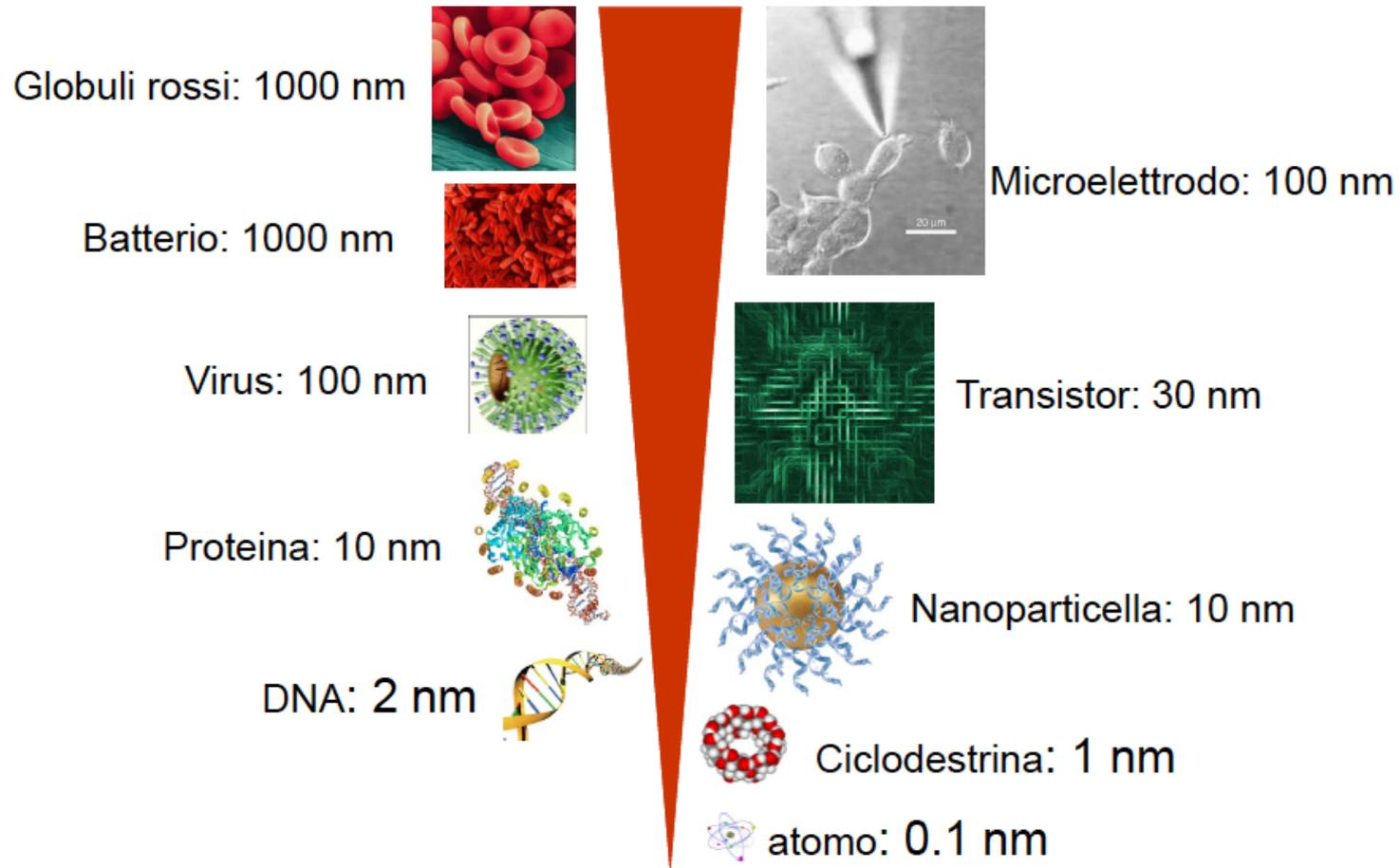
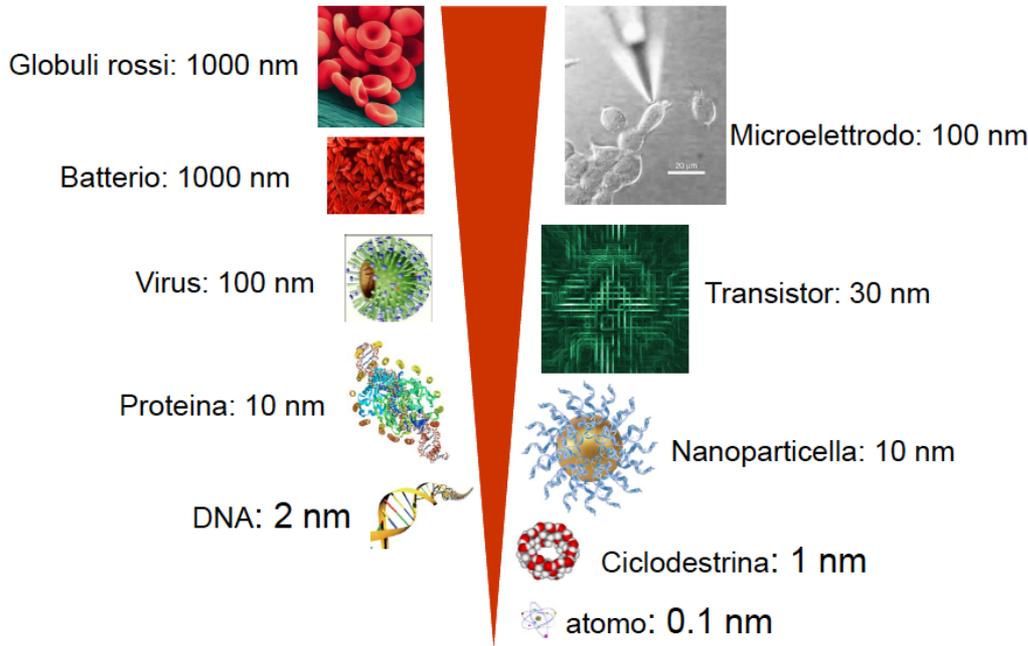


Le proprietà fisico-chimiche delle Nanoparticelle metalliche e il loro utilizzo come biosensori

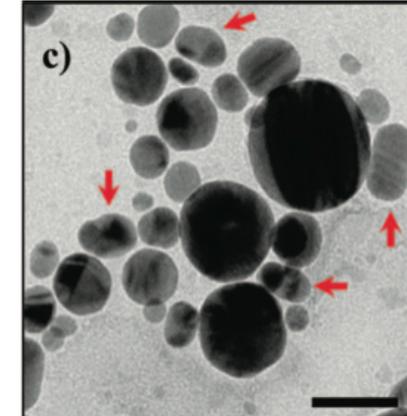
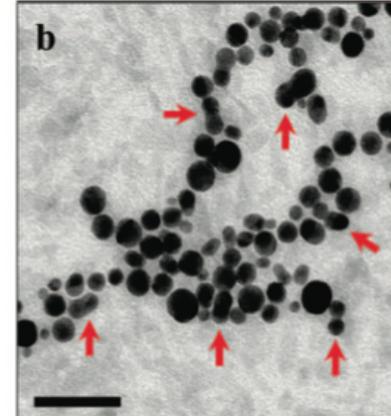
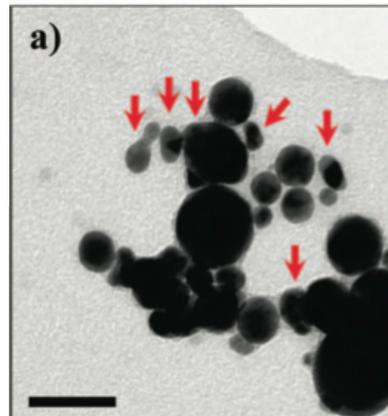
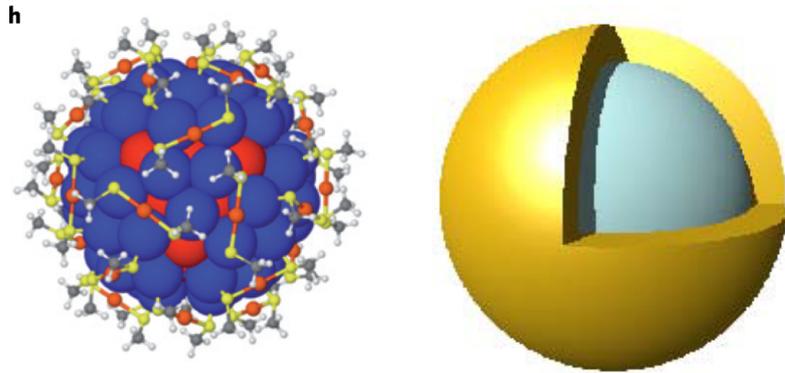
”nano” è un prefisso che significa “miliardesimo”





Le nanoparticelle (NP) hanno dimensioni tra 1 nm e qualche centinaio di nm.

Possono essere metalliche (Au, Ag, Pt, Pd) semiconduttori (Si, SeCd, ZnS) oppure le cosiddette core-shell NP (ad esempio Ag\FeO\ZnO, Ag\FeO, Cs\CdSe).



Ma perché i nanomateriali hanno proprietà così sorprendenti?

Quando le dimensioni scendono a livello di **pochi atomi**, dominano gli **effetti quantistici** (cambiano proprietà elettroniche, ottiche, magnetiche)

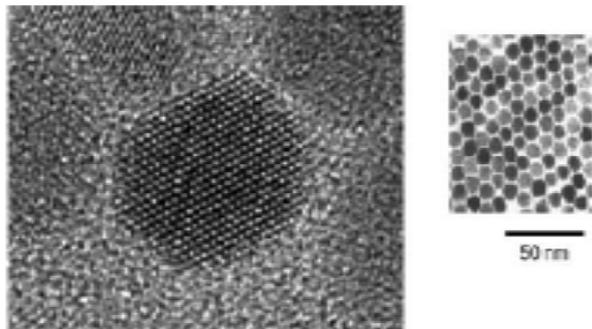
In più, **la superficie diventa più estesa del volume**, aumenta la reattività e migliorano le proprietà meccaniche

-**Argento**, noto come materiale inerte, su scala nano diventa **bio-reattivo**, e viene impiegato come battericida

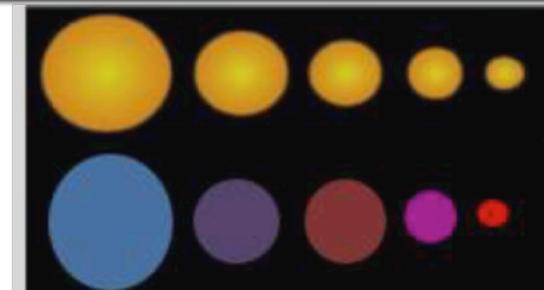
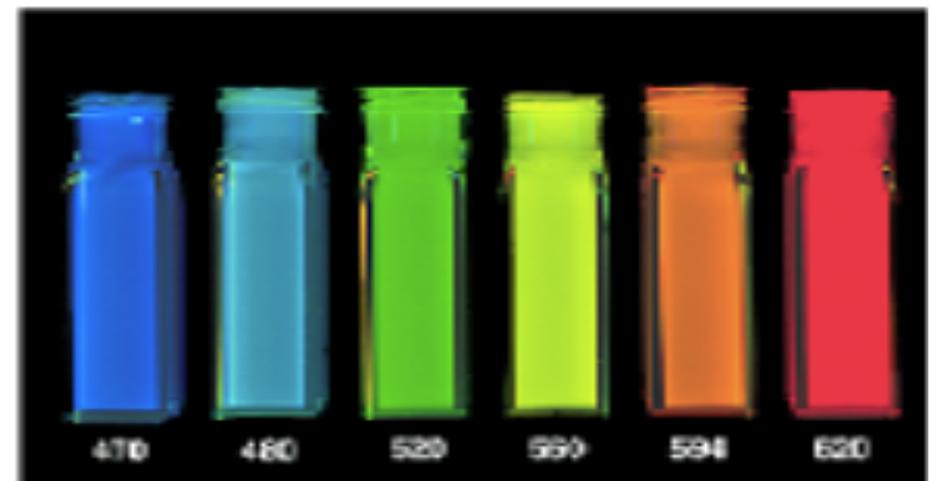
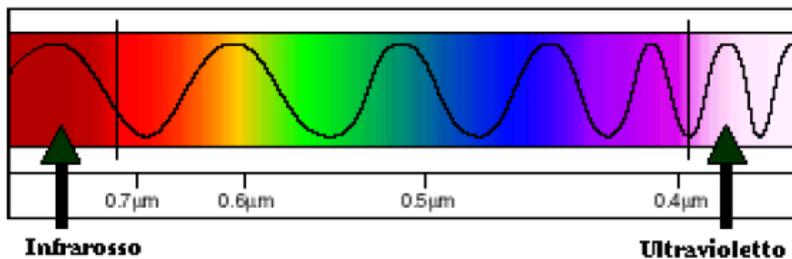
-**Oro** alla scala nano acquisisce **proprietà catalitiche**, in particolare viene usato nella trasformazione di CO in CO₂

Ma perché i nanomateriali hanno proprietà così sorprendenti?

Le **nanoparticelle** di semiconduttori (es: ZnS, CdSe) o di metallo (es: Au, Ag) costituite da poche migliaia di atomi (2-10 nm dia, a 50 nm hanno già qualche milione di atomi!) assorbono ed emettono luce il cui colore dipende dalle dimensioni, cioè dal numero di atomi che contengono.

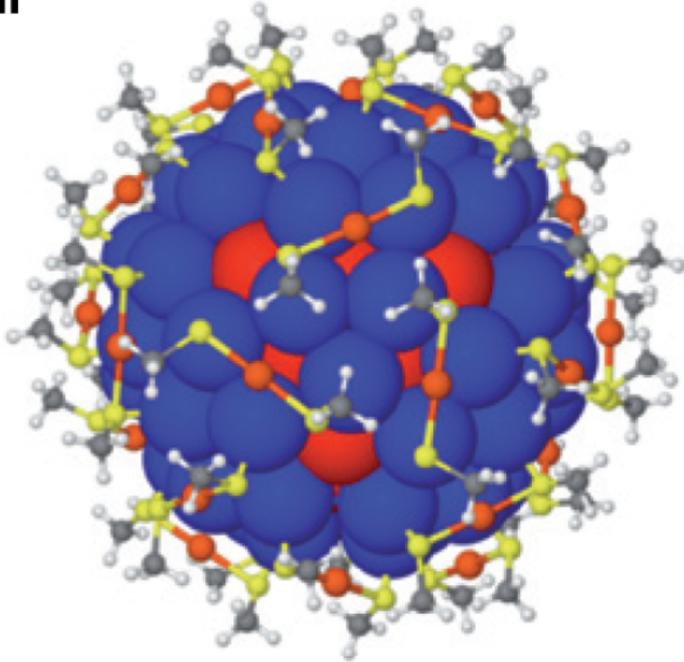


Regione della luce visibile
dello spettro elettromagnetico



NPs: grande rapporto superficie/
volume.

h



Una NP di oro di **10 nm** di raggio, ad esempio, contiene circa 220000 atomi d'oro di cui circa **1/3** in superficie.

Una particella macroscopica di **100 micron**, invece, ha circa S/V **$1/10^4$** .

A parità di unità di volume ci sono più atomi in superficie che partecipano alle possibili reazioni del nanomateriale, rendendo il processo più efficiente.

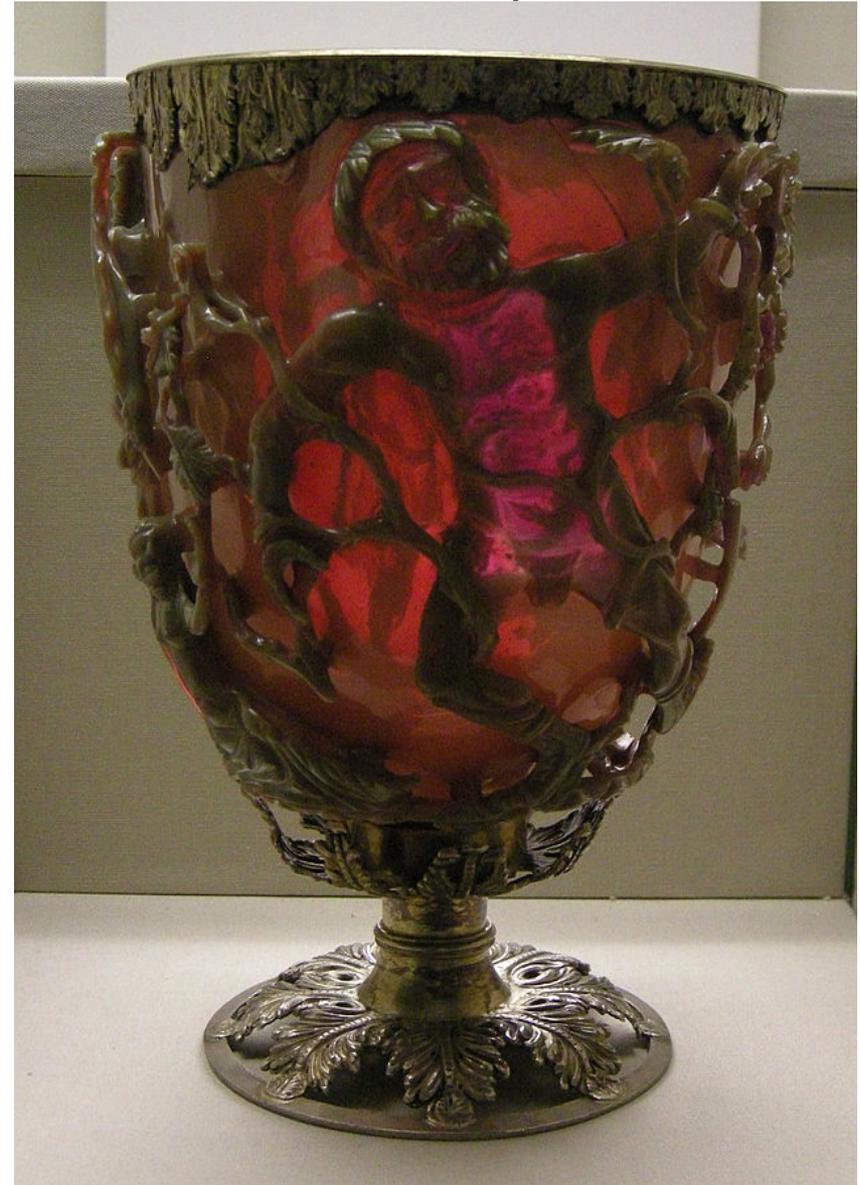
Elevato rapporto superficie/volume → Tensione superficiale

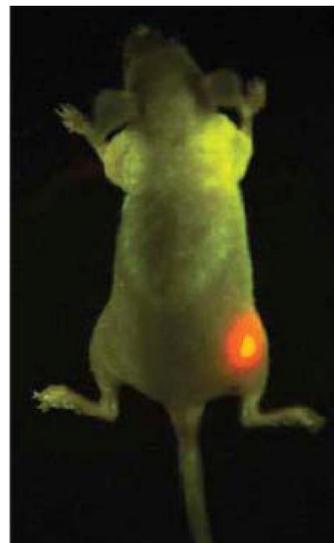
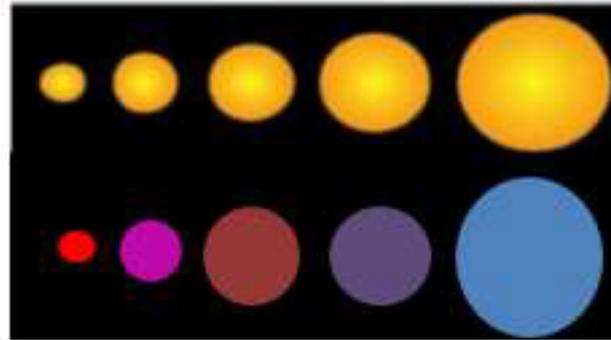
Tendenza all'aggregazione ←

raggio atomico Au, nm
0,144 ⁽⁵⁶⁾

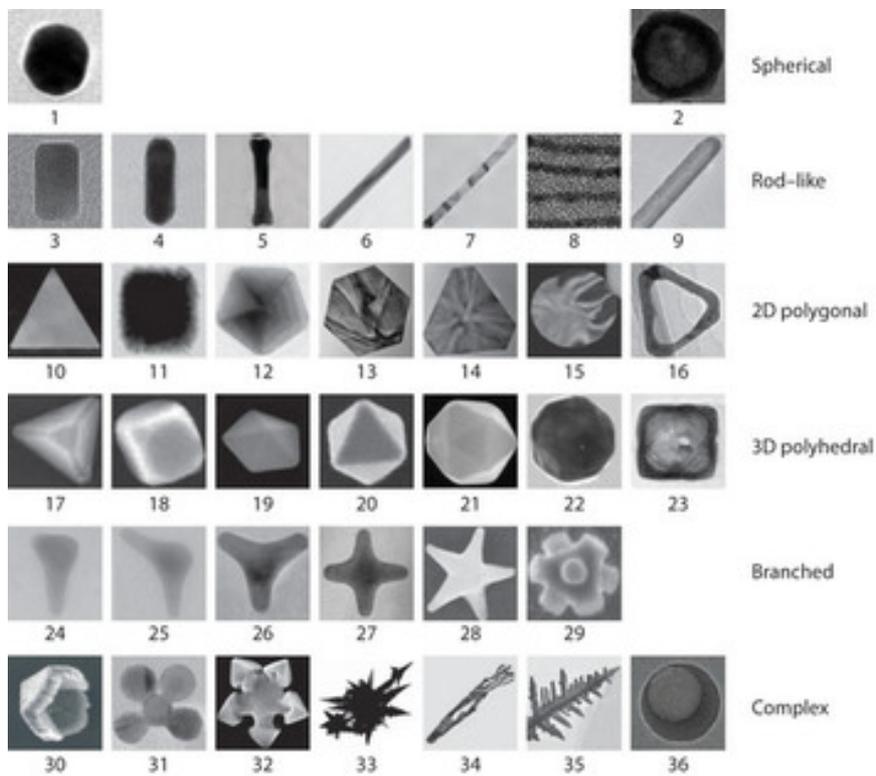
volume atomo di Au, nm³
0,0125

La coppa di Licurgo (romana, IV sec dc)





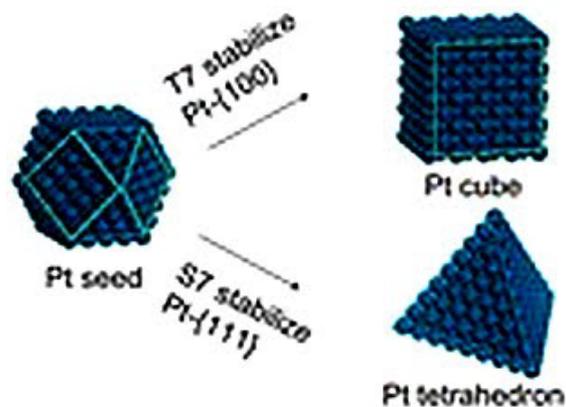
Le NP sono solubili. A seconda delle loro dimensioni, assorbono luce di colore diverso. Le particelle più piccole (pochi nm) assorbono nel blu, le più grandi (100 nm) nel rosso. Grazie a questa proprietà (di natura quantistica, legata al piccolo numero di atomi in gioco), le NP possono essere usate per esempio come “sonde ottiche”: si vanno a legare chimicamente a molecole che possono interagire nel corpo con specifiche proteine/recettori, per localizzare queste zone.



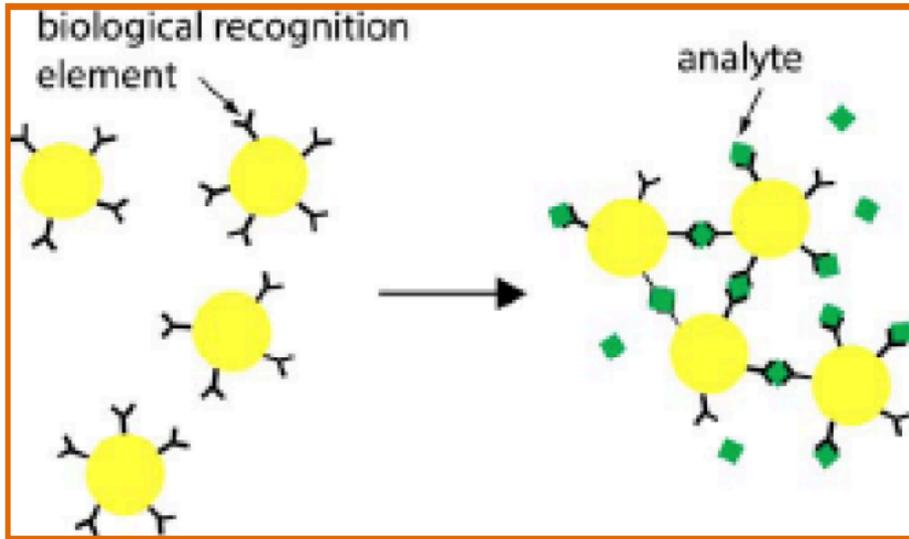
Le proprietà ottiche delle NP dipendono da:

- materiale
- dimensioni
- forma

È possibile sintetizzare particelle per esempio metalliche di dimensione e forma prestabilite, e controllare così le loro proprietà ottiche.

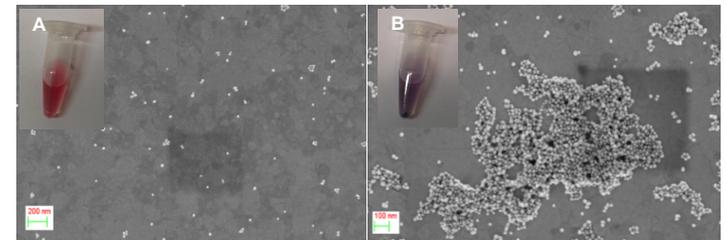
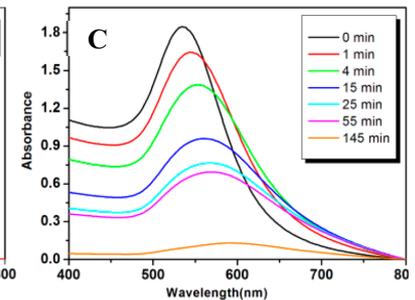
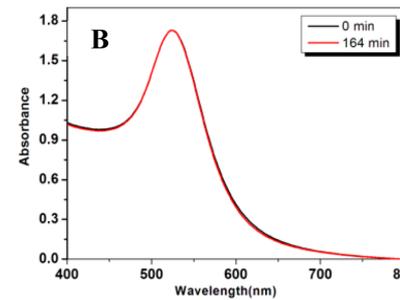
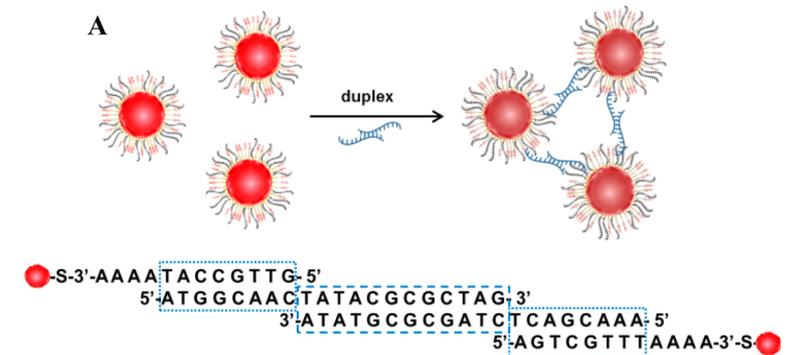


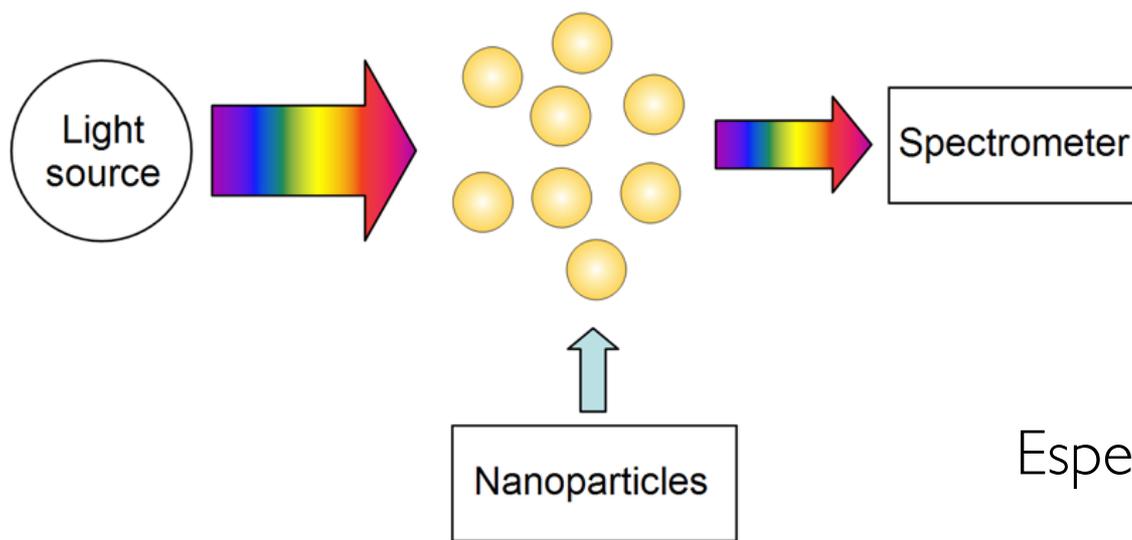
Nanoparticelle come sensori



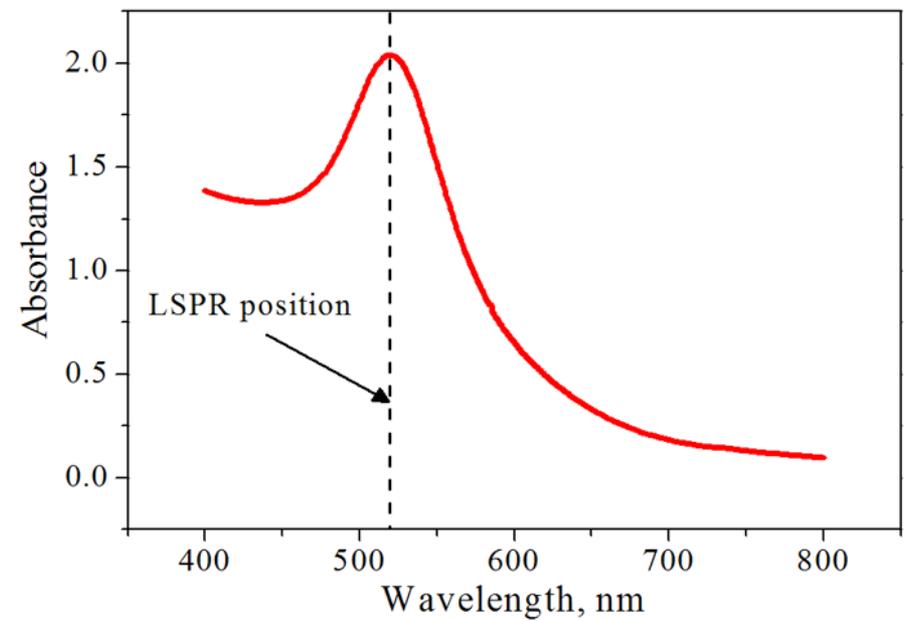
Ma anche l'aggregazione di particelle cambia le proprietà elettroniche e quindi il colore.

Aggregazione controllata puo' essere usata per la realizzazione di biosensori

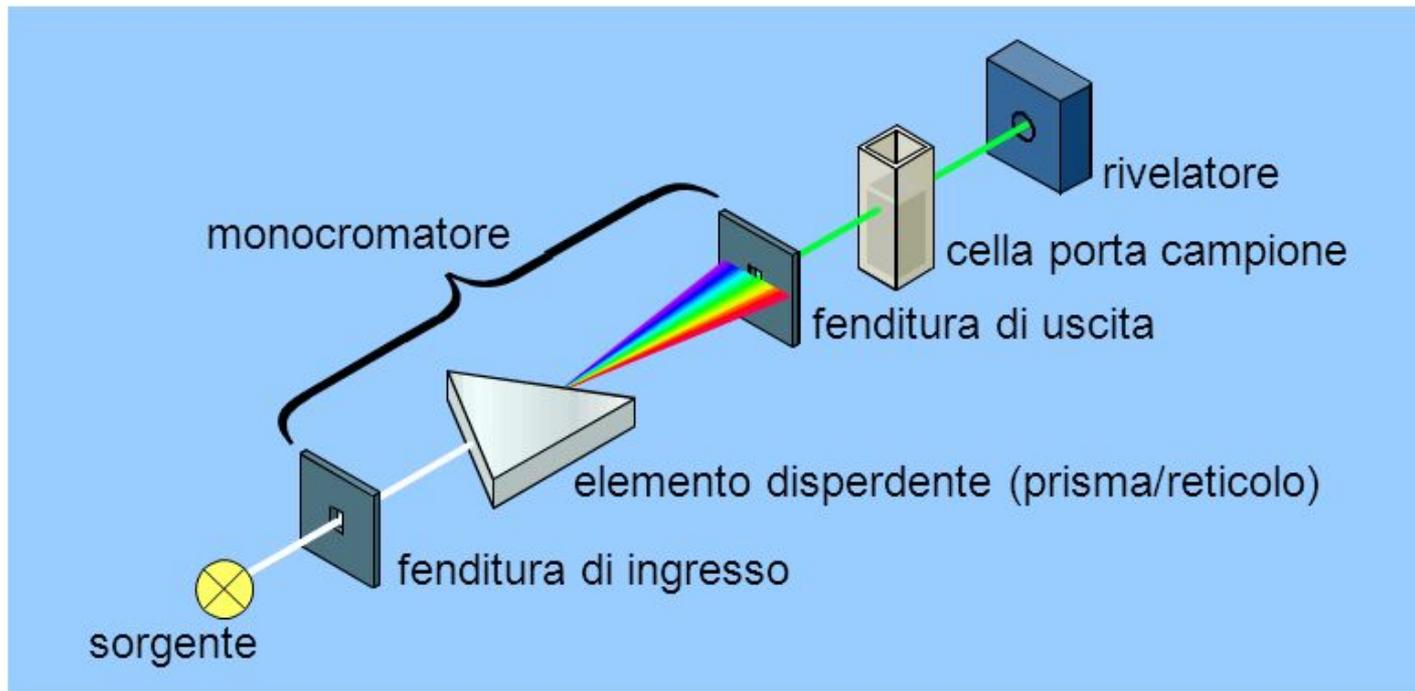


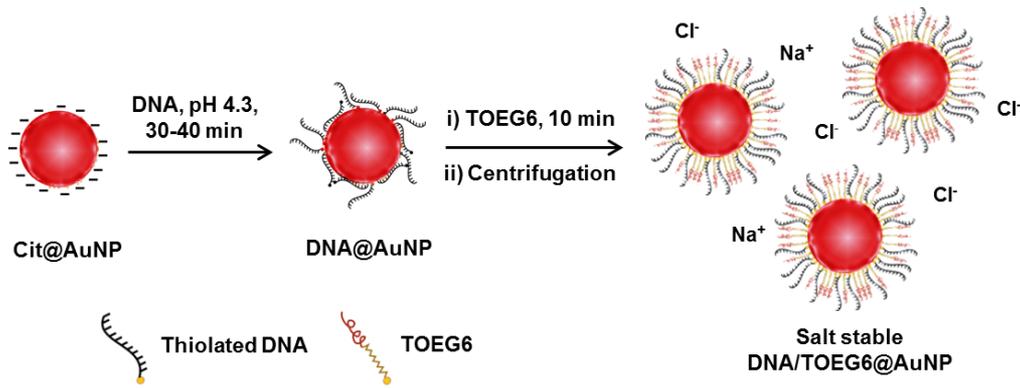


Esperimenti di assorbimento

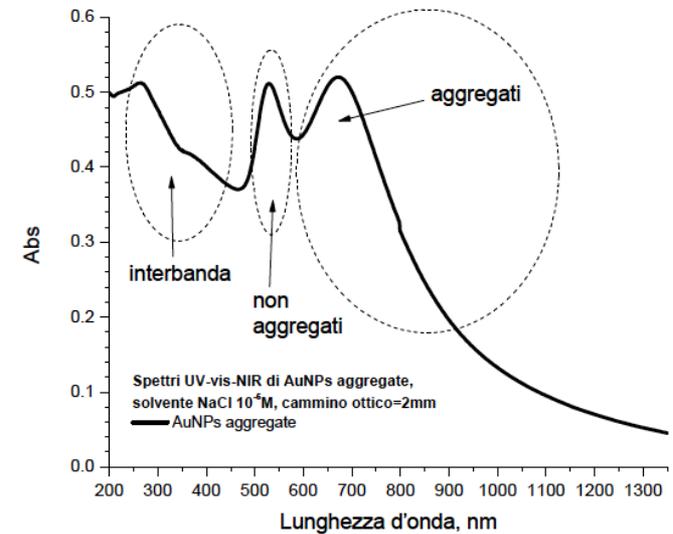
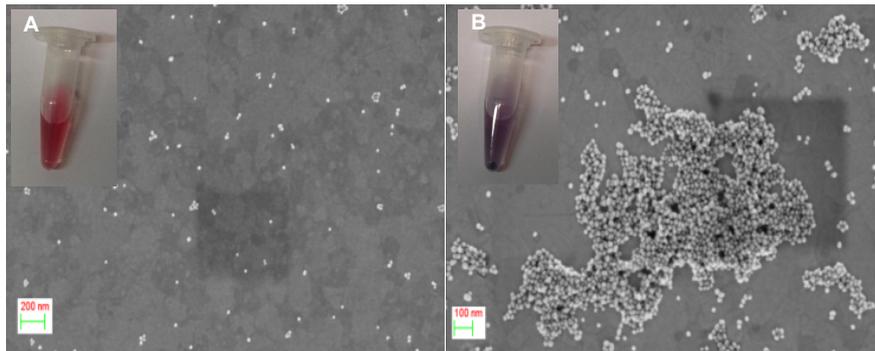


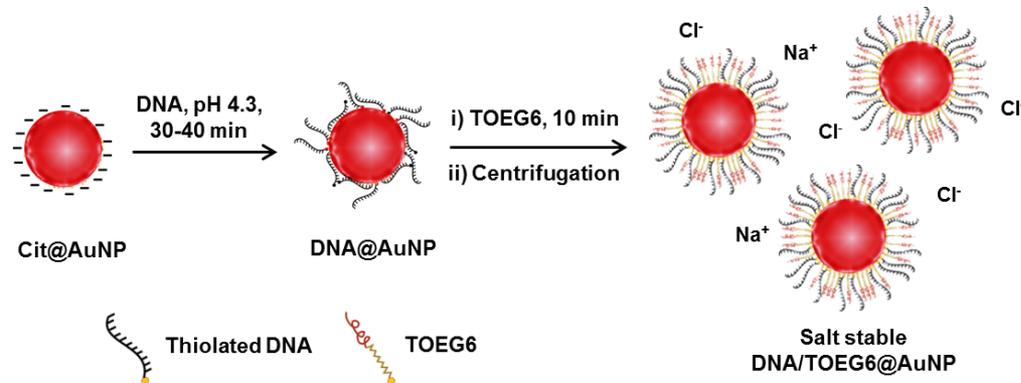
Spettrofotometro



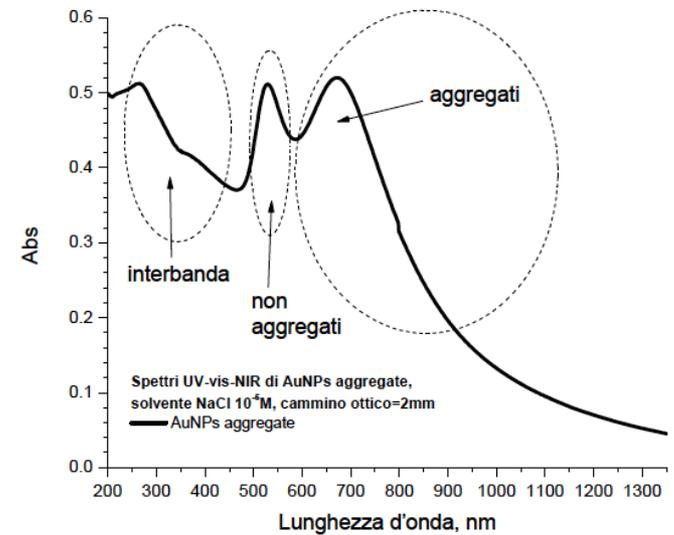
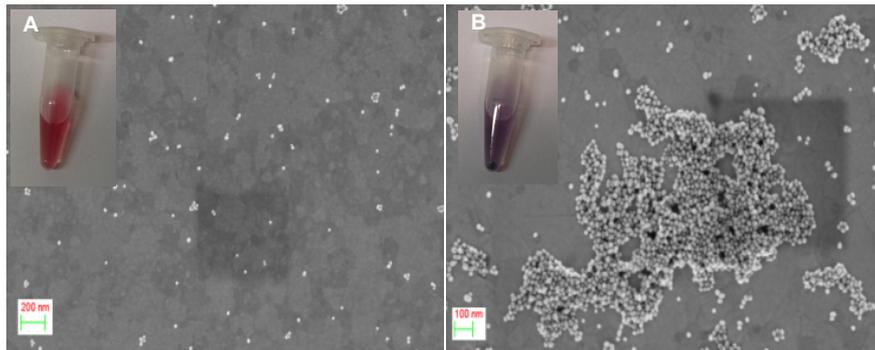


In generale, aggregati di NP si comportano come una NP più grossa.

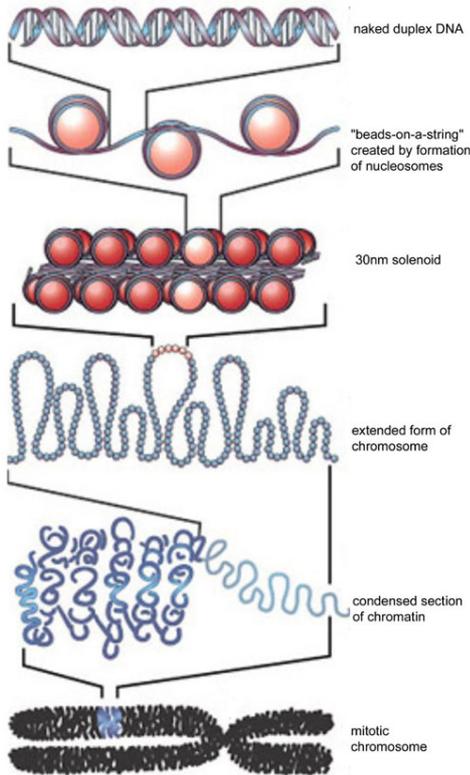




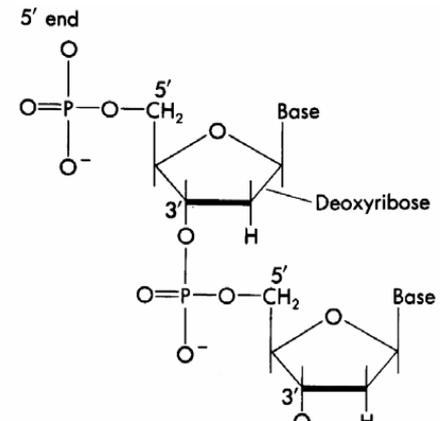
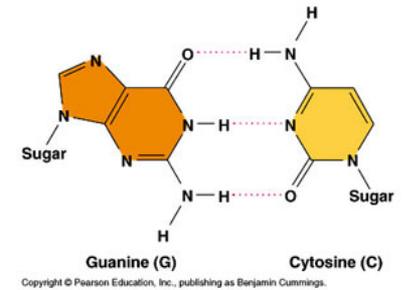
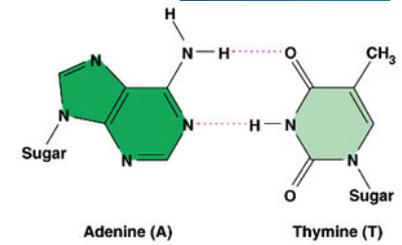
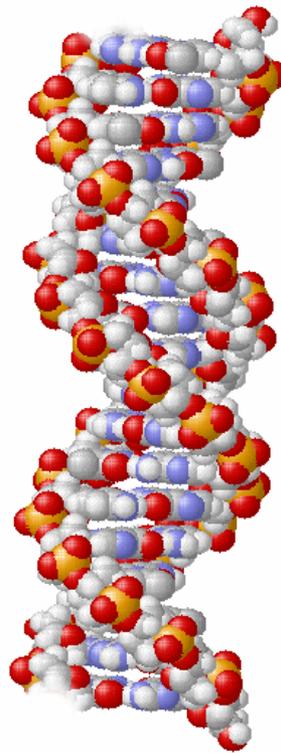
Ma come si fanno aggregare le NP in modo controllato?
Per esempio con il DNA



Base pairing



5' TAGACTACGCATACGCCT 3'
 3' ATCTGATGCGTATGCGGA 5'



Da cosa dipende il colore delle nanoparticelle?

Il campo elettromagnetico si propaga quindi nel metallo alla frequenza di plasma. Nel caso dell'oro, questa cade nel viola. Assorbendo nel viola, ci appare giallo.

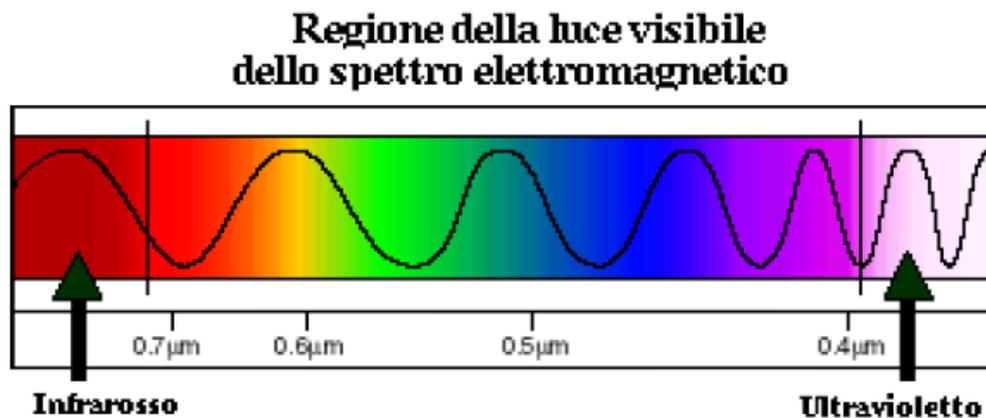
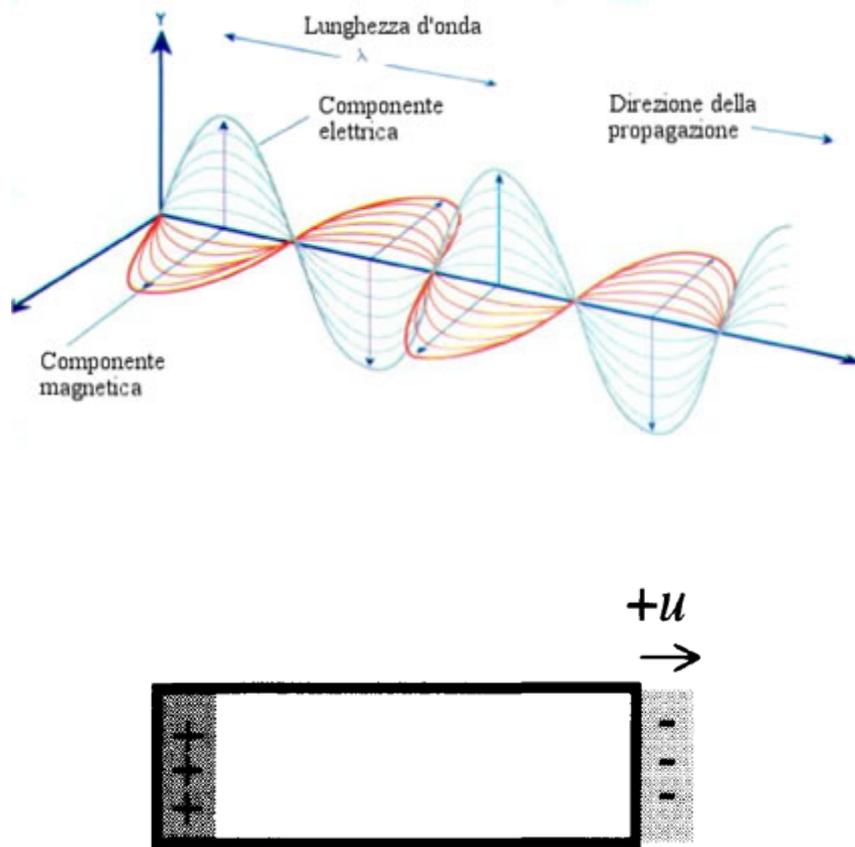


Fig. 5 La ruota dei colori complementari: in base al colore assorbito è possibile prevedere quello riflesso e viceversa

Da cosa dipende il colore delle nanoparticelle?

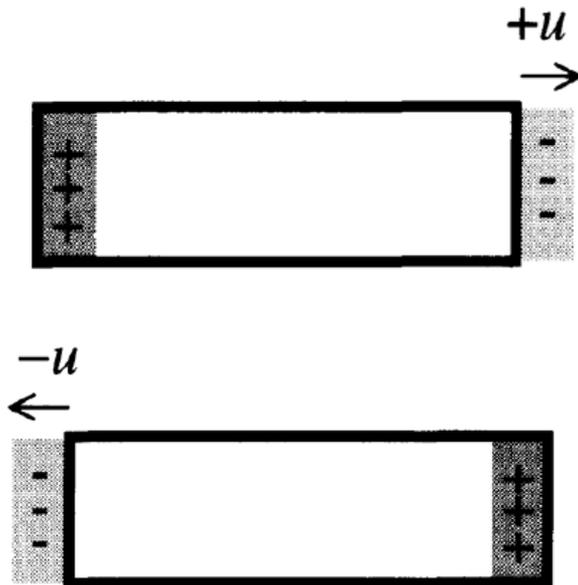


Come mai le AuNP assorbono a determinate lunghezze d'onda della luce visibile?

Secondo il modello di Drude, gli elettroni di valenza di un metallo si muovono nel metallo come un gas di elettroni liberi. “Urtano” contro gli ioni e raggiungono l’equilibrio termico con una velocità media che dipende dalla temperatura.

Applicando un campo elettrico costante si impartisce una velocità extra di $\mathbf{vd} = - (\mathbf{eE}/m)\tau$ con τ tempo medio tra due urti.

Da cosa dipende il colore delle nanoparticelle?

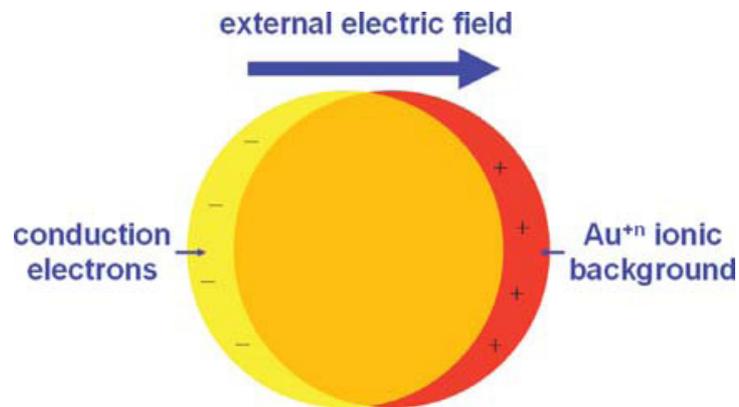
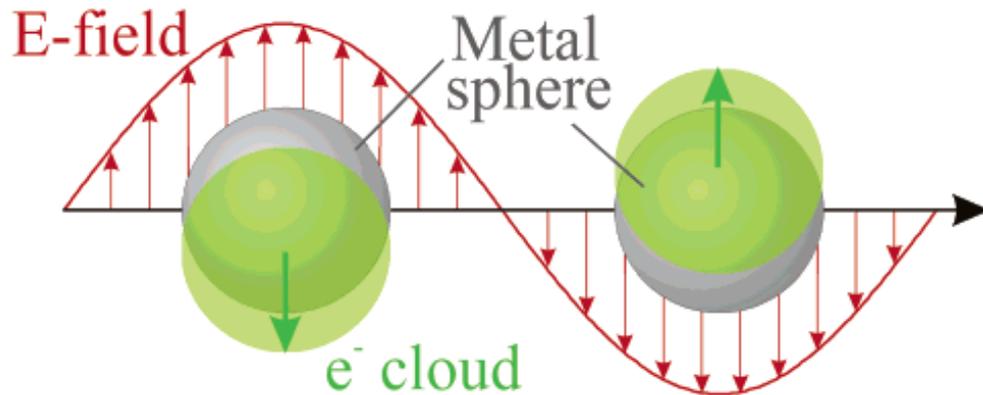


Tutti gli elettroni di valenza del metallo si muovono in fase, in risposta al campo elettrico, facendo un'oscillazione "collettiva" con una frequenza detta "frequenza di plasma", che dipende dalla densità degli elettroni di valenza del materiale, N_e .

Si può vedere come il moto di una massa che risente di una forza elastica di richiamo, dovuta agli ioni. Come tale, ha una frequenza di risonanza, la frequenza plasmonica per l'appunto.

$$\omega_p = (N_e e^2 / \epsilon_0 m_e)^{1/2}$$

Da cosa dipende il colore delle nanoparticelle?



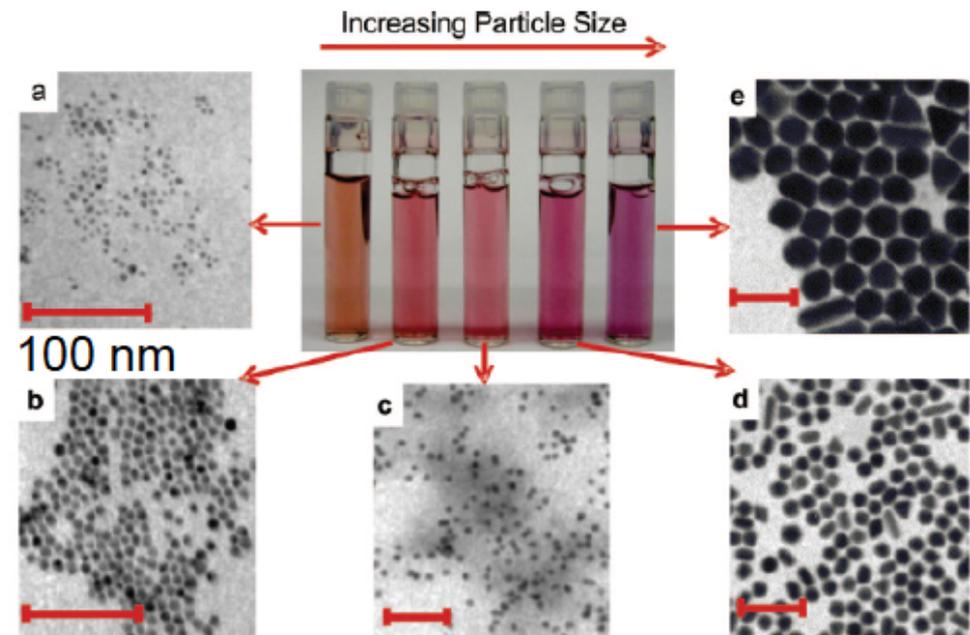
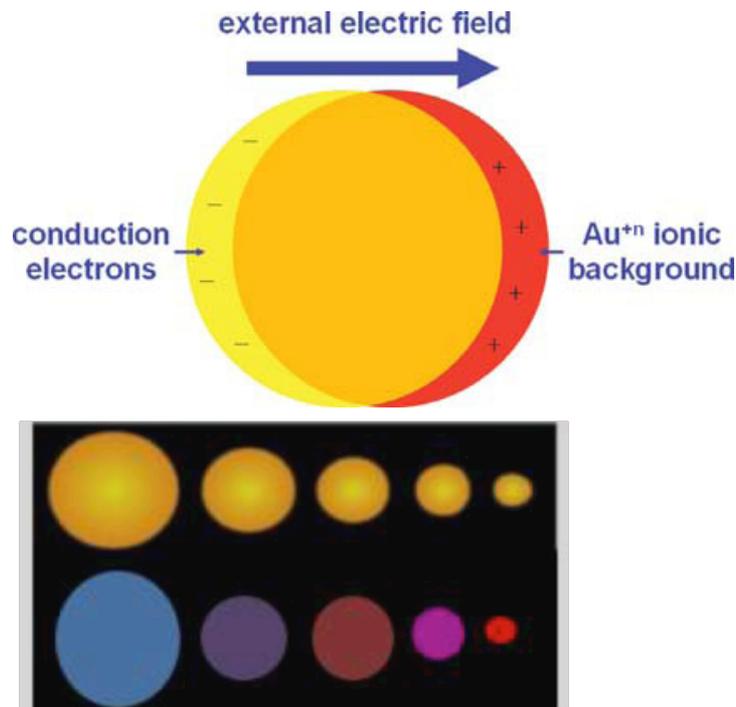
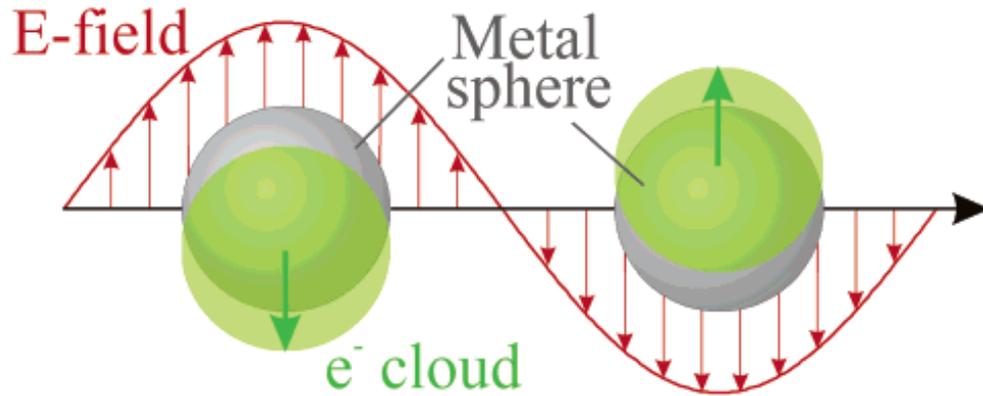
Alla nanoscala le oscillazioni collettive, plasmoniche, dipendono dal materiale ma anche dalla dimensione e dall'ambiente in cui le nanoparticelle sono immerse.

Per questo le NP si possono usare come **sensori molecolari**.

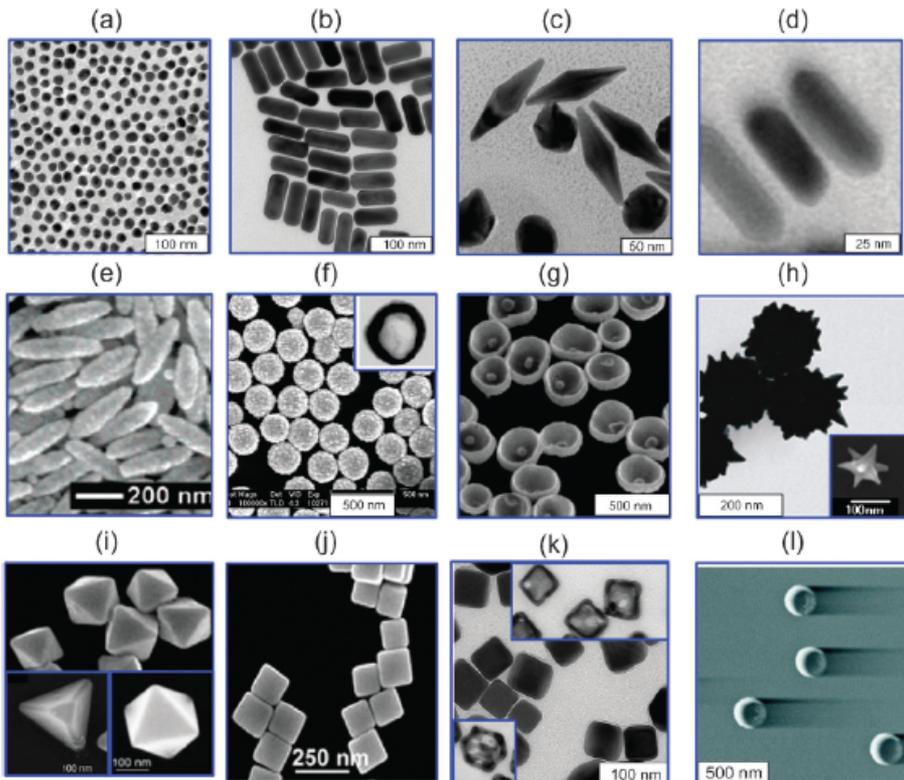
Il dipolo elettrico istantaneo produce uno sbilanciamento di carica che dà un effetto massa-molla che dipende dalla densità di carica di superficie, quindi da **dimensione e forma** della NP.

Da cosa dipende il colore delle nanoparticelle?

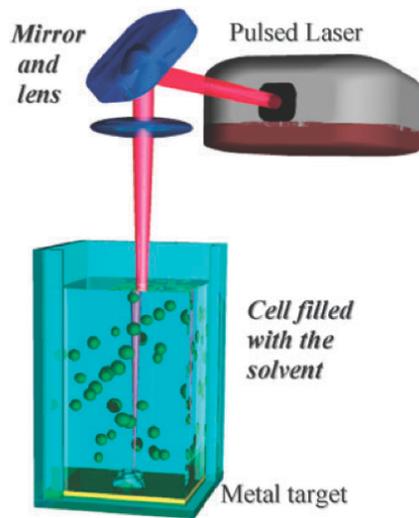
Queste oscillazioni di plasma danno luogo a un effetto noto come **Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR)**, e si hanno solo quando la lunghezza d'onda della luce è molto più grande del diametro della NP. L'interazione luce-nanomateria è in questo caso molto intensa.



Da cosa dipende il colore delle nanoparticelle?



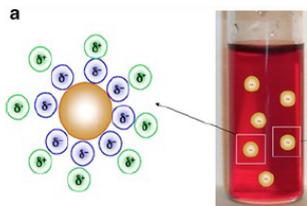
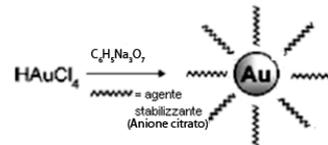
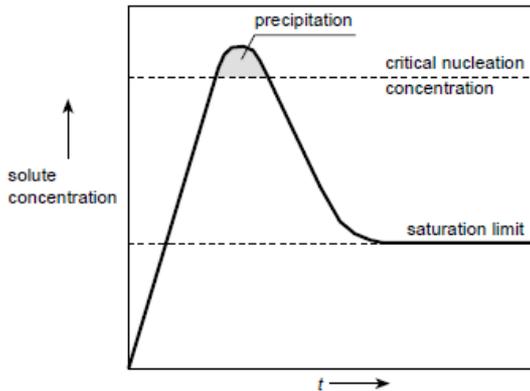
NP cave hanno frequenze di assorbimento più basse di quelle piene.
 NP a rod hanno due diversi modi di oscillazione, uno longitudinale a freq. bassa e uno trasversale a freq. più alta.



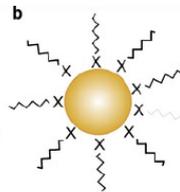
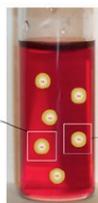
Come si producono le NP metalliche:

- Top-Down
 - Laser Ablation
- Bottom-Up

Sintesi chimica: si tratta di fare nucleare particelle d'oro colloidal a partire da sali d'oro (es: HAuCl_4) e agenti riducenti come citrati. Le AuNP prodotte hanno grande tensione di superficie. Il citrato agisce come agente riducente ma anche un po' come stabilizzatore. Impedendole di aggregare. Se ci'e' un sale in soluzione, il citrato e' schermato e cominciano ad aggregare. Si riduce stabilizzandole con molecole come tioli, ammine, polimeri o per via elettrostatica



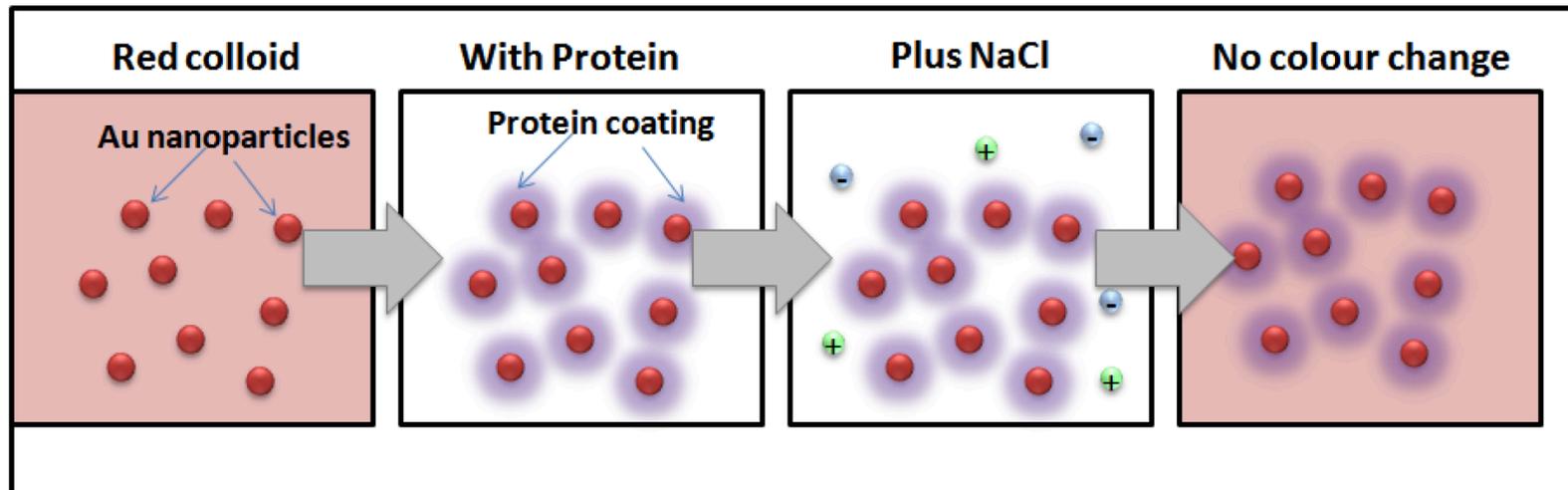
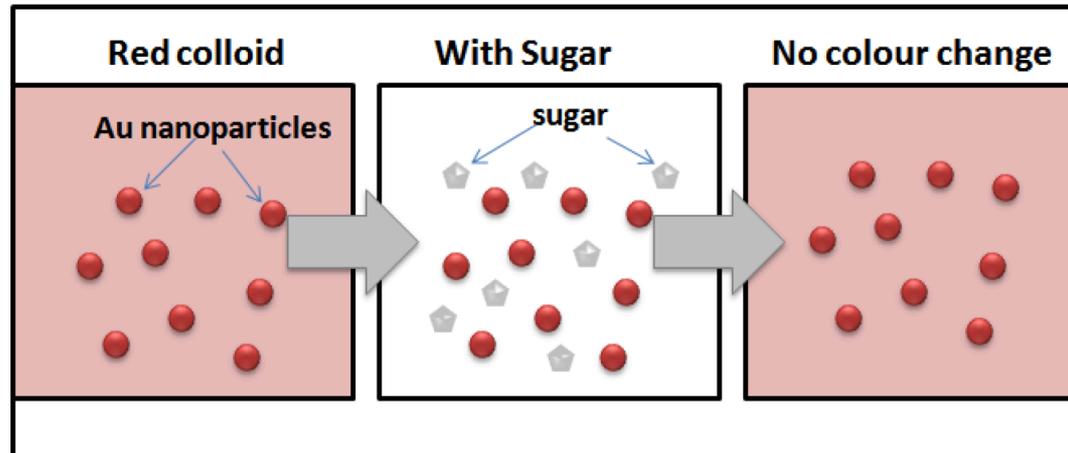
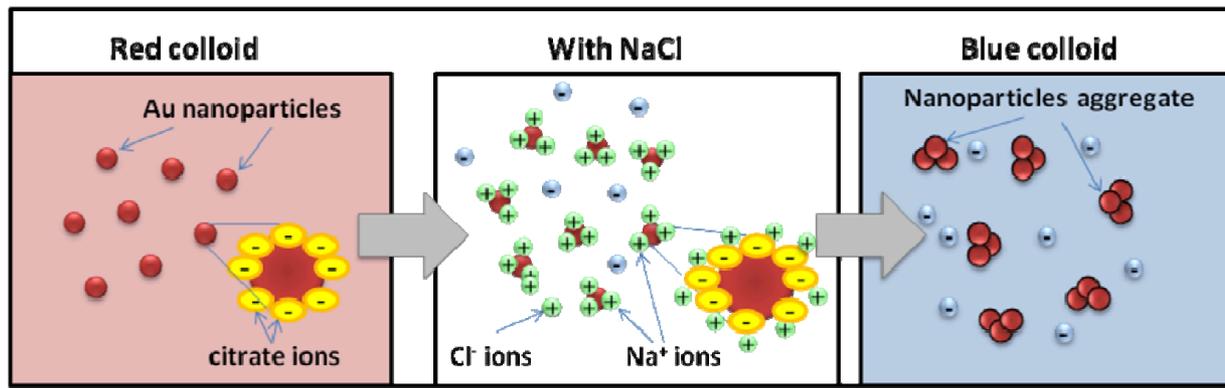
Stabilizzazione elettrostatica



Stabilizzazione sterica

<https://www.youtube.com/watch?v=kOy0yuWpUzU>

Filmato I
Exp. I

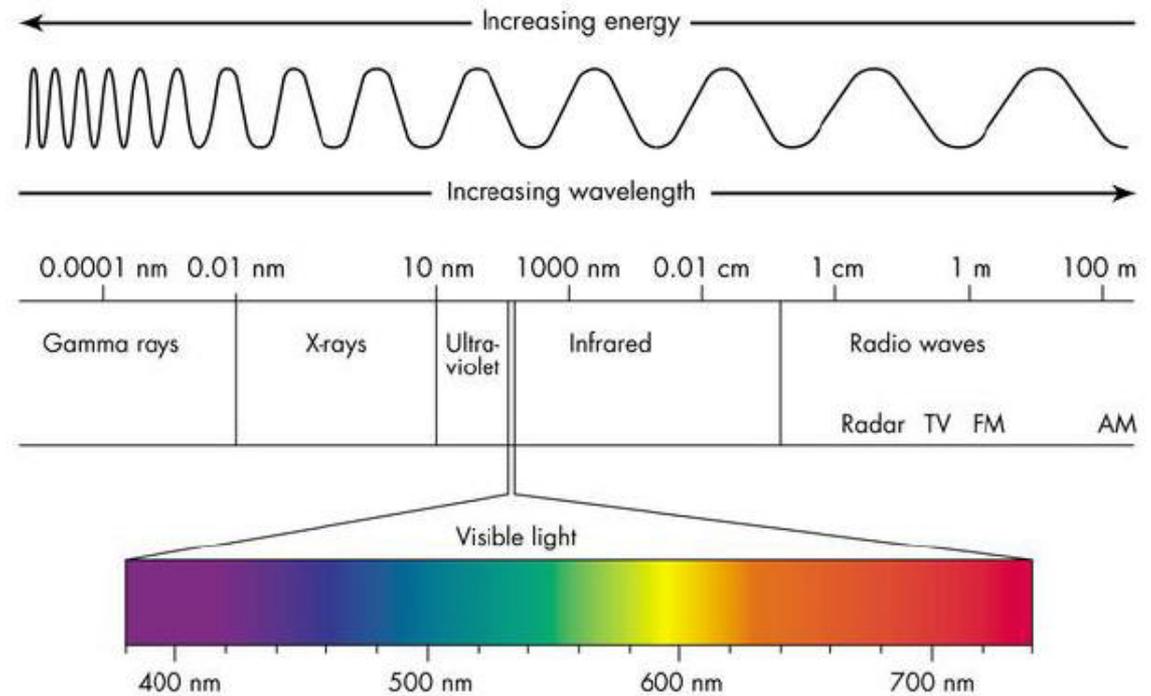
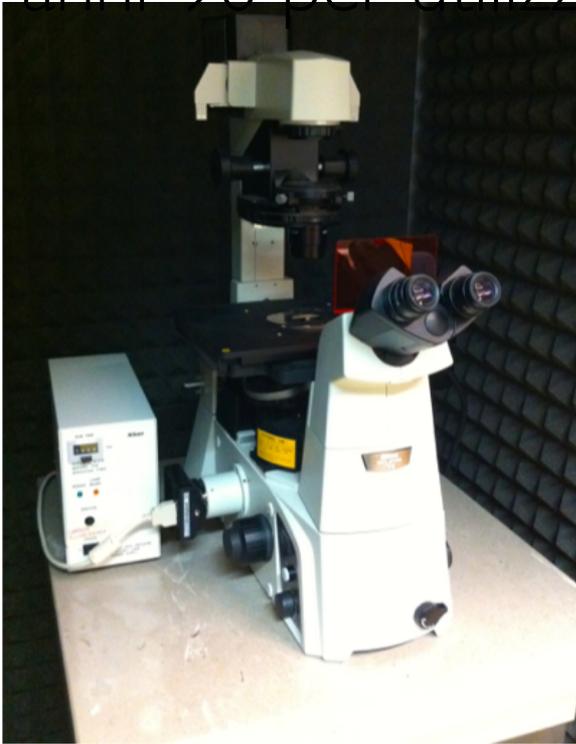


Perche' abbiamo dovuto aspettare fino agli anni '90 per utilizzare le nanoparticelle?

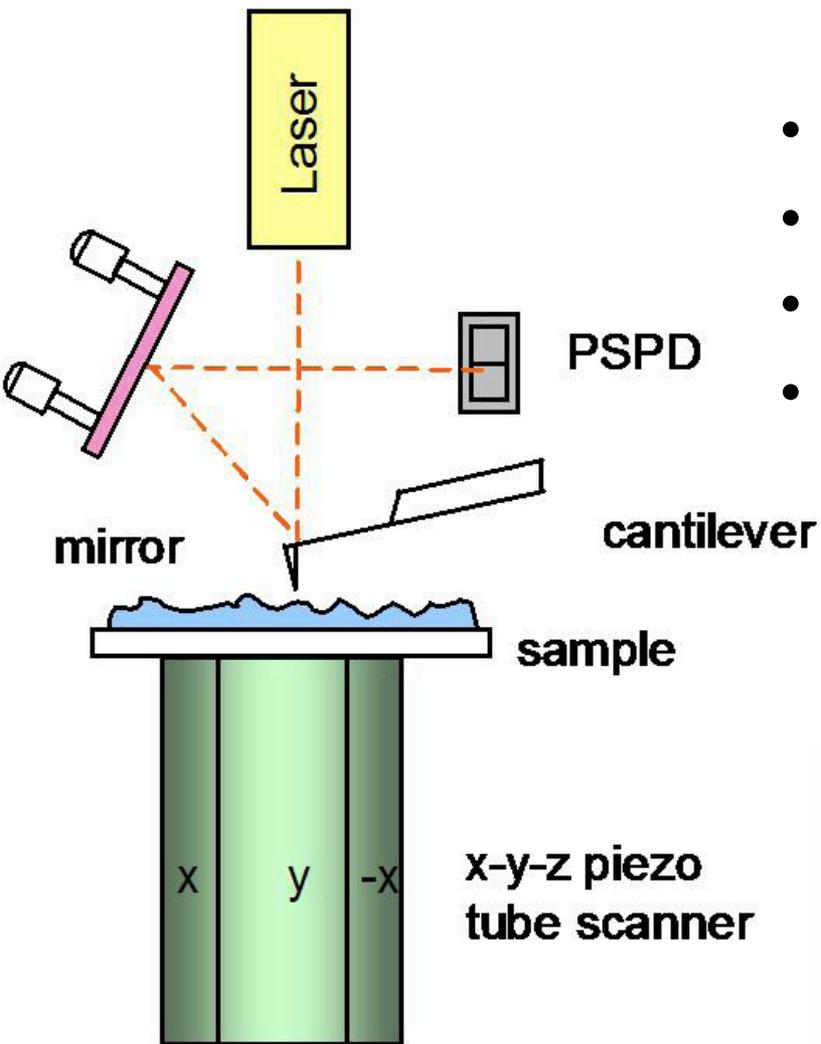
- Perche' il **microscopio ottico** (quello con le lenti e la luce) e' quasi cieco sotto il millesimo di millimetro.

Questo perche' la luce visibile e' fatta di onde che hanno una dimensione non troppo piccola (circa appunto un millesimo di millimetro) e perche' se si guarda qualcosa usando una sonda che e' piu' grande di quel qualcosa e' chiaro che quel qualcosa non lo si puo' vedere.

Perche' abbiamo dovuto aspettare fino agli anni '90 per utilizzare le nanoparticelle?



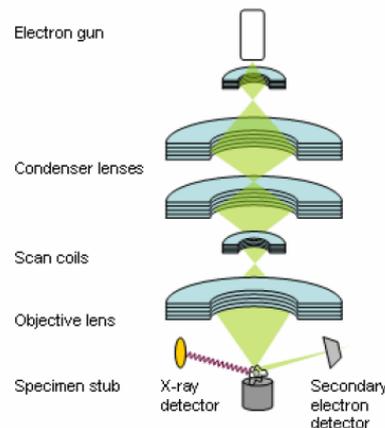
E allora come si fa a vedere le cose quando sono nano?



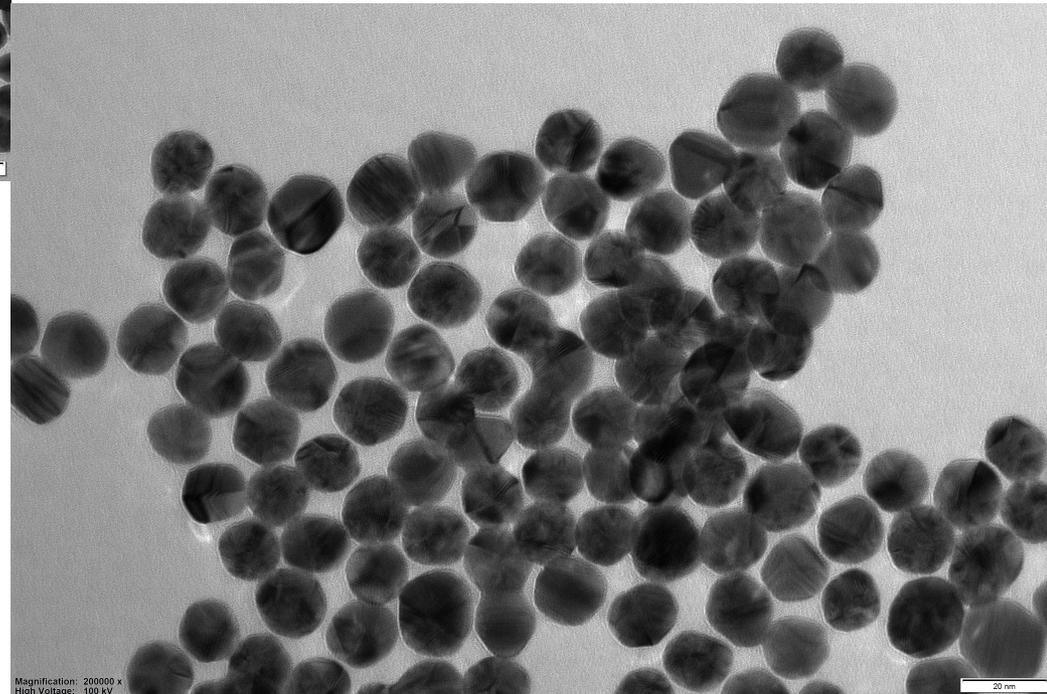
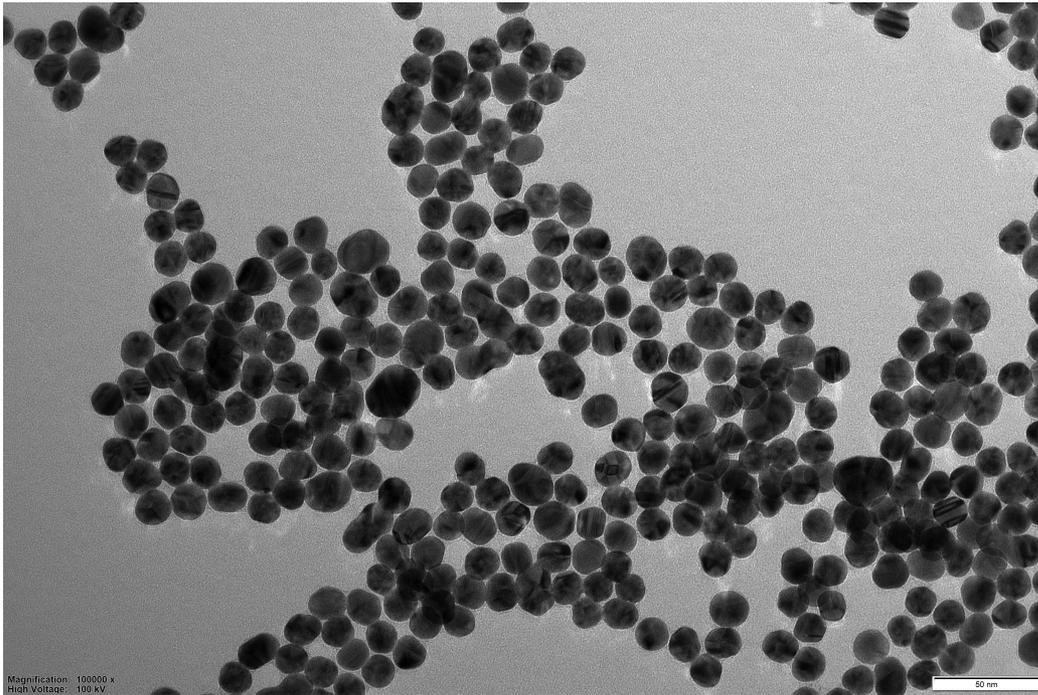
Si usano nuovi strumenti:

- Microscopio Elettronico
- Microscopio a Effetto Tunnel
- Microscopio a Forza Atomica
- Microscopi a Raggi X

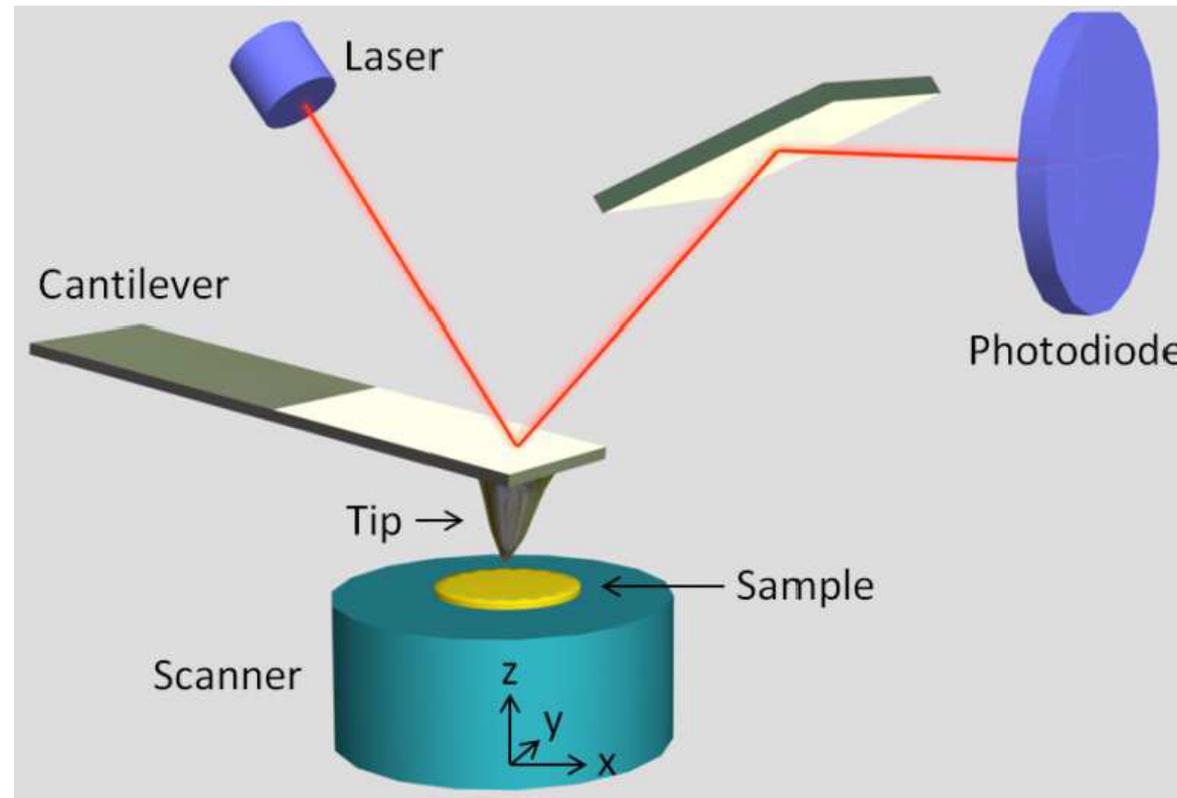
uno degli strumenti inventati in Svizzera nel laboratorio della IBM a Zurigo nel 1984/87 come ad esempio il **microscopio a forza atomica** che vede “alla cieca”, cioè tastando gli oggetti come fa una persona quando si trova al buio.



Au NPs al Microscopio elettronico



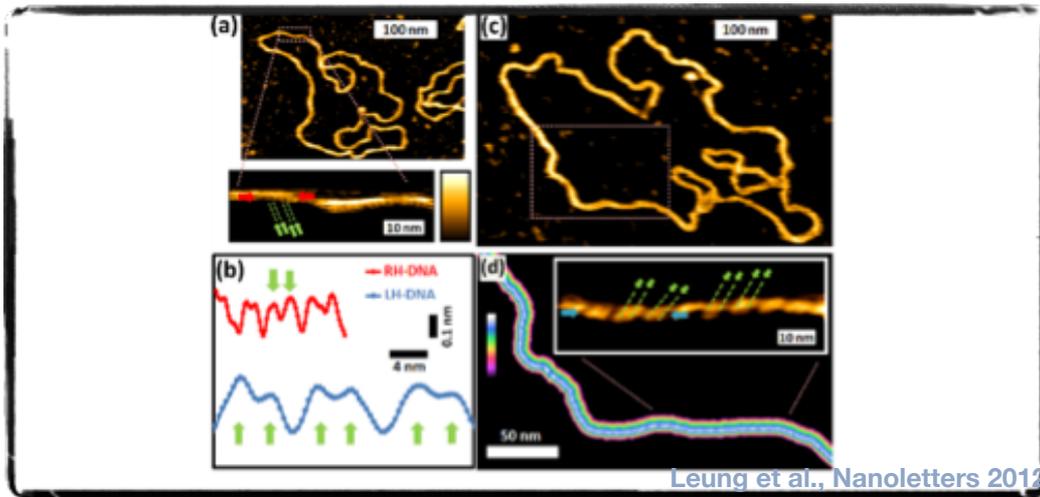
Il Microscopio a Forza Atomica (AFM)



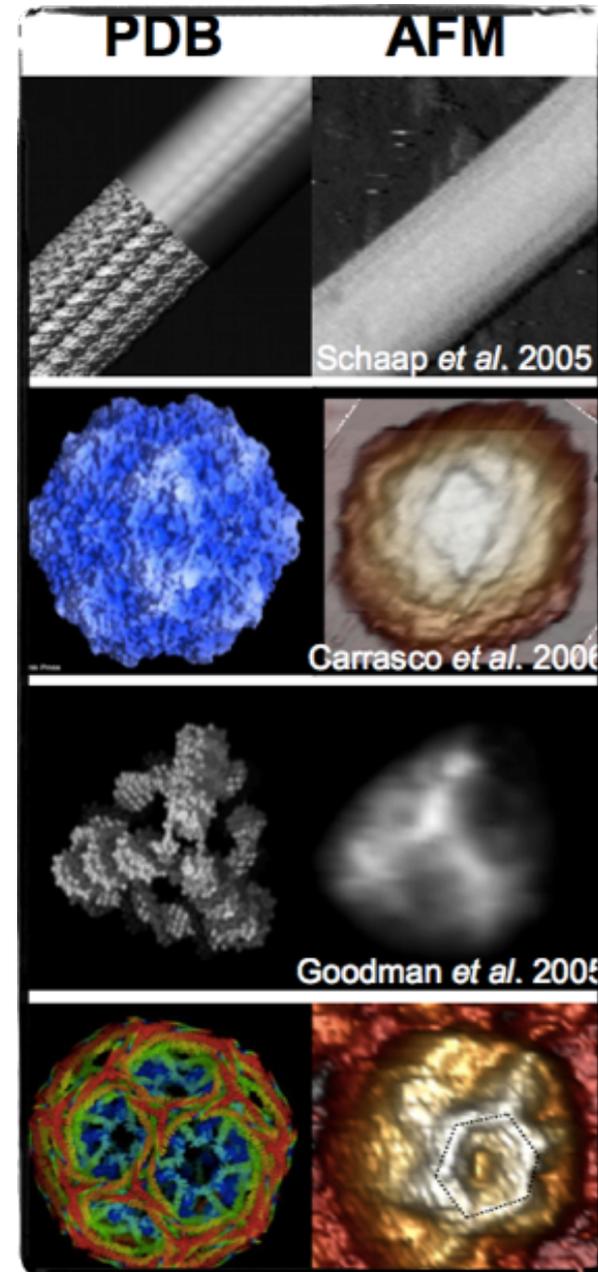
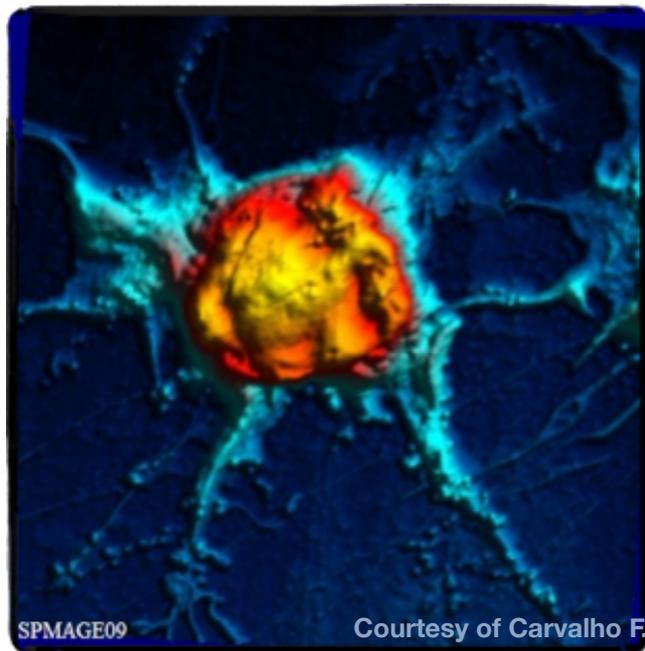
AFM in Biology

Proteins

DNA

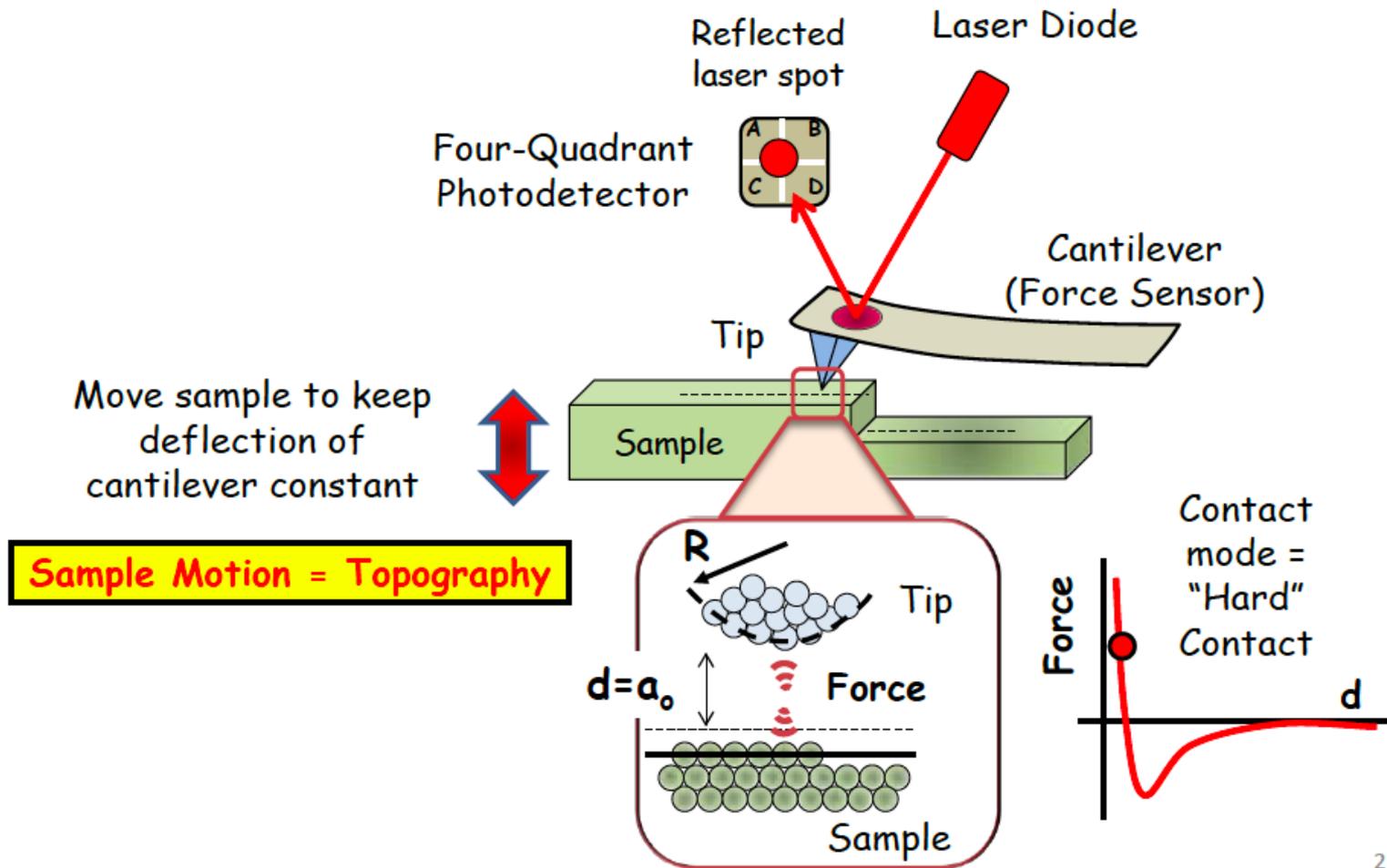


Cells



Il Microscopio a Forza Atomica (AFM)

The Purpose of a Microscope is to Obtain an Image



$$F = -k_c Z_c$$

Simile alla Legge di Hook della molla....
 k_c = costante elastica
 Z_c = deflessione della cantilever

Il Microscopio a Forza Atomica (AFM)

Il sensore dell'AFM e' quindi la **cantilever**, che "sente" le forze intermolecolari tra una piccolo **punta** nanometrica (punta del cantilever) e il campione.

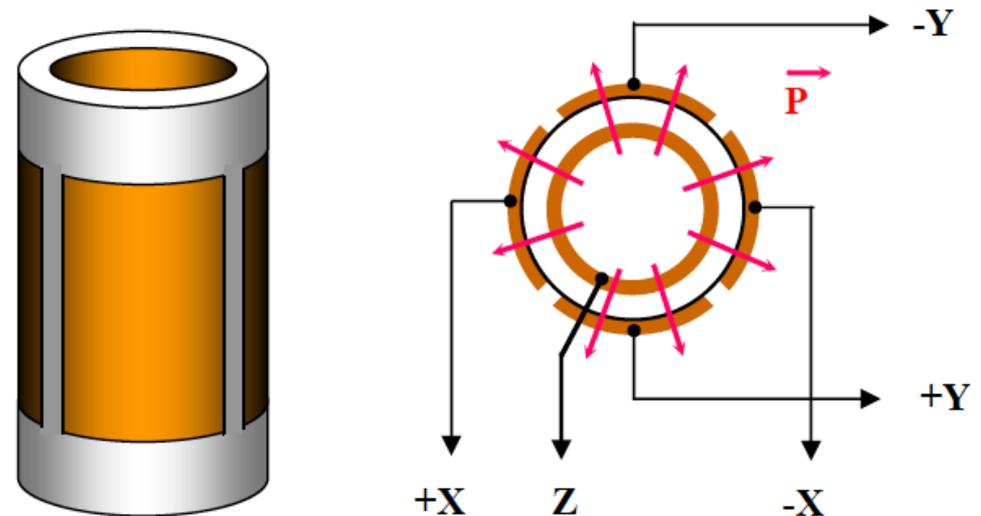
Le **forze intermolecolari** che misura l'AFM sono evidenti solo a partire da distanze di qualche nanometro tra punta e campione.

Chi permette di far avvicinare la cantilever (con la sua punta) al campione controllando con precision distanze di 1 nm e sue frazioni, e' un motore detto piezoelettrico (ovvero un cristallo, tipicamente una ceramica, che si polarizza in campo elettrico generando una deformazione meccanica e proporzionale a questo).

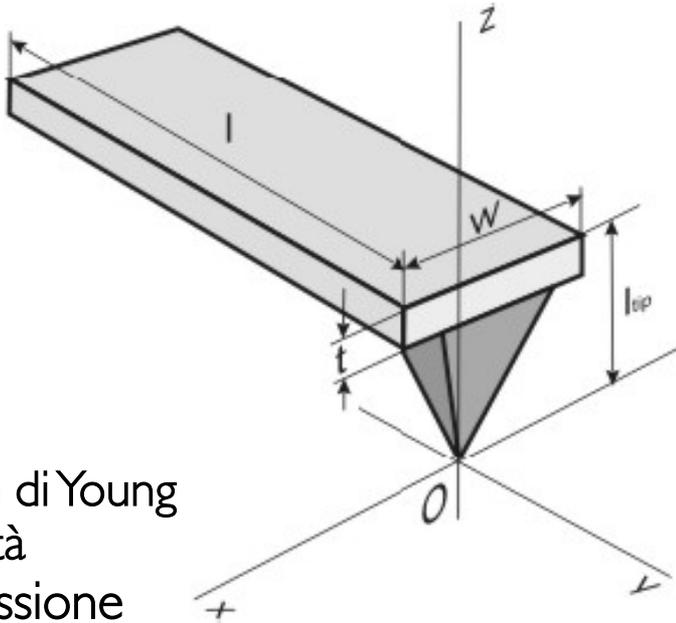
Scanner piezoelettrico a singolo tubo

The polarization vector (ceramic) is radially directed

The external electrode is divided by cylinder generatrixes into four sections: 3D scanning



Il Microscopio a Forza Atomica (AFM): La sonda (cantilever)



E = Modulo di Young
 ρ = densità
 Z_c = deflessione
 K_c = costante elastica

$$k_c = \frac{F}{Z_c} = \frac{Ewt_c^3}{4L^3}$$

Una buona cantilever deve avere alta sensibilità. Ovvero piccole forze devono corrispondere a grandi deflessioni, Z_c . Questo si ottiene con basse costanti elastiche (ricordate le molle!) o basso tc/L .

Frequenza di risonanza della cantilever:

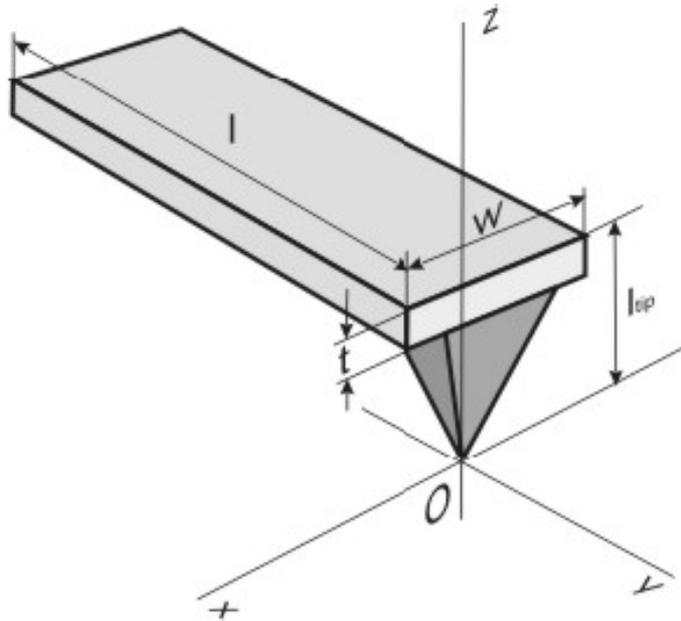
$$f = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} = \frac{1}{4\pi} \frac{t}{l^2} \sqrt{\frac{E}{\rho}}$$

Vibrazioni provenienti dall'esterno o qualunque fonte di rumore, tipicamente a bassa frequenza, viene trasmesso tanto meno alla cantilever quanto meno la sua frequenza di risonanza è grande ---- t/l^2 deve essere grande!

Una frequenza di risonanza grande consente anche di fare scansioni veloci nel piano x,y

Typical E value: $1.5 \times 10^{11} \text{ N m}^{-2}$ in silicon nitride

Il Microscopio a Forza Atomica (AFM): La sonda (cantilever)



Frequenza di risonanza della cantilever:

$$f = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} = \frac{1}{4\pi} \frac{t}{l^2} \sqrt{\frac{E}{\rho}}$$

Quindi, la cantilever ottimale è il risultato di un compromesso tra vari fattori.

Dimensioni tipiche della cantilever:

$L = 100\text{--}200 \mu\text{m}$

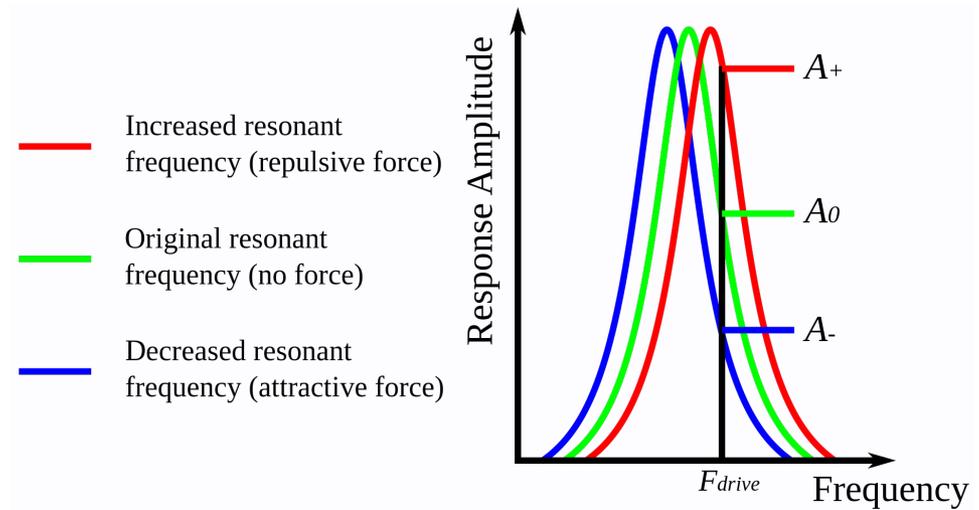
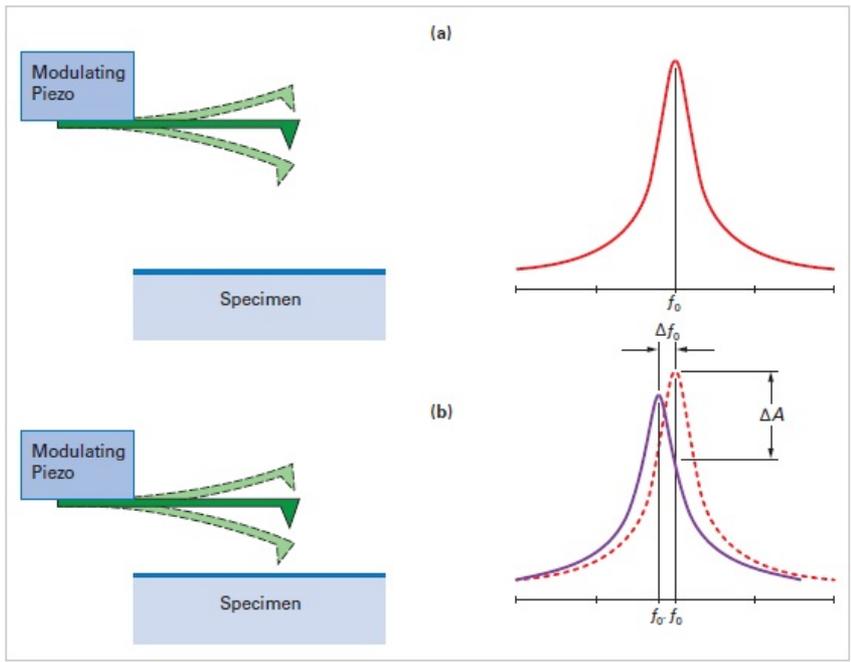
$W = 40 \mu\text{m}$

$t_c = 0.5\text{--}1 \mu\text{m}$

Frequenza di risonanza: 20–200 kHz

Cantilever for imaging veloce sono più corte e sottili ($L = 10 \mu\text{m}$, $t_c = 0.2\text{--}0.3 \mu\text{m}$,
risonanza circa 2 MHz)

Il Microscopio a Forza Atomica (AFM): Modalita' di lavoro dinamica (cantilever oscillante)



$$k_{eff} = k - \frac{\partial F_{total}}{\partial z}$$

In modalità di lavoro dinamica (AC mode AFM) la cantilever viene messa in eccitazione alla sua frequenza di risonanza da un motore piezoelettrico. Cambiamenti della forza di interazione (cioè quando la punta e' vicina al campione) causano una variazione nella frequenza. Fissata la frequenza di misura, lo shift in frequenza si osserva come una variazione di ampiezza.