0,4 ÷ 40 nm per NIR
- **Luce diffusa:** 0,03% a 220 nm
- **Velocità di scansione:** 10 ÷ 4000 nm/min

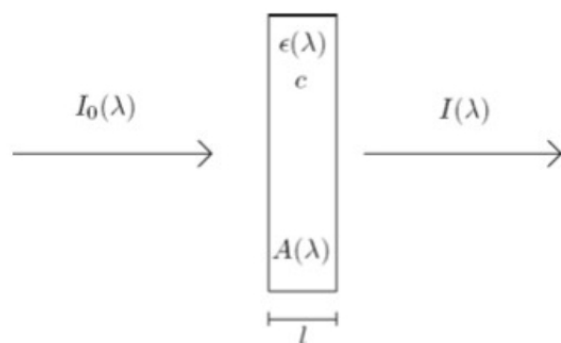


Figura C.3: L'intensità della radiazione incidente  $I_0$  e trasmessa  $I$  è funzione della concentrazione  $c$ , dello spessore attraversato  $l$  e del coefficiente di estinzione molare  $\epsilon$  della specie. Da notare la dipendenza dei parametri dalla lunghezza d'onda  $\lambda$ .

- **Monocromatore:** due tipo Czerny-Turner; 1200 linee/mm per UV-VIS e 300 linee/mm per NIR
- **Rivelatore:** fotomoltiplicatore per UV-VIS e PbS raffreddato per effetto Peltier per NIR

## C.2 Spettrofluorimetro Jasco FP 6600

Lo spettrofluorimetro è stato utilizzato per effettuare le misure di fluorescenza (figura C.4) e il suo schema ottico, riportato in figura C.5, è il seguente.



Figura C.4: Spettrofluorimetro Jasco FP 6600.

La radiazione emessa da una lampada allo Xeno viene indirizzata tramite degli specchi su un monocromatore e viene poi fatta passare attraverso una fenditura regolabile che ne determina la forma e ne evita l'eccessiva diffusione. Un reticolo diffrattivo seleziona la lunghezza d'onda d'eccitazione desiderata che viene

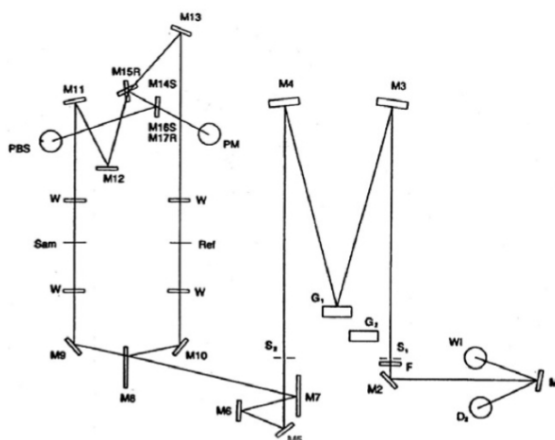


Figura C.5: Schema ottico dello spettrofluorimetro Jasco FP 6600. Legenda: L: lampada allo Xeno; G1 e G2: reticolo di diffrazione; S1 e S2: fenditure di selezione del monocromatore; M: specchio (1: ellissoidale, 0,2,8: sferico, 3,6,7: piano); DG: piano diffusivo; PM1 e PM2: tubi fotomoltiplicatori; BS: beam splitter.

guidata per mezzo di varie ottiche sul campione. La luce poi, attraversando quest'ultimo, diffonde e viene raccolta e divisa nelle sue varie componenti da un secondo monocromatore. Infine, prima di incidere sul reticolo, passa in una seconda fenditura regolabile che ne limita la dispersione e viene poi diretto sul detettore e convertito in un segnale elettrico processato poi dall'elettronica. Nel cammino tra il primo monocromatore ed il campione il fascio incide su un beam-splitter che lo separa in due parti: una prosegue lungo il percorso appena illustrato, l'altra viene analizzata per determinare eventuali variazioni d'intensità della lampada che possono essere così compensate tramite un sistema di retroazione.

All'ingresso e all'uscita della cella porta-campioni, possono anche essere posti dei filtri per eliminare componenti della radiazione, rifratte dai reticoli, di ordine superiore al primo.

Il campione è posto in cuvette o deposto su vetrini a seconda della sua fase fisica. Nel caso di substrati solidi il portacampioni è dotato di goniometro è utile per variare l'angolo di incidenza del fascio sul campione.

### C.3 Raman dispersivo LabRAM HR800

Lo spettrometro dispersivo LabRAM HR800, prodotto dalla Horiba Jobin Yvon ed accoppiato per le misure in modalità micro ad un microscopio Olympus BX41 (figura C.6), è stato utilizzato per ottenere spettri Raman e/o analizzare l'emissione di fluorescenza. Lo schema dell'intero apparato utilizzato è riportato in figura C.7. Dalla figura si nota che il detettore CCD, il suo power supply, quelli dello spettrometro e dello stage XY sono allocati all'esterno del box. Allo stesso modo anche la strumentazione di controllo dei laser trova posto al di



Figura C.6: Raman dispersivo LabRAM HR800 in modalità micro con microscopio Olympus BX41 e stage per misure di mapping.

fuori dello strumento. In figura si vedono anche lo stage XY necessario per le misure di mapping e il joystick per il posizionamento XYZ del campione. Completano l'apparecchiatura una lampada a luce bianca ed il suo generatore di potenza necessari per mettere a fuoco il campione prima della misura. Il tutto è collegato al PC dotato del software Labspec per la gestione degli spettri e dei parametri operativi.

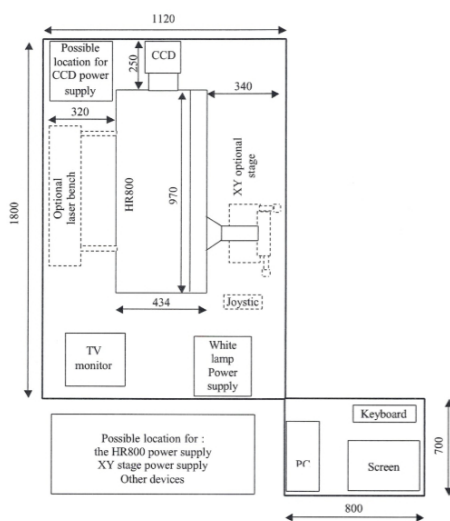


Figura C.7: Elementi principali dello spettrometro dispersivo LabRAM HR800. Le quote sono riportate in mm.

Le parti più importanti che compongono lo strumento sono le seguenti:

- Laser
- Microscopio
- Spettrometro

- Rivelatore CCD
- Elettronica di controllo

Dopo aver scelto la lunghezza d'onda del laser, il fascio viene diretto all'interno dello strumento mediante un sistema di ottiche che, tramite un filtro interferenziale, elimina le linee spurie di emissione del laser stesso (linee di plasma). A questo punto la potenza del fascio è regolata mediante una serie di filtri a differente densità ottica. Successivamente il laser colpisce un filtro notch e viene riflesso verso il campione posto sotto l'obiettivo del microscopio.

Dall'interazione tra onda e campione si genera l'effetto Raman in cui la radiazione diffusa in backscattering si dirige di nuovo verso il filtro notch; tale filtro elimina la componente di Rayleigh lasciando passare solo le componenti Stokes e anti-Stokes che vengono poi disperse dal reticolo ed inviate al CCD per essere acquisite ed elaborate, ottenendo così sullo schermo lo spettro Raman del campione.

*Caratteristiche tecniche principali del Raman dispersivo LabRAM HR800:*

**Laser:** nella tabella C.1 si riportano i laser disponibili sullo strumento e le loro lunghezze d'onda caratteristiche:

Laser	Linea eccitatrice caratteristica
HeCd	325 nm
Ar <sup>+</sup>	458 nm e 514 nm
HeNe	633 nm
Diodo laser	785 nm

Tabella C.1: Laser disponibili sullo spettrometro Raman dispersivo LabRAM HR800

**Microscopio:** sullo strumento è montato un microscopio ottico Olympus BX41 con i seguenti obiettivi e le corrispondenti aperture numeriche NA:

- 4X, NA = 0,13
- 10X, NA = 0,25
- 20X, NA = 0,5
- 50X, NA = 0,7
- 100X, NA = 0,9

Il microscopio è collegato ad una telecamera a colori che permette di osservare sullo schermo l'immagine del campione e della zona illuminata dal laser. È previsto inoltre un alloggiamento apposito per analisi con fibre ottiche. Una lampada a luce bianca collegata al microscopio fornisce la luce necessaria per illuminare la zona interessata e metterla a fuoco.

**Spettrometro:** lo spettrometro è in configurazione di monocromatore Czerny-Turner asimmetrica ed ha una lunghezza focale di 800 mm. Questa configurazione, non avendo ottiche rifrattive, permette di avere un ampio intervallo di



frequenza di utilizzo da 300 a 1064 nm. Il principio di funzionamento del monocromatore è riportato in figura C.8. La luce bianca entrante è focalizzata dalla fenditura d'ingresso ed è inviata ad uno specchio concavo che collima il fascio e lo indirizza al reticolo di diffrazione in grado di ruotare. La radiazione, scomposta nelle sue lunghezze d'onda in quanto focalizzata in punti differenti, viene poi reindirizzata ad un altro specchio concavo (focusing mirror) che, a sua volta, la invia al reticolo del detettore CCD. Ogni lunghezza d'onda è focalizzata in una posizione differente in funzione dell'angolo di rotazione del reticolo.

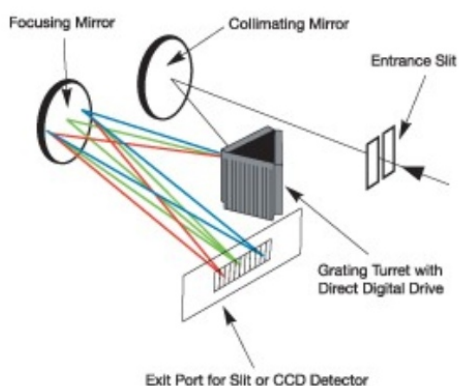


Figura C.8: Monocromatore Czerny-Turner asimmetrico.

I reticoli di diffrazione disponibili sono 600, 1800 e 2400 linee/mm, ottimizzati per le sorgenti laser a disposizione. Per quanto riguarda invece le ottiche dello spettrometro, esse sono principalmente specchi atti ad indirizzare il fascio dal filtro notch e da filtri neutri a diverse densità ottiche  $D$ , che attenuano la potenza iniziale del laser  $P_0$  facendolo arrivare sul campione con una potenza effettiva  $P$ . La densità ottica  $D$  è data dall'equazione:

$$D = \log \frac{I_0}{I} \quad (C.2)$$

dove  $I$  è l'intensità del campo elettrico uscente e  $I_0$  quella incidente sul filtro. I valori di densità ottica dei filtri ed i corrispondenti valori di potenza sono riportati in tabella C.2:

**Detettore:** il detettore dello spettrometro è un CCD di 1024 x 256 pixel che opera a  $-70$  °C raffreddato per effetto Peltier. Poichè il funzionamento del CCD (Charged Coupled Device) si basa sull'accumulo di carica elettrica in modo proporzionale all'intensità dei raggi luminosi che lo investono, la radiazione diffusa dal campione, con la sua lunghezza d'onda e la sua intensità, colpendo il CCD in punti diversi genera lo spettro del campione.

**Elettronica di controllo:** la parte hardware permette il controllo delle fenditure, dei reticoli, dello shutter d'ingresso del laser e del rilevatore oltre che dell'alimentazione della telecamera e dei sistemi d'allineamento.

La parte software è costituita dal programma Labspec che permette la definizione di vari parametri di acquisizione (modo di acquisizione, range spettrale, tempo e numero delle acquisizioni).

D	Attenuazione Potenza
0	$P = P_0$
0,3	$P = P_0/2$
0,6	$P = P_0/4$
1	$P = P_0/10$
2	$P = P_0/100$
3	$P = P_0/1000$
4	$P = P_0/10000$

Tabella C.2: Per valori crescenti della densità ottica dei filtri D, a pari valore della potenza iniziale del laser  $P_0$ , diminuisce la potenza effettiva P incidente sul campione.

## C.4 Spin coating Laurell WS-400-6NPP-LITE

Lo spin coating è una tecnica utilizzata per applicare ad un substrato solido piano un film sottile ed uniforme. In breve, una quantità in eccesso di una soluzione della specie di cui si vuole il film, ad esempio un polimero, viene depositata sul substrato messo successivamente in rapida rotazione tramite un apposito spin coater al fine di spargere il fluido sul substrato per effetto della forza centrifuga. I solventi utilizzati sono di solito molto volatili per cui il film si assottiglia durante il processo anche per effetto dell'evaporazione del solvente. Con tale tecnica si possono raggiungere spessori da pochi nanometri a centinaia di nanometri.

Il processo dello spin coating è suddiviso in quattro fasi principali (figura C.9):

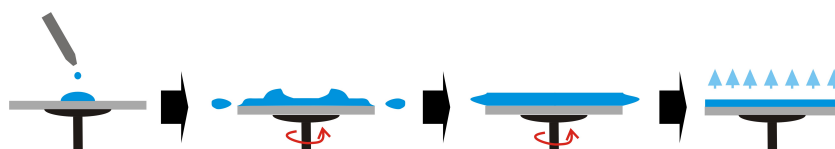


Figura C.9: Illustrazione del processo di spin coating.

1. *Deposizione della soluzione sul substrato.* Si depositano poche gocce della soluzione sulla superficie. Generalmente si mette una quantità di soluzione in eccesso rispetto a quella effettivamente richiesta poiché una parte di essa viene proiettata fuori dal disco. Il substrato viene ancorato al disco rotante dello spin coater tramite una piccola pompa da vuoto e l'intero sistema viene coperto per evitare dispersioni di soluzione nell'ambiente.

2. *Accelerazione del substrato fino alla velocità di rotazione scelta.* Questa fase è caratterizzata dall'espulsione del liquido in eccesso, dalla formazione di vortici a spirale e da un alto shear rate.
3. *Rotazione del substrato a velocità costante.* Lo strato di soluzione si assottiglia gradualmente per effetto della forza centrifuga a cui si oppongono le forze di tipo viscoso. Il moto del fluido sul substrato è ora di tipo laminare con un basso tasso di scorrimento.
4. *Rotazione del substrato a velocità costante ed evaporazione.* A questo punto, le forze di tipo viscoso aumentano rapidamente per effetto della graduale evaporazione del solvente, finché non controbilanciano la forza centrifuga e l'assottigliamento del film termina.

Lo spin coating utilizzato è WS-400-6NPP-LITE della Laurell (figura C.10) che è composto da due pezzi:



Figura C.10: Spin coating della Laurell WS-400-6NP-LITE.

- **Process Controller.** È la parte dello strumento che permette di controllare e programmare il processo di formazione del film. Esso permette di salvare nella sua memoria interna fino a 20 programmi composti da un massimo di 51 differenti steps ciascuno, di verificare l'effettivo ancoraggio del campione al supporto e la chiusura del coperchio dell'housing per ragioni di sicurezza. Per ogni singolo step del programma si possono selezionare il tempo (da 0,1 a 59,9 secondi), la velocità di rotazione, il rate di accelerazione e decelerazione con un'elevata risoluzione di controllo.
- **Housing.** Esso ha forma cilindrica ed è fatto di un blend solido copolimerico resistente a solventi e forti acidi e basi. Al suo interno è collocato il supporto rotante per il campione (max dimensioni 102 mm x 102 mm) circondato da una vaschetta che raccoglie il solvente in eccesso durante il processo. Al centro del supporto vi è un piccolo foro collegato alla pompa a vuoto che permette il fissaggio del campione.



# Bibliografia

- [1] K.Alsan et al., *Metal-enhanced fluorescence Solution-Based-Sensing Platform*, J.Fluorescence, Vol.14, No.6, 2004
- [2] K.Alsan et al., *Metal-enhanced fluorescence using anisotropic silver nanostructures: critical progress to date*, Anal. Bioanal. Chem., 382, 926-933, 2005
- [3] K.Alsan et al., *Fast and slow deposition of silver nanorods on planar surfaces: application to metal-enhanced fluorescence*, J.Phys.Chem. B, 109, 3157-3162, 2005
- [4] K.Alsan et al., *Rapid deposition of triangular silver nanoplates on planar surface: application to metal-enhanced fluorescence*, J.Phys.Chem. B, 109, 6247-6251, 2005
- [5] K. Alsan et al., *Microwave-accelerated metal-enhanced fluorescence: platform technology for ultrafast and ultrabright assays*, Anal. Chem., 77, 8057-8067, 2005
- [6] K.Alsan et al., *Metal-Enhanced Fluorescence: an emerging tool in biotechnology*, Current Opinion in Biotechnology, 16, 55-62, 2005
- [7] K.Alsan et al., *Microwave-accelerated metal-enhanced fluorescence (MAMEF): application to ultra fast and sensitive clinical assay*, J. of Fluorescence, Vol.16, No.1, 2006
- [8] K.Alsan et al., *Metal-enhanced fluorescence solution-based Sensing Platform 2: fluorescent core-shell Ag@SiO<sub>2</sub> nanoballs*, J.Fuorescence, 17, 127-131, 2007
- [9] K.Alsan et al., *Fluorescent core-shell Ag@SiO<sub>2</sub> nanocomposites for metal-enhanced fluorescence and single nanoparticles sensing platforms*, J.Am.Chem.Soc., 129, 1524-1525, 2007
- [10] M. Alschinger et al., *Application of metal nanoparticles in confocal laser scanning microscopy: improved resolution by optical field enhancement*, Appl. Phys. B, 76, 771-774, 2003
- [11] F. L. Arbeloa et al., *Fluorescence self-quenching of the molecular forms of rhodamine B in aqueous and ethanolic solutions*, J. Luminesc., 44, 105-112, 1989
- [12] S.Balushev et al., Appl.Phys.Lett., 86, 061904, 2005

- [13] S.Balushev et al., *Phys.Rev. Lett*, 97, 143903, 2006
- [14] S.Balushev et al., *Chem.Int.Ed.*, 46, 7693, 2007
- [15] G.S.Bang et al., *Rose Bengal Dye on Thiol-Terminated Bilayer for Molecular Devices*, *Langmuir*, 23, 5195-5199,2007
- [16] V.Biju et al., *Distribution of single molecules in polymer thin films*, *J.Photochem.andPhotobiol.A: Chemistry*140, 237-241, 2001
- [17] J.B.Birks, *J. Res. Nat.Bur.Stand.*, A.Phys.Chem., 80, 10, 2008
- [18] M.Brust, M.Walker et al. *J. Chem. Soc., Chem. Community*, 801, 1994
- [19] M.Brust et al., *Synthesis of Thiol-derivatised Gold Nanoparticles in a Two-phase Liquid-Liquid System*, *J.Chem.Soc., Chem. Commun.*, 1994
- [20] P.A.Buining et al., *Preparation of Functional Silane-Stabilized Gold Colloids in the (Sub)nanometer Size Range*, *Langmuir*, 13, 3921-3926, 1997
- [21] K.R.Catchpole et al., *Design principles for particle plasmon enhanced solar cells*, *Applied Physics Letters*, 93, 191113, 2008
- [22] N. Chandrasekharan et al., *Dye-Capped Gold Nanocluster: Photoinduced Morphological Changes in Gold/Rhodamine6G Nanoassemblies*, *J.Phys.Chem B*, 104, 11103-11109, 2000
- [23] Y.Chen et al., *Dependence of fluorescence intensity on the spectral overlap between fluorophores and plasmon resonant single silver nanoparticles*, *Nano Lett.*, Vol.7, No.3, 2007
- [24] M.H.Chowdhury et al., *Use of silver nanoparticles to enhance surface plasmon-coupled emission (SPCE)*, *Chemical Physics Letters*, 452, 162-167, 2008
- [25] S.Coenen, C.G. De Kruif, *Synthesis and Growth of Colloidal silica Particles*, *J.of Colloid and Interface Science*, Vol.124, No.1, 1988
- [26] C. Colbey et al., *Shape-Controlled Synthesis of Silver Nanoparticles for Plasmonic and Sensing Applications*, *Plasmonics*,4,171-179,2009
- [27] J.C.deMello, H.F.Wittmann, R.H.Friend, *An Improved Experimental Determination of External Photoluminescence Quantum Efficiency*, *Advanced Materials*, 9, No.3,1997
- [28] B.Deryagin, L.Landau, *Acta Phys. Chim. URSS*,14, 44,633, 1941
- [29] A.Dorfman et al., *Highly sensitive biomolecular fluorescence detection using nanoscale ZnO Platforms*, *Langmuir*, 22, 4890-4895, 2006
- [30] P. Etchegoin, *Principles of Surface-Enhanced Raman Scattering and related plasmonic effects*, Elsevier ed., 2009
- [31] E.Fort, S.Grésillon, *Surface enhanced fluorescence*, *J.Phys.D: Appl.Phys.* 41,2008

- [32] H.Frohlich, *Theory of Dielectrics*, Oxford University Press, 1958
- [33] C.D.Geddes, J.R.Lakowicz, *Metal-Enhanced Fluorescence*, Journal of Fluorescence, Vol.12, No.2, 2002
- [34] C.D.Geddes et al., *Fractal silver structures for metal-enhanced fluorescence: applications for Ultra-Bright Surface Assays and Lab-on-a-Chip-Based nanotechnologies*, J.Fluorescence, Vol.13, No.2, 2003
- [35] C.D. Geddes et al., *Metal-Enhanced Fluorescence (MEF) due to silver colloids on a planar surface: potential applications of Indocyanine Green to in vivo imaging*, J. Phys. Chem. A, 107, 3443-3449, 2003
- [36] C.D.Geddes et al., *Metal-enhanced fluorescence: potential applications in HTS*, Combinational Chem.&High Throughput Screening, 6, 109-117, 2003
- [37] J.-L. Gong et al., *Novel dye-embedded core-shell nanoparticles as surface-enhanced Raman scattering tags for immunoassay*, An.Chem. Acta, 564, 151-157,2006
- [38] M. Gratzel, *Dye-sensitized solar cells*, Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, vol. 4, pp. 145-153, 2003
- [39] B. Gregg, et al., *Comparing organic to inorganic photovoltaic cells: Theory, experiment, and simulation*, Journal of Applied Physics, vol. 93, pp. 3605-3614, 2003
- [40] D.B.Hall et al., *Spin coating of thin and ultrathin polymer films*, Polymer Eng. and Sci., Vol. 38, No.12, 1998
- [41] P. Hildebrandt et al., *Surface-Enhanced Resonance Raman Spectroscopy of Rhodamine 6G Adsorbed on Colloidal Silver*, J.Phys.Chem., 88, 5935-5944, 1984
- [42] P.Ionita et al., *Lateral Diffusion of thiol Ligands on the surface of Au Nanoparticles: An Electron Paramagnetic resonance Study*, Anal.Chem., 80, 95-106, 2008
- [43] M.Iosin, P.Baldeck, S.Astilean, *Plasmon-enhanced fluorescence of dye molecules*, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 267, 403-405, 2009
- [44] R.R.Islagulov et al., Chem. Comm., 3776, 2005
- [45] R.R.Islagulov et al., J.Am.Chem.Soc., 129, 12652, 2007
- [46] N.R. Jana et al., *Synthesis of Water-Soluble and Functionalized Nanoparticles by Silica Coating*, Chem.Mater., 19, 5074-5082, 2007
- [47] J.C.Y.Kah et al., *Synthesis of gold nanoshells based on the deposition-precipitation process*, Gold Bulletin, 20087
- [48] A.M.Kalsin, *Studying the Thermodynamics of Surface reaction on nanoparticles by Electrostatic Titrations*, J.Am.Chem.Soc., Vol.129, No.21, 2007

- [49] K.L.Kelly et al., *The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment*, J.Phys.Chem.B, 107, 668-677, 2003
- [50] J. Kim et al., *Plasmon-induced modification of fluorescent thin film emission nearby gold nanoparticles monolayers*, Langmuir, 26, 11, 8842-8849, 2010
- [51] B. Kippelen, et al., *Organic photovoltaics*, Energy Environmental Science, vol. 2, pp. 251-261, 2009
- [52] T.M.Kitson, *The Oxidative Addition Reaction between Compounds of Resorufin (7-hydroxy-3H-phenoxazin-3-one) and 2-Mercaptoethanol*, Bioorganic Chemistry, 26, 63-73, 1998
- [53] K.Klabunde, *Nanoscale Materials in Chemistry*, Jhon Wiley & Sons Ed., cap.5, 2001
- [54] K.Kneipp, Y.Wang, H.Kneipp, I.Itzkan, R.R.Dasari, M.S.Feld. Phys.Rev.Lett., 76, 2444, 1996.
- [55] K.Kneipp, Y.Wang, H.Kneipp, L.T.Perelman, I.Itzkan, R.R.Dasari, M.S.Feld. Phys.Rev.Lett., 78, 1667, 1997.
- [56] K. Kneipp, *M.I.T. Course Lessons*, 6.975, Spring 2001
- [57] W.Knoben et al., *Metal-induced fluorescence enhancement as a new detection mechanism for vapor sensing*, Sensors and Actuators B, 148, 307-314, 2010
- [58] A.Kotal et al., *Synthesis of Gold-Poly(methyl methacrylate) Core-Shell Nanoparticles by Surface-Confined atom Transfer radical Polymerization at Elevated Temperature*, Wiley InterScience online, 2005
- [59] R. Kroon, et al., *Small Bandgap Polymers for Organic Solar Cells (Polymer Material Development in the Last 5 Years)*, Polymer Reviews, vol. 48, pp. 531-582, 2008
- [60] R.F.Kubin, A.N.Fletcher, *Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes*, J.Luminescence, 27, 455-462, 1982
- [61] J.R.Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 1999
- [62] J.R. Lakowicz, *Radiative Decay Engineering: Biophysical and Biomedical Applications*, Analytical Biochemistry 298,1-24,2001
- [63] J.R.Lakowicz et al., *Directional surface plasmon-coupled emission: a new method for high sensitivity detection*, Biochem.and Biophys. Research Comm., 307, 435-439, 2003
- [64] J.R.Lakowicz et al., *Advanced in Surface-Enhanced Fluorescence*, J.of Fluorescence, Vol.14, No.4, 2004
- [65] H.B.Lee et al., *Characteristic Optical Property and Synthesis of Gold-silica core-Shell Colloids*



- [66] J.H.Lee et al., *High efficiency polymer solar cells with wet deposited plasmonic gold nanodots*, Organic Electronics, 10, 416-420, 2009
- [67] E.C.Le Ru, P.G.Etchegoin *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effect*, Elsevier, 2009
- [68] D.Li et al., *Cyclic electroplating and stripping of silver on Au@SiO<sub>2</sub> core/shell nanoparticles for sensitive and recyclable substrate of surface-enhanced Raman scattering*, J.of Materials Chemistry, 2010
- [69] Y.-W.Lin et al., *DNA functionalized gold nanoparticles for bioanalysis*, Anal. Methods, 1, 14-24, 2009
- [70] L.M.Liz-Marzán et al., *Synthesis of Nanosized Gold-Silica Core-Shell Particles*, Langmuir, 12, 4329-4335, 1996
- [71] Y.Lu et al., *Synthesis and Self-Assembly of Au@SiO<sub>2</sub> Core-Shell Colloids*, nano Lett., Vol.2, No.7, 2002
- [72] D.A. Long, *The Raman Effect*, John Wiley & Sons, New York, 2002
- [73] A.Lucotti, *SERS (Surface Enhanced Raman Scattering): applicazioni in fotonica e sensoristica*, Tesi di Dottorato, Politecnico di Milano, cap.3, 2005
- [74] A.Monguzzi et al., J.Chem.Soc., 113, 7, 1171, 2009
- [75] A.Moores, F.Goettmann, *The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and application*, New J. Chem., 30, 1121-1132, 2006
- [76] S.P.Mulvaney et al., *Glass-Coated analyte-tagged Nanoparticles: A New Tagging System Based on Detection with Surface-Enhanced Raman Scattering*, Langmuir, 19,4784-4790,2003
- [77] N.Narband, *Nanoparticles and Photosensitisers; their Interactions and Antibacterial Properties*, Tesi di Laurea, University College London, cap.4, 2009
- [78] M.A.Noginov et al., *Demonstration of a spaser-based nanolaser*, Nature, Vol.460, 27, 2009
- [79] A.Pesapane, *Surface Enhanced Raman Scattering- Ottimizzazione e sviluppo di sensori in fibra ottica*, Tesi di Laurea, Politecnico di Milano, cap.3,2005
- [80] P.N.Prasad, *Nanophotonics*, A.Jhon-Wiley&Sons, Inc., 2004
- [81] K.Ray et al., *Observation of surface plasmon- coupled emission using thin platinum films*, Chemical Physics Letters, 465, 92-95, 2008
- [82] A.Renier et al., *Gold/silica thin film for biosensors applications: metal enhanced fluorescence*, Laser Physics, Vol.20, No.3, 591-595, 2010
- [83] T.Saraidarov et al., *Non-self-absorbing materials for Luminescent Solar Concentrators (LSC)*, Chemical Physical Letters, 492, 60-62, 2010

- [84] I.E.Sendroiu et al., *Fabrication of Silica-Coated Gold Nanorods Functionalized with DNA for Enhanced Surface Plasmon Resonance Imaging Biosensing Applications*, Langmuir Letter, 25(19), 11282-11284, 2009
- [85] R.F.Service, *Can the upstarts top silicon?*, Science, Vol.319, 2008
- [86] P.G.Seybold et al., *Calorimetric, photometric and lifetime determinations of fluorescence yields of fluorescence dyes*, Photochem.Photobiol, 9, 229-242, 1969
- [87] G.Seybold, G.Wagenblast, *New perylene and violanthrone Dye stuffs for fluorescent collectors*, Dye and Pigments, 11, 303-317, 1989
- [88] D.J.Shaw, *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, Butterworth-Heinemann Ed., cap.78,1992
- [89] W.Shen et al., *A Long-Wavelength, Fluorogenic Probe for Epoxide Hydrolase: 7-(2-(Oxiran-2-yl)ethoxy) Resorufin*, Bio.pharm.Bull., 32(9), 1496-1499, 2009
- [90] L.H.Slooff et al., *A luminescent solar concentrator with 7.1% power conversion efficiency*, Phys.Stat.Sol., 2, No.6, 257-259, 2008
- [91] M.B.Smith et al., *Singlet fission*, Chem.Rev, 110, 6891-6936, 2010
- [92] K.Sokolov et al., *Enhancement of Molecular Fluorescence near the Surface of Colloidal Metal Films*, Anal.Chem., 70, 3898-3905, 1998
- [93] H. Spanggaard et al., *A brief history of the development of organic and polymeric photovoltaics*, Solar Energy Materials and Solar Cells, vol. 83, pp. 125-146, 2004
- [94] S.D.Standridge et al., *Distance dependence of plasmon-enhanced photocurrent in Dye-Sensitized Solar Cells*, J. Am.Chem.Soc., 131, 8407-8409, 2009
- [95] K.G.Thomas et al., *Surface binding properties of tetraoctylammonium bromide-capped gold nanoparticles*, Langmuir, 18, 3722-3727, 2002
- [96] K.G.Thomas, P.V.Kamat, *Chromophores-Functionalized Gold Nanoparticles*, Account of Chemical Research, Vol.36, No.12, 2003
- [97] M.Touaibia et al., *Synthesis of Novel Alkyl- and Aryl Sulfides and Thiols as Precursors for Self-Assembled Monolayer on Gold*, Synthesis, No.14, 2283-2288, 2004
- [98] T.Trupke et al., J.Appl. Phys., 92, 4117, 2002
- [99] I.Tunc et al., *XPS Characterization of Au (Core)/SiO<sub>2</sub> (Shell) Nanoparticles*, The J.of Phys.Chem.B Letters, 109,7597-7600, 2005
- [100] Turkevich et al., J.Discuss.Faraday Soc., 11, 55,1951
- [101] S.Underwood, P.Mulvaney, *Effect of the Solution Refractive Index on the Color of Gold Colloids*, Langmuir, 10, 3427-3430, 1994

- [102] E.Verwey, J.Overbeek, *Theory of Stability of Lyophobic Colloids*, Elsevier Ed., 1948
- [103] J.Xu, C.C.Perry, *A novel approach to Au@SiO<sub>2</sub> core-shell spheres*, J.of Non-Crystalline Solids 353, 1212-1215, 2007
- [104] L.Villegas et al., *Aqueous photopolymerization with visible-light photoinitiators: Acrylamide polymerization photoinitiated with a phenoxazine dye/amine system*, Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, Wiley, Vol. 39 23, 2001
- [105] S.Vukovic et al., *Fluorescence enhancement of chromophores close to metal nanoparticles. Optmal setup revealed by polarizable continuum model*, J. Phys. Chem. C, 113, 121-133, 2009
- [106] Z.Wang et al., *Design of Polimeric Stabilizers for Size-controlled Synthesis of Monodisperse Gold Nanoparticles in water*, Langmuir, 23, 885-895, 2007
- [107] M.H.V.Werts et al., *Excimer probe of the binding of alkyl disulfides to gold nanoparticles and subsequent monolayer dynamics*, Photochem.Photobiol.Sci., 3, 29-32, 2004
- [108] M.Westphalen et al., *Metal cluster enhanced organic solar cells*, Solar Energy Materials & Solar Cells, 61, 97-105, 2000
- [109] R.Wilson et al., *Synthesis and Characterization of 'Naked' Silver Particles*
- [110] J.-L. Wu et al., *Surface plasmonic effects of metallic nanoparticles on the performance of ploymer bulk heterojunction solar cells*, Acs.Nano, 2011
- [111] P.Wuerfel, *Physik der Solarzellen*, Spektrum Akademie Verlag, Leipzig, 2000
- [112] D.Zanchet et al., *Structure Population in Thiol-Passivated Gold Nanoparticles*, J.Phys.Chem.B, 104, 11013-11018, 2000
- [113] J.Zhang et al., *Metal-enhanced fluorescence of an organic fluorophore using gold particles*, Optics Express, Vol. 15, 5, 2598-2606, 2007
- [114] J.Zhang et al., *Luminescent images of single gold nanoparticles and their labeling on silica beads*, Optics Express, Vol.15, No.20, 2007