

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Рябенко Юлія Анатоліївна**

УДК 543.4:577.32:577.344:535.015:57.087

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**«ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ РІДИН БІОТОКСИНІВ МЕТОДАМИ  
РАМАН-СПЕКТРОСКОПІЇ»**

Спеціальність 105 – Прикладна фізика та наноматеріали

(Галузь знань 10 – Природничі науки)

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Ю.А. Рябенко

Науковий керівник: Шульга Сергій Миколайович  
доктор фізико-математичних наук, професор.

Харків – 2023

## АНОТАЦІЯ

Рябенко Ю.А. Визначення залишкових рідин біотоксинів методами Раман-спектроскопії. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 105 – Прикладна фізика та наноматеріали (Галузь знань 10 – Природничі науки). Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2023.

*Дисертація присвячена* дослідженню та розробці методики одержання композитних матеріалів, які мають метрологічно стійкі параметри, щодо підсилення Раманівського розсіювання складних органічних та біологічних молекул. Ці композити є перспективними для використання, як у біосенсорах, так і в інших виробках для калібрування спектрального обладнання. При цьому важливо, що наведені методи дають можливість отримувати високодобротні резонансні структури, що є стійкі до хімічного та механічного впливу і мають стабільну частоту Фреліха.

Сучасні високоточні спектрометричні методи дослідження дають можливість вивчати топологію та конформацію складних молекул. Одним з методів підвищення чутливості спектральних приладів, що надає можливість детектувати речовини в надмалих концентраціях є підсилення поверхнею комбінаційне розсіювання світла (SERS). В цьому методі зазвичай використовують наночастинки металів розміром від 15 – 50 нм, а в роботі досліджені наночастинки золота 5 – 10 нм. Гранули утворюють композитну структуру з прозорим середовищем підкладки, в якій спостерігається смуга плазмового поглинання, відповідна до коливань плазми вільних електронів. Однак існуючі методики сфокусовані на створенні колоїду у розчинах, або на підкладках з міткою без висушування зразка, що не дає можливості отримувати метрологічне стабільний сигнал SERS. Ефект плазмового резонансу та його використання у SERS відомі давно, та інтерес до створення нових метрологічних методик детектування молекул останнім часом суттєво зріс.

Композитний матеріал, що утворюється за допомогою лазерної імплантації гранулярної плівки золота у приповерхневий шар плавленого кварцу надає можливість створити метаматеріал стійкий до хімічного та механічного впливу та такий, що має високодобротний резонанс. До цього часу відсутні методики створення таких метрологічно детермінованих композитів. І хоча спроби лазерних термічних імплантацій золота та срібла у приповерхневий шар були здійснені низкою авторів, у дисертації ця методика була вдосконалена та надала можливість створювати метаматеріал з наперед заданими властивостями.

Сучасний розвиток чисельного моделювання надає можливості розрахунку фізичних властивостей топологічно складних наноматеріалів. Тому у роботі наведені чисельні розрахунки модового складу складної топології наночастинки золота та ефективного індексу рефракції мод. Також чисельно було розраховане ближнє поле у «гарячій точці» наночастинки золота та було встановлено ефект зв'язування мод між наночастинками та коливальними рівнями енергії молекулярної групи, що відповідає дипольному переходу. Дані було підтверджено в експериментах з багат шаровим складом плівок. Встановлено, що зв'язок спостерігається на відстанях до 50 нм, що відповідає ближній зоні. Встановлено, що на таких відстанях можна використовувати модель дипольного осцилятора для опису наночастинок металів.

Чисельні розрахунки молекул відомі давно, але складність біологічних молекул надає можливості представити молекули у вигляді квантово-механічної системи та визначити основні її параметри: тензор поляризуємості, квантово-механічні енергетичні рівні та діелектричну проникність металів. Спрощена методика розрахунку діелектричної проникності Родаміну 6G наведена у дисертації та вказано, що таку методику можна застосовувати до великих молекул. Це розширює можливості у чисельному моделюванні підсилення Раманівського розсіювання біологічними молекулами на вискодобротних резонансних системах. Раман-спектроскопія має важливе

значення у сучасних біофізичних дослідженнях. Але кількість досліджень вкрай обмежена та не носить системного характеру щодо спектрів токсичних молекул та спектрів речовин, що утворюються у процесі біохімічних реакцій цих токсинів з ферментами, що утворюються під час імунної відповіді. Тому у дисертації наведена методика визначення присутності токсичної речовини Ботулотоксину А (BoNT A) у сироватці крові хворих на міастенію.

Зазначене вище визначає *актуальність роботи*.

Дисертаційна робота налічує чотири розділи.

*Перший розділ*, представляє літературу, що стосується теми дисертації, включаючи оптичні властивості гранульованих плівок золота. Характеристики описаного матеріалу служать основою для розрахунку частоти Фреліха та визначення смуги плазмового резонансу. У цьому розділі також наводяться гібридні моди в металевих наночастинках і описуються методи розрахунку полів в ближній зоні. Теоретично описано явище гігантського комбінаційного розсіювання (ГКР). Розглядаються основні підходи – електродинамічний та квантово-механічний, що дозволяють пояснити природу підсилення комбінаційного розсіювання коливальних переходів у молекулі.

Також детально описані біохімічні властивості молекули BoNT, різноманітність серотипів та механізм взаємодії з живими організмами. Також наведені методи виявлення BoNT A, описана їх обмеженість та розповсюдженість їх застосування в клінічній біохімії. З цих даних зрозуміло, що використання відомих методів враховує першочергове розуміння симптомів пацієнта для пошуку молекули токсину. У випадку, коли первинні симптоми не є показовими та/або імунна відповідь організму вплинула на результат, пошук саме BoNT стає ускладненим, адже аналіз залежить від конкретних реагентів, таких як оптичні репортери, пептидні субстрати або антитіла, специфічні до цього токсину та певного серотипу. Описується зміна профілю цитокінів при ботулізмі та проведений літературний аналіз порівняння з імунною відповіддю при міастенічному захворюванні.

*Другий розділ* описує експериментальні методи та перелік обладнання, використаного в експерименті. Підтверджується його відповідність сучасним метрологічним стандартам і своєчасне калібрування обладнання перед кожним експериментом. У розділі також описується метод забору крові та процедура виробництва сироватки. Окремо викладено спосіб підготовки резонансної підкладки шляхом термовакuumного осадження металу на оптичне кварцове скло. Описано методику лазерної імплантації за допомогою дволазерної системи. Наведено опис чисельного алгоритму FDTD, а також методику розрахунку модового складу наночастинок золота. Розрахунок ефективного показника заломлення, що відповідає модовому складу розподілу електричного поля для наносфери золота, проводили за допомогою комерційної програми ANSYS Lumerical. Також наведена методика обробки Раман-спектра у програмному забезпеченні WiRE, фізичний зміст застосування кожного з етапів обробки та обґрунтованість використання певних показників для інтерпретації результатів.

У *третьому розділі* розглядається модель зв'язаного осцилятора в плівках  $Al/ZnS/Ag/SiO_2$ . Наводяться формули розрахунку нормальних коливань плазми вільних електронів у гранулах. Представлена методологія розрахунку константи зв'язування разом із чисельними розрахунками зв'язування в ближній зоні за допомогою ANSYS Lumerical. Експериментально встановлено вплив двох шарів металевих гранул. Було показано, що модель диполь-дипольної взаємодії можна використовувати на відстанях до 50 нм. Розроблено методику визначення плазмової частоти металів за положенням високочастотної смуги поглинання в спектрах оптичної густини. Досліджені моделі діелектричної проникності металевих наночастинок, а також граничні умови їх застосованості у порівнянні з розміром наносфер і коефіцієнтом заповнення. Детально розглянуто новітній спосіб імплантації наночастинок золота в поверхневий шар плавленого кварцу, виходячи з дволазерної схеми з CO<sub>2</sub>-лазером та ітрієвим алюмінієвим лазером (Ho:YAG). Ця технологія забезпечує отримання метрологічно

стабільних композитних підкладок  $Au - SiO_2$ , стійких до хімічних і механічних впливів. Надано АСМ-фотографії морфології отриманого зразка та спектри оптичної густини. Розміри наночастинок знаходяться в діапазоні 5-50 нм, а відстані між ними коливаються від 50 до 150 нм. На основі міжзонних переходів враховується низькочастотна смуга поглинання. Наведено чисельний розрахунок поля в ближній зоні в кратері гранул, утворених під час імплантації. Така «гаряча точка» здатна підсилити комбінаційне розсіювання від молекули з коефіцієнтом підсилення  $10^3$ .

У четвертому розділі запропонований новий метод розрахунку діелектричної проникності молекули Родаміну 6G за допомогою MATLAB, результати обчислень порівняні з даними обчисленими за допомогою програмного забезпечення Gaussian 09, показана узгодженість результатів. Зроблені висновки, що таку методику можна застосовувати до коливальних переходів великих молекул, враховуючи збудження ядра молекули та можливого розчинника, якщо зразок не є висушеним.

Представлена техніка експерименту з дослідження Раман-спектру зразків сироватки крові хворих на міастенію та учасників дослідження з контрольної групи.

Головні наукові результати, що були отримані у роботі, є наступними.

1. Розроблено методику дволазерної імплантації золота у приповерхневий шар плавленого кварцу.
2. Наведено модель зв'язаних осциляторів та визначені параметри коливальних мод та параметру зв'язування.
3. Визначено плазмову частоту коливань у металах  $Ag, Al, Au$ .
4. Визначено межу відстані між двома коливальними системами до 50 нм, де можна використовувати модель зв'язаних осциляторів.
5. Запропоновано та використано оригінальний метод визначення граничного розміру наночастинок золота, який склав 6 нм у діаметрі, починаючи з якого квантово-механічні явища починають домінувати над

розмірними. Наведено розрахунок поля в ближній зоні у «гарячій точці» та проведено розрахунок підсилення комбінаційного розсіювання.

6. Розроблений метод розрахунку діелектричної проникності Родаміну 6G для електронних переходів в MATLAB, який може бути використаний при чисельному моделюванні експерименту з коливальних переходів великих молекул.

7. Досліджені Раман-спектри сироватки крові пацієнтів з міастенією на присутність ВоNT А. Проведена обробка спектра з урахуванням високої люмінесценції від розробленої підложки та біологічного зразка.

**Ключові слова:** Абсорбційна спектроскопія, Раман-спектроскопія, Діелектрична проникність, Дифракція електромагнітних хвиль, Поляризація, ТГц лазер, Резонатор, Ботулотоксин А, Бактеріальний тест, Міастенія, Білок, Біосенсор, Наночастинки, Полікристалічна плівка, Лінійний осцилятор, Негаусові світлові пучки, Дифракційна решітка, Сироватка крові, ТЕ хвильове поглинання, Розрахунок поля в дальній зоні, Відкритий резонатор, Пов'язані осцилятори, FDTD метод, Плазмовий резонанс.

## ABSTRACT

Iuliia Riabenko. Detection of Residual Liquids of Biotoxins with Raman Spectroscopy. Qualification scholarly paper: a manuscript.

Thesis submitted for obtaining the Doctor of Philosophy in Specialty 105 - Applied Physics and Nanomaterials (Natural Sciences). – V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2023.

The thesis focuses on the research and development of the method for obtaining composite materials with parameters consistent with metrological standards to enhance Raman scattering of complex organic and biological molecules. These composites are promising for use both in biosensors and in other devices for calibration of spectral equipment. Such methods give an opportunity to obtain high-quality resonant structures resistant to chemical and mechanical influences and possessing a stable Frelich frequency.

Modern high-precision spectrometric research methods provide for a better understanding of topology and conformation of complex molecules. One of the methods of increasing the sensitivity of spectral devices is SERS which detects substances in residual concentrations. This method usually employs metal nanoparticles sized 15 – 50 nm, while the present research uses gold nanoparticles of 5 – 10 nm. The granules form a composite structure with a transparent substrate, where a plasma absorption band corresponds to plasma oscillations of free electrons. However, the existing techniques are focused on creating a colloid in solutions or on substrates with a label without drying the sample, which does not allow for obtaining a SERS signal consistent with metrological standards. The effect of plasma resonance and its use in SERS have been known for a long time, nevertheless, there has been a growing interest in creating new metrological methods of molecular detection.

The composite material formed by laser implantation of a granular film of gold in the near-surface layer of fused quartz creates a metamaterial resistant to chemical and mechanical influences with a high-Q resonance. Currently, there are no methods able to create composites which would be consistent with metrological standards. Although attempts at laser implantation of gold and silver in the near-surface layer have been made by several authors, the present research improves this technique making it possible to create a metamaterial with predetermined properties.

The modern development of numerical modeling provides opportunities to calculate the physical properties of topologically complex nanomaterials. Therefore, the paper presents numerical calculations of modes of complex topology of a gold nanoparticle and the effective refractive index of the modes. The near field in the "hot spot" of a gold nanoparticle was also calculated, and the mode coupling effect was established between the nanoparticles and vibrational energy levels of the molecular group corresponding to the dipole transition. The data was confirmed in experiments with a multilayer composition of films. It was established that coupling is observed at distances up to 50 nm, corresponding to the near-field. Hence, at such distances, the dipole oscillator model can be used to describe metal nanoparticles.



Numerical calculations of the molecule properties have been available for some time. Still, the complexity of biological molecules makes it possible to present a molecule as a quantum mechanics system and determine its main parameters: the polarizability tensor, energy levels in quantum mechanics, and dielectric permittivity of metals. The thesis proposes a simplified method for calculating the dielectric constant of Rhodamine 6G, indicating that such a method can be applied to large molecules. This expands the possibilities of numerical modeling of Raman scattering enhancement for biological molecules on high-Q resonant systems.

Raman spectroscopy is of paramount importance in modern biophysical research. However, the number of studies available is quite limited and a systematic review could be beneficial in terms of the spectra of toxic molecules and substances formed during biochemical reactions of these toxins with enzymes as part of the immune response. Therefore, the present thesis presents a method for determining the presence of Botulinum toxin A in the blood serum of patients with myasthenia gravis.

The research findings are outlined in four chapters. The first chapter, "Literature Review," presents literature relevant to the thesis topic, including the optical properties of granular gold films. Characteristics of the material described serve as the basis for calculating the Fröhlich frequency and determining the plasma resonance band. The chapter further provides hybrid modes in metal nanoparticles and describes methods for calculating near fields. A theoretical approach is provided to explain the phenomenon of giant Raman scattering. The approaches applied in electrodynamics and quantum mechanics are described in order to account for the enhancement of Raman scattering of vibrational transitions in a molecule. The latest approaches to the creation of biosensors are also considered.

The second chapter, "Methodology of experimental and theoretical research," describes the experimental methods. The list of equipment involved in the experiment is included. Its compliance with modern metrological standards and timely equipment calibration before each experiment is confirmed. The chapter also describes the method of blood sampling and the procedure for serum production.

The method of preparing a resonant substrate through thermal vacuum deposition of evaporated metal onto optical quartz glass is presented separately. The technique of laser implantation is described based on a two-laser scheme. A description of the FDTD numerical algorithm is provided, as well as the method of calculating modes of gold nanoparticles. The calculation of the effective refractive index corresponding to the modes of the electric field distribution for the gold nanosphere was carried out using the commercial ANSYS Lumerical software. The technique of spectrum processing, physical reasons behind each of the stages, and the justification of specific indicators to interpret the results are also provided.

The third chapter examines the coupled oscillator model in  $Al/ZnS/Ag/SiO_2$  films. Formulas are developed to calculate normal fluctuations of free electron plasma in granules. A methodology for calculating the coupling constant is presented along with numerical calculations of coupling in the near field using ANSYS Lumerical. The influence of two layers of metal granules was experimentally established. It was also shown that the dipole-dipole interaction model can be used at distances up to 50 nm. A technique was developed to determine the plasma frequency of metals based on the position of the high-frequency absorption band in the optical density spectra. The models of the dielectric constant of metal nanoparticles, as well as their applicability in comparison with the size of the nanospheres and the filling factor. The latest method of gold nanoparticle implantation in the surface layer of fused quartz is considered in detail, proceeding from a two-laser scheme with CO<sub>2</sub>-laser and yttrium aluminum laser (Ho:YAG). This technique ensures the production of metrologically stable  $Au - SiO_2$  composite substrates resistant to chemical and mechanical influences. AFM photographs of the resulting sample morphology and optical density spectra are provided. The size of nanoparticles lies in the range of 5 – 50 nm, and the distances between them vary from 50 to 150 nm. A low-frequency absorption band is accounted for based on interzone transitions. A numerical calculation is provided for the near field in the crater of the granules formed during implantation. Such a “hot zone” is capable of enhancing Raman scattering from the molecule with an enhancement factor of  $10^6$ .

The fourth chapter describes a new method for calculating the dielectric constant of Rhodamine 6G using MATLAB. The calculation results are compared with the Gaussian 09 data showing the consistency of the results obtained. This method can be applied to vibrational transitions of large molecules, taking into account excitation of the molecule nucleus and properties of the solvent if the sample is not dried.

Also, this chapter describes the biochemical properties of the botulinum toxin molecule, serotype varieties, and the mechanism of interaction with living organisms. Methods of detecting botulinum neurotoxin are described, as well as their limitations and their use in clinical biochemistry. The use of known methods proceeds from the patient's symptoms, which determine whether the patient is tested for the toxin molecule. If primary symptoms are insufficient and/or the body's immune response affected the result, the search for BoNT becomes complicated since testing depends on specific reagents, such as optical reporters, peptide substrates or antibodies specific to this particular toxin and a certain serotype.

The thesis describes the experiment exploring the Raman spectrum of blood serum samples of patients with myasthenia gravis and the control group.

The main research results are as follows.

1. The paper develops a method of two-laser implantation of gold in the surface layer of fused quartz.
2. The thesis provides a model of coupled oscillators and determines parameters of oscillatory modes and coupling parameters.
3. The plasma frequency is established for oscillations in metals *Ag*, *Al*, and *Au*.
4. The research establishes the optimal distance between two oscillating systems of 20 – 35 nm where the model of coupled oscillators can be used.
5. An original method is proposed and applied to determine the size of gold nanoparticles, which was found to be 6 nm in diameter, starting from where quantum mechanics phenomena begin to dominate over dimensional ones. The

calculations of the near field in the “hot spot” as well as Raman scattering enhancement are carried out.

6. A method for calculating the dielectric permittivity of Rhodamine 6G for electronic transitions was developed in MATLAB. The aforementioned method can also be applied in numerical simulations of an experiment with vibrational transitions of large molecules.

7. The Raman spectra of blood serum of patients with myasthenia gravis were studied for the presence of botulinum toxin A. The spectrum was processed considering the high luminescence of the developed substrate and the biological sample.

**Keywords:** Absorption Spectroscopy, Raman Spectroscopy, Dielectric Permeability, Diffraction of Electromagnetic Waves, Polarization, THz Laser, Resonator, Botulinum Toxin A, Bacterial Test, Myasthenia gravis, Protein, Biosensor, Nanoparticles, Polycrystalline Film, Linear Oscillator, Non-Gaussian Light Beams, Diffraction Grating, Blood Serum , TE wave absorption, Field calculation in the far zone, Open resonator, Coupled oscillators, FDTD method, Plasma resonance.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Wan J., Beloshenko, K. S., Makarovskiy, M., **Riabenko, I.**, Shulga, S., Prokhorenko, S. Resonance light absorption of granular aluminium and silver films placed on a rough sublayer of multilayered ZnS //Ukrainian journal of physical optics. – 2019. – №. 20,№ 1. – С. 10-15. (**Scopus, Q4**) DOI:10.3116/16091833/20/1/10/2019

*(Особистий внесок здобувачки: Огляд літератури дослідження, лабораторні вимірювання, аналіз даних. написання окремих розділів, участь в обговоренні результатів.)*

2. **Riabenko I.**, Shulga S., Makarovskii N.A., Beloshenko K. Permittivity Model Selection Based on Size and Quantum-Size Effects in Gold Films // East European Journal of Physics. 2023. № 3. С. 406-412. (**Scopus, Q4**) DOI: 10.26565/2312-4334-2023-3-44

*(Особистий внесок здобувачки: Розрахунок та створення зразка підкладки. спектральні вимірювання. аналіз вимірювань, проведення чисельного моделювання, написання окремих розділів, участь в обговоренні результатів.)*

3. **Riabenko I. A.**, Shulga S., Beloshenko K. S. Calculation of the relative permittivity of Rhodamine 6G using the quantum mechanical method // Biophysical Bulletin. 2023;50:7–15 (**Scopus, Q4**) DOI: 10.26565/2075-3810-2023-50-01

*(Особистий внесок здобувачки: написання коду в MATLAB, моделювання в Gaussian 09, аналіз даних, написання окремих розділів, участь в обговоренні результатів.)*

### Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. K. Beloshenko, **I. Riabenko**, S. Shulga «Quantum Mechanical Method for Calculating the Permittivity of Rhodamine 6G» «International Conference and Expo on Lasers, Optics & Photonics», 10-12 листопада 2022 р. м. Валенсія, Іспанія.

2. К. Beloshenko, **I. Riabenko**, S. Shulga «The fulfillment of the sum rule in copper optical films» 3rd International Congress on Optics, Electronics and Optoelectronics», 2-4 грудня 2022 р. м. Сямінь, Китай.
3. К. Beloshenko, **I. Riabenko**, S. Shulga «Bistability in AgCl-Ag Multilayer Nonlinear Structures of Blood Serum» «2022 International Conference on Applied Mathematics and Digital Simulation (AMDS 2022)», 26-28 листопада 2022, м. Пекін, Китай.
4. К. Beloshenko, **I. Riabenko**, S. Shulga «Freeform Lens System for Collimation SERS irradiation Radiation Produced by Biolayers which Deposit on High Quality Resonant System» «Advances in Laser Technology and Applications», 29-30 грудня 2022, м. Відень, Австрія.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	18 с.
ВСТУП	19 с.
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	25 с.
1.1 Оптичні властивості металевих колоїдів у матриці плавленого кварцу	25 с.
1.2 Гігантське комбінаційне розсіювання біоорганічних молекул	29 с.
1.3 Міастенія, основні відомості про хворобу.	35 с.
1.4 Біохімічні властивості Ботулотоксинів та методи детекції у медицині	36 с.
1.4.1 Ботулотоксини, різноманітність і розповсюдженість.	36 с.
1.4.2 Біохімічні властивості Ботулотоксину А	37 с.
1.4.3 Методи виявлення Ботулотоксину А в медицині	39 с.
1.5 Порівняння імунної відповіді при ботулізмі та міастенії	41 с.
Висновки до розділу 1	43 с.
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ТЕОРЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	44 с.
2.1 Прилади, матеріали, методи досліджень	44 с.
2.2 Приготування біологічного матеріалу	45 с.
2.3 Виготовання резонансних підкладок, що підсилюють оптичні переходи біоорганічних молекул	46 с.
2.4 FDTD метод у застосуванні до чисельного моделювання в нанофотоніці	49 с.
2.5 Методи обробки спектру та аналіз його аналіз	54 с.
Висновки до розділу 2	59 с.
РОЗДІЛ 3 ПІДСИЛЕННЯ ОПТИЧНИХ ПЕРЕХОДІВ МОЛЕКУЛЯРНИХ СПОЛУК МЕТАЛЕВОЮ ПОВЕРХНЕЮ	60 с.

3.1	Модель зв'язаних осциляторів у плівці $Al - Ag/SiO_2$	60 с.
3.2	Визначення порога чутливості методу, застосування теорії Мі для опису резонансних явищ у гранулах золота	67 с.
3.2.1.	Виготовлення зразків експерименту	70 с.
3.2.2	Результати експерименту	72 с.
3.2.3	Обговорення експериментальних результатів	76 с.
3.3	Чисельне моделювання сили комбінаційного розсіювання від молекулярної групи $NO_2$ золотим колоїдом, імплантованим у приповерхневий шар плавленого кварцу	79 с.
3.3.1	Загальний опис комбінаційного розсіювання	79 с.
3.3.2	Перетин комбінаційного розсіювання	82 с.
3.3.3	Стоксові та антистоксові смуги спектрів комбінаційного розсіювання	83 с.
3.3.4	Диференціальні поперечні перерізи коливально-обертальних переходів стоксової смуги двоатомної молекули	84 с.
3.3.5	Параметри молекули $NO_2$ , що використовуються для розрахунку диференціального поперечного перерізу стоксової смуги коливально-обертальних переходів $\Delta\nu = 1$ , а також значення інших необхідних фізичних величин	85 с.
3.3.6	Результати розрахунків диференціального поперечного перерізу коливально-обертальної стоксової смуги $\Delta\nu = 1$ молекули $NO_2$	87 с.
3.4	Підсилення перерізу комбінаційного розсіювання токсичних речовин золотим колоїдом, імплантованим у приповерхневий шар плавленого кварцу	89 с.
	Висновки до розділу 3	95 с.
	<b>РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ КОМБІНАЦІЙНОГО РОЗСІЮВАННЯ ТА СПЕКТРІВ ЛЮМІНІСЦЕНЦІЇ МОЛЕКУЛЯРНИХ СТРУКТУР</b>	96 с.



4.1 Квантово-механічні обчислення відносної діелектричної проникності Родаміну 6G	96 с.
4.1.1 Матеріали і методи чисельного моделювання	96 с.
4.1.2 Результати моделювання	100 с.
4.1.3 Обговорення результатів	102 с.
4.2 Дослідження сироватки крові хворих на міастенію на присутність Ботулотоксину А	104 с.
4.2.1 Виготовлення зразків експерименту	104 с.
4.2.2 Результати експерименту	104 с.
4.2.3 Обговорення експериментальних результатів	109 с.
Висновки до розділу 4	113 с.
ВИСНОВКИ	115 с.
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	118 с.
ДОДАТОК А. СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	138 с.
ПОДЯКА	140 с.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- SERS – Підсилене поверхнею комбінаційне розсіювання світла
- BoNT – Ботулотоксин, з зазначенням літери серототипу
- ГКР – Гігантське комбінаційне розсіювання.
- FDTD – Метод кінцевих різниць у часовій області
- Ho:YAG – Гольмієвий лазер (ітрій- алюмінієвий гранат)
- АСМ – Атомно-силова мікроскопія
- DFT – Дискретне перетворення Фур'є
- AChE – Ацетілхолінестераза
- ACh – Ацетілхолін
- SNARE – комплекс розчинних рецепторів, чутливих до N-етилмалеїміду
- LD50 - Напівлетальна доза
- ІЧ – Інфрачервоний (діапазон, камера)
- ПЗЗ – Пристрій із зарядовим зв'язком
- FHWM – Повна ширина на половині висоти
- RCWA – Строгий аналіз пов'язаних хвиль
- PPM – Раманівська репортерна молекула

## ВСТУП

Останнім часом актуальними стають розрахунок і виготовлення резонансних систем, що є абсорбентною основою для вивчення хімічних та біологічних агентів завдяки зростанню значення поперечного перерізу комбінаційного розсіювання або зміні в добротності чи положенні резонансної смуги поглинання. Ці системи націлені на збільшення роздільної здатності Раман-спектроскопа завдяки збільшенню добротності резонансних систем або підбору енергії міжзонних переходів підкладки. Слід зазначити, що збільшення шорсткості підкладки, площини дотику хімічних або біологічних агентів збільшує поперечний переріз комбінаційного розсіювання, але це важко виконати в класичних системах на основі гранульованого металу. У дисертаційній роботі пропонується нова технологія виготовлення зразків завдяки лазерній імплантації структур із золота до приповерхневого шару підкладки з кварцового скла. Ця методика надає можливість виготовити багаторазові біочипи, які будуть стійкими до хімічного або механічного впливу, що, у свою чергу, дозволяє використовувати їх у широкому колі медичних пристроїв. Також діагностика таких хвороб, як міастенія, на ранніх стадіях є виключно важливою для медицини. Тому пошук збудника цього захворювання є амбіційною та важливою задачею для розуміння етіології всіх інших автоімунних захворювань в цілому. ГКР є одним з найбільш чутливих методів, придатних для вивчення поверхні. Цей метод у поєднанні з широким спектром інших методів поверхні може бути застосований для дослідження корозії, каталізу, створенні сучасних матеріалів, датчиків, а також застосовуватись у біології. Найбільш поширеним способом використання SERS є пряме виявлення цільового аналіту, тобто ідентифікації конкретного SERS спектрального відбитка пальця молекули при безпосередньому зв'язуванні на плазмонних металевих наноструктурах. Використання таких наноструктур для надчутливого виявлення і визначення характеристик як малих, так і макро біомолекул (нуклеїнових кислот або білків), моніторингу

метаболітів або патогенів в природних умовах, а також класифікації живих організмів є важливою науковою задачею.

Дисертація присвячена розв'язанню актуальної наукової проблеми – пошуку імовірного збудника міастенічної хвороби методом SERS.

**Мета** роботи – вивчення та аналіз підсилення спектрів ГКР підложкою з імплантованими золотими наночастинками зразків сироватки крові пацієнтів з міастенією.

Для досягнення цієї мети були поставлені та вирішені наступні **завдання**:

- вибір елементів конструкції метаматеріалів, що визначаються складним відгуком на електромагнітне збудження та забезпечують значну локалізацію електромагнітного поля на поверхні системи;
- теоретичне моделювання та експериментальне дослідження електродинамічних характеристик частотно-селективних поверхонь;
- виявлення фізичних явищ щодо формування полів зазначеними структурами, виявлення умов збудження високодобротних резонансів;
- пошук шляхів оптимізації характеристик частотно-селективних поверхонь для розширення їх функціональних можливостей;
- вивчення Раман-спектрів сироватки крові, на наявність спектрів присутності ВоNT А, як імовірного патогену при міастенічній хворобі;
- розробка квантово-механічної моделі, що надає можливість теоретично встановити передумови підсилення розподілу розсіювання молекулярної групи з зміненим дипольним моментом.

**Об'єктом дослідження** є нанобіочіпова підложка, яка утворює високодобротні резонансні структури, з низькою люмінесценцією відносно лазерного випромінювання для дослідження сироватки крові пацієнтів хворих на міастенічну хворобу.

**Предмет дослідження** – спектри ГКР зразків крові пацієнтів, нанесених на підкладку з плазмонними наночастинками на предмет наявності спектрів

присутності VoNT A.

**Методи дослідження.** Для розв'язання різних задач дисертаційної роботи використовувались наступні методи сучасної радіофізики, математичної статистики:

- Абсорбційна спектроскопія для дослідження дальнього поля від металевих наночастинок;
- Раман спектроскопія для дослідження спектрів сироватки крові;
- FDTD для чисельного моделювання модової складової наночастинок;
- Метод зв'язаних осциляторів, що надає можливість вивчення поля в ближній зоні складної біофізичної моделі.

Робота виконувалася на кафедрі теоретичної радіофізики Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна в рамках трьох держбюджетних науково-дослідних тем України, за програмою обміну Erasmus+ в Ганноверському Університеті Лейбніца на факультеті математики та фізики в Інституті квантової оптики, де було здобуто еквівалент 60 кредитів ЄКТС наукової складової та за програмою «STIBET I», запропонованою Німецькою службою академічних обмінів (DAAD) і фінансованою Федеральним міністерством закордонних справ Німеччини в Інституті фізичної хімії Центру фотоніки Аббе Єнського університету імені Фрідріха Шиллера.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**  
Дисертаційна робота є складовою частиною наступних НДР:

1. «Використання високодобротних резонансних систем на плазмовому резонансі для виготовлення високочутливих біосенсорів», № державної реєстрації 0118U002033, 01.10.2018 – 30.12.2020 (здобувачка – виконавець).

2. «Розробка нано-біо-чипів для детектування токсичних речовин», № державної реєстрації 0121U112033, 01.01.2021 – 31.12.2023 (здобувачка –

виконавець).

3. «Дослідження етіології нейропатичного болю у пацієнтів після пошкодження спинномозкових нервів», № державної реєстрації 0122U001592, 01.01.2022 – 31.12.2024 (здобувачка –виконавець).

### **Особистий внесок дисертантки в отриманні наукових результатів та їх новизна.**

Особистий внесок дисертантки в отриманні наукових результатів та їх новизна полягає в наступному:

#### Вперше:

1. Використана характеристика пропонованих структур на основі острівцевої плівки і періодичних структур із золота, імплантованого до  $SiO_2$  субстрату, порівняно з існуючими. Ця структура стимулює комбінаційне розсіювання органічних молекул, ферментів або інших біологічних наночастинок, тому сприяє підвищенню тест-чутливості до виявлення низьких концентрації різних органічних і біологічних об'єктів. На відміну від систем, які використовуються на сьогодні у подібних вимірюваннях, ця структура має високу механічну і хімічну стійкість, істотну здатність підкладки підсилення спектрів ГКР молекул, низьку ефективність люмінесцентного кварцового скла, а також підвищену чутливість і стабільність.

2. Вперше досліджені Раман-спектри сироватки крові міастенічних хворих, які мають симетричне нітророзтягування молекули  $NO_2$  при  $1336\text{ см}^{-1}$ , моду її нітровигину при  $798\text{ см}^{-1}$  та режими розтягування ароматичного кільця молекул при  $1556$  і  $1068\text{ см}^{-1}$  з сувом до 2 нм. До цього жоден з аналізів не давав результатів таких спектрів у хворих на міастенію.

3. Вперше було застосоване золоте правило Фермі та представлено молекулу як систему у вигляді суми квантових систем для чисельних розрахунків оптичного відгуку від Родаміну 6G як однієї з добре вивчених молекул барвника, щоб встановити його діелектричну проникність. Розрахунки були проведені за допомогою MATLAB, що дало результати,

приблизно узгоджені з діелектричною проникністю, розрахованою Gaussian 09 на основі функціоналу дискретного перетворення Фур'є (DFT). Запропонований метод розрахунку може бути застосований для визначення діелектричної проникності у випадку відносно великих молекул, що важко зробити за допомогою DFT.

4. Вперше проведений чисельний аналіз модового складу наночастинки золота з кратером, що надає можливість отримати локалізацію поля. Вперше розрахований квантовий вихід системи яка складається з молекулярної групи поблизу такої наночастинки.

Дістало подальший розвиток:

5. Дослідження ГКР за рахунок резонансних структур з метаматеріалів.

**Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, які захищаються.**

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, результатів і висновків дисертації не викликає сумнівів і визначається наступним:

1. коректністю постановки задач;
2. використанням добре відомих та апробованих методів сучасної радіофізики, математичної статистики та числових методів комп'ютерної математики;
3. погодженням результатів числового моделювання та експериментальних досліджень.

Висновки дисертаційної роботи є обґрунтованими.

**Наукове, теоретичне та практичне значення результатів дисертації.**

Дисертацію присвячено розв'язанню актуальної наукової задачі – розрахунок і виготовлення підсилюючої системи – резонансної структури металевих наночастинок, що імплантовані до приповерхневого шару кварцу для спектрального аналізу зразків сироватки крові хворих на міастенію. А

саме, теоретичне дослідження основних характеристик таких підсилюючих систем та методика їх виготовлення, збір спектрів ГРК та обробка, аналіз даних і проведення додаткових математичних моделювань для коректної інтерпретації результатів. При проведенні наукових досліджень та розв'язанні прикладних задач використовуються лазери з досить різними параметрами (часовими, поляризаційними тощо). Це, в свою чергу, викликає необхідність розгляду проблем забезпечення необхідних параметрів при генерації та прийомі лазерного випромінювання, що суттєво впливає на роздільну здатність Раман-спектроскопії та появу шумових смуг від нестабільної лазерної генерації. Отримані результати можуть бути застосовані при вирішенні таких проблем, як поточне або експрес-діагностування міастенії, а також для виявлення хімічної або бактеріологічної зброї, що може відвернути теракти. Дослідження спектрів сироватки крові хворих на міастенію задля визначення причини захворювання може дати розуміння етіології автоімунних хвороб. Також отримання біоаналітичних даних у наднизьких концентраціях дозволить діагностувати хвороби на ранніх стадіях.



## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Оптичні властивості металевих колоїдів у матриці плавненого кварцу

Оптичні властивості острівцевих плівок металів становлять інтерес для сучасних застосувань у прикладній фізиці, біофізиці та нанотехнологіях [1]. З оптичної точки зору метали мають високий рівень відбивної здатності в широкій області спектру [2]. Класичний опис оптичних властивостей металів надається моделлю діелектричної проникності Друде [3]. Ця модель заснована на ідеї вільних електронів, які знаходяться в зоні провідності [4] і під дією зовнішнього поля коливання. Таким чином, модель пояснює безперервний спектр поглинання та відбиття світла в металі припускаючи безперервність енергетичного спектра електрона і менше довжини вільного пробігу електрона в порівнянні з об'ємом металу. Феноменологічне обчислення фази і амплітуди поглиненого чи розсіяного випромінювання дозволяє досить добре пояснювати експериментальні дані отримані для металів, що знаходяться у конденсованому стані [5].

Діелектрична проникність речовини, що містить в одиниці об'єму речовини  $N$  осциляторів, задається матеріальним рівнянням:

$$\vec{D}(\vec{r}, t) = \vec{E}(\vec{r}, t) + 4\pi\vec{P}(\vec{r}, t), \quad (1.1)$$

$$\varepsilon\varepsilon_0\vec{E}(\vec{r}, t) = \vec{E}(\vec{r}, t) + 4\pi\vec{P}(\vec{r}, t), \quad (1.2)$$

$$\varepsilon = 1 + 4\pi \frac{\vec{P}(\vec{r}, t)}{\vec{E}(\vec{r}, t)}. \quad (1.3)$$

У лінійному наближенні комплексну функцію можна розкласти в ряд Тейлора в околиці  $\vec{r}_0$ :

$$\vec{P}(\vec{r}, t) = 4\pi\chi\vec{E}(\vec{r}, t), \quad (1.4)$$

де  $\vec{P}(\vec{r}, t)$ - поляризація одиниці об'єму,  $\vec{E}(\vec{r}, t) = \vec{E}_0(\vec{r})e^{i\omega t}$  – напруженість електричного поля світлової хвилі.

Розглянемо другий закон Ньютона стосовно руху осцилятора:

$$m\ddot{\vec{r}} = -k\vec{r} - \Gamma m\dot{\vec{r}} + e\vec{E}(\vec{r}, t). \quad (1.5)$$

В проекції рівняння (1.5) запишеться:

$$\ddot{x} + \gamma\dot{x} + \omega_0^2 x = \frac{e}{m} \vec{E}_0(x) e^{i\omega t}. \quad (1.6)$$

Віднаходячи рівняння у вигляді  $x = x_0 e^{i\omega t}$ , знайдемо:

$$x_0 = \frac{e}{m} \frac{E_0(x)}{\omega_0^2 - \omega^2 + i\gamma\omega}, \quad (1.7)$$

$$P(x, t) = e \times x = \frac{e^2}{m} \frac{E_0(x) e^{i\omega t}}{\omega_0^2 - \omega^2 + i\gamma\omega}, \quad (1.8)$$

де  $\gamma = \delta + \frac{v_F}{a}$ , важливий фактор, що задає значення розмірних ефектів,  $a$ - радіус сфери,  $v_F$ - швидкість Фермі.

Тоді, виходячи з рівняння (1.3), відносна діелектрична проникність середовища запишеться у вигляді:

$$\varepsilon = 1 + \frac{e^2 N}{\varepsilon_0 m} \frac{E_0(x) e^{i\omega t}}{\omega_0^2 - \omega^2 + i\gamma\omega}, \quad (1.9)$$

де  $\omega_p^2 = \frac{e^2 N}{\varepsilon_0 m}$  - плазмова частота металу [6]. Важливо відзначити, що  $N$  - концентрація електронів на одиницю елементарного об'єму (рис. 1.1),  $N = \int_0^\infty \frac{v(E) dE}{1 + \exp(\frac{E - E_F}{kT})}$  [7]. У припущенні плазмону (квазічастинка, що відповідає квантування плазмових коливань, які є колективними коливаннями вільного електронного газу), квант плазмових коливань дорівнює  $E_p = \hbar\omega_p$ , при умові  $E_p > E_F$ , матимемо класичний газ вільних електронів. На рис. 1.1 представлена функція розподілу Фермі-Дірака.

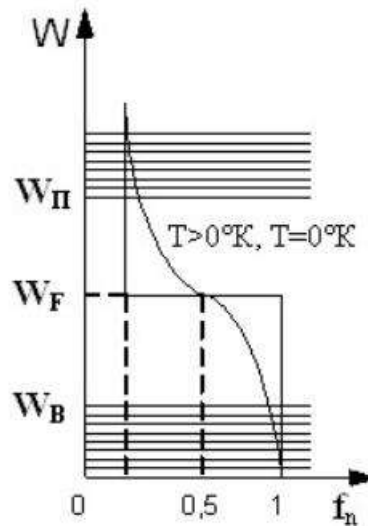


Рис. 1.1 Функція розподілу Фермі-Дірака.

Даний опис враховував розмірні ефекти, пов'язані наприклад з тим, що поле локалізовано у сфері. Тобто в цьому випадку поле, що впливає на вільні електрони в металі, задається виразом [8]:

$$E_{sp} = \frac{3\varepsilon_0}{1 + 2\varepsilon_0} E - \frac{4\pi}{\varepsilon_0(1 + 2\varepsilon_0)} P, \quad (1.10)$$

де  $\varepsilon_0$  – діелектрична проникність навколишнього середовища.

Вирішуючи рівняння (1.6) підставляючи замість поля  $E$  рівняння (1.10), а також враховуючи диполь-дипольну взаємодію [9]:

$$\vec{E}_d = \frac{1}{\varepsilon_m} \sum_i \frac{1}{r_i} e^{ik\vec{r}_i} \left\{ k^2 [\vec{p}_i - \vec{s}_i(\vec{s}_i\vec{p}_i)] + \frac{1 - ik\vec{r}_i}{r_i^2} [3\vec{s}_i(\vec{s}_i\vec{p}_i) - \vec{p}_i] \right\}, \quad (1.11)$$

де  $s_i$  – радіус вектор між зарядами диполя.

Віднаходячи рішення у вигляді  $p = p_0 e^{i\omega t}$ , можна знайти діелектричну проникність композитного середовища [10]:

$$\varepsilon_{1ef} = \varepsilon_0 + q \frac{(1 + 3\varepsilon_0)(\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2 + 2\varepsilon_1\varepsilon_0)}{(\varepsilon_1 + 2\varepsilon_0)^2 + \varepsilon_2^2}, \quad \varepsilon_{2ef} = q \frac{3\varepsilon_0(1 + 2\varepsilon_0)\varepsilon_2}{(\varepsilon_1 + 2\varepsilon_0)^2 + \varepsilon_2^2}, \quad (1.12)$$

$$\text{де } \varepsilon_1 = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 - v^2}, \quad \varepsilon_2 = 1 - \frac{\omega_p^2 v}{\omega(\omega^2 - v^2)}.$$

Аналізуючи дані функції на екстремуми можна виразити частоту Фреліха (власна частота коливань вільного електрона в металевих наночастинках), при якій досягається резонанс[11]:

$$\omega_F^2 = \frac{2 \times \omega_p^2}{\varepsilon_m + 2\varepsilon_0 + [(\varepsilon_m + 2\varepsilon_0)^2 + 2A \times \omega_p^2]^{1/2}}, \quad (1.11)$$

де  $\omega_p^2 = \frac{4\pi N e^2}{m} = 5.8 \text{ еВ}$  – плазмова частота вільного електрона в наночастинці металу (золото) [12].  $e = 1.60217663 \times 10^{-19} \text{ Кл}$ ,  $m = 9.1093837 \times 10^{-31} \text{ кг}$ ,  $N = 5.90 \times 10^{28} \text{ м}^{-3}$  – щільність вільних електронів (золото),  $\varepsilon_m = 9.3$  – міжзонна діелектрична проникність металу,  $\varepsilon_0$  – діелектрична проникність підкладки,  $A = \frac{24\varepsilon_0^2 a^2}{5c^2}$  – коефіцієнт форми наночастинки,  $a$  – радіус наночастинки.

Діелектричну проникність у металі можна записати як [8, 13]:

$$\varepsilon' = n^2 - \kappa^2 = \varepsilon_0(1 - q) + \frac{f \times \omega_p^2 \times (\omega_F^2 - \omega^2)}{(\omega_F^2 - \omega^2)^2 + \gamma^2 \omega^2}, \quad (1.12)$$

$$\varepsilon'' = 2n\kappa = \frac{f \times \omega_p^2 \times \gamma \times \omega}{(\omega_F^2 - \omega^2)^2 + \gamma^2 \omega^2}, \quad (1.13)$$

де  $n$  – показник заломлення металу,  $\kappa$  – показник поглинання металу,  $\gamma = 0.74 \times 10^{15} \text{ с}^{-1}$  – частота релаксації вільних електронів,  $q = \frac{V_{metal}}{V_{total}} \approx$

0.25 – об'ємний коефіцієнт заповнення середовища металевими

наночастинками,  $f = \frac{3q\varepsilon_0}{(\varepsilon_m + 2\varepsilon_0)}$  – коефіцієнт електричного поля.

$$n = \left[ \frac{(\varepsilon'^2 + \varepsilon''^2)^{1/2} + \varepsilon'}{2} \right]^{1/2}, \quad (1.14)$$

$$\kappa = \left[ \frac{(\varepsilon'^2 + \varepsilon''^2)^{1/2} - \varepsilon'}{2} \right]^{1/2}. \quad (1.15)$$

Даний підхід буде розкритий у розділі 3, де розглядатимуться випадки пов'язаних мод та гібридні резонанси.

Більш уважний розгляд властивостей металів у граничних випадках – квантовому, якщо метал представлений всього одним атомом [14] або розмірному – коли розмір частинок металу сходиться з довжиною вільного пробігу електрона і, як наслідок цього проявляється фазова не синхронність збуджуючого випромінювання і вільних електронів, що коливаються, призводить до виникнення поляритон-плазмонного поглинання [15], призводить до розуміння необхідності вносити коригування у феноменологічну теорію та вивчати більш тонкі ефекти [16].

Сучасні технології [17] однак поставили ще одне завдання пов'язане з з'ясуванням поведінки наночастинок, у яких проявляються квантово-розмірні ефекти [18]. Двома основними такими ефектами для подальшого розгляду є міжзонне [19] та плазмове поглинання світла [20]. Спробуємо розглянути ці ефекти з точки зору ефективного показника заломлення, який залежить від модового складу всередині наночастинок та мод квантово-механічної природи, які можна описати з точки зору частинки потенційної ями.

## **1.2 Гігантське комбінаційне розсіювання біоорганічних молекул**

SERS було вперше виявлено в 1974 Флейшманом та ін. [21], які повідомили про несподівано великий комбінаційний сигнал від піридину, адсорбованого на шорсткому срібному електроді. З того часу дана методика набула широкого поширення для вивчення хімічного та біологічного складу речовини [22]. Однак, досі не розроблено єдиного теоретичного опису процесу підсилення сигналу на металевих наноструктурах [23]. Існує два підходи для опису ефекту SERS: електродинамічний опис [24] та молекулярний квантово-механічний [25]. Суть електродинамічного опису зводиться до того, що в наночастиці золота виникає диполь, що призводить до появи поляритону в молекулі, що змінює тензор поляризуємості молекул. Процеси релєївського та комбінаційного розсіювання в резонансних і нерезонансних умовах наведені на рис. 1.2.

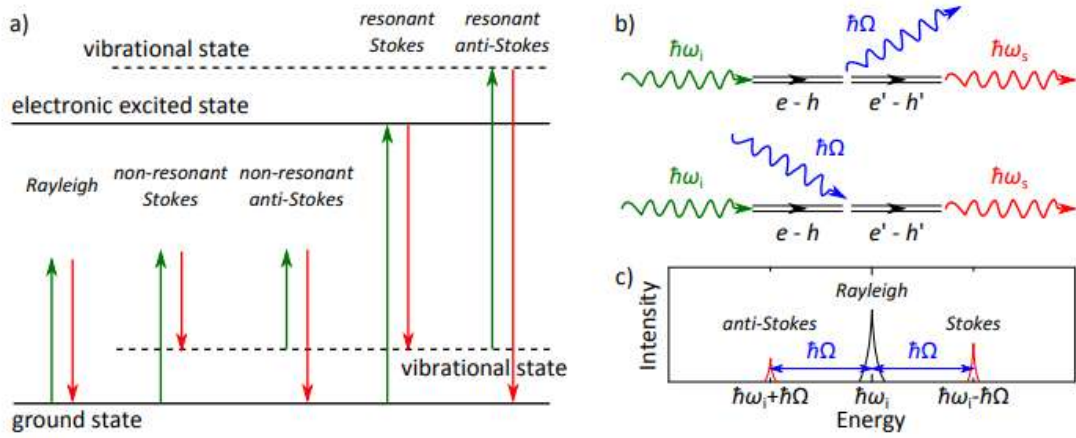


Рисунок 1.2 а) Процеси релєївського та комбiнацiйного розсiювання в резонансних i нерезонансних умовах. б) Вгорi: ескiз процесу Стокса, де вхiдний фотон з енергiєю  $\hbar\omega_i$  збуджує електрон-дiркову пару  $e - h$ . Пара розпадається на фонон з енергiєю  $\hbar\Omega$  та iншу електронно-дiркову пару  $e' - h'$ . Останнiй рекомбiнує, випускаючи фотон з енергiєю  $\hbar\omega_s$ . Внизу: вiдповiдний антистоксiв процес, коли фонон поглинається парою  $e - h$ . в) Схематичне зображення спектра комбiнацiйного розсiювання, що показує залежнiсть енергiї релєївської, раманiвської, стоксової та антистоксової лiнiї вiд початкової енергiї фотона  $\hbar\omega_i$  [26].

Експериментально положення раманiвського зсуву визначається виразом [27]:

$$Raman\ shift(cm^{-1}) = \left( \frac{1}{\lambda_{laser}(nm)} - \frac{1}{\lambda_{vibration}(nm)} \right) \times 10^7. \quad (1.16)$$

У разi коли розглядається некогерентне раманiвське розсiювання вiд окремої молекули iнтенсивнiсть смуги визначається ймовiрнiстю переходу i задається коефiцiєнтом Ейнштейна [28]:

$$B_{i \rightarrow j} = B_{j \rightarrow i} = \frac{2\pi}{3\hbar^2} |(\mu_n)_{ji}|^2, \quad (1.17)$$

де наведений дипольний момент може бути представлений у виглядi [29]:

$$(M_n)_{ji} = \int \psi_i^* \sum_m e_m x_m \psi_j d\tau \neq 0 \quad (1.18)$$

Тоді інтенсивність смуги може бути виражена так:

$$I_s = c\rho(\omega_{ij}), \quad (1.19)$$

де густина електромагнітного випромінювання, що створюється осцилятором задається виразом [30]:

$$\rho(\omega_{ij}) = \frac{A_{ij}}{B_{ji}e^{\frac{\hbar\omega_{ij}}{kT}} - B_{ij}}. \quad (1.20)$$

Коефіцієнт спонтанного поглинання задається виразом:

$$A_{ij} = \frac{8\pi\hbar\omega_{ij}}{c^3} B_{ji}. \quad (1.21)$$

При розгляді комбінаційного розсіювання вдаються до моделі індукованого дипольного моменту, який у разі коливальних переходів задається тензором розсіювання, який у нормальних координатах може бути записаний у вигляді [31]:

$$\begin{aligned} (\alpha_{\rho\sigma})_{v_m, v'_m} = & \frac{e^2}{h} \sum_r \left[ \frac{(M_\sigma^0)_{kr} (M_\rho^0)_{kr}}{\bar{v}_{rk} - \nu_0} + \frac{[\rho \leftrightarrow \sigma]}{\bar{v}_{rk} + \nu_0} \right] \langle \varphi_{v_m}(Q_m) | \varphi_{v'_m}(Q_m) \rangle \\ & + \frac{e^2}{h} \sum_r \left\{ \sum_t \frac{\left\{ (M_\sigma^0)_{kr} (M_\rho^0)_{rt} + (M_\rho^0)_{rk} (M_\sigma^0)_{tr} \right\} h_{tk}^{Q_m} + \left\{ (M_\sigma^0)_{kr} (M_\rho^0)_{kt} + (M_\rho^0)_{rk} (M_\sigma^0)_{kt} \right\} h_{tr}^{Q_m}}{\bar{v}_{r,k} - \nu_0} \right. \\ & \left. \times \langle \varphi_{v_m}(Q_m) | Q_m | \varphi_{v'_m}(Q_m) \rangle \right\} \\ & + \frac{e^2}{h} \sum_r \left[ \sum_{t,Q} \frac{[\rho \leftrightarrow \sigma]}{\bar{v}_{rk} + \nu_0} \right] \times \langle \varphi_{v_m}(Q_m) | Q_m | \varphi_{v'_m}(Q_m) \rangle + \dots \end{aligned} \quad (1.22)$$

Тоді диференційний поперечний переріз  $\frac{d\sigma}{d\Omega}$  визначається наступним чином [32]:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{I_s}{I_{laser}}. \quad (1.23)$$

Що є відношенням розсіяної потужності  $I_s$  у тілесний кут  $d\Omega$  до інтенсивності збуджуючого (лазерного) випромінення  $I_{laser}$ .

У разі ГКР необхідно врахувати коефіцієнт підсилення електромагнітного поля  $G$ , що визначається так [33]:

$$G = Mag_{near-field}(\omega_{laser}) \times Mag_{near-field}(\omega_{plasmon}) \approx \frac{|E_{near-field}(\omega_{laser})|^2 |E_{near-field}(\omega_{plasmon})|^2}{|E_{laser}|^4}, \quad (1.24)$$

де  $Mag_{near-field}(\omega_{laser})$  – коефіцієнт підсилення локального поля лазерного випромінювання на частоті  $\omega_{laser}$ ,  $Mag_{near-field}(\omega_{plasmon})$  – коефіцієнт підсилення локального поля плазмона.  $E_{near-field}(\omega_{laser})$  – електричне поле створюване лазерним випроміненням,  $E_{near-field}(\omega_{plasmon})$  – електричне поле створюване модою наночастинки металу. Можна бачити, що максимальне випромінювання виникає у разі, якщо  $\omega_{plasmon} = \omega_{laser}$ .

При обчисленні локального поля перетин комбінаційного розсіювання буде виражено у вигляді:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = G \frac{I_{scattering}}{I_{laser}}. \quad (1.25)$$

Однак у випадку класичного електромагнітного розгляду  $G$  має порядок у діапазоні  $10^4 - 10^8$ . Цей параметр має сильну залежність від відстані порядку  $d$  між гранулою металу (рис 1.3) та молекулою і ще від радіуса сфери  $a$ , та задається виразом [34]:

$$\frac{G(d)}{G(0)} = \left(\frac{a}{a+d}\right)^{12}. \quad (1.26)$$

Даний вираз накладає суттєві обмеження на відстань між молекулою та гранулою металу і надалі детальніше цей феномен описаний у розділі 3 на прикладі пов'язаних осциляторів. Слід зауважити, що літературні дані (рис



1.3) дають відстань між наночастинкою металу та молекулою близько 10 нм, для підсилення Раманівського розсіювання [35].

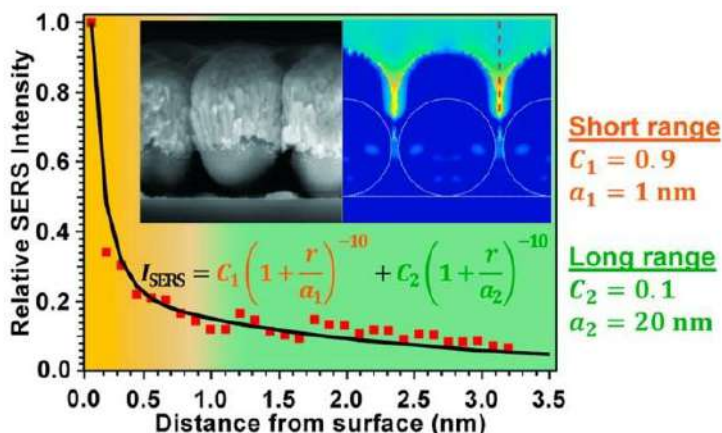


Рис. 1.3 Сигнал SERS як функція відстані від поверхні. Виявлено ближню та дальню складові; вони пов'язані з морфологічними особливостями металевої підкладки розміром приблизно 1 нм і 20 нм відповідно. На вставках представлено зображення підкладки SERS (срібна плівка на наносферах), отримане за допомогою скануючої електронної мікроскопії, і моделювання електричного поля. [35]

Основна критика цього підходу полягає в тому, що дипольне представлення розподілу поля можливо тільки в разі дипольного наближення. А це означає, що відстань від молекули до наночастки значно більше, ніж радіус наночастинки. Ця умова не завжди може бути виконана в разі молекулярного монослою. З іншого боку, підсилення в цьому випадку передбачається тільки на частоті поглинання наночастинки, яка повинна дорівнювати збуджуючому лазерному випромінненню.

Другий підхід полягає в урахуванні вкладу вільних електронів металу в гамільтоніані, що описує квантово-механічну систему молекул. Головна передумова полягає в тому, що молекула має дворівневу систему з диференціально-розширеними дискретними станами. При цьому молекула адсорбована на металевій наночастинці. Молекули і наночастинки з плазмою вільних електронів утворюють пов'язану систему, стан якої можна розрахувати за методом Фано [36]. Резонансні частоти сильно залежать від

щільності стану поверхневих плазмонів і пов'язаних з ними полем поляризації. Ці характеристики напряму залежать від діелектричної проникності  $\varepsilon(\omega, \vec{k})$ . Так як SERS чутливе до розриву між гранульованим металом і молекулою, і важливо враховувати такі розриви порядку  $10 \text{ \AA}$ . В цьому випадку необхідно враховувати залежність діелектричної проникності  $\varepsilon(\omega, \vec{k})$  від хвильового вектору  $\vec{k}$  [37].

В цьому випадку матричний елемент між початковим  $|i\rangle$  і кінцевим станом  $|j\rangle$  визначає амплітуду комбінаційного розсіювання в присутності наночастинок металу та задається виразом [38]:

$$\begin{aligned}
 M = \int \frac{dE}{E - \hbar\omega_{laser}} & [\langle i, j | \vec{e}_s \times p | k, j \rangle \alpha(E) \\
 & + \sum_m \langle i, j | \vec{e}_s \times p | i, m \rangle b_m(E)] \times [\langle i, j | \vec{e}_s \times p | k, j \rangle \alpha^*(E) \\
 & + \sum_m \langle i, j | \vec{e}_s \times p | i, m \rangle b_m^*(E)].
 \end{aligned} \quad (1.27)$$

Проміжний стан  $|k\rangle$  є пов'язаним станом плазми і станом молекули. При умові інтерференції між матричними елементами  $\langle i, j | \vec{e}_s \times p | k, j \rangle \alpha^*(E)$  и  $\sum_m \langle i, j | \vec{e}_s \times p | i, m \rangle b_m^*(E)$  виникає антисиметричний резонанс Фано.

Таким чином, можна зробити наступні висновки:

1. Відстань між молекулою і наночастиною металу має бути порядку  $10 \text{ нм}$ .
2. Підсилення буде порядку  $10^6$  у разі наявності наявних мод наночастинок і зазначеного дипольного моменту молекули.

### 1.3 Міастенія, основні відомості про хворобу

Міастенія – це часто важке захворювання, яке недостатньо вивчене і важко піддається виявленню [39]. Це найбільш розповсюджене захворювання нервово-м'язових з'єднань, має різні прояви та різноманітні послідовності проявів симптомів у клінічній картині [40]. Складності в діагностиці міастенії в основному пов'язані з ранніми стадіями захворювання, коли проявляються тільки окремі симптоми або локалізована слабкість [41]. Єдиним проявом хвороби є слабкість різних скелетних м'язів. Дана м'язова слабкість розвивається від проксимальних частин до дистальних [42], захворювання прогресує до дихальної недостатності та понад 11% хворих, у яких діагностовано це захворювання, вмирають тяжкою смертю [43].

Показники поширеності міастенії зростають через збільшення тривалості життя захворювання та впливу на старіння населення [44]. Оцінка поширеності міастенії в Європі становить 56 000-123 000 пацієнтів і 60 000 у Сполучених Штатів Америки [45, 46], летальність при госпіталізації може досягати 14,69 % [42]. Велика кількість досліджень поширеності міастенії підкреслюють важливість проблем діагностики та відсутності розуміння етіології захворювання [42, 44, 47]. Оскільки поширеність міастенії, ймовірно, вище відомих оцінок, вчені розробляють керівництва оцінки міастенії за видимими ознаками [48], але всі відомі види діагностики міастенії з урахуванням візуальних оцінок і шкал мають свій ступінь неточності.

При первинній діагностиці клініцисти можуть спостерігати різні симптоми цього захворювання (диплопія, птоз обличчя, бульбарний синдром, дизартрія та ін.) [49]. Не однакова іннервація екстраокулярних м'язів призводить до диплопії. При диплопії, птозах обличчя, слабкості інших м'язів для підтвердження діагнозу очної або генералізованої міастенії проводять тестування на антитіла до рецепторів ацетилхоліну (ACh), а його клінічна чутливість становить за різними даними 50-70% [50] або 80% [51]. І хоча одноволоконна електроміографія є точним способом підтвердити міастенію

при диплопії [52], птози та ізольовані окулярні ознаки є початковими симптомами захворювання всього у 50% пацієнтів з MG [53]. Тому діагностика, особливо на ранніх стадіях хвороби, ускладнена. На пізніших стадіях захворювання або при генералізованій міастенії проводять прозеринову пробу [54]. Прозерин, який використовується в цьому тесті, блокує ацетилхолінестеразу (AChE) [55]. Це впливає на накопичення ACh, який активує рецептори для реалізації нервового імпульсу. Це може вказувати на те, що при міастенії кількість AChE в синаптичній щілині є недостатньою, що зміщує патогенез міастенії з синаптичної щілини до пресинаптичної мембрани або до попередніх стадій нервового імпульсу. І хоча існує твердження, що вказує на більше вивільнення ACh в міастенічних м'язах, все-таки підвищення активності Холін-ацетилтрансферази, яка приймає участь в утворенні ACh, в біохімічних тестах не спостерігалось [56].

Неоднозначність симптомів робить діагностику міастенії на ранніх стадіях складною і часто це захворювання діагностується на пізніших стадіях, що негативно позначається на клінічній картині [57, 58], розвиваються супутні захворювання, також ця хвороба може бути тимомоасоційованою, що може бути як причиною міастенії так і її наслідком [59, 60]. Подібні проблеми трактування симптомів та діагностики викликані відсутністю знань про патогенні фактори, що визначають захворювання [61 – 63]. З вищевикладеного видно, що всі відомі зараз методи діагностики міастенічних захворювань малоефективні на ранній стадії, дають мало достовірності діагнозу, більше того, вони не придатні для експрес-аналізу.

## **1.4 Біохімічні властивості Ботулотоксинів та методи детекції в медицині**

### **1.4.1 Ботулотоксини, різноманітність і розповсюдженість**

BoNT виробляється грампозитивною бактерією *Clostridium botulinum*. Він є нейротоксином, який є однією з найбільш отруйних біологічних речовин, відомих науці. *C. botulinum* виробляє вісім антигенно відмінних екзотоксинів,

а саме, А, В, С1, С2, D, E, F і G [64]. На додаток до химерних нейротоксинів (BoNT/CD, BoNT/DC і BoNT/FA) і численних підтипів серотипів (позначених суфіксом: BoNT/A1, BoNT/A2 тощо), існує багато десятків різних токсинів [65]. Зі збільшенням кількості відомих бактерій і нових ізолятів, які проходять секвенування ДНК, це число неминуче зростатиме [66]. Обидва типи А і В використовуються в медицині та в комерційній сфері, і можуть інфікувати людей [67-69]. Типи E і F можуть інфікувати людей, тоді як решта типів інфікують лише інших тварин; типи від С до G менш поширені [64, 67, 70].

Найвідоміше захворювання, яке спровоковане BoNT є ботулізм, найрозповсюдженішим екзотоксином є BoNT А. Продукти, уражені спорами *C. botulinum*, які не пройшли обробку або були оброблені дуже мало, і які зберігалися в середовищах, що сприяють росту *C. botulinum*, а саме анаеробні умови, низьку кислотність ( $pH > 4,5$ ), низький вміст солі та цукру, а також температуру 30 – 37 °C можуть містити BoNT А, що спричинятиме харчовий ботулізм [71, 72]. Дитячий ботулізм частіше зустрічається у немовлят віком до одного року, які вживали мед, або інші продукти, іноді він також може виникнути у доросліших дітей [73]. Рановий ботулізм спричинений ростом *C. botulinum* і утворенням BoNT у рані наразі важливе питання не лише через можливість використання біологічної зброї на його основі, а й через те, що *C. botulinum* широко поширені у ґрунтах берегів і донних відкладень озер [74]. Тому при відкритій рані у солдатів особливо біля стоячих водойм зростає вірогідність зараження. Споживачі наркотиків піддаються ризику ранового ботулізму через ін'єкції заражених матеріалів або наркотиків [75].

#### **1.4.2 Біохімічні властивості Ботулотоксину А**

BoNT А – це білок, який є продуктом трансляції гена *botA* *Clostridium botulinum* А штам Холла [76]. Він складається з двох ланцюгів, легкого 50 кДа та важкого 100 кДа, з'єднаних одним дисульфідним містком. В організм молекула BoNT, потрапляє в зв'язці з білком, який називається нетоксичним негемагглютиніном, позбавленим протеазної активності, і ще додатковими

рекомбінантними білками (HA70, HA17, HA33). Такий гетеродимер (рис. 1,а) є набагато більш стабільним, ніж VoNT окремо, до кислих і протеолітичних умов, які зустрічаються в шлунково-кишковому тракті [77]. Таким чином додаткові нетоксичні білки полегшують зв'язування комплексу з кишковим слизом і згодом допомагають молекулі VoNT (рис. 1b) рухатися з просвіту кишківника через слизовий і поляризований епітеліальний моношар [78, 79].

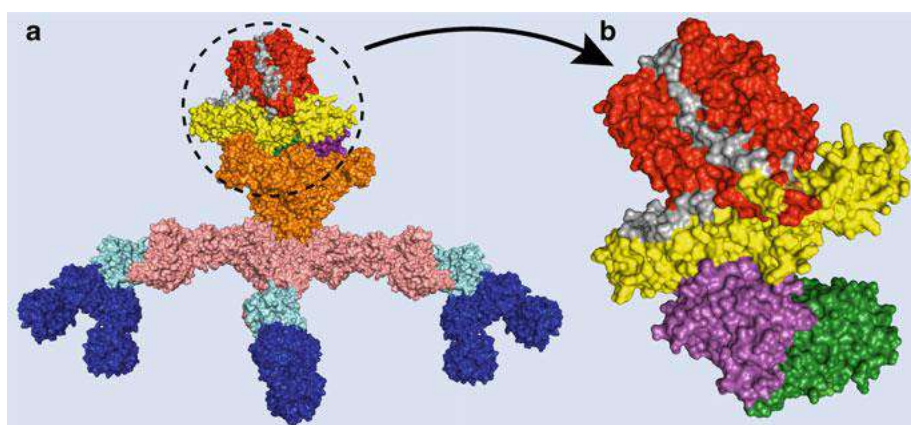


Рис. 2.1 Молекулярна структура VoNT/A1 та його комплексу гетеродимеру, що складається з VoNT/A1 у верхній частині, та нетоксичного негемаглютинину (помаранчевий) і комплексу рекомбінантних білків знизу. (b) Молекула VoNT/A1 150 кДа, що показує організацію трьох доменів важкого ланцюга токсину: С-кінцевий домен (зелений), N-кінцевий домен (фіолетовий), HN-домен (жовтий) та легкого ланцюга (червоний). Пептидний пояс (сірий), між ланцюговий дисульфідний зв'язок (помаранчевий) [64].

Трьома функціональними доменами важких ланцюгів є С-кінцевий домен, який зв'язує нейротоксини з рецептором N-глікозилуванням SV2A, B, C в периферичних нервових закінченнях, N-кінцевий домен, який зв'язується з мембраною [79], та HN-домен, який транслює легкий ланцюг у цитоплазму нервових клітин [80]. Легкі ланцюги є металопротеазами цинку, які шляхом селективного розщеплення білків SNARE (розчинний рецептор, чутливий до N-етилмалеїміду) запобігають вивільненню нейромедіатора Ф в холінергічних нервах [81]. Це відбувається за рахунок того, що токсин поглинається ендоцитним шляхом після рециркуляції синаптичних везикул (за подібністю).

Структурна перебудова відбувається, коли рН ендосоми, що містить токсин, падає, що дозволяє легкому ланцюгу транслокуватися в цитозоль через пори, утворені N-кінцем важкого ланцюга (за подібністю). Дисульфідний зв'язок між двома субодиницями руйнується в цитозолі, і легкий ланцюг розщеплює свій цільовий білок на синаптичних везикулах, щоб зупинити їхнє злиття з цитоплазматичною мембраною та вивільнення нейромедіаторів [82].

BoNT зв'язується з холінергічними нервовими закінченнями, а потім потрапляє у цитозоль, де каталітично інактивує шляхом протеолізу три білки SNARE, що беруть участь у вивільненні нейромедіаторів, цей процес викликає нейропараліч. Як наслідок, невелика кількість BoNT має здатність лікувати хвороби, спричинені надмірною активністю нервових закінчень [69], але менше з тим, дихальні та глоткові м'язи можуть бути достатньо ослаблені шляхом часткової блокади вивільнення ACh в нервово-м'язових з'єднаннях, що призводить до дихальної недостатності та асфіксії [83]. Орієнтовна летальна доза (LD50) токсину типу А для людини становить 1,1– 2,1 нг/кг при внутрішньовенному або внутрішньо м'язовому введенні, 10– 13 нг/кг при вдиханні або 1000 нг/кг при ковтанні [84].

### **1.4.3 Методи виявлення Ботулотоксину А**

Діагностичні тести з BoNT можна проводити в лабораторії рівня біобезпеки 2 із належним індивідуальним захистом, шафами біологічної безпеки класу II та дотриманням інструкцій з біобезпеки установи. Слід враховувати час збору проб (до введення антитоксину або після), умови зберігання та транспортування, так як для можливого секвенування необхідне виділення організмів і рівень виразності симптомів пацієнта, щоб визначити оптимальний час, що витрачається на тестування [85].

Історично біотест на мишах був золотим стандартом для лабораторного підтвердження ботулізму, але його мінусами є те, що для остаточних результатів може знадобитися до 4 діб, потрібен кваліфікований персонал цей тест є коштовним та треба враховувати етичну складову [86]. Іншим тестом

може бути обробка зразків і культивування, де важливо врахувати, що через можливе потенційне використання штаму з метою біотероризму культивувати ці бактерії слід в безпечних середовищах з обмеженим доступом [87], що також може бути не доступним більшості лікарень. Клітинні аналізи, де культивують нейрональні клітини, до яких додають аналізуючі зразки [88], гарно оминають обмеженість двох попередніх методів, окрім однієї: на виконання цього тесту знадобиться до 3х діб [89]. Мас-спектрометрія ендопептидази наразі вважається одним з найкращих методів швидкого аналізу на ботулізм [90], оскільки навіть за відсутності ДНК у зразку можна отримати інформацію про серотип і субтип протягом 24 годин. Для цього методу важлива концентрація від 0,25 *mLD*50 *VoNT/A* у зразку, адже кожна молекула токсину зв'язується з молекулою мішенню [91]. Імуноаналізи серед яких імуноферментний аналіз, аналізи в латеральному потоці, Імуно-полімеразна ланцюгова реакція та мікрофлюїдні імуноаналізи гарно показали себе при вивченні для детектування *VoNT*, але потребують повторної перевірки іншим методом, адже вони можуть давати хибно позитивні результати через присутність інактивованого токсину або компонентів матриксу, що заважають [85]. Для тестування нуклеїнових кислот зовсім недавно був розроблений аналіз, в якому використовувались праймери націлені на нетоксичний ген негемагглютиніна [92], цей аналіз є чуттєвим, але слід врахувати, що аналіз орієнтований на білки гетеродимера можна проводити, коли ці білки ще перебувають у зразку, в цьому випадку аналізувати біологічні зразки пацієнта треба з урахуванням часу збору проб. Геномні порівняльні методи, такі як аналіз імпульсного гель-електрофорезу та аналіз мультилокусного послідовного типування можуть ускладнити інтерпретацію даних, якщо немає зразка порівняння [93, 94]. Використання різних біосенсорів наразі є передовим методом для діагностики різних хвороб, у випадку з детектування *VoNT*, біосенсори були протестовані або на нецільових серототипах [95], або для активного токсину [96] або була застосована технологія з мітками [97-99]. Тим не менш змінювати та



досліджувати фізичні, насамперед оптичні характеристики молекул є важливим завданням біоаналітики.

### 1.5 Порівняння імунної відповіді при міастенії та ботулізмі

Вважається, що міастенія – це аутоімунне захворювання, при якому аутоантитіла, націлені на білки нервово-м'язових з'єднань [100]. До основних аномалій нервово-м'язових з'єднань при міастенії відносяться: зменшення кількості ACh-рецепторів, що призводить до зменшення довжини постсинаптичної мембрани; укорочення синаптичних складок через руйнування термінальних розширень; розширення синаптичної щілини, спричинені укороченням синаптичних складок [101]. На рис. 2.2 неведений процес передачі здорового нервового імпульсу, при міастенії та при отруєнні ВоНТ. З рисунку видно, що ботулізм має пресинаптичну, а міастенія – синаптичну патофізіологію, та виходячи з обґрунтованого припущення в п. 1.3, можна допустити наявність патологічних процесів, які зменшують вивільнення ACh і при міастенії.

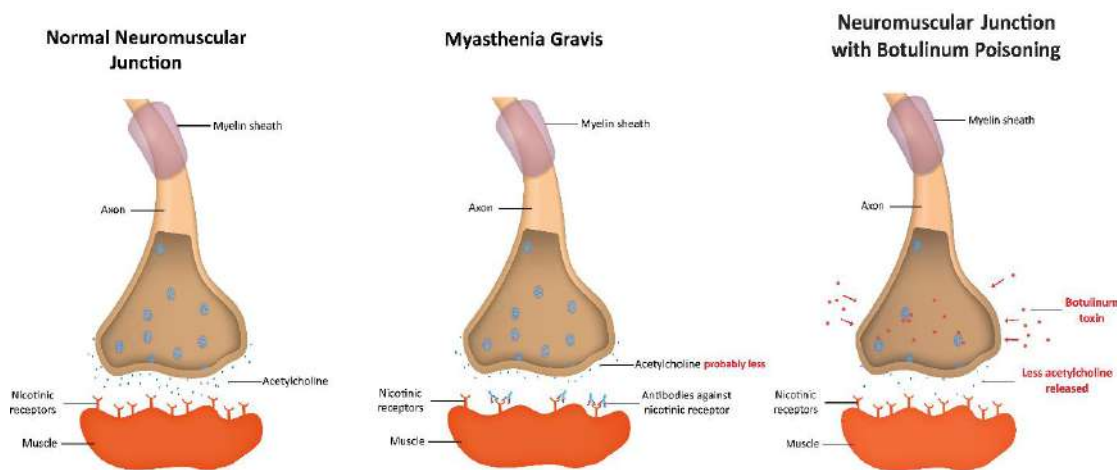


Рис. 2.2 Процес передачі нервового імпульсу здорової людини, пацієнтів з міастенією і пацієнтів, які отруєні ВоНТ А [102].

Також, вивчаючи імунну відповідь за профілем цитокінів у пацієнтів з міастенією і порівнюючи його з імунною відповіддю, при інших захворюваннях нервово-м'язових з'єднань, можна простежити ряд подібних процесів, як при отруєнні ВоНТ, який має нейропаралітичну дію. Біохімічна

діагностика вказує на зниження активності ACh при зниженні альбуміну в плазмі у хворих на міастенію [103], зниження альбуміну відбувається за рахунок пригнічення його продукції прозапальними медіаторами, такими як інтерлейкін-6, інтерлейкін-1 [104], підвищення яких виявлено у щурів та пацієнтів з міастенією [105, 106]. Гіпоальбумінемія також є результатом механізмів захисту організму від токсинів бактерій роду *Clostridioides* [107].

Оскільки BoNT, паралітичний нейротоксин, що продукується бактерією *Clostridium botulinum* викликає придушення прозапальних цитокінів (інтерлейкін-1 $\beta$  та інтерлейкін-18) та підвищенням рівня протизапальних цитокінів (антагоніст рецепторів інтерлейкін-1 та інтерлейкін-10) [108, 109], цікавим є факт, що при зміні концентрації інтерлейкін-6, який не пригнічений BoNT, та зменшенням альбуміну спостерігається зниження активності ACh [110 - 112] та появою ознак розвитку клінічної картини, як при міастенії. Таким чином, причиною міастенічного захворювання може бути отруєння BoNT при низьких концентраціях, і при цьому вироблення антитіл проти ACh-рецепторів при міастенії є вторинним явищем.

Непрямим підтвердженням вищесказаного, є те, що дослідження, проведені на ссавцях, отруєних ін'єкцією BoNT, показали, що ACh не вивільняється в синаптичну щілину для проведення нервового імпульсу, BoNT навіть у низькій дозі долає гематоенцефалічний бар'єр і може накопичуватися у мозку [113]. Дослідження показують, що BoNT A у фізичній системі, що не містить біологічної тканини, здатний інгібувати AChE [113, 114]. Однак при концентрації токсину в сироватці менше 10 – 5 мкг/л інгібування AChE не відбувається [113], оскільки кількість ACh, що вивільняється, зменшена.

Виходячи з цього можна припустити, що низької концентрації токсину в плазмі достатньо для наявності пригнічення передачі нервового імпульсу периферичних нервів. Накопичення BoNT в головному мозку та інших органах [115] може провокувати первинні прояви міастенії впливаючи на іннервацію екстраокулярних м'язів, подальший птоз та розвиток паралічу.

## **Висновки до розділу 1:**

1. Викладені засади оптичних властивостей металевих колоїдів у матриці плавленого кварцу.
2. Викладено теорію ГКР біоорганічних молекул.
3. Описані основні відомості про міастенію, зазначені основні обмеження діагностики та зазначена актуальність в розробці експрес методів тестування на ранніх стадіях захворювання.
4. Висвітлені основні біохімічні властивості ВоNT А для аналізу патофізіології та діагностики. Вказані основні методи детектування токсину та їх застосовність.
5. Проведений аналіз порівняння імунної відповіді при двох захворюваннях, вказані основні причини для формування гіпотези, що ВоNT А в низьких концентраціях може бути причиною міастенії.

## РОЗДІЛ 2

### МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ТЕОРЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1 Прибори, матеріали, методи досліджень

Джерелом золота для утворення наночастинок *Au* під час імплантації в оптичне кварцове скло були тонкі острівцеві плівки *Au*. Острівцеві плівки *Au* та полікристалічні плівки *ZnS* заданої товщини готувалися методом термічного випаровування у вакуумній установці ВУП5-М у вакуумі  $6,7 \times 10^{-3}$  Па з молібденових та танталових випарників. Підкладками були пластини плавленого кварцу, які мають прозорість в оптичному і ближньому ІЧ (інфрачервоному) діапазоні (0,3 – 1,3 мкм) і мають смугу поглинання на довжині хвилі в 10,2 – 10,8 мкм. Напилювалося золото, чистотою 99,99%.

Для опромінення зразків використовувалися пучки від лазерів DIAMOND C/CX SERIES с довжиною хвилі 10,6 мкм і потужністю, що перебудовується, і Ho:YAG лазер з довжиною хвилі 2,1 мкм і потужністю 10 Вт. Температура контролювалася безконтактним методом за допомогою ІЧ камери Fluke Ti400.

Спектри поглинання досліджуваних зразків вимірювалися на двопробному спектрофотометрі Shimadzu UV2600, в якості зразків порівняння використовували чисту кварцову підложку з тієї ж партії. Раман-спектри вимірювалися на Раман-мікроскопі Renishaw inVia™ Raman microscope з лазером 785 нм та об'єктивом 5х. Обробки спектрів проводилися у програмному забезпеченні WiRE, як наведено в підрозділі 2.5, усереднення спектру проводили у програмному забезпеченні OriginPro. Дослідження морфології структури зразків проводилося на атомному силовому мікроскопі 801NER Pro.

Забір крові проводився відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації у учасників дослідження з групи контролю та пацієнтів з міастенією, які перебували на амбулаторному лікуванні в Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України. Дослідження схвалено Етичним комітетом установи. Всі учасники

дослідження заповнили письмову згоду на участь. Детальну методику приготування сироватки крові та біологічних матеріалів наведено в наступному підрозділі.

## 2.2 Приготування біологічного матеріалу

Було проведено дослідження серед 120 учасників, з них 16 жінок та 14 чоловіків з міастенією та 17 жінок та 13 чоловіків, які мали міастенію з тимомою та здорових 30 чоловіків та 30 жінок. Середній вік жіночої когорти становив  $49 \pm 8,4$  років, чоловічої когорти –  $46 \pm 7,6$  років. Усі етапи аналізу проводилися в лабораторії рівня біобезпеки 2 у боксі біобезпеки ББП02 класу II відповідно до вказівок Інституційного комітету з біобезпеки Інституту загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева.

Кров, яка використовувалась для виробництва сироватки, була взята з ліктьової вени зранку, натщесерце і поміщена в пробірку BD – Vacutainer з Нагепарином. Об'єм проби становив 2 пробірки по 6 – 8 мл. Технологія виробництва сироватки полягала у видаленні формених елементів шляхом центрифугування на установках CM-5 МІКРОмед (поле сили тяжіння -  $2000g$ , експозиція - 15 хвилин). За допомогою піпетки Пастера переносили рідкий компонент (сироватку) відразу після центрифугування в чисту поліпропіленову пробірку. рН-фактор вимірювали у всіх зразках сироватки двічі за допомогою LAQUA рН-11. Він коливався з 9-11. Далі сироватку розділяли на аліквоти по 1,5 мл, і перед спектральним аналізом зберігали і транспортували в стерильних епендорфах Eppendorf Tubes® 5,0 мл бурштинового кольору зі світлозахистом, з кришкою, що загвинчується, при температурі –  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  уникаючи розморожування або зменшення температури. Так як зразки сироватки крові передавались з Інституту загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева до Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна не одночасно, а по мірі надходження до стаціонару нових пацієнтів, була розроблена таблиця відповідності забору та підготовки зразків, яка наведена в таблиці 2.1.

## Інструкція для забору біологічного матеріалу для дослідження

Тип біопрепарату	Сироватка	
Місце збору крові	Ліктъова вена	
Когорта	Пацієнти	Здоровий контроль
Клінічний діагноз пацієнтів	Міастенія	Тимомоасоційована міастенія
Тип стабілізації	Вакутайнер з Na-Нeparin (17 IU/ml)	
Біобезпека	ББП02 при температурі 20 °С	
Центрифугування	СМ-5 МІКРОмед (2000 g, 15 хвилин).	
Вимір рівня рН	LAQUA рН-11 калібрування Na <sub>2</sub> НРО <sub>4</sub> рН 7,00	
Довгострокова стабілізація	Заморожування лабораторний морозильник АРСТИКО LTF 425 - 7407-00869	
Температура зберігання	-20 °С	
Термін зберігання	72 години до відправки	
Транспортування	Stirling Ultracold ULT25NEU	
Температура доставки	від -20°С до -21 °С	

Для контрольної групи забір крові та виготовлення сироватки відбувався за 1 день, зразки також заморожували при зберіганні та в подальшому досліджували на підложці з тими ж проміжками часу, що і зразки пацієнтів хворих на міастенію, а саме через 5, 10 та 20 днів після забору крові.

### 2.3 Виготовлення резонансних підкладок, що підсилюють оптичні переходи біоорганічних молекул

Тонкі плівки *Au* отримували методом термічного вакуумного напилення [116]. Як підкладка використовувався плавлений кварц марки КУ-1 з плоско паралельними гранями, без дрібнозернистої неоднорідності, без бульбашок та люмінесценції. Показник заломлення плавленого кварцу на довжині хвилі

550 нм становить 1,46, число Аббе 67,8 [117]. Оптична однорідність перевірялася по дифракційному зображенню точки, яке повинно складатися зі світлої круглої плями з концентричним розташованим навколо нього вузьким світлим кільцем без розривів і без помітного відхилення від кола. Підкладки, які не підходили під перераховані вище критерії – вибраковувалися.

Технологія виготовлення тонких плівок полягала в наступному: для випаровування речовини використовувалася вакуумна камера, в яку містився молібденовий або танталовий випарник, попередньо виготовлений з фольги відповідного матеріалу і пройшов термічне загартування у вакуумі. Випарник нагрівався струмом, який подавався від силової установки вакуумного посту та контролювався вбудованим амперметром. Плавна зміна струму забезпечувалася заводською схемою з підрядковим резистором і потужним понижуючим трансформатором. У випарник поміщається речовина, що випаровується заданої маси  $M$  (зважування проводиться на високоточних важільних вагах). Випарник знаходиться від підкладки на відстані  $r$ , підкладка закріплювалася в спеціальній утримувач з пірофіліту, на якому розташований нагрівальний елемент. Попередньо підкладка проходить дві стадії очищення – хімічну в хромпіку та  $NaOH$ , а потім у коронарному розряді у залишкових парах аргону у вакуумній камері. Вакуумну камеру відкачують до тиску близько  $6,7 \times 10^{-3}$  Па і потім починають повільно нагрівати випарник, доводячи його до температури плавлення речовини, що випаровується. Розплавлена речовина випаровується у вакуумі та осаджується у вигляді плівки на підкладку з плавленого кварцу. Товщину плівки, яка виходить на підкладці, можна оцінити за такою формулою [118]:

$$h = \frac{M}{\pi \rho r^2} \cos^2 \theta, \quad (2.1)$$

де  $\rho$  – густина речовини, що випаровується; ( $\rho_{Au} = 19,3$  г/см<sup>3</sup>), а  $\theta$  – кут падіння пучка на довільну точку підкладки у точці, розташовану над випарником  $\theta = 0^\circ$ . Товщина плівки, становила 10 – 100 нм. Експериментально певний оптимум становив 10 нм.

Порівняння плівок *Au* однієї і тієї ж масової товщини ( $\sim 10$  нм), після одного напилення на поверхню нагрітої і не нагрітої підкладки, показало, що гранулярність і сферичність золота виражена набагато сильніше, якщо підкладка нагріта до температури  $300$  °С. Цей факт визначає якіснішу імплантацію золота в приповерхневий шар плавленого кварцу. Відмінність у ступені імплантації та кількості імплантованої речовини в приповерхневий шар визначається за зміною оптичної густини композитних плівок різного приготування після їх опромінення при однаковій експозиції ( $H = \frac{P \times t}{S}$ , де  $H$ - експозиція Дж/см<sup>2</sup>  $P$ -потужність лазерного випромінювання в Вт,  $t$ - час опромінювання в с,  $S$  – площа плівки, яку покриває лазерний пучок в см<sup>2</sup>). Застосування гранулярних плівок ускладнює процедуру виготовлення підкладок з імплантованими наночастинками металу. Саме тому в роботі було запропоновано нову технологію, при якій плівка осаджується на підкладку, що знаходиться при кімнатній температурі, а імплантація проводиться за допомогою двох лазерів. Ця технологія докладно описана у розділі 3. Основна перевага такого підходу полягає в тому, що вдалося отримати відтворюваність оптичних параметрів композиту метал-діелектрика. Тому надалі застосовувалися плівки, отримані шляхом вакуумного напилення на ненагріті підкладки.

Лазерна імплантація була застосована авторами [119] для поміщення срібла в твердотільну матрицю з плавленого кварцу. Для цього використовувався CO<sub>2</sub>-лазер, а опромінення вироблялося з боку плівки срібла. Подальші зусилля щодо застосування даної технології призвели до того, що авторам вдалося імплантувати золото в приповерхневий шар плавленого кварцу. Для цього використовувалося випромінювання з боку плівки золота CO<sub>2</sub>-лазером та одночасне нагрівання бунзерівським пальником з протилежного боку. Дані технології мали значні недоліки, один з яких відсутність повторюваності оптичних характеристик імплантованих плівок. У цій роботі вдалося подолати зазначене вище обмеження.



Пластинка з плівкою опромінювалася з боку плівки лазером Ho:YAG з довжиною хвилі 2,1 мкм та потужністю 10 Вт з діаметром пучка 2 – 3 мм, а зі зворотного боку CO<sub>2</sub>-лазером DIAMOND C/CX SERIES с довжиною хвилі 10,6 мкм та потужністю 30 Вт з діаметром пучка 3 – 5 мм. Дослідження теплового впливу таких пучків за допомогою тепловізора Fluke Ti400 показали, що імплантація відбувається за температури від 900 – 1200 °С. Детальний опис технології наведено в розділі 3 і є новизною роботи.

## **2.4 FDTD метод у застосуванні до чисельного моделювання в нанофотоніці**

Метод FDTD дозволяє знайти чисельне рішення рівнянь Максвелла практично без будь-яких обмежень, що накладаються до систем і завдань [120]. На даний момент метод є найбільш універсальним у чисельному моделюванні процесів у нанофотоніці та біофізиці [121]. Слід зазначити простоту методу при контрольованому алгоритмі розрахунку заданих параметрів [122], проте реалізація граничних умов та підбір сітки дискредитації є громіздкою задачею і потребує додаткового аналізу фізичних параметрів досліджуваної системи. Метод тимчасової області дозволяє моделювати всі види взаємодій світла та матерії (у тому числі дисперсійні чи нелінійні матеріали), проте потрібно бути обережним, щоб зберегти стабільність методу. Іншим обмеженням методу є вимоги до значних обчислювальних ресурсів, у разі 3D завдань необхідно використовувати кластери та суперкомп'ютери [123].

Рівняння Максвелла [124]:

$$\operatorname{rot}\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = -\frac{\partial\mathbf{B}(\mathbf{r}, t)}{\partial t}, \quad (2.2) \quad \operatorname{rot}\mathbf{H}(\mathbf{r}, t) = \frac{\partial\mathbf{D}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \mathbf{j}(\mathbf{r}, t), \quad (2.3)$$

$$\operatorname{div}\mathbf{D}(\mathbf{r}, t) = \rho(\mathbf{r}, t), \quad (2.4) \quad \operatorname{div}\mathbf{B}(\mathbf{r}, t) = 0. \quad (2.5)$$

Зберігаючи макроскопічну густину струму в рівняннях, оскільки вони будуть використовуватися для реалізації джерел збудження при моделюванні.

$$\mathbf{D} = \varepsilon(x, \omega)\mathbf{E}, \quad \mathbf{B} = \mu(x, \omega)\mathbf{H}, \quad \mathbf{J} = \sigma(x, \omega)\mathbf{E}, \quad (2.6)$$

$$\mathbf{D}(\mathbf{r}, t) = \varepsilon_0\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \mathbf{P}(\mathbf{r}, t), \quad (2.7)$$

$$\mathbf{B}(\mathbf{r}, t) = \mu_0\mathbf{H}(\mathbf{r}, t) + \mathbf{M}(\mathbf{r}, t), \quad (2.8)$$

де  $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$  - електричне поле,  $\mathbf{H}(\mathbf{r}, t)$  - магнітне поле,  $\mathbf{D}(\mathbf{r}, t)$  - густина діелектричного потоку,  $\mathbf{B}(\mathbf{r}, t)$  - густина магнітного потоку,  $\mathbf{P}(\mathbf{r}, t)$  - діелектрична поляризація,  $\mathbf{M}(\mathbf{r}, t)$  - магнітна поляризація (намагнічування),  $\rho$  - густина заряду, а  $\mathbf{J}$  - густина струму.

Щоб уявити загальний принцип методу, спочатку треба нехтувати будь-якими складними властивостями матеріалу і прийняти найпростіший варіант недисперсійного (досить нефізичний, але на даний момент прийнятний), немагнітного ізотропного діелектрику:

$$\mathbf{D}(\mathbf{r}, t) = \varepsilon_0\varepsilon(\mathbf{r})\mathbf{E}(\mathbf{r}, t), \quad (2.9)$$

$$\mathbf{B}(\mathbf{r}, t) = \mu_0\mathbf{H}(\mathbf{r}, t). \quad (2.10)$$

Тоді:

$$\operatorname{rot}\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = -\mu_0 \frac{\partial \mathbf{H}(\mathbf{r}, t)}{\partial t}, \quad (2.11)$$

$$\operatorname{rot}\mathbf{H}(\mathbf{r}, t) = \varepsilon_0\varepsilon(\mathbf{r}) \frac{\partial \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \mathbf{j}(\mathbf{r}, t).$$

Наступним етапом слід представити  $\operatorname{rot}$  у вигляді:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \mathbf{H}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} &= -\frac{1}{\mu_0} \operatorname{rot}\mathbf{E}(\mathbf{r}, t), \\ \frac{\partial H_x}{\partial t} &= \frac{1}{\mu_0} \left[ \frac{\partial E_y}{\partial z} - \frac{\partial E_z}{\partial y} \right], \\ \frac{\partial H_y}{\partial t} &= \frac{1}{\mu_0} \left[ \frac{\partial E_z}{\partial x} - \frac{\partial E_x}{\partial z} \right], \\ \frac{\partial H_z}{\partial t} &= \frac{1}{\mu_0} \left[ \frac{\partial E_x}{\partial y} - \frac{\partial E_y}{\partial x} \right]. \end{aligned} \quad (2.12a)$$

$$\frac{\partial \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = -\frac{1}{\varepsilon_0 \varepsilon(\mathbf{r})} \text{rot} \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) - \mathbf{j}(\mathbf{r}, t),$$

$$\frac{\partial E_x}{\partial t} = \frac{1}{\varepsilon_0 \varepsilon(\mathbf{r})} \left[ \frac{\partial H_z}{\partial y} - \frac{\partial H_y}{\partial z} - j_x \right],$$

$$\frac{\partial E_y}{\partial t} = \frac{1}{\varepsilon_0 \varepsilon(\mathbf{r})} \left[ \frac{\partial H_x}{\partial z} - \frac{\partial H_z}{\partial x} - j_y \right],$$

$$\frac{\partial E_z}{\partial t} = \frac{1}{\varepsilon_0 \varepsilon(\mathbf{r})} \left[ \frac{\partial H_y}{\partial x} - \frac{\partial H_x}{\partial y} - j_z \right].$$
(2.126)

Дискретизацію в часі і просторі слід представити у вигляді:

$$(i, j, k, n) = (i\Delta x, j\Delta y, k\Delta z, n\Delta t)$$

$$\Rightarrow E_x(i\Delta x, j\Delta y, k\Delta z, n\Delta t) = E_x \Big|_{ijk}^n$$

$$\varepsilon(i\Delta x, j\Delta y, k\Delta z) = \varepsilon_{ijk}.$$
(2.13)

Оператори диференціювання в дискретній формі будуть мати вигляд:

$$\frac{\partial E_x \Big|_{ijk}^n}{\partial y} = \frac{E_x \Big|_{ij+1k}^n - E_x \Big|_{ij-1k}^n}{2\Delta y} + O[(\Delta y)^2],$$
(2.14a)

$$\frac{\partial E_x \Big|_{ijk}^n}{\partial t} = \frac{E_x \Big|_{ijk}^{n+1} - E_x \Big|_{ijk}^{n-1}}{2\Delta t} + O[(\Delta t)^2].$$
(2.146)

Слід ввести поняття сітки Yee [125]

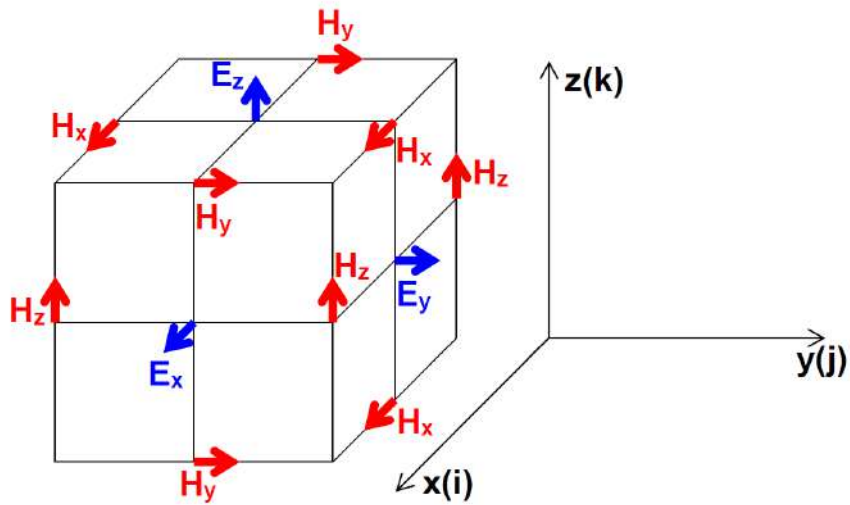


Рис. 2.1 Поля у осередку сітки FDTD. З таких осередків складається просторова тривимірна сітка Yee.

Тоді рівняння Максвелла запишуться в вигляді:

$$\begin{aligned} \frac{\partial E_x}{\partial t} &= \frac{1}{\varepsilon_0 \varepsilon(\mathbf{r})} \left[ \frac{\partial H_z}{\partial y} - \frac{\partial H_y}{\partial z} - j_x \right] \rightarrow \\ E_x \Big|_{i, j+1/2, k+1/2}^{n+1/2} &= E_x \Big|_{i, j+1/2, k+1/2}^{n-1/2} \\ &+ \frac{\Delta t}{\varepsilon_0 \varepsilon_{i, j+1/2, k+1/2}} \left( \frac{H_z \Big|_{i, j+1, k+1/2}^n - H_z \Big|_{i, j, k+1/2}^n}{\Delta y} \right. \\ &\left. - \frac{H_y \Big|_{i, j+1/2, k+1}^n - H_y \Big|_{i, j+1/2, k}^n}{\Delta z} - j_x \Big|_{i, j+1/2, k+1/2}^n \right), \end{aligned} \quad (2.15a)$$

$$\begin{aligned} E_y \Big|_{i-1/2, j+1, k+1/2}^{n+1/2} &= E_y \Big|_{i-1/2, j+1, k+1/2}^{n-1/2} \\ &+ \frac{\Delta t}{\varepsilon_0 \varepsilon_{i-1/2, j+1, k+1/2}} \left( \frac{H_x \Big|_{i-1/2, j+1, k+1}^n - H_x \Big|_{i-1/2, j+1, k}^n}{\Delta z} \right. \\ &\left. - \frac{H_z \Big|_{i, j+1, k+1/2}^n - H_z \Big|_{i-1, j+1, k+1/2}^n}{\Delta x} \right. \\ &\left. - j_y \Big|_{i-1/2, j+1, k+1/2}^n \right), \end{aligned} \quad (2.15b)$$

$$\begin{aligned} E_z \Big|_{i-1/2, j+1/2, k+1}^{n+1/2} &= E_z \Big|_{i-1/2, j+1/2, k+1}^{n-1/2} \\ &+ \frac{\Delta t}{\varepsilon_0 \varepsilon_{i-1/2, j+1/2, k+1}} \left( \frac{H_y \Big|_{i, j+1/2, k+1}^n - H_y \Big|_{i-1, j+1/2, k+1}^n}{\Delta x} \right. \\ &\left. - \frac{H_x \Big|_{i-1/2, j+1, k+1}^n - H_x \Big|_{i-1/2, j, k+1}^n}{\Delta y} \right. \\ &\left. - j_z \Big|_{i-1/2, j+1/2, k+1}^n \right). \end{aligned} \quad (2.15b)$$

$$\frac{\partial H_x}{\partial t} = \frac{1}{\mu_0} \left[ \frac{\partial E_y}{\partial z} - \frac{\partial E_z}{\partial y} \right] \rightarrow$$

$$H_x \Big|_{i-1/2, j+1, k+1}^{n+1/2} = H_x \Big|_{i-1/2, j+1, k+1}^{n-1/2}$$

$$+ \frac{\Delta t}{\mu_0} \left( \frac{E_y \Big|_{i-1/2, j+1, k+3/2}^{n+1/2} - E_y \Big|_{i-1/2, j+1, k+1/2}^{n+1/2}}{\Delta z} \right. \tag{2.16a}$$

$$\left. - \frac{E_z \Big|_{i-1/2, j+3/2, k+1}^{n+1/2} - E_z \Big|_{i-1/2, j+1/2, k+1}^{n+1/2}}{\Delta y} \right),$$

$$H_y \Big|_{i, j+1/2, k+1}^{n+1} = H_y \Big|_{i, j+1/2, k+1}^n$$

$$+ \frac{\Delta t}{\mu_0} \left( \frac{E_z \Big|_{i+1/2, j+1/2, k+1}^{n+1/2} - E_z \Big|_{i-1/2, j+1/2, k+1}^{n+1/2}}{\Delta x} \right. \tag{2.16b}$$

$$\left. - \frac{E_x \Big|_{i, j+1/2, k+3/2}^{n+1/2} - E_x \Big|_{i, j+1/2, k+1/2}^{n+1/2}}{\Delta z} \right),$$

$$H_z \Big|_{i, j+1, k+1/2}^{n+1} = H_z \Big|_{i, j+1, k+1/2}^n$$

$$+ \frac{\Delta t}{\mu_0} \left( \frac{E_x \Big|_{i, j+3/2, k+1/2}^{n+1/2} - E_x \Big|_{i, j+1/2, k+1/2}^{n+1/2}}{\Delta y} \right. \tag{2.16b}$$

$$\left. - \frac{E_y \Big|_{i+1/2, j+1, k+1/2}^{n+1/2} - E_y \Big|_{i-1/2, j+1, k+1/2}^{n+1/2}}{\Delta x} \right).$$

Алгоритм FDTD полягає в наступному [126]:

1. Використовуючи просторові різниці поля  $E$ , відомі для тимчасового кроку  $n \Delta t$ , слід обчислити поле  $H$  на тимчасовому кроці  $(n + 1/2) \Delta t$

2. Використовуючи просторові різниці поля  $H$ , які відомі для тимчасового кроку  $(n + 1/2) \Delta t$ , слід обчислити поле  $E$  на тимчасовому кроці  $(n+1) \Delta t$

3. Використовуючи просторові різниці поля  $E$ , які відомі для тимчасового кроку  $(n + 1) \Delta t$  слід обчислити поле  $H$  на тимчасовому кроці  $(n + 3/2) \Delta t$

Даний метод є точним до члена другого порядку по центральних різницях у всіх просторово-часових вимірах. Саме тому у роботі обрано такий підхід для моделювання Раман-розсіювання, розсіювання Мі на золотій сфері, флюоресценції та визначення гібридних мод у наночастинках складної форми. Був використаний стандартний продукт ANSYS Lumerical 2023 із вбудованим алгоритмом FDTD [127]. Цей алгоритм автоматично задовольняє умові Куранта-Фрідрікса-Леві [128]:

$$\Delta t \leq \frac{1}{c} \left( \frac{1}{\Delta x^2} + \frac{1}{\Delta y^2} + \frac{1}{\Delta z^2} \right)^{-1/2} = \frac{h}{c\sqrt{3}}, \quad (2.17)$$

та забезпечує стабільність рішення. Однак тимчасова та просторова дискретизація не можуть бути обрані незалежно. Це означає, що якщо подвоїти просторову роздільну здатність у 3D FDTD, споживання машинної пам'яті збільшується у 8 разів, а час обчислень збільшується як мінімум у 16 разів. Саме тому ANSYS використовує складний алгоритм розподілу пам'яті та ресурсів процесора, що дозволяє скоротити час обчислення. З іншого боку, ANSYS Lumerical дозволяє вибрати різні джерела випромінювання, граничні умови та дисперсійні матеріали, що значно спрощує процес чисельного моделювання.

## 2.5 Методи обробки спектру та аналіз його аналіз

Обробки спектрів проводилися у програмному забезпеченні WiRE™, виходячи з базових рекомендацій заводу-виробника [129]. Першим етапом обробки було видалення не інформативних даних з кінців спектру. Важливо врахувати діапазон релеївського фільтра в Раман-мікроскопі для довжини

хвилі 785 нм, який наведений рис. 2.2. Так як релєївське розсіяне світло більш інтенсивне ніж непружне розсіювання, то важливо запобігти потраплянню збуджувального світла та зберегти чутливість до раманівських зсувів, тому межа фільтра має бути якомога вузькою. Кожен вимірний сигнал має область спектрального зсуву на початку, де вікно спектрометра та перехід фільтра високих частот перекриваються [130]. Ця область повинна відсікатись, для того щоб подальша обробка спектра, така як віднімання базової лінії не враховували цей діапазон. Також не інформативна частина з кінця спектру, або діапазон від підложки відсякається з цих же причин.

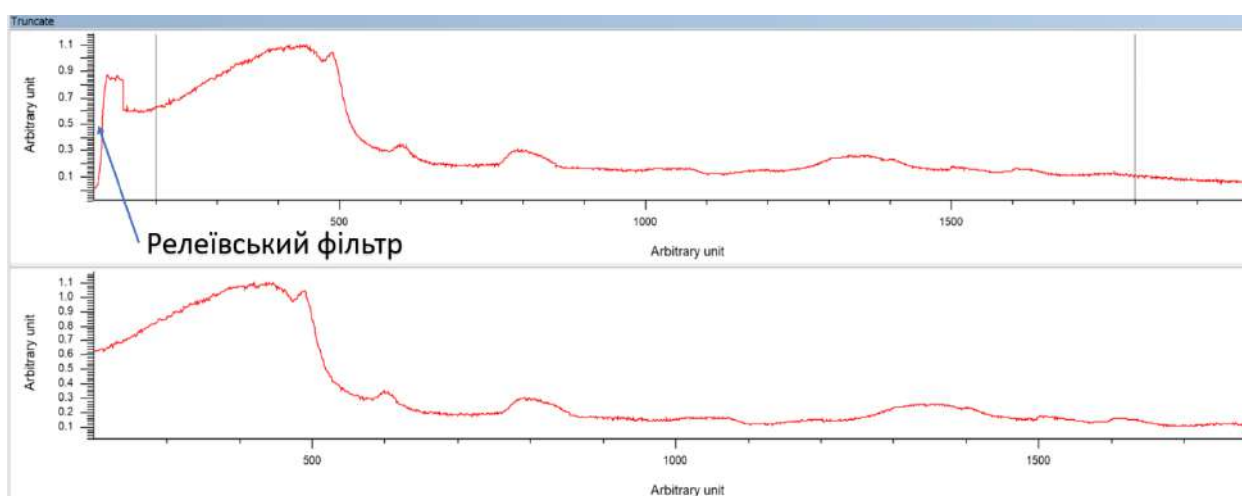


Рис. 2.2 Обробка Раман-спектру підложки шляхом відсікання країв спектру, які відповідають, фільтру та імплантованому металу з одного боку, та приклад відсікання не інформативної частини кінця спектру.

На другому етапі проводилось видалення космічного випромінювання в спектрі [129]. Космічні промені генеруються через те, що частинки високої енергії проходять через пристрій із зарядовим зв'язком (ПЗЗ) і генерують безліч електронів, які ПЗЗ інтерпретує як сигнал. Вони цілком випадкові, виглядають як дуже різкі лінії випромінювання і при знятті декількох спектрів завжди будуть в різних частинах спектру. В програмному забезпеченні WiRE видалення космічних променів може відбуватися як відносно до діапазону, так і до всього спектру, на рис. 2.3 наведений приклад видалення космічних променів відносно усього спектру, коли ширина їх полоси відповідає 3-7 пікселям.

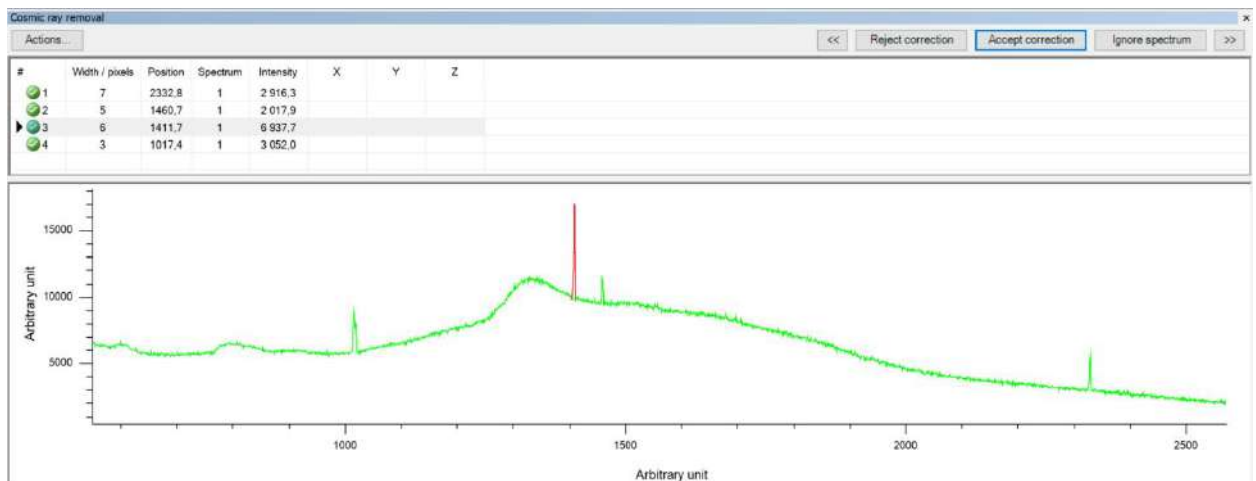


Рис. 2.3 Обробка Раман-спектру сироватки крові хворих на міастенію шляхом видалення космічних променів.

Під час третього етапу проводилось зменшення видимого шум в межах одного спектру [129]. Цей алгоритм використовується для згладжування даних і впливає на покращення співвідношення сигнал/шум. Для кожної точки підгонка поліноміальної моделі, яка використовується у згладжуванні Савицького-Голя [131], диференціюється та оцінюється для отримання першої похідної. Дану операцію слід використовувати з обережністю, оскільки вона погіршує спектральну роздільну здатність. На рис. 2.4 наведений приклад згладжування з застосування фільтру Савицького-Голя, заснованому на локальній апроксимації даних поліномами за методом найменших квадратів.

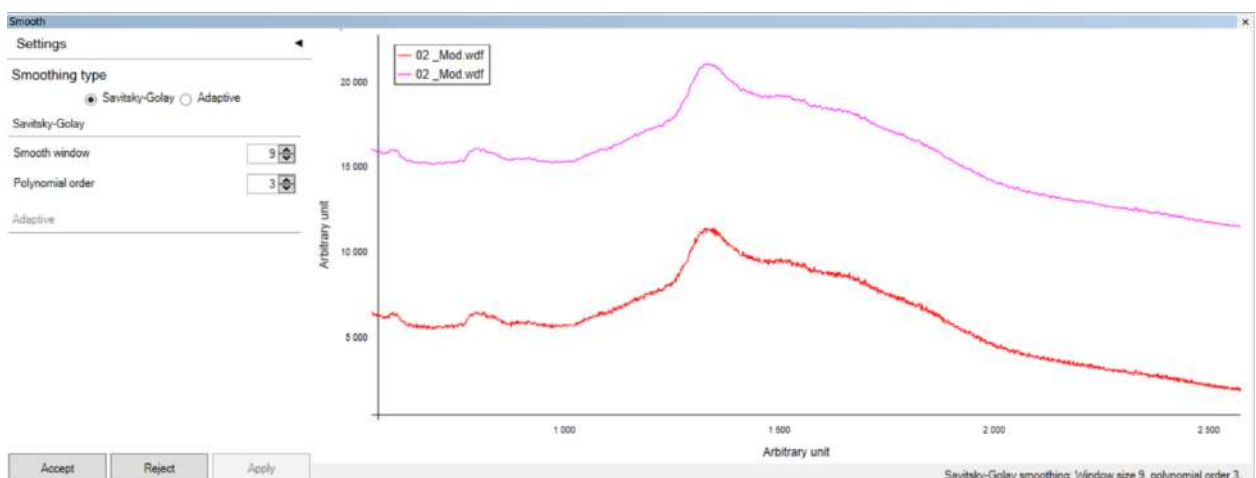


Рис. 2.4 Обробка Раман-спектру сироватки крові хворих на міастенію шляхом згладжування даних для покращення співвідношення сигнал/шум.



Четвертим етапом обробки спектру було віднімання базової лінії [129]. Ідентифікація характерних молекулярних смуг спектру комбінаційного розсіювання світла є основою його інтерпретації. Однак наявність інтенсивного фону флуоресценції, що перекриває спектри, що вимірюються в спектрі, часто ставить під сумнів детекцію коливальних мод. Для здолання цього обмеження застосовується операція віднімання базової лінії, в якій після автоматичного виключення областей з піками базова лінія буде підігнана до всіх точок, які залишилися в спектрі. Базова лінія є апроксимацією поліномом в якому коефіцієнти визначаються по методу найменших квадратів. Поліноміальний порядок обмежений зазвичай шістьма точками. На рис. 2.5 наведене застосування базової лінії до спектру сироватки крові хворих на міастенію на досліджуваній підложці.

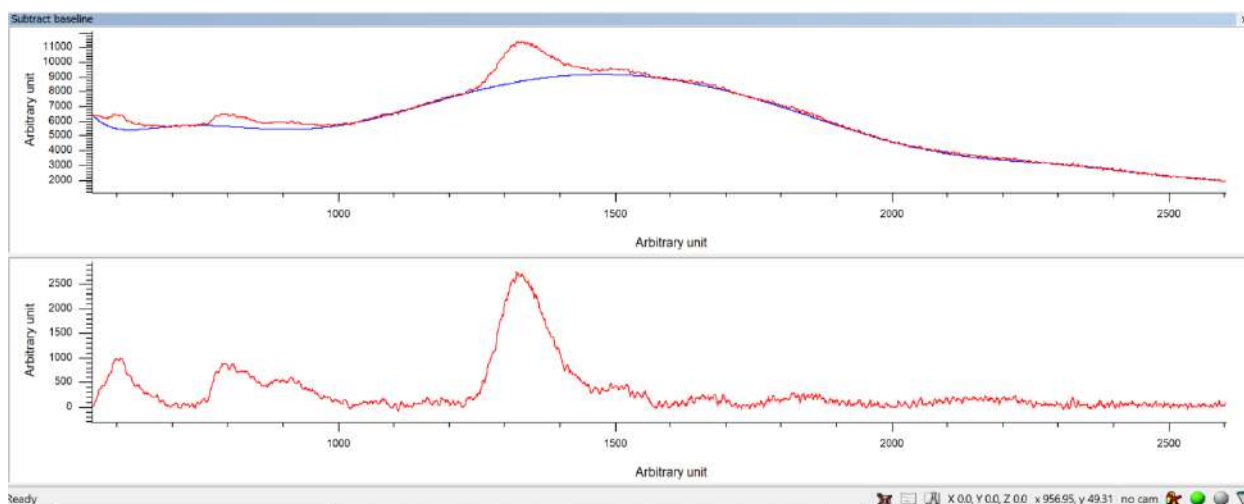


Рис. 2.5 Обробка Раман-спектру сироватки крові хворих на міастенію шляхом віднімання базової лінії.

Останнім важливим етапом обробки спектру було застосування операції віднімання спектру підложки [129]. Спектр підложки вимірюється перед збиранням даних, щоб врахувати вплив сигналів, не пов'язаних із зразком. Його було виміряно з тими самими експериментальними параметрами (часом експозиції та положенням зразку), що і за основних вимірювань, фон також вимірюється (та в подальшому віднімається) перед проведенням вимірювань без урахування джерела збудження. Також важливо переконатися, що у спектрі підложки немає полос від космічних променів, щоб уникнути

низхідного сплеску сигналу. Перед відніманням спектра підложки до нього потрібно застосувати всі 4 етапи обробки наведені вище. Також повинна бути однакова нормалізація двох спектрів для коректного віднімання, як показано на рис. 2.6.

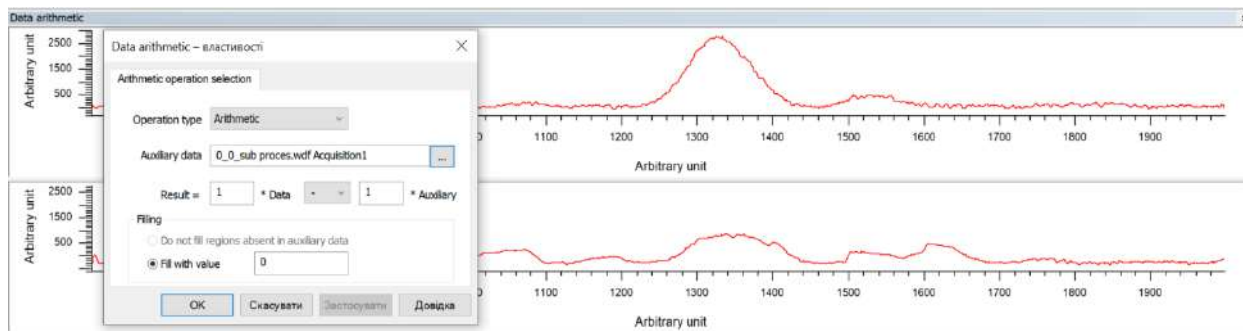


Рис. 2.6 Обробка Раман-спектру сироватки крові хворих на міастенію шляхом віднімання спектра підложки з урахуванням нормалізації обох спектрів.

Після проведення всіх етапів обробки спектру відбувся аналіз спектру за положенням і інтенсивністю піків [129]. Дана операція у програмному забезпеченні WiRE виявляє піки для активного спектру використовуючи поточні налаштування порога та відображає результати, які включають таку інформацію: центр, висота, ширина, область, абсолютна інтенсивність, нижня межа, верхня межа, як вказано в таблиці рис. 2.7.

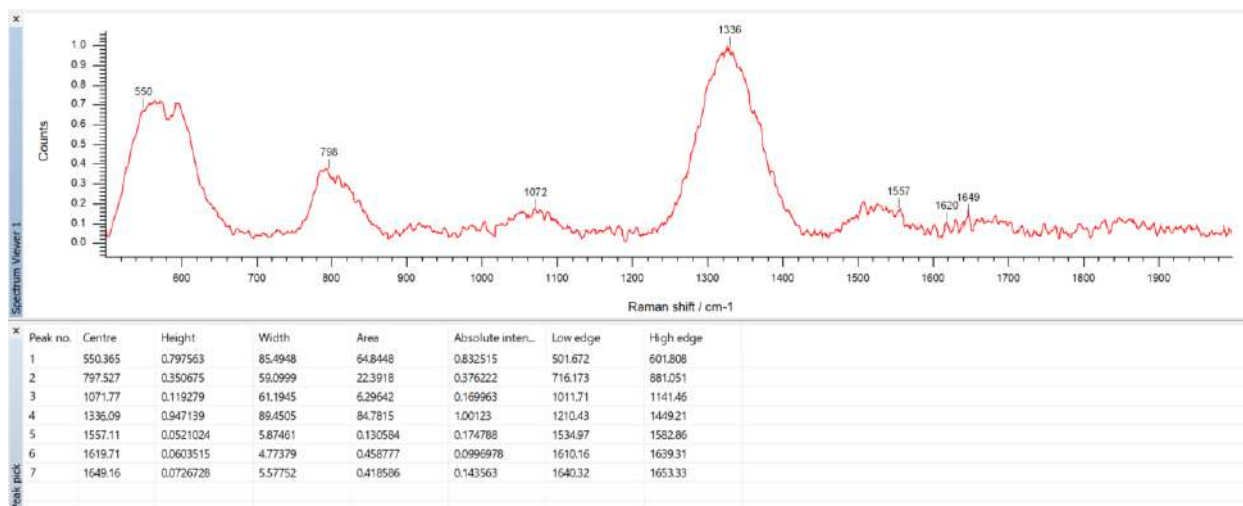


Рис. 2.7 Аналіз отриманих спектрів за наявністю і положенням піків в спектрі сироватки крові хворих на міастенію, яка нанесена на підложку з імплантованими наночастинками золота.

Після застосування цієї операції, програмне забезпечення WiRE надає можливість автоматичного пошуку у бібліотеці спектрів компонентів у межах невідомого спектру. Будується лінійна комбінація бібліотечних спектрів із відрегульованими відносними інтенсивностями для найкращої відповідності невідомому спектру. Програмне забезпечення розраховує оптимальні комбінації спектрів до максимальної кількості компонентів, тобто різні комбінації параметрів для проведення пошуку дали можливість отримати результат найкращої відповідності спектрів, коли кількість вибраних критеріїв пошуку, таких як кореляція першої похідної або відомості про зразок (сироватка крові, наночастинки золота) мали найбільше співпадіння з спектром порівняння. Також були враховані відносні відмінності в інтенсивності та зміщення через незначні відмінності в калібруванні між еталонними спектрами з бібліотеки та поточними спектрами.

### **Висновки до розділу 2:**

1. Зазначені прибори, матеріали і методи дослідження, які були застосовані в експериментах.
2. Викладена методика забору біологічного зразка.
3. Представлена методика виготовлення плівок золота, що імплантовані в приповерхневий шар плавленого кварцу.
4. Детально описаний теоретичний метод FDTD і його застосування щодо моделювання сферичних наночастинок металів.
5. Описані методи обробки Раман-спектру в програмному забезпеченні WiRE та їх послідовність, наведені основні вимоги до проведення аналізу спектру за допомогою бібліотеки спектрів виробника.

## РОЗДІЛ 3

### ПІДСИЛЕННЯ ОПТИЧНИХ ПЕРЕХОДІВ БІООРГАНІЧНИХ МОЛЕКУЛ МЕТАЛЕВОЮ ПОВЕРХНЕЮ

#### 3.1 Модель зв'язаних осциляторів у плівці $Al - Ag/SiO_2$

Явище резонансу відоме у його найпростішій формі – зовнішній резонанс у лінійному осциляторі. Якщо система не така проста, наприклад, має кілька ступенів свободи, можливий інший ефект, такий, як внутрішній резонанс-резонанс між окремими підсистемами. В результаті внутрішнього резонансу окремі підсистеми обмінюються енергією одна з одною, тобто це можна назвати взаємодією підсистем. Очевидно, що зовнішній резонанс можна розглядати як окремий випадок внутрішнього резонансу, якщо енергію однієї з підсистем вважати нескінченною. При цьому буде вже не взаємодія, а просто дія однієї підсистеми на іншу.

Скористаємося найпростішими прикладами зв'язаних осциляторів. Це, зокрема, два математичні маятники довжиною  $l_1$  і  $l_2$  з однаковими масами  $m_1 = m_2 = m$ , що знаходяться в полі тяжіння. Маятники пов'язані невагомою пружиною з коефіцієнтом пружності  $k$ . Рух такої консервативної системи з двома ступенями свободи в лінійному наближенні описується рівняннями пов'язаних осциляторів:

$$\ddot{x}_1 + \omega_1^2 x_1 = (k/m)(x_2 - x_1), \quad (3.1)$$

$$\ddot{x}_2 + \omega_2^2 x_2 = (k/m)(x_1 - x_2). \quad (3.2)$$

Частоти нормальних коливань у разі будуть рівні:

$$\omega_{1,2} = \frac{\omega_1 + \omega_2}{2} + \frac{k}{2m\sqrt{\omega_1\omega_2}} \pm \sqrt{\left(\frac{\omega_1 - \omega_2}{2}\right)^2 + \left(\frac{k}{2m\sqrt{\omega_1\omega_2}}\right)^2}. \quad (3.3)$$

При  $\omega_1^2 = \omega_2^2 = \omega_0^2$  з рівняння для цих частот коливань отримуємо

$$\omega_2 = \omega_0 \text{ и } \omega_2 = \omega_0 + k/m\omega_0. \quad (3.4)$$

Якщо припустити, що  $\omega_1, \omega_2 > \omega_1 - \omega_2$ , то другим і третім доданком у формулі (3.3) можна знехтувати, тобто

$$\omega_{1,2} \approx \frac{\omega_1 + \omega_2}{2} + \alpha, \quad (3.4)$$

де  $\alpha > 0$  та  $\alpha < \frac{\omega_1 + \omega_2}{2}$ . При збудженні двох пов'язаних осциляторів зовнішньою періодичною силою так, що частота зовнішньої сили збігається з однією зі своїх нормальних частот системи, настає резонанс, і амплітуди коливань в обох осциляторах необмежено зростають. У цьому випадку справедлива відома теорема взаємності: при впливі на один осцилятор зовнішньої сили другий коливатиметься так само, як перший при впливі зовнішньої сили на другий. Завданням було експериментально дослідити можливий вплив диполь-дипольної взаємодії між гранулами двох шарів з різних металів, розділених тонким шаром діелектрика високою діелектричною проникністю, на резонансне поглинання світла.

Для виконання поставленої задачі було досліджено резонансне поглинання світла гранулярними плівками алюмінію та срібла, кожна з яких була осаджена на шорстку поверхню підшару  $ZnS$  і зверху покрита шаром того самого матеріалу. Таким чином, було отримано багатошаровий зразок, в якому гранулярні шари срібла та алюмінію виявилися «запечатаними» в  $ZnS$ . Вибір плавленого кварцу як основної підкладки та  $ZnS$  як підшару та проміжного шарів обумовлений, по-перше, тим, що вони практично прозорі у широкій області спектру від 200 до 800 нм [132], по-друге, саме на цій підкладці неодноразово апробовані методики отримання різнорівневого рельєфу шляхом нанесення підшару  $ZnS$  [133]. Вибір алюмінію і срібла як метали гранул обумовлений тим, що це благородні метали, які практично не окислюються, або мають тонкий оксидний шар на поверхні.

Зразки виготовлялися наступним чином: підкладки з плавленого кварцу ретельно очищалися дрібнозернистим порошком "Крокус", а потім промивали у воді і перед приміщенням у вакуумну камеру протиралися спиртом.

Кварцова підкладка поміщалася в спеціальну піч, що дозволяє нагрівати підкладку до 300 0С у вакуумі  $6,7 \times 10^{-3}$  Па, температура контролювалася за допомогою термопари притиснутої до підкладки з боку протилежної плівки, що напилюється. Для отримання підшару  $ZnS$  в заданому інтервалі товщин бралася експериментально знайдена вагова кількість  $ZnS$  так, щоб товщина підшару дорівнювала  $\approx 50$  нм.

Потім на шорстку поверхню підшару  $ZnS$  вакуумі  $6,7 \times 10^{-3}$  Па при температурі підкладки 300°С наносили гранулярні плівки срібла або алюмінію ефективною товщини 10 – 15 нм із молібденового човника. Потім на гранулярну плівку першого металу наносився тонкий шар  $ZnS$  товщини 50 нм, а потім наносилася гранулярна плівка другого металу. На цю плівку також згодом наносилися додаткові шари  $ZnS$  товщини 50 нм. Таким чином, виходив багатошаровий зразок.

У 1-й серії дослідів в якості першого металу використовувалося срібло, а другого - алюміній. У 2-й серії дослідів як перший метал використовувався алюміній, а другого металу-срібло. Таким чином, гранулярні плівки алюмінію та срібла виявлялися «запечатаним» у  $ZnS$ , що могло суттєво змінити величину діелектричної проникності середовища  $\epsilon_0$ , що оточує металеві гарнули.

Виготовлені зразки піддавалися спектрофотометричним вимірюванням на спектрофотометрі СФ-26. При проведенні спектрофотометричних вимірювань використовувалося як звичайне не поляризоване, так і Р-поляризоване світло. При цьому пучок Р-поляризованого світла прямував під кутом  $50^\circ$  поверхні зразка. Спектрофотометричні виміри зразків здійснювалися після напилення кожного наступного шару металу або  $ZnS$ . Дані оптичної густини багатошарових зразків 1 -  $SiO_2 / ZnS / Ag / ZnS$ , 2 -  $SiO_2 / ZnS / Ag / ZnS$  (Р-поляризованому світлі під кутом  $50^\circ$ ), 3 -  $SiO_2 / ZnS / Al / ZnS$  занесені в таблицю 3.1 та 4 -  $SiO_2 / ZnS / Al / ZnS$  (Р-поляризованому світлі

під кутом  $50^\circ$ ), 5-  $\text{SiO}_2/\text{ZnS}/\text{Ag}/\text{ZnS}/\text{Al}/\text{ZnS}$  та 6 -  $\text{SiO}_2/\text{ZnS}/\text{Ag}/\text{ZnS}/\text{Al}/\text{ZnS}$  занесені в таблицю 3.2.

Таблиця 3.1

Оптична густина багат шарових зразків 1, 2 і 3

<b>1</b> D	$\omega 10^{15} \text{c}^{-1}$	<b>2</b> D	$\omega 10^{15} \text{c}^{-1}$	<b>3</b> D	$\omega 10^{15} \text{c}^{-1}$
0,3101	2,36	0,3329	2,36	0,3013	3,77
0,3323	2,51	0,3423	2,51	0,415	4,1
0,352	2,62	0,352	2,62	0,475	4,19
0,377	2,69	0,3569	2,69	0,5262	4,28
0,415	2,77	0,3929	2,77	0,6027	4,38
0,5162	2,86	0,4502	2,86	0,6585	4,49
0,5856	2,95	0,5062	2,95	0,6785	4,54
0,5941	3,04	0,5656	3,04	0,6785	4,6
0,5941	3,05	0,5856	3,05	0,6583	4,71
0,5774	3,14	0,5941	3,14	0,6204	4,83
0,469	3,25	0,5534	3,25	0,4754	5,1
0,3057	3,43	0,3771	3,43	0,3729	5,24
0,222	3,63	0,2842	3,63	0,3027	5,31
0,2113	3,77	0,2679	3,77	0,2826	5,39
0,222	3,93	0,2842	3,93	0,2689	5,54
0,3082	4,1	0,3676	4,1	0,2891	5,71
0,4069	4,19	0,4256	4,19	0,6583	6,08
0,462	4,32	0,4822	4,32	0,6683	6,18
0,482	4,5	0,5022	4,5	0,6683	6,2
0,4627	4,71	0,4886	4,71	0,6583	6,39
0,4264	4,83	0,4441	4,83	0,6385	6,5
0,352	4,96	0,3783	4,96	0,6115	6,61
0,2257	5,1	0,2679	5,1	0,5612	6,73
0,1489	5,24	0,2331	5,24	0,5162	6,85

Таблиця 3.2

Оптична густина багат шарових зразків 4, 5 і 6

<b>4</b> D	$\omega 10^{15} \text{c}^{-1}$	<b>5</b> D	$\omega 10^{15} \text{c}^{-1}$	<b>6</b> D	$\omega 10^{15} \text{c}^{-1}$
0,3236	3,77	0,3983	2,45	0,8248	3,14
0,3876	4,1	0,4038	2,69	0,8741	3,25
0,4454	4,19	0,4206	2,9	0,9118	3,34

0,5054	4,28	0,4381	3,04	0,9408	3,38
0,5592	4,38	0,4594	3,14	0,9603	3,44
0,6204	4,49	0,5034	3,31	0,9716	3,49
0,6583	4,54	0,5382	3,37	0,9718	3,5
0,6785	4,6	0,5534	3,5	0,9618	3,56
0,689	4,71	0,5414	3,6	0,9025	3,7
0,6785	4,83	0,5282	3,63	0,8548	3,77
0,5234	5,1	0,4322	3,77	0,765	3,93
0,4385	5,24	0,3671	3,93	0,6957	4,01
0,4234	5,31	0,338	4,01	0,6027	4,19
0,4198	5,39	0,3101	4,19	0,5022	4,38
0,4038	5,54	0,2987	4,38	0,4381	4,5
0,4381	5,71	0,2987	4,49	0,3619	4,71
0,6683	6,08	0,3191	4,83	0,3423	4,82
0,689	6,18	0,3823	5,1	0,372	4,96
0,689	6,2	0,4962	5,24	0,4554	5,1
0,6783	6,39	0,5162	5,35	0,5456	5,24
0,6583	6,5	0,5022	5,46	0,5856	5,3
0,6204	6,61	0,352	5,54	0,6027	5,4
0,5941	6,73	0,2638	5,71	0,5856	5,51
0,5612	6,85			0,5556	5,59
				0,4954	5,75
				0,4322	5,9

Експериментальні дані, які наведені на рис. 3.1. та 3.2. для зразків  $SiO_2/ZnS/Al/ZnS$  та  $SiO_2/ZnS/Ag/ZnS$ , отримані при падінні на них як звичайного світла так і Р-поляризованого світла під кутом  $\phi = 50^\circ$  до поверхні зразка. На графіках 3.1 і 3.2 видно, що в обох випадках чітко проявляється 2 смуги поглинання: низькочастотна смуга з резонансом  $\omega_{s1}$  та високочастотними  $\omega_{s2}$  у випадку  $Ag$   $\omega_{s1}^{Ag} = 3 * 10^{15} \text{ c}^{-1}$ ,  $\omega_{s2}^{Ag} = 4,5 * 10^{15} \text{ c}^{-1}$ . У випадку  $Al$   $\omega_{s1}^{Al} = 4,6 * 10^{15} \text{ c}^{-1}$ ,  $\omega_{s1}^{Al} = 6,2 * 10^{15} \text{ c}^{-1}$ .

При використанні Р-поляризованого світла чітко спостерігається закономірність і для срібних та алюмінієвих плівок: високочастотна смуга не зміщується, а низькочастотна зміщується у високочастотну область:  $\Delta\omega_{s1}^{Ag} = 0,1 * 10^{15} \text{ c}^{-1}$ ,  $\Delta\omega_{s1}^{Al} = 0,15 * 10^{15} \text{ c}^{-1}$ . З цього випливає, що положення



високочастотних смуг в обох випадках визначається власними частотами  $\omega_0$  коливань вільних електронів. Очевидно, що поява двох смуг поглинання впливає із моделі двошарового зразка. Скориставшись формулою 3.4 за відомих значень  $\varepsilon_0^{ZnS} = 5,76$  [134],  $\varepsilon_m^{Al} = 1$  [135] легко порахувати величину  $\omega_p^{Al}$ , припустивши, що

$$\omega_{s2}^{Al} = \omega_0^{Al}: \omega_p^{Al} = \omega_0^{Al} * \sqrt{1 + 2\varepsilon_0^{ZnS}} = 21,9 * 10^{15} \text{c}^{-1}. \quad (3.5)$$

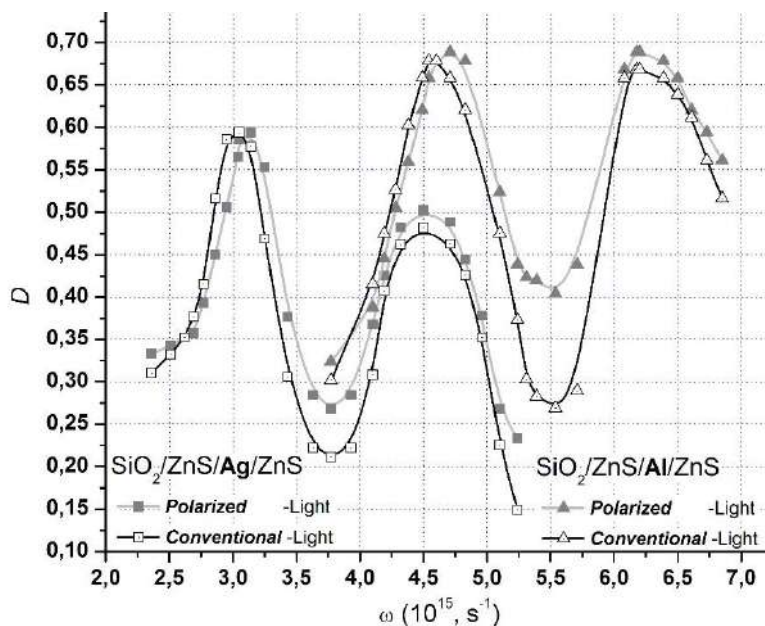


Рис. 3.1 Спектри поглинання аналізованих шарів  $SiO_2/ZnS/Al/ZnS$  та  $SiO_2/ZnS/Ag/ZnS$ , які отримано з використанням неполяризованого світла та Р-поляризованого світла, під кутом  $\varphi = 50^\circ$  до поверхні зразка.

На графіку 3.1 показані спектральні залежності  $D(\omega)$  для зразків першої серії при подальшому нанесенні шарів другого металу  $ZnS$ . В даному випадку перший метал-срібло, а другий-алюміній. Можна бачити, що нанесення гранулярної плівки другого металу призвело до появи додаткових смуг поглинання. Положення максимумів відповідно  $\omega_{s1} = 3 * 10^{15} \text{c}^{-1}$ ,  $\omega_{s2} = 5,35 * 10^{15} \text{c}^{-1}$ .

На графіку 3.2. представлені аналогічні залежності  $D(\omega)$ , отримані на другій серії зразків, в якій перший метал-алюміній, а другий-срібло. Положення максимумів відповідно  $\omega_{s1} = 3,5 * 10^{15} \text{c}^{-1}$ ,  $\omega_{s2} = 5,4 * 10^{15} \text{c}^{-1}$ .

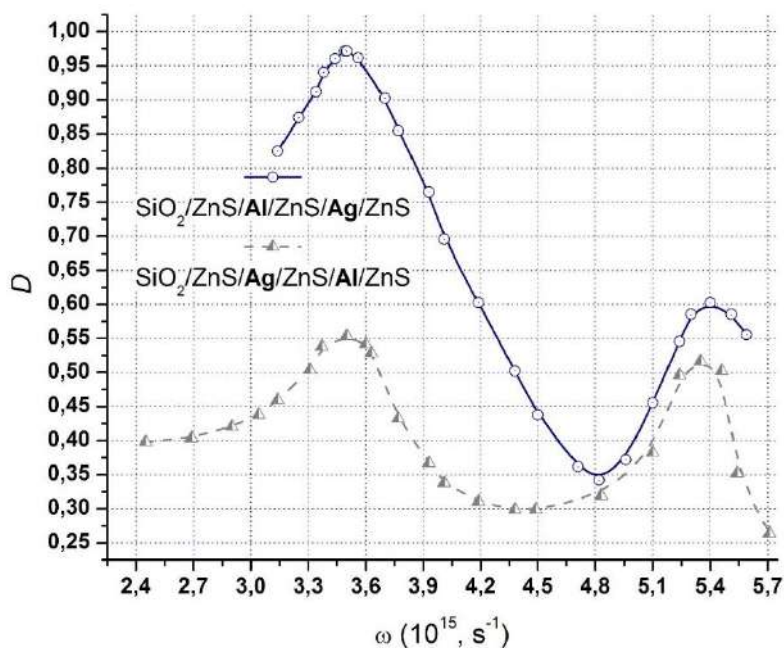


Рис. 3.2 Спектри поглинання для аналізованих шарів  $SiO_2/ZnS/Ag/ZnS/Al/ZnS$  і  $SiO_2/ZnS/Ag/ZnS/Al/ZnS$ , отримані за допомогою Р-поляризованого світла.

З графіків можна бачити, що зміна порядку чергування шарів різних металів не призвела до суттєвої зміни смуги поглинання. Очевидно, що нанесення шару другого металу та відповідних шарів  $ZnS$  не призвело до збільшення числа смуг щодо зразка з одним металом. Якщо припустити, що між шарами різних металів існує диполь-дипольна взаємодія у напрямку перпендикулярної площини шару, то можна скористатися моделлю зв'язаних осциляторів (3.4).

У разі та внаслідок взаємодії двох осциляторів із власними частотами  $\omega_1$  та  $\omega_2$ , у цій системі осциляторів виникають коливання із власною частотою  $\omega_{1,2} = \frac{\omega_1 + \omega_2}{2}$ . З порівняння розрахунків з експериментальними кривими (3.1 та 3.4), можна бачити, що у зразках  $SiO_2/ZnS/Al/ZnS/Ag/ZnS$  та  $SiO_2/ZnS/Ag/ZnS/Al/ZnS$  положення максимумів високочастотної смуги приблизно відповідає середньому значенню частот максимумів високочастотних смуг зразків  $SiO_2/ZnS/Ag/ZnS$  та  $SiO_2/ZnS/Al/ZnS$ . Зміна порядку нанесення шарів не призводить до зміни результатів. Отже, вважатиметься доведеним, що диполь-дипольна взаємодія між шарами гранул металів існує. Слід

зазначити, що це факт важливо для створення біосенсорів, у яких саме диполь-дипольна взаємодія між шарами призводить до виникнення ГКР.

### 3.2 Визначення порога чутливості методу, застосування теорії Мі для опису резонансних явищ у гранулах золота

Теорія Мі [136] базується на рівняннях Максвелла, які характеризують поля, в яких сферична поверхня взаємодіє з плоскою монохроматичною хвилею, де фізичні характеристики поверхні сильно відрізняються від характеристик навколишнього середовища. Основна відмінність полягає в діелектричній проникності [137], яка залежить від експериментально виміряного коефіцієнта екстинкції [138, 139].

$$A = A_{abs} + A_{sct} = q\sigma_{ext} = q(\sigma_{abs} + \sigma_{sct}), \quad (3.6)$$

де  $A$  складається з коефіцієнта поглинання ( $A_{abs}$ ) і коефіцієнта розсіювання ( $A_{sct}$ ). Його також можна представити як добуток  $q$  і  $\sigma_{ext}$ , де  $q$  позначає коефіцієнт заповнення середовища (питомий об'єм, зайнятий частинками), а  $\sigma_{ext}$  є ефективним поперечним перерізом екстинкції однієї частинки. Останній отримується додаванням ефективного перерізу поглинання однією частинкою ( $\sigma_{abs}$ ) та ефективного перерізу розсіювання однією частинкою ( $\sigma_{sct}$ ).

Вибір моделі діелектричної проникності для частинок, які розсіюють або поглинають світло, визначає ефективний переріз екстинкції. Однак складніше окреслити межі застосовності певної моделі, що описує діелектричну проникність частинок. Коли радіус частинки значно менший за довжину хвилі опромінення ( $a \ll \lambda$ ), то формули для ефективного перерізу поглинання та розсіювання мають такий вигляд [140]:

$$\sigma_{abs} = 4\pi \frac{\omega}{c} n_0 a^3 \text{Im} \frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0}, \quad (3.7)$$

$$\sigma_{sct} = \frac{8\pi}{3} \left(\frac{\omega}{c} n_0\right)^4 a^6 \left| \frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} \right|^2, \quad (3.8)$$

де  $\omega$  — частота електромагнітного випромінювання, що падає на частинку, а  $n_0$  — показник заломлення середовища, що оточує частинку радіусом  $a$ .

Таким чином, ефективний переріз екстинкції визначає межі конкретної моделі діелектричної проникності для частинок, які або поглинають, або розсіюють світло. Для суцільної металевої плівки застосована теорія Друде [141 - 143], оскільки вона добре описує спектри відбиття. Ця теорія [141] описує діелектричну проникність наступним чином:

$$\varepsilon = 1 + \frac{\omega_p^2}{-\omega^2 + i\nu\omega}, \quad (3.9)$$

де  $\omega_p = \sqrt{\frac{4\pi n e^2}{m}}$  плазмова частота визначається кількістю вільних електронів у плазмі. Ця формула ґрунтується на ідеї, що діелектрична проникність не залежить від розмірних ефектів і залежить лише від плазми вільного електронного газу в металі. Максвелл Гарнет [144] припустив, що металеві сферичні гранули, відокремлені одна від одної, являють собою диполі, розташовані на непоглинаючій діелектричній підкладці з діелектричною проникністю  $\varepsilon_0$ , що було однією з перших спроб зафіксувати розмірні ефекти. У такому випадку [144] ефективна діелектрична проникність колоїду  $\varepsilon$  представлена наступним рівнянням:

$$\varepsilon = (n - ik)^2 = 1 + \frac{3q \frac{n_m^2 - 1}{n_m^2 + 2}}{1 - q \frac{n_m^2 - 1}{n_m^2 + 2}}, \quad (3.10)$$

де  $n_m$  комплексний показник заломлення матеріалу, з якого складається гранула, який вважається таким самим, як у металу, а  $n$  і  $k$  позначають ефективні оптичні константи.

Спектри відбиття суцільної металевої плівки можна описати за допомогою теорії Друде [141, 143], де розмірні ефекти не враховуються, а діелектрична проникність приписується виключно вільному електронному газу в металі. Ефективну діелектричну проникність колоїду було описано

моделлю Максвелла Гарнета [144, 146] з використанням співвідношення Лоренца-Лоренца [147], яке дає результат, незастосовний у випадку двовимірного колоїду зернистої плівки. Однак концентрація гранул, а не їх розмір, визначає ефективне значення комплексної діелектричної проникності плівки [148, 149]. Хампе [150] експериментував з осадженням дрібних частинок золота на плавлених кварцових підкладках, намагаючись нівелювати протиріччя. Після відпалу підготовлених зразків Хампе виміряв максимум поглинання з більш різким піком і спостерігав зміни його положення в спектрі за допомогою спектрофотометра та електронного мікроскопа. Ці результати показали, що відпал не вплинув на коефіцієнт заповнення. Далі Хампе припустив, що коливання вільних електронів у гранулах пов'язані з аномальною смугою поглинання. Та все ж таки Хампе не брав до уваги диполь-дипольної взаємодії гранул.

Встановлено, що значення дійсної та уявної частин ефективної діелектричної проникності зернистої плівки узгоджуються з експериментом [151], який став результатом об'єднання всіх раніше згаданих концепцій у теорію Хампе-Шкляревського [152]. Ось як ця теорія визначає власну частоту:

$$\omega_s^2 = \frac{\omega_p^2}{\varepsilon_m + 2\varepsilon_0} - \frac{\omega_p^2}{3(\varepsilon_m q + (1-q)\varepsilon_0)} \left(\frac{a}{b}\right)^3 S. \quad (3.11)$$

Враховується радіус гранули ( $a$ ) і відстань між гранулами ( $b$ ) і  $S$ , яка визначає координати кожної дипольної гранули. Однак отримані значення не враховували міжзональних переходів.

Таким чином була висунута теорія про гібридну або комбіновану природу плазмового резонансу. У раніше опублікованій роботі [153]  $\varepsilon_1(\omega)$  було розділено на дві частини, які пов'язані з одного боку з міжзонні поглинанням та з іншого з вільними електронами. Стаття передбачає, при  $\omega \sim 3.2$  eV золото має нульові значення  $\varepsilon_1(\omega)$ . Так, зміни в русі як  $d$ -, так і  $s$ -електронів можна пов'язати з гібридним резонансом. Зокрема, сила осцилятора і частоти переходів, що розглядаються, повинні визначати наявність такого резонансу. Далі у роботі [154] були наведені формули діелектричної проникності для

колоїду, що містить крихітні металеві сфери, і проаналізовано оптичні властивості колоїду, що містить частинки срібла. Базуючись на класичній теорії дисперсії, комплексну діелектричну проникність можна представити у вигляді:

$$\varepsilon^{\perp}(\omega) = 1 + \sum_{i=1}^n \frac{\omega_{pi}^2}{\omega_{0i}^2 - \omega^2 + i\gamma_{0i}\omega}, \quad (3.12)$$

де  $\omega_{0i}$  означає власні частоти  $i$ -переходу,  $\gamma_{0i}$  є частотою релаксації,  $\omega_{pi}^2 = \frac{4\pi n_i e^2}{m}$  – це вираз для плазмової частоти  $i$ -переходу за участю  $n_i$  електронів ( $n_i = f_i n$  де  $f_i$  є силою осцилятора для  $i$ -переходу,  $n$  визначає сумарну концентрацію електронів).

Наступний вираз [154] може бути використаний для складання оптичних властивостей сфер та їхнього середовища навколо, щоб знайти діелектричну проникність середовища, яке аналізується:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_0(1 - q) + q \frac{\sum_i (\omega_{si}^2 \prod_{i \neq j} r_j)}{\prod_i (r_i + \sum_i \omega_{si}^2 \prod_{i \neq j} r_j)}, \quad (3.13)$$

де  $r_i = \omega_{0i}^2 - \omega^2 + i\gamma_{0i}\omega$  є знаменником  $i$ -члена в формулі (3.12) також  $\omega_{si}^2 = \omega_{pi}^2(1 + 2\varepsilon_0)^{-1}$ . Добутки і сума в (3.13) відповідають числу осциляторів. На основі цієї формули можна розрахувати оптичні властивості колоїдів, якщо характеристики окремих осциляторів  $\omega_{0i}$ ,  $\omega_{pi}$ ,  $\gamma_{0i}$  відомі.

### 3.2.1. Виготовлення зразків експерименту

Зразки були підготовлені для дослідження з використанням детального протоколу, описаного в [155], з кількома модифікаціями, які детально описані нижче. Шляхом випаровування з човна вакуумної установки Au розпилювали на підкладку  $SiO_2$  у вакуумі  $10^{-7}$  Торр ( $1,33 \times 10^{-5}$  Па). Після попереднього очищення в біхроматі калію підкладка була піддана обробці іонним розрядом в середовищі низького вакууму (близько  $10^{-2}$  Торр або 1,33 Па). Початкова товщина плівки була 100 нм. Вперше спеціально модифікована технологія лазерної імплантації була використана для термічної обробки плівки золота та

часткової імплантації наночастинок золота в приповерхневий шар плавленого кварцу в найбільш активній з термічної точки зору зоні.

Золоту плівку піддавали термічній обробці за допомогою двох лазерів, які розташовувалися на одній оптичній осі і нагрівали зразок разом із плівкою з обох боків. Ho:YAG лазер потужністю 10 Вт, з довжиною хвилі 2,1 мкм, опромінював золоту плівку. Іншу сторону підкладки нагрівали CO<sub>2</sub>-лазером потужністю 25 Вт з довжиною хвилі 10,6 мкм. Градієнт температури в SiO<sub>2</sub> контролювався ІЧ камерою Fluke Ti400 з діапазоном довжин хвиль 8 – 15 мкм. Лазер Ho:YAG був обраний з огляду на те, що коефіцієнт випромінювання золота на довжині хвилі 2,1 мкм ~0,4 [156]. Іншими словами, 40% лазерного випромінювання поглинається золотою плівкою, що є гарним результатом для проведення імплантації. Також, плавлений кварц поглинає світло на довжині хвилі 10,2 – 10,6 мкм, що приводить на глибині близько 1 – 2 мм до ослаблення лазерного випромінювання в *e* разів. І так як підкладки, які були використані в експерименті, були 5 мм завтовшки, підкладка нагрівалась променем CO<sub>2</sub>-лазеру на половину глибини. Лазерні пучки знаходились на одній оптичній осі, перпендикулярній підкладці, як показано на рис. 3.3, що дало можливість нагрівати зразок з обох боків, створюючи локальний нерівноважний стан, для того щоб відбулось структурування плівки золота.

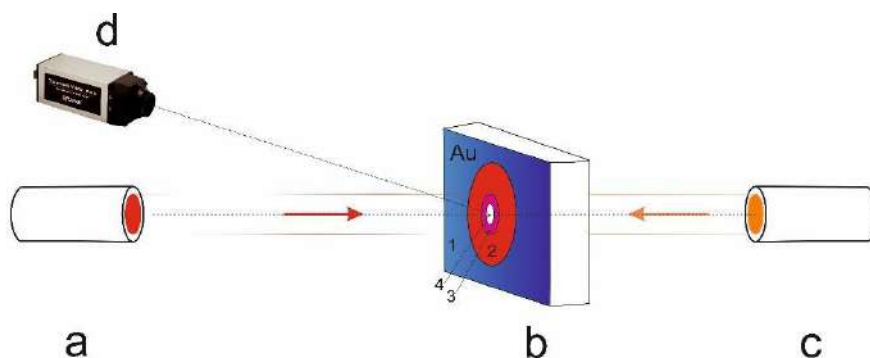


Рис. 3.3 Експериментальна установка для імплантації наночастинок а) легований неодимом ітрієвий алюмінієвий лазер; б) підкладка з плівкою металу (1,2,3,4 – смуги на зразку); в) CO<sub>2</sub>-лазер; г) ІЧ камера Fluke Ti400.

Температурний градієнт становив 384 °С на 1 мм. Після 15-хвилинної експозиції на поверхні зразка в прохідному світлі з'явилися яскраво виражені кольорові смуги. У смугі 1 вихідна плівка до опромінення мала синій колір. У смугах 2, 3, 4 був видний фіолетовий колір при температурі 568 °С, рожевий колір при 974 °С, темно-сірий при 1214 °С відповідно. Двопроменевий спектрофотометр Shimadzu UV2600 використовувався для проведення спектрофотометричних вимірювань для всіх чотирьох смуг. Усі кварцові підкладки, як еталонні зразки, так і зразки з нанесеними плівками, були взяті з однієї партії, а рельєф поверхні смуг вимірювався атомно-силовим мікроскопом 801NER Pro AFM.

### 3.2.2 Результати експерименту

Після опромінення зразка лазерним випромінюванням було виявлено 4 смуги різного кольору. В табл. 3.3 представлені розміри та оптичні властивості плівки в смугах. Для всіх смуг проведено спектрофотометрію (рис. 3.4). Морфологію поверхні кожної смуги досліджували за допомогою АСМ (рис. 3.5). Колір смуг залежить від коефіцієнта заповнення  $q$  і розміру кластерної структури, також колір визначається тим, чи було імпантовано золото в приповерхневий шар плавленого кварцу. Частинки золота були імпантовані лише в центральну смугу, що підтверджено її хімічною та механічною стійкістю та тим, що оптичні властивості навіть після хімічного чи механічного впливу залишалися стабільними.

Таблиця 3.3

Оптичні та розмірні властивості плівки в смугах

Смуги	Розміри кластерів	Розміри наночастинок	$\omega_s^{exp}$	$\omega_s^{theor}$
Синя	500 нм	10-25 нм	-	
Фіолетова	300 нм	8-15 нм	$3.316 \times 10^{15} \text{ см}^{-1}$ 568 нм	$3.25 \times 10^{15} \text{ см}^{-1}$ a~50 нм b~150 нм



				q=0.1
Рожева	-	2-6 нм	$3.443 \times 10^{15} \text{ s}^{-1}$ 547 нм	$3.4 \times 10^{15} \text{ s}^{-1}$ a~30 нм b~30 нм q=0.07
Імплантована сіра смуга	500 нм	10-25 нм	$3.664 \times 10^{15} \text{ s}^{-1}$ 514 нм $4.956 \times 10^{15} \text{ s}^{-1}$ 380 нм	$3.7 \times 10^{15} \text{ s}^{-1}$ a~3 нм b~30 нм q=0.01

Початкова товщина плівки була розрахована виходячи з маси навішування і становила 100 нм, що відповідало суцільній плівці золота. Фотометричні вимірювання підтвердили цей факт: крива 1 на рис. 3.4 представляє типову плівку золота. Теорія Друде служить основою для моделі діелектричної проникності для суцільної плівки. Плівки змінюються морфологічно у відповідь на вплив лазерного випромінювання, утворюючи смуги плазмового резонансу (криві 2, 3, 4 на рис. 3.4).

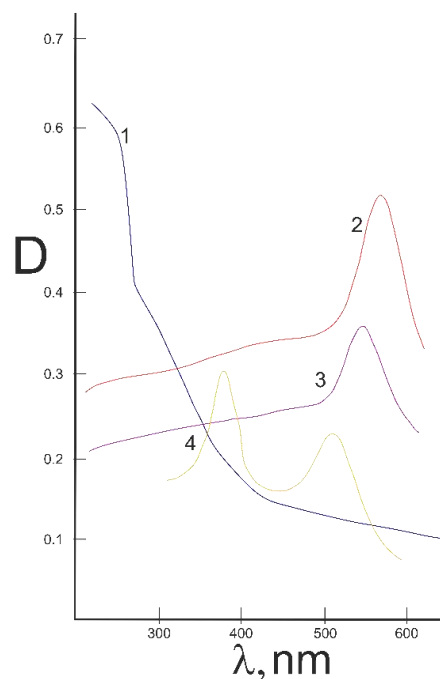


Рис. 3.4 Спектри оптичної густини. 1 – суцільна плівка; 2, 3 – смуга опромінення; 4 – імплантаційна смуга

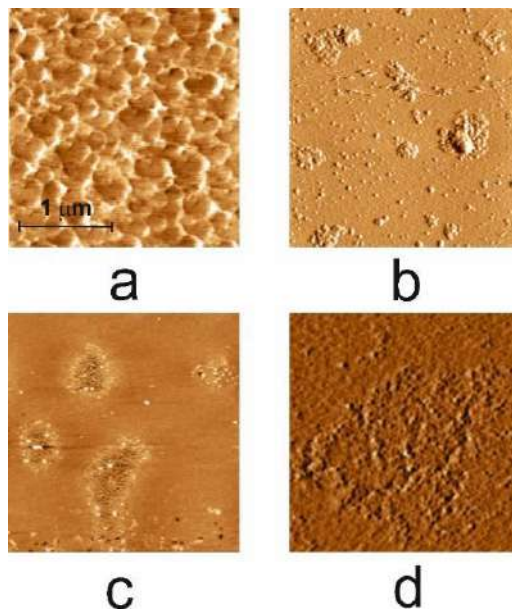


Рис. 3.5 АСМ мікрофотографія зразка. а) синя смуга (полікристалічна золота плівка); б) фіолетова смуга (гроноподібна структура з великими гранулами, розташованими окремо); с) рожева смуга (гроноподібна структура зі збільшеною відстанню між гранулами); d) смуга імплантації («кратерна» структура з гранулами, імпантованими в приповерхневий шар).

Структурні зміни, які зазнає плівка в різних термодинамічних смугах, відображаються на мікрофотографіях АСМ. Положення смуг плазмового резонансу показує, що в міру часткового випаровування золота на поверхні підкладки утворюється колоїд. На рис. 3.6 видно радіус імпантованих наночастинок, який становить приблизно 3 нм. Важливо, що структурні зміни плівки спричиняють зміщення смуги плазмового резонансу в короткохвильову область, що пояснює теорія Хампе-Шклярєвського. Тим не менш, існує інший пік поглинання, виявлений у центральній смугі опромінення, який не пов'язаний з плазмовим резонансом. Швидше це пов'язано з міжзонними переходами гранул золота. У цьому випадку діелектрична проникність металевих гранул не може бути пояснена теорією Хампе-Шклярєвського. Це явище необхідно пояснити з точки зору квантової механіки.

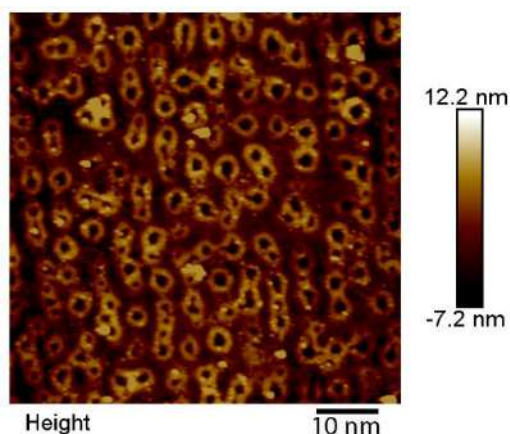


Рис. 3.6 АСМ мікрофотографія оптичних плівок, імплантованих у поверхневий шар.

Експериментальна методика дозволила змоделювати випадок, коли островці діаметром близько 150 нм під дією випромінювання  $CO_2$  трансформувалися в кластери з островцями діаметром 30 нм і з відстанню між ними, що дорівнює їх діаметру. Подальше опромінення привело до утворення колоїдів розміром близько 7 нм і відстанню між кластерами приблизно 150 нм. Це дало можливість досліджувати спектри поглинання та морфологію поверхні на одній підкладці, що привело до контрольованості та повторюваності заданих параметрів, таких як коефіцієнт заповнення, розмір наночастинок та відстань між ними. Теоретичні розрахунки базувалися на формулі (6), яка використовувалася для визначення частоти Фреліха з урахуванням диполь-дипольної взаємодії між гранулами. Діелектрична проникність кварцу  $\epsilon_0 = 2.15$  [148] і діелектрична проникність золота, пов'язана з міжзонними переходами  $\epsilon_m = 2.13$ , наведені в [148]. Положення другого максимуму не можна описати, виходячи з моделі Хампе-Шклярєвського, однак його властивості можна базувати на енергіях енергетичних рівнів у металевій гранулі, ця різниця описана у квантовій теорії Зоммерфельда [157, 158].

Основною метою цього етапу дослідження було визначення застосовності теорії Хампе-Шклярєвського для опису діелектричної проникності гранульованого колоїду на основі розміру гранул. Основне припущення полягало в наступному: модель Друде застосовується, якщо

розмір наночастинок приблизно дорівнює довжині хвилі; у випадку ізотропного колоїду, коли відстань між гранулами значно перевищує радіус частинки, можна застосувати модель Максвелла Гарнета; у випадку кластерів, коли ця відстань приблизно дорівнює радіусу частинки, підходить модель Хампе-Шкляревського. Проте межі застосовності останньої залежать від збільшення міжзонних переходів. Для визначення граничних розмірів наночастинок, при яких застосовується модель діелектричної проникності, яка буде враховувати міжзонні переходи, можна припустити, що різниця в енергіях рівнів у гранулі металу, яка описана в квантовій теорії Зоммерфельда [157, 159], повинна приблизно дорівнювати кінетичній енергії електрона на поверхні Фермі [160].

Наведене нижче векторне рівняння [154] можна використати для знаходження власних частот плазмонів, збуджених у малих сферах:

$$Re\{Det|r_i \delta_{ij} \mp \omega_{sj}^2|\} = 0. \quad (3.14)$$

### 3.2.3 Обговорення експериментальних результатів

За наявності недіагональних елементів у (3.14) власні частоти плазмонів відрізняються від  $(\omega_{0i}^2 - \omega_{si}^2)^{1/2}$ , що спричиняє гібридний резонанс, властивості якого залежать від характеристик усіх осциляторів, що визначають оптичні зміни середовища. Розуміння таких змін передбачає підхід, заснований на квантовій механіці, а також на вивченні енергії електронів у металі. При цьому враховуються можливі оптичні переходи на позитивних іонах, які утворюють ядро кристала металу, а також іонна складова чутливості  $\chi_{ion}$  [137]. Таким чином, вплив іонної чутливості на оптичні переходи в золоті можна пояснити наступним чином, Au має конфігурацію валентного електрона  $4f^{14}5d^{10}6s^1$  [161]. Коли атоми конденсуються з утворенням металу, електрони, розташовані на орбіталях  $6s^1$ , перетворюються на вільні електрони. У кристалах зовнішні електрони  $4f^{14}5d^{10}$  утворюють енергетичні смуги, а оптичні переходи з  $5d$ -смуги в  $5s$ -смугу, частково заповнену вільними електронами, приводять до додаткової

смуги поглинання з певною мінімальною пороговою частотою  $\omega_b$  [162]. Для золота  $\omega_b$  лежить у видимій області, і якщо  $\omega_b > \omega$ , іонна чутливість є реальним значенням ( $\chi_{ion} > 0$ ). І значення електрона в металі задається наступним рівнянням [162]:

$$E = \frac{2\pi^2 \hbar^2}{L^2 m} (l_1^2 + l_2^2 + l_3^2), \quad (3.15)$$

де  $l_1, l_2, l_3$  означають квантові числа,  $m$  є масою електрона,  $L$  – довжина сторони решітки, а  $L > a$  – сторони елементарної решітки в металі. Вищезгадане математичне рівняння можна записати так:

$$\Delta E \sim m v_F^2. \quad (3.17)$$

В якому  $v_F = 1.39 \times 10^8$  см/с є швидкістю Фермі для золота [163].

Підставивши (3.15) у (3.17) і виконавши необхідні обчислення, отримаємо:

$$L = 2a \sim \sqrt{2} \frac{\pi \hbar}{m v_F} l \approx 5 \text{ нм}. \quad (3.18)$$

Ці результати узгоджуються зі значеннями, отриманими за допомогою АСМ-мікроскопа, який показав, що збільшення смуги поглинання, пов'язане з міжзонними переходами, спостерігається при радіусі наночастинок  $\sim 3$  нм.

Таким чином описані умови, які дозволяють застосовувати різні моделі діелектричної проникності, що використовуються для опису оптичних спектрів композитів, що містять наночастилки золота. Виявлено, що застосовність різних моделей залежить від радіуса частинки. Було проведено розрахунки та експеримент для підтвердження граничного діаметра наночастинок золота, де застосовна модель Хампе-Шкляревського. У цьому розділі представлено методику визначення розмірних ефектів діелектричної проникності металевих наночастинок. Електродинамічні ефекти, локалізовані в просторі, зазвичай розглядаються як залежні від ефектів плазмон-поляритонної взаємодії, яка пояснює високочастотний пік смуги поглинання, останній повністю пояснений і добре вивчений [149, 164]. З іншого боку,

ефект, пов'язаний з міжзонним поглинанням, привів до зміщення смуги поглинання плазми в низькочастотну область [133]. Однак окремої смуги поглинання в області низьких частот, яка була б чітко визначена, у попередніх дослідженнях виявлено не було.

Представлений експеримент виявив дві спектрально розділені смуги. Високочастотна смуга показує плазмон-поляритонну взаємодію з падаючим електромагнітним полем, а низькочастотна смуга ілюструє міжзонні переходи в золоті. При цьому експериментальна методика дозволила створити, з одного боку, плівки з високим коефіцієнтом заповнення матеріалу гранули, що важливо для збереження кількості поглиненої енергії шляхом підтримки концентрації речовини; з іншого боку, в системі є просторові області, де переважають квантово-механічні ефекти. Модель Хампе-Шкляревського не передбачає таких ефектів. Таким чином, імплантована гранула являє собою пару зв'язаних осциляторів [165]. Один осцилятор — це квантова точка, резонансна частота якої збігається з низькочастотним піком, інший — поляритон, резонансна частота якого відповідає другому піку. Експериментальні дані показують, як поле в ближній зоні впливає на систему квантової механіки. Методи вимірювання поля в ближній зоні добре відомі в мікрохвильовому діапазоні [166, 167], але не в оптичному. Представлена методологія покликана заповнити наявну прогалину. Проведене дослідження дозволяє глибше зрозуміти вплив локалізованого в просторі терагерцового електромагнітного поля високої інтенсивності на квантові точки. Цей метод актуальний для вивчення поверхневого комбінаційного розсіювання на мономолекулярному біошарі. Добре відомо, що підсилення комбінаційного розсіювання пов'язане з електромагнітними полями високої інтенсивності, локалізованими в ближній зоні, де розташований біошар. Розробка біосенсорів із заданими метрологічними властивостями неможлива без теоретичного розрахунку локалізації електромагнітного поля та експериментальної перевірки розрахункових даних.

### **3.3 Чисельне моделювання сили комбінаційного розсіювання від молекулярної групи $NO_2$ золотим колоїдом, імплантованим у приповерхневий шар плавленого кварцу**

#### **3.3.1 Загальний опис комбінаційного розсіювання**

Явище комбінаційного (раманівського) розсіювання світла (електромагнітної хвилі) полягає у тому, що розсіяне квантовим тілом (атомом, молекулою) випромінювання має частоту відмінну від частоти падаючого світла. Даний ефект пояснюється тим, що падаюче випромінювання індукує в тілі відповідальний за розсіювання дипольний момент, що змінюється в часі, який коливається та/або обертається з частотою, відмінною від частоти збуджуючого світла.

Комбінаційне розсіювання світла добре вивчене явище і в даний час з різною повнотою та точністю може бути описано однією з трьох теорій:

1. Класична теорія. У ній тіло та поле підпорядковуються законам класичної фізики.
2. Напівкласична теорія. У ній тіло сприймається як квантово-механічний об'єкт, а поле підпорядковується законам класичної електродинаміки.
3. Квантова теорія. Тіло та поле розглядаються з квантово-механічної точки зору.

Найбільшого поширення набуло застосування напівкласичного варіанта теорії. Вона передбачає ті сторони процесу комбінаційного розсіювання, які перебувають поза можливостей суто класичного розгляду і є суттєвими. З іншого боку, вона набагато простіше, ніж точна квантова теорія. Останню має сенс використовувати лише у разі випромінювань дуже низької інтенсивності, коли починає проявлятися дискретний характер поля, обумовлений наявністю частинок поля, фотонів. На зараз комбінаційне розсіювання збуджується досить потужними лазерами.

З фізичної погляду у межах перших двох перерахованих теорій джерело комбінаційного випромінювання трактується однаково. Зовнішнє монохроматичне поле, що падає, збуджує в об'єкті змінний дипольний момент, величина якого змінюється в часі вже не за гармонійним законом, а має у своєму складі гармоніки з іншими частотами. Дипольний момент, що змінюється, з точки зору класичної електродинаміки випромінює в навколишній простір електромагнітні хвилі з частотами всіх гармонік. Інтенсивність випромінювання однієї частоти, усереднена за часом, задається виразом [168]:

$$I = k'_{\tilde{\nu}_s} \tilde{\nu}_s^4 p_0^2 \sin^2 \theta, \quad (3.20)$$

де  $k'_{\tilde{\nu}_s} = \frac{\pi^2 c_0}{2\epsilon_0}$ , також  $p_0$  – це амплітуда коливань дипольного моменту на гармоніці з хвильовим числом  $\tilde{\nu}_s$ ,  $\theta$  – кут між віссю дипольного моменту та напрямом випромінювання,  $c_0$  – швидкість світла у вільному просторі. Розмірність величин підібрана таким чином, щоб хвильове число  $\tilde{\nu}_s$  було в спектроскопічних одиницях. Індекс  $s$  у  $\tilde{\nu}_s$  означає розсіяний (scattered).

Різниця цих двох підходів полягає в трактуванні виникнення гармонік у коливаннях індукованого дипольного моменту та його розрахунку. У класичній теорії вважається, що частота збуджуючого поля комбінує з внутрішніми частотами тіла, у результаті всередині тіла створюються переміщення з комбінованими частотами. У напівкласичній теорії комбінаційне розсіювання розглядається як процес за участю двох фотонів. Один поглинається з падаючого випромінювання, інший виробляється тілом з іншою частотою. Процес відбувається в такий спосіб, що тіло змінює свій внутрішній стан. Його внутрішня енергія змінюється на різницю енергій поглиненого і випромінюваного фотонів.

В обох теоріях постулюється формула, що зв'язує напруженість падаючого електромагнітного поля з дипольним моментом, що виникає при цьому:



$$p = \alpha \cdot E, \quad (3.21)$$

Величина  $\alpha$  називається тензором поляризуємості тіла (атома, молекули).

У розгорнутому вигляді вираз (3.21) набуває вигляду:

$$\begin{aligned} p_x &= \alpha_{xx}E_x + \alpha_{xy}E_y + \alpha_{xz}E_z, \\ p_y &= \alpha_{yx}E_x + \alpha_{yy}E_y + \alpha_{yz}E_z, \\ p_z &= \alpha_{zx}E_x + \alpha_{zy}E_y + \alpha_{zz}E_z. \end{aligned} \quad (3.22)$$

Цей вираз стверджує, що  $E$  і  $p$  не колінеарні, а значить поляризація випромінювання комбінаційного розсіювання і збуджуючого випромінювання в загальному випадку не збігаються.

Тензор  $\alpha$  симетричний і може вибором системи координат бути наведеним до діагонального вигляду.

У силу того, що атоми всередині молекули можуть переміщатися, коливаючи, поляризуємість при цьому також змінюється. Ця зміна може бути виражена в такий спосіб:

$$\alpha_k = \alpha_0 + \alpha'_k Q_k, \quad (3.23)$$

де  $Q_k$  є так звана нормальна координата, яка описує деформацію молекули під час здійснення  $k$ -го власного (нормального) коливання молекули.  $\alpha_0$  та  $\alpha'_k$  це різні тензори, що описують зовсім різні явища.  $\alpha_0$  відповідальний за Релеївське розсіювання, тобто просте відбиття світла.  $\alpha'_k$  відповідальний за раманівське (комбінаційне) розсіювання на комбінованих частотах. Двоатомна молекула має лише одне нормальне коливання, тому для неї нижній індекс  $k$  у всіх величинах можна опустити.

### 3.3.2 Перетин комбінаційного розсіювання

При практичному використанні та дослідженні комбінаційного розсіювання найважливішою характеристикою є кількісний зв'язок між інтенсивністю збуджуючого випромінювання та потужністю розсіяного випромінювання. Такий зв'язок визначається диференціальним поперечним перерізом  $\frac{d\sigma}{d\Omega}$ :

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{I_s}{I_0} \quad (3.24)$$

Це відношення розсіяної потужності  $I_s$  в тілесний кут  $d\Omega$  до інтенсивності збуджуючого (лазерного) випромінювання  $I_0$ . Дана характеристика залежить від кутів між хвильовими векторами двох полів та від їхньої взаємної орієнтації. Точні вирази для молекул різних типів утворюються в результаті об'єднання формул (3.20) і (3.21), причому в останній квадрат напруженості падаючого поля  $E^2$  замінюється на  $I_0$  і таким чином диференціальний поперечний переріз виявляється залежним від квадратів компонент тензора поляризованості.

При отриманні кінцевого виразу для середнього значення  $\frac{d\sigma}{d\Omega}$ , що припадає на одну молекулу, враховується, що молекули в ансамблі орієнтовані у просторі випадковим чином. Тому проводиться усереднення за всіма можливими орієнтаціями. Це призводить до того, що диференціальний переріз поглинання стає залежним не від окремих компонентів тензора  $\alpha$  (тензора  $\alpha'_k$  у разі раманського розсіювання), а від деяких їх функцій, які є інваріантами по відношенню до операції усереднення.

У разі застосування напівкласичної теорії остаточний вираз для середнього значення диференціального поперечного перерізу виходить усереднення по квантових числах початкового і кінцевого стану молекули, що є аналогом різних орієнтацій у просторі. Вигляд відповідних виразів  $\frac{d\sigma}{d\Omega}$  для двоатомних молекул наведено нижче у параграфі 3.3.4.

### 3.3.3 Стоксові та анти-стоксові смуги спектрів комбінаційного розсіювання

Лінії комбінаційного розсіювання знаходяться по різні боки лінії збуджуючого випромінювання. Причому вони зміщені від центру в один і інший бік на однакові відстані. Ті лінії, які мають меншу частоту, утворюють стоксову смугу, а ті, що більшу, антистоксову (рис. 3.7).

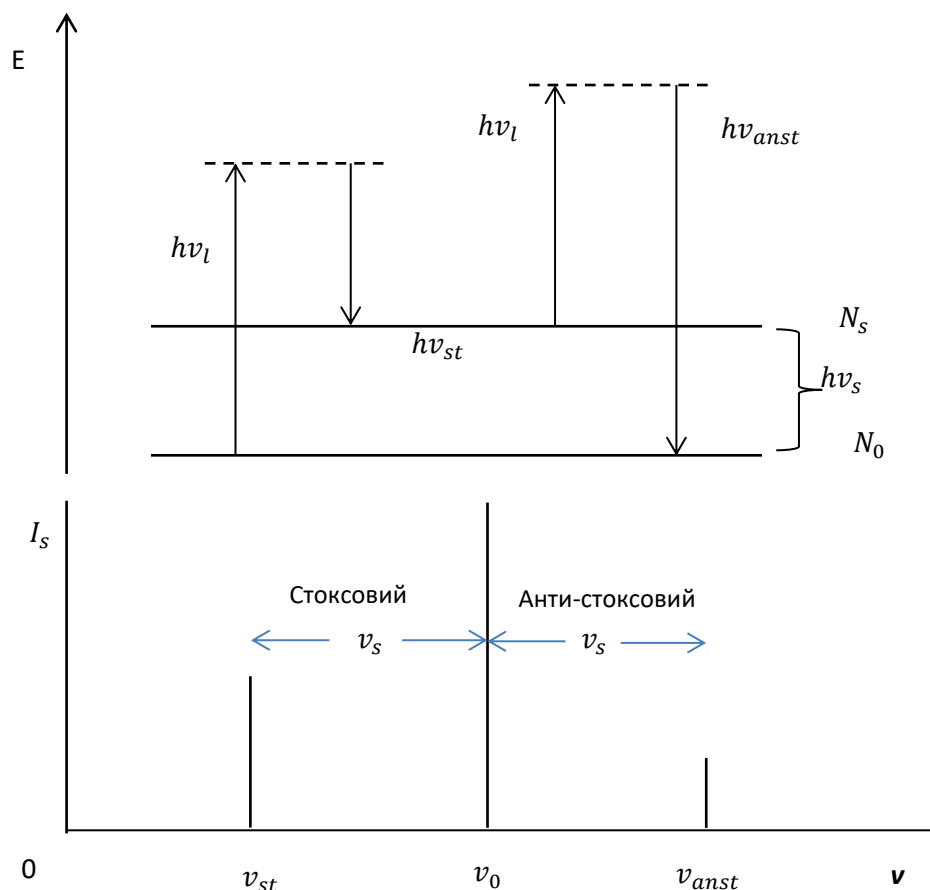


Рис.3.7 Схема переходів при комбінаційному розсіюванні світла

Відбуваються два різні двофотонні процеси. Зліва молекули збуджуються першим фотоном з нижнього рівня переходу і другим менш енергетичним фотоном, що випромінюється, повертаються на верхній рівень. Це лінія стоксової смуги. Справа вихідним рівнем є верхній, а кінцевим нижній. Це лінія антистоксової смуги. Зазначимо, що оскільки населеність нижнього рівня за нормальних умов більше, ніж верхнього, то стоксова смуга виявляється більш інтенсивною, ніж антистоксова.

### 3.3.4 Диференціальні поперечні перерізи коливально обертальних переходів стоксової смуги двоатомної молекули

Оскільки стоксова смуга інтенсивніша за антистоксову, то вона привертає більшу увагу. Коливальні обертальні переходи раманівських спектрів лінійних молекул підпорядковуються правилам відбору за коливальним квантовим числом  $\Delta v = 0, \pm 1$  и по обертальному квантовому числу  $\Delta J = 0, \pm 2$ , утворюючи  $O, Q$  та  $S$  гілки. Для цих переходів у різних джерелах [169, 170] наведено формули для розрахунку диференціальних поперечних перерізів окремих коливально-обертальних ліній [169]:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = k_{\tilde{\nu}}(\tilde{\nu}_1 \mp |\Delta\tilde{\nu}|)^4 \frac{g_N \Phi_J}{Q} \exp\left[-\frac{B_i h c_0 J(J+1)}{k_B T}\right], \quad (3.25)$$

де  $\tilde{\nu}_1$  – це хвильове число лазерного випромінювання,  $|\Delta\tilde{\nu}|$  – відмінність частоти лінії від частоти лазерного випромінювання,  $g_N$  – ядерна статистична вага нижнього рівня. Для молекули  $NO_2$  дорівнює 1,  $Q$  – статистична сума заселеності всіх рівнів енергії, яка приблизно дорівнює  $Q \approx k_B T / h c_0 B_0$ . Враховуються лише заселені рівні. У молекулі  $NO_2$  це лише обертальні рівні основного коливального стану,  $B_i$  – обертальна постійна,  $J$  – обертальне квантове число нижнього рівня, 0, 1, 2, 3, ...

Множник  $\Phi_J$  для розсіяного світла у зворотному до хвилі, що збуджує, напрямку, що актуально для біосенсорів, для різних гілок стоксової смуги коливального переходу  $\Delta v = 0 \rightarrow 1$  має вигляд [170]:

$Q$ -гілка –

$$\Phi_J = \frac{b_v^2 (2J+1)}{[1 - \exp(-h c_0 \tilde{\nu}_{\text{vib}} / k_B T)]} \left[ a'^2 + \frac{7J(J+1)}{45(2J+3)(2J-1)} \gamma'^2 \right], \quad (3.26)$$

$O$ -гілка –

$$\Phi_J = \frac{b_v^2}{[1 - \exp(-h c_0 \tilde{\nu}_{\text{vib}} / k_B T)]} \frac{7J(J-1)}{30(2J-1)} \gamma'^2, \quad (3.27)$$

S-гілка –

$$\Phi_J = \frac{b_v^2}{[1 - \exp(-hc_0 \tilde{\nu}_{vib}/k_B T)]} \frac{7J(J+1)(J+2)}{30(2J+3)} \gamma'^2, \quad (3.28)$$

де  $b_v^2 = \frac{h}{8\pi^2 c_0 \tilde{\nu}_{vib}}$ ,  $\tilde{\nu}_{vib}$  – хвильове число нормального коливання

двоатомної молекули,  $a'$  і  $\gamma'$  – похідні середнього значення поляризуємості та анізотропії поляризуємості за нормальною координатою,  $a'^2$  і  $\gamma'^2$  – інваріанти тензора поляризуємості.

Слід зазначити, що вирази (3.25) та (3.28) отримані з використанням результатів теорії, розробленої Плачеком [171]. Вони справедливі при виконанні наступних умов:

1. Частота падаючого (лазерного) випромінювання набагато більша за частоту будь-якого коливально-обертального переходу молекули.
2. Частота падаючого (лазерного) випромінювання набагато менша за частоту будь-якого електронного переходу молекули.
3. Основний електронний стан молекули є невідродженим.

Всі ці умови виконуються для молекули  $NO_2$ , опромінюваної лазером на довжині хвилі 785 нм.

### 3.3.5 Параметри молекули $NO_2$ , що використовуються для розрахунку диференційного поперекового перерізу стоксової смуги коливально обертальних переходів $\Delta v = 1$

1. Температура середовища - 26,85 °С.
2. Тиск середовища -  $10^5$  Па
3. Довжина хвилі опромінюючого лазера - 785 нм ( $28170 \text{ см}^{-1}$ ).
4. Енергія першого збудженого синглетного стану електронного молекули  $NO_2 - A^1\Pi = 7978,029 \text{ см}^{-1}$  [172, 173]. Як видно, частота переходу в цей стан з основного електронного стану набагато більша за частоту лазерного випромінювання, а це одна з умов можливості застосування теорії Плачека.

5. Енергія коливально-обертального рівня розраховується за формулою [170]:

$$E_{v,J} = G(v) + B_v J(J + 1) - D_v [J(J + 1)]^2 + \dots, \quad (3.29)$$

де  $G(v)$  – енергія коливального рівня,  $B_v$  - обертальна постійна,  $D_v$  – квадратична постійна відцентрового викривлення,  $v$  - квантове число коливального стану та  $J$  – обертальне квантове число.

Ці величини для станів, що мають значення, можна розрахувати завдяки програмному забезпеченню Gaussian 09. Результати обчислених констант та розрахункового Раман-спектру наведені на рис. 3.8 та 3.9.

Harmonic						
	Mode #	Frequency	Infrared	Raman Activity	Depolar-P	Depolar-U
1	1	678.56	7.9270	2.8643	0.7493	0.8567
2	2	1131.09	0.3050	13.4911	0.1847	0.3118
3	3	1327.42	138.3369	4.3568	0.7500	0.8571

Рис. 3.8 Коливальні-обертальні константи молекули  $NO_2$  з Gaussian 09.

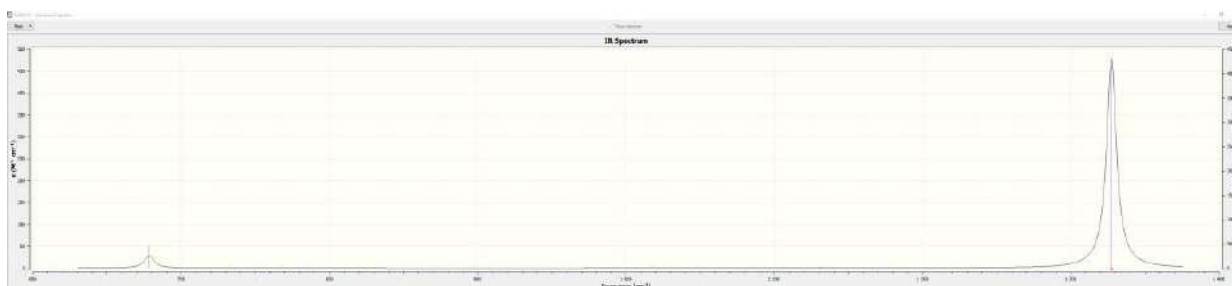


Рис. 3.9 Розрахунковий Раман-спектр для молекули  $NO_2$  з Gaussian 09.

6. Похідна середнього від ізотропної частини тензора поляризуємості по координаті уздовж молекули згідно чисельного моделювання зробленого у Gaussian 09  $\frac{\partial \bar{\alpha}}{\partial r} = 2.246 \times 10^{-30}$  Кл м/в, що співпадає з [174].

7. Похідна від анізотропної частини тензора поляризується по координаті вздовж молекули згідно чисельного моделювання зробленого у Gaussian 09  $\frac{\partial(\alpha_{\parallel} - \alpha_{\perp})}{\partial r} = 2.91 \times 10^{-30}$  Кл м/в.

8. Для розрахунків потрібні похідні за нормальною координатою, які відрізняються від похідних на відстані на корінь квадратний з наведеної маси молекули.

9. Напівширина одноріднорозширених спектральних ліній  $NO_2$  в повітряному середовищі при тиску одна атмосфера та температурі  $T = 296\text{ K} \sim 0.05\text{ cm}^{-1}$  [172, 173].

### 3.3.6 Результати розрахунків диференціального поперечного перерізу коливально-обертальної стоксової смуги $\Delta\nu = 1$ молекули $NO_2$

Розрахунки проводилися у програмі Gaussian 09, що надає можливість розрахувати за допомогою функціонального базису B3LYP енергетичні рівні та відносну інтенсивність. Виявляючи FWHM рівень (рівень повної ширини на половині висоти) лінії розсіювання можливо розрахувати диференціальні поперечні перерізи коливально-обертальних переходів стоксової смуги [175]

Таблиця 3.5

Розраховані зсуви та диференціальні поперечні перерізи коливально-обертальних переходів стоксової смуги,  $\Delta\nu$  – в  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\frac{d\sigma}{d\Omega}$  в  $\text{cm}^2/\text{sr} \times 10^{-31}$

$J$	<b>O</b> гілка		<b>Q</b> гілка		<b>S</b> гілка	
	$\Delta\nu$	$d\sigma/d\Omega$	$\Delta\nu$	$d\sigma/d\Omega$	$\Delta\nu$	$d\sigma/d\Omega$
0			2143.272	0.137	2154.702	0.034
1			2143.237	0.444	2162.286	0.061
2	2131.737	0.033	2143.167	0.695	2169.835	0.084
3	2124.013	0.056	2143.062	0.916	2177.348	0.103
4	2116.254	0.074	2142.922	1.093	2184.824	0.117
5	2108.461	0.088	2142.747	1.217	2192.264	0.126
6	2100.635	0.097	2142.537	1.287	2199.667	0.130
7	2092.775	0.101	2142.292	1.305	2207.032	0.130
8	2084.882	0.101	2142.012	1.276	2214.360	0.125

9	2076.956	0.097	2141.697	1.208	2221.651	0.117
10	2068.998	0.090	2141.347	1.110	2228.903	0.106
11	2061.008	0.081	2140.962	0.993	2236.117	0.094
12	2052.985	0.072	2140.542	0.865	2243.292	0.082
13	2044.931	0.061	2140.086	0.735	2250.428	0.069
14	2036.846	0.051	2139.596	0.610	2257.525	0.057
15	2028.730	0.042	2139.071	0.494	2264.582	0.046
16	2020.582	0.033	2138.511	0.392	2271.600	0.036
17	2012.405	0.026	2137.916	0.304	2278.577	0.028
18	2004.197	0.020	2137.286	0.230	2285.514	0.021
19	1995.960	0.015	2136.621	0.171	2292.410	0.016
20	1987.693	0.011	2135.921	0.124	2299.266	0.011
21	1979.396	0.008	2135.186	0.089	2306.079	0.008
22	1971.071	0.005	2134.416	0.062	2312.852	0.006
23	1962.717	0.004	2133.610	0.042	2319.582	0.004
24	1954.334	0.002	2132.770	0.028	2326.270	0.003
25	1945.924	0.002	2131.895	0.019	2332.916	0.002
26	1937.485	0.001	2130.985	0.012	2339.519	0.001
27	1929.019	0.001	2130.040	0.008	2346.078	0.001
28	1920.526	0.000	2129.060	0.005		
29	1912.006	0.000	2128.045	0.003		



### **3.4 Підсилення перерізу комбінаційного розсіювання речовин золотим колоїдом, імплантованим у приповерхневий шар плавленого кварцу**

Моделювання підсилення комбінаційного розсіювання молекулярних сполук буде проведено у два етапи методом FDTD, який був описаний у розділі 2.2 за допомогою програмного забезпечення ANSYS Lumerical.

Перший етап полягає в моделюванні поглинання та розсіювання електромагнітного випромінювання від гаусового джерела випромінювання наносферою золота, в якій є кратер циліндричної форми. Цей кратер необхідний для створення локального поля, так званого “Hot spot”. Дане локальне поле сприяє підсиленню перерізу комбінаційного розсіювання. Саме тому в розгляд було включено поле мод на довжині хвилі випромінювання лазера 785 нм та розраховувався ефективний ідекс заломлення мод. Потім була застосована оптимізація для завдання параметрів конуса та сфери. Однак цей процес мав обмеження, пов’язані з методикою експерименту. Так як застосовувалось викуумне напилення та лазерна імплантація – ці методики обмежували варіацію розмірів конуса та наночастинки, а також лімітували вибір матеріалу.

Таким чином не було досягнуто оптимальної конфігурації параметрів матеріалів, а вибір був тих, які можна було виготовити. При використанні більш досконалих технологій нанолітографії та магнетронного напилення, можна вдосконалити модель і тим самим збільшити перетин комбінаційного розсіювання на кілька порядків. Окремо слід обмовити, що було використано одномодовий напівпровідниковий лазер, що випромінює на довжині хвилі 785 нм, він має потужність 100 мВт і перетяжку пучка в площині підкладки 10 мм. Лазер мав високу стабільність і не мав суттєвих дивіацій у модовому складі. Далі в результатах чисельного моделювання для заданих геометричних параметрів наночастинки в 50 нм і конуса з кутом  $22^\circ$  і радіусом основи в 25 нм максимум смуги поглинання припадає на 532 нм, що добре

узгоджується з експериментальними даними, наведеними в параграфах 3.1 і 3.2. Однак на довжині хвилі 785 нм довжина хвилі знаходиться на довгохвильовому краї смуги поглинання і у зв'язку з цим структура не має максимальної ефективності з точки зору підсилення локального поля. Але фізичний аргумент пов'язаний з вибором довжини хвилі полягав у тому, що робота була націлена на вивчення коливань молекул, а не на спектри пов'язані з електронними переходами, які відповідають за спектри поглинання «скелета» молекули. В подальшому при застосуванні нанолітографії можливе створення структур, які матимуть максимум смуги поглинання на довжині хвилі 785 нм і це істотно збільшить ефективність методики детектування молекулярних сполук, яка буде описана в розділі 4.2. Таким чином, у випадку моделювання описаного в цьому розділі, отримано підсилення перерізу комбінаційного розсіювання порядку  $10^2$ , але вдосконалення техніки експерименту дозволить збільшити цей параметр до  $10^8$ . Геометрична структура, яка була створена в ANSYS Lumerical наведена на рис. 3.10.

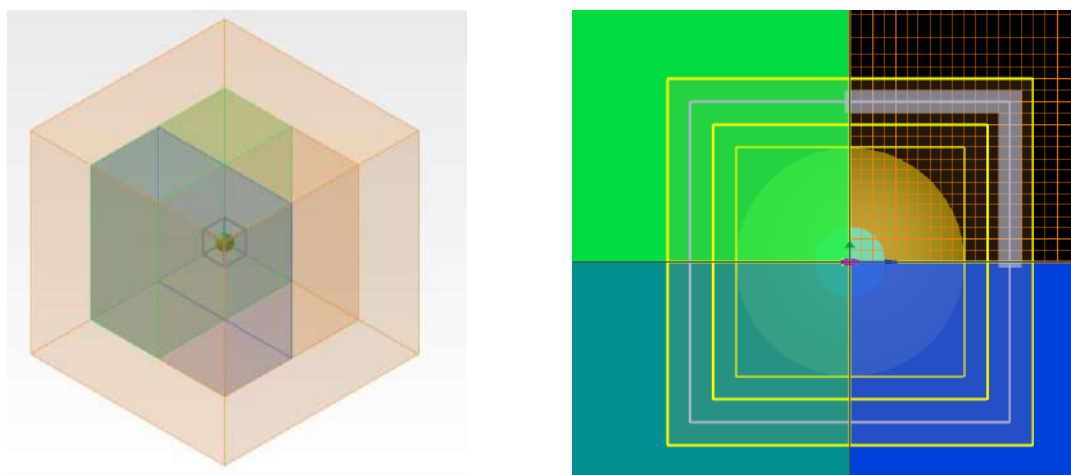


Рис. 3.10 Геометрична структура створена в ANSYS Lumerical.

Геометрична структура створена в ANSYS Lumerical складається з зони FDTD (зелена зона), яка задає сітку в 0,1 нм для розрахунку і має відносну діелектричну проникність 1. Ця область оточена PML шаром, який дає можливість контролювати похибку чисельного рішення (помаранчева зона). Наночастинки золота сферичної форми (виділені жовтим кольором), конус має діелектричну проникність, яка дорівнює 1 (виділений зеленим кольором).

Джерело випромінювання плоскої хвилі, яке дає можливість імітувати плоский хвильовий фронт в області перетяжки пучка і спектральний діапазон, що змінюється, від 400 до 1000 нм. Модовий склад вивчається за допомогою операції "Mode component analysis" (рис. 3.11 та 3.12) дозволяє чисельно моделювати розподіл  $E^2$  у ближній зоні.

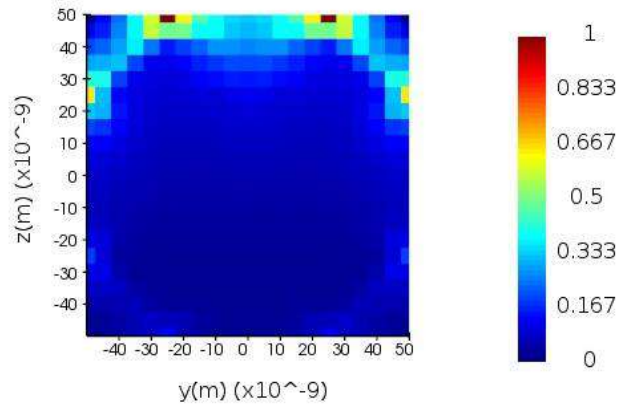


Рис. 3.11 Поле в ближній зоні наночастинки в площині XZ на довжині хвилі 785 нм.

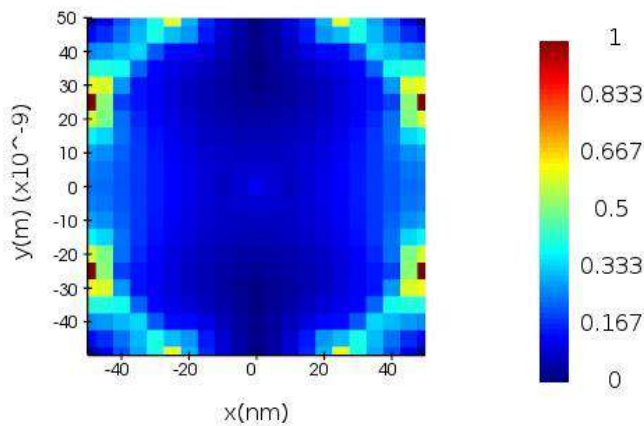


Рис. 3.12 Поле в ближній зоні наночастинки у площині XY на довжині хвилі 785 нм у площині XZ, що знаходиться на відстані 5 нм від центру координат.

Розподіл поля на рис. 3.9 демонструє наявність Hot spot зони, в якій коефіцієнт підсилення становить  $10^6$  і має дипольний розподіл. Розподіл поля на рис. 3.12 демонструє наявність квадрупольного розподілу поля. Даний розподіл може призводити до резонансів Фано в системі пов'язаних осциляторів молекула-наночастинка.

Розподіл показника заломлення моди на довжині хвилі 785 нм у площині XZ представлений на рис. 3.13 у площині YX – на рис. 3.14. Однорідність розподілу дозволяє робити висновки про можливість виконання умови фазового синхронізму для пов'язаних станів.

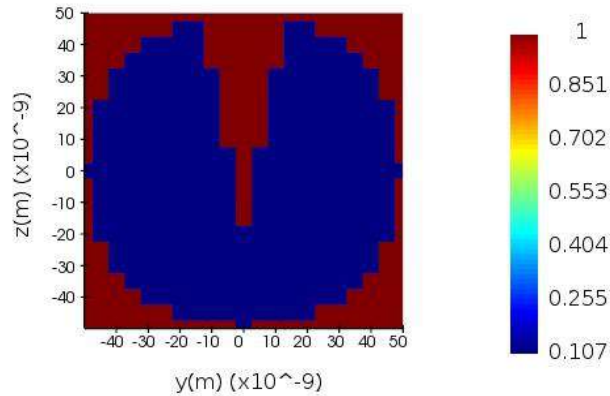


Рис. 3.13 Розподіл ефективного показника заломлення на довжині хвилі 785 нм у площині ZX.

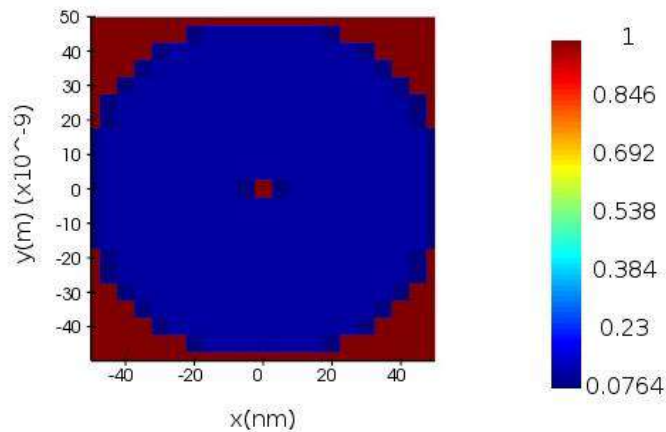


Рис. 3.14 Розподіл ефективного показника заломлення на довжині хвилі 785 нм у площині YX на відстані 1 нм від центру системи координат.

Операції "Scattering" і "Absorption" дозволяють чисельно розрахувати дисперсію ефективного коефіцієнта заломлення мод та перетин розсіювання та поглинання в дальній зоні, отриманні дані представлені на рис. 3.15 – 3.17.

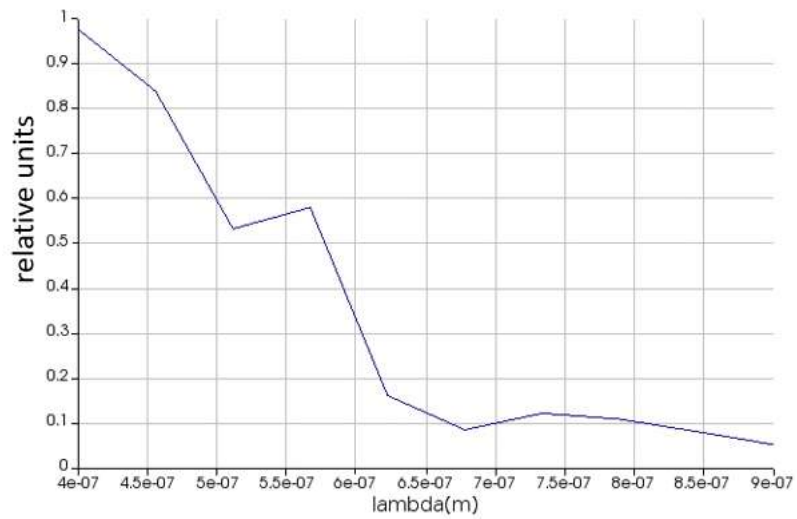


Рис. 3.15 Дисперсія ефективного коефіцієнта заломлення мод.

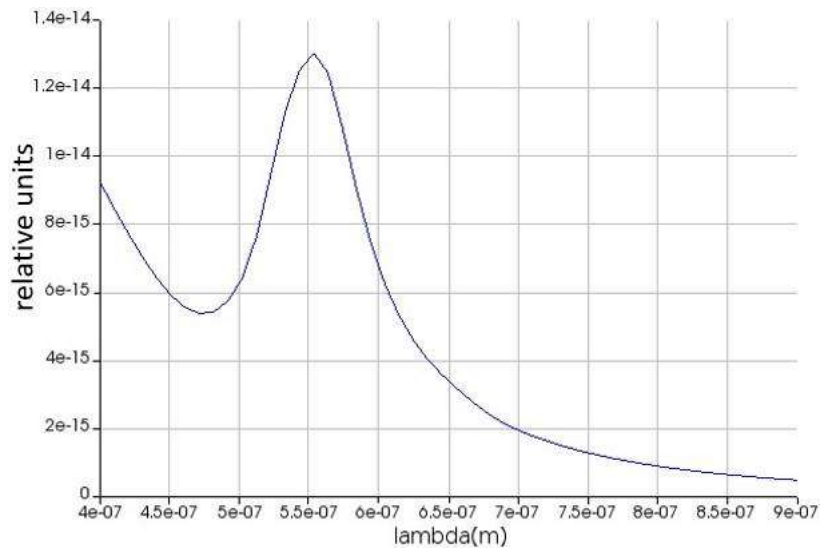


Рис. 3.16 Перетин розсіювання наночастинки.

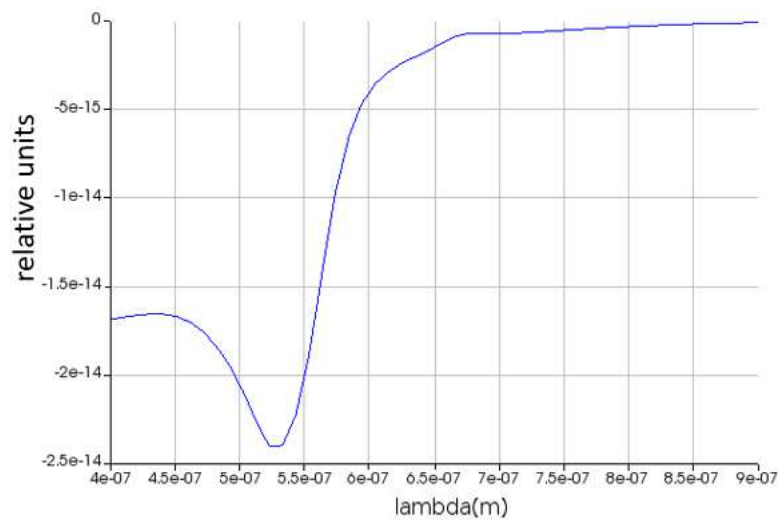


Рис. 3.17 Перетин поглинання наночастинки у дальній зоні.

Таким чином, було проведено моделювання параметрів наночастинки золота та розраховано коефіцієнт підсилення локального поля у площині падіння електромагнітного випромінювання ZX та у площині XY. Дані моделювання добре узгоджуються з експериментальними результатами, наведеними в дисертації.

Другий етап моделювання передбачав розташування диполя, яким можна моделювати наведений дипольний момент падаючого випромінювання молекули  $NO_2$ . Дані для моделювання взяті з попереднього підрозділу, де проводилися чисельні розрахунки молекули  $NO_2$  у Gaussian 09.

За допомогою цієї моделі було проведено розрахунок квантової ефективності представлений на рис. 3.18 та розподілу локального поля, рис. 3.19. Було чисельно розраховано підсилення комбінаційного розсіювання, яке склало  $10^3$ , що добре узгоджується з чисельними даними, наведеними в розділі 4.3.

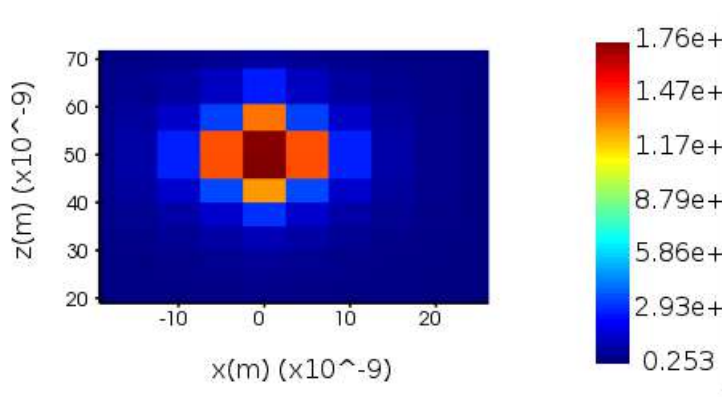


Рис.3.18 Локальное поле поблизу диполя в ZX площині.

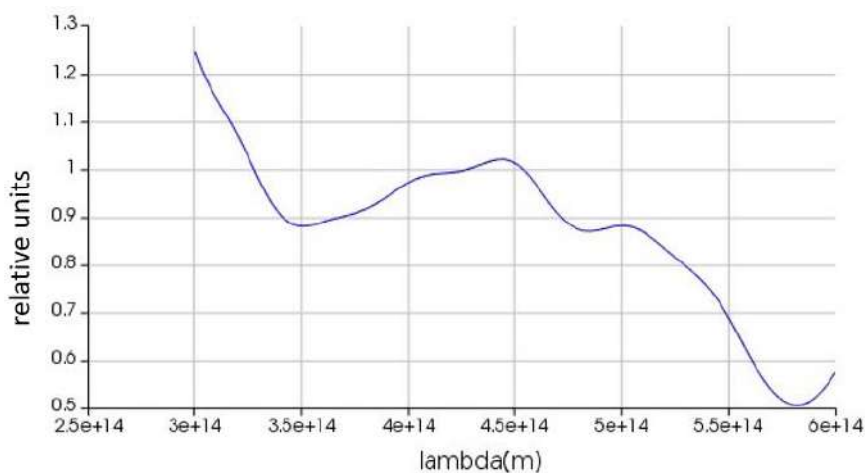


Рис. 3.19 Квантовая эфетивність системи

### Висновки до розділу 3:

1. Вперше встановлено факт диполь-дипольної взаємодії між шарами гранул різних металів, розділених проміжним шаром  $ZnS$ .
2. Вперше з'ясовано, що за положенням максимуму високочастотної смуги двошарового зразка на основі гранулярної плівки  $Al$ , укладеної між шарами  $ZnS$ , визначена плазмова частота  $Al$ :  $21,9 * 10^{15} \text{с}^{-1}$
3. Вперше продемонстрована вдосконалена техніка імплантації золота в приповерхневий шар плавленого кварцу, яка враховує оптичні параметри матеріалів підкладки та металу за допомогою двохлазерного опромінювання.
4. Вперше виявлено дві спектрально розділені смуги на зразку де радіус наночастинок становить 5 – 7 нм. Високочастотна смуга показує плазмон-поляритонну взаємодію з падаючим електромагнітним полем, а низькочастотна смуга ілюструє міжзонні переходи в золоті, що не враховано в моделі Хампе-Шклярєвського. Данні результати вперше допомогли зрозуміти вплив локалізованого в просторі терагерцового електромагнітного поля високої інтенсивності Раман спектрів біоорганічних молекули.
5. Вперше проведений чисельний аналіз модового складу наночастинок золота з кратером, що надає можливість отримати локалізацію поля. Вперше розрахована квантовий вихід молекулярної групи поблизу такої наночастинок.

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ КОМБІНАЦІЙНОГО РОЗСПОВАННЯ ТА СПЕКТРІВ ЛЮМІНІСЦЕНЦІЇ МОЛЕКУЛЯРНИХ СТРУКТУР

#### 4.1 Квантово-механічні обчислення відносної діелектричної проникності Родаміну 6G

##### 4.1.1 Матеріали і методи чисельного моделювання

Оскільки електрони, які беруть участь у поглинанні світла, «розмазані» практично по всьому об'єму молекули, то величезні розміри молекули барвника [176] зумовлюють високе значення матричного елемента дипольного моменту молекули  $\mu$  [177]. У результаті, навіть при низьких концентраціях носіїв, коефіцієнт поглинання  $k \sim |\mu|^2$  [178] може досягати рівнів, що приводить до значного поглинання світла в розчинах, надаючи розчину відтінок, що доповнює спектр поглинання. Однак це також свідчить про те, що з флуоресценцією та її збільшенням пов'язані дозволені дипольні переходи  $S_1 \rightarrow S_0$ .

Діелектрична проникність зазвичай описується [179] з урахуванням точкових диполів, які впливають коливання від зовнішнього хвильового поля. Тут втрата енергії викликає затухання коливань за відсутності зовнішнього поля. В результаті падаюче випромінювання в системі з точковими диполями може як поглинатися, так і розсіюватися. Крім того, оскільки речовина може бути прозора в певній спектральній області, вона не взаємодітиме з випромінюванням [180]. Падаючу хвилю можна сформулювати за допомогою наступного рівняння, якщо її представити як монохроматичну плоску хвилю, яка поширюється вздовж осі  $z$ :

$$\vec{E}_{in}(\vec{r}, t) = \vec{E}_0 e^{i(kz - \omega t)}, \quad (4.1)$$

де  $\vec{E}_{in}(\vec{r}, t)$  – падаюче поле;  $k$  означає хвильовий вектор;  $\omega$  означає частоту падіння. Поляризація середовища виражається наступним чином:

$$\vec{d}(\vec{r}, t) = 4\pi\chi(\omega)\vec{E}(\vec{r}, t), \quad (4.2)$$



де  $\vec{d}(\vec{r}, t)$  – дипольний момент одиниці об'єму, пов'язаної із середовищем, а  $\chi(\omega)$  – поляризованість середовища.

Тоді поле, утворене точковими диполями, можна описати так:

$$\vec{E}_M(\vec{r}, t) \sim -z \frac{\partial \vec{d}}{\partial t} = i\omega z \vec{d}(\vec{r}, t). \quad (4.3)$$

Результуюче поле в середовищі можна описати наступним рівнянням:

$$\vec{E}_{total} = \vec{E}(\vec{r}, t) + \vec{E}_M(\vec{r}, t). \quad (4.4)$$

У класичній електродинаміці наявність групи диполів викликає зсув фази в полі, розташованому всередині середовища або на його межі. Зміщення фази, як було зазначено раніше, приводить як до слабшого поля, як наведено на рис. 4.1 (зміна модуля вектора  $E_{total}$ ), так і до зміни напрямку поширення хвилі (фаза вектора  $E_{total}$ ). Окремим випадком такого зсуву є дзеркало, яке змінює фазу відбитої хвилі на  $\pi$ .

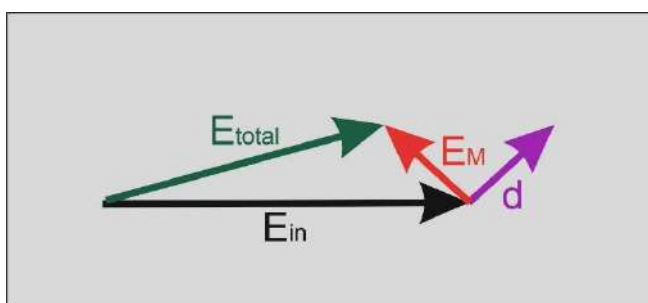


Рис. 4.1 Векторна діаграма суперпозиції поля у зразку

Якщо розглядати молекулу як систему в квантовій механіці [181] її можна представити як точковий диполь, який змінює свій дипольний момент з часом. Беручи до уваги цю різницю, не можна усереднити поляризованість середовища за часом. Отже, потрібно враховувати час життя молекули (рис. 4.2) у збудженому стані та час її безвипромінювальної релаксації. Розрахунки в цьому розділі роботи базувалися на висушених зразках. Таким чином, механізм флуоресценції, пов'язаний з діелектричною проникністю, можна змодельовати наступним чином:

1. Презентація люмінесценції Родаміну 6G як дворівневої системи.
2. Представлення хвильові функції для частинки в кільці та визначення оператора дипольного моменту для кожного переходу [182].

3. Золоте правило Фермі використати для обчислення населеності рівня [183].
4. Діелектрична проникність обчислюється за допомогою рівняння наведеного в [184].
5. Для виконання обчислень використовується MATLAB [185].
6. Результати порівнюються з результатами, отриманими за допомогою Gaussian 09 [186].

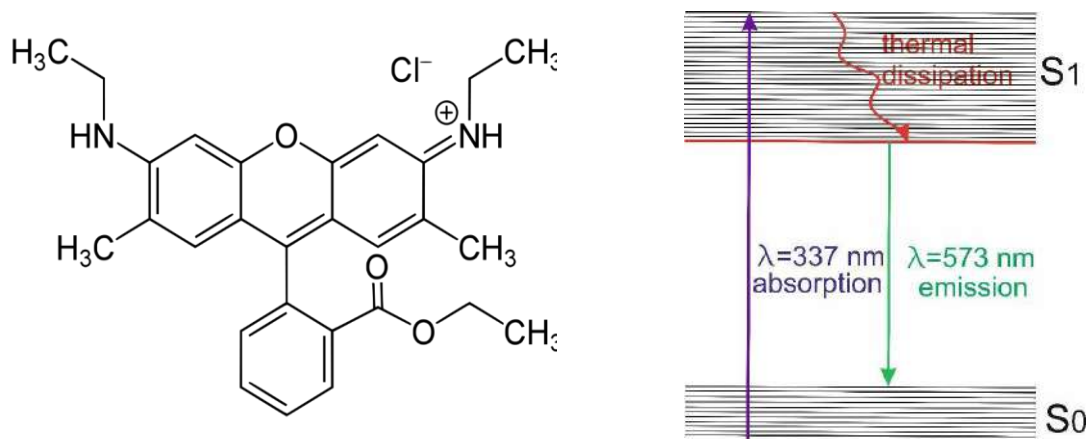


Рис. 4.2 Структура молекули Родаміну 6G та діаграма Яблонського її енергетичних рівнів.

Діелектричну проникність середовища, яка враховує квантово-механічні ефекти, можна представити наступним чином [187]:

$$\begin{aligned}
 \tilde{\epsilon} &= 1 + \frac{32\pi^2 N \epsilon_0}{3\hbar} \sum_j \frac{|\vec{d}_{ji}|^2}{\omega_{ji}^2 - \omega^2 + i\Gamma\omega} \\
 &= 1 \\
 &\quad + \frac{32\pi^2 \epsilon_0}{3\hbar} \left[ \frac{N_1 |\vec{d}_{13}|^2}{\omega_{13}^2 - \omega^2 + i\Gamma\omega} + \frac{N_2 |\vec{d}_{21}|^2}{\omega_{21}^2 - \omega^2 + i\Gamma\omega} \right. \\
 &\quad \left. + \frac{N_3 |\vec{d}_{32}|^2}{\omega_{32}^2 - \omega^2 + i\Gamma\omega} \right], \tag{4.5}
 \end{aligned}$$

де  $N$  представляє заселеність рівня,  $\epsilon_0$  позначає діелектричну проникність вакууму,  $\hbar$  позначає постійну Планка,  $d_{ji}$  визначає оператор дипольного моменту переходу, а  $\omega_{ij}$  позначає частоту переходу з рівня  $i$  на рівень  $j$ .

З дипольним моментом  $d_{13}$  і частотою переходу  $\omega_{13}$  можливо розглянути в першому наближенні перехід всередині рівня  $S_1$  на збуджені коливальні підрівні. Далі на цьому ж рівні  $S_1$  слідує безвипромінювальна релаксація на його нижні коливальні підрівні з частотою переходу  $\omega_{32}$  і дипольним моментом  $d_{32}$ . З дипольним моментом  $d_{21}$  і частотою переходу  $\omega_{12}$  кінцевий випромінювальний перехід відбувається з рівня  $S_1$  від його нижніх коливальних підрівнів до рівня  $S_0$  на його верхні коливальні підрівні. Також час життя в станах  $i$  та  $j$  визначають розширення енергетичних рівнів [188]:

$$\Gamma = \frac{1}{2} \left[ \frac{1}{\tau_i} + \frac{1}{\tau_j} \right]. \quad (4.6)$$

Весь об'єм молекули використовується для обчислення оператора дипольного моменту [189]:

$$d_{ji} = \langle \varphi_j | \hat{d} | \varphi_i \rangle = \int_V \varphi_j (ea + \vec{D}_s) \varphi_i, \quad (4.7)$$

де  $D_s$  визначає дипольний момент всієї структури, та  $a$  є радіусом орбіти збудженого електрона. Частинка в кільці має хвильові функції, які виражаються наступним чином [182]:

$$\varphi_n = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{in\frac{r}{R}}, \quad (4.8)$$

де  $R$  є радіусом кільця,  $n = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$  означають квантові числа.

$$\vec{d} = ea + \vec{D}_s. \quad (4.9)$$

Золоте правило Фермі [187] використовується для розрахунку населеності рівнів  $N_1, N_2, N_3$ :

$$W^{(1)} = \frac{2\pi}{\hbar} |V_{ij}|^2 \delta(\omega_j - \omega_i - \omega), \quad (4.10)$$

$$N_i = W^{(1)} \tau_i, \quad (4.11)$$

Була використана дельта функція Дірака  $\delta(\omega_j - \omega_i - \omega)$  та матричний елемент взаємодії електрону з падаючим випроміненням  $\hat{V}_{ij}$ , який може бути розрахований:

$$\hat{V}_{ij} = \frac{1}{2} \vec{E} \vec{d}. \quad (4.12)$$

З урахуванням теплового випромінювання безвипромінювальний перехід, представлений третім членом у формулі діелектричної проникності (4.5), має такий вигляд [190]:

$$\varepsilon = \frac{2}{\varepsilon_0} \frac{cu}{|E|^2}. \quad (4.13)$$

В цьому рівнянні  $u$  визначає електромагнітну густину теплового випромінювання, яку можна розрахувати як [187]:

$$u = \frac{h\omega^3}{\pi^2 c^3} \frac{1}{e^{\frac{h\omega}{kT}} - 1}, \quad (4.14)$$

де  $T$  визначає термодинамічну температуру, а  $k$  є постійна Больцмана. Суперпозиція електричного поля, утвореного ядром і рештою електронів, які не враховані у безвипромінювальному переході, визначатиме напруженість електричного поля  $E$ .

#### 4.1.2 Результати моделювання

Діелектрична проникність була розрахована в MATLAB, де використовувались вхідні дані, які наведені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Дані [191] для чисельного розрахунку діелектричної проникності

Радіус кільця Родаміну 6G (з Gaussian 09)	$9102 \times 10^{-9}$ м
Тривалість життя на основному енергетичному рівні $S_0$	$10 \times 10^{-6}$ с
Тривалість життя на основному енергетичному рівні $S_1$	$10 \times 10^{-8}$ с
Тривалість життя на вищому підрівні $S_1$	$10 \times 10^{-9}$ с
Частота поглинання	$5.589 \times 10^{15}$ с <sup>-1</sup>
Частота випромінювання	$3.287 \times 10^{15}$ с <sup>-1</sup>
Частота нерадіаційного переходу	$2.302e+15$ с <sup>-1</sup>

Обчислення Gaussian 09 були виконані для перевірки даних, отриманих у результаті моделювання в MATLAB. На рис. 4.3 показано інтерактивну

модель хімічної структури молекули (з Avogadro 1.1.1). Розрахунок проводився за допомогою DFT, доступного способу включення електронних кореляцій із трипараметричним функціоналом густини — Becke3LYP (B3LYP) — на основі теорії Хартрі-Фока без накладення обмежень щодо симетрії. Базисний набір орбіталей cc-pVDZ використовувався методом OPT для оптимізації геометрії. Метод дискретного перетворення Фур'є розраховував молекулярні властивості Родаміну 6G, а потім використовував наближення Клаузіуса-Моссотті для визначення діелектричної проникності [192, 193]. У таблиці 4.2 наведено значення діелектричної проникності, обчислені за допомогою Gaussian 09 і MATLAB.

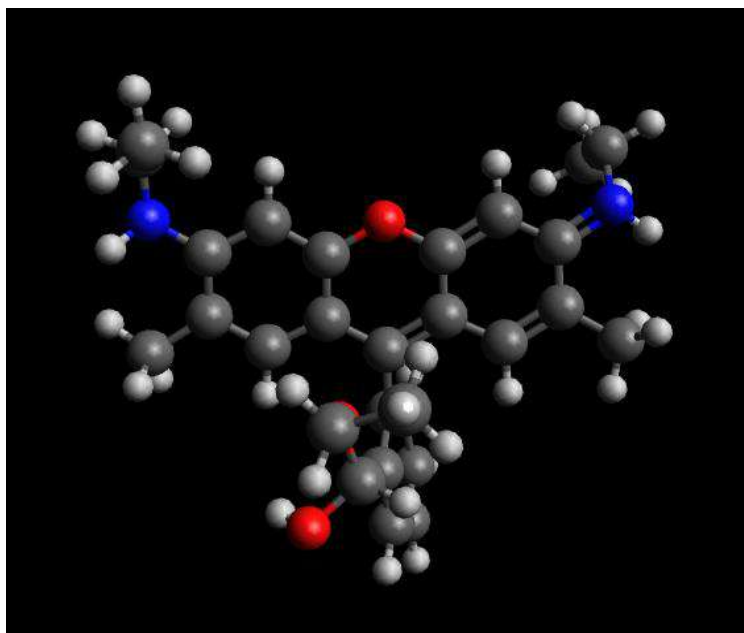


Рис. 4.3 Інтерактивна модель хімічної структури молекули Родаміну 6G.

Таблиця 4.2

Розрахунок діелектричної проникності обчислені за допомогою Gaussian 09 і MATLAB для двох довжин хвиль.

	B3LYP/cc-pVDZ	MATLAB
$\epsilon$	2.85 ( $\lambda=337$ нм)	2.89 ( $\lambda=337$ нм)
$\epsilon$	6.23( $\lambda=573$ нм)	6.27( $\lambda=573$ нм)

### 4.1.3 Обговорення результатів

Діелектрична проникність зазвичай залежить від часу життя молекули у збудженому стані, а також від часу безвипромінювального переходу. Отже, можна змінити діелектричну проникність, змінюючи час релаксації збудженого стану. Цей підхід використовується для підсилення люмінесценції шляхом підсилення локального поля. У цьому випадку аналіз формули (4.10) забезпечує краще розуміння умов, за яких досягається максимальне підсилення, де різницю фаз між падаючою хвилею та електричним диполем можна поділити на  $\pi$ . Таке покращення стосується плазмонних наноструктур. Ці структури перетворюють падаюче поле в поверхневу хвилю [194], де вектор електричного поля паралельний вектору поляризованості середовища. Результируюче поле підсилюється пропорційно квадрату модуля суперпозиції ближнього поля, що дозволяє контролювати підсилення люмінесценції барвника шляхом створення заданого ближнього поля.

Натепер чисельні розрахунки базуються на методах RCWA і FDTD, які включають згортку діелектричної проникності [195, 196]. Для виконання необхідних обчислень часто потрібен суперкомп'ютер. У випадку великих і складних біофізичних систем неможливо проводити розрахунки в нелінійних середовищах, де діелектрична проникність залежить від збуджуючого електричного поля. В першу чергу це пов'язано з тим, що наявність точності з плаваючою комою [197] приводить до феномену Гіббса [198]. З іншого боку, динамічна матриця діелектричної проникності не може бути використана в згортці [199]. Таким чином, необхідний надійний метод, щоб уникнути описаних вище труднощів під час виконання розрахунків для складних нелінійних біофізичних систем. Для цього можна застосувати запропонований новий оригінальний метод, в якому квантово-механічна система розглядається в електродинамічному наближенні, де дискретний континуум енергії взаємодіє з безперервним. Для невеликої молекули Родаміну 6G хвильову функцію можна виразити рівнянням з додаванням хвильових функцій для частинки в потенційній ямі та частинки в кільці. В програмному забезпеченні

Gaussian 09 важко розв'язати хвильове рівняння для великих молекул, оскільки це вимагає багато часу та потужного обладнання. Іноді накопичення системних помилок під час розрахунку електронної будови атомів робить його повністю неможливим. Використовуючи запропоновані чисельні методи, завдяки дельта-функції Дірака, похибка зменшується. Тому для визначення оптичних властивостей великих молекул актуальним є чисельне моделювання для MATLAB. Порівнюються результати обчислень, виконаних у Gaussian 09, з даними, отриманими з MATLAB. Отримані дані демонструють високий ступінь відповідності, що вказує на достовірність обраного чисельного методу та функціональність представлення квантово-механічних властивостей Родаміну 6G.

Ці результати важливі для вивчення більш складних молекул, таких як токсини або нуклеїнові кислоти для чисельного моделювання експерименту з дослідження коливальних переходів таких молекул. Інтегральні зміни хвильових функцій складних молекул також можна представити у вигляді суми хвильових функцій, що описують зміни структурних частин великої молекули. Тим не менш, ядро великих молекул може викликати зсув, який слід враховувати. Запропонований чисельний метод надалі може бути використаний для перевірки експериментальних даних щодо оптичних властивостей молекул. Ця методика дає змогу передбачити оптичні властивості наноструктур і провести теоретичні розрахунки умов для високо когерентного випромінювання високої інтенсивності та високого ступеня поляризації. Діелектрична проникність описує як оптичну реакцію молекули, так і реакцію середовища, яка може бути пов'язана з властивостями розчину або твердої речовини. Робочою гіпотезою нового дослідження може бути перевірка цього методу з урахуванням середовища навколо аналітів, оскільки ця робота проводилась з урахуванням що молекула перебуває у висушеному зразку.

## 4.2 Дослідження сироватки крові хворих на міастенію на вміст Ботулотоксину А

### 4.2.1 Виготовлення зразків експерименту

Зразки сироватки крові були підготовлені з використанням протоколу, описаного в підрозділі 2.2 разом із методом виготовлення підложки з імплантованими плівками золота як наведено в підрозділі 3.2.1. Коефіцієнт заповнення підшару підложки оптичними плівками золота досліджено за допомогою АСМ і становить  $q = 0,4$  [200]. Підложки з плавленого кварцу використовувались у зв'язку з тим, що комбінаційне зсув широти кристала кварцу лежить в діапазоні  $300 - 500 \text{ см}^{-1}$ , [201]. Імплантовані в  $\text{SiO}_2$  наночастинки золота, які знаходяться на відстані 5 нм під плоскою поверхнею плавленого кварцу, утворюють високоякісну ( $Q \sim 0,8 - 0,9$ ) факторну резонансну систему з резонансною плазмонною частотою  $3,31 \times 10^{15} \text{ с}^{-1}$ . [155]. Вони утворили систему зв'язаних осциляторів з моношаром сироватки [165]. Такі резонансні системи підсилюють комбінаційне розсіяння [202] від радикальної групи органічної молекули.

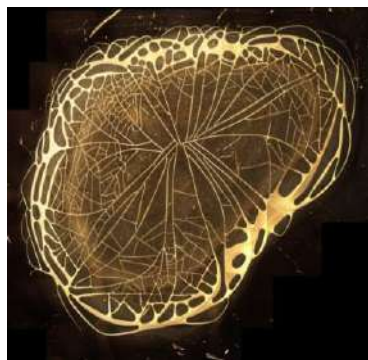
Краплі зразків сироватки, нанесених на кварцову підложку, досліджували за допомогою Zeiss™ Primo Star HAL LED-Mikroskop. Ці ж зразки були використані для дослідження раманського зсуву. Діапазон вимірювання  $150 - 3200 \text{ см}^{-1}$ , з спектральним дозволом  $2 \text{ см}^{-1}$ , детектор: ПЗС-камера Renishaw - 1040x256; лазер: I0785SR0090B-IS1 виробник Innovative Photonic Solutions з довжиною хвилі 785 нм (режим: звичайний), спектральна ширина якого  $< 100 \text{ МГц}$  (або  $< 0,2 \text{ пм}$ ,  $< 0,005 \text{ см}^{-1}$ , ), вихідна потужність 90 мВт, встановлена потужність лазера: 1%; решітка: 1200 л/мм (633/780); час експозиції: 10 с, об'єктив x5; програмне забезпечення для зняття спектрів WiRE3.4 для обробки спектрів WiRE5.6 [203].

### 4.2.2 Результати експерименту

Фотографії крапель сироватки крові хворих на міастенію представлені на рис.4.4.



а)



б)



Рис. 4.4 Мікрофотографії крапель сироватки крові а) зразки хворих на міастенію б) зразки хворих на тимоасоційовану міастенію.

Механізм розподілу органічних молекул у краплях можна описати через їх молярну масу. Під час висихання краплі спостерігається ефект розподілу маси зразка по краях краплі, також легкий елемент випарувався в процесі висушування.

Під час встановлення методики послідовності вимірів, кожену краплю було розділено на сегменти, як вказано на рис. 4.5, для того щоб визначити, де саме слід фокусувати лазерний пучок. В кожному сегменті був зроблений вимір в 8 довільних точках.

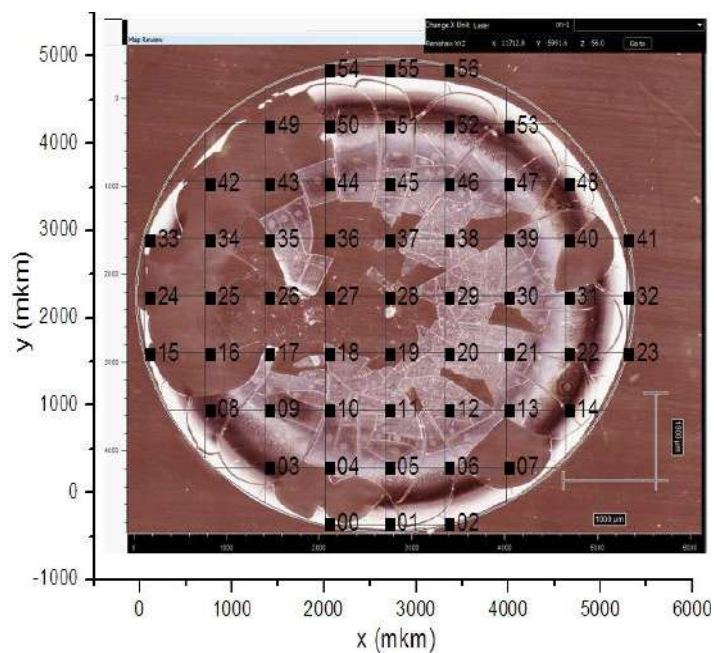


Рис. 4.5 Розділення зразка краплі сироватки крові пацієнтів хворих на міастенію на сегменти для встановлення методології вимірів.

Після дослідження 10 різних зразків сироватки крові хворих пацієнтів, спектр, який містив додаткові полоси, що не реєструвались у сироватці крові здорових пацієнтів, відповідав спектрам лише з країв краплі. Тому в подальші виміри спектрів проводились 4-5 разів лише з країв кожної краплі рис. 4.6.

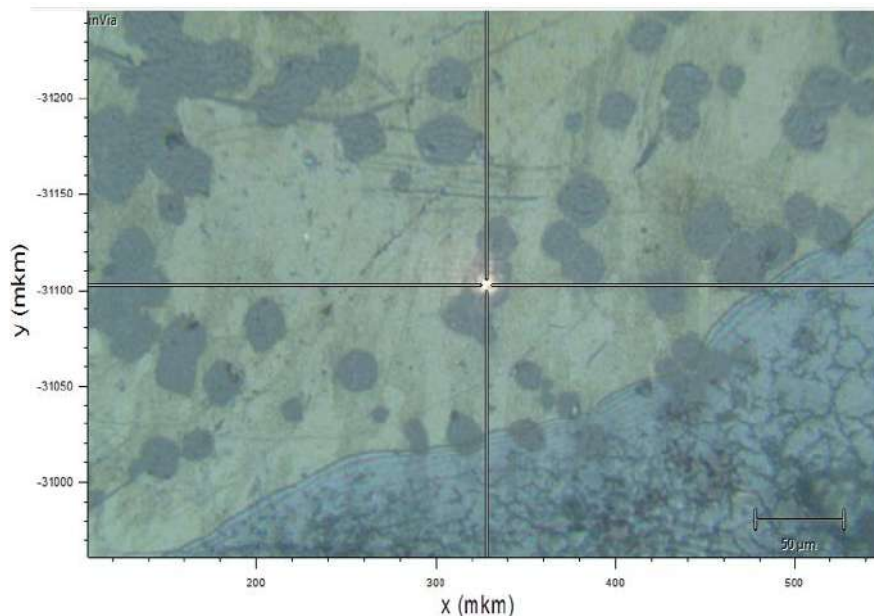


Рис. 4.6 Фокусування пучку лазера на краю зразка краплі сироватки крові пацієнтів хворих на міастенію.

За час експерименту було зареєстровано 1320 Раман-спектрів зразків сироватки крові на підложці з імплантованими наночастинками, з яких 780 спектрів сироватки крові хворих на міастенію, в тому числі 400 зразків хворих на тимоасоційовану міастенію, та 540 спектрів контрольної групи, 20 Раман-спектрів зони імплантації золота у підложку і 46 Раман-спектрів зразків крапель крові пацієнтів хворих на міастенію на підложці без імплантованих наночастинок золота. Всі виміри проводилися у спектральному діапазоні  $150 - 3200 \text{ cm}^{-1}$ .

В отриманому спектрі підложки наведено два основні піки, які відповідають металу ( $120 \text{ cm}^{-1}$ ) та кварцу ( $605 \text{ cm}^{-1}$ ), але у випадку металу, якщо настає насичення, алгоритм обробки, який застосований у WiRE усікає смугу розсіювання на рівні FWHM, з метою виключення засвічення спектрального діапазону, що залишився. При цьому зрізана лінія має форму висіченої трапеції, як видно на рис. 4.7.

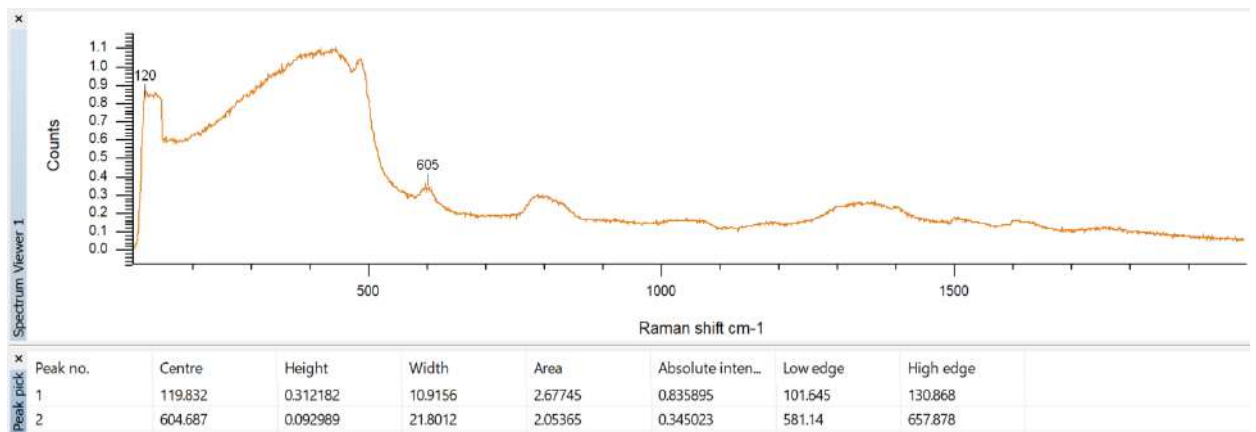


Рис. 4.7 Раман-спектр зони імплантації золота підложки з плавленого кварцу.

В отриманому спектрі сироватки крові хворих на міастенію нанесеної на підложку без імплантованих наночастинок золота рис. 4.8 спостерігається інший вид спектру, адже при знятті спектру фон флюоресценції від підложки значно менший. Тим не менше, немає характерних піків, які відповідають контрольній групі  $NO_2$ , що може свідчити про її низьку концентрацію, яка детектується лише завдяки підсиленню.

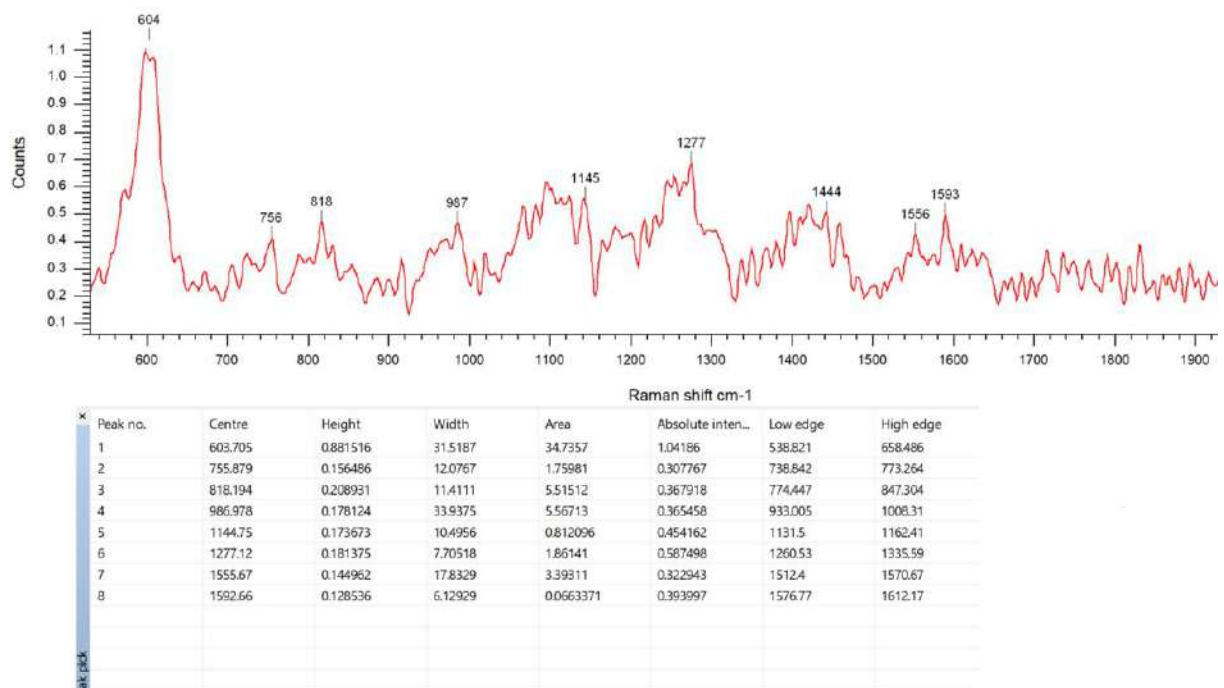


Рис.4.8 Аналіз отриманих спектрів за наявністю і положенням піків в спектрі сироватки крові хворих на міастенію, яка нанесена на підложку з кварцу без імплантованих наночастинок золота.

Після проведення усереднення даних по аналогії [204] за допомогою розподілу ймовірностей суми квадратів ( $\chi^2$ ) були побудовані середні спектри, які наведені на рис. 4.9. З результатів видно, що верхні два спектри всіх зразків пацієнтів хворих на міастенію мають моди нітровигіну і нітророзтягування, а також математичним апаратом WiRE 5.6 аналізуються низькоінтенсивні моди 1620, 1649, 1798 та 1830  $\text{cm}^{-1}$ . Результати здорових учасників дослідження (рис. 4.9,в) не мають жодних даних піків при знятті спектрів сироватки крові нанесених на підкладку з імпантованими наночастинками золота. На рис. 4.9,г представлений один з 20 спектрів сироватки крові хворих на міастенію, які зняті з підкладки з кварцу без імпантованих наночастинок золота, усереднення даних цієї групи даних не проводилося.

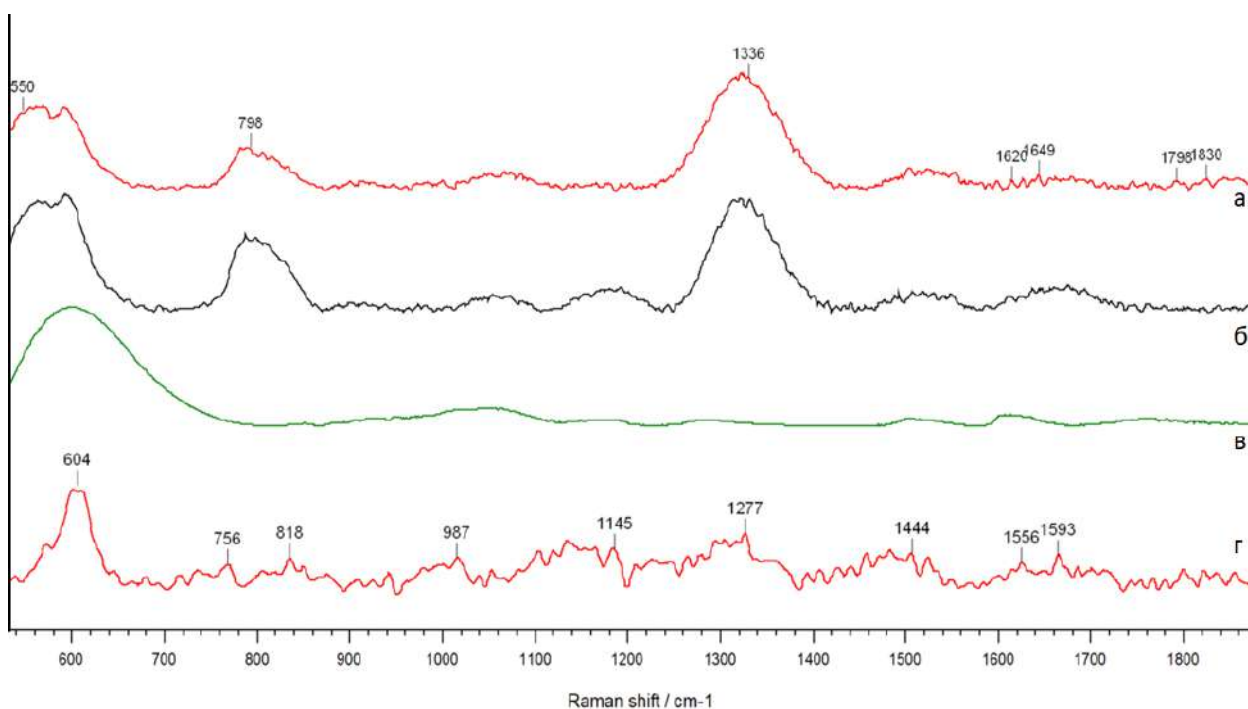


Рис. 4.9 Зміщені спектри результатів дослідження, а саме: спектри зі зразків сироватки крові хворих на а) міастенію і б) тимомасоційовану міастенію, та також в) здорових учасників дослідження, коли зразки нанесені на підложку з імпантованими наночастинками золота; г) спектри зі зразків сироватки крові хворих на міастенію, яка нанесена на підложку з кварцу без імпантованих наночастинок золота.

### 4.2.3. Обговорення експериментальних результатів

Підсилення комбінаційного розсіювання виникає внаслідок двофотонного процесу взаємодії енергії поля поляритону, лазерного випромінювання та коливальних симетричних мод у разі групи  $NO_2$ . Оцінку підсилення комбінаційного розсіювання можна провести в такий спосіб.

По-перше умова підсилення оптичних явищ спостерігаються для частот, на яких [205] виконується нерівність:

$$\varepsilon'(\omega) < 0 \text{ та } |\varepsilon'(\omega)| / \varepsilon''(\omega) > 1. \quad (4.15)$$

Мода в SERS сильно підсилюється, якщо її компонента поляризації  $\vec{\mu}$  перпендикулярна до поверхні пластини. Отже, інтенсивності кільцевих мод молекулярної радикальної групи молекули сильно залежать від орієнтації по відношенню до поверхні наноструктури. Моды коливань радикальної групи, які мають компоненти поляризованості вздовж усіх осей  $x, y$  та  $z$ , завжди підсилюватимуться незалежно від їх орієнтації відносно поверхні наночастинки. Інші моди, які мають компонент поляризованості, переважно орієнтований у площині металевих гранул, матимуть максимальний підсилення. Це пов'язано з резонансним підсиленням локального поля поблизу металевих гранул  $E_L$  на частоті падаючого випромінювання  $\omega_0$ . Коливання диполів групи молекул на стоксовій частоті  $\omega_s$ , збуджені локальним полем оптичних плівок, у свою чергу збуджуються кулонівським полем колективної моди електронних коливань плазми електронів у гранулі, підсилюють випромінювання молекулярних груп-диполів.

Комбінаційне розсіювання підсилюється за рахунок двофотонного процесу взаємодії енергії поляритонного поля, лазерного випромінювання та коливальних симетричних мод у випадку групи  $NO_2$ . Підсилення комбінаційного розсіювання можна оцінити таким чином [206]:

$$\begin{aligned} P_{SERS} &= G_{SERS} P_{Raman} = G_{SERS}^{Em} G_{SERS}^{Chem} R_{Raman} \\ &= G_{SERS}^{Em} G_{SERS}^{Chem} N \alpha_R(\omega_R, \omega_L) E(\omega_L), \end{aligned} \quad (4.16)$$

де  $G_{\text{SERS}}$  – коефіцієнт, що враховує підсилення, викликане підкладкою, яка складається з двох коефіцієнтів  $G_{\text{SERS}}^{\text{Em}}$  – електромагнітного і хімічного  $G_{\text{SERS}}^{\text{Chem}}$

Описуючи коефіцієнти підсилення, які отримано:

$$P_{\text{SERS}} = \frac{\omega_R^4}{32\pi\epsilon_0 c^3} \frac{|E_{\text{LOC}}(\omega_L)|^2}{|E(\omega_L)|^2} \frac{|E_{\text{LOC}}(\omega_R)|^2}{|E(\omega_R)|^2} N |\alpha_R(\omega_R, \omega_L) E(\omega_L)|^2 \frac{\sigma_k^{\text{das}}}{\sigma_k^{\text{free}}}. \quad (4.17)$$

Ефективний переріз комбінаційного розсіювання молекули розташованої на підложці (рис. 4.10) може бути описано рівнянням [207]:

$$\sigma_\alpha(r, \omega) = \frac{16\pi^2 \omega_{fi}}{cE_0^2} |\langle f | H(r, \omega) | i \rangle|^2 \times \delta[h(\omega - \omega_{fi})] \sim \sigma_\alpha^{(0)} \left| 3 \frac{\epsilon'(\omega)}{\epsilon''(\omega)} \right|^2 |h(r)|^2, \quad (4.18)$$

де  $\sigma_\alpha^{(0)}$  - переріз вільних молекул без металу,  $i \rightarrow f$  – оптичний перехід зі стану  $i$  в  $f$ ,  $\langle f | H(r, \omega) | i \rangle$  - матричний гамільтоніан взаємодії молекули з полем,  $h(r)$  коефіцієнт підсилення дипольного моменту адсорбованої молекули. Тоді:

$$P_{\text{SERS}} = \frac{\omega_R^4}{12\pi\epsilon_0 c^3} \frac{|E_{\text{LOC}}(\omega_L)|^2}{|E(\omega_L)|^2} \frac{|E_{\text{LOC}}(\omega_R)|^2}{|E(\omega_R)|^2} \times N |\alpha_R(\omega_R, \omega_L) E(\omega_L)|^2 \left| 3 \frac{\epsilon'(\omega)}{\epsilon''(\omega)} \right|^2 |h(r)|^2. \quad (4.20)$$

Що стосується  $Au$  [40]  $|\epsilon'(\omega)|/\epsilon''(\omega) \approx 10^3$ , що значно більше ніж в інших благородних металів. Саме цей факт визначає вибір золота як основи наночастинок для підсилення комбінаційного розсіювання біомолекулами як показано на рис. 4.10.

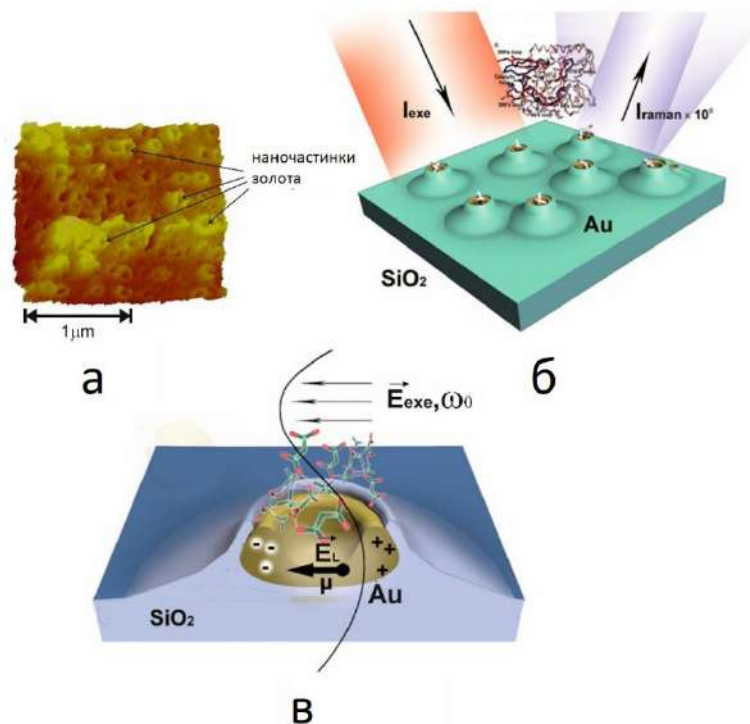


Рис. 4.10 Підсилення комбінаційного розсіювання наночастинками золота, імпантованими в приповерхневий шар плавненого кварцу. а) АСМ поверхневі  $SiO_2$  краплі наночастинки  $Au$  б) Загальна схема комбінаційного підсилення металевими частинками та їх взаємодія з групою  $NO_2$  в) Молекулярні групи в полі металевих гранул імпантованих у кварц.

Таким чином, якщо відстань між молекулярною групою та гранулами металу становить менше 10 нм [12], то можна говорити про додаткову складову енергії поляритону в комбінаційному розсіюванні молекулярної групи, тобто має місце система зв'язаних осциляторів.

З іншого боку, відомо [202], що в гранулах напруженість електричного поля спрямована перпендикулярно кривизні металевої поверхні. Таким чином, моди коливання молекулярних груп підкладки, що лежать у площині, будуть відчувати максимальне підсилення. Такими модами є симетричне розтягнення або вигини молекулярних груп.

В отриманому спектрі чітко видно два піки симетричного нітророзтягнення при  $1336\text{ см}^{-1}$ , моду нітровигину при  $798\text{ см}^{-1}$ , яка зміщена за рахунок осцилювання [208] з підкладкою. У роботі [97]

використовувалася раманівська репортерна молекула (PPM) 5-5'-дітіобісу (сукцинімідил-2-нітробензоату), і автори керувалися визначенням висоти піку симетричного нітророзтягування при  $1336 \text{ см}^{-1}$  для 5-5'-дітіобісу (сукцинімідил-2-нітробензоату), PPM, моду нітровигину при  $848 \text{ см}^{-1}$ , також моди розтягування ароматичного кільця при  $1556$  та  $1068 \text{ см}^{-1}$  [209] для кількісного визначення зв'язаного антигену. У моделі [97] так само враховано, що використання моноклональних антитіл, поруч із поліклональними дає найвище значення співвідношенні сигнал / холостий сигнал.

З літератури відомо, що моноклональні антитіла людини ефективно нейтралізують кілька серототипів VoNT [210 - 212], тим самим повторюючи процес зв'язування антигену, а діоксид азоту продукується та бере участь у безлічі біологічних реакцій [213, 214] у тому числі патологічних [215, 216] тому можливо його реєструвати з урахуванням часу його життя та вищого рівня рН [217] сироватки крові, яке спостерігається у міастенічних хворих.

Розглядаючи раманівський спектри, значення має як наявність піку так і його положення, так як тензор поляризованості молекули залежить від того, до складу якого розчину або речовини входить компонент, що реєструється. Саме тому зроблено висновок про те, що порівняльний аналіз, проведений при використанні спектральної бази даних WiRE 5.6 Раман-спектрів, отриманих у ході запропонованого дослідження з Раман-спектрами з літератури [97], може свідчити про ймовірну реєстрацію спектрів присутності VoNT А у зразках даного дослідження, де група  $NO_2$  не входить до складу молекули з модою розтягування ароматичного кільця або дана мода збуджується зі зсувом  $\Delta\nu=1 \text{ см}^{-1}$  і  $\Delta\nu=3 \text{ см}^{-1}$  відповідно. Дане зміщення не значне через різницю енергії витраченої на зміну тензора поляризованості складових компонентів спектру, і для того щоб викликати поляризованість ароматичного кільця потрібна більша локалізація поля.

Також в аналізованому серединному спектрі менш виражені піки  $1620$  (нітровикривна мода  $NH_2$ ) і  $1649 \text{ см}^{-1}$  (мода  $C = C$  розтягування), дані піки в літературі реєструють VoNT за міткою при використанні методу SERS, де для



формування мітки брали участь поліклональні антитіла тварин [98], які у разі вимірювання сигналу у людини дають менше значення співвідношення сигнал/холостий сигнал [97].

Проведення аналізу з еталонного спектру компонента, під час створення раманівського зображення з допомогою методу невід'ємних найменших квадратів, не міг бути показовим, оскільки низька концентрація аналіту не дозволить його детектувати у мапі зразка. Але проведення ІЧ та Раман-спектроскопії, при яких буде змодельовані процеси зараження ВоNT А, при його контрольованих залишкових концентраціях на запропонованих підкладках нівелювали б обмеженість представлених результатів. Також виходячи з літературних даних для визначення приналежності групи  $NO_2$ , у майбутніх дослідженнях на різних стадіях захворювання на міастенію важливо проводити контроль аскорбінової та сечової кислот, тіолових груп білка, та запасів альфа-токоферолу, білірубину та убіхінолу-10 [218]. Також можливий контроль субпопуляцій Т-клітин [219] та лімфоцитів [220] для перевірки гіпотези механізму розвитку імунної відповіді, висунутої в розділі 1.5.

#### **Висновки до розділу 4**

1. Вперше представлено квантово-механічний підхід до розрахунку діелектричної проникності, в якому золоте правило Фермі можна застосувати, якщо розглядати молекулу як складну квантово-механічну систему.

2. Важливо враховувати властивості розчинника в подібних методах розрахунку адже діелектрична проникність є оптичною характеристикою всього об'єму.

3. Вперше показана ефективність використання комбінаційного розсіювання для визначення низьких концентрацій хімічних груп, що свідчать про можливу присутність ВоNT А. Складність структури токсинів для раманівської спектроскопії є важливим показником, оскільки її можна визначити з кількох смуг, що підвищує достовірність. Використання сферичних частинок дозволяє реалізувати сигнал від різних поляризацій.

4. Вперше показано, що локальне поле від металевих наночастинок золота підсилює комбінаційне розсіювання молекулярних груп у сироватці крові хворих на міастенію. Вперше встановлено, що кров хворих на міастенію відображає спектр, що відповідає спектру присутності ВоNT А в сироватці крові.

## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі представлені спектрофотометричні дослідження двошарових зернистих плівок алюмінію та срібла, роз'єднаних шарами  $ZnS$ . Багатошаровість була виконана шляхом застосування двоетапного осадження  $Al$  і  $Ag$ , які були розділені тонкою плівкою  $ZnS$ . Досліджено диполь-дипольну взаємодію між багатошаровим сендвічем оптичних тонких плівок, а також ідентифіковано смуги поглинання оптичного випромінювання на різних етапах процедури осадження. Плазмова частота:  $Al$  була визначена за положенням максимуму високочастотної смуги двошарового зразка на основі гранульованої плівки  $Al$ , укладеної між шарами  $ZnS$ .

Також у роботі досліджено оптичні властивості наноструктур, що містять наночастинки золота різного радіусу. Досліджено радіус частинки як критерій для вибору моделі діелектричної проникності, спрямованої на опис спектрів оптичного поглинання гранул золота. Експерименти показали розщеплення смуги поглинання гранульованих плівок золота з утворенням другого піку поглинання. Перший пік пов'язаний з явищем плазмонного резонансу, а другий відображає квантову гібридизацію енергетичних рівнів у золоті. Було показано, що квантові ефекти переважають над розмірними при діаметрі гранул приблизно 5 – 6 нм. Теорія Мі дає строгий розв'язок для розсіяного електромагнітного поля на сфері з урахуванням оптичних властивостей останньої, однак не визначає критеріїв вибору моделі для розрахунку діелектричної проникності. І розрахунки, і експерименти підтвердили граничний діаметр наночастинок золота, де застосована модель Хампешклярєвського. Тим часом ця модель все ще не могла передбачити розщеплення смуги поглинання. Наведені в статті дані можуть бути використані для заданого локального підсилення поля в композитних середовищах, що складаються з біошару та металевих наночастинок. Проведені дослідження дозволяють глибше зрозуміти вплив локалізованого в просторі електромагнітного поля високої інтенсивності терагерцового діапазону на квантові точки.

Наступним етапом роботи було розробка методу розрахунку діелектричної проникності як феноменологічної характеристики зразка. Ці алгоритми повинні бути перевірені на добре вивчених молекулах, щоб надалі застосовуватися до більш складних нелінійних структур. Однак інтегральні зміни хвильових функцій великих молекул необхідно апроксимувати. Вивчення оптичних властивостей великих органічних молекул вимагає не тільки експериментальних даних, а й використання розрахунків, отриманих як аналітичним, так і чисельним шляхом.

Чисельне моделювання в MATLAB було проведено для порівняння з даними Gaussian 09, які є точними для таких не великих молекул, як Родамін 6G. У MATLAB було розраховано значення діелектричної проникності для частотних областей, що відповідають поглинанню та флуоресценції, на основі золотого правила Фермі. Отже, будь-яку молекулу можна представити як складну квантово-механічну систему. У Gaussian 09 був використане DFT для визначення діелектричної проникності.

Золоте правило Фермі можна застосувати завдяки представленню молекули як складної квантово-механічної системи. Запропоновані чисельні методи мінімізують похибку за допомогою дельта-функції Дірака. Згідно з нашою гіпотезою, сума хвильових функцій частинки в потенційній ямі та частинки в кільці дорівнює хвильовій функції всієї системи, що дає можливість досліджувати великі молекули.

Порівняння результатів показує високий ступінь відповідності між наборами даних. Отже, гіпотеза та вибір методу були вірними. Підсилення люмінесценції можна досягти зміною часу релаксації збудженого стану. Плазмонні наноструктури із заздалегідь визначеними властивостями можуть керовано підсилювати результуюче поле на квадрат модуля суперпозиції їх ближнього поля. Отже, умови для висококогерентного випромінювання з високою інтенсивністю та поляризацією можна передбачити та розрахувати до експериментів.

Сучасна медицина спрямована на діагностику захворювань на ранніх стадіях, що є актуальним завданням медичних біодосліджень. Тому на останньому експериментальному етапі роботи були використані виготовлені підложки для дослідження біологічних зразків. В останньому розділі дослідження розглядається міастенія – розповсюджене захворювання, має складну симптоматику та важко піддається лікуванню. Саме рання діагностика дозволяє надати грамотну медичну допомогу, а іноді й вилікувати хворого.

Щоб виявити причину захворювання, за допомогою спектроскопії комбінаційного розсіювання досліджували зразки сироватки крові, покриті кварцовим склом із імплантованими золотими кластерами. Раманівський переріз був підсилений наночастинками золота, що дозволило виявити спектри присутності VoNT A в сироватці крові пацієнтів, які страждають на міастенію.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Cheng, Chang-Wei, and Shangjr Gwo. "Fundamentals of plasmonic materials." *Plasmonic Materials and Metastructures*. Elsevier, 2024. 3-33.
2. Palik, Edward D., ed. *Handbook of optical constants of solids*. Vol. 3. Academic press, 1998.]
3. Born, Max, and Emil Wolf. *Principles of optics: electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*. Elsevier, 2013.
4. Hövel, H., et al. "Width of cluster plasmon resonances: bulk dielectric functions and chemical interface damping." *Physical Review B* 48.24 (1993): 18178.
5. Mirabella Jr, F. M. "Internal reflection spectroscopy." *Applied Spectroscopy Reviews* 21.1-2 (1985): 45-178.
6. Amendola, Vincenzo, et al. "Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review." *Journal of Physics: Condensed Matter* 29.20 (2017): 203002.
7. Kim, Seokheon, and Sangwoon Yoon. "On the Origin of the Plasmonic Properties of Gold Nanoparticles." *Bulletin of the Korean Chemical Society* 42.8 (2021): 1058-1065.
8. Miloslavsky, V. K., et al. "Optical properties of nanostructures." *Functional Materials* 15.3 (2008): 313.
9. Landau, Lev Davidovich, ed. *The classical theory of fields*. Vol. 2. Elsevier, 2013.
10. Von, D. A. G. "Bruggeman. Berechnung verschiedener physikalischer Konstanten von heterogenen Substanzen. I. Dielektrizitätskonstanten und Leitfähigkeiten der Mischkörper aus isotropen Substanzen." *Ann. Phys* 416 (1935): 636-664.
11. Bohren, Craig F., and Donald R. Huffman. *Absorption and scattering of light by small particles*. John Wiley & Sons, 2008.
12. Kreibig, Uwe, and Michael Vollmer. *Optical properties of metal clusters*. Vol. 25. Springer Science & Business Media, 2013.

13. Pérez, Angel Torres, and Mark Hadfield. "Low-cost oil quality sensor based on changes in complex permittivity." *Sensors* 11.11 (2011): 10675-10690.
14. Dieke, G. H. "Atomic and Molecular Spectroscopy." *Annual Review of Nuclear Science* 1.1 (1952): 363-410.
15. Zhao, Jing, et al. "Methods for describing the electromagnetic properties of silver and gold nanoparticles." *Accounts of chemical research* 41.12 (2008): 1710-1720.
16. Jennings, Travis, and Geoffrey Strouse. "Past, present, and future of gold nanoparticles." *Bio-Applications of Nanoparticles* (2007): 34-47.
17. Schuller, Jon A., et al. "Plasmonics for extreme light concentration and manipulation." *Nature materials* 9.3 (2010): 193-204.
18. Qian, Huifeng, et al. "Quantum sized gold nanoclusters with atomic precision." *Accounts of chemical research* 45.9 (2012): 1470-1479.
19. Olesiak-Banska, Joanna, et al. "Two-photon absorption and photoluminescence of colloidal gold nanoparticles and nanoclusters." *Chemical society reviews* 48.15 (2019): 4087-4117.
20. Ghosh, Sujit Kumar, and Tarasankar Pal. "Interparticle coupling effect on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles: from theory to applications." *Chemical reviews* 107.11 (2007): 4797-4862.
21. Fleischmann, Martin, Patrick J. Hendra, and A. James McQuillan. "Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode." *Chemical physics letters* 26.2 (1974): 163-166.
22. Allakhverdiev, Elvin S., et al. "Raman spectroscopy and its modifications applied to biological and medical research." *Cells* 11.3 (2022): 386.
23. He, Quan-Feng, et al. "Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: Principles, Methods, and Applications in Energy Systems." *Chinese Journal of Chemistry* 41.3 (2023): 355-369.
24. Ding, Song-Yuan, et al. "Electromagnetic theories of surface-enhanced Raman spectroscopy." *Chemical Society Reviews* 46.13 (2017): 4042-4076.

25. Han, Xiao Xia, et al. "Surface-enhanced Raman spectroscopy." *Nature Reviews Methods Primers* 1.1 (2021): 87.
26. Metten, Dominik. Probing the opto-electronic and mechanical properties of suspended graphene membranes by Raman spectroscopy. Diss. Strasbourg, 2016.
27. Graves, P. R. G. D. J., and D. Gardiner. "Practical raman spectroscopy." *Springer* 10 (1989): 978-3.
28. Demtröder, Wolfgang. "Spectroscopy with lasers." *Laser Spectroscopy Second, Enlarged Edition* (2005): 1-106.
29. Peierls, Rudolf Ernst. *Quantum theory of solids*. Oxford University Press, 1955.
30. Svelto, Orazio, and David C. Hanna. *Principles of lasers*. Vol. 1. New York: Springer, 2010.
31. Koningstein, Johannes Arnoldus. *Introduction to the Theory of the Raman Effect*. Springer Science & Business Media, 2012.
32. Kneipp, Katrin. "Surface-enhanced Raman scattering." *Physics Today* 60.11 (2007): 40-46.
33. Cialla-May, Dana, Michael Schmitt, and Jürgen Popp. "Theoretical principles of Raman spectroscopy." *Physical Sciences Reviews* 4.6 (2019): 20170040.
34. Emel'yanov, Vladimir I., and Nikolai I. Koroteev. "Giant Raman scattering of light by molecules adsorbed on the surface of a metal." *Soviet Physics Uspekhi* 24.10 (1981): 864.
35. Masango, Sicelo S., et al. "High-resolution distance dependence study of surface-enhanced Raman scattering enabled by atomic layer deposition." *Nano letters* 16.7 (2016): 4251-4259.
36. Limonov, Mikhail F., et al. "Fano resonances in photonics." *Nature Photonics* 11.9 (2017): 543-554.
37. Goodman, Joseph W. *Introduction to Fourier optics*. Roberts and Company publishers, 2005.



38. Chang, Richard K., and Bruce L. Laube. "Surface-enhanced Raman scattering and nonlinear optics applied to electrochemistry." *Critical Reviews in Solid State and Material Sciences* 12.1 (1984): 1-73.
39. Brennan, Jean, et al. "Focus on: Myasthenia gravis." *Nursing made Incredibly Easy* 16.2 (2018): 44-49.
40. Bubuioc AM, Kudebayeva A, Turuspekova S, Lisnic V, Leone MA. The epidemiology of myasthenia gravis. *J Med Life*. 2021 Jan-Mar;14(1):7-16.
41. Sheet, Myasthenia Gravis Fact. "National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS)." (2013).
42. Chen, Jingshan, et al. "Incidence, mortality, and economic burden of myasthenia gravis in China: a nationwide population-based study." *The Lancet Regional Health–Western Pacific* 5 (2020).
43. Westerberg, Elisabet, and Anna Rostedt Punga. "Mortality rates and causes of death in Swedish Myasthenia Gravis patients." *Neuromuscular Disorders* 30.10 (2020): 815-824.
44. Robertson, N. P., J. Deans, and D. A. S. Compston. "Myasthenia gravis: a population based epidemiological study in Cambridgeshire, England." *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 65.4 (1998): 492-496.
45. Kaminski, Henry J., and Linda L. Kusner, eds. *Myasthenia gravis and related disorders*. Humana press, 2018.
46. Dresser, Laura, et al. "Myasthenia gravis: epidemiology, pathophysiology and clinical manifestations." *Journal of clinical medicine* 10.11 (2021): 2235.
47. Statland, Jeffrey M., and Emma Ciafaloni. "Myasthenia gravis: Five new things." *Neurology: Clinical Practice* 3.2 (2013): 126-133.
48. Guidon, Amanda C., et al. "Telemedicine visits in myasthenia gravis: expert guidance and the myasthenia gravis Core exam (MG-CE)." *Muscle & nerve* 64.3 (2021): 270-276.

49. Schneider-Gold, Christiane, et al. "Understanding the burden of refractory myasthenia gravis." *Therapeutic advances in neurological disorders* 12 (2019): 1756286419832242.
50. Peeler, Crandall E., et al. "Clinical utility of acetylcholine receptor antibody testing in ocular myasthenia gravis." *JAMA neurology* 72.10 (2015): 1170-1174.
51. Angelini, Corrado. "Diagnosis and management of autoimmune myasthenia gravis." *Clinical drug investigation* 31 (2011): 1-14.
52. Sarrigiannis, Ptolemaios G., et al. "Single-fiber EMG with a concentric needle electrode: validation in myasthenia gravis." *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine* 33.1 (2006): 61-65.
53. Grob, David, et al. "The course of myasthenia gravis and therapies affecting outcome." *Annals of the New York Academy of Sciences* 505 (1987): 472-499.
54. Kozyolkin, O. A., I. V. Vizir, and M. V. Sikorskaya. "Neurology tests." (2019).
55. Stalberg, E. R. I. K. "Clinical electrophysiology in myasthenia gravis." *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 43.7 (1980): 622-633.
56. Plomp, Jaap J., et al. "Acetylcholine release in myasthenia gravis: regulation at single end-plate level." *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society* 37.5 (1995): 627-636.
57. Howard Jr, James F. "Myasthenia gravis: the role of complement at the neuromuscular junction." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1412.1 (2018): 113-128.
58. Al-Asmi, Abdullah, et al. "Misdiagnosis of myasthenia gravis and subsequent clinical implication: a case report and review of literature." *Sultan Qaboos University Medical Journal* 12.1 (2012): 103.

59. Menon, Deepak, et al. "Thymoma pathology and myasthenia gravis outcomes." *Muscle & Nerve* 63.6 (2021): 868-873.,
60. Tormoehlen, Laura M., and Robert M. Pascuzzi. "Thymoma, myasthenia gravis, and other paraneoplastic syndromes." *Hematology/oncology clinics of North America* 22.3 (2008): 509-526.
61. Fisman, Galit Kleiner, and H. Stephen Kott. "Myasthenia gravis mimicking stroke in elderly patients." *Mayo Clinic Proceedings*. Vol. 73. No. 11. Elsevier, 1998.
62. Kuiz, Ilan, Ronald Garb, and Arie Kuritzky. "Diagnosis of misdiagnosis: on some of the origins and functions of psychophysical misdiagnosis." *General hospital psychiatry* 5.3 (1983): 197-202.
63. Libman, Richard, Richard Benson, and Kenneth Einberg. "Myasthenia mimicking vertebrobasilar stroke." *Journal of neurology* 249 (2002): 1512-1514.
64. Rossetto, O., et al. "Botulinum neurotoxins: mechanism of action." *Botulinum Toxin Therapy* (2021): 35-47.
65. Peck, Michael W., et al. "Historical perspectives and guidelines for botulinum neurotoxin subtype nomenclature." *Toxins* 9.1 (2017): 38.
66. Doxey, Andrew C., Michael J. Mansfield, and Briallen Lobb. "Exploring the evolution of virulence factors through bioinformatic data mining." *Msystems* 4.3 (2019): 10-1128.
67. Farag, Sara M., et al. "Botulinum toxin A injection in treatment of upper limb spasticity in children with cerebral palsy: a systematic review of randomized controlled trials." *JBJS reviews* 8.3 (2020).
68. Yi, Kyu-Ho, et al. "Anatomical locations of the motor endplates of sartorius muscle for botulinum toxin injections in treatment of muscle spasticity." *Surgical and Radiologic Anatomy* 43 (2021): 2025-2030.
69. Aeran, Himanshu, et al. "An amelioration in the field of Botox." (2020).
70. Zanganeh, Kiana S., and Darrell Norman Burrell. "Wineries, Vineyards, Breweries, Cruise Ships, and Resorts Need a Chief Public Health

Officer." *Handbook of Research on Sustainability Challenges in the Wine Industry*. IGI Global, 2023. 339-359.

71. Rasetti-Escargueil, Christine, Emmanuel Lemichez, and Michel R. Popoff. "Human botulism in France, 1875–2016." *Toxins* 12.5 (2020): 338.

72. Rao, Agam K., et al. "Clinical guidelines for diagnosis and treatment of botulism, 2021." *MMWR Recommendations and Reports* 70.2 (2021): 1.

73. Antonucci, Luca, et al. "Infant botulism: an underestimated threat." *Infectious Diseases* 53.9 (2021): 647-660.

74. Palmer, Joseph S., et al. "A review of the abundance, behaviour and detection of clostridial pathogens in agricultural soils." *European journal of soil science* 70.4 (2019): 911-929.

75. Kuehn, Bridget. "Wound botulism outbreak." *JAMA* 321.6 (2019): 538-538.

76. "Protein Ontology Report – botA" (CLOBH) PR:P0DPI1 - [http://purl.obolibrary.org/obo/PR\\_P0DPI1](http://purl.obolibrary.org/obo/PR_P0DPI1) Reviewed 10.11.23

77. Gu, Shenyan, et al. "Botulinum neurotoxin is shielded by NTNHA in an interlocked complex." *Science* 335.6071 (2012): 977-981.

78. Rossetto, Ornella, Marco Pirazzini, and Cesare Montecucco. "Botulinum neurotoxins: genetic, structural and mechanistic insights." *Nature Reviews Microbiology* 12.8 (2014): 535-549.

79. Zhang, Yanfeng, and Susan M. Varnum. "The receptor binding domain of botulinum neurotoxin serotype C binds phosphoinositides." *Biochimie* 94.3 (2012): 920-923.

80. Rummel, Andreas. "The long journey of botulinum neurotoxins into the synapse." *Toxicon* 107 (2015): 9-24.

81. Blasi, Juan, et al. "Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25." *Nature* 365.6442 (1993): 160-163.

82. National Center for Biotechnology Information (2023) "PubChem Protein Summary for Protein P0DPI1, Botulinum neurotoxin type A (Clostridium

- botulinum A str. Hall)" <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/protein/P0DPI1>.  
Reviewed 10.11.23
83. Poulain, Bernard, and Michel R. Popoff. "Why are botulinum neurotoxin-producing bacteria so diverse and botulinum neurotoxins so toxic?." *Toxins* 11.1 (2019): 34.
  84. Lin, Lucy, et al. "Strategies to counteract botulinum neurotoxin A: nature's deadliest biomolecule." *Accounts of chemical research* 52.8 (2019): 2322-2331.
  85. Centurioni, Dominick A., Christina T. Egan, and Michael J. Perry. "Current developments in diagnostic assays for laboratory confirmation and investigation of botulism." *Journal of Clinical Microbiology* 60.4 (2022): e00139-20.
  86. Čapek, Petr, and Tobin J. Dickerson. "Sensing the deadliest toxin: technologies for botulinum neurotoxin detection." *Toxins* 2.1 (2010): 24-53.
  87. Division of Select Agents and Toxins. 2021. "Select agents and toxins list" <https://www.selectagents.gov/sat/list.htm> Reviewed 10.11.23
  88. Bak, Nicola, et al. "SiMa cells for a serotype specific and sensitive cell-based neutralization test for botulinum toxin A and E." *Toxins* 9.7 (2017): 230.
  89. Pellett, Sabine, et al. "Comparison of the primary rat spinal cord cell (RSC) assay and the mouse bioassay for botulinum neurotoxin type A potency determination." *Journal of pharmacological and toxicological methods* 61.3 (2010): 304-310.
  90. Perry, Michael J., et al. "Implementing the Bruker MALDI biotyper in the public health laboratory for C. botulinum neurotoxin detection." *Toxins* 9.3 (2017): 94.
  91. Kalb, Suzanne R., et al. "Detection of botulinum toxins A, B, E, and F in foods by Endopep-MS." *Journal of agricultural and food chemistry* 63.4 (2015): 1133-1141.

92. Williamson, Charles HD, et al. "Differentiating botulinum neurotoxin-producing clostridia with a simple, multiplex PCR assay." *Applied and environmental microbiology* 83.18 (2017): e00806-17.
93. Halpin, Jessica L., et al. "Pulsotype diversity of Clostridium botulinum strains containing serotypes a and/or B genes." *Foodborne pathogens and disease* 14.9 (2017): 494-501.
94. Rosen, Hilary E., et al. "Foodborne botulism outbreak associated with commercial nacho cheese sauce from a gas station market." *Clinical Infectious Diseases* 70.8 (2020): 1695-1700.
95. Wang, Yun, et al. "A quantum dot nanobiosensor for rapid detection of botulinum neurotoxin serotype E." *ACS sensors* 5.7 (2020): 2118-2127.
96. Patel, Kruti, et al. "A novel surface plasmon resonance biosensor for the rapid detection of botulinum neurotoxins." *Biosensors* 7.3 (2017): 32.
97. Lim, China Y., Jennifer H. Granger, and Marc D. Porter. "SERS detection of Clostridium botulinum neurotoxin serotypes A and B in buffer and serum: Towards the development of a biodefense test platform." *Analytica Chimica Acta: X* 1 (2019): 100002.
98. Kim, Kihyun, et al. "SERS-based immunoassays for the detection of botulinum toxins A and B using magnetic beads." *Sensors* 19.19 (2019): 4081.
99. Jia, Xiaofei, et al. "Highly sensitive detection of three protein toxins via SERS-lateral flow immunoassay based on SiO<sub>2</sub>@ Au nanoparticles." *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 41 (2022): 102522.
100. Verschuuren, Jan JGM, et al. "Pathophysiology of myasthenia gravis with antibodies to the acetylcholine receptor, muscle-specific kinase and low-density lipoprotein receptor-related protein 4." *Autoimmunity reviews* 12.9 (2013): 918-923.
101. Thanvi, B. R., and T. C. N. Lo. "Update on myasthenia gravis." *Postgraduate medical journal* 80.950 (2004): 690-700.

102. Shutterstock “Stock images, photos, vectors” ID 410954139  
<https://www.shutterstock.com/ru/account/profile> Purchased 6.11.2023
103. Souan, M. L., et al. "Detection of anti-acetylcholine antibodies in myasthenic patients." *Neuroscience letters* 64.1 (1986): 23-28.
104. Maurer, Marie, et al. "IL-6 and Akt are involved in muscular pathogenesis in myasthenia gravis." *Acta Neuropathologica Communications* 3.1 (2015): 1-14.
105. Aricha, Revital, et al. "Blocking of IL-6 suppresses experimental autoimmune myasthenia gravis." *Journal of autoimmunity* 36.2 (2011): 135-141.
106. Di Bella, Stefano, et al. "The protective role of albumin in Clostridium difficile infection: a step toward solving the puzzle." *infection control & hospital epidemiology* 36.12 (2015): 1478-1480.
107. Zychowska, Magdalena, et al. "Participation of pro-and anti-nociceptive interleukins in botulinum toxin A-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain." *European journal of pharmacology* 791 (2016): 377-388.
108. Hung, Alice L., Michael Lim, and Tina L. Doshi. "Targeting cytokines for treatment of neuropathic pain." *Scandinavian journal of pain* 17.1 (2017): 287-293.
109. Punga, Anna Rostedt, and Maarika Liik. "Botulinum toxin injections associated with suspected myasthenia gravis: An underappreciated cause of MG-like clinical presentation." *Clinical Neurophysiology Practice* 5 (2020): 46-49.
110. Lee, Jae-Chul, et al. "Production of anti-neurotoxin antibody is enhanced by two subcomponents, HA1 and HA3b, of Clostridium botulinum type B 16S toxin–haemagglutinin." *Microbiology* 151.11 (2005): 3739-3747..
111. Seo, Min-Soo, et al. "Comparison study of the response with botulinum toxin muscle injection in the ICR mice from three different sources." *Laboratory Animal Research* 35.1 (2019): 1-8.
112. Nguyen-Cao, Tam M., et al. "Myasthenia gravis: historical achievements and the “golden age” of clinical trials." *Journal of the neurological sciences* 406 (2019): 116428.

113. Simpson, Lance L., and Hiromi Morimoto. "Failure to inhibit in vitro or in vivo acetylcholinesterase with botulinum toxin type A." *Journal of Bacteriology* 97.2 (1969): 571-575.
114. Marshall, R., and L. Y. Quinn. "In vitro acetylcholinesterase inhibition by type A botulinum toxin." *Journal of Bacteriology* 94.4 (1967): 812-814..
115. Hart, Lo G., et al. "Studies using Clostridium botulinum toxin—Type A." *Toxicology and Applied Pharmacology* 7.1 (1965): 84-89.
116. Seshan, Krishna, ed. *Handbook of thin film deposition*. William Andrew, 2012.
117. Malitson, Ian H. "Interspecimen comparison of the refractive index of fused silica." *Josa* 55.10 (1965): 1205-1209.
118. Seshan, Krishna, ed. *Handbook of thin film deposition*. William Andrew, 2012.
119. Ageev, L. A., et al. "Thermostimulated implantation of nanoscaled Ag particles into a quartz glass using a CO<sub>2</sub> laser beam." *Functional Materials* (2007).
120. Houle, Jennifer E., and Dennis M. Sullivan. *Electromagnetic simulation using the FDTD method with Python*. John Wiley & Sons, 2020.
121. McCoy, Dakota E., et al. "Finite-difference time-domain (FDTD) optical simulations: a primer for the life sciences and bio-inspired engineering." *Micron* 151 (2021): 103160.
122. McCoy, Dakota E., et al. "Finite-difference time-domain (FDTD) optical simulations: a primer for the life sciences and bio-inspired engineering." *Micron* 151 (2021): 103160.
123. Sullivan, Dennis M. *Electromagnetic simulation using the FDTD method*. John Wiley & Sons, 2013.
124. Hagness, Susan C., Allen Taflove, and Stephen D. Gedney. "Finite-difference time-domain methods." *Handbook of numerical analysis* 13 (2005): 199-315.
125. Gedney, Stephen. *Introduction to the finite-difference time-domain (FDTD) method for electromagnetics*. Springer Nature, 2022.



126. Yee, Kane. "Numerical solution of initial boundary value problems involving Maxwell's equations in isotropic media." *IEEE Transactions on antennas and propagation* 14.3 (1966): 302-307.
127. Ansys Innovation Space "Ansys Lumerical FDTD — FDTD Algorithm" <https://courses.ansys.com/index.php/courses/lumerical-fdtd-fdtd-algorithm/> Reviewed 10.11.23
128. Courant, Richard, Kurt Friedrichs, and Hans Lewy. "Über die partiellen Differenzengleichungen der mathematischen Physik." *Mathematische annalen* 100.1 (1928): 32-74.
129. Renishaw Plc "Raman software |WiRE™ software" <https://www.renishaw.com/en/raman-software--9450> Reviewed 10.11.23
130. Sheehy, Guillaume, et al. "Open-sourced Raman spectroscopy data processing package implementing a baseline removal algorithm validated from multiple datasets acquired in human tissue and biofluids." *Journal of Biomedical Optics* 28.2 (2023): 025002-025002.
131. Press, William H., and Saul A. Teukolsky. "Savitzky-Golay smoothing filters." *Computers in Physics* 4.6 (1990): 669-672.
132. Debenham, Mary. "Refractive indices of zinc sulfide in the 0.405–13- $\mu\text{m}$  wavelength range." *Applied optics* 23.14 (1984): 2238-2239.
133. Shklyarevskii, I. N., N. A. Makarovskii, and A. P. Silka. "Nature of the high-frequency plasma resonance band of granular silver films deposited onto a zinc sulfide sublayer." *Optics and Spectroscopy* 68.4 (1990): 531-533. (in Russian)
134. Klein, Claude A. "Room-temperature dispersion equations for cubic zinc sulfide." *Applied optics* 25.12 (1986): 1873-1875.
135. Adachi, Sadao. *Handbook On Optical Constants Of Metals, The: In Tables And Figures*. World Scientific, 2012.
136. Bennett, Charles A. *Principles of physical optics*. John Wiley & Sons, 2022.
137. Landau, Lev Davidovich, and Evgenii Mikhailovich Lifshitz. *Course of theoretical physics*. Elsevier, 2013.

138. Nic, Miroslav, et al. *IUPAC compendium of chemical terminology-the gold book*. International Union of Pure and Applied Chemistry, 2005.
139. Saidi, Abir, et al. "Analytical and Numerical Approaches for Light Scattering by Nanostructured Materials." (2023).
140. Hulst, Hendrik Christoffel, and Hendrik C. van de Hulst. *Light scattering by small particles*. Courier Corporation, 1981.
141. Gross, Rudolf, and Achim Marx. *Festkörperphysik*. Oldenbourg Wissenschaftsverlag Verlag, 2012.
142. Snoke, David W. *Solid state physics: Essential concepts*. Cambridge University Press, 2020.
143. Tao, Longbiao, et al. "Experimental investigation of the dielectric constants of thin noble metallic films using a surface plasmon resonance sensor." *Sensors* 20.5 (2020): 1505.
144. Maxwell-Garnett, J. Cl. "XII. Colours in metal glasses and in metallic films." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical or Physical Character* 203.359-371 (1904): 385-420.
145. Ruppin, R. "Evaluation of extended Maxwell-Garnett theories." *Optics communications* 182.4-6 (2000): 273-279.
146. Liu, Niutao, and Ya-Qiu Jin. "A discussion on the effective permittivity of multi-component medium derived by Maxwell–Garnett, strong fluctuation and quasicrystalline-CP modeling." *Waves in Random and Complex Media* 31.6 (2021): 1921-1930.
147. Dobierzewska-Mozrzymas, E. "Optical Anomalies of Metallic Island Films." *Opt. Appl.* 15.2 (1985): 187-200.
148. Krasavin, Alexey V. "A brief review on optical properties of planar metallic interfaces and films: from classical view to quantum description." *Journal of Physics: Photonics* 3.4 (2021): 042006.

149. Cottancin, E., et al. "Optical properties of noble metal clusters as a function of the size: comparison between experiments and a semi-quantal theory." *Theoretical Chemistry Accounts* 116.4-5 (2006): 514-523.
150. Hampe, Wilfried. "Beitrag zur Deutung der anomalen optischen Eigenschaften feinstteiliger Metallkolloide in großer Konzentration: Teil II: Experimentelle Ermittlung der Absorptionskurve und Deutung des Absorptionsmechanismus des Systemes Gold-SiO<sub>2</sub>." *Zeitschrift für Physik* 152 (1958): 476-494.
151. Shklyarevskii, I. N., and T. I. Korneeva. "OPTICAL CONSTANTS OF SILVER THIN FILMS." *Optics and Spectroscopy* 31 (1971): 144.
152. Shklyarevskii, I. N., Yu Yu Bondarenko, and N. A. Makarovskii. "Plasma resonance in granular gallium films deposited on rough NaCl and KCl single-crystal surfaces." *Optics and Spectroscopy* 88 (2000): 547-550.
153. Ehrenreich, H. R. P. H., and H. R. Philipp. "Optical properties of Ag and Cu." *Physical Review* 128.4 (1962): 1622.
154. Miloslavskii, V. K., I. N. Shklyarevskii, and R. G. Yarovaya. "EFFECT OF INTERBAND-TRANSITIONS ON LOW-FREQUENCY PLASMA RESONANCE IN SMALL METAL SPHERES." *OPTIKA I SPEKTROKOPIYA* 46.2 (1979): 303-309. (in Russian)
155. Zheng, Yu, et al. "Optical properties of colloidal gold nanoparticles implemented into a subsurface layer of fused silica." *Ukrainian journal of physical optics* 18, № 2 (2017): 102-108.
156. Adachi, Sadao. *Handbook On Optical Constants Of Metals, The: In Tables And Figures*. World Scientific, 2012.
157. Ashcroft, Neil W., and N. D. Mermin. "Solid state." *Physics (New York: Holt, Rinehart and Winston) Appendix C* (1976).
158. Galsin, Joginder Singh. *Solid state physics: An introduction to theory*. Academic Press, 2019.
159. Schiller, Robert, and Ákos Horváth. "Specific heat of metals and standard electrode potentials." *AIP Advances* 12.5 (2022).

160. Ziman, John M. "Electrons in metals: A short guide to the fermi surface." *Contemporary Physics* 4.2 (1962): 81-99. [26] A. Cirri, *Surface Chemical Control over the Valence Electronic Structure of Gold Nanoparticles*. (The Pennsylvania State University, 2016).
161. Cirri, Anthony. *Surface Chemical Control over the Valence Electronic Structure of Gold Nanoparticles*. The Pennsylvania State University, 2016.
162. Kolwas, Krystyna, and Anastasiya Derkachova. "Impact of the interband transitions in gold and silver on the dynamics of propagating and localized surface plasmons." *Nanomaterials* 10.7 (2020): 1411.
163. Ashcroft, Neil W., and N. David Mermin. *Solid state physics*. Cengage Learning, 2022.
164. Wang, Lu, Morteza Hasanzadeh Kafshgari, and Michel Meunier. "Optical properties and applications of plasmonic-metal nanoparticles." *Advanced Functional Materials* 30.51 (2020): 2005400.
165. Wan, Jian, et al. "Resonance light absorption of granular aluminium and silver films placed on a rough sublayer of multilayered ZnS." *Ukrainian journal of physical optics* 20, № 1 (2019): 10-15.
166. Kupriianov, Anton S., et al. "Experimental observation of diffractive retroreflection from a dielectric metasurface." *Journal of Applied Physics* 133.16 (2023).
167. Sayanskiy, Andrey, et al. "Controlling high-Q trapped modes in polarization-insensitive all-dielectric metasurfaces." *Physical Review B* 99.8 (2019): 085306.
168. Larkin, Peter. *Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*. Elsevier, 2017.
169. Wandinger U. Raman Lidar. In *Lidar. Range-Resolved Optical Remote Sensing of the Atmosphere*. p. 241-271 (2005), Springer, New York, NY.
170. Long D. A. *The Raman Effect: A Unified Treatment of the Theory of Raman Scattering by Molecules*. (2002).

171. Placzek G. A translation of: Rayleigh-Streuung und Raman Effekt. Handbuch der Radiologie Heft 6, Teil 2, 209-374 (1934).
172. HITRANonline line-by-line search “Wavenumber / Wavelength Range” <https://hitran.org/lbl/3?21=on&22=on&23=on&24=on&25=on> Reviewed 10.11.23
173. National Institute of Standards and Technology “Nitrogen dioxide” <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=B4000062&Units=SI> Reviewed 10.11.23
174. Vijayakumar, S., and P. Kolandaivel. "Study of static dipole polarizabilities, dipole moments, and chemical hardness for linear CH<sub>3</sub>–(CC) n–X (X= H, F, Cl, Br, and NO<sub>2</sub> and n= 1–4) molecules." *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 770.1-3 (2006): 23-30.
175. Golubev, V. G., et al. "Raman scattering spectra and electrical conductivity of thin silicon films with a mixed amorphous-nanocrystalline phase composition: Determination of the nanocrystalline volume fraction." *Physics of the Solid State* 39 (1997): 1197-1201.
176. Bäcker, H. “Fabian, J., Hartmann, H. “Light Absorption of Organic Colorants-Theoretical Treatment and Empirical Rules”. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag. 1980. (Reactivity and Structure - Concepts in Organic Chemistry 12) Leinen, 148,80 DM.” *Journal Für Praktische Chemie* 324.2 (1982): 350–51.
177. Berger R. “Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics.” *Choice Reviews Online*, 41.07 (2004): 41–405641–4056.
178. Lowe, John P., and Kirk Peterson. *Quantum chemistry*. Elsevier, 2011.
179. Jackson, John David. "Classical electrodynamics." (1999): 841-842.
180. Landau, Lev Davidovich, Evgeniĭ Mikhaĭlovich Lifshits, and Lev Petrovich Pitaevskii. *Electrodynamics of Continuous Media: Landau and Lifshitz Course of Theoretical Physics*. Pergamon, 1984.

181. Atkins, Peter W., and Ronald S. Friedman. *Molecular quantum mechanics*. Oxford university press, 2011.
182. Yamanouchi, Kaoru. "Quantum mechanics of molecular structures." (2012).
183. Ronda, Cornelis R., ed. *Luminescence: from theory to applications*. John Wiley & Sons, 2007.
184. Adler, Stephen L. "Quantum theory of the dielectric constant in real solids." *Physical Review* 126.2 (1962): 413.
185. Chelikowsky, James R. *Introductory quantum mechanics with MATLAB: for atoms, molecules, clusters, and nanocrystals*. John Wiley & Sons, 2019.
186. Frisch, M.J., Trucks, G.W., et al. "Gaussian 09, Revision D. 01" Gaussian, Inc., Wallingford CT <http://www.gaussian.com> Reviewed 10.11.23
187. Hofmann, Philip. *Solid state physics: an introduction*. John Wiley & Sons, 2022.
188. Shimomura, Osamu. *Bioluminescence: chemical principles and methods*. World Scientific, 2012.
189. Konishi, Kenichi, and Giampiero Paffuti. *Quantum mechanics: a new introduction*. OUP Oxford, 2009.
190. Demtröder, Wolfgang. *Laser spectroscopy: vol. 2: experimental techniques*. Vol. 2. Springer Science & Business Media, 2008.
191. Ageev, L.A., et al. "Educational experiments and demonstrations in optics." *Kharkiv: KhNU* (2000): 176–178 (In Russian).
192. Ejuh, G. W., et al. "Prediction of electronic structure, dielectric and thermodynamical properties of flurbiprofen by density functional theory calculation." *Karbala International Journal of Modern Science* 4.1 (2018): 12-20.
193. Tang, Z., et al. "Feasibility of Predicting Static Dielectric Constants of Polymer Materials: A Density Functional Theory Method. *Polymers* 2021, 13, 284." (2021).

194. Sooraj, Bhuvanachandran Nair Sreekala, and Thalappil Pradeep. "Optical properties of metal clusters." *Atomically Precise Metal Nanoclusters*. Elsevier, 2023. 83-101.
195. "RCWA Solver Introduction" Ansys Optics. <https://optics.ansys.com/hc/en-us/articles/4414575008787-RCWA-Solver-Introduction> Reviewed 10.11.23.
196. Kitazawa, Taiki, et al. "Basic Study on a Novel FDTD Method Implemented Frequency Dispersion of PCB." *2021 IEEE International Joint EMC/SI/PI and EMC Europe Symposium*. IEEE, 2021.
197. Muller, Jean-Michel, et al. *Handbook of floating-point arithmetic*. Basel, Switzerland:: Birkhäuser, 2018.
198. Lax, Peter D. "Gibbs phenomena." *Journal of Scientific Computing* 28 (2006): 445-449.
199. Rumpf, Raymond C. *Electromagnetic and Photonic Simulation for the Beginner: Finite-Difference Frequency-Domain in MATLAB®*. Artech House, 2022.
200. Suetaka, W., and John T. Yates. *Surface infrared and Raman spectroscopy: methods and applications*. Vol. 3. Springer Science & Business Media, 1995.
201. Tuschel, David. "Selecting an excitation wavelength for Raman spectroscopy." *Spectroscopy* 31.3 (2016): 14-23.
202. Kneipp, Katrin, et al. "Surface-enhanced Raman scattering and biophysics." *Journal of Physics: Condensed Matter* 14.18 (2002): R597.
203. Beloshenko, K., et al. "Myasthenia Gravis Diagnosis with Surface-enhanced Raman Spectroscopy." *arXiv preprint arXiv:2208.02014* (2022).
204. Riabenko, Iuliia, et al. "Physiotherapy in the treatment of the metabolic syndrome associated with the right-sided scoliosis." *Physical rehabilitation and recreational health technologies* 8.3 (2023): 136-143.

205. Estévez, Daniel Apolinar García, and Julio Pardo Fernández. "Myasthenia gravis. Update on diagnosis and therapy." *Medicina Clínica (English Edition)* (2023).
206. Pilot, Roberto, et al. "A review on surface-enhanced Raman scattering." *Biosensors* 9.2 (2019): 57.
207. Sheet, Myasthenia Gravis Fact. "National Institute of Neurological Disorders and Stroke. 2018." (2016).
208. Takeuchi, Hideo, Hiroshi Murata, and Issei Harada. "Interaction of adenosine 5'-triphosphate with Mg<sup>2+</sup>: vibrational study of coordination sites by use of 18O-labeled triphosphates." *Journal of the American Chemical Society* 110.2 (1988): 392-397.
209. Grubisha, Desiree S., et al. "Femtomolar detection of prostate-specific antigen: an immunoassay based on surface-enhanced Raman scattering and immunogold labels." *Analytical chemistry* 75.21 (2003): 5936-5943.
210. Fan, Yongfeng, et al. "Monoclonal antibodies targeting the alpha-exosite of botulinum neurotoxin serotype/A inhibit catalytic activity." *PLoS One* 10.8 (2015): e0135306.
211. Fan, Yongfeng, et al. "Monoclonal antibodies that inhibit the proteolytic activity of botulinum neurotoxin serotype/B." *Toxins* 7.9 (2015): 3405-3423.
212. Garcia-Rodriguez, Consuelo, et al. "A three monoclonal antibody combination potently neutralizes multiple botulinum neurotoxin serotype E subtypes." *Toxins* 10.3 (2018): 105.
213. Sharma, Virender K., Kyriakos Manoli, and Xingmao Ma. "Reactivity of nitrogen species with inorganic and organic compounds in water." *Chemosphere* 302 (2022): 134911.
214. Yoshida, Katsumi, and Kazuo Kasama. "Biotransformation of nitric oxide." *Environmental Health Perspectives* 73 (1987): 201-205.



215. Ford, Eleonora, Martin N. Hughes, and Peter Wardman. "Kinetics of the reactions of nitrogen dioxide with glutathione, cysteine, and uric acid at physiological pH." *Free Radical Biology and Medicine* 32.12 (2002): 1314-1323.
216. Goldstein, Sara, and Gabor Merenyi. "The chemistry of peroxyxynitrite: implications for biological activity." *Methods in enzymology* 436 (2008): 49-61.
217. Goldstein, Sara, and Gidon Czapski. "The reaction of  $\text{NO}\cdot$  with  $\text{O}_2\cdot^-$  and  $\text{HO}_2\cdot^-$ : A pulse radiolysis study." *Free Radical Biology and Medicine* 19.4 (1995): 505-510.
218. Halliwell, Barry, et al. "Interaction of nitrogen dioxide with human plasma Antioxidant depletion and oxidative damage." *FEBS letters* 313.1 (1992): 62-66.
219. Rutowski, J., et al. "The effects of occupational exposure to nitrogen dioxide ( $\text{NO}_2$ ) on the immunological parameters in workers." *Medycyna Pracy* 49.4 (1998): 341-351.
220. Backé, Eva, et al. "Immunological biomarkers in salt miners exposed to salt dust, diesel exhaust and nitrogen oxides." *International archives of occupational and environmental health* 77 (2004): 319-327.

## ДОДАТОК А

### СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації у періодичному науковому виданні, що входить до міжнародних наукометричних баз Scopus:

1. Wan J., Beloshenko, K. S., Makarovskiy, M., **Riabenko, I.**, Shulga, S., Prokhorenko, S. Resonance light absorption of granular aluminium and silver films placed on a rough sublayer of multilayered ZnS //Ukrainian journal of physical optics. – 2019. – №. 20,№ 1. – С. 10-15. (**Scopus, Q4**) DOI:10.3116/16091833/20/1/10/2019

*(Особистий внесок здобувачки: Огляд літератури дослідження, лабораторні вимірювання, аналіз даних. написання окремих розділів, участь в обговоренні результатів.)*

2. **Riabenko I.**, Shulga S., Makarovskii N.A., Beloshenko K. Permittivity Model Selection Based on Size and Quantum-Size Effects in Gold Films // East European Journal of Physics. 2023. № 3. С. 406-412. (**Scopus, Q4**) DOI: 10.26565/2312-4334-2023-3-44

*(Особистий внесок здобувачки: Розрахунок та створення зразка підкладки. спектральні вимірювання. аналіз вимірювань, проведення чисельного моделювання, написання окремих розділів, участь в обговоренні результатів.)*

3. **Riabenko I. A.**, Shulga S., Beloshenko K. S. Calculation of the relative permittivity of Rhodamine 6G using the quantum mechanical method // Biophysical Bulletin. 2023;50:7–15 (**Scopus, Q4**) DOI: 10.26565/2075-3810-2023-50-01

*(Особистий внесок здобувачки: написання коду в MATLAB, моделювання в Gaussian 09, аналіз даних, написання окремих розділів, участь в обговоренні результатів.)*

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

4. K. Beloshenko, **I. Riabenko**, S. Shulga «Quantum Mechanical Method for Calculating the Permittivity of Rhodamine 6G» «International

Conference and Expo on Lasers, Optics & Photonics», 10-12 листопада 2022 р.  
м. Валенсія, Іспанія.

5. К. Beloshenko, **I Riabenko**, S. Shulga «The fulfillment of the sum rule in copper optical films» 3rd International Congress on Optics, Electronics and Optoelectronics», 2-4 грудня 2022 р. м. Сямінь, Китай.

6. К. Beloshenko, **I Riabenko**, S. Shulga «Bistability in AgCl-Ag Multilayer Nonlinear Structures of Blood Serum» «2022 International Conference on Applied Mathematics and Digital Simulation (AMDS 2022)», 26-28 листопада 2022, м. Пекін, Китай.

7. К. Beloshenko, **I Riabenko**, S. Shulga «Freeform Lens System for Collimation SERS irradiation Radiation Produced by Biolayers which Deposit on High Quality Resonant System» «Advances in Laser Technology and Applications», 29-30 грудня 2022, м. Відень, Австрія.

## **ПОДЯКА**

**Низький уклін і щира вдячність всім Захисникам і Захисницям за можливість отримати ступінь доктора філософії в рідній Україні.**

**Шана полеглим героям.**

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 18:19:09 03.12.2023

Назва файлу з підписом: Riabenko\_Diss.pdf.p7s

Розмір файлу з підписом: 3.1 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Riabenko\_Diss.pdf

Розмір файлу без підпису: 3.1 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Рябенко Юлія Анатоліївна

П.І.Б.: Рябенко Юлія Анатоліївна

Країна: Україна

РНОКПП: 3268804848

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 19:19:06 03.12.2023

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 382367105294AF9704000000AAF90A001041B401

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ-4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підпис та дані в CMS-файлі (CAAdES)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований