



Pracownia Spektroskopii i Oddziaływań Międzycząsteczkowych

Grupa badawcza spektroskopii ramanowskiej prof. dra hab. Andrzeja Kudelskiego

Skład grupy: prof. dr hab. Andrzej Kudelski, dr hab. Jan Krajczewski, dr Agata Królikowska, dr Beata Wrzosek, dr Aleksandra Szaniawska, mgr Aleksandra Michałowska, mgr Aleksandra Szymańska

Dr Agata Królikowska – tematyka badań diCys

Agata Królikowska, Marcin Witkowski (WCh), Wojciech Dzwolak (WCh, CNBCh)

ATCUN

Agata Królikowska, Marcin Witkowski (WCh), Wojciech Dzwolak (WCh, CNBCh)

Dr Beata Wrzosek – tematyka badań Etazen

Beata Wrzosek, Joanna Koprowska, Marcin Witkowski (WCh), Michał Dobrowolski (WCh)

Badania SERS oraz DFT sposobów adsorpcji cyclo(L-Cys-D-Cys) na nanocząstkach plazmowych dla potrzeb nowego nanosensora optycznego z dostępną wolną grupą tiolową

Cycto(L-Cys-D-Cys) to cykliczny dipeptyd cysteiny (diCys), który w przeciwieństwie do innych peptydów ditiolowych nie może tworzyć wewnątrzcząsteczkowego mostka S-S ze względu na swoją sztywną strukturę. Prowadzi to do poprawy stabilności, powinowactwa i specyficzności oddziaływań w porównaniu z liniowymi odpowiednikami. Po zaadsorbowaniu na powierzchni metalu jedna z grup -SH może być nadal dostępna do koordynacji jonów t. Ni(II) lub Zn(II) lub reakcji typu „click chemistry”.

Zanik sygnału SERS tak dla niskiego, jak i wysokiego stężenia diCys oraz odmienna barwa i agregacja AgNPs dla różnych ilości diCys

Wykrywanie SERS jonów Zn²⁺ przez miareczkowanie diCys

Rysunek 1. (A) Sygnał SERS: staby dla małej ilości diCys po aktywacji AgNPs z użyciem KNO₃; silny dla średniej ilości diCys bez KNO₃; i staby dla dużej ilości diCys po wcześniejszej agregacji AgNPs przez KNO₃ (zanikający dla wyższych stężeń diCys). (B) Widma UV-Vis dla samych AgNPs oraz z dodatkiem diCys. Wstawka: barwy badanych koloidów AgNPs. (C) Wykres zależności intensywności SERS od logarytmu ze stężenia diCys. (D) Wykres zależności intensywności SERS od logarytmu ze stężenia diCys.

Rysunek 2. Obliczenia DFT rzutów pochodnej tensora polaryzowalności dla izolowanej cząsteczki na wybrane kierunki pozwoliły symulować za pomocą diCys na widmo SERS. (B) Zmiany stosunku powierzchniowej regulej wyboru SERS i dalej z pomocą obliczeń intensywności SERS oznaczonych pasm w obecności Zn(II) pełnoelektronowych określić stabilne geometrie diCys na klastrze Ag₅₅ – w porównaniu do jego braku w funkcji dodatku diCys.

Opracowanie nowej klasy czujników na jony opartych na spektroskopii SERS i peptydach zawierających motywy ATCUN, zakotwiczone na nanocząstkach plazmowych

ATCUN (Amino Terminating Cu(II)- and Ni(II)-Binding) motif to motywy peptydowe zawierający histydynę na 3. pozycji oraz niezabezpieczony N-koniec. Motyw znany jest z selektywnego wiązania Cu(II) oraz Ni(II). Badania dotyczą koordynacji Cu(II) przez pentapeptydy inspirowane naturalnie występującą neuroendyną C – decapeptydem powszechnym u ssaków.

Wykazanie potencjału układu jako czujnika SERS typu „turn-off” działającego w szerokim zakresie stężeń jonów Cu(II)

Rysunek 1. (A) Widma SERS peptydu ATCUN-1 na nanocząstkach Ag (synteza hydroksyloaminowa) w obecności wzrastającej ilości Cu(II) (legenda). Stężenie peptydu w próbce: 1 μM, pomiar w pH = 5, linia wzbudząca 532 nm. Zaznaczono dwa pasma użyte do analizy ilościowej. (B) Wykres zależności intensywności I₁ względem intensywności I₂ w próbce bez jonów miedzi wybranych pasm SERS od logarytmu ze stężenia miedzi. Wstawka: ta sama zależność w skali liniowej.

Badania stechiometrii kompleksu ATCUN-2 z Cu(II) oraz odwracalności koordynacji jonów Cu(II)

Rysunek 2. (A) Zanik emisji fluorescencji przy 360 nm peptydu ATCUN-2 w funkcji dodatku miedzi przy ekscytacji 280 nm. Stężenie peptydu: 10 μM, pH = 5. (B) Widma emisyjne, które posłużyły do wyliczenia tej zależności.

Wykrywanie etazenu za pomocą spektroskopii ramanowskiej i SERS oraz jego charakterystyka spektroskopowa

Etazen – narkotyk z grupy opioidów, pierwszy raz wykryty w Polsce w 2020, 60 razy mocniejszy od morfiny.

Cel badań:

- Zwiększenie wykrywalności etazenu przy wykorzystaniu różnych podłoży SERS
- Przypisanie drgań normalnych w widmie ramanowskim etazenu i analiza widm SERS przy pomocy teoretycznych symulacji selektywnego wzmocnienia widma – rozwój spektroskopowej charakterystyki benzimidazolowych opioidów.

Rys. 1 Widma ramanowskie etazenu: eksperymentalne λ=532 (a); 785 nm (b), teoretyczne na podstawie obliczeń DFT dla form: sprotonowanej przy grupie aminowej i pierścieniu benzimidazolowym (wykorzystano zmierzoną strukturę krystalograficzną) (c), zdeprotonowaną w obu z wymienionych pozycjach (d).

Rys. 2 Symulacje widm SERS 4-ech form cząsteczek etazenu o różnym stopniu protonacji (struktury po lewej) wykorzystujące powierzchniową regulej wyboru, gdy cząsteczka ułożona jest równoległe do powierzchni pierścieniem benzimidazolowym lub fenolowym oraz zwykłe teoretyczne widma ramanowskie (g) i (h).

Rys. 3 Widma ramanowskie etazenu w postaci kompleksu wytrąconych z AgNO₃ (a) i (b); SERS na różnych podłożach Ag: błaska chropowata (c) i (d), NPs anizotropowe (e) i (f); zarejestrowane przy pomocy linii 785 nm b-f), 532 nm (a), (g) i (h).

Badania w powyższej tematyce były współfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS: Badanie spektroskopowe zmiennych konformacyjnie monowarstw peptydowych związanych z metalem: ku nowym wszechstronnym nanocząstkom optycznym (numer 2018/29/B/ST4/01310, kierownik projektu dr Agata Królikowska)

Spektrometr ramanowski Renishaw inVia połączony z mikroskopem SEM ThermoFisher Apreo2

Agata Królikowska, Marcin Witkowski (WCh), Barbara Kremer (PALEO PAN)

Unikatowa infrastruktura badawcza (WG i WCh) – tandem Raman/SEM

Agata Królikowska, Anna Janeczek, Matylda Waćlawska, Wojciech Dzwolak (WCh i CNBCh)

Analiza ramanowska wapienia morskiego ze skamieniałościami

Współpraca z Instytutem Paleobiologii PAN (Spektrometr inVia)

Próbka „Sosnowiec” (Góry Śląsk, Polska) pobrana z głębokości 2385-2395 m (Upper Sittkówa Beds), późny dewon, zebrana w 1973 r. przez prof. Józefa Kaźmierczaka. Analiza petrograficzna i paleontologiczna w publikacjach Kwartalnik Geologiczny 17(3) 1973 oraz Acta Palaeontologica Polonica 21, 1976.

Mapowanie Ramana skamieniałości (kalcifyfikacja) wraz z identyfikacją faz

Dystrybucja faz w obszarze ok. 200 x 170 μm z krokiem 2 μm (rozdzielczość przestrzenna)

Rysunek 1. (A) Obraz mikroskopowy próbki w trybie światła przechodzącego wraz z zaznaczonym obszarem mapowania. (B) Widma ramanowskie składników próbki. Rozkład przestrzenny zidentyfikowanych faz: (C) kalcyt, (D) materia węglowa.

Geotermometria ramanowska: dekonwolucja sygnału

Temperaturę przeobrażeń materii organicznej w skałach oszacowano na $T = 192 \pm 12$ (stat.) ± 14 (syst.) [°C] na podstawie składowych sygnału Ramana węgla. Dzięki 7968 widm uzyskano dużą statystykę umożliwiającą analizę zmienności charakteru materii węglistej w mikroskali.

Rysunek 2. Przykładowe widmo Ramana materii węglistej wraz z dekonwolucją.

Spektrometr ramanowski Renishaw inVia Qontor sprzężony z mikroskopem konfokalnym

Możliwości aparatury:

- Powierzchniowe (1D i 2D) oraz objętościowe (3D) mapowanie próbek z rozdzielczością xy do 250 nm oraz z do 900 nm dla lasera 532 nm
- Rejestracja do 1400 widm/s i System Renishaw Live Track™ umożliwiający automatyczną korektę skłębienia wiązki
- Szerokie możliwości analizy chemometrycznej oraz wizualizacji danych
- Dostęp do baz danych >20 tys. widm Ramana, ułatwiający jednoznaczny identyfikację materiałów
- Oprogramowanie Particle Analysis pozwalające na zaautomatyzowaną spektroskopową i statystyczną analizę mikrocząstek

Rysunek 1: Spektrometr Ramana umożliwiający wysokorozdzielcze mapowanie

Sonda ramanowska Renishaw inLux w komorze mikroskopu SEM Apreo2 (ThermoFisher)

Kluczowe cechy:

- Sonda może zostać wprowadzona do komory SEM między próbkę a działko elektronowe, prowadząc do kolokacji sygnału Ramana i obrazu SEM
- Zbieranie widm w komorze SEM pozwala na korelację trzech trybów wizualizacji: obrazu SEM, obrazu optycznego i sygnału Ramana
- Rozdzielczość powierzchniowa <700 nm, rozdzielczość osiowa <1000 nm dla obrazowania ramanowskiego z użyciem linii 532 nm
- Zaawansowana charakterystyka i wysokorozdzielcze obrazowanie materiałów

Rysunek 2: Widok wnętrza komory mikroskopu SEM z istotnymi częściami aparatury

Zakup finansowany ze środków programu Inicjatywa Doskonałości Uczelnia Badawcza (działanie 1.4.1) w ramach projektu „Combined SEM-Raman microscopy platform for correlative advanced material characterization and high-resolution imaging” dla Wydziału Geologii UW; kierownik projektu dr Agata Królikowska (WCh)

Nieelastyczne rozpraszanie światła przez natywną i zagregowaną formę insuliny

Współpraca z Laboratorium Chemii Biofizycznej (Spektrometr inVia)

Metodyka i kontekst badań:

Synteza amyloidów (nieprawidłowo zwiniętych białek o wysokiej zawartości motywu strukturalnego β-kartki) o zróżnicowanej morfologii dla insuliny ludzkiej (HI) i wołowej (BI) przeprowadzono de novo z kontrolą: temperatury (T), stężenia białka, dodatku soli oraz czasu inkubacji (t). Motywacja: zagadką luminescencji amyloidów w VIS/NIR o spornym mechanizmie.

Rysunek 1. Zdjęcia AFM amyloidów insuliny powstałych w różnych warunkach: (A) HI (80°C, 100 mg/mL, 5 mM Na₂SO₄, 40 min, (B) BI (80°C, 10 mg/mL, 5 mM Na₂SO₄, 20 min).

Charakterystyka ramanowska modelowych agregatów amyloidów

Pasma diagnostyczne

Rysunek 2. Wpływ dodatku soli oraz czasu procesu (legenda) dla BI inkubowanej w T = 80°C

Mapa ramanowska fibryli amyloidu

Rysunek 3. (A) Obraz mikroskopowy próbki w świetle odbitym z nałożonym rozkładem stosunku intensywności pasm Ramana składowej β-kartki do całego obszaru amid I. (B) Widmo ramanowskie próbki (legenda).

Wykazano morfologiczne zróżnicowanie względem udziału motywu β-kartki, z najwyższą zawartością wewnątrz struktury sferulity.

Ocena konformacji mostków disiarczkowych **Znacznik hydrofobowości lokalnego środowiska** **Monitorowanie przemiany α-helisy w β-kartkę**

Tutaj: gauche-gauche Zamknięcie tyrozyny wewnątrz agregatów Silny wpływ dodatku soli

Wysoce jednorodne nanostruktury plazmoneczne typu rdzeń-powłoka do spektroskopii SERS

Agata Królikowska, Aleksandra Szymańska, Mihai Suster (FUW), Tomasz Antosiewicz (FUW), Piotr Wróbel (FUW)

Beata Wrzosek, Joanna Koprowska, Piotr Wróbel (FUW)

Nanogap-Engineered Core-Shell-Like Nanostructures (CSLNs) for Comprehensive SERS Analysis

(2024, arXiv preprint, arXiv:2412.13882)

Praca przedstawia nowatorską metodę fabrykacji, umożliwiającą wytwarzanie amorficznej macierzy nanostruktur o nietypowej geometrii (CSLN). Generowane są w niej jednocześnie rezonansy plazmoneczne między rdzeniem a powłoką nanocząstki oraz mod nanonowy. Uzyskane z ich pomocą widma SERS charakteryzują się wysoką jednorodnością, powtarzalnością, ale też niskim limitem detekcji i wysoką stabilnością w czasie.

Kontrola zanieczyszczeń wody – detekcja barwników azowych za pomocą spektroskopii SERS

Rysunek 1: Widma SERS (R) oraz metylowego (MO) oraz czerwieni metylowej (MR) zebrane z ok. 1 cm² podłoża CSLNs.

Detekcja pestycydów z użyciem spektroskopii SERS

Dokonano detekcji SERS pestycydu thiram – jednego z najczęściej występujących zanieczyszczeń żywności. Udało się uzyskać bardzo wysoką precyzję pomiaru: RSD = 3,4% oraz bardzo niski limit detekcji: LOD = 18 ng/ml. Wartości te są konkurencyjne względem stosowanych metod wykrywania za pomocą innych technik i mogą pomóc w upowszechnieniu komercyjnego wykorzystania spektroskopii SERS.

Rysunek 2: 100 widm SERS pestycydu thiram uzyskanych z wykorzystaniem nanostruktur plazmonecznych typu rdzeń-powłoka (CSLN).

Cel badań:

- Odalenie podłoża odpowiedniego do przeprowadzenia badań wpływu warstwy grafenu na mechanizmy wzmocnienia widm ramanowskich na plazmonecznych podłożach SERS
- Zbadanie wpływu zjawiska przeniesienia ładunku metal-grafen na siłę wzmocnienia plazmonecznego widm ramanowskich

Cechy podłoża:

- Współistnienie obszarów o różnych właściwościach wzmocniających SERS odseparowanych od siebie wystarczająco do odzworowania w mapie ramanowskiej.
- Brak dodatkowych czynników wpływających na siłę wzmocnienia SERS poza tymi wynikającymi z zaplanowanej konstrukcji podłoża.

Wykorzystane analityki: kwas paramerkaptobenzoesowy (PMBA/EtOH), 3-amino-5-merkapto-1,2,4-triazol (AMT/H₂O) i merkaptotetrasulfonian sodu (MES/H₂O); C = 10⁻⁴-3) M.

Rys. 2 Mapy ramanowskie (532 nm), odpowiadające jej obrazom z mikroskopu optycznego (x150), mapy ramanowskie nałożone na obrazy SEM, obrazy SEM (SE) po mapowaniu podłoża 200/20Ag/5Au modyfikowanego analitykami

Rys. 3 Podłoża 60/Ag/Au i 60/Au po modyfikacji PMBA i mapowaniu

Dotychczasowe wyniki:

- Otrzymano doskonałe rozróżnienie słabych hot spotów i obszarów bez plazmonecznego wzmocnienia w przypadku PMBA.
- Wykryto wytwarzanie się dodatkowych nanotworów o różnej charakterystyce w zależności od użytego analityki i wielkości nanosfer – parametry struktury nanosfer 200/20nmAg/5nmAu przyczyną zbyt dużej wnikli = brak silnego hot spotu + wytrawiania Ag przez analityki przez zbyt szeroki dostęp do jego warstwy.
- Potwierdzono zjawisko silnego wytrawiania Ag prowadzące do samochropowacenia litych gładkich powierzchni Ag.