

Универзитет у Београду

Хемијски факултет

Бојана Б. Лабан

Ј-агрегација боје 3,3'-дисулфопропил-5,5'-
дихлоротиацијанина на колоидним честицама
сребра различитих својстава

Докторска дисертација

Београд 2017.

University of Belgrade

Faculty of Chemistry

Bojana B. Laban

J-aggregation of 3,3'-disulfopropyl-5,5'-
dichlorothiacyanine dye on colloidal silver particles
with different properties

Doctoral dissertation

Belgrade 2017.

Универзитет у Београду

Хемијски факултет

Ментори:

1. др Сања Гргурић-Шипка, редовни професор, Хемијски факултет Универзитета у Београду
2. др Весна Васић, научни саветник, Институт за нуклеарне науке „Винча“, Универзитет у Београду

Чланови комисије:

1. др Сања Гргурић-Шипка, редовни професор, Хемијски факултет Универзитета у Београду
2. др Весна Васић, научни саветник, Институт за нуклеарне науке „Винча“, Универзитет у Београду
3. др Тибор Сабо, редовни професор, Хемијски факултет Универзитета у Београду
4. др Ања Јокић, редовни професор, Природно-математички факултет Универзитета у Приштини са седиштем у Косовској Митровици
5. др Весна Водник, научни саветник, Институт за нуклеарне науке „Винча“, Универзитет у Београду
6. др Софија Совиљ, редовни професор (у пензији), Хемијски факултет Универзитета у Београду

Датум одбране:

Београд 2017.

Захвалнице

Овај рад је урађен под непосредним руководством др Весне Васић, научног саветника Института за нуклеарне науке „Винча“ у Лабораторији за физичку хемију. Овом приликом јој се захваљујем на избору теме, помоћи при експерименталном раду и при обради резултата, разумевању, стрпљењу и саветима које ми је пружила у току докторских студија у свим фазама израде ове докторске дисертације.

Захваљујем се ментору Проф. др Софији Совиљ, редовном професору (сада у пензији) Хемијског факултета на посвећености и корисним сугестијама приликом израде ове докторске дисертације.

Захваљујем се ментору Проф. др Сањи Гргурић-Шипка, редовном професору Хемијског факултета на показаном интересовању и саветима приликом израде коначне верзије ове докторске дисертације.

Захваљујем се др Весни Водник научном саветнику Института за нуклеарне науке „Винча“ на помоћи при изради дела експеримената, интерпретацији резултата и саветима при изради ове докторске дисертације.

Захваљујем се Проф. др Ањи Јокић, редовном професору Природно-математичког факултета на подршци током докторских студија и корисним саветима.

Захваљујем се Проф. др Тибору Сабо, редовном професору Хемијског факултета на показаном интересовању и саветима.

Др Драгани Васић-Анићијевић из Института за нуклеарне науке „Винча“ се захваљујем на помоћи коју ми је указала уводећи ме у основне поставке компјутационе хемије и на помоћи при обради добијених теоријских резултата.

Хвала колегиници из Института за нуклеарне науке „Винча“ , Др Уни Богдановић на помоћи указаној при синтези наночестица.

Хвала колегама из Института за физику Др Горану Исић и Урошу Ралевић на помоћи при изради експеримента, обради и интерпретацији резултата Раманских мерења.

Велико хвала мом оцу Бранку, мајци Љубици и брату Александру на безграничној подршци, љубави и стрпљењу које су ми пружили током докторских студија.

*J-агрегација боје 3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлоротиаџанина на колоидним честицама
сребра различитих својстава*

Резиме

Наночестице сребра коришћене у овој докторској дисертацији синтетисане су у воденој средини помоћу различитих редукционих средстава, као што су натријум-борхидрид, тринатријум-цитрат и цетил-триметил-амонијум-бромид. Употребом ових метода добијене су наночестице сферног и штапићастиг облика различитих величина и површинске покривености. Синтетисане колоидне дисперзије сребра окарактерисане су применом различитих експерименталних метода: трансмисионом електронском микроскопијом, UV-Vis спектроскопијом, флуоресцентном и раманском спектроскопијом, микроскопијом атомских сила, методом динамичког расејања светлости, као и мерењем зета потенцијала. У овом раду, применом поменутих метода, испитана је интеракција између синтетисаних наночестица сребра и ањонске цијанинске боје (3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлоротиаџанин натријумова со, ТС) у воденој средини. UV-Vis спектроскопијом је потврђено да молекули боје на површини наночестица сребра формирају J-агрегате које карактерише појава нове траке у апсорпционом спектру. Апсорпциона трака J-агрегата померена је ка црвеном делу спектра у односу на мономер боје и има максимум на 481 nm. Услед формирања J-агрегата ТС боје на површини наночестица сребра настају хибридне наноструктуре чије оптичке особине се у многоме разликују од оптичких особина самих наночестица сребра. Формирање J-агрегата на површини наночестица сребра је концентрационо и временски зависно, и потпомогнуто додатком KCl. Услед присуства јона метала у већим концентрацијама, додатком KCl, долази до формирања J-агрегата боје у раствору, које карактерише апсорпција на 464 nm. Приликом синтезе наноштапића сребра додаје се NaOH, тако да услед присуства велике концентрације јона Na⁺, долази до појаве апсорпционе траке на 464 nm, карактеристичне за формирање J-агрегата у раствору, као и апсорпције на 481 nm услед формираних J-агрегата боје на површини наночестица сребра.

ТС боја има високу флуоресценцију и флуоресцентна мерења су показала да услед формирања J-агрегата боје у раствору интензитет флуоресценције расте. Међутим, услед интеракције наночестица сребра и молекула ТС боје, нађено је да интензитет флуоресценције који потиче од мономера боје, као и интензитет флуоресценције који потиче од формираних J-агрегата у раствору, опада. Гашење интензитета флуоресценције молекула ТС боје праћено је у зависности од концентрације наночестица сребра, при чему је Штерн – Волмеровом анализом одређена константа гашења интензитета флуоресценције. Добијена линеарност у Штерн – Волмеровом графику, која може бити израчуната и за статичко и за динамичко гашење интензитета флуоресценције, указује на један вид гашења интензитета флуоресценције.

Спектрофотометријским и флуориметријским мерењима утврђено је да су J-агрегати који су формиран на површини наночестица сребра стабилнији од J-агрегата формираних у раствору. Такође, на основу спектрофотометријских и флуоресцентних својства хибридни наночестица нађено је да се формирање J-агрегата квантитативно односи на површинску покривеност наночестица сребра молекулима боје.

Кинетика формирања J-агрегата, како у раствору тако и на површини наночестица сребра, испитана је методом зауставног тока. Кинетичка испитивања формирања J-агрегата на површини наночестица сребра изведена су у зависности од концентрација ТС боје и наночестица сребра а добијене кинетичке криве су сигмоидног облика те је кинетика формирања J-агрегата разматрана у оквиру аутокаталитичких реакција. Добијени кинетички параметри указују на то да је формирање J-агрегата на површини наночестица сребра процес који се одвија у два корака. Први процес јесте адсорпција молекула ТС боје на површини наночестица сребра и формирање иницијалног слоја, који је затим праћен прегруписавањем молекула боје и узастопним растом додатних слојева формирајући J-агрегате. Поред тога, испитана је и J-агрегација боје у раствору у присуству јона метала.

Да би објаснили везивање молекула ТС боје на површини наночестица сребра примењене су Скатчардова метода и Хилова анализа, где је наночестица сребра разматрана као макромолекул са више везивних места, а молекул ТС боје као лиганд. Анализом

података добијених флуоресцентним мерењима добијена је крива засићења, где је даљом обрадом одређена константа асоцијације као и просечан број молекула ТС боје по наночестици.

Применом теорије функционала густине, израчунате су релативне енергије везивања између атома функционалних група ТС боје и површине наночестице сребра. Нађено је да је енергетски најповољније када се молекул ТС боје веже за површину наночестице сребра преко атома кисеоника из SO_3^- групе. На тај начин омогућена је коса оријентација молекула на површини наночестица сребра.

Кључне речи: Наночестице сребра, тиаџијанинска боја, J-агрегација, кинетика, гашење флуоресценције, механизам везивања.

Научна област: Хемија

Ужа научна област: Општа и неорганска хемија

UDK број:

*J-aggregation of 3,3'-disulfopropyl-5,5'-dichlorothiacyanine dye on colloidal silver particles
with different properties*

Abstract

Silver nanoparticles in aqueous solution were synthesized by reduction of silver nitrate using various reducing agents such as sodium borohydride, trisodium citrate and cetyl trimethyl ammonium bromide. Silver nanospheres and nanorods with a different size and surface coverage were obtained. Silver colloidal sol was characterized using various experimental methods: transmission electron microscopy, UV-vis spectroscopy, fluorescence and Raman spectroscopy, atomic force microscopy, dynamic light scattering, and zeta potential measurements. The interaction between synthesized silver nanoparticles and anionic cyanine dye (3,3'-disulfopropyl-5,5'-dichlorothiacyanine dye, TC) in aqueous solution was studied. Using UV-vis spectroscopy, it was confirmed that TC dye forms J-aggregates on the surface of silver nanoparticles, which are characterized by new absorption band, which is red-shifted with respect to monomer band of dye, and with maxima at 481 nm. The J-aggregation of TC dye on the surface of silver nanoparticles, new formed hybrid metal-based nanoparticles have optical properties with specific features compared to the case of pure silver nanoparticles. Also, J-aggregation on the surface of silver nanoparticles has concentration and time-dependent manner and is assisted by added salt (KCl). The presence of metal ion in higher concentration (addition of KCl) induced J-aggregation in solution which is characterized by an absorption band at 464 nm. During silver nanorods synthesis NaOH was added, due to the presence of a large concentration of Na⁺ ion, addition to absorption band at 481 nm, the band at 464 nm was also present, indicating that both types of J-aggregates were present, in solution and at the surface of silver nanoparticles.

TC dye is highly fluorescent, and fluorescence measurement shows that formation of J-aggregates in solution increased fluorescence intensity. However, the fluorescence of TC dye, both for monomers and aggregates, is quenched due to interaction dye molecules with silver nanoparticles. Fluorescence quenching of TC dye molecules, by silver nanoparticles, is followed by the concentration-dependent manner, and fluorescence quenching constant is determined using

Stern–Volmer relation. The linearity of Stern–Volmer relation, accounting for both static and dynamic quenching, indicating that only one type of quenching occurred.

The spectrophotometric and fluorescence measurements confirmed that J-aggregates on the surface of silver nanoparticles are more stable than J-aggregates formed in solution. Also, spectrophotometric and fluorescence properties of hybrid nanoparticles were found that J-aggregates is quantitatively related to the surface coverage of the dye on the silver nanoparticles.

Kinetics of J-aggregation was followed using the stopped-flow method. Kinetic studies of J-aggregation on the surface of silver nanoparticles were carried out depending on the concentration of TC dye and silver nanoparticles, kinetic curves were sigmoid in shape and kinetics of J-aggregation were discussed in terms of autocatalysis. The parameters of the kinetic curves indicate that J-aggregate formation on the surface of silver nanoparticles occurred via a two-step process. The first was adsorption of TC dye molecules on the surface of silver nanoparticles and formation of the initial layer, followed by dye molecules rearrangement and the consecutive growth of layers forming J-aggregates. J-aggregation in solution was studied in the presence of added metal ion.

In the elucidation of TC binding on the surface of silver nanoparticles, Scatchard and Hill analysis were performed, where silver nanoparticles are considered as macromolecules with several binding sites, and TC dye was considered as a ligand. Analysing fluorescence data saturation curves were constructed with an aim to obtain the binding constant and the average number of TC dye molecules bonded per silver nanoparticles.

Density functional theory calculation (DFT) was performed in an aim to calculate relative energies of binding between atoms from a different functional group of TC dye and surface of Ag nanoparticle. It was found that the strongest interaction between the surface of Ag nanoparticle and TC dye is via oxygen from SO_3^- group. The tilted geometry of dye molecules is enabled on the surface of the nanoparticle.

Key words: Silver nanoparticles, thiocyanine dye, J-aggregation, kinetics, fluorescence quenching, binding mechanism.

Scientific area: Chemistry

Scientific sub-area: General and inorganic chemistry

UDK number:

Листа скраћеница

TC – 3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлортиацијанин натријумова со (енг. *3,3'-disulfopropyl-5,5'-dichlorothiacyanine dye*)

ТЕМ – трансмисиона електронска микроскопија

UV-Vis – ултраљубичаста и видљива област електромагнетног спектра (енг. *ultraviolet and visible*)

DLS – динамичко расејање светлости (енг. *dynamic light scattering*)

AgNP₆ – наночестице сребра сферног облика са боратним јонима на површини, величине 6 nm

AgNP₁₀ – наночестице сребра сферног облика са цитратним јонима на површини, величине 10 nm

AgNRs – наночестице сребра штапићастог облика, дужине 40 nm и ширине 9 nm

Na₃Cyt – тринатријум цитрат

СТАВ – цетилтриметиламонијум бромид

AFM – микроскопија атомских сила (енг. *atomic force microscopy*)

PSD – расподела величине честица (eng. *particle size distribution*)

PDI – индекс полидисперзије (eng. *polydispersity index*)

DFT – теорија функционала густине (енг. *density functional theory*)

Садржај:

1 Увод	1
2 Општи део	4
2.1 Наночестице	4
2.1.1 Дисперзни системи и структура колоидне честице	4
2.1.2 Оптичке особине наночестица метала	13
2.2 Цијанинске боје	16
2.2.1 Структура и номенклатура цијанинских боја	16
2.2.2 Агрегација цијанинских боја	20
2.2.3 Теорија молекуларног ексцитона Н- и Ј-агрегата	22
2.3 Кинетика и механизам Ј-агрегације ТС боје у присуству наночестица сребра	26
2.3.1 Аутокаталитичке и консекутивне реакције	26
2.3.2 Развучена експоненцијална функција	32
2.3.3 Гашење интензитета флуоресценције	34
2.3.4 Скатчардова анализа	40
2.3.5 Хилова анализа	43
2.4 Циљ рада	44
НАШ РАД	
3 Експериментални део	47
3.1 Хемикалије	47
3.2 Припремање раствора ТС боје	47

3.3 Припремање колоидних дисперзија сребра	48
3.3.1 Синтеза сферних наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима (AgNP ₆).....	49
3.3.2 Синтеза сферних наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима (AgNP ₁₀).....	49
3.3.3 Синтеза наноштапића сребра са адсорбованим СТАВ јонима (AgNRs)	50
3.4 Апаратура и методе	51
3.4.1 ТЕМ мерења	51
3.4.2 Спектрофотометријска мерења	51
3.4.3 Кинетичка мерења	51
3.4.4 Флуориметријска мерења	52
3.4.5 Мерење динамичког расејања светлости (DLS) и зета потенцијала	52
3.4.6 Микроскопија атомских сила (AFM)	52
3.4.7 Раманска спектроскопија (SERS)	53
3.4.8 Теорија функционала густине (DFT) – теоријска израчунавања	53
4 Резултати	54
4.1 Карактеризација колоидних дисперзија сребра	54
4.1.1 Апсорпциони спектри колоидних дисперзија сребра	54
4.1.2 ТЕМ карактеризација колоидних дисперзија сребра	58
4.1.3 DLS карактеризација колоидних дисперзија сребра	61
4.1.4 AFM карактеризација колоидних дисперзија сребра	68
4.1.5 Одређивање зета потенцијала колоидних дисперзија сребра	70

4.2 Карактеризација раствора ТС боје	71
4.3 J-агрегација молекула ТС боје на површини наночестица сребра	76
4.3.1 J-агрегација молекула ТС боје на површини сферних наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима	76
4.3.1.1 Апсорпциони спектри	76
4.3.1.2 TEM мерења	81
4.3.1.3 DLS мерења и зета потенцијал	82
4.3.2 J-агрегација молекула ТС боје на површини сферних наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима	84
4.3.2.1 Апсорпциони спектри	84
4.3.2.2 TEM мерења	89
4.3.2.3 DLS мерења и зета потенцијал	90
4.3.2.4 AFM мерења	91
4.3.3 J-агрегација молекула ТС боје на површини наноштапића сребра са адсорбованим СТАВ јонима	93
4.3.3.1 Апсорпциони спектри	94
4.3.3.2 DLS мерења и зета потенцијал	98
4.3.3.3 AFM мерења	98
4.3.4 Теорија функционала густине (DFT) – теоријска израчунавања	99
4.4 Кинетика и механизам формирања J-агрегата на површини наночестица сребра	103
4.4.1 Кинетика формирања J-агрегата на површини наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима	103

4.4.2 Кинетика формирања J-агрегата на површини наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима	110
4.4.3 Кинетика формирања J-агрегата у раствору	118
4.5 Утицај наночестица сребра на флуоресценцију ТС боје	120
4.5.1 Утицај колоидне дисперзије AgNP ₆ на флуоресценцију ТС боје	120
4.5.2 Утицај колоидне дисперзије AgNP ₁₀ на флуоресценцију ТС боје	125
4.5.3 Утицај колоидне дисперзије AgNRs на флуоресценцију ТС боје	130
4.6 Скатчардова и Хилова анализа	132
4.7 Примена наночестица сребра за појачање Раманског сигнала воденог раствора ТС боје	136
4.7.1 Примена сферних наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима за појачање Раманског сигнала	139
4.7.2 Примена сферних наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима за појачање Раманског сигнала	140
5 Дискусија	143
6 Закључак	146
7 Литература	148
8 Прилог	170

1 УВОД

Колоидни раствори метала фасцинирали су људе вековима, иако нису имали јасна сазнања о постојању металних наноструктура. Тако су се колоидно злато и сребро користили за бојење стакла, а за колоидно злато се веровало да подмлађује и продужава живот. Постојање наночестица метала у раствору први је препознао и објаснио Фарадеј (*Michael Faraday*) [1] 1857. године, а даља објашњења о њиховим оптичким особинама дао је Мије (*Gustav Mie*) [2] 1908. године. Честице метала нанометарских димензија последњих неколико деценија се интензивно проучавају због њихових јединствених оптичких особина насталих услед локализоване резонанције површинског плазмона у видљивој области [3-10]. Данас се област нанотехнологије односи на синтезу, карактеризацију и примену материјала који садрже честице величине 1-100 nm. Нанотехнологија је присутна у различитим сферама нашег живота, било у облику компјутерских чипова, биотехнологији или козметичким производима. Материјали који садрже наночестице метала поседују специфична физичка, хемијска, оптичка, електрична и каталитичка својства која се знатно разликују од одговарајућих својства макроскопских кристала или система изолованих атома [11-13]. Са смањењем величина честица до нанометарских димензија, физичке особине ових система се значајно мењају. Особине које поседују одређени материјали и за које се сматра да су константне, као што су електрична проводљивост, чврстина, боја, могу се променити превођењем одређеног материјала до нанометарских димензија. Специфичност својстава ових наночестица потиче од велике доступне површине и велике површинске енергије, стога је и у растворима могуће изучавати хемијске реакције на површинама.

Наночестице сребра осим што су се користиле за бојење стакла, користиле су се и као антибактеријски агенси. Због својствених особина карактеристичних својстава [14] оне су предмет изучавања многих истраживача [15-18] и налазе широку примену у различитим областима: Раманској спектроскопији [19-21], катализи [22, 23], електроници [24], оптичким сензорима [25, 26], биосензорима [27, 28], медицини [29-31], фармацији [32, 33].

Контролисано синтезом наночестица сребра и модификацијом њихове површине омогућава се њихова потенцијална примена у оптичким уређајима [34]. Због тога су развијене различите методе за синтезу наночестица сребра, нпр. ласерска аблација [35] или хемијска редукција сребрних јона у раствору уз присуство различитих стабилизатора [36, 37]. Оптичке особине наночестица сребра у великој мери зависе од њиховог облика, те се годинама развијају методе за контролисану синтезу ових наночестица различитих облика. Најчешће синтетисани облици наночестица сребра су: сфере [38], штапићи и жице [39, 40], призме и дискови [41], коцке [42].

Последњих неколико година истраживања су усмерена и на испитивање и примену цијанинских боја – органска једињења, која имају карактеристична флуоресцентна својства и јаку апсорпцију у видљивом делу спектра [43-46]. Одређени типови цијанинских боја имају способност да се удружују и формирају димере [47, 48] који представљају најједноставнији тип агрегата, док Н- и Ј-агрегати [49-51] представљају полимерне молекулске структуре које се састоје од великог броја нековалентно везаних молекула цијанинске боје. Ј-агрегате карактерише узак апсорпциони пик који је померен ка црвеном делу спектра у односу на мономер боје, док Н-агрегате карактерише пик који је померен ка плавом делу спектра. Молекулске структуре Н- и Ј-агрегати се разликују по начину паковања молекула боје, могу бити спаковани паралелно или као цигле у оријентацији глава-реп, отуда и различите оптичке особине. Тенденција молекула боје ка агрегацији зависи од структуре и средине у којој се молекули налазе [52, 53]. Првобитно откривена од стране Џелија и Шеибе (*E. Jelley, G. Scheibe*) [54, 55], Ј-агрегација се јавља у воденим и алкохолним растворима [56-58]. У растворима агрегација зависи од концентрације боје, рН вредности, температуре, присуства јона метала, макромолекула, наночестица [59-68]. Способност формирања полимерних молекулских структура чини их погодним за развијање нових оптоелектронских уређаја који се састоје од фотоактивне боје, метала, макромолекула или наночестица. Супрамолекулске структуре, Ј-агрегате, могу градити различите боје, цијанин [69, 70], порфирин [64, 71, 72], фталоцијанин [73, 74], перилен [75, 76], које су задњих деценија привукле пажњу многих истраживача [77], због њихових оптичких и фотофизичких особина као и њихове потенцијалне примене у разним областима.

Модификацијом површина наночестица метала органским молекулима могу се добити хибридне наноструктуре које имају различите карактеристике у односу на саме наночестице метала [78-81]. Разлог за овакву модификацију је побољшање оптичких, електричних, структурних и др. карактеристика наночестица метала чиме се проширује област њихове примене. Контролисано модификацијом, хибридне наноструктуре налазе примену у фотонским и оптичким уређајима, сензорима, соларним ћелијама, биосензорима, медицини [82-86]. Агрегација молекула цијанинске боје у присуству наночестица метала, нарочито сребра и злата, од великог је интереса због могућности купловања молекулског ексцитона J-агрегата и површинског плазмона наночестица метала [87-92]. J-агрегација цијанинских боја различитих структура у присуству наночестица злата или сребра проучавана је применом различитих експерименталних метода као и теоријски [93-100].

Пошто су цијанинске боје флуоресцентне, мерење интензитета флуоресценције боје у присуству наночестица метала може дати увид у разумевање интеракције између наночестица метала и молекула боје. Услед интеракције може доћи до појачања [101, 102] или гашења [103-105] интензитета флуоресценције услед енергетског и/или електронског трансфера. Адсорпција молекула боје на површини наночестица метала доводи до различитих фотофизичких и фотохемијских особина у односу на особине појединачних молекула или самих наночестица [106-108].

Кинетика и механизам адсорпције цијанинске боје испитани су у присуству наночестица злата [109-111]. У овом раду испитана је J-агрегација 3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлоротиацијанина (ТС) у присуству наночестица сребра, детаљно су испитани кинетика и механизам J-агрегације.

2 ОПШТИ ДЕО

2.1 Наночестице

2.1.1 Дисперзни системи и структура колоидне честице

Подела дисперзних система

Дисперзни системи или дисперзије су такви системи који садрже једну фазу расподељену у датом медијуму, тако да су честице расподељене фазе међусобно одвојене датим медијумом. У дисперзним системима честице које су расподељене у датом медијуму чине *дисперзну фазу* а дати медијум је *дисперзно средство*. Према величини диспергованих честица, дисперзни системи могу бити грубо дисперзни (величина честица је већа од 100 nm), колоидно дисперзни (величина честица је од 1 до 100 nm) и високодисперзни (честице мање од 1 nm).

Колоидно дисперзни системи

Сам израз „колоид“ први је употребио енглески научник Томас Грејем (*Thomas Graham*). Грејем је, испитујући дифузију, нашао да различите супстанце имају различиту брзину дифузије. Изучавао је и процесе сепарације молекула помоћу мембрана и од њега потиче изузетно важан поступак дијализе. Према способности дифузије Грејем је класификовао супстанце у две важне групе: кристалоиде и колоиде, запазио је да супстанце које лако дифундирају и пролазе кроз мембране, лако и кристалишу, док оне које тешко дифундирају и не пролазе кроз мембране не кристалишу, аморфне су. По Грејему колоиди су супстанце сличне лепку које не могу да кристалишу. Реч колоид преузео је из грчког језика у коме „*kolla*“ значи лепак.

Даља истраживања о колоидима нису ишла у прилог Грејемовом тумачењу, јер се установило да многи колоиди могу бити искристалисани или пак да садрже елементе кристалне структуре. Насупрот томе, постојале су дисперзије различитог састава кристалног карактера, које су показивале особине колоида.

У том правцу су радили Оствалд (*Ostwald*) и Вајмарн (*Weimarn*) и установили да не постоје супстанце које су по својој природи колоидне и да колоидна својства не зависе од кристалности или аморфности нити од врсте супстанце, већ од величине честица. Такође су дошли до закључка да се теоријски свака супстанца може превести у колоидно стање и да је колоидно стање посебан случај дисперзног, односно агрегационог стања.

Даљи развој науке је утврдио да постоје макромолекуларне супстанце које су по својој природи колоидне и које дају разблажене растворе у којима су појединачне колоидне честице у ствари индивидуални велики молекули. Сем дисперзоида и макромолекула, постоји и трећа група супстанци које су у стању да образују колоидне системе. То су тзв. мицеларни колоиди (називају се још и површински активне материје), који у погодном растварачу, најчешће води, спонтано образују колоидни раствор, али настале колоидне честице нису ни појединачни молекули, ни ситни кристалићи, већ агрегати малих молекула специфичне структуре.

Израз „*колоид*“, дакле, у првом реду означава одређене особине и одређено стање супстанце у односу на величину честица, али не искључује могућност постојања специфичних материја које су по својој природи колоидне.

Величина колоидних честица у овим системима износи 1 до 100 nm и честице садрже од 10^3 до 10^9 атома.

Колоиди могу да се класификују на више начина. Једна од подела је по агрегатном стању и представљена је у табели 1:

Табела 1: Подела колоида према агрегатном стању фаза

Дисперзна фаза	Дисперзно средство	Пример
Гас	Гас	Немогућ (хомоген систем)
	Течност	Пена
	Чврста супстанца	Ваздух у минералима
Течност	Гас	Магла
	Течност	Млеко
	Чврста супстанца	Вода у маслацу
Чврста супстанца	Гас	Дим
	Течност	Гвожђе(III)-хидроксид у води
	Чврста супстанца	Колоидно злато у стаклу

У зависности од афинитета диспергованих честица према молекулима средине у којој се налазе постоје лиофилни (хидрофилни) колоиди и обавијени су молекулима растварача (воде), солватисани су, као и лиофобни (хидрофобни) колоиди, који не показују афинитет према дисперзном средству, честице нису солватисане и не везују молекуле течности у којој су дисперговане.

По врсти дисперзног средства можемо да разликујемо хидросоле, ако је материја диспергована у води, и органосоле, ако је течни медијум неки органски растварач.

По хемијској природи колоидних честица колоиди се деле на органске и неорганске. Неоргански колоиди могу да буду колоиди метала, неметала, оксида, хидроксида и колоиди соли. Органски колоиди су они код којих су колоидне честице нека органска материја, било да је доведена у дисперзно стање неким посебним поступком, било да је настала спонтаним растварањем.

Према електронским особинама разликују се две врсте колоида: електрократни и солватократни. Електрократни (изолабилни) колоиди издвајају се из раствора при губитку наелектрисања, док солватократни (изостабилни) колоиди остају у раствору и без наелектрисања.

По повратности коагулације деле се на повратне (реверзибилне) и на неповратне (иреверзибилне). Кад колоидне честице изгубе наелектрисање и исталоже се, већина талога се не може поново превести у колоидно стање, што је случај код неповратних колоида. Повратни колоиди су они чије се честице после издвајања из раствора поново могу довести у раствор у непромењеном облику, обичним растварањем.

Према врсти везе између атома или молекула који сачињавају колоидну честицу, колоиди се деле на дисперзоиде, мицеларне колоиде, молекуларне колоиде и макромолекуларне асоцијације. Дисперзоиди су колоидни системи који се састоје од неорганске или органске супстанце која је диспергована у погодном медијуму. Мицеларни колоиди су органске материје специфичне хемијске структуре које у погодном растварачу спонтано формирају молекулске агрегате колоидних сразмера које се називају мицеле. Код молекуларних колоида свака колоидна честица је индивидуални молекул велике молекуларне масе, где је 10^3 до 10^9 атома међусобно повезано примарним ковалентним везама. Макромолекуларни асоцијати настају повезивањем више макромолекула споредним валенцама.

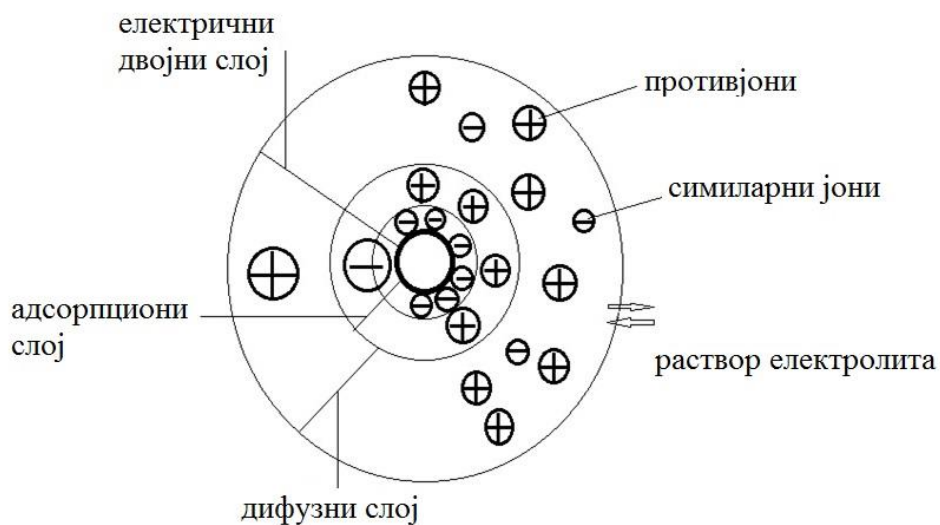
По облику честица колоиди могу бити сферни и линеарни.

Електрични двојни слој

Велики број колоидних честица носи извесно наелектрисање. За разлику од малих јона, код којих је број елементарних наелектрисања сталан и познат, код колоидних честица број елементарних наелектрисања мења се у зависности од различитих фактора, обично није познат и тешко се одређује.

Око наелектрисане колоидне честице формира се електрично поље, које утиче на молекуле и јоне присутне у њему, тако да се јонска атмосфера око колоидне честице разликује од оне у осталом делу медијума. Присуство електролита утиче на јонску атмосферу и наелектрисање колоидних честица.

Постоји више модела којима се приказује и објашњава понашање наелектрисаних колоидних честица, али се код свих разликују два основна слоја која окружују колоидну честицу. Адсорпциони и дифузни слој, заједно носе назив електрични двојни слој. Јони који одређују потенцијал и предзнак наелектривања колоидне честице налазе се на њеној самој површини и чине адсорпциони слој. Јони у адсорпционом слоју нису солватисани и сматрају се саставним делом колоидних честица. Количина ових јона у адсорпционом слоју не мења се при промени концентрације електролита у околном медијуму. Структура колоидне честице и електричног двојног слоја представљена је на слици 1:



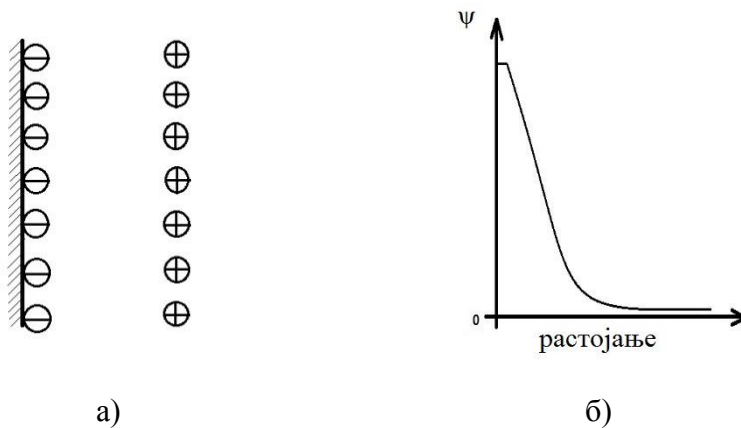
Слика 1: Структура јонске атмосфере око наелектрисане колоидне честице.

Јони супротног наелектривања од оних који одређују предзнак наелектривања колоидне честице називају се противјони. Противјони су делом смештени унутар адсорпционог слоја а делом у дифузном слоју. Јони у адсорпционом слоју чврсто су везани, крећу се свуда са наелектрисаном честицом и чине њен саставни део. Јони у дифузном слоју покретљиви су и лако улазе и излазе из њега. Унутар дифузног слоја могу да залазе и јони који имају истоимено наелектривање као и колоидне честице и називају се симилярни јони. Дебљина дифузног слоја зависи од јачине електричног поља наелектрисане колоидне честице и протеже се све до граница до којих то наелектривање делује. Иако колоидне

честице носе извесно наелектрисање, раствор колоидног електролита посматран као целина остаје неутралан, јер се негативни и позитивни јони унутар електричног двојног слоја налазе у еквивалентним сразмерама.

Електрични потенцијал колоидне честице и предзнак наелектрисања одређују јони адсорбовани у првом слоју, адсорпционом слоју, и њихов број је сталан. Број противјона који се налазе у адсорпционом слоју је променљив, зависи од врсте и концентрације присутних електролита, и утиче на укупно наелектрисање колоидне честице.

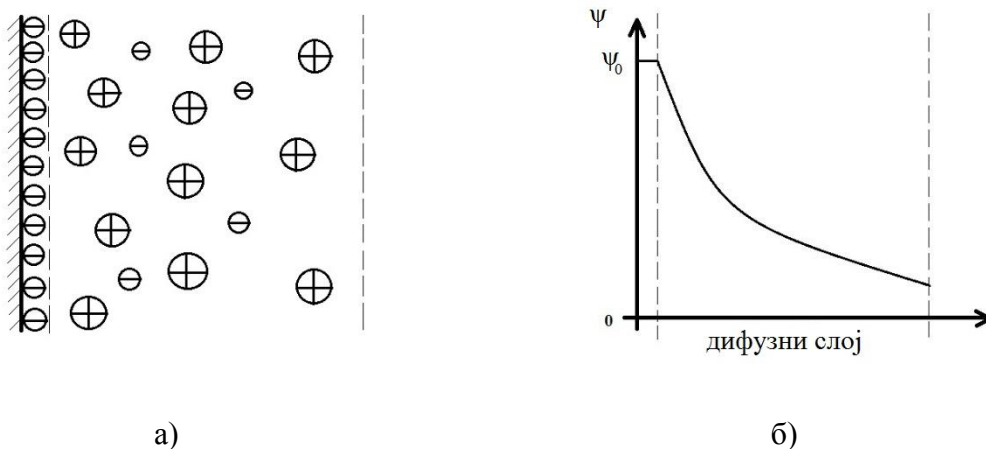
Прву теорију о структури електричног двојног слоја дао је Хелмхолц (*Helmholtz*), он је електрични двојни слој замислио као један електрични кондензатор са паралелним, супротно наелектрисаним плочама, како је представљено на слици 2 а):



Слика 2: Модел електричног двојног слоја по Хелмхолцу (а) и промена потенцијала са променом растојања од површине колоидне честице (б).

Међутим, овај модел не објашњава на који начин промена концентрације електролита утиче на наелектрисање честице и показује само крајњи случај, када је укупно наелектрисање колоидне честице једнако нули, тј. када је број јона који одређује потенцијал честице једнак броју противјона у адсорпционом слоју. Промена потенцијала са променом растојања од површине честице, за овај модел, дата је на слици 2 б).

Гуј-Чепмен (*Gouy-Chapman*) је дао другачији модел који је представљен на слици 3 а):



Слика 3: Модел електричног двојног слоја по Гуј-Чепмену (а) и промена потенцијала са променом растојања од површине колоидне честице (б).

Према овом моделу у адсорпционом слоју налазе се јони који одређују потенцијал и предзнак наелектрисања колоидне честице. Противјони у дифузном слоју нису поређани у једној равни, већ су расути у слоју одређених димензија. Ако се јони замисле као тачкаста наелектрисања, онда се пад потенцијала од вредности ψ_0 на површини честице, до вредности нула на неком растојању које одређује дебљину двојног слоја, може приказати дијаграмом на слици 3 б).

Расподела јона у дифузном слоју Гуј-Чепмена може да се изрази Болцмановом релацијом, аналогно расподели молекула гаса у земљиној атмосфери, израз који обухвата факторе који одређују дебљину двојног слоја дат је једначином 1:

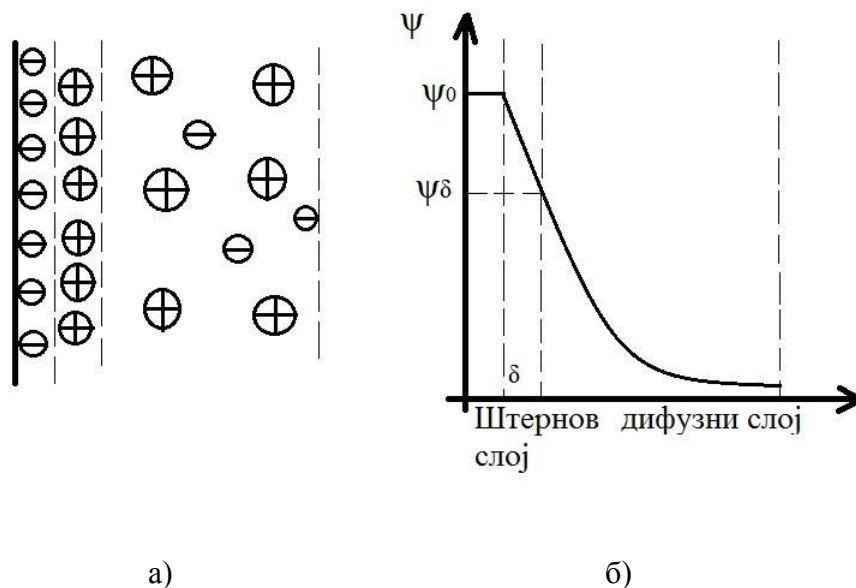
$$\kappa = \left(\frac{4\pi e^2 \sum n_i z_i^2}{\epsilon_r kT} \right)^{\frac{1}{2}} = \left(\frac{8\pi e^2 N_A I}{1000 \epsilon_r kT} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

где је: e – наелектрисање електрона, n_i – број јона i -те врсте у cm^3 , z_i – валентност јона, k – Болцманова константа, T – температура, ϵ_r – релативна електрична пермитивност средине, N_A – Авогадров број, $I = \frac{1}{2} c_i z_i^2$ – јонска сила раствора, c_i – концентрација јона у mol/dm^3 . Функција κ представља реципрочну вредност дебљине електричног двојног слоја модела

Гуј-Чепмена, и зависи од концентрације и валентности присутних јона и електричне пермитивности.

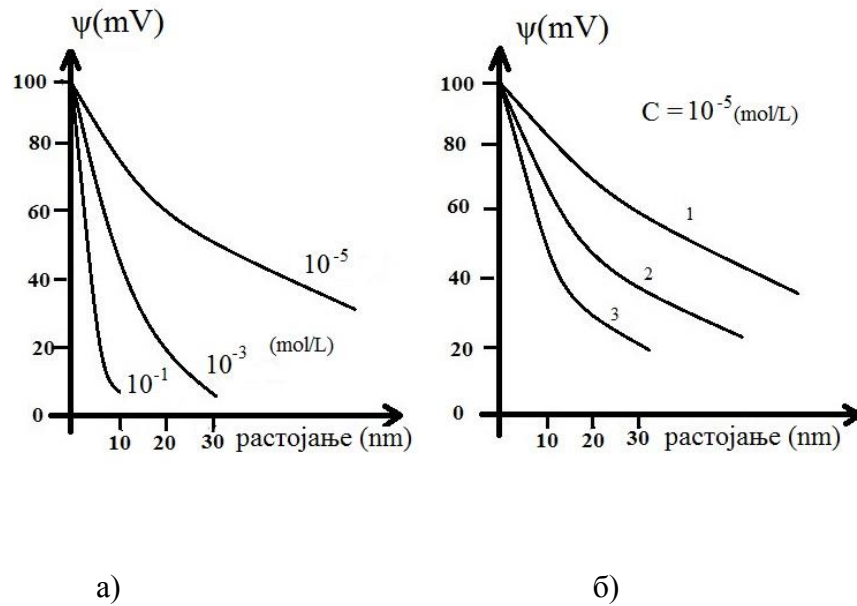
Модел Гуј-Чепмена добро описује опадање потенцијала ψ наелектрисане колоидне честице са растојањем у дифузном слоју, али не објашњава утицај додатих јона на промену потенцијала у адсорпционом слоју.

Штерн (*Stern*) је дао други модел, који надопуњује Гуј-Чепменову теорију и објашњава промене потенцијала и наелектрисања колоидних честица при промени концентрације и врсте додатих електролита. По Штерну адсорпциони слој се састоји из два дела: једног, који има дебљину приближну пречнику адсорбованих јона који одређују потенцијал ψ_0 и предзнак наелектрисања колоидне честице, и другог, који садржи извесан број противјона и има дебљину δ , назива се Штернов слој. Противјони у адсорпционом слоју делом се држе електростатичким, делом Ван дер Валсовим силама, које су довољно јаке да их не надвладају силе топлотног кретања молекула. Модел електричног двојног слоја по Штерну и одговарајуће промене потенцијала са променом растојања од површине колоидне честице, приказан је на слици 4.



Слика 4: Модел електричног двојног слоја по Штерну (а) и одговарајуће промене потенцијала са променом растојања од површине колоидне честице (б).

Потенцијал у Штерновом слоју означава се са ψ_δ , и зависи од броја јона и пртивјона у адсорпционом слоју. У адсорпционом слоју долази до пада потенцијала од ψ_0 до ψ_δ , а у дифузном слоју од ψ_δ до нуле, и ту важи модел Гуј-Чепмена. Потенцијалне промене у Штерновом слоју зависе од промене концентрације и валентности јона присутних електролита. Код вишевалентних противјона могуће је да дође до јаче адсорпције противјона, која може да промени предзнак наелектрисања колоидне честице, тако да ψ_0 и ψ_δ имају супротне предзнаке. Промена потенцијала ψ са растојањем, при различитим концентрацијама једновалентног електролита (слика 5 а)), и код различитих валентности противјона при константној концентрацији (слика 5 б)), приказане су дијаграмима на слици 5:



Слика 5: Промене потенцијала са растојањем, при различитим концентрацијама једновалентног електролита (а) и код различитих валентности противјона при константној концентрацији (б).

Зета потенцијал

При кретању наелектрисане колоидне честице у електричном пољу долази до раздвајања супротно наелектрисаних слојева електричног двојног слоја и савладава се

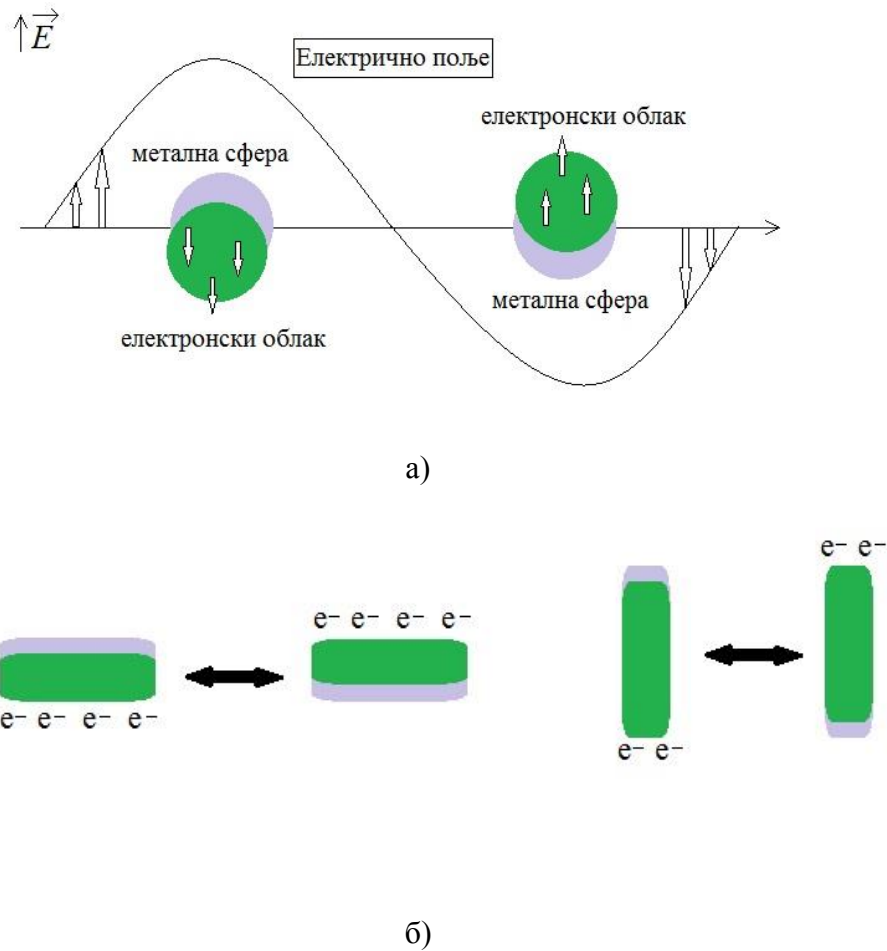
потенцијал који се јавља између њих у површини клизања. Када се колоидна честица креће, она са собом носи јоне који одређују предзнак њеног наелектрисања, противјоне у адсорпционом слоју, и део солватно везаних молекула растварача, тако да се са честицом поред адсорпционог креће и део дифузног слоја. Услед тога, површина клизања није она коју одређује дебљина Штерновог слоја, ни потенцијал који се савладава да би се колоидна честица кретала није онај који се јавља на граници Штерновог слоја, већ неки други који зависи од положаја површине равни клизања. Електрични потенцијал који се јавља, при кретању наелектрисане колоидне честице у електричном пољу, између колоидне честице и слојева које са собом носи и дела дифузног слоја који се креће у супротном правцу, назива се електрокинетички или „зета“ потенцијал, и означава се грчким словом ζ . Зета потенцијал означава напон раскидања различито наелектрисаних слојева око честица, при њиховом кретању ка супротним половима. Користи се уместо потенцијала у Штерновом ψ_δ слоју који се експериментално не може мерити. Зета потенцијал зависи од концентрације електролита при чему повећање концентрације електролита у раствору доводи до пада зета потенцијала, јер се смањује ефективно наелектрисање честице услед повећања концентрације противјона у Штерновом слоју. При јако великим концентрацијама електролита и већим валентностима противјона, може да дође до такве адсорпције противјона и пада потенцијала у Штерновом слоју, да честица промени предзнак наелектрисања, у том случају и зета потенцијал мења предзнак.

2.1.2 Оптичке особине наночестица метала

Специфична карактеристика наночестица метала да апсорбују електромагнетно зрачење у уском интервалу таласних дужина UV-Vis и инфрацрвеном делу спектра, има за последицу интеракцију светлости са овим честицама, која изазива колективну осцилацију слободних електрона у њиховом површинском слоју [112]. Када се поларизована светлост нађе у резонанцији са кохерентним кретањем електрона наночестица метала долази до апсорпције и/или расејања светлости одређене фреквенције и појаве апсорпционих трака *Lorentz* – овог типа, у апсорпционом спектру колоидних раствора метала, које се називају резонанције површинског плазмона (енг. *surface plasmon resonance* – *SPR*), отуда и

обојеност ових раствора. Често се ова карактеристика наночестица метала користи за детекцију различитих молекула, у оптичким уређајима, сензорима и биосензорима [6].

Плазмонске осцилације наночестица метала (сфера и штапића) приказане су на слици 6.

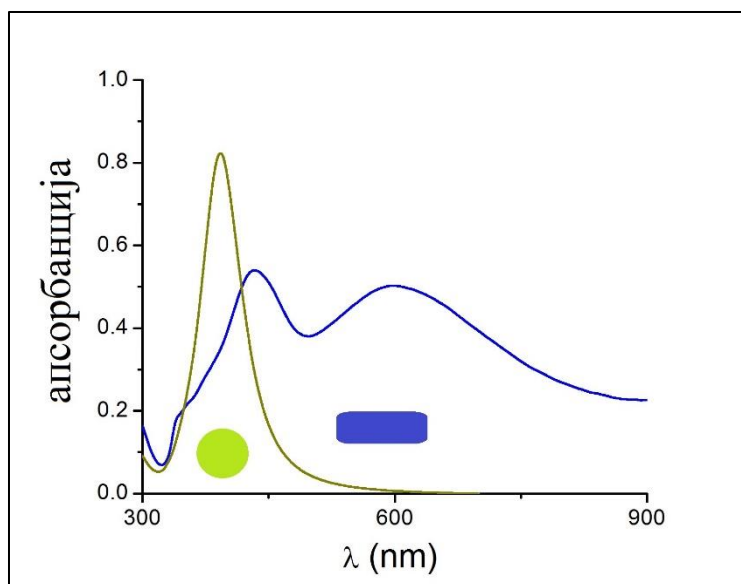


Слика 6: Шематски приказ резонанције површинског плазмона (SPR) наносфера (а) и наноштапића (б) под дејством спољашњег поља.

Друде-ов (*Paul Drude*) модел металног стања, односно Друде-ова теорија слободних електрона метала [113] објашњава понашање проводних електрона у металу. Према Друде-

овом моделу, проводни електрони третирају се независно од тродимензионалне решетке металних јона, крећући се слободно у електронском гасу унутар решетке јона. Дејством електричног поља упадне светлости на честице метала престаје хаотично кретање електрона и долази до поларизације честица. На основу Друде-овог модела Мие је објаснио оптичке карактеристике честица метала у зависности од њихове величине и окружења у коме се налазе [2]. Решивши Максвел-ову (*James Clerk Maxwell*) једначину апсорпције и расејања електромагнетних таласа са сферних честица, Мие је дао теорију апсорпције малих честица метала. Тако се на основу Мие-ове теорије и Друде-овог модела може одредити положај плазмонског пика сферних честица у зависности од густине електрона у честицама и индекса рефракције средине у којој се честице налазе [114]. Положај, ширина и број апсорпционих трака одређен је врстом, величином и обликом честица метала, међучестичним интеракцијама, густином носилаца наелектрисања и диелектричном константом средине у којој се честице налазе [3, 115-117]. Повећање густине слободних електрона у наночестицама метала доводи до сужавања и померања апсорпционог пика ка мањим таласним дужинама, док промена геометрије наночестица, од сферне преко цилиндричне до штапићасте, доводи до појаве више апсорпционих максимума у спектру. На пример, за разлику од наночестица сферног облика које у апсорпционом спектру садрже један пик (осцилације електрона дуж једне осе), код наночестица штапићастог облика у апсорпционом спектру се јавља пик више енергије – трансверзални пик, који одговара осцилацијама електрона нормално на главну осу честице, док пик ниже енергије – лонгитудинални пик, настаје услед осцилације електрона дуж главне осе [118]. Изглед апсорпционог спектра за наночестице сребра сферног и штапићастог облика приказан је на слици 7.

Такође, треба истаћи да су апсорпције површинског плазмона најинтензивније код наночестица сребра, за разлику од наночестица злата и бакра и представљају идеални моделни систем за испитивање физичко-хемијских својстава честица метала нанометарских димензија.



Слика 7: Апсорпциони спектри наночестица сребра сферног и штапићастог облика.

2.2 Цијанинске боје

2.2.1 Структура и номенклатура цијанинских боја

Цијанинске боје (лат. *Cyanos*, плаво) први је открио Вилијамс (*Williams*) 1856. године, у реакцији између N-амил квинолиниум јодида и N-амил лепидиниум јодида у амонијаку [119]. Велики број цијанинских боја различитих структура синтетисан је у претходном периоду [120]. Ове боје припадају групи обојених органских компоненти, које су се првобитно користиле за повећање осетљивости фотографских емулзија, тј. чиниле су фотографски филм осетљивим на све боје из видљивог дела спектра. Структура цијанинских боја је доста различита и сложена. Чине их молекули код којих су два крајња атома азота хетероцикличних субјединица повезана полиметинским ланцем. Наиме, две хетероцикличне главне групе су повезане непарним бројем метинских група чији општи назив означава број метинских група полиенског ланца. Тако се за $n = 0$ и $n = 3$, где n у полиенском ланцу представља једну $-CH=CH-$ групу, односи на монометинске, односно

хептаметинске цијанине. Овај коњуговани систем за резултат има обојени, флуоресцентни молекули. На основу хемијских структура постоје три типа цијанинских боја, (слика 8):

I – стрептоцијанини или цијанини са отвореним ланцем



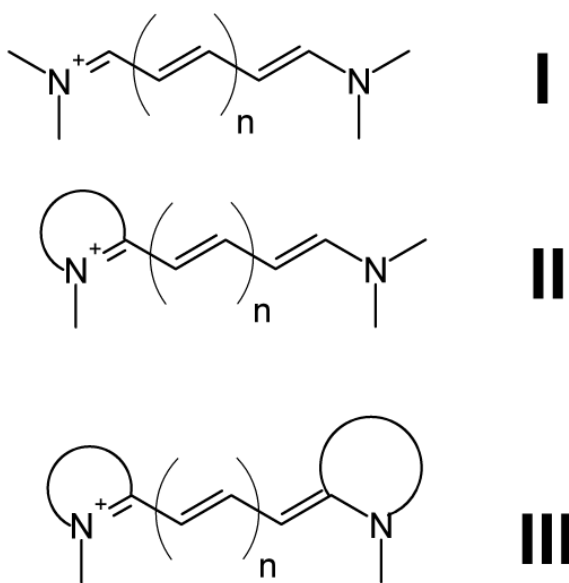
II – хемицијанини



III – цијанини са затвореним ланцима



где су два атома азота повезана полиметинским ланцем. Оба атома азота су, један независно од другог, саставни део хетероароматичног остатка, као што су пирол, имидазол, тиазол, пиридин или бензотиазол.



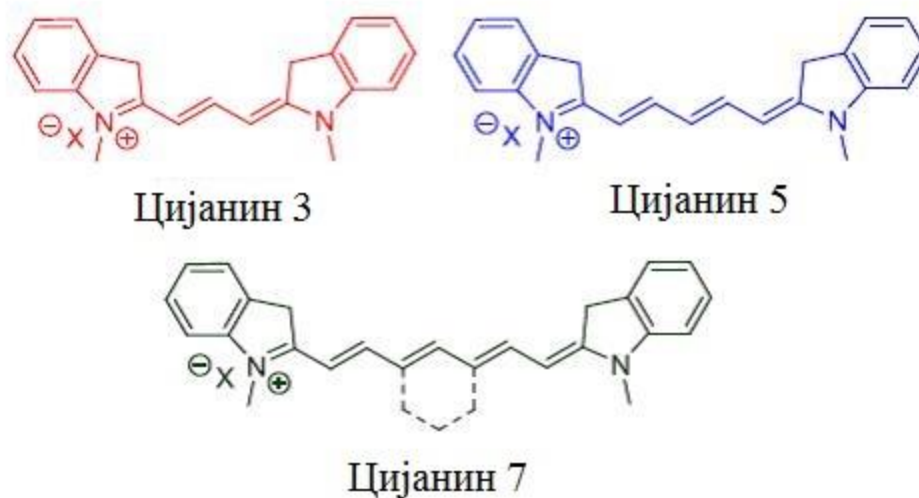
Слика 8: Опште структурне формуле цијанинских боја.

Цијанинске боје су обично синтетисане са 2, 3, 5 или 7 метинских структура са реактивним групама на једној или обе стране и тако се хемијски могу везати за нуклеинске киселине или молекуле протеина. Субјединице на крајевима које садрже атом азота могу бити идентичне или различите. Могу се детектовати различитим флуоресцентним техникама, као и апсорпционом и инфрацрвеном спектроскопијом. Монометински и

триметински цијанини обично показују апсорпцију у видљивој области и сваки продужетак хромофоре за једну винил групу доводи до батохромног померања апсорпције за око 100 nm. У зависности од супституената пентаметински деривати могу апсорбовати близу црвене области, око 700 nm, док хептаметински цијанини могу апсорбовати таласне дужине и преко 1000 nm.

Често су цијанинске боје описане као симетричне или несиметричне у односу на главну групу индола. Такође, цијанинске боје су планарни коњуговани молекули који показују стабилну резонанцију дуж полиметинског ланца. Несиметричне цијанинске боје су мање планарне од симетричних аналога, што узрокује опадање интензитета флуоресценције. Као и код свих флуорофора, повећање непокретности молекула доводи до светлијих боја и повећања интензитета флуоресценције. Цијанинске боје могу да апсорбују и емитују зрачење у видљивој и блиској црвеној области, и ове таласне дужине се могу подесити модификацијом полиметинског ланца. Цијанинске боје поседују уску апсорпциону и емисиону траку, а примену су нашле у различитим областима: фотографији [121], соларним ћелијама [122, 123], за изучавање протеина [124] и све чешће у молекуларном сликању [125].

Опште структурне формуле три-, пента- и хептаметин цијанинских боја дате су на слици 9.



Слика 9: Структурне формуле триметинцијанина, пентаметинцијанина и хептаметинцијанина.

Номенклатуру цијанинских боја први је предложио Ернст (*Ernst*) са сарадницима 1989. године [126], која није прихваћена као стандардна јер не даје јасан увид о хемијској структури. У литератури су често имена цијанинских боја сведена на једноставније псеудо-акрониме, где су битни делови имена сведени на слово, а код сложенијих молекула и уз одређен број [127]. Основне цијанинске боје су тиакарбоцијанини (thiocarbocyanines, T), индокарбоцијанини (indocarbocyanines, I), оксакарбоцијанини (oxacarbocyanines, O), квинокарбоцијанини (quinocarbocyanines, Q), као и оне са различитим хромофорама. У већини случајева молекули су симетрични у односу на полиметински ланац. Положаји супституената на хромофорама су обележени бројевима, нпр. 3 за прву хромофору и 3' за другу хромофору. Када постоје супституенти на полиметинском ланцу, њихов положај је означен продужетком низа бројева са прве хромофоре. Тако се назив молекула боје који се састоји од хромофоре и супституената може представити са три или четири слова. На пример, скраћени назив за 3,3'-диетил-тиатрикарбоцијанин је ДТТК (*енг.* 3,3'-diethyl-thiatricarbocyanine: ДТТК), а за 3,3'-диетил-2,2'-(4,5,4',5'-дибензо)-тиатрикарбоцијанин је 4,5-Дбз ДТТК, (*енг.* 3,3'-diethyl-2,2'-(4,5,4',5'-dibenzo)-thiatricarbocyanine: 4,5-Dbz ДТТК). Оба молекула имају исту основу, ДТТК, док други молекул има додатни бензо супституент. У пуном називу боје подвучена су слова која чине скраћени назив. Слова која се користе у

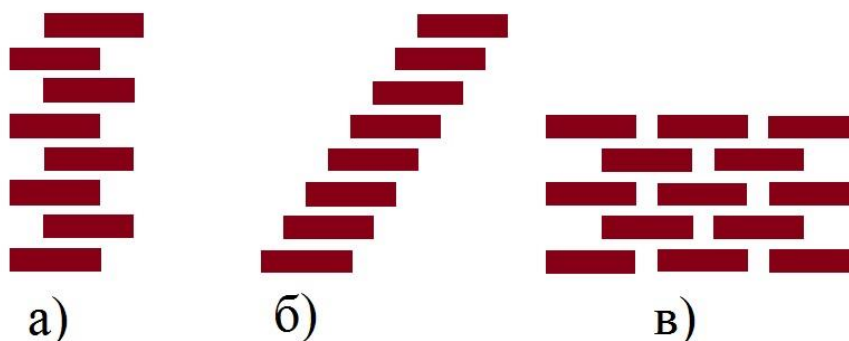
скраћеним именима енглеских назива су: C (carbocyanine), T (thia, tri), I (indo), O (oxa), Q (quino), D (diethyl), Dm (dimethyl), Dmo (dimethoxy), Dbz (dibenzo), Te (tetra), H (hexamethyl), A (acetoxy). Противјони, нпр. јодид (I) или бромид (Br) увек се пишу на крају имена скраћенице. На тај начин се избегава забуна да ли је I индо или јодид. Тачан редослед слова је од велике важности, да би се скраћеница јасно разумела. Тако скраћеница НИТС-I представља 1,3,3,1',3',3'-hexamethyl-2,2'-indotricarbocyanine iodide. Пошто Т представља скраћеницу од тиа и од три, прво слово Т у називу је од тиа а друго од три. Нпр. DTTC, прво слово је од тиа а друго од три, док код DOTC, О представља окса а Т представља три или број веза између две хромофоре.

2.2.2 Агрегација цијанинских боја

Молекули цијанинских боја имају тенденцију ка самоорганизовању, у растворима или на додирној фази течно-чврсто. До агрегације молекула боје долази услед јаких међумолекулских ван дер Валсових привлачних сила што има за последицу појаву специфичне апсорпционе траке у спектру. У односу на траку која потиче од мономерне врсте, апсорпциона трака агрегата може бити померена ка црвеном делу спектра (батохромно померање, J-трака) или ка плавом делу спектра (хипсохромно померање, H-трака). Агрегати који садрже J-траку у апсорпционом спектру зову се J-агрегати (J потиче од *Jelly*, први који је изучавао ову врсту агрегата), док H-агрегати садрже H-траку (H потиче од *hypsochromic*). Батохромно померање је промена положаја спектралне траке молекула у апсорпцији, рефлексији, трансмисији или емисији ка већим таласним дужинама. До ове појаве може доћи услед промене окружења, тако нпр. промена поларности раствора доводи до солватохромизма. Солватохромизам је способност хемијске супстанце да мења боју услед промене поларности раствора. Негативни солватохромизам одговара хипсохромном померању, док позитивни солватохромизам одговара батохромном померању, услед повећања поларности раствора. Знак солватохромизма зависи од разлике у диполном моменту молекула у основном и побуђеном стању. Батохромно померање је појава која се јавља у молекулском спектру, не и у атомском. Хипсохромно померање се односи на

померање ка плавом делу спектра, односно ка мањим таласним дужинама а већим енергијама.

Опширне студије Н- и Ј-агрегата [128] указују да ови агрегати постоје као једнодимензионалне скупине у раствору, које могу бити различито уређене као лествичасти, степеначасти и цигласти тип, слика 10. Изучавајући Ј-агрегате Маскаски, (*Maskasky*) [129] је предложио цигласти тип.



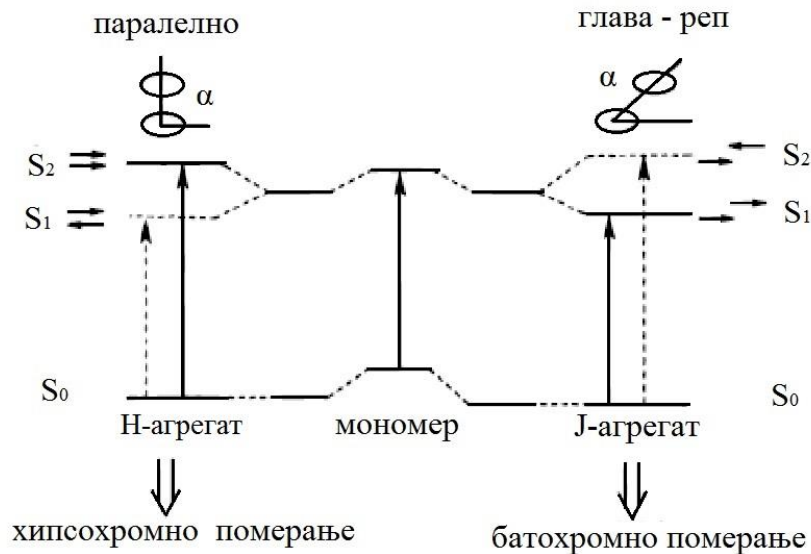
Слика 10: Различити типови наслагања молекула боје у агрегатима: а) лествичасти тип, б) степеначасти тип и в) цигласти тип.

Агрегација цијанинских боја различитих структура била је предмет изучавања многих истраживача. Установљено је да различити фактори утичу на агрегацију цијанинских боја, као што су концентрација боје, рН вредност раствора, температура, присуство јона метала, макромолекула, површински активних супстанци или наночестица [52, 65, 130, 131]. Ј-агрегација на површини наночестица племенитих метала привукла је посебну пажњу и испитана је бројним експерименталним и теоријским студијама [63, 78, 109]. Интеракција боје са наночестицама метала доводи до купловања молекуларног ексцитона боје и површинског плазмона наночестица што доводи до појаве нових оптичких особина ових система која се разликују од особина полазних компонената [62, 88, 132].

2.2.3 Теорија молекуларног ексцитона Н- и Ј-агрегата

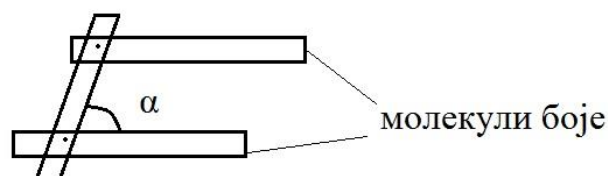
Н- и Ј-агрегати представљају самоорганизоване молекулске структуре где су молекули боје наслагани паралелно. Померање ексцитонске апсорпционе траке која потиче од Н- или Ј-агрегата, у односу на апсорпциону траку мономера, објашњава се теоријом молекуларне ексцитације, тј. купловањем прелазних момената молекула боје који чине агрегат. Френк и Телер (*Franck, Teller*) [133] су приметили сличност молекулских ексцитона цијанинских боја са Френкеловом ексцитацијом која је предложена за молекулске кристале. Јаков Френкел (*Yakov Frenkel*) је 1931. године дао концепт ексцитона описујући ексцитацију атома у решетки изолатора. Предложио је да побуђено стање може да путује кроз решетку без трансфера наелектрисања. Када полупроводник апсорбује фотон, електрон прелази из валентне у проводну траку, при чему остаје позитивно наелектрисана шупљина. Позитивно наелектрисана шупљина, Кулоновим силама привлачи електрон из проводне траке, при чему ексцитон представља везано стање електрона и шупљине који се привлаче Кулоновим силама. Према теорији ексцитона молекули боје се посматрају као тачкасти диполи а ексцитовано стање агрегата дели се на два нивоа кроз интеракцију са прелазним диполима.

На слици 11 шематски је представљен однос између уређења хромофора и спектралног померања, засновано на теорији молекуларне ексцитације.



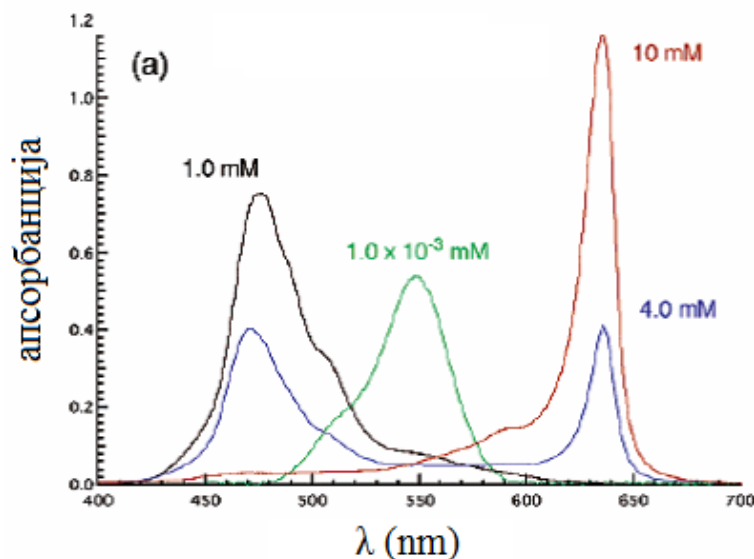
Слика 11: Шематски приказ односа између уређења хромофора и спектралног померања на основу теорије молекуларног ексцитона.

Код Н-агрегата молекули боје су наслагани паралелно (енг. *plane-to-plane stacking*) формирајући сендвичести тип, а код Ј-агрегата молекули боје су уређени глава-реп (енг. *end-to-end stacking*). Угао између линије која пролази кроз средину колоне насложених молекула и линије дуже осе молекула у агрегату, зове се угао клизања (α), слика 12. Када је угао клизања $\alpha > 32^\circ$ долази до хипсохромног померања (Н-агрегати), а када је $\alpha < 32^\circ$ долази до батохромног померања (Ј-агрегати). Модел ексцитона важи једино у случају када је интеракција између орбитала конституентних молекула занемарљива. Да би прелаз био дозвољен, прелазни моменат мора бити већи од нуле. Код Н-агрегата карактеристичан је прелаз из основног у више стање S_2 , док је код Ј-агрегата прелаз из основног у ниже стање S_1 .



Слика 12: Угао клизања између молекула насложених у агрегату.

H- и J-агрегати су нашли примену у многим областима, због интересантиних особина као што су нелинеарни оптички одговор, суперрадијација, суперфлуоресценција, електролуминисценција, итд. Ови агрегати се могу детектовати различитим експерименталним техникама. Јао је са сарадницима (Yao) [134] објаснио како структурне разлике између H- и J-агрегата утичу на разлику у њиховим оптичким особинама. Испитивали су агрегацију цијанинске боје апсорпционом и флуоресцентном спектроскопијом, микроскопијом поларизоване светлости, флуоресцентном микроскопијом и микроскопијом атомских сила у зависности од концентрације боје. Са повећањем концентрације цијанинске боје у апсорпционом спектру, слика 13, јавља се пик који је померен ка плавом делу спектра у односу на мономер боје, а који одговара формираним H-агрегатима у раствору. Даљим повећањем концентрације боје формирају се J-агрегати, што се манифестује појавом пика који је померен ка црвеном делу спектра у односу на мономер боје, док H-агрегати нестају. Микроскопијом поларизације светлости утврђена је влакнаста структура агрегата, а агрегати се могу визуелно разликовати услед њихове различите боје. H-агрегате карактерише негативна вредност двоструко преломљене светлости, док је код J-агрегата та вредност позитивна.



Слика 13: Промена у апсорпционом спектру цијанинске боје, услед повећања концентрације боје формирају се Н- или Ј-агрегати [134].

Као што је већ речено, Н- и Ј-агрегати поседују различите оптичке особине услед различитог слагања молекула у агрегатима, односно услед различите вредности за угао клизања (α). Када су молекули (хромофоре) паралелно насложени, према теорији ексцитона настају две нове траке ексцитона: једна са вишом енергијом и једна са нижом енергијом у односу на енергетски ниво мономера [135]. Код Н-агрегата стабилније је стање са нижом енергијом. Тако је прелаз из побуђеног стања у основно стање веома брз и највероватније се дешава уз нестајање диполног момента, услед губитка енергије између трака ексцитона. Н-агрегати имају малу флуоресценцију и велико Стокс-ово померање [136]. Код Ј-агрегата дозвољен је прелаз једино на ниво ниже енергије, па је Стокс-ово померање мало а интензитет флуоресценције је велики. Због поседовања велике флуоресценције Ј-агрегати се могу изучавати флуоресцентном микроскопијом. Н-агрегати формирају мезоскопске молекулске структуре поравнањем молекула које доводе до јаког двоструког преламања светлости те се могу детектовати поларизационом спектроскопијом. Н- и Ј-агрегати се могу детектовати и Uv-Vis спектроскопијом.

2.3 Кинетика и механизам Ј-агрегације ТС боје у присуству наночестица сребра

2.3.1 Аутокаталитичке и консекутивне реакције

Свака сложена хемијска реакција се може разложити на више простих (елементарних) хемијских реакција. Сложене хемијске реакције могу бити: повратне (реверзибилне), упоредне (паралелне), узастопне (консекутивне) и ланчане.

Када се производ реакције понаша као катализатор тада су реакције аутокаталитичке. Оне могу бити првог реда,



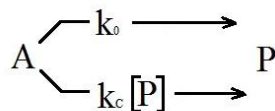
тада је брзина реакције дата изразом:

$$v = -\frac{dA}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = k_c[A][P] = k_c[A]([A]_0 - [A]) \quad (3)$$

То значи да се реакција неће одвијати уколико нема бар мало производа који ће иницирати реакцију, према томе добија се:

$$v = k_c[A]([P]_0 + [A]_0 - [A]) \quad (4)$$

Друга могућност је да се истовремено одиграва и процес који није катализован, што се може представити шематски (слика 14):



Слика 14: Шематски приказ настајања производа P уз константу брзине k_0 и настајања производа P када је реакција аутокатализована уз константу брзине k_c .

Тада диференцијална једначина има облик:

$$v = [A][k_0 + k_c([A]_0 - [A])] \quad (5)$$

Увођењем нове количине q , претходне две једначине своде се на:

$$v = k_c[A](q + [A]_0 - [A]) \quad (6)$$

где је $q = [P]_0$ а k_0/k_c однос константи за брзину реакције која је представљена шемом на слици 14. Делимичном интеграцијом једначине 6 добија се:

$$[A] = ([A]_0 + q) \frac{[A]_0}{[A]_0 + q \cdot \exp[k_c([A]_0 + q)t]} \quad (7)$$

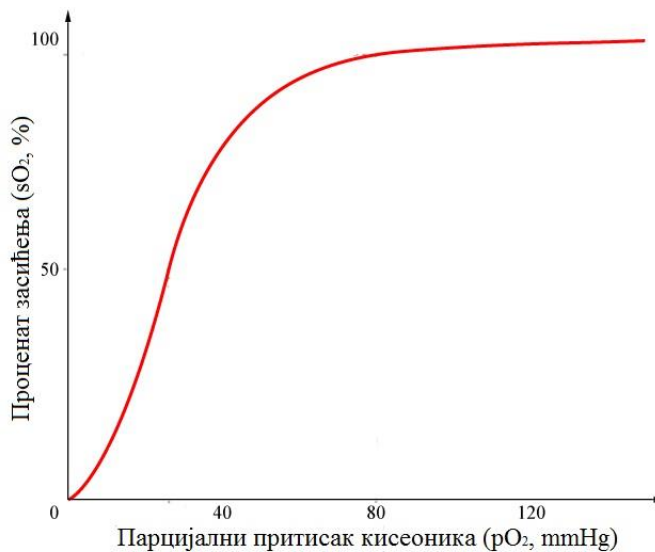
Када је експоненцијални члан у имениоцу много већи $[A]_0$, тада је:

$$[A] = \frac{[A]_0}{q} ([A]_0 + q) e^{-k_c([A]_0 + q)t} \quad (8)$$

логаритмовањем се добија,

$$\ln[A] = \ln \frac{[A]_0([A]_0 + q)}{q} - k_c([A]_0 + q)t \quad (9)$$

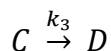
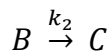
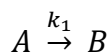
Код аутокаталитичких реакција кинетичка крива има карактеристичан сигмоидан ("S" облик) облик. Тако, сигмоидан облик има крива засићења код хемоглобина, слика 15, где се за један молекула хемоглобина везују четири молекула кисеоника [137, 138].



Слика 15: Сигмоидна крива засићења код хемоглобина: проценат засићења у зависности од парцијалног притиска кисеоника [138].

У волтаметрији, зависност струје од потенцијала поларографског експеримента има типичан сигмоидан облик [139]. Испитујући агрегацију цијанинских боја, у присуству металних јона или макромолекула, Чибисов (*Chibisov*) са сарадницима је временску зависност формирања J-агрегата описао сигмоидном кривом [52, 59-61].

Консекутивне реакције се често јављају код многих хемијских промена, углавном када је механизам реакције комплексан, где су поједини ступњеви међусобно повезани. Кинетика ових реакција се може упознати прегледно у систему где су све реакције првог реда:



Брзина реакција за дате ступњеве је:

$$\frac{dA}{dt} = -k_1A; \frac{dB}{dt} = k_1A - k_2B; \frac{dC}{dt} = k_2B; \frac{dD}{dt} = k_3C \quad (10)$$

Ако је A_0 вредност у почетку када је $t = 0$, онда је концентрација A после неког временског интервала:

$$A = A_0 e^{-k_1 t} \quad (11)$$

Концентрација супстанце B може се израчунати из једначине 10 када се замени вредност за A :

$$\frac{dB}{dt} = k_1 A_0 e^{-k_1 t} - k_2 B \quad (12)$$

Ово је диференцијална једначина првог реда, када је $t = 0$ и $B = 0$, једначина се може решити:

$$B = e^{-k_2 t} \left[\frac{k_1 A_0 e^{(k_2 - k_1)t}}{k_2 - k_1} - \frac{k_1 A_0}{k_2 - k_1} \right] \quad (13)$$

сређивањем једначине добија се:

$$B = \frac{A_0 k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad (14)$$

Уз одређене услове, $B_0 = C_0 = 0$ и $A + B + C = 0$, може се израчунати и концентрација супстанце C :

$$C = A_0 \left[1 - \frac{1}{k_2 - k_1} (k_2 e^{-k_1 t} - k_1 e^{-k_2 t}) \right] \quad (15)$$

Када је $k_2 \gg k_1$ други члан се може занемарити, пошто $e^{-k_2 t}$ врло брзо опада са временом. Он тежи $1/\infty = 0$, услед наглог пораста производа $k_2 t$ за веће вредности t . Тада се B може представити помоћу једноставнијег израза:

$$B = \frac{k_1}{k_2} A_0 e^{-k_1 t} = \frac{k_1}{k_2} A \quad (16)$$

На основу претходне једначине се може очекивати промена у односу концентрација супстанци A и B у зависности од односа k_2 / k_1 .

$$\frac{A}{B} = \frac{k_2}{k_1} \quad (17)$$

Слично се може представити и за супстанцу C :

$$C = A_0 \left[1 - \frac{k_2}{k_2} e^{-k_1 t} \right] = A_0 - A_0 e^{-k_1 t} = A_0 - A \quad (18)$$

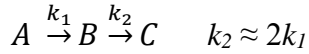
или

$$C = A_0 (1 - e^{-k_1 t}) \quad (19)$$

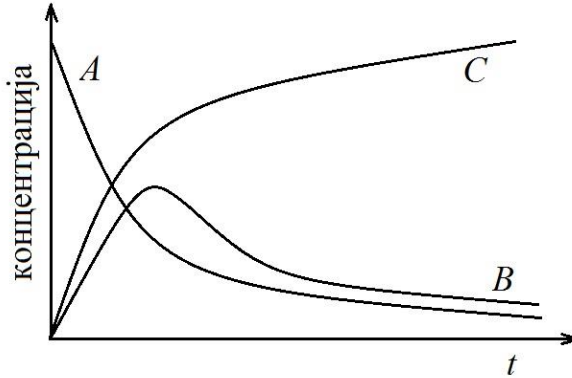
Количина присутних супстанци B и C зависи само од брзине реаговања супстанце A . Код консекутивних реакција одлучујућа је брзина најспоријег ступња, односно оног са најмањом константом брзине реакције. У наведеним једначинама то је константа k_1 . При испитивању реда реакције обично се налази да је цела консекутивна реакција оног реда кога је и најспорији процес. Када је однос k_1 , k_2 и k_3 такав да се k_2 и k_3 не могу занемарити у присуству k_1 , претходни изрази су компликованији, али је и тада одлучујући ред најспорије реакције, па тако за услов $k_2 > k_1$ израз за B за има облик :

$$B = \frac{k_1}{k_2 - k_1} A_0 e^{-k_1 t} = \frac{k_1}{k_2 - k_1} A \quad (20)$$

Шематски приказ консекутивне реакције:



дат је на слици 16:



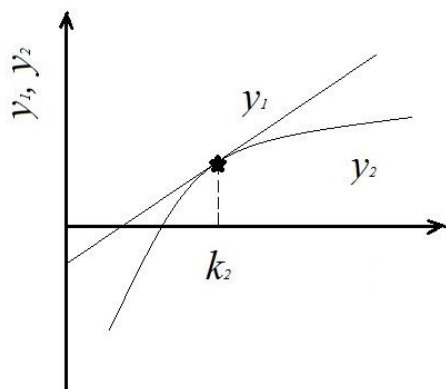
Слика 16: Промена концентрација супстанци A , B и C код консекутивних реакција.

Важна карактеристика код консекутивних реакција је да интермедијер B има максимум после одређеног времена. Положај максимума B на дијаграму зависи од односа константи k_2/k_1 . Што је тај однос већи, максимум је нижи, јер је утицај k_2 на утросак настале супстанце B све већи. Када је $k_2/k_1 \approx \infty$, тада је $B = 0$ максимум се не појављује.

Да би се одредиле константе брзине за дати процес, потребно је пратити промене A и B . Константа k_1 се може добити из зависности $\ln A = f(t)$ пошто се A мења као $A = A_0 e^{-k_1 t}$.

$$t_{max}(k_2 - k_1) = \frac{\ln k_2}{k_1} \quad (21)$$

k_2 се може одредити из t_{max} , иако је функција од k_2 (k_1 је одређено), једначина се може решити једино графички (слика 17) увођењем помоћних функција $y_1 = f(k_2) = t_{max}(k_2 - k_1)$ и $y_2 = f(k_2) = \frac{\ln k_2}{k_1}$.



Слика 17: Графички приказ линеарне функције y_1 и логаритамске y_2 од константе k_2 .

Када се концентрације супстанци В и С могу лако мерити, тада се примењује алтернативан начин одређивања константи брзина реакције:

$$\frac{dc}{dt} = k_2 B \Rightarrow C_{t1} - C_0 = k_2 \int_0^{t1} B dt \quad (22)$$

$\int_0^{t1} B dt$ представља површину испод криве $B=f(t)$ до момента $t1$ у коме је одређено и C_{t1} па следи:

$$k_2 = \frac{C_{t1} - C_0}{\int_0^{t1} B dt} \quad (23)$$

За системе где су појединачне реакције вишег реда теже је добијање математичког решења. У таквим случајевима, решавање диференцијалних једначина могуће је нумеричким путем преко компјутера.

2.3.2 Развучена експоненцијална функција

Развучена (енг. “stretched”) експоненцијална функција има облик:

$$f_{\beta}(t) = e^{-(t/\tau)^{\beta}} \quad (24)$$

и примењује се када t има вредност између 0 и ∞ . β представља развучени (*stretching*) експонент и може имати вредност $0 < \beta \leq 1$. Вредност $\beta < 1$ указује на широку дистрибуцију временских константи, тада је график зависности $f_{\beta}(t)$ наспрам $\log(t)$ карактеристично растегнут, отуда и име функције. Случај када је $\beta > 1$, указује на уску дистрибуцију временске константе, тада функција нема велики практичан значај, једино када је $\beta = 2$, тада се добија нормална дистрибуција. За $\beta = 1$ експоненцијална функција има једну временску константу. Развучену експоненцијалну функцију први је представио Рудолф Колрауш (*Rudolf Kohlrausch*) 1854. године [140] којом је описао временску зависност пражњења кондензатора након што је установио да је једноставна експоненцијална функција неадекватна. У литератури се често може наћи и под називом Колраушова функција [141]. Поново откривена од Вилиамса и Ватса (*Williams and Watts*) [142] 1907. године, који су је представили у области диелектрике, развучена експоненцијална функција се у литератури може наћи и под називом Колрауш-Вилиамс-Ватс-ов закон (*KWW law*). Развучена експоненцијална функција је корисна за описивање временски зависних процеса који су сами по себи експоненцијални, али се јављају у сложеним системима код којих и само окружење повећава дистрибуцију временских константи. Као резултат овакве дистрибуције временских константи је одговор који је бржи од експоненцијалног на почетку реакције за време пре временске константе τ , и одговор спорији од експоненцијалног за каснију фазу у реакцији а за време после временске константе τ . У зависности од вредности β код развучене експоненцијалне функције потребно је више времена да би се достигла равнотежа, него што је случај код експоненцијалне функције. За поређење експоненцијалне и развучене експоненцијалне функције [143, 144], развучена експоненцијална функција се може окарактерисати просечном временском константом која узима у обзир развучени параметар β :

$$\langle \tau \rangle = \int_0^{\infty} e^{-\left(\frac{t}{\tau}\right)^{\beta}} dt = \frac{\tau}{\beta} \Gamma\left(\frac{1}{\beta}\right) \quad (25)$$

где $\Gamma(z)$ представља гама функцију.

За неки процес развучена експоненцијална функција се може представити:

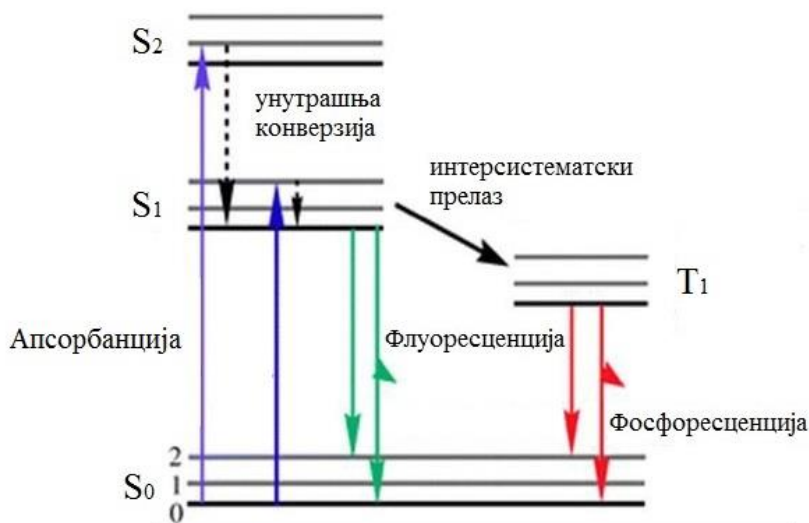
$$\Delta f_{\beta}(t) = [f_{\beta}(\infty) - f_{\beta}(0)] \left[1 - e^{-\left(\frac{t}{\tau}\right)^{\beta}} \right] \quad (26)$$

где је $f_{\beta}(0)$ вредност функције на почетку процеса, а $f_{\beta}(\infty)$ вредност функције када је достигнуто равнотежно стање при $t \rightarrow \infty$, τ је временска константа а β развучени параметар.

Развучена експоненцијална функција нашла је примену за моделовање различитих експерименталних података [145-150].

2.3.3 Гашење интензитета флуоресценције

Флуоресценција се може описати као спонтана емисија зрачења побуђеног молекула без промене мултиплицитета електронског стања [151]. Она је заснована на ексцитацији електрона са основног на побуђено стање. У побуђеном стању може се јавити вибрациона релаксација на нижи вибрациони енергетски ниво нижег побуђеног стања. Ову релаксацију која, се може јавити у више ступњева, први је описао Александар Јаблонски (*Aleksander Jablonski*) 1933. године [152]. Ови ступњеви заправо представљају радијативну или нерадијативну емисију и представљени су Јаблонски дијаграмом, слика 18:

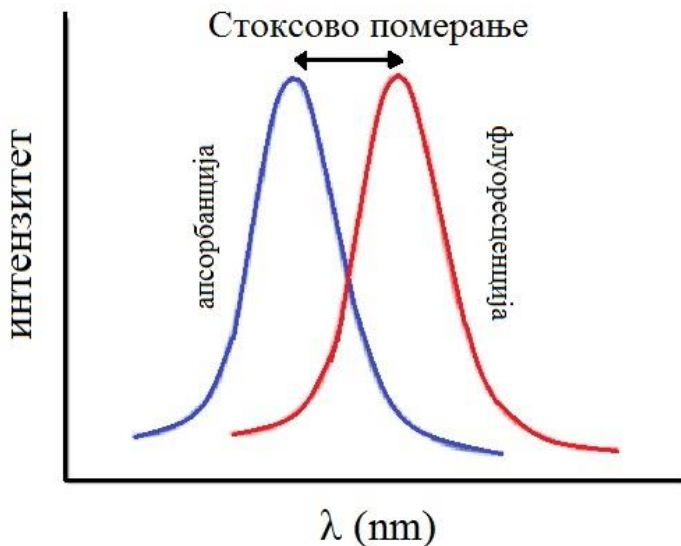


Слика 18: Јаблонски дијаграм.

На слици је представљено основно S₀, прво S₁ и друго S₂ електронско стање, и у сваком од ових нивоа флуоресцентни молекули се могу наћи у више вибрационих енергетских нивоа, 0, 1, 2. Након апсорпције светлости флуоресцентни молекул бива побуђен на виши вибрациони ниво S₁ или S₂ (10⁻¹⁵ s). Молекули се брзо релаксирају до нижег вибрационог нивоа S₁ (10⁻¹⁴ – 10⁻¹¹ s) и овај процес се зове унутрашња конверзија, тако да се емисија флуоресценције (10⁻⁹ – 10⁻⁷ s) заправо резултује из најнижег енергетског вибрационог стања S₁. При повратку у основно стање молекули могу да подлегну конверзији спина (промена мултиплицитета) у прво триплетно стање T₁. Емисија из T₁ је померена ка већим таласним дужинама (нижој енергији) у односу на флуоресценцију и означава се као фосфоресценција (10⁻³ – 10⁻² s). Прелаз из S₁ у T₁ представља интерсистематски прелаз. Прелаз из T₁ у основно стање је забрањен.

Флуоресцентни емисиони спектар представља график зависности података добијених мерењем интензитета флуоресценције од таласне дужине (nm) или таласног броја (cm⁻¹). Емисиони спектри зависе од хемијске структуре флуоресцентног молекула као и од растварача у коме се тај молекул налази. Концентрација флуорофора у раствору је јако битна, јер при високим концентрацијама флуорофора може сама да гаси своју флуоресценцију (ефекат унутрашњег филтера) [153]. Енергија емисије (флуоресценције) је

мања од енергије апсорпције, што значи да се флуоресценција дешава на нижим енергијама тј. на већим таласним дужинама од апсорпције. Овај феномен је открио Стокс (*G. G. Stokes*) [136]. Свака флуорофора (супстанца која има флуоресцентна својства) поседује батохромно померање између свог апсорпционог и флуоресцентног спектра, што се зове Стокс-ово померање, слика 19.



Слика 19: Стокс-ово померање између апсорпционог и флуоресцентног спектра.

Ако флуорофора има врло мало Стокс-ово померање, или ако се апсорпциони и флуоресцентни спектри преклапају, тада флуорофора може сама гасити интензитет своје флуоресценције. Способност флуоресцентног молекула да гаси интензитет своје емисије или неког другог суседног флуоресцентног молекула често се објашњава Форестеровим (*Förest*) резонантним енергетским трансфером (FRET) који описује трансфер енергије између две хромофоре [154, 155]. FRET се ослања на способност флуорофоре, односно квенчера (супстанца која смањује, односно гаси флуоресцентни интензитет флуорофоре) да апсорбује емитовану флуоресценцију (акцептор) друге флуорофоре (донор). Да би се на овај начин објаснило гашење интензитета флуоресценције, апсорпциони спектар квенчера се мора поклопити са флуоресцентним спектром флуорофоре.

Још једна метода која се користи у електрон дозор/акцептор систему је фотоиндуковани пренос електрона (*PeT – Photoinduced Electron Transfer*) [156, 157], у овом случају долази до преноса електрона са једне флуорофоре на другу.

Наночестице метала могу повећати интензитет флуоресценције флуорофора када се нађу у њиховој близини. Појачање интензитета флуоресценције се може објаснити помоћу два основна механизма [158]. Први је трансфер енергије између молекула боје и наночестице метала, што доводи до појачања флуоресценције или промена у апсорпционом спектру. Да би се обезбедио ефикасан трансфер енергије, површински плазмон се може подесити контролисањем величине и састава наночестица. Када се молекули боје нађу у близини наночестица метала, енергетски нивои молекула боје и површинског плазмона се могу спојити (удружити, купловати), као резултат јавља се трансфер енергије између боје и наночестице метала. У зависности од природе купловања, наночестица метала може да прими енергију од молекула боје који су у побуђеном стању, односно долази до преноса енергије са молекула боје на наночестицу услед чега се интензитет флуоресценције гаси. Супротно томе, може доћи до прелаза енергије са наночестице метала на молекул боје и тада долази до појачања интензитета флуоресценције. Други механизам којим се може објаснити појачање флуоресценције молекула боје јесте опадање њиховог радијативног и нерадијативног времена због удруживања диполног момента боје и електричног поља индукованог површинског плазмона [101, 159]. Тако се за флуорофору, време флуоресценције (τ) и квантни принос (Q) у присуству наночестица метала, могу представити једначинама:

$$\tau = \frac{1}{\Gamma + \Gamma_m + k_{nr}} \quad (27)$$

$$Q = \frac{\Gamma + \Gamma_m}{\Gamma + \Gamma_m + k_{nr}} \quad (28)$$

где је Γ – брзина радијативног процеса, Γ_m – брзина радијативног процеса у близини површине метала, k_{nr} – брзина нерадијативног процеса.

Растојање између молекула боје и наночестице је од битне важности код оба механизма. Када је растојање између флуорофоре и површине наночестице метала мање од

5 nm доминира гашење флуоресценције, док је за растојање од 5 – 20 nm могуће и гашење и појачање интензитета флуоресценције. Ако је растојање између флуорофоре и површине наночестице метала веће од 100 nm, тада може доћи до врло малог појачања интензитета флуоресценције. Тако се подешавањем раздаљине између наночестице метала и флуоресцентног молекула, може утицати на гашење или појачање флуоресценције [160, 161].

Смањење интензитета флуоресценције (*енг. quenching*) флуорофоре може бити услед: размене енергије, реакција у побуђеном стању, прегруписавања молекула или формирања комплекса [162]. Динамичко гашење интензитета флуоресценције настаје услед судара флуорофоре и квенчера. Статичко гашење интензитета флуоресценције настаје услед настајања комплекса између флуорофоре и квенчера. Гашење флуоресценције је разматрано као основна појава, али и као извор информација у биохемијским системима. У биохемији гашење интензитета флуоресценције се примењује за изучавање реакција у којима до гашења интензитета флуоресценције долази због молекулских интеракција. Статичко и динамичко гашење интензитета флуоресценције настаје као последица директног контакта између молекула (флуорофоре и квенчера). Код динамичког гашења интензитета флуоресценције (гашење сударом), квенчер долази у контакт са флуорофором док је у побуђеном стању. При контакту, флуорофора се враћа у основно стање, без емисије фотона. Приликом гашења интензитета флуоресценције не долази до трајних промена у молекулу. Код статичког гашења флуоресценције комплекс који граде флуорофора и квенчер не показује флуоресцентна својства.

Да би дошло до статичког или динамичког гашења интензитета флуоресценције, флуорофора и квенчер морају бити у директном контакту. На пример, ако је флуорофора везана за протеин или мембрану, и ако су протеин и мембрана непропустљиви за квенчер, неће доћи ни до статичког ни до динамичког гашења флуоресценције. Из ових разлога проучавање квенчовања може бити корисно за локализовање флуорофоре у протеинима и мембранама, и њихове пропустљивости за квенчер.

Велики број супстанци може бити квенчер флуоресценције. Најпознатији динамички (сударни) квенчер је молекул кисеоника, који гаси интензитет флуоресценције многих познатих флуорофора. У зависности од узорка који се испитује, често је потребно уклонити растворени кисеоник да би се добили поуздани резултати флуоресценције.

Ароматични и алифатични амини су такође ефикасни квенчери за многе несупституисане ароматичне угљоводонике.

Неке од супстанци које се понашају као квенчери су: јодиди, бромиди, Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Ag^+ , Cs^+ , итд.

Због великог броја различитих супстанци које се понашају као квенчери, једном одређени флуорофора-квенчер систем може се користити за различите сврхе. Важно је напоменути да флуоресценције свих флуорофора нису гашене истим познатим квенчерима. Појава гашења интензитета флуоресценције зависи од механизма, а који зависи од хемијских својства појединих молекула.

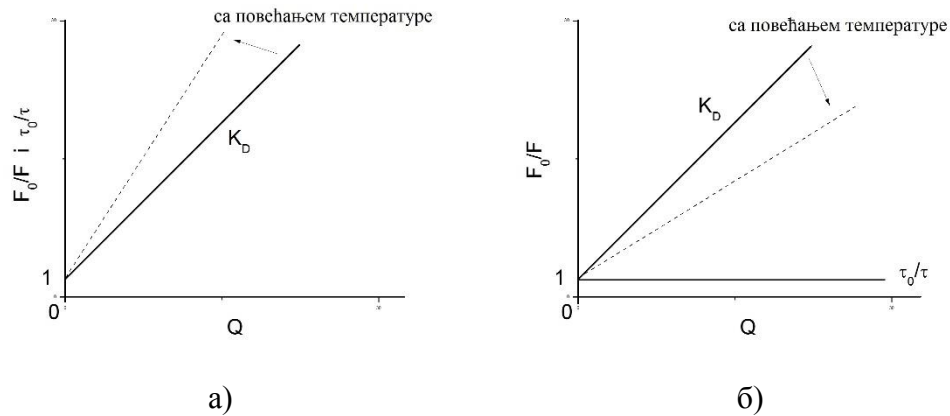
Динамичко гашење интензитета флуоресценције може се описати Штерн-Волмеровом (*Stern-Volmer*) једначином:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_D [Q] \quad (29)$$

где је: F_0 - интензитет флуоресценције у одсуству квенчера, F - интензитет флуоресценције у присуству квенчера, k_q - константа гашења интензитета флуоресценције, τ_0 - живот флуорофоре у одсуству квенчера, Q - је концентрација квенчера. Штерн-Волмерова константа K_D дата је изразом:

$$K_D = k_q \tau_0 \quad (30)$$

Подаци гашења флуоресценције се углавном представљају графички као однос F_0 / F наспрам концентрације квенчера, очекивана је линеарна зависност са повећањем концентрације квенчера. Графички нацрт F_0 / F наспрам Q даје пресек на у-оси и нагиб једнак K_D . Линеарна зависност углавном указује на једну врсту флуорофоре. Ако су две врсте флуорофоре присутне, а само једна од њих реагује са квенчером, тада је линеарност у правцу х-осе. На слици 20 представљени су Штерн-Волмерови графици за динамичко и статичко квенчовање.

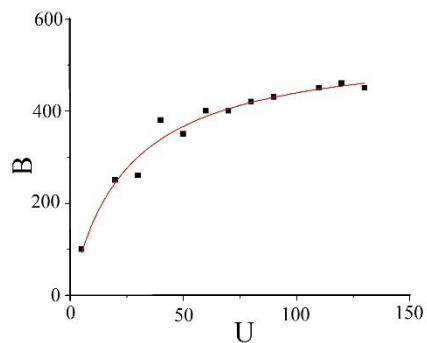


Слика 20: Графички приказ динамичког (а) и статичког (б) гашења интензитета флуоресценције [162].

Важно је напоменути да се из Штерн-Волмеровог графика не може утврдити да ли се ради о динамичком или статичком гашењу интензитета флуоресценције. Динамичко и статичко гашење интензитета флуоресценције се могу разликовати за различите температуре. Са повећањем температуре повећава се број судара, па је и веће динамичко гашење интензитета флуоресценције, што повећава дисоцијацију слабо везаних комплекса флуорофора-квенчер, па је статичко гашење интензитета флуоресценције мање.

2.3.4 Скатчардова анализа

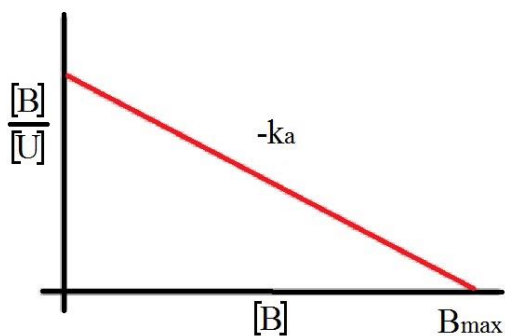
Скатчардова анализа је метода линеаризације података добијених из криве засићења. Крива засићења се добија из експерименталних података и представља однос концентрације лиганда који су везани за рецепторе ензима наспрам концентрације слободних лиганда (слика 21).



Слика 21: Крива zasiћења.

где је B – концентрација везаних лиганада (енг. *bound*), U – концентрација невезаних лиганада (енг. *unbound*).

Графички приказ односа концентрација везаних и невезаних лиганада (B/U) наспрам концентрације везаних лиганада (B) је Скатчардов нацрт (слика 22).



Слика 22: Скатчардов график.

Скатчардова анализа је метода за анализирање података за реверзибилне процесе везивања лиганада и рецептора, која се може представити једначином (31):



где је R -рецептор, L -лиганд.

Резултат оваквог графичког приказа је права линија са нагибом – K_a и пресеком на x -оси B_{max} . K_a је константа афинитета (асоцијације) и показује колико јако се лиганд може везати за рецептор, B_{max} је максимална концентрација везаних лигананда. K_a се може израчунати из Скатчардове једначине (32):

$$\frac{r}{c} = nK_a - rK_a \quad (32)$$

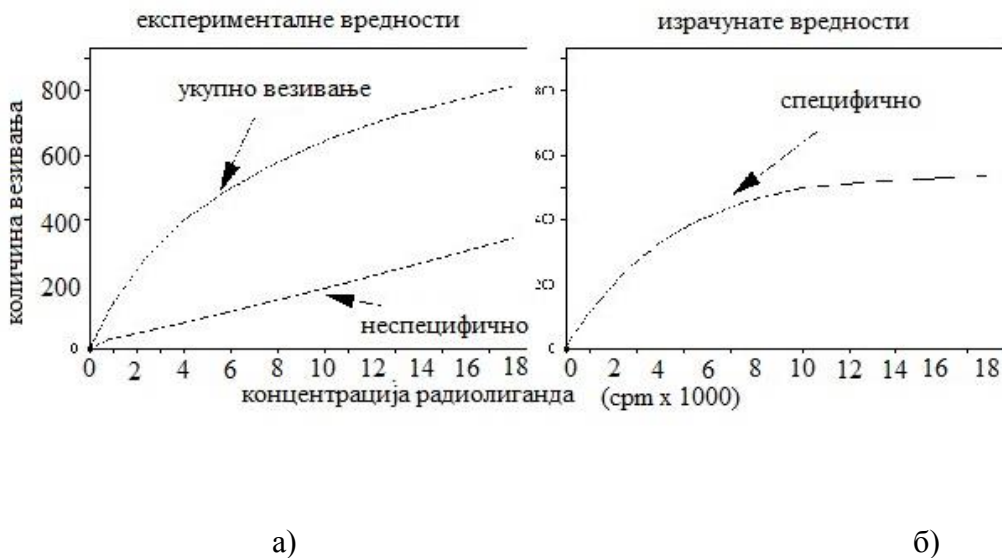
где је: r – однос концентрације везаних лигананда и укупног броја рецептора, c – концентрација слободних лигананда, n – број рецептора. Најбољи начин да се одреди K_d (константа дисоцијације, има вредност $1/K_a$) и B_{max} је фитовањем криве засићења у компјутерском програму Origin. Треба напоменути да се линеаризацијом података из криве засићења развлачи експериментална грешка и да тако добијене вредности за K_d и B_{max} нису прецизно одређене.

Карактеризација рецептора помоћу радиолиганда

Експериментална мерења везивања радиолиганда до засићења врше се при успостављеној равнотежи за различите концентрације специфичног (одређеног) радиолиганда. Анализом ових података одређује се број рецептора и афинитет. Подаци ових експеримената се обрађују Скатчардовом графичком методом па се понекад називају и „Скатчардови експерименти“. Ова анализа се заснива на претпоставци да постоји период инкубације до постизања равнотеже. То може трајати од пар минута до неколико сати, што зависи од лиганда, рецептора, температуре, и др. експерименталних услова.

Радиолиганди се могу везивати и за друге стране, осим за одређени рецептор, тзв. неспецифичне стране, па је то неспецифично везивање (*енг. NSB – nonspecific binding*). Неспецифичне стране се могу одредити мерењем везивања радиолиганда у присуству неког другог лиганда који би заузео све рецепторе. Теоретски, рецептори су заузети неким другим лигандом (неспецифичним) тако да се радиолиганд може везати за неспецифичне стране. Одузимањем концентрације радиолигананда везаних за неспецифичне стране од укупне концентрације везаних радиолигананда може се израчунати концентрација радиолигананда који су везани за рецепторе. У карактеризацији испитиваног система, основно правило је да се користи лиганд који се по хемијским својствима разликује од радиолиганда. Када се

систем једном окарактерише може се користити и лиганд сличних хемијских својства или исти. Неспецифично везивање је најчешће линеарно са порастом концентрације радиолиганда. На слици 23 представљено је укупно и неспецифично везивање (а) и разлика између укупног и неспецифичног везивања тј. специфично везивање (б).



Слика 23: а) Укупно и неспецифично везивање, б) Специфично везивање.

2.3.5 Хилова анализа

У биохемији везивање лиганда за макромолекул често може бити побољшано ако је присутан и неки други лиганд (што је познато као кооперативно везивање). Присуство другог лиганда може спречити везивање датог лиганда за макромолекул (негативна кооперативност), или да нема никаквог утицаја (некооперативно везивање). Хилов коефицијент даје увид о томе какво је везивање. Коефицијент је формулисао Хил како би описао сигмоидну криву добијену везивањем кисеоника за хемоглобин. Описује засићење макромолекула лигандом у функцији од концентрације лиганда.

Хилова једначина:

$$\theta = \frac{[L]^n}{K_d + [L]^n} = \frac{[L]^n}{(K_d)^n + [L]^n} = \frac{1}{\left(\frac{K_d}{[L]}\right)^n + 1} \quad (33)$$

θ – број рецептора за које се лиганд може везати,

$[L]$ – концентрација слободних (невезаних) лиганата,

K_d – константа дисоцијације,

K_a – концентрација лиганата која је заузела половину рецептора,

n – Хиллов коефицијент, дефинише кооперативност.

Логаритмовањем, Хилова једначина добија облик:

$$\log\left(\frac{\theta}{1-\theta}\right) = n \log[L] - \log K_d \quad (34)$$

Ако је $n > 1$ везивање је кооперативно, за $n < 1$ везивање је негативно кооперативно, и за $n = 1$ везивање је некооперативно.

2.4 Циљ рада

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације имала су за циљ да испитају интеракцију цијанинске боје (3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлортиацијанина) и синтетисаних наночестица сребра различитих величина, облика и површинске покривености. Применом више физичко-хемијских метода синтетисане колоидне дисперзије сребра су окарактерисане у одсуству и присуству ТС боје. Праћена је реакција самоорганизовања молекула боје, тј., J-агрегација боје на површини наночестица сребра, као и J-агрегација боје у раствору. Такође је испитан утицај штапићастог и сферног облика наночестица сребра различитих величина које у површинском слоју садрже адсорбоване јоне (цитратне, боратне), односно молекуле СТАВ-а, на формирање J-агрегата боје на њиховој површини. У циљу расветљавања механизма J-агрегације детаљно је испитана кинетика и промена флуоресцентних особина система боја – наночестица. Кинетика и механизам J-агрегације цијанинске боје на површини сферних наночестица сребра посматрана је преко

концентрационо зависних промена апсорпционих и флуоресцентних спектра, док је коришћењем теоријских прорачуна испитано везивање молекула ТС боје за површину ових наночестица. Такође, испитана је и примена синтетисаних наночестица сребра за појачање Раманског сигнала.

Разјашњење механизма интеракције између наночестица сребра и молекула цијанинске боје приказано у овој докторској дисертацији омогући ће бољи увид у проблематику ових система и њихову потенцијалну примену у различитим научним областима, као што су нелинеарна оптика, биосензори, фармацеутска индустрија и медицина.

НАШ РАД

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

3.1 Хемикалије

Све коришћене супстанце: сребро нитрат (AgNO_3), натријум борхидрид (NaBH_4), калијум хлорид (KCl), тринатријум цитрат дихидрат ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), натријум хидроксид (NaOH), аскорбинска киселина ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), цетилтриметиламонијум бромид ($(\text{C}_{16}\text{H}_{33})\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Br}$), су биле комерцијални производи највеће доступне чистоће (Aldrich или Merck).

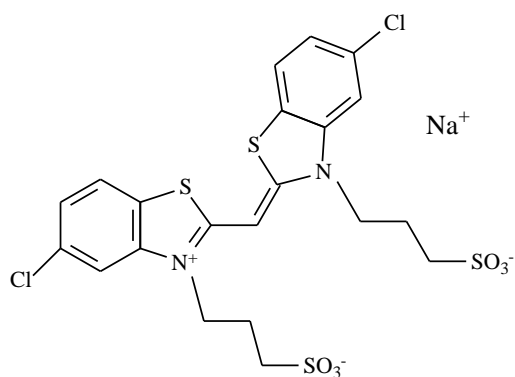
Тиацијанска боја ((Z)-3-(5-хлор-2-((5-хлор-3-(3-сулфонатопропил)бензотиазол-2(3H)-илиден)метил)бензотиазол-3-иум-3-ил)пропан-1-сулфонат) купљена је од Биохемијске лабораторије Nayashibara, Okayama, Japan.

За припремање свих раствора коришћена је дејонизована вода пречишћена Millipore Milli – Q системом.

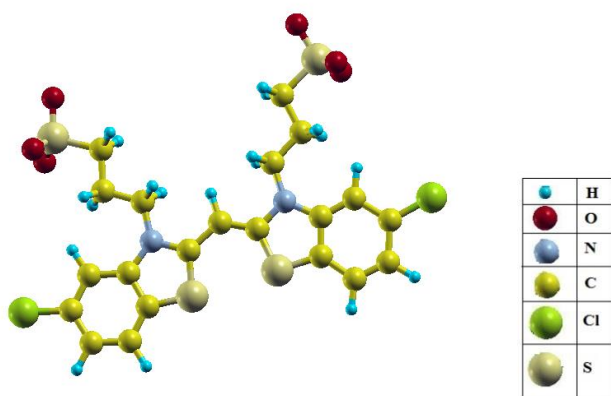
За припремање колоидног раствора сребра, тј. наночестице сребра величине 6 nm, кисеоник је одстрањиван из раствора барботирањем аргоном у трајању од 20 – 30 минута.

3.2 Припремање раствора ТС боје

Стандардни водени раствор ТС боје припремљен је растварањем чврсте боје у дејонизованој води. Боја се теже раствара па се раствор сонифицира у ултразвучном купатилу. Припремљен је раствор концентрације 5×10^{-5} M, садржао је и 1×10^{-3} M калијум-хлорида, који може да стоји неограничено дуго на собној температури. Радни раствори ТС боје су припремљени одговарајућим разблаживањем стандардног раствора, непосредно пре мерења. Структурна формула молекула ТС боје дата је на слици 24 заједно са DFT оптимизованом геометријом анјона ТС боје који је визуелизован помоћу софтвера XcryDen [163].



a)



б)

Слика 24: а) Структурна формула ТС боје и б) DFT оптимизована геометрија анјона ТС боје.

3.3 Припремање колоидних дисперзија сребра

Сви колоидни раствори су припремљени редукцијом воденог раствора $\text{AgNO}_3/\text{NaBH}_4$. Да би се добиле наночестице сребра различитих величина, облика и површинске покривености, раствору AgNO_3 је додаван Na_3Cit или СТАВ.

Концентрација наночестица сребра сферног облика одређена је на основу две методе:

а) из концентрације сребра у колоидном раствору, узимајући у обзир величину честица и густину сребра. Примењујући једначину (35), овом методом је одређена концентрација сферних наночестица сребра:

$$c = \frac{c_M \cdot M_{Ag}}{\frac{4}{3} r^3 \pi \rho N_o} \quad (35)$$

где је c_M – моларна концентрација $AgNO_3$, M_{Ag} – моларна маса сребра, r – полупречник просечне величине честица, ρ – густина сребра (10.49 g cm^{-3}) и N_o – Авогадров број

б) из молског коефицијента апсорптивности (молски коефицијент ϵ_λ) и апсорбанце на одређеној таласној дужини према Lambert-Beer-овом закону ($c = A / \epsilon_\lambda$).

3.3.1 Синтеза сферних наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима ($AgNP_6$)

Колоид сребра припремљен је редукцијом јона Ag^+ натријум-борхидридом, према стандардној процедури [79, 164]. $100 \text{ cm}^3 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ раствора $AgNO_3$ се барботира око 15 минута аргоном да би се уклонио кисеоник из раствора. Након 15 минута додато је 10 mg $NaBH_4$. У раствору, без присуства стабилизационог реагенса, истовремено долази до редукције јона Ag^+ , при чему он добија жуто обојење услед образовања колоидних честица сребра. Овако припремљен колоидни раствор је стабилан 3-4 сата. Средња величина наночестица добијених овом методом је $\sim 6 \text{ nm}$.

3.3.2 Синтеза сферних наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима ($AgNP_{10}$)

Водени раствор наночестица сребра синтетисан је редукцијом јона Ag^+ натријум-борхидридом у присуству натријум-цитрата као стабилизационог реагенса. 20 ml (1 mM)

воденог раствора AgNO_3 и 1.6 ml (38.8 mM) раствора натријум-цитрата меша се енергично 10 минута. Затим се додаје 0.4 ml (21mg) свеже припремљеног раствора NaBH_4 , кап по кап уз непрестано мешање. Добијени стабилан жут раствор наночестица сребра остављен је преко ноћи да стари, а затим охлађен на (4 °C). Овако припремљен колоидни раствор се може чувати у фрижидеру дужи временски период. Добијене наночестице Ag имају цитратне анјоне на површини и њихова просечна величина износи ~ 10 nm.

3.3.3 Синтеза наноштапића сребра са адсорбованим СТАВ јонима (AgNRs)

За синтезу наноштапића сребра прво је припремљен раствор семена сребра, који садржи сферне наночестице величине 4 nm. Прво је направљена смеша раствора AgNO_3 концентрације 0.5×10^{-3} M и 10 ml раствора Na_3Cit концентрације 0.5×10^{-3} M. Уз непрестано мешање у овај раствор је кап по кап додато 0.6 ml раствора NaBH_4 , концентрације 1×10^{-2} M. Након редукције јона Ag^+ јонима BH_4^- , боја реакционе смеше постаје жута услед формирања колоидних честица семена. Раствор семена је остављен да стари 1 сат, и након тога је коришћен за синтезу наноштапића Ag . У 10 ml раствора СТАВ концентрације 8×10^{-2} M додато је 0.25 ml раствора AgNO_3 концентрације 1×10^{-2} M и 0.5 ml раствора аскорбинске киселине концентрације 1×10^{-1} M уз непрестано мешање, на температури од око 30 °C. Затим је у овај раствор додато 0.06 ml раствора семена и 0.1 ml раствора NaOH концентрације 1 M. Боја раствора се мења од жуте, преко светло љубичасте и плаве, до сиво-плаве. Раствор наноштапића се након синтезе остави да стари неколико сати, а затим центрифугира како би се уклонио вишак СТАВ. Овако припремљен колоидни раствор се може чувати дужи временски период у фрижидеру [39].

3.4 Апаратура и методе

3.4.1 TEM мерења

За одређивање морфологије и дистрибуције величина наночестица сребра, коришћена је трансмисиона електронска микроскопија (ТЕМ). Колоидни раствори наночестица сребра и система наночестица-боја, мерени су на HITACHI H-7000 и JEOL 100CX уз радни напон од 100 kV. Узорци су припремљени накапавањем колоидних раствора на микроскопску мрежицу прекривену танким слојем угљеника. Након сушења узорци су испитивани ТЕМ-ом. За сваки узорак мерено је више од 200 наночестица.

3.4.2 Спектрофотометријска мерења

Апсорпциони спектри колоидних раствора мерени су на спектрофотометру Perkin Elmer Lambda 35 UV-Vis. Коришћена је кварцна кивета оптичке дужине пута од 1 cm. Запремински однос мешања колоида сребра и ТС боје био је 2:1.

3.4.3 Кинетичка мерења

За мерење брзине хемијске реакције коришћен је stopped-flow додаток спектрофотометру, HIGH-TECH модел SFA 12. Уређај се састоји од два шприца повезана са термостатираном кварцном киветом од 25 μl (0.25 cm^3) и дужином светлосног пута од 1 cm. Мртво време, тј. време за које смеша два раствора стигне до кивете, износи 20 ms. Брзина реакције је одређена из промене апсорбанце на 481 nm и 464 nm.

Спектрофотометријска и кинетичка мерења су изведена на собној температури.

3.4.4 Флуориметријска мерења

Емисија фотолуминисценције мерена је на Fluorolog-3 модел FL3-221 спектрофотометар (HORIBA Jobin-Yvon). Спектри су снимљени у опсегу од 420-600 nm, за ексцитацију 350 nm. Ексцитациони и емисиони монохроматори су са две решетке и дисперзијом 2.1 nm/mm (1200 бразди/мин.) За ексцитацију је коришћена ксенонска лампа а за мерење емисије је коришћен брзи ТВХ-04 PMT детектор са одговарајућом угаоном конфигурацијом уз кивету од 1 cm. Пошто интензитет флуоресценције зависи од извора зрачења, добијени подаци су поређени за скуп истих мерења.

3.4.5 Мерење динамичког расејања светлости (DLS) и зета потенцијала

Мерења динамичког расејања светлости (eng. *Dynamic light scattering, DLS*) и зета потенцијала, рађена су на инструменту Zeta-sizer Nano, ZS са 633 He-Ne ласером, опремљеним са МРТ-2 аутотитратом, Malverin, UK, на 25 °C. Овим инструментом се могу мерити честице величине од 0.6 nm до 6 μ m. Добијени подаци су анализирани Zetasizer Software, верзија 6.20. Вискозитет растварача, индекс рефракције растварача и колоидних дисперзија били су 0.8872 mPa·s, 1.330 и 1.200. Експериментални подаци DLS мерења представљени у овом раду су средња вредност од најмање осам узастопних мерења, при чему је свака крива средња вредност од 14 мерења. Десет узастопних мерења је изведено приликом мерења зета потенцијала и приказани подаци су средња вредност тих мерења.

3.4.6 Микроскопија атомских сила (AFM)

AFM мерења изведена су на инструменту који је ручне израде и који ради у бесконтактном режиму (*tapping mode*) [165]. Скенирајући тунелски микроскоп атомских сила, на коме су извршена мерења, погодан је за проучавање полупроводника, метала и биолошких узорака. Уређај садржи пирамидални микро носач, са опругом од 22 N/m, на коме се налази игла чији врх има полупречник 10 nm. За AFM мерења кап раствора

колоидне дисперзије је накапана на стаклену подлогу и сушена 1 h у сушници на 37 °C. Добијени подаци обрађени су у програму Gwiddion.

3.4.7 Раманска спектроскопија (SERS)

За мерење раманских спектра коришћен је Ntegra Spectra модул за AFM и Раман мерења. AFM (контактни и неконтактни мод) са две врсте скенера – 100 x 100 x 10 μm и 1 x 1 μm , и резолуцијом 0.2 nm у XY, и 0.04 nm у Z. Уз AFM истовремено снимање Рамана уз нумерички отвор 0.7, ласер 532 nm, четири покретне решетке 150 gr/mm, 600 gr/mm, 1800 gr/mm, 2400 gr/mm, видљиви, UV и IC спектар (190 nm до 10445 nm), CCD камера, доступност 3D слике (XYZ). Мерења су вршена на таласној дужини 532 nm, при 600 gr/mm и просторном резолуцијом од $\sim 0.5 \mu\text{m}$.

3.4.8 Теорија функционала густине (DFT) – теоријска израчунавања

За теоријске прорачуне функционала густине (*density functional theory* – DFT) коришћен је код *pwscf* у склопу Quantum ESPRESSO пакета [166]. Ради компромиса између семиквантитативне тачности и рачунских трошкова, коришћена је LDA-PZ81 апроксимација [167]. У циљу побољшања конвергенције коришћени су ултра меки псеудопотенцијали. Равни таласи са одсеченом енергијом од 25 Ry коришћени су као основни низ. Цео систем је направљен по моделу периодичних јединичних ћелија $50 \times 50 \times 50 \text{ Bohr}$ у циљу смањења интеракције између периодичних слика. ТС боја и цитрати су направљени по узору анјона, док је негативно наелектрисање компензовано уједначеном позитивном позадином. Граничне вредности електронских и привлачних сила подешене су на 10^{-5} eV и $1.5 \times 10^{-3} \text{ eV/Bohr}$. Lowdin [168] наелектрисање добијено је из електронске структуре након израчунавања и примењено у *projwfc* коду. Следећи уобичајену праксу, DFT енергије везивања израчунате су из разлике енергија крајњег стања и збира изолованих полазних компонената (у овом раду цитрата и ТС молекула, и Ag).

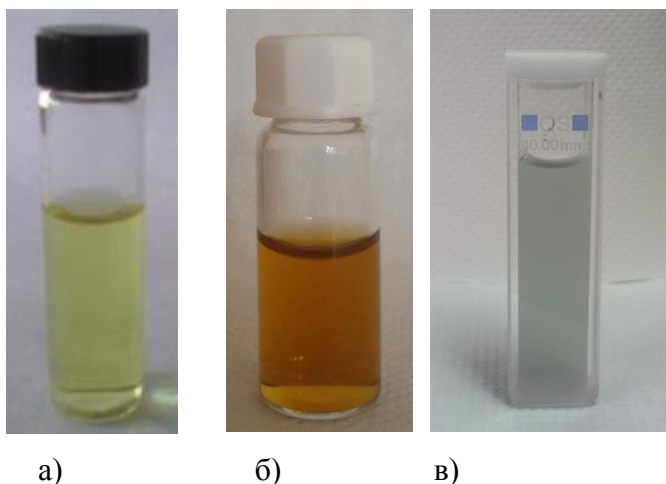
4 РЕЗУЛТАТИ

4.1 Карактеризација колоидних дисперзија сребра

Синтетисане наночестице сребра у воденом раствору, окарактерисане су UV-Vis спектроскопијом, TEM, AFM и DLS анализама, као и мерењем зета потенцијала ових раствора.

4.1.1 Апсорпциони спектри колоидних дисперзија сребра

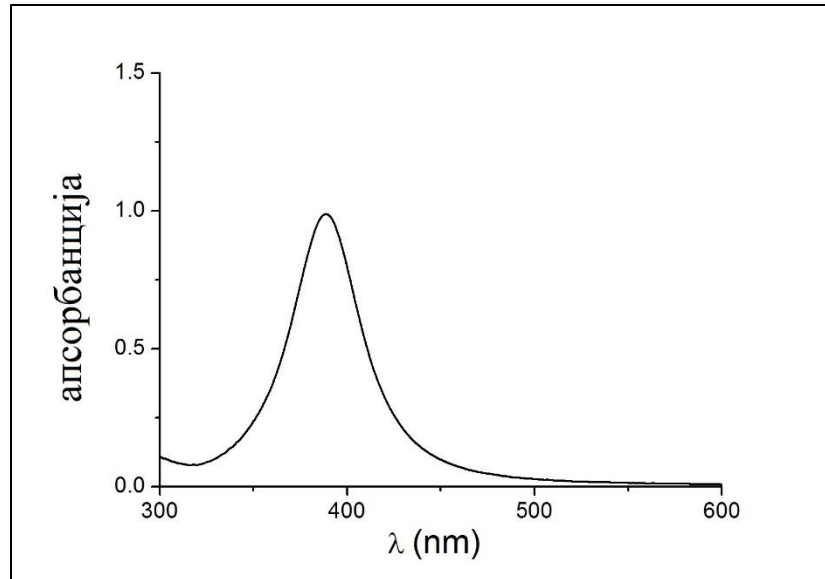
Фотографије синтетисаних транспарентних колоидних раствора сребра различитих величина, облика и површинске покривености, приказане су на слици 25. Боја ових раствора зависи од величине и облика наночестица, па су тако колоидни раствори наночестица сферног облика жуто обојени, док је раствор који садржи наночестице штапићастог облика сиво-плаве боје.



Слика 25: Колоидни раствори који садрже а) честице сребра сферног облика величине 6 nm, б) честице сребра сферног облика величине 10 nm, в) честице сребра штапићастиг облика дужине 40 nm.

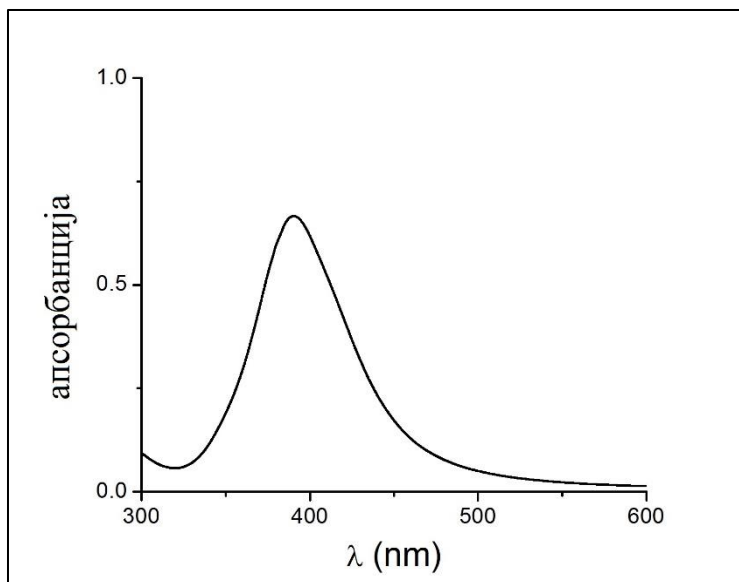
Обојеност ових колоидних раствора потиче од локализоване резонанце површинских плазмона у видљивој области, која настаје услед колективних осцилација слободних електрона у проводној траци наночестица метала под дејством електромагнетног поља. Са повећањем пречника наночестице апсорпциони максимум се помера ка црвеној области, односно ка већим таласним дужинама, што има за последицу различито обојење и све тамнију боју раствора. Као што се може и видети са слике 25, раствор који садржи наночестице сферног облика величине 6 nm је светло жуте, наночестице сферног облика величине 10 nm тамно жуте и наночестице штапићастиг облика дужине 40 nm сиво-плаве боје. Положај, ширина и број апсорпционих максимума ових наночестица зависи од њихове величине и облика, међусобног растојања и диелектричних константи средине у којој се они налазе [42, 169-172].

Апсорпциони спектар колоидне дисперзије наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима, величине 6 nm, садржи интензивну траку површинског плазмона са максимумом на 385 nm, слика 26. Полуширина апсорпционог максимума указује на уску дистрибуцију величина наночестица сребра.



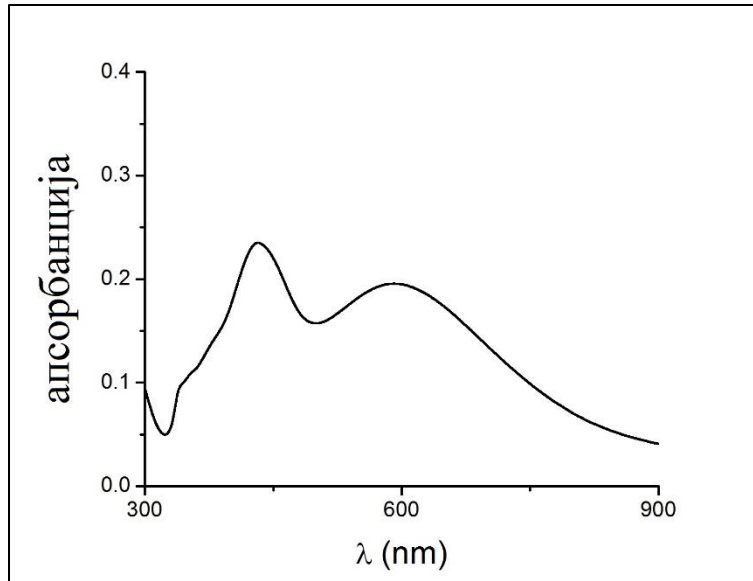
Слика 26: Апсорпциони спектар колоидне дисперзије AgNP₆.

Апсорпциони спектар колоидне дисперзије наночестица сребра величине 10 nm, са адсорбованим цитратним јонима, дат је на слици 27. Трака површинског плазмона има максимум на 395 nm. Ширење апсорпционе траке површинског плазмона ових наночестица (AgNP₁₀) у односу на претходне (AgNP₆), указује на већу дистрибуцију величина честица. Апсорпциони спектри ова два колоидна раствора се врло мало разликују по положају апсорпционог максимума, због мале разлике у величини честица.



Слика 27: Апсорпциони спектар колоидне дисперзије AgNP₁₀.

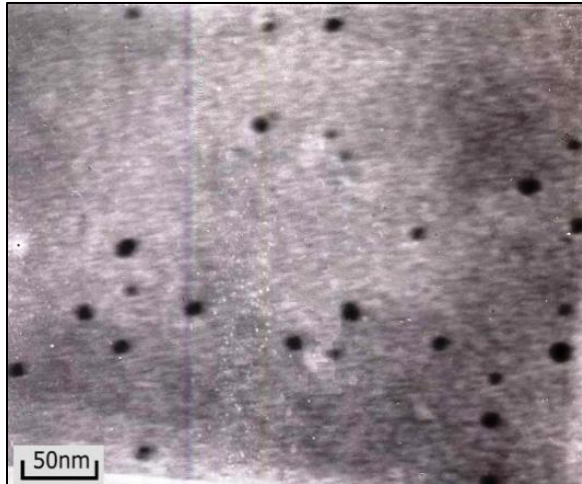
Као што је већ приказано у Одељку 2.1.2 са повећањем броја оса симетрије код анизотропних наночестица, повећава се број апсорпционих максимума у спектру [173-176]. Тако апсорпциони спектар наночестица сребра штапићастог облика, са адсорбованим СТАВ јонима, садржи два максимума, први на 433 nm услед осцилације електрона дуж краће осе, и други на 600 nm услед осцилације електрона дуж дуже осе, као што је приказано на слици 28.



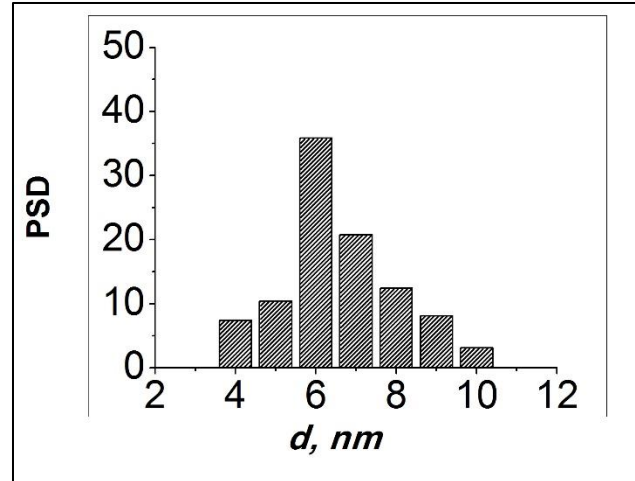
Слика 28: Апсорпциони спектар колоидне дисперзије AgNRs.

4.1.2 TEM карактеризација колоидних дисперзија сребра

Расподела величина и морфологија синтетисаних наночестица сребра одређени су TEM мерењима. Утврђено је да су наночестице сребра синтетисане поступком описаним у поглављу 3.3.1, са адсорбованим боратним јонима на својој површини, сферног облика (слика 29 а). Резултати такође указују на уску расподелу величина изолованих наночестица, чији средњи пречник одређен Гаусовом расподелом износи 6 ± 0.91 nm, слика 29 б.



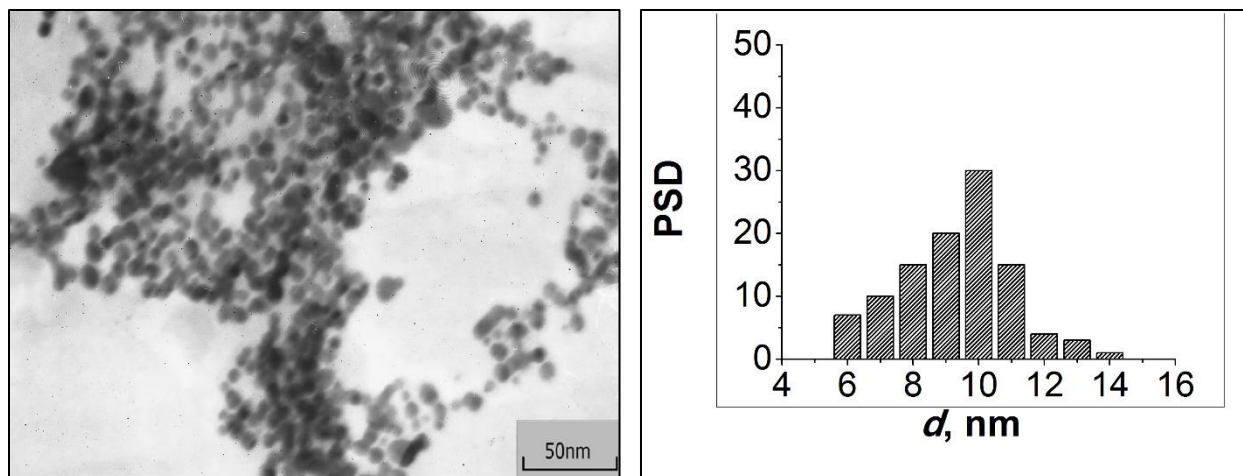
a)



б)

Слика 29: TEM микрографија AgNP₆ (а) са одговарајућим хистограмом расподеле честица по величинама (б).

ТЕМ мерењима колоидне дисперзије која је синтетисана поступком описаним у поглављу 3.3.2, утврђено је да су наночестице сребра са адсорбованим цитратним јонима претежно сферног облика са средњим пречником од 10 ± 2 nm. Одговарајућа TEM микрографија и хистограм расподеле величина ових наночестица дати су на слици 30.

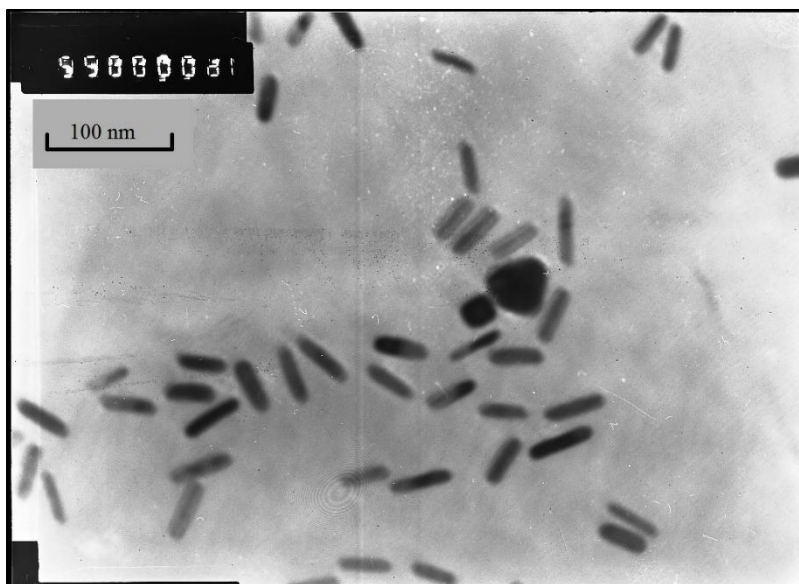


a)

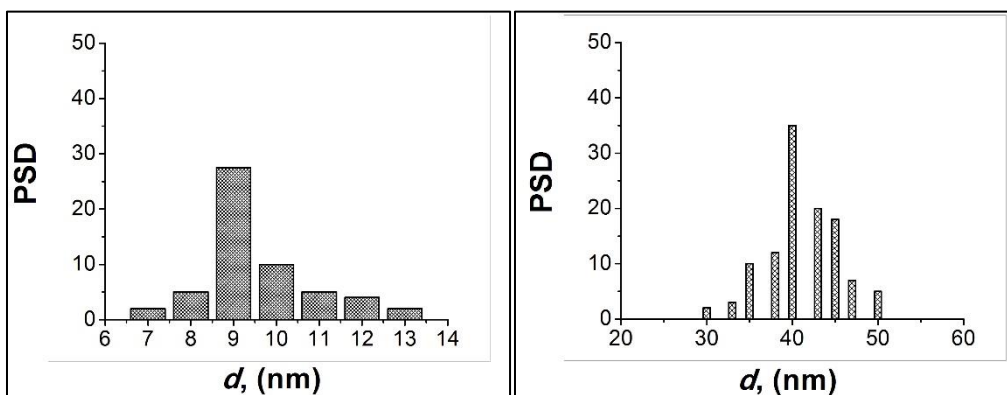
б)

Слика 30: TEM микрографија AgNP₁₀ (а) са одговарајућим хистограмом расподеле честица по величинама (б).

Поред претходна два колоидна раствора сребра, TEM анализом трећег синтетисаног раствора наночестица сребра је утврђено да највећи удео честица у овом раствору чине оне штапићастог облика (слика 31). Поред њих се могу уочити и честице призматичног и кубног облика. Као што је описано у процедури синтезе, настајање честица штапићастог облика се одвијало у присуству претходно синтетисаних наночестица сребра које представљају клице раста, па је могуће да се у току синтезе раст клица одвија и у другим правцима који формирају нежељене облике наночестица, као што су у овом случају призматичне и кубне честице. Однос концентрација клица раста, NaOH, Ag⁺ и СТАВ је важан фактор који утиче на крајњи облик наночестица. Такође се уочава да су добијени наноштапићи дужине од око 40 nm и дебљине од око 9 nm.



а)



б)

в)

Слика 31: TEM микрографија наночестица сребра штапићастог облика (AgNRs) (а), и одговарајући хистограм расподеле честица по дебљини (б) и дужини (в)

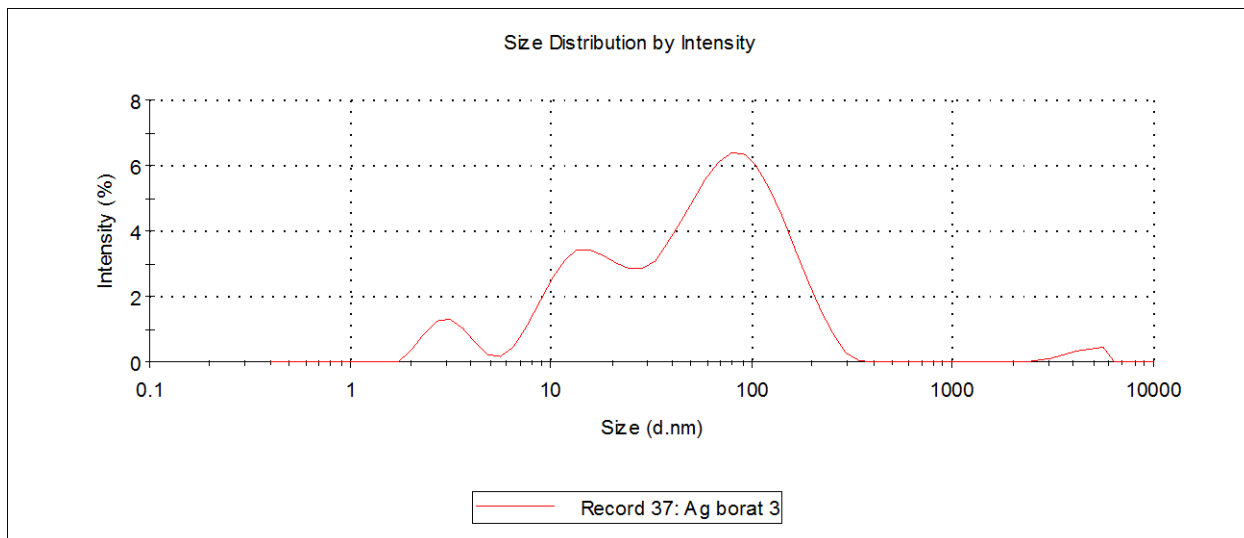
4.1.3 DLS карактеризација колоидних дисперзија сребра

Метода динамичког расејања светлости – DLS, је метода анализе дифракције ласерске светлости услед интеракције светлости са честицама, помоћу које се може одредити расподела величина честица од 1 – 1000 nm. Ова метода је коришћена као помоћна метода TEM мерењима за одређивање величине наночестица сребра у синтетисаним

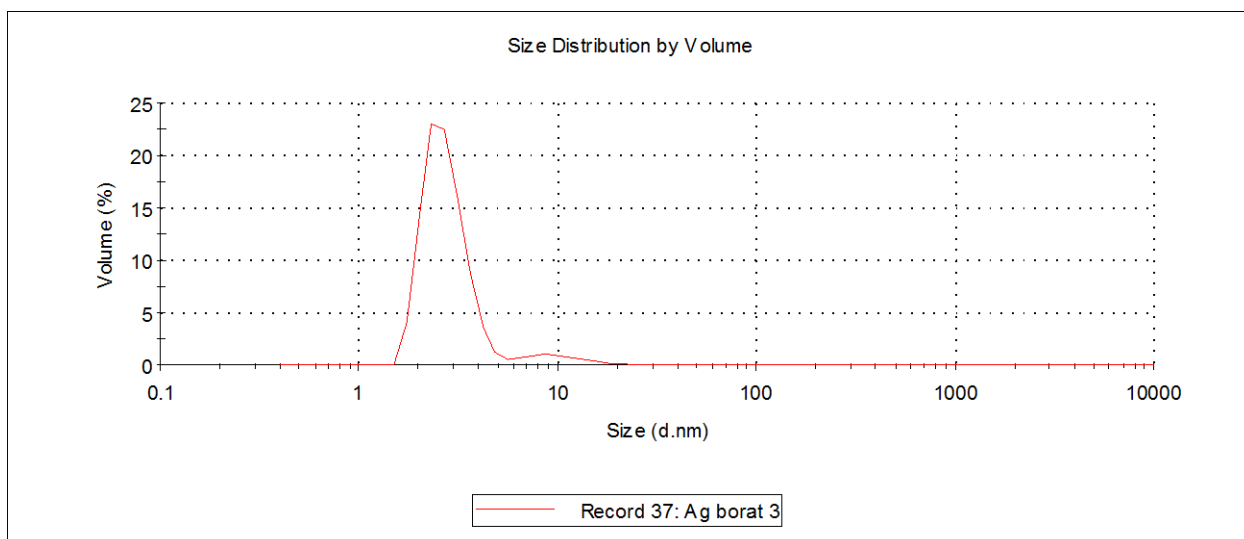
колоидним растворима. Међутим, она одређује величину честица заједно са хидродинамичким слојем, па је ова величина већа у односу на ону која се добија помоћу ТЕМ мерења [177-184]. Метода се заснива на мерењу интензитета расејане светлости у зависности од пречника наночестице, при чему експериментални резултат представља расподелу процента интензитета расејане светлости у зависности од пречника свих наночестица присутних у дисперзији. Подаци који су добијени експериментално даље се могу софтверски обрадити и дати расподелу запремине и броја честица у зависности од њиховог пречника. Сва мерења су рађена на температури 25 °С.

У првом случају, концентрација честица у раствору колоидне дисперзије AgNP₆ коришћена за анализу била је 1×10^{-8} М. Резултати ових мерења су приказани на слици 32 и у табели 2, где су дате вредности пречника честице, индекс полидисперзности, интензитети пикова и површина испод пикова у % за расподелу по интензитету расејане светлости.

На основу резултата се види да је колоидни раствор полидисперзан и да постоји више група наночестица истог пречника, које различитим интензитетом расејавају светлост. Такође је нађено да је средња величина ових честица 32 ± 4 nm. Анализом графика на слици 32 а) види се, да око 82 % интензитета расејане светлости одговара наночестицама величине пречника око 70 nm, док око 14% расејане светлости настаје услед присуства наночестица пречника око 7.5 nm. С обзиром да су ТЕМ мерења показала да је средња вредност пречника наночестица око 6 nm, ово указује и на могућност агрегације наночестица у току снимања узорака. Слика 32 а) представља график једног мерења, које пак представља средњу вредност 8 узастопних мерења. DLS графици свих мерења дати су у прилогу.



a)



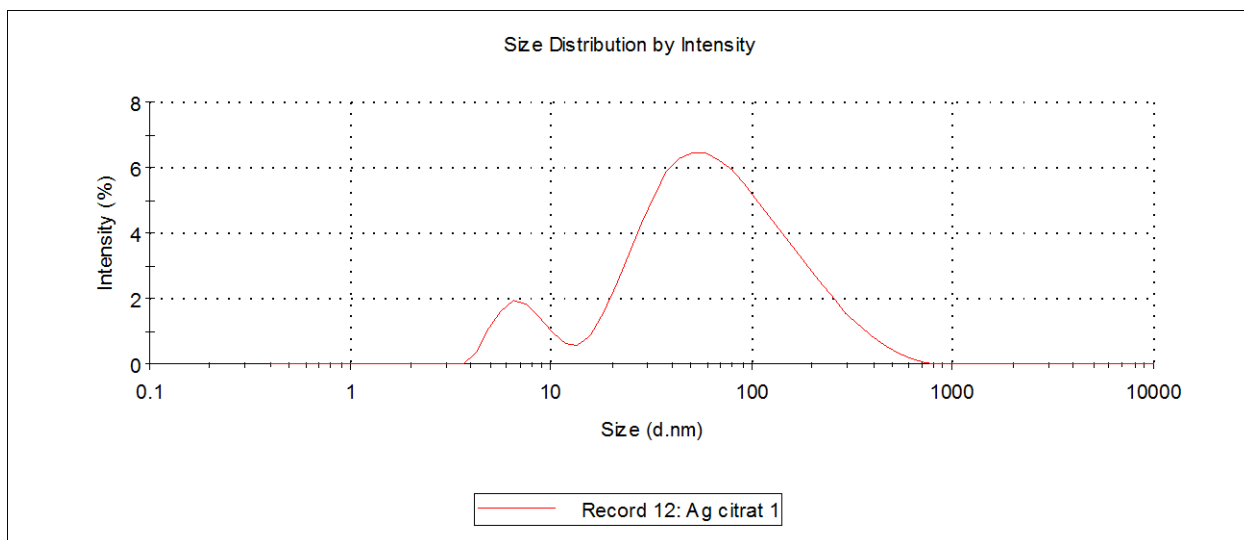
б)

Слика 32: DLS график расподеле честица по интензитету (а) и по запремини (б), колоидне дисперзије AgNP₆.

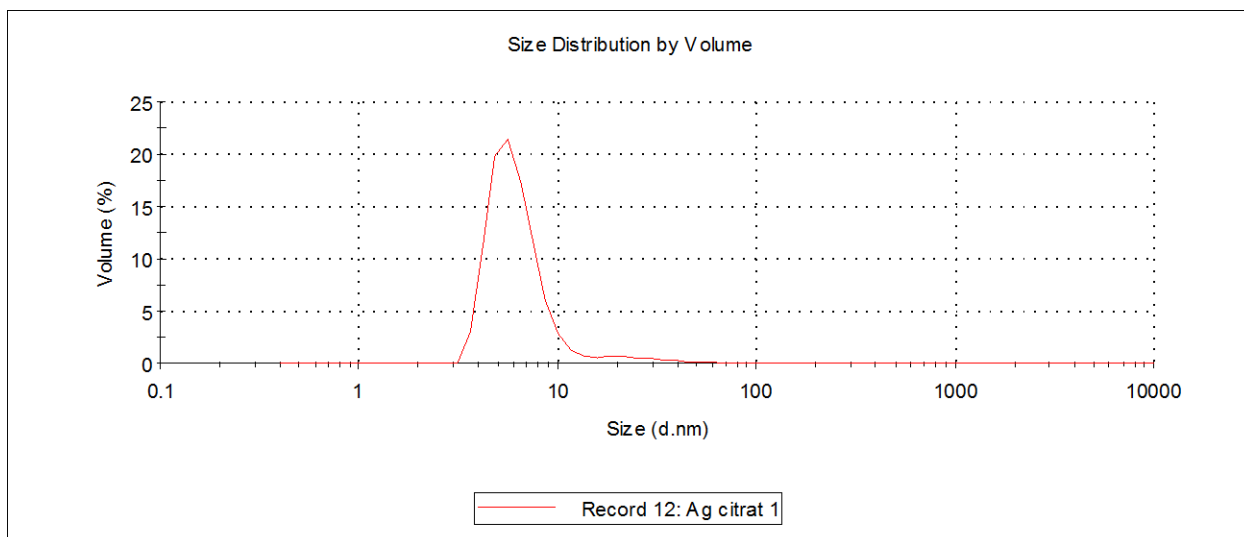
Табела 2: Средње вредности пречника наночестица AgNP₆ одређене DLS мерењима.

Бр. снимања	d (nm)	PDI	Пик 1 средњи интенз. d (nm)	Пик 2 средњи интенз. d (nm)	Пик 3 средњи интенз. d (nm)	Пик 1 Површи на интенз. (%)	Пик 2 површи на интенз. (%)	Пик 3 површи на интенз. (%)
1	39,13	0,385	45,82	3,162	3774	79,9	14,6	4,8
2	28,45	0,556	69,40	7,382	4414	82,9	14,9	2,2
3	35,65	0,556	79,06	4,857	4245	89,8	8,7	1,5
4	29,74	0,573	67,09	3,769	4472	91,2	7,3	1,5
5	31,75	0,530	88,83	15,18	3,170	68,3	24,6	5,6
Средња вредност	32,94	0,520	70,4	7,61	2627	82,4	14	3,1

Слични резултати добијени су и за колоидну дисперзију AgNP₁₀ при чему је концентрација честица била 2.17×10^{-9} M. Резултати DLS мерења овог раствора дати су на слици 33 и у табели 3. Нађено је да је средња величина честица у овом случају износила 39.0 ± 0.5 nm. Такође се види да је величина честица добијена овим мерењима значајно већа у односу на TEM мерења јер поред величине пречника честице садржи и дебљину хидродинамичког слоја око ње. Померање врха максимума кривих код DLS графика указује на полидисперзност ових дисперзија.



a)



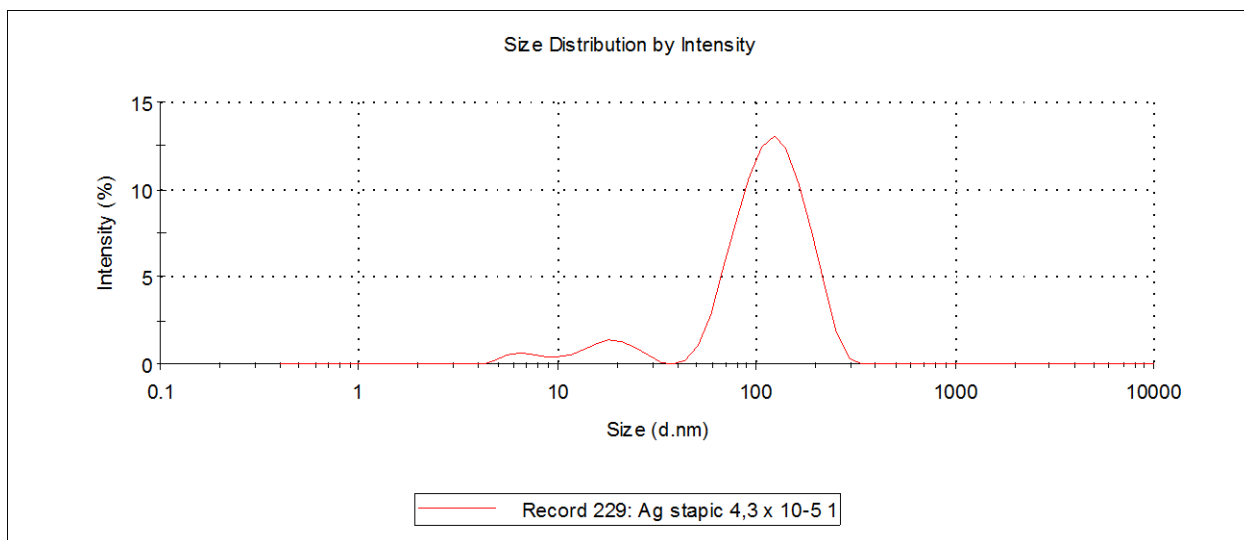
б)

Слика 33: DLS график расподеле честица по интензитету (а) и по запремини (б), колоидне дисперзије AgNP₁₀.

Табела 3: Средње вредности пречника наночестица AgNP₁₀ одређене DLS мерењима.

Бр. снимања	d (nm)	PDI	Пик 1 средњи интенз. d (nm)	Пик 2 средњи интенз. d (nm)	Пик 3 средњи интенз. d (nm)	Пик 1 површи на интенз. (%)	Пик 2 површи на интенз. (%)	Пик 3 површи на интенз. (%)
1	39,48	0,530	96,34	7,668	0	89,7	10,3	0
2	39,61	0,476	78,92	9,360	3880	83,4	13,9	2,7
3	40,81	0,479	79,62	6,441	3280	88,6	7,9	3,6
4	40,36	0,476	90,13	6,518	3591	89,8	8,8	1,3
5	39,53	0,530	84,60	7,442	2760	84,8	11,7	3,5
Средња вредност	39,6	0,499	85,92	7,486	2702	87,3	10,5	2,2

Применом DLS методе за одређивање величине наночестица штапићастог облика добијени су резултати који су приказани на сл. 34 и у Табели 4, при чему је концентрација јона Ag⁺ у раствору колоидне дисперзије AgNRs била 1.4×10^{-4} M. Код ових наночестица једна расподела одговара пројекцији најмање димензије честице, а друга одговара већим димензијама наночестице [185, 186]. За синтетисане наноштапиће сребра нађено је да је дужина штапића 155 ± 10 nm, а њихова ширина 19 ± 5 nm.



Слика 34: DLS график расподеле честица по интензитету, колоидне дисперзије AgNRs.

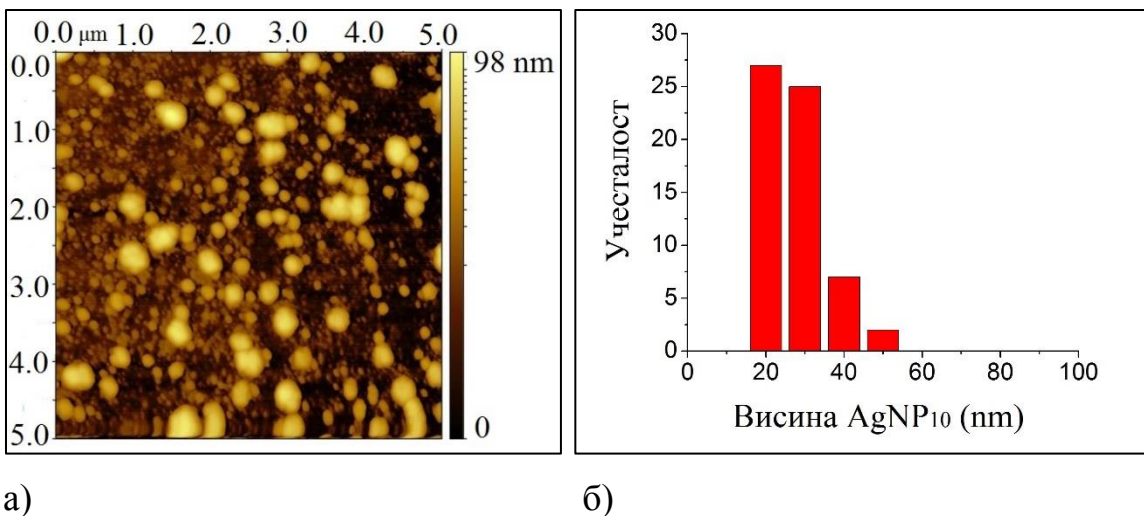
Табела 4: Средња вредност дужине и ширине наностапића.

Бр. снимања	PDI	Пик 1 средњи интенз. d (nm)	Пик 2 средњи интенз. d (nm)	Пик 1 површи на интенз. (%)	Пик 2 површи на интенз. (%)
1	0,347	127,6	18,7	90,0	7,4
2	0,483	149,5	27,4	86,6	9,2
3	0,475	151,0	18,4	89,5	9,2
4	0,466	154,7	15,0	90,2	7,0
5	0,464	167,0	22,3	90,4	7,2
Средња вредност	0,451	155,0	19,0	89,9	7,5

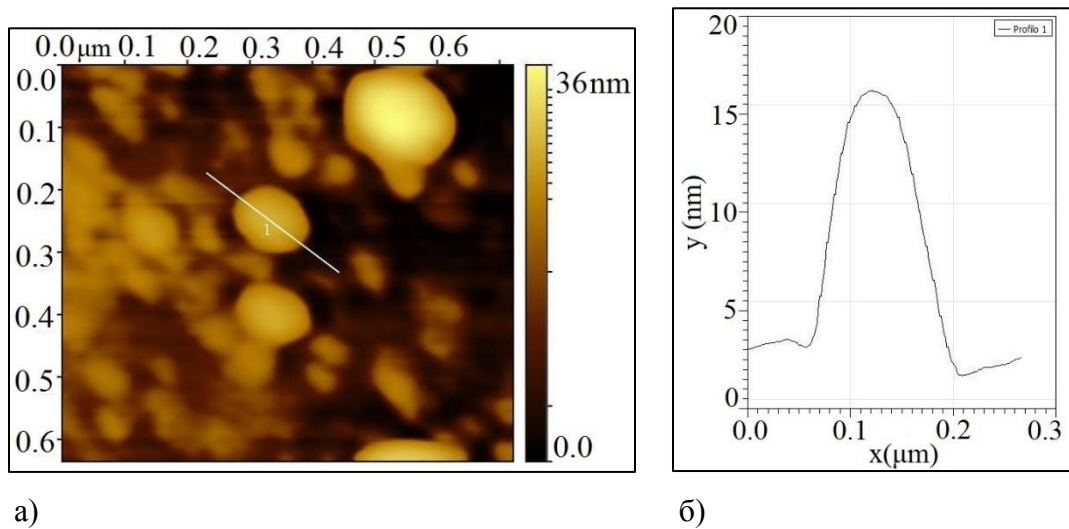
4.1.4 AFM карактеризација колоидних дисперзија сребра

Поред претходно поменутих метода, коришћена је и AFM метода којом су окарактерисане колоидне дисперзије AgNP₁₀ и AgNRs. Овом методом такође је могуће одредити величину и облик честица нанометарске величине [187-195]. Предност ове анализе је добијање тродимензионалне слике честице. Метода одређивања пречника наночестица на овај начин је да се честице нанесу на равну подлогу и да се мери њихова висина [196]. Висина наночестица (z-правац) одређена је на раздаљини где се тип одбија или привлачи силама услед интеракције са површином наночестице и представља пречник наночестице.

Топографија наночестица AgNP₁₀ дата на слици 35 а, указује да су наночестице претежно сферног облика и да имају широку дистрибуцију. Из хистограма величине наночестица AgNP₁₀ добијеног из AFM мерења, (слика 35 б), одређена је величина ових наночестица која износи 20 ± 5 nm. Резултати показују већу просечну величину честица од оне која је добијена TEM мерењима, али се доста добро слажу са DLS мерењима и са резултатима који су добијени за сличне дисперзије [197-199]. Већа вредност просечне величине честица одређена AFM мерењима у односу на просечну величину честица добијену из TEM мерења, где се види само метално језгро честице, је очекивана, јер се AFM-ом одређује и адсорбовани цитратни слој који окружује честицу. На слици 36 а) представљена је наночестица сребра у високој резолуцији заједно са својим профилем (б).

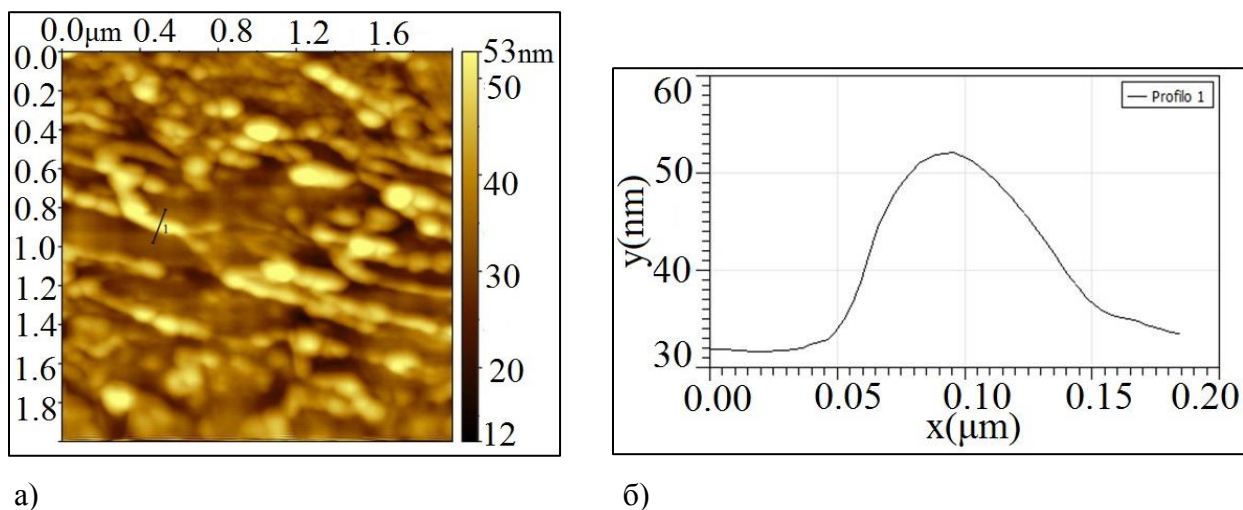


Слика 35: Топографија AgNP₁₀ (а) са расподелом величине честица (б).



Слика 36: Наночестица AgNP₁₀ у високој резолуцији (а) и њен профил (б).

Топографија наносштипића сребра представљена је на слици 37 а). Може се видети да су поред штипићастих облика присутни и сферни облици честица који и поред центрифугирања колоидне дисперзије нису у потпуности одвојени. Профил наносштипића, слика 37 б) приказује висину, односно дебљину, штипића и износи 20 nm. Добијени резултат је у сагласности са DLS мерењима.



Слика 37: Топографија AgNRs (а) и профил честице (б)

4.1.5 Одређивање зета потенцијала колоидних дисперзија сребра

Као што је већ приказано у поглављу 2.1.1 колоидне честице носе одређено наелектрисање и у својој структури садрже језгро и електрични двојни слој (адсорпциони и дифузни). Наночестице сребра синтетисане поступцима описаним у поглављу 3.3 састоје се од елементарног језгра сребра које је окружено боратним/цитратним јонима или СТАВ молекулима. Мерењем зета потенцијала одређена су наелектрисања ових честица у колоидним растворима. Измерене вредности зета потенцијала и рН, проводљивост и мобилност ових наночестица дате су у табели 5. Предзнак зета потенцијала указује да је површина сферних наночестица сребра, AgNP₆ и AgNP₁₀, негативно наелектрисана услед адсорбованих боратних, односно цитратних јона. Површина наноштапића сребра је позитивно наелектрисана услед адсорпције СТАВ молекула. Познато је да органска једињења слабо дисосују и смањују проводљивост, па како је испитивана интеракција наночестица сребра са органским молекулом боје, измерене су вредности проводљивости и мобилности колоидних дисперзија без и са присуством боје, а добијени резултати ће бити дискутовани касније.

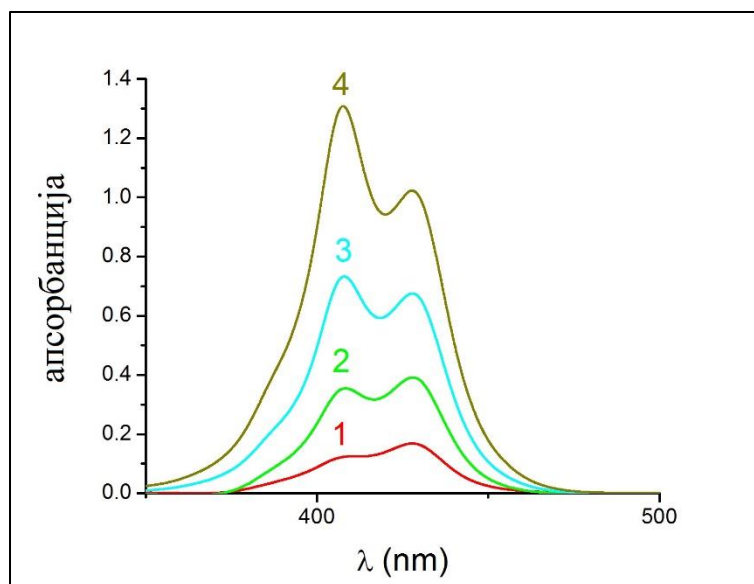
Табела 5: рН вредност колоидних дисперзија сребра, вредност зета потенцијала, проводљивост и мобилност.

Колоид	Концентрација (M)	рН	Зета потенцијал (mV)	Проводљивост $\mu\text{S cm}^{-1}$	Мобилност
AgNP ₆	Честица 1×10^{-8}	9.94	- 43.2	0.294	-3.390
AgNP ₁₀	Честица 2.17×10^{-9}	6.93	- 23.3	0.082	-1.825
AgNRs	Јона Ag ⁺ 1.4×10^{-4}	8.2	+ 24.4	0.122	1.197

4.2 Карактеризација раствора ТС боје

Као што је већ описано у поглављу 3.2, раствор ТС боје припремљен је растварањем чврсте боје у дејонизованој води. Раствор је окарактерисан апсорпционим и флуоресцентним спектрима.

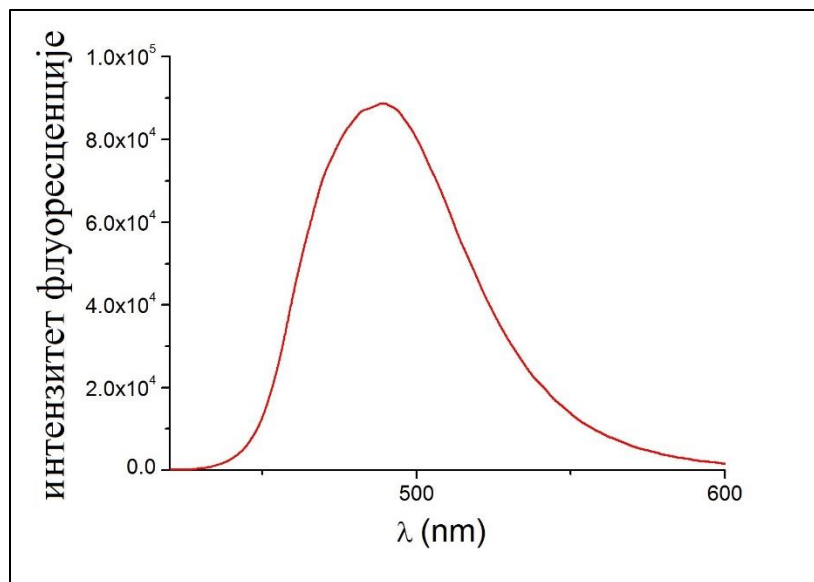
Апсорпциони спектар воденог раствора ТС боје има два максимума, први на 409 nm који се приписује димеру боје (TC₂²⁻) и други на 428 nm који се приписује мономеру боје (TC⁻) [62]. На слици 38 приказани су апсорпциони спектри раствора ТС боје различитих концентрација.



Слика 38: Апсорпциони спектри раствора ТС боје концентрација 1 – 0.16×10^{-5} M; 2 – 0.5×10^{-5} M; 3 – 1×10^{-5} M; 4 – 1.67×10^{-5} M.

Као што се може видети из апсорпционих спектра, при нижим концентрацијама у раствору доминира мономер боје, док при вишим концентрацијама доминира димер ТС боје. При високим концентрацијама ТС боја формира J-агрегате у раствору, чији се пик налази на 464 nm [63, 200]. J-агрегати у раствору се могу формирати и услед присуства већих концентрација јона метала [59, 60]. Апсорпциони спектар раствора ТС боје са формираним J-агрегатима у раствору приказан је на слици 41.

Раствор ТС боје има јаку флуоресценцију. Флуоресцентни спектар окарактерисан је траком са максимумом на ~ 485 nm, чији интензитет зависи од концентрације ТС боје. Флуоресцентни спектар раствора ТС боје концентрације 1×10^{-5} M дат је на слици 39.

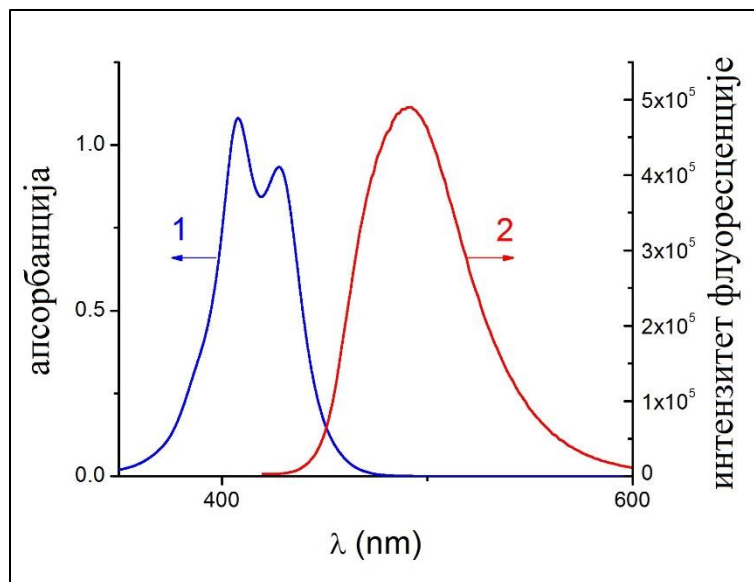


Слика 39: Флуоресцентни спектар раствора ТС боје концентрације 1×10^{-5} М.

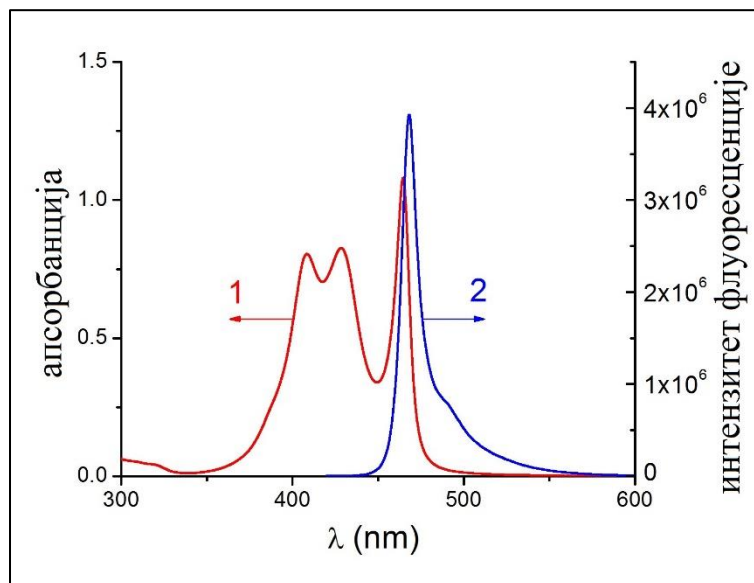
Флуоресцентни спектар подлеже Lambert-Beer-овом закону само у случају нижих концентрација, док при вишим концентрацијама долази до одступања од њега [201]. До одступања долази због различитих видова агрегације при већим концентрацијама па је присутан ефекат унутрашњег филтера услед чега долази до реасорпције фотона од стране боје. Флуоресцентни спектар раствора ТС боје који садржи J-агрегате у раствору има интензивну траку са максимумом на око 468 nm, приказан је на слици 41.

Апсорпциони и флуоресцентни спектри раствора ТС боје без J-агрегата дати су на слици 40 и у складу су са литературним подацима [202-204].

Апсорпциони и флуоресцентни спектри раствора ТС боје који садржи J-агрегате у раствору формиране услед присуства KCl дати су на слици 41.



Слика 40: Апсорпциони – 1 и флуоресцентни – 2 спектар раствора ТС боје концентрације 1.67×10^{-5} М.



Слика 41: Апсорпциони – 1 и флуоресцентни – 2 спектар раствора ТС боје са присутним J-агрегатима у раствору. Концентрација ТС боје је 1.67×10^{-5} М а KCl 2×10^{-2} М.

Раствори ТС боје са и без присутних J-агрегата у раствору могу се и визуелно разликовати јер је раствор који садржи J-агрегате више флуоресцентан, фотографија раствора приказана је на слици 42.



Слика 42: а) Раствор ТС боје који поред мономера и димера садржи још J-агрегате у раствору, б) и раствор у коме је боја присутна као мономер и димер.

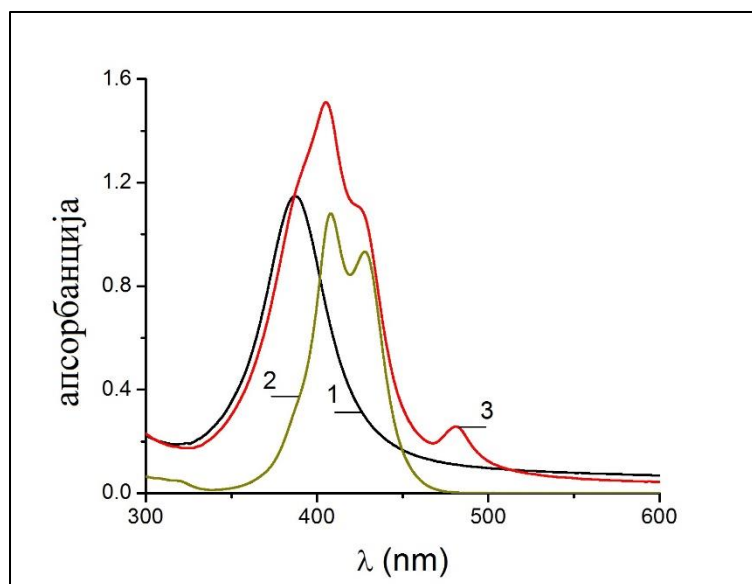
4.3 J-агрегација молекула ТС боје на површини наночестица сребра

Формирање J-агрегата цијанинских боја на површини наночестица племенитих метала (Au и Ag) привукло је пажњу многих истраживача [62, 63, 93, 99, 205-207]. Као што је већ речено J-агрегати представљају организоване молекулске структуре нековалентно везаних молекула које се одликују уском апсорпционом траком која је померена ка црвеном делу спектра у односу на мономер боје. У присуству испитиваних наночестица сребра ТС боја гради J-агрегате на површини наночестица, који у апсорпционом спектру садрже карактеристичну апсорпциону траку чији је максимум смештен на 481 nm [208, 209]. Интеракција ТС молекула са наночестицама сребра потврђена је и флуоресцентним мерењима, TEM, AFM и DLS мерењима, као и мерењем зета потенцијала. У свим случајевима раствори наночестица сребра и раствор ТС боје мешани су у односу 2:1.

4.3.1 J-агрегација молекула ТС боје на површини сферних наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима

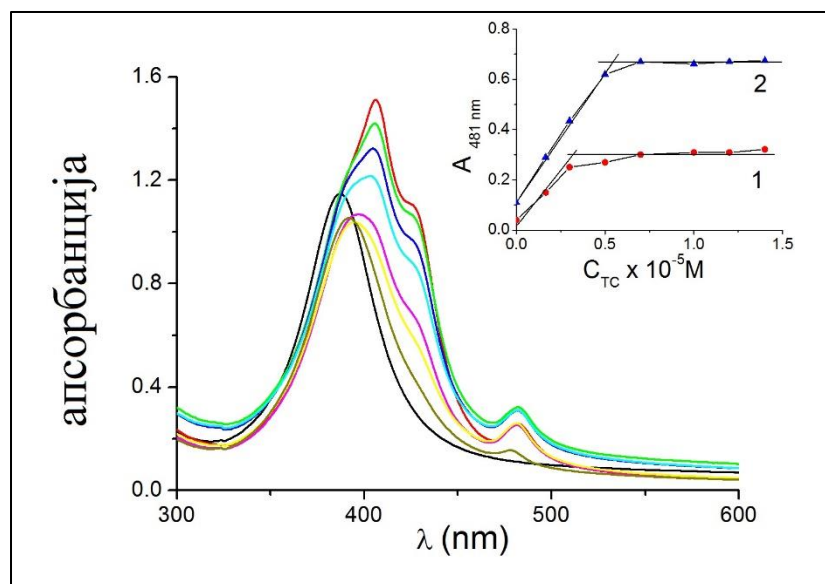
4.3.1.1 Апсорпциони спектри

Реакција колоидне дисперзије AgNP₆ са ТС бојом испитана је снимањем апсорпционих спектара. На слици 43 приказан је спектар колоидне дисперзије AgNP₆ (1×10^{-8} M, линија 1), раствора ТС боје (1.66×10^{-5} M, линија 2) и њихове смеше (линија 3). KCl је присутан у оној количини у којој је додат приликом припремања раствора ТС боје, тако да је крајња концентрација KCl након мешања раствора била 3.33×10^{-4} M.



Слика 43: Апсорпциони спектар колоида AgNP_6 , концентрација честица је 1×10^{-8} М (1), ТС боје концентрације 1.67×10^{-5} М (2) и њихове смеше (3).

Апсорпциона трака колоида AgNP_6 има максимум на 385 nm (линија 1), док апсорпциони спектар ТС боје има два максимума (линија 2), који потичу од мономера и димера ТС боје. После мешања колоида AgNP_6 и ТС боје у апсорпционом спектру јавља се трака која садржи максимум на 481 nm (линија 3). Ова спектрална промена карактеристична је за формиране J-агрегате на површини наночестица сребра [62, 63, 87]. У спектру смеше колоида AgNP_6 и ТС боје могу се видети и максимуми који потичу од слободних молекула ТС боје у раствору, што указује на то да није сва боја формирала J-агрегате. У даљем раду испитан је утицај концентрације ТС боје, као и утицај концентрације AgNP_6 на формирање J-агрегата. У првом сету мерења концентрација честица AgNP_6 држана је константном, док је концентрација ТС боје била од 0.16×10^{-5} М до 1.67×10^{-5} М. Апсорпциони спектри су дати на слици 44.

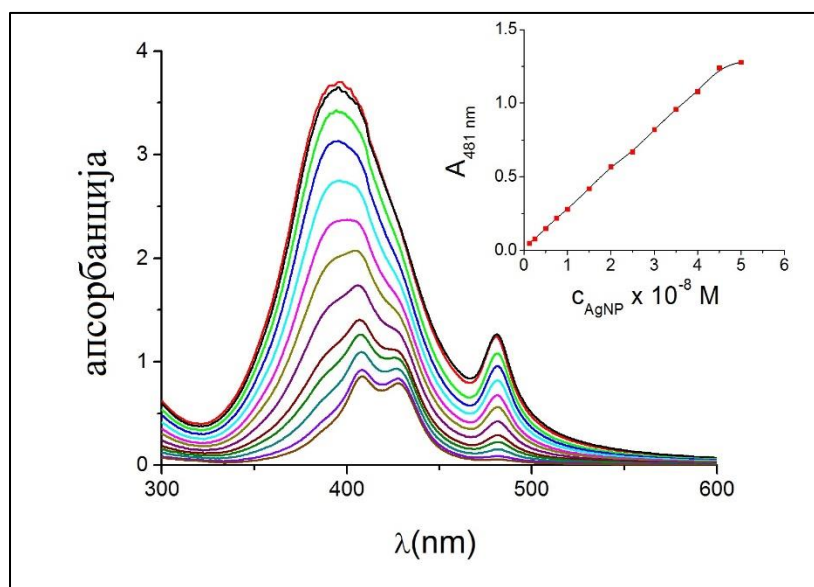


Слика 44: Апсорпциони спектри формирања J-агрегата у зависности од концентрације ТС боје ($0.16\text{-}1.67 \times 10^{-5}$ M) при константној концентрацији колоида AgNP_6 (1×10^{-8} M); Додатак: Зависност апсорбанце на 481 nm од концентрације ТС боје у присуству 1×10^{-8} M (линија 1) и 2.5×10^{-8} M (линија 2) AgNP_6 .

У додатку слике 44 представљена је промена апсорбанце на 481 nm у зависности од концентрације ТС боје, док је концентрација честица AgNP_6 била константна, 1×10^{-8} M (линија 1) и 2.5×10^{-8} M (линија 2). Из додатка слике 44 се може видети да апсорбанца на 481 nm расте линеарно достижући заравњење при концентрацији ТС боје 2.5×10^{-6} M односно 5×10^{-6} M, што значи да даљи пораст концентрације ТС боје нема утицаја на формирање J-агрегата. Вишак боје остаје неизреагован тако да се пикови који потичу од мономера и димера ТС боје, јасно могу видети у апсорпционом спектру. На основу добијених експерименталних података, из добијених вредности концентрација ТС боје и познатих концентрација наночестица може се израчунати број молекула боје који се налазе у J-агрегату [208]. Нађено је да је око 250 молекула по наночестици присутно у J-агрегату при нижој концентрацији AgNP_6 , и око 200 молекула по наночестици при већој концентрацији AgNP_6 . Узимајући у обзир да се молекул боје може апроксимирати као правоугаона кутија димензија $2.5 \times 1.5 \times 0.5$ nm [109, 210] један молекул боје има површину отприлике 3.75 nm^2 . На основу TEM мерења средња вредност пречника AgNP_6 је 6 nm, па

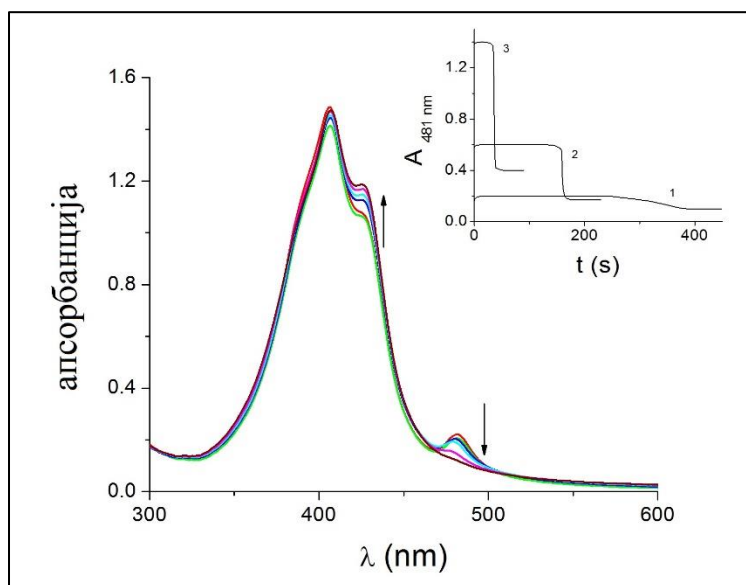
се може узети да површина честице износи 113 nm^2 . Претпостављајући да молекула боје належе хоризонтално на наночестицу, број молекула боје који је потребан да потпуно прекрије површину наночестице износи 30, дајући површинску покривеност од 0.26 TC молекула по $\text{nm}^2 \text{ AgNP}_6$. На основу ове претпоставке концентрација TC боје која је потребна да покрије наночестице у мономолекулском слоју износи 0.3×10^{-6} и $0.75 \times 10^{-6} \text{ M}$ за 1×10^{-8} и $2.5 \times 10^{-8} \text{ M AgNP}_6$. Експериментално добијене вредности су доста веће, и указују да су молекули боје наслагани у више слојева, што одговара J-агрегацији. Из спектрофотометријских података израчунат је молски коефицијент апсорптивности J-агрегата, који износи $1.08 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$.

У другом сету мерења концентрација TC боје је држана константном, док је концентрација честица AgNP_6 била у опсегу од $0.12 \times 10^{-8} \text{ M}$ до $5 \times 10^{-8} \text{ M}$, апсорпциони спектри су дати на слици 45. У овом случају промена апсорбанце на 481 nm је линеарна, али није достигнута завршна тачка титрације.



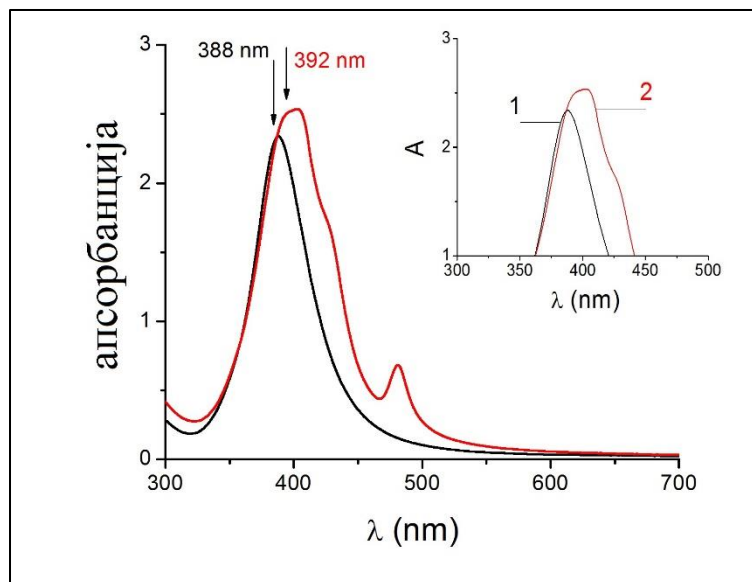
Слика 45: Апсорпциони спектри образовања J-агрегата у зависности од концентрације колоида AgNP_6 ($0.12\text{-}5 \times 10^{-8} \text{ M}$) при константној концентрацији TC боје ($1.67 \times 10^{-5} \text{ M}$); Додатак: Зависност апсорбанце на 481 nm од концентрације AgNP_6 .

J-агрегати формирани на површини AgNP₆ честица нису постојани, са временом се распадају, односно, што је концентрација колоида већа, то је стабилност J-агрегата мања (слика 46, додаток). Снимањем апсорпционог спектра у одређеном временском интервалу, може се видети да са опадањем пика J-агрегата расте пик ТС боје који потиче од мономера боје, што указује на то да су мономери претежно били у J-агрегату.



Слика 46: Апсорпциони спектар смеше колоидне дисперзије AgNP₆ (1×10^{-8} M) и ТС боје (1.6×10^{-5} M) у току времена; Додатак: Стабилност J-агрегата са временом за различите концентрације честица AgNP₆, 1 - 1×10^{-8} M, 2 - 2.5×10^{-8} M, 3 - 5×10^{-8} M.

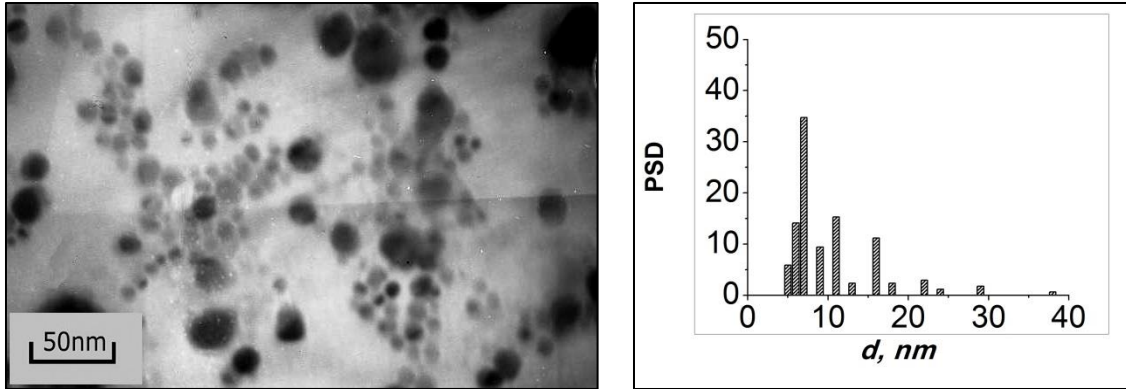
У току посматраног временског периода раствори смеша остају бистри, без доказа да долази до таложења. Међутим, ако се посматра трака површинског плазмона на 388 nm (слика 47) јасно се види да долази до ширења траке као и померања његовог максимума (4 nm) ка црвеном делу спектра што указује на агломерацију наночестица.



Слика 47: Апсорпциони спектар колоида AgNP_6 концентрације 2.5×10^{-8} М (линија 1, додатак) и колоида у присуству ТС боје концентрације 1.6×10^{-5} М (линија 2, додатак).

4.3.1.2 TEM мерења

ТЕМ микрограф AgNP_6 честица у присуству ТС боје, као и одговарајући хистограм расподеле честица по величини дати су на слици 48. Примећује се да додатком раствора ТС боје раствору колоида AgNP_6 долази до груписања и агломерације честица. Такође се види да је дистрибуција величина честица AgNP_6 у присуству ТС боје доста шира у односу на дисперзију AgNP_6 без присуства ТС боје (слика 25 б)). Може се закључити да је услед интеракције молекула боје и површине наночестица сребра дошло до повезивања једног броја наночестица услед чега су настали већи агломерати, али да је просечна величина честица остала 6 nm.



a)

б)

Слика 48: TEM микрографија колоидне дисперзије AgNP₆ по додатку ТС боје (а), и одговарајући хистограм расподеле честица по величини (б).

4.3.1.3 DLS мерења и зета потенцијал

Резултати DLS мерења такође су показали веће вредности величина честица сребра након додавања ТС боје. График дистрибуције честица у присуству ТС боје дат је у прилогу (слика 95). Са графика се може видети да су пикови доста проширени, што указује на широку дистрибуцију величине честица. Као што је већ речено, средња величина честица AgNP₆ одређена DLS методом износи 32 ± 4 nm. Додатком раствора ТС боје у раствор AgNP₆ и мерењем величине честица нађено је да она износи 39 ± 6 . Повећање пречника честица је настало услед формирања додатног слоја око честица, који чине молекули ТС боје а за које је апсорпционим спектрима утврђено да формирају J-агрегате на површини наночестица сребра. У табели 6 су дати резултати DLS мерења колоидне дисперзије AgNP₆ у присуству ТС боје.

Табела 6: Средње вредности пречника наночестица AgNP₆ у присуству ТС боје одређене DLS мерењима.

Бр. снимања	d (nm)	PDI	Пик 1 средњи интенз. d (nm)	Пик 2 средњи интенз. d (nm)	Пик 3 средњи интенз. d (nm))	Пик 1 површи на интенз. (%)	Пик 2 површи на интенз. (%)	Пик 3 површи на интенз. (%)
1	51,04	0,395	29,21	133,3	5209	48,7	44,6	3,9
2	36,20	0,633	95,51	19,3	4587	62,6	32,2	5,3
3	38,98	0,612	103,1	19,2	4576	60,2	29,7	6,1
4	36,25	0,550	76,17	4690	1,82	95,7	2,3	2,0
5	34,43	0,525	77,65	3,684	4322	94,0	4,5	1,5
Средња вредност	39,38	0,543	76,33	973,2	3739	74,2	22,7	3,8

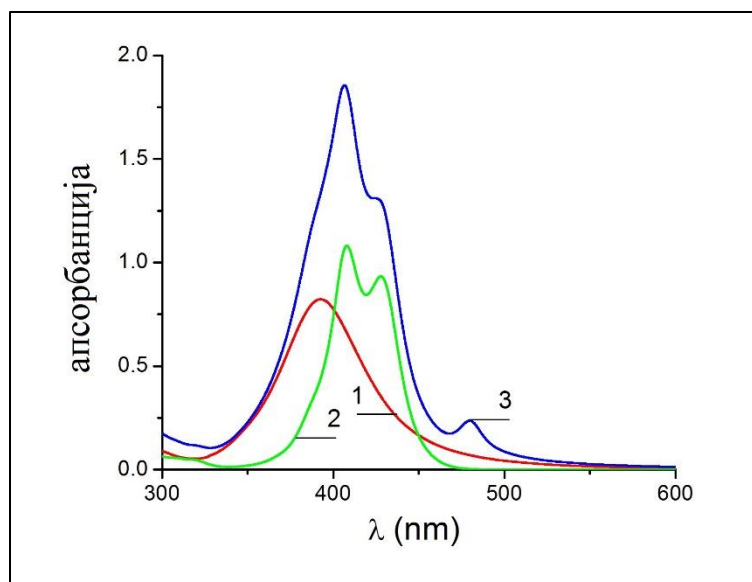
За поређење вредности зета потенцијала треба узети апсолутне вредности, јер предзнак показује да ли је површина честице позитивно или негативно наелектрисана. Тако вредност зета потенцијала наночестица сребра на чијој су површини J-агрегати износи – (37.6) mV, и та вредност је заправо мања од вредности зета потенцијала самих наночестица, која износи –(43.2) mV. Смањење апсолутне вредности зета потенцијала указује на смањење стабилности колоидне дисперзије, што је у складу са апсорпционим спектрима и ТЕМ мерењима.

На основу наведених мерења можемо закључити да услед интеракције наночестица сребра сферног облика, величине 6 nm, са адсорбованим боратним јонима, и молекула ТС боје долази до формирања J-агрегата на површини честица и да формирану J-агрегати нису стабилни. Такође услед интеракције ових наночестица и боје, смањује се стабилност колоидне дисперзије AgNP₆.

4.3.2 J-агрегација молекула ТС боје на површини сферних наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима

4.3.2.1 Апсорпциони спектри

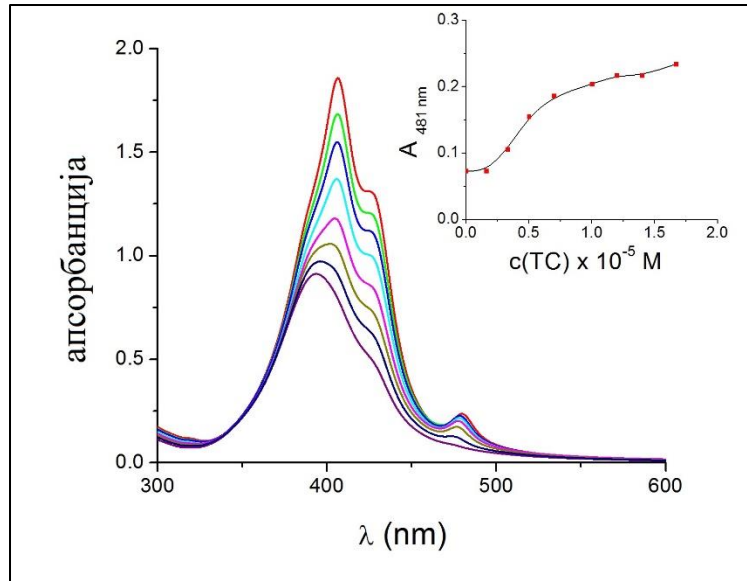
J-агрегација ТС боје на површини сферних наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима, AgNP₁₀, испитана је снимањем апсорпционих спектра. На слици 49 представљени су апсорпциони спектри колоида AgNP₁₀ (линија 1), ТС боје (линија 2) и њихове смеше (линија 3), концентрација честица AgNP₁₀ је 2.17×10^{-9} М, а боје 1.67×10^{-5} М. Као и у претходном случају, AgNP₆ честица, апсорпциони спектар смеше колоида и ТС боје садржи пик са максимумом на 481 nm који је карактеристичан за J-агрегате као и апсорпционе максимуме на 428 nm и 409 nm који потичу од мономера и димера боје. Услед преклапања апсорпционих спектра колоида и ТС боје, као и због мале концентрације честица AgNP₁₀ у односу на концентрацију боје, пик површинског плазмона на 395 nm покривен је пиковима боје. Треба истаћи да је у случају AgNP₁₀ честица KCl додат у већој концентрацији од оне која је већ била присутна у раствору ТС боје, да би се потпомогла J-агрегација.



Слика 49: Апсорпциони спектри колоида AgNP_{10} концентрације 2.17×10^{-9} M (1), ТС боје концентрације 1.67×10^{-5} M (2) и њихове смеше уз присуство KCl концентрације 2×10^{-3} M (3).

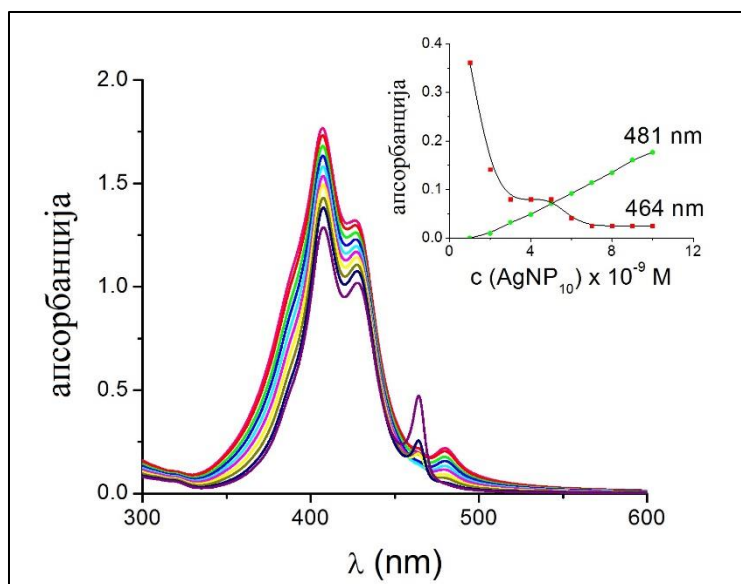
Колоидна дисперзија AgNP_{10} у присуству боје је стабилна, и након недељу дана нема видљивих промена у апсорпционом спектру.

J-агрегација ТС боје у присуству ових наночестица испитана је у зависности од концентрације ТС боје и колоида AgNP_{10} , као и од концентрације KCl, који је додат у раствор да би потпомогао J-агрегацију. Апсорпциони спектри формирања J-агрегата у зависности од концентрације ТС боје, при константној концентрацији колоида AgNP_{10} приказани су на слици 50. Резултати показују, да интензитет траке J-агрегата расте са повећањем концентрације боје, додатак слике 50, достижући заравњење, одакле се може одредити број молекула ТС боје по AgNP_{10} .



Слика 50: Формирање J-агрегата у зависности од концентрације ТС боје ($0.16 - 1.67 \times 10^{-5}$ M) при константној концентрацији AgNP_{10} (2.17×10^{-9} M) уз присуство KCl (2×10^{-3} M); Додатак: Промена апсорбанце на 481 nm.

Апсорпциони спектри формирања J-агрегата у зависности од концентрације колоида AgNP_{10} , при константној концентрацији ТС боје дати су на слици 51. У овом случају може се видети да је у раствору боје присутна и трака са максимумом на 464 nm, карактеристична за J-агрегацију ТС боје у раствору, који су се формирали услед присуства KCl у већој концентрацији.

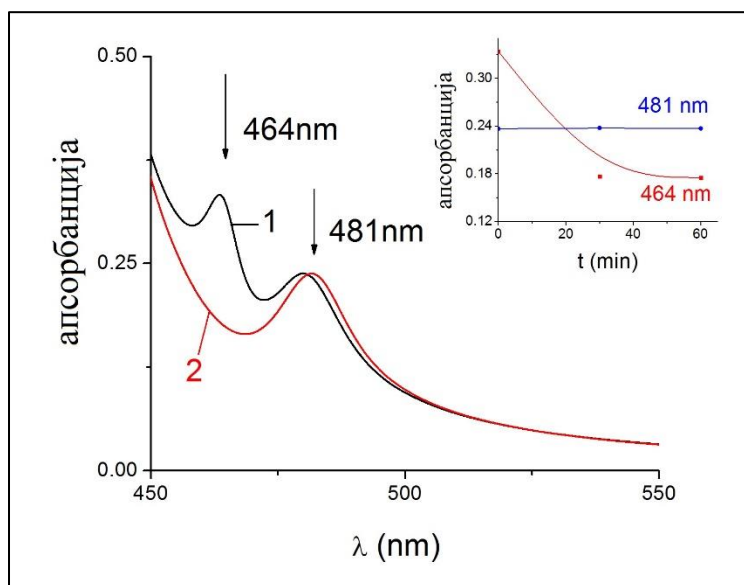


Слика 51: Формирање J-агрегата у зависности од концентрације AgNP_{10} ($0.33\text{--}2.17 \times 10^{-9}$ M) при константној концентрацији ТС боје (1.66×10^{-5} M) уз присуство KCl (2×10^{-3} M); Додатак: Зависност апсорбанце на 464 nm и 481 nm.

Јасно се види, да апсорпциони спектри смеше колоида AgNP_{10} и ТС боје, уз присуство 2×10^{-3} M KCl , поред апсорпционих трака које потичу од мономера и димера боје, садрже и апсорпционе максимуме на 464 nm и 481 nm (слика 51). Апсорпциони максимум на 464 nm потиче од формираних J-агрегата у раствору, услед присуства веће концентрације јона метала, односно додатком KCl [60, 67, 131, 200]. Међутим, пик на 464 nm опада додатком колоида AgNP_{10} , при већим концентрацијама наночестица потпуно нестаје, док се интензитет пика на 481 nm, који потиче од J-агрегата формираних на површини наночестица сребра, повећава (слика 51, додатак). На основу ових резултата може се закључити да су J-агрегати на површини наночестица стабилнији од агрегата у раствору.

Ако се промене у апсорпционом спектру на 464 nm и 481 nm прате у временском интервалу, може се видети да су у тренутку мешања раствора ТС боје, који садржи J-агрегате формиране у раствору, и колоида AgNP_{10} , присутна оба пика, што значи да се у смеси налазе обе врсте агрегата. Међутим пик са максимумом на 464 nm након 30 минута нестаје. Ове промене приказане су на слици 52, где се такође може видети да је

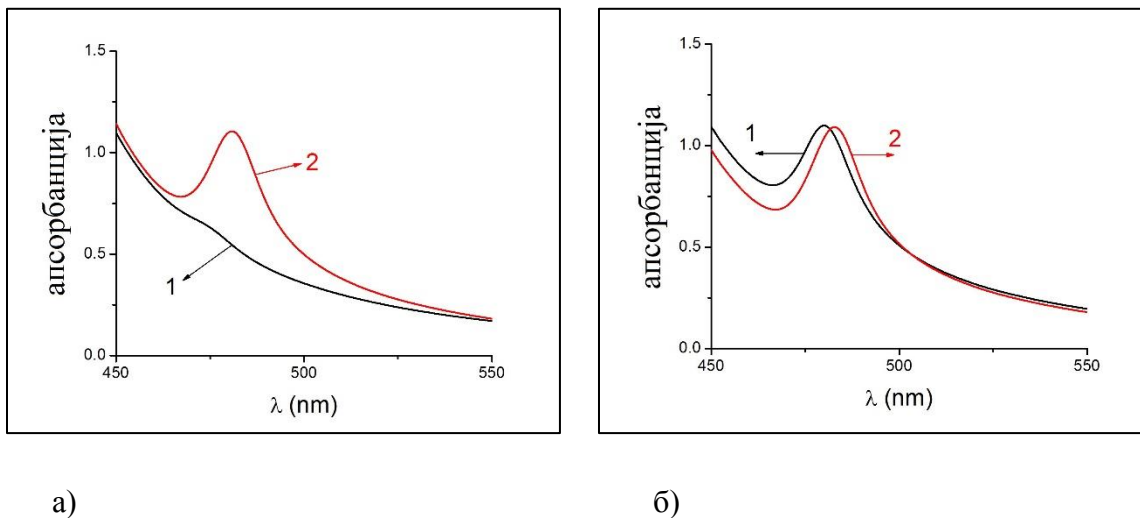
апсорпциони максимум који потиче од J-агрегата формираних на површини наночестице сребра померен за око 1 nm. Положај апсорпционог максимума J-агрегата зависи од односа унутрашњег и спољашњег радијуса хибридне наночестице састава AgNP/ТС [88]. До померања апсорпционог максимума је дошло услед повећања дебљине омотача ТС боје око наночестице.



Слика 52: Апсорпциони спектар колоидне дисперзије AgNP₁₀ (2.17×10^{-9} M) у присуству ТС боје (1.66×10^{-5} M) и KCl (2×10^{-3} M) одмах по мешању раствора (линија 1), и након 30 минута (линија 2); Додатак: Промена апсорбанце на 481 nm и 464 nm са временом.

Испитан је и утицај концентрације KCl на формирање J-агрегата на површини наночестица AgNP₁₀, при чему су концентрације честица AgNP₁₀ и раствора ТС боје биле 1×10^{-8} M и 1×10^{-5} M. На слици 53 представљени су апсорпциони спектри смеше колоида AgNP₁₀ и ТС боје, у присуству KCl концентрација 3×10^{-4} M и 2×10^{-3} M, у области где се налази апсорпциони максимум J-агрегата формираних на површини наночестице сребра. У тренутку мешања раствора јасно се види да је у присуству веће концентрације KCl одмах дошло до формирања J-агрегата (слика 53 б), док је при мањој концентрацији KCl пик једва видљив (слика 53а). Снимањем апсорпционих спектра датих раствора након 24 часа пикови J-агрегата су истог положаја и интензитета, стога можемо закључити да KCl утиче

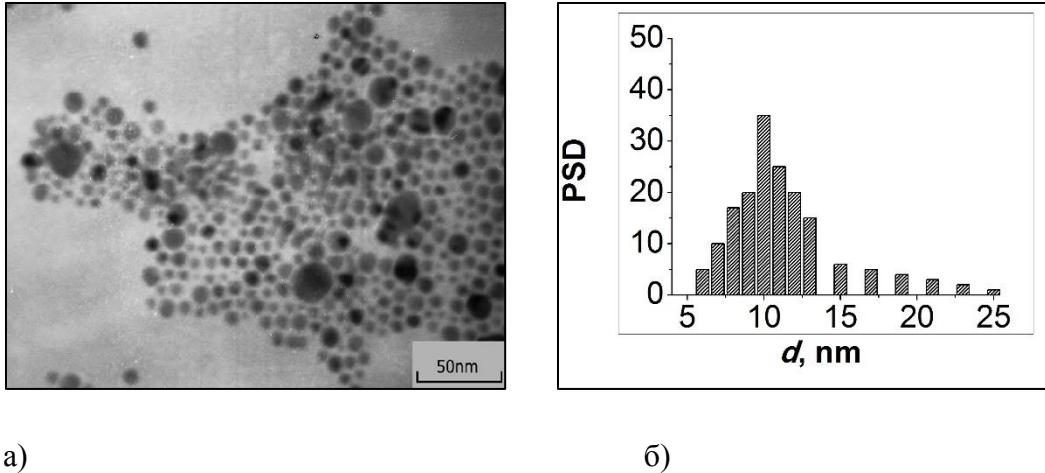
на брзину формирања J-агрегата на површини AgNP₁₀ али не и на крајњу концентрацију J-агрегата. У току 24 сата положај максимума пика J-агрегата, слика 53 б), се помера за 1 – 2 nm услед повећања дебљине омотача ТС боје око наночестице.



Слика 53: Апсорпциони спектри J-агрегата у присуству 3×10^{-4} М КСI (а) и 2×10^{-3} М КСI (б) у тренутку мешања раствора (линија 1) и након 24 сата (линија 2).

4.3.2.2 ТЕМ мерења

Интеракција ТС боје и AgNP₁₀ даље је испитана ТЕМ мерењима. Додатак раствора ТС боје у раствор колоида AgNP₁₀ доводи до груписања наночестица. Мали део честица је агломерисао, али величина честица је претежно 10 nm, колико износи и просечна величина честица без присуства ТС боје. Одговарајући ТЕМ микрограф и дистрибуција раствора смеше колоида AgNP₁₀ и ТС боје дати су на слици 54.



Слика 54: TEM микрографија колоидне дисперзије AgNP₁₀ по додатку ТС боје (а), и одговарајући хистограм расподеле честица по величини (б).

4.3.2.3 DLS мерења и зета потенцијал

Просечна величина честица колоидне дисперзије AgNP₁₀ у присуству ТС боје одређена DLS мерењима је 57 ± 4 nm. Добијена вредност је већа у односу на величину честица без присуства боје, што значи да је добијена вредност величине честица са молекулима ТС боје, односно J-агрегатима на њиховим површинама. Индекс полидисперзности смеше AgNP₁₀ и боје, 0.693 ± 0.149 , указује на широку дистрибуцију величине честица. Графици дистрибуције честица по интензитету расејане светлости и дистрибуције по запремини, дати су у прилогу. Резултати DLS мерења колоидне дисперзије AgNP₁₀ концентрације 2.17×10^{-9} M у присуству ТС боје концентрације 1×10^{-5} M дати су у табели 7.

Табела 7: Средње вредности пречника наночестица AgNP₁₀ у присуству ТС боје одређене DLS мерењима.

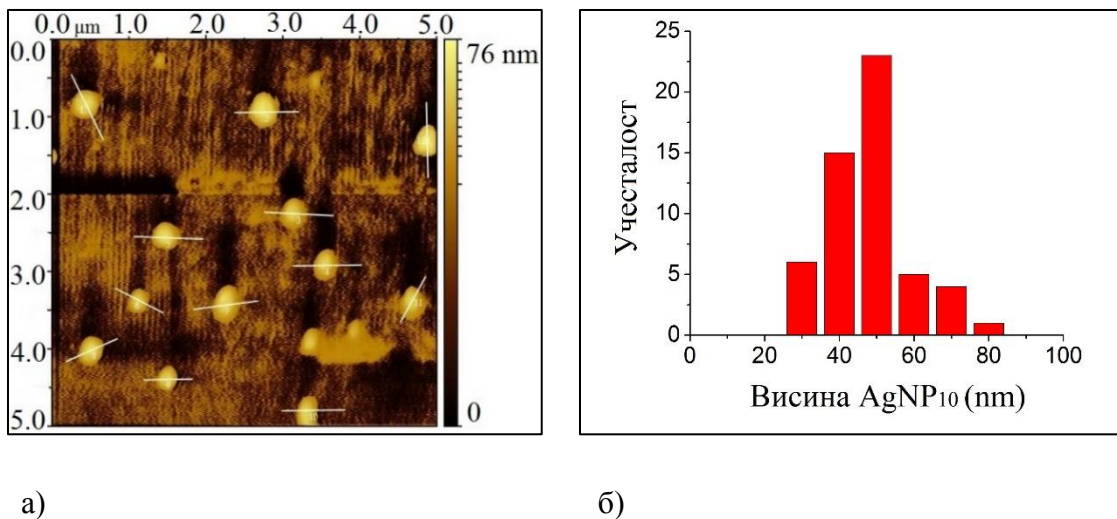
Бр. снимања	d (nm)	PDI	Пик 1 средњи интенз. d (nm)	Пик 2 средњи интенз. d (nm)	Пик 3 средњи интенз. d (nm))	Пик 1 површи на интенз. (%)	Пик 2 површи на интенз. (%)	Пик 3 површи на интенз. (%)
1	54,10	0,466	100,2	7,9	4466	86,1	9,7	4,1
2	53,45	0,715	117,0	8,6	4463	85,4	9,4	5,3
3	56,98	0,775	134,9	8,7	3924	83,6	9,1	7,3
4	65,01	0,649	126,6	4287	7,5	84,5	8,6	6,8
5	55,43	0,861	218,9	45,33	7,6	55,6	34,4	7,8
Средња вредност	56,99	0,693	193,5	973,2	2574	79,0	14,2	6,3

Вредност зета потенцијала колоидне дисперзије AgNP₁₀ у присуству ТС боје износи $-(38.3) \text{ mV}$. Поређење апсолутних вредности зета потенцијала, колоидне дисперзије AgNP₁₀ без присуства $-(23.3) \text{ mV}$, и у присуству ТС боје указује на већу стабилност колоидне дисперзије у присуству ТС боје, што је и у складу са спектрофотометријским мерењима. Такође, проводљивост колоидне дисперзије (табела 5) у присуству ТС боје расте, износи $0.113 \mu\text{S cm}^{-1}$, највероватније услед замене цитратних јона на површини наночестице сребра молекулима боје.

4.3.2.4 AFM мерења

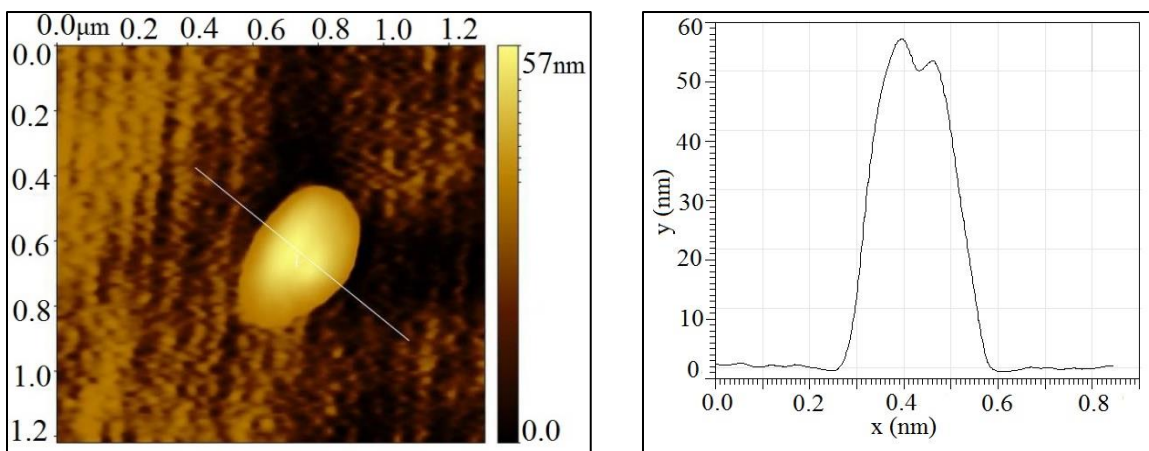
Колоидна дисперзија AgNP₁₀ у присуству ТС боје испитана је AFM мерењима. Са топографије, слика 55 а, може се видети да су честице сферног облика, као и без ТС боје на површини, али имају већи пречник у односу на величину честица без присуства ТС боје. Средња вредност величине AgNP₁₀ у присуству ТС боје је $50 \pm 5 \text{ nm}$, вредност је већа у

односу на величину одређену TEM мерењима, што је и очекивано јер је AFM мерењима одређена величина са омотачем боје око честице, док се на TEM-у не могу видети молекули ТС боје. Величина честица у присуству боје се доста добро слаже са величином одређеном DLS мерењима.



Слика 55: Топографија AgNP₁₀ у присуству ТС боје (а) са одговарајућом расподелом величине честица (б).

Наночестица сребра са омотачем боје на њеној површини, приказана је и у високој резолуцији заједно са профилном, слика 56. Представљена наночестица са омотачем ТС боје има пречник приближно 60 nm.



а)

б)

Слика 56: Наночестица AgNP_{10} у присуству ТС боје у високој резолуцији (а) и њен профил (б).

На основу наведених резултата, можемо рећи да молекули ТС боје формирају J-агрегате на површини наночестица сребра сферног облика, величине 10 nm, са адсорбованим цитратним јонима. J-агрегати на површини ових честица су стабилни дужи временски период. Такође, и колоидна дисперзија AgNP_{10} је стабилнија у присуству раствора ТС боје. Приликом испитивања J-агрегације боје на површини AgNP_{10} честица нађено је да је формирање J-агрегата брже у присуству већих концентрација KCl , али да концентрација KCl не утиче на крајњу количину формираних J-агрегата. Услед присуства веће концентрације јона K^+ формирали су се J-агрегати ТС боје у раствору, и ти агрегати су нестабилни у присуству наночестица сребра.

4.3.3 J-агрегација молекула ТС боје на површини наноштапића сребра са адсорбованим СТАВ јонима

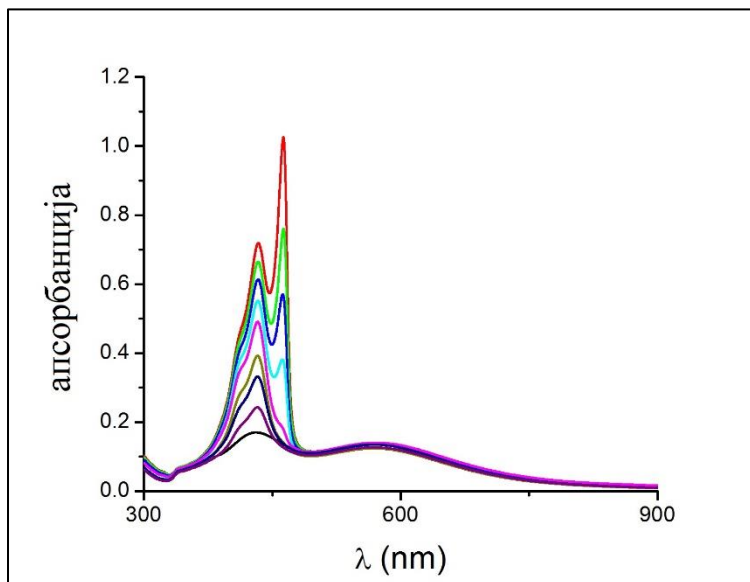
J-агрегација цијанинских боја у присуству сферних наночестица метала је тема многих истраживања, као што је речно на почетку овог рада. Међутим мали је број студија које су испитивале J-агрегацију у присуству наночестица метала штапићастог облика. J-

агрегација неких цијанинских боја испитна је у присуству наноштапића злата [211-214] и наноштапића сребра [215], где су J-агрегати, у наведеним истраживањима, окарактерисани појавом минимума у апсорпционим спектрима.

У нашем раду испитали смо J-агрегацију ТС боје на површини наноштапића сребра са адсорбованим молекулима СТАВ.

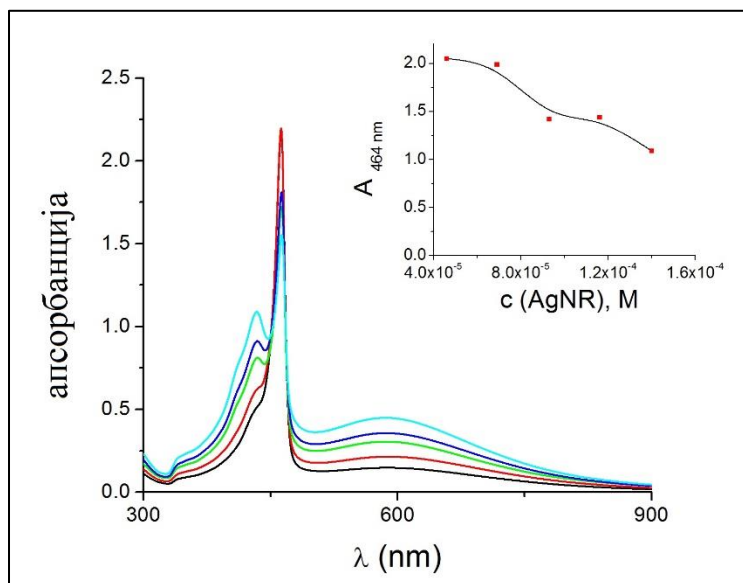
4.3.3.1 Апсорпциони спектри

Интеракција ТС боје и AgNRs испитана је спектрофотометријским мерењима, при чему су изведене две серије експеримената. У првој серији експеримената концентрација AgNRs је била константна, док је концентрација ТС боје мењана у опсегу од $0.16 - 1.66 \times 10^{-5}$ М. Апсорпциони спектри приказани су на слици 57.



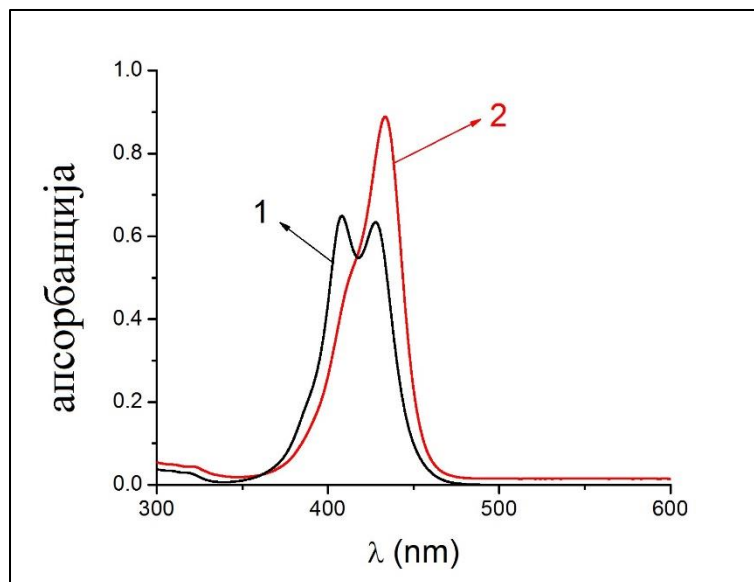
Слика 57: Апсорпциони спектри формирања J-агрегата у зависности од концентрације ТС боје ($0.16-1.67 \times 10^{-5}$ М) при константној концентрацији колоида AgNRs (4.6×10^{-5} М јона Ag^+).

У другој серији експеримената концентрација ТС боје је била константна 1.66×10^{-5} М док је концентрација јона Ag^+ у колоиду AgNRs била у опсегу $0.4 - 1.4 \times 10^{-4}$ М, апсорпциони спектри приказани су на слици 58.



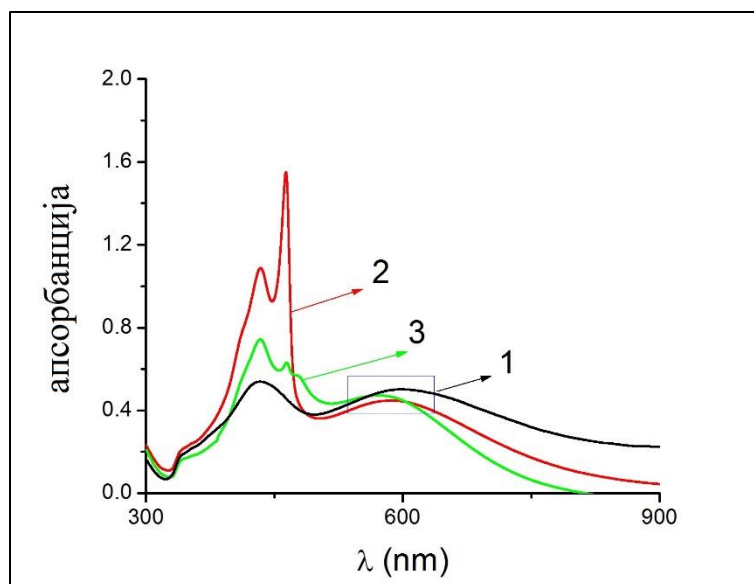
Слика 58: Апсорпциони спектри формирања J-агрегата у зависности од концентрације колоида AgNRs ($0.4 - 1.4 \times 10^{-4}$ М Ag^+) при константној концентрацији ТС боје (1.66×10^{-5} М); Додатак: Зависност формирања J-агрегата при различитим концентрацијама колоида AgNRs.

У оба случаја је присутна апсорпциона трака са максимумом на 464 nm, што одговара J-агрегатима који су формирану у раствору. Из апсорпционих спектра види се да повећањем концентрације ТС боје расте и интензитет пика на 464 nm, док повећањем концентрације колоида AgNRs интензитет истог пика опада. Пошто се на површини AgNRs налазе јони СТАВ, а познато је да површински активне супстанце узрокују J-агрегацију цијанинских боја [216], испитали смо интеракцију цетилтриметил-амонијум бромид са ТС бојом да би испитали да ли је до формирања J-агрегата у раствору дошло услед присуства јона СТАВ. Апсорпциони спектар ТС боје без и у присуству СТАВ јона дат је на слици 59.



Слика 59: Апсорпциони спектар ТС боје концентрације 1.6×10^{-5} М (1) и у присуству СТАВ-а концентрације 2.6×10^{-2} М (2)

Са слике 59 се може видети да није дошло до формирања J-агрегата у раствору услед присуства јона СТАВ-а, шта више у присуству СТАВ-а у раствору преовладава мономер боје. С обзиром да је познато да услед присуства јона метала долази до формирања J-агрегата у раствору [60], а приликом синтезе AgNRs додаван је 1 М NaOH, можемо закључити да је услед велике концентрације јона Na^+ првобитно дошло до формирања J-агрегата у раствору. Апсорпциони спектар колоидне дисперзије AgNRs у присуству ТС боје снимљен је и након 24 сата, слика 60.



Слика 60: Апсорпциони спектри колоида AgNRs (1.4×10^{-4} M Ag⁺) (1), смеше колоида AgNRs и 1.66×10^{-5} M TC боје након мешања (2) и смеше након 24 часа (3).

Могу се видети значајне промене у спектру након 24 часа, интензитет апсорпционог пика на 464 nm је опао, док се појавио пик на 481 nm указујући на то да је дошло до разградње J-агрегата у раствору и формирања J-агрегата на површини честица AgNRs. Слични резултати добијени су у случају сферних наночестица са адсорбованим цитратним јонима, где је присуство наночестица дестабилизовало J-агрегате који су формирани у раствору услед присуства веће концентрације јона K⁺. Такође апсорпциони пик који потиче од осцилације површинског плазмона дуж осе је померен за око 30 nm ка нижим таласним дужинама (на слици 60 означено правоугаоником) што указује на то да се услед интеракције наноштапића и TC боје, временом, дужина AgNRs смањује.

4.3.3.2 DLS мерења и зета потенцијал

Вредности DLS мерења смеше колоида AgNRs и ТС боје показују да је дужина, а и дебљина наноштапића мања у односу на саме AgNRs. Дужина штапића је 102 ± 6 nm, а дебљина 14 ± 1 nm. DLS графици су дати у прилогу, а резултати мерења дати су у табели 8.

Табела 8: Средња вредност дужине и дебљине наноштапића у присуству ТС боје.

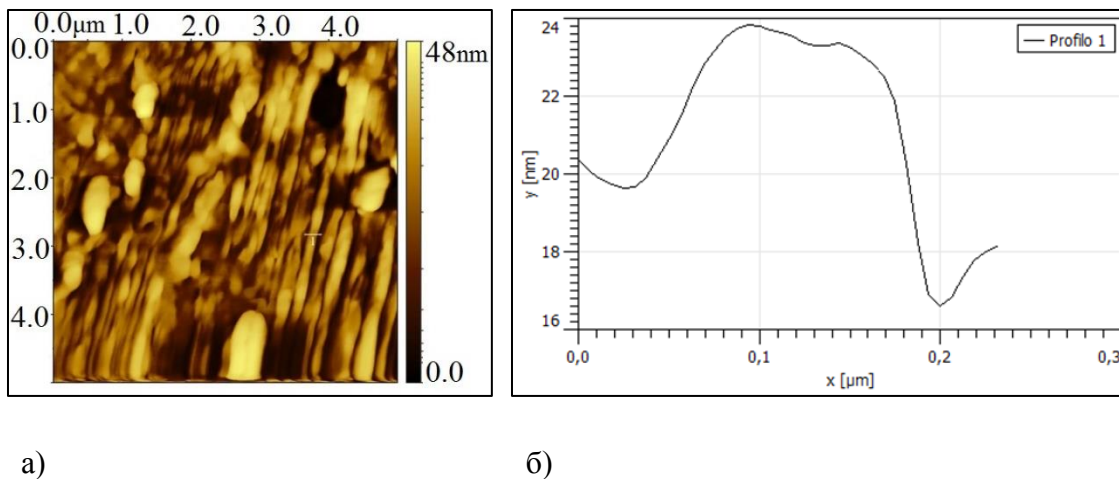
Бр. снимања	PDI	Пик 1 средњи интенз. d (nm)	Пик 2 средњи интенз. d (nm)	Пик 1 површи на интенз. (%)	Пик 2 површи на интенз. (%)
1	0,466	92,62	13,49	85,6	14,4
2	0,486	103,2	14,26	87,2	12,8
3	0,485	103,2	13,30	88,5	11,5
4	0,447	110,1	14,93	86,8	13,2
5	0,431	99,99	13,06	87,6	12,4
Средња вредност	0,459	101,8	13,81	87,1	12,9

Мерењем зета потенцијала смеше колоидне дисперзије AgNRs и ТС боје добија се вредност $+(35.7)$ mV која је већа у односу на вредност саме колоидне дисперзије AgNRs $+(24.4)$ mV), што указује на већу стабилност колоидне дисперзије AgNRs у присуству ТС боје. Проводљивост колоидне дисперзије наноштапића (табела 5) у присуству ТС боје расте, износи $1.183 \mu\text{S cm}^{-1}$, услед замене јона СТАВ-а молекулима ТС боје.

4.3.3.3 AFM мерења

Колоидна дисперзија AgNRs у присуству ТС боје испитана је и микроскопијом атомских сила. AFM топографија и профил наночестица у присуству ТС боје дати су на

слици 61. Са топографије се може видети да су поред штапићастих облика присутни и други облици, могуће сфере или дискови. Анализом профила самих честица AgNRs са профилном честица AgNRs у присуству боје, може се видети да је величина честица дуж краће осе штапића мања, пре је износила око 20 nm , а сада је око 5-8 nm.



Слика 61: АФМ топографија наноштапића (а) и профил (б) у присуству ТС боје.

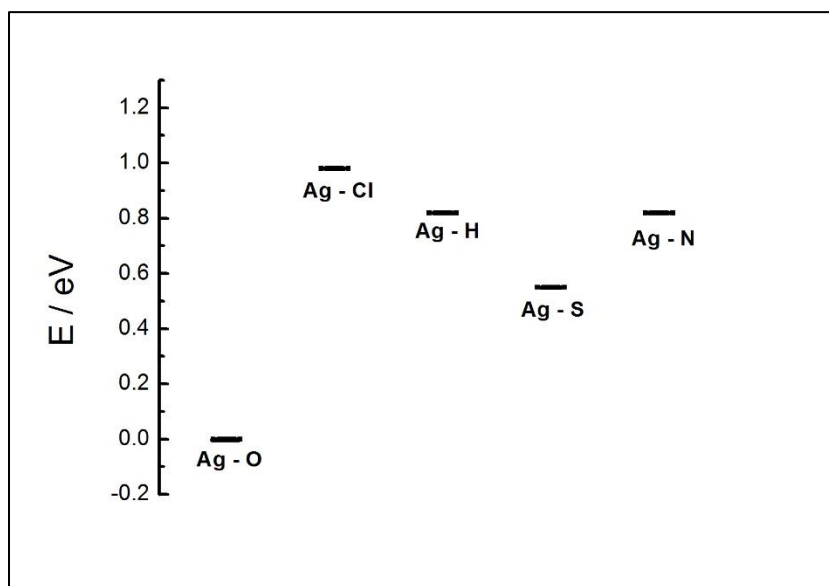
Испитивањем интеракције молекула ТС боје и наноштапића сребра, са адсорбованим молекулима СТАВ-а на њиховој површини, нађено је да долази до формирања J-агрегата боје. Формирање J-агрегата на површини ових честица је спорије у односу на формирање J-агрегата на површини честица AgNP₆ и AgNP₁₀. Услед интеракције ТС боје и наноштапића сребра долази до промена у дебљини и дужини штапића. Присуство јона Na⁺ у већој количини у колоидној дисперзији AgNRs довело је до формирања и J-агрегата боје у раствору.

4.3.4 Теорија функционала густине (DFT) – теоријска израчунавања

Разматрајући како се молекул ТС боје везује за површину наночестице сребра, узимајући у обзир претходно предложене моделе [110, 111], два општа модела адсорпције молекула ТС боје су могућа: 1) интеракција молекула ТС боје преко парцијално негативне

SO_3^- групе; и 2) интеракција молекула ТС боје преко парцијално позитивног тиазолног прстена. Да би добили детаљнији увид како се молекул ТС боје адсорбује на површину наночестице сребра, изведена су теоријска израчунавања применом DFT методе. За ова израчунавања узет је пример интеракције молекула ТС боје са наночестицом сребра са адсорбованим цитратним јонима.

Геометрија молекула ТС боје оптимизована DFT израчунавањима (слика 24 б), поглавље 3.2), указује да је молекул ТС боје претежно планаран, што је у сагласности са претходно добијеним резултатима [217]. Узимајући у обзир негативно наелектрисање кисеоника из SO_3^- групе који досеже даље од главне молекулске равни и одбојне интеракције са цитратним анјонима који су на површини наночестице сребра, да би молекул ТС боје остао планаран, адсорпциони модел 2) има мању вероватноћу да буде реализован. Како би добили што јаснију слику у то шта се дешава, теоријским прорачуном испитана је интеракција атома који чине молекул ТС боје и једног атома Ag који је узет као модел за површину наночестице сребра. Енергије везивања између структурних атома ТС молекула и атома Ag дате су на слици 62.



Слика 62: Релативне енергије интеракције атома Ag са структурним атомима молекула ТС боје.

Добијени резултати указују на то да парцијално негативан кисеоник из SO_3^- групе има најјачу интеракцију са атомом Ag. Можемо закључити да је, са термодинамичке стране, најповољнија интеракција између површине наночестице сребра и атома кисеоника из SO_3^- групе. Слични резултати добијени су за претходне DFT студије адсорпције органских молекула на површини полупроводника [218]. Овакав начин адсорпције дозвољава молекулима ТС боје да заузму косу геометрију.

Да би објаснили како парцијално негативна SO_3^- група превазилази електростатичку баријеру наметнуту од стране цитратних анјона, који су чврсто везани за површину наночестице сребра, постављен је прецизнији модел којим је површина наночестице сребра представљена као Ag кластер који се састоји од 18 атома Ag. У табели 9 дате су вредности енергија адсорпције цитратних и ТС анјона. Израчунате су и енергије адсорпције за боратне анјоне, који се такође могу наћи на површини наночестице сребра. Узете су две највероватније могуће врсте адсорбованих бората, BO_3^{3-} и B(OH)_4^- .

Табела 9: Адсорпционе енергије анјонских врста на површини 18-атомног Ag кластера.

Врста анјона	ТС боја	цитрати	BO_3^{3-}	B(OH)_4^-
$E_{\text{ads}} / \text{eV}$	-2.48	-7.94	-3.43	-1.74

Анјони B(OH)_4^- и ТС су најслабије везани за површину наночестице сребра. За наночестице сребра са адсорбованим цитратним јонима, нађено је да присуство K^+ јона у већој концентрацији омогућује J-агрегацију молекула ТС боје на површини наночестице. Узимајући у обзир ту чињеницу, моделован је систем у којем је додато и присуство јона K^+ . Адсорпционе енергије су тада израчунате као разлика између адсорбованих цитрата у присуству K^+ јона, и збира субстрата и оптимизоване калијум цитратне соли. Енергије за модел који укључује K^+ јоне и њихову интеракцију са адсорбованим цитратним анјонима дате су у табели 10.

Табела 10: Енергије могућих интеракција јона K^+ са анјонима цитрата и ТС. Као модел узет је и хидратисани јон K^+ .

	Тип реакције	Реакција	Енергија / eV
1	Дехидратација	$K(H_2O)_6^+ \rightarrow K^+ + 6H_2O$	+1.54
2	Дехидратација	$2K(H_2O)_6^+ \rightarrow 2K^+ + 12H_2O$	+3.08
3	Адиција	$K + Cyt^* \rightarrow K^*-Cyt^*$	-2.71
4	Адиција	$2K^+ + Cyt^* \rightarrow K_2^*-Cyt^*$	-2.81
5	Адиција	$3K^+ + Cyt^* \rightarrow K_3^*-Cyt^*$	-1.48
6	Адиција	$K^+ + TC^*$	+6.44
7	Супституција	$K-Cyt^* + TC \rightarrow TC^* + K-Cyt$	+0.87

*адсорбоване врсте

Енергије реакција: реакција (1) - $\Delta E = +1.54 \text{ eV}$
 реакција (3) - $\Delta E = -2.71 \text{ eV}$
 реакција (7) - $\Delta E = +0.87 \text{ eV}$

Укупна енергија: -0.30 eV

Енергије реакција: реакција (2) - $\Delta E = +3.08 \text{ eV}$
 реакција (4) - $\Delta E = -2.81 \text{ eV}$
 реакција (7) - $\Delta E = +0.87 \text{ eV}$

Укупна енергија: -0.52 eV

Добијени резултати показују да привлачне интеракције између јона K^+ и јона цитрата омогућују да се најмање један јон K^+ уклони из хидратационе сфере и веже за цитратни јон који је адсорбован на површини наночестице сребра. Интеракција између адсорбованих молекула ТС боје и јона K^+ није енергетски повољна и износи 6.44 eV, тако да јони K^+ не утичу на адсорпцију молекула ТС боје на површину наночестице сребра.

Укратко можемо рећи да јони K^+ неминовно слабе адсорпцију цитрата на површини наночестице сребра, и тиме имају битну улогу при адсорпцији молекула ТС боје, тако што делимично неутрализују површину наночестице и слабе везу адсорбованих цитратних јона са површином наночестице, омогућујући замену цитратних јона молекулима ТС боје.

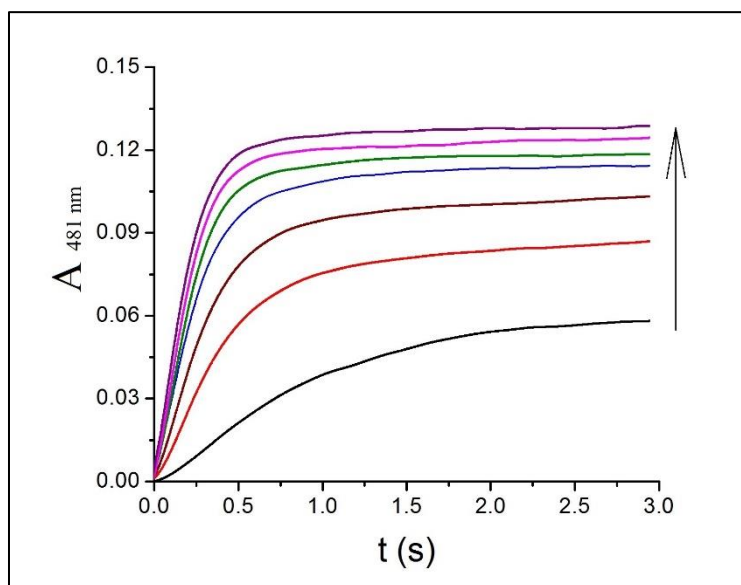
4.4 Кинетика и механизам формирања J-агрегата на површини наночестица сребра

Испитивањем J-агрегације цијанинских боја нађено је да кинетичке криве могу бити сигмоидног типа [59, 60] или несигмоидног типа [61, 64], што зависи од хемијске структуре молекула боје, концентрације боје, рН вредности и температуре. Сигмоидна зависност је карактеристична за аутокаталитичку агрегацију молекула [219], док се несигмоидна зависност разматра у смислу временски зависних константи брзина реакције и експоненцијалном зависношћу [220]. У нашем раду испитали смо кинетику J-агрегације ТС боје на површини $AgNP_6$ и $AgNP_{10}$ честица [221, 222], као и у раствору.

4.4.1 Кинетика формирања J-агрегата на површини наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима

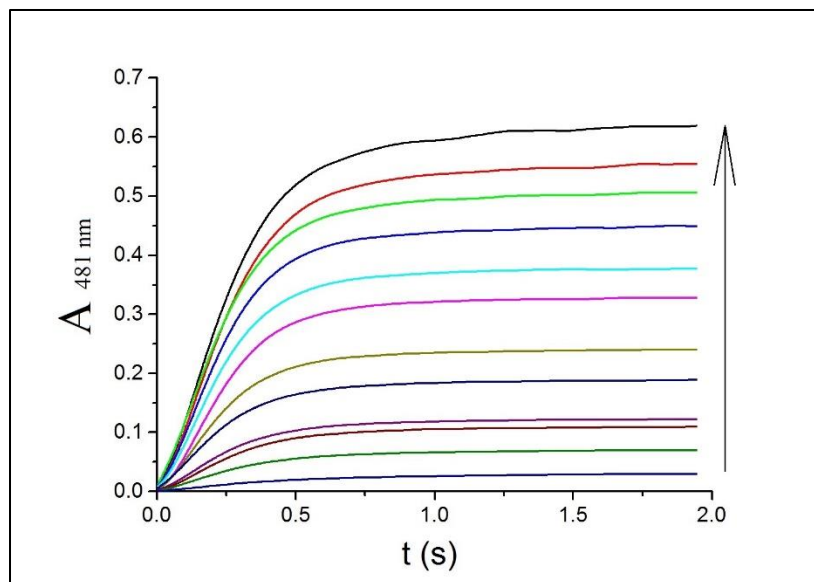
Кинетика формирања J-агрегата ТС боје на површини наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима праћена је променом апсорбанце на 481 nm методом зауставног тока (енг. *Stopped-flow*). Изведене су две серије експеримената при изучавању кинетике формирања J-агрегата боје на површини $AgNP_6$ честица. У првој серији

концентрација честица AgNP_6 држана је константном, 1×10^{-8} М, док је концентрација ТС боје варира од 0.16×10^{-5} М до 1.6×10^{-5} М. Добијене кинетичке криве, представљене на слици 63, су благо сигмоидног облика. Ако поредимо криве за најнижу и највишу концентрацију ТС боје, при константној концентрацији колоида AgNP_6 , може се видети да се са порастом концентрације боје индукциони период скраћује.



Слика 63: Кинетичке криве формирања J-агрегата у присуству колоидне дисперзије AgNP_6 концентрације 1×10^{-8} М, при различитим концентрацијама ТС боје (0.16×10^{-5} М до 1.6×10^{-5} М). Стрелица представља пораст концентрације боје.

У другој серији експеримената концентрација ТС боје је држана константном док је концентрација честица AgNP_6 варира од 0.25×10^{-8} М до 5×10^{-8} М. Добијене кинетичке криве представљене су на слици 64.



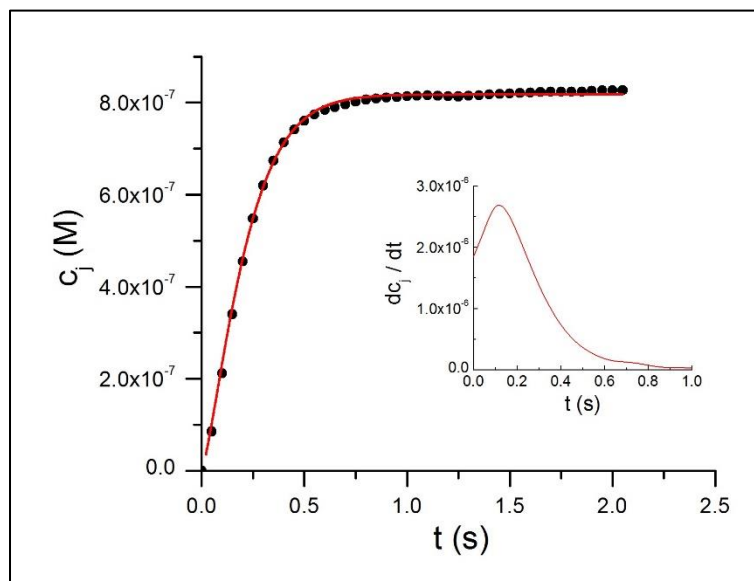
Слика 64: Кинетичке криве формирања J-агрегата при константној концентрацији ТС боје (1×10^{-5} M) и различитим концентрацијама колоидне дисперзије AgNP₆ (0.25×10^{-8} M до 5×10^{-8} M). Стрелица представља пораст концентрације колоидне дисперзије AgNP₆.

Добијене кинетичке криве се најбоље могу описати једначином 36 [147, 219],

$$C_J = C_J^0 + (C_J^{00} - C_J^0)\{1 - \exp(-k_{app}t)^n\} \quad (36)$$

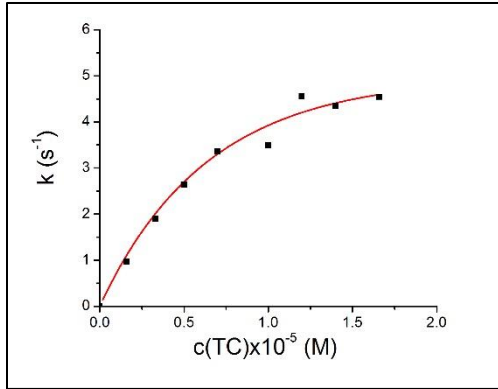
где k_{app} представља константу брзине реакције, C_J^0 – је концентрација J-агрегата на почетку реакције, C_J^{00} – је концентрација J-агрегата по успостављању равнотеже n – представља параметар који описује удео сигмоидног карактера. У случају сигмоидног облика кинетичке криве, карактеристичну величину представља и максимална брзина реакције (V_{max}), која се добија као максимална вредност првог извода кинетичке криве по времену. Концентрација J-агрегата може се лако одредити из кинетичких зависности и познатог молског коефицијента апсорптивности J-агрегата ($1.08 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) одређеног у секцији 4.3.1.1 [221].

Пример примене једначине 36 на фитовања кинетичке криве при концентрацији AgNP₆ 1×10^{-8} M и ТС боје 1.4×10^{-5} M дат је на слици 65. Константа брзине реакције за дату кинетичку криву износи $4.47 \pm 0.09 \text{ s}^{-1}$.

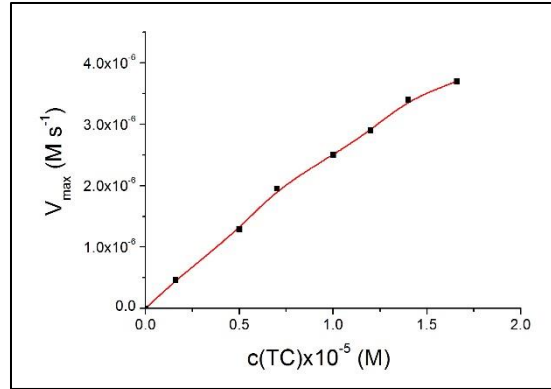


Слика 65: Кинетичка крива фитована једначином 36. Тачке представљају експерименталне податке а црвена линија фит. Додатак: Зависност брзине реакције са временом.

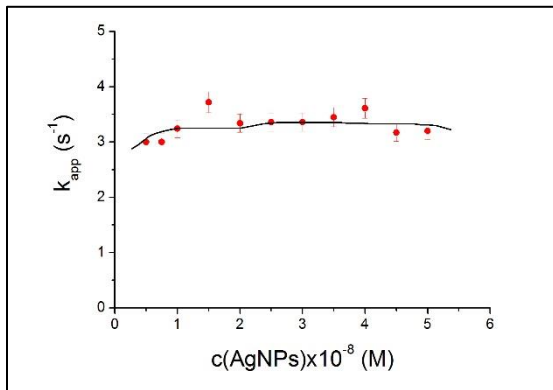
Све кинетичке криве фитоване су једначином 36, а такође је одређена и максимална брзина реакције као максимална вредност првог извода кинетичке криве по времену. Добијене вредности k_{app} и V_{max} представљене су у зависности од концентрације ТС боје слика 66 а) и б) или концентрације наночестица сребра слика 66 в) и г). Параметри добијени фитовањем кинетичких кривих, које су представљене на сликама 63 и 64, дати су у табелама 11 и 12.



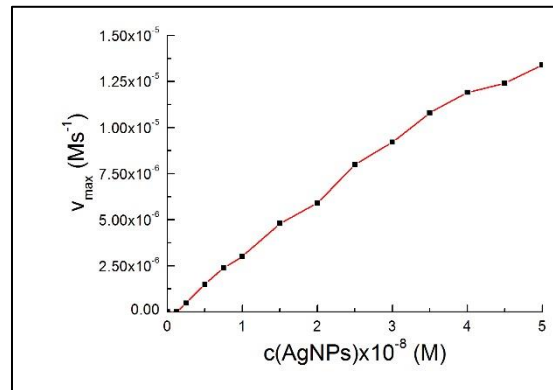
a)



б)



в)



г)

Слика 66: Зависност константи брзине реакције (а) и максимума брзине реакције (б) у односу на концентрацију TC боје. Зависност константи брзине реакције (в) и максимума брзине реакције (г) у односу на концентрацију AgNP₆.

Табела 11: Кинетички параметри добијени фитовањем кинетичких кривих у зависности од концентрације ТС боје а при константној концентрацији колоида AgNP₆ (1×10^{-8} M), $t = 25$ °C.

	ТС $\times 10^{-5}$ (M)	$dC_J/dt_{\max} \times 10^{-6}$ (M/s)	t_{\max} (s)	$C_J^{00} \times 10^{-6}$ (M)	k_{app} (s ⁻¹)	n	R
1	0.16	0.46	0.34	0.54±0.01	0.96±0.01	1.05±0.03	0.9995
2	0.33	1.76	0.18	1.07±0.01	1.89±0.04	1.01±0.03	0.9905
3	0.5	2.42	0.15	0.81±0.01	2.12±0.07	0.88±0.03	0.9988
4	0.7	2.76	0.15	0.92±0.05	2.87±0.24	0.90±0.09	0.9997
5	1.0	2.94	0.16	1.06±0.01	3.44±0.05	0.99±0.04	0.9961
6	1.2	2.78	0.09	1.09±0.02	4.04±0.11	1.11±0.04	0.9975
7	1.4	2.47	0.12	1.12±0.02	4.47±0.09	1.11±0.04	0.9998
8	1.7	2.38	0.10	1.19±0.01	4.97±0.12	1.01±0.04	0.9971

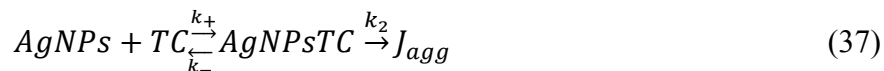
Табела 12: Кинетички параметри добијени фитовањем кинетичких кривих у зависности од концентрације колоида AgNP_6 а при константној концентрацији ТС боје ($1 \times 10^{-5} \text{ M}$), $t = 25$ °C.

	$\text{AgNPs} \times 10^{-8}$	$dC_J/dt_{\max} \times 10^{-6}$	t_{\max}	$C_J^{00} \times 10^{-6}$	k_{app}	n	R
	(M)	(M/s)	(s)	(M)	(s ⁻¹)		
1	0.125	0.035	0.13	0.07±0.004	0.31±0.01	1.02±0.03	0.9961
2	0.25	0.048	0.19	0.29±0.01	2.07±0.03	1.05±0.03	0.9984
3	0.5	0.15	0.21	0.68±0.02	3.00±0.06	1.17±0.03	0.9978
4	0.75	0.24	0.23	0.990.01±	3.00±0.01	1.32±0.07	0.9973
5	1.0	0.30	0.19	1.20±0.01	3.24±0.06	1.29±0.04	0.9972
6	1.5	0.48	0.15	1.86±0.01	3.72±0.15	1.17±0.06	0.9983
7	2.0	0.59	0.20	2.19±0.01	3.34±0.06	1.44±0.04	0.9981
8	2.5	0.80	0.23	3.00±0.01	3.36±0.08	1.42±0.06	0.9976
9	3	0.92	0.20	3.45±0.01	3.36±0.04	1.45±0.03	0.9987
10	3.5	1.08	0.21	4.11±0.01	3.45±0.08	1.37±0.05	0.8441
11	4.0	1.19	0.18	4.63±0.01	3.61±0.03	1.27±0.02	0.9985
12	4.5	1.24	0.23	5.06±0.01	3.17±0.04	1.37±0.03	0.9982
13	5.0	1.34	0.22	5.60±0.01	3.20±0.07	1.29±0.04	0.9945

Из добијених резултата можемо закључити да се са повећањем концентрације ТС боје повећава и брзина реакције Ј-агрегације, док повећање концентрације колоида изнад $0.5 \times 10^{-8} \text{ M AgNP}_6$ не утиче битно на брзину реакције.

На основу добијених резултата, може се закључити да се Ј-агрегација одвија као двостепени процес. Први, спорији процес представља адсорпцију боје на површини

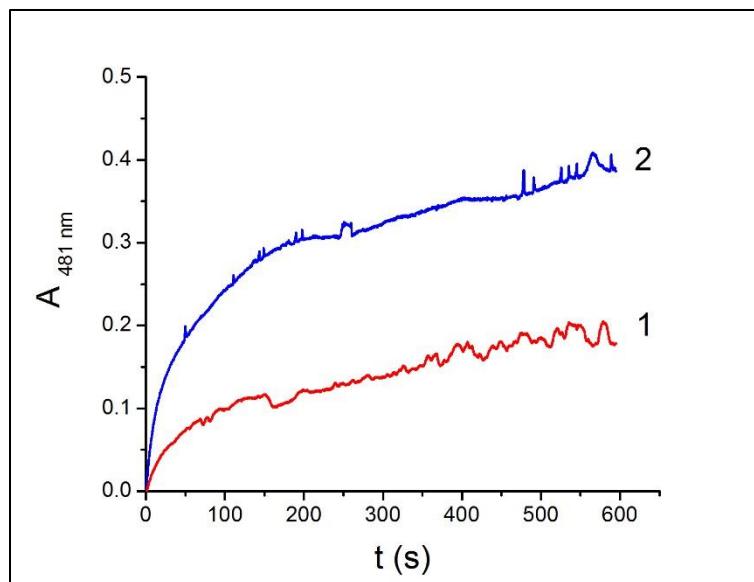
наночестице ($AgNPsTC$), након чега следи образовање J-агрегата (J_{agg}). Овај механизам се може представити једначином:



где је адсорпција ТС боје разматрана као реакција другог реда, а реакција J-агрегације као реакција првог реда [109, 110, 221].

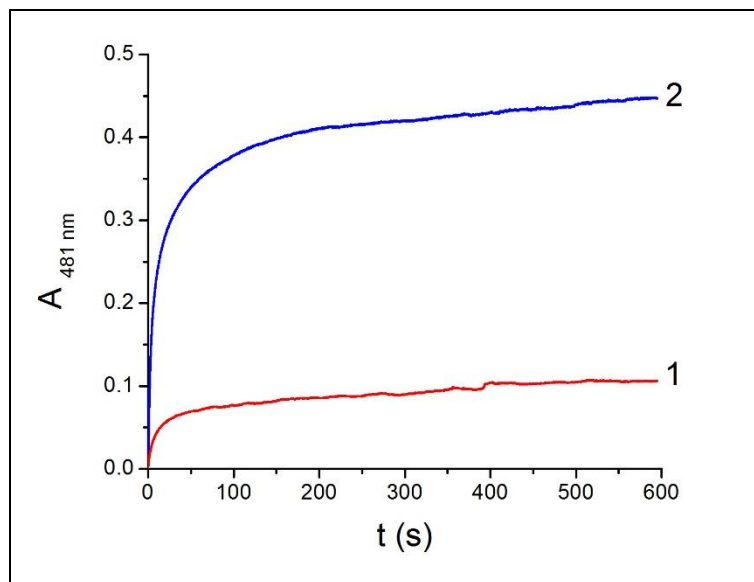
4.4.2 Кинетика формирања J-агрегата на површини наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима

Кинетика формирања J-агрегата ТС боје на површини наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима праћена је променом апсорбанце на 481 nm. Изведене су три серије експеримената при изучавању кинетике формирања J-агрегата ТС боје на површини $AgNP_{10}$ честица, у зависности од концентрације колоида $AgNP_{10}$, ТС боје и додатог KCl. У првој серији концентрација честица $AgNP_{10}$ држана је константном, 1×10^{-8} M, концентрација ТС боје је била 1×10^{-5} M и 1.6×10^{-5} M, док је KCl присутан у оној количини у којој је додат приликом припремања раствора ТС боје (3.3×10^{-4} M). Кинетичке криве представљене су на слици 67.



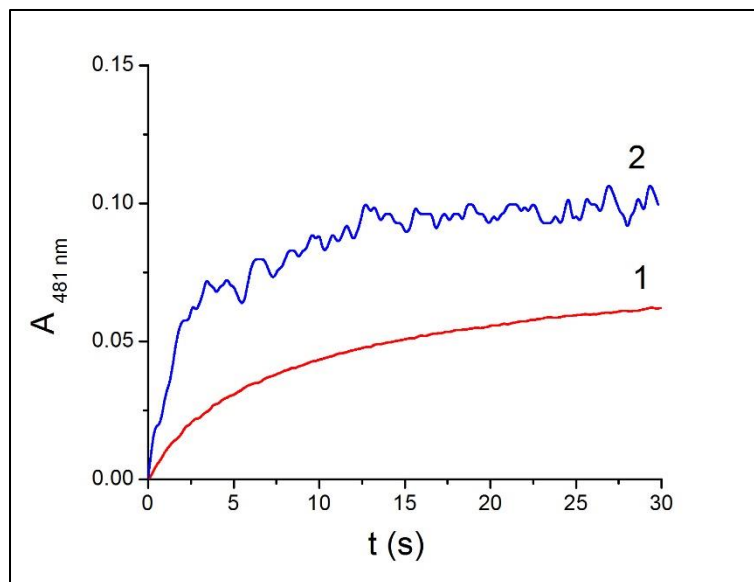
Слика 67: Кинетичке криве J-агрегације 1×10^{-5} М (1) и 1.6×10^{-5} М (2) ТС боје у присуству 1×10^{-8} М AgNP_{10} и 3.3×10^{-4} М KCl .

У другој серији експеримента концентрација ТС боје била је константна 1.6×10^{-5} М док је концентрација честица AgNP_{10} била 2.2×10^{-9} М и 4.3×10^{-9} М, слика 68. KCl је присутан у оној количини у којој је додат приликом припремања раствора ТС боје.



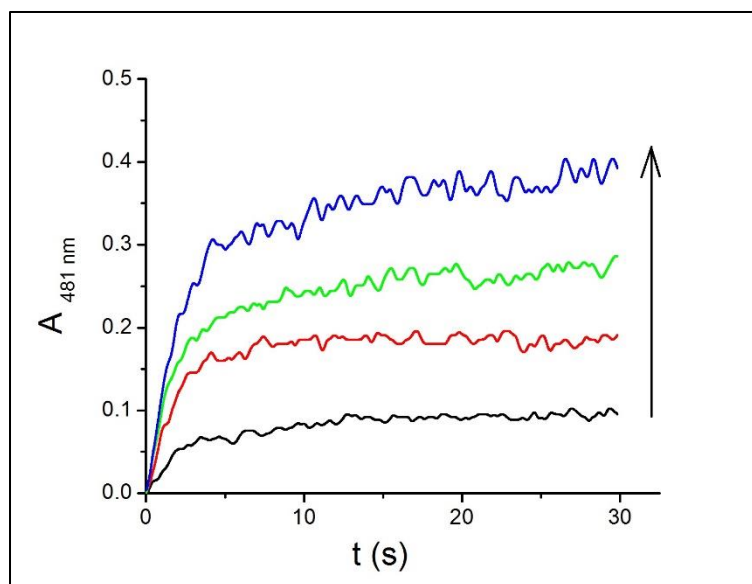
Слика 68: Кинетичке криве формирања J-агрегата 1.6×10^{-5} М ТС, у присуству 2.2×10^{-9} М (1) и 4.3×10^{-9} М (2) AgNP₁₀ и 3.3×10^{-4} М КСl.

У трећој серији експеримента испитан је утицај КСl на брзину реакције. Концентрације колоида AgNP₁₀ и ТС боје биле су константне 2.17×10^{-9} М и 1.6×10^{-5} М, док је концентрација КСl била 3.3×10^{-4} М и 1×10^{-3} М, слика 69.



Слика 69: Кинетичке криве J-агрегације 1.6×10^{-5} М ТС у присуству 2.17×10^{-9} М AgNP_{10} у зависности од концентрације KCl : 3.3×10^{-4} М (1) и 1×10^{-3} М (2).

На основу добијених резултата види се да на брзину реакције J-агрегације на површини честица AgNP_{10} , утичу како концентрације боје и колоида тако и концентрација KCl , што је у сагласности са спектрофотометријским мерењима (слика 53). Даље је испитан и утицај концентрације AgNP_{10} на брзину реакције уз присуство веће концентрације KCl од оне која је већ била присутна у раствору ТС боје. Добијене кинетичке криве представљене су на слици 70. Концентрације честица AgNP_{10} биле су 2.2×10^{-9} М, 3.2×10^{-9} М, 4.3×10^{-9} М и 6.5×10^{-9} М, док је концентрација ТС боје била 1×10^{-5} М.

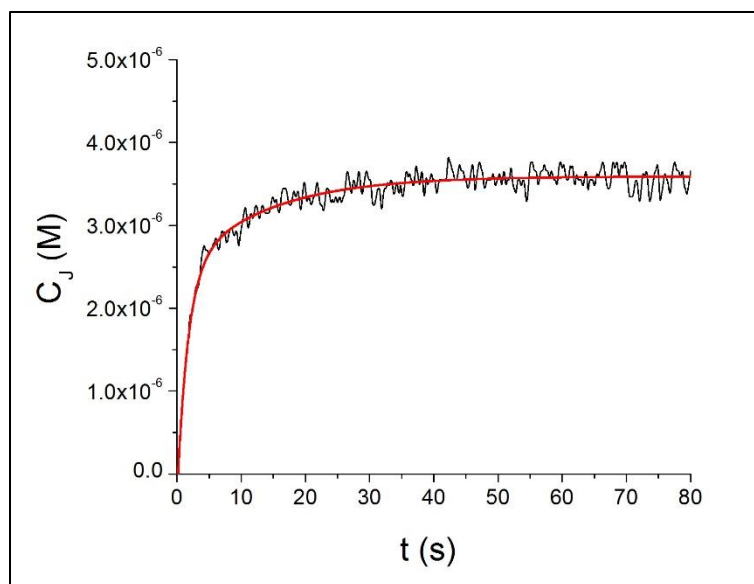


Слика 70: Кинетичке криве формирања J-агрегата при константној концентрацији ТС боје 1×10^{-5} М и различитим концентрацијама AgNP_{10} (2.2×10^{-9} М до 6.5×10^{-9} М), KCl 1×10^{-3} М. Стрелица представља пораст концентрације AgNP_{10} .

Кинетичке криве немају иницијални период као сигмоидне криве које су разматране у случају колоида AgNP_6 и ТС боје. Криве се најбоље фитују једначином 38, која представља апроксимацију једначине која описује два паралелна процеса реакција псеудо првог реда. “Развучена” експоненцијална функција је раније примењена за описивање J-агрегације у присуству макромолекула [61, 64] и J-агрегације ТС боје у присуству наночестица злата [109].

$$A = A_0 + A_1 \exp(-k_1 t) + A_2 \exp(-k_2 t) \quad (38)$$

У једначини 38, A је измерена апсорбанца, A_0 , A_1 и A_2 су константе, t је време реакције, k_1 и k_2 су константе брзине реакције псеудо првог реда за два паралелна процеса. Пример фита кинетичке криве једначином 38, дат је на слици 71, а параметри добијени фитовањем кинетичких кривих које су представљене на сликама 67, 68, 69 и 70 дати су у табелама 17, 18, 19 и 20.



Слика 71: Кинетичка крива J-агрегације фитована једначином 38, када су концентрације биле: TC боје – 1×10^{-5} M, AgNP₁₀ – 6.5×10^{-9} M и KCl – 1×10^{-3} M.

Табела 17: Константе брзине реакције у присуству 1×10^{-8} M AgNP₁₀ и 3.3×10^{-4} M KCl у зависности од концентрације TC боје .

TC $\times 10^{-5}$ (M)	$t_{1/2}^1$ (s)	$t_{1/2}^2$ (s)	k_{obs1} (s ⁻¹)	k_{obs2} (s ⁻¹)	ΔA
1	51.6±1.13	51.6±1.13	0.02	0.02	0.116
1.6	122.1±1.3	9.19±0.16	0.008	0.11	0.360

Табела 18: Константе за брзину реакције у присуству 1.6×10^{-8} М ТС боје и 3.3×10^{-4} М КСI у зависности од концентрације колоида AgNP₁₀.

AgNP ₁₀ × 10 ⁻⁹ (M)	t _{1/2} ¹ (s)	t _{1/2} ² (s)	k _{obs1} (s ⁻¹)	k _{obs2} (s ⁻¹)	ΔA
2.2	8.8±0.11	130±3.9	0.114	0.008	0.094
4.3	60±0.4	4.5±0.04	0.02	0.22	0.414

Табела 19: Константе за брзину реакције у присуству 2.17×10^{-9} М AgNP₁₀ и 1.6×10^{-5} М ТС боје у зависности од концентрације КСI.

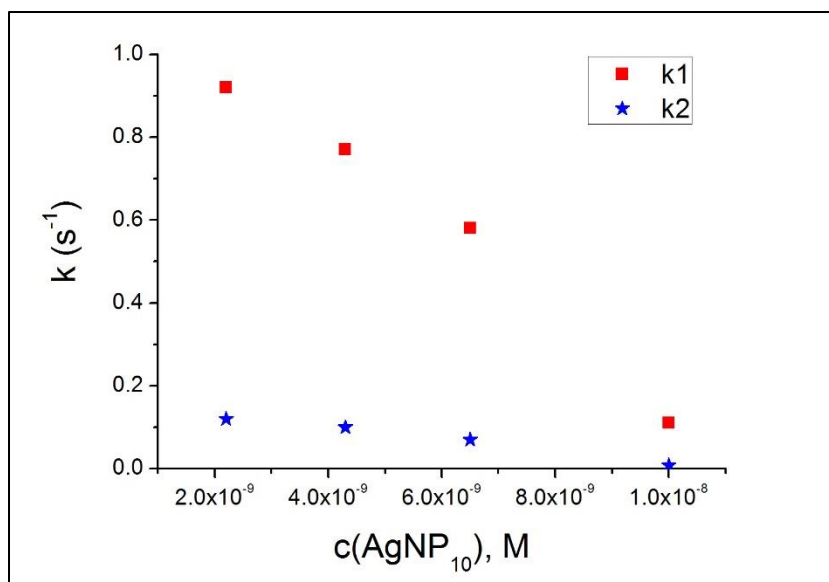
KCl × 10 ⁻³ (M)	t _{1/2} ¹ (s)	t _{1/2} ² (s)	k _{obs1} (s ⁻¹)	k _{obs2} (s ⁻¹)	ΔA
0.33	8.8±0.11	130±3.9	0.114	0.008	0.094
1	1.03±0.19	7.54±0.93	0.97	0.13	0.101

Табела 20: Константе за брзину реакције у присуству 1×10^{-5} М ТС боје и 1×10^{-3} М КСI у зависности од концентрације AgNP₁₀.

AgNP ₁₀ × 10 ⁻⁹ (M)	t _{1/2} ¹ (s)	t _{1/2} ² (s)	k ₁ (s ⁻¹)	k ₂ (s ⁻¹)	ΔA
2.2	1.08±0.19	8.37±1.08	0.92	0.12	0.098
4.3	1.30±0.12	9.96±1.17	0.77	0.10	0.276
6.5	1.72±0.12	15.01±2.1	0.58	0.07	0.390
10.0	1.89±0.13	18.75±2.2	0.52	0.05	0.451

На основу добијених резултата може се видети да се при концентрацији КСI 1×10^{-3} М константе брзине реакције за два паралелна процеса мало разликују, док је у другим примерима та разлика мало већа. Бржи процес, окарактерисан константом k₁ највероватније је адсорпција боје на површини AgNP₁₀, која затим укључује међумолекулско повезивање молекула ТС боје на површини AgNP₁₀, односно J-агрегацију ТС молекула преко адсорбованих молекула боје [109, 207]. Са повећањем концентрације колоида AgNP₁₀ вредност константе k₁ опада. С обзиром да је концентрација КСI држана константном, ово опадање вредности може се објаснити тиме да КСI има битну улогу у брзини адсорпције молекула ТС боје на површини AgNP₁₀. Међутим КСI не утиче на крајњу концентрацију образованих J-агрегата, k₂ се практично не мења са порастом концентрације AgNP₁₀ што је у складу са спектрофотометријским резултатима (поглавље 4.3.2.1). Утицај КСI на J-агрегацију ТС боје у присуству колоида AgNP₁₀ објашњен је DFT израчунавањима у поглављу 4.3.4, где је већ објашњено да јони K⁺ слабе везу цитрата и наночестица, самим тим омогућују бржу адсорпцију молекула ТС боје на површини наночестица.

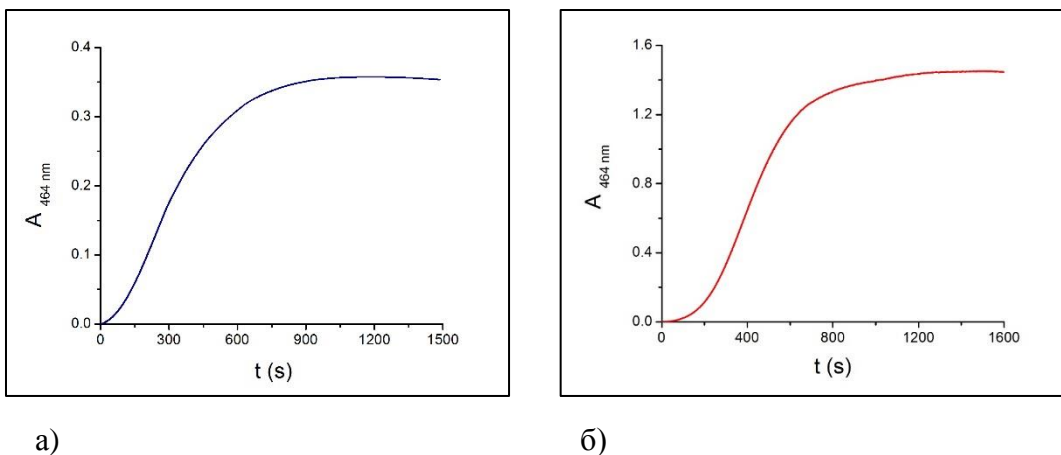
Константе k₁ и k₂ у зависности од концентрације AgNP₁₀ а при концентрацији КСI 1×10^{-3} М представљене су на слици 72.



Слика 72: Константе за брзину реакције у зависности од концентрације AgNP_{10} у присуству $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ТС боје и $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ KCl .

4.4.3 Кинетика формирања J-агрегата у раствору

У присуству колоидне дисперзије AgNRs јавља се пик J-агрегата на 464 nm (поглавље 4.3.3), чији положај одговара J-агрегатима формираним у раствору. До формирања J-агрегата у раствору је могло доћи услед присуства велике концентрације јона метала, као што је већ објашњено. Стога је кинетика праћена и у присуству јона метала, и поређене су те две кинетичке криве. Кинетичке криве формирања J-агрегата, чији је максимум на 464 nm, у присуству колоидне дисперзије AgNRs и KCl дате су на слици 73.



Слика 73: Кинетичке криве формирања J-агрегата на 464 nm, у присуству колоидне дисперзије AgNRs (а) и KCl 2×10^{-2} M (б), концентрација ТС боје је 1.6×10^{-5} M.

Кинетичка крива представљена на слици 73 а) има сигмоидан облик па је фитована једначином 36 (поглавље 4.4.1). Вредности добијених параметара су $C_J^{00} = (0.35 \pm 0.0002) \times 10^{-5}$ M, $n = 1.91 \pm 0.009$, $k_{app} = 0.0027 \text{ s}^{-1}$, $t_{max} = 300 \text{ s}$.

Испитана је и кинетика формирања J-агрегата у раствору који су формирану услед присуства јона K^+ . Добијена кинетичка крива има типичан сигмоидни облик, слика 73 б), што је и у складу са литературним подацима [52, 59, 60] и фитована је једначином 36 (поглавље 4.4.1). Вредности добијених параметара за одговарајуће експерименталне податке су $C_J^{00} = (1.41 \pm 0.0003) \times 10^{-5}$ M, $n = 2.38 \pm 0.005$, $k_{app} = 0.002 \text{ s}^{-1}$, $t_{max} = 108 \text{ s}$. Кинетика формирања J-агрегата у раствору има већи удео сигмоидног карактера, а такође, брзина формирања J-агрегата у раствору је спорија од брзине формирања J-агрегата на површини наночестица.

Кинетичке криве представљене на слици 73 су идентичне, што указује да се додатком колоидне дисперзије AgNRs прво формирају J-агрегати у раствору због присуства јона Na^+ у раствору колоида AgNRs.

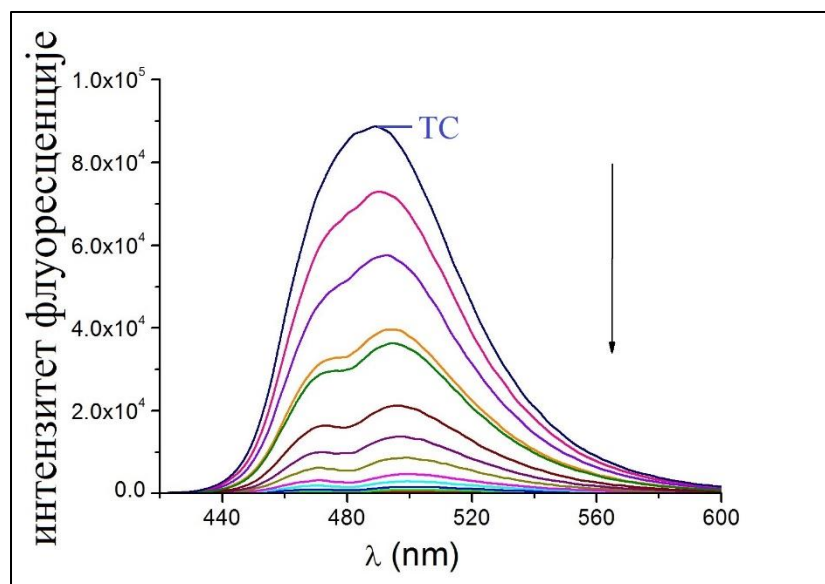
4.5 Утицај наночестица сребра на флуоресценцију ТС боје

Као што је већ описано у поглављу 4.2 цијанинске боје су јако флуоресцентне. ТС боја која је изучавана у овом раду поседује интензивну флуоресценцију са максимумом на око 490 nm, а која потиче од мономера боје, са ексцитацијом на 350 nm и емисијом у опсегу од 420 – 600 nm. Наночестице сребра такође могу бити флуоресцентне [17, 223-226], али под датим експерименталним условима, наночестице сребра које су у овом раду изучаване заједно са датом ТС бојом, нису показивале флуоресценцију. У овом раду испитан је утицај колоидних дисперзија AgNP₆, AgNP₁₀ и AgNRs на интензитет флуоресценције ТС боје.

4.5.1 Утицај колоидне дисперзије AgNP₆ на флуоресценцију ТС боје

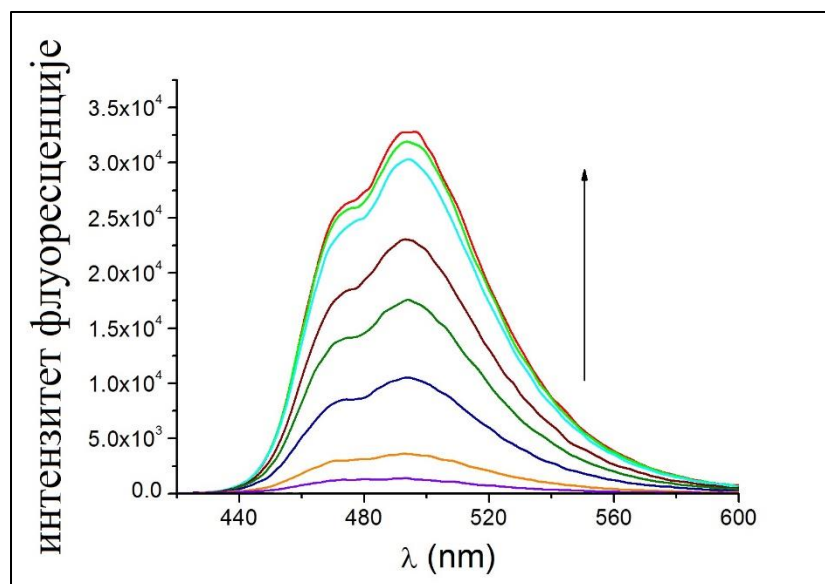
Приликом испитивања утицаја колоидне дисперзије AgNP₆ на флуоресценцију раствора ТС боје, изведене су две серије експеримената. У првој серији експеримената концентрација ТС боје је била константна, 1×10^{-5} M, док је концентрација честица AgNP₆ била у опсегу $0.125 - 5 \times 10^{-8}$ M. Промене у флуоресцентном спектру ТС боје у присуству колоида AgNP₆ представљене су на слици 74.

Након додатка колоидне дисперзије AgNP₆ у раствор боје интензитет флуоресценције слаби, што указује на гашење флуоресценције молекула који су дошли у контакт са наночестицама, а за које, на основу спектрофотометријских података, можемо рећи да су формирали J-агрегате на површини AgNP₆. При великим концентрацијама колоида дошло је до потпуног гашења интензитета флуоресценције.



Слика 74: Флуоресцентни спектри ТС боје – 1×10^{-5} М у присуству колоидне дисперзије AgNP₆ концентрација $0.125 - 5 \times 10^{-8}$ М, повећање концентрације колоида означено је стрелицом.

У другој серији експеримената испитан је утицај колоидне дисперзије AgNP₆ концентрације 1×10^{-8} М на интензитет флуоресценције ТС боје различитих концентрација. Флуоресцентни спектри представљени су на слици 75.

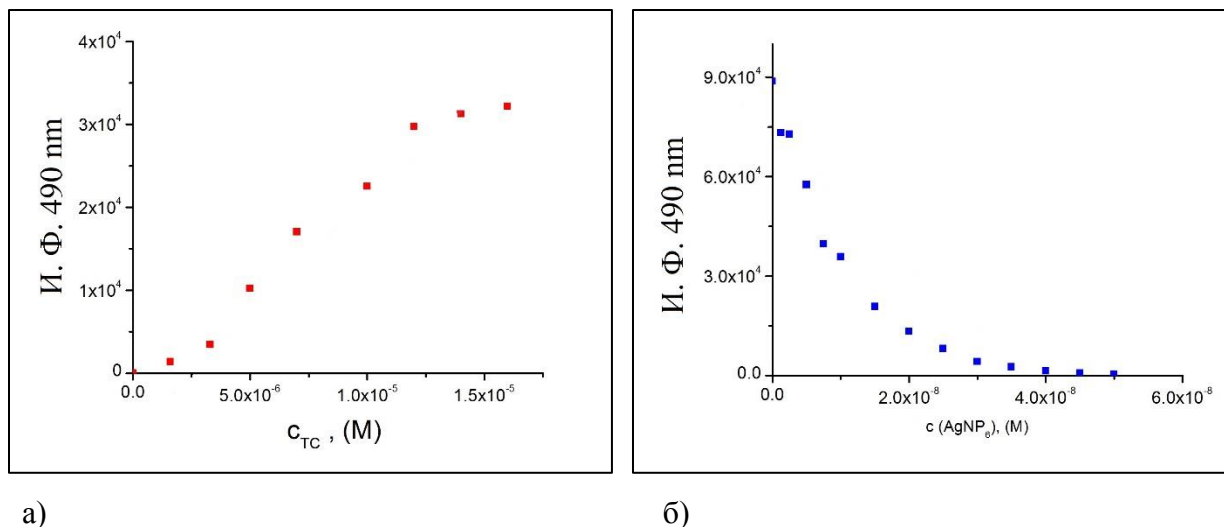


Слика 75: Флуоресцентни спектри ТС боје концентрација $0.16 - 1.6 \times 10^{-5}$ M у присуству колоидне дисперзије AgNP_6 концентрације 1×10^{-8} M, повећање концентрације ТС боје означено је стрелицом.

Са слике 75 се може видети да порастом концентрације боје у флуоресцентном спектару јавља се још један максимум на 473 nm. Максимум на 490 nm потиче од мономера ТС боје, док максимум на 473 nm указује да у раствору долази и до других видова агрегације ТС боје.

У случају када је концентрација ТС боје била константа, концентрација додатог колоида AgNP_6 је била довољна да потпуно угаси флуоресценцију свих молекула боје. У другом случају додатком већих концентрација ТС боје у колоидну дисперзију водило је ка повећању интензитета флуоресценције, што значи да концентрација честица AgNP_6 није била довољна да угаси интензитет свих молекула боје при већим концентрацијама ТС боје. Интензитет флуоресценције потиче од слободних молекула у раствору.

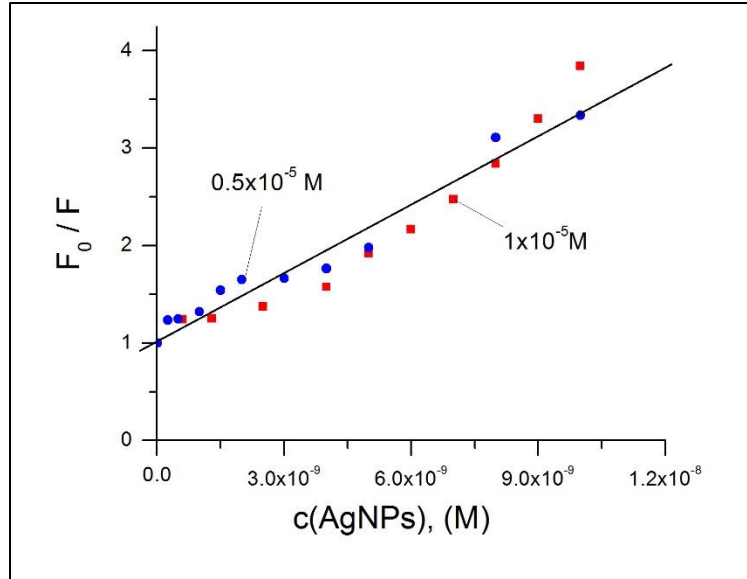
Зависност интензитета флуоресценције на 490 nm од концентрације ТС боје и концентрације AgNP_6 представљена је на слици 76.



Слика 76: Промена интензитета флуоресценције на 490 nm: а) у зависности од концентрације ТС боје у присуству 1×10^{-8} M AgNP₆; и б) у зависности од концентрације колоида AgNP₆ у присуству 1×10^{-5} M ТС.

Крајња тачка титрације при константној концентрацији AgNP₆ – 1×10^{-8} M добијена је екстраполацијом праве линије до нултог интензитета флуоресценције, нађено је да при концентрацијама ТС боје нижим од 2.5×10^{-5} M нема интензитета флуоресценције. Ово је концентрација боје при којој је површина наночестице засићена молекулима ТС боје. Када је концентрација ТС боје била 1×10^{-5} M, екстраполацијом праве до нуле одређена је крајња концентрација колоидне дисперзије AgNP₆ да би се дошло до потпуног гашења интензитета флуоресценције, и износила је 3.8×10^{-8} M. У оба случаја израчунати број молекула ТС боје по једној AgNP₆ наночестици износи око 250 молекула.

Подаци добијени из флуоресцентних мерења даље су представљени и Штерн – Волмеровим графиком [162]. Статичко и динамичко гашење интензитета флуоресценције могу представити Штерн – Волмеровом једначином, $\left(\frac{F_0}{F} = 1 + K_D[Q]\right)$ поглавље 2.3.3, где се Штерн-Волмерова константа K_D може одредити из нагиба праве у Штерн – Волмеровом графику. На слици 77 представљен је Штерн – Волмеров график за две концентрације ТС боје у зависности од концентрације колоидне дисперзије AgNP₆.



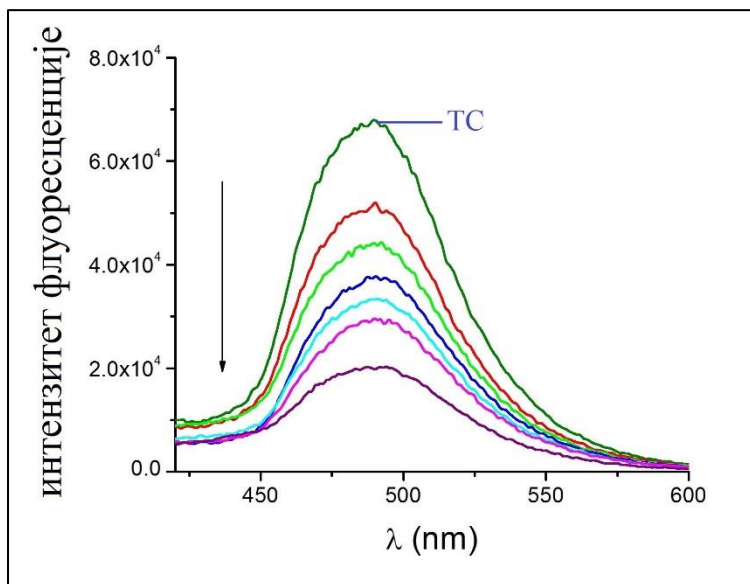
Слика 77: Штерн – Волмеров график за ТС боју концентрација 0.5×10^{-5} M (плави круг) и 1×10^{-5} M (црвени квадрат) у зависности од концентрације AgNP₆.

Линеарност у Штерн – Волмеровом графику указује на један механизам гашења интензитета флуоресценције. С обзиром да у датом случају настаје хибридна наночестица састава AgNP₆/ТС можемо рећи да је у питању статичко гашење интензитета флуоресценције. Из нагиба је добијена вредност Штерн – Волмерове константе K_D и износи $2.38 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$. Висока вредност Штерн – Волмерове константе указује на присуство адсорпције молекула ТС боје на површини AgNP₆ честица и јаку асоцијацију између наночестица и молекула ТС боје [97, 104].

Слични резултати добијени су и приликом испитивања интеракције цијанинске боје са наночестицама злата различитих величина и површинске покривености [110, 111], независно од тога да ли је дошло до формирања J-агрегата.

4.5.2 Утицај колоидне дисперзије AgNP₁₀ на флуоресценцију ТС боје

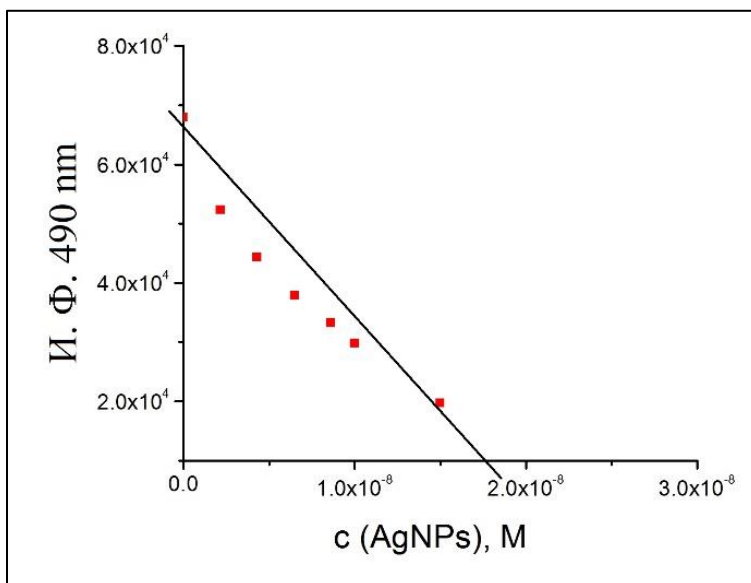
У даљем раду испитан је утицај колоидне дисперзије AgNP₁₀ на флуоресценцију раствора ТС боје при различитим концентрацијама додатог KCl, који је додаван да би потпомогао J-агрегацију (поглавље 4.3.2.1.). У првој серији експеримената испитане су промене у флуоресцентном спектру раствора ТС боје који је садржао 1×10^{-3} М KCl у зависности од концентрације AgNP₁₀, слика 78.



Слика 78: Промене у флуоресцентном спектру раствора ТС боје концентрације 5×10^{-6} М додатком колоидне дисперзије AgNP₁₀ концентрација $0.2 - 1.5 \times 10^{-8}$ М. Стрелицом је означено повећање концентрације колоида.

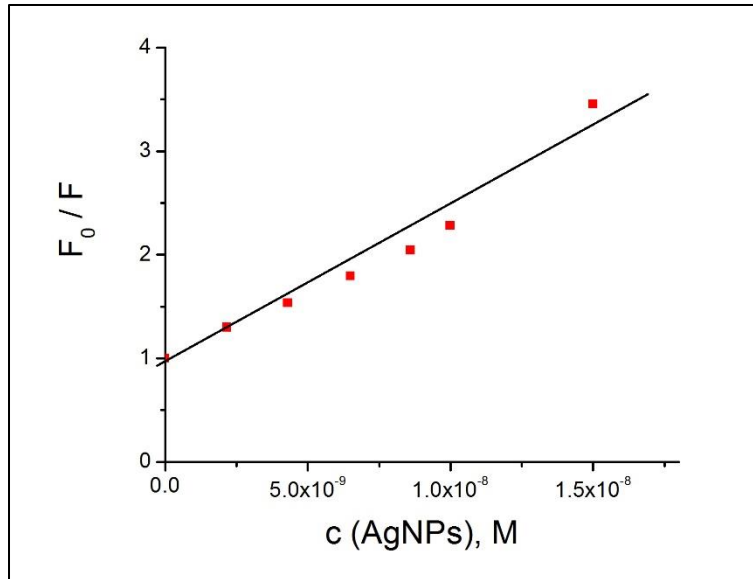
Додатком колоидне дисперзије AgNP₁₀ интензитет флуоресценције слаби, као што је био случај и код колоида AgNP₆. До гашења интензитета флуоресценције раствора ТС боје долази услед интеракције молекула ТС боје са површином AgNP₁₀ честица и формирања хибридне структуре AgNP₁₀/ТС која није флуоресцентна [104, 227, 228]. Међутим и при највећој додатој концентрацији колоида није постигнуто потпуно гашење интензитета флуоресценције. Промена интензитета флуоресценције раствора ТС боје у присуству колоида AgNP₁₀ на 490 nm дата је на слици 79. Екстраполацијом правом, добијено је да би

при концентрацији 1.8×10^{-8} M колоида AgNP_{10} дошло до потпуног гашења интензитета флуоресценције за раствор ТС боје концентрације 5×10^{-6} M. На основу добијених података израчунато је да се налази око 280 молекула ТС боје по једној наночестици.



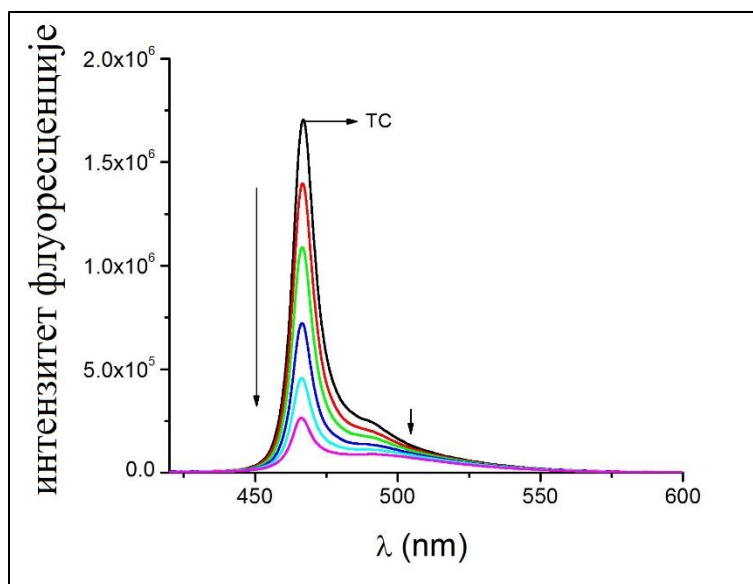
Слика 79: Промена интензитета флуоресценције раствора ТС боје концентрације 5×10^{-6} M на 490 nm у зависности од концентрације колоида AgNP_{10} .

Добијени подаци су даље анализирани Штерн – Волмеровом једначином (поглавље 2.3.3), и представљени Штерн – Волмеровим графиком на слици 80. Добијена је вредност константе $K_D = 2.46 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$, која је приближна вредности K_D , као у случају колоида AgNP_6 , што указује на јаку интеракцију између молекула ТС боје и површине AgNP_{10} .



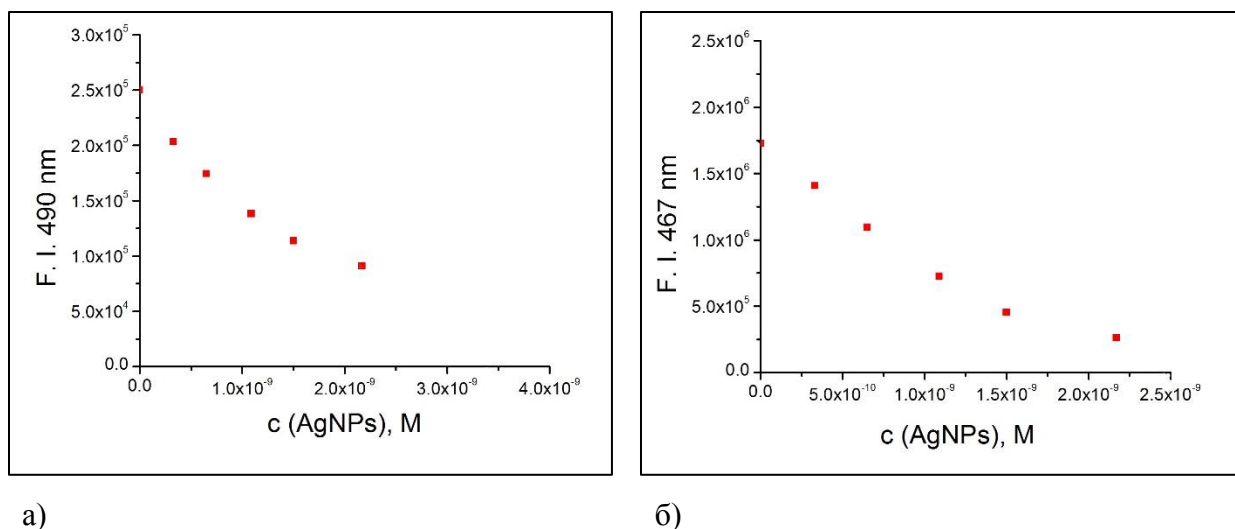
Слика 80: Штерн – Волмеров график за ТС боју концентрације 5×10^{-5} М у зависности од концентрације AgNP_{10} .

У другој серији експеримената испитан је утицај колоидне дисперзије AgNP_{10} на раствор ТС боје концентрације 1×10^{-5} М, који је садржао 2×10^{-2} М KCl , слика 81.



Слика 81: Промена у флуоресцентном спектру ТС боје концентрације 1×10^{-5} М који је садржао 2×10^{-2} М КСI, додатком колоидне дисперзије AgNP₁₀ концентрација $0.33 - 2.17 \times 10^{-9}$ М. Стрелица представља пораст концентрације колоида.

Када је концентрација јона метала и ТС боје довољно велика [60, 131, 229] молекули боје формирају агрегате у раствору, што је потврђено и апсорпционим спектрима (поглавље 4.3.2.1), при чему се у апсорпционом спектру јавља нова трака са максимумом на 464 nm а приписује се J-агрегатима који су формирану у раствору. Услед формираних J-агрегата у раствору ТС боје у флуоресцентном спектру јавља се интензивна трака са максимумом на 467 nm потиче од молекулског ексцитона J-агрегата у раствору, а у спектру је присутан и максимум мањег интензитета на 490 nm који, као што је већ речено, потиче од мономера ТС боје. Додатком колоидне дисперзије AgNP₁₀ интензитет флуоресценције опада, како на 467 nm тако и на 490 nm. Као што је већ потврђено спектрофотометријским мерењима, J-агрегати који су формирану у раствору разлажу се у присуству колоида AgNP₁₀ те је опадање интензитета флуоресценције на 467 nm у складу са спектрофотометријским мерењима. Услед интеракције молекула ТС боје и AgNP₁₀ долази до формирања J-агрегата на површини наночестица, услед те интеракције опада и интензитет флуоресценције на 490 nm. Зависности интензитета флуоресценције на 490 nm и 467 nm дате су на слици 82.

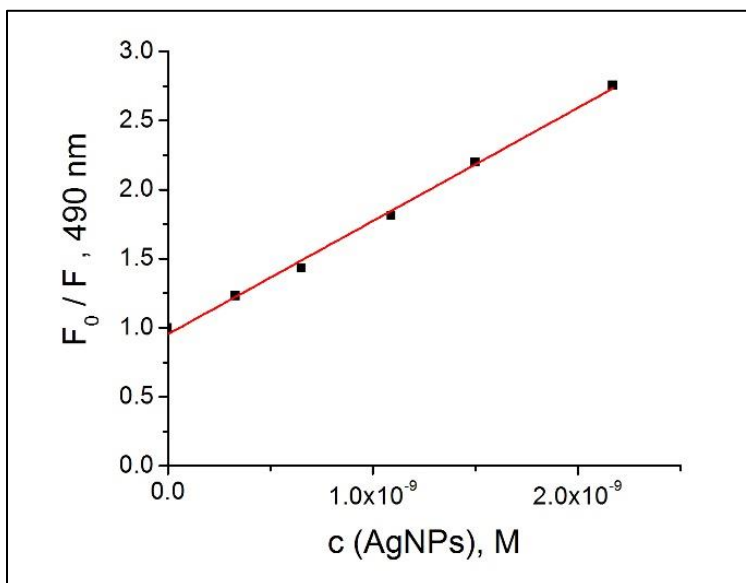


Слика 82: Зависност интензитета флуоресценције на: а) 490 nm и б) 467 nm од концентрације колоида AgNP₁₀, у присуству 1×10^{-5} M ТС боје и 2×10^{-2} M KCl.

Из пресека праве линије екстраполацијом добијено је да је концентрација колоида потребна да се угаси интензитет флуоресценције на 490 nm 4×10^{-9} M, на основу добијених вредности број пакованих молекула по наночестици износи око 2000, што је много више у односу на број молекула који је добијен када је у раствору ТС боје концентрација KCl била мања (око 280 молекула ТС).

Даљом анализом података израчуната је вредности Штерн – Волмерове константе а график је представљен на слици 83. Израчуната је константа, $K_D = 1.72 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ на 490 nm. Опadaње интензитета флуоресценције на 467 nm највероватније настаје због померања равнотеже услед смањења концентрације мономера у раствору, јер да би се формирали J-агрегати у раствору, поред присуства соли, потребно је да и концентрација ТС боје буде довољно велика [229]. Зато би као вредност за статичку константу гашења интензитета флуоресценције, требало узети вредност која је добијена анализом података на 490 nm. Добијена вредност је доста већа у односу на константу добијену при мањој концентрацији KCl, и указује на то да је при већој концентрацији присутног KCl интеракција између молекула ТС боје и AgNP₁₀ већа, а самим тим омогућује се и паковање већег броја молекула ТС на наночестицама, што је у складу и са спектрофотометријским подацима, (поглавље 4.3.2.1, слика 53) као и одређеном кинетиком за испитивани систем (поглавље 4.4.2). Треба

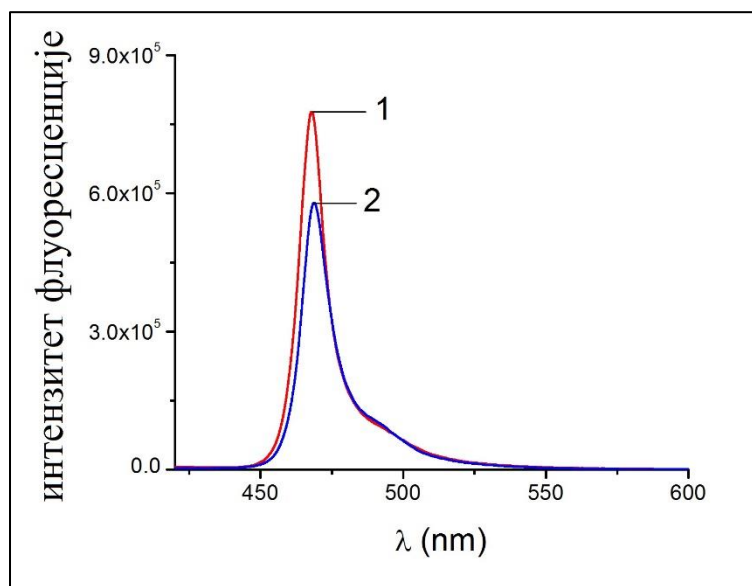
нагласити да су флуоресцентна мерења вршена сат времена након мешања раствора колоида и ТС боје, док су спектрофотометријске промене праћене и након 24 сата и недељу дана.



Слика 83: Штерн – Волмеров график обрадом података услед промене интензитета флуоресценције раствора ТС боје концентрације $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ који је садржао $2 \times 10^{-2} \text{ M}$ КСл у зависности од концентрације колоида AgNP_{10} , на 490 nm.

4.5.3 Утицај колоидне дисперзије AgNRs на флуоресценцију ТС боје

Флуоресцентним мерењима испитана је и интеракција колоидне дисперзије AgNRs и ТС боје. Додатком колоида AgNRs у раствор ТС боје у флуоресцентном спектру видљив је максимум на 468 nm а који потиче од J-агрегата боје формираних у раствору. Као што је већ речено приликом синтезе колоида AgNRs додаје се 1 M раствор NaOH, висока концентрација базе, односно јона метала, утиче на појаву J-агрегата и у разблаженим растворима [131]. Флуоресцентни спектар ТС боје концентрације $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ у присуству колоида AgNRs, концентрација јона Ag^+ је била $2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$ и $1.7 \times 10^{-4} \text{ M}$, представљен је на слици 84.



Слика 84: Флуоресцентни спектар ТС боје концентрације 5×10^{-6} М у присуству колоида AgNRs, концентрација јона Ag^+ 1 – 2.8×10^{-5} М и 2 – 1.7×10^{-4} М.

Са слике се може видети да при већој концентрацији јона Ag^+ , самим тим и већој концентрацији честица, интензитет флуоресценције на 468 nm опада. Опадање интензитета је највероватније услед померања равнотеже у смеру грађења J-агрегата на површини колоидних честица AgNRs, што је потврђено спектрофотометријским мерењима. Због високе концентрације NaOH која је ометала флуориметријска мерења није било могуће одредити концентрацију колоида која би гасила интензитет флуоресценције ТС боје, а самим тим ни Штерн – Волмерову константу гашења флуоресценције.

4.6 Скатчардова и Хилова анализа

Метода која се примењује у биолошким системима за описивање интеракције између биолошких макромолекула и лиганата [138] примењена је и у испитиваном систему наночестица сребра и молекула ТС боје, у циљу одређивања механизма везивања молекула боје на површини наночестица сребра. У нашем случају површину наночестице сребра разматрали смо као макромолекул са неколико доступних места за везивање, док је ТС боја разматрана као лиганд. Скатчардова анализа [230, 231], као метода линеаризације података добијених из криве засићења, примењена је за одређивање константе везивања. Крива засићења се добија из експерименталних спектрофотометријских или флуориметријских података. Она представља зависност концентрације везаних лиганата, односно концентрацију ТС боје, у односу на концентрацију макромолекула са доступним местима за везивање, односно концентрацију честица у колоидној дисперзији. Скатчардовом методом експериментални подаци се могу анализирати на основу једначине 39:

$$(TC_{\text{bound}} / \text{mol AgNPs}) / TC_{\text{free}} = NK_a - K_a (TC_{\text{bound}} / \text{mol AgNPs}) \quad (39)$$

где је TC_{bound} – концентрација везаних лиганата, TC_{free} – концентрација невезаних лиганата која је у равнотежи са TC_{bound} , mol AgNPs – концентрација честица у колоидној дисперзији, N – број доступних везивних страна по макромолекулу, односно наночестици, K_a – константа асоцијације. Када се лиганди вежу реверзибилно за све доступне стране, према једначини 39 добија се права са нагибом $-K_a$, док пресек на x – оси представља укупни број везивних страна, односно N .

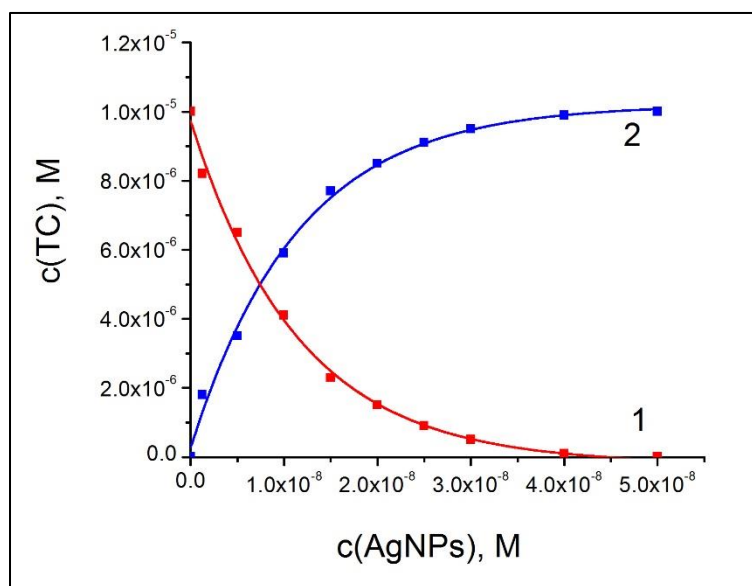
Хилова анализа [232-234] примењена је на криву засићења према једначини 40:

$$C_{\text{ТСб}} = C_{\text{ТСо}} \times C^n / (K_a^{-n} + C^n) \quad (40)$$

где је $C_{\text{ТСб}}$ – концентрација везаних молекула ТС боје, $C_{\text{ТСо}}$ – почетна концентрација ТС боје, C – концентрација слободних страна по наночестици, K_a – константа асоцијације, n – Хилов коефицијент који описује кооперативност везивања.

Да би описали интеракцију молекула ТС боје са наночестицама AgNP_6 и AgNP_{10} примењене су Скатчардова и Хилова анализа. Криве засићења добијене су анализом података добијених флуориметријским мерењима. Претпостављајући да интензитет флуоресценције потиче од слободних, невезаних, молекула ТС боје у раствору и да је флуоресценција везаних молекула боје угашена, израчунате су концентрације TC_{bound} и TC_{free} .

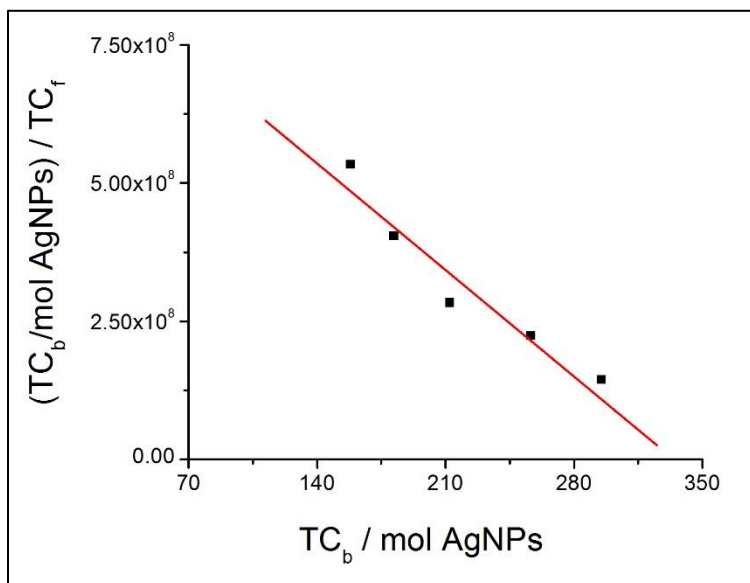
Интеракција ТС боје са колоидном дисперзијом AgNP_6 разматрана је када је концентрација ТС боје била 1×10^{-5} М, крива засићења добијена је из флуориметријских података (слика 74), и заједно са променом концентрације TC_{free} дата је на слици 85.



Слика 85: Зависност концентрација слободне TC_{free} (1), и везане TC_{bound} (2) боје од концентрације колоида AgNP_6 .

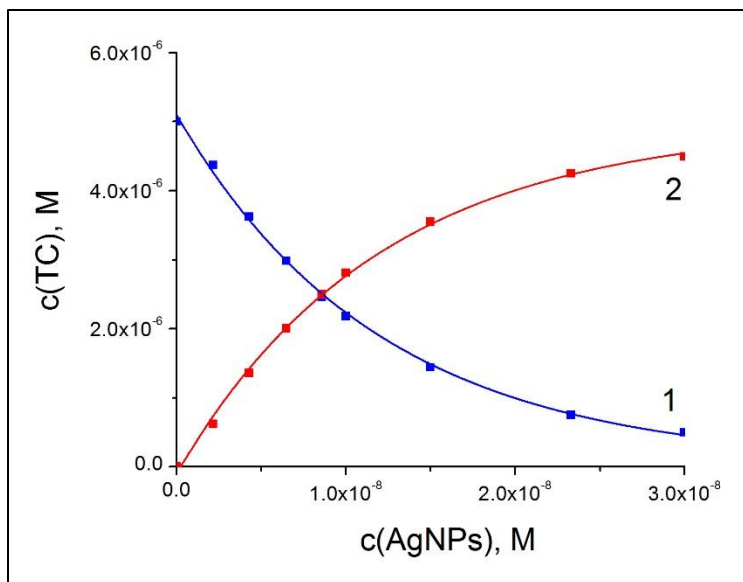
Линеаризацијом података из криве засићења, слика 85 линија 2, применом једначине 39, добијен је скатчардов график и представљен на слици 86. Вредности за константу асоцијације $K_a = 2.6 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ и број доступних места за везивање, односно број молекула ТС боје по наночестици износио је $N = 325$.

Константа асоцијације добијена Хиловом анализом износи $K_a = 2.1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, а вредност Хиловог коефицијента $n = 1.09$ чија је вредност близу јединице указује на некооперативно везивање.



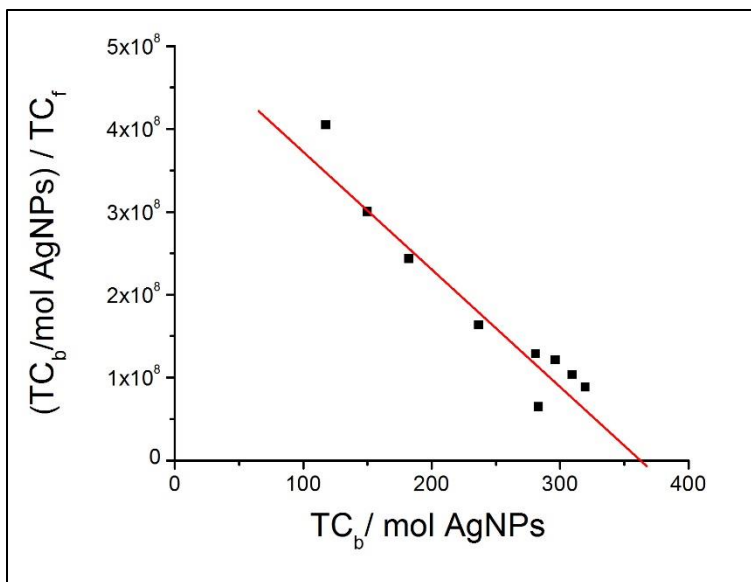
Слика 86: Скатчардов график анализе криве засићења за $TC 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ у присуству колоида $AgNP_6$.

На исти начин обрађени су флуориметријски подаци (слика 78) добијени интеракцијом TC боје и колоидне дисперзије $AgNP_{10}$. Крива засићења и зависност концентрације TC_{free} од концентрације колоида $AgNP_{10}$, дате су на слици 87.



Слика 87: Зависност концентрације слободне TC_{free} (1), и везане TC_{bound} (2) боје од концентрације колоида AgNP_{10} .

Скатчардовом анализом података из криве засићења са слике 87 линија 2, једначином 39, добијена је константа асоцијације $K_a = 1.46 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ и $N = 360$. Скатчардов график је представљен на слици 88.



Слика 88: Скатчардова анализа криве засићења за TC 5×10^{-6} M у присуству колоида AgNP₁₀.

Хиловом анализом вредност константе асоцијације износи $K_a = 1.58 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, док Хилов коефицијент $n = 0.96$ указује на некооперативно везивање, као што је био случај и код колоида AgNP₆.

Скатчардова и Хилова анализа се нису могле применити у случају колоидне дисперзије AgNRs.

4.7 Примена наночестица сребра за појачање Раманског сигнала воденог раствора ТС боје

Површински појачана Раманска спектроскопија (енг. *Surface enhanced Raman spectroscopy*, SERS) је техника којом се појачава Рамански сигнал молекула који су адсорбовани на површини наночестице метала или се налазе у њеној непосредној близини. SERS даје исте информације као Раманска спектроскопија, само са доста појачаним сигналом, мада се могу јавити мале разлике због утицаја електричног поља металне

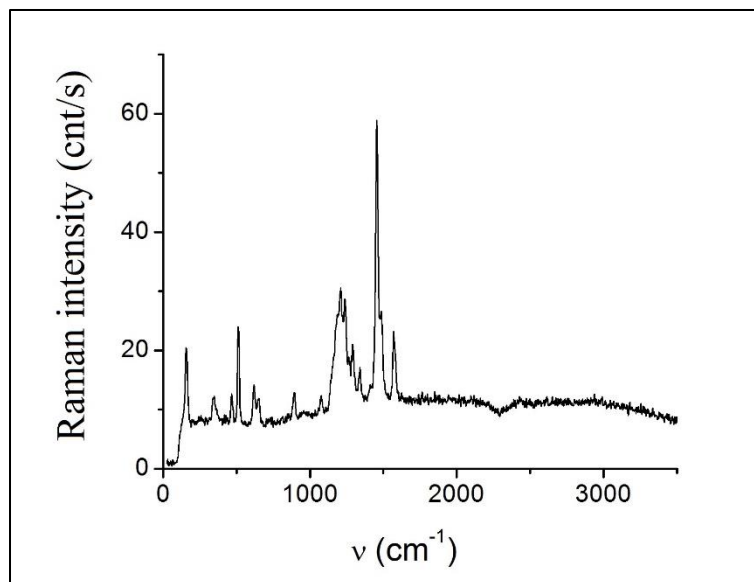
површине [235]. С обзиром да SERS може да пружи велики број вибрационих информација на нивоу једног молекула и једне наночестице [236], постоји потреба за применом ових наноструктурних материјала за појачање Раманског сигнала [237, 238] и применом SERS-а као аналитичке методе. У зависности од структуре наночестице, молекул за који се жели постићи појачање Раманског сигнала се може адсорбовати на површини наночестице, уметнути у структуру наночестице или доћи у контакт са наночестицом преко пропустљиве мембране [239-242]. SERS је могуће применити и у живим ћелијама [243, 244]. Такође је показано да до појачања Раманског сигнала цијанинске боје долази у присуству наночестица сребра [245, 246] и злата [111], при различитим таласним дужинама ексцитације, где је "background" (појачан позадински интензитет при емисији) заједно са SERS спектром разматран у погледу J-агрегата цијанинске боје.

У нашем раду испитали смо утицај синтетисаних наночестица сребра на појачање Раманског сигнала разблаженог раствора ТС боје. Спектри су снимани тако што је раствор смеше колоидне дисперзије и боје накапан на подлогу и остављен да се осуши. Појачање Раманског сигнала разблаженог раствора ТС боје постигнуто је у присуству сферних наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима и сферних наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима, док у присуству наноштапића сребра са адсорбованим СТАВ јонима није добијен Рамански спектар ТС боје.

Да би поредили добијене Раманске спектре ТС боје која је адсорбована на површини наночестица сребра, снимљен је Рамански спектар самог раствора ТС боје, концентрације 5×10^{-5} M, који је накапан на подлогу SiO₂ и примењена је јачина ласера три пута већа од јачине која је била потребна за добијање Раманског сигнала разблаженог раствора ТС боје у присуству наночестица сребра.

Сви спектри су изражени у јединицама cnt/s (counts per second), што значи да је укупан интензитет који се изражава у 'counts' подељен са временом експозиције.

Рамански спектар ТС боје дат је на слици 89.



Слика 89: Рамански спектар ТС боје на подлози SiO₂.

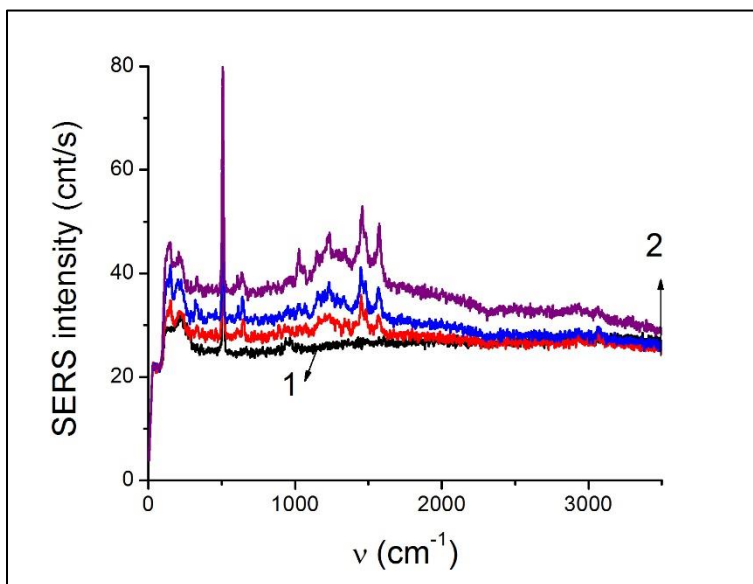
Рамански спектар ТС боје карактеришу пикови у опсегу од 200 до 1600 cm⁻¹, док пикови на 509 и 900 cm⁻¹ потичу од подлоге SiO₂.

Рамански спектар ТС боје садржи карактеристичне траке:

- у опсегу од 600 – 700 cm⁻¹ (340, 465, 617, 647 cm⁻¹) које потичу услед вибрација у ароматичној структури,
- 1075 cm⁻¹ услед S=O истежуће вибрације,
- дупла трака 1210 и 1235 cm⁻¹ услед истежуће C–O вибрације,
- 1290 и 1340 cm⁻¹ истежуће вибрације тиазолног прстена,
- 1455, 1480, 1569 cm⁻¹ услед истежућих C=C веза у бензеновом прстену.

4.7.1 Примена сферних наночестица сребра са адсорбованим боратним јонима за појачање Раманског сигнала

За разблажени раствор ТС боје, концентрације 5×10^{-6} М, при јачини ласера $\sim 200 \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$, и екситацији на 532 nm, није било могуће добити сигнал у Раманском спектру. У присуству наночестица сребра AgNP_6 , за раствор ТС боје дате концентрације, и при истим условима добијено је појачање Раманског сигнала, односно SERS. Раствор колоида AgNP_6 , као и раствор смеше колоида и ТС боје, накапани су на подлогу SiO_2 , остављени да се осуше, а затим су снимани Рамански спектри. Добијени Рамански спектри представљени су на слици 90, а одговарајућа Раманска мапа дата је у прилогу.



Слика 90: Црна линија (1) представља Рамански спектар честица AgNP_6 , линије црвена, плава и љубичаста (2) представљају Рамански спектар разблаженог раствора ТС боје у присуству AgNP_6 .

Са слике се види да саме наночестице немају видљиве траке у Раманском спектру (црна линија), док присутне траке на 509 и 900 cm^{-1} потичу од подлоге SiO_2 .

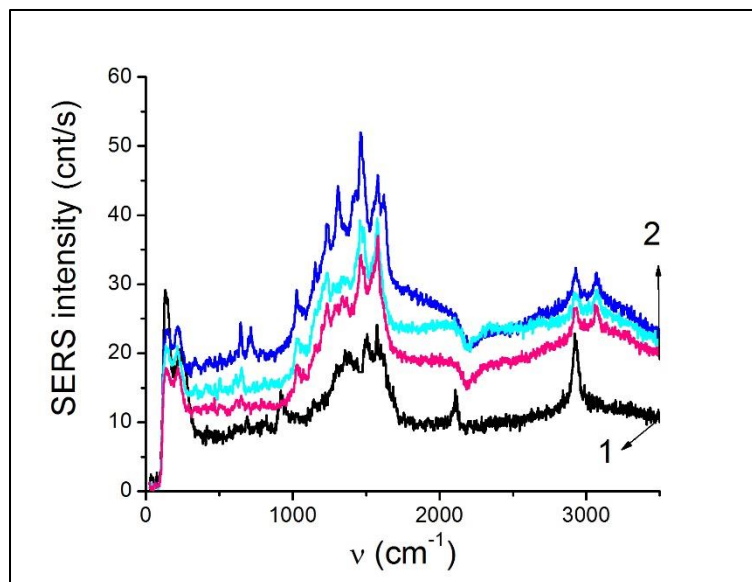
У SERS спектру наночестица сребра са адсорбованим ТС молекулима видљиве су траке у опсегу од 200 – 1600 cm^{-1} , које су карактеристичне за молекул ТС боје. У поређењу са Раманским спектром саме ТС боје, видљиви су пикови:

- 340, 647 cm^{-1} који потичу услед вибрација у ароматичној структури,
- 1065 cm^{-1} услед истежуће вибрације S=O померен је са 1075 cm^{-1} ,
- 1027, и 1150 cm^{-1} нису присутни у Раманском спектру саме ТС боје, потичу од удружених вибрација S=O и C–O,
- 1235 cm^{-1} услед истежуће C–O вибрације,
- 1340 cm^{-1} истежуће вибрације тиазолног прстена,
- 1450, 1480, 1570 cm^{-1} услед истежућих C=C веза у бензеновом прстену.
- 220 и 3067 cm^{-1} нису присутни у Раманском спектру саме боје, потичу од OH-групе услед присутних молекула воде.

Рамански спектар разблаженог раствора ТС боје који је појачан услед присуства сферних наночестица сребра дијаметра 6 nm садржи идентичне пикове као Рамански спектар саме боје.

4.7.2 Примена сферних наночестица сребра са адсорбованим цитратним јонима за појачање Раманског сигнала

Појачање Раманског сигнала разблаженог раствора ТС боје, концентрације 5×10^{-6} M, добијено је и у присуству наночестица сребра AgNP₁₀. Спектри самих наночестица и наночестица са адсорбованом бојом снимљени су на подлози "mica", која нема изражене пикове у спектру, као што то има SiO₂. Рамански спектри дати су на слици 91, а одговарајућа Раманска мапа дата је у прилогу.



Слика 91: Црна линија (1) представља Рамански спектар AgNP₁₀, розе, светло и тамно плаве линије (2) представљају Рамански спектар ТС боје у присуству AgNP₁₀.

Рамански спектар колоидне дисперзије AgNP₁₀, садржи пикове који потичу од цитратних јона (линија 1) адсорбованх на површини наночестице сребра [247, 248]. Положаји пикова одговарају вибрацијама цитратних јона:

924 cm⁻¹ услед С-С истежућих вибрација,

1360, 1500 и 1570 cm⁻¹ услед истежућих вибрација карбоксилне (COO⁻) групе,

2110 cm⁻¹ присуства (издвајања) СО гаса [249],

2926 cm⁻¹ услед истежућих вибрација CH₂ групе.

SERS спектар наночестица AgNP₁₀ са адсорбованим молекулима ТС боје садржи следеће пикове:

645 и 716 cm⁻¹, услед вибрација у ароматичној структури ТС боје,

1026 и 1150 cm⁻¹, померени су у односу на спектар саме боје, удружене С-О и S=O вибрације

1235 cm^{-1} , C–O истежуће вибрације ТС боје

1310 cm^{-1} , истежуће вибрације тиазолног прстена ТС боје

1463, 1580 и 1620 cm^{-1} , положаји ових пикова одговарају истежућим вибрацијама у бензеновом прстену и истежућим вибрацијама карбоксилне групе,

2926 cm^{-1} , истежућих вибрација CH_2 групе

220 и 3070 cm^{-1} истежуће вибрације OH-групе услед присуства воде.

На основу Раманског спектра разблаженог раствора ТС боје у присуству наночестица сребра, може се закључити да сферне наночестице сребра дијаметра 10 nm, могу појачати Рамански сигнал разблаженог раствора ТС боје. Такође, на основу претходних студија [245, 246] можемо рећи да је услед присуства пикова у области 400-1000 cm^{-1} као и појачаног "background"-а, ТС боја формирала J-агрегате, а што је потврђено применом других метода.

5 Дискусија

J-агрегација цијанинских боја предмет је многих истраживања, како експерименталних тако и теоријских. Као што су показали резултати многих студија у последње две декаде, наночестице сребра и злата, поред присуства једновалентних и двовалентних катјона у колоидној суспензији, имају значајан утицај на J-агрегацију цијанинских боја [52, 59, 62, 63, 78, 87, 88, 109, 208, 209, 248, 249], процес који има велики значај у електроници, хемији, биологији, медицини, фармацеутској индустрији, фотоници, оптичким уређајима, код сензорних уређаја, система за конвертовање светлости [28, 118, 250-254]. Истраживањима других аутора J-агрегати формирани на површини наночестица метала окарактерисани су појавом нове апсорпционе траке у апсорпционом спектру, чији положај зависи од структуре цијанинске боје, као и врсте материјала и облика наночестице (сфере, штапићи), и померене су ка већим таласним дужинама у односу на J-агрегате формиране у раствору. Такође, у присуству наночестица злата апсорпциона трака J-агрегата окарактерисана је појавом минимума, док је у присуству наночестица сребра апсорпциона трака окарактерисана појавом максимума у апсорпционом спектру [52, 61-63, 87, 88, 99, 109]. С обзиром на то да се мали број публикација бави испитивањима механизма J-агрегације на површини наночестица метала, у нашем раду посветили смо посебну пажњу концентрационим зависностима и брзини J-агрегације на површини наночестица сребра различитих облика. Резултати испитивања J-агрегације триацијанинске боје (3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлортиацијанина, ТС) показали су да J-агрегација значајно зависи од различитих облика наночестица сребра, њихове величине и површинске покривености. Постоји значајна разлика у односу на J-агрегацију ТС боје у раствору услед присуства јона метала. J-агрегати на површини синтетисаних наночестица сребра у апсорпционом спектру садрже максимум смештен на 481 nm, који значајно зависи од дебљине слоја J-агрегата као и величине честице [88], док J-агрегати формирани у раствору садрже максимум на 464 nm. Положај апсорпционог максимума J-агрегата на наночестици сребра слаже се са положајем минимума добијеног купловањем ексцитона ТС и плазмона наночестице злата. Потребно је напоменути, да се J-агрегација ТС боје дешава само на наночестицама злата одређене величине и површинске покривености (наночестице дијаметра 6 nm покривене боратним

јонима) [109], док на површини свих испитаних наночестица сребра долази до J-агрегације. Разјашњавање механизма интеракције молекула цијанинске боје са површином наночестице метала може дати бољи увид за примену новонасталих хибридних структура.

Испитивање кинетике J-агрегације цијанинских боја у присуства јона метала, показала су да је кинетичка крива сигмоидног облика, указујући на иницијални период „одлагања“ почетка реакције [52, 59-61]. Временска зависност формирања J-агрегата је у већини случајева описана сигмоидном кривом, а кинетика и механизам су објашњени у оквиру аутокаталитичких реакција. Резултати добијени у овом раду се слажу са литературним подацима. Испитивањем кинетике J-агрегације ТС боје у присуству синтетисаних наночестица сребра, добијене кинетичке криве су благо сигмоидног облика. Одређени кинетички параметри, добијени применом „stretch exponential“ функције указују да се реакција између наночестице и боје одвија у више корака. Први корак представља адсорпција молекула боје на површини наночестице сребра а затим формирања J-агрегата на иницијалном слоју боје.

У претходним истраживањима нађено је да наночестице сребра могу појачати интензитет флуорофоре када је молекул флуорофоре оријентисан нормално на металну површину [255]. Супротно томе гашење интензитета флуоресценције флуорофоре се јавља када је флуорофора оријентисана паралелно на металну површину [256, 257]. Флуоресценција молекула флуорофоре који су дошли у контакт са површином наночестице метала, може бити угашена услед транспорта енергије/електрона са молекула на наночестицу [96, 103, 105, 258]. Мерењем флуоресценције боје која је испитивана у овом раду, нађено је да присуство наночестица AgNP_6 и AgNP_{10} гаси интензитет флуоресценције ТС боје и да је ефекат гашења већи при већим концентрацијама наночестица. Гашење флуоресценције се приписује повећаној нерадијативној релаксацији побуђеног стања услед преноса енергије и/или електрона са молекула ТС боје на површину наночестице. Добијене високе вредности Штерн – Волмерове константе указују на јаку интеракцију између молекула ТС боје и наночестица сребра. У присуству колоидне дисперзије AgNRs , ефекат гашења интензитета флуоресценције се није могао јасно пратити, јер је раствор колоида садржао високу концентрацију јона Na^+ услед чијег је присуства дошло до J-агрегације у раствору, а самим тим и до појачања интензитета флуоресценције формираних J-агрегата у раствору. Међутим при већој концентрацији колоида тај интензитет је ипак био мањи, па

можемо рећи да је услед интеракције наноштапића сребра и молекула ТС боје дошло до гашења интензитета флуоресценције, али да концентрација наночестица није била довољно велика да би се ефекат гашења флуоресценције јасно посматрао.

Gorner H. са сарадницима [61] испитивао је механизам везивања молекула цијанинске боје на површини макромолекула, при чему је применио различите моделе за испитивање биохемијских реакција [230]. У случају интеракције наночестица – боја, наночестица је посматрана као макромолекул а боја као лиганд. Нађено је да је везивање молекула боје за макромолекул кооперативан процес [61]. Ради разјашњења механизма везивања ТС молекула боје на површини наночестица сребра, применили смо сличну методу где смо наночестицу сребра разматрали као макромолекул са доступним везивним местима, док смо молекул ТС боје разматрали као лиганд. Обрадом флуориметријских података добијене су криве засићења, из којих су Скатчардовом и Хиловом анализом одређене константе асоцијације и број молекула боје по једној наночестици. Нашли смо да је везивање молекула боје, односно J-агрегација, на површини наночестица некооперативно.

Да би добили детаљнији увид о томе како се молекул ТС боје везује за површину наночестице сребра, применили смо теорију функционала густине. Нађено је да се ТС боја за површину наночестице сребра највероватније веже преко кисеоника из SO_3^- групе, при чему је омогућена коса оријентација молекула ТС боје на површини наночестице сребра.

Познато је да наночестице метала могу појачати рамански сигнал молекула [25, 234, 240]. Тако су синтетисане наночестице сребра испитане за појачање Раманског сигнала ТС боје. У присуству наночестица $AgNP_6$ и $AgNP_{10}$ добијено је појачање Раманског сигнала ТС боје, с тим што су у присуству наночестица $AgNP_{10}$ у Раманском спектру видљиви и пикови који потичу од цитрата који се налазе на површини наночестица. У случају наноштапића сребра није добијено појачање Раманског сигнала.

6 Закључак

1) Синтетисане су наночестице сребра различитих величина, облика и површинске покривености редукцијом јона Ag^+ натријум борхидридом у воденој средини, уз присуство цитратних јона или цетилтриметил амонијум бромида. Добијене су сферне наночестице дијаметра 6 nm са адсорбованим боратним јонима; сферне наночестице дијаметра 10 nm са адсорбованим цитратним јонима; и штапићасте наночестице дужине око 40 nm са адсорбованим СТАВ јонима.

2) Испитана је интеракција ТС боје са свим синтетисаним наночестицама сребра. На основу спектрофотометријских мерења утврђено је, да на површини наночестица долази до образовања J-агрегата који су окарактерисани појавом новог апсорпционог пика са максимумом на 481 nm.

3) Композити наночестице/J-агрегати окарактерисани су применом више наноспектроскопских техника, као што су TEM, AFM, DLS, Uv-Vis и Раманска спектроскопија, мерење електрофоретичких величина и флуоресцентна спектроскопија.

4) Мерењем зета потенцијала потврђено је негативно наелектрисање на површини сферних наночестица и позитивно наелектрисање на површини штапићастих наночестица. Показано је, да у присуству боје долази до веће стабилности колоидних дисперзија.

5) Мерењем интензитета флуоресценције ТС боје у присуству синтетисаних колоидних дисперзија нађено је да наночестице сребра гасе интензитет флуоресценције молекула ТС боје који су дошли у директан контакт са површином наночестице. Анализом података добијених флуоресцентним мерењима одређене су константе гашења интензитета флуоресценције.

6) Кинетичка испитивања су показала да се процес формирања J-агрегата одвија у два корака, први је формирање иницијалног слоја а други представља процес формирања

додатних слојева. За наночестице AgNP₆ први процес је спорији, док је за наночестице AgNP₁₀ први процес бржи. Одређени су кинетички параметри J-агрегације.

7) Применом Скатчардове и Хилове анализе, на спектрофотометријске и флуориметријске податке, одређене су константе асоцијације и израчунат је број молекула боје по наночестици, док вредност Хиловог коефицијента указује на некооперативно везивање. У овом случају наночестица сребра је разматрана како макромолекул са расположивим местима за везивање док је молекул боје разматран као лиганд.

8) Теоријским израчунавањима нађено је да се молекул ТС боје преко атома кисеоника из SO₃⁻ групе везује за површину наночестице сребра.

9) Нађено је да сферне наночестице AgNP₆ и AgNP₁₀ појачавају Рамански сигнал разблаженог раствора ТС боје.

Литература

1. Faraday, M., *The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 1857. **147**: p. 145-181.
2. Mie, G., *Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen*. Annalen der Physik, 1908. **330**(3): p. 377-445.
3. Mulvaney, P., *Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles*. Langmuir, 1996. **12**(3): p. 788-800.
4. Wang, D.S. and M. Kerker, *Absorption and luminescence of dye-coated silver and gold particles*. Physical Review B, 1982. **25**(4): p. 2433-2449.
5. Schwartzberg, A.M., et al., *Unique Gold Nanoparticle Aggregates as a Highly Active Surface-Enhanced Raman Scattering Substrate*. The Journal of Physical Chemistry B, 2004. **108**(50): p. 19191-19197.
6. Daniel, M.-C. and D. Astruc, *Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology*. Chemical Reviews, 2004. **104**(1): p. 293-346.
7. Zamecnik, C.R., et al., *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Using Lipid Encapsulated Plasmonic Nanoparticles and J-Aggregates To Create Locally Enhanced Electric Fields*. The Journal of Physical Chemistry C, 2013. **117**(4): p. 1879-1886.
8. Niu, J., et al., *Shifting of surface plasmon resonance due to electromagnetic coupling between graphene and Au nanoparticles*. Optics express, 2012. **20**(18): p. 19690-19696.
9. Vukoje, I., et al., *The influence of triangular silver nanoplates on antimicrobial activity and color of cotton fabrics pretreated with chitosan*. Journal of Materials Science, 2014. **49**(13): p. 4453-4460.
10. Bogdanović, U., et al., *Nanomaterial with High Antimicrobial Efficacy—Copper/Polyaniline Nanocomposite*. ACS Applied Materials & Interfaces, 2015. **7**(3): p. 1955-1966.
11. Henglein, A., *Physicochemical properties of small metal particles in solution: "microelectrode" reactions, chemisorption, composite metal particles, and the atom-to-metal transition*. The Journal of Physical Chemistry, 1993. **97**(21): p. 5457-5471.

12. Katz, E., I. Willner, and J. Wang, *Electroanalytical and Bioelectroanalytical Systems Based on Metal and Semiconductor Nanoparticles*. *Electroanalysis*, 2004. **16**(1-2): p. 19-44.
13. Zhang, W., et al., *Enhancement of Perovskite-Based Solar Cells Employing Core–Shell Metal Nanoparticles*. *Nano Letters*, 2013. **13**(9): p. 4505-4510.
14. Kerker, M., *The optics of colloidal silver: something old and something new*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1985. **105**(2): p. 297-314.
15. Henglein, A. and D. Meisel, *Spectrophotometric Observations of the Adsorption of Organosulfur Compounds on Colloidal Silver Nanoparticles*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998. **102**(43): p. 8364-8366.
16. Vesna V. Vodnik, J.M.N., *Influence of Negative Charge on the Optical Properties of a Silver Sol*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2000. **65**(3): p. 195 - 200.
17. Siwach, O.P. and P. Sen, *Fluorescence properties of Ag nanoparticles in water, methanol and hexane*. *Journal of Luminescence*, 2009. **129**(1): p. 6-11.
18. Peng, S., et al., *Reversing the size-dependence of surface plasmon resonances*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010. **107**(33): p. 14530-14534.
19. Fleger, Y. and M. Rosenbluh, *Surface plasmons and surface enhanced Raman spectra of aggregated and alloyed gold-silver nanoparticles*. *International Journal of Optics*, 2009. **2009**.
20. Zhao, J., et al., *Interaction of Plasmon and Molecular Resonances for Rhodamine 6G Adsorbed on Silver Nanoparticles*. *Journal of the American Chemical Society*, 2007. **129**(24): p. 7647-7656.
21. Zhou, Z., et al., *Co-adsorption of electrolyte and protein to Ag colloid observed by surface-enhanced Raman scattering*. *Analyst*, 2010. **135**(9): p. 2372-2376.
22. Yacamán, M.J., et al., *Structure shape and stability of nanometric sized particles*. *Journal of Vacuum Science & Technology B*, 2001. **19**(4): p. 1091-1103.
23. Zhang, Q., et al., *Nanomaterials for energy conversion and storage*. *Chemical Society Reviews*, 2013. **42**(7): p. 3127-3171.
24. Li, Y., Y. Wu, and B.S. Ong, *Facile Synthesis of Silver Nanoparticles Useful for Fabrication of High-Conductivity Elements for Printed Electronics*. *Journal of the American Chemical Society*, 2005. **127**(10): p. 3266-3267.

25. Wang, F., et al., *Surface-Enhanced Raman Scattering Detection of pH with Silica-Encapsulated 4-Mercaptobenzoic Acid-Functionalized Silver Nanoparticles*. Analytical Chemistry, 2012. **84**(18): p. 8013-8019.
26. Haes, A.J., et al., *Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy near Molecular Resonances*. Journal of the American Chemical Society, 2006. **128**(33): p. 10905-10914.
27. Walcarius, A., et al., *Nanomaterials for bio-functionalized electrodes: recent trends*. Journal of Materials Chemistry B, 2013. **1**(38): p. 4878-4908.
28. Shang, L., et al., *Fluorescent Conjugated Polymer-Stabilized Gold Nanoparticles for Sensitive and Selective Detection of Cysteine*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(36): p. 13414-13417.
29. Chen, A. and S. Chatterjee, *Nanomaterials based electrochemical sensors for biomedical applications*. Chemical Society Reviews, 2013. **42**(12): p. 5425-5438.
30. Zhou, G. and W. Wang, *Synthesis of silver nanoparticles and their antiproliferation against human lung cancer cells in vitro*. Oriental Journal of Chemistry, 2012. **28**(2): p. 651-655.
31. Kim, S., et al., *Characterization of the effects of silver nanoparticles on liver cell using HR-MAS NMR spectroscopy*. Bull. Korean Chem. Soc, 2011. **32**(6): p. 2021-2026.
32. Huxford, R.C., J. Della Rocca, and W. Lin, *Metal-organic frameworks as potential drug carriers*. Current Opinion in Chemical Biology, 2010. **14**(2): p. 262-268.
33. Wang, A.Z., R. Langer, and O.C. Farokhzad, *Nanoparticle Delivery of Cancer Drugs*. Annual Review of Medicine, 2012. **63**(1): p. 185-198.
34. Liu, F., B. Sanyasi Rao, and J.-M. Nunzi, *A dye functionalized silver-silica core-shell nanoparticle organic light emitting diode*. Organic Electronics, 2011. **12**(7): p. 1279-1284.
35. Maria, K., et al., *Electrical response from nanocomposite PDMS-Ag NPs generated by in situ laser ablation in solution*. Nanotechnology, 2013. **24**(3): p. 035707.
36. Burda, C., et al., *Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes*. Chemical Reviews, 2005. **105**(4): p. 1025-1102.
37. Shapiro, B., et al., *Synthesis of inorganic dyes based on plasmonic silver nanoparticles for the visible and infrared regions of the spectrum*. Nanotechnologies in Russia, 2015. **10**(1-2): p. 25-33.

38. Dong, X., et al., *Shape Control of Silver Nanoparticles by Stepwise Citrate Reduction*. The Journal of Physical Chemistry C, 2009. **113**(16): p. 6573-6576.
39. Jana, N.R., L. Gearheart, and C.J. Murphy, *Wet chemical synthesis of silver nanorods and nanowires of controllable aspect ratio Electronic supplementary information (ESI) available: UV-VIS spectra of silver nanorods*. Chemical Communications, 2001(7): p. 617-618.
40. Hu, J.-Q., et al., *A simple and effective route for the synthesis of crystalline silver nanorods and nanowires*. Advanced Functional Materials, 2004. **14**(2): p. 183-189.
41. Zhang, Q., et al., *A Systematic Study of the Synthesis of Silver Nanoplates: Is Citrate a "Magic" Reagent?* Journal of the American Chemical Society, 2011. **133**(46): p. 18931-18939.
42. Mahmoud, M.A., et al., *Effect of the Dielectric Constant of the Surrounding Medium and the Substrate on the Surface Plasmon Resonance Spectrum and Sensitivity Factors of Highly Symmetric Systems: Silver Nanocubes*. Journal of the American Chemical Society, 2012. **134**(14): p. 6434-6442.
43. Benson, R.C. and H.A. Kues, *Absorption and fluorescence properties of cyanine dyes*. Journal of Chemical & Engineering Data, 1977. **22**(4): p. 379-383.
44. Mishra, A., et al., *Cyanines during the 1990s: A Review*. Chemical Reviews, 2000. **100**(6): p. 1973-2012.
45. Philip, R., et al., *Absorption and fluorescence spectroscopic investigation of indocyanine green*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 1996. **96**(1-3): p. 137-148.
46. v. Berlepsch, H. and C. Böttcher, *H-Aggregates of an Indocyanine Cy5 Dye: Transition from Strong to Weak Molecular Coupling*. The Journal of Physical Chemistry B, 2015. **119**(35): p. 11900-11909.
47. Ushiroda, S., et al., *Dye Sensitization of the Anatase (101) Crystal Surface by a Series of Dicarboxylated Thiocyanine Dyes*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(14): p. 5158-5168.
48. Ding, Y., et al., *Adsorption Characteristics of Thionine on Gold Nanoparticles*. Langmuir, 2006. **22**(5): p. 2292-2298.

49. Takazawa, K., et al., *Optical Waveguide Self-Assembled from Organic Dye Molecules in Solution*. Nano Letters, 2005. **5**(7): p. 1293-1296.
50. Kometani, N., et al., *Luminescence properties of the J-aggregate of cyanine dyes in multilayer assemblies*. Journal of Luminescence, 2000. **87–89**(0): p. 770-772.
51. Hussain, S.A., et al., *J-aggregates of thiacyanine dye organized in LB films: Effect of irradiation of light*. Journal of Luminescence, 2011. **131**(8): p. 1655-1660.
52. Chibisov, A.K., T.D. Slavnova, and H. Görner, *Self-assembly of polymethine dye molecules in solutions: Kinetic aspects of aggregation*. Nanotechnologies in Russia (Online), 2008. **3**(1-2): p. 19-34.
53. Hannah, K.C. and B.A. Armitage, *DNA-Templated Assembly of Helical Cyanine Dye Aggregates: A Supramolecular Chain Polymerization*. Accounts of Chemical Research, 2004. **37**(11): p. 845-853.
54. Jelley, E.E., *Spectral absorption and fluorescence of dyes in the molecular state*. Nature, 1936. **138**(3502): p. 1009-1010.
55. Scheibe, G., *Variability of the absorption spectra of some sensitizing dyes and its cause*. Angew. Chem, 1936. **49**: p. 563.
56. Chibisov, A.K., G.V. Zakharova, and H. Gorner, *Photoprocesses of thiamonomethinecyanine monomers and dimers*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2001. **3**(1): p. 44-49.
57. Tillmann, W. and H. Samha, *J-Aggregates of Cyanine Dyes in Aqueous Solution of Polymers: A Quantitative Study*. American Journal of Undergraduate Research, 2004. **3**(3): p. 1-6.
58. Kobayashi, T. and K. Misawa, *Hierarchical structure of one-dimensional J-aggregates*. Journal of Luminescence, 1997. **72–74**: p. 38-40.
59. Slavnova, T.D., A.K. Chibisov, and H. Görner, *Kinetics of Salt-Induced J-aggregation of Cyanine Dyes*. The Journal of Physical Chemistry A, 2005. **109**(21): p. 4758-4765.
60. Chibisov, A.K., H. Görner, and T.D. Slavnova, *Kinetics of salt-induced J-aggregation of an anionic thiacyanine dye in aqueous solution*. Chemical Physics Letters, 2004. **390**(1–3): p. 240-245.

61. Görner, H., A.K. Chibisov, and T.D. Slavnova, *Kinetics of J-Aggregation of Cyanine Dyes in the Presence of Gelatin*. The Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(9): p. 3917-3923.
62. Kometani, N., et al., *Preparation and Optical Absorption Spectra of Dye-Coated Au, Ag, and Au/Ag Colloidal Nanoparticles in Aqueous Solutions and in Alternate Assemblies*. Langmuir, 2001. **17**(3): p. 578-580.
63. Hranisavljevic, J., et al., *Photoinduced Charge Separation Reactions of J-Aggregates Coated on Silver Nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **124**(17): p. 4536-4537.
64. Pasternack, R.F., et al., *Aggregation Kinetics of Extended Porphyrin and Cyanine Dye Assemblies*. Biophysical journal, 2000. **79**(1): p. 550-560.
65. Avdeeva, V.I. and B.I. Shapiro, *J-Aggregation of Cyanine Dyes in Gelatin Solutions and Matrices*. Doklady Physical Chemistry, 2003. **389**(1-3): p. 77-79.
66. Kamalov, V.F., I.A. Struganova, and K. Yoshihara, *Temperature Dependent Radiative Lifetime of J-Aggregates*. The Journal of Physical Chemistry, 1996. **100**(21): p. 8640-8644.
67. Struganova, I.A., et al., *Influence of Inorganic Salts and Bases on the J-Band in the Absorption Spectra of Water Solutions of 1,1'-Diethyl-2,2'-cyanine Iodide*. The Journal of Physical Chemistry A, 2003. **107**(15): p. 2650-2656.
68. Takazawa, K., *Waveguiding Properties of Fiber-Shaped Aggregates Self-Assembled from Thiocyanine Dye Molecules*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(24): p. 8671-8676.
69. Li, Z.a., et al., *Supramolecular Assembly of Complementary Cyanine Salt J-Aggregates*. Journal of the American Chemical Society, 2015. **137**(37): p. 11920-11923.
70. Shapiro, B.I. and E.V. Manulik, *Multichromic J-aggregates of cyanine dyes for visible and IR range of spectrum*. Nanotechnologies in Russia, 2016. **11**(5): p. 273-279.
71. Romeo, A., et al., *Kinetic Control of Chirality in Porphyrin J-Aggregates*. Journal of the American Chemical Society, 2014. **136**(1): p. 40-43.
72. Maiti, N.C., S. Mazumdar, and N. Periasamy, *J- and H-Aggregates of Porphyrins with Surfactants: Fluorescence, Stopped Flow and Electron Microscopy Studies*. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, 1998. **02**(05): p. 369-376.

73. Rais, D., et al., *Roles of Octabutoxy Substitution and J-Aggregation in Stabilization of the Excited State in Nickel Phthalocyanine*. The Journal of Physical Chemistry A, 2014. **118**(29): p. 5419-5426.
74. Doane, T., et al., *Observation and Photophysical Characterization of Silicon Phthalocyanine J-Aggregate Dimers in Aqueous Solutions*. Chemistry – A European Journal, 2014. **20**(26): p. 8030-8039.
75. Kaiser, T.E., et al., *Supramolecular Construction of Fluorescent J-Aggregates Based on Hydrogen-Bonded Perylene Dyes*. Angewandte Chemie International Edition, 2007. **46**(29): p. 5541-5544.
76. Yagai, S., et al., *Transformation from H- to J-Aggregated Perylene Bisimide Dyes by Complexation with Cyanurates*. Angewandte Chemie International Edition, 2008. **47**(18): p. 3367-3371.
77. Würthner, F., T.E. Kaiser, and C.R. Saha-Möller, *J-Aggregates: From Serendipitous Discovery to Supramolecular Engineering of Functional Dye Materials*. Angewandte Chemie International Edition, 2011. **50**(15): p. 3376-3410.
78. Vladimir, S.L., et al., *Optical properties of noble-metal nanoparticles coated with a dye J-aggregate monolayer*. Quantum Electronics, 2010. **40**(3): p. 246-253.
79. Vukovic, V.V. and J.M. Nedeljkovic, *Surface modification of nanometer-scale silver particles by imidazole*. Langmuir, 1993. **9**(4): p. 980-983.
80. Thomas, K.G. and P.V. Kamat, *Chromophore-Functionalized Gold Nanoparticles*. Accounts of Chemical Research, 2003. **36**(12): p. 888-898.
81. Yoshida, A., N. Uchida, and N. Kometani, *Synthesis and Spectroscopic Studies of Composite Gold Nanorods with a Double-Shell Structure Composed of Spacer and Cyanine Dye J-Aggregate Layers*. Langmuir, 2009. **25**(19): p. 11802-11807.
82. Kamat, P.V., *Meeting the Clean Energy Demand: Nanostructure Architectures for Solar Energy Conversion*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(7): p. 2834-2860.
83. Sanchez, C., et al., *Applications of advanced hybrid organic-inorganic nanomaterials: from laboratory to market*. Chemical Society Reviews, 2011. **40**(2): p. 696-753.
84. Jain, P.K., et al., *Noble Metals on the Nanoscale: Optical and Photothermal Properties and Some Applications in Imaging, Sensing, Biology, and Medicine*. Accounts of Chemical Research, 2008. **41**(12): p. 1578-1586.

85. Ni, W., et al., *Coupling between Molecular and Plasmonic Resonances in Freestanding Dye–Gold Nanorod Hybrid Nanostructures*. Journal of the American Chemical Society, 2008. **130**(21): p. 6692-6693.
86. Li, J., et al., *Donor- π -acceptor structure between Ag nanoparticles and azobenzene chromophore and its enhanced third-order optical non-linearity*. Dalton Transactions, 2009(5): p. 823-831.
87. Wiederrecht, G.P., G.A. Wurtz, and J. Hranisavljevic, *Coherent Coupling of Molecular Excitons to Electronic Polarizations of Noble Metal Nanoparticles*. Nano Letters, 2004. **4**(11): p. 2121-2125.
88. Lebedev, V. and A. Medvedev, *Absorption and Scattering of Light by Hybrid Metal/J-Aggregate Nanoparticles: Plasmon–Exciton Coupling and Size Effects*. Journal of Russian Laser Research, 2013. **34**(4): p. 303-322.
89. Melnikau, D., et al., *Strong plasmon-exciton coupling in a hybrid system of gold nanostars and J-aggregates*. Nanoscale research letters, 2013. **8**(1): p. 1-6.
90. Yoshida, A., Y. Yonezawa, and N. Kometani, *Tuning of the Spectroscopic Properties of Composite Nanoparticles by the Insertion of a Spacer Layer: Effect of Exciton–Plasmon Coupling*. Langmuir, 2009. **25**(12): p. 6683-6689.
91. Yoshida, A., N. Kometani, and Y. Yonezawa, *Silver:dye composite nanoparticles as a building unit of molecular architecture*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2008. **313–314**(0): p. 581-584.
92. Uwada, T., et al., *Single particle spectroscopic investigation on the interaction between exciton transition of cyanine dye J-aggregates and localized surface plasmon polarization of gold nanoparticles*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(4): p. 1549-1552.
93. Yoshida, A. and N. Kometani, *Effect of the Interaction between Molecular Exciton and Localized Surface Plasmon on the Spectroscopic Properties of Silver Nanoparticles Coated with Cyanine Dye J-Aggregates*. The Journal of Physical Chemistry C, 2010. **114**(7): p. 2867-2872.
94. Barooah, N., et al., *Surface functionalized silver nanoparticle conjugates: demonstration of uptake and release of a phototherapeutic porphyrin dye*. Chemical Communications, 2011. **47**(32): p. 9182-9184.

95. Manikandan, P. and V. Ramakrishnan, *Spectral Investigations on N-(2-Methylthiophenyl)-2-Hydroxy-1-Naphthaldimine by Silver Nanoparticles: Quenching*. Journal of Fluorescence, 2011. **21**(2): p. 693-699.
96. Zhang, A., Y. Fang, and H. Shao, *Studies of quenching and enhancement of fluorescence of methyl orange adsorbed on silver colloid*. Journal of Colloid and Interface Science, 2006. **298**(2): p. 769-772.
97. Umadevi, M., et al., *Fluorescence Quenching of 1,4-Dihydroxy-2,3-Dimethyl-9,10-Anthraquinone by Silver Nanoparticles: Size Effect*. Journal of Fluorescence, 2009. **19**(1): p. 3-10.
98. Ghosh, S.K., et al., *Fluorescence quenching of 1-methylaminopyrene near gold nanoparticles: size regime dependence of the small metallic particles*. Chemical Physics Letters, 2004. **395**(4-6): p. 366-372.
99. Lebedev, V.S., et al., *Absorption properties of the composite silver/dye nanoparticles in colloidal solutions*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2008. **326**(3): p. 204-209.
100. Kawasaki, M. and T. Sato, *Direct Voltammetric Observation of Reversible and Irreversible Oxidations of Two-Dimensional J-Aggregates of Cyanine Dye*. The Journal of Physical Chemistry B, 2000. **105**(4): p. 796-803.
101. Aslan, K., et al., *Metal-enhanced fluorescence: an emerging tool in biotechnology*. Current Opinion in Biotechnology, 2005. **16**(1): p. 55-62.
102. Sorokin, A.V., et al., *Plasmon Controlled Exciton Fluorescence of Molecular Aggregates*. The Journal of Physical Chemistry C, 2014. **118**(14): p. 7599-7605.
103. Dulkeith, E., et al., *Fluorescence Quenching of Dye Molecules near Gold Nanoparticles: Radiative and Nonradiative Effects*. Physical Review Letters, 2002. **89**(20): p. 203002.
104. El-Sayed, Y.a.G., M., *Excited State Interaction of Laser Dyes and Silver Nanoparticles in Different Media*. Advances in Nanoparticles, 2012. **1**(3): p. 54 - 60.
105. Lu, Y., et al., *Fluorescently Labeled Gold Nanoparticles with Minimal Fluorescence Quenching*. The Journal of Physical Chemistry C, 2010. **114**(41): p. 17446-17454.
106. Cohanoschi, I. and F.E. Hernández, *Surface Plasmon Enhancement of Two- and Three-Photon Absorption of Hoechst 33 258 Dye in Activated Gold Colloid Solution*. The Journal of Physical Chemistry B, 2005. **109**(30): p. 14506-14512.

107. Chandrasekharan, N., et al., *Dye-Capped Gold Nanoclusters: Photoinduced Morphological Changes in Gold/Rhodamine 6G Nanoassemblies*. The Journal of Physical Chemistry B, 2000. **104**(47): p. 11103-11109.
108. Yonezawa, N.K.a.Y., "*Photophysics and Photochemistry of J-aggregate of Cyanine Dyes*", *Soft Nanomaterials*. Vol. 1. 2009, California: American Scientific Publishers. 1-63.
109. Vujačić, A., et al., *Kinetics of J-Aggregate Formation on the Surface of Au Nanoparticle Colloids*. The Journal of Physical Chemistry C, 2012. **116**(7): p. 4655-4661.
110. Vujačić, A., et al., *Fluorescence Quenching of 5,5'-Disulfopropyl-3,3'-dichlorothiacyanine Dye Adsorbed on Gold Nanoparticles*. The Journal of Physical Chemistry C, 2013. **117**(13): p. 6567-6577.
111. Vujacic, A., et al., *Adsorption and fluorescence quenching of 5,5'-disulfopropyl-3,3' -dichlorothiacyanine dye on gold nanoparticles*. New Journal of Chemistry, 2013. **37**(3): p. 743-751.
112. Hutter, E. and J.H. Fendler, *Exploitation of Localized Surface Plasmon Resonance*. Advanced Materials, 2004. **16**(19): p. 1685-1706.
113. Schulz, L.G., Journal of Advanced Physics, 1957. **6**: p. 102.
114. Doremus, R.H., *Optical Properties of Small Gold Particles*. The Journal of Chemical Physics, 1964. **40**(8): p. 2389-2396.
115. Underwood, S. and P. Mulvaney, *Effect of the Solution Refractive Index on the Color of Gold Colloids*. Langmuir, 1994. **10**(10): p. 3427-3430.
116. Wiley, B.J., et al., *Maneuvering the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanostructures through Shape-Controlled Synthesis*. The Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(32): p. 15666-15675.
117. Liz-Marzán, L.M., *Tailoring Surface Plasmons through the Morphology and Assembly of Metal Nanoparticles*. Langmuir, 2006. **22**(1): p. 32-41.
118. Huang, X., S. Neretina, and M.A. El-Sayed, *Gold Nanorods: From Synthesis and Properties to Biological and Biomedical Applications*. Advanced Materials, 2009. **21**(48): p. 4880-4910.
119. Hamer, F.M., *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, The Cyanine Dyes and Related Compounds*. Vol. 18. 2009: John Wiley & Sons.

120. Mojzych, M. and M. Henary, *Synthesis of Cyanine Dyes*, in *Heterocyclic Polymethine Dyes: Synthesis, Properties and Applications*, L. Strekowski, Editor. 2008, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 1-9.
121. Qun, L., et al., *Synthesis, characterization and photographic properties of some new styryl cyanine dyes*. *Dyes and Pigments*, 1998. **38**(4): p. 211-218.
122. Bouit, P.-A., et al., *A "Cyanine–Cyanine" Salt Exhibiting Photovoltaic Properties*. *Organic Letters*, 2009. **11**(21): p. 4806-4809.
123. Berner, E., et al., *Influence of crystalline titanium oxide layer smoothness on the performance of inverted organic bilayer solar cells*. *Applied Physics Letters*, 2013. **102**(18): p. 183903.
124. Anaya, C., N. Church, and J.P. Lewis, *Detection and identification of bacterial cell surface proteins by fluorescent labeling*. *Proteomics*, 2007. **7**(2): p. 215-219.
125. Edgington, L.E., et al., *Functional Imaging of Legumain in Cancer Using a New Quenched Activity-Based Probe*. *Journal of the American Chemical Society*, 2013. **135**(1): p. 174-182.
126. Ernst, L.A., et al., *Cyanine dye labeling reagents for sulfhydryl groups*. *Cytometry*, 1989. **10**(1): p. 3-10.
127. Weber, M.J., *Handbook of lasers*. Vol. 18. 2000: CRC press.
128. Harrison, W.J., D.L. Mateer, and G.J.T. Tiddy, *Liquid-Crystalline J-Aggregates Formed by Aqueous Ionic Cyanine Dyes*. *The Journal of Physical Chemistry*, 1996. **100**(6): p. 2310-2321.
129. Maskasky, J.E., *Molecular orientation of individual J aggregates on gelatin-grown AgBr tabular microcrystals*. *Langmuir*, 1991. **7**(2): p. 407-421.
130. Jeunieu, L., V. Alin, and J.B. Nagy, *Adsorption of Thiocyanine Dyes on Silver Halide Nanoparticles: Study of the Adsorption Site*. *Langmuir*, 2000. **16**(2): p. 597-606.
131. Struganova, I.A., H. Lim, and S.A. Morgan, *The Influence of Inorganic Salts and Bases on the Formation of the J-band in the Absorption and Fluorescence Spectra of the Diluted Aqueous Solutions of TDBC*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2002. **106**(42): p. 11047-11050.
132. Robinson, B.H., A. Loffler, and G. Schwarz, *Thermodynamic behaviour of acridine orange in solution. Model system for studying stacking and charge-effects on self-aggregation*.

- Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases, 1973. **69**(0): p. 56-69.
133. Franck, J. and E. Teller, *Migration and Photochemical Action of Excitation Energy in Crystals*. The Journal of Chemical Physics, 1938. **6**(12): p. 861-872.
134. Yao, H., et al., *In Situ Detection of Birefringent Mesoscopic H and J Aggregates of Thiocarbocyanine Dye in Solution*. Langmuir, 2005. **21**(3): p. 1067-1073.
135. Kobayashi, T., *J-Aggregates*. 1996, World Scientific: Singapore.
136. Stokes, G.G., *On the Change of Refrangibility of Light*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 1852. **142**: p. 463-562.
137. Cowan, J.A., *Inorganic biochemistry : an introduction*. 1997, New York [u.a.]: Wiley-VCH.
138. Voet, D.a.V., Judith G., *Biochemistry*. 1995, New York: John Willey & Sons.
139. Nicholson, R.S. and I. Shain, *Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems*. Analytical Chemistry, 1964. **36**(4): p. 706-723.
140. Kohlrausch, R., *Theorie des elektrischen Rückstandes in der Leidener Flasche*. Annalen der Physik, 1854. **167**(2): p. 179-214.
141. Anderssen, R.S., S.A. Husain, and R. Loy, *The Kohlrausch function: properties and applications*. Anziam Journal, 2004. **45**: p. 800-816.
142. Williams, G. and D.C. Watts, *Non-symmetrical dielectric relaxation behaviour arising from a simple empirical decay function*. Transactions of the Faraday Society, 1970. **66**(0): p. 80-85.
143. Berberan-Santos, M.N., E.N. Bodunov, and B. Valeur, *Mathematical functions for the analysis of luminescence decays with underlying distributions 1. Kohlrausch decay function (stretched exponential)*. Chemical Physics, 2005. **315**(1-2): p. 171-182.
144. Zschieschang, U., et al., *Bias stress effect in low-voltage organic thin-film transistors*. Applied Physics A, 2009. **95**(1): p. 139-145.
145. Lee, K.C.B., et al., *Application of the Stretched Exponential Function to Fluorescence Lifetime Imaging*. Biophysical Journal, 2001. **81**(3): p. 1265-1274.

146. Shimakawa, K., N. Nakagawa, and T. Itoh, *The origin of stretched exponential function in dynamic response of photodarkening in amorphous chalcogenides*. Applied Physics Letters, 2009. **95**(5): p. 051908.
147. Johnston, D.C., *Stretched exponential relaxation arising from a continuous sum of exponential decays*. Physical Review B, 2006. **74**(18): p. 184430.
148. June, R.K., J.P. Cunningham, and D.P. Fyhrrie, *A Novel Method for Curvefitting the Stretched Exponential Function to Experimental Data*. Biomedical engineering research, 2013. **2**(4): p. 153-158.
149. Vlad, M.O., J. Ross, and D.L. Huber, *Linear Free Energy Relations and Reversible Stretched Exponential Kinetics in Systems with Static or Dynamical Disorder*. The Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**(9): p. 1563-1580.
150. Jensen, R.A., et al., *Thermal Recovery of Colloidal Quantum Dot Ensembles Following Photoinduced Dimming*. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2015. **6**(15): p. 2933-2937.
151. Valeur, B. and M.N. Berberan-Santos, *A brief history of fluorescence and phosphorescence before the emergence of quantum theory*. Journal of Chemical Education, 2011. **88**(6): p. 731-738.
152. Jablonski, A., *Efficiency of anti-Stokes fluorescence in dyes*. Nature, 1933. **131**(839-840): p. 21.
153. Melhuish, W.H., *Quantum Efficiencies of Fluorescence of Organic Substances: Effect of Solvent and Concentration of the Fluorescent Solute I*. The Journal of Physical Chemistry, 1961. **65**(2): p. 229-235.
154. Yuan, L., et al., *FRET-Based Small-Molecule Fluorescent Probes: Rational Design and Bioimaging Applications*. Accounts of Chemical Research, 2013. **46**(7): p. 1462-1473.
155. Liang, M., et al., *Optical Antisense Tumor Targeting in Vivo with an Improved Fluorescent DNA Duplex Probe*. Bioconjugate Chemistry, 2009. **20**(6): p. 1223-1227.
156. de Silva, A.P., T.S. Moody, and G.D. Wright, *Fluorescent PET (Photoinduced Electron Transfer) sensors as potent analytical tools*. Analyst, 2009. **134**(12): p. 2385-2393.
157. de Silva, A.P., et al., *Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches*. Chemical Reviews, 1997. **97**(5): p. 1515-1566.
158. Prasad, P.N., *Plasmonics*, in *Nanophotonics*. 2004, John Wiley & Sons, Inc. p. 129-151.

159. Amiot, C.L., et al., *Near-infrared fluorescent materials for sensing of biological targets*. *Sensors*, 2008. **8**(5): p. 3082-3105.
160. Kang, K.A., et al., *Fluorescence manipulation by gold nanoparticles: from complete quenching to extensive enhancement*. *Journal of nanobiotechnology*, 2011. **9**(1): p. 1.
161. Chen, J., et al., *Development of Gold Nanoparticle-Enhanced Fluorescent Nanocomposites*. *Langmuir*, 2013. **29**(5): p. 1584-1591.
162. Lakowicz, J.R., *Principles of fluorescence spectroscopy*. 2007: Springer.
163. Kokalj, A., *XCrySDen—a new program for displaying crystalline structures and electron densities*. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 1999. **17**(3–4): p. 176-179.
164. Nedeljkovic, J.M and V.V.Vodnik, *Adsorption of boron containing molecules on silver nanoparticles*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 1998. **63**(12): p. 995-1000.
165. Cricenti, A. and R. Generosi, *Air operating atomic force-scanning tunneling microscope suitable to study semiconductors, metals, and biological samples*. *Review of scientific instruments*, 1995. **66**(4): p. 2843-2847.
166. Paolo, G., et al., *Quantum Espresso: a modular and open-source software project for quantum simulations of materials*. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2009. **21**(39): p. 395502.
167. Perdew, J.P. and A. Zunger, *Self-interaction correction to density-functional approximations for many-electron systems*. *Physical Review B*, 1981. **23**(10): p. 5048-5079.
168. Lowdin, P.-O., *Nonorthogonality Problem*. *Advances in quantum chemistry*, 1970. **5**: p. 185-199.
169. Lim, I.I.S., et al., *Kinetic and Thermodynamic Assessments of the Mediator–Template Assembly of Nanoparticles*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2005. **109**(7): p. 2578-2583.
170. Maye, M.M., et al., *Mediator–Template Assembly of Nanoparticles*. *Journal of the American Chemical Society*, 2005. **127**(5): p. 1519-1529.
171. Mogensen, K.B. and K. Kneipp, *Size-Dependent Shifts of Plasmon Resonance in Silver Nanoparticle Films Using Controlled Dissolution: Monitoring the Onset of Surface Screening Effects*. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2014. **118**(48): p. 28075-28083.

172. Amendola, V., O.M. Bakr, and F. Stellacci, *A Study of the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanoparticles by the Discrete Dipole Approximation Method: Effect of Shape, Size, Structure, and Assembly*. Plasmonics, 2010. **5**(1): p. 85-97.
173. Willets, K.A. and R.P. Van Duyne, *Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing*. Annual Review of Physical Chemistry, 2007. **58**: p. 267-297.
174. Mock, J.J., et al., *Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles*. The Journal of Chemical Physics, 2002. **116**(15): p. 6755-6759.
175. Zhao, J., et al., *Localized surface plasmon resonance biosensors*. Nanomedicine, 2006. **1**(2): p. 219-228.
176. Lu, L., et al., *Silver Nanoplates with Special Shapes: Controlled Synthesis and Their Surface Plasmon Resonance and Surface-Enhanced Raman Scattering Properties*. Chemistry of Materials, 2006. **18**(20): p. 4894-4901.
177. Hagedorfer, H., et al., *Characterization of Silver Nanoparticle Products Using Asymmetric Flow Field Flow Fractionation with a Multidetector Approach – a Comparison to Transmission Electron Microscopy and Batch Dynamic Light Scattering*. Analytical Chemistry, 2012. **84**(6): p. 2678-2685.
178. Jans, H., et al., *Dynamic Light Scattering as a Powerful Tool for Gold Nanoparticle Bioconjugation and Biomolecular Binding Studies*. Analytical Chemistry, 2009. **81**(22): p. 9425-9432.
179. Schmidt, B., et al., *Quantitative Characterization of Gold Nanoparticles by Field-Flow Fractionation Coupled Online with Light Scattering Detection and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Analytical Chemistry, 2011. **83**(7): p. 2461-2468.
180. Liu, X., et al., *A One-Step Homogeneous Immunoassay for Cancer Biomarker Detection Using Gold Nanoparticle Probes Coupled with Dynamic Light Scattering*. Journal of the American Chemical Society, 2008. **130**(9): p. 2780-2782.
181. Mahl, D., et al., *Possibilities and limitations of different analytical methods for the size determination of a bimodal dispersion of metallic nanoparticles*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2011. **377**(1–3): p. 386-392.
182. Glidden, M. and M. Muschol, *Characterizing Gold Nanorods in Solution Using Depolarized Dynamic Light Scattering*. The Journal of Physical Chemistry C, 2012. **116**(14): p. 8128-8137.

183. Jans, H. and Q. Huo, *Gold nanoparticle-enabled biological and chemical detection and analysis*. Chemical Society Reviews, 2012. **41**(7): p. 2849-2866.
184. Sharma, S., et al., *Understanding Growth Kinetics of Nanorods in Microemulsion: A Combined Fluorescence Correlation Spectroscopy, Dynamic Light Scattering, and Electron Microscopy Study*. Journal of the American Chemical Society, 2012. **134**(48): p. 19677-19684.
185. Stojanović Z, M.S., Uskoković D., *Merenje raspodele veličina čestica metodom difrakcije laserske svetlosti*. Tehnika - Novi materijali 2010. **19**(5): p. 1-15.
186. Kelly, R.N., et al., *Graphical comparison of image analysis and laser diffraction particle size analysis data obtained from the measurements of nonspherical particle systems*. AAPS PharmSciTech, 2006. **7**(3): p. E93-E106.
187. Gu, Y., et al., *AFM Characterization of Dendrimer-Stabilized Platinum Nanoparticles*. Langmuir, 2005. **21**(7): p. 3122-3131.
188. Baer, D.R., et al., *Application of surface chemical analysis tools for characterization of nanoparticles*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010. **396**(3): p. 983-1002.
189. Quinn, B.M., C. Dekker, and S.G. Lemay, *Electrodeposition of Noble Metal Nanoparticles on Carbon Nanotubes*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(17): p. 6146-6147.
190. Contreras-Cáceres, R., et al., *Encapsulation and Growth of Gold Nanoparticles in Thermoresponsive Microgels*. Advanced Materials, 2008. **20**(9): p. 1666-1670.
191. Darroudi, M., et al., *Green synthesis and characterization of gelatin-based and sugar-reduced silver nanoparticles*. International journal of nanomedicine, 2011. **6**(1): p. 569-574.
192. Zavyalov, S.A., A.N. Pivkina, and J. Schoonman, *Formation and characterization of metal-polymer nanostructured composites*. Solid State Ionics, 2002. **147**(3-4): p. 415-419.
193. Roqué, J., et al., *Evidence of nucleation and growth of metal Cu and Ag nanoparticles in lustre: AFM surface characterization*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2005. **351**(6-7): p. 568-575.
194. Dusan, L., et al., *Fabrication of gold nanorod arrays by templating from porous alumina*. Nanotechnology, 2005. **16**(10): p. 2275.

195. Murphy, C.J. and C.J. Orendorff, *Alignment of Gold Nanorods in Polymer Composites and on Polymer Surfaces*. *Advanced Materials*, 2005. **17**(18): p. 2173-2177.
196. Boyd, R.D. and A. Cuenat, *New analysis procedure for fast and reliable size measurement of nanoparticles from atomic force microscopy images*. *Journal of Nanoparticle Research*, 2011. **13**(1): p. 105-113.
197. Boyd, R.D., S.K. Pichaimuthu, and A. Cuenat, *New approach to inter-technique comparisons for nanoparticle size measurements; using atomic force microscopy, nanoparticle tracking analysis and dynamic light scattering*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2011. **387**(1): p. 35-42.
198. Tomaszewska, E., et al., *Detection Limits of DLS and UV-Vis Spectroscopy in Characterization of Polydisperse Nanoparticles Colloids*. *Journal of Nanomaterials*, 2013. **2013**: p. 10.
199. Hoo, C.M., et al., *A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions*. *Journal of Nanoparticle Research*, 2008. **10**(1): p. 89-96.
200. Yao, H., et al., *Superstructures of Mesoscopic Monomolecular Sheets of Thiocyanine J Aggregates in Solution*. *Langmuir*, 2003. **19**(21): p. 8882-8887.
201. Vujačić, A.V., *Kinetika i mehanizam adsorpcije natrijum (Z)-3-(5-hlor-2-((5-hlor-3-(3-sulfonatopropil) benzotiazol-2(3H)-iliden)metil)benzotiazol-3-ium-3-il)propan-1-sulfonata na koloidne čestice zlata različitih svojstava i veličine*, *Hemijski fakultet*. 2013, Univerzitet u Beogradu: Beograd.
202. Tani, K., et al., *Photophysical Property and Photostability of J-Aggregate Thin Films of Thiocyanine Dyes Prepared by the Spin-Coating Method*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2008. **112**(3): p. 836-844.
203. Peng, X., et al., *Heptamethine Cyanine Dyes with a Large Stokes Shift and Strong Fluorescence: A Paradigm for Excited-State Intramolecular Charge Transfer*. *Journal of the American Chemical Society*, 2005. **127**(12): p. 4170-4171.
204. Tian, C.-H., et al., *Mesoscopic Organization of Two-Dimensional J-Aggregates of Thiocyanine in Langmuir–Schaefer Films*. *Langmuir*, 2004. **20**(26): p. 11569-11576.
205. Sato, T., et al., *Spectroscopic Properties of Noble Metal Nano-Particles Covered with J-Aggregates of Cyanine Dye*. *Chemistry Letters*, 2001. **30**(5): p. 402-403.

206. Fofang, N.T., et al., *Plexcitonic Nanoparticles: Plasmon–Exciton Coupling in Nanoshell–J-Aggregate Complexes*. Nano Letters, 2008. **8**(10): p. 3481-3487.
207. Cheng, H.-W., et al., *Assessing Interparticle J-Aggregation of Two Different Cyanine Dyes with Gold Nanoparticles and Their Spectroscopic Characteristics*. The Journal of Physical Chemistry C, 2015. **119**(49): p. 27786-27796.
208. Laban, B.B., et al., *Spectroscopic and fluorescence properties of silver-dye composite nanoparticles*. Russian Journal of Physical Chemistry A, 2013. **87**(13): p. 2219-2224.
209. Laban Bojana, B., V. Vodnik, and V. Vasić, *Spectrophotometric observations of thiocyanine dye J-aggregation on citrate capped silver nanoparticles*, Nanospectroscopy, 2015. p. 54-60.
210. Lim, I.I.S., et al., *Adsorption of Cyanine Dyes on Gold Nanoparticles and Formation of J-Aggregates in the Nanoparticle Assembly*. The Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(13): p. 6673-6682.
211. Shapiro, B.I., et al., *Light absorption and plasmon – exciton interaction in three-layer nanorods with a gold core and outer shell composed of molecular J- and H-aggregates of dyes*. Quantum Electronics, 2015. **45**(12): p. 1153.
212. Hao, Y.-W., et al., *Hybrid-State Dynamics of Gold Nanorods/Dye J-Aggregates under Strong Coupling*. Angewandte Chemie International Edition, 2011. **50**(34): p. 7824-7828.
213. Melnikau, D., et al., *Rabi Splitting in Photoluminescence Spectra of Hybrid Systems of Gold Nanorods and J-Aggregates*. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2016. **7**(2): p. 354-362.
214. Fedele, S., et al., *Strong coupling in molecular exciton-plasmon Au nanorod array systems*. Applied Physics Letters, 2016. **108**(5): p. 053102.
215. Zengin, G., et al., *Approaching the strong coupling limit in single plasmonic nanorods interacting with J-aggregates*. Scientific Reports, 2013. **3**: p. 3074.
216. Guralchuk, G.Y., et al., *Anomalous Surfactant-Induced Enhancement of Luminescence Quantum Yield of Cyanine Dye J-Aggregates*. The Journal of Physical Chemistry C, 2008. **112**(38): p. 14762-14768.
217. Valleau, S., et al., *Exciton transport in thin-film cyanine dye J-aggregates*. The Journal of Chemical Physics, 2012. **137**(3): p. 034109.

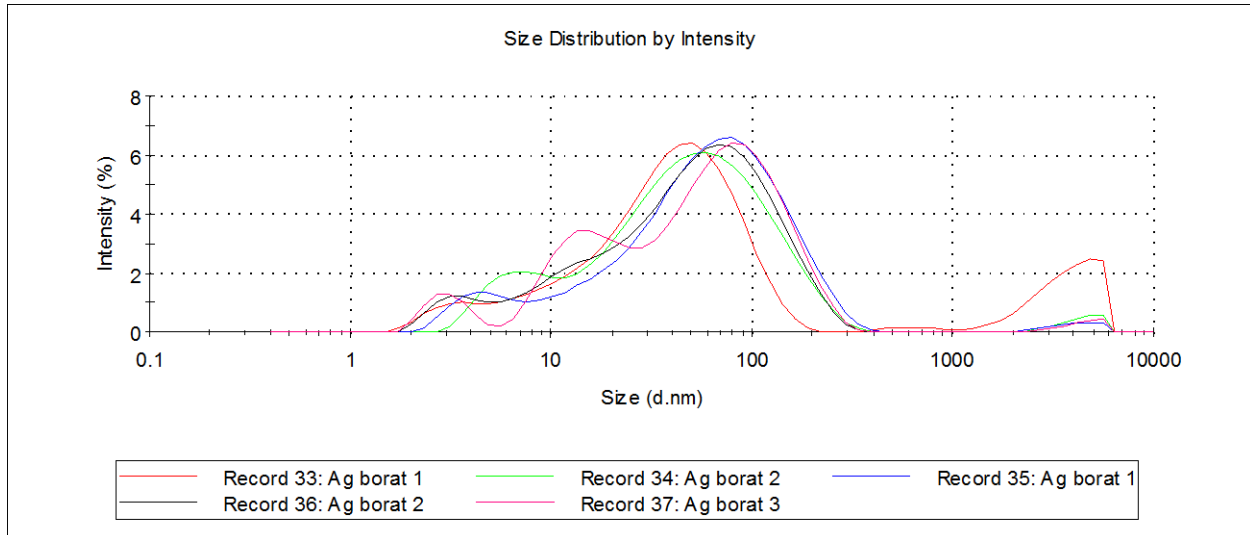
218. Pastore, M. and F. De Angelis, *Aggregation of Organic Dyes on TiO₂ in Dye-Sensitized Solar Cells Models: An ab Initio Investigation*. ACS Nano, 2010. **4**(1): p. 556-562.
219. Kodaka, M., *Requirements for generating sigmoidal time-course aggregation in nucleation-dependent polymerization model*. Biophysical Chemistry, 2004. **107**(3): p. 243-253.
220. Leyvraz, F., *Rate Equation Approach to Aggregation Phenomena*, in *On Growth and Form*, H.E. Stanley and N. Ostrowsky, Editors. 1986, Springer Netherlands. p. 136-144.
221. Laban, B., et al., *Mechanism and Kinetics of J-Aggregation of Thiocyanine Dye in the Presence of Silver Nanoparticles*. The Journal of Physical Chemistry C, 2014. **118**(40): p. 23393-23401.
222. Laban, B., et al., *Mechanism of 3,3'-Disulfopropyl-5,5'-Dichlorothiocyanine Anion Interaction With Citrate-Capped Silver Nanoparticles: Adsorption and J-Aggregation*. The Journal of Physical Chemistry C, 2016. **120**(32): p. 18066-18074.
223. Parang, Z., et al., *Fluorescence emission spectra of silver and silver/cobalt nanoparticles*. Scientia Iranica, 2012. **19**(3): p. 943-947.
224. Singh, A.K., et al., *Synthesis of highly fluorescent water-soluble silver nanoparticles for selective detection of Pb(ii) at the parts per quadrillion (PPQ) level*. Chemical Communications, 2012. **48**(72): p. 9047-9049.
225. Li, J.L., X.Q. An, and Y.Y. Zhu, *Controllable synthesis and characterization of highly fluorescent silver nanoparticles*. Journal of Nanoparticle Research, 2012. **14**(12): p. 1-9.
226. Ashenfelter, B.A., et al., *Fluorescence from Molecular Silver Nanoparticles*. The Journal of Physical Chemistry C, 2015. **119**(35): p. 20728-20734.
227. Olejnik, M., Ł. Bujak, and S. Mackowski, *Plasmonic Molecular Nanohybrids—Spectral Dependence of Fluorescence Quenching*. International Journal of Molecular Sciences, 2012. **13**(1): p. 1018.
228. Shemeena Basheer, N., et al., *Thermal lens probing of distant dependent fluorescence quenching of Rhodamine 6G by silver nanoparticles*. Journal of Luminescence, 2013. **137**: p. 225-229.
229. Yao, H., T. Isohashi, and K. Kimura, *Large birefringence of single J aggregate nanosheets of thiocyanine dye in solution*. Chemical physics letters, 2004. **396**(4): p. 316-322.

230. Scatchard, G., *The Attractions of Proteins for Small Molecules and Ions*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1949. **51**(4): p. 660-672.
231. Munson, P., *Ligand Binding Data Analysis: Theoretical and Practical Aspects*, in *Principles and Methods in Receptor Binding*, F. Cattabeni and S. Nicosia, Editors. 1984, Springer US. p. 1-12.
232. Cantor, C.R.a.S., Paul R., *Biophysical Chemistry*. 1980: W. H. Freeman. 365.
233. Prinz, H., *Hill coefficients, dose–response curves and allosteric mechanisms*. Journal of Chemical Biology, 2009. **3**(1): p. 37-44.
234. Gesztelyi, R., et al., *The Hill equation and the origin of quantitative pharmacology*. Archive for History of Exact Sciences, 2012. **66**(4): p. 427-438.
235. Ayars, E.J., H.D. Hallen, and C.L. Jahncke, *Electric Field Gradient Effects in Raman Spectroscopy*. Physical Review Letters, 2000. **85**(19): p. 4180-4183.
236. Nie, S. and S.R. Emory, *Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering*. Science, 1997. **275**(5303): p. 1102-1106.
237. Tao, A., et al., *Langmuir–Blodgett Silver Nanowire Monolayers for Molecular Sensing Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*. Nano Letters, 2003. **3**(9): p. 1229-1233.
238. Schlücker, S., *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: Concepts and Chemical Applications*. Angewandte Chemie International Edition, 2014. **53**(19): p. 4756-4795.
239. Meheretu, G.M., D. Cialla, and J. Popp, *Surface Enhanced Raman Spectroscopy on Silver Nanoparticles*. International Journal of Biochemistry and Biophysics, 2014. **2**(4): p. 63-67.
240. Doering, W.E. and S. Nie, *Spectroscopic Tags Using Dye-Embedded Nanoparticles and Surface-Enhanced Raman Scattering*. Analytical Chemistry, 2003. **75**(22): p. 6171-6176.
241. Cecchini, M.P., et al., *Rapid Ultrasensitive Single Particle Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Using Metallic Nanopores*. Nano Letters, 2013. **13**(10): p. 4602-4609.
242. Šimáková, P., et al., *Polyethylene-glycol-Stabilized Ag Nanoparticles for Surface-Enhanced Raman Scattering Spectroscopy: Ag Surface Accessibility Studied Using Metalation of Free-Base Porphyrins*. The Journal of Physical Chemistry C, 2014. **118**(14): p. 7690-7697.
243. Kneipp, K., et al., *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy in Single Living Cells Using Gold Nanoparticles*. Applied Spectroscopy, 2002. **56**(2): p. 150-154.

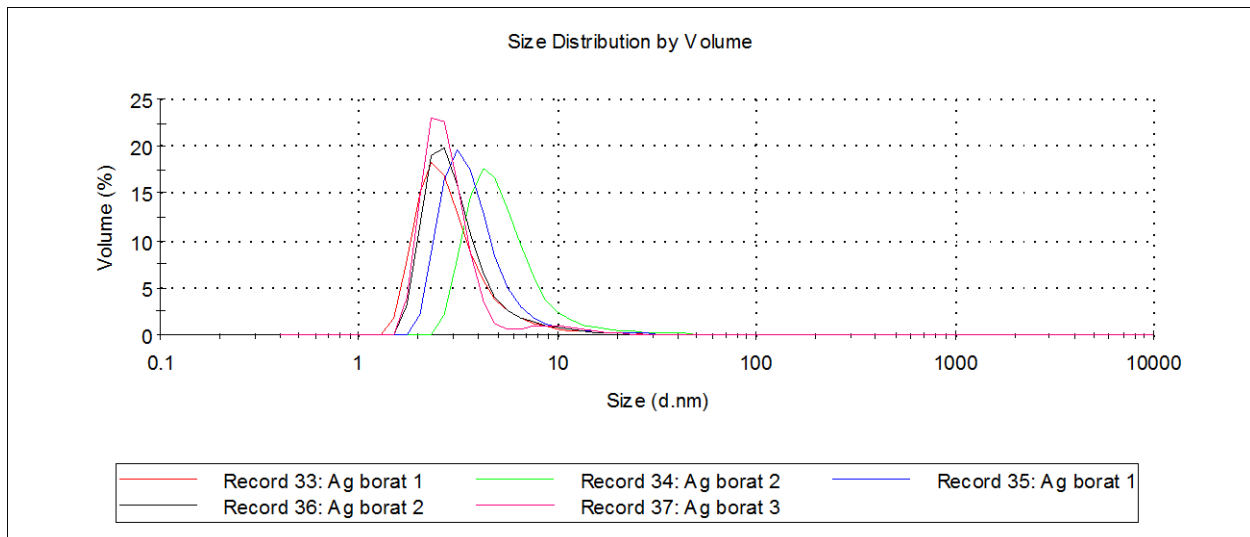
244. Qian, X.M. and S.M. Nie, *Single-molecule and single-nanoparticle SERS: from fundamental mechanisms to biomedical applications*. Chemical Society Reviews, 2008. **37**(5): p. 912-920.
245. Kitahama, Y., et al., *Identification of Thiocyanine J-aggregates Adsorbed on Single Silver Nanoaggregates by Surface-Enhanced Raman Scattering and Emission Spectroscopy*. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 2009. **82**(9): p. 1126-1132.
246. Kitahama, Y., et al., *Time-resolved Surface-enhanced Resonance Raman Scattering Spectra of Thiocyanine Molecules in Water*. Chemistry Letters, 2009. **38**(1): p. 54-55.
247. Kerker, M., et al., *Surface enhanced Raman scattering (SERS) of citrate ion adsorbed on colloidal silver*. Applied Optics, 1980. **19**(19): p. 3253-3255.
248. Siiman, O., et al., *Surface-enhanced Raman scattering by citrate on colloidal silver*. The Journal of Physical Chemistry, 1983. **87**(6): p. 1014-1023.
249. Gerakines, P., et al., *The infrared band strengths of H₂O, CO and CO₂ in laboratory simulations of astrophysical ice mixtures*. arXiv preprint astro-ph/9409076, 1994.
250. Hecht, L.N.a.B., *Principles of Nano-Optics*. 2006: Cambridge University Press.
251. Hasobe, T., et al., *Photovoltaic Cells Using Composite Nanoclusters of Porphyrins and Fullerenes with Gold Nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(4): p. 1216-1228.
252. Huang, X., et al., *Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy*. Nanomedicine, 2007. **2**(5): p. 681-693.
253. Bhowmick, S., et al., *Resonance energy transfer from a fluorescent dye to a metal nanoparticle*. The Journal of Chemical Physics, 2006. **125**(18): p. 181102.
254. Yun, C.S., et al., *Nanometal Surface Energy Transfer in Optical Rulers, Breaking the FRET Barrier*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(9): p. 3115-3119.
255. Aslan, K., P. Holley, and C.D. Geddes, *Metal-enhanced fluorescence from silver nanoparticle-deposited polycarbonate substrates*. Journal of Materials Chemistry, 2006. **16**(27): p. 2846-2852.
256. Saito, K., *Quenching of Excited J Aggregates on Metals by Surface Plasmon Excitations*. The Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**(31): p. 6579-6583.

257. Chowdhury, M.H., et al., *Systematic Computational Study of the Effect of Silver Nanoparticle Dimers on the Coupled Emission from Nearby Fluorophores*. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2008. **112**(30): p. 11236-11249.
258. Dai, Z., et al., *Mimicking Photosynthetic Two-Step Energy Transfer in Cyanine Triads Assembled into Capsules*. *Langmuir*, 2002. **18**(12): p. 4553-4555.

Прилог

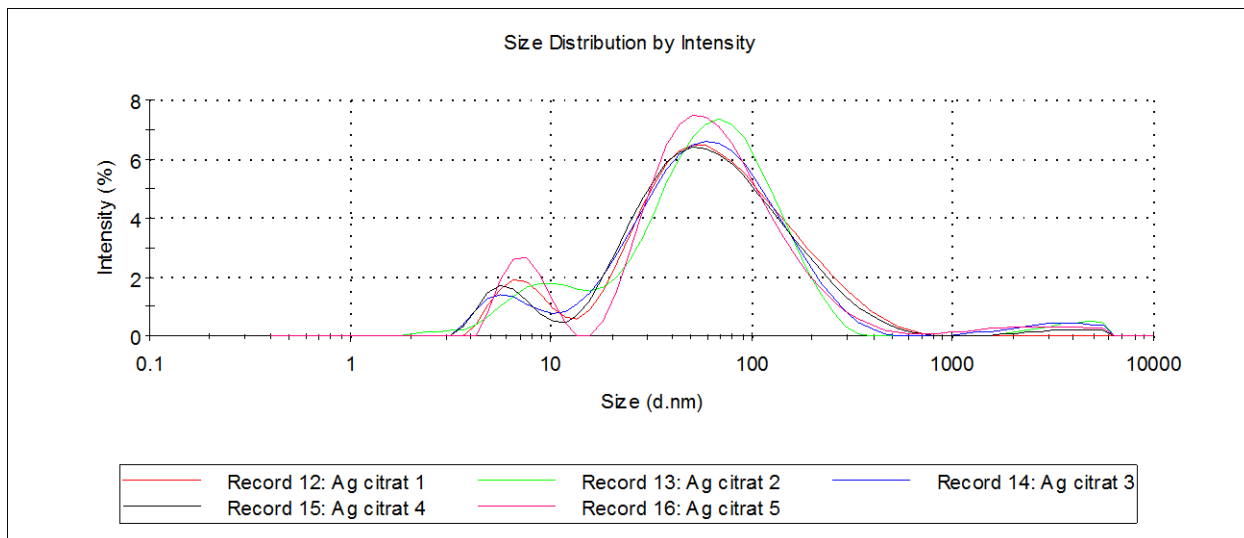


a)

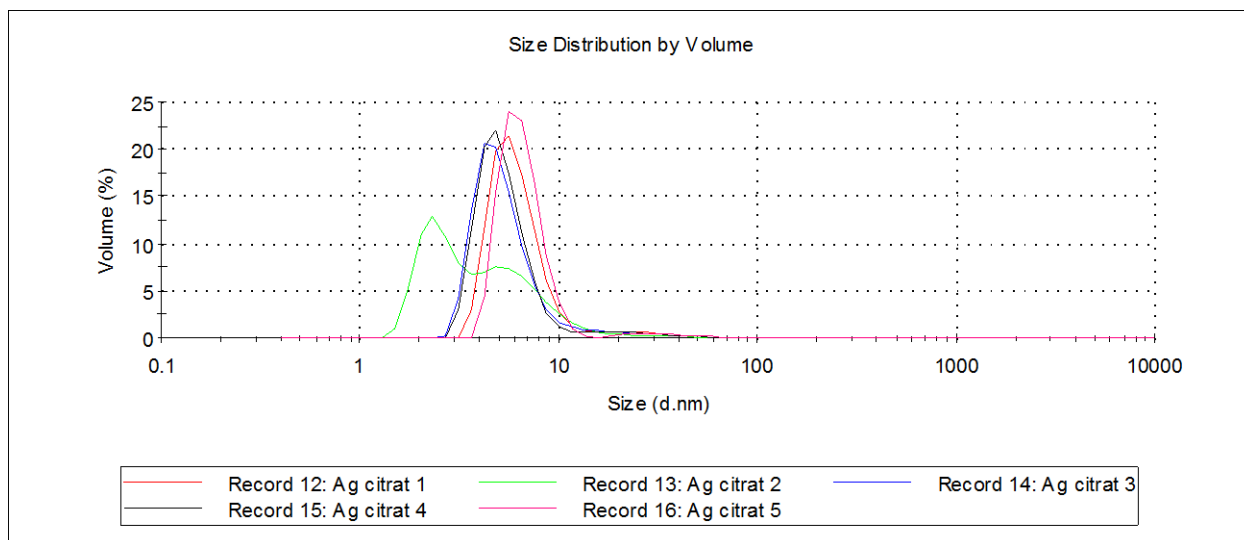


б)

Слика 92: DLS график за 5 узастопних мерења, расподела честица по интензитету (а) и по запремини (б), колоидне дисперзије AgNP₆.

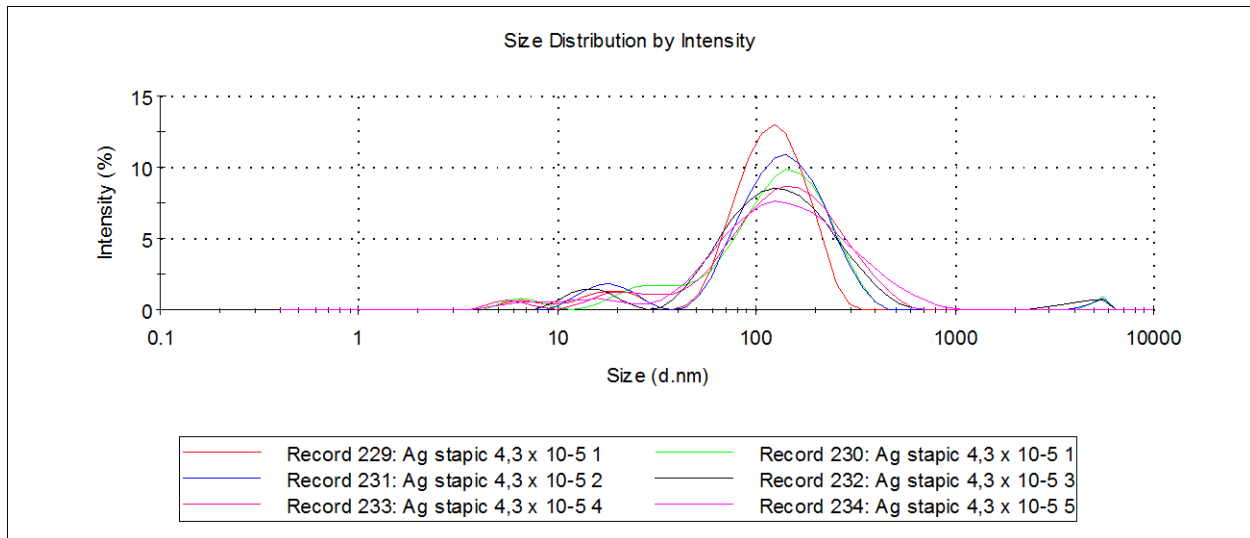


a)

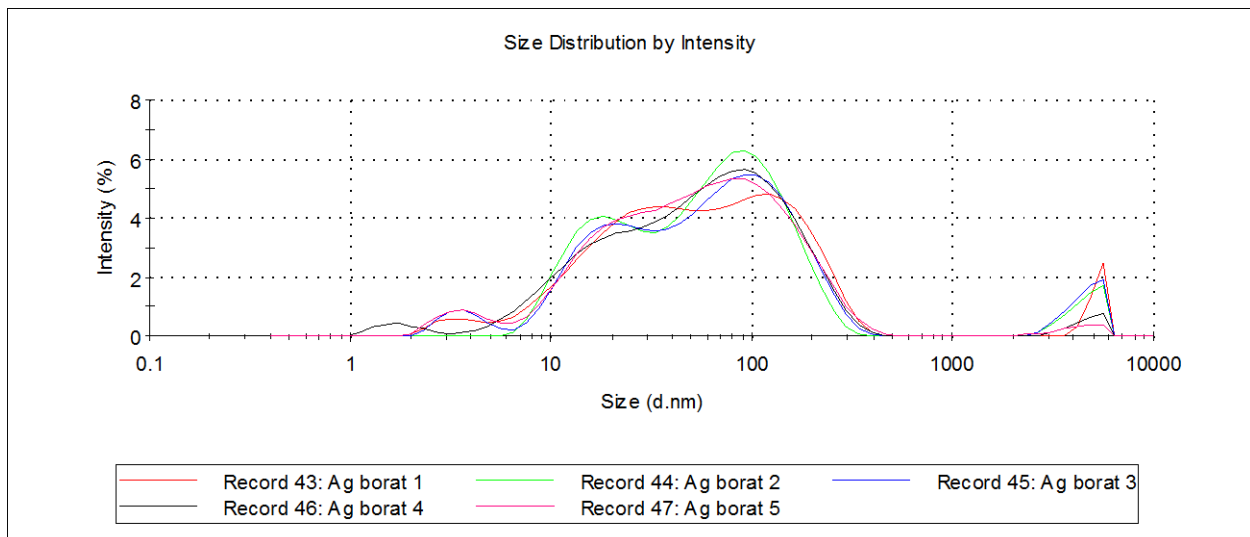


б)

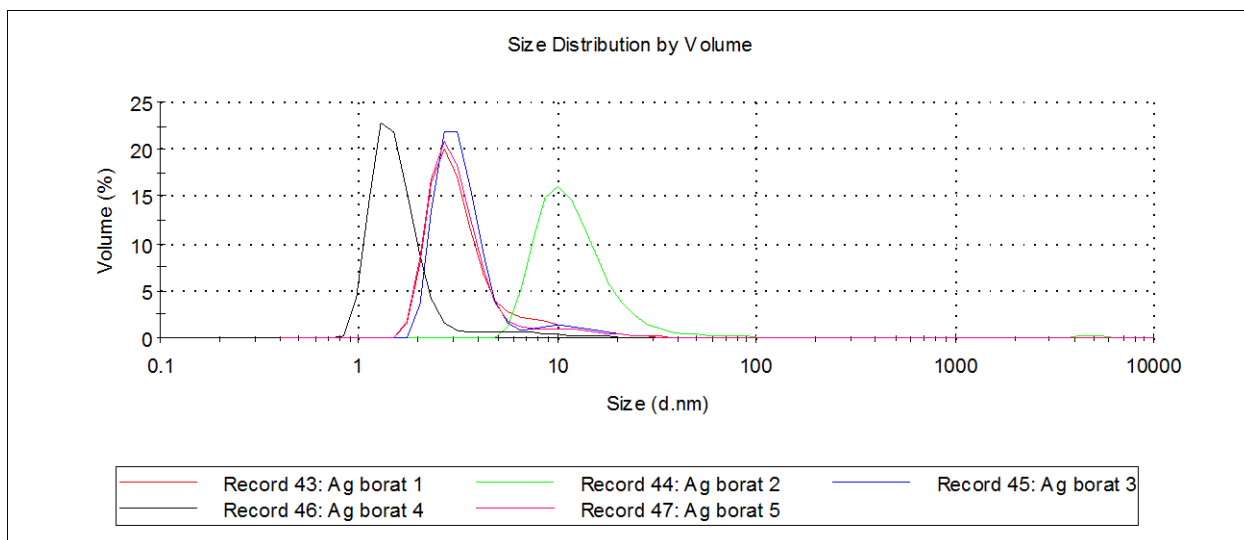
Слика 93: DLS график за 5 узастопних мерења, расподела честица по интензитету (а) и по запремини (б), колоидне дисперзије AgNP₁₀.



Слика 94: DLS график за 6 узастопних мерења, расподела честица по интензитету колоидне дисперзије AgNRs.

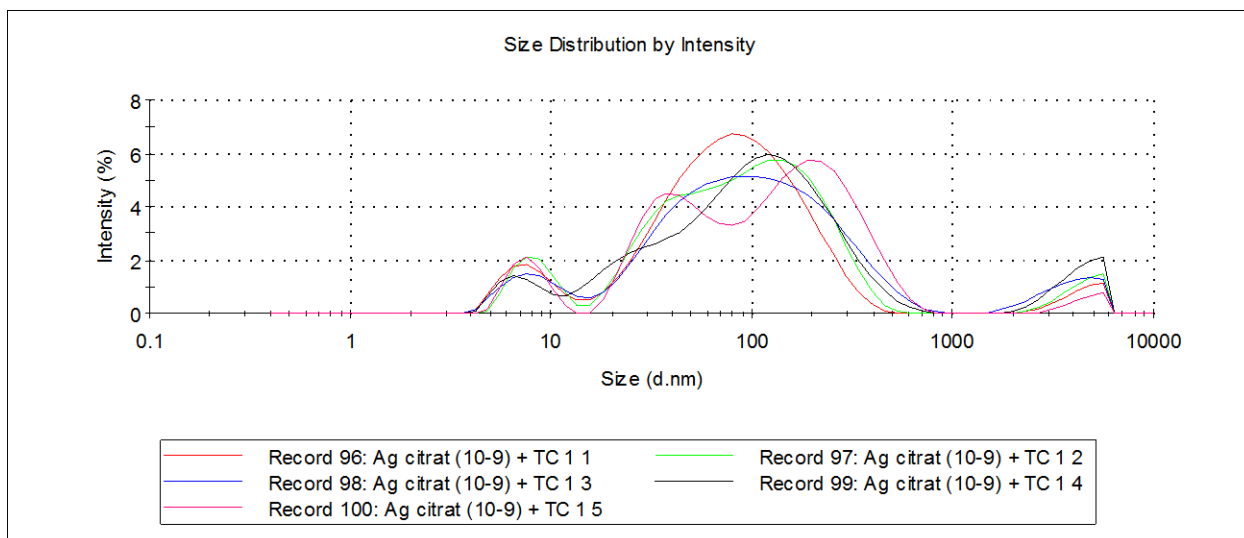


a)

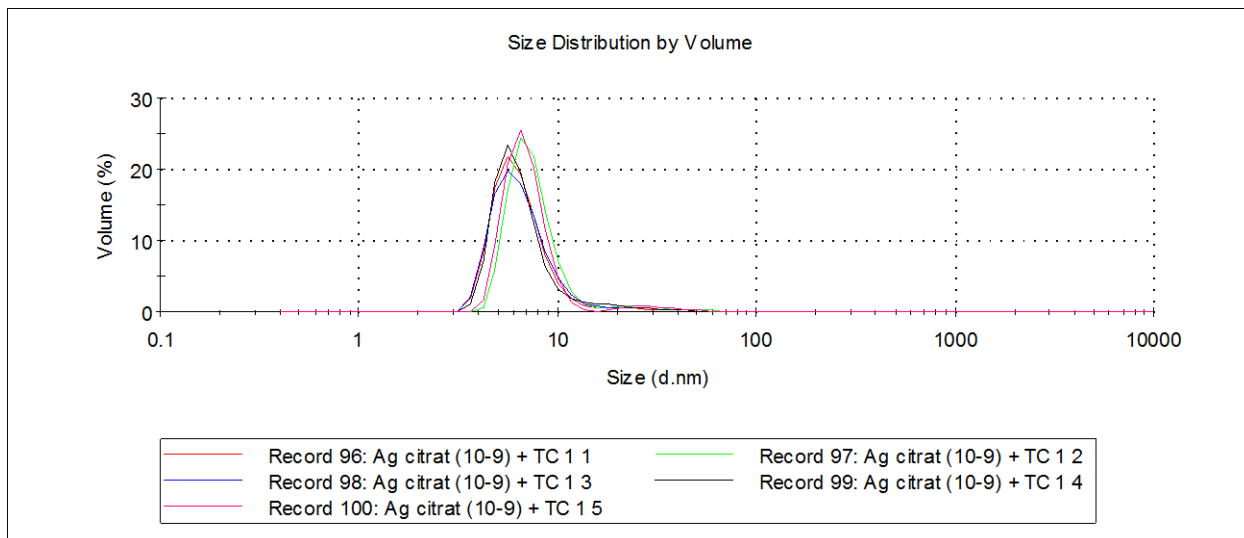


б)

Слика 95: DLS график за 5 узастопних мерења смеше раствора колоида AgNP₆ и ТС, расподела честица по интензитету (а) и по запремини (б)

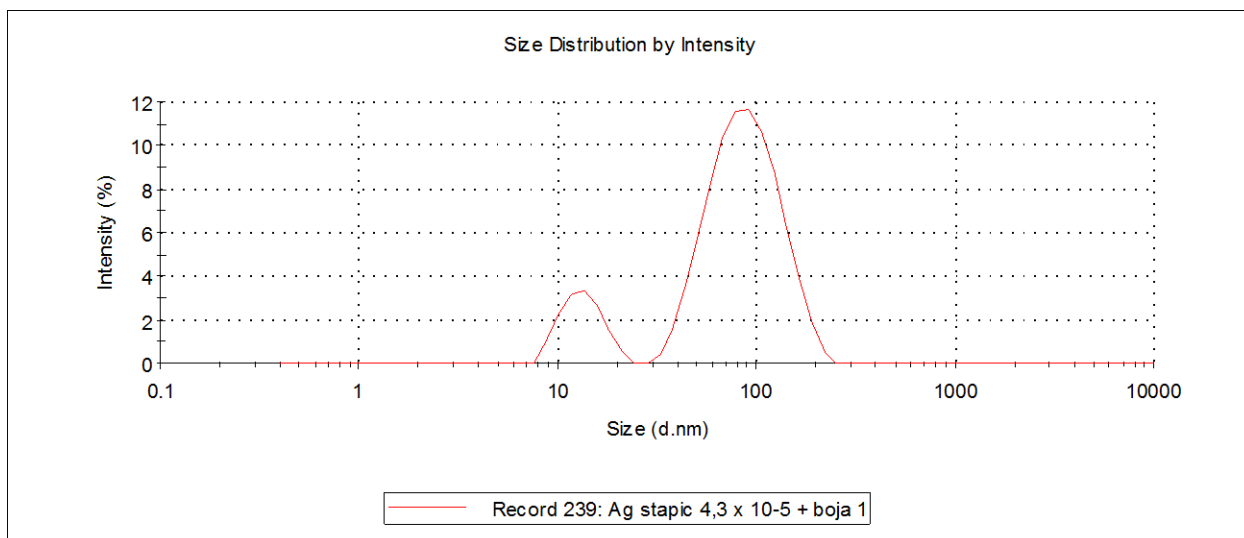


а)

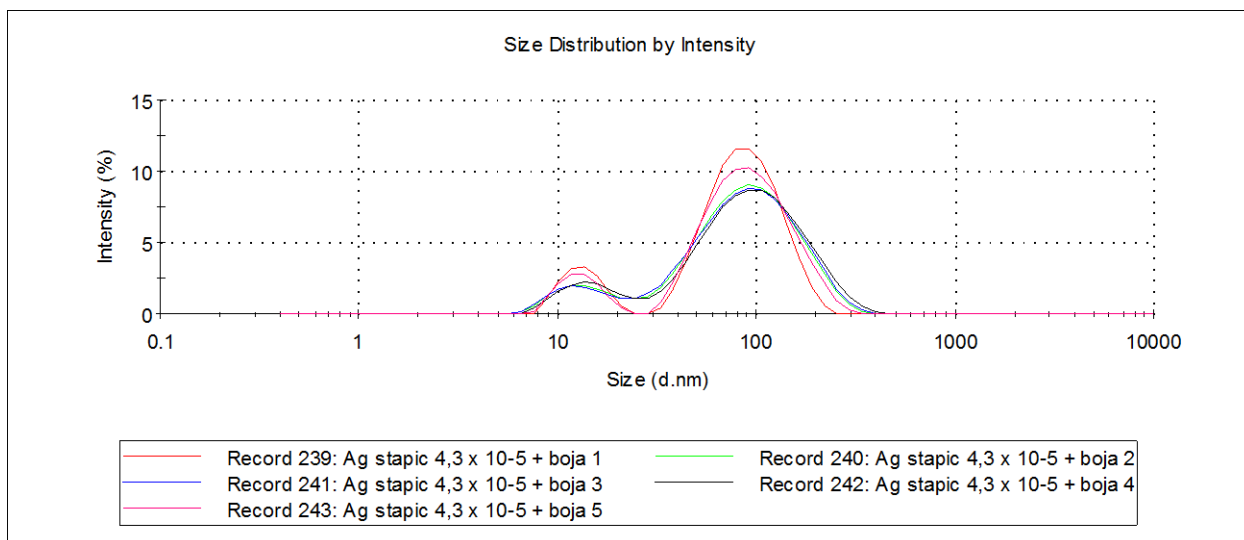


б)

Слика 96: DLS график за 5 узастопних мерења, расподела честица по интензитету (а) и по запремини (б) за смешу колоидне дисперзије AgNP₁₀ и TC боје.

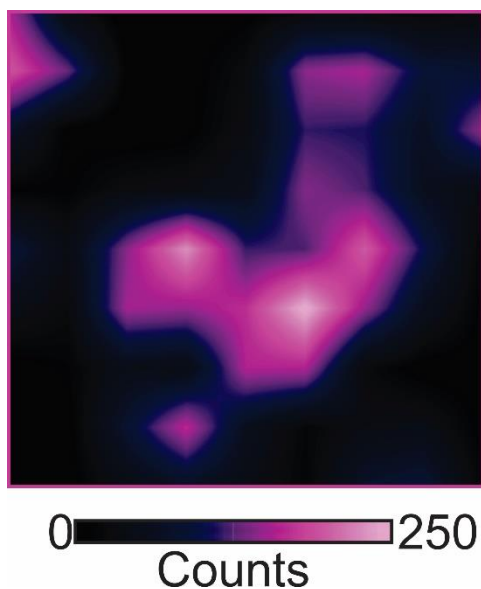


а)

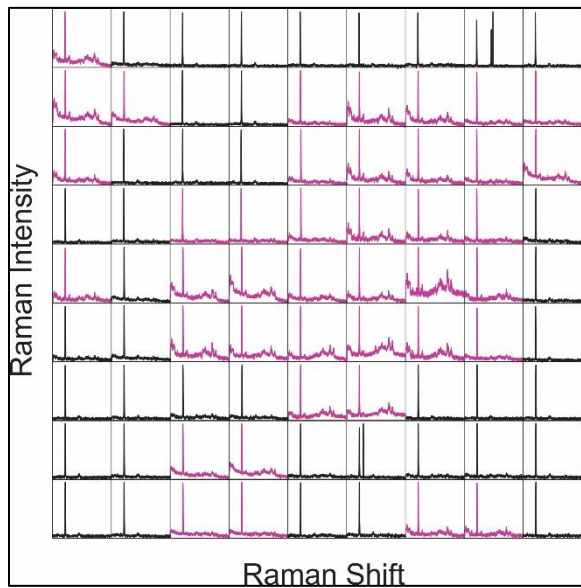


б)

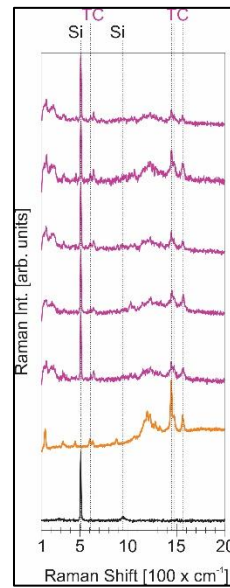
Слика 97: DLS график за једно мерење, расподела честица по интензитету (а) и за 5 мерења (б) за смешу колоидне дисперзије AgNRs и TC боје.



Слика 98: Раманска мапа честица AgNP₆. Светле области представљају 'hot spots', односно области где је појачан Рамански сигнал.

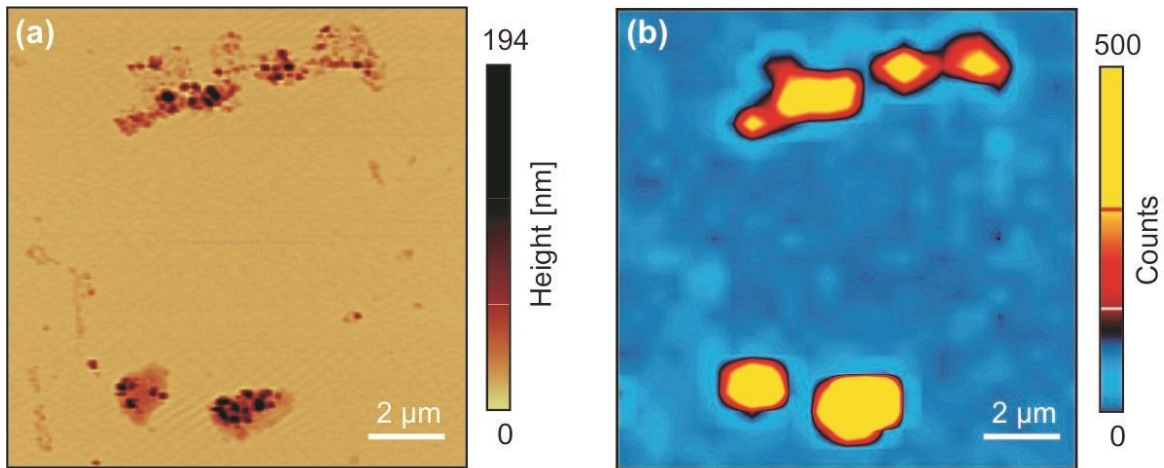


a)

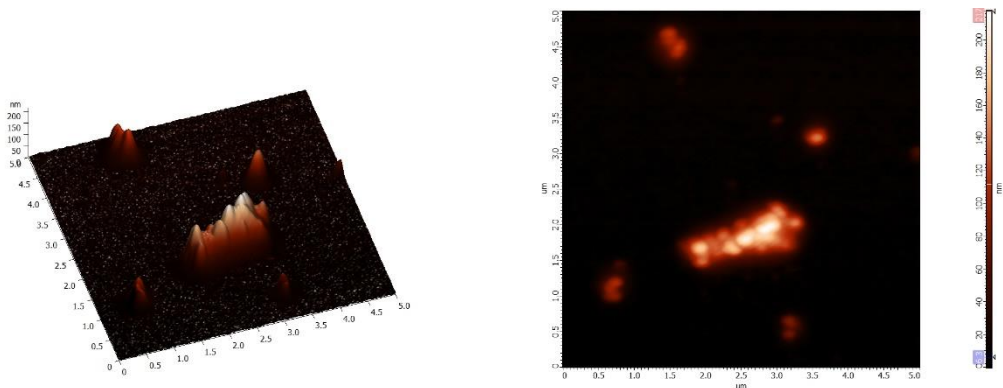


б)

Слика 99: Рамански сигнал у свакој тачки (а) и Рамански сигнал за 'hot spots' (б).



Слика 100: AFM мапа и Раманска мапа честица AgNP₁₀.



Слика 101: 3D АФМ слика и одговарајућа Раманска мапа честица AgNP₁₀.

Биографија

Бојана Лабан рођена је 17. маја 1984. године у Пећи, Република Србија, где је завршила основну школу. Због немилых догађаја који су уследили на Косову и Метохији, напушта Пећ и средњу медицинску школу завршава у Беранама. На Одсеку за хемију Природно-математичког факултета Универзитета у Приштини са седиштем у Косовској Митровици уписује се 2003. године. Дипломирала је 2008. године са просечном оценом 8,53 и оценом 10 на дипломском испиту. Докторске студије, на Катедри за општу и неорганску хемију, уписала је 2010./2011. године под руководством др Софије Совиљ, редовног професора (сада у пензији) Хемијског факултета Универзитета у Београду и др Весне Васић, научног саветника, Института за нуклеарне науке „Винча“. Школске 2014./2015. менторство преузима др Сања Гргурић – Шипка, редовни професор Хемијског факултета у Београду. 2007./2008. године радила је у пећкој гимназији „Свети Сава“ са седиштем у Гораждевцу. Од 2009. године запослена је на Природно-математичком факултету Универзитета у Приштини са седиштем у Косовској Митровици, прво као сарадник у настави, сада као асистент. Члан је Српског хемијског друштва.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а _____ Бојана Лабан _____

број уписа _____ 26/2010 _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

J-агрегација боје 3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлоротиацијанина на колоидним честицама

сребра различитих својстава

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**

Име и презиме аутора _____ Бојана Лабан _____

Број уписа _____ 26/2010 _____

Студијски програм _____ Доктор хемијских наука _____

Наслов рада _____ Ј-агрегација боје 3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлоротиацијанина на
колоидним честицама сребра различитих својстава _____

Ментор _____ проф. др Сања Гргурић-Шипка и др Весна Васић _____

Потписани/а _____ Бојана Лабан _____

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

J-агрегација боје 3,3'-дисулфопропил-5,5'-дихлоротиацијанина на колоидним
честицама сребра различитих својстава

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, _____

1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.