

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

**Corso di Laurea Magistrale
in Ingegneria dei Materiali**

Tesi di Laurea Magistrale

**Progettazione e sviluppo di sensori ottici per
il rilevamento di contaminanti a base di
nanostrutture in oro**



Relatore

Prof. Davide Luca Janner

Candidato

Matteo Giardino

Marzo 2020

Indice dei contenuti

Lista delle figure	4
Capitolo 1 - Introduzione	7
1.1 Progetto RAPID	7
1.1.1 Contaminanti dell'acqua	7
1.1.2 Tecniche di analisi per il rilevamento di contaminanti dell'acqua	8
1.2 Raman Spectroscopy e Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS).....	9
1.2.1 Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)	11
1.2.2 Risonanza plasmonica di superficie.....	12
1.3 Sviluppo di un modello RSA-DLVO.....	19
1.3.1 Numero di iterazioni della simulazione	21
1.3.2 Probabilità di interazione e adsorbimento secondo la teoria DLVO	22
1.3.3 Studio statistico della distribuzione spaziale delle nanoparticelle	24
1.4 Influenza della dimensione della distanza e della dimensione delle nanoparticelle per applicazioni SERS	26
Capitolo 2 - Studio dei diversi metodi di pulizia del vetro	29
2.1 Metodi di pulizia per i campioni in vetro	29
2.1.1 Pulizia preliminare del vetro	30
2.1.2 Pulizia con soluzione Piranha	30
2.1.3 Pulizia con Plasma a bassa pressione ad ossigeno.....	32
2.1.4 Pulizia in bagno ad ultrasuoni.....	34
2.2 Zeta Potential e sua misurazione mediante misure elettrocinetiche	35
2.2.1 Double layer model.....	35
2.2.2 Fenomeni elettrocinetici e Zeta Potential	38
2.2.3 Streaming Potential.....	40
2.2.4 Misura dello Zeta Potential mediante SurPASS 3	43
2.3 Risultati delle misure di Zeta Potential e loro interpretazione.....	44
Capitolo 3 - Simulazione della deposizione e deposizione delle nanoparticelle.....	49
3.1 Caratterizzazione delle nanoparticelle	49
3.1.1 Principio di funzionamento del Dynamic Light Scattering	49
3.1.2 Risultati del Dynamic Light Scattering.....	52

3.1.3 Determinazione della concentrazione delle nanoparticelle mediante spettrofotometria UV-VIS	55
3.2 Simulazione della deposizione con tecnica Monte Carlo	56
3.3 Deposizione delle nanoparticelle	58
3.4 Crescita delle particelle.....	58
3.4.1 Crescita isotropa.....	58
3.4.2 Crescita delle nanoforest.....	60
3.4.3 Crescita delle nanostar	61
3.4 Topografia delle particelle depositate tramite Microscopia a forza atomica (AFM).....	62
Capitolo 4 - Preparazione del sensore e suo utilizzo.....	68
4.1 Adsorbimento del contaminante dell'acqua.....	68
4.2 Analisi con spettrofotometro Raman	69
4.2.1 Retta di calibrazione e determinazione del LOQ e del LOD	71
Conclusioni	74
Bibliografia delle fonti	75

Lista delle figure

Figura 1.1: Rappresentazione dei diversi processi di scattering Rayleigh (elastico), Stoke e anti-Stokes (anelastici).	10
Figura 1.2: Andamento della parte reale $Re(\epsilon)$ e della parte immaginaria $Im(\epsilon)$ della funzione dielettrica complessa dell'oro in funzione dell'energia della radiazione incidente. Tratto da Tang et al., 2011[21].	13
Figura 1.3: Interfaccia dielettrico-metallo con indicazione delle cariche e del campo elettrico di un plasmone di superficie propagante nella direzione x	15
Figura 1.4: Andamento di $Re(\epsilon)$ e $Im\epsilon$ dalla relazione di dispersione della (1.33) per il plasmone di superficie.	18
Figura 1.5: Andamento del Field Enhancement Factor (EF) in funzione del rapporto $\omega\omega P$	19
Figura 1.6: Esempio di adsorbimento di una nuova particella nel modello RSA. In verde una particella che non dà luogo a overlapping e in rosso una particella che dà luogo ad overlapping con altre due particelle.	20
Figura 1.7: Calcolo della distanza delle particelle vicine ad una data particella entro una distanza massima d_{max}	21
Figura 1.8: Identificazione di fenomeni di clustering e dispersione ricorrendo alla variance stabilized Ripley's K function. Tratto da [30].	26
Figura 1.9: Andamento dell'Enhancement factor (EF) in funzione del rapporto diametro-distanza per un dimero in oro. Tratto da [31].	27
Figura 1.10: SERS Enhancement Factor in funzione della dimensione delle nanoparticelle. Tratto da [36].	28
Figura 2.1: Vetrini da microscopio montati sull'apposito sostegno (a sinistra) e particolare durante l'operazione di taglio (a destra).	29
Figura 2.2: Solubilizzazione dei cationi alcalini degli ossidi modificatori presenti nel vetro. Immagine tratta da Charles, 1958 [39].	31
Figura 2.3: Dissoluzione del network di silice per rottura dei legami Si-O-Si. Immagine tratta da Charles, 1958 [39].	31
Figura 2.4: Solubilità della silice amorfa in acqua in funzione del pH. Immagine tratta da Charles, 1958 [39].	32
Figura 2.5: Strumentazione Tucano per trattamento con plasma a bassa pressione.	33
Figura 2.6: Andamento dell'angolo di contatto (a sinistra) e della rugosità superficiale (a destra) in funzione del tempo di trattamento con Plasma ad ossigeno con potenza RF di 300W e pressione in camera di 200Pa. Tratto da Alam et al.[41].	34
Figura 2.7: Vetrini in falcon con acetone sottoposti a sonicazione mediante bagno a ultrasuoni.	34
Figura 2.8: Rappresentazione del modello di Helmtolz. In rosso è rappresentato l'andamento del potenziale ψ	36
Figura 2.9: Rappresentazione del modello di Stern. In rosso è rappresentato l'andamento del potenziale ψ	38

Figura 2.10: Indicazione andamento del potenziale in un liquido in movimento in un capillare, con indicazione del potenziale di Stern $\psi\delta$ e del potenziale zeta ζ	40
Figura 2.11: Rappresentazione schematica di un apparato per la misura dello streaming potential.	41
Figura 2.12: Strumentazione per misure elettrocinetiche SurPass 3 della Anton Paar (a sinistra) e cella per misurazione su campioni solidi piani Adjustable Gap Cell (a destra).	43
Figura 2.13: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia in bagno ad ultrasuoni con acetone.....	44
Figura 2.14: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento in soluzione Piranha basica.	45
Figura 2.15: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento in soluzione Piranha acida.....	45
Figura 2.16: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento con plasma ad ossigeno.....	46
Figura 2.17: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento in soluzione Piranha basica e funzionalizzato con APTMS.	46
Figura 2.18: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento al plasma ad ossigeno e funzionalizzato con APTMS.	47
Figura 3.1: Schema di funzionamento dell'apparato per Dynamic Light Scattering.....	49
Figura 3.2: Schema per il calcolo della fase della radiazione scatterata da una particella.	51
Figura 3.3: Distribuzione dimensionale delle nanoparticelle d'oro determinata mediante DLS (curva in rosso) e mediante analisi al TEM (istogramma in nero).	53
Figura 3.4: Immagini al TEM delle nanoparticelle utilizzate. L'immagine è stata realizzata dalla ditta produttrice.	53
Figura 3.5: Zeta potential delle nanoparticelle d'oro in funzione del pH.....	54
Figura 3.6: Spettro di assorbimento UV-Vis delle nanoparticelle nel range 400-800 nm con indicazione dell'assorbanza a 450 nm a 517 nm.	56
Figura 3.7: Distribuzioni Nearest Neighbour $g(d)$ e $G(d)$ calcolate sui centri delle particelle ottenuti per simulazione.	57
Figura 3.8: Distribuzione Nearest Neighbour $g(d)$ calcolate sui centri delle particelle ottenuti per simulazione (in rosso) e suo fitting gaussiano (in blu).	57
Figura 3.9: Vetrini con nanoparticelle cresciute con crescita isotropa. Si nota la colorazione tendente sempre più al viola scuro all'aumentare del tempo di crescita.	60
Figura 3.10: Schematizzazione del processo di crescita della foresta di nanowires. Tratto da He et al. [53].	61
Figura 3.11: Campione di vetro con NPs depositate, posizionato all'interno dell'AFM per la misura della topografia.	63
Figura 3.12: Immagine ottenuta da AFM. Postprocessata con software Gwiddion.....	63
Figura 3.13: Render 3D del campione di NPs depositate su vetrino visualizzato con AFM (Vista 1).	64
Figura 3.14: Render 3D del campione di NPs depositate su vetrino visualizzato con AFM (Vista 2).	64

Figura 3.15: Segmentazione dell'immagine e individuazione dei centri delle nanoparticelle. Elaborazione dell'immagine eseguita con software Fiji.	65
Figura 3.16: Distribuzione NN delle particelle misurate con AFM.....	66
Figura 3.17: Distribuzione NN delle particelle misurate con AFM e suo fitting gaussiano. La linea tratteggiata in nero indica il valore medio della distribuzione.....	66
Figura 3.18: Confronto fra la distribuzione NN del sensore simulato e di quello realizzato sperimentalmente.	67
Figura 3.19: Ripley's K function calcolata sulle coordinate dei centri delle particelle ottenuti da simulazione (in blu) e da misurazione della topografia del sensore con AFM (in rosso).	67
Figura 4.1: Formula di struttura del Tiram.	68
Figura 4.2: Spettro Raman del Tiram. Tratto da Saute et al. [63].....	69
Figura 4.3: Sensore SERS posizionato sul microscopio confocale (a sinistra) e spettrometro Raman accoppiato a microscopio confocale (a destra).	70
Figura 4.4: Calibration plot sensore SERS Nanosphere. La linea tratteggiata in verde rappresenta il Limit Of Quantification (LOQ), quella tratteggiata in rosso il Limit Of Detection (LOD).	71
Figura 4.5: Calibration plot sensore SERS Nanostar. La linea tratteggiata in verde rappresenta il Limit Of Quantification (LOQ), quella tratteggiata in rosso il Limit Of Detection (LOD).	72

Capitolo 1 - Introduzione

1.1 Progetto RAPID

Il lavoro di ricerca riportato nella presente tesi è stato sviluppato nell'ambito del progetto *RaPID* [1], un progetto finanziato dalla divisione SPS (Science for Peace and Security) della NATO (Organizzazione del Trattato del Nord Atlantico).

RaPID è l'acronimo di *Raman Probe for chemical contaminat identification*, e infatti, l'obiettivo del progetto è proprio quello di sviluppare un sensore portatile e a basso costo che permetta di eseguire una rapida analisi, volta a rilevare la presenza di contaminanti nell'acqua e valutare se la loro concentrazione eccede i limiti di sicurezza imposti dalla normativa vigente.

L'idea alla base del sensore sviluppato in seno al progetto RaPID è quella di sfruttare la spettroscopia Raman, che però, a causa della debolezza del segnale prodotto per effetto Raman, è inefficace nel rilevare contaminanti in concentrazioni non molto elevate.

Per ovviare a questo problema si è pensato quindi di realizzare una nanostruttura in oro, sul quale fare adsorbire i contaminanti, riuscendo così a sfruttare dei *fenomeni di risonanza plasmonica superficiale* per amplificare l'intensità del segnale Raman e rendere possibile il rilevamento di inquinanti anche a concentrazioni nell'ordine di $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.

1.1.1 Contaminanti dell'acqua

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) stima che solo il 71% della popolazione mondiale ha accesso a fonti di acqua sicure e controllate e almeno 485000 decessi all'anno avvengono per patologie correlate a inquinanti presenti nell'acqua [2].

I contaminanti presenti nell'acqua possono essere di diverso tipo e avere origine sia naturale che antropica. La WHO nella sua *Guidelines for drinking-water* [3] riassume in cinque categorie i possibili inquinanti dell'acqua così come riportato in Tabella 1.1.

Tipologia di inquinante	Esempi
Inquinanti di origine naturale	Rocce e suolo
Inquinanti provenienti da industrie e abitazioni	Residui e scarti di processi estrattivi e di manifattura, rifiuti urbani, sversamenti e perdite di combustibili.
Inquinanti da attività agricole	Letame, fertilizzanti e pesticidi
Inquinanti da attività di trattamento e distribuzione dell'acqua	Flocculanti, disinfettanti e materiali componenti i tubi degli impianti di distribuzione
Inquinanti da trattamenti per la tutela della salute	Disinfettanti, larvicidi e insetticidi

Tabella 1.1: Principali categorie di inquinanti dell'acqua secondo la WHO. Tabella tratta dalla *Guidelines for drinking-water quality* [3].

A livello italiano, la normativa di riferimento consiste principalmente nel *DPR 236/88* [4] che regola la presenza di contaminanti nelle acque potabili e di sorgente e i *DM 542/92* [5] e *DM 31/05/2001* [6] che trattano invece di acque minerali.

In *Tabella 1.2* si riportano, a titolo d'esempio, i limiti di concentrazione dei principali inquinanti organici delle acque secondo la suddetta normativa italiana.

Principali contaminanti	Unità di misura	Acque potabili (DPR 236/88)	Acque minerali (Decreto 542/92 e Decreto 31/05/ 2001)
		Acque di sorgente (D. lgs. 339/99)	
Benzene	µg/L	-	-
Benzo (a) pirene	µg/L	-	-
Fenoli	µg/L	0.5	0.5
Idrocarburi	µg/L	10	10
Idrocarburi policiclici aromatici	µg/L	0.2	0.1 -0.05
Pesticidi e bifenili policlorurati	µg/L	0.5 in totale 0.1 comp. separato	0.5 in totale 0.1 comp. separato
Tetracloroetilene e tricloroetilene	µg/L	30	0.1-0.5
Comp. organoalogenati	µg/L	30	0.1-0.5
Tensioattivi anionici	µg/L	200	25-100

Tabella 1.2: Limiti di legge per le concentrazioni di composti organici tossici e nocivi nelle acque potabili e nelle acque minerali. Tratto da [7].

In particolare, l'impiego sempre più frequente e diffuso di pesticidi ne ha causato un accumulo nell'ambiente e siccome questi composti sono quasi sempre altamente tossici per l'uomo e persistenti nel tempo, sono state sviluppate delle normative molto stringenti.

Un'indagine statistica commissionata dalla Commissione Europea [8] ha infatti messo in evidenza come il consumo di pesticidi all'interno dell'Unione Europea abbia raggiunto quasi le 400 mila tonnellate annue nel 2017 e di conseguenza sia aumentata la loro concentrazione nelle acque e anche nell'ambiente in generale.

1.1.2 Tecniche di analisi per il rilevamento di contaminanti dell'acqua

I metodi più comuni utilizzati per il rilevamento di pesticidi, ma anche di altri composti organici, nell'acqua riportati nell'*Handbook of Water Analysis* [9] sono basati su tecniche cromatografiche (ad esempio la gas cromatografia e la cromatografia liquida) o elettroforetiche (come ad esempio

l'elettroforesi su capillare), tuttavia queste tecniche richiedono l'uso di apparecchiature complesse e costose e sono caratterizzate da un limite di rilevabilità nell'ordine di $10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$ [10].

Una delle possibili alternative per il rilevamento della presenza di contaminati in acqua è la spettroscopia ad effetto Raman, che, oltre a presentare un costo per analisi abbastanza contenuto è peraltro anche disponibile sotto forma di strumenti portatili adatti anche a misure sul campo.

Tuttavia, il grande problema della debole intensità del segnale prodotto per effetto Raman, rende questa analitica inutilizzabile per il rilevamento dei contaminanti in concentrazione particolarmente basse.

Una delle possibili soluzioni a questo inconveniente è l'uso della SERS (*Surface Enhanced Raman Spectroscopy*) [11], che consiste nell'amplificazione, di parecchi ordini di grandezza, dell'intensità del segnale Raman di una molecola quando questa è adsorbita su una superficie metallica in certe condizioni.

1.2 Raman Spectroscopy e Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)

Quando un fascio luminoso incide su un campione essa può dare diversi tipi di interazione ovvero può essere trasmesso senza interazione, assorbito o dare origine ad un fenomeno di scattering.

In generale, quando l'energia dei fotoni del fascio è pari al gap energetico che separa lo stato fondamentale della molecola da un suo stato eccitato si ha una transizione energetica e quindi un assorbimento. Questa transizione può riguardare elettroni, e dare quindi un assorbimento tipicamente nel campo dell'ultravioletto-visibile (UV-VIS) oppure i livelli vibrazionali della molecola e dare quindi un assorbimento nel campo dell'infrarosso (IR).

Il fenomeno dello scattering consiste invece nell'assorbimento di un fotone incidente accompagnato da un'emissione simultanea di un altro fotone e può essere di due tipi:

- *Scattering elastico*: detto anche *scattering Rayleigh*, dove il fotone incidente e quello emesso hanno la stessa energia.
- *Scattering anelastico*: dove il fotone incidente ha energia diversa da quella emessa perché parte dell'energia è stata utilizzata per far avvenire una transizione tra due stati della molecola. Fa parte di questa categoria lo *scattering Raman*, che coinvolge una transizione tra livelli vibrazionali della molecola.

Lo scattering Raman è un tipo di scattering anelastico che coinvolge transizioni tra livelli vibrazionali della molecola, osservato per la prima volta dai fisici indiani Raman e Krishnan [12] che lo descrivono come "*the diffuse radiation of ordinary kind, having the same wavelength as the incident beam, is accompanied by a modified scattered radiation of degrade frequency*".

Questo processo di scattering può essere visualizzato in modo più intuitivo dividendolo in due step, come si può osservare in Figura 1.1.

Si verifica inizialmente l'assorbimento di un fotone che porta la molecola ad uno stato *eccitato virtuale*, così detto perché spesso non è uno stato esistente fisicamente ma solo un artificio

matematico introdotto per studiare il problema per tramite di una teoria perturbativa, cui segue infine l'emissione di un fotone di scattering.

Se però lo stato virtuale coincide con uno stato vibrazionale energetico della molecola, si verifica il cosiddetto *scattering Raman di risonanza* nel quale l'intensità del fenomeno viene amplificata di parecchi ordini di grandezza.

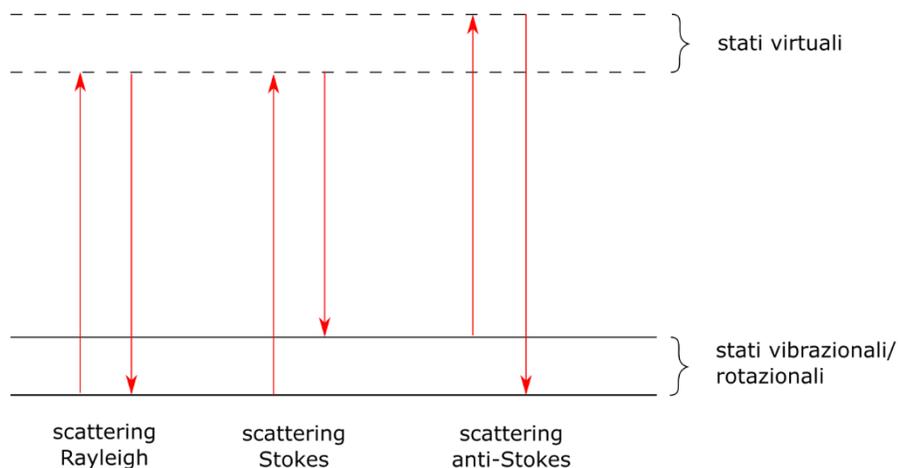


Figura 1.1: Rappresentazione dei diversi processi di scattering Rayleigh (elastico), Stoke e anti-Stokes (anelastici).

Il fotone emesso nel processo di scattering ha energia E_{SC} che può essere minore o maggiore dell'energia del fotone incidente E_I :

- Se $E_{SC} < E_I$ si parla di *scattering Stokes* e la molecola verrà eccitata ad uno stato vibrazionale ad energia maggiore di quello di partenza.
- Se $E_{SC} > E_I$ si parla di *scattering anti-Stokes* e la molecola passerà quindi da uno stato vibrazionale eccitato al suo stato fondamentale. Questo fenomeno richiede che la molecola sia inizialmente ad uno stato eccitato per cui l'entità di questo fenomeno è molto modesta ed è funzione della temperatura secondo una distribuzione di Boltzmann.

Lo scattering Raman, analogamente agli assorbimenti IR, è legato alla variazione del momento dipolare della molecola. Infatti, quando una radiazione luminosa interagisce con la molecola, la sua componente di campo elettrico interagisce con la densità elettronica della molecola stessa dando un momento di dipolo elettrico μ secondo la (1.1).

$$\mu = \alpha \vec{E} \quad (1.1)$$

Dove α è la polarizzabilità elettrica della molecola e \vec{E} è il vettore di campo elettrico della radiazione elettromagnetica incidente.

Siccome le masse dei nuclei sono molto maggiori di quelle degli elettroni è lecito, in prima approssimazione, disaccoppiare il moto di questi da quello dei primi.

In questo modo la polarizzazione della nube elettronica indotta dalla radiazione luminosa non può essere compensata dal moto dei nuclei e si forma uno stato virtuale eccitato della molecola che è altamente instabile e decade rilasciando il fotone di scattering. Questa situazione corrisponde ad uno scattering Rayleigh perchè tutta l'energia assorbita viene rilasciata.

Se invece si verifica un'interazione dove i nuclei hanno tempo di muoversi in modo non trascurabile si avrà una significativa variazione di energia e si è quindi in una situazione di scattering Raman.

È quindi evidente che una molecola con polarizzabilità nulla (come ad esempio la CO_2) non si avrà nessun fenomeno di scattering.

1.2.1 Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)

La tecnica Surface Enhanced Raman Spectroscopy è stata introdotta per la prima volta da Fleischmann et al. [13] che hanno studiato lo spettro Raman della piridina adsorbita su un elettrodo ad elevata area superficiale specifica (SSA) in argento, individuando come causa del fenomeno l'elevata SSA che consente l'adsorbimento di un gran numero di molecole di piridina.

Albrecht e Creighton [14] hanno poi concluso che l'aumento di SSA del substrato può portare ad un incremento dell'intensità di scattering di circa un fattore 5, mentre il reale incremento osservato è stato di circa $4 \cdot 10^5$ e hanno ipotizzato perciò la presenza di un qualche effetto superficiale in grado di aumentare considerevolmente la Raman cross-section.

Kukushkin et al. [15] hanno realizzato dei substrati in Ag sui quali hanno fatto adsorbire differenti tipi di molecole organiche e verificato che l'amplificazione dello scattering Raman rimane costante fino a una distanza di circa 30 nm dalla superficie, indipendentemente dal tipo di molecola considerata.

Weißbacher et al. [16] hanno dimostrato la possibilità di rilevare la presenza di carbendazima e metazachlorina in acqua fino a concentrazioni di 50 ppm mediante spettroscopia SERS utilizzando una layer di Ag depositato elettrochimicamente su un substrato in ottone.

Nel 1997 Nie e Emory [17] hanno realizzato invece, un sensore SERS in Ag ha permesso di identificare una singola molecola di Rodamina-6G su di esso adsorbita, fornendo un fattore di amplificazione del segnale Raman compreso tra 10^{14} e 10^{15} .

Strickland e Batt [18] hanno proposto un sensore SERS a base di nanorods in oro che ha permesso di rilevare della carbendazima in acqua fino a concentrazioni di $50 \mu M$.

Uno dei risultati più recenti è invece quello di Wang et al., 2010 [19] che consiste in un sensore sensore basato su nanoparticelle di Ag ricoperte con nanowire di silicio che permette di rilevare Carabryl in acqua a concentrazioni fino a $10^{-17} M$.

Il principio di funzionamento della SERS é basato sul fenomeno che si verifica quando una superficie metallica viene illuminata da una radiazione elettromagnetica e per il quale si osservano sulla superficie metallica stessa delle oscillazioni collettive degli elettroni di conduzione rispetto ai nuclei degli ioni del metallo: tali oscillazioni vengono definite *plasmoni di superficie* o *plasmoni localizzati*.

Il funzionamento della SERS può essere schematizzato come segue.

Se prendiamo un'intensità della radiazione luminosa incidente sulla particella metallica I_0 , si avrà una radiazione di intensità I_S da questa emessa per risonanza plasmonica. I_S sarà data come:

$$I_S = gI_0 \quad (1.2)$$

Dove g indica il fattore di amplificazione dell'intensità luminosa incidente per risonanza plasmonica.

Le molecole adsorbite sulla superficie saranno quindi eccitate da una radiazione I_S ed emetteranno per effetto Raman una radiazione di intensità I_R tale che:

$$I_R \propto gI_0 \quad (1.3)$$

La radiazione emessa per scattering Raman dalle molecole può poi essere ulteriormente amplificata, con un meccanismo del tutto simile a quello sopra descritto, e pertanto l'intensità I'_R che arriverà al detector dello spettroscopio Raman sarà data come:

$$I'_R = g'I_R \quad (1.4)$$

Dove g' indica il fattore di amplificazione dell'intensità luminosa emessa per effetto Raman.

Tenendo quindi conto delle (1.2), (1.3) e (1.4) si ottiene che l'intensità che giunge al detector è proporzionale ai due fattori di amplificazione e all'intensità I_0 :

$$I'_R \propto gg'I_0 \quad (1.5)$$

1.2.2 Risonanza plasmonica di superficie

Per spiegare la risonanza plasmonica di superficie è innanzitutto fondamentale andare a studiare le proprietà ottiche dei materiali metallici in funzione della frequenza della radiazione elettromagnetica incidente [20].

È noto che per un materiale si può definire una funzione dielettrica complessa $\varepsilon(\omega)$ come:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon'(\omega) + i\varepsilon''(\omega) \quad (1.6)$$

Dove la parte reale $\varepsilon'(\omega)$ rappresenta l'energia immagazzinata nel materiale e la parte immaginaria $i\varepsilon''(\omega)$ rappresenta, invece, l'energia dissipata dal materiale per assorbimenti vari dovuti a transizioni elettroniche, transizioni vibrazionali o transizioni rotazionali.

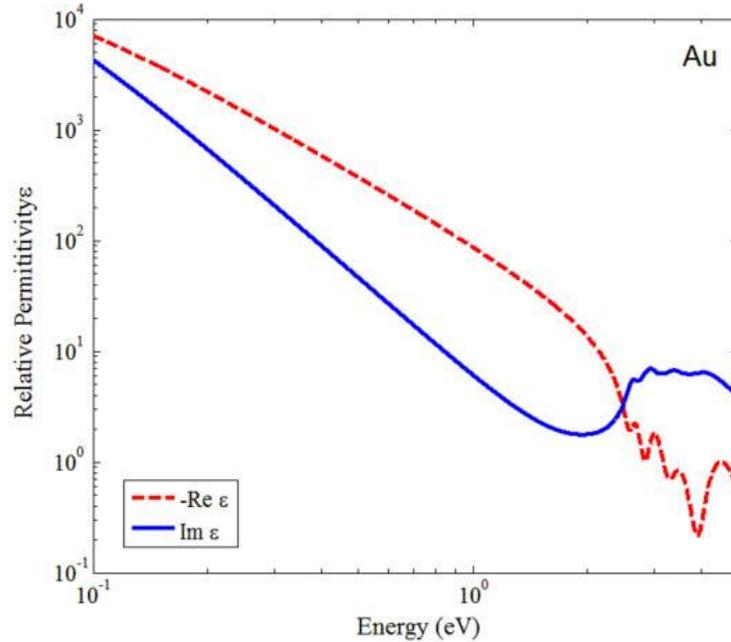


Figura 1.2: Andamento della parte reale $Re(\varepsilon)$ e della parte immaginaria $Im(\varepsilon)$ della funzione dielettrica complessa dell'oro in funzione dell'energia della radiazione incidente. Tratto da Tang et al., 2011[21].

Il modello più semplice per calcolare la funzione dielettrica complessa è il *modello di Drude*, che tratta il moto degli elettroni del metallo supponendo che ciascuno di essi, avente massa efficace m^* , si muova di moto rettilineo uniforme in assenza di un campo esterno.

Il moto di ciascun elettrone è ostacolato dalle forze di attrito viscoso che si generano durante le collisioni con gli ioni metallici, ed è proprio grazie a queste collisioni che il moto degli elettroni, messi in moto dall'agitazione termica, raggiunge l'equilibrio.

Supponendo che il metallo sia irradiato da un campo da un'onda piana, ovvero che il campo elettrico sia nella forma $E(t) = E_0 e^{-i\omega t}$, all'equilibrio si può quindi scrivere il seguente bilancio di forze:

$$m^* \frac{\partial^2 x}{\partial t^2} + m^* \gamma \frac{\partial x}{\partial t} = -eE(t) = -eE_0 e^{-i\omega t} \quad (1.7)$$

Dove m^* è la massa efficace degli elettroni, γ è una costante proporzionale alla forza viscosa che agisce sugli elettroni,

Nella (1.7) il primo termine del membro di sinistra rappresenta la forza di accelerazione agente sull'elettrone mentre il secondo termine rappresenta invece la forza di attrito viscoso. Il membro di destra è invece la forza esercitata sull'elettrone dal campo elettrico oscillante.

Siccome nei metalli gli elettroni sono considerati liberi di muoversi rispetto ai nuclei, ne consegue che $\gamma \approx 0$ e pertanto il bilancio di forze della (1.7) può essere riscritto come riportato nella (1.8):

$$m_0 \frac{\partial^2 x}{\partial t^2} = -eE_0 e^{-i\omega t} \quad (1.8)$$

Si cercano quindi delle soluzioni dell'equazione differenziale (1.8) nella forma di onde piane, ovvero nella forma:

$$x(t) = x_0 e^{-i\omega t} \quad (1.9)$$

Sostituendo la (1.9) nella (1.8) e risolvendo si ottiene che:

$$x(t) = \frac{eE_0}{m} \frac{e^{-i\omega t}}{\omega_0^2 - \omega^2} \quad (1.10)$$

Ricordando che il *vettore polarizzazione* è dato come $P = Nex$ e sostituendo con la (1.10) si ottiene:

$$P(t) = Nex(t) = \frac{Ne^2 E_0}{m} \frac{e^{-i\omega t}}{\omega_0^2 - \omega^2} \quad (1.11)$$

Dove N è il numero di elettroni e $e = -1.602 \cdot 10^{-19} C$ è la carica dell'elettrone.

Il vettore polarizzazione è anche legato al campo elettrico tramite la funzione dielettrica relativa del materiale ϵ_R secondo la relazione:

$$P = \chi \epsilon_0 E = (1 + \epsilon_R) \epsilon_0 E = (1 + \epsilon_R) \epsilon_0 E_0 e^{-i\omega t} \quad (1.12)$$

Dove $\chi = 1 + \epsilon_R$ è la suscettività elettrica del materiale e $\epsilon_0 = 8.854 \cdot 10^{-12} Fm^{-1}$ è la costante dielettrica del vuoto.

Esplicitando la funzione dielettrica complessa $\epsilon(\omega) = \epsilon_R \epsilon_0(\omega)$ dalla (1.12) e sostituendo con la (1.11) si ottiene che la funzione dielettrica complessa è data come:

$$\epsilon(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad (1.13)$$

Dove $\omega_p = \sqrt{\frac{n_e e^2}{\epsilon_0 m^*}}$ è detta frequenza di Plasma del metallo, e vale circa 9 eV per oro e argento.

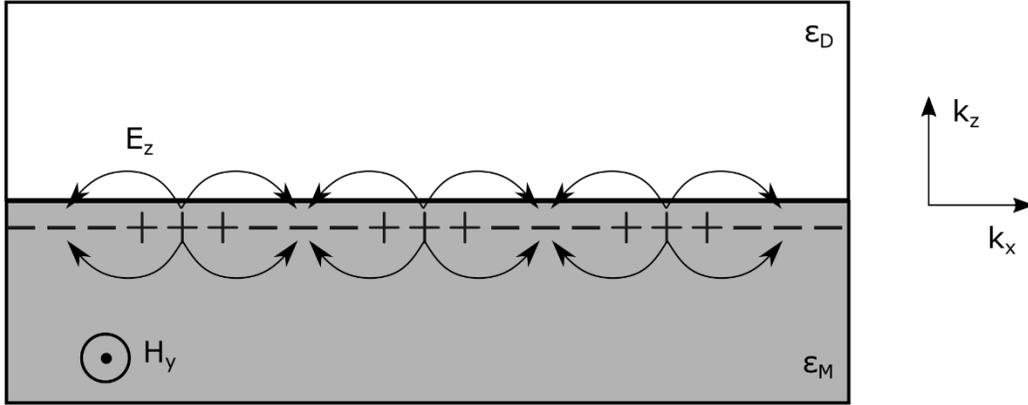


Figura 1.3: Interfaccia dielettrico-metallo con indicazione delle cariche e del campo elettrico di un plasmone di superficie propagante nella direzione x .

Si consideri ora un'interfaccia piana tra un mezzo dielettrico (ad esempio il vuoto o l'aria) e un metallo conduttore, come quella riportata in Figura 1.3. La funzione dielettrica complessa del metallo $\epsilon_M(\omega)$ sarà data come:

$$\epsilon_M(\omega) = \epsilon'_M(\omega) + i\epsilon''_M(\omega) \quad (1.14)$$

Dove necessariamente, come vedremo in seguito, $\epsilon'_M < 0$ per poter dare un'amplificazione della radiazione elettromagnetica e quindi permette il plasmone superficiale.

Mentre la funzione dielettrica complessa del dielettrico $\epsilon_D(\omega)$ sarà data come:

$$\epsilon_D(\omega) = \epsilon'_D(\omega) + i\epsilon''_D(\omega) \quad (1.15)$$

Dove per definizione di dielettrico si ha che $\epsilon''_D > 0$.

Seguendo la trattazione di Raether [22] si suppone, per una ragione che sarà chiarita in seguito, che i campi nei due mezzi siano campi p -polarizzati ovvero si presentino nella forma della (1.16):

$$\begin{cases} H_D = (0, H_{yD}, 0) \exp [i(k_{xD}x + k_{zD}z - \omega t)] \\ E_D = (E_{xD}, 0, E_{zD}) \exp [i(k_{xD}x + k_{zD}z - \omega t)] \end{cases} \quad z > 0$$

$$\begin{cases} H_M = (0, H_{yM}, 0) \exp [i(k_{xM}x + k_{zM}z - \omega t)] \\ E_M = (E_{xM}, 0, E_{zM}) \exp [i(k_{xM}x + k_{zM}z - \omega t)] \end{cases} \quad z < 0 \quad (1.16)$$

Si scrivono le equazioni di Maxwell per il problema, che nel caso di onde p-polarizzate, come riportato nella (1.16), e in assenza di cariche e correnti libere si riducono alla forma:

$$\begin{cases} \vec{\nabla} \times \vec{E} = i\omega\vec{B} \\ \vec{\nabla} \times \vec{H} = -i\omega\vec{D} \\ \vec{\nabla} \cdot \vec{D} = 0 \\ \vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \end{cases} \quad (1.17)$$

Dalla (1.17) si ottengono le condizioni di continuità all'interfaccia per i campi \vec{E} , \vec{D} e \vec{H} come segue:

$$E_{xD} = E_{xM} \quad (1.18)$$

$$D_{zD} = D_{zM} \rightarrow \varepsilon_D E_{zD} = \varepsilon_M E_{zM} \quad (1.19)$$

$$H_{yD} = H_{yM} \quad (1.20)$$

Dove E_{ij} è la componente del campo elettrico \vec{E} in direzione i e nel mezzo j , Dove D_{ij} è la componente del campo induzione elettrica \vec{D} in direzione i e nel mezzo j e infine H_{ij} è la componente del campo magnetico \vec{H} in direzione i e nel mezzo j .

Dalla (1.18) e dalla (1.20) si ricava poi che:

$$k_{xD} = k_{xM} = k_x \quad (1.21)$$

Dove k_{ij} è la componente del vettore d'onda \vec{k} in direzione i e nel mezzo j .

Sviluppando la seconda equazione di Maxwell della (1.17) si ottiene che:

$$\vec{\nabla} \times \vec{H}_M = \frac{\partial}{\partial z} H_{yM} = k_{zM} H_{yM} = -\frac{\varepsilon_M \omega}{c} E_{xM} \quad (1.22)$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{H}_D = k_{zD} H_{yD} = \frac{\partial}{\partial z} H_{yD} = -\frac{\varepsilon_M \omega}{c} E_{xD} \quad (1.23)$$

Mettendo a sistema la (1.22) e la (1.23) a sistema e riarrangiando si ottiene che:

$$\begin{cases} k_{zM} H_{yM} = -\frac{\varepsilon_M \omega}{c} E_{xM} \\ k_{zD} H_{yD} = -\frac{\varepsilon_M \omega}{c} E_{xD} \end{cases} \quad (1.24)$$

Sostituendo le condizioni (1.18) e (1.20) nella (1.24) si ottiene che:

$$\begin{cases} H_{yM} - H_{yD} = 0 \\ \frac{k_{zM}}{\varepsilon_M} H_{yM} + \frac{k_{zD}}{\varepsilon_D} H_{yD} = 0 \end{cases} \quad (1.25)$$

Per il teorema di Cramer affinché il sistema lineare (1.25) che ammetta più soluzioni è necessario che il determinante del sistema Δ sia nullo ovvero:

$$\Delta = \frac{k_{zD}}{\varepsilon_D} + \frac{k_{zM}}{M} = 0 \quad (1.26)$$

Dalla (1.22) si ricava poi che:

$$\varepsilon_D \left(\frac{\omega^2}{c} \right) = k_x^2 + k_{zD}^2 \quad \varepsilon_M \left(\frac{\omega^2}{c} \right) = k_x^2 + k_{zM}^2 \quad (1.27)$$

Dalla (1.17) e (1.25) quale si può ricavare che:

$$k_{zD}^2 = \varepsilon_D \left(\frac{\omega^2}{c} \right) - k_x^2 \quad k_{zM}^2 = \varepsilon_M \left(\frac{\omega^2}{c} \right) - k_x^2 \quad (1.28)$$

Combinando la (1.27) con la (1.28) si ottiene la relazione di dispersione per un plasmone di superficie:

$$k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\varepsilon_D \varepsilon_M}{\varepsilon_D + \varepsilon_M}} \quad (1.29)$$

Supponendo ora che il metallo abbia una costante dielettrica complessa nella forma $\varepsilon_M = \varepsilon'_M + i\varepsilon''_M$, sostituendo nella (1.29), si ottiene un k_x complesso:

$$k_x = k'_x + ik''_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\varepsilon'_M \varepsilon_D}{\varepsilon'_M + \varepsilon_D}} + i \frac{\omega}{c} \sqrt{\left(\frac{\varepsilon'_M \varepsilon_D}{\varepsilon'_M + \varepsilon_D} \right)^3} \frac{\varepsilon''_M}{2(\varepsilon'_M)^2} \quad (1.30)$$

Affinché k'_x sia reale, e quindi l'onda della (1.16) si propagante lungo x , è necessario che siano rispettate le condizioni della (1.31) e della (1.32):

$$\varepsilon'_M < 0 \quad (1.31)$$

$$|\varepsilon'_M| \geq -\varepsilon_D \quad (1.32)$$

Elevando al quadrato entrambi i membri della (1.29) e sostituendo con la (1.13) si ottiene che:

$$\frac{k_x^2 c^2}{\omega_p^2} = \frac{\omega^2 \left(\frac{\omega^2}{\omega_p^2} - 1 \right)}{2 \frac{\omega^2}{\omega_p^2} - 1} \quad (1.33)$$

Riportando in un grafico, come fatto in Figura 1.4, la parte reale (a sinistra) e la parte immaginaria (a destra) della (1.33) si osserva l'andamento della relazione di dispersione. Per valori di $\frac{\omega}{\omega_p}$ inferiori a $\frac{\sqrt{2}}{2}$ si ha che la parte immaginaria è nulla, mentre la parte reale cresce asintoticamente; in tali condizioni l'onda sarà quindi propagante. Per valori di $\frac{\omega}{\omega_p}$ superiori a $\frac{\sqrt{2}}{2}$ la parte reale si annulla e la parte immaginaria è non nulla e pertanto l'onda sarà evanescente.

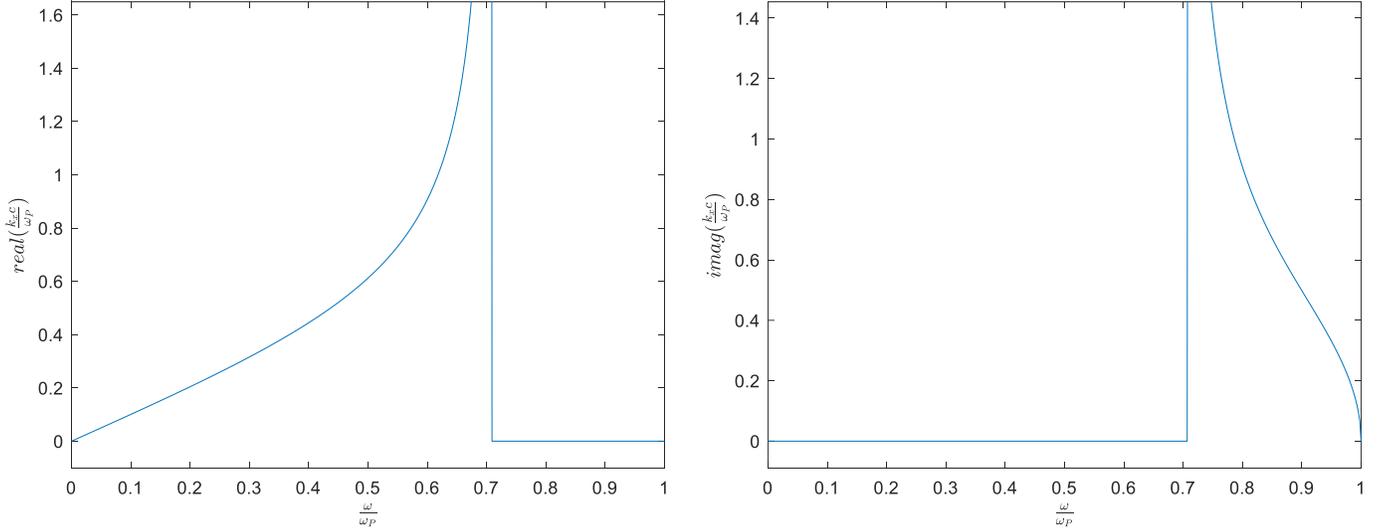


Figura 1.4: Andamento di $\text{Re}(\varepsilon)$ e $\text{Im}(\varepsilon)$ dalla relazione di dispersione della (1.33) per il plasmon di superficie.

Si può poi definire il fattore di amplificazione per effetto plasmonico (field enhancement factor) EF come rapporto dei moduli quadrati di E_z e di H_y , il cui andamento è riportato in Figura 1.5.

$$EF = \frac{|E_z|^2}{|H_y|^2} = \left(\frac{\frac{\omega^2}{\omega_p^2} - 1}{2 \frac{\omega^2}{\omega_p^2} - 1} \right)^2 \quad (1.34)$$

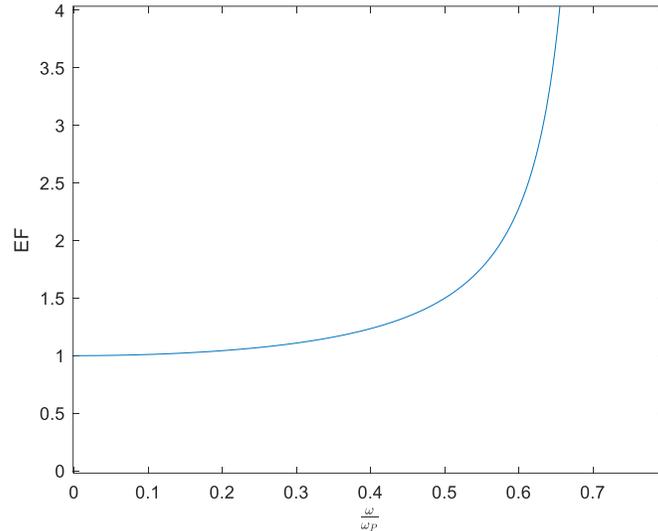


Figura 1.5: Andamento del Field Enhancement Factor (EF) in funzione del rapporto $\frac{\omega}{\omega_p}$.

1.3 Sviluppo di un modello RSA-DLVO

Il problema della deposizione di particelle colloidali è stato approcciato teoricamente da Finegold e Donnell [23] per la prima volta con una simulazione di tipo Monte Carlo detta *Random Sequential Adsorption (RSA)*: le particelle giungono in modo casuale ai siti di adsorbimento e possono dare luogo ad adsorbimento solo se non c'è alcuna sovrapposizione con altre particelle vicine già adsorbite.

Sebbene questo modello sia sufficiente a studiare il massimo grado di ricoprimento possibile della superficie è inadeguato a studiare la cinetica di un processo reale dove vi sono chiaramente interazioni tra particelle e tra particelle e substrato delle quali bisogna assolutamente tenere conto. Adamczyk et al., 1990 [24] hanno studiato il problema della deposizione tenendo conto delle forze laterali di repulsione dovute ai double layer elettrici delle particelle.

Questa considerazione comporta l'introduzione di un termine di interazione tra particelle e quindi in assenza di overlapping la probabilità di adsorbimento non è più sempre unitaria come nel modello di Finegold e Donnell ma è in generale funzione di questo termine di interazione.

Anche Adamczyk et al., 1994 [25] hanno usato una simulazione Monte Carlo dove la superficie è modellizzata con una griglia i cui nodi rappresentano i siti di adsorbimento.

Ad ogni iterazione vengono generati una coordinata corrispondente ad un nodo della griglia e un numero decimale p compreso tra 0 e 1 e si avrà adsorbimento solo in assenza di overlapping è

se la p è minore o uguale alla probabilità di adsorbimento normalizzata calcolata sulla base di considerazioni energetiche sulle interazioni particella-particella e particella-substrato.

Ogni iterazione della simulazione può quindi essere schematizzata come segue:

- Il substrato di adsorbimento è modellizzato con una grid quadrata i cui nodi rappresentano i siti del substrato di adsorbimento.
- Viene generata, con un generatore di numeri casuali, una coordinata (x_i, y_i) che rappresenta un punto della grid.
- Si verifica se in una distanza pari al raggio della particella R da (x, y) sono presenti altre particelle. In caso di overlapping l'adsorbimento non può avvenire in alcun caso e si procede generando un'altra coordinata (x_{i+1}, y_{i+1}) .

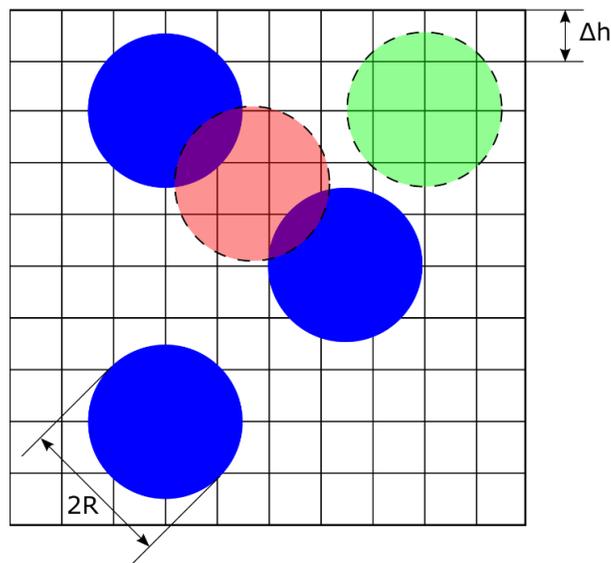


Figura 1.6: Esempio di adsorbimento di una nuova particella nel modello RSA. In verde una particella che non dà luogo a overlapping e in rosso una particella che dà luogo ad overlapping con altre due particelle.

- Si calcola una probabilità di interazione $P_{int}(\phi)$ con le particelle vicine, dove ϕ è l'energia di interazione della particella le altre particelle presenti sulla grid. Siccome l'energia di interazione scala esponenzialmente con la distanza, per ottenere un codice più efficiente, si fissa una distanza massima d_{max} entro la quale cercare le particelle interagenti.

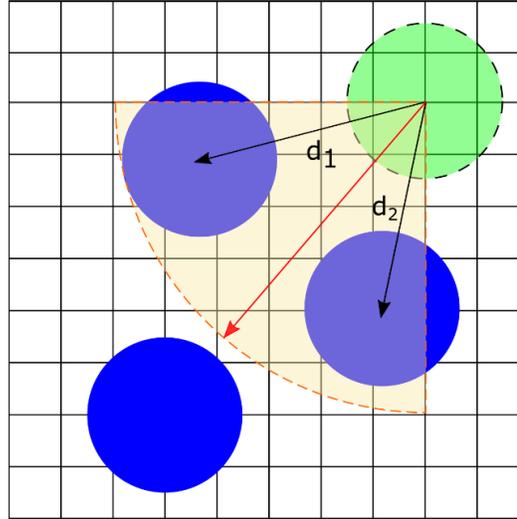


Figura 1.7: Calcolo della distanza delle particelle vicine ad una data particella entro una distanza massima d_{max} .

- Si genera, con un generatore di numeri casuali a distribuzione uniforme, un valore p compreso tra 0 e 1. Se $p < P_{tot}$ allora si ha adsorbimento altrimenti si genera una nuova coordinata e si ripetono i passi precedenti.

Adamczyk et al., 1990 [24] raccomandano di scegliere una grid avente lato L tale che $R \leq 0.005L$, dove R è il raggio delle particelle da adsorbire. La simulazione, per avere un valore statistico robusto, deve iterare per almeno $1 \cdot 10^4 - 1.5 \cdot 10^4$ particelle.

1.3.1 Numero di iterazioni della simulazione

Il numero di iterazioni viene determinato in funzione del tempo di deposizione scelto ed è pari al numero di particelle che arrivano sulla superficie di substrato considerata in tale tempo.

Semmler et al. [26] riportano che per un colloide monodisperso, il flusso j di nanoparticelle che raggiungono il substrato è dato come:

$$j = \frac{1}{A} \frac{\partial N}{\partial t} = C_0 \sqrt{\frac{D}{\pi t}} \quad (1.35)$$

Dove C_0 è la concentrazione di particelle nella sospensione e D è il coefficiente di diffusione delle nanoparticelle in sospensione.

Il numero di particelle giunte alla superficie in un dato tempo di deposizione t può essere calcolato integrando l'equazione della (1.35) per ottenere:

$$N = AC_0 \sqrt{\frac{k_B T}{12\pi\eta r}} t \quad (1.36)$$

Dove A è l'area del substrato considerata, C_0 è la concentrazione delle nanoparticelle, k_B è la costante di Boltzmann, T è la temperatura in Kelvin, η è la viscosità del solvente e r è il raggio delle nanoparticelle.

1.3.2 Probabilità di interazione e adsorbimento secondo la teoria DLVO

Eklöf et al. [27] hanno sviluppato un modello di tipo RSA per studiare la deposizione di nanoparticelle d'oro su substrati in vetro funzionalizzato con APTMS dove il modello di Adamczyk viene integrato con una condizione necessaria all'adsorbimento legata alle interazioni di Van der Waals e degli electrical double layer tra le particelle stesse e tra particelle e superficie. Immaginando che la superficie del vetro sia perfettamente piana e le particelle siano sfere di raggio R si definisce un'energia di interazione tra i rispettivi double layer elettrici come:

$$W_{edl}^{ps} = 4\pi\epsilon_0\epsilon_r\psi_p\psi_s \exp(-\kappa D) \quad (1.37)$$

Dove ϵ_0 è la costante dielettrica del vuoto, ϵ_r è la costante dielettrica relativa del mezzo, ψ_p è lo zeta potential della particella, ψ_s è lo zeta potential del vetro, κ è la lunghezza di Debye e D è la distanza tra il centro della particella e la superficie piana.

Le forze di Van der Waals danno invece luogo ad un'energia di interazione data come:

$$W_{vdw}^{ps} = \frac{-A_H R}{6D} \quad (1.38)$$

Dove D la distanza tra il centro della particella e la superficie piana, R è il raggio della particella e A_H è la costante di Hamaker.

L'energia di interazione totale è data quindi dalla somma della (1.37) e della (1.38) ed è pari a:

$$W_{tot}^{ps} = 4\pi\epsilon_0\epsilon_r\psi_p\psi_s \exp(-\kappa D) - \frac{AR}{6D} \quad (1.39)$$

Per calcolare l'altezza della barriera energetica che la particella deve superare, si calcola la derivata della (1.39) rispetto alla distanza D e si ottiene così che:

$$\frac{\partial W_{tot}^{ps}}{\partial D} = -4\pi\epsilon_0\epsilon_r\psi_p\psi_s\kappa \exp(-\kappa D) + \frac{AR}{6D^2} \quad (1.40)$$

Imponendo la condizione di annullamento della derivata e risolvendo con un metodo numerico si ottiene che la curva presenta un massimo alla distanza D^* . Tale massimo energetico ΔW^{tot} rappresenta una barriera energetica: se la particella riesce a superarla si avrà adsorbimento, in caso contrario non lo si avrà.

Si definisce poi una probabilità normalizzata P_{ads} che tale particella possa adsorbire sulla superficie la quale è data da una distribuzione di Boltzmann.

$$P_{ads} = \exp\left(-\frac{\Delta W^{tot}}{k_B T}\right) \quad (1.41)$$

Per quanto riguarda l'interazione tra particelle, le forze di Van der Waals sono generalmente di debole entità e possono essere trascurate, mentre, rivestono un ruolo di primaria importanza nel processo di adsorbimento, le interazioni tra gli electrical double layer che sono date come:

$$W_{edl}^{pp} = 2\pi R \varepsilon_0 \varepsilon_r \psi_p^2 \exp(-\kappa S) \quad (1.42)$$

Analogamente a quanto fatto sopra si definisce una probabilità normalizzata $P_{rep}(S)$ di avere due particelle ad una distanza S data come:

$$P_{int}(S) = \exp\left(-\frac{W_{edl}^{pp}}{k_B T}\right) \quad (1.43)$$

Pertanto, si può calcolare una probabilità normalizzata totale che una data particella di raggio R adsorba in un punto di coordinate (x, y) al tempo t come:

$$P_{tot} = P_{ads} \cdot \prod_{j=1}^{n(t)} P_{int}(S_j) \quad (1.44)$$

Dove S_j è la distanza del centro della particella j -esima dal punto (x, y) e $n(t)$ è il numero di particelle adsorbite al tempo t .

Nelle applicazioni computazionali, siccome l'energia di interazione tra particelle decade in modo esponenziale, si fissa, in genere, un raggio massimo S_{max} entro il quale calcolare l'interazione con altre particelle e pertanto si ottiene la forma:

$$P_{tot} = P_{ads} \cdot \prod_{j=1}^{n^*(t, S_{max})} P_{rep}(S_j) \quad (1.45)$$

Dove $n^*(t, S_{max})$ è il numero di particelle aventi distanza dal punto (x, y) minore o uguale a S_{max} adsorbite al tempo t .

1.3.3 Studio statistico della distribuzione spaziale delle nanoparticelle

Si può definire la funzione $g(t)$ detta *distribuzione dei nearest neighbor*, il cui valore indica la probabilità di avere una particella la cui distanza dalla particella ad esse più vicina sia compresa tra t e $t + \partial t$.

$$g(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta'_{ij}(t) \quad (1.46)$$

Dove δ'_{ij} vale 1 se la distanza tra la particella j -esima e la particella i -esima è pari a t e vale 0 altrimenti.

Analogamente si definisce la funzione $G(t)$ detta *distribuzione cumulativa dei nearest neighbor*. Il valore di $G(t)$ non è altro che la probabilità di avere una particella la cui distanza dalla particella ad esse più vicina sia minore o uguale a $g(t)$.

La distribuzione cumulativa è data come rapporto dell'integrale di $g(t)$ tra 0 e t normalizzata per l'integrale di $g(t)$ tra 0 e ∞ :

$$G(t) = \frac{\int_0^t d(t) \partial t}{\int_0^{\infty} d(t) \partial t} \quad (1.47)$$

La distribuzione $G(t)$ può essere alternativamente calcolata dalla sua definizione come:

$$G(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_{ij}(t) \quad (1.48)$$

Dove δ_{ij} vale 1 se la distanza tra la particella j -esima e la particella i -esima è minore o uguale a t e vale 0 altrimenti.

Data una distribuzione spaziale di punti si definisce la funzione $K(t)$ detta *Ripley's K function* come:

$$\hat{K}(t) = \frac{1}{\lambda} \sum_{i=1}^N \sum_{\forall j \neq i} \frac{\delta_{ij}(t)}{N} \quad (1.49)$$

Al crescere del raggio della particella, la Ripley's K function soffre però di un problema noto come *edge effect* che consiste nel fatto che vi sono alcune particelle che sono solo in parte contenute nella porzione di piano contenuta in un raggio t ma vengono comunque contate per intero.

Questo porta a sovrastimare il valore della Ripley's K function, soprattutto per piccoli valori di t e grandi valori di R .

Per ovviare al problema, Diggle, 2014 [28] suggerisce di applicare un coefficiente di correzione pertanto la Ripley's K function viene riformulata come riportato nella (1.51).

$$\hat{K}(t) = \frac{1}{\lambda} \sum_{i=1}^N \sum_{\forall j \neq i} w_{ij}(t) \frac{\delta_{ij}(t)}{N} \quad (1.50)$$

Dove $w_{ij}(t)$ indica la frazione della j -esima particella che è contenuta nella porzione di piano entro un raggio t dalla particella i -esima ed è dato come:

$$w_{ij}(t) = 1 - \pi^{-1} \cos^{-1} \left(\frac{t^2 - d_{ij}^2 - R^2}{2Rd_{ij}} \right) \quad (1.51)$$

Dove d_{ij} è la distanza tra la particella i -esima e la particella j -esima.

Si può definire poi una funzione $L(t)$ detta *variance stabilized K function* definita come:

$$\hat{L}(t) = \sqrt{\frac{\hat{K}(t)}{\pi}} \quad (1.52)$$

Per un processo di tipo Poisson si ha che $\hat{K}(t) = \pi t^2$ e ne consegue quindi che la sua $\hat{L}(t)$ è una retta di equazione $\hat{L}(t) = t$. Riportando nello stesso grafico $\hat{L}(t)$ per il processo considerato e $\hat{L}(t)_{PSN}$ per un processo di Poisson si può notare agevolmente quanto il primo si discosti dal secondo.

Si può poi avere ricavare il corrispondente cumulativo della Ripley's K function, detta *Point Correlation Function* $\hat{g}(t)$ tramite la relazione:

$$\hat{k}(t) = \frac{1}{2\pi t} \frac{\partial}{\partial t} \hat{K}(t) \quad (1.53)$$

La Point Correlation Function $\hat{g}(t)$ esprime la probabilità di trovare una particella alla distanza compresa tra t e $t + \partial t$ da un'altra particella. È quindi chiaro che la Ripley's K function rappresenta la variante cumulativa della Pair Correlation function.

Per un processo di Poisson si ottiene che $\hat{k}(t) = 1$.

El-Shaarawi and Piegorsch [29] riportano come valori di $k(t)$ superiori a 1 comportino che la probabilità di avere una distanza interparticellare compresa tra t e $t + \partial t$ è inferiore a quanto sarebbe in un processo di tipo Poisson e questo indica, specialmente per bassi valori di t la presenza

di *fenomeni di clustering*. Al contrario valori di $k(t)$ inferiori a 1 indicano che la probabilità di avere una distanza interparticellare compresa tra t e $t + \partial t$ è superiore a quanto sarebbe in un processo di tipo Poisson e ci possono quindi essere *fenomeni di inibizione*.

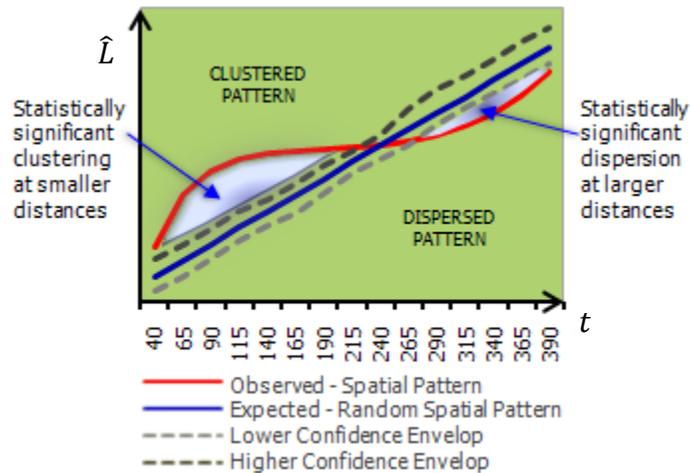


Figura 1.8: Identificazione di fenomeni di clustering e dispersione ricorrendo alla variance stabilized Ripley's K function. Tratto da [30].

1.4 Influenza della dimensione della distanza e della dimensione delle nanoparticelle per applicazioni SERS

Diverse simulazioni sono state sviluppate per comprendere l'effetto della dimensione e della distanza tra le nanoparticelle sul EF. Bonyar et al. [31] hanno sviluppato una simulazione Boundary Element Method (BEM) facendo uso del framework MNPBEM [32] [33] [34] per studiare l'EF di un dimero di nanoparticelle in oro in funzione della distanza e della dimensione delle nanoparticelle. È stato osservato che l'EF è sostanzialmente una funzione esponenziale del rapporto diametro/distanza del dimero, come riportato in Figura 1.9.

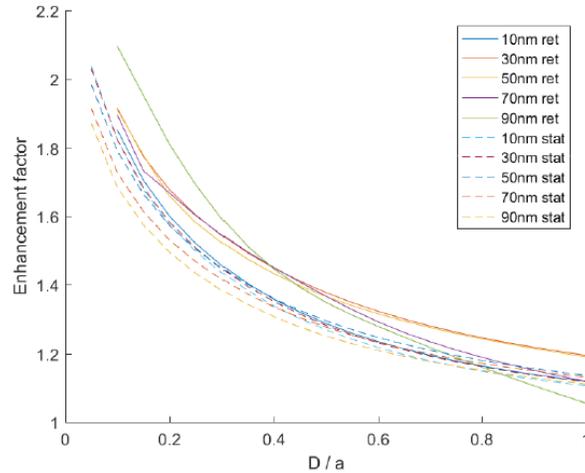


Figura 1.9: Andamento dell'Enhancement factor (EF) in funzione del rapporto diametro-distanza per un dimero in oro. Tratto da [31].

Bonyar [35] ha in seguito osservato, sempre mediante simulazione con MNPBEM, che per un dimero di nanosfere in oro, effetti plasmonici significativi si ottengono solo a partire a da $0.2 - 0.3 \frac{D}{D_0}$.

Hong et al. [36] hanno prodotto delle nanoparticelle di diversi diametri nel range 17-80 nm e le hanno utilizzate per realizzare dei sensori SERS per il rilevamento di 4-amminotiofenolo e 4-nitrotiofenolo. Essi hanno osservato che l'EF presenta un massimo per particelle di diametro compreso tra 50 e 65 nm, come mostrato in Figura 1.10.

Considerando che il processo di realizzazione del sensore utilizzato nella presente tesi e descritto nei capitoli successivi comporta la deposizione di seed di dimensione pari a 10 nm e la loro successiva crescita si può assumere che la distanza tra nanoparticelle dopo la crescita sia trascurabile rispetto al loro diametro. Alla luce di ciò si può assumere il diametro delle particelle dopo la crescita di pari alla distanza tra i seed depositati e si vuole quindi cercare di ottenere un valore di distanza medio compreso nel range tra 50 e 65 nm.

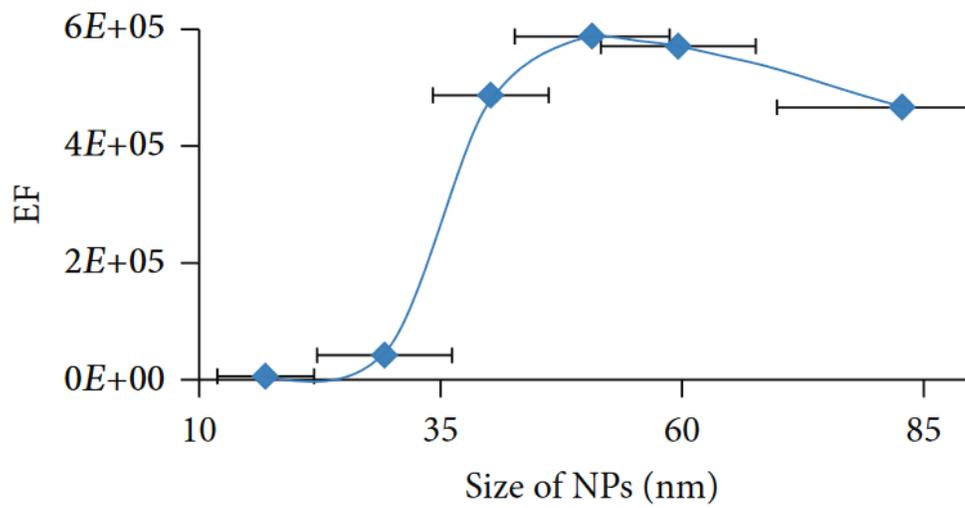


Figura 1.10: SERS Enhancement Factor in funzione della dimensione delle nanoparticelle. Tratto da [36].

Capitolo 2 - Studio dei diversi metodi di pulizia del vetro

Lo scopo di questo capitolo è quello di studiare e confrontare gli effetti dei diversi metodi di pulizia del vetro sulle proprietà composizionali, morfologiche ed elettriche di superficie dello stesso. In particolare, i metodi di pulizia analizzati sono la pulizia con Piranha acida, la pulizia con Piranha basica e il trattamento con plasma ad ossigeno. Come campione di riferimento si è utilizzato invece, un campione che è stato sottoposto a pulizia mediante bagno a ultrasuoni in acetone ed etanolo.

2.1 Metodi di pulizia per i campioni in vetro

Il vetro utilizzato è un vetrino da microscopio *Thermo Scientific Superfrost* che, dopo essere montato sull'apposito sostegno della troncatrice Precision Cutter, è stato tagliato con una velocità della lama di circa 200 rpm e raffreddamento ad olio per realizzare dei campioni di dimensioni di circa 1 cm x 2 cm.

Per rimuovere i residui di olio dovuti all'operazione di taglio è stato effettuato poi un rapido lavaggio in acetone, seguito da un lavaggio in etanolo e un risciacquo in MilliQ. I vetrini sono stati quindi lasciati ad asciugare e si è poi provveduto ad avvolgerli ciascuno in un foglio di carta ottica per la conservazione in una bustina in plastica fino al successivo utilizzo.

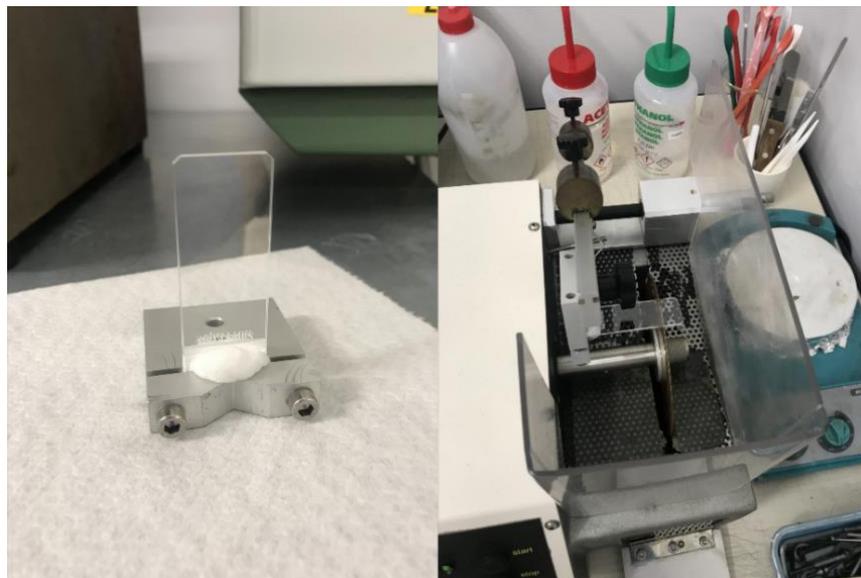


Figura 2.1: Vetrini da microscopio montati sull'apposito sostegno (a sinistra) e particolare durante l'operazione di taglio (a destra).

2.1.1 Pulizia preliminare del vetro

Prima di effettuare la pulizia con ciascuno dei metodi descritti in seguito, è stata effettuata una pulizia preliminare dei vetrini precedentemente preparati mediante un lavaggio in acetone (circa 15 mL) seguito da due lavaggi in etanolo (circa 15 mL) e da due lavaggi in acqua MilliQ (circa 15 mL).

Durante l'operazione di lavaggio sono state utilizzate delle pinzette in acciaio, precedentemente lavate con etanolo e per evitare di danneggiare i vetrini e si cercato di afferrare i vetrini toccandone solamente i bordi per non rigare i campioni.

2.1.2 Pulizia con soluzione Piranha

La *soluzione Piranha* è una soluzione preparata miscelando acido solforico concentrato al 99% con perossido di idrogeno al 30% in rapporto volumico 3:1.

La soluzione è stata preparata aggiungendo molto lentamente, con l'uso di una micropipetta elettronica, 5 mL di acqua ossigenata al 30% a 15 mL di acido solforico concentrato in un cristallizzatore in vetro.

Durante tale preparazione va assolutamente evitato che della materia organica venga a contatto con la soluzione in quanto in tal caso si avrebbe una reazione estremamente violenta. La miscelazione dei due componenti comporta comunque sviluppo di una notevole quantità di calore. È stata preparata anche una soluzione alternativa detta *Piranha basica* (o base Piranha) che è stata ottenuta miscelando ammoniaca al 30% e acqua ossigenata al 30% in rapporto volumico 3:1. Questa soluzione deve però essere riscaldata a circa 60°C per attivare le reazioni di decomposizione dei composti organici.

Entrambe le soluzioni Piranha sono state preparate subito prima del loro utilizzo in quanto un eventuale stoccaggio per periodi di tempo prolungati comporta una perdita della loro attività.

Dopo aver preparato le soluzioni i vetrini sottoposti a lavaggio preliminare sono stati asciugati e poi immersi nella soluzione Piranha dove sono stati lasciati per 20 minuti.

I vetrini sono stati poi rimossi dalla Piranha e si sono effettuati due lavaggi in MilliQ e infine si sono lasciati ad asciugare sotto cappa aspirante in una piastra Petri.

Ci si attende che il trattamento di pulizia con soluzione Piranha e Piranha basica comporti delle modifiche della composizione e della morfologia superficiale del vetro.

Infatti, quando il vetro è posto a contatto con una soluzione acquosa, si osserva la formazione di una superficie le cui proprietà dipendono dal pH della soluzione stessa; una descrizione esauriente di questi fenomeni è fornita da Hench and Clark [37] e viene di seguito riassunta.

- A pH acidi si verificano dei fenomeni di dissoluzione preferenziale, con perdita di quantità significative di ossidi alcalini e perdita trascurabile di silice.
- A pH prossimi alla neutralità non si ha significativa variazione composizionale e si forma sulla superficie del vetro un layer idrato dello spessore di qualche decina di Å. Con il passare del tempo, però, gli ioni alcalini possono passare in soluzione aumentando il pH rendendo quindi la soluzione più aggressiva e dando luogo ad un processo autocatalitico.

- A pH superiori a 7 ma inferiori a circa 9-10 il comportamento del vetro è simile a quello a pH acidi. La perdita di silice aumenta però all'aumentare del pH.
- A pH maggiori di 10 si ha una corrosione uniforme con perdita di pari quantità di silice e degli altri ossidi presenti.

Zarzycki, 1982 [38] e Charles, 1958 [39] suggeriscono che, in generale il vetro posto a contatto con una soluzione acquosa, va incontro a due tipi di reazione:

- Per scambio ionico i cationi alcalini sono rimpiazzati da ioni idrogeno come riportato in Figura 2.2; questo processo prevale a pH inferiori a 9.

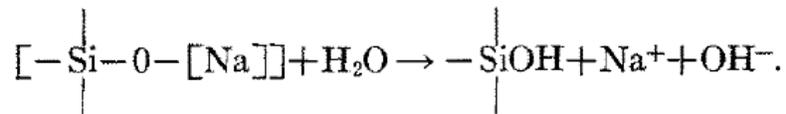


Figura 2.2: Solubilizzazione dei cationi alcalini degli ossidi modificatori presenti nel vetro. Immagine tratta da Charles, 1958 [39].

- I legami Si-O-Si vengono rotti per reazione con ioni OH⁻ a formare dei gruppi silanoli come illustrato in Figura 2.3; questo processo prevale invece a pH > 10.

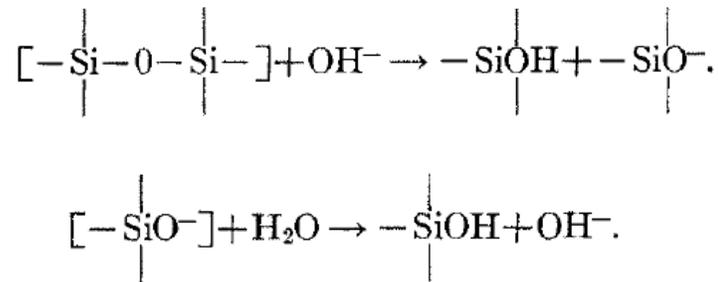


Figura 2.3: Dissoluzione del network di silice per rottura dei legami Si-O-Si. Immagine tratta da Charles, 1958 [39].

Pertanto, la solubilità del vetro in soluzione acquosa dipenderà dalle velocità delle due reazioni sopra riportate e sarà funzione del pH come riportato nella Figura 2.4.

In tale grafico si nota infatti, che la solubilità del vetro è intorno ai 150 ppm a pH acidi, decresce leggermente fino ad un minimo di 100 ppm fino a pH 7-8 e poi cresce molto rapidamente arrivando a superare le 1000 ppm per pH superiori a 10.

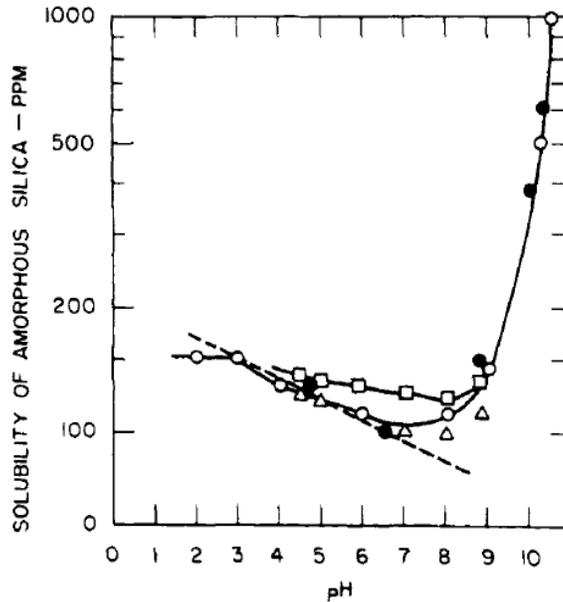


Figure 1.6. Solubility of amorphous silica versus pH: O, Alexander, 25°C; ●, Cherkinskii and Knyaz'kova (160) 19°C; Δ Baumann, 20°C; □ Baumann, 30°C; Dashed line from Cherkinskii equation: $\log C_M = -2.44 - 0.053 (\text{pH})$.

Figura 2.4: Solubilità della silice amorfa in acqua in funzione del pH. Immagine tratta da Charles, 1958 [39].

2.1.3 Pulizia con Plasma a bassa pressione ad ossigeno

Dopo aver proceduto con il lavaggio preliminare e aver asciugato sotto cappa aspirante i vetri, questi sono stati posizionati all'interno del sistema di plasma a bassa pressione Tucano e sottoposti a pulizia con plasma ad ossigeno. I parametri del trattamento impostati sono riportati in Tabella 2.1. Al termine del trattamento al plasma i campioni sono stati sottoposti a due lavaggi in MilliQ e lasciati asciugare in piastra Petri sotto cappa aspirante.

Gas alimentazione	Ossigeno
Durata trattamento	10 min
Potenza RF	150 W
Flusso di gas	30 sccm
Pressione	0.48 mbar

Tabella 2.1: Parametri per il trattamento di pulizia con Plasma a bassa pressione ad ossigeno



Figura 2.5: Strumentazione Tucano per trattamento con plasma a bassa pressione.

Il plasma è una fase gassosa contenente specie chimiche altamente reattive quali ioni ed elettroni che sono in grado di reagire con i contaminanti presenti sulla superficie dando prodotti volatili che vengono quindi allontanati. In particolare, Kaya et al. [40] suggeriscono che il plasma ad ossigeno contenga diverse specie reattive quali O^- , O^+ , O_2^- , O_2^+ , O , O_3 ed elettroni liberi. Tali ioni oltre a reagire con i suddetti contaminanti superficiali impattano sulla superficie del materiale e causano una sorta di sputtering andando ad aumentare la rugosità superficiale.

Inoltre, la produzione del plasma comporta anche l'emissione di radiazioni UV che reagiscono con le catene carboniose dei composti organici causandone una degradazione fotochimica.

Alam et al.[41] hanno studiato l'effetto del trattamento con plasma ad ossigeno a 300 W e 200 Pa su silice e vetro osservandone l'influenza sulle proprietà chimiche (reattività chimica superficiale e idrofilicità), morfologiche (rugosità) e meccaniche (durezza superficiale). Come si osserva dal grafico riportato in Figura 2.6, per quanto riguarda il vetro si ha un significativo abbassamento dell'angolo di contatto già a partire da trattamenti di bassa durata.

La rugosità superficiale ha mostrato invece una variazione molto contenuta per trattamenti di durata fino a 10 minuti e un incremento significato per trattamenti di durata superiore.

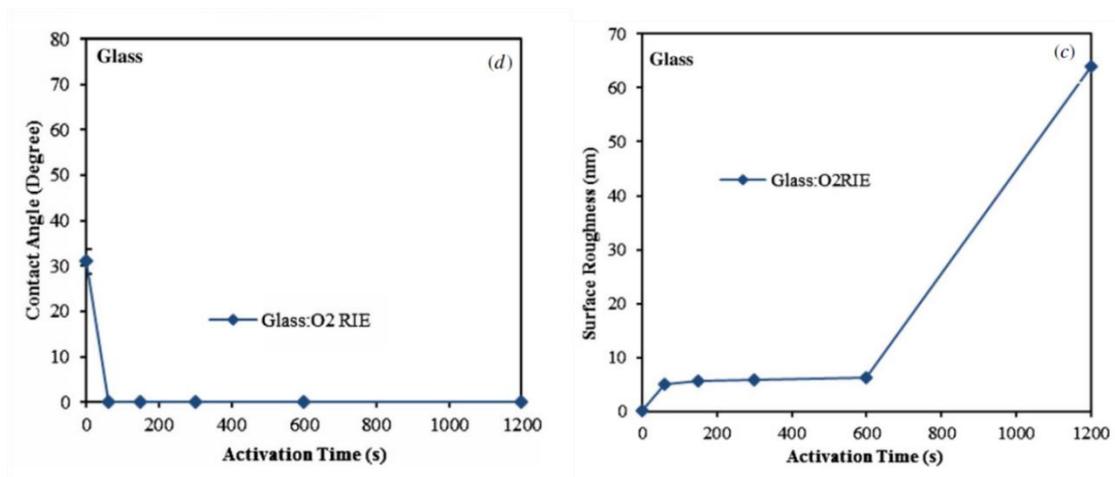


Figura 2.6: Andamento dell'angolo di contatto (a sinistra) e della rugosità superficiale (a destra) in funzione del tempo di trattamento con Plasma ad ossigeno con potenza RF di 300W e pressione in camera di 200Pa. Tratto da Alam et al.[41].

2.1.4 Pulizia in bagno ad ultrasuoni

Al fine di ottenere un campione di riferimento del vetro che non sia stato sottoposto a trattamenti aggressivi quali pulizia con soluzioni Piranha o con plasma ad ossigeno, si è deciso di optare per una pulizia in bagno ad ultrasuoni.

È stato inizialmente effettuato un lavaggio preliminare in acetone seguito da due lavaggi in etanolo e due lavaggi in MilliQ.

In seguito, i campioni sono stati sonicati per 24 minuti in acetone e due volte per 6 minuti in etanolo e infine sottoposti a due lavaggi in MilliQ e lasciati ad asciugare in piastra Petri sotto cappa aspirante.

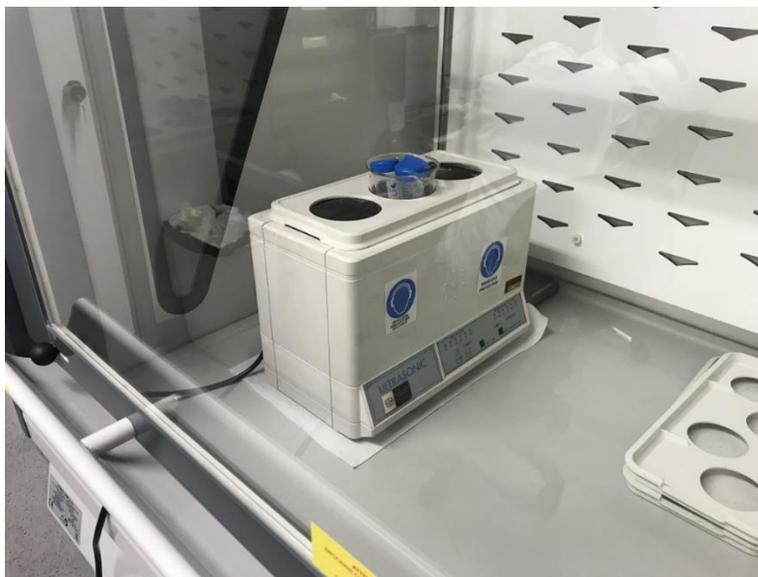


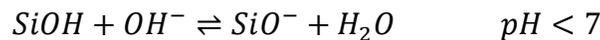
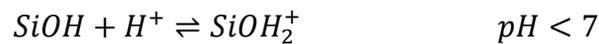
Figura 2.7: Vetrini in falcon con acetone sottoposti a sonicazione mediante bagno a ultrasuoni.

2.2 Zeta Potential e sua misurazione mediante misure elettrocinetiche

2.2.1 Double layer model

Quando una fase liquida viene messa a contatto con una superficie solida si sviluppano dei fenomeni di carica superficiale del solido stesso dovuti a diversi meccanismi, quali ad esempio, ionizzazione di gruppi superficiali, sostituzioni isomorfe e dissoluzione preferenziale di alcuni ioni.

Per quanto riguarda il vetro, il meccanismo di carica superficiale prevalente è quello di ionizzazione dei gruppi OH superficiali, formatisi per adsorbimento di molecole di acqua, secondo le seguenti reazioni:



Di conseguenza il grado di ionizzazione, e quindi la carica della superficie del vetro, sarà funzione del pH: per valori di pH basici ci si aspetta una superficie carica negativamente mentre per valori di pH molto acidi ci si aspetta invece una superficie carica positivamente.

Esisterà poi un valore di pH intermedio detto *Point of Zero Charge (PZC)* al quale la carica netta della superficie è nulla.

Inoltre, indipendentemente dal meccanismo di carica superficiale, si sviluppa nel liquido una distribuzione di cariche, indicata solitamente con il termine *electrical double layer*, che tende a neutralizzare quelle formatesi in superficie.

Il modello più semplice per visualizzare il double layer elettrico è il *modello di Helmholtz* detto anche *molecular capacitor* perché si immagina che la superficie del solido carica venga affiancata da un layer di carica opposta e la caduta di potenziale, dal potenziale della superficie ψ_0 al potenziale nel bulk del liquido ψ_b , si verifichi in modo lineare nello spazio tra essi compreso.

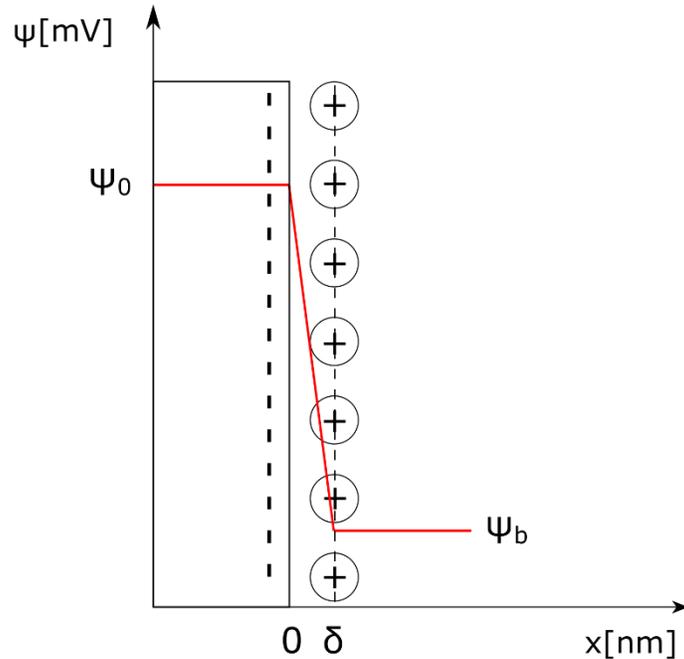


Figura 2.8: Rappresentazione del modello di Helmtolz. In rosso è rappresentato l'andamento del potenziale ψ .

Questo modello, evidentemente troppo semplificato, viene superato dal modello di *Guy Chapman* secondo il quale il double layer è di tipo diffuso ovvero è il risultato di un equilibrio tra le forze elettrostatiche, dovute alla superficie carica, e tra le forze di diffusione dovute al gradiente di concentrazione di ioni che si crea nel liquido.

Il punto di partenza per ricavare l'equazione che descrive il modello di Guy-Chapman è rappresentato dalla (2.1), altrimenti nota come *equazione di Poisson*.

$$\nabla^2 \psi = -\frac{1}{\epsilon \epsilon_0} \rho_q \quad (2.1)$$

Dove ψ rappresenta il potenziale, ϵ la costante dielettrica del mezzo, ϵ_0 la costante dielettrica del vuoto e ρ_q la densità volumica di carica elettrica.

La densità di carica elettrica è data invece dalla (2.2) come segue:

$$\rho_q = \rho_q(x) = e \sum_{i=1}^i z_i n_i(x) \quad (2.2)$$

Dove $e = -1.602 \cdot 10^{-19} C$ è la carica dell'elettrone, z_i è la valenza dello ione i -esimo e n_i è la concentrazione dello ione i -esimo.

Sostituendo la (2.2) nella (2.1) si ottiene poi la (2.3):

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} = -\frac{e}{\varepsilon \varepsilon_0} \sum^i z_i n_i(x) \quad (2.3)$$

La concentrazione n_i è data a sua volta da una distribuzione di tipo Boltzmann per cui si ottiene che:

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} = -\frac{e}{\varepsilon \varepsilon_0} \sum^i z_i n_{ib}(x) \exp\left(\frac{-z_i e \psi}{kT}\right) \quad (2.4)$$

Dove n_{ib} è la concentrazione dello ione i -esimo nel bulk del liquido, che si assume quindi pari alla concentrazione nominale della soluzione, $k = 1.380 \cdot 10^{-23} JK^{-1}$ è la costante di Boltzmann e T è la temperatura espressa in K .

L'equazione (2.4), meglio nota come *equazione di Poisson-Boltzmann*, è una ODE di secondo ordine che può essere risolta analiticamente solo nel caso in cui ψ sia molto basso e si possa quindi linearizzare il problema con uno sviluppo di Taylor, oppure nel caso si abbia un elettrolita simmetrico; in tutti gli altri casi si adotta un approccio risolutivo di tipo numerico.

Nel caso di potenziali bassi ($|\psi| \leq 25 mV$) si ottiene un andamento esponenziale del tipo:

$$\psi(x) = \psi_0 \exp(\kappa x) \quad (2.5)$$

Dove κ è una costante detta *lunghezza di Debye*.

La lunghezza di Debye esprime la distanza dall'interfaccia solido-liquido alla quale il potenziale ψ si è ridotto di un fattore e^{-1} rispetto al potenziale della superficie ψ_0 ed è definita come:

$$\kappa = \sqrt{\frac{2F^2 I}{\varepsilon_0 \varepsilon_r R T}} \quad (2.6)$$

Dove $F = 9.6485 \cdot 10^4 C mol^{-1}$ è la costante di Faraday, I è la forza ionica della soluzione e $R = 8.134 JK^{-1} mol^{-1}$ è la costante universale dei gas.

Anche il modello di Guy-Chapman si dimostra inadeguato in caso di adsorbimenti preferenziali di ioni sulla superficie del solido. Stern propone quindi un nuovo modello dove il doppio strato è diviso in una parte interna, che consiste in un monolayer di controioni adsorbiti sulla superficie del solido, e una parte esterna, che consiste invece in uno strato di tipo diffuso la cui presenza è dovuta al fatto che la carica degli ioni adsorbiti non bilancia esattamente la carica della superficie per cui a partire dal piano di Stern si realizza uno strato diffuso del tipo Guy-Chapman.

Il piano passante per i centri questi ioni adsorbiti sulla superficie del solido è detto *piano di Stern*.

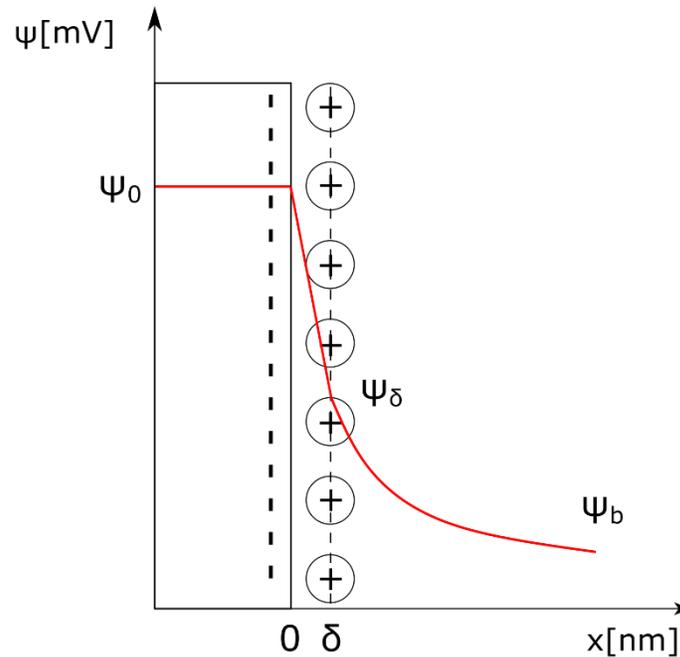


Figura 2.9: Rappresentazione del modello di Stern. In rosso è rappresentato l'andamento del potenziale ψ .

2.2.2 Fenomeni elettrocinetici e Zeta Potential

Quando si ha un solido carico a contatto con una fase liquida, nella quale si è sviluppato un doppio strato elettrico, e le due fasi vengono messe in moto relativo si verificano dei fenomeni di non equilibrio noti come *fenomeni elettrocinetici*.

I fenomeni elettrocinetici sono di quattro tipi differenti:

- *Elettroforesi*: all'interno di una fase liquida è sospesa una fase solida che viene messa in movimento da un campo elettrico esterno.
- *Elettroosmosi*: all'interno di un capillare viene inserita una fase liquida che si muove per applicazione di un campo elettrico.
- *Streaming potential*: un liquido viene inserito in un capillare all'estremità del quale viene applicata una differenza di pressione che permette il fluire della fase liquida stessa. Si sviluppa una differenza di potenziale all'estremità del capillare.
- *Sedimentation potential*: delle particelle cariche in sospensione colloidale vengono lasciate sedimentare e si genera così una differenza di potenziale.

Consideriamo ad esempio il caso dello streaming potential, che sarà quello di interesse nel corso della presente tesi.

In un capillare in vetro viene fatta fluire una fase liquida per azione di un gradiente di pressione ai capi dello stesso.

A contatto con la fase liquida i gruppi superficiali del vetro del capillare si ionizzano così che si forma una carica superficiale e nel liquido si sviluppa quindi un doppio strato elettrico.

Nel caso dell'acqua, la cui molecola è molto polare, vi sono certamente delle molecole (uno o due monolayer al massimo) che adsorbono sul vetro e non saranno quindi messe in movimento rispetto a questo: i centri di queste molecole giacciono sul piano di Stern.

Vi può poi essere un altro layer (al massimo un paio) di molecole legate in modo forte al solido e il cui moto risulterà quindi ancora impedito e si identifica così un *piano di no-shear* al di sotto del quale la velocità delle molecole liquido è nulla.

Gli strati molecolari, successivi al piano di no-shear, non saranno più legati in modo così forte alla superficie del vetro e saranno quindi liberi di scorrere. Si definisce il potenziale del piano di scorrimento come potenziale zeta (ζ).

Spesso si assume che il piano di scorrimento coincida con il piano di Stern e quindi si assume che:

$$\zeta \simeq \psi_{\delta} \quad (2.7)$$

In generale questo non è però sempre vero: il piano di Stern non necessariamente coincide con il piano di no-shear.

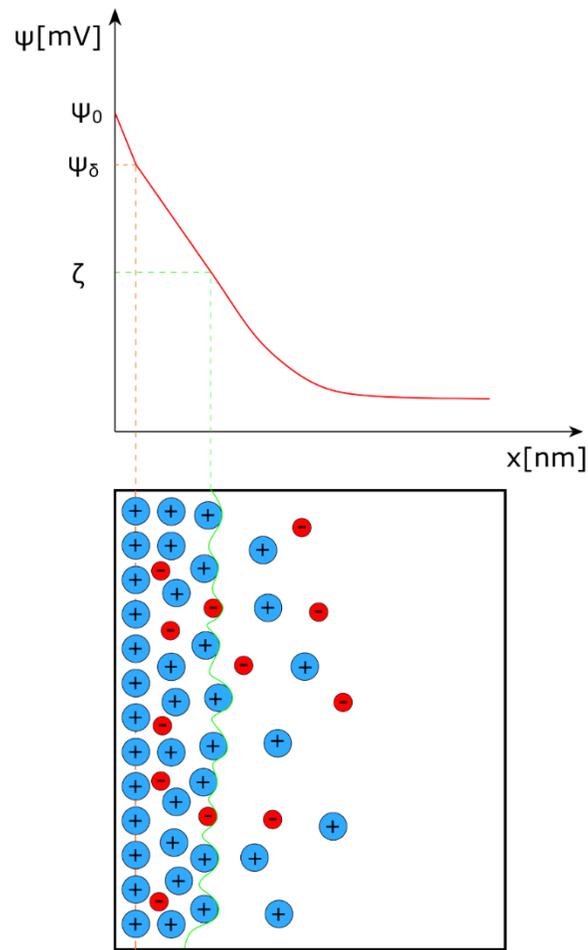


Figura 2.10: Indicazione andamento del potenziale in un liquido in movimento in un capillare, con indicazione del potenziale di Stern ψ_δ e del potenziale zeta ζ .

2.2.3 Streaming Potential

La seguente trattazione descrive come il fenomeno elettrocinetico dello streaming potential può essere sfruttato per ricavare lo zeta potential di una superficie ed è ispirata alla trattazione di Hunter [42].

Come rappresentato in Figura 2.11, si consideri un fluido newtoniano di viscosità μ che si muove con moto in regime laminare in un capillare di lunghezza l e di sezione circolare avente raggio R_c . Se ΔP è la differenza di pressione applicata alle estremità del capillare, il fluido si muoverà con velocità $v(r)$ avente profilo radiale dato dalla (2.8):

$$v(r) = \frac{\Delta P}{4\mu l} (R_c^2 - r^2) \quad (2.8)$$

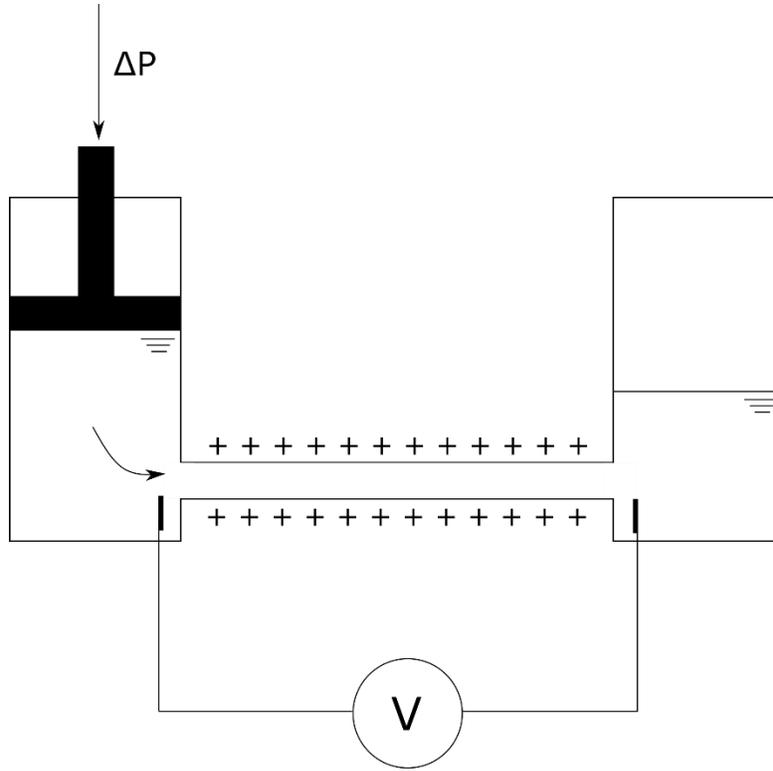


Figura 2.11: Rappresentazione schematica di un apparato per la misura dello streaming potential.

La portata volumica di fluido $\dot{\phi}(r)$ che fluisce attraverso un elemento di sezione infinitesimo $\partial A(r) = 2\pi r \partial r$ sarà quindi data come prodotto della velocità per l'area infinitesima:

$$\dot{\phi}(r) = v(r) \partial A(r) = \frac{\Delta P}{4\mu l} (R_c^2 - r^2) 2\pi r \partial r \quad (2.9)$$

La corrente ∂I associata al moto del fluido attraverso l'elemento di sezione infinitesimo ∂A è semplicemente data invece dalla (2.10):

$$\partial I(r) = \frac{\partial q}{\partial t} = \frac{\partial \dot{\phi}(r)}{\partial t} \rho_q = v(r) \partial A(r) = \frac{\Delta P}{4\mu l} (R_c^2 - r^2) 2\pi r \partial r \rho_q \quad (2.10)$$

Dove ρ_q è la densità volumica di carica.

Per risolvere l'integrale della (2.10) conviene effettuare un cambio di variabile introducendo la variabile $y = R_c - r$, di conseguenza si ottiene che $\partial y = -\partial r$. Sostituendo nell'equazione (2.10) si ottiene pertanto la (2.11):

$$\partial I(r) = -\frac{\Delta P}{4\mu l} (2R_c y - y^2) 2\pi (R_c - y) \partial y \rho_q \quad (2.11)$$

Al fine dello studio del fenomeno dello streaming potential si considera la parte di fluido più prossima alla parete del capillare ovvero $y \simeq 0$, per cui l'equazione (2.11) si può semplificare per ottenere la (2.12):

$$\partial I(y) = -\frac{\pi \Delta P}{\mu l} (R_c^2 y \rho_1) \partial y \quad (2.12)$$

Sostituendo la densità di carica elettrica nella (2.12) con l'equazione di Poisson della (2.1) si ottiene così la (2.13):

$$I = \int_{R_c}^0 \partial I(y) = \int_{R_c}^0 \frac{\pi \Delta P R_c^2}{\mu l} \left(y \frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} \right) \partial y = \frac{\pi \Delta P R_c^2}{\mu l} \int_{R_c}^0 y \frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} \partial y \quad (2.13)$$

Integrando la (2.13) tra R_c e 0 e imponendo le condizioni al contorno $\psi(R_c) = \zeta$ e $\frac{\partial \psi}{\partial x}(R_c) = 0$ si ottiene così la corrente totale I , detta anche *streaming current*:

$$I = -\frac{\pi \Delta P R_c^2 \varepsilon \zeta}{\mu l} \quad (2.14)$$

La corrente totale I può essere vista come somma di un contributo di corrente bulk I_b e un contributo di corrente di superficie I_s così che:

$$I = I_b + I_s \quad (2.15)$$

Applicando la legge di Ohm alla (2.15) si può ottenere che:

$$I = E \left(\frac{1}{A_b \sigma_b} + \frac{1}{A_s \sigma_s} \right) = E \pi R_c^2 \left(\sigma_b + \frac{2 \sigma_s}{R_c} \right) \quad (2.16)$$

Dove E è la differenza di potenziale generata, A_b è l'area di bulk, A_s è l'area di superficie, σ_b è la conducibilità elettrica del bulk e σ_s è la conducibilità elettrica della superficie.

Esplicitando E dalla (2.16) si ottiene:

$$E = \frac{\varepsilon \zeta}{\mu l \left(\sigma_b + \frac{2 \sigma_s}{R_c} \right)} \Delta P \quad (2.17)$$

Dove σ_b è la conducibilità del liquido che può essere misurata agevolmente mediante conduttimetria. σ_s è invece la conducibilità della superficie che può essere ottenuta empiricamente con un metodo proposto da Delgado et al. [43].

2.2.4 Misura dello Zeta Potential mediante SurPASS 3

Le misure di Zeta Potential dei vetrini realizzati sono state realizzate con lo strumento *SurPASS 3* della ditta Anton Paar, equipaggiato con cella *Adjustable Gap Cell*, mostrato in Figura 2.12, che permette l'esecuzione della misura su campioni di dimensioni 2cm x 1cm e di spessore massimo 2mm.

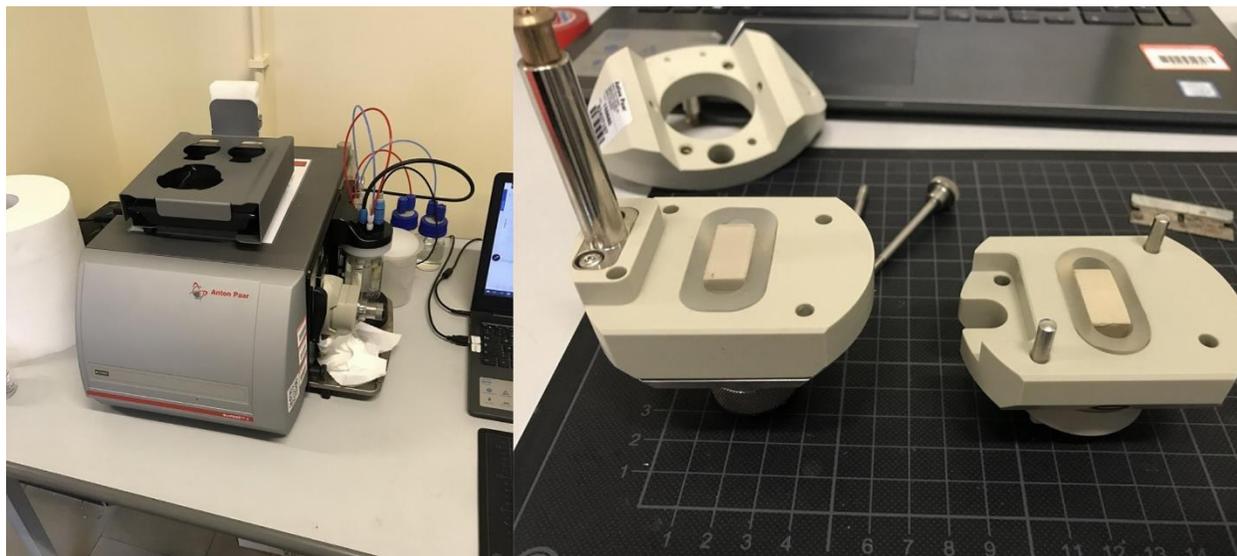


Figura 2.12: Strumentazione per misure elettrocinetiche SurPass 3 della Anton Paar (a sinistra) e cella per misurazione su campioni solidi piani Adjustable Gap Cell (a destra).

Tale strumento permette di misurare lo zeta potential della superficie mediante una misura di tipo streaming potential a diversi pH nel range 2-12.

Lo strumento funziona con una soluzione molto diluita di KCl, il cui pH viene fatto variare per aggiunte di HCl e NaOH da un sistema di titolazione ad alta precisione, che viene fatta fluire tra due campioni di vetro. Lo strumento è in grado di misurare contemporaneamente pH e la conducibilità elettrica della soluzione e la differenza di potenziale di streaming potential e ricavare quindi il valore di potenziale zeta della superficie in funzione del pH.

La misurazione avviene utilizzando una soluzione di KCl 1 mM il cui pH viene variato dallo strumento durante per per aggiunta di HCl e NaOH. Per ottenere tale soluzione è stata preparata dapprima una soluzione 10 mM di KCl sciogliendo 0.164 g di KCl in 225 mL di MilliQ che è poi stata diluita due volte in rapporto 1:10 per ottenere la soluzione 1 mM.

Sono state poi preparate due soluzioni 50 mM di HCl e NaOH. La soluzione di HCl è preparata diluendo 1.242 mL di HCl 37 % (≈ 12.1 M) in 300 mL di soluzione mentre la soluzione di NaOH è stata preparata diluendo 150 mL di NaOH 0.1 N in 300 mL di soluzione.

Prima di iniziare le misurazioni lo strumento è stato lavato con due cicli di pulizia con MilliQ.

Il campione è poi stato posizionato nell'apposita cella di misura dello strumento, fissato ad essa con nastro biadesivo Tesa 4965, e sono stati eseguiti diversi cicli di Rinse per aggiustare la distanza

tra i due vetrini (*gap height*) a circa 100 μm come indicato da manuale. Dopo varie prove si è stabilito che il valore ottimale intorno ai 110 μm , poiché durante le misure tale distanza tende a ridursi leggermente, probabilmente per un rigonfiamento dell'adesivo.

È stata poi eseguita una prima misura nel range di pH 2-6 con un step di pH di 0.25 e, dopo aver svuotato lo strumento ed eseguito un ciclo di pulizia con MilliQ, si è eseguita una seconda misura nel range 6-10 con un incremento di 1. Si è osservato che i parametri ottimali che permettono di avere una migliore riproducibilità della misura sono Rinse Cycle a 3 e Zeta Cycle a 2.

2.3 Risultati delle misure di Zeta Potential e loro interpretazione

Di seguito si riportano, in Figura da 2.13 a 2.18, i risultati ottenuti dalle misure di Zeta Potential per tutti i campioni trattati.

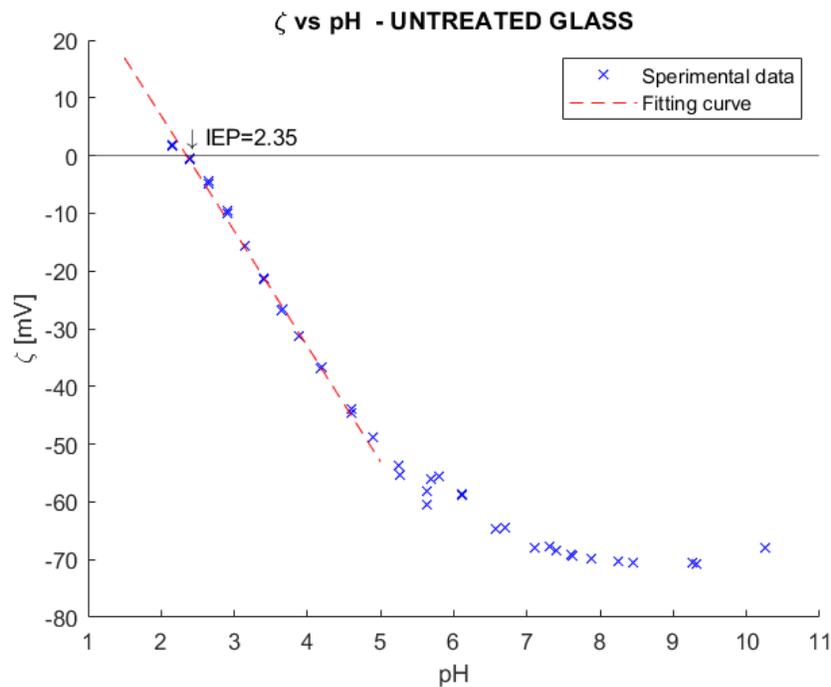


Figura 2.13: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia in bagno ad ultrasuoni con acetone.

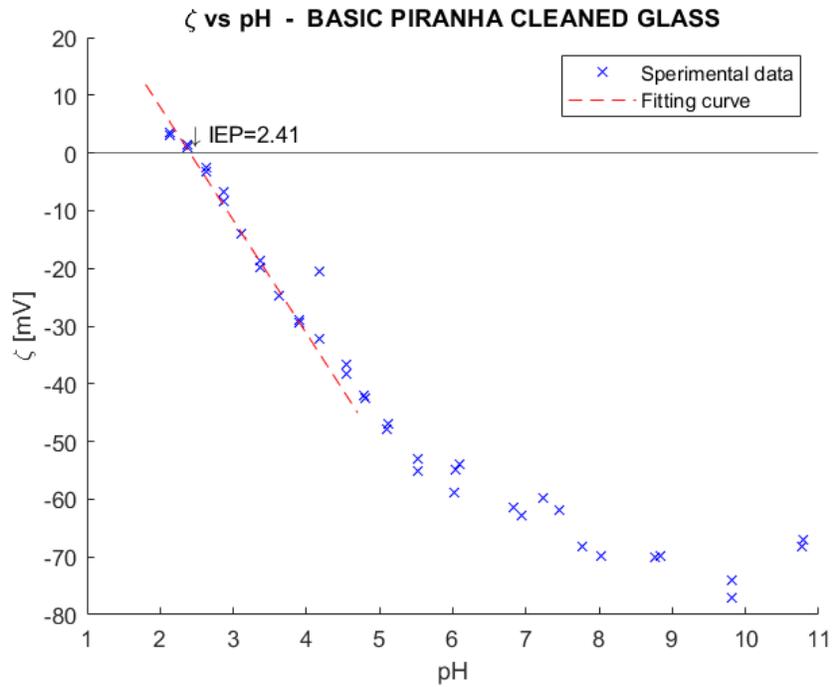


Figura 2.14: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento in soluzione Piranha basica.

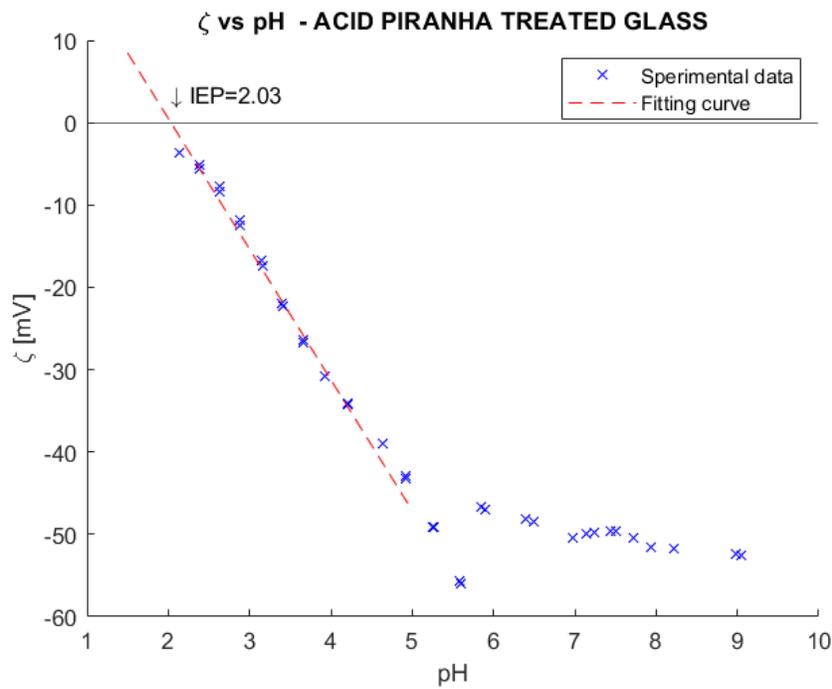


Figura 2.15: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento in soluzione Piranha acida.

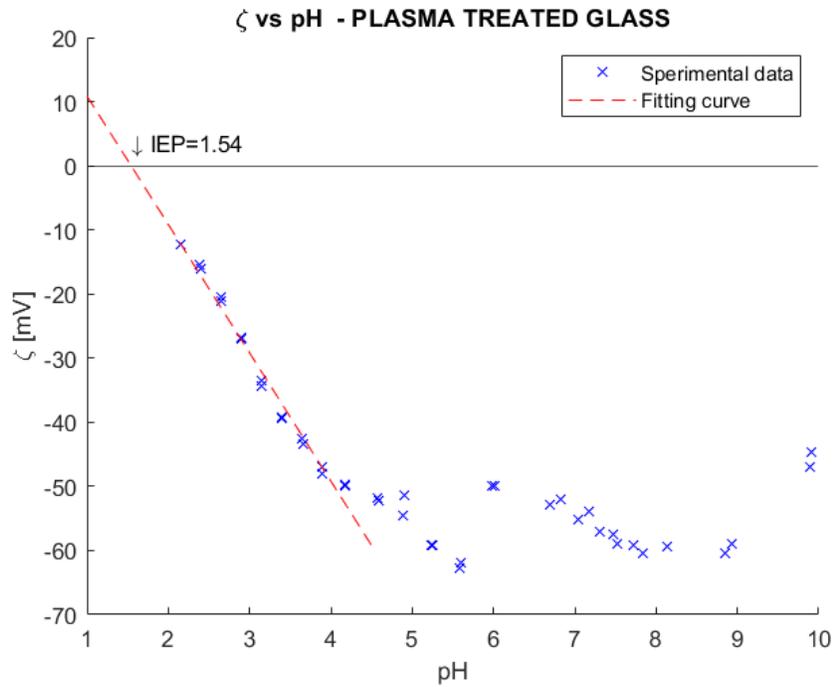


Figura 2.16: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento con plasma ad ossigeno.

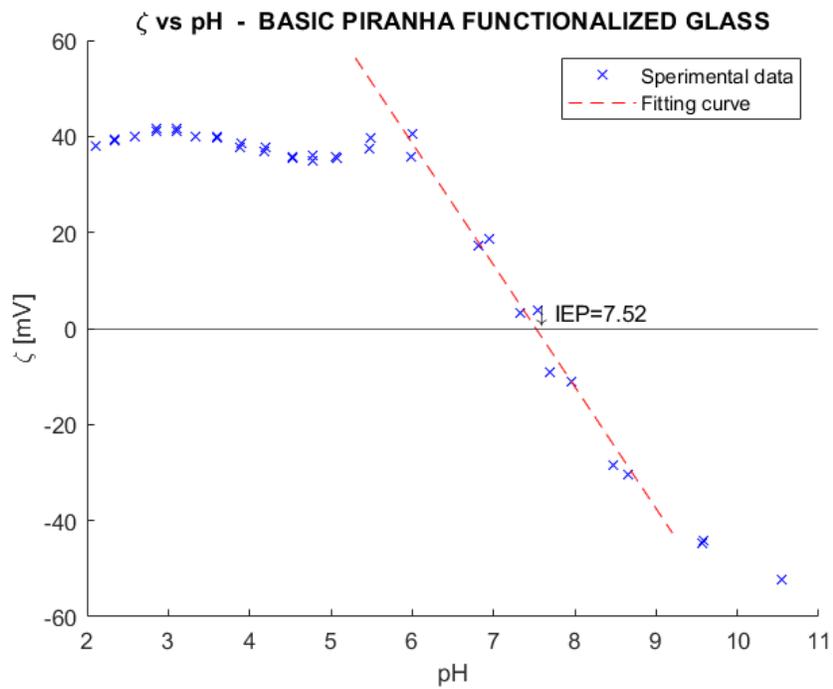


Figura 2.17: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento in soluzione Piranha basica e funzionalizzato con APTMS.

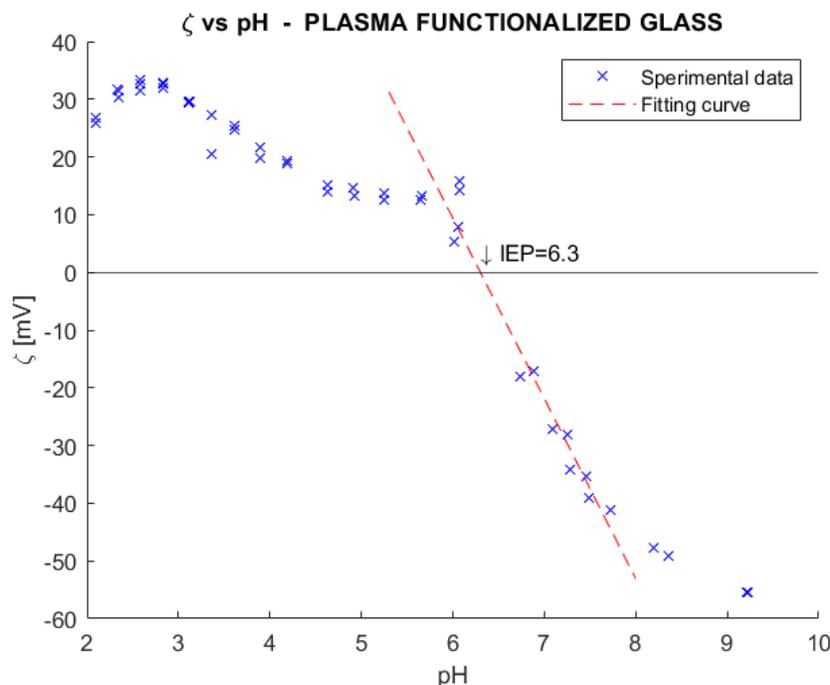


Figura 2.18: Curva del potenziale zeta in funzione del pH per un vetro sottoposto a pulizia mediante trattamento al plasma ad ossigeno e funzionalizzato con APTMS.

In Tabella 2.2 si riportano i valori del punto isoelettrico (IEP) per ciascuno dei campioni analizzati. Tale valore è stato determinato, per ciascun campione, come intersezione dell'asse delle ascisse con la retta di regressione ai minimi quadrati calcolata sul tratto centrale della rispettiva curva.

Trattamento	IEP [pH]
Untreated	2.35
Piranha basica	2.41
Piranha acida	2.03
Plasma	1.54
Piranha basica + APTMS	7.52
Plasma + APTMS	6.3

Tabella 2.2: Valori di punto isoelettrico (IEP) per i vetri sottoposti a diverse tipologie di trattamento.

La curva di zeta potential del vetro tratto con Piranha acida risulta traslata verso sinistra rispetto al campione di riferimento: si ha infatti un IEP pari a 2.03 nel primo e 2.35 nel secondo caso. Il valore di IEP del vetrino trattato con Piranha acida risulta molto prossimo al valore di IEP della silice tabulato in letteratura: questo porta ad ipotizzare che l'azione di estrazione selettiva dei cationi di

ossidi modificatori operata dall'acido abbia portato ad avere una superficie con composizione molto prossima a quella della silice. Tale ipotesi potrebbe essere eventualmente verificata con un'analisi composizionale di superficie come ad esempio l'XPS. La curva del vetro trattato con Piranha basica risulta sostanzialmente sovrapponibile a quella del riferimento con una minima differenza nei rispetti IEP. Questa differenza è legata alla diversa resistenza chimica del vetro in ambiente acido e basico.

Infine, la curva del vetro trattato con Plasma ad ossigeno risulta essere molto traslata verso sinistra rispetto al riferimento e riportando infatti un IEP di 1.54.

Non essendo ipotizzabili differenze di tipo composizionale, tale fenomeno è molto probabilmente attribuito alla diversa rugosità superficiale che sarà sicuramente maggiore nel campione trattato con plasma.

Alla luce dei risultati ottenuti non appare esserci nessun vantaggio nell'uso della Piranha acida rispetto alla Piranha basica, anzi, la prima è certamente più pericolosa da preparare e da gestire durante il trattamento.

La pulizia al plasma risulta invece essere poco adatta per la preparazione del vetrino in quanto la successiva funzionalizzazione porta ad ottenere una superficie con un potenziale zeta inferiore a quello ottenuto con la pulizia con Piranha basica e questo si traduce in una minore forza di attrazione elettrostatica nei confronti delle nanoparticelle d'oro che andranno poi depositate.

In conclusione, si sceglie quindi come metodo di pulizia per la preparazione dei vetrini il trattamento in Piranha basica per 20 minuti a 60°C.

Quando la radiazione luminosa impatta su una particella si verifica uno scattering dove la luce viene diffusa in tutte le direzioni con un vettore d'onda \vec{k}_f che dipende dalla forma, dalle dimensioni e dalle proprietà ottiche della particella, come mostrato in Figura 3.1.

Questo scattering è uno scattering di tipo Rayleigh, che, essendo un processo di tipo elastico, è caratterizzato dalla conservazione del modulo del vettore d'onda e si ottiene pertanto che:

$$|\vec{k}_i| = |\vec{k}_f| = \frac{2\pi n}{\lambda} \quad (3.1)$$

Si può definire così un vettore d'onda di scattering \vec{q} dato dalla differenza vettoriale del vettore d'onda incidente \vec{k}_i e del vettore d'onda di scattering \vec{k}_s :

$$|\vec{q}| = |\vec{k}_i - \vec{k}_f| = \frac{2\pi n}{\lambda} (2 \sin \frac{\theta}{2}) \quad (3.2)$$

Essendo la sospensione formata da un numero N molto grande di particelle, l'intensità della radiazione di scattering totale che raggiunge il detector e che viene da questo misurata, sarà la somma (per interferenza) dei contributi di scattering delle singole particelle e sarà quindi data come:

$$I(t) = \sum_{j=1}^N I^0 \exp[i\phi_j(\vec{r}_j, t) - i\omega_0 t] \quad (3.3)$$

Dove I^0 è l'ampiezza di scattering delle particelle che si dimostra essere indipendente dalla loro posizione.

Discorso a parte vale per la fase $\phi_i(t)$ che è invece dipendente sia dalla posizione della j-esima particella \vec{r}_j che dal tempo t ed è data come:

$$\phi_j(\vec{r}_j, t) = \frac{2\pi}{\lambda} \delta = \frac{2\pi}{\lambda} (CPD - AOB) = \vec{k}_0 \cdot \vec{r}_j - \vec{k}_s \cdot \vec{r}_j = (\vec{k}_0 - \vec{k}_s) \cdot \vec{r}_j \quad (3.4)$$

Ricordando che $\vec{q} = \vec{k}_i - \vec{k}_s$, la fase $\phi_j(\vec{r}_j, t)$ può essere alternativamente riscritta come:

$$\phi_j(\vec{r}_j, t) = \vec{q} \cdot \vec{r}_j(t) \quad (3.5)$$

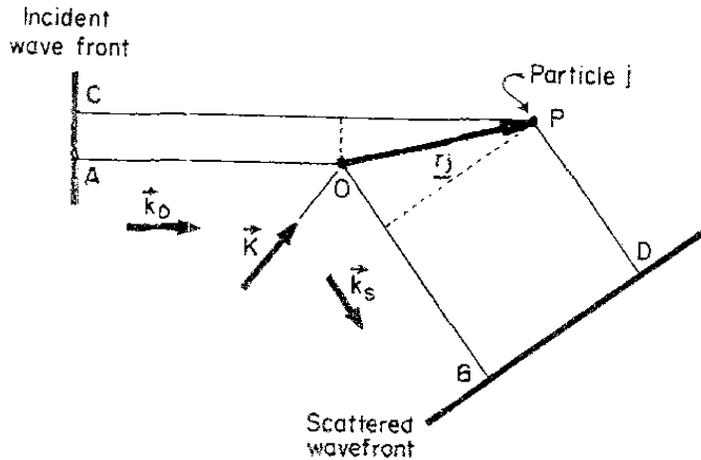


Figura 3.2: Schema per il calcolo della fase della radiazione scatterata da una particella.

Se si considera una dispersione colloidale, le cui particelle si muovono in maniera indipendente con moto di tipo Browniano per effetto dell'agitazione termica, si ha che la posizione delle particelle stesse varia nel tempo in modo casuale.

Pertanto, se la radiazione luminosa emessa per scattering viene raccolta, dopo essere filtrata da un secondo polarizzatore, da un detector posizionato ad un certo angolo θ si osserva che l'intensità misurata fluttuerà attorno ad un valore medio e tali fluttuazioni danno una misura del *random walking* delle particelle della dispersione.

Si consideri un'intensità $I(t)$ che giunge al detector al tempo t e si consideri un'intensità $I(t')$ che giunge al detector al tempo $t' = t + \tau$, con τ arbitrariamente piccolo rispetto al tempo con cui le particelle si muovono. Ragionevolmente si avrà quindi che:

$$I(t) \cong I(t + \tau) \quad (3.6)$$

Pertanto, si ottiene che il prodotto $I(t)I(t + \tau)$ è circa pari al quadrato di $I(t)$:

$$I(t)I(t + \tau) = \langle I^2(t) \rangle \quad (3.7)$$

Se invece si considerano un τ confrontabile con il tempo in cui le particelle si muovono si ottiene in generale che il prodotto $I(t)I(t + \tau)$ rappresenta il quadrato dell'intensità media nell'intervallo di tempo $[t, t + \tau]$, ovvero:

$$I(t)I(t + \tau) \cong \langle I(t) \rangle^2 \quad (3.8)$$

Si definisce poi una funzione di autocorrelazione $G(\tau)$ come:

$$G(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \int_0^T I(t)I(t + \tau)dt \quad (3.9)$$

Per un colloide monodisperso, la funzione di autocorrelazione della (3.10) si presenta nella forma:

$$G(\tau) = \alpha + \beta \exp(-\Gamma\tau) \quad (3.10)$$

Dove α è il segnale di background, β è una costante di proporzionalità tipica dello strumento e Γ è la costante di decadimento della funzione di autocorrelazione.

Tale costante di decadimento è legata alla diffusività delle particelle dalla relazione:

$$\Gamma = |q|^2 D \quad (3.6)$$

Se le particelle possono essere considerate di forma sferica e aventi diametro molto grande se confrontato con le dimensioni di una molecola si può scrivere la diffusività per tramite della legge di Stokes:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (3.11)$$

Nota la quale si può ricavare il diametro delle particelle come:

$$a = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} \quad (3.12)$$

3.1.2 Risultati del Dynamic Light Scattering

Le nanoparticelle sono state analizzate con tecnica DLS mediante una strumentazione Malvern Zetasizer Nano e il risultato ottenuto è stato comparato con l'analisi di immagine realizzata con software ImageJ sulle immagini al TEM fornite dalla ditta produttrice delle nanoparticelle, riportate in Figura 3.4.

Si è osservato che la dimensione delle nanoparticelle è $10.6 \pm 1.7 \text{ nm}$ e si è calcolato un indice di polidispersità pari a 0.525.

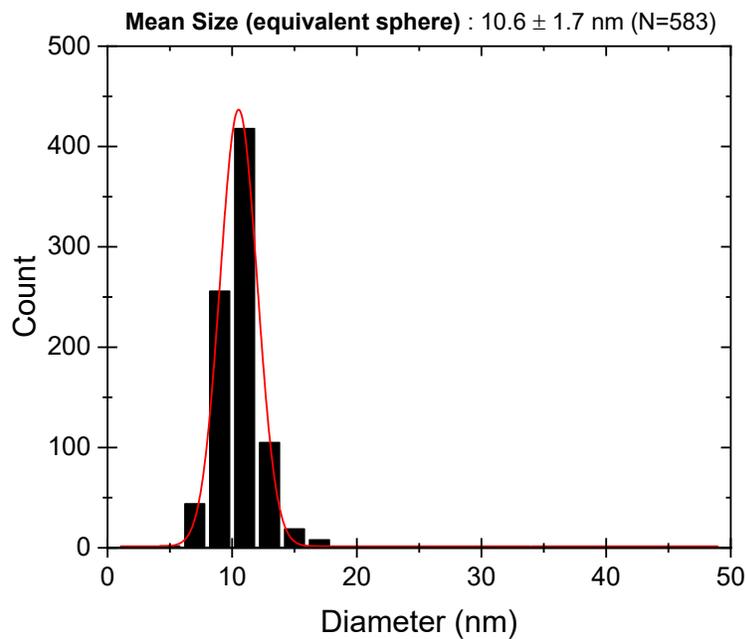


Figura 3.3: Distribuzione dimensionale delle nanoparticelle d'oro determinata mediante DLS (curva in rosso) e mediante analisi al TEM (istogramma in nero).

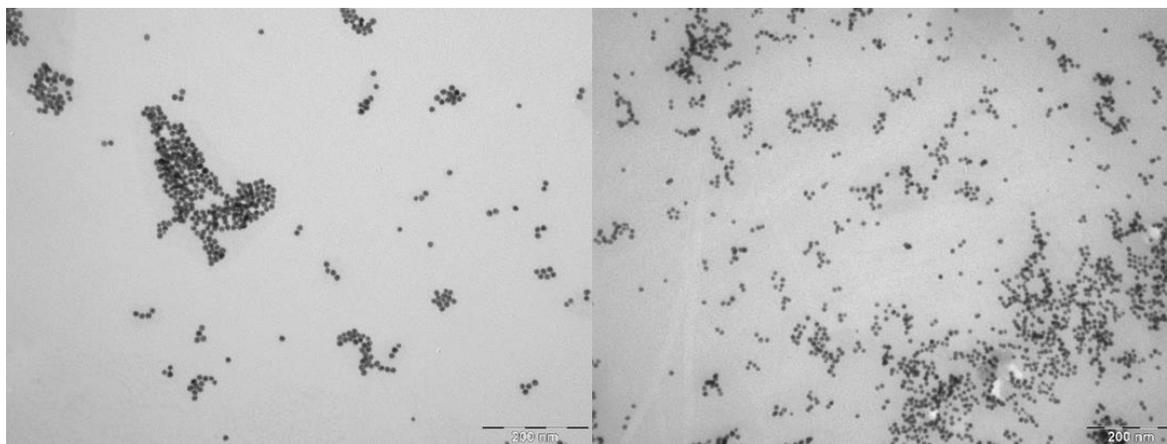


Figura 3.4: Immagini al TEM delle nanoparticelle utilizzate. L'immagine è stata realizzata dalla ditta produttrice.

L'analisi del potenziale zeta delle particelle è stata eseguita con strumentazione Malvern ZetaSeizer Nano utilizzando le celle capillari per misurazione di potenziale zeta DTS1070.

L'aggiustamento del pH è stato effettuato diluendo la sospensione di nanoparticelle di oro con una soluzione di acido acetico a diverse concentrazioni in rapporto 1:2 così come riportato in Tabella 3.1.

Dopo l'aggiunta dell'acido acetico la sospensione è stata sonicata in bagno ad ultrasuoni per circa 1 minuto per ottenere una migliore sospensione delle particelle.

Siccome l'abbassamento del pH causa una diminuzione del potenziale superficiale con aumento della probabilità di aggregazione, per ogni punto di pH è stata effettuata anche una misura di distribuzione dimensionale che ha permesso di fatto di escludere fenomeni di aggregazione nel range di pH investigato.

M_0 [mmol L ⁻¹]	M_f [mmol L ⁻¹]	pH
0	0	6.56
2	1	4.64
2	1	3.91
10	5	3.54
100	50	3.03

Tabella 3.1: Concentrazioni di acido acetico utilizzate per aggiustare il pH della sospensione di nanoparticelle per la titolazione del potenziale zeta.

In Figura 3.5 si riporta il potenziale zeta in funzione del pH con le relative barre di errore ottenute come deviazione standard dopo la ripetizione della misura per 3 volte.

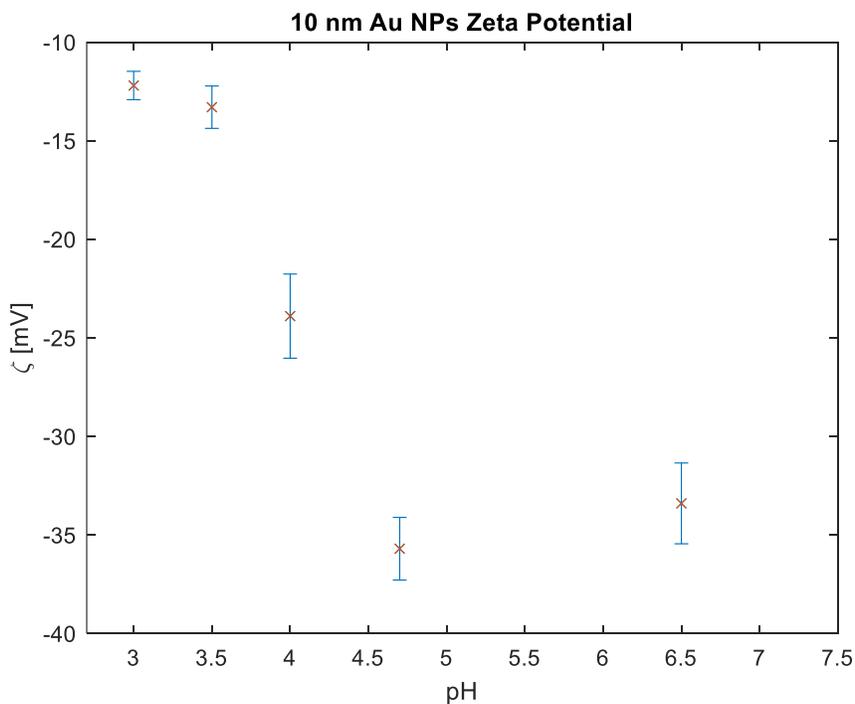


Figura 3.5: Zeta potential delle nanoparticelle d'oro in funzione del pH

3.1.3 Determinazione della concentrazione delle nanoparticelle mediante spettrofotometria UV-VIS

La procedura di seguito descritta per determinare la concentrazione di nanoparticelle in soluzione acquosa è tratta da Haiss et al. [44].

Circa 100 μL di soluzione contenente nanoparticelle sono stati inseriti in una cuvetta da 70 μL e si è misurato lo spettro di assorbimento nel range 400-800 nm con una risoluzione di 0.5 nm mediante uno spettrofotometro UV-2600, così come riportato in Figura 3.6.

Dallo spettro ottenuto si è identificata l'intensità del picco di assorbimento dovuto alla risonanza plasmonica A_{spr} e l'intensità di assorbimento a 450 nm A_{450} .

Il diametro d delle nanoparticelle in nm è quindi dato come:

$$d = \exp\left(B_1 \frac{A_{spr}}{A_{450}} - B_2\right) \quad (3.13)$$

Dove $B_1 = 3.00$ e $B_2 = 2.20$ sono due costanti empiriche.

La concentrazione di nanoparticelle per unità di volume, in $NPs mL^{-1}$ è data invece come:

$$N = \frac{A_{450} \cdot 10^{14}}{d^2 \left\{ -0.295 + 1.36 \exp\left[-\left(\frac{d - 96.8}{78.2}\right)^2 \right] \right\}} \quad (3.14)$$

Il valore di diametro medio ottenuto con il DLS, che risulta essere più preciso e affidabile di quello ricavato con la (3.13), è stato inserito nella (3.14) e la concentrazione di NPs calcolata è risultata essere pari a $6.22 \cdot 10^{12} NPs mL^{-1}$.

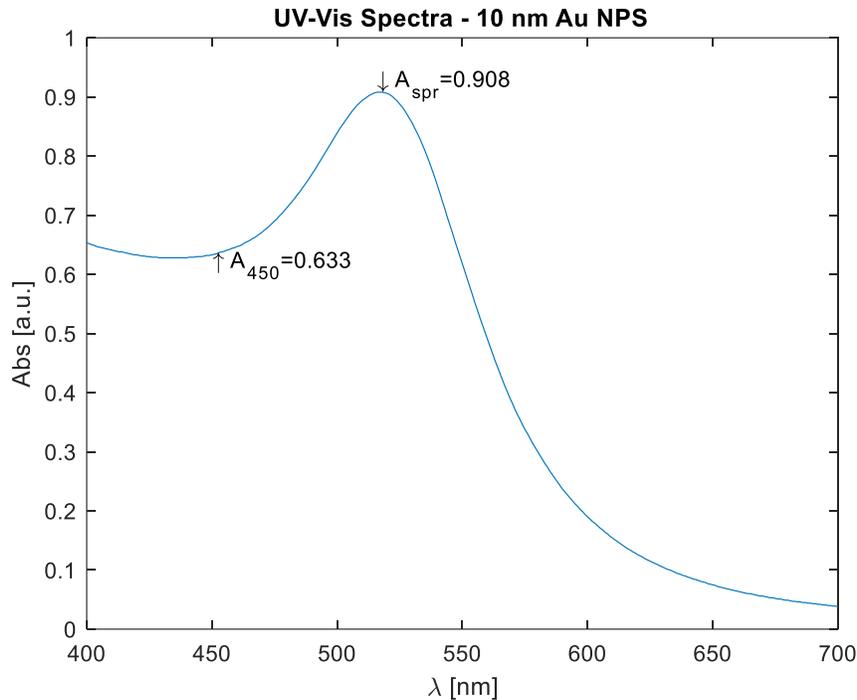


Figura 3.6: Spettro di assorbimento UV-Vis delle nanoparticelle nel range 400-800 nm con indicazione dell'assorbanza a 450 nm a 517 nm.

3.2 Simulazione della deposizione con tecnica Monte Carlo

È stato realizzato un codice MATLAB per simulare la deposizione delle nanoparticelle utilizzando il modello RSA descritto nel Paragrafo 1.3.

Sono state simulate diverse deposizioni in diverse condizioni di pH e con lunghezza dei Debye pari a 33.3 nm per un tempo di deposizione massimo di 12 h, utilizzando i valori di diametro delle particelle e di zeta potential ricavati come descritto nel Paragrafo 2.2 e nel Paragrafo 3.1.

In particolare, la simulazione è stata eseguita ai pH ai quali si è studiato lo zeta potential delle particelle, riportati in Tabella 3.1.

Per avere un numero di particelle sufficiente a dare una validità statistica alla simulazione è stata simulata un'area di 100 μm^2 .

Per le diverse simulazioni si è provveduto a calcolare, con degli appositi script MATLAB, la distribuzione NN e la Ripley's K function come descritto nel Paragrafo 1.3.3.

Da tutte le simulazioni effettuate è stato osservato che operando la deposizione a pH=6.5 e lunghezza di Debye di 33.3 nm si ottiene una distribuzione NN centrata su un valore medio 58.9 nm così come riportato in Figura 3.7 e in Figura 3.8.

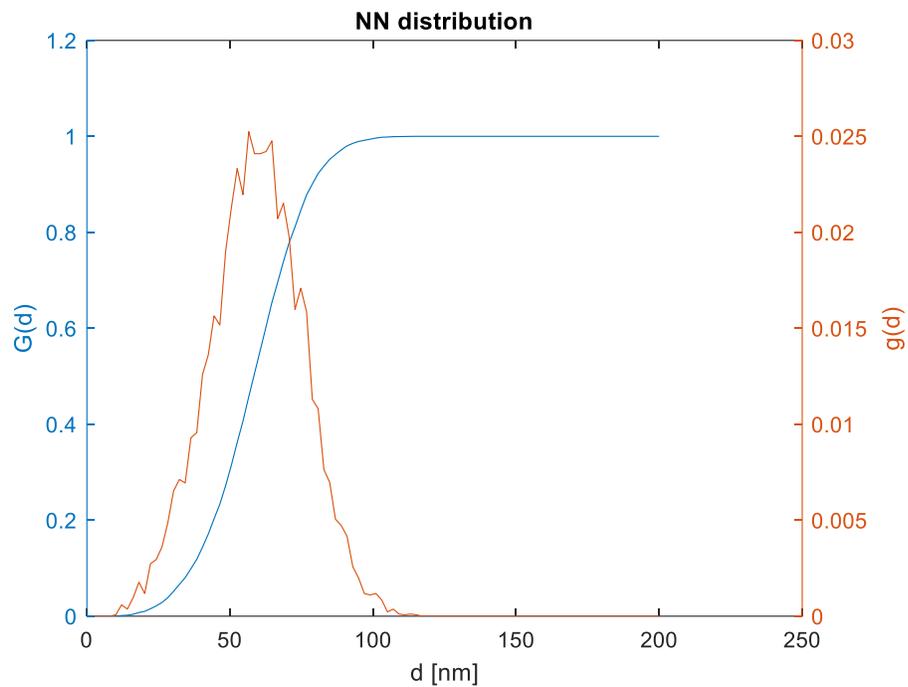


Figura 3.7: Distribuzioni Nearest Neighbour $g(d)$ e $G(d)$ calcolate sui centri delle particelle ottenuti per simulazione.

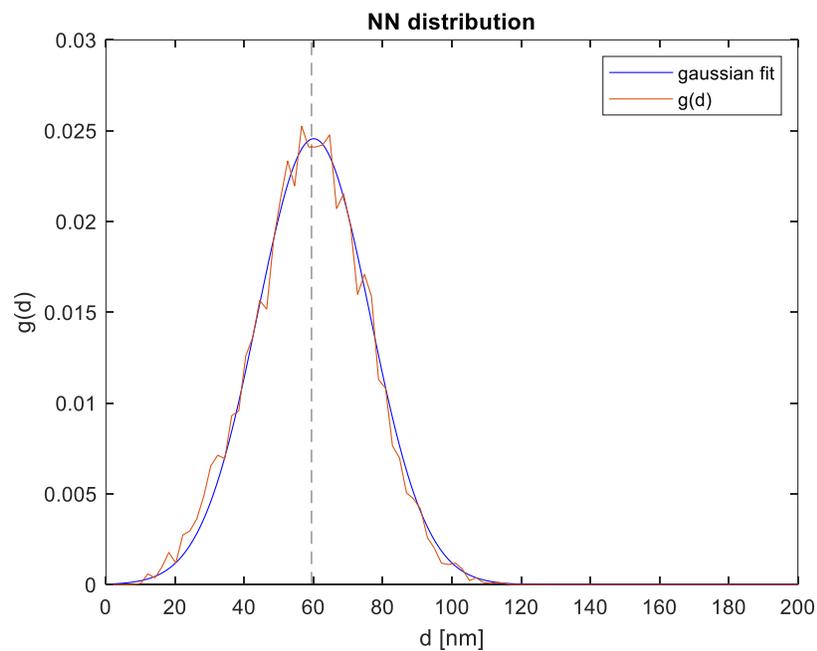


Figura 3.8: Distribuzione Nearest Neighbour $g(d)$ calcolate sui centri delle particelle ottenuti per simulazione (in rosso) e suo fitting gaussiano (in blu).

L'equazione della gaussiana di fitting della distribuzione $g(d)$, riportata nella (3.15), permette subito di identificare il valore medio della distanza pari a 59.39 nm e la relativa deviazione standard pari a 11.58 nm .

$$y = 2.433 \cdot 10^{-2} \exp \left[- \left(\frac{x + 59.39}{23.16} \right)^2 \right] \quad (3.15)$$

3.3 Deposizione delle nanoparticelle

La deposizione delle nanoparticelle viene effettuata immergendo per alcune ore, a seconda del grado di ricoprimento che si desidera raggiungere, il vetrino funzionalizzato con APTMS all'interno di un falcon in cui sono presenti circa 4 mL di una sospensione acquosa di nanoparticelle in buffer citrato 2.2 mM.

Visto l'elevato costo del prodotto è necessario limitare quanto più possibile il volume di sospensione utilizzato per il singolo vetrino.

Al termine della deposizione il vetrino è lavato con un lavaggio in etanolo e due lavaggi in acqua MilliQ [45].

3.4 Crescita delle particelle

Possono essere realizzati diversi tipi di crescita delle nanoparticelle depositate [46], [47]. Si può innanzitutto realizzare una crescita isotropa dove i seed vengono accresciuti in maniera uniforme in tutte le direzioni. Si possono poi eseguire di *foreste di nanowire*, dette anche *nanoforest*, o delle crescite dove si vanno a crescere a partire dai seed delle punte che formano delle strutture che ricordano delle stelle e dette perciò *nanostar*.

3.4.1 Crescita isotropa

Si può ottenere una crescita isotropa ovvero che si sviluppa uniformemente lungo tutte le direzioni e, essendo le nanoparticelle di forma sferica tale forma verrà mantenuta dopo la crescita.

Diversi procedimenti sono stati sviluppati per la crescita isotropa che si può ottenere per riduzione di HAuCl_4 mediante trattamento con trisodio citrato [48], con acido ascorbico in presenza di bromuro di cetil-trimetilammonio [49] o con acqua ossigenata [50].

Tuttavia, le crescite per riduzione dell'acido tetracloroaurico con citrato richiedono una miscelazione dei reattivi estremamente controllata facendo uso anche di una pompa peristaltica [51] e quelle per riduzione con acido ascorbico richiedono diversi step di crescita con diverse concentrazioni di agente riducente, pertanto si è deciso di realizzare la crescita mediante il processo di riduzione del $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ con H_2O_2 .

La reazione che si verifica durante questa crescita è quindi la riduzione dell'Oro (III) presente nel HAuCl_4 a oro (0) metallico che si deposita sulla superficie dei seed. Tale riduzione avviene grazie alla presenza di un agente riducente quale il perossido di idrogeno.

Il processo di crescita prevede l'uso di acido tetracloroaurico triidrato che viene trattato mediante H_2O_2 per ridurre lo ione Au(III) ad oro metallico Au^0 .

Si prepara quindi una soluzione di acido tetracloroaurico 0.28 mM in MilliQ con l'1.75% v/v di acqua ossigenata.

Per preparare 5 mL di tale soluzione si preparano dapprima 5 mL di una soluzione 28 mM che sarà poi diluita in rapporto 1:100 per ottenere la soluzione finale a 0.028 mM.

Si preparano quindi i 5 mL di soluzione 0.28 mM sciogliendo in acqua una massa di $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ pari a:

$$m = M \cdot \mathcal{M}_{\text{HAuCl}_3} \cdot V = 0.28 \text{ mM} \cdot 393.83 \text{ g mol}^{-1} \cdot 5 \text{ mL} = 5.51 \cdot 10^{-4} \text{ g} \quad (3.16)$$

Dopodichè si preleva un 1 mL di soluzione al quale si aggiungono 4 mL di MilliQ e si agita con agitatore magnetico per circa 30 secondi.

I campioni vengono poi immersi all'interno di una falcon contenente la soluzione e si procede poi aggiungendo un volume di acqua ossigenata al 30% v/v pari a:

$$\frac{0.3 \cdot V_{\text{H}_2\text{O}_2}}{V_{\text{HAuCl}_3} + V_{\text{H}_2\text{O}_2}} = 1.75 \cdot 10^{-2} \rightarrow V_{\text{H}_2\text{O}_2} = \frac{1.75 \cdot 10^{-2}}{0.3 - 1.75 \cdot 10^{-2}} V_{\text{HAuCl}_3} = 310 \mu\text{L} \quad (3.17)$$

I campioni vengono lasciati a reagire per diversi tempi da 3.5 minuti a 6 minuti, misurati a partire dall'aggiunta di H_2O_2 sempre mantenendo l'agitazione magnetica.

Al termine della crescita i campioni vengono nuovamente lavati mediante due bagni in etanolo e uno in MilliQ e successivamente conservati in falcon chiuse e sigillate con del Parafilm.

Il procedere della reazione viene evidenziato da un cambiamento della colorazione del vetrino, come evidenziato in Figura 3.9, che corrisponde ad uno shift verso frequenze di più alte del picco di risonanza plasmonica dovuta alla crescita delle nanoparticelle; tale shift può essere agevolmente evidenziato tramite spettrofotometria [44].

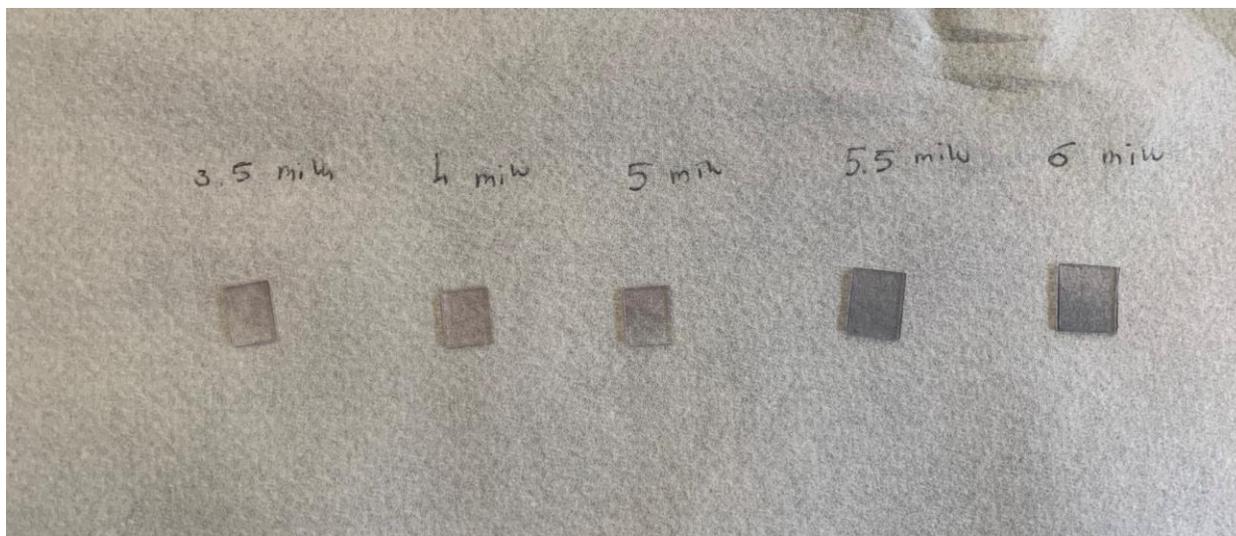


Figura 3.9: Vetrini con nanoparticelle cresciute con crescita isotropa. Si nota la colorazione tendente sempre più al viola scuro all'aumentare del tempo di crescita.

3.4.2 Crescita delle nanoforest

Un altro tipo di crescita introdotto da La Porta et al. [52] e da Wang e He [53] è la crescita della foresta di nanowires altresì detta nanoforest.

Questa tipologia di crescita prevede l'uso di acido 4-mercaptobenzoico che svolge funzione di capping agent che previene la crescita isotropa dei seed in oro. La crescita vera è propria avviene per riduzione di $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ad opera di H_2O_2 .

Come si può vedere in Figura 3.10, l'idea è che l'MBA vada a ricoprire tutto i lati della nanoparticella accetto quello in contatto con l'APTMS che viene lasciato libero e può quindi crescere trasportando il seed verso la direzione di crescita, fino a che la reazione non viene interrotta.

Il diametro del nanowire è funzione del rapporto MBA/Au mentre si è osservato che è sostanzialmente indipendente dalla dimensione dei seed. Inoltre, si è osservato che alte concentrazioni di MBA portano ad una diminuzione del diametro dei nanowire.

Si prepara una soluzione di tre parti di etanolo e una parte di acqua MilliQ contenente $412 \mu\text{M}$ di MBA in etanolo, $860 \mu\text{M}$ di $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ di in MilliQ e 2.0 mM di acido L-ascorbico.

I vetrini vengono posizionati in una falcon una circa 10 mL di tale soluzione e lasciati reagire.

Al termine della crescita i vetrini vengono estratti dalla falcon, lavati con due lavaggi in etanolo per rimuovere i residui di MBA e asciugati con flusso di azoto.

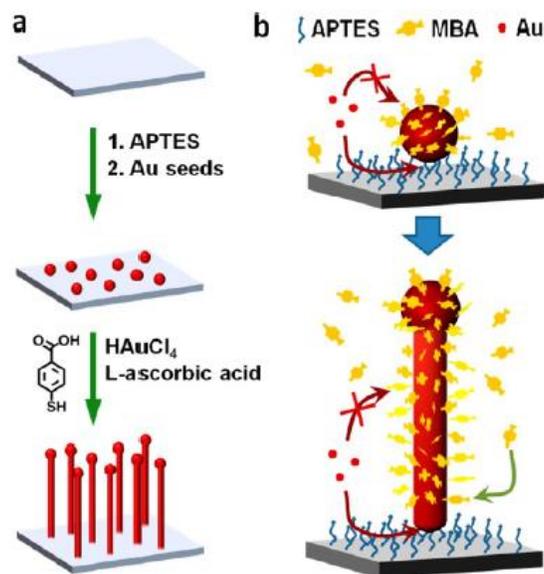


Figura 3.10: Schematizzazione del processo di crescita della foresta di nanowires. Tratto da He et al. [53].

3.4.3 Crescita delle nanostar

Si possono poi realizzare delle nanostar dove il processo di crescita prevede la crescita di numerose “punte” sulla superficie dei seed a realizzare una struttura che ricorda la forma di una stella. Il processo realizzato da Pastoriza-Santos et al. [54] e da Kumar et al. [55] si basa sulla reazione di riduzione del HAuCl₄ ad opera di polivinilpirrolidone (PVP) in dimetilformammide (DMF).

Il PVP in questo caso svolge sia la funzione di agente riducente che di capping agent in grado di controllare la cinetica di riduzione di HAuCl₄.

La geometria delle nanoparticelle che si ottengono dipende dalla concentrazione di PVP [56]. Questo tipo di crescita è parecchio selettivo infatti nel lavoro di Kumar et al. [55] si è osservato al TEM la sostanziale assenza di altre forme di nanoparticelle diverse dalle nanostars.

Si è preparata una soluzione 10 mM di PVP in DMS, dissolvendo 400 mg di PVP (M.W. 1000) in 4 mL di DMF e agitando vigorosamente con un agitatore magnetico per alcuni minuti al fine di ottenere una soluzione quanto più omogenea possibile.

I vetrini con i seed depositati sono stati preventivamente asciugati e poi inseriti nella falcon con la soluzione di PVP in DMF. Si è poi provveduto ad aggiungere 22 µL di una soluzione 50 mM di HAuCl₄ in acqua MilliQ e la soluzione ottenuta è stata mantenuta in agitazione per tutta la durata del trattamento.

Dopo circa 7 minuti si è osservato un cambiamento del colore della soluzione e del vetrino che diventano blu scuro a testimoniare il progredire del processo di crescita.

Al termine della reazione si è provveduto ad effettuare due lavaggi in acqua MilliQ e ad asciugare i campioni che sono poi stati riposti in delle falcon sigillate con Parafilm per lo stoccaggio.

3.4 Topografia delle particelle depositate tramite Microscopia a forza atomica (AFM)

La topografia della superficie è stata investigata con l'uso di un AFM MultiView 2000 prodotto dalla ditta Nanonics e riportato in Figura 3.11.

Questo strumento si differenzia dagli altri per il fatto che la misura è ottenuta non mediante il classico cantilever la cui deflessione viene misurata con un sistema laser, ma mediante una *tuning fork* [57]. La tuning fork è un oscillatore sulla cui estremità è fissata una sottile punta detta *cantilever*. Essa viene eccitata alla sua frequenza di risonanza, che ricade tipicamente nel range 30-40 kHz e la sua risposta viene monitorata in frequenza, fase e ampiezza dallo strumento per ottenere informazioni sulla topografia superficiale del campione.

E' presente inoltre un sistema di feedback che può operare in diverse modalità quali *phase feedback* (più usato), *amplitude feedback* e *frequency feedback* e con diverse logiche di controllo quali *integrativa pura* (I), *proporzionale-integrativa* (PI) o *proporzionale-integrativa-derivativa* (PID, raramente usata) [58].

Dopo aver montato la punta nell'apposito holder e averne eseguito in tuning, il campione viene posizionato all'interno dello strumento come mostrato in Figura 3.11.

Si procede poi a impostare i parametri della scansione come riportato di seguito e ad eseguire la misura che richiede circa 1 ora per giungere a completamento:

- Tipologia di feedback: phase feedback
- Guadagno totale del PID: 2.0
- Logica del PID: PI (P a circa 10% e I a circa 60%)
- Offset point: 0.3
- Ampiezza di oscillazione della tip: 0.5
- Dimensione dell'area di scansione: $2.0 \mu m \times 2.0 \mu m$
- Risoluzione della scansione: $256 px \times 256 px$

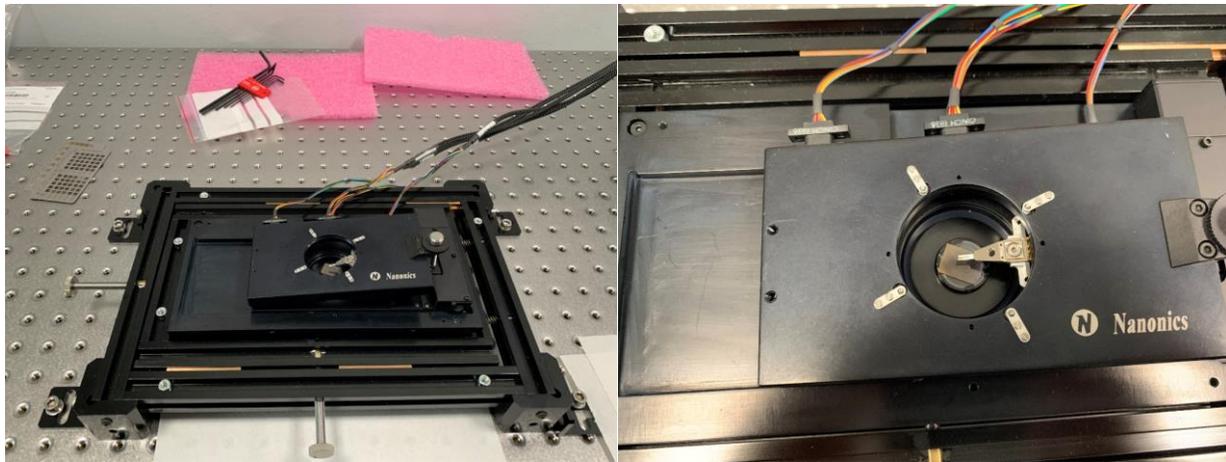


Figura 3.11: Campione di vetro con NPs depositate, posizionato all'interno dell'AFM per la misura della topografia.

Il file .stp generato dall' AFM è stato importato nel software Gwiddion [59] per lo smoothing del segnale e la rimozione degli “strappi”. L'immagine è stata poi esportata in formato .tiff ed importata nel software Fiji [60] per la segmentazione e l'individuazione dei centri delle nanoparticelle.

Per meglio visualizzare la topografia della superficie del campione sono state generate anche due rappresentazioni tridimensionali riportate in **Error! Reference source not found.** e in Figura 3.14.

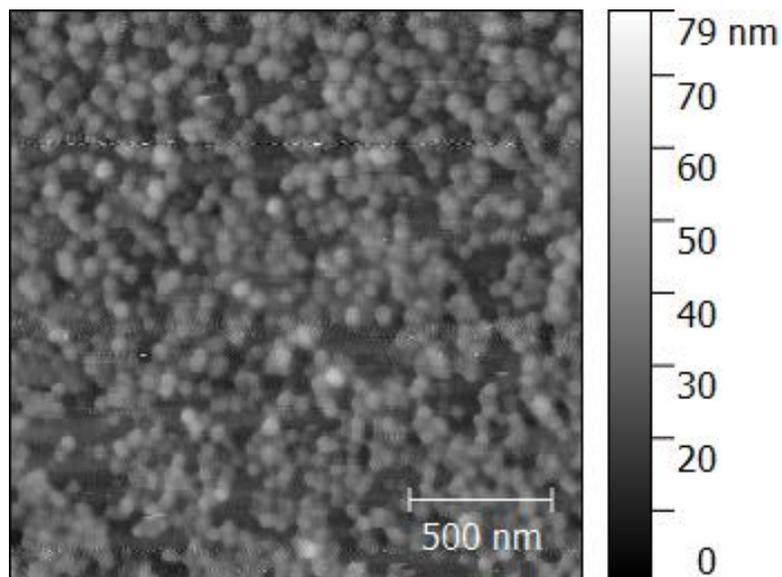


Figura 3.12: Immagine ottenuta da AFM. Postprocessata con software Gwiddion

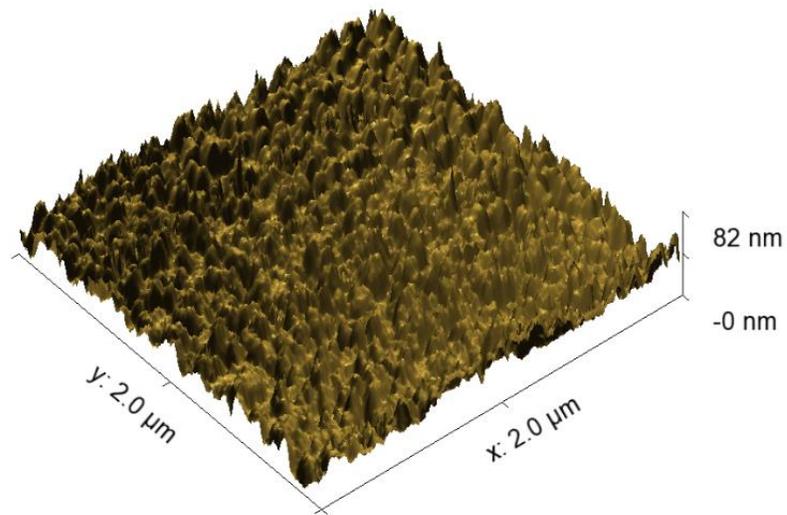


Figura 3.13: Render 3D del campione di NPs depositate su vetrino visualizzato con AFM (Vista 1).

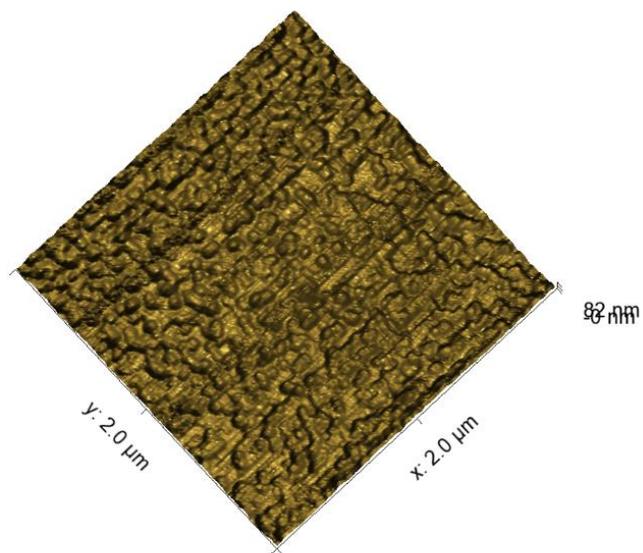


Figura 3.14: Render 3D del campione di NPs depositate su vetrino visualizzato con AFM (Vista 2).

L'immagine è stata poi segmentata in Fiji e le coordinate dei centri delle nanoparticelle sono state esportate in un file .csv tramite la funzione *Find Maxima* che è stato a sua volta importato nello script di calcolo della distribuzione NN e della Ripley's K function. In Figura 3.15 è riportato il risultato della funzione Find Maxima, i centri delle nanoparticelle sono evidenziati dai puntini gialli.

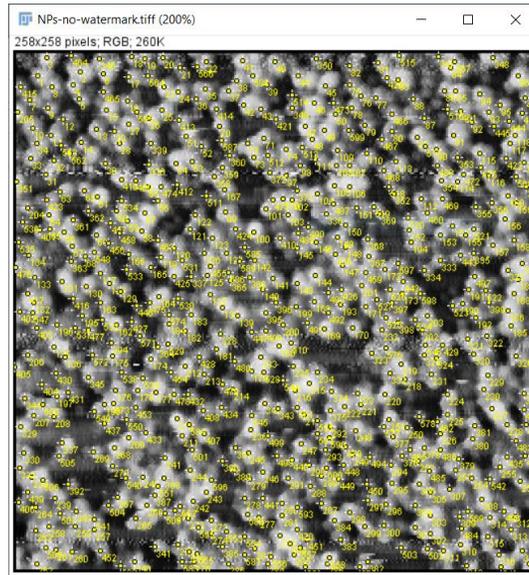


Figura 3.15: Segmentazione dell'immagine e individuazione dei centri delle nanoparticelle. Elaborazione dell'immagine eseguita con software Fiji.

Il file delle coordinate dei centri delle particelle è stato importato in Matlab la distribuzione dei Nearest Neighbour in forma differenziale e cumulativa, riportate in Figura 3.16.

Per quanto riguarda la distribuzione NN cumulativa è stato eseguito un fitting gaussiano utilizzando il *Curve Fitting Tool* di Matlab ottenendo la (3.18).

La (3.18) stessa, permette subito di identificare il valore medio della distanza pari a 58.53 nm e la relativa deviazione standard pari a 8.54 nm.

$$y = 3.047 \cdot 10^{-2} \exp \left[- \left(\frac{x + 58.53}{17.09} \right)^2 \right] \quad (3.18)$$

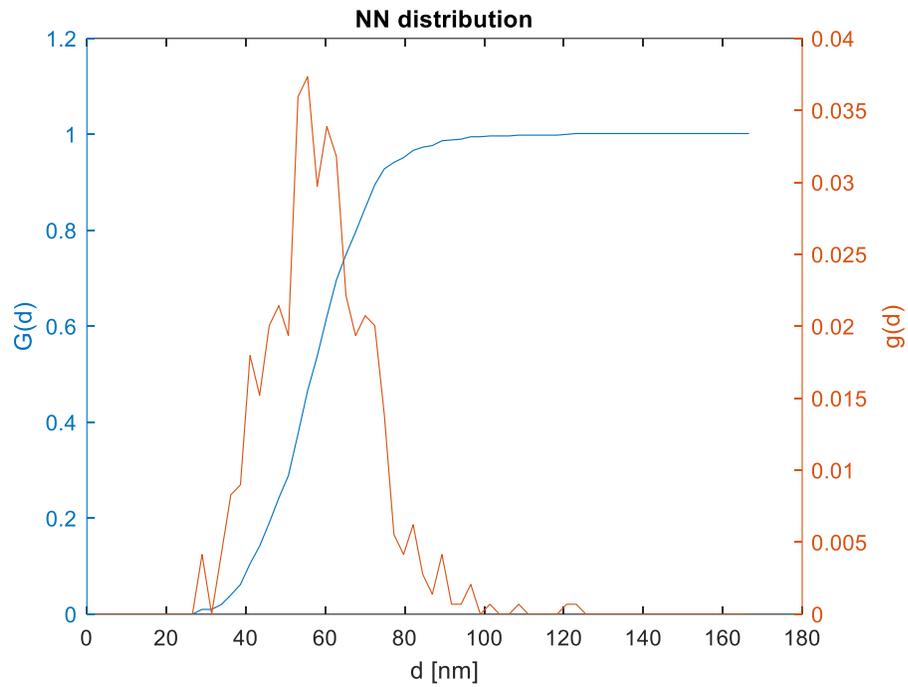


Figura 3.16: Distribuzione NN delle particelle misurate con AFM.

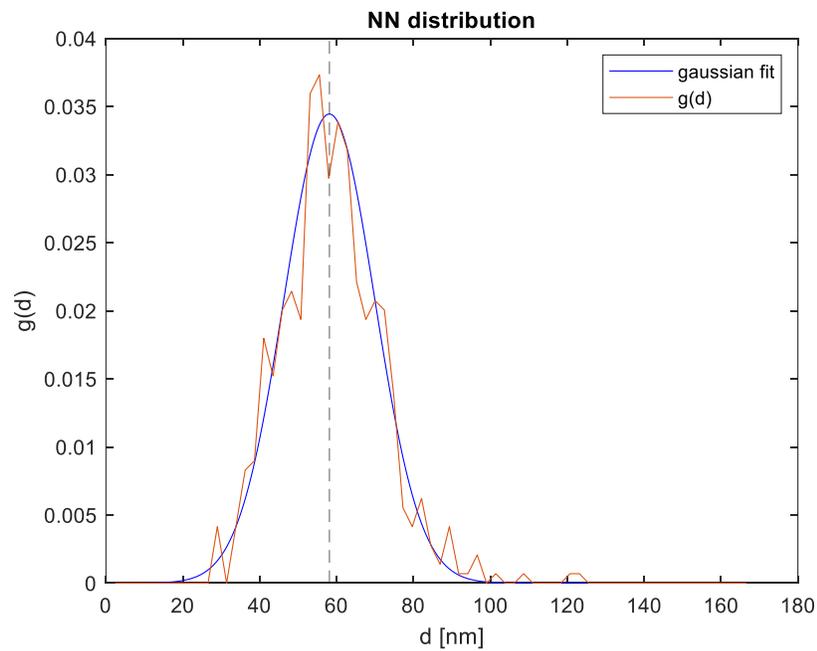


Figura 3.17: Distribuzione NN delle particelle misurate con AFM e suo fitting gaussiano. La linea tratteggiata in nero indica il valore medio della distribuzione.

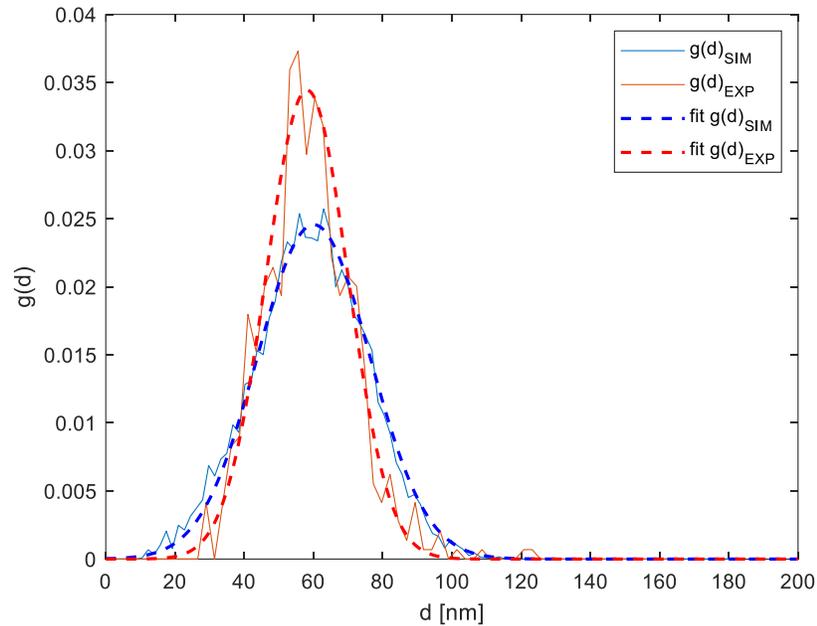


Figura 3.18: Confronto fra la distribuzione NN del sensore simulato e di quello realizzato sperimentalmente.

È stata infine calcolata la Ripley's K function sulle coordinate dei centri delle particelle ottenute per simulazione e per misura all'AFM e le due distribuzioni sono state poi confrontate, come riportato in Figura 3.19.

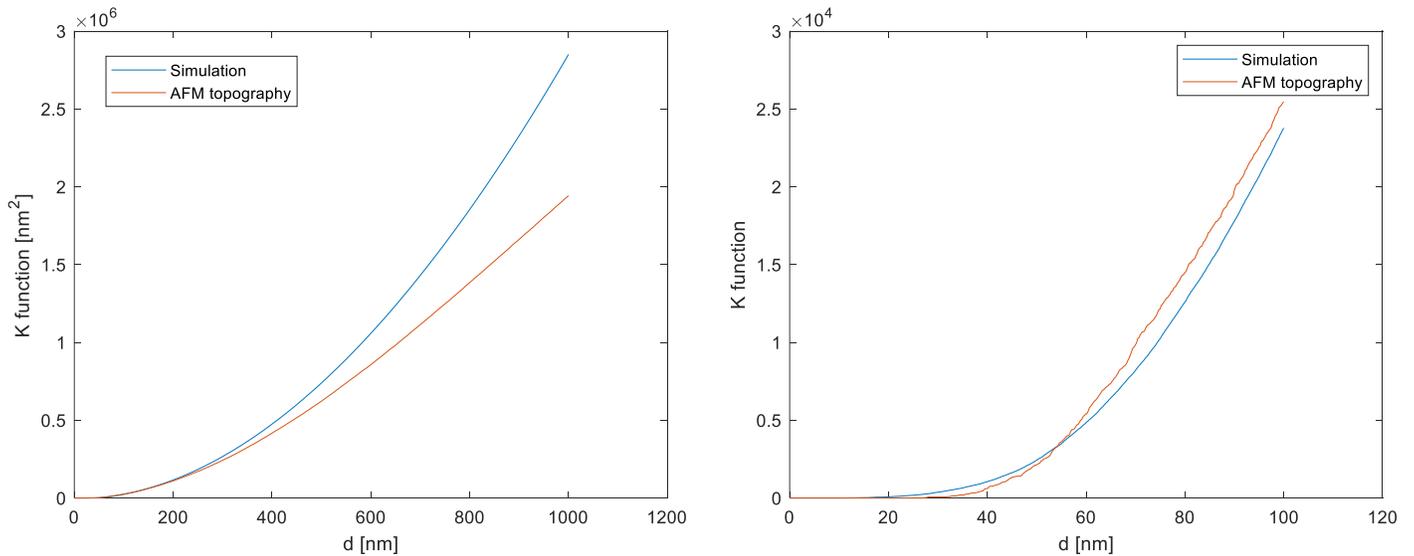


Figura 3.19: Ripley's K function calcolata sulle coordinate dei centri delle particelle ottenuti da simulazione (in blu) e da misurazione della topografia del sensore con AFM (in rosso).

Capitolo 4 - Preparazione del sensore e suo utilizzo

4.1 Adsorbimento del contaminante dell'acqua

Il Thiram [61] [62] è stato scelto come contaminante per testare i sensori SERS realizzati. Sono state preparate, per diluizioni successive, aliquote di Tiram in acqua MilliQ a diverse concentrazioni ovvero $1 \mu M$, $500 nM$, $100 nM$, $50 nM$, $10 nM$. Il Tiram è stato poi depositato sui sensori sotto forma di gocce di volume pari a $20 \mu L$ utilizzando una micropipetta e lasciando poi asciugare completamente prima di procedere alla misura.

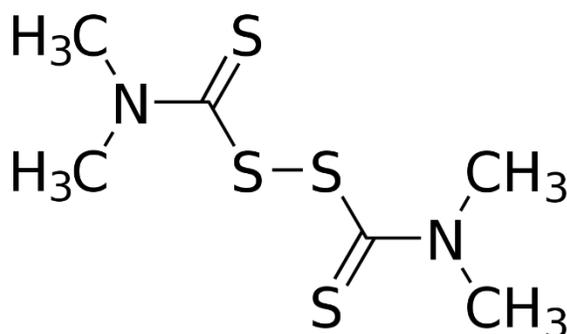


Figura 4.1: Formula di struttura del Tiram.

Saute et al. [63] hanno evidenziato che lo spettro SERS del Tiram, riportato in Figura 4.2, presenta il picco più intenso a 1379 cm^{-1} che corrisponde allo stretching asimmetrico del legame CN e allo stretching simmetrico del legame C-H nel gruppo $-\text{CH}_3$. Essendo tale picco il più intenso sarà quello scelto per la valutazione della concentrazione del contaminante in acqua.

E' comunque bene ricordare che nello spettro SERS del Tiram sono poi presenti altri picchi a 1444 cm^{-1} (stretching simmetrico di C-H), a 1508 cm^{-1} , a 1139 cm^{-1} a 928 cm^{-1} e a 556 cm^{-1} .

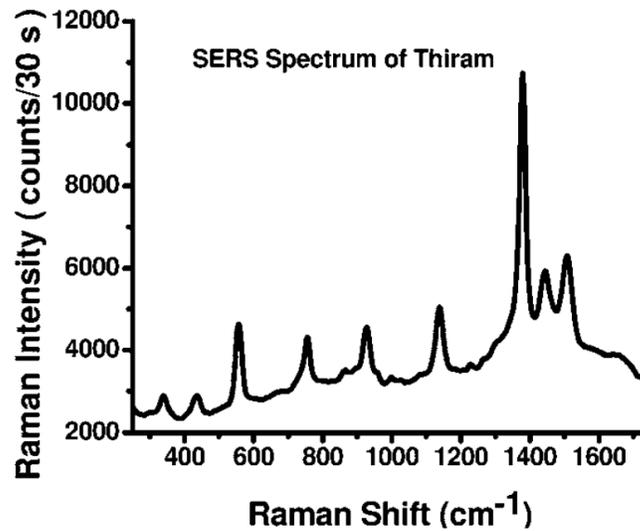


Figura 4.2: Spettro Raman del Tiram. Tratto da Saute et al. [63].

4.2 Analisi con spettrofotometro Raman

Dopo la deposizione della goccia di acqua contaminata e la sua successiva asciugatura, il sensore è stato posizionato nel microscopio confocale dello spettrometro Raman.

Utilizzando il controllo elettronico di precisione del tavolino del microscopio, che consente uno spostamento nel piano e una messa a fuoco estremamente precisa, si è poi cercato di rintracciare la porzione di sensore sulla quale è stata depositata la goccia per eseguire la misura Raman su di essa.

L'individuazione della zona nella quale è stata depositata la goccia è fortunatamente resa più facile dal cosiddetto *effetto coffee ring*, ovvero il pattern circolare che viene lasciato sulla superficie del sensore quando il solvente evapora.

È stata poi eseguita la misura raccogliendo lo spettro Raman nel range di numero d'onda compreso tra 600 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} .

Di seguito si riportano i parametri di configurazione dello spettrofotometro Raman impostati per eseguire la misurazione:

- *Lunghezza d'onda del laser*: si è utilizzato un laser a 785 nm.
- *Potenza del laser*: indica la percentuale di Potenza che viene fornita al laser il quale ha una potenza massima di 50 mW. Potenze elevate portano ad un *Signal to Noise Ratio* (SNR) maggiore ma tuttavia l'elevata potenza può causare la degradazione fotochimica delle molecole organiche, compresi i contaminanti presenti sul sensore. Generalmente si utilizzano potenze nel range 10-50% durante la fase di messa a fuoco del laser e potenze di circa 0.5% o 1 % per eseguire la misura.

- *Tempo di esposizione*: tempo di esposizione del sensore CCD; valori di esposizione prolungati permettono di aumentare il SNR.
- *Spectrum Range*: dipende dalla posizione dei picchi di interesse che vengono utilizzati per il riconoscimento del contaminante. Visto che il picco più intenso del Tiram cade a 1379 cm^{-1} si è scelto di eseguire la misura nell'intervallo tra 600 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} .
- *Numero di accumulazioni*: è il numero di ripetizioni della scansione che vengono effettuate dallo strumento. I risultati delle singole scansioni vengono sommati per ottenere uno spettro finale con un SNR maggiore.
- *Cosmic Rays Removal*: il CCD dello strumento è sensibile ai raggi cosmici che arrivano sulla Terra. Questa funzione permette di rimuovere i picchi dovuti a queste particelle; si noti che attivano questa funzione il numero di accumulazioni effettive viene incrementato di 2.
- *Obiettivo del microscopio confocale*: sono stati utilizzati diversi obiettivi da 5x, 20x e 50x per ottenere diversi ingrandimenti e rintracciare agevolmente le zone di adsorbimento del contaminante da rilevare.



Figura 4.3: Sensore SERS posizionato sul microscopio confocale (a sinistra) e spettrometro Raman accoppiato a microscopio confocale (a destra).

4.2.1 Retta di calibrazione e determinazione del LOQ e del LOD

Per determinare la concentrazione dell'inquinante a partire dallo spettro Raman raccolto è necessario disporre di una retta di calibrazione. Tale retta viene determinata mediante fitting con la retta dei minimi quadrati dell'intensità di un picco di assorbimento dell'analita, scelto come riferimento, in funzione della concentrazione di quest'ultimo.

In particolare, per il campione di nanosphere si è scelto di utilizzare come riferimento il picco a 1170 cm^{-1} , mentre per il campione di nanostar si è scelto di utilizzare come riferimento il picco a 1389 cm^{-1} . Le rette di calibrazione così ricavate sono riportate in Figura 4.4 e in Figura 4.5.

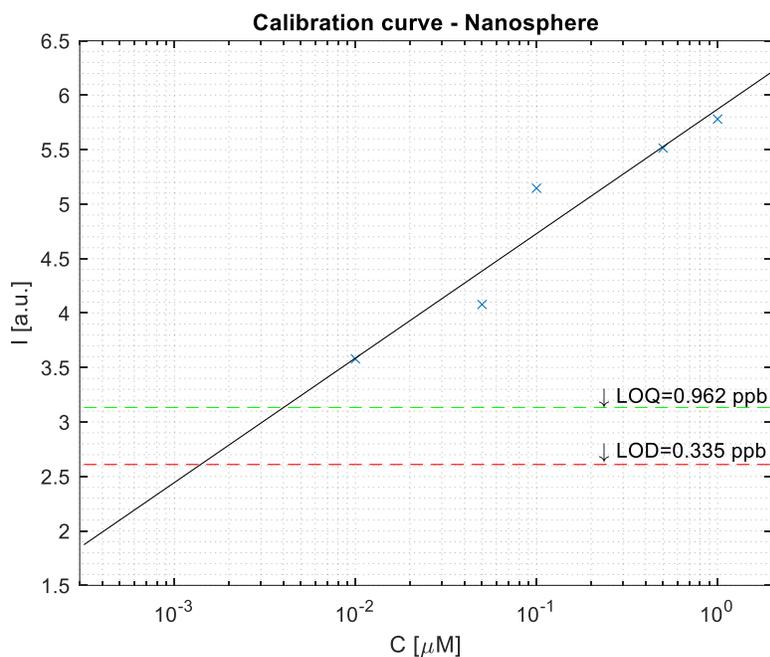


Figura 4.4: Calibration plot sensore SERS Nanosphere. La linea tratteggiata in verde rappresenta il Limit Of Quantification (LOQ), quella tratteggiata in rosso il Limit Of Detection (LOD).

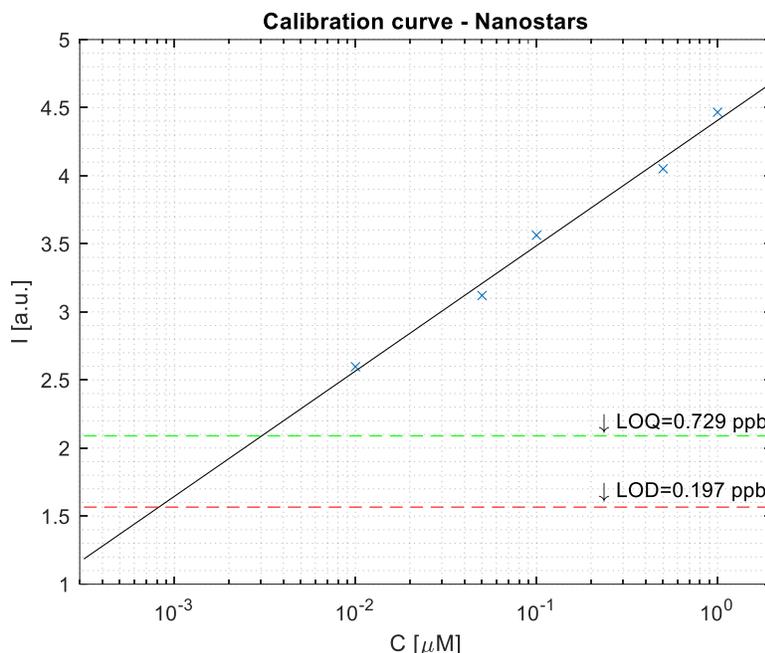


Figura 4.5: Calibration plot sensore SERS Nanostar. La linea tratteggiata in verde rappresenta il Limit Of Quantification (LOQ), quella tratteggiata in rosso il Limit Of Detection (LOD).

Il *Limit Of Detection* (LOD) è definito da MacDougall et al. [63] come “the lowest concentration of an analyte that the analytical process can reliably detect” ovvero come la più piccola concentrazione di analita che può essere rilevata in un campione con una certa accuratezza statistica.

Seguendo l’approccio proposto dallo *IUPAC Gold Book* [64], si definisce come LOD è dato come

$$LOD = x_W + k\sigma_W \quad (4.1)$$

Dove x_W è il valore medio di segnale dato da un campione bianco di riferimento, σ_W è la deviazione standard della misura sul campione bianco e k è un fattore statistico scelto in base al grado di confidenza statistica richiesto.

Il *Limit of Quantification* (LOQ) è invece definite come la più piccola concentrazione di analita in un campione che può essere rilevata e determinata con una sufficiente precisione.

La determinazione del LOD e del LOQ è stata condotta secondo le indicazioni del *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* dell’*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH) [65] come riportato nella (4.2) e nella (4.3).

$$LOD = \frac{f_1 q}{m} \quad (4.2)$$

$$LOQ = \frac{f_2 q}{m} \quad (4.3)$$

Dove $f_1 = 3.3$ e $f_2 = 10$ sono due parametri empirici, q è l'ordinata all'origine della retta di calibrazione e m è il coefficiente angolare della retta di calibrazione.

I risultati del calcolo del LOD e del LOQ per le due tipologie di sensore realizzate nella presente tesi sono riportati in Tabella 4.1.

Tipologia di sensore	LOQ [ppb]	LOQ [nM]	LOD [ppb]	LOD [nM]
Nanospheres	0.962	4.01	0.335	1.39
Nanostars	0.729	3.04	0.197	0.82

Tabella 4.1: LOD e LOQ per le due diverse tipologie di sensori SERS realizzati.

Conclusioni

In questo lavoro di tesi sono stati studiati e ingegnerizzati dei sensori a base di nanostrutture d'oro per il rilevamento di contaminanti (Tiram) in acqua mediante la tecnica *Surface Enhanced Raman Spectroscopy* (SERS).

In particolare, si è cercato di ottimizzare il sensore andando a controllare la distanza media tra le particelle in fase di deposizione, per raggiungere il valore ottimale indicato da Hong et al. [35] e Bonyar [36] che risulta essere compreso tra 55 nm e 65 nm.

Le condizioni di deposizione (pH e lunghezza di Debye) necessarie ad ottenere tale distanza tra le particelle sono state stimate eseguendo delle simulazioni con tecnica Monte Carlo utilizzando il modello RSA proposto da Adamczyk et al. [24].

In seguito, si è proceduto a realizzare delle deposizioni utilizzando le condizioni determinate mediante simulazione e a validare il modello eseguendo delle misure di topografia superficiale mediante Microscopio a Forza Atomica (AFM) e processando le immagini per ottenere una distribuzione dei Nearest Neighbour da confrontare con quella ottenuta sui risultati della simulazione. Da tale confronto è stata sostanzialmente confermata la validità del modello e della simulazione.

Le particelle depositate sono state poi cresciute secondo due modalità per produrre dei sensori a base di nanospheres e a base di nanostars che sono poi stati impiegati per la determinazione della concentrazione di Tiram in acqua mediante analisi SERS.

Sono state calcolate le rette di taratura per entrambe le tipologie di sensore e da queste si è ricavato il Limit of Detection (LOD) e il Limit of Quantification (LOQ). In particolare, i LOD e LOQ calcolati risultano essere rispettivamente pari a 197 ppt (0.82 nM) e 729 ppt (3.04 nM) per il sensore a base di nanostars e 335 ppt (1.39 nM) e 962 ppt (4.01 nM) per il sensore a base di nanospheres.

Entrambe le tipologie di sensore hanno raggiunto dei LOD nell'ordine di $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, risultato che sarebbe altrimenti possibile solo utilizzando tecniche più complesse e costose come la cromatografia liquida ad ultralta prestazione accoppiata alla spettrometria di massa (UHPLC-MS). Tuttavia, è da notare che il sensore a base di nanostars ha permesso quindi di rilevare il Tiram in concentrazioni inferiori rispetto a quello a base di nanospheres. Questo è da imputarsi alla presenza, nella geometria delle nanostars, di spigoli e vertici che forniscono un fattore di amplificazione rispetto a quanto avviene nel sensore a base di nanospheres.

Bibliografia delle fonti

- [1] “About RAPID: Overview,” *RaPID Project: Raman Probe for chemical contaminant IDentification*. [Online]. Available: <https://maps-polito.com/wp/rapid-project/prof-davide-janner/>. [Accessed: 02-Feb-2020].
- [2] “Drinking-water.” [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>. [Accessed: 23-Feb-2020].
- [3] World Health Organization, Ed., *Guidelines for drinking-water quality*, 4th ed. Geneva: World Health Organization, 2011.
- [4] *D.P.R. 24/05/1988, n. 236, Attuazione della direttiva 80/778/CEE concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, ai sensi dell’art. 15 della L. 16 aprile 1987, n. 183.*
- [5] *D.M. 12/11/1992, n. 542 Regolamento recante i criteri di valutazione delle caratteristiche delle acque minerali naturali.*
- [6] *D.M. 31/05/2001 Modificazioni al D.M. 12 novembre 1992, concernente il regolamento recante i criteri di valutazione delle caratteristiche delle acque minerali naturali.*
- [7] “Valori limite per le acque ad uso umano — ARPAT - Agenzia regionale per la protezione ambientale della Toscana.” [Online]. Available: http://www.arpat.toscana.it/temi-ambientali/acqua/acque-ad-uso-umano/ac_usoumano_limiti.html. [Accessed: 03-Mar-2020].
- [8] “Sales of pesticides in the EU,” *European Commission*. [Online]. Available: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/DDN-20181015-1>. [Accessed: 02-Feb-2020].
- [9] L. M. L. Nollet and L. S. P. De Gelder, Eds., *Handbook of water analysis*, 3. ed. Boca Raton, Fla.: CRC Press, Taylor & Francis, 2013.
- [10] S. Nakashima and Y. Hayashi, “Determination of Detection Limits and Quantitation Limits for Compounds in a Database of GC/MS by FUMI Theory,” *Mass Spectrom.*, vol. 5, no. 1, pp. A0043–A0043, 2016, doi: 10.5702/massspectrometry.A0043.
- [11] M. Wang, B. De Vivo, W. Lu, and M. Muniz-Miranda, “Sensitive surface-enhanced Raman scattering (SERS) detection of nitroaromatic pollutants in water,” *Appl. Spectrosc.*, vol. 68, no. 7, pp. 784–788, 2014, doi: 10.1366/13-07428.
- [12] C. V. Raman and K. S. Krishnan, “A New Type of Secondary Radiation,” *Nature*, vol. 121, no. 3048, pp. 501–502, Mar. 1928, doi: 10.1038/121501c0.
- [13] M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, “Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 26, no. 2, pp. 163–166, May 1974, doi: 10.1016/0009-2614(74)85388-1.
- [14] M. G. Albrecht and J. A. Creighton, “Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 99, no. 15, pp. 5215–5217, Jun. 1977, doi: 10.1021/ja00457a071.
- [15] V. I. Kukushkin, A. B. Van’kov, and I. V. Kukushkin, “Long-range manifestation of surface-enhanced Raman scattering,” *JETP Lett.*, vol. 98, no. 2, pp. 64–69, Sep. 2013, doi: 10.1134/S0021364013150113.
- [16] N. Weißenbacher, B. Lendl, J. Frank, H. D. Wanzböck, B. Mizaikoff, and R. Kellner, “Continuous surface enhanced Raman spectroscopy for the detection of trace organic

- pollutants in aqueous systems,” *J. Mol. Struct.*, vol. 410–411, pp. 539–542, Jun. 1997, doi: 10.1016/S0022-2860(96)09531-2.
- [17] S. Nie, “Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering,” *Science*, vol. 275, no. 5303, pp. 1102–1106, Feb. 1997, doi: 10.1126/science.275.5303.1102.
- [18] A. D. Strickland and C. A. Batt, “Detection of Carbendazim by Surface-Enhanced Raman Scattering Using Cyclodextrin Inclusion Complexes on Gold Nanorods,” *Anal. Chem.*, vol. 81, no. 8, pp. 2895–2903, Apr. 2009, doi: 10.1021/ac801626x.
- [19] X. T. Wang, W. S. Shi, G. W. She, L. X. Mu, and S. T. Lee, “High-performance surface-enhanced Raman scattering sensors based on Ag nanoparticles-coated Si nanowire arrays for quantitative detection of pesticides,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 96, no. 5, p. 053104, Feb. 2010, doi: 10.1063/1.3300837.
- [20] I. D. Mayergoyz, *Plasmon resonances in nanoparticles*. Singapore ; Hackensack, NJ: World Scientific, 2013.
- [21] Y. Tang, B. Vlahovic, and D. Brady, “Metallic nano-structures for polarization-independent multi-spectral filters,” *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 6, p. 394, May 2011, doi: 10.1186/1556-276X-6-394.
- [22] H. Raether, *Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings*. Berlin: Springer, 1988.
- [23] L. Finegold and J. T. Donnell, “Maximum density of random placing of membrane particles,” *Nature*, vol. 278, no. 5703, pp. 443–445, Mar. 1979, doi: 10.1038/278443a0.
- [24] Z. Adamczyk, M. Zembala, B. Siwek, and P. Warszyński, “Structure and ordering in localized adsorption of particles,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 140, no. 1, pp. 123–137, Nov. 1990, doi: 10.1016/0021-9797(90)90329-M.
- [25] Z. Adamczyk, B. Siwek, M. Zembala, and P. Belouschek, “Kinetics of localized adsorption of colloid particles,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 48, pp. 151–280, Apr. 1994, doi: 10.1016/0001-8686(94)80008-1.
- [26] M. Semmler, J. Rička, and M. Borkovec, “Diffusional deposition of colloidal particles: electrostatic interaction and size polydispersity effects,” *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 165, no. 1, pp. 79–93, May 2000, doi: 10.1016/S0927-7757(99)00438-0.
- [27] J. Eklöf, T. Gschneidner, S. Lara-Avila, K. Nygård, and K. Moth-Poulsen, “Controlling deposition of nanoparticles by tuning surface charge of SiO₂ by surface modifications,” *RSC Adv.*, vol. 6, no. 106, pp. 104246–104253, 2016, doi: 10.1039/C6RA22412A.
- [28] P. Diggle, *Statistical analysis of spatial and spatio-temporal point patterns*, Third edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2014.
- [29] A. H. El-Shaarawi and W. W. Piegorisch, *Encyclopedia of environmetrics*. Chichester; New York: Wiley, 2002.
- [30] “How Multi-Distance Spatial Cluster Analysis: Ripley’s k-function (Spatial Statistics) works.” [Online]. Available: http://resources.esri.com/help/9.3/arcgisdesktop/com/gp_toolref/spatial_statistics_tools/how_multi_distance_spatial_cluster_analysis_colon_ripley_s_k_function_spatial_statistics_works.htm. [Accessed: 04-Mar-2020].
- [31] A. Bonyar, G. Szanto, and I. Csarnovics, “Coupled surface plasmon resonance on gold nanocubes - investigation by simulation,” in *2016 IEEE 22nd International Symposium for Design and Technology in Electronic Packaging (SIITME)*, Oradea, Romania, 2016, pp. 139–141, doi: 10.1109/SIITME.2016.7777263.

- [32] U. Hohenester and A. Trügler, “MNPBEM – A Matlab toolbox for the simulation of plasmonic nanoparticles,” *Comput. Phys. Commun.*, vol. 183, no. 2, pp. 370–381, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.cpc.2011.09.009.
- [33] J. Waxenegger, A. Trügler, and U. Hohenester, “Plasmonics simulations with the MNPBEM toolbox: Consideration of substrates and layer structures,” *Comput. Phys. Commun.*, vol. 193, pp. 138–150, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.cpc.2015.03.023.
- [34] “MNPBEM Toolbox,” *mnpbem14.m*, 09-Dec-2014. [Online]. Available: <http://physik.uni-graz.at/mnpbem/>. [Accessed: 25-Feb-2020].
- [35] A. Bonyár, “Simulation of the Refractive Index Sensitivity of Coupled Plasmonic Nanostructures,” *Procedia Eng.*, vol. 168, pp. 962–965, 2016, doi: 10.1016/j.proeng.2016.11.316.
- [36] S. Hong and X. Li, “Optimal Size of Gold Nanoparticles for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy under Different Conditions,” *J. Nanomater.*, vol. 2013, p. 790323, May 2013, doi: 10.1155/2013/790323.
- [37] L. L. Hench and D. E. Clark, “Physical chemistry of glass surfaces,” *J. Non-Cryst. Solids*, vol. 28, no. 1, pp. 83–105, Apr. 1978, doi: 10.1016/0022-3093(78)90077-7.
- [38] J. Zarzycki, *Les verres et l'état vitreux*. Paris [usw.]: Masson, 1982.
- [39] R. J. Charles, “Static Fatigue of Glass. I,” *J. Appl. Phys.*, vol. 29, no. 11, pp. 1549–1553, Nov. 1958, doi: 10.1063/1.1722991.
- [40] S. Kaya, P. Rajan, H. Dasari, D. C. Ingram, W. Jadwisienczak, and F. Rahman, “A Systematic Study of Plasma Activation of Silicon Surfaces for Self Assembly,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, no. 45, pp. 25024–25031, Nov. 2015, doi: 10.1021/acsami.5b08358.
- [41] A. U. Alam, M. M. R. Howlader, and M. J. Deen, “The effects of oxygen plasma and humidity on surface roughness, water contact angle and hardness of silicon, silicon dioxide and glass,” *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 24, no. 3, p. 035010, Mar. 2014, doi: 10.1088/0960-1317/24/3/035010.
- [42] R. J. Hunter, *Zeta potential in colloid science: principles and applications*. 1988.
- [43] A. V. Delgado, F. González-Caballero, R. J. Hunter, L. K. Koopal, and J. Lyklema, “Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 309, no. 2, pp. 194–224, May 2007, doi: 10.1016/j.jcis.2006.12.075.
- [44] W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, and D. G. Fernig, “Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV–Vis Spectra,” *Anal. Chem.*, vol. 79, no. 11, pp. 4215–4221, Jun. 2007, doi: 10.1021/ac0702084.
- [45] “Colloidal Gold Particles Adsorption onto Silanized Glass Surfaces: Journal of Dispersion Science and Technology: Vol 25, No 2.” [Online]. Available: <https://www.tandfonline-com.ezproxy.biblio.polito.it/doi/full/10.1081/DIS-120030669>. [Accessed: 22-Feb-2020].
- [46] A. Rovarotti, “Optical Sensors based on SERS for low concentration of water contaminants,” laurea, Politecnico di Torino, 2019.
- [47] A. G. Marino, “Study and realization of optical sensors based on gold nanostructures,” laurea, Politecnico di Torino, 2019.
- [48] N. G. Bastús, J. Comenge, and V. Puntès, “Kinetically Controlled Seeded Growth Synthesis of Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles of up to 200 nm: Size Focusing versus Ostwald Ripening,” *Langmuir*, vol. 27, no. 17, pp. 11098–11105, Sep. 2011, doi: 10.1021/la201938u.
- [49] N. R. Jana, L. Gearheart, and C. J. Murphy, “Seeding Growth for Size Control of 5–40 nm Diameter Gold Nanoparticles,” *Langmuir*, vol. 17, no. 22, pp. 6782–6786, Oct. 2001, doi: 10.1021/la0104323.

- [50] X. Liu, H. Xu, H. Xia, and D. Wang, "Rapid Seeded Growth of Monodisperse, Quasi-Spherical, Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles via H₂O₂ Reduction," *Langmuir*, vol. 28, no. 38, pp. 13720–13726, Sep. 2012, doi: 10.1021/la3027804.
- [51] C. Ziegler and A. Eychmüller, "Seeded Growth Synthesis of Uniform Gold Nanoparticles with Diameters of 15–300 nm," *J. Phys. Chem. C*, vol. 115, no. 11, pp. 4502–4506, Mar. 2011, doi: 10.1021/jp1106982.
- [52] A. La Porta, M. Grzelczak, and L. M. Liz-Marzán, "Gold Nanowire Forests for SERS Detection," *ChemistryOpen*, vol. 3, no. 4, pp. 126–126, 2014, doi: 10.1002/open.201402024.
- [53] J. He *et al.*, "Forest of Gold Nanowires: A New Type of Nanocrystal Growth," *ACS Nano*, vol. 7, no. 3, pp. 2733–2740, Mar. 2013, doi: 10.1021/nm4001885.
- [54] I. Pastoriza-Santos and L. M. Liz-Marzán, "Formation of PVP-Protected Metal Nanoparticles in DMF," *Langmuir*, vol. 18, no. 7, pp. 2888–2894, Apr. 2002, doi: 10.1021/la015578g.
- [55] P. S. Kumar, I. Pastoriza-Santos, B. Rodríguez-González, F. J. G. de Abajo, and L. M. Liz-Marzán, "High-yield synthesis and optical response of gold nanostars," *Nanotechnology*, vol. 19, no. 1, p. 015606, Nov. 2007, doi: 10.1088/0957-4484/19/01/015606.
- [56] M. Tsuji, M. Hashimoto, Y. Nishizawa, M. Kubokawa, and T. Tsuji, "Microwave-assisted synthesis of metallic nanostructures in solution," *Chem. Weinh. Bergstr. Ger.*, vol. 11, no. 2, pp. 440–452, Jan. 2005, doi: 10.1002/chem.200400417.
- [57] "AFM Tuning Fork Feedback - Nanonics Imaging." [Online]. Available: <https://www.nanonics.co.il/tutorial>. [Accessed: 18-Feb-2020].
- [58] G. Haugstad, *Atomic force microscopy: understanding basic modes and advanced applications*. Hoboken, N.J.: Wiley, 2013.
- [59] D. Nečas and P. Klapetek, "Gwyddion: an open-source software for SPM data analysis," *Open Phys.*, vol. 10, no. 1, Jan. 2012, doi: 10.2478/s11534-011-0096-2.
- [60] J. Schindelin *et al.*, "Fiji: an open-source platform for biological-image analysis," *Nat. Methods*, vol. 9, no. 7, pp. 676–682, Jul. 2012, doi: 10.1038/nmeth.2019.
- [61] "Thiram." [Online]. Available: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/pyrethrins-ziram/thiram-ext.html>. [Accessed: 15-Feb-2020].
- [62] R. I. Krieger, Ed., *Hayes' handbook of pesticide toxicology*, Third edition. Amsterdam ; Boston: Elsevier/AP, 2010.
- [63] B. Saute and R. Narayanan, "Solution-based direct readout surface enhanced Raman spectroscopic (SERS) detection of ultra-low levels of thiram with dogbone shaped gold nanoparticles," *Analyst*, vol. 136, no. 3, pp. 527–532, Jan. 2011, doi: 10.1039/C0AN00594K.
- [64] "IUPAC - limit of detection (L03540)." [Online]. Available: <http://goldbook.iupac.org/terms/view/L03540>. [Accessed: 04-Mar-2020].
- [65] "ICH Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology - ECA Academy." [Online]. Available: <https://www.gmp-compliance.org/guidelines/gmp-guideline/ich-q2r1-validation-of-analytical-procedures-text-and-methodology>. [Accessed: 04-Mar-2020].