



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE**

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN CHIMICA INDUSTRIALE

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

**Sintesi e caratterizzazione di sistemi Raman attivi aventi struttura tipo
core-shell adatti allo sviluppo di nanotermometri**

Relatore: Prof. Raffaella Signorini

Correlatore: Prof. Silvia Gross

Controrelatore: Prof. Fabrizio Mancin

Laureando: Leonardo Bottacin

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

Abstract

Il presente lavoro di tesi è incentrato sulla realizzazione e sulla caratterizzazione di materiali Raman attivi che permettono sia la rilevazione della temperatura locale che il rilascio controllato di calore, fenomeni necessari nell'ambito della terapia fototermica, la quale viene favorita dalla contemporanea presenza di un nanotermometro e di un nanoriscaldatore, o *nanoheater*, che lavorino a livello locale. L'attuale stato dell'arte mostra una vasta scelta di vie sperimentali al fine di rilevare la temperatura locale, per questo motivo sono state considerate le potenzialità delle tecniche ottiche di fornire una temperatura non solo di superficie ma anche interna, grazie alla capacità di penetrazione della radiazione nella finestra biologica. In particolare, la spettroscopia di scattering Raman si è rivelata la più adeguata in quanto permette di raggiungere elevate risoluzioni spaziali e termiche, necessarie nell'ambito della terapia fototermica.

L'esigenza di realizzazione di un nanotermometro, che funzioni anche da *nanoheater*, ha portato alla progettazione di una sintesi mirata di un sistema a doppia anima, in cui un materiale con un buon segnale Raman, quale l'ossido di Titanio (TiO_2), sotto forma di anatasio, viene accoppiato ad un metallo nobile, quale l'argento, che, posto nelle condizioni di risonanza con la radiazione eccitatrice, permette l'amplificazione del segnale Raman (tecnica SERS). I nanocompositi ottenuti sono stati quindi caratterizzati tramite spettroscopia UV/Vis, microscopia elettronica in trasmissione (TEM), microscopia elettronica a scansione (SEM), spettroscopia EDX (*Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*), Diffrazione di raggi X (XRD), spettroscopia Raman.

Inoltre, le nanoparticelle di Argento, eccitate in risonanza con l'assorbimento plasmonico, inducono un riscaldamento localizzato, effetto di fondamentale importanza nell'ottica di utilizzo della tecnica in cellule vive per la terapia fototermica.

Indice

Elenco degli acronimi utilizzati

Introduzione

1. Nanotermometria

1.1. Definizione di temperatura

1.2. Problematiche riguardanti le misurazioni della temperatura alla nanoscala

1.3. Tecniche per la determinazione della temperatura

2. Materiali per Raman

2.1. Fondamenti della spettroscopia di scattering Raman

2.2. Termometria tramite spettroscopia Raman

2.3. SERS

3. Terapia fototermica

Sezione sperimentale

4. Materiali e Metodi

4.1. Procedura sperimentale

4.2. Selezione dei precursori

4.2.1. Stabilizzante

4.2.2. Additivo

4.3. Processo Sol-Gel

4.4. Sintesi solvotermale

4.5. Sintesi di *NP* di *Ag*

4.6. Ricoprimento con shell di TiO_2

4.7. Metodi di misura

4.7.1. Spettroscopia elettronica UV/Vis

4.7.2. Diffrazione a raggi X

4.7.3. Microscopia elettronica

4.7.4. Spettroscopia di scattering Raman

5. Caratterizzazioni

5.1. Sospensione di *seeds*

5.2. Core di *Ag*

5.3. Core-Shell *Ag@TiO₂*

5.4. Trattamenti in bomba solvotermale

5.5. Misure di Termometria

Conclusioni

Appendice

A. Grafici aggiuntivi

B. Frasi di Pericolo (H) e consigli di Prudenza (P)

Riferimenti bibliografici

ELENCO ACRONIMI UTILIZZATI

AFM	<i>Atomic Force Microscopy</i>
AP	Nanoparticelle di argento
AS	<i>Seeds</i> di argento
BI	Bomba Solvotermale
CCD	<i>Charge-coupled devices</i>
CS	Core-Shell
CTAC	Cloruro di cetil-trimetilammonio
EDX	<i>Energy Dispersive X-ray Spectroscopy</i>
EM	Elettromagnetica
FT	Trasformata di Fourier
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i>
NIR	<i>Near Infrared</i>
NPs	<i>Nanoparticles</i>
PDT	<i>Photodynamic therapy</i>
PT	Pellet (in seguito a centrifuga)
PTT	<i>Photothermal therapy</i>
RCF	<i>Relative Centrifugal Force</i>
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i>
SERS	<i>Surface Enhanced Raman Spectroscopy</i>
SN	Surnatante (in seguito a centrifuga)
STM	<i>Scanning Thermal Microscopy</i>
TEM	<i>Transmission Electron Microscopy</i>
TTB	Tetrabutossido di titanio
XRD	<i>X-ray Diffraction</i>

Introduzione

La nanotermometria è una branca della scienza di fondamentale importanza, diventata sempre più centrale con il progressivo sviluppo di sistemi alla nanoscala. Le sue possibili applicazioni possono coprire un range di settori molto vasto, in particolare mostra potenzialità interessanti per applicazioni nell'ambito della nanomedicina. L'utilizzo di nanotermometri in ambito biomedico ha permesso di incrementare l'individuazione selettiva delle cellule malate, attraverso l'utilizzo di metodi non invasivi, permettendo di discriminarle da quelle sane tramite la misurazione della loro temperatura, risulta quindi di grande interesse nell'ambito delle terapie fototermiche per la cura di cellule cancerose. La temperatura di una cellula malata, infatti, è superiore rispetto a quella di una normale cellula a causa dell'incremento del suo metabolismo.

La terapia fototermica si basa sull'utilizzo di un nanoriscaldatore, o *nanoheater*, capace di rilasciare calore in modo da innalzare la temperatura locale di un tessuto vivente fino al raggiungimento di una condizione che ne induca la morte cellulare per ipertermia. La difficoltà maggiore consiste nel produrre un sistema altamente selettivo che abbia in sé sia la capacità di rilevare la temperatura locale, il nanotermometro che permetta di localizzare zone di temperatura più elevata, che la capacità di rilasciare calore localmente attraverso il nanoriscaldatore. Nel momento in cui il nanotermometro e il *nanoheater* sono posizionati esattamente nel medesimo luogo, anche all'interno di una stessa struttura, si riesce a raggiungere un'elevatissima selettività, in quanto le cellule che vengono riscaldate sarebbero effettivamente quelle la cui temperatura risulta maggiore rispetto alla media e possono essere quindi distrutte via termica.

Il presente lavoro di tesi si inserisce nel primo step di questo ambito di ricerca. Il raggiungimento dei requisiti di nanotermometro e di *nanoheater* è stato ipotizzato attraverso la realizzazione di un sistema a doppia anima, in cui un materiale con un buon segnale Raman, quale l'ossido di Titanio (TiO_2), sotto forma di anatasio, viene accoppiato ad un metallo nobile, quale l'argento, che, posto nelle condizioni di risonanza con la radiazione eccitatrice, permette l'amplificazione del segnale Raman dell'ossido di Titanio e funge da nanoriscaldatore locale. Nell'ambito della nanotermometria, la scelta della tecnica Raman è risultata quella preferibile in quanto permette un comodo uso in ambiente fisiologico per via dei deboli segnali Raman dell'acqua, della buona risoluzione spaziale e dell'ampio intervallo di lunghezze d'onda d'eccitazione utilizzabile.

Risulta di fondamentale importanza sottolineare che, per ottenere un buon segnale Raman, in termini di intensità e di posizione in frequenza, la fase cristallina ottimale della TiO_2 sia l'anatasio; esso presenta un modo Raman attivo intenso a $\sim 140\text{ cm}^{-1}$ che può essere usato per la determinazione della temperatura locale a cui si trova il sistema in esame. L'accoppiamento con l'argento permette un incremento del segnale Raman in quanto NP plasmonica ottimale per sfruttarne l'effetto di amplificazione del campo locale, o SERS, in aggiunta questo metallo mostra un'ottima biocompatibilità e può essere sfruttato per il rilascio termico, fungendo dunque da *nanoheater*.

Le sintesi proposte in questo lavoro si sono basate su un processo a step successivi, discussi in maniera approfondita nel capitolo 4. Dapprima l'argento metallico viene ridotto al fine di produrre dei germi di nucleazione, i quali costituiscono il materiale su cui compiere lo step di accrescimento fino all'ottenimento dei core metallici, in un approccio di *seeded growth*.

Il ricoprimento tramite la TiO_2 è stato ottenuto mediante il processo sol-gel, che ha permesso di formare un materiale accoppiato con i core di argento precedentemente ottenuti.

La trasformazione dell'ossido da amorfo a cristallino, con l'obiettivo di ottenere l'anatasio, è stata ottenuta attraverso un trattamento solvotermale. Questo trattamento è stato eseguito in diverse condizioni sperimentali, al fine di comprendere le modifiche che tali condizioni apportano nel materiale finale, la cui caratterizzazione completa è riportata nel capitolo 5.

Le misure di nanotermometria sono state eseguite variando la potenza del laser incidente sul campione: in questo modo può essere indotta una variazione nella temperatura locale, con una conseguente modifica dell'indicatore termometrico, costituito dal rapporto tra le intensità dei segnali anti-Stokes e quelli Stokes riferiti ad un singolo modo vibrazionale. Le misure Raman e i materiali sulle quali sono state eseguite sono riportate nel capitolo 6.

Infine, nella sezione di *Discussione dei dati e Conclusioni* sono considerati gli aspetti critici del processo sintetico, evidenziando le sezioni maggiormente riuscite del lavoro, per poi concludere con l'analisi degli step che hanno portato a delle problematiche, permettendo di considerarli come punti di partenza per possibili lavori di ricerca futuri.

1. NANOTERMOMETRIA

1.1 Definizione di temperatura

Nello studio di processi chimici e fisici devono essere sempre presi in considerazione tutti i parametri che possono modificare le condizioni sperimentali, uno dei più importanti è la temperatura. La disciplina che si occupa della sua misurazione viene detta termometria. Il passaggio alla scala nanometrica, con conseguente nascita della nanotermometria, è diventato importante poiché le richieste in settori quali la microelettronica, la microottica, la fotonica, la microfluidica e la nanomedicina hanno raggiunto una miniaturizzazione tale per cui la termometria convenzionale non era più in grado di effettuare misurazioni con risoluzione spaziale sub micrometrica adatte alle esigenze tecnologiche [1,2].

Prima di procedere con ulteriori considerazioni sulla temperatura, risulta necessario fornirne una definizione precisa, sia dal punto di vista della termodinamica che da quello della meccanica statistica. La termodinamica fornisce una definizione prettamente empirica, le cui variabili sono definite come macro stati.

Un sistema viene considerato all'equilibrio se i suoi macrostati sono stazionari per determinati vincoli sperimentali. Un esempio particolare e interessante di vincoli si ha nel caso di un sistema chiuso bipartitico, nel quale viene fissata l'energia totale la quale è libera di scambiare tra le due parti, definite all'equilibrio termico. Due sistemi che si trovano all'equilibrio termico e ai quali viene permesso lo scambio di energia si trovano alla stessa temperatura.

Risulta fondamentale ora definire una scala utilizzando il sistema di riferimento più semplice, il gas ideale, in cui la temperatura viene definita tramite la relazione:

$$T = \frac{pV}{nk_B} \quad \text{eq. 1}$$

dove l'unità di misura della temperatura è il kelvin [K].

Nella meccanica statistica, la temperatura viene definita come la derivata dell'entropia rispetto all'energia interna di un sistema. L'entropia viene intesa, in meccanica quantistica, come la misura della quantità di possibili stati puri in cui il sistema potrebbe trovarsi. L'equilibrio di un sistema viene raggiunto nel momento in cui si ottiene il massimo valore di entropia, cioè il numero maggiore possibile di stati puri accessibili. La temperatura risulta:

$$\frac{1}{T} = \frac{\partial S}{\partial E} \quad \text{eq. 2}$$

La definizione nell'equazione 2 mostra le sue caratteristiche termodinamiche solo nelle condizioni di equilibrio [2].

1.2 Problematiche riguardanti la temperatura alla nanoscala

Nella determinazione della temperatura locale alla nanoscala, risultano esserci delle limitazioni dovute sia alle dimensioni dell'ipotetico termometro, sia all'eventualità di accesso limitato all'area di interesse. L'obiettivo che si pone la nanotermometria è quindi lo sviluppo di tecnologie per la misurazione della temperatura locale, aventi risoluzione spaziale micrometrica o sub micrometrica [1,2]. Un termometro ideale dovrebbe essere veloce, compatto, preciso, indipendente da altre variabili del sistema, come il campo magnetico, e semplice da usare. Risulta evidente come diverse di queste caratteristiche siano difficilmente ottenibili alla nanoscala, o almeno non in un unico strumento. Ad esempio, i termometri a stato solido basati sulla dipendenza dalla temperatura della resistenza elettrica devono essere progettati in modo estremamente accurato e preciso, poiché effetti come lo *shot noise* e le *tunnel junctions* possono essere molto significativi su scala nanometrica [3].

Anche le proprietà termometriche del sistema devono rimanere stabili nel tempo, per evitare frequenti calibrazioni. Inoltre, lievi modifiche durante il processo di sintesi possono comportare grandi variazioni nelle proprietà del sistema in considerazione, intaccandone la riproducibilità.

Non di minore importanza sono le variazioni nelle proprietà fisiche di nanomateriali rispetto ai corrispettivi materiali massivi, tra le più importanti ci sono il trasporto termico e la dissipazione del calore. Queste variazioni portano inevitabilmente alla progettazione di strumenti basati su materiali e/o su principi fisici differenti rispetto ai classici termometri [4].

La miniaturizzazione dei dispositivi e dei circuiti elettronici e optoelettronici ha aumentato l'importanza dei problemi di riscaldamento localizzato e, di conseguenza, la caratterizzazione allo stato stazionario e transitorio della distribuzione della temperatura è fondamentale per l'analisi delle prestazioni e dell'affidabilità.

1.3 Tecniche per la determinazione della temperatura

Dal punto di vista teorico, i sistemi termometrici possono essere classificati in primari o secondari, a seconda rispettivamente della presenza o assenza di equazioni che relazionano direttamente una grandezza misurabile alla temperatura assoluta senza la necessità di calibrazione, la quale può risultare complicata alla nanoscala. La presenza di molte vie sperimentali percorribili per la determinazione della temperatura locale impone la definizione di un sistema di confronto equo tra tecniche differenti. I parametri tipicamente riportati per la valutazione di una via operativa sono la sensibilità e la risoluzione termica [5].

In molte tecniche si misura indirettamente la temperatura, ad esempio attraverso l'intensità della luce, lo shift di un picco o tramite i cambiamenti di corrente elettrica, che agiscono da indicatori di temperatura, e vengono indicati con Q . Tramite la sensibilità, S , di una tecnica si può valutare la minima variazione dell'indicatore al variare della temperatura, trascritto in forma di equazione diviene:

$$S = \left| \frac{\partial Q}{\partial T} \right| \quad \text{eq. 3}$$

Al fine di facilitare il confronto tra tecniche basate su Q differenti, si valuta la sensibilità relativa, S_R :

$$S_R = \left| \frac{1}{Q} \frac{\partial Q}{\partial T} \right| \quad \text{eq. 4}$$

La sensibilità sarà espressa tramite l'unità di misura dell'indicatore diviso per K (o °C), mentre la sensibilità relativa sarà in K^{-1} .

La risoluzione termica [5], ΔT_{min} , esprime il minimo cambiamento di temperatura che porti ad una variazione di Q :

$$\Delta T_{min} = \frac{\Delta Q}{S} \quad \text{eq. 5}$$

Le tecniche sfruttate per la determinazione della temperatura a livello locale possono essere suddivise in due macro-gruppi: quelle di contatto e quelle di non contatto. Tra le prime vi sono la microscopia termica a scansione (STM) [6] e quella a forza atomica (AFM) [7], le quali sono risultate utili per studiare il flusso di calore sulle superfici e sono state applicate per caratterizzare dispositivi microelettronici e optoelettronici [8], ma richiedono strumentazioni molto sofisticate.

Tra le tecniche a non contatto vi sono la microscopia termica ad infrarossi, l'interferometria, la luminescenza e la spettroscopia di scattering Raman [1,9].

La microscopia termica a IR risulta di semplice e veloce utilizzo, e si basa sull'utilizzo di sensori al germanio, fondamentali per misure nel medio e lontano IR. Tuttavia, è presente anche un grosso problema relativo al modo in cui vengono misurate le temperature. Esse, infatti, risultano rilevabili solo superficialmente, non permettendo una "visione" interna del campione. In aggiunta deve essere considerata anche la condizione in cui il materiale in esame non si comporti esattamente come un corpo nero perfetto, portando a scarse risoluzioni termiche.

L'interferometria applicata alla termografia pone i suoi fondamenti nella determinazione di variazioni nell'indice di rifrazione indotte dalla temperatura. È una tecnica semplice e veloce per studiare campioni immersi in fluidi, limitata solo dalla necessità di un modello per definire l'indice di rifrazione del fluido.

La luminescenza è l'emissione di luce da una data sostanza, che avviene da stati elettronicamente eccitati che sono stati popolati da una fonte di eccitazione esterna. Le proprietà dei fotoni emessi dipendono dalle proprietà degli stati elettronici coinvolti nell'emissione dei fotoni [10]. Queste, a loro volta, dipendono dalla temperatura locale e quindi la nanotermometria a luminescenza sfrutta la relazione questa relazione per ottenere il rilevamento termico dall'analisi spaziale e spettrale della luce generata dall'oggetto in esame.

Il raggruppamento della nanotermometria a luminescenza in diverse classi si basa sul particolare parametro della luminescenza che viene analizzato e da cui si estrae la lettura termica, i sei parametri che definiscono l'emissione di luminescenza di un determinato materiale sono: l'intensità, la forma della banda, la posizione spettrale, la polarizzazione, la durata e la larghezza di banda. Essendo una tecnica molto studiata, sono stati progettati molti materiali per applicazioni differenti ed ognuno ha la propria sensibilità termica [11]. In particolare, i lavori di letteratura si sono concentrati sui coloranti organici, che vengono spesso utilizzati come marcatori fluorescenti, per applicazioni biologiche [2]. Per applicazioni industriali, in cui la temperatura può aumentare notevolmente rispetto ad un

sistema biologico, i materiali più citati sono quelli inorganici a base di lantanidi come fluoruri, ossidi, vanadati e fosfati. Gli ioni lantanoidi sono specie otticamente attive, cioè dopanti che agiscono da sensibilizzatori e attivatori di luminescenza (soprattutto Yb^{3+} e Er^{3+}) [12,13].

In linea di principio, la spettroscopia Raman può essere applicata a uno spettro molto più ampio di campioni e di condizioni sperimentali, ma normalmente richiede lunghi tempi di integrazione per registrare il segnale ottico, che in genere è più debole. Alcuni dei vantaggi principali di questa tecnica risiedono nella semplice preparazione del campione e nella necessità di piccoli volumi di materiale, inoltre può essere utilizzata in un'ampia gamma di ambienti, anche durante le reazioni chimiche o in condizioni estreme di pressione e di temperatura. La spettroscopia Raman funziona in un ampio intervallo termico, ma è limitata alle alte temperature (al di sopra di ~ 1000 K) a causa di un fondo di radiazione di corpo nero (al di sopra di ~ 1000 K) e alle basse temperature a causa della debole popolazione dei modi vibrazionali, che comporta la presenza di segnali di bassa intensità.

La nanotermometria tramite spettroscopia Raman può essere impiegata in vari ambiti: ad esempio nello studio del trasporto termico e dello stress termico in microdispositivi e nanostrutture, nel monitoraggio di reattori industriali tramite fibra ottica e nell'analisi dell'efficienza di riscaldamento di nanodischi d'oro [14-16]. L'ambito di maggior importanza per questo lavoro di tesi è il suo impiego in biomedicina, più nello specifico nella terapia fototermica per il trattamento dei tessuti cancerosi. Maggiori dettagli sul tipo di terapia saranno forniti nel capitolo 3.

2. MATERIALI RAMAN ATTIVI

2.1 Fondamenti di spettroscopia di scattering Raman

La diffusione Raman è un fenomeno osservabile durante lo studio della propagazione della luce attraverso un mezzo in fase liquida, solida o gassosa. In un esperimento, lo scattering avviene quando la radiazione eccitatrice non induce solamente emissione spontanea da parte del campione (tipico esperimento di fluorescenza), ma risulta uscente anche a energie differenti da quella di eccitazione.

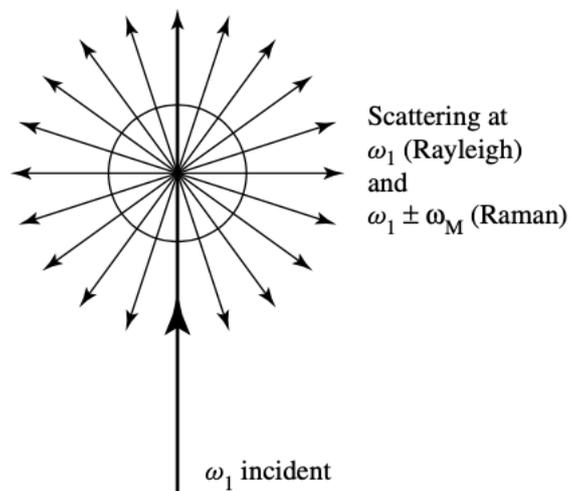


Figura 2.1.1: Schematizzazione delle diffusions Rayleigh e Raman in seguito all'interazione di un fascio laser (ω_1) con il campione. Figura presa da [17]

Nella figura 2.1.1 viene riportato lo schema dello scattering in cui sono indicate la direzione del fascio di incidenza caratterizzato dalla frequenza (ω_1) e quelle di tutte le componenti in uscita dal campione. Quando non vi è variazione della frequenza in uscita da campione, si è in presenza delle cosiddette componenti di scattering elastico, dovute al fenomeno di scattering Rayleigh. Nel momento in cui le frequenze diffuse differiscono invece da quella incidente, si parla di componenti anelastiche, le quali corrispondono al fenomeno dello scattering Raman.

Lo scattering risulta essere un fenomeno molto debole, circa un fotone su 10^6 viene diffuso e a sua volta la sola diffusione anelastica è $10^2 - 10^4$ volte meno intensa di quella elastica.

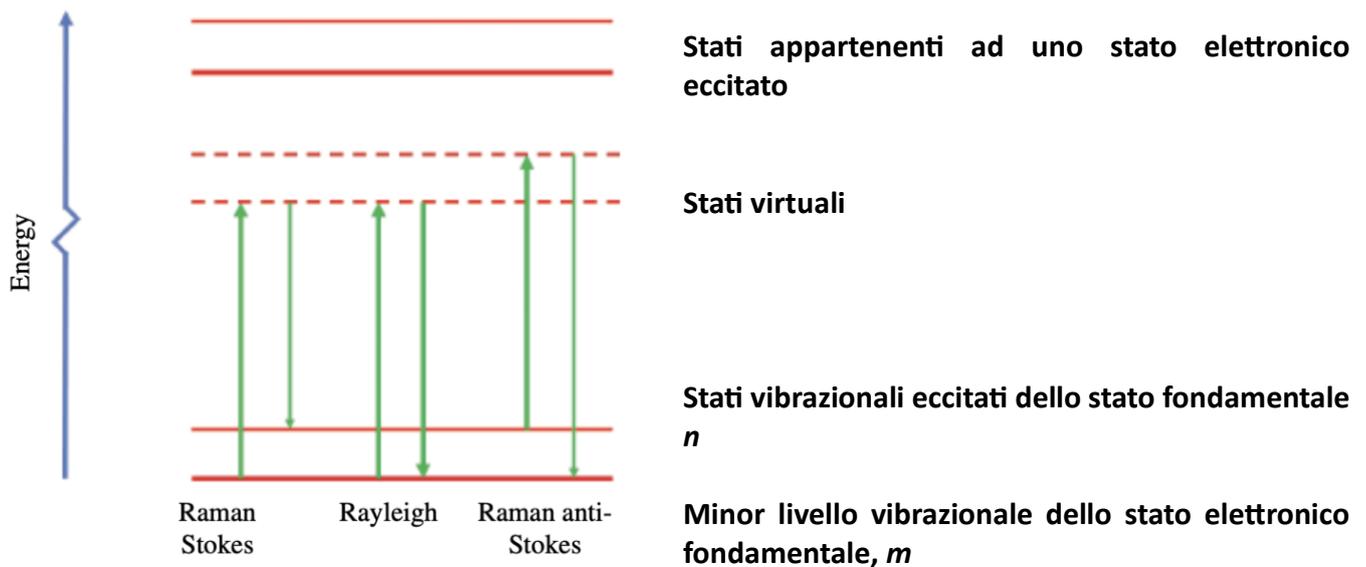


Figura 2.1.2: Diagramma dei processi di scattering Rayleigh e Raman. Immagine presa da [18]

In figura 2.1.2 sono mostrati brevemente tutti i fenomeni sopra descritti attraverso un diagramma rappresentante le transizioni dal punto di vista quantistico. L'unica aggiunta riguarda il concetto di Raman Stokes e Raman anti-Stokes, i quali per definizione si riferiscono alle componenti della luce diffuse rispettivamente a frequenze inferiori e superiori rispetto a quella incidente. Nello scattering Raman le differenze energetiche tra la radiazione incidente e quella diffusa anelasticamente derivano dalla natura dello stato vibrazionali coinvolto, per questo motivo gli spettri vengono riportati in funzione del valore di *Raman Shift*, $\Delta\tilde{\nu}$, rendendoli indipendenti dalla frequenza del laser utilizzato. Nell'equazione 6 vengono usati i pedici L e S per indicare il numero d'onda (o la lunghezza d'onda) rispettivamente del laser e della radiazione diffusa.

$$\Delta\tilde{\nu} = \tilde{\nu}_L - \tilde{\nu}_S = \frac{1}{\lambda_L} - \frac{1}{\lambda_S} \quad (cm^{-1}) \quad \text{eq. 6}$$

Quando si considerano ambiti molecolari, i segnali Raman sono dovuti ai differenti modi vibrazionali esistenti. Una molecola nello stato vibrazionale fondamentale ($\nu = 0$) del suo stato elettronico fondamentale (S_0) in seguito all'interazione con un fotone del laser incidente, passerà a uno "stato virtuale" (il cui significato verrà esposto in modo più esaustivo nel capitolo successivo) e nello stesso momento tornerà ad uno degli stati vibrazionali di S_0 . In questo caso se il processo si concludesse senza nessun movimento nucleare, cioè a $\nu = 0$ si parlerebbe di scattering Rayleigh, mentre se vi fosse la presenza di un movimento da parte dei nuclei, lo stato vibrazionale non sarebbe più quello fondamentale. Nell'ultimo caso esposto la maggior parte delle volte ν vale 1, in questi casi si parla

quindi di scattering Raman Stokes. Se invece si partisse dallo stato S_0, ν_1 e in seguito all'interazione con il fotone il sistema si ritrovasse nello stato S_0, ν_0 , si parlerebbe di scattering Raman anti-Stokes [18].

È di fondamentale importanza sottolineare l'istantaneità del salto allo stato virtuale e del ritorno ad un generico stato vibrazionale (ν_i) di S_0 , infatti questo viene classificato come processo a due fotoni, in opposizione a ciò che avviene nella fluorescenza in cui si ha assorbimento e successivo rilassamento.

La diffusione risulta teoricamente possibile per ogni valore di $\tilde{\nu}_L$, ma vi è un forte incremento dell'intensità del segnale diffuso per frequenze eccitatrici prossime a quelle di transizione ad uno stato elettronico superiore. Un esperimento condotto a queste condizioni viene detto di risonanza, l'altro possibile scenario è rappresentato invece da una misura non in risonanza.

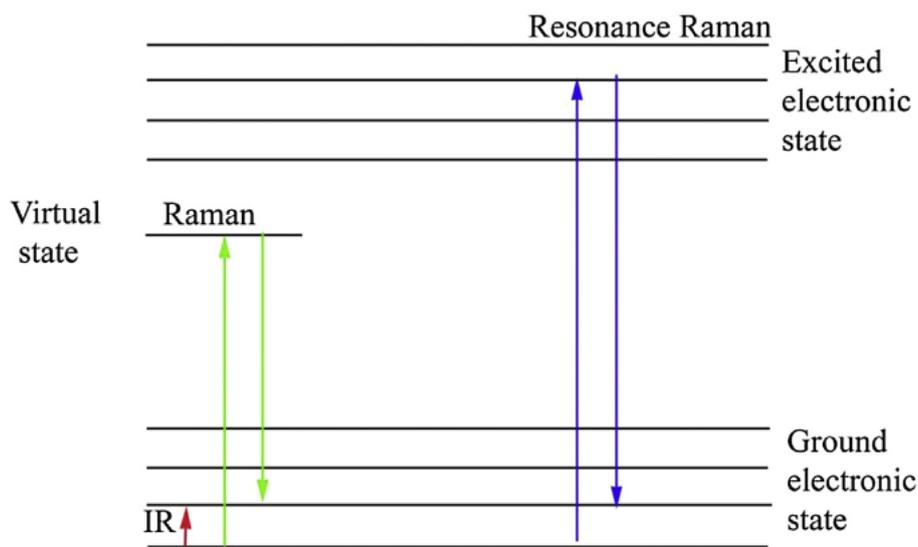


Figura 2.1.2: Rappresentazione delle transizioni presenti in un esperimento Raman nelle condizioni di risonanza o non risonanza. Figura presa da [19]

Per comprendere in maniera più approfondita il fenomeno Raman in risonanza si deve considerare la proporzionalità presente tra la potenza della luce diffusa e l'intensità di quella incidente. Questa viene definita sezione d'urto di scattering e viene generalmente indicata con σ :

$$P(\omega_S) = \sigma(\omega_S) \cdot I_0(\omega_L) \quad \text{eq. 7}$$

Attraverso la trattazione classica del fenomeno [17] si può giungere alla definizione seguente di $\sigma(\omega)$:

$$\sigma(\omega) = C \cdot \omega_L^4 \cdot |\hat{\alpha}(\omega_L)|^2 \quad \text{eq. 8}$$

I termini riportati all'interno dell'equazione 8 rappresentano rispettivamente l'insieme delle costanti (C) che racchiudono la dipendenza dalle condizioni sperimentali, come la geometria di illuminazione-osservazione, la frequenza eccitatrice elevata alla quarta (ω_L^4) e il modulo quadro della polarizzabilità molecolare ($|\hat{\alpha}(\omega_L)|^2$). In prossimità di una transizione elettronica fra gli stati $|S_0\rangle$ e $|S_1\rangle$, la polarizzabilità molecolare diventa:

$$\hat{\alpha}(\omega) \cong \frac{|\langle 1|\hat{\mu}|0\rangle|^4}{\omega_{10} - \omega - \frac{i\Gamma_1}{2}} \quad \text{eq. 9}$$

In cui $\hat{\mu}$ indica il tensore momento di dipolo elettrico di transizione e Γ il fattore di *damping* della transizione elettronica

Inserendo l'eq. 9 all'interno dell'eq. 8 si ottiene:

$$\sigma(\omega) = C \cdot \omega_L^4 \cdot \frac{|\langle 1|\hat{\mu}|0\rangle|^4}{(\omega_{10} - \omega)^2 + \left(\frac{\Gamma_1}{2}\right)^2} \quad \text{eq. 10}$$

Dall'equazione 10 risulta chiaro il motivo della maggior diffusione in condizioni di risonanza.

In condizioni di risonanza si presenta anche quello che forse è il maggior problema di questa tecnica, in corrispondenza all'assorbimento si avrà possibile presenza di emissione di fluorescenza, di conseguenza, poiché lo scattering è un fenomeno molto debole, si potrebbe avere una soppressione totale del segnale Raman che risulterebbe praticamente nullo in confronto a quello di fluorescenza.

2.2 Termometria tramite spettroscopia Raman

Quando la luce interagisce con la molecola, fa sì che gli elettroni si polarizzino, portando ad una geometria differente in cui, però, i nuclei non hanno il tempo di spostarsi. Questa disposizione non corrisponde ad uno stato reale della molecola, ma viene definita stato virtuale e la sua energia dipende dalla frequenza del laser. Il processo può essere descritto considerando una coerenza tra il fotone incidente ed il fotone diffuso.

Nel capitolo precedente, dall'illustrazione dei diversi tipi di scattering possibili (Rayleigh, Stokes e anti-Stokes), è emerso come alla base delle tre differenze vi sia la presenza o meno del movimento nucleare. Da essa risulta anche evidente come la diversa popolazione degli stati vibrazionali sia un fattore determinante nella comprensione delle diverse intensità dei segnali [18]. Prendendo come esempio la differenza di popolazione tra due stati qualsiasi, detti n e m :

$$\frac{N_n}{N_m} = \frac{g_n}{g_m} \exp \left[-\frac{(E_n - E_m)}{k_B T} \right] \quad \text{eq. 11}$$

N_n = popolazione dello stato vibrazionale eccitato (n)

N_m = popolazione dello stato vibrazionale fondamentale (m)

g = degenerazione dei livelli n ed m

$E_n - E_m$ = differenza in energia tra gli stati

k_B = costante di Boltzmann

L'equazione 11 prende il nome di equazione di Boltzmann e permette di correlare la temperatura del sistema con un fattore misurabile come il rapporto delle intensità dei segnali di scattering anti-Stokes (aS) su Stokes (S), i quali sono in relazione alle differenti popolazioni degli stati vibrazionali.

In questo caso l'indicatore termometrico, Q , definito nel capitolo 1.3, è il rapporto tra le intensità dei segnali Raman aS e S di un singolo modo vibrazionale.

$$\frac{I_{aS}}{I_S} = C \cdot \frac{(\omega_L + \omega_m)^3}{(\omega_L - \omega_m)^3} \exp\left(-\frac{h\omega_m}{k_B T}\right) \quad \text{eq. 12}$$

L'equazione 12 rende possibile la determinazione della temperatura del materiale analizzato tramite la relazione presente con il rapporto tra le intensità. La costante di calibrazione, C , è legata al setup sperimentale, in particolare a parametri quali la polarizzazione del laser incidente e l'efficienza del rivelatore (CCD, *charge-coupled devices*) e del reticolo. La determinazione di C , per ogni lunghezza d'onda di eccitazione, è risultato essere un punto chiave per la misurazione della temperatura locale [20]. Il secondo termine a destra dell'uguale, nell'eq. 12, contiene il rapporto tra la somma e la differenza delle frequenze dei fotoni incidenti e diffusi (mW/cm^2). L'elevamento risulta essere al cubo o alla quarta a seconda della strumentazione utilizzata per il conteggio dei fotoni, la quale può essere rispettivamente un contatore di fotoni o un sistema di rivelazione del segnale basato sulla misura dell'energia raccolta. È atteso che i valori assunti da Q crescano all'aumentare della temperatura in quanto è maggiore la popolazione del livello vibrazionale eccitato, da cui ha origine il segnale anti-Stokes.

Per la misurazione della temperatura, la risoluzione spaziale è legata alla dimensione dello spot del laser sul campione (pari a circa $0.5 \mu m$ nel verde), mentre la risoluzione termica è di alcuni gradi (tra 1 e $10^\circ C$) [2,21]. In aggiunta, la calibrazione nelle analisi Raman è un passaggio cruciale per assicurare che le misurazioni siano precise, riproducibili e affidabili, consentendo un'interpretazione corretta dei dati spettroscopici. Senza una corretta calibrazione, i picchi nello spettro potrebbero essere spostati rispetto alle loro posizioni reali, compromettendo l'identificazione corretta dei materiali. Inoltre, una corretta calibrazione permette di evitare problematiche dovute a variazioni nelle prestazioni a causa di fattori come l'instabilità del laser, la deriva del rivelatore, o le variazioni di temperatura [22].

Altre grandezze sperimentali, utilizzabili per definire Q , sono l'ampiezza a metà altezza del segnale (*Full Width Half Maximum, FWHM*), che aumenta con la T , o la sua intensità in Stokes (preferito rispetto ad aS per la maggior intensità dei segnali).

2.3 Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)

Nell'ambito della spettroscopia Raman, una delle tecniche utilizzate per amplificare segnali poco intensi è quella dell'amplificazione per effetti di superficie o SERS.

Il termine SERS viene utilizzato per indicare quel ramo della spettroscopia di scattering Raman basata sulla misurazione di molecole adsorbite, o chimicamente legate, sulla superficie di un metallo che, in opportune condizioni, porta all'amplificazione del segnale di diffusione.

Questo fenomeno è stato osservato per la prima volta da Fleischman, Hendra e McQuillan nel 1974 durante delle misure Raman di molecole di piridina adsorbite su un elettrodo d'argento [23].

La tecnica SERS viene definita dalla *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)*: *il fenomeno per cui l'intensità delle bande vibrazionali negli spettri Raman delle molecole entro pochi nanometri dalla superficie di metalli microscopicamente ruvidi, colloidali metallici e nanoparticelle metalliche viene aumentata di diversi ordini di grandezza* [24].

Quando una radiazione elettromagnetica (EM) interagisce con gli elettroni superficiali del metallo, ne induce un'oscillazione collettiva che viene detta plasmone superficiale. La natura del metallo, insieme alla sua morfologia di superficie controllano la frequenza e l'intensità dell'oscillazione formata.

L'oro e l'argento sono i metalli più frequentemente utilizzati; essi permettono di ottenere elevati fattori di amplificazione del campo locale con un'eccitazione variabile dal visibile al vicino infrarosso (NIR). Il tipo di metallo, insieme alla dimensione e alla morfologia delle strutture metalliche realizzate, permettono di modificare la posizione del plasmone all'interno dell'intervallo. Altri metalli utilizzati sono il rame, che fornisce una buona amplificazione, ma essendo più reattivo risulta meno stabile [25]; l'alluminio, che a seguito di eccitazione con radiazione UV porta ad un potenziamento significativo [26] ed il platino, il quale però è molto costoso e non porta a un'amplificazione significativa [27].

Durante l'interazione tra la radiazione EM e una superficie liscia, l'oscillazione degli elettroni avviene esclusivamente lungo il piano della superficie e la luce non viene diffusa. Per l'ottenimento di diffusione, è essenziale che vi sia un'oscillazione perpendicolare al piano della superficie e ciò si ottiene irruvidendo la superficie. In questo modo, la densità di elettroni aumenta nelle cavità del substrato metallo irruvidito e la diffusione si verifica quando gli elettroni oscillanti si spostano verso le punte della superficie, creando una componente dell'oscillazione perpendicolare alla stessa.

Gli spettri SERS non sono di facile interpretazione, possono comparire nuove bande rispetto agli spettri della normale diffusione Raman e alcune bande, che sono forti nella normale diffusione Raman, possono diventare deboli o scomparire nei SERS. L'efficienza dello scattering dipende dalla polarizzabilità molecolare indotta perpendicolarmente alla superficie, l'angolo dell'adsorbito influisce in modo critico sulle intensità. Uno dei motivi per cui possono comparire nuove bande è che l'adsorbimento di una molecola centrosimmetrica su una superficie metallica rompe effettivamente il centro di simmetria [28]. Questo fa sì che la regola della mutua esclusione non sia più applicabile, consentendo ad alcune bande attive solo nell'infrarosso di comparire nello spettro SERS.

Un'altra considerazione importante da fare durante la scelta della natura del substrato metallico sta nella presenza di entrambi i fenomeni di scattering e di assorbimento o solamente di uno dei due. Ad esempio, eccitando nel mezzo della regione del visibile, a circa 550 nm , per l'argento viene favorita maggiormente la diffusione rispetto all'oro, si ottiene la situazione opposta quando l'eccitazione viene spostata verso il NIR. Questi comportamenti sono dovuti ai differenti indici di rifrazione, $n(\omega)$, dei metalli. Si noti come l'indice di rifrazione sia una proprietà della molecola composta da una parte reale ed una complessa, le quali definiscono rispettivamente le proprietà dispersive e assorbitive del mezzo.

Nella maggior parte dei casi, i materiali presentano il valore complesso diverso da zero, portando ad una assenza di trasparenza. I metalli sono tra i materiali in cui la costante dielettrica $\varepsilon(\omega)$ è complessa [29]. Si noti che la costante dielettrica e l'indice di rifrazione sono correlati dall'equazione:

$$n(\omega) = \sqrt{\varepsilon(\omega)} \quad \text{eq. 13}$$

La Figura 2.3.1 mostra le funzioni dielettriche di Ag e Au con le loro parti reali e immaginarie nel range di energie comprese tra il vicino UV ($\sim 300\text{ nm}$) e il vicino IR (NIR) ($\sim 900\text{ nm}$).

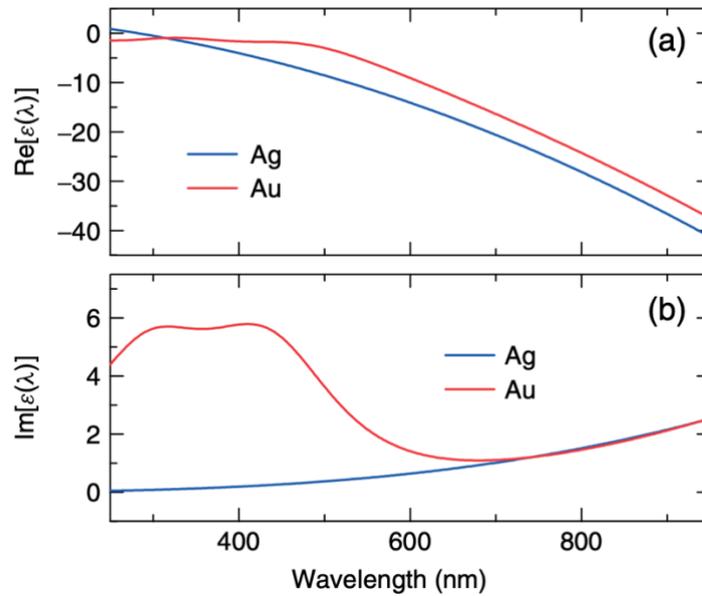


Figura 2.3.1: Andamenti della parte reale (a) ed immaginaria (b) della costante dielettrica in funzione della lunghezza d'onda. Sono mostrati gli andamenti per i due metalli dal maggior interesse applicativo, Au e Ag. Immagine presa da [30]

La parte reale della funzione dielettrica di entrambi i metalli, per la maggior parte dell'intervallo visibile, risulta essere grande (in valore assoluto) e negativa. In seguito, questa si rivelerà una delle proprietà più importanti per quanto riguarda le loro proprietà ottiche e una delle ragioni principali della loro utilità come materiali plasmonici. Inoltre, trascurando momentaneamente le parti immaginarie di $\epsilon(\lambda)$, si può affermare che le parti reali seguono a lunghezze d'onda elevate uno dei modelli più semplici per la funzione dielettrica di un metallo (senza perdite), ovvero il modello di Drude senza perdite. Quest'ultimo prevede una funzione dielettrica della forma [31-33]:

$$\epsilon = \epsilon_{\infty} \left(1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \right) = \epsilon_{\infty} \left(1 - \frac{\lambda^2}{\lambda_p^2} \right) \quad \text{eq. 14}$$

In cui $\omega_p = 2\pi c/\lambda_p$ e viene definita "frequenza di plasma" di un metallo. Questa frequenza risulta essere proporzionale alla radice quadrata della densità di elettroni liberi presenti. La figura 2.3.1 (a) mostra chiaramente che entrambi i metalli hanno densità elettroniche molto simili, in quanto le $\epsilon(\omega)$ non differiscono di molto.

In contrasto dalle assunzioni per il modello di Drude, però, i metalli non sono privi di perdite, le quali sono da correlare alla presenza di una parte immaginaria. Anche se le $\text{Im}[\epsilon(\lambda)]$ per entrambi i metalli sono più piccole rispetto alle loro controparti reali per la maggior parte dell'intervallo visibile, i loro effetti sono importanti e, in alcuni casi, cruciali. La parte immaginaria è sempre legata

all'assorbimento del materiale (un materiale con $Im[\varepsilon(\lambda)] = 0$ non assorbe la luce e ha un indice di rifrazione reale $n(\lambda) = \sqrt{Re[\varepsilon(\lambda)]}$).

L' Au presenta un assorbimento più elevato, rispetto ad Ag, per $\lambda \leq 600 \text{ nm}$, con una struttura a doppia gobba nella parte immaginaria ($\sim 400 \text{ nm}$), che deriva dalle cosiddette transizioni elettroniche interbanda [34]. Si noti, tuttavia, che per $\lambda \geq 600 \text{ nm}$, le parti immaginarie di $\varepsilon(\lambda)$ sia per Ag che per Au diventano completamente comparabili (Figura 2.3.1 b) e, con le loro parti reali che sono anch'esse comparabili in questo intervallo, entrambi i materiali sono simili (dal punto di vista della loro risposta alla radiazione EM). Le loro proprietà chimiche superficiali sono ovviamente diverse e un materiale potrebbe essere preferito all'altro per ragioni specifiche.

L'amplificazione del campo EM locale sperimentato dalle specie di interesse a contatto con le nanoparticelle d'argento (Ag NPs) arriva ad essere fino a 10 volte più intensa rispetto a quella delle nanoparticelle d'oro, vista la maggiore sezione d'urto di scattering Raman [35]. Un ulteriore aspetto fondamentale sta nel comportamento antibatterico dell'Ag [36], il quale le rende dei substrati ottimi per applicazioni biomediche quali la terapia fototermica, la quale sarà trattata in maniera approfondita nel capitolo 3.

3. TERAPIA FOTOTERMICA

In biomedicina, le tecniche di prevenzione e terapia di molte malattie si focalizzano sulle differenze presenti tra le cellule sane e quelle malate. In particolare, quando vengono considerate patologie oncologiche, questa differenziazione tra cellule avviene tramite l'osservazione della temperatura media delle stesse, quelle malate compiono un lavoro maggiore rispetto al necessario, il quale comporta un aumento della temperatura locale.

Le attuali cure possibili per il trattamento dei tumori sono basate principalmente sulla radioterapia, sulla chemioterapia e su operazioni chirurgiche. Le prime due possiedono alcuni aspetti negativi legati principalmente alla diversa risposta di ogni individuo alla terapia stessa, e quindi una mancanza di specificità. La terza invece corrisponde ad interventi più invasivi.

La ricerca scientifica è molto attiva nell'individuare nuove vie per il trattamento di tali malattie. Le recenti tecniche avanzate di sintesi [37] permettono l'impiego di sistemi alla nanoscala, i quali sono ottimali al trasporto localizzato dei farmaci. In particolare, le terapie basate sull'impiego di un sistema nanometrico plasmonico vengono definite 'fototerapie' e comprendono sia la terapia fotodinamica (PDT) sia quella fototermica (PTT). Esse si differenziano nel meccanismo d'azione, infatti dopo un'iniziale foto eccitazione del nanosistema, nel caso della PDT sarà innescata la produzione di radicali liberi all'ossigeno, mentre nella PTT si avrà riscaldamento localizzato dell'ambiente cellulare irradiato. Nelle due possibili vie terapeutiche, dunque, il danneggiamento cellulare sarà indotto rispettivamente da specie chimiche reattive o da innalzamento della temperatura [38].

Nell'ambito della terapia fototermica, al fine di portare il sistema nanometrico in risonanza plasmonica, viene utilizzato il range di lunghezza d'onda compreso tra 600 e 1000 nm. Questo range dello spettro elettromagnetico, che si estende dal visibile fino al NIR, presenta anche il vantaggio di interagire debolmente con i cromofori interni alla cellula, permettendone la penetrazione fino al raggiungimento dei fotosensibilizzatori inseriti, per questo motivo viene definita *finestra biologica terapeutica*. La scelta del laser, e quindi della λ di eccitazione, permette di ottimizzare sia la penetrazione del fascio all'interno della cellula, sia di localizzare e confinare in contemporanea il sito del rilascio termico. Inoltre, anche la durata dell'impulso utilizzato risulta essere un parametro influente per il danneggiamento del tessuto, in quanto dovrà essere regolata evitando di indurre danneggiamento a tessuti cellulari sani, aumentando così la selettività del processo.

Oltre al semplice riscaldamento localizzato, un altro aspetto centrale nella terapia è la selettività. Una precisa mappatura della temperatura delle cellule viventi, in particolare di quelle tumorali, che a causa dell'aumentata attività metabolica hanno temperature più elevate rispetto a quelle dei tessuti normali, migliora fortemente la percezione della loro patologia e fisiologia e, di conseguenza, l'ottimizzazione dei processi diagnostici e terapeutici precoci [39].

La PTT sfrutta le lunghezze d'onda dello spettro elettromagnetico corrispondente al NIR per riscaldare le cellule bersaglio ed indurne la morte. I vantaggi principali di questa tecnica rispetto a quelle classiche sono la minor invasività e la maggior selettività.

Esistono due metodi operativi: il primo consiste nell'esposizione del sito tumorale ad alte temperature ($T > 45^{\circ}\text{C}$) portando alla sua morte per ablazione, mentre il secondo porta ad una situazione di ipertermia ($T = 42 - 43^{\circ}\text{C}$) provocando danni cellulari e aumentando la permeabilità dei vasi tumorali, che possono essere utilizzati per migliorare l'assorbimento delle nanoparticelle da parte dei tumori.

Al termine del trattamento fototermico risulta necessario rimuovere le nanoparticelle e quanto rimasto in seguito ad apoptosi. Vista la necessità di impiegare un nanosensore, questo può essere presente in una particella diversa da quella del *nanoheater* oppure essere incorporato in esso [40]. Nel primo approccio non si ha accesso diretto alla temperatura della cellula cancerogena, in quanto il *nanoheater* è posto ad una certa distanza, non sempre controllabile, dal nanotermometro. È necessario ricorrere a modelli di *heat transfer*, che sono però poco accurati alla nanoscala. Per questo motivo il secondo approccio è preferibile [41].

Sezione sperimentale

4. MATERIALI E METODI

4.1 Procedura sperimentale

La sintesi delle nanoparticelle con struttura tipo core-shell ($Ag@TiO_2$) è stata eseguita seguendo dapprima la strategia esposta da *Hong et al.* [42], per poi modificare sistematicamente alcuni parametri influenti, al fine di studiare eventuali alterazioni del materiale ottenuto. A differenza di altri metodi presenti in letteratura, basati su procedure *one-pot* [43- 47] per l'ottenimento delle NPs, in questo lavoro, la sintesi è stata suddivisa in diversi step cercando di ottenere un maggior controllo sui prodotti delle singole reazioni.

Il primo passaggio della sintesi prevede la formazione di *seeds*, o di centri di nucleazione, di dimensioni di circa 20 nm, di *Ag*, tramite riduzione del precursore nitrato di argento ($AgNO_3$) con sodio boro idruro ($NaBH_4$) in soluzione acquosa. La presenza all'interno dell'ambiente di reazione del tensioattivo *cloruro di cetil-trimetilammonio* ($C_{19}H_{42}ClN$, CTAC), permette la stabilizzazione delle strutture appena formate in attesa dell'accrescimento. Appena concluso lo step di nucleazione, si procede con l'incremento delle dimensioni fino all'ottenimento dei core finali di argento: questo passaggio è stato realizzato aggiungendo alla soluzione precedente $AgNO_3$, CTAC, solfuro di sodio (Na_2S) in tracce, come additivo, ed acido ascorbico ($C_6H_8O_6$) come agente riducente.

La formazione della shell di TiO_2 avviene inizialmente tramite mescolamento delle NPs di *Ag* appena sintetizzate con una soluzione di tetrabutossido di titanio ($Ti(OBu)_4$, TTB) e successivamente si pone la sospensione a riflusso per promuovere la trasformazione dell'alcoossido a gel attraverso un processo sol-gel, descritto nel paragrafo 4.3.

La cristallizzazione dello strato di ossido è stata favorita da trattamento in bomba solvotermale, in condizioni subcritiche (i.e., $T = 150^\circ C$, rapporto di riempimento o *filling ratio* = 23%).

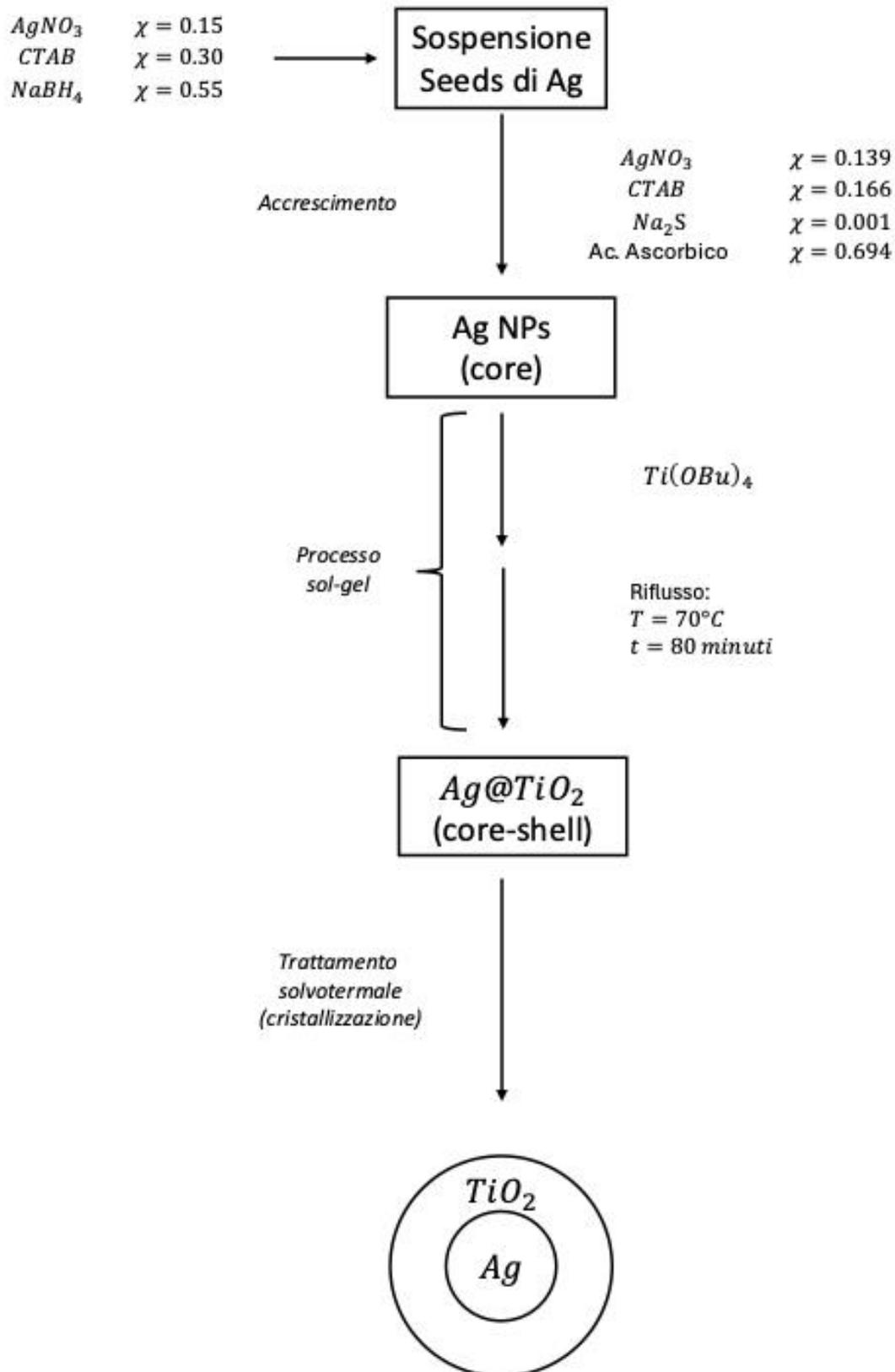


Figura 4.1.1: Diagramma di flusso del processo sintetico. Sono stati riportati i reagenti utilizzati e la rispettiva frazione molare dei vari precursori utilizzati in quel preciso step

4.2 Scelta dei reagenti

4.2.1 Stabilizzante

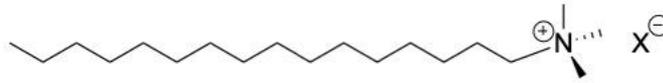


Figura 4.2.1: Struttura dei tensioattivi CTAC e CTAB, rispettivamente con il controione $X = Cl^-$ o Br^-

Al fine di evitare l'aggregazione delle NP, è stato sempre usato il CTAC come tensioattivo stabilizzante per le stesse: una soluzione acquosa (al 25% in massa), che ne permette un utilizzo più agevole in confronto al *bromuro di cetil-trimetilammonio* (CTAB - $C_{19}H_{42}BrN$), ampiamente utilizzato in letteratura [48], che necessita di un breve riscaldamento prima dell'utilizzo o del citrato [49,50], ulteriore opzione per la stabilizzazione delle NPs.

In aggiunta, per quanto riguarda il ricoprimento con la shell di TiO_2 , l'adsorbimento sulla superficie dei core metallici di CTAC al posto del citrato, permette una ricopertura più uniforme ed efficiente [42].

4.2.2 Additivo

È stato evidenziato in precedenti studi come l'utilizzo di Na_2S durante il processo sintetico dovrebbe favorire la formazione di nanocubi di Ag [51]. Il motivo di questo miglioramento va ricercato considerando la termodinamica dei processi di riduzione che si verificano in soluzione. L'equazione 16 evidenzia la maggior spontaneità nel processo di riduzione in presenza del solfuro, rispetto alla situazione in cui lo stesso non è presente (equazione 15).



Resta di fondamentale importanza considerare la probabilità che possa avvenire un effetto collaterale di precipitazione di Ag_2S : lo ione solfuro interagisce fortemente con lo ione Ag^+ , formando il composto insolubile Ag_2S avente $K_{ps}(Ag_2S) = 6.3 \cdot 10^{-50}$. La concentrazione di ioni

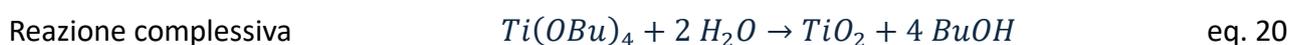
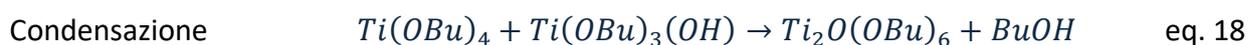
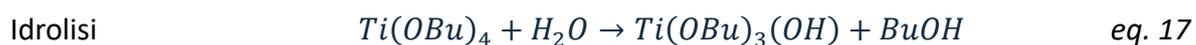
solfo da utilizzare, per una reazione completa degli ioni argento presenti in soluzione, dovrebbe essere elevata e comporterebbe la simultanea precipitazione di Ag_2S , a causa della bassissima solubilità in acqua, che rende inevitabile la nucleazione eterogenea durante la crescita delle Ag NPs [49].

Per questo motivo, la concentrazione di solfo aggiunto alla reazione è molto bassa. Infine, è stato dimostrato che la capacità della specie Ag_2S di catalizzare la riduzione di Ag^+ è molto più pronunciata nelle soluzioni contenenti un altro agente riducente, come l'acido citrico [52].

4.3 Processo sol-gel

Al fine di comprendere il meccanismo di formazione della shell di titania, risulta essenziale analizzare le possibili reazioni che avvengono all'interno di questo tipo di processi [53].

La situazione iniziale prevede la dispersione del precursore di titanio, tetrabutossido di titanio ($Ti(OBu)_4$, TTB) in etanolo cercando di evitarne il contatto con acqua, la quale porterebbe a rapida idrolisi e condensazione del butossido (equazioni 17-18) con successiva variazione della quantità di precursore effettivamente prelevata. Successivamente viene aggiunta una determinata quantità di Ag NPs in dispersione acquosa, permettendo dunque l'inizio delle reazioni del processo sol-gel che poi procedono a riflusso per due ore. Le reazioni possono essere schematizzate nel modo seguente:



L'idrolisi dell'alcoossido di titanio porta alla formazione di un ossopolimero, il quale procede alla formazione del network di ossido.

4.4 Trattamento solvotermale

La tecnica deriva il suo nome originale, *trattamento idrotermale*, da motivi prettamente geologici, poiché venne utilizzato per descrivere l'azione dell'acqua a temperatura e pressione elevate nel provocare cambiamenti nella crosta terrestre che portano alla formazione di varie rocce e minerali. Il processo idrotermale può essere definito come una reazione eterogenea in presenza di solventi acquosi in condizioni di pressione e temperatura elevate che permettono di dissolvere e ricristallizzare materiali che sarebbero relativamente insolubili in condizioni ordinarie [54]. Byrappa e Yoshimura hanno definito idrotermale qualsiasi reazione chimica eterogenea che avviene in presenza di un solvente (acquoso o non acquoso) ad alta temperatura e a una pressione superiore a 1 atm in un sistema chiuso [55]. Tuttavia, esiste ancora una certa confusione riguardo all'uso stesso del termine idrotermale. Ultimamente viene preferita la versione di "trattamento solvotermale", che indica qualsiasi reazione chimica che avviene in presenza di un solvente non acquoso o di un solvente in condizioni supercritiche o quasi.

Da questo momento, verrà fatto riferimento solo a trattamento solvotermale, specificando nei casi sperimentali il solvente di interesse.

In generale, questi trattamenti richiedono l'utilizzo di un recipiente a pressione in grado di contenere un solvente altamente corrosivo anche ad alte temperature e pressioni. Un'autoclave (o bomba) idrotermale ideale dovrebbe avere le seguenti caratteristiche:

1. Inerte ad acidi, basi e agenti ossidanti;
2. Facile da montare e smontare;
3. A prova di perdite nell'intervallo di temperatura e pressione richiesto;
4. Abbastanza robusti da sopportare esperimenti ad alta pressione e temperatura per lunghi periodi senza subire danni, in modo da non dover essere lavorati o trattati dopo ogni esperimento.

Per questo lavoro sono state utilizzate le bombe della Parr [56], aventi capienza massima di 23 ml (che contengono un volume massimo di 15 ml di liquido massimo all'interno).



Figura 4.4.1: Fotografie della bomba [56] e del liner in teflon [57] utilizzati per le sintesi

La previsione sul comportamento di una soluzione all'interno della bomba risulta molto complessa, in quanto i processi fisici coinvolti portano ad una chimica molto differente in confronto alle classiche sintesi di *wet chemistry* [41]. In seguito all'innalzamento della temperatura e della pressione, il solvente si troverà in condizioni critiche, supercritiche e subcritiche, portando alla variazione della costante dielettrica, del pH, della viscosità, del coefficiente di espansione e della densità, come si può vedere in figura 4.4.2 per quanto riguarda l'acqua. Questo determina importanti cambiamenti nella solubilità dei reagenti, nelle velocità di nucleazione, crescita dei cristalli [58, 59].

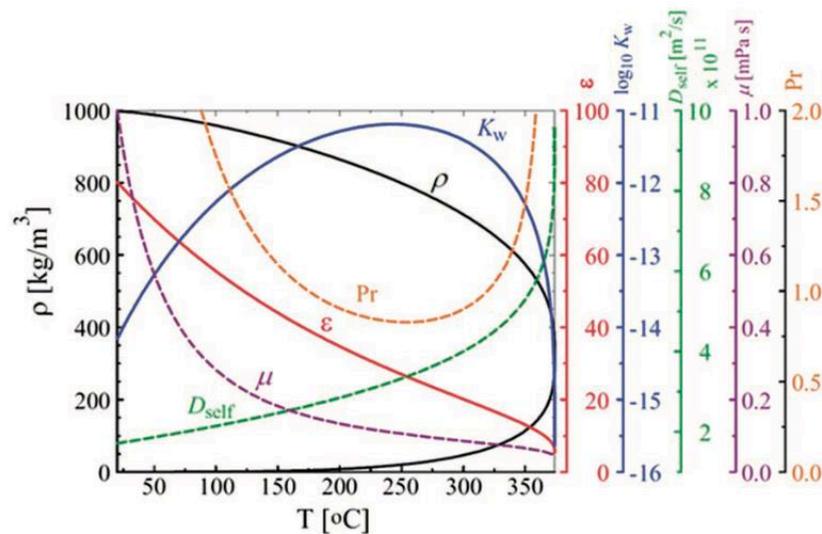


Figura 4.4.2: Comportamento al variare di T e p per alcune proprietà dell'acqua. In particolare, sono riportate: la densità (ρ), la costante dielettrica (ϵ), la costante di ionizzazione (K_w), il coefficiente di auto-diffusione (D_{self}), la viscosità (μ) ed il numero di Prandtl (Pr). Immagine presa da [60]

La tecnica è stata scelta a fronte della necessità di sviluppare metodi di sintesi il più attenti possibile all'impatto ambientale. La letteratura scientifica del settore riporta molti studi relativi alla cristallizzazione della titania a seguito di calcinazione, che prevede l'utilizzo di temperature elevate, che arrivano fino a 800°C [61]. Risulta abbastanza evidente come sia d'obbligo cercare vie alternative, a temperature inferiori, per il conseguimento della cristallinità del materiale. L'utilizzo del trattamento solvotermale permette la cristallizzazione del TiO_2 amorfo ad anatasio o a rutilo, a seconda delle condizioni sperimentali utilizzate, a temperature relativamente basse [60].

Per ottenere una cristallizzazione dell'ossido di titanio nella sua forma di anatasio (i motivi sulla scelta di tale fase cristallina sono già stati illustrati nel capitolo 3) è stato considerato come punto di partenza il precedente lavoro di ricerca del gruppo [41], all'interno del quale sono state definite le condizioni ottimali, in termini di temperatura e di tempo, per l'ottenimento di anatasio in trattamento solvotermale. Esse sono risultate essere $T = 150^\circ\text{C}$, per 24 ore.

4.5 Sintesi delle *Ag NPs*

Le nanoparticelle di argento sono state sintetizzate tramite un processo a due stadi: la formazione di germi di nucleazione (o *seeds*) e la successiva crescita degli stessi.

Per la formazione dei *seeds* è stata utilizzata una beuta da 30 ml, all'interno della quale sono stati aggiunti: 10 ml di H_2O milliQ, 40 μl di CTAC (soluzione acquosa 0.125 M), 25 μl di $AgNO_3$ e 450 μl di $NaBH_4$. La soluzione è stata mantenuta a temperatura ambiente per 40 minuti in forte agitazione tramite ancoretta magnetica. Risulta importante sottolineare come nel proseguo del lavoro le successive sintesi sono state effettuate sempre rispettando il medesimo ordine di aggiunta dei reagenti, al fine di ottenere una buona riproducibilità del metodo sintetico.

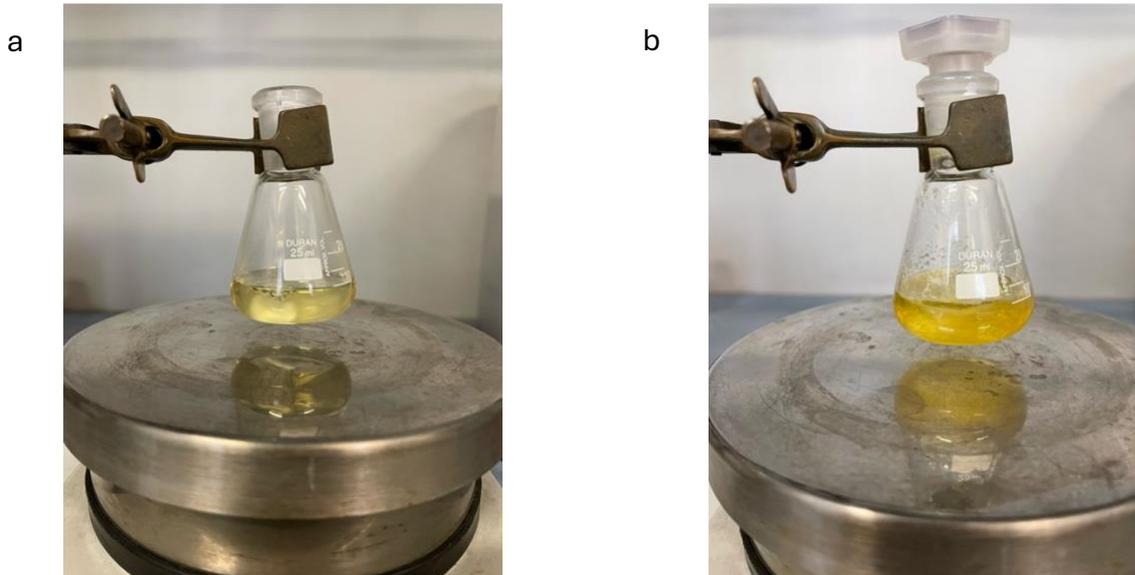


Figura 4.5.1: Aspetto della soluzione appena dopo l'aggiunta di tutti i reagenti (immagine a), a destra è riportato l'aspetto della sospensione al termine del tempo di reazione (immagine b)

È risultato evidente come la riduzione dell'argento in soluzione abbia portato ad un cambio cromatico passando da una situazione di trasparenza ad una di colore giallo, tipico delle sospensioni colloidali di argento. La figura 4.5.1 (a) mostra le foto della soluzione scattata qualche secondo dopo l'aggiunta di NaBH_4 , mentre la figura 4.5.1 (b) mostra la soluzione a seguito della riduzione che comporta il cambio di colore della soluzione.

Dopo l'avvenuta reazione, 10 ml di soluzione di *seeds* (d'ora in poi abbreviato con AS, Argento Seeds) sono stati messi all'interno di un pallone a tre colli da 100 ml, in cui erano stati precedentemente inseriti: 10 ml di AgNO_3 (0.1 M), 40 ml di CTAC (30 mM) e 0.5 ml di Na_2S (10 mM), anche in questo caso l'ordine delle aggiunte è stato mantenuto sempre uguale. In seguito all'aggiunta del tensioattivo, la soluzione è apparsa inizialmente opalescente per poi colorarsi di marroncino non appena è stato posto all'interno il solfuro. La reazione è stata quindi mantenuta in forte agitazione a $T = 70^\circ\text{C}$ per 20 minuti.

Il setup sperimentale viene mostrato nella figura 4.5.2, l'utilizzo di un condensatore risulta essenziale lavorando a queste temperature: inoltre la presenza sia di un termostato (collegato alla piastra riscaldante) nel bagno ad acqua sia di un termometro all'interno del pallone di reazione permette il monitoraggio della temperatura effettiva presente nella sospensione.



Figura 4.5.2: Setup sperimentale per la sintesi delle Ag NPs. A destra è presente la reazione per la formazione dei *seeds*, mentre a sinistra era già stata preparata la vetreria necessaria al successivo accrescimento. Tramite questa procedura è stato possibile elidere i tempi tra i due step sintetici, dovendo solamente prelevare 10 ml a dx per poi inserirli a sx.

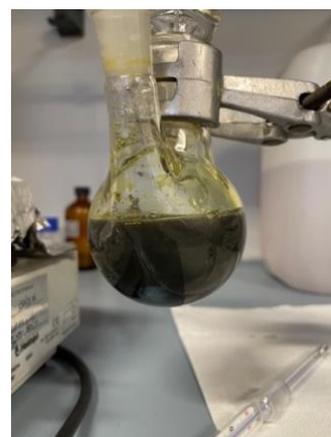
Dopo 20 minuti, sono stati aggiunti all'ambiente di reazione 15 ml di acido ascorbico (soluzione acquosa 0.50 M). La sospensione è stata lasciata a $T = 70^{\circ}\text{C}$, in agitazione per altri 60 minuti, per poi essere raffreddata a temperatura ambiente.



a



b



c

Figura 4.5.3: Ambiente di reazione dopo l'aggiunta dei *seeds* (a). Ambiente di reazione dopo l'aggiunta di acido ascorbico (b). Aspetto della sospensione al termine della reazione (c)

Il prodotto ottenuto è stato sottoposto a due centrifughe a 4650 RCF da 20 minuti, il pellet è stato poi disperso in 20 ml di H_2O . Il valore relativo alla velocità di lavoro della centrifuga è stato riportato in Relative Centrifugal Force (RCF) rendendolo indipendente dalla strumentazione utilizzata.

Per la sintesi 2, la sospensione di Ag NPs è stata centrifugata 9 volte, con velocità di rotazione progressivamente maggiori, al fine di separare le diverse frazioni di nanoparticelle in base al loro peso.

4.6 Ricoprimento con Shell di TiO_2

Per la formazione della shell di ossido di titanio, è stato utilizzata una beuta da 50 ml al cui interno sono stati aggiunti 30 ml di etanolo ($EtOH$) e 45 μl di tetrabutossido di titanio (TTB). Tramite un'ancoretta magnetica la soluzione è stata lasciata in agitazione per almeno 10 minuti permettendone una migliore omogeneizzazione. Successivamente sono stati posti nel pallone 5 ml di sospensione di AP (Argento nanoParticles) e lasciati in agitazione per 20 minuti a temperatura ambiente.



Figura 4.6.1: Reazione per la formazione dell'ossopolimero che successivamente procederà alla formazione della shell.

Il prodotto ottenuto è stato centrifugato a 7690 RCF per 5 minuti, sospeso in 20 ml di $EtOH$, ricentrifugato nelle stesse condizioni ed infine disperso in 30 ml di H_2O .

La sospensione acquosa è stata poi posta in un pallone da 50 ml e riscaldata a riflusso (100°C) per 2 ore, mantenendo sempre un forte mescolamento. Tramite questo ultimo passaggio si permette l'idrolisi del butossido e la formazione del gel che costituisce il ricoprimento (si vedano le equazioni 4-7 per maggiori dettagli).



Figura 4.6.2: Setup sperimentale per il riflusso delle Ag@TiO₂

Il prodotto ottenuto è stato centrifugato a 7690 RCF per 5 minuti, sospeso in 20 ml di EtOH, ricentrifugato nelle stesse condizioni ed infine disperso in 30 ml di H₂O.

L'ultimo step della sintesi prevede il trattamento in bomba solvotermale. Per evitare problemi di riproducibilità dovuti al variare delle condizioni interne al liner, relazionate al volume di sospensione presente (poiché si instaurerà un equilibrio tra solvente e vapori), sono stati inseriti sempre 5 ml di sospensione. Le condizioni testate inizialmente hanno previsto l'utilizzo di etanolo come solvente ed una permanenza in forno statico di 24 ore alla temperatura di 150°C. Successivamente sono state analizzate eventuali differenze nel prodotto ottenuto in seguito ad una permanenza in forno di 48 ore e anche variando il solvente ad acqua pura e a miscele di H₂O – EtOH con diversi rapporti volumetrici (75/25 %, 25/75 %). Attraverso quest'ultima modifica è stato possibile indurre una variazione di due parametri influenti durante i trattamenti solvotermali, la viscosità e la costante dielettrica.

L'acqua, in condizioni supercritiche, diventa molto meno viscosa e meno densa rispetto alle condizioni standard del liquido. L'etanolo, invece, con la sua temperatura critica inferiore, cambia meno drasticamente in condizioni solvotermali.

Tabella 1: Elenco delle sintesi condotte e delle eventuali variazioni alle condizioni solvotermali standard utilizzate (T=150°C, t=24h, solvente: etanolo)

<u>Seed</u> (AS)	<u>Accrescimento</u> (AP)	<u>Centrifughe</u> (SN, PT)	<u>Ricoprimento</u> (CS)	<u>Bomba idrotermale</u> (BI)
AS01	AP01	AP01 SN 01-02 AP01 PT 01-02	-	-
AS02	AP02	AP02 SN 01-09 AP02 PT 01-09	-	-
AS03	-	-	-	-
AS04	AP04	AP04 SN 01-02 AP04 PT 01-02	-	-
AS05	AP05	AP05 SN 01-02 AP05 PT 01-02	CS05	BI05
AS06	-	-	-	-
AS07	AP07	AP07 SN 01-02 AP07 PT 01-02	CS07	BI07
AS08	AP08	AP08 SN 01-02 AP08 PT 01-02	CS08	-
AS09	AP09	AP09 SN 01-02 AP09 PT 01-02	CS09	BI09: 24h 48h
AS10	AP10	AP10 SN 01-02 AP10 PT 01-02	CS10	BI10
AS11	AP11	AP11 SN 01-02 AP11 PT 01-02	CS11	BI11: <i>EtOH</i> <i>H₂O</i> <i>25/75% H₂O/EtOH</i> <i>75/25% H₂O/EtOH</i>

Per quanto riguarda la costante dielettrica, a temperatura ambiente l'acqua presenta il valore maggiore ($\epsilon_{r,H_2O} = 78$ contro $\epsilon_{r,EtOH} = 24.3$), rendendola più affine per la dissoluzione di componenti polari. Una volta raggiunte le condizioni subcritiche entrambi i valori saranno diminuiti, con il calo più drastico subito da parte dell'acqua [60].

La tabella 1 riporta in maniera riassuntiva tutti i prodotti delle sintesi condotte durante il lavoro di tesi. Sono state eseguite 11 sintesi dei *seeds* (AS), indicate come AS01-AS11, 9 delle quali sono proseguite con l'accrescimento (AP), AP01-AP02, AP04-AP05 e AP07-AP11. Sono state indicate le centrifughe eseguite sulle NPs accresciute, che hanno portato alla divisione di ogni soluzione in due aliquote differenti una di surnatante (SN) e una di pellet (PT).

Le sintesi sono proseguite con il ricoprimento con la *shell*, che hanno utilizzato sempre come punto di partenza per questo ultimo step i pellet dell'ultima centrifuga eseguita in quella specifica sintesi. Tra tutti questi campioni accresciuti e centrifugati, ne sono stati selezionati 6 per ottenere il ricoprimento con la *shell* di TiO_2 (CS), CS05, CS07-CS11. Infine, sono state selezionate 5 soluzioni per procedere con il trattamento solvotermale (BI), BI05, BI07, BI09-BI11, in corrispondenza dei quali sono riportate le condizioni utilizzate all'interno della bomba solvotermale, ove differenti rispetto a quelle assunte in partenza come standard ($T=150^\circ C$, $t=24h$, solvente: etanolo).

In tabella, vengono riportate anche le abbreviazioni utilizzate nel testo per riferirsi ad una data sintesi, indicata con il numero, o allo specifico step all'interno di una via sintetica, *seeds* (AS), core di *Ag* completi (AP), accrescimento con la *shell* (CS) e trattamento solvotermale (BI).

4.7 Metodi di misura

Nel seguente paragrafo vengono riportati i dettagli riguardanti le strumentazioni e le modalità operative utilizzate ai fini di compiere la caratterizzazione.

4.7.1 Spettroscopia elettronica UV/Vis

All'interno del seguente lavoro sperimentale, la spettroscopia UV/Vis è stata impiegata principalmente per monitorare l'assorbimento plasmonico dell'argento all'interno delle nanoparticelle core-shell. Gli spettri sono stati registrati tramite uno spettrofotometro a doppio raggio Agilent Cary 5000 UV-Vis-NIR impiegando cuvette in quarzo da fluorescenza aventi cammino ottico di 2 mm, attraverso il programma Cary WinUV Scan. Prima di ogni serie di misure è stata registrata la *baseline* per rimuovere da esse il contributo del solvente ed ottenere il bilanciamento dei due raggi di misura.

4.7.2 Diffrazione a raggi X

Le misure di diffrazione a raggi X sono state condotte su campioni in sospensione depositati su portacampioni adatti alle misure in *Zero-Background*, dopo aver atteso l'evaporazione del solvente (nel caso in cui ci fosse presente H_2O come solvente, è stata utilizzata una piastra riscaldante per innalzare la temperatura del portacampione al di sopra della temperatura atmosferica, in modo da velocizzare il processo di evaporazione dello stesso).

I diffrattogrammi riportati nel presente elaborato sono stati registrati con un diffrattometro D8 Advance Plus in geometria Bragg-Brentano utilizzando come sorgente la radiazione $K\alpha$ del rame ($\lambda=1.5406 \text{ \AA}$).

4.7.3 Microscopia elettronica

I campioni sono stati osservati al microscopio elettronico a trasmissione JEOL F200, dotato di un cannone a emissione di campo freddo. La microstruttura è stata caratterizzata mediante immagini ad alta risoluzione in modalità TEM (HRTEM), diffrazione e microscopia elettronica a scansione in

campo scuro ad alto angolo (HAADF-STEM). Le immagini ad alta risoluzione della morfologia di un campione sono state analizzate dal rivelatore di elettroni secondari operante in modalità STEM. L'analisi e la mappatura degli elementi sono state eseguite con uno spettrometro a raggi X a dispersione di energia (EDX) JEOL da 100 mm² in silicio.

I campioni sono stati preparati mediante drop-casting delle dispersioni su una griglia di rame supportata da carbonio (dimensione 400 mesh).

4.7.4 Spettroscopia di scattering Raman

Gli spettri Raman sono stati misurati utilizzando due *set-up* micro-Raman in geometria di *back-scattering* collocati al terzo piano del Centro Interchimico e al primo piano del quadrilatero dell'ex-Dipartimento di Chimica Fisica. Per comodità di notazione, nel seguito ci si riferirà ad essi rispettivamente come Raman Didattico e Raman Triplo.

L'apparato Raman Didattico impiega un laser ad Ar^+ (Spectra Physics), operante a 514 nm, accoppiato ad un microscopio (Olympus BX 40, Tokyo, Japan) equipaggiato con obiettivi 4x, 10x, 20x, 50x e 100x (Olympus SLMPL, Tokyo, Japan). Opportuni filtri *edge* e *notch* sono presenti rispettivamente per selezionare le transizioni Raman Stokes e rimuovere il contributo dello scattering elastico dallo spettro. La radiazione diffusa attraversa lo spettrografo (Triax-320 ISA) e viene rilevata tramite un sistema a conteggio di fotoni CCD (Spectrum One ISA Instruments) raffreddato ad azoto liquido.

L'apparato Raman Triplo, è equipaggiato con un laser in onda continua (*continuous wave, CW*) Ti:Zaffiro, modulabile nell'intervallo 675-1000 nm (MKS Instruments, Spectra Physics, 3900S, Santa Clara, CA, USA), pompato da un *CW Optical Pumped Semiconductor Laser* (Coherent, Verdi G7, Santa Clara, CA, USA). Il laser è accoppiato ad un microscopio (Olympus BX 40, Tokyo, Japan) e focalizzato sul campione con obiettivi 4x e 20x (Olympus SLMPL, Tokyo, Japan). La radiazione diffusa dal campione è raccolta nelle fenditure di uno spettrografo triplo (Jobin Yvon S3000, Horiba, Kyoto, Japan) costituito da un doppio monocromatore (Jobin Yvon, DHR 320, Horiba, Kyoto, Japan) con un filtro modulabile che permette di rimuovere la radiazione Rayleigh e uno spettrografo vero e proprio (Jobin Yvon, HR 640, Horiba, Kyoto, Japan). La rilevazione avviene tramite una CCD raffreddata ad azoto liquido (Jobin Yvon, Symphony 1024x256 pixels). Prima di ogni misura è stata eseguita una calibrazione misurando lo spettro di una lastrina di silicio ($\tilde{\nu}_{max} = 520 \text{ cm}^{-1}$).

Per effettuare le misure i campioni, in sospensione, sono stati depositati su una lastrina di vetro e analizzati solamente una volta atteso che il solvente fosse evaporato completamente.

Gli spettri Raman Stokes e anti-Stokes sono stati acquisiti per 10 volte con un tempo di acquisizione di 10 secondi l'uno, in funzione della potenza del laser incidente, in 3 posizioni differenti del campione. Dagli spettri sono state ricavate le aree Stokes e anti-Stokes, del modo E_{1g} dell'anatasio, a seguito di un processo di sottrazione della baseline e di interpolazione tramite fit con funzioni Lorentziane.

5. CARATTERIZZAZIONI

In seguito alla sintesi delle NPs core-shell, è stata condotta un'ampia caratterizzazione dei materiali prodotti, mediante l'utilizzo di tecniche chimico-fisiche differenti, permettendo una miglior comprensione delle proprietà del materiale.

La spettrofotometria UV/Visibile è stata utilizzata per studiare l'assorbimento plasmonico dell'argento, lo spettro di assorbimento elettronico permette di monitorare le dimensioni delle NPs e di verificare la presenza del ricoprimento, cioè della shell.

Le misure di microscopia ottica in trasmissione (TEM) sono risultate fondamentali per comprendere a pieno sia le dimensioni che le differenti morfologie delle NPs presenti in sospensione per completare l'assegnazione dei vari picchi di assorbimento nel visibile.

È stata condotta un'analisi dettagliata attraverso HR-TEM, SEM ed EDX per alcuni campioni selezionati in seguito all'analisi TEM. Le immagini di microscopia elettronica in trasmissione ad alta risoluzione rendono possibile la visione delle singole nanoparticelle di titania ed evidenziano la direzionalità dei piani cristallini, nelle zone cristalline, le valutazioni a riguardo saranno però effettuate tramite le immagini in diffrazione.

Infine, la diffrazione a raggi X (XRD) è risultata la più adeguata allo studio della cristallinità del materiale sintetizzato.

La comparazione dei risultati ottenuti con tutte queste tecniche ha permesso l'ottenimento di una caratterizzazione delle nanoparticelle quasi completa dal punto di vista morfologico.

Nel seguente capitolo saranno considerati tutti gli step sintetici in sezioni differenti, permettendo una comprensione sulla variazione progressiva delle sospensioni.

5.1 Soluzione di *Seeds* (AS)

La sospensione contenente i *seeds* di argento (AS01) ha mostrato un assorbimento molto piccato a $\lambda = 403 \text{ nm}$, il quale, secondo letteratura [62], può essere associato alla presenza di NPs sferiche aventi un diametro di circa 30 nm.

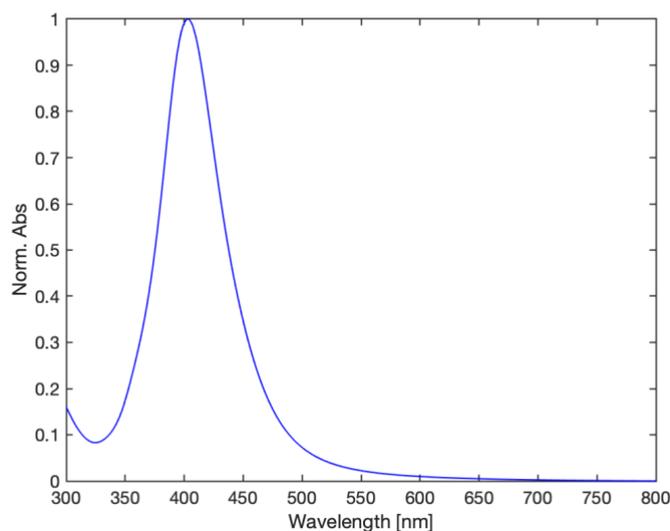


Figura 5.1.1: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione contenente *seeds* di argento (replica AS01)

I *seeds* delle sintesi successive (AS02-AS10) hanno prodotto NPs caratterizzate sempre dallo stesso spettro di assorbimento, dimostrando una buona riproducibilità nella loro formazione, come viene illustrato nella figura 5.1.2 (a).

Il controllo della stabilità temporale della sospensione colloidale è avvenuto mediante l'acquisizione degli spettri di assorbimento raccolti in tempi differenti: 0 giorni (appena sintetizzate), 2 giorni, 3 giorni e 3 settimane dopo. La figura 5.1.2 (b) illustra come, grazie alla presenza del tensioattivo in soluzione, le nanoparticelle rimangano stabili senza portare ad aggregazione e/o coalescenza.

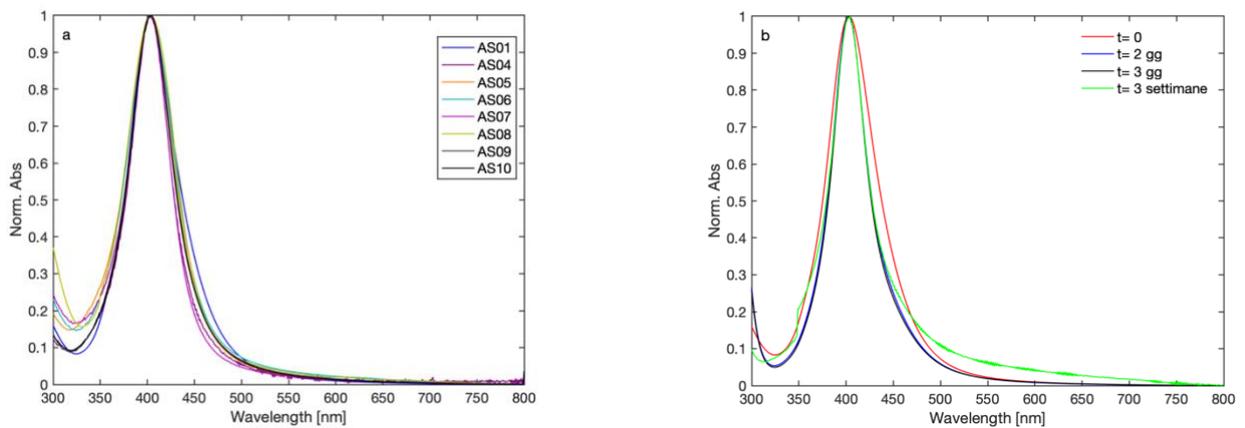


Figura 5.1.2: Spettri di assorbimento UV/Vis di repliche di sintesi di *seeds* di argento, AS01-AS10 (a) e confronto degli assorbimenti del campione AS01, raccolti nel tempo, al momento della sintesi (linea rossa), 2 giorni dopo (linea blu), 3 giorni dopo (linea nera) e 3 settimane dopo (linea verde) (b)

Le immagini TEM della sospensione AS06 di *seeds* di Ag confermano la formazione di morfologie più o meno sferiche. L'analisi dimensionale è stata condotta tramite il software Fiji [63], selezionando tutto il perimetro di ogni nanoparticella ed usufruendo della possibilità del programma di valutare alcuni parametri, quali il diametro di Feret e l'*aspect ratio*. Le dimensioni in seguito riportate saranno intese come lunghezza (in nm) del diametro di Feret.

Per la sintesi AS06, sono state ottenute le distribuzioni dimensionali mostrate in figura 5.1.4. in cui risulta evidente un'inomogeneità nelle stesse, con presenza di gruppi di NPs di dimensioni differenti. Una più compatta centrata a $7 (\pm 2) \text{ nm}$, una a $26 (\pm 9) \text{ nm}$. Le incertezze associate sono state calcolate come deviazione standard.

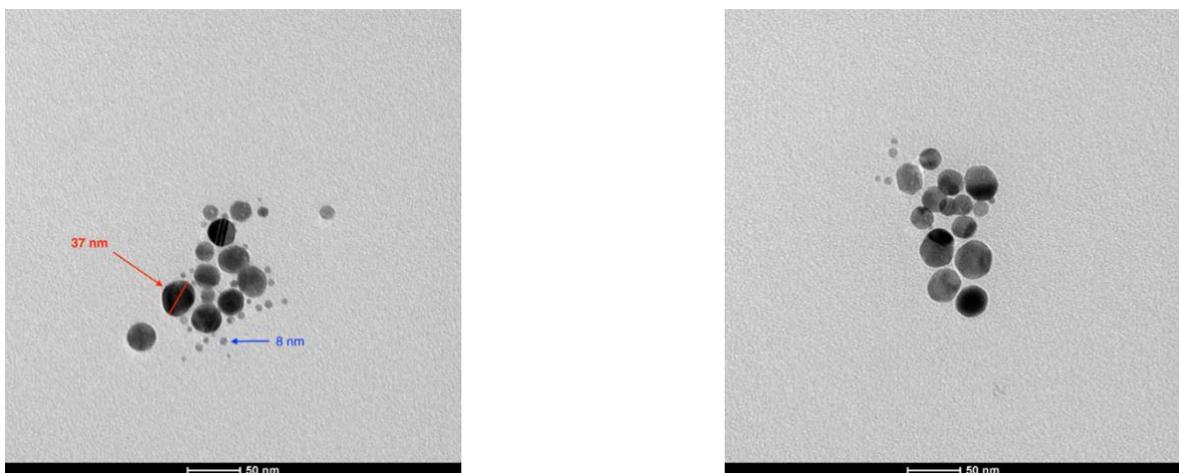


Figure 5.1.3: Immagini TEM del campione AS06. Nel pannello di sinistra sono evidenziati anche il diametro di una NP di grandi dimensioni (37 nm) e quello di una di piccole dimensioni (8 nm)

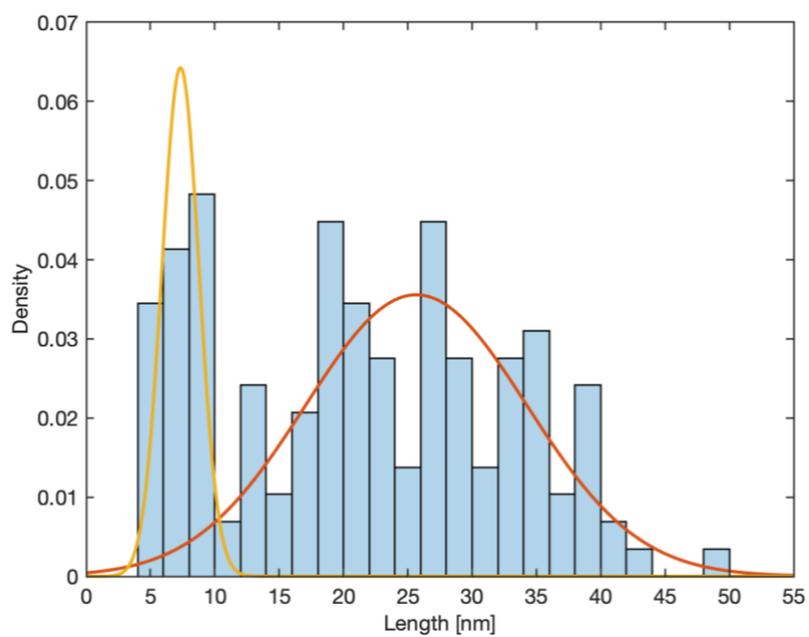


Figura 5.1.4: Distribuzioni dimensionali del campione AS06

5.2 Core di Argento (AP)

Le sospensioni ottenute in seguito all'accrescimento dei core metallici delle varie sintesi (AP01 - AP10) hanno mostrato gli assorbimenti riportati in figura 5.2.1, si vedano le figure A1 - A7 in appendice A per i dettagli riguardanti i singoli spettri di ogni sintesi:

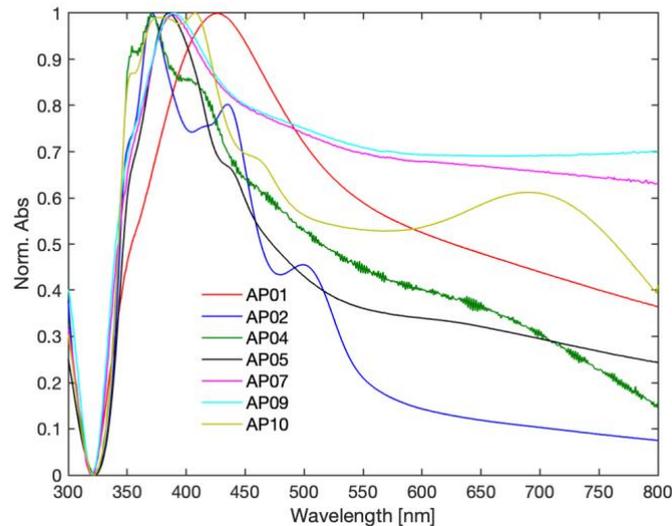


Figura 5.2.1: Spettri di assorbimento dei core di Ag delle sintesi differenti

È evidente come la crescita delle strutture di argento non sia stata omogenea, sia per quanto riguarda le dimensioni che per la morfologia. Attraverso un confronto con la letteratura scientifica presente [64-66], risulta possibile un'assegnazione di ogni picco di assorbimento, che viene correlato ad una dimensione e morfologia di nanostruttura differente.

Come riportato in letteratura, il massimo di assorbimento plasmonico subisce un red-shift rispetto alla sospensione di *seeds*, in seguito all'aumento dimensionale dovuto all'accrescimento, fino ad arrivare a dimensioni di ~ 70 nm dove iniziano a comparire gli assorbimenti dovuti non solo a risonanze dipolari, ma anche quadrupolari o multipolari, mostrati in figura 5.2.2 [64].

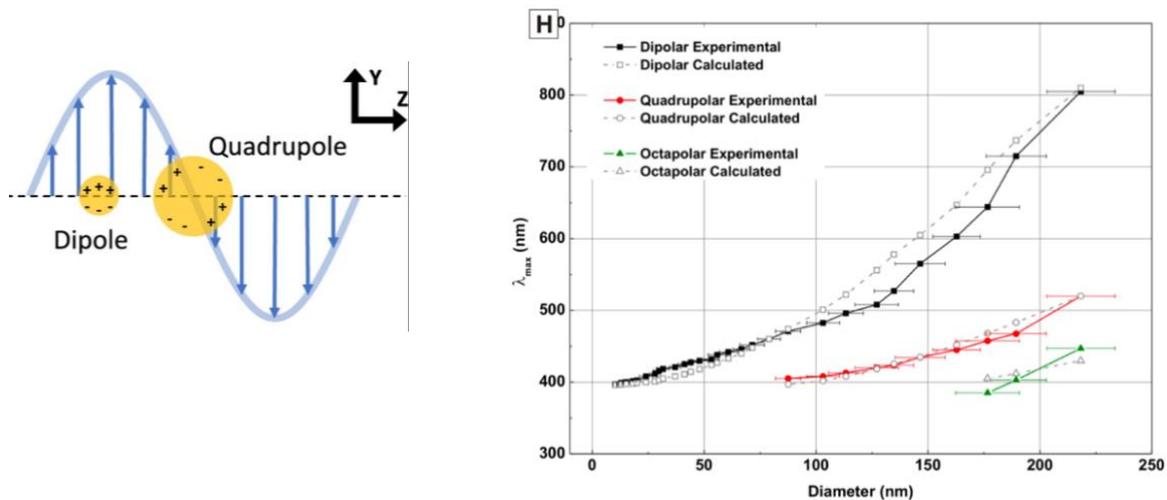


Figura 5.2.2: Schema illustrativo sulla natura degli assorbimenti dipolari e quadrupolari di una NP (sinistra) [64]. Confronto tra le posizioni di risonanza plasmonica dipolare, quadrupolare e ottapolare delle NP di Ag in funzione delle dimensioni (destra) [65]

Tramite centrifugazione del prodotto ottenuto, è stato ricercato l'ottenimento della selezione di dimensioni e di morfologie più definite. A tal fine, una frazione della sospensione AP02, il cui spettro di assorbimento è riportato anche nella figura A2, è stata centrifugata ripetutamente, secondo le condizioni riportate in tabella 2.

Tabella 2: Parametri relativi alle centrifughe effettuate con la sospensione AP02.

Centrifuga n°	Durata (minuti)	Velocità (RCF)
1	10	380
2	20	590
3	10	850
4	10	1160
5	10	1520
6	10	1920
7	10	2370
8	10	2870

Gli spettri di assorbimento sono riportati nelle figure A8 e A9 rispettivamente per i pellet e i surnatanti di ogni centrifuga. È stata riscontrata una significativa separazione delle NPs in sospensione, ma successive riproduzioni non hanno portato agli stessi risultati, mostrando una scarsa ripetibilità del processo di separazione. In aggiunta è importante sottolineare che il seguente lavoro si è posto come obiettivo l'ideazione di una via sintetica ottimale, mentre lo sfruttamento delle centrifughe post sintetiche avrebbe permesso un possibile miglioramento della situazione, senza però evitare la formazione di NPs di forme e dimensioni molto differenti.

I picchi (o spalle) centrati a 430 e 464 nm risultano associabili alla risonanza dipolare di NPs di forma sferica, con dimensioni di circa 40 e 60 nm rispettivamente. Con l'aumento dimensionale, ne consegue un ritardo di fase tra zone differenti dello stesso nanosistema, gli elettroni risentono di campi elettromagnetici differenti causando lo sviluppo di nuovi modi di assorbimento quadrupolari ad energie maggiori, 390 – 400 nm. La rappresentazione schematica delle due tipologie di risonanza è mostrata nella figura 5.2.2.

Gli spettri di assorbimento presenti in figura 5.2.1 mostrano delle modifiche radicali rispetto alle previsioni per NPs più o meno sferiche illustrate dettagliatamente da *Bastùs et al.* [65]. Queste variazioni sono dovute alla possibile presenza di *nanorods*, i cui assorbimenti sono legati alla presenza di risonanze lungo le direzioni trasversali e longitudinali delle nanostrutture. La posizione di questi picchi è estremamente variabile e correlata al valore del cosiddetto *aspect ratio* (AR). Nel preciso caso dei *nanorods*, l'AR viene definito come il rapporto tra la lunghezza ed il diametro del *nanorod*. La posizione del picco associato all'assorbimento trasversale risulta più o meno costante, con variazioni da ~370 a ~380 nm all'aumentare dell'AR, mentre quello longitudinale, per gli stessi cambiamenti di AR, porta ad una diminuzione di energia fino all'uscita dal visibile per AR>5, tipica di strutture *nanowires* piuttosto che di *nanorods*.

Nel caso dei campioni AP07 e AP09 sono presenti solo i picchi dovuti all'assorbimento trasversale. La mancanza del secondo può derivare da uno shift elevato, con conseguente assorbimento nel vicino IR oppure potrebbe essere stato coperto dall'elevato scattering provocato da queste sospensioni.

In seguito, vengono riportate le immagini TEM relative alle diverse repliche della sospensione delle NPs di Ag.

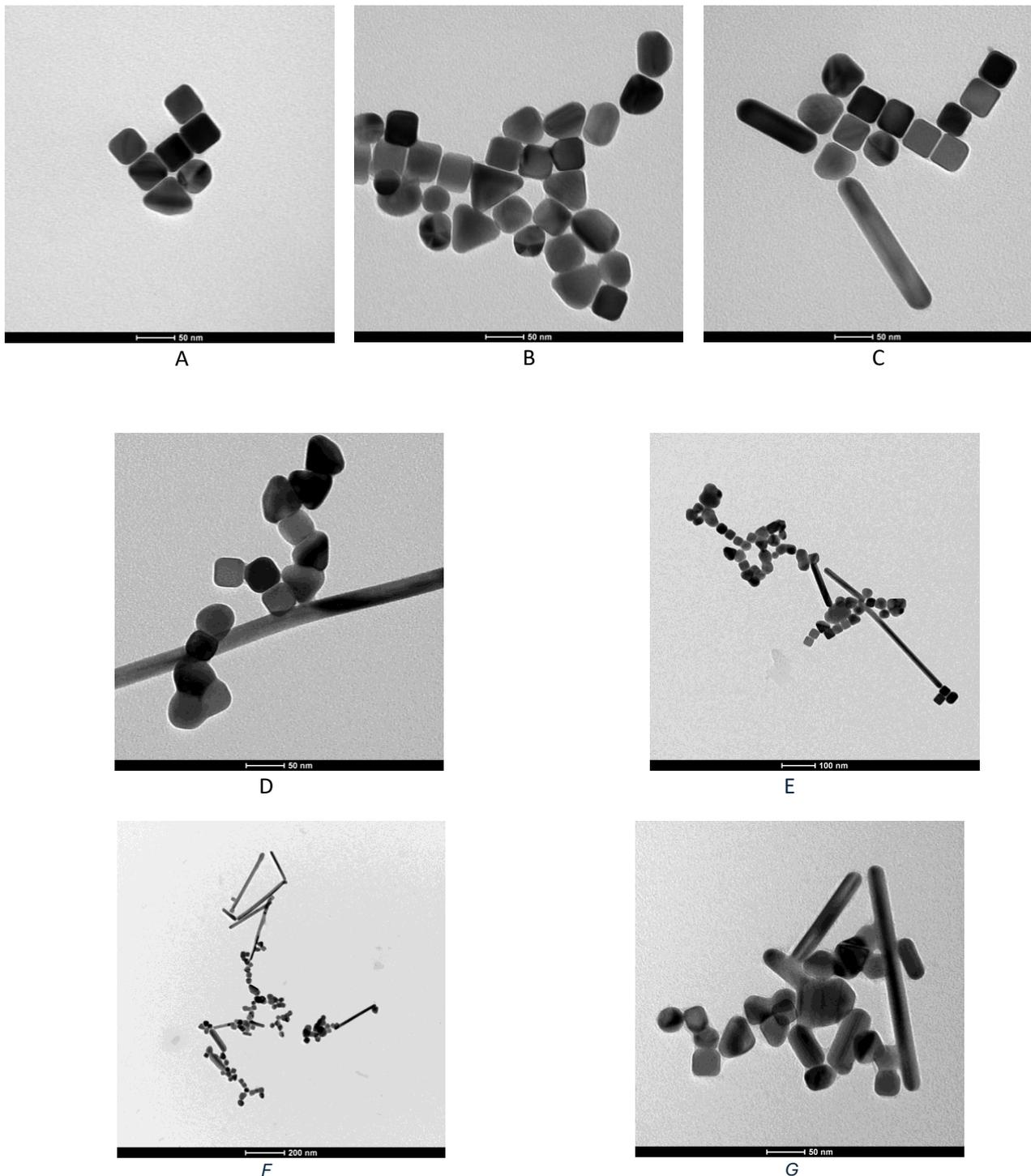


Figure 5.2.3: Immagini TEM relative alle sospensioni AP06 (A-C), AP04 (D-E), AP05 (TEM F-G)

L'acquisizione delle immagini è avvenuta tramite l'utilizzo di ingrandimenti differenti al fine di evidenziare le elevate dimensioni dei *nanorods* e *nanowires* presenti e per mostrare meglio eventuali agglomerati.

La vasta gamma di morfologie osservate con le immagini TEM ha giustificato la complessità riscontrata negli spettri di assorbimento (composti dalle risonanze di più morfologie).

In questi casi le analisi dimensionali sono state condotte ponendo particolare attenzione alla selezione delle NPs da analizzare. Entrando maggiormente nel dettaglio, sono stati presi i diametri di Feret di tutte le strutture delle quali fosse possibile: per esempio l'immagine 5.2.3 (D) presenta un *rod* che fuoriesce dal campo visivo analizzato e che non è stato considerato nel conteggio. In seguito, è stato effettuato un confronto incrociato con i valori calcolati di AR e le strutture aventi $AR > 1.3$, quindi attribuibile a strutture allungate simili a *rods*, non sono state considerate per il fitting gaussiano dei dati, in quanto derivanti da crescita anisotropiche.

Le distribuzioni relative alle figure 5.2.4 valgono rispettivamente, $58 \pm 8 \text{ nm}$ per la replica AP02, $57 \pm 14 \text{ nm}$ per AP04 e 46 ± 8 per AP05. I valori contrassegnati in arancione non sono stati presi in considerazione poiché appartenenti a *rods* più o meno lunghi che non contribuiscono alla misurazione delle sole nanoparticelle con $AR < 1.3$.

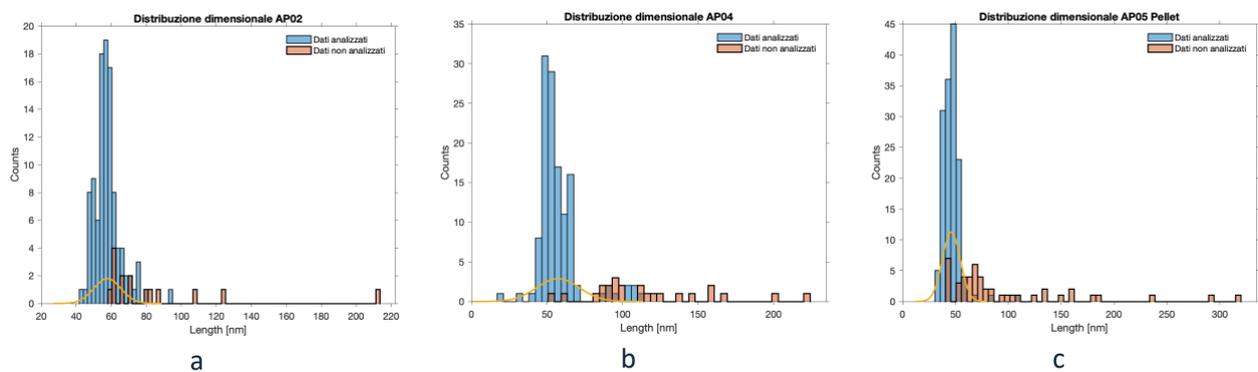


Figure 5.2.4: Distribuzioni dimensionali delle NPs sintetizzate AP02 (a), AP04 (b), AP05 (c)

Per la replica AP05 sono state condotte anche analisi maggiormente approfondite. Le immagini ad alta risoluzione del TEM (HR-TEM) hanno permesso la visualizzazione più nitida delle morfologie e delle distanze tra NPs confermandone la loro separazione.

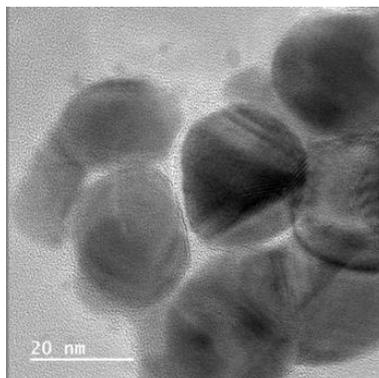


Figura 5.2.5: HR-TEM della sospensione AP05

Successivamente sono stati considerati piccoli cluster di NPs, figura 5.2.6 per eseguirne un'analisi composizionale tramite tecnica EDX, il cui spettro è mostrato 5.2.6 (c). In figura è riportata anche la distribuzione spaziale elementare dell'argento, unico elemento significativamente presente in questo step della sintesi.

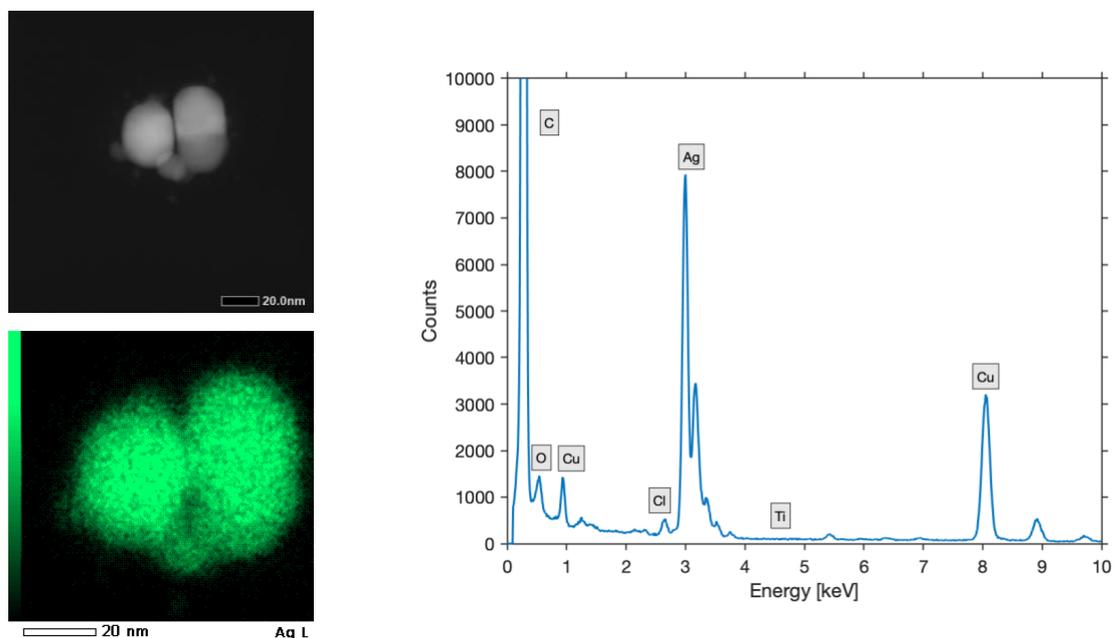


Figura 5.2.3: Zona analizzata tramite spettroscopia EDX appartenente al campione AP05 (a), distribuzione spaziale dell'elemento Ag (b), spettro EDX (c)

Tabella 3: Valori ottenuti dalle analisi EDX sulla zona considerata di AP05. La percentuale in massa mancante per l'ottenimento del 100% è riferita ai segnali di C e Cu, molto presenti anche nello spettro ed ascrivibili alla griglia portacampione.

Elemento	keV	% in massa
O	0.525	0.29
Cl	2.621	0.01
Ag	2.984	13.12
Ti		0.00

Risulta importante sottolineare come i segnali del carbonio (a 0.28 eV) e del rame (a 0.93, 8.05 eV) siano associabili alla griglia su cui è stato depositato il materiale. L'ossigeno è dovuto alla formazione

di ossidi sulla superficie del, mentre il cloro è sicuramente dovuto a dei residui in seguito all'utilizzo del CTAC come stabilizzante.

Le immagini acquisite mediante HR-TEM sono state successivamente processate attraverso il software Fiji. La selezione di zone ben distinte delle immagini, costituita dal rettangolo rosso evidenziato in figura 5.2.7 (a), ha permesso di ottenere dei diffrattogrammi, attraverso la funzione "Trasformata di Fourier" (FT). All'interno di queste zone è stato possibile distinguere i differenti segnali, gli spot luminosi evidenziati in figura 5.2.7 (b), relativi ai reticoli cristallini presenti nella zona analizzata. L'esempio riportato in figura 5.2.7 è relativo ad una sola area, con annesso diffrattogramma, ma la misura è stata ripetuta in più aree distinte permettendo di confermare i risultati proposti in tabella 4. I valori delle distanze interplanari ottenuti con queste misure sono stati comparati con quelli presenti in letteratura. L'analisi dei diffrattogrammi è stata effettuata tramite il software DIFFRAC.EVA e l'utilizzo di un database cristallografico per il matching dei riflessi presenti [66].

Ogni coppia di punti, simmetrici rispetto al centro luminoso, sono relazionati al valore della distanza interplanare, d , del reticolo cristallino di appartenenza, tramite l'equazione seguente: Ogni coppia di punti, simmetrici rispetto al centro luminoso, sono relazionati al valore della distanza interplanare, d , del reticolo cristallino di appartenenza, tramite l'equazione seguente:

$$d \text{ (nm)} = 1/[\ell/2] \qquad \text{eq. 20}$$

Nella quale ℓ indica la lunghezza del segmento congiungente gli spot luminosi e viene espresso tramite l'unità di misura 1/nm poiché in seguito alla FT, l'immagine ottenuta sarà quella raffigurante lo spazio reciproco.

Tabella 4: Valori ottenuti dall'analisi delle immagini HR-TEM. I dati di letteratura sono stati ottenuti dal database cristallografico di DIFFRAC.EVA [66]

Dato sperimentale	Dati Letteratura [66]				
d (nm)	d (nm)	2θ (°)	h	k	l
0.236	0.236	38.121	1	1	1
0.231	0.236	38.121	1	1	1
0.209	0.204	44.308	2	0	0
0.200	0.204	44.308	2	0	0
0.147	0.144	64.458	2	0	2
0.141	0.144	64.458	2	0	2
0.135	0.123	77.415	3	1	1
0.133	0.123	77.415	3	1	1

Queste misure permettono la visualizzazione dei piani cristallini ottenuti nel materiale in esame, portando con certezza all'assegnazione delle direzionalità dei reticoli di Bravais.

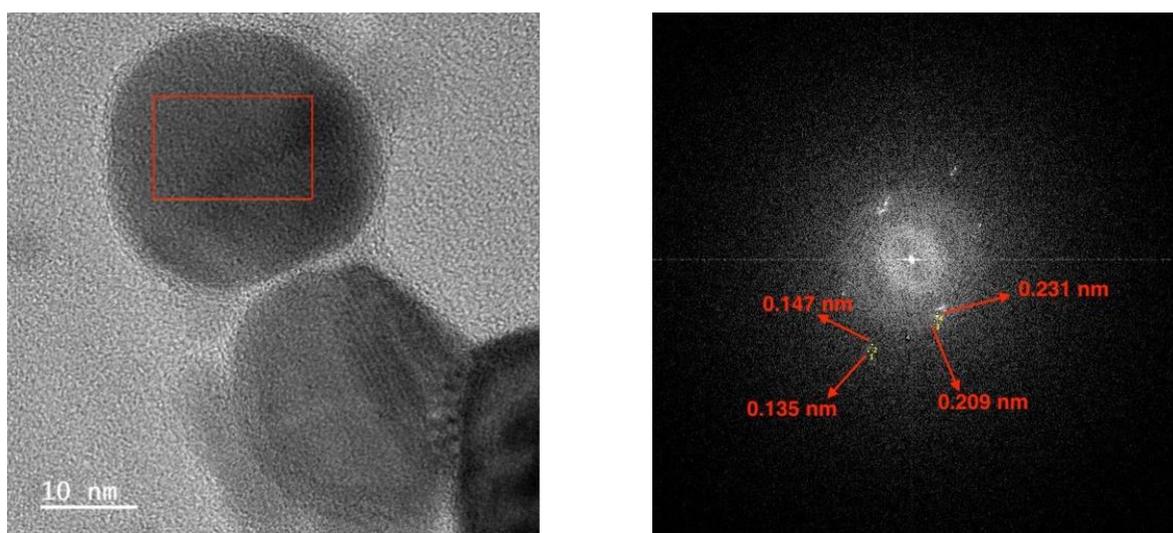


Figura 5.2.7: HR-TEM con in rosso la zona considerata per l'analisi tramite FT (a) e i relativi spot luminosi identificativi dei differenti piani cristallografici (b). Analisi compiuta sul campione riferito alla sintesi AP02

Nel caso illustrato in figura 5.2.8 è stata trovata corrispondenza con i riflessi dell'Ag cubico, riportati nel diffrattogramma con le linee rosse, la cui altezza indica l'intensità relativa; risulta abbastanza chiaro come non vi sia nessun dubbio riguardante l'assegnazione dei riflessi.

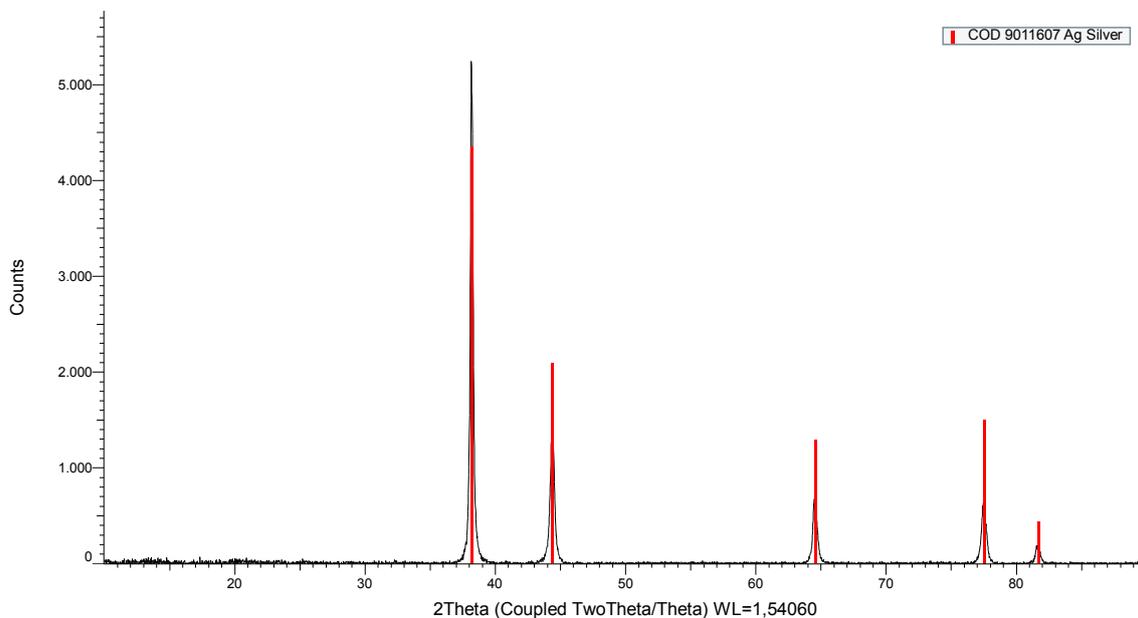


Figura 5.2.8: Diffrattogramma XRD del campione AP09

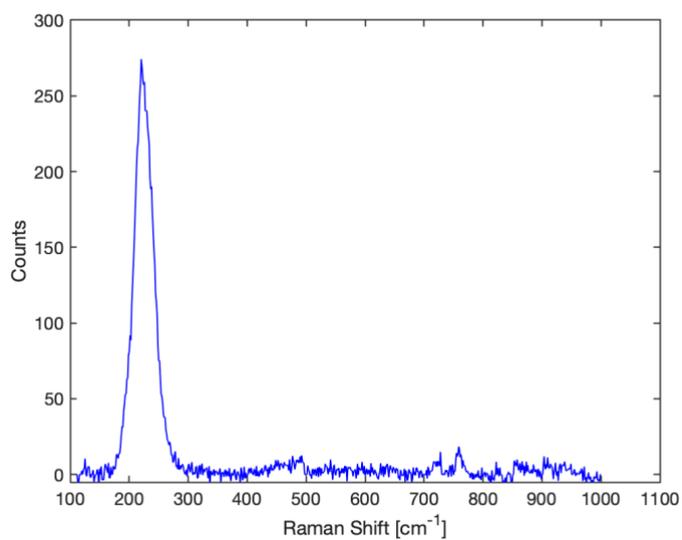


Figura 5.2.9: Spettro Raman della sospensione AP09. Acquisito con filtro ottico OD 2, fenditura 100 μm, 5 acquisizioni da 10 secondi

Dallo spettro di scattering Raman delle Ag NPs si nota un picco intenso a $\nu = 241 \text{ cm}^{-1}$ assegnabile al modo normale $Ag - O$ [68]. È importante sottolineare che per l'argento, come per l'oro, non ci sono modi Raman attivi, gli unici segnali visibili sono dovuti alla vibrazione di specie superficiali, come nel caso mostrato.

5.3 Core-Shell $Ag@TiO_2$ (CS)

Lo step riguardante il ricoprimento dei core metallici con la shell di ossido porta come conseguenza un'inevitabile variazione dell'indice di rifrazione locale nelle vicinanze dell'argento. Questo cambiamento causa un *red shift* dei picchi plasmonici. In questo modo, già dalla sola osservazione degli spettri di assorbimento è possibile una comprensione iniziale sulla bontà del ricoprimento.

Per comodità sono stati riportati solo gli spettri delle repliche per le quali è stata eseguita tutta, o gran parte, della procedura di caratterizzazione illustrata nel capitolo 5.2 per i core di Ag. Ulteriori spettri UV/Vis con i relativi shift plasmonici saranno presenti in Appendice A.

Per la replica CS05, la risonanza plasmonica più intensa dell'argento risulta modificata di 70 nm , passando da 388 nm per i soli core a 458 nm per le core-shell (CS).

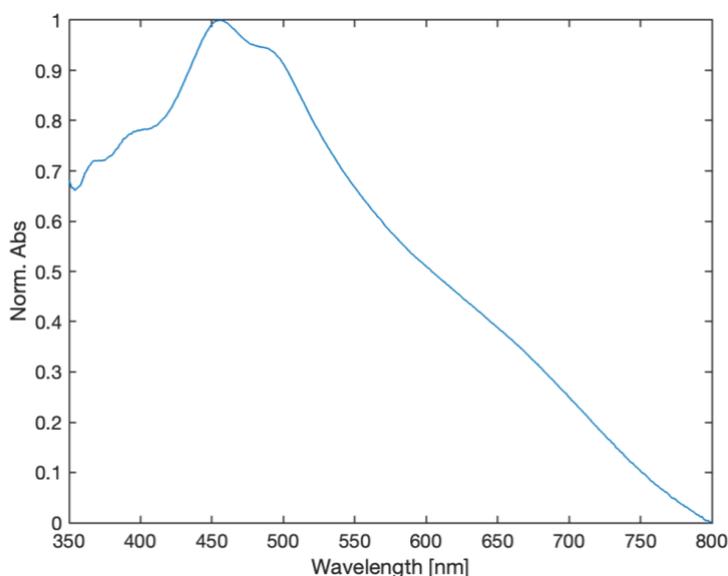


Figura 5.3.1: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione CS05

Le immagini TEM, riportate in figura 5.3.2, hanno confermato come il ricoprimento di ossido si vada a posizionare sempre nelle immediate vicinanze dei centri metallici, non formando mai agglomerati

indipendenti. Bisogna comunque porre l'attenzione anche sulla presenza di zone in cui il ricoprimento non racchiude un core di Ag.

Le immagini dei TEM ad alta risoluzione (figura 5.3.3), e le relative FT, si sono rivelate estremamente utili anche in questo caso. La presenza di un materiale accoppiato (metallo-ossido) ha reso possibile la visualizzazione della composizione e delle fasi cristalline presenti a livello locale, i dettagli di queste ultime sono riportati nelle tabelle 5 e 6 per *Ag* e *TiO₂* rispettivamente.

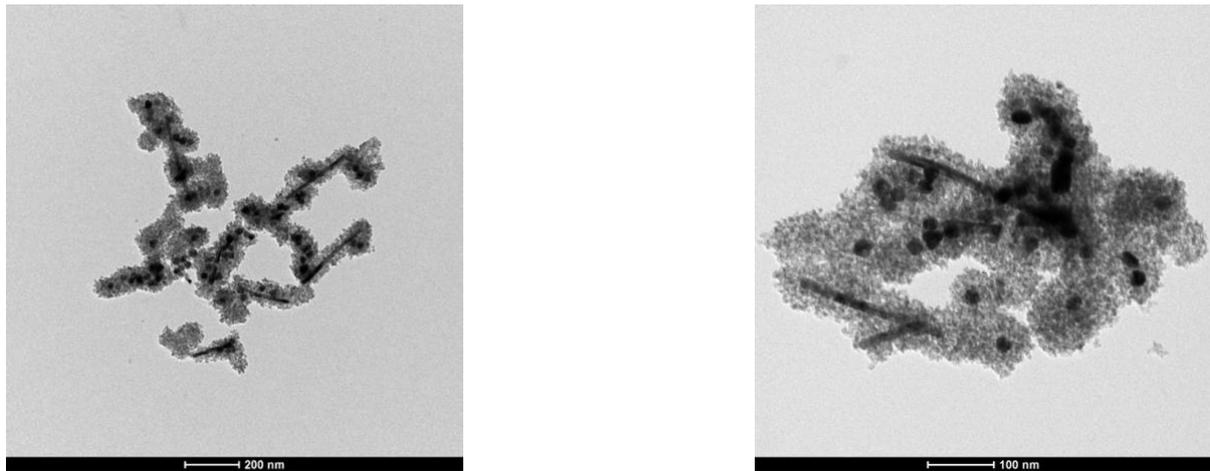


Figura 5.3.2: Immagini TEM delle nanoparticelle core-shell CS05

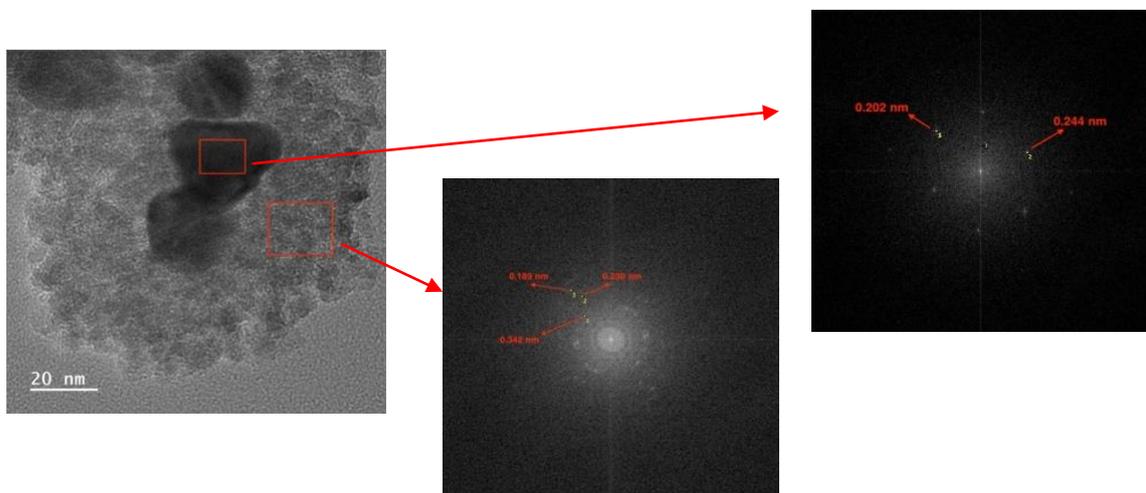


Figure 5.3.3: HR-TEM delle CS05 con relativa trasformata di Fourier nelle zone di solo argento e sola titania. In rosso sono riportati anche i valori dei lattice spacings trovati in seguito all'analisi

Tabella 5: Valori di *lattice spacings* ottenuti per l'argento dall'analisi delle immagini HR-TEM. I dati di letteratura sono stati ottenuti dal database cristallografico di DIFFRAC.EVA [67].

Dato sperimentale	Dati di letteratura				
d (nm)	d (nm)	2θ (°)	h	k	l
0.244	0.236	38.121	1	1	1
0.241	0.236	38.121	1	1	1
0.202	0.204	44.308	2	0	0
0.137	0.144	64.458	2	0	2
0.121	0.123	77.415	3	1	1

Tabella 6: Valori di *lattice spacings* ottenuti per la titania dall'analisi delle immagini HR-TEM. I dati di letteratura sono stati ottenuti dal database cristallografico di DIFFRAC.EVA [67]

Dato sperimentale	Dati Letteratura				
d (nm)	d (nm)	2θ (°)	h	k	l
0.342	0.352	25.271	0	1	1
0.246	0.244	36.87	0	1	3
0.230	0.234	38.509	1	1	2
0.197	0.189	47.980	0	2	0
0.189	0.189	47.980	0	2	0
0.151	0.150	62.01	1	2	3

Le nanoparticelle *core-shell* complete, a differenza dei soli *core* metallici, sono risultate più interessanti durante l'analisi composizionale. Vi è infatti la possibilità di visualizzare spazialmente la locazione degli elementi registrati per verificare che le aspettative riguardanti la struttura tipo *core-shell* fosse rispettata. Quest'ultimo punto è stato confermato anche grazie alle immagini SEM, riportate in figura 5.3.4 (a), le quali mostrano il completo ricoprimento dell'argento da parte della titania.

La tabella 7 mette in evidenza le quantità massive, e molari, degli elementi presenti. Queste informazioni sono state ottenute grazie allo spettro EDX dell'intero cluster di nanoparticelle della figura 5.3.4, riportato nella figura A10. Si sottolinea la presenza di poco più del doppio delle moli di *O* rispetto a quelle di *Ti*, confermando la proporzione 2:1 dettata dalla stechiometria dell'ossido (TiO_2).

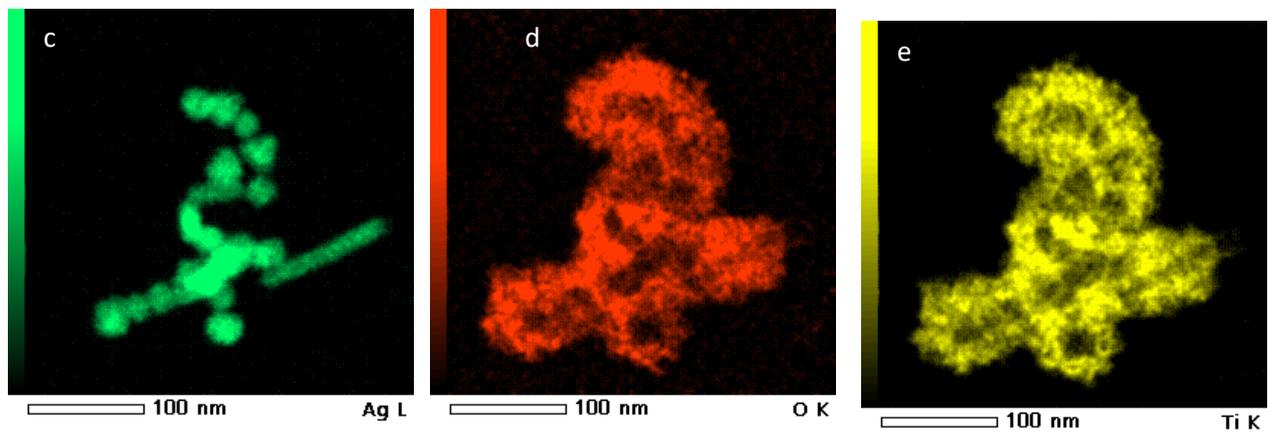
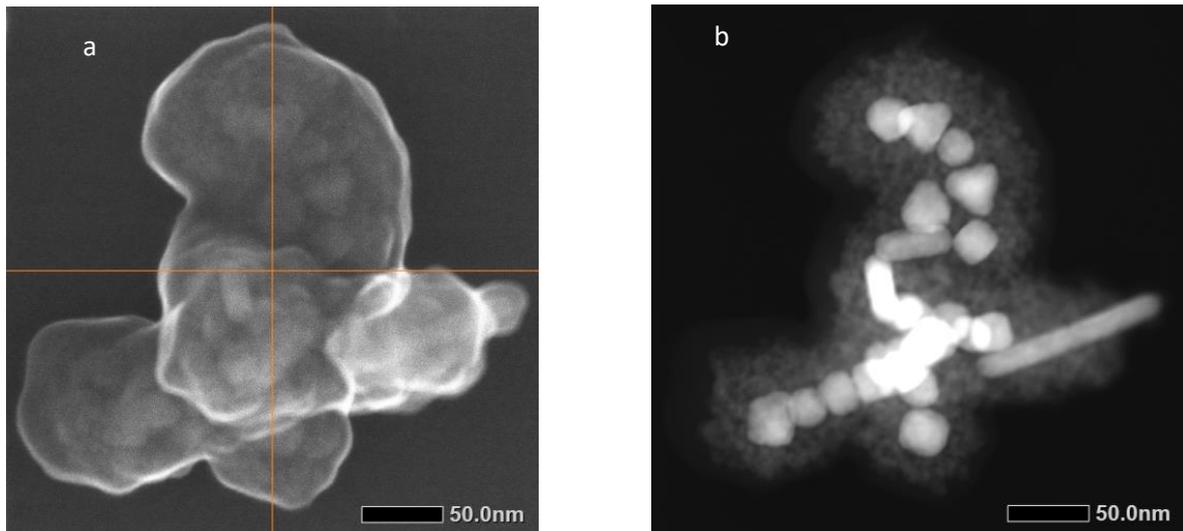


Figure 5.3.4: Immagini SEM (a), TEM (b), e mappe elementari di Ag (c), O (d), Ti (e) per un cluster di nanoparticelle del campione CS05

Tabella 7: Quantità massive e molari degli elementi presenti nel campione CS05. Le informazioni sono state ottenute dallo spettro EDX del cluster di nanoparticelle in figura 5.3.4.

Elemento	<i>keV</i>	% in massa	Dividendo per la Massa Molare
O	0.525	22.67	1.42
Cl	2.621	0.00	0.00
Ag	2.984	44.94	0.41
Ti	4.508	32.39	0.68

Al fine di comprendere il grado di cristallinità in questo step del processo è stata eseguita un'analisi XRD sul campione CS09, il cui spettro di assorbimento e le immagini TEM sono rispettivamente riportati in A11 - A12.

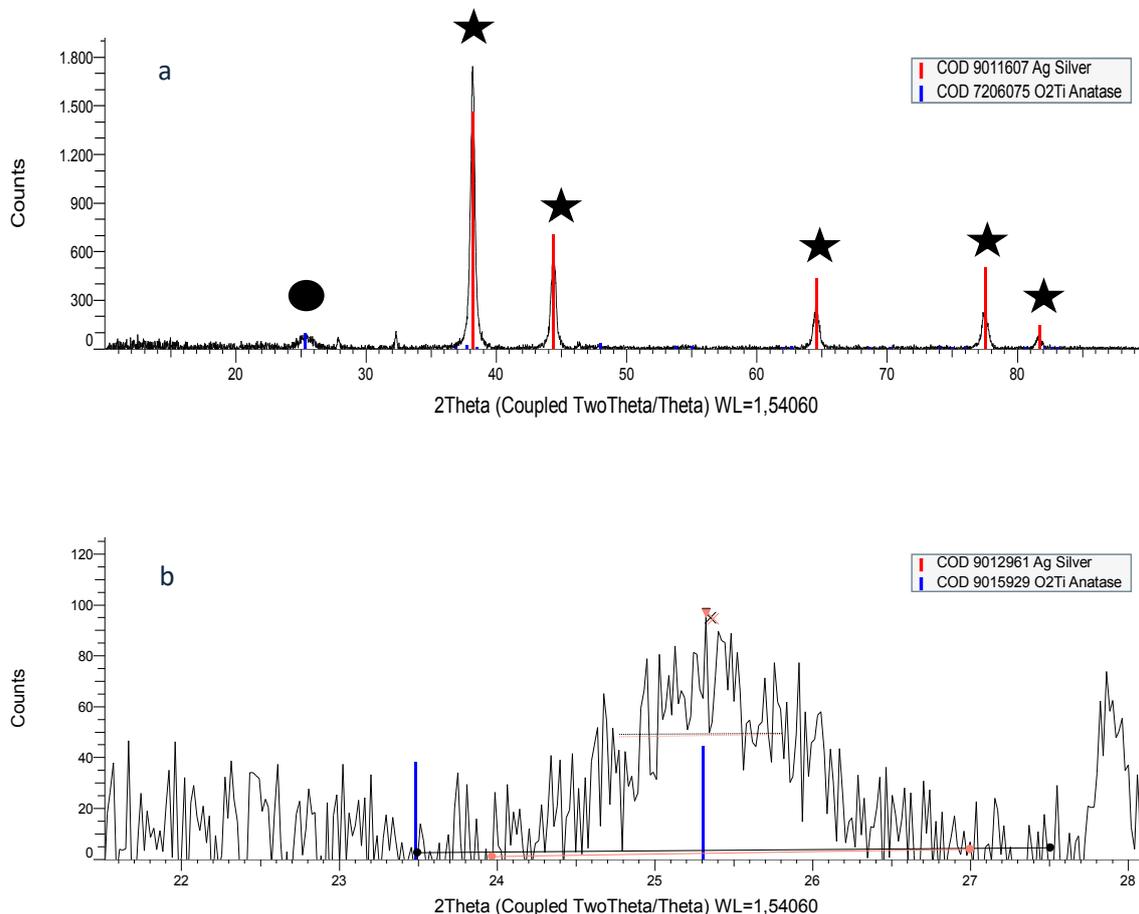


Figure 5.3.5: Diffattogramma XRD con relativa assegnazione dei riflessi dell'Ag cubico (stella) e dell'anatasio (cerchio) (a) e ingrandimento del riflesso dell'anatasio (b) per il campione CS09

L'immagine 5.3.5 (a) mostra sia il pattern caratteristico dell'argento cubico (in rosso), sia il riflesso dovuto all'ossido di titanio, sotto forma di anatasio (in blu) a circa $2\theta = 25^\circ$. Si noti che quest'ultimo segnale risulta molto poco intenso, indice del fatto che il grado di cristallinità è decisamente ridotto. Non va dimenticato però che il materiale è stato solo posto a reflusso per indurre il compimento del processo sol-gel.

L'integrazione delle aree dei picchi permette anche l'ottenimento delle dimensioni dei cristalliti, che nel caso seguente sono risultate essere 25 nm per l'Ag e circa 10 per TiO_2 .

Risulta necessario enfatizzare che il valore dell'anatasio non possiede scarsa attendibilità; infatti, all'aumentare della larghezza a metà altezza (FWMH) dei picchi vi è una diminuzione della

dimensione dei cristalliti, portando ad un'incertezza elevata sul corretto calcolo dell'area, come risulta apprezzabile dall'immagine 5.3.5 (b).

Lo spettro Raman della replica CS09 viene mostrato in figura 5.3.6 (a), dove viene anche riportato per confronto uno spettro dell'anatasio registrato a partire da NPs di anatasio puro sintetizzato in laboratorio (b). Si comprende chiaramente come il materiale sia stato ricoperto in maniera completa. Il segnale dovuto ad $A_g - O$ centrato a $\tilde{\nu} = 241 \text{ cm}^{-1}$, che nello spettro 5.2.9 risultava essere l'unico segnale visibile, è scomparso, mentre ora predominano i segnali caratteristici dell'anatasio: $\tilde{\nu} = 148, 399, 516, 635 \text{ cm}^{-1}$, corrispondenti rispettivamente ai modi $E_g(1)$, B_{1g} , $A_g + E_g$, $E_g(2)$.

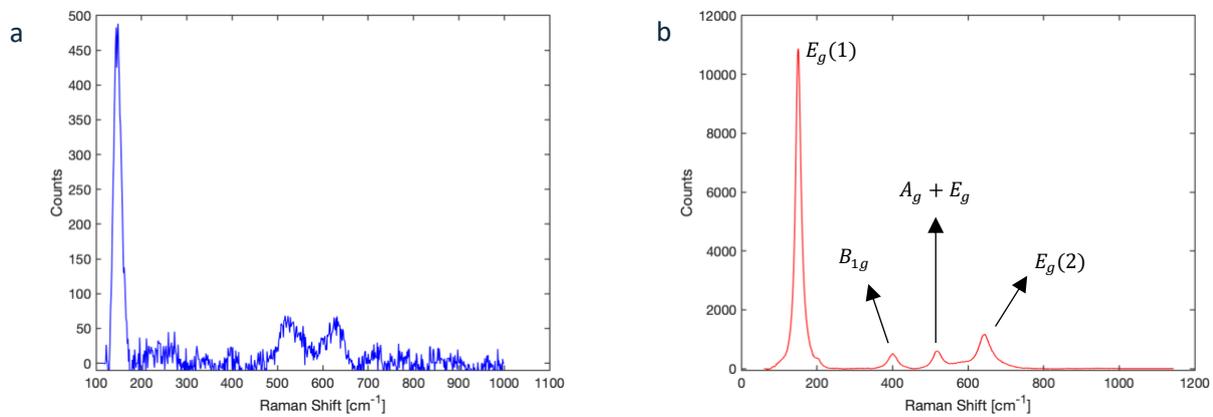


Figura 5.3.6: Spettro Raman del campione CS09 (a). Acquisito con filtro ottico OD 1, fenditura $100 \mu\text{m}$, 5 acquisizioni da 10 secondi. Per confronto viene riportato anche uno spettro Raman dell'anatasio puro (b) nel quale vengono evidenziati anche i segnali caratteristici e la loro assegnazione

5.4 Trattamenti in bomba solvotermale (BI)

Le condizioni ottimali scelte inizialmente per i trattamenti solvotermali sono state: $T = 150^{\circ}\text{C}$ e $t = 24\text{ h}$ di permanenza in forno (ventilato).

La sintesi BI09 ha mostrato delle modifiche riguardanti lo spettro di assorbimento, in quanto il picco di assorbimento è risultato shiftato verso il blu di circa 20 nm, ottenendo un picco base a $\lambda = 449\text{ nm}$ (lo spettro precedente al trattamento è stato riportato in appendice, A 11)

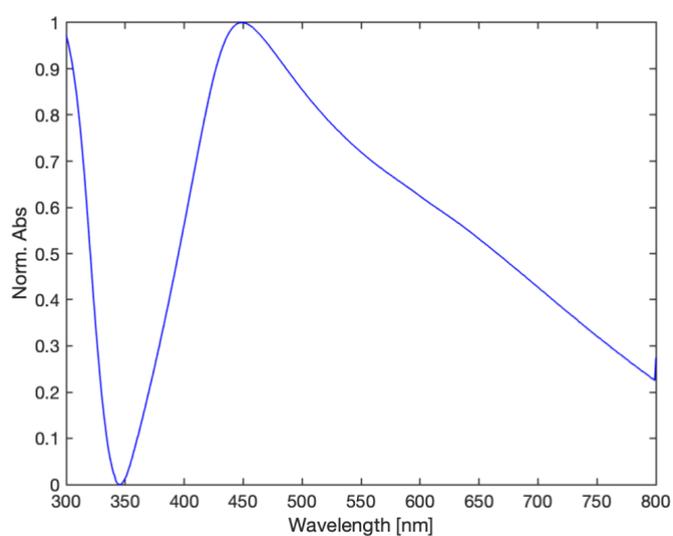


Figura 5.4.1: Spettro di assorbimento UV/Vis del campione BI09

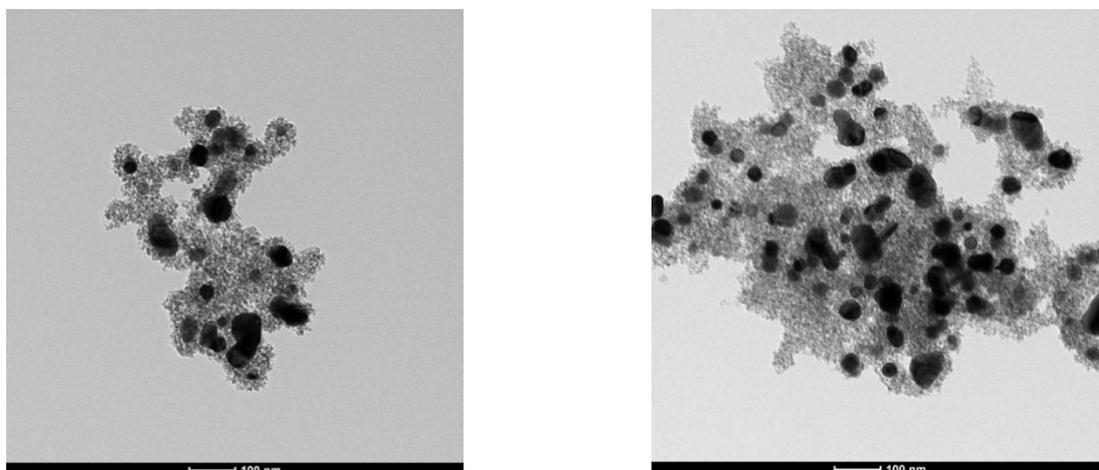


Figure 5.4.2: Immagini TEM della sospensione BI09

Dalle immagini TEM, in figura 5.4.2, non sono state notate sostanziali differenze rispetto a quelle prese sullo stesso campione prima del trattamento in bomba, si veda figura A12. Per indagare più nel dettaglio questo aspetto, il campione è stato analizzato ad un livello di risoluzione maggiore ottenendo le immagini riportate in figura 5.4.3. In questo caso sono state visualizzate con una maggior definizione le nanoparticelle di TiO_2 , le quali non appaiono più come una ricopertura continua, intravedendo dunque la forma delle singole NPs. A differenza del campione CS09, in questo caso le dimensioni delle distanze interplanari sono state acquisite tramite misure di diffrazione compiute direttamente al TEM, immagine 5.4.4.

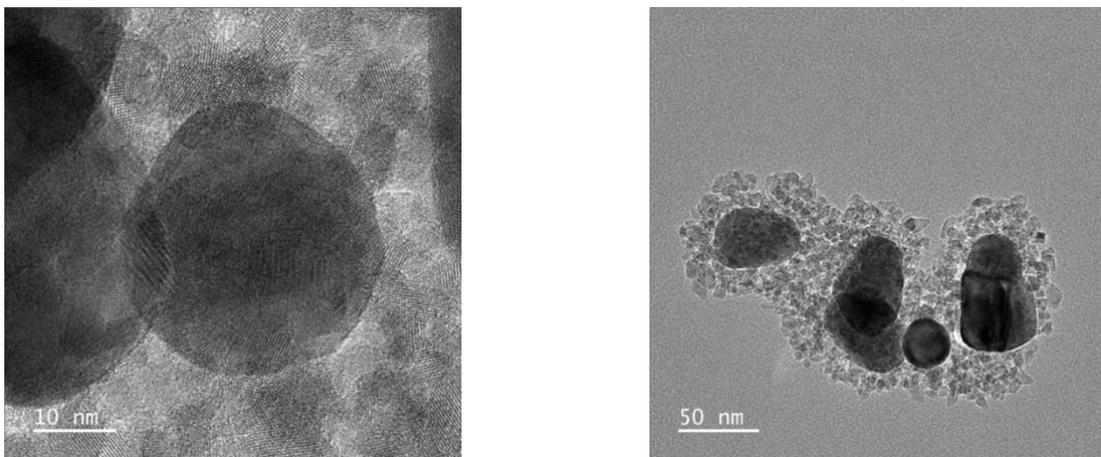


Figure 5.4.3: Immagini a diverse scale dimensionali ottenute mediante HR-TEM e relative al campione BI09

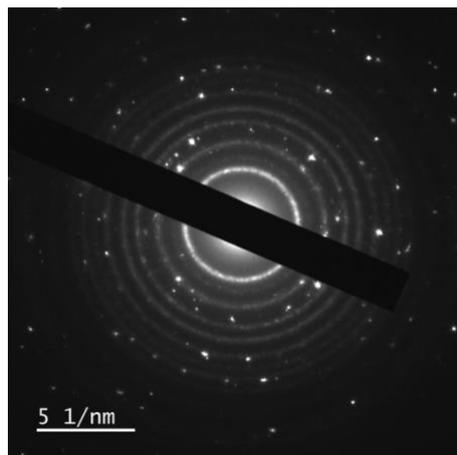


Figura 5.4.4: Diffrattogramma acquisito tramite HR-TEM del campione BI09

Si noti che risultano facilmente distinguibili i riflessi dovuti all'argento e alla titania. Il primo, avendo elevate dimensioni dei cristalliti, presenta pochi riflessi e ben distinguibili per ogni sezione analizzata,

portando a degli spot luminosi e definiti nell'immagine. Al lato opposto, i cristalliti di titania, le cui dimensioni appaiono molto ridotte, avranno moltissime orientazioni differenti, permettendo di vedere gli spot luminosi corrispondenti ad ognuna di esse, sovrapponendosi a vicenda e apparendo quindi come un anello luminoso.

Le tabelle 8 e 9 riportano i valori delle distanze interplanari di Ag e TiO_2 ottenuti dall'analisi del diffrattogramma in figura 5.4.4.

Tabella 8: Valori di *lattice spacings* ottenuti per l'argento dall'analisi del diffrattogramma 5.4.4. I dati di letteratura sono stati ottenuti dal database cristallografico di DIFFRAC.EVA [67]

Dato sperimentale	Dati di letteratura				
d (nm)	d (nm)	2θ (°)	h	k	l
0.234	0.236	38.121	1	1	1
0.201	0.204	44.308	2	0	0
0.144	0.144	64.458	2	0	2

Tabella 9: Valori di *lattice spacings* ottenuti per l'ossido di titanio dall'analisi del diffrattogramma 5.4.4. I dati di letteratura sono stati ottenuti dal database cristallografico di DIFFRAC.EVA [67]

Dato sperimentale	Dati di letteratura				
d (nm)	d (nm)	2θ (°)	h	k	l
0.343	0.352	25.271	0	1	1
0.231	0.234	38.509	1	1	2
0.187	0.189	47.980	0	2	0
0.164	0.167	54.994	1	2	1

Le immagini registrate al TEM, accoppiate alle distribuzioni elementari (immagini in figura 5.4.5), hanno permesso di verificare la bontà del ricoprimento in seguito al processo solvotermale (il quale pone la shell in condizioni di elevato stress dovuto a temperature e pressioni elevate). In aggiunta, tramite lo spettro EDX (figura A13) sono state controllate le quantità massive ed il successivo rapporto molare degli elementi presenti, assicurandosi che venisse mantenuta, circa, la proporzione 1:2 per Ti e O , come evidenziato in tabella 10.

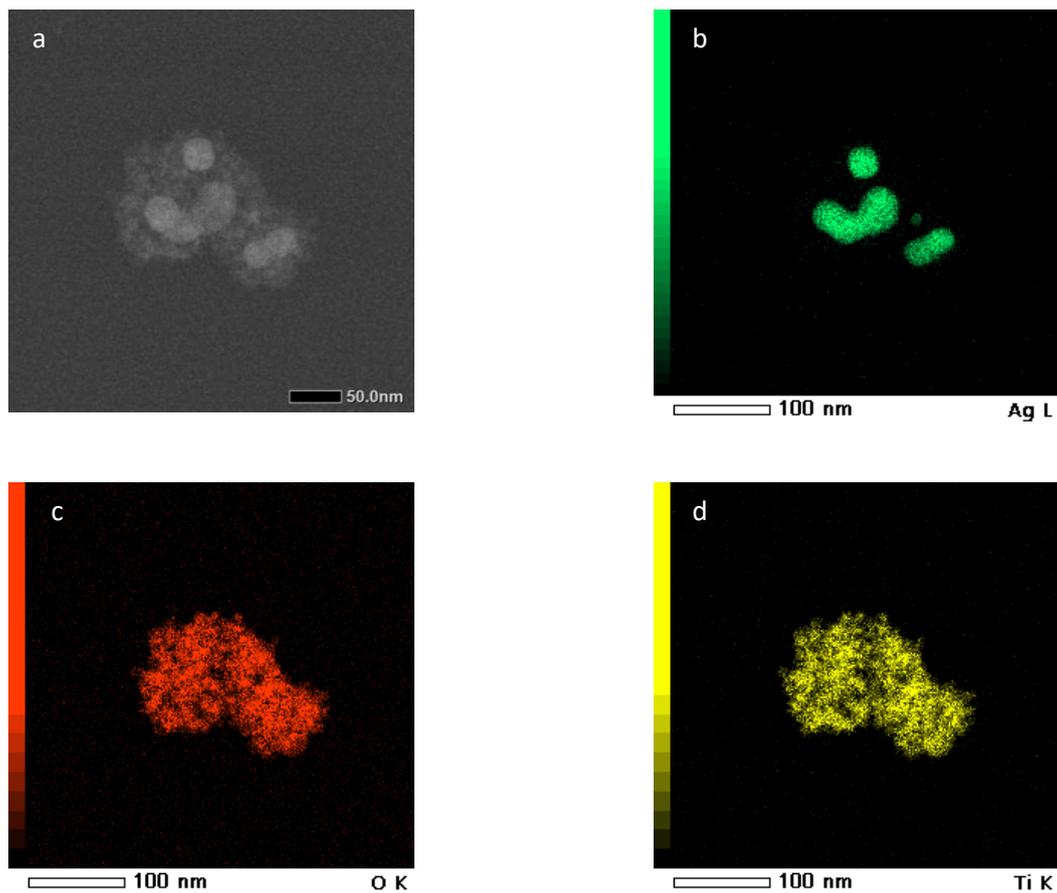


Figure 5.4.5: Immagine TEM (a) e mappe elementari di Ag (b), O (c) e Ti (d) per il campione BI09

Tabella 10: Vengono riportate le quantità massive e molari degli elementi presenti nel campione. Le informazioni sono state ottenute dallo spettro EDX, figura A13, del cluster di nanoparticelle in figura 5.4.5

Elemento	<i>keV</i>	% in massa	Dividendo per la Massa Molare
O	0.525	20.21	1.26
Cl	2.621	0.00	0.00
Ag	2.984	53.82	0.50
Ti	4.508	25.97	0.54

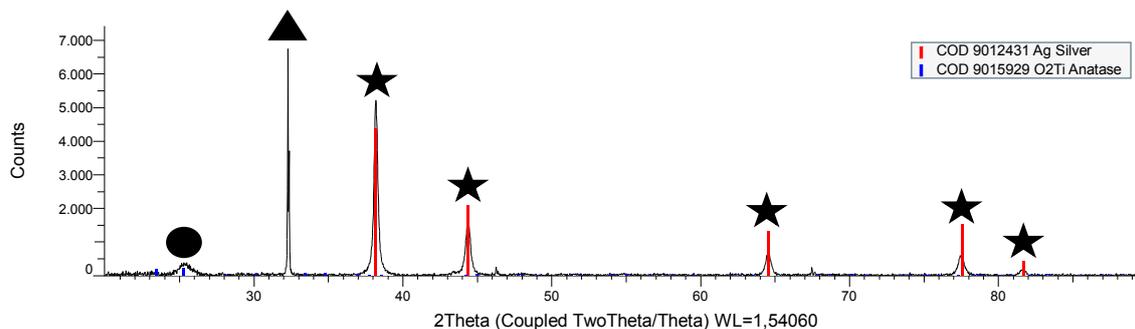


Figure 5.4.7: Diffattogramma XRD per il campione B109. Sono stati contrassegnati i riflessi per l'Ag, tramite una stella, per $AgCl$, tramite un triangolo e per l'anatasio, tramite un cerchio

Dal diffattogramma in figura 5.4.7 viene confermata la presenza di Ag cubico come negli step precedenti. Per quanto riguarda la shell, invece, nonostante il trattamento in bomba, non è stato ottenuto un aumento nel grado di cristallinità apprezzabile. Inoltre, si nota immediatamente un riflesso a $\vartheta = 32.3^\circ$ dovuto probabilmente ad $AgCl$, il quale si formerebbe in seguito all'interazione tra il controione del tensioattivo e Ag^+ in soluzione. L'assegnazione ad argento cloruro è risultata la più coerente considerando l'insieme di reagenti utilizzati, nonostante ciò, avrebbero dovuto essere presenti anche ulteriori riflessi dovuti a questo composto.

L'assenza di un miglioramento marcato in seguito al trattamento solvotermale ha portato alla modifica delle condizioni all'interno della bomba solvotermale per le sintesi successive. Dapprima è stato cambiato il tempo di permanenza in forno, passando da 24 a 48 h. Successivamente sono state studiate le variazioni nell'ambiente di reazione, testando il trattamento in $EtOH$, H_2O , 25/75% $EtOH / H_2O$ e viceversa. Nelle figure 5.4.8 e 5.4.10, vengono riportati i diffattogrammi XRD, e nelle figure 5.4.9 e 5.4.11, le immagini TEM, al fine di comprenderne le modifiche morfologiche e cristallografiche nelle diverse condizioni di trattamento.

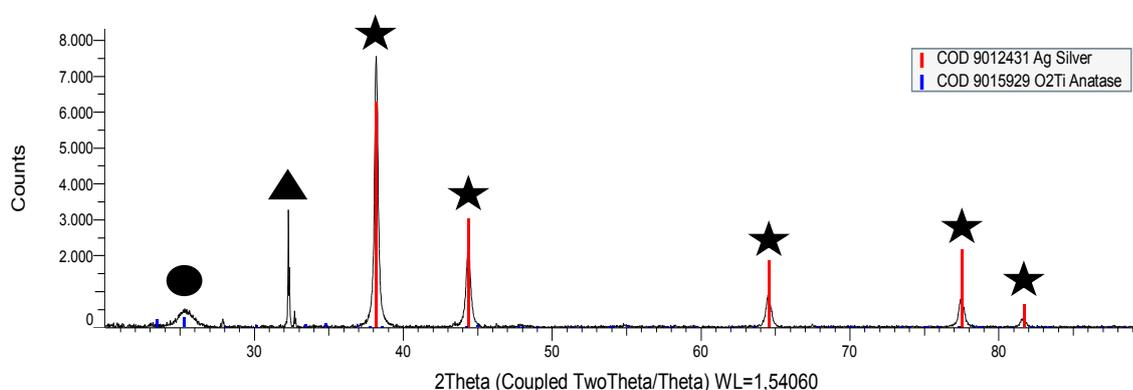


Figura 5.4.8: Diffattogramma XRD della sintesi B111 in seguito ad una permanenza in forno di 48 ore per il trattamento solvotermale. Sono stati contrassegnati i riflessi per l'Ag, tramite una stella, per $AgCl$, tramite un triangolo e per l'anatasio, tramite un cerchio

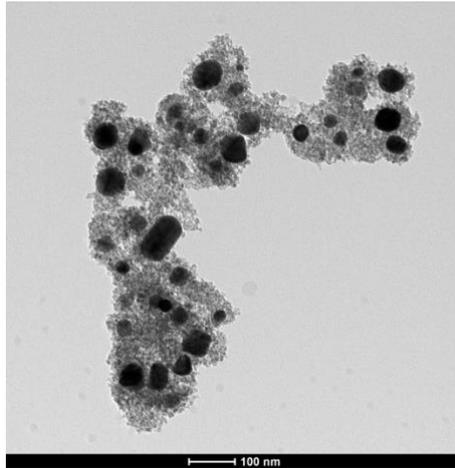


Figura 5.4.9: Immagine TEM relativa al campione BI09 trattato in bomba solvotermale per 48 ore

L'analisi dei riflessi dovuti ai diversi domini cristallini mostra una dimensione media dei cristalliti di TiO_2 di 8 nm, rimanendo dunque costante rispetto alla situazione precedente alla bomba. Si noti che anche in questo caso il dato deve essere considerato tenendo conto delle difficoltà di integrazione del picco dovuto alla bassa intensità del riflesso dell'anatasio. In aggiunta a ciò, non è stato apportato nessun incremento per quanto riguarda la cristallinità, della titania, rispetto al campione trattato in forno per 24 ore.

Anche attraverso il TEM, figura 5.4.9, non si osservano differenze morfologiche rispetto al trattamento di 24 ore, figura 5.4.2.

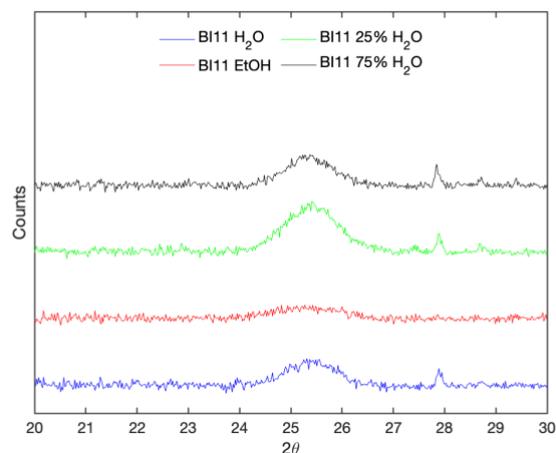


Figure 5.4.10: Ingrandimento sul riflesso XRD dell'anatasio del campione BI11 avente condizioni all'interno della bomba di sola H_2O (riportato in blu), solo $EtOH$ (riportato in rosso), miscela 25/75% in volume di $H_2O/EtOH$ (riportato in verde) e miscela 75/25% in volume di $H_2O/EtOH$ (riportato in nero)

L'analisi XRD ha evidenziato anche in questo caso l'assenza di una variazione significativa nella dimensione dei cristalliti di TiO_2 , i cui valori sono riportati in tabella 11. Si può notare immediatamente come i valori, rimangano costanti a circa 9 nm. La figura 5.4.10 pone a confronto le zone del diffrattogramma XRD contenenti il riflesso dell'anatasio. Il campione trattato in presenza di solo $EtOH$, è risultato quello in cui è stato raggiunto il minor grado di cristallinità.

Tabella 11: Valori sperimentali ottenuti dall'analisi dei diffrattogrammi XRD tramite il software DIFFRAC.EVA per le dimensioni dei cristalliti di anatasio e argento in precedenza al trattamento solvotermale (CS11) e al variare delle condizioni all'interno della bomba.

Campione	Dimensione cristalliti TiO_2 (nm)	Dimensione cristalliti Ag (nm)
CS11	~9	21
Bl11 in H_2O	~9	21
Bl11 in $EtOH$	~9	30
Bl11 in 25/75% $H_2O/EtOH$	~9	48
Bl11 in 75/25% $H_2O/EtOH$	~9	36

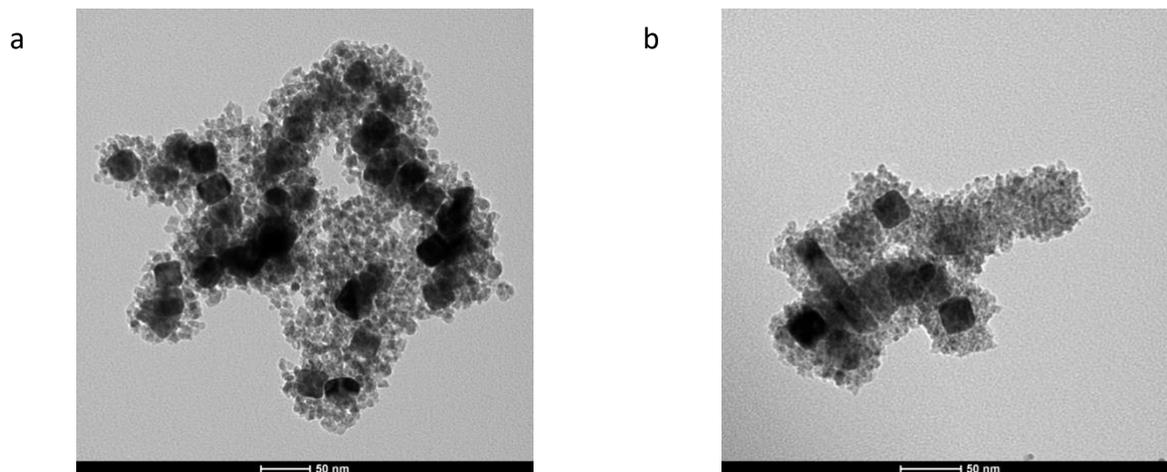


Figure 5.4.11: Immagini TEM del campione Bl11 in seguito al trattamento solvotermale in ambiente acquoso (a) o in etanolo (b)

Anche le immagini acquisite al TEM, figure 5.4.11, dove sono stati confrontati i trattamenti in H_2O al 100% (a) e in $EtOH$ al 100% (b) non evidenziano sostanziali differenze morfologiche dovute alla variazione nell'ambiente di reazione all'interno della bomba.

5.5 Misure di nanotermometria

La strumentazione Raman ha permesso di eseguire delle prove preliminari di nanotermometria sulle NPs sintetizzate. Le misure sono state effettuate registrando gli spettri Stokes e anti-Stokes in funzione della variazione della potenza del fascio laser incidente. Tale variazione permette di indurre un riscaldamento locale, in funzione dell'intensità del fascio utilizzato, la cui entità è legata alla posizione relativa in lunghezza d'onda del fascio stesso e del picco plasmonico del core metallico. Dagli spettri Raman Stokes e anti-Stokes raccolti sono state ricavate le aree del modo E_{1g} dell'anatasio, che sono state utilizzate per calcolarne il rapporto $\frac{A_{antiStokes}}{A_{Stokes}}$. Attraverso misure ripetute è stato possibile ricavarne il valor medio e la deviazione standard, utilizzati per valutare la ripetibilità della misura e l'uniformità del campione preparato.

I materiali analizzati mediante questa procedura sono stati: CS11, BI 11 H_2O , BI11 H75 e BI11 H25. Gli spettri Raman e l'andamento dei rapporti tra le aree dei segnali aS/S in funzione della potenza del laser sono riportati nei pannelli (a) e (b) rispettivamente, in figura 5.5.1, per il campione CS11, in figura 5.5.2, per il campione BI11 in sospensione totalmente acquosa, in figura 5.5.3, per il campione BI11 in sospensione di 25% acqua e 75% etanolo e in figura 5.5.4, per il campione BI11 in sospensione di 75% acqua e 25% etanolo .

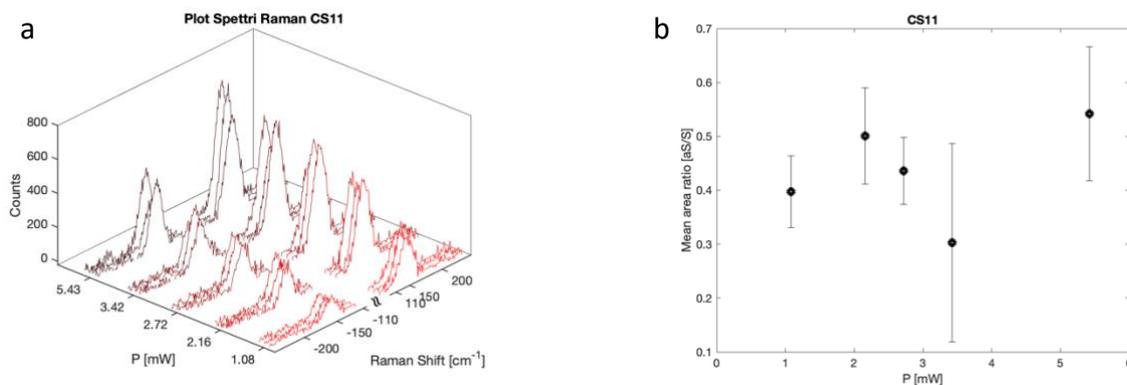


Figura 5.5.1: Spettri Raman in funzione della potenza del laser (a) e andamento dei rapporti tra le aree dei segnali aS/S in funzione della potenza del laser (b) per il campione CS11

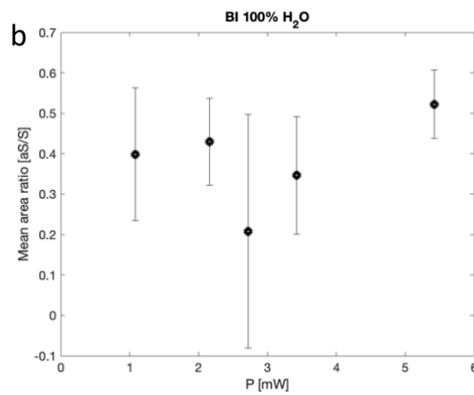
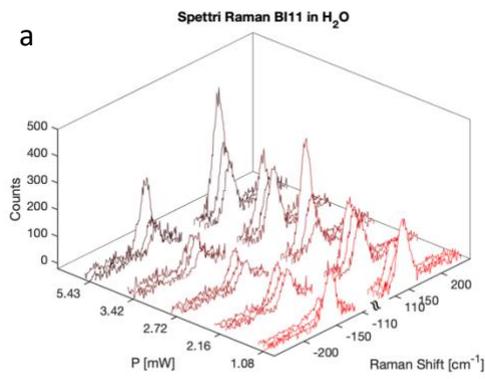


Figura 5.5.2: Spettri Raman in funzione della potenza del laser (a) e andamento dei rapporti tra le aree dei segnali aS/S in funzione della potenza del laser (b) per il campione BI11 in sospensione acquosa

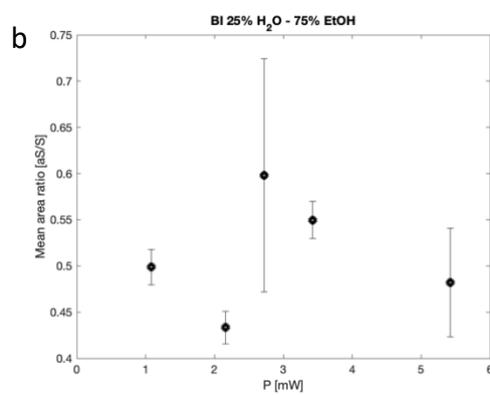
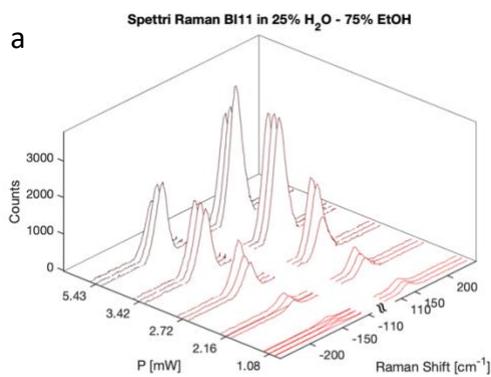


Figura 5.5.3: Spettri Raman in funzione della potenza del laser (a) e andamento dei rapporti tra le aree dei segnali aS/S in funzione della potenza del laser (b) per il campione BI11 in sospensione di 25% acqua e 75% etanolo

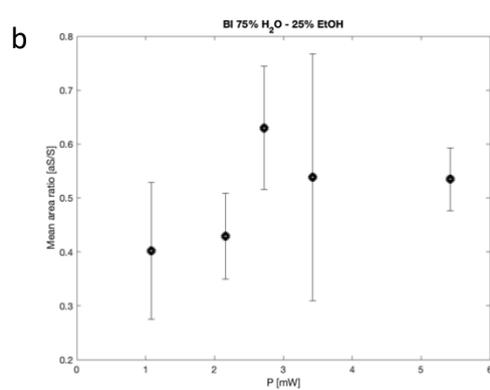
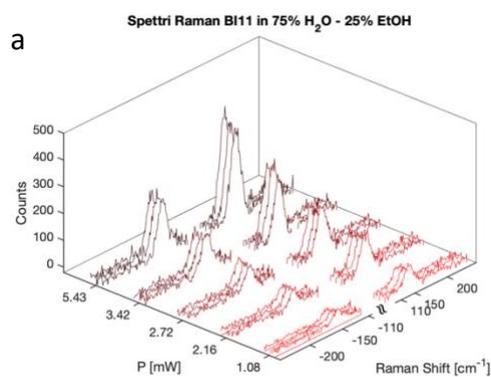


Figura 5.5.4: Spettri Raman in funzione della potenza del laser (a) e andamento dei rapporti tra le aree dei segnali aS/S in funzione della potenza del laser (b) per il campione BI11 in sospensione di 75% acqua e 25% di etanolo

Il segnale Raman dell'anatasio risulta ben visibile per tutti i campioni in tutto l'intervallo di potenze sondato. Le misure ripetute alla stessa potenza mostrano una lieve variabilità indice di una disomogeneità del campione, dovuta probabilmente ad una deposizione non del tutto omogenea dei campioni.

Dai grafici, che riportano il rapporto tra le aree dei segnali anti-Stokes e Stokes in funzione della potenza del laser incidente, si può osservare come al variare della potenza del laser, i rapporti mostrino un leggero incremento nei campioni CS11 e BI11 H₂O, mentre sia praticamente costante negli altri due campioni, indice del fatto che la potenza del laser non è sufficiente ad indurre effetti termici osservabili.

Questi risultati preliminari sono interessanti, ma aprono la strada a misure ulteriori da effettuare utilizzando differenti condizioni sperimentali, quali maggiori concentrazioni dei campioni oppure maggiore intensità della radiazione laser incidente.

Conclusioni

Scopo del presente lavoro di tesi è la realizzazione e la caratterizzazione di nanostrutture a doppia anima che contengano un materiale Raman attivo, capace di rilevare la temperatura locale, e un nanoriscaldatore, in grado di rilasciare calore in modo controllato, fenomeni fondamentali per la terapia fototermica. Quest'ultima trae infatti vantaggio dalla presenza simultanea del nanotermometro e del nanoriscaldatore, il *nanoheater*, che operano a livello locale. L'attuale stato dell'arte offre una vasta gamma di approcci sperimentali per la rilevazione della temperatura locale, tra queste sono state scelte ed esplorate le potenzialità delle tecniche ottiche, che possono fornire informazioni sulla temperatura sia di superficie che interna, grazie alla capacità di penetrazione della radiazione nella finestra biologica. In particolare, la spettroscopia di scattering Raman si è dimostrata particolarmente adatta, poiché consente di ottenere elevate risoluzioni spaziali e termiche, essenziali per la terapia fototermica.

La necessità di sviluppare un nanotermometro, che funzioni anche da *nanoheater*, ha portato alla progettazione di una sintesi mirata di un sistema a doppia anima. In questo sistema, un materiale con un buon segnale Raman, come l'ossido di Titanio, in forma di anatasio, viene accoppiato ad un metallo nobile, l'argento. Quest'ultimo, quando posto in condizioni di risonanza con la radiazione eccitatrice, consente l'amplificazione del segnale Raman, tramite l'amplificazione plasmonica di superficie, il SERS. Inoltre, le nanoparticelle di argento, quando eccitate in risonanza con l'assorbimento plasmonico, sono in grado di generare un riscaldamento localizzato, un effetto cruciale per l'applicazione della tecnica in sistemi biologici per la terapia fototermica.

La sintesi dei materiali è stata effettuata attraverso una via sintetica composta da più step successivi. Come punto di partenza, una forma solubile dell'argento, ne ha permesso la riduzione, ottenendo dunque dei germi di nucleazione, caratterizzati da morfologie cubiche e sferiche, di dimensioni inferiori alla decina di nm. Successivamente queste nanostrutture sono state accresciute fino all'ottenimento di core metallici. In corrispondenza di questo stadio di sintesi sono state riscontrate le prime problematiche, in quanto le NPs di Ag hanno mostrato differenti morfologie e dimensioni, osservate attraverso misure SEM e TEM, con conseguenti modifiche dei comportamenti assorbitivi del materiale. Il loro spettro di assorbimento è costituito infatti da una serie di picchi più o meno risolti che riflettono la presenza delle diverse morfologie presenti. Una sorta di selezione dimensionale è stata tentata attraverso il processo di centrifuga, eseguita con parametri sperimentali differenti, alcune di esse hanno in parte permesso di ottenere soluzioni più omogenee, ma, non portando a risultati pienamente riproducibili, non ha aperto una strada univoca alla preparazione di

NPs con una stretta distribuzione dimensionale. Le NPs prodotte mostrano comunque dimensioni tra 46 e 58 ± 8 nm.

Lo step seguente, di realizzazione del ricoprimento di TiO_2 , è stato conseguito attraverso il processo sol-gel, che ha permesso di formare un materiale accoppiato in cui l'argento preformato si è trovato sempre all'interno dei ricoprimenti di ossido, evitando la formazione di strutture di Ag o di TiO_2 isolate in sospensione. Un fatto interessante di questa fase di sintesi è l'inizio di formazione di piccoli quantitativi di anatasio, evidenziati sia dalle analisi XRD che da misure Raman.

La trasformazione di fase dell'ossido, da amorfo a cristallino, nella volontà di ottenere l'anatasio, è stata ricercata attraverso il trattamento solvotermale. Quest'ultimo step si è rivelato quello più impegnativo del previsto dal punto di vista sperimentale, in quanto nonostante l'aumento del tempo di reazione (passaggio da 24 a 48 ore in bomba), e l'utilizzo di diversi solventi (da etanolo, ad acqua attraverso miscele dei due a diversa composizione), non è stato possibile ottenere un incremento significativo nel grado di cristallinità dell'ossido. Di fatto il segnale dell'anatasio osservato attraverso gli spettri XRD, non ha mostrato l'incremento di intensità sperato, ma ne ha pur sempre verificato la presenza in ognuno dei campioni sintetizzati. Altro fattore critico da sottolineare, sta nello scarso controllo della dispersione delle nanostrutture realizzate. Uno dei parametri da controllare meglio in futuro è il quantitativo di ossido di Titanio che ha indotto la formazione di un ricoprimento di elevato spessore, portando alla formazione di cluster di grandi dimensioni, costituiti dall'insieme di più NPs di Ag inglobate in uno shell di TiO_2 . Prove a concentrazioni variabili di precursore di Ti potrebbero permettere di trovare le condizioni di ricoprimento ideali delle singole NPs di Ag per ottenere una dispersione maggiore delle nanostrutture.

Le misure di nanotermometria eseguite su una selezione dei materiali sintetizzati hanno comunque permesso di mostrare la potenzialità del materiale ottenuto. Esse sono state condotte su piccole aliquote dei campioni depositate su lastre di vetro tramite la registrazione degli spettri Stokes e anti-Stokes, effettuate al variare della potenza del laser incidente sul campione. Il test preliminare intende variare la temperatura locale, attraverso l'irraggiamento laser, con una conseguente variazione nell'indicatore termometrico, rappresentato dal rapporto tra le intensità dei segnali anti-Stokes e Stokes riferiti ad un singolo modo vibrazionale. Una lieve variazione è stata effettivamente riscontrata in due dei quattro campioni testati. Chiaramente diventa necessario eseguire nuovi test più accurati, aumentando, ad esempio, la concentrazione dei campioni o utilizzando tempi di acquisizione degli spettri maggiori.

Attraverso il lavoro svolto durante il periodo di tesi è stata quindi dimostrata l'effettiva possibilità di realizzazione di strutture a doppia anima e la loro buona potenzialità come sistemi fototermici, sono state inoltre individuate le problematiche principali, legate al protocollo di sintesi, che dovranno essere affrontate per uno sviluppo futuro del lavoro di ricerca. Il lavoro fatto si pone quindi come punto di partenza per future ricerche focalizzate sulla risoluzione delle problematiche incorse. Innanzitutto, si dovrà apportare qualche modifica che permetta l'ottenimento di un ricoprimento di ossido maggiormente suscettibile alla temperatura, permettendo la migliore registrazione delle variazioni dell'indicatore termometrico. In aggiunta, un ulteriore aspetto da approfondire riguarda il controllo dell'aggregazione delle nanostrutture in sospensione. L'applicazione di tali sistemi nell'ambito della terapia fototermica implica infatti l'ottenimento di nanostrutture capaci di attraversare la membrana cellulare, ciò sarà possibile solamente evitando che l'ossido di titanio formi cluster di elevate dimensioni. Resta infine da quantificare anche l'effetto dell'amplificazione plasmonica delle NPs di Ag sullo shell di TiO_2 , confrontando il segnale dei nanocompositi con quello di NPs di puro anatasio e osservando il segnale ottenuto in una regione in cui la sorgente laser è in risonanza con il picco plasmonico con quello fuori risonanza.

APPENDICE A

La strategia sintetica per le nanoparticelle core-shell, di $Ag@TiO_2$, proposta nel seguente lavoro si è basata sulla formazione del materiale per stadi.

Inizialmente l'argento è stato ridotto, partendo da una sua forma solubile ($AgNO_3$), permettendo così di ottenere dei germi di nucleazione metallici, le cui caratteristiche e proprietà sono ampiamente spiegate nel capitolo 5.1.

I *seeds* sono quindi stati accresciuti fino all'ottenimento dei core veri e propri, la cui caratterizzazione è stata approfondita nel capitolo 5.2.

In questa appendice, vengono riportati tutti gli spettri di assorbimento UV/Vis delle sospensioni contenenti i core di Ag delle sintesi AP01, AP02, AP04, AP05, AP07, AP09 e AP10, rispettivamente nelle figure da A1 - A7.

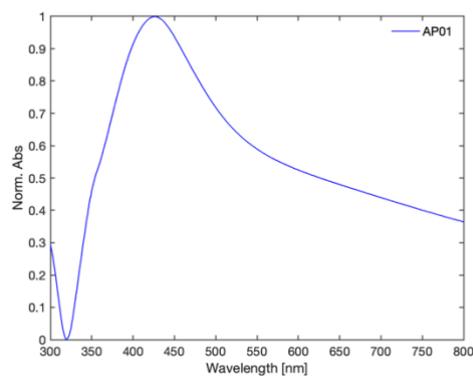


Figura A1: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione di core di Ag della sintesi 1 (AP01)

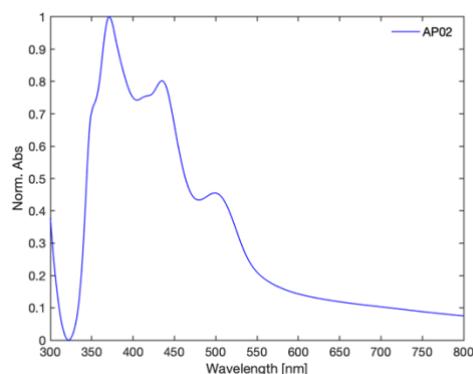


Figura A2: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione di core di Ag della sintesi 2 (AP02) prima delle centrifughe per la separazione dimensionale

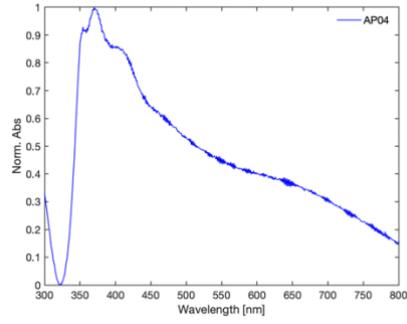


Figura A3: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione di core di Ag della sintesi 4 (AP04)

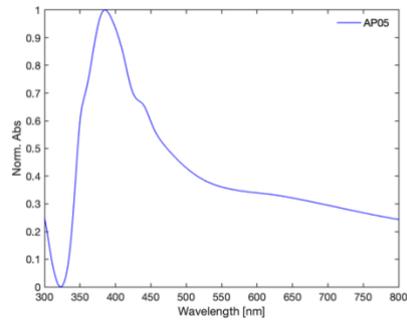


Figura A4: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione di core di Ag della sintesi 5 (AP05)

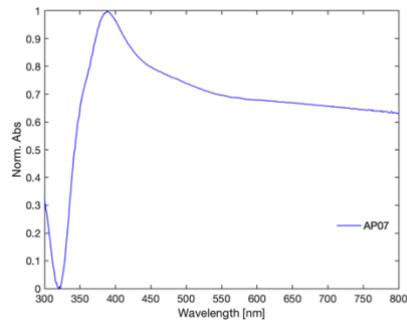


Figura A5: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione di core di Ag della sintesi 7 (AP07)

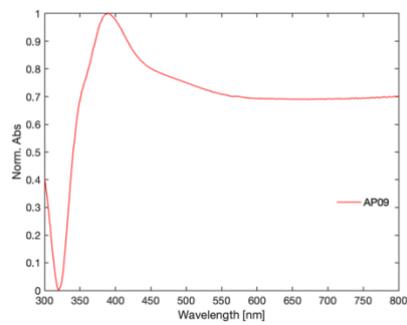


Figura A6: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione di core di Ag della sintesi 9 (AP09)

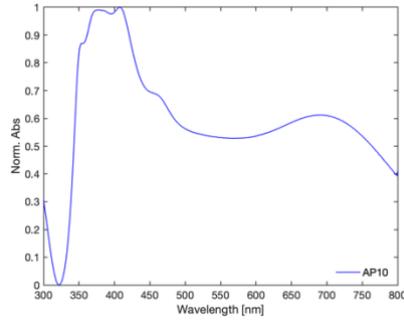


Figura A7: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione di core di Ag della sintesi 10 (AP10)

I core di *Ag* sono stati quindi ricoperti con ossido di titanio, TiO_2 . Nel capitolo 5 sono mostrate tutte le tecniche di caratterizzazione necessarie al fine da comprendere appieno le proprietà e caratteristiche del materiale a questo punto della via sintetica. In seguito, per completezza con quanto esposto nel capitolo 5, vengono proposti: lo spettro EDX del cluster di nanoparticelle appartenente al campione CS05, in figura A10, lo spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione CS09, in figura A11, e la corrispettiva immagine al TEM, figura A12.

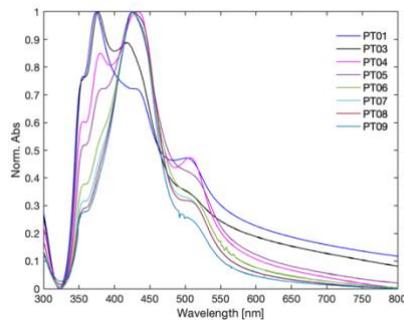


Figura A8: Spettri di assorbimento UV/Vis dei pellet ottenuti in seguito alle centrifughe sul campione AP02

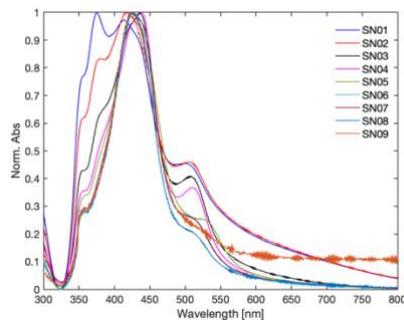


Figura A9: Spettri di assorbimento UV/Vis dei surnatanti ottenuti in seguito alle centrifughe sul campione AP02

In seguito all'accrescimento dei core di *Ag* è stato condotto lo step sintetico, caratterizzato dalla presenza del processo sol-gel, al fine da permettere la formazione del ricoprimento di ossido di titanio, *TiO₂*. Nel capitolo 5 sono mostrate tutte le tecniche di caratterizzazione necessarie al fine da comprendere appieno le proprietà e caratteristiche del materiale a questo punto della via sintetica. In seguito, per completezza con quanto esposto nel capitolo 5, vengono proposti: lo spettro EDX del cluster di nanoparticelle appartenente al campione CS05, in figura A10, lo spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione CS09, in figura A11, e la corrispettiva immagine al TEM, figura A12.

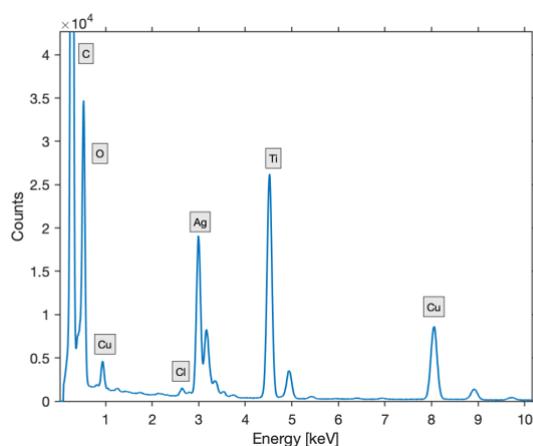


Figura A10: Spettro EDX del cluster di nanoparticelle appartenenti al campione CS05

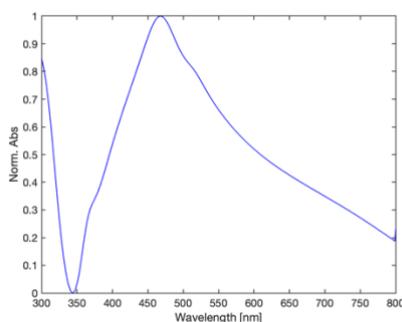


Figura A11: Spettro di assorbimento UV/Vis della sospensione di core-shell della sintesi 9 (CS09)

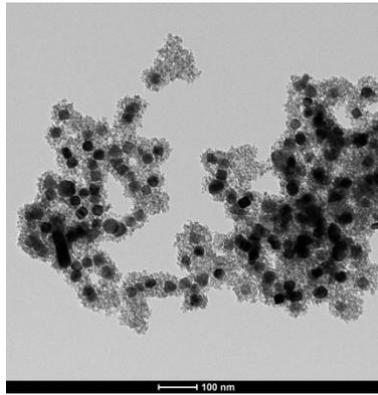


Figura A12: Immagine TEM delle core-shell appartenenti alla sintesi 9 (CS09)

L'ultimo step della sintesi prevede il trattamento solvotermale in bomba per indurre la cristallizzazione dell'ossido della shell. Come per gli step precedenti, la caratterizzazione completa è stata discussa nel capitolo 5. In seguito, viene riportato lo spettro EDX del cluster di nanoparticelle analizzato appartenente al campione BI09, dal quale sono stati condotte le analisi quantitative per l'ottenimento delle % in massa di ogni elemento, riportate in tabella 10 .

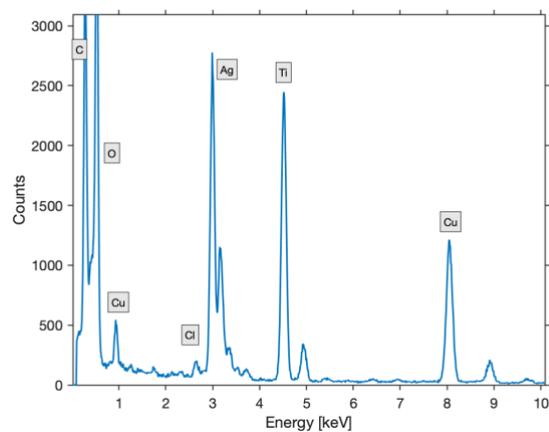


Figura A13: Spettro EDX del cluster di nanoparticelle appartenenti campione BI09, trattato in bomba per 24 ore

APPENDICE B

Nella seguente appendice verranno riportate le e frasi di pericolo (o frasi H) ed i consigli di prudenza (consigli P) per tutte le sostanze chimiche che sono state utilizzate durante le sintesi.

Formula molecolare	Nome IUPAC	Frasi di Pericolo (H)	Consigli di Prudenza (P)
$C_6H_8O_6$	Acido ascorbico	H319	P305+P351+P338
$AgNO_3$	Argento nitrato	H272, H314, H400, H410	P210, P220, P280, P305+P351+P338, P273
$C_{19}H_{42}ClN$	Cloruro di cetiltrimetilammonio (CTAC)	H302, H315, H319, H412	P264, P280, P301+P312, P302+P352, P305+P351+P338
C_2H_5OH	Etanolo	H225, H319	P210, P233, P240, P280, P303+P361+P353
$NaBH_4$	Sodio boro idruro	H260, H302, H314, H318	P210, P280, P301+P312, P305+P351+P338
Na_2S	Solfuro di sodio	H290, H314, H400	P260, P280, P301+P330+P331, P305+P351+P338, P310
$C_{16}H_{36}O_4Ti$	Tetrabutossido di titanio	H226, H315, H318	P210, P280, P305+P351+P338

Frasi di Pericolo (H)

H225: Liquido e vapori altamente infiammabili.

H226: Liquido e vapori infiammabili.

H260: A contatto con l'acqua libera gas infiammabili che possono infiammarsi spontaneamente.

H272: Può aggravare un incendio; comburente.

H290: Può essere corrosivo per i metalli.

H302: Nocivo se ingerito.

H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H315: Provoca irritazione cutanea.

H318: Provoca gravi lesioni oculari.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

H400: Molto tossico per gli organismi acquatici.

H410: Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Consigli di Prudenza (P)

P210: Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici calde. – Non fumare.

P220: Tenere/stoccare lontano da indumenti/materiali combustibili.

P233: Tenere il recipiente ben chiuso.

P240: Mettere a terra e collegare elettricamente il contenitore e il dispositivo ricevente.

P260: Non respirare polvere/fumo/gas/nebbie/vapori/aerosol.

P264: Lavare accuratamente le mani dopo l'uso.

P273: Non disperdere nell'ambiente.

P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P301+P312: IN CASO DI INGESTIONE: Contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico in caso di malessere.

P301+P330+P331: IN CASO DI INGESTIONE: Sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.

P302+P352: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: Lavare abbondantemente con acqua e sapone.

P303+P361+P353: IN CASO DI CONTATTO CON GLI INDUMENTI: Togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua o fare una doccia.

P305+P351+P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le lenti a contatto, se presenti e facili da fare. Continuare a sciacquare.

P310: Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Quintanilla, L. M. Liz-Marzán, «Guiding Rules for Selecting a Nanothermometer», *Nano Today*, vol. 19, pp. 126-145, 2018
- [2] C. D. S. Brites, P. P. Lima, N. J. O. Silva, A. Millan et al., «Thermometry at the nanoscale», *Nanoscale*, vol. 4, n. 16, pp. 4799–4829, 2012
- [3] L. Spietz, K. W. Lehnert, I. Siddiqi, R. J. Schoelkopf, «Primary Electronic Thermometry Using the Shot Noise of a Tunnel Junction», *Science*, vol. 300, n. 5627, pp. 1929-1932, 2003
- [4] J. Lee, N. A. Kotov, «Thermometer design at the nanoscale», *Nanotoday*, vol. 2, n. 1, pp. 48-51, 2007
- [5] M. D Dramićanin, «Sensing temperature via downshifting emissions of lanthanide-doped metal oxides and salts. A review», *Methods and Applications in Fluorescence*, vol. 4, n. 4
- [6] S. Gomès, A. Assy, P.-O. Chapuis, «Scanning thermal microscopy: A review», *Physica status solidi (a)*, vol. 212, n. 3, pp. 477-494, 2015
- [7] O. Nakabeppu, M. Chandrachood, Y. Wu, J. Lai, A. Majumdar, «Scanning thermal imaging microscopy using composite cantilever probes», *Appl. Phys. Lett.*, vol. 66, n. 6, pp. 694–696, 1995
- [8] R. Heiderhoff, A. Makris, T. Riedl, «Thermal microscopy of electronic materials», *Materials Science in Semiconductor Processing*, vol. 43, pp. 163-176, 2016
- [9] G. Baffou P. Bon, J. Savatier, J. Polleux et al., «Thermal Imaging of Nanostructures by Quantitative Optical Phase Analysis», *ACS Nano*, vol. 6, n. 3, pp. 2452–2458, 2012
- [10] X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, et al., *Science*, 2012, 538, 538–544
- [11] D. Jaque, F. Ventrone, «Luminescence nanothermometry», *Nanoscale*, vol. 4, pp. 4301-4326, 2012
- [12] M. Runowski, P. Woźny, N. Stopikowska et al., «Luminescent Nanothermometer Operating at Very High Temperature—Sensing up to 1000 K with Upconverting Nanoparticles ($\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$)», *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 12, pp. 43933–43941, 2020
- [13] L. Marciniak, K. Elzbieciak-Piecka, K. Kniec e A. Bednarkiewicz, «Assessing thermometric performance of Sr_2CeO_4 and $\text{Sr}_2\text{CeO}_4:\text{Ln}^{3+}$ ($\text{Ln}^{3+} = \text{Sm}^{3+}, \text{Ho}^{3+}, \text{Nd}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$) nanocrystals in spectral and temporal domain», *Chemical Engineering Journal*, vol. 388, 124347, 2020
- [14] M. Freitag, M. Steiner, Y. Martin, V. Perebeinos et al., «Energy Dissipation in Graphene Field-Effect Transistors», *Nano Letters*, vol. 9, n. 5, pp. 1883-1888, 2009

- [15] X. Xie, D.G. Cahill, «Thermometry of plasmonic nanostructures by anti-Stokes electronic Raman scattering», *Appl. Phys. Lett.*, vol. 109, n. 18, 2016
- [16] K. Soo Ho, N. Jermim, J. Min Ku, K. Ki Woong et al., «Micro-Raman thermometry for measuring the temperature distribution inside the microchannel of a polymerase chain reaction chip», *J. Micromech. Microeng.*, vol. 16, pp. 526-530, 2006
- [17] D. A. Long, «The Raman Effect: A Unified Treatment of the Theory of Raman Scattering by Molecules», *Wiley*, 2002
- [18] E. Smith, G. Dent, «Modern Raman Spectroscopy», *Wiley*, 2019, cap. 1, pp. 1-20
- [19] N. John, S. George, «Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization», *Elsevier*, 2017, cap. 5, pp. 110
- [20] V. Zani, D. Pedron, R. Pilot e R. Signorini, «Contactless Temperature Sensing at the Microscale Based on Titanium Dioxide Raman Thermometry», *Biosensors*, vol. 11, n. 4, 2021
- [21] J. Christofferson, K. Maize, Y. Ezzahri, J. Shabani, X. Wang e A. Shakouri, «Microscale and Nanoscale Thermal Characterization Techniques» *Journal of Electronic Packaging*, n. 130, 2008
- [22] L. D. Carlos and F. Palacio, *Thermometry at the Nanoscale: Techniques and Selected Applications*, Royal Society of Chemistry, 2016
- [23] M. Fleischman, P. J. Hendra e A. J. McQuillan, «Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode», *Chem. Phys. Lett.*, n. 26, n. 2, pp. 163-166, 1974
- [24] E. Smith, G. Dent, «Modern Raman Spectroscopy», *Wiley*, 2019, cap. 5, pp. 119-149
- [25] A. V. Markin, N. E. Markina, J. Popp, D. Cialla-May, «Copper nanostructures for chemical analysis using surface-enhanced Raman spectroscopy», *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 108, pp. 247-259, 2018
- [26] S. Tian, O. Neumann, M. J. McClain, X. Yang et al., «Aluminum Nanocrystals: A Sustainable Substrate for Quantitative SERS-Based DNA Detection», *Nano Letters*, vol. 17, n. 8, pp. 5071-5077, 2017
- [27] R. Kamimura, T. Kondo, K. Motobayashi e K. Ikeda, «Surface-Enhanced Electronic Raman Scattering at Various Metal Surfaces», *Physica status solidi (b)*, vol. 259, n. 9, 2022
- [28] R. J. H. Clark e R. E. Hester, «Spectroscopy for Surface Science», *Wiley*, 1988
- [29] P. G. Etchegoin e E. C. Le Ru, «Surface Enhanced Raman Spectroscopy», *Wiley*, cap. 1, pp. 1-34, 2011
- [30] P. G. Etchegoin e E. C. Le Ru, «Surface Enhanced Raman Spectroscopy», *Wiley*, cap. 1, pp. 3, 2011

- [31] Le Ru, E.C. e Etchegoin, «Principles of Surface-enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects», *Elsevier*, 2009
- [32] O. Madelung, «Introduction to Solid-State Theory», *Springer-Verlag*, 1978
- [33] C. Kittel. «Introduction to Solid State Physics», *Wiley*, 1986
- [34] P. G. Etchegoin, E. C. Le Ru e M. Meyer, «An analytic model for the optical properties of gold», *J. Chem. Phys.*, vol. 125, n.16, 2006
- [35] J. Yguerabide e E. Yguerabide, «Light-Scattering Submicroscopic Particles as Highly Fluorescent Analogs and Their Use as Tracer Labels in Clinical and Biological Applications», *Analytical Biochemistry*, n. 262, pp. 137–156, 1998
- [36] K. Dhanalekshimi, K. Meena e I. Ramesh, «Synthesis and Characterization of Ag@TiO₂ Core-Shell Nanoparticles and Study of its Antibacterial Activity», *International Journal of Nanotechnology and Application*, vol. 3, n. 5, pp. 5-14, 2013
- [37] J. C. L. Chow, «Special Issue: Application of Nanomaterials in Biomedical Imaging and Cancer Therapy», *Nanomaterials*, vol. 12, n. 5, 2022
- [38] T. P. Pivetta, C. E. A. Botteon, P. A. Ribeiro et al., «Nanoparticle Systems for Cancer Phototherapy: An Overview», *Nanomaterials*, vol. 11, n. 11, 2021
- [39] G. Jori, J. D. Spikes, «Photothermal sensitizers: Possible use in tumor therapy», *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 6, n. 1-2, 1990
- [40] M. a. N. Technologies, «Nanomaterials for Magnetic and Optical Hyperthermia Applications», *Fratila*, R.M.; De La Fuente, J. M., 2019
- [41] R. Zambon, «Nanoparticelle core-shell di Ag@TiO₂ per nanotermometria Raman», tesi di laurea, Archivio Univerisà degli Studi di Padova 2022
- [42] D. Hong, L.-M. Lyu, K. Koga, Y. Shimoyama e Y. Kon, «Plasmonic Ag@TiO₂ Core-Shell Nanoparticles for Enhanced CO₂ Photoconversion to CH₄», *ACS Sustainable Chem. Eng.*, vol. 7, n. 23, pp. 18955-18964, 2019
- [43] P. Wang, D. Wang, T. Xie, H. Li, M. Yang e X. Wei, «Preparation of monodisperse Ag/Anatase TiO₂ core-shell nanoparticles», *Materials Chemistry and Physics*, n. 109, pp. 108-183, 2008
- [44] I. Pastoriza-Santos, D. Koktysh, A. Mamedov, M. Giersig, N. Kotov e L. Liz-Marzán, «One-Pot Synthesis of Ag@TiO₂ Core-Shell Nanoparticles and Their Layer-by-Layer Assembly», *Langmuir*, n. 16, pp. 2731-2735, 2000

- [45] H. Li, Y. He, Z. Liu, B. Jiang e Y. Huang, «Rapid synthesis of broadband Ag@TiO₂ core–shell nanoparticles for solar energy conversion», *Solar Energy Materials & Solar Cells*, n. 166, pp. 52-60, 2017
- [46] D. Afanasyev, N. Ibrayev, T. Serikov e A. Zeinidenov, «Effect of the Titanium Dioxide Shell on the Plasmon Properties of Silver Nanoparticles», *Russian Journal of Physical Chemistry A*, vol. 90, n. 4, p. 833–837, 2016
- [47] M. Abdulla-Al-Mamun, Y. Kusumoto, T. Zannat e M. Islam, «Synergistic cell-killing by photocatalytic and plasmonic photothermal effects of Ag@TiO₂ core–shell composite nanoclusters against human epithelial carcinoma (HeLa) cells», *Applied Catalysis A: General*, n. 398, pp. 134-142, 2011
- [48] H. Sakai, T. Kanda, H. Shibata, T. Ohkubo e M. Abe, «Preparation of Highly Dispersed Core/Shell-type Titania Nanocapsules Containing a Single Ag Nanoparticle», *J. AM. CHEM. SOC.*, vol. 128, n. 15, pag. 4944-4945, 2006
- [49] H. Li, H. Xia, W. Ding, Y. Li et al., «Synthesis of Monodisperse, Quasi-Spherical Silver Nanoparticles with Sizes Defined by the Nature of Silver Precursors», *Langmuir*, vol. 30, n. 9, pp. 2498-2504, 2014
- [50] M. A.-A.-Mamun, Y. Kusumoto , T. Zannat, M. S. Islam, «Synergistic cell-killing by photocatalytic and plasmonic photothermal effects of Ag@TiO₂ core–shell composite nanoclusters against human epithelial carcinoma (HeLa) cells», *Applied Catalysis A: General*, vol. 398, n.1-2, pp. 134-142, 2011
- [51] A. R. Siekkinen, J. M. McLellan, J. Chen, Y. Xia, «Rapid synthesis of small silver nanocubes by mediating polyol reduction with a trace amount of sodium sulfide or sodium hydrosulfide», *Chemical Physics Letters*, vol. 432, n. 4-6, pp. 491-496, 2006
- [52] A.I. Kryukov, A.L. Stroyuk, N.N. Zin'chuk, A.V. Korzhak, S.Ya. Kuchmii, «Optical and catalytic properties of Ag₂S nanoparticles», *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, vol. 221, pp. 209-221, 2004
- [53] C. Su, B.-Y. Hong, C.-M. Tseng, «Sol–gel preparation and photocatalysis of titanium dioxide», *Catalysis Today*, vol. 96, pp. 119-126, 2004
- [54] K. Byrappa, T. Adschiri, «Hydrothermal technology for nanotechnology», *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, vol. 53, pp. 117-166, 2007
- [55] K. Byrappa, M. Yoshimura, *Handbook of Hydrothermal Technology*, Noyes Publications, New Jersey, USA, 2001

- [56] <https://www.parrinst.com/products/sample-preparation/acid-digestion/general-purpose-acid-digestion-vessel-model-4749-23-ml/>
- [57] <https://www.techinstro.com/shop/hydrothermal-autoclave/teflon-ptfe-liner/>
- [58] S. diodati, P. dolcet, M. Casarin e S. Gross, *Chem. Rev.*, 2015, 115, 1 11449
- [59] R. L. Penn and j. F. Banfield, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1999, 63, 1549
- [60] F. Barbon, F. Tajoli, F. Spolaore e S. Gross, «Unconventional Green Synthesis of Inorganic Nanomaterials», *Royal Society of Chemistry*, vol. 14, cap. 6, pp. 315-329, 2024
- [61] B. Vijayan, N. M. Dimitrijevic, T. Rajh, e K. Gray, «Effect of Calcination Temperature on the Photocatalytic Reduction and Oxidation Processes of Hydrothermally Synthesized Titania Nanotubes», *J. Phys. Chem.*, vol. 114, n. 30, pp. 12994–13002, 2010
- [62] Q. Zhang, W. Li, C. Moran, J. Zeng, J. Chen. et al., « Seed-Mediated Synthesis of Ag Nanocubes with Controllable Edge Lengths in the Range of 30-200 nm and Comparison of Their Optical Properties», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 132, n. 32, pp. 11372-11378, 2010
- [63] <https://imagej.net/software/fiji/>
- [64] C.-H. Huang, B. Louis, S. Rocha, L.M.Liz-Marzán, et al., «Plasmonic Dipole and Quadrupole Scattering Modes Determine Optical Trapping, Optical Binding, and S warming of Gold Nanoparticles», *J. Phys. Chem.*, vol. 128, n. 13, pp. 5731-5740, 2024
- [65] N. G. Bastú s, J. Piella e V. Puentes, «Quantifying the Sensitivity of Multipolar (Dipolar, Quadrupolar, and Octapolar) Surface Plasmon Resonances in Silver
- [66] J.-Q. Hu, Q. Chen, Z.-X. Xie, G.-B. Han, R.-H. Wang et al., «A Simple and Effective Route for the Synthesis of Crystalline Silver Nanorods and Nanowires», *Adv. Funct. Materials*, vol.14, n. 2, pp.183-189, 2004
- [67] <https://www.bruker.com/it/products-and-solutions/diffractometers-and-x-ray-microscopes/x-ray-diffractometers/diffrac-suite-software/diffrac-eva.html>
- [68] G. Naja, P. Bouvrette, S. Hrapovic e J. H. T. Luong, « Raman-based detection of bacteria using silver nanoparticles conjugated with antibodies», *Analyst*, vol. 7, n. 132, pp. 679-686