Scuola Dottorale di Ingegneria
Sezione di Ingegneria dell'Elettronica Biomedica,
dell'Elettromagnetismo e delle Telecomunicazioni

NANOPARTICELLE E METASUPERFICI MICROSTRUTTURATE PER APPLICAZIONI BIOELETTROMAGNETICHE

XXVII Ciclo della formazione Dottorale

Dottorando *Ing. Renato Iovine*

Docente-guida *Prof. Alessandro Toscano*
18/09/2014 – 31/12/2014

Docente-guida *Prof. Lucio Vegni*
01/01/2012 – 18/09/2014

Coordinatore *Prof. Alessandro Salvini*

pag.

Lista delle pubblicazioni 3

Introduzione 9

Capitolo Primo

Nanoparticelle per applicazioni bioelettromagnetiche

Introduzione 12
1.1 Problema elettromagnetico delle nanoparticelle 13
1.1.1 Soluzioni analitiche e simulazioni numeriche 16
1.1.2 Boundary Element Method apporach 25
1.2 Applicazioni bioelettromagnetiche per il rilevamento di tessuti e composti organici 30
1.2.1 Nanoparticelle non sferiche e prestazioni di sensibilità 31
1.2.2 Meccanismi di intensificazione della risposta elettromagnetica per applicazioni di biorilevamento 34
1.2.2.1 Piattaforme basate sull'accoppiamento di nanoparticelle 34
1.2.2.2 Piattaforme basate su nanoparticelle multi-strato 45
1.2.2.3 Piattaforme basate su nanoparticelle multi-risonanti 60
1.3 Nanoparticelle per il rilevamento di alterazioni genetiche 71
1.3.1 Spettroscopia Raman per la rilevazione del DNA 72
1.3.2 Utilizzo di nanoparticelle senza marcatori Raman 79
1.4 Nanoparticelle per il trasporto intelligente di farmaco 85

Referenze bibliografiche 89

Capitolo Secondo

Metasuperfici microstrutturatte per applicazioni bioelettromagnetiche

Introduzione 97
2.1 Metamateriali a configurazione complementare 99
2.1.1 Sviluppo di modelli circuitale equivalenti 102
2.1.2 Studio della funzione spettrale di Green per metasuperifici 106
2.2 Applicazioni bioelettromagnetiche dei metamateriali microstrutturati per il rilevamento di tessuti e composti organici 111
2.2.1 Metasuperfici per applicazioni di misura della concentrazione di emoglobina in campioni biologici 114

2.2.2 Metasuperfici per la valutazione del contenuto di acqua in campioni biologogici 117
2.2.3 Metasuperfici per il biorilevamento di tessuti neoplastici 119

Referenze bibliografiche 123

Capitolo Terzo

Ulteriori tematiche

Introduzione 127
3.1 Strutture in grafene per comunicazioni wireless 127
3.2 Studio delle tecniche anti-inquinamento ambientali basate su nanoparticelle 132
3.3 Analisi del quadro normativo relativo alla determinazione delle fasce di rispetto per gli elettrodotti 134
3.4 Analisi elettromagnetica della stimolazione cerebrale profonda 135

Referenze bibliografiche 140

Conclusioni 144

Lista delle pubblicazioni

PUBBLICAZIONI SU RIVISTE:

- R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Optical Properties of Modified Nanorod Particles for Biomedical Sensing," IEEE Transactions on Magnetics, Vol. 50, No. 2, 2014, paper 7004004.
- R. Iovine, L. La Spada, R. Tarparelli and L. Vegni, "Spectral Green's function for SPR meta-structures," Materials Science Forum, Vol. 792, 2014, pp.110-114.
- L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Electromagnetic Modeling of Dielectric Mixtures," Journal of Research Updates in Polymer Science, Vol. 2, No. 4, 2014, pp.194-200.
- R. Tarparelli, R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Surface Plasmon Resonance of Nanoshell Particles with PMMA-Graphene Core," COMPEL – The International Journal for Computation and Mathematics in Electrical and Electronic Engineering, Vol. 33, No. 6, 2014, pp. 2016-2029.
- R. Iovine, R. Tarparelli and L. Vegni, "Electromagnetic Analysis of Graphene Nanoparticles operating in the TeraHertz Band," Advances in Nanoparticles, Vol. 3, No. 3, 2014, pp. 72-76.
- R. Iovine, V. Loscrì, S. Pizzi, R. Tarparelli and A.M. Vegni, "Model of Multi-Source Nanonetworks for the Detection of BRCA1 DNA Alterations Based on LSPR Phenomenon," ANP – Advances in Nanoparticles, Vol. 2, No. 4, 2013, pp. 301-312.
- R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Nanoparticle device for biomedical and optoelectronics applications," COMPEL – The International Journal for Computation and Mathematics in Electrical and Electronic Engineering, Vol. 31, No. 5, 2013, pp.1596-1608.

- L. La Spada, R. Iovine, R. Tarparelli and L. Vegni, "Conical Nanoparticles for Blood Disease Detection," ANP - Advances in Nanoparticles, Vol. 2, No. 3, 2013, pp. 259-265.
- L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Electromagnetic modeling of ellipsoidal nanoparticles for sensing applications," Optical Engineering, Vol. 52, No. 5, 2013, pp. 051205-1 – 051205-5.
- R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Modified Bow-tie Nanoparticles Operating in the Visible and Near Infrared frequency Regime," ANP - Advances in Nanoparticles, Vol. 2, No.1, 2013, pp. 21-27.
- E. Di Lascio, R. Iovine, R. Tarparelli, A. Lozito and L. Vegni, "Tecniche di bonifica per siti contaminati da composti organici del cloro," BEA – Bollettino degli Esperti Ambientali, Vol. 63, No. 1, 2013, pp. 14-20.
- L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Nanoparticle Electromagnetic Properties for Sensing Applications," Advances in Nanoparticles, Vol. 1, No. 2, 2012, pp. 9-14.
- R. Iovine, L. La Spada, A. Lozito and L. Vegni, "Quadro normativo sulla determinazione delle fasce di rispetto per gli elettrodotti," Catastonline.it, pp. 5, 2012.

PRESENTAZIONI ORALI A CONGRESSI:

- R. Iovine, R. Tarparelli, A.M. Vegni, "Graphene Bow-tie Nanoantenna for Wireless Communications in the Terahertz Band," Proc. of 1st ACM International Conference on Nanoscale Computing and Communication, Atlanta, Georgia, USA, 13-14 May, 2014.
- R. Tarparelli, R. Iovine, and L. Vegni, "Bio-Electromagnetic Activity in the Field of Plasmonic Nanoparticles at Roma Tre University," Proc. of 21st International Conference on Applied Electromagnetics and

Communications, ICECOM 2013, Dubrovnik, Croatia, 14-16 October, 2013.

- R. Iovine, R. Tarparelli and A.M. Vegni, "Detection of DNA Alterations using Gold Nanoparticles exploiting the LSP phenomenon," Proc. of 21st International Conference on Applied Electromagnetics and Communications, ICECOM 2013, Dubrovnik, Croatia, 14-16 October, 2013.
- R. Tarparelli, R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Electromagnetic Analysis of Deep Brain Stimulation," Proc. of International Conference on Electromagnetics in Advanced Applications, ICEAA 2013, Turin, Italy, 9-13 September, 2013.
- R. Tarparelli, R. Iovine and L. Vegni, "Optical Sensor Based on LSPR Phenomenon to Reveal Cholesterol Concentrations for Biomedical Applications," Proc. of Progress In Electromagnetics Research Symposium, Stockholm, Sweden, 12-15 August, 2013, pp. 797-800.
- R. Iovine, L. La Spada, R. Tarparelli and L. Vegni, "Spectral Green's function for SPR metastructures," Proc. Eighth Japanese-Mediterranean Workshop on Applied Electromagnetic Engineering for Magnetic, Superconducting, Multifunctional and Nanomaterials, Athens, Greece, 23-26 June, 2013, pp. 5.
- R. Iovine, L. La Spada, R. Tarparelli and L. Vegni, "Multi resonant platform based on modified metallic nanoparticles for biological tissue characterization," Proc. SPIE 8789, Modeling Aspects in Optical Metrology IV, 87890Q, Munich, Germany, 13-16 May, 2013.
- L. La Spada, R. Iovine, R. Tarparelli and L. Vegni, "Metamaterial-based sensor for skin disease diagnostics," Proc. SPIE 8767, Integrated Photonics: Materials, Devices, and Applications II, 8760T, Grenoble, France, 24-26 Apr., 2013.
- L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Dielectric mixtures modeling and design of metamaterial-based sensors," Proc. of The 9th International

Symposium on Electric and Magnetic Fields (EMF), Bruges, Belgiun, 23-25 Apr., 2013.

- L. La Spada, R. Iovine, F. Bilotti and L. Vegni, "Nanorod-based glucose sensor," Proc. of the Sixth International Congress on Advanced Electromagnetic Materials in Microwaves and Optics - Metamaterials 2012, pp. 375-377, St. Petersburg, Russian, 17-22 September, 2012.
- R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Nanoparticle device for biomedical and optoelectronics applications," Proc. of the 15th IGTE Symposium 2012, Graz, Austria, 16-19 September, 2012, pp. 25-30.
- R. Iovine, L. La Spada, F. Bilotti and L. Vegni, "Gold Nano-particles as a Platform for Biosensing," Proc. of the XIX RiNEm 2012, pp. 79-82, Rome, Italy, 10-14 September, 2012.
- R. Iovine, L. La Spada, G. Gucciardo, F. Bilotti, A. Lozito and L. Vegni, "Sensore basato su metamateriali per il biorilevamento di tessuti neoplastici," C.I.S.A.M., S. Piero a Grado, Pisa, 30-31 May, 2012.

POSTER PRESENTATI A CONGRESSI:

- R. Iovine, R. Tarparelli and L. Vegni, "Nanoparticle studies for biomedical applications," Proc. of the XX RiNEm 2014, pp. 4, Padova, Italy, 15-18 September, 2014.
- R. Iovine and R. Tarparelli, "Design of radiating system based on metamaterial technology for GNSS applications," Proc. of the Sixteenth Biennial IEEE Conference on Electromagnetic Field Computation CEFC 2014, Annecy, France, 25-28 May, 2014.
- R. Iovine, R. Tarparelli and L. Vegni, "Plasmon Hybridization of Multilayer Cylinder Nanoparticles," Proc. of the Sixteenth Biennial IEEE Conference

on Electromagnetic Field Computation CEFC 2014, Annecy, France, 25-28 May, 2014.

- R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Optical properties of modified nanorod particles for biomedical sensing," Proc. of the 19th International Conference on the Computation of Electromagnetic Fields, COMPUMAG 2013, Budapest, Hungary, 30 June – 4 July, 2013, paper 340.
- R. Tarparelli, R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Surface Plasmon Resonance of Nanoshell Particles with PMMA-Graphene Core," Proc. International Symposium on Theoretical Electrical Engineering, Pilsen, Czech Republic, 24-26 June, 2013.
- R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Biconical nanoparticles as a tool for ultra-sensitive biosensing applications," Proc. of the 3rd International Conference on Bio-Sensing Technology, Sitges, Spain, 12-15 May, 2013, paper 357.
- R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Nanoplasmonic sensor for chemical measurements," Proc. SPIE 8774, Optical Sensors 2013, 877411, Prague, Czech Republic, 15-18 Apr., 2013.
- L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Metamaterial-based sensor for hemoglobin measurements," Proc. of the Loughborough Antennas & Propagation Conference - LAPC, Loughborough, United Kingdom, 12-13 November, 2012, pp. 5.
- R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Nanophotonic device based on gold nanoparticles for biomedical applications," Proc. of the European Optical Society Annual Meeting - EOSAM 2012, Aberdeen, Scotland, 25-28 September, 2012, pp. 3.
- L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Nanocone-based sensor for blood disease detection," Proc. of the European Optical Society Annual Meeting - EOSAM 2012, Aberdeen, Scotland, 25-28 September, 2012, pp. 3.

- L. La Spada, R. Iovine, F. Bilotti and L. Vegni, "Infrared absorption measurements using metamaterials," Proc. of the XIX RiNEm 2012, pp. 501-504, Rome, Italy, 10-14 September, 2012.
- R. Iovine, L. La Spada, F. Bilotti and L. Vegni, "Electromagnetic properties design of non-spherical nanoparticles," Proc. of the Third Conference of the Italian National Bioengineering Group (GNB 2012), Rome, Italy, 26-29 June, 2012, paper 384.
- L. La Spada, R. Iovine, F. Bilotti and L. Vegni, "Planar nanoparticles array for biomedical sensing," Proc. of the Third Conference of the Italian National Bioengineering Group (GNB 2012), Rome, Italy, 26-29 June, 2012, paper 383.

CAPITOLI DI LIBRI:

- R. Iovine, V. Loscrì, S. Pizzi, R. Tarparelli and A.M. Vegni, "Electromagnetic Nanonetworks for Sensing and Drug Delivery," in Modeling, Methodologies and Tools for Molecular ad Nano-scale Communications, to be published by Springer.

Introduzione

Gli ultimi dati OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) pubblicati il 15 maggio 2014 evidenziano come in tutto il mondo le persone vivono più a lungo. In base alle medie mondiali, una bambina e un bambino nati nel 2012 hanno, rispettivamente, un'aspettativa di vita di circa 73 anni e 68 anni. Si tratta di 6 anni in più rispetto all'aspettativa di vita mondiale relativa a un bambino nato nel 1990.
Senza ombra di dubbio tali risultati sono legati agli enormi progressi delle tecnologie biomediche sia diagnostiche che terapeutiche.

In questo contesto, parallelamente, negli ultimi anni, si sta assistendo allo sviluppo delle cosiddette "micro e nanotecnologie", applicate in molteplici campi. Ad esempio l'8° Programma Quadro di ricerca e innovazione dell'Unione Europea (2014 – 2020) puntando a realizzare la cosiddetta "Unione dell'innovazione" ha indicato come seconda priorità la necessità di puntare su investimenti in ricerca e sviluppo in alcuni settori industriali tra cui le nanotecnologie, i materiali avanzati e le biotecnologie.
Occorre capire (si cerca di evidenziare) come le micro e nanotecnologie possano nel breve periodo introdurre importanti cambiamenti anche nei tradizionali protocolli terapeutici e diagnostici al fine di migliore la qualità della vita degli individui.
Di fatto, queste nuove tecnologie stanno rapidamente rappresentando un settore di ricerca interdisciplinare d'avanguardia, in quanto, avendo dimensioni comparabili a quelle delle molecole biologiche (enzimi, recettori, anticorpi) sono in grado di offrire una profonda interazione con le strutture cellulari.

In quest'ottica, l'attività di ricerca della durata triennale ha riguardato principalmente un approfondito studio delle proprietà elettromagnetiche delle

nanoparticelle e delle metasuperfici con l'obiettivo di studiare soluzioni tecnologiche avanzate che possano permettere futuri approcci diagnostico-terapeutici mininvasivi e/o coadiuvino quelli già esistenti con elevato valore aggiunto in termini di diagnosi precoce e/o una terapia selettiva ed efficace.

Le attività di ricerca relative alle proprietà elettromagnetiche delle nanoparticelle hanno seguito di pari passo l'evolversi della tecnologia ed in particolare delle tecniche nanolitografiche e chimiche di sintesi delle stesse ed hanno in particolare riguardato i seguenti aspetti:

- analisi delle proprietà ottiche delle nanoparticelle plasmoniche con relativa modellistica elettromagnetica per applicazioni di biorilevamento di tessuti e composti chimici;
- nanoparticelle multi-strato per applicazioni di biorilevamento;
- nanoparticelle multi-risonanti per applicazioni diagnostiche ultrasensibili e il multi-rilevamento di tessuti biologoci;
- nanoparticelle per il rilevamento di alterazioni genetiche;
- nanoparticelle per il trasporto intelligente di farmaco.

Tali aspetti vengono analizzati dettagliatamente nel primo capitolo della presente tesi.

Le attività di ricerca relative alle proprietà elettromagnetiche delle metasuperfici hanno riguardato lo sviluppo di risuonatori basati su metamateriali per applicazioni bioelettromagnetiche. In particolare sono stati proposti diversi tipi di risuonatori per il rilevamento di tessuti e composti chimico/organici sviluppando modelli circuitali equivalenti delle strutture e successiva simulazione sperimentale con software commerciali di tipo full – wave. E' stato altresì proposto lo studio della funzione spettrale di Green per la valutazione del campo elettromagnetico in prossimità di una metasuperficie.

Tali aspetti vengono analizzati dettagliatamente nel secondo capitolo della presente tesi.

Nell'ultimo capitolo vengono presentate le ulteriori tematiche affrontate durante il percorso di studio e ricerca affini ai problemi del bioelettromagnetismo e delle telecomunicazioni che hanno riguardato principalmente i seguenti aspetti:

- strutture in grafene per comunicazioni wireless;
- studio delle tecniche anti-inquinamento ambientali basate su nanoparticelle;
- analisi del quadro normativo relativo alla determinazione delle fasce di rispetto per gli elettrodotti;
- analisi elettromagnetica della stimolazione cerebrale profonda.

Nanoparticelle per applicazioni bioelettromagnetiche

Gli sforzi della ricerca al fine di comprendere i processi per lo sviluppo di strumenti biomedicali all'avanguardia sono una delle forze trainanti che sta dietro il vorticoso sviluppo delle nanotecnologie.
In particolare, le nanoparticelle metalliche sono di grande interesse in virtù delle loro peculiari proprietà che derivano dalle loro dimensioni ridotte e dalla elevata sensibilità della risposta elettromagnetica alle variazioni del mezzo elettromagnetico che le circonda [1].

La radiazione elettromagnetica (nello spettro del Visibile – Vicino Infrarosso) interagendo con gli elettroni liberi del metallo della nanoparticella produce una loro oscillazione collettiva che è risonante se la pulsazione del campo incidente è pari alla frequenza propria di oscillazione degli elettroni del metallo. Tale frequenza dipende dalle caratteristiche elettromagnetiche, dalla dimensione, dalla forma delle nanoparticelle stesse nonché dalle proprietà del dielettrico che le circonda. In tali condizioni operative il campo elettrico in prossimità della nanoparticella è fortemente intensificato e localizzato (fenomeno della Risonanza Plasmonica di Superficie Localizzata). Ciò rende tali particelle adatte per applicazioni in ambito medico sia di tipo diagnostico che terapeutico. In particolare la letteratura tecnica riporta il loro possibile utilizzo per l'analisi delle proteine [2,3], per la valutazione delle funzionalità cellulari [4], come mezzo di contrasto per l'intensificazione dello Spettro Raman [5,6] e per applicazione di ablazione fototermica per la distruzione selettiva di cellule tumorali [7,8].
Considerando che le attuali tecniche di sintesi delle nanoparticelle consentono di realizzare strutture dalle forme diverse da quella sferica [9], l'attività di ricerca è stata indirizzata sullo studio di particolari nanoparticelle (in termini di forma, dimensioni, materiali considerati) caratterizzate da proprietà elettromagnetiche

peculiari che possano essere di interesse per il progetto di dispositivi diagnostici ultrasensibili.

Si è proceduto quindi, nell'analisi delle proprietà ottiche di diverse tipologie di nanoparticelle sviluppando una modellistica elettromagnetica che permetta di predirne il comportamento. Ove possibili, tali modelli sono stati confrontati con simulazioni numeriche di tipo full-wave, con codici sviluppati basandosi sul Boundary Element Method e con valori sperimentali ricavati dalla letteratura tecnica.

Sulla base delle analisi eseguite, sono state proposte diverse piattaforme di biorilevamento basate su nanostrutture delle seguenti tipologie:

- nanoparticelle metalliche a singolo strato;
- nanoparticelle multi-strato;
- nanoparticelle multi-risonanti per applicazioni diagnostiche ultrasensibili e il multi-rilevamento di tessuti biologoci;
- nanoparticelle per valutare diverse alterazioni del gene BRCA1 (BReast CAncer susceptibility gene 1);
- nanoparticelle per il trasporto di farmaco.

Nelle seguenti sottosezioni vengono analizzate nel dettaglio le attività di ricerca svolte ed i risultati ottenuti.

1.1 PROBLEMA ELETTROMAGNETICO DELLE NANOPARTICELLE

Le nanoparticelle presentano proprietà ottiche interessanti che sono determinate dalle dimensioni, dalla forma, dallo stato di aggregazione e dalla loro composizione [10]. Sono caratterizzate da assorbimenti molto intensi nella regione dell' Ultravioletto (UV), del Visibile (Vis) e del Vicino Infrarosso (NIR), da cui deriva

spesso un'intensa colorazione. Tale fenomeno è da attribuirsi alle interazioni tra la radiazione elettromagnetica incidente e gli elettroni della banda di conduzione del metallo [11].

A tali frequenze, le nanoparticelle hanno una dimensione estremamente più piccola rispetto alla lunghezza d'onda del campo elettromagnetico incidente (Visibile – Vicino Infrarosso) e quindi si può considerare che tutti gli elettroni confinati sulla nanoparticella vedano lo stesso valore di campo elettromagnetico ad un determinato istante di tempo (approssimazione quasi statica) [12]. Lo spostamento della nube di elettroni sotto l'effetto del campo elettrico porta alla distribuzione di cariche superficiali. Le cariche complessivamente positive associate ai nuclei e agli elettroni legati degli atomi metallici vengono attratte in verso opposto alle cariche negative associate agli elettroni liberi (Figura 1.1).

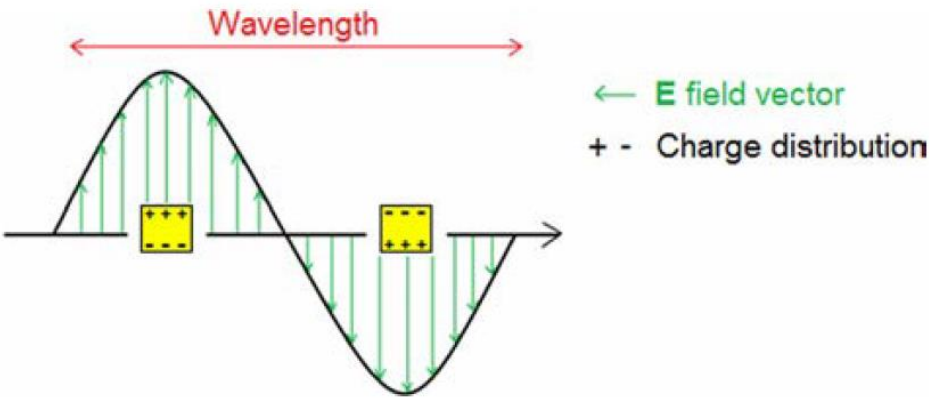


Figura 1.1: Descrizione schematica dello spostamento della nuvola di elettroni in una nanoparticella di forma cubica per effetto del campo elettromagnetico incidente [22].

L'idea è quella di determinare le condizioni per cui la "nuvola di elettroni" può entrare in risonanza con la radiazione incidente.
Considerando che gli elettroni subiscono una forza di richiamo in contrasto con il campo esterno applicato è possibile descrivere la posizione x di un elettrone posto in un campo elettrico oscillante nell'approssimazione quasi – statica con la seguente equazione differenziale del secondo ordine:

$$m_e \frac{d^2x}{dt^2} + m_e \Gamma \frac{dx}{dt} + Kx = q\mathbf{E} \tag{1.1}$$

La soluzione dell'equazione differenziale è la seguente:

$$x = \frac{q\mathbf{E}}{m_e({\omega_r}^2 - \omega^2 - j\Gamma\omega)} \tag{1.2}$$

ovvero:

$$x = \frac{q\mathbf{E}}{m_e}\sqrt{\frac{1}{(\omega_r{}^2-\omega^2)^2+\Gamma^2\omega^2}}\, e^{j\varphi} \tag{1.3}$$

con:

$$\omega_r = \left(\frac{K}{m_e}\right)^{-1} \tag{1.4}$$

$$\varphi = arctan\left(\frac{\Gamma\omega}{\omega_r{}^2-\omega^2}\right) \tag{1.5}$$

L'ampiezza di x raggiunge il massimo per $\omega \rightarrow \omega_r$ per cui si ha il fenomeno della risonanza.
Questo è un modello meccanico che fa ben comprendere come sia possibile che la radiazione elettromagnetica incidente induca il cosiddetto fenomeno di Risonanza Plasmonica Localizzata di Superficie (LSPR) provocando un'intensificazione locale del campo.

Tuttavia, per stimare in maniera quantitativa il processo di estinzione (diffusione e assorbimento) nell'interazione radiazione elettromagnetica/nanoparticella, è necessario risolvere in maniera analitica e completa di condizioni al contorno le equazioni di Maxwell.

La soluzione per via chiusa delle equazioni di Maxwell è stata operata da Gustav Mie nel 1908 per strutture di forma sferica [13]. In realtà visti i recenti sviluppi delle

tecnologie e la disponibilità di nanoparticelle dalle forme più disparate sono stati sviluppati algoritmi numerici/modelli matematici che permettono, teoricamente, la risoluzione approssimata delle equazioni di Maxwell per qualsiasi geometria delle nanoparticelle.

1.1.1 SOLUZIONI ANALITICHE E SIMULAZIONI NUMERICHE

Le soluzioni analitiche studiate e proposte nell'ambito dell'attività di ricerca sono basate sull'approssimazione quasi – statica.
In tali condizioni operative è possibile correlare le proprietà elettromagnetiche macroscopiche in termini di costanti dielettriche della nanoparticella e del mezzo elettromagnetico circostante con la polarizzabilità della nanoparticella attraverso la seguente espressione [14]:

$$\bar{\bar{\alpha}} = V\varepsilon_e \sum_{l=1}^{3} \frac{\varepsilon_i - \varepsilon_e}{\varepsilon_e + L_l(\varepsilon_i - \varepsilon_e)} \overline{u_l}\,\overline{u_l} \tag{1.6}$$

dove: V rappresenta il volume della nanoparticella; ε_i ed ε_e rappresentano rispettivamente la permittività dielettrica della nanoparticella e del mezzo circostante; $\overline{u_l}$ rappresentano i vettori unitari nelle direzioni principali del sistema di riferimento; L_l rappresentano le tre componenti della corrispondente diade di depolarizzazione $\bar{\bar{L}} = L_1\overline{u_1 u_1} + L_2\overline{u_2 u_2} + L_3\overline{u_3 u_3}$.
La valutazione della diade di depolarizzazione tiene conto della forma della nanoparticella ed è definita come:

$$\bar{\bar{L}} = \oint \frac{\mathbf{n}\mathbf{u}_R{}'}{4\pi|\mathbf{r}' - \mathbf{r}|^2} \mathrm{dS}' \tag{1.7}$$

dove l'integrazione è su tutta la superficie che racchiude il volume della nanoparticella, $\mathbf{n}$ è il vettore unitario normale alla superficie orientato verso l'esterno del volume della nanoparticella variabile rispetto al punto di integrazione, $\mathbf{r}'$ rappresenta il vettore posizione relativo al punto di integrazione, $\mathbf{r}$ è il vettore di posizione del punto di campo interno alla superficie.

Il vettore $\mathbf{u}_R{}' = (\mathbf{r}' - \mathbf{r})/|\mathbf{r}' - \mathbf{r}|$ rappresenta un vettore unitario orientato dal punto di campo al punto di sorgente. La diade di polarizzazione è simmetrica con traccia unitaria [15].

A titolo di esempio, in Figura 1.2 vengono mostrati i relativi vettori che concorrono alla definizione della diade di polarizzazione.

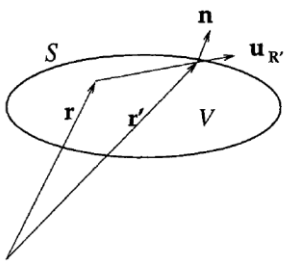


Figura 1.2: Esempio di geometria di integrazione per la determinazione della diade di depolarizzazione.

Molto spesso per la modellistica elettromagnetica e per le relative applicazioni in bioelettromagnetismo è di notevole importanza la risposta elettromagnetica delle strutture sotto una particolare condizione del campo incidente. Assumendo tipicamente il campo elettromagnetico incidente come un'onda piana avente il campo elettrico $\bar{E}$ parallelo ad un asse geometrico della nanoparticella è sufficiente valutare una sola compente scalare del fattore di depolarizzazione per la valutazione della risposta elettromagnetica.

In simili circostanze, per la risoluzione del problema elettromagnetico è d'interesse il calcolo di una sola componente scalare della diade di polarizzabilità e quindi il calcolo della seguente espressione:

$$\alpha_l = V\varepsilon_e \frac{\varepsilon_i - \varepsilon_e}{\varepsilon_e + L_l(\varepsilon_i - \varepsilon_e)} \overline{u_l}\overline{u_l} \tag{1.8}$$

essendo $\overline{u_l}$ il vettore unitario parallelo alla direzione di oscillazione del campo elettrico incidente.

Dalla valutazione dell'espressione della polarizzabilità è possibile agevolmente calcolare lo spettro di assorbimento (C_{abs}) e di diffusione (C_{sca}) sotto l'ipotesi di eccitazione elettromagnetica di tipo onda piana polarizzata con campo elettrico oscillante parallelamente all'asse $\overline{u_l}$ attraverso le seguenti espressioni [16]:

$$\begin{aligned} C_{abs} &= kIm[\alpha_l] \\ C_{sca} &= \frac{k^4}{6\pi}|\alpha_l|^2 \end{aligned} \tag{1.9}$$

dove $k = 2\pi n/\lambda$ è il numero d'onda, λ è la lunghezza d'onda del campo incidente e $n = \sqrt{\varepsilon_e}$ rappresenta l'indice di rifrazione del mezzo dielettrico circostante la nanoparticella. $Im[\alpha_l]$ rappresenta la parte immaginaria della polarizzabilità.

Lo spettro di estinzione della radiazione elettromagnetica (C_{ext}) può essere visto come la somma dei due processi di assorbimento e diffusione appena descritti e valutabile attraverso l'espressione $C_{ext} = C_{abs} + C_{sca}$.

Per la valutazione del comportamento elettromagnetico delle nanoparticelle secondo la procedura analitica appena descritta in [1] sono state analizzate le proprietà elettromagnetiche di nanoparticelle quali "*nanocube*" (Figura 1.3 a), "*nanorod*" (Figure 1.3 b) ed "*elliptical nanocylinder*" (Figura 1.3 c).

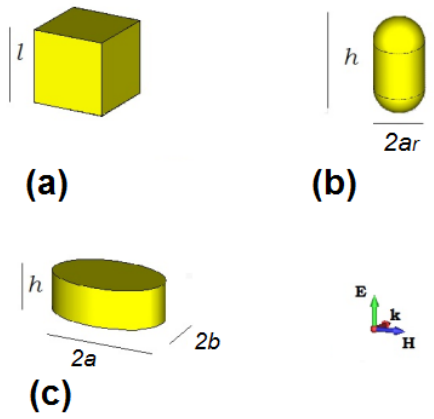


Figura 1.3: Geometria delle nanoparticelle d'oro considerate in [1]
con indicata la polarizzazione del campo elettromagnetico incidente.

Considerando questa tipologia di nanoparticelle ed il campo elettrico dell'onda piana incidente polarizzato secondo l'asse principale delle nanoparticelle come mostrato in Figura 1.3 si ricavano le seguenti espressioni per lo spettro di assorbimento delle stesse:

$$nanocube:$$

$$C_{abs} = \frac{2\pi}{\lambda}\sqrt{\varepsilon_e}\, l^3 \,\mathrm{Im}\left[\frac{\varepsilon_e\left(\varepsilon_i-\varepsilon_e\right)}{\varepsilon_e + L_{cube}\left(\varepsilon_i-\varepsilon_e\right)}\right]$$

$$nanorod:$$

$$C_{abs} = \frac{2\pi^2}{3\lambda}\sqrt{\varepsilon_e}\, a_r^2\left(4a_r+3h\right)\mathrm{Im}\left[\frac{\varepsilon_e\left(\varepsilon_i-\varepsilon_e\right)}{\varepsilon_e + L_{nanorod}\left(\varepsilon_i-\varepsilon_e\right)}\right] \tag{1.10}$$

elliptical cylinder:

$$C_{abs} = \frac{4\pi^2}{\lambda}abh\,\mathrm{Im}\left[\frac{\varepsilon_e\left(\varepsilon_i-\varepsilon_e\right)}{\varepsilon_e + L_{ellipticalcylinder}\left(\varepsilon_i-\varepsilon_e\right)}\right]$$

avendo posto:

$$L_{cube} = \frac{10\sqrt{2}\left(1-\frac{1}{\sqrt{2}}\right)\pi}{l}$$

$$L_{nanorod} = 1 - \frac{1}{\sqrt{1+\frac{a_r^2}{\left(a_r+\frac{h}{4}\right)^2}}}$$

$$L_{ellipticalcylinder} = \frac{1}{2}\left(1-\frac{h}{4\sqrt{a^2+\frac{h^2}{16}}}\right)\cdot \mathrm{E}\left[\frac{1}{1-\left(\frac{b^2}{a^2}\right)^2}-1\right] \tag{1.11}$$

Usando i modelli analitici proposti è possibile calcolare analiticamente la lunghezza d'onda di risonanza di tali strutture.

I modelli sono stati validati confrontando i risultati, per diverse configurazioni dei parametri geometrici, con i valori ottenuti con simulazioni numeriche (software CST) e valori sperimentali presenti nella letteratura tecnica [17,18].

I risultati ottenuti sono riportati nella Tabella 1.1 in cui è indicato il grado di concordanza tra i risultati in termini di errore relativo riscontrato tra i modelli proposti, le simulazioni numeriche e le misure sperimentali.

L'errore relativo tra il modello sviluppato ed i risultati delle simulazioni numeriche $\left(error_{analytical-numerical}\right)$ e tra il modello e le misure sperimentali $\left(error_{analytical-\mathrm{experimental}}\right)$ è stato calcolato attraverso le seguenti espressioni:

$$error_{analytical-numerical} = \frac{\lambda_{analytical} - \lambda_{numerical}}{\lambda_{numerical}}$$

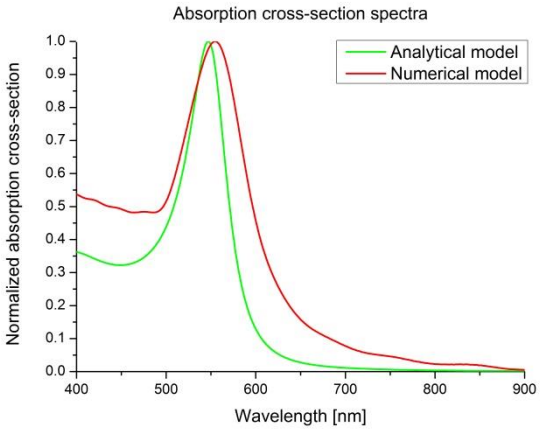
$$error_{analytical-experimental} = \frac{\lambda_{analytical} - \lambda_{experimental}}{\lambda_{experimental}} \tag{1.12}$$

Tabella 1.1: Comparazione della lunghezza d'onda di risonanza per le diverse tipologie di nanoparticelle [1] .

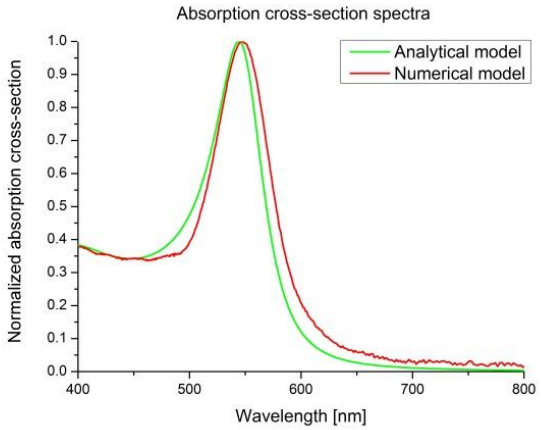
Nanoparticle geometry	**Size (nm)**	**Resonant wavelength (λ [nm])**			**Analytical - numerical error (%)**	**Analytical-experimental error (%)**
		Analytical values	**Numerical values**	**Experimental values [20-22]**		
Cube	l=30	510	570	532	10.53	4.13
	l=40	530	580	537	8.62	1.30
	l=55	560	595	547	5.88	2.38
	l=70	590	610	575	3.28	2.61
Nanorod	h=46 t=20.7	700	637	690	9.89	1.45
	h=61 t=21.5	740	703	760	5.26	2.63
	h=75 t=22.4	810	772	820	4.92	1.22
	h=89 t=22.2	900	853	890	5.51	1.12
	h=108 t=22.8	980	945	980	3.70	0
Elliptical cylinder	h=20 a=b=74	620	633	600	2.05	3.33
	h=20 a=b=92	660	669	640	1.34	3.12
	h=20 a=b=113	690	718	660	3.90	4.55
	h=20 a=b=137	740	776	710	4.63	4.22

In Figura 1.4 vengono riportati gli spettri di assorbimento delle nanoparticelle confrontando i risultati dei modelli analitici con le simulazioni di tipo numerico. In particolare in Figura 1.4(a) vengono riportati i risultati relativi alla tipologia "*nanocube*", in Figura 1.4(b) "*nanorod*" ed in Figura 1.4 (c) "*elliptical nanocylinder*".

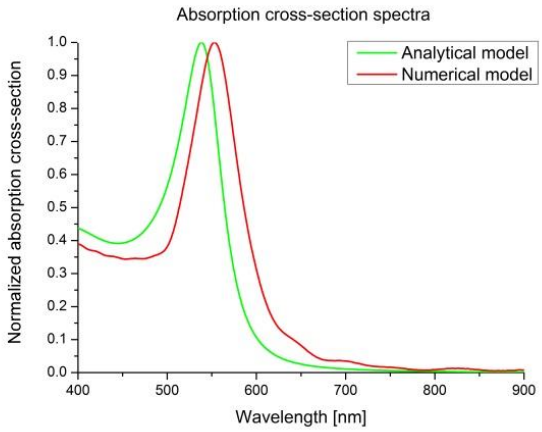
Si può osservare confrontando i grafici il buon grado di concordanza delle misure per le diverse tipologie di nanoaprticelle.



(a) Nanocube: l = 80 nm.



(b) Nanorod h = 40 nm, a_r =20 nm



(c) ellyptical cylinder con h = 20 nm, a = 40 nm, b = 20 nm

Figura 1.4: Spettri di assorbimento per nanoparticelle delle seguenti tipologie:

(a) nanocubue; ***(b)*** naorod; **(c)** ellyptical cylinder [1].

Ulteriori modelli elettromagnetici sono stati proposti per nanoparticelle di forma ellissoidale in [19] e di formica conica [20].

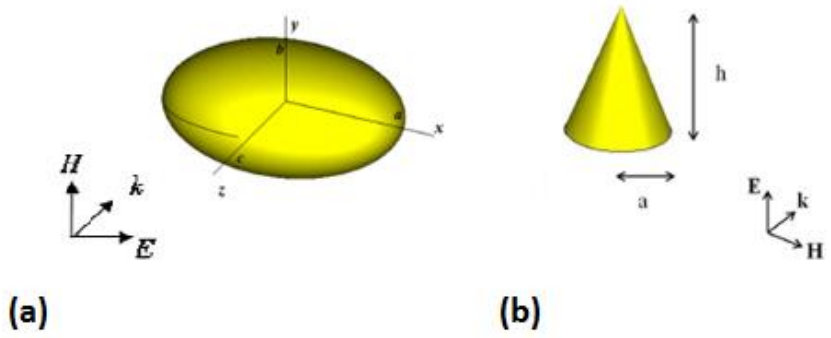


Figura 1.5: Geometria delle nanoparticelle d'oro: (a) tipologia ellissoidale considerate in [19] (b) tipologia conica [20] con indicata la polarizzazione del campo elettromagnetico incidente.

Seguendo la metodologia esposta, sono state ricavate le seguenti espressione per lo spettro di estinzione e di assorbimento delle stesse:

$$ellissoidale:$$

$$C_{abs} = \frac{2\pi}{\lambda}\sqrt{\varepsilon_e}\left(\frac{4\pi}{3}abc\right)\mathrm{Im}\left[\frac{(\varepsilon_i-\varepsilon_e)}{\left(L_{tri-axial}(\varepsilon_i-\varepsilon_e)+\varepsilon_e\right)}\right]$$

$$C_{sca} = \frac{\left(\frac{2\pi}{\lambda}\sqrt{\varepsilon_e}\right)^4}{6\pi}\left(\frac{4\pi}{3}abc\right)Abs\left[\frac{(\varepsilon_i-\varepsilon_e)}{\left(L_{tri-axial}(\varepsilon_i-\varepsilon_e)+\varepsilon_e\right)}\right]$$

$$nanoconi:$$

$$C_{abs} = k\frac{\pi h a^2}{3}\mathrm{Im}\left[\frac{\varepsilon_e(\varepsilon_i-\varepsilon_e)}{\varepsilon_e+L_{cone}(\varepsilon_i-\varepsilon_e)}\right]$$

$$C_{sca} = \frac{k^4}{6\pi}\left|\frac{\left(\frac{\pi h a^2}{3}\right)\varepsilon_e(\varepsilon_i-\varepsilon_e)}{\varepsilon_e+L_{cone}(\varepsilon_i-\varepsilon_e)}\right|^2 \qquad (1.13)$$

avendo posto:

$$L_{tri-axial} = \frac{7}{2\pi}\left(1 - \frac{\pi}{\sqrt{\frac{4b^2E(e^2)^2}{a^2} + \pi^2}}\right), \quad e = \sqrt{1 - \left(\frac{c}{b}\right)^2}$$

$$L_{cone} = \frac{1}{2}\left(1 - \frac{1}{\sqrt{4\frac{a^2}{h^2} + 1}}\right) \tag{1.14}$$

Anche in questo caso i modelli sono stati validati confrontando i risultati, per diverse configurazioni dei parametri geometrici, con i valori ottenuti attraverso simulazioni numeriche e valori sperimentali presenti nella letteratura tecnica.

I risultati ottenuti sono riportati nelle Tabelle 1.2 e 1.3, in cui è indicato il grado di concordanza tra i risultati in termini di errore relativo riscontrato tra i modelli proposti, le simulazioni numeriche e le misure sperimentali, rispettivamente per le nanoparticelle di tipologia ellissoidale e conica.

Tabella 1.2 : Comparazione della lunghezza d'onda di risonanza per la nanoparticella di tipologia ellissoidale ottenuta con il modello analitico, risultati numerici e valori sperimentali riportati nella letteratura tecnica *(b=55nm c=50nm)* [19].

Size [nm]	**Resonant wavelength (λ [nm])**			**Analytical -numerical error (%)**	**Analytical -experimental error (%)**
	Analytical values	**Numerical values**	**Experimental values [20]**	$\frac{\lambda_{analytical} - \lambda_{numerical}}{\lambda_{numerical}}$	$\frac{\lambda_{analytical} - \lambda_{experimental}}{\lambda_{experimental}}$
a=120	625	634	640	1.42	2.34
a=130	660	674	650	2.10	1.54
a=150	740	760	740	2.63	0
a=180	870	880	850	4.66	3.53

Tabella 1.3 : Comparazione della lunghezza d'onda di risonanza per la nanoparticella di tipologia conica ottenuta con il modello analitico, risultati numerici e valori sperimentali riportati nella letteratura tecnica [20].

Particle	Size[nm]	Resonant wavelength (λ [nm])			E_{a-n}(%)	E_{a-e}(%)
		Analytical values	Numerical values	Experimental Values [15 e 27 conical]		
gold	a=45, h=25	540	570	550	5.263	1.818
	a=45, h=50	560	590	570	5.085	1.754
	a=45, h=100	620	650	610	4.615	1.639
silver	a=28, h=93	650	670	650	2.985	0
	a=46, h=100	580	600	586	3.333	1.024
	a=70, h=115	582	610	588	4.590	1.020

1.1.2 BOUNDARY ELEMENT METHOD APPROACH

Quando le dimensioni delle strutture sono molto più piccole della lunghezza d'onda della radiazione incidente è possibile utilizzare l'approssimazione quasi – statica. Il campo elettrico può allora essere espresso attraverso il potenziale scalare utilizzando la permittività elettrica complessa funzione della frequenza $\varepsilon(\omega)$.

Infatti partendo dalle equazioni di Maxwell scritte nel dominio della frequenza, si ha:

$$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho \tag{1.15}$$
$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0 \tag{1.16}$$
$$\nabla \times \mathbf{E} = -j\omega\mathbf{B} \tag{1.17}$$
$$\nabla \times \mathbf{H} = j\omega\mathbf{D} + \mathbf{J} \tag{1.18}$$

Tenendo presente:

$$\mathbf{D} = \varepsilon(\omega)\mathbf{E} \tag{1.19}$$
$$\mathbf{B} = \mu_0\mathbf{H} \tag{1.20}$$

l'equazione 1.17, per la 1.20 può essere riscritta come:

$$\nabla \times \mathbf{E} = -j\omega\mu_0\mathbf{H} \tag{1.21}$$

La determinazione del campo è resa più agevole dall'introduzione di funzioni potenziali, cioè di funzioni da cui il campo può dedursi con operazioni di derivazione. Prendendo la divergenza di ambo i membri della 1.21 si ottiene:

$$\nabla \cdot \mathbf{H} = 0 \tag{1.22}$$

da cui si deduce:

$$\mathbf{H} = \nabla \times \mathbf{A} \tag{1.23}$$

dove $\mathbf{A}$ prende il nome di potenziale vettore. La 1.21 tenuto conto della 1.23 diviene:

$$\nabla \times \mathbf{E} = \nabla \times (-j\omega\mu_0\mathbf{A}) \tag{1.24}$$

Poiché due vettori che hanno lo stesso rotore possono differire solo per il gradiente di una funzione scalare, si può scrivere:

$$\mathbf{E} = -j\omega\mu_0\mathbf{A} - \nabla\phi \tag{1.25}$$

ϕ è una funzione scalare arbitraria che prende il nome di potenziale scalare.
La 1.23 e la 1.25 permettono di calcolare il campo elettromagnetico una volta note le funzioni $\mathbf{A}$ e ϕ. E' necessario determinare l'equazioni che le due funzioni devono soddisfare. Effettuando la divergenza di ambo i membri della 1.25 si ottiene:

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = -j\omega\mu_0(\nabla \cdot \mathbf{A}) - \nabla^2\phi \tag{1.26}$$

Rammentando che del vettore $\mathbf{A}$ sono stati scelti solo i vortici e resta arbitraria la sua divergenza, in virtù della condizione di Lorenz si può assumere:

$$\nabla \cdot \mathbf{A} = -j\omega\varepsilon(\omega)\phi \tag{1.27}$$

Tenendo conto che per le 1.15 e 1.19 si ha $\nabla \cdot \mathbf{E} = \frac{\rho}{\varepsilon(\omega)}$ sostituendo la 1.27 nella 1.26 si ha:

$$\nabla^2 \phi + \omega^2 \mu_0 \varepsilon(\omega) \phi = -\frac{\rho}{\varepsilon(\omega)} \tag{1.28}$$

Ponendo $k^2 = -\omega^2 \mu_0 \varepsilon(\omega)$ l'equazione 1.28 diviene:

$$\nabla^2 \phi - k^2 \phi = -\frac{\rho}{\varepsilon(\omega)} \tag{1.29}$$

e l'equazione 1.25 assume la forma:

$$\mathbf{E} = j \frac{k^2}{\omega \varepsilon(\omega)} \mathbf{A} - \nabla \phi \tag{1.30}$$

Considerando che le nanoparticelle sono molto più piccole della lunghezza d'onda del campo ottico incidente è lecito assumere che gli elettroni di conduzione della nanoparticella vedano lo stesso valore di campo in un determinato istante di tempo t.

In tali circostanze l'espressione 1.29 diviene:

$$\nabla^2 \phi = -\frac{\rho}{\varepsilon(\omega)} \tag{1.31}$$

e l'espressione 1.30 assume la seguente forma:

$$\mathbf{E} = -\nabla \phi \tag{1.32}$$

La soluzione dell'equazione di Poisson 1.31 quando la densità di carica è rappresentata dalla funzione di Dirac, con opportune condizioni al contorno, è data dalla funzione di Green.

$$\nabla^2 G(\mathbf{r} - \mathbf{r}') = -\frac{\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}')}{\varepsilon(\omega)} \tag{1.33}$$

La funzione di Green per lo spazio libero risulta:

$$G(\mathbf{r} - \mathbf{r}') = \frac{1}{4\pi\, \varepsilon(\omega) |\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \tag{1.34}$$

Se il mezzo non è omogeneo, si consideri il caso di una particella *nanocube* (Figura 1.6), questa equazione ancora soddisfa in ciascuna regione del mezzo l'equazione di Laplace, tuttavia, bisogna soddisfare le condizioni al contorno. L'idea del metodo BEM (Boundary Element Method) è quella di determinare una distribuzione di carica artificiale al confine tra i due mezzi in modo da soddisfare le condizioni al contorno [21].

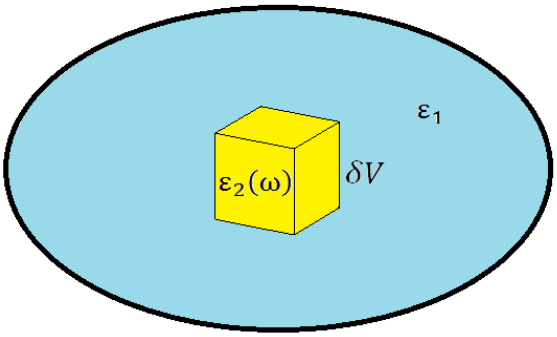


Figura 1.6: Mezzo non omogeneo in cui le due regioni di discontinuità (indicate come mezzo 1 e mezzo2) sono separate da una superficie caratterizzata da una distribuzione di carica σ [22]

Imponendo le condizioni al contorno in questo scenario secondo l'approccio riportato in [23] è possibile valutare il potenziale scalare del mezzo non omogeneo attraverso la seguente espressione:

$$\varphi(\mathbf{r}) = \int_{\delta V} G_j(\mathbf{r}-\mathbf{s}')\sigma_j(\mathbf{s}')d\mathbf{s}' + \int G_j(\mathbf{r}-\mathbf{r}')\rho(\mathbf{r}')d\mathbf{r}' \tag{1.35}$$

dove σ rappresenta la distribuzione di carica alla frontiera di discontinuità (δV) determinata dalla condizione di continuità della componente tangenziale del campo elettrico e della componente normale del vettore di spostamento elettrico, $\mathbf{s}'$ indica il vettore posizione della carica artificiale alla frontiera di discontinuità (δV).

L'espressione 1.35 può essere convertita da un'espressione integrale ad una sommatoria discreta [24]. In particolare, è possibile discretizzare il contorno della superficie in piccoli elementi j e per ogni valore dell'indice corrente si assume che la carica superficiale sia localizzata al centro dell'elemento di superficie. In questo modo è possibile valutare numericamente la distribuzione di carica σ a partire dalla conoscenza del campo incidente e conseguenzialmente determinare la distribuzione di campo elettrico e gli spettri di assorbimento ed estinzione della nanoparticella.

Nel lavoro [22] è stata considerata una nanoparticella di tipologia *nanocube* per cui sono stati confrontati i risultati ottenuti confrontando l'approccio di tipo *BEM* con le simulazioni di tipo full-wave per la determinazione dello spettro di estinzione. Si può osservare (Figura 1.7) come la lunghezza d'onda di risonanza, ricavata con entrambi gli approcci sia del tutto similare. Le differenze in ampiezza possono essere associata alla differente discretizzazione (tra i due apprrocci) dei punti spigolosi della nanoparticella.

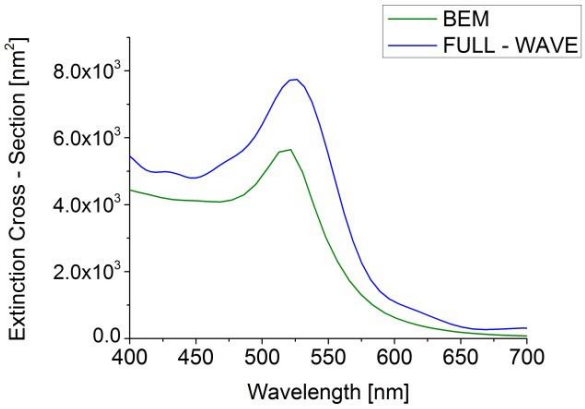


Figura 1.7: Spettri di estinzione valutati con l'approccio di tipo BEM e attraverso simulazioni numeriche di tipo full-wave per nanocube con $(l = 50nm)$.

E' stata altresì valutata la distribuzione di campo elettrico alla lunghezza d'onda di risonanza (Figura 1.8).

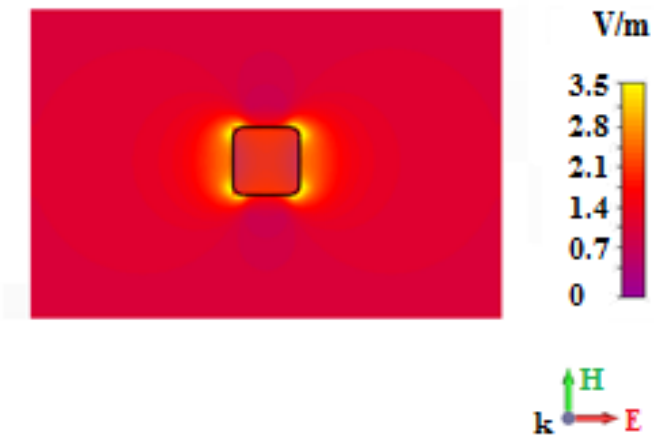


Figura 1.8: Distribuzione locale del campo elettrico per una nanoparticella *nanocube* $(l = 50nm)$.
L'ampiezza incidente del campo elettrico ha valore di 1 V/m.

In figura 1.8 si evince chiaramente la distribuzione dipolare delle cariche in accordo all'approccio quasi-statico operato.

1.2 APPLICAZIONI BIOELETTROMAGNETICHE PER IL RILEVAMENTO DI TESSUTI E COMPOSTI ORGANICI

Una delle prospettive offerte dalle nuove tecniche di nanolitografia è la possibilità di riuscire a sintetizzare nanoparticelle disponendole, con elevata risoluzione spaziale, in maniera ordinata (matrice bidimensionale) su un substrato di silicio [25]. Ciò rende possibile e di grande interesse la possibilità di utilizzare tali dispositivi come sensori bioelettromagnetici [26].

Infatti è ben noto [26], come cambiamenti dell'ambiente dielettrico circostante la nanoparticella comportino la variazione della lunghezza d'onda di risonanza della stessa.

La letteratura tecnica riporta una serie di misurazioni che evidenziano come a variazione dei parametri dielettrici (indice di rifrazione) di un campione in esame possano corrispondere diverse concentrazioni di un determinato composto in soluzione acquosa [27] oppure possano essere identificate diverse condizioni di un tessuto [28].

Si può quindi ipotizzare uno schema (Figura 1.9) in cui la radiazione elettromagnetica interagisce con il sensore (costituito da una matrice di nanoparticelle su substrato dielettrico, riportato in grigio) posto a diretto contatto con il campione sotto esame (riportato in verde).

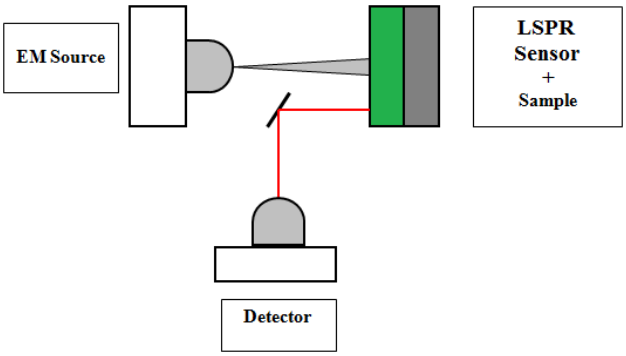


Figura 1.9: Schema del processo di biorilevamento di un campione.

In tali condizioni operative la risposta elettromagnetica, intesa come spettro di estinzione della radiazione, mostra una risposta differenziale al variare delle caratteristiche dielettriche del mezzo sotto esame a cui possono essere correlate differenti informazioni dal punto di vista biologico.

Poiché le variazioni dei parametri dielettrici di tessuti e composti organici sono molto piccole, l'obiettivo dell'attività di ricerca è stato quello di studiare e progettare dispositivi che permettano la massimizzazione della sensibilità sfruttando diversi meccanismi di intensificazione del fenomeno risonante.

1.2.1 NANOPARTICELLE NON SFERICHE E PRESTAZIONI DI SENSIBILITA'

Dal punto di vista bioelettromagnetico una delle possibilità per il rilevamento di tessuti e composti organici utilizzando nanoparticelle è quello di sfruttare la variazione della lunghezza d'onda di risonanza al variare dell'indice di rifrazione del mezzo che circonda la particella stessa. A tal fine si definisce un parametro estremamente importante denominato sensibilità. La sensibilità viene espressa come la variazione della lunghezza d'onda di risonanza ($\Delta\lambda$) corrispondente ad

una variazione (Δn) dell'indice di rifrazione del mezzo circostante secondo la seguente formula:

$$S = \frac{\Delta\lambda}{\Delta n} \tag{1.36}$$

ed è dimensionalmente espressa in nm/RIU (Refractive Index Unit).

E' evidente che a valori di sensibilità elevati corrisponde la possibilità di riuscire a discriminare due linee spettrali per piccole variazioni dell'indice di rifrazione del mezzo circostante. Questa caratteristica è molto importante in quanto dal punto di vista biologico diversi stadi di un tessuto e/o concentrazione di composti organici si riflettono in piccole differenze del valore dell'indice di rifrazione.

Si può quindi pensare, che dispositivi diagnostici ultrasensibili (che richiedono dei campioni biologici dalle dimensioni estremamente ridotte *nm*) possano utilizzare la variazione della lunghezza d'onda di risonanza delle nanoparticelle (a contatto con campioni organici) come parametro di biorilevamento.

Uno dei parametri importanti che influenza la sensibilità delle nanoparticelle è proprio la forma geometrica delle stesse. In [1,29] sono state confrontate nanoparticelle di diversa tipologia (nanocube, elliptical cylinder e nanorod) da cui è emerso come il tipo *nanorod* risulti altamente sensibile [Tabella 1.4].

Tabella 1.4: Comparazione della sensibilità valutata attraverso modelli analitici, risultati numerici e valori sperimentali [1]

Nanoparticles	**Sensitivity (nm/RIU)**		
	Analytical sensitivity	Numerical sensitivity	Experimental sensitivity
Cube	220	194	165
Elliptical cylinder	300	281	327
Nanorod	660	490	650

Ulteriori analisi di sensibilità sono state condotte su nanoparticelle di forma ellissoidale [19] e conica [20]. La sensibilità è stata valutata per variazioni di indice di rifrazione compre tra 1 e 3 (tipici valori assunti dai composti in/organici e tessuti). In Figure 1.10 e 1.11 vengono riportati esempi relativi ai risultati di sensibilità per nanoparticelle rispettivamente di forma ellissoidale e conica.

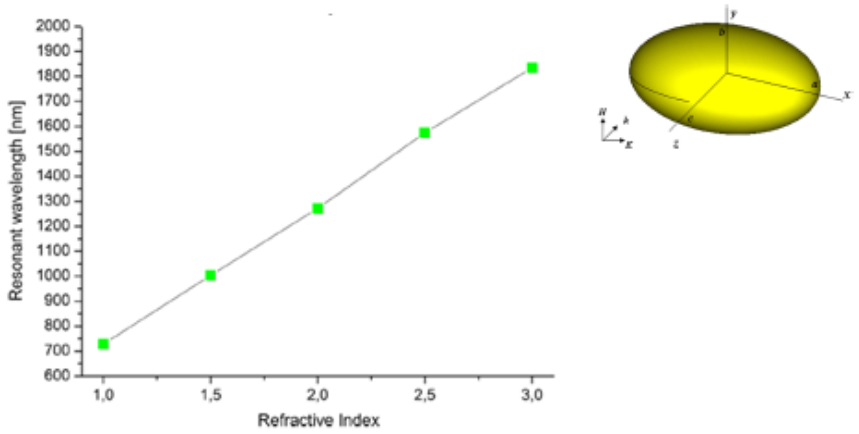


Figura 1.10: Variazione della lunghezza d'onda di risonanza in funzione delle variazioni di indice di rifrazione del mezzo circostante la nanoparticella di forma ellissoidale [19]. La sensibilità è pari a 450nm/RIU avendo assunto *a=63nm; b=c=13nm.*

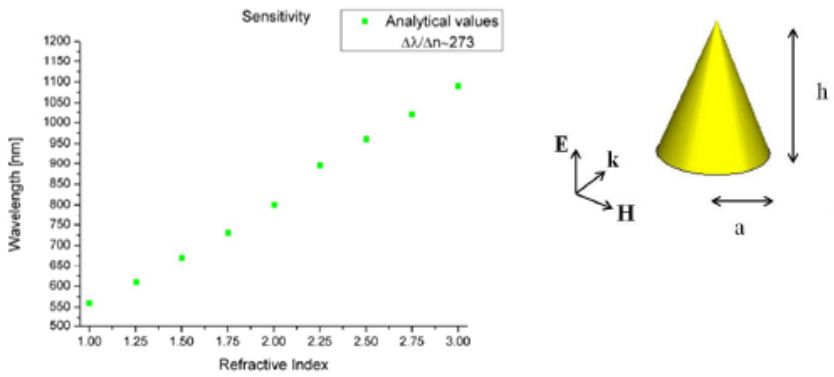


Figura 1.11: Variazione della lunghezza d'onda di risonanza in funzione delle variazioni di indice di rifrazione del mezzo circostante la nanoparticella di forma conica [20]. La sensibilità è pari a 273nm/RIU avendo assunto *a=h=20nm.*

Si può osservare la linearità della risposta elettromagnetica nell'intervallo di interesse per entrambe le tipologie di nanoparticelle.

1.2.2 MECCANISMI DI INTENSIFICAZIONE DELLA RISPOSTA ELETTROMAGNETICA PER APPLICAZIONI DI BIORILEVAMENTO

Uno degli aspetti più importanti per le applicazioni biomedicali basate su nanoparticelle è la massimizzazione della sensibilità delle stesse alle variazioni delle caratteristiche del mezzo circostante che possono corrispondere a diverse caratteristiche del composto con cui sono a contatto. Per tale fine, nello sviluppo delle ricerche, sono state studiate e progettate diverse soluzione tecnologiche in grado di sfruttare diversi meccanismi di intensificazione della risposta elettromagnetica [26] ed in particolare sono state proposte:

- piattaforme basate sull'accoppiamento di nanoparticelle;
- piattaforme basate su nanoparticelle multi-strato;
- piattaforme basate su nanoparticelle multi-risonanti.

Ciascuna di queste soluzioni tecnologiche sono oggetto dei successivi paragrafi.

1.2.2.1 PIATTAFORME BASATE SULL'ACCOPPIAMENTO DI NANOPARTICELLE

In [30] è stato proposto un dispositivo costituito da una catena lineare di nanoparticelle di forma cubica risonante nello spettro della radiazione elettromagnetica Visibile (Figura 1.12).

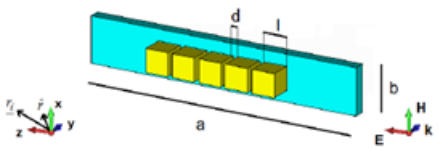


Figura 1.12: Geometria della catena lineare di nanocube deposte su substato di silicio con *a=500nm, b=100nm*, *l=50nm*, *l/8<d<l*, *spessore silicio=20nm*.

E' stata studiata la risposta spettrale al variare della distanza interparticellare (L/8<d<L) mantenendo fissa la dimensione dei *nanocube* (L=50nm). I risultati ottenuti sono osservabili in Figura 1.13 in cui si evince una magnificazione dello spettro di estinzione (somma dei contributi di diffusione e assorbimento) per distanze interparticellari ridotte.

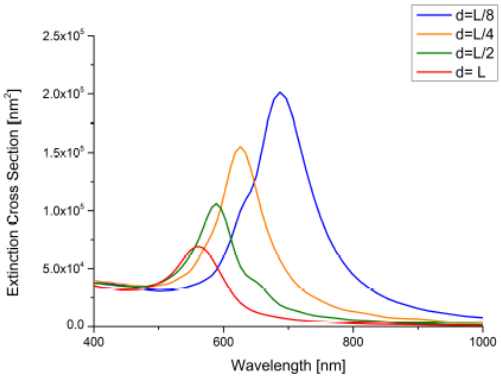


Figura 1.13: Spettro di estinzione della catena lineare di *nanocube* al variare della distanza interparticellare *d*.

Per descrivere analiticamente questa intensificazione dello spettro è stata sviluppata a partire dalle analisi riportate in [31] la seguente formula:

$$\mathcal{F}(\theta,\phi)=\sum_{i=1}^{N}\left(a_i+\sum_{\substack{k=1\\k\neq i}}^{N}c_{ik}\right)e^{j\frac{2\pi}{\lambda}\underline{r_i}\cdot\hat{r}} \tag{1.37}$$

dove a_i è il coefficiente di eccitazione del singolo elemento della catena e c_{ik} rappresenta il coefficiente di accoppiamento tra l'i-esimo e il k-esimo elemento della catena. Tale coefficiente dipedende dalla distanza tra le particelle. In particolare esiste una proporzionalità inversa tra la distanza delle particelle e il coefficiente c_{ik} che spiega i risultati numerici riportati in Figura 1.13.

Ulteriori approfondimenti su tale dispositivo sono stati riportati in [22]. Infatti si è osservato che, variando la spaziatura degli elementi che compongono la catena, il dispositivo si presta sia ad applicazioni di tipo medico che optoelettroniche (ad esempio per celle solari). In particolare è stato valutato il relativo contributo di assorbimento e diffusione per diverse distanze interparticellari, come riportato nella tabella a seguire:

Tabella 1.5: Efficienza di difussione ed assorbimento al variare della distanza interparticellare [22].

Inter-particle distance	**Scattering efficiency**	**Absorption efficiency**
l/8	0.83	0.17
l/4	0.76	0.24
l/2	0.61	0.39
l	0.43	0.57

Dai risultati si può osservare che per distanze interparticellari comparabili con la dimensione dei *nanocube* stessi il contributo di assorbimento è prevalente rispetto a quello di diffusione (Figura 1.14 A) e ciò può essere di grande interesse per la realizzazione di layer ad esempio per celle solari mentre per distanze interparticellari ridotte il contributo prevalente è quello di diffusione (Figura 1.14 B) e ciò può essere sfruttato per il progetto di sensori di biorilevamento. In tali applicazioni si preferisce ridurre l'assorbimento che, essendo responsabile del surriscaldamento delle strutture, può innescare errori di misura e/o degradare il campione biologico.

Le relative distribuzioni di campo elettrico (Figura 1.14 C-D) ottenute per le differenti distanze interparticellari confermano il maggior confinamento di campo per *d=L* e una sua maggiore diffusione per *d=L/8*.

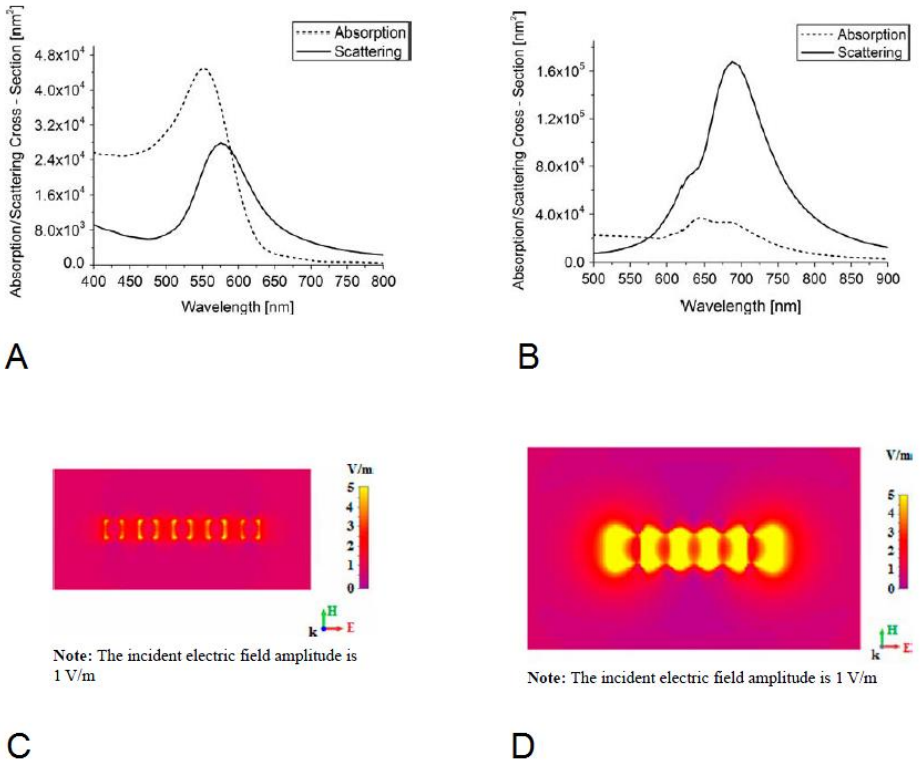


Figura 1.14: Spettro di assorbimento e diffusione della catena lineare di *nanocube* con relativo monitor di campo rispettivamente per: A-C) d=*l=50nm*; B-D) d=*l/8.*

Per applicazioni bioelettromagnetiche del dispositivo si considera lo schema riportato in Figura 1.9 in cui si suppone il dispositivo in diretto contatto con il campione biologico. Nelle simulazioni elettromagnetiche, per il campione biologico sono stati assunti valori presenti nella letteratura tecnica relative a misure su tessuto mammario adiposo e neoplastico di ratti riportate in [28] che risultano:

Tabella 1.6: Valori medi di indice di rifrazione ricavati per differenti tessuti mammari di ratti [28].

Tissue type	**Refractive index (mean value)**
Tumor	1.39
Adipose	1.467

Lo spettro di estinzione ricavato con i diversi valori dell'indice di rifrazione corrispondenti ai due diversi tipi di tessuto sono riportati in Figura 1.15.

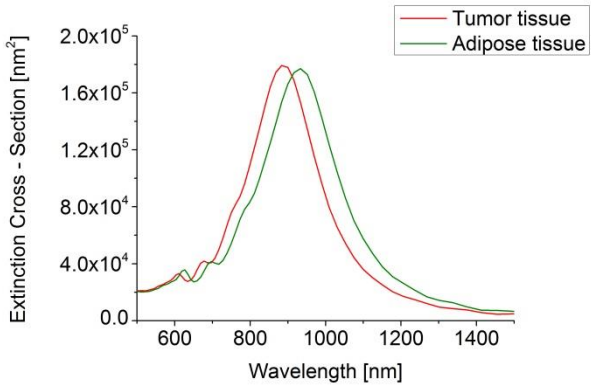


Figure 1.15: Spettro di estinzione del dispositivo costituito dalla catena lineare di nanocube per tessuto mammario neoplastico $(RI = 1.39)$ e tessuto adiposo $(RI = 1.467)$ [22].

Un altro studio ha riguardato il progetto di un array planare di nanoparticelle di tipologia *nanorod* [32]. La cella unitaria del sensore è riportata in Figura 1.16.

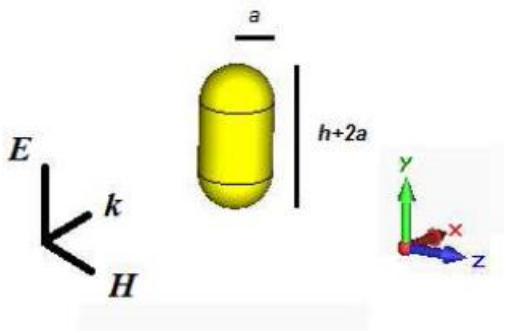


Figura 1.16: Cella unitaria del sensore costituita da un array planare di nanoaparticelle ti tipo *nanorod* [3].

Considerando lo schema riportato in Figura 1.9, si è supposto il campione in esame costituito da differenti concentrazioni di glucosio in soluzione acquosa in accordo ai valori misurati riportati in [27].

Lo spettro di diffusione ricavato con i diversi valori dell'indice di rifrazione corrispondente a differenti concentrazioni di glucosio sono riportati in Figura 1.17.

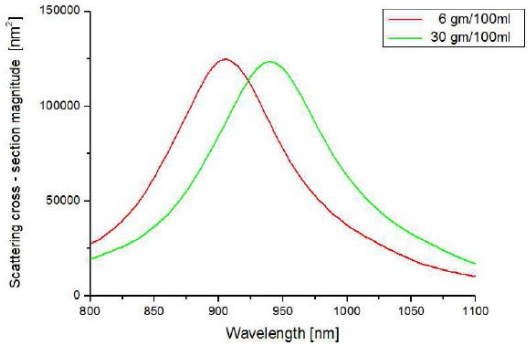


Figura 1.17: Spettro di diffusione valutato per differenti concentrazioni di glucosio.

In un ulteriore approfondimento su array di nanoparticelle di forma conica in [20] è stato riportata la possibilità di utilizzare tale dispositivo per il rilevamento di modifiche relative alla conformazione geometrica di globuli rossi (corrispondenti a diversi patologie del sangue) ottenendo i risultati riportati in Figura 1.18.

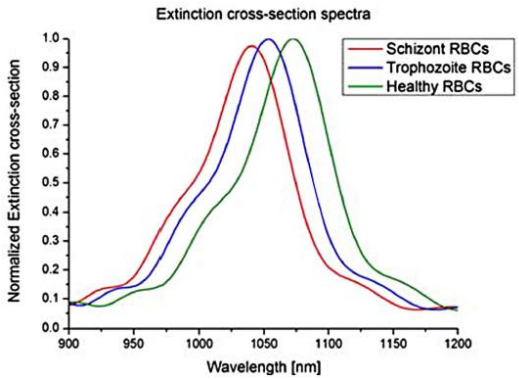


Figura 1.18: Spettro di diffusione per differenti cambiamenti strutturale dei globuli rossi [15].

Nella continua ricerca di strumenti diagnostici ultra-sensibili per il rilevamento di composti organici, in [33] è stato proposto un sensore basato su nanoparticelle biconiche per il rilevamento della concentrazione di emoglobina in soluzione liquida (Figura 1.19). L'emoglobina è una proteina contenente quattro atomi di ferro, fondamentali per il trasporto dell'ossigeno dai polmoni ai vari tessuti corporei. La stessa molecola, inoltre, si fa carico di veicolare una parte

dell'anidride carbonica dai tessuti che l'hanno prodotta ai polmoni. Valori alti e bassi rispetto alla norma di tale proteina si proiettano in valori alti e bassi dell'ematocrito che possono essere molto pericolosi: valori elevati sono associati ad un sangue troppo denso e che di conseguenza incontra maggiori difficoltà nel suo percorso. Il cuore, in tali condizioni, deve quindi contrarsi con forza maggiore per vincere le resistenze periferiche ed imprimere al sangue una notevole pressione. Per questo motivo un ematocrito troppo alto può peggiorare patologie cardiache preesistenti e vincere la resistenza dei vasi causando, per esempio, una pericolosissima emorragia cerebrale. Un elevato ematocrito favorisce anche la formazione di coaguli di sangue (trombi), che possono andare ad occludere vasi importanti, con tutte le conseguenze negative del caso (infarto e ictus nei casi più gravi). Al contempo un basso valore di ematocrito può portare pallore, debolezza, cefalea, diminuzione della vista, malessere e facile affaticamento.

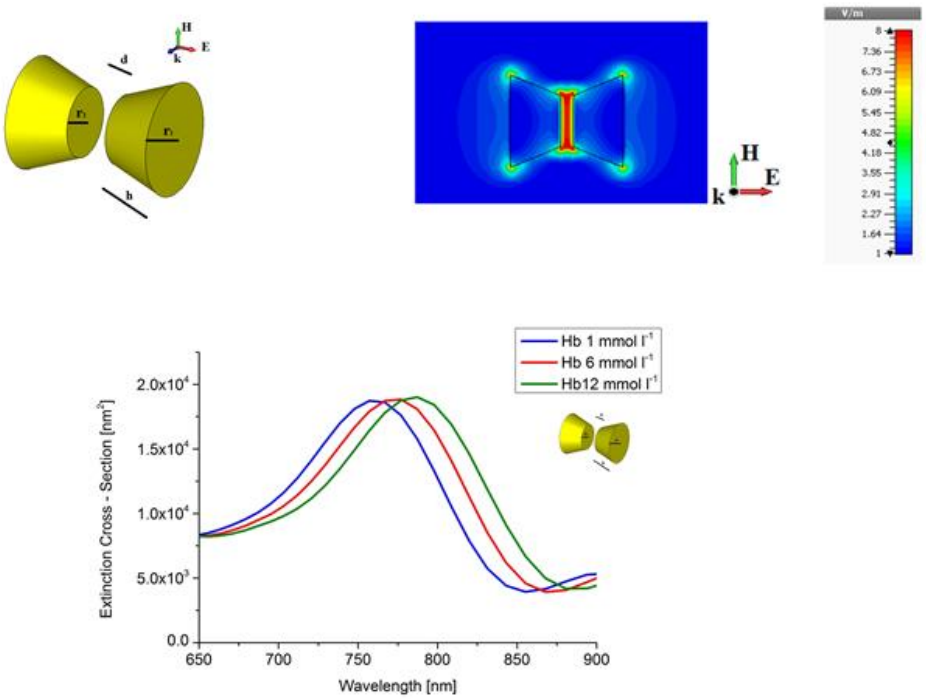


Figura 1.19: Geometria della nanoparticella biconica con r_1=40nm; r_2=25nm; d=10nm; h=40nm ; distribuzione di campo elettrico alla pulsazione di risonanza; spettro di estinzione per differenti concentrazioni di emoglobina in soluzione liquida.

Altri sforzi di ricerca hanno riguardato il progetto di una piattaforma in grado di valutare l'accrescimento di colesterolo presente sulla membrana cellulare che è un indice di pre-cancerogenesi. Tuttavia la permettività dielettrica della membrana cellulare mostra solo minimali variazioni al variare delle quantità di colesterolo presenti. Si è reso necessario quindi lo sviluppo di una piattaforma ultra-sensibile in questo caso costituita da una catena lineare di nanoparticelle biconiche [34] la cui geometria è riportata in Figura 1.20A. La distribuzione di campo elettrica ottenuta alla frequenza di risonanza (Figura 1.20B) mostra come vi sia un effetto di mutuo accoppiamento tra le nanoparticelle che ha reso possibile il rilevamento di modestissime variazioni nel contenuto cellulare del colesterolo (Figura 1.20C).

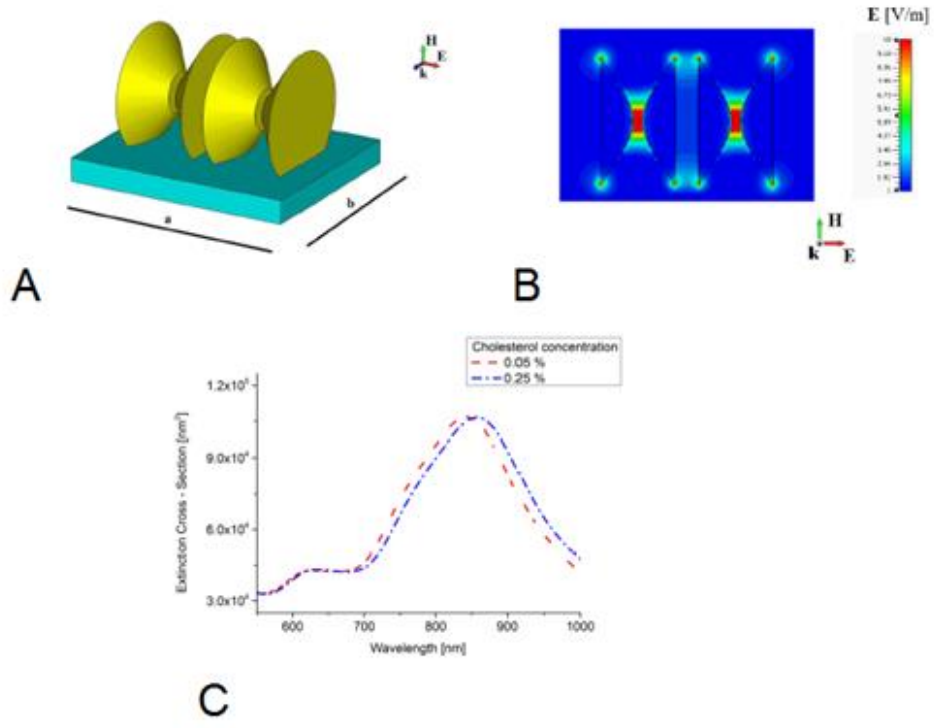


Figura 1.20: A) Geometria della catena lineare di nanoparticelle biconiche con *a=290nm; b=240nm;* r_1*=80nm*; r_2*=25nm; h=40nm;* B) distribuzione del campo elettrico alla frequenza di risonanza con ampiezza del campo incidente di 1V/m; C) spettro di estinzione del sensore per differenti concentrazioni di colesterolo della membrana lipidica.

Altresì, in [35] è stata studiata la possibilità di utilizzare un array planare di nanoparticelle di forma ottagonale per rilevare differenti tipi di tessuti mediante misure di indice di rifrazione (Figura 1.21).

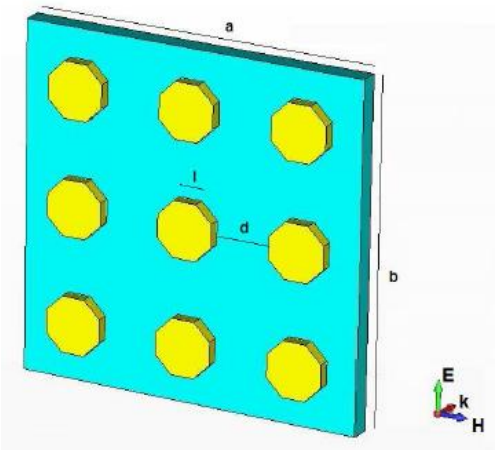


Figura 1.21: Schematizzazione del sensore con *a=b=1800nm; l=100nm; d=290nm*.

Il sensore si è dimostrato idoneo a discriminare con sufficiente risoluzione due tessuti differenti (adiposo e neoplastico) come riportato nello spettro di estinzione di Figura 1.22.

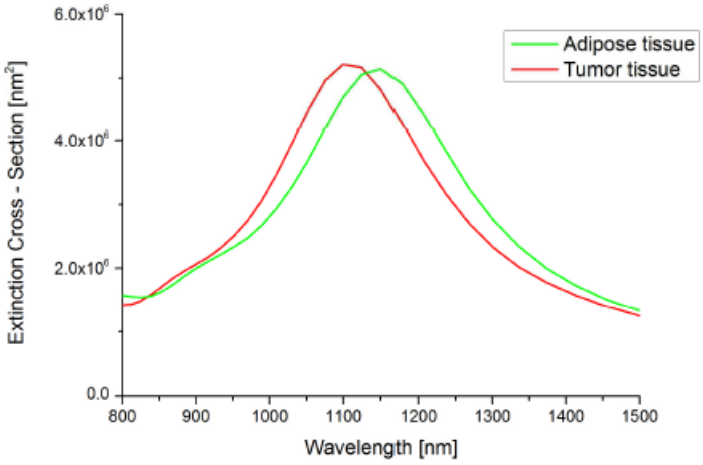


Figura 1.22: Spettro di estinzione del dispositivo costituito da una matrice di nanoparticelle di forma ottogonale per tessuto mammario neoplastico $(RI = 1.39)$ e tessuto adiposo $(RI = 1.467)$ di ratto [35].

Allo scopo di massimizzare la sensibilità dei sensori, parametro essenziale per il biorilevamento, in [36] è stato proposto un sensore plasmonico costituito da nanoparticelle di tipologia diverse in grado di operare con due differenti

polarizzazioni del campo incidente. Il sensore è costituito da nanocilindri in configurazione ad X con quattro nanolune come rappresentato in Figura 1.23.

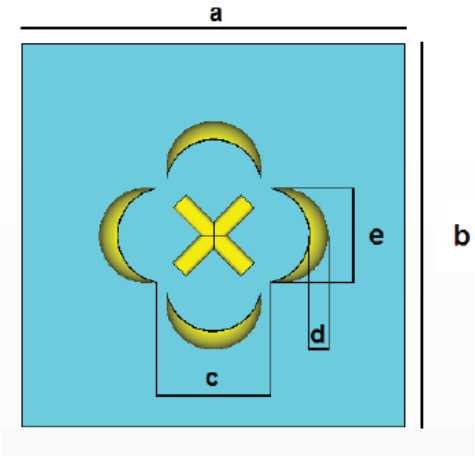


Figura 1.23: Piattaforma di rilevamento con *a=b=400nm; c=120nm; d=20nm; e=100 nm; raggio nanocilindro=10nm; lunghezza nanocilindro=100nm; spessore nanolune=60nm*.

Le distribuzioni di campo elettrico ottenute alle lunghezza d'onda di risonanza per le due polarizzazioni di interesse sono riportate in Figura 1.24.

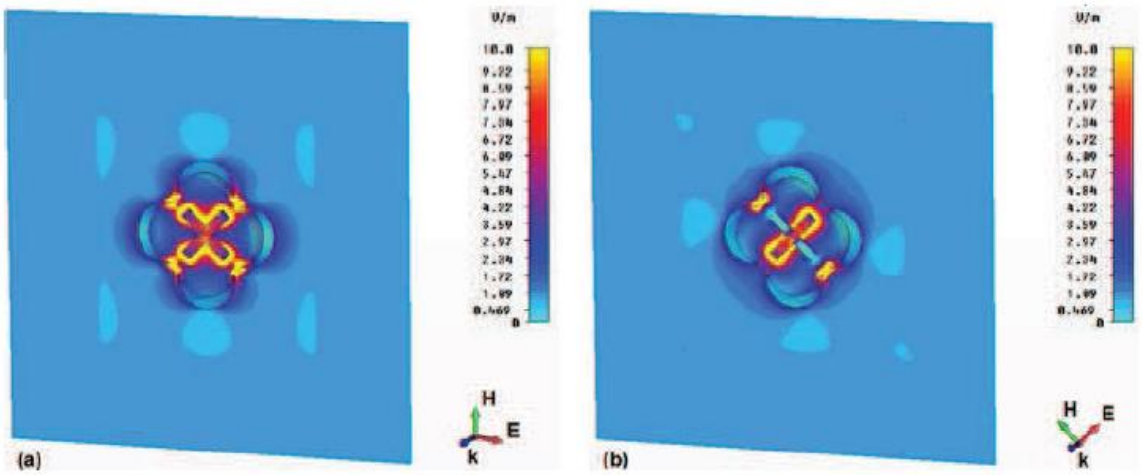


Figura 1.24: Distribuzione di campo elettrico sulla superficie del sensore alla lunghezza d'onda di risonanza per due differenti polarizzazioni del campo incidente (a-b). L'ampiezza del campo elettrico incidente è di 1V/m.

I risultati di sensibilità riportati in [36] mostrano come la configurazione di Figura 1.24 (b) permetta di raggiungere una sensibilità di 636nm/RIU rispetto alla configurazione di Figura 1.24 (a) in cui si ottiene il valore di 285nm/RIU. Il maggior

valore di sensibilità è stato associato alla forte intensificazione del campo elettrico tra i punti angolosi delle nanolune.

Approfondendo l'analisi di tali strutture che permettono un'elevata focalizzazione del campo elettromagnetico incidente è stata proposta in [37] una configurazione costituita da una nanosfera e due nanolune. Lo scopo è stato quello di combinare l'elevata sensibilità ottenuta nello schema precedente con una geometria le cui prestazioni siano più indipendenti dalla polarizzazione del campo incidente. I risultati ottenuti in termini di distribuzione di campo elettrico alla lunghezza d'onda di risonanza e spettro di estinzione per due differenti tipologie di tessuto sono riportati Figura 1.25.

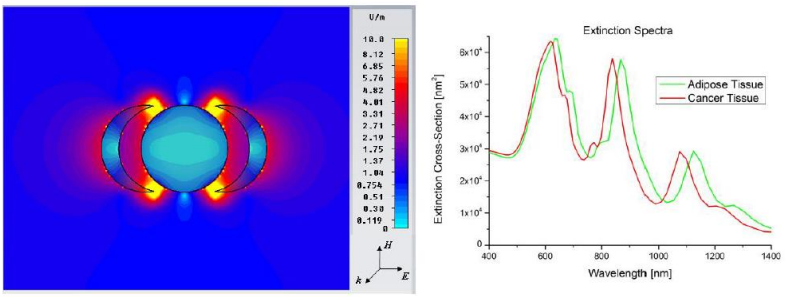


Figura 1.25: Geometria, distribuzione del campo elettrico e spettro di estinzione del sensore ricavato per tessuto mammario neoplastico $(RI = 1.39)$ e tessuto adiposo $(RI = 1.467)$ di ratto [37].

Gli ulteriori sviluppi delle tecniche di sintesi delle nanoparticelle hanno spinto le attività di ricerca verso lo studio di nanoparticelle multi-strato per verificare la possibilità d'impiego per migliorare la sensibilità delle piattaforme di biorilevamento.

Nel paragrafo che segue vengono riportati i risultati di ricerca in quest'ambito ferma restando la possibilità di combinare nanoparticelle multi-strato nelle stesse configurazioni ad accoppiamento fin qui proposte.

1.2.2.2 PIATTAFORME BASATE SU NANOPARTICELLE MULTI-STRATO

Le attività di ricerca relative allo studio di piattaforme basate su nanoparticelle multi-strato hanno riguardato lo studio numerico e lo sviluppo di diversi modelli elettromagnetici per diverse tipologie di nanoparticelle.

Nel primo lavoro sviluppato e presentato in [38] è stata studiata una nanoparticella in configurazione tipo *core-shell* dalla geometria cilindrica con un nucleo dielettrico di silicio e un rivestimento in oro. La struttura della nanoparticella è riportata in Figura 1.26.

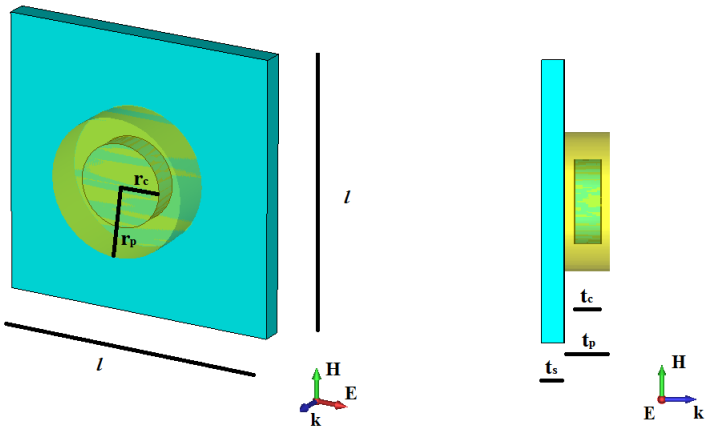


Figura 1.26: Geometria della nanoparticella cilindrica multi-strato.

Per la nanoparticella multi-strato cilindrica sono stati valutati i valori di sensibilità medi al variare delle dimensioni del *core* mantanendo costante il volume della nanoparticella.

I valore medi di sensibilità sono calcolati come $\frac{\sum \frac{\Delta\lambda_n}{\Delta n}}{m}$ essendo *m* il numero di rapporti $\frac{\Delta\lambda_n}{\Delta n}$ calcolati nell'intervallo $1<n<1.6$.

I risultati ottenuti sono riportati nella Tabella 1.7 da cui si può osservare un evidente incremento della sensibilità all'aumentare del volume del core dielettrico.

Tabella 1.7: Lunghezza d'onda di risonanza e valore di sensibilità medio per la nanoparticella multi-strato cilindrica al variare delle dimensioni del core mantenendo costante il volume con l'indice di rifrazione variabile nel range *1<n<1.6*.

Geometrical parameters: l=200nm; t_s=15nm; r_p=50nm; t_p=30nm.	**Resonant wavelength [nm]**				**Mean Sensitivity Values [nm/RIU]**
	n=1	n=1.2	n=1.4	n=1.6	
r_c=30nm; t_c=10nm.	626	659	716	772	243
r_c=35nm; t_c=10nm.	634	677	738	797	271
r_c=45nm; t_c=10nm.	642	696	749	810	280
r_c=30nm; t_c=15nm.	642	677	738	797	258
r_c=30nm; t_c=20nm.	668	716	772	838	283
r_c=30nm; t_c=25nm.	706	761	838	899	321

I monitor di campo elettrico sulla superficie della nanoparticella confermano una più intensa e uniforme distribuzione per la nanoparticella multi-strato (Figura 1.27b) rispetto al singolo strato (Figura 1.27) a parità di volume.

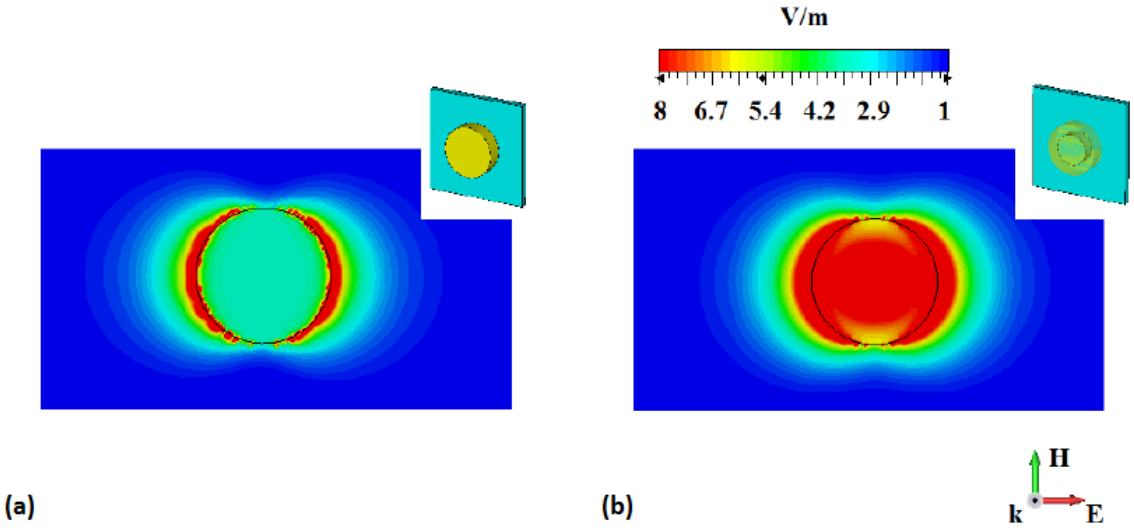


Figura 1.27: Distribuzione di campo elettrico sulla superficie della nanoparticella per (a) singolo strato e (b) multi-strato.

Sfruttando il meccanismo di intensificazione relativo all'accoppiamento tra nanoparticelle è stato proposto un array costituito da quattro nanoparticelle multi-strato cilindriche disposte come riportato in Figura 1.28.

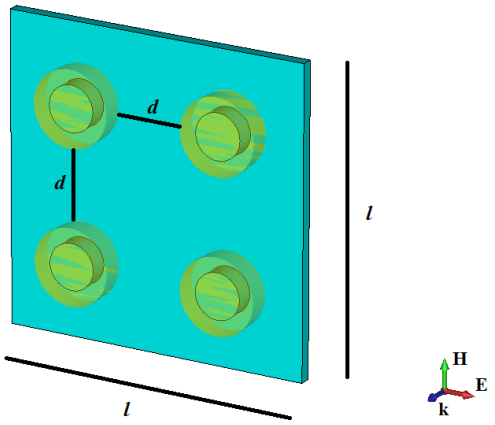


Figura 1.28: Piattaforma di biorilevamento costituita da quattro nanoparticelle multi-strato cilindriche.

E' stato valutato come il variare della distanza inter-particellare incida sulle prestazioni di sensibilità. I risultati sono riportati in Tabella 1.8.

Tabella 1.8: Lunghezza d'onda di risonanza e valore di sensibilità medio al variare della distanza inter-particellare per la piattaforma riportata in Figura 1.28 con l'indice di rifrazione variabile nel range *1<n<1.6*.

Geometrical parameters: l=400nm; t_s=15nm; r_p=50nm; r_c=30nm; t_c=25nm; t_p=30nm;.	**Resonant wavelength [nm]**				**Mean Sensitivity Values [nm/RIU]**
	n=1	n=1.2	n=1.4	n=1.6	
d=5nm	838	933	1031	1150	520
d=10nm	797	883	989	1075	463
d=15nm	785	867	951	1030	408
d=20nm	780	852	916	1009	381
d=25nm	772	838	899	989	361

Considerando la configurazione con la distanza inter-particellare pari a *d=5nm* che permette di ottenere un valore di sensibilità pari a 520nm/RIU è stata proposta una possibile applicazione per la misurazione del quantitativo di glicerolo in soluzione.
Tali misure di concentrazioni sono importanti sia per applicazioni biomedicali che industriali. Dal punto di vista biomedico quantità di glicerolo nel sangue permettono di dedurre particolari informazioni sui meccanismi di metabolismo dei grassi [39]; al contempo in un contesto industriale la misurazione del glicerolo nei biocarburanti è importantissima in quanto inficia negativamente le prestazioni dei motori.
La risposta elettromagnetica del sensore per differenti concentrazioni di glicerolo in soluzione liquida sono riportate in Figura 1.29.

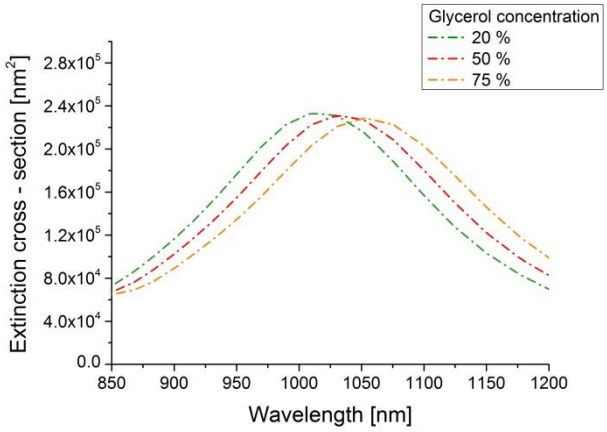


Figura1.29: Spettro di estinzione del sensore per la valutazione di differenti concentrazioni di glicerolo in soluzione liquida.

I risultati ottenuti mostrano come sia possibile ottenere una risposta differenziale del sensore sebbene le variazioni dell'indice di rifrazione per le diverse concentrazioni del glicerolo siano modeste.

Ulteriori studi sono stati condotti su nanoparticelle multi-strato di tipo *nanorod.* In questo contesto in [40] è stata proposta la nanoparticella *nanorod* in configurazione *core-shell* con un nucleo dielettrico di silicio e un rivestimento in oro come rappresentato in Figura 1.30. In questo caso vista la asimmetria della

struttura è stata studiata la risposta elettromagnetica per due differenti polarizzazioni del campo incidente, ovvero nella configurazione con il campo elettrico oscillante parallelamente all'asse principale del nanorod (Figura 1.30 a) e in quella con il campo elettrico oscillante parallelamente all'asse trasversale della particella (Figura 1.30 b).

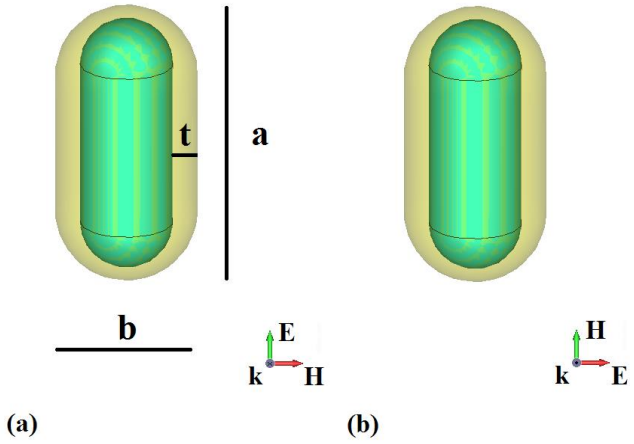


Figura 1.30: Geometria della nanoparticella nanorod multi-strato con (a) il campo elettrico oscillante parallelamente all'asse principale e (b) con il campo elettrico oscillante parallelamente all'asse trasversale della particella.

E' stata studiata dal punto di vista numerico l'interazione tra la radiazione elettromagnetica e la particella stessa al variare dello spessore *t* relativo al rivestimento in oro. Si può osservare (Figura 1.31) come variando lo spessore del rivestimento d'oro si riesca a progettare la lunghezza d'onda di risonanza della nanoparticella nella finestra del Visibile – Vicino Infrarosso. Questa caratteristica può essere molto importante per applicazioni biomedicali in-vivo per la trasparenza dei tessuti alla radiazione in questa piccola finestra spettrale.

Per applicazioni biomedicali è stata valutata la sensibilità per variazioni del mezzo elettomagnetico circostante con indici di rifrazione compresi tra 1 e 1.6 sia per la polarizzazione del campo elettrico parallela all'asse principale della nanoparticella (Tabella 1.9 – Figura 1.30 a) che per la polarizzazione del campo elettrico trasversa rispetto all'asse della nanoparticella (Tabella 1.10 - Figura 1.30 b).

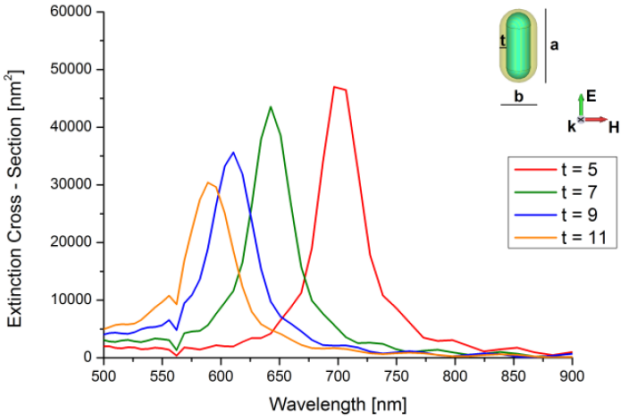


Figura 1.31: Spettro di estinzione della nanoparticella multi-strato *nanorod* per diversi valori del parametro *5nm<t<11nm* e con *a=80nm*; *b=40nm.*

Tabella 1.9: Lunghezza d'oda di risonanza e valore di sensibilità medio per nanoparticella nanorod multistrato con dimensioni *a=80nm; b=40nm; 5<t<11 e t->b/2* per la polarizzazioni del campo incidente riportata in Figura 1.29 (a) con l'indice di rifrazione del mezzo circostante variabile tra *1* e *1.6.*

Shell thickness	**Resonant wavelength** λ [nm]				**Mean Sensitivity Values** [nm/RIU]
	n=1	*n=1.2*	*n=1.4*	*n=1.6*	
t=5	696	785	867	969	455
t=7	642	706	785	867	375
t=9	610	668	738	810	333
t=11	588	642	706	772	306
Single layer	562	610	668	727	275

Tabella 1.10: Lunghezza d'oda di risonanza e valore di sensibilità medio per nanoparticella nanorod multistrato con dimensioni *a=80nm; b=40nm; 5<t<11 e t->b/2* per la polarizzazioni del campo incidente riportata in Figura 1.29 (b) con l'indice di rifrazione del mezzo circostante variabile tra *1* e *1.6.*

Shell thickness	**Resonant wavelength** λ [nm]				**Mean Sensitivity Values** [nm/RIU]
	n=1	*n=1.2*	*n=1.4*	*n=1.6*	
t = 5	634	668	706	749	185
t = 7	581	610	634	668	145
t = 9	556	575	595	626	116
t = 11	530	549	568	595	108
Single layer	490	512	526	543	88

I risultati ottenuti mostrano come la nanoparticella multi-strato si dimostri estremamente più sensibile rispetto al classico *nanorod (*single layer).

Il lavoro è stato oggetto di un ulteriore approfondimento in [41] in cui è stata sviluppata una modellistica elettromagnetica per la descrizione delle proprietà ottiche della nanoparticella nanorod di tipo multistrato.
A partire dalle equazioni (1.6 – 1.8) è stata calcolata la componente scalare della diade di depolarizzazione per entrambi le polarizzazioni considerate e si è valutata l'espressione della polarizzabilità che risulta essere:

$$\frac{\alpha_{x,y,z}}{V_2\varepsilon_m}=\frac{(\varepsilon_2-\varepsilon_m)\left(L_1\varepsilon_1-(L_1-1)\varepsilon_2\right)+\beta(\varepsilon_2-\varepsilon_1)\left((L_2-1)\varepsilon_2-L_2\varepsilon_m\right)}{L_2\beta(L_2-1)(\varepsilon_2-\varepsilon_1)(\varepsilon_2-\varepsilon_m)-\left((L_1-1)\varepsilon_2-L_1\varepsilon_1\right)\left(L_2\varepsilon_2-(L_2-1)\varepsilon_m\right)} \tag{1.38}$$

dove $\beta=V_1/V_2$, V_i è il volume dell' *i-th* strato, ε_i la permittività dielettrica dell' *i-th* strato, ε_m la permittività dielettrica del mezzo circostante ed L_i è il fattore di depolarizzazione dell' i-th strato, con $i=1,2$.
I fattori di depolarizzazione (L_1 *ed* L_2) sono stati calcolati ed assumono le seguenti forme in relazione all'asse di oscillazione del campo incidente:

$$L_{1long}=\frac{1}{2}\left(1-\frac{1}{\sqrt{1+\frac{16a_1^2}{(4a_1+h_1)^2}}}\right),\ L_{1trans}=\frac{1}{\sqrt{1+\frac{16a_1^2}{(4a_1+h_1)^2}}} \tag{1.39}$$

$$L_{2long}=\frac{1}{2}\left(1-\frac{1}{\sqrt{1+\frac{16a_2^2}{(4a_2+h_2)^2}}}\right),\ L_{2trans}=\frac{1}{\sqrt{1+\frac{16a_2^2}{(4a_2+h_2)^2}}} \tag{1.40}$$

dove i parametri indicati nelle formule 1.39 – 1.40 hanno il significato di Figura 1.32.

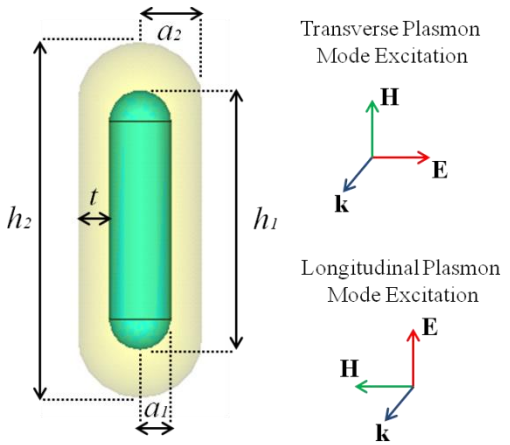


Figura 1.32: Parametri di progetto della nanoparticella multi-strato di tipo *nanorod.*

Al fine di verificare il grado di concordanza tra i risultati ottenuti con il modello proposto, con simulazioni di tipo numerico e con valori di tipo sperimentale estratti dalla letteratura tecnica, è stata riportata in Tabella 1.11 una comparazione di risultati in relazione alla capacità di predizione della lunghezza d'onda di risonanza per differenti valori dei parametri geometrici.

Tabella 1.11: Comparazione della lunghezza d'onda di risonanza ottenuta per differenti configurazioni dei parametri geometrici tra i risultati del modello analitico, valori numerici e sperimentali riportati in [42].

Size [nm]	**Resonant wavelength λ [nm]**			**Relative Error (%)**		
	Analytical values	**Numerical values**	**Experimental Values [25]**	A-N	A-E	N-E
a_1=27.5 b_1=170 t=27.5	1050	1200	1100	12.5	4.5	9
a_1=27.5 b_1=170 t=17	1200	1250	1150	4	4.3	8.7
a_1=27.5 b_1=170 t=9.8	1400	1348	1300	3.8	7.7	3.7

Si può osservare dalla Tabella 1.11 come vi sia un buon grado di concordanza tra le misure ed un errore relativo sempre inferiore al 10%. A titolo di esempio, in Figura 1.33 viene riportata una comparazione relativa allo spettro di estinzione ottenuto con il modello analitico proposto ed attraverso le simulazioni numeriche.

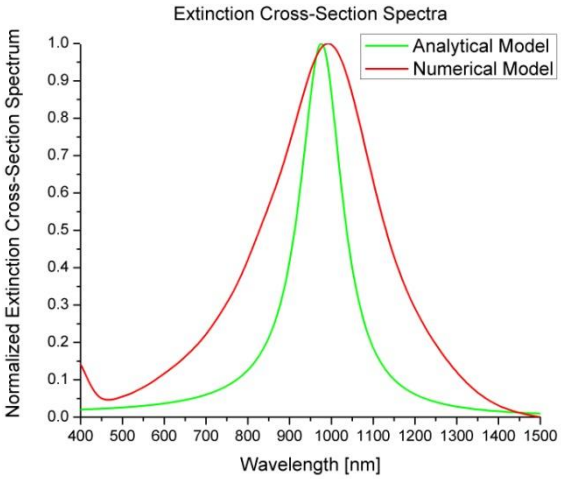


Figura 1.33: Spettro di estinzione ottenuto con il modello analitico ed attraverso simulazioni di tipo numerico con L_1=0.034, L_2=0.047, β=0.38, a_1=27.5 nm, h_1=270 nm, t=27.5 nm.

Le ricerche sulle nanoparticelle multistrato hanno riguardato anche lo studio di materiali che permettano di massimizzare l'interazione tra il campo elettromagnetico e l'ambiente dielettrico circostante costituito tipicamente, per le applicazioni di biorilevamento, dal campione in esame.

Considerando che le tecniche di sintesi di nanoagglomerati si sono evolute permettendo, allo stato attuale, di sintetizzare strutture di grafene depositate su substrato di tipo PMMA – PoliMetilMetaAcrilato [43], nel lavoro [44] è stato condotto uno studio su nanoparticelle multistrato sferica con nucleo in PMMA-Grafene e rivestimento sottile in oro per verificare il possibile utilizzo ed il vantaggio per applicazioni ultra-sensibili. La struttura in esame è riportata in Figura 1.34.

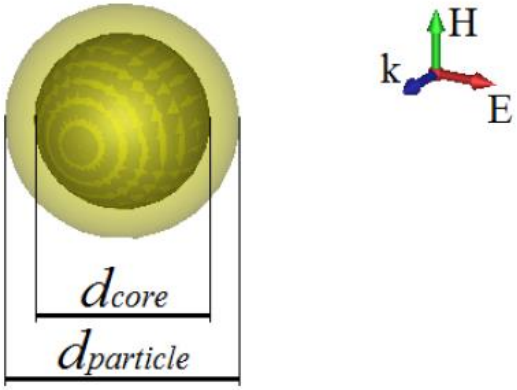


Figura 1.34: Geometria della nanoparticella multi-strato sferica.

Per tale struttura è stata valutata la risposta elettromagnetica della particella al variare delle dimensioni del nucleo in grafene mantenendo fisso il diametro esterno (Figura 1.35).

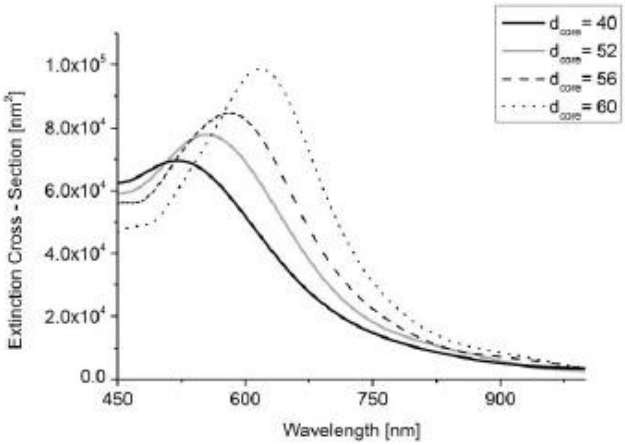


Figura 1.35: Spettro di estinzione per la nanoparticella multi-strato per diverse dimensioni del diametro del nucleo mantenendo fisso il diametro della particella ($d_{particle}$=70).

Si può osservare (Figura 1.35) che è possibile, per questo tipo di nanoparticella, ottimizzare la risposta elettromagnetica nella banda di interesse variando i due gradi di libertà che la struttura offre. E' stata inoltra valutata la distribuzione di campo elettrico alla lunghezza d'onda di risonanza dalla quale si può osservare

come il campo elettrico sia confinato all'esterno della struttura (Figura 1.36) in quanto alle frequenze di interesse il nucleo in grafene ha dei valori di permettività dielettrica prossimi a zero (Epsilon Near Zero).

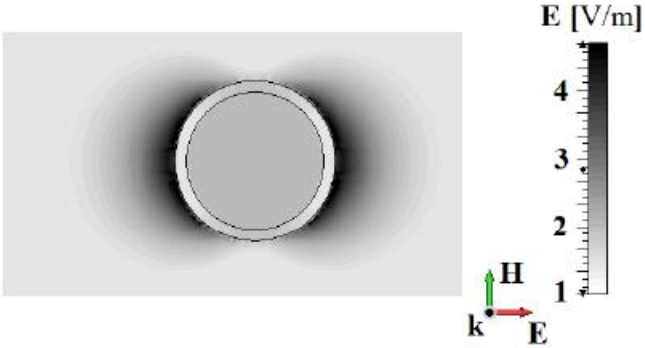


Figura 1.36: Distribuzione di campo elettrico della particella sferica multistrato alla lunghezza d'onda di risonanza (627 nm) per $d_{particle}$=70nm; d_{core}=60nm.

La concentrazione del campo elettrico all'esterno della particella permette la massima interazione del campo elettromagnetico con il mezzo circostante.

Il lavoro è stato oggetto di ulteriore approfondimento in [45] nel quale è stato sviluppato un modello elettromagnetico che permette di predire la risposta elettromagnetica di questo tipo di nanoparticella sferica multistrato. A partire dalle equazioni (1.6 – 1.8) e dagli studi riportati in [14] l'espressione della polarizzabilità risulta essere:

$$\alpha_{\text{2-layered sphere}} = V\varepsilon_m \frac{(\varepsilon_1+2\varepsilon_2)(\varepsilon_2-\varepsilon_m)+\beta(\varepsilon_1-\varepsilon_2)(2\varepsilon_2+\varepsilon_m)}{2\beta(\varepsilon_1-\varepsilon_2)(\varepsilon_2-\varepsilon_m)+(\varepsilon_1+2\varepsilon_2)(\varepsilon_2+2\varepsilon_m)} \tag{1.41}$$

dove $\beta=d_{core}/d_{particle}$, V è il volume della particella, ε_1 ed ε_2 rappresentano le permittività dielettrica del materiale costituente rispettivamente il nucleo ed il rivestimento della nanoparticella ed ε_m rappresenta la permittività dielettrica del mezzo circostante.

Per il caso in esame le proprietà elettromagnetiche dei materiali costituente il nucleo ed il rivestimento della nanoparticella sono descrivibili mediante la seguente relazione di tipo Drude:

$$\varepsilon_1=\varepsilon_{\infty 1}-\frac{\omega_{p1}^2}{\omega^2+j\gamma_1\omega} \tag{1.42}$$

$$\varepsilon_2=\varepsilon_{\infty 2}-\frac{\omega_{p2}^2}{\omega^2+j\gamma_2\omega} \tag{1.43}$$

essendo $\omega=2\pi f$ la frequenza angolare del campo incidente (rad/s), $\varepsilon_{\infty i}$ il valore di permittività a frequenza infinita, ω_{pi} la pulsazione di plasma (rad/s), γ_i la frequenza di collisione con *i* che può assumere per i vari parametri il valore di 1 o 2 a seconda che si consideri il materiale del nucleo oppure del rivestimento.
In tali condizioni operative inserendo le equazioni 1.42 ed 1.43 nell'espressione 1.41 si ottiene la seguente espressione per la polarizzabilità della nanoparticella sferica multi-strato:

$$\alpha=3V_2\varepsilon_m\frac{\beta\left(2f_2-\varepsilon_m-2\varepsilon_{\infty 2}\right)\left(f_1-f_2+\varepsilon_{\infty 2}-\varepsilon_{\infty 1}\right)+\left(\varepsilon_{\infty 2}-f_2-\varepsilon_m\right)\left(-f_1-2f_2+\varepsilon_{\infty 1}+2\varepsilon_{\infty 2}\right)}{-(f_1+2f_2-\varepsilon_{\infty 1}-2\varepsilon_{\infty 2})(-f_2+2\varepsilon_m+\varepsilon_{\infty 2})-2\beta(-f_2-\varepsilon_m+\varepsilon_{\infty 2})(f_1-f_2-\varepsilon_{\infty 1}+\varepsilon_{\infty 2})} \tag{1.44}$$

avendo posto:

$$f_1=\frac{\omega_{p1}^2}{\omega^2+j\gamma_1\omega}$$
$$f_2=\frac{\omega_{p2}^2}{\omega^2+j\gamma_2\omega} \tag{1.45}$$

I risultati ottenuti con il modello analitico sono stati confrontati con i risultati ottenuti attraverso le simulazioni numeriche ottenendo lo spettro di Figura 1.37.

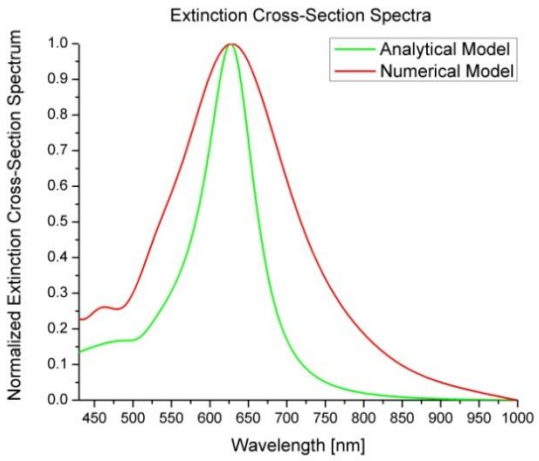


Figura 1.37: Spettro di estinzione per la nanoparticella multi-strato sferica ottenuto attraverso il modello analitico e le simulazioni numeriche avendo assunto a_1=60nm, a_2=70nm.

Come si può vedere c'è un'ottima concordanza nei risultati soprattutto per quanto concerne la predizione della lunghezza d'onda di risonanza.

Il grande vantaggio di utilizzare nanoparticelle multi-strato che nell'intervallo di lunghezze d'onda di interesse presentano una permittività prossima a zero (Epsilon Near Zero – ENZ) è quello di enfatizzare le variazioni di permittività del mezzo circostante la nanoparticella [46].

Sulla base dei risultati ottenuti, è stato proposto l'utilizzo della nanoparticella multi-strato sferica per applicazioni di biorilevamento. Per tali scopi è stato proposto il sensore (costituito dalla nanoparticella stessa) in diretto contatto con il tessuto che si vuole caratterizzare secondo lo schema di Figura 1.9. I risultati ottenuti e mostrati in Figura 1.38 mostrano la teorica possibilità di riuscire a distinguere differenti tipologie di tessuto mammario di un ratto. I valori dell'indice di rifrazione dei tessuti, utilizzati per effettuare le simulazioni numeriche sono stati presi dalla letteratura tecnica [28].

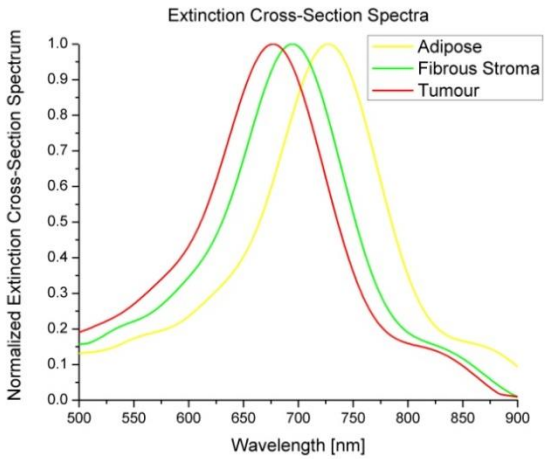


Figura 1.38: Spettro di estinzione per differenti tessuti mammari di un ratto.

Una delle ultime attività di ricerca relative allo studio di nanoparticelle multi-strato ha riguardato lo studio di una particolare struttura di forma cilindrica [47].
La nanoparticella considerata è riportata in Figura 1.39 ed è costituta da un nucleo di argento, coibentato da un sottile strato di silicio e rivestito da un ulteriore strato di argento.

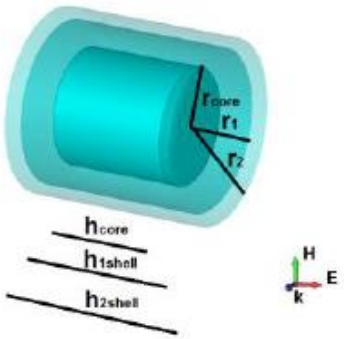


Figura 1.39: Geometria della nanoparticella multi-strato (argento-silicio-argento) a forma cilindrica con dimensioni $h_{core}=2r_{core}=80nm$; $h_{1shell}=132nm$; $h_2shell=150nm$.

Questa particolare conformazione di nanoparticella costituita da tre strati permette di ottenere una risonanza plasmonica di Fano che ha una sensibilità maggiore ai

cambiamenti locali delle proprietà dielettriche del mezzo circostante rispetto alle risonanze plasmoniche dei costituenti della nanoparticella stessa [48,49]. Infatti le proprietà ottiche di tale nanoparticelle possono essere spiegate dall'accoppiamento elettromagnetico che si verifica tra il nucleo (argento) e la nanoshell cilindrica costituita dal rivestimento in silicio che funge da core e dal sottile strato esterno in argento che funge da shell. La coesistenza di queste risonanze nello stesso spettro di frequenze produce una risonanza dipolare a larga banda (■), una risonanza dipolare a banda stretta (*) ed una risonanza ibrida denominata risonanza di Fano(◊) come riportato in Figura 1.40.

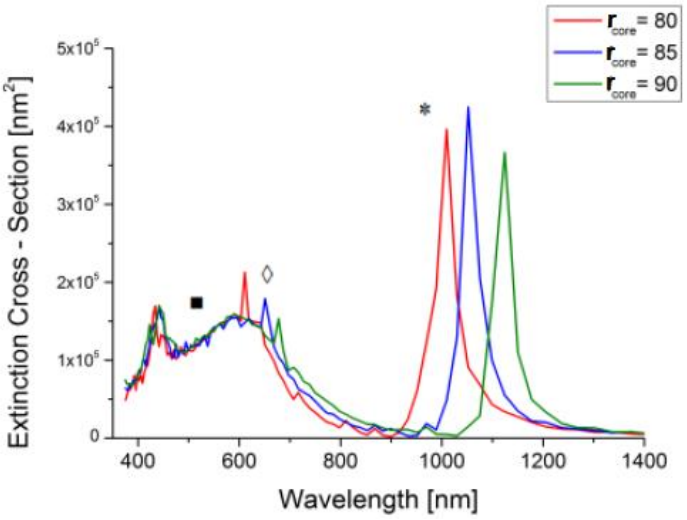


Figura 1.40: Spettro di estinzione per la nanoparticella multistrato (silicio-argento-silicio) con $80nm<h_{core}=2r_{core}<90nm$; $h_{1shell}=2r_1=132nm$; $h_{2shell}=2r_2=150nm$.

Come si può osservare dalla Figura 1.40 variando le dimensioni geometriche degli strati che compongono la nanoparticella è possibile sintonizzare la risonanza di Fano nella finestra spettrale di interesse.

Ulteriori progressi nelle tecniche di nanolitografia parallelamente a ulteriori studi relativi alla modellistica elettromagnetica di nanoparticelle hanno spinto le attività di ricerca verso lo studio di nanoparticelle multi-risonanti per applicazioni diagnostiche ultrasensibili ed il multi-rilevamento di tessuti biologici. I risultati di tali ricerche vengono presentati nel successivo paragrafo.

1.2.2.3 PIATTAFORME BASATE SU NANOPARTICELLE MULTI-RISONANTI

Nell'ambito delle attività di ricerca relative allo sviluppo di piattaforme basate su nanoparticelle multi-risonanti è stata focalizzata l'attenzione sulle nananoparticelle di tipo bow-tie riportate in Figura 1.41 [50]. La nanoparticella di tipo tradizionale riportata in Figura 1.41(a) è stata già studiata in letteratura e presa in considerazione per diverse applicazioni biomediche in virtù dell'elevata intensificazione del campo elettrica che si ottiene ne gap dielettrico tra i prismi opposti alla lunghezza d'onda di risonanza che può essere sintonizzata variando i suoi parametri geometrici secondo gli approcci riportati in [51,52].

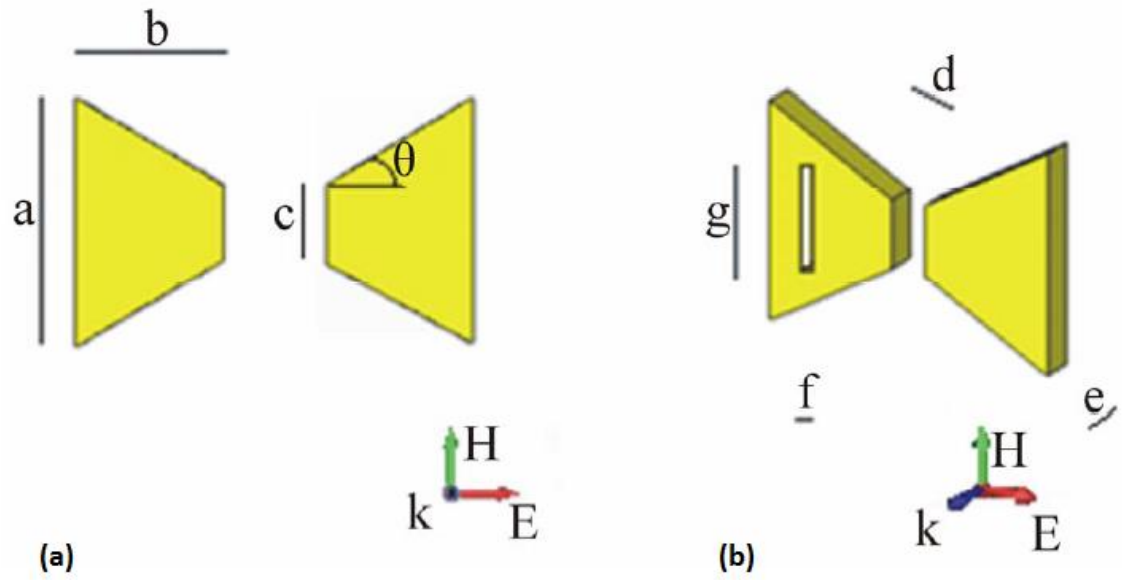


Figura 1.41: Geometria della nanoparticella (a) classica di tipo bow-tie; (b) modificata con incisione dielettrica. Le dimensioni geometriche assunte sono le seguenti: $a = 2b\tan\theta + c$; $b = 100nm$; $c = 50nm$; $d = 20nm$; $e = 25nm$; $10 \le f \le 30$; $80 \le g \le 100$; $30° \le \theta \le 60°$.

E' stato anche già valutato in [53] l'effetto della variazione sensibilità della struttura per differenti valori dei parametri geometrici. I risultati presentati suggeriscono il possibile utilizzo di nanoparticelle di questo tipo per applicazioni di biorilevamento.

In questo contesto, si è proceduto ad elaborare un modello analitico per la predizione del comportamento elettromagnetico della particella stessa (Figura 1.41a). Partendo dalle equazioni (1.6-1.8) e tenendo in considerazione la particolare geometria della particella e la polarizzazione del campo elettromagnetico riportata in Figura 1.41 è stata valutata la componente scalare della polarizzabilità (α_1) secondo l'asse di oscillazione del campo elettrico ottenendo la seguente relazione:

$$\alpha_1 = \frac{1}{3} e(a(2b+d)-cd) \frac{\varepsilon_e(\varepsilon_i - \varepsilon_e)}{\varepsilon_e + L_1(\varepsilon_i - \varepsilon_e)} \tag{1.46}$$

avendo posto:

$$L_1 = \frac{3}{\pi} \tan^{-1} \left[\frac{a \cdot e}{\left(b+\frac{d}{2}\right)\sqrt{a^2+4\left(b+\frac{d}{2}\right)^2+e^2}} \right] \tag{1.47}$$

con il significato dei simboli delle formule riportato in Figura 1.41; ε_i ed ε_e indicano rispettivamente la permittività dielettrica del materiale costitutente la nanoparticella e del mezzo circostante.

Il modello analitico sviluppato è stato confrontato con il risultato di simulazioni numeriche ottenendo lo spettro di Figura 1.42.

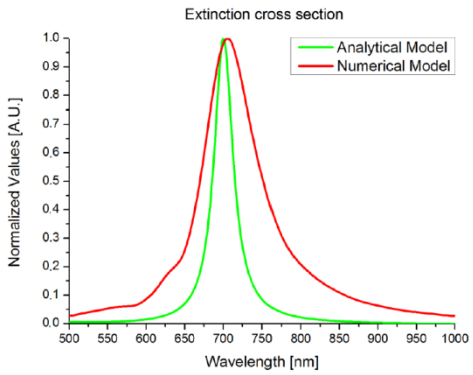


Figura 1.42: Spettro di estinzione per la nanoparticella bow-tie di tipo classico ottenuto attraverso il modello analitico e le simulazioni numeriche avendo assunto θ=30°.

Al fine di verificare il grado di concordanza tra i risultati ottenuti con il modello proposto, con simulazioni di tipo numerico e con valori di tipo sperimentale estratti dalla letteratura tecnica, è stata riportata in Tabella 1.12 una comparazione di risultati in relazione alla capacità di predizione della lunghezza d'onda di risonanza per differenti valori dei parametri geometrici e diversi materiali costituenti la nanoparticella bow-tie.

Tabella 1.12: Comparazione della lunghezza d'onda per configurazioni dei paramteri geometrici tra i risultati del modello analitico, valori numerici e sperimentali riportat in [51,54].

	Size [nm]	**Resonant wavelength (λ [nm])**			**A –N error (%)**	**A - E error (%)**
		Analytical values	**Numerical values**	**Experimental values** [15-22]		
silver [15]	θ=10°	810	815	825	0.613	1.818
	θ=20°	820	824	830	0.606	1.205
	θ=30°	860	853	850	0.5848	1.1765
gold [22]	b=75	700	704	710	0.568	1.408
	b=90	750	753	760	0.398	1.316
	b=100	780	784	790	0.51	1.266

Come si può osservare dai valori riportati in Tabella 1.12 vi è un buon grado di concordanza tra i risultati con scarti inferiori al 2%.

E' stata quindi studiata la possibilità di utilizzare una nanoparticella di tipo bow-tie modificata da un'incisione rettangolare dielettrica sulla sua superficie della stessa (Figura 1.41 b). In tale configurazione la particella mostra un comportamento multi-risonante con elevata intensificazione del campo elettrico anche all'interno dell'incisione dielettrica operata.

Per descrivere analiticamente il fenomeno risonante è stata considerata la polarizzabilità della particella come somma della polarizzabilità della particella classica la cui espressione è riportata in 1.46 e la polarizzabilità dell'incisione dielettrica indicata con il termine α_2 attraverso la seguente formula:

$$\alpha_{tot} = \alpha_1 + \alpha_2 \tag{1.48}$$

dove:

$$\alpha_2 = \frac{e \cdot f \cdot g \cdot \varepsilon_e \left(\varepsilon_i - \varepsilon_e\right)}{\varepsilon_e + L_2 \left(\varepsilon_i - \varepsilon_e\right)}$$

$$L_2 = \frac{1}{3\pi}\left(1 - \frac{g}{\sqrt{16e^2 + g^2}}\right) \mathrm{Sinc}\left(\sqrt{\frac{2}{5}\frac{f}{g}} + 1\right) \tag{1.49}$$

Il modello analitico sviluppato è stato confrontato con il risultato di simulazioni numeriche ottenendo lo spettro di Figura 1.43.

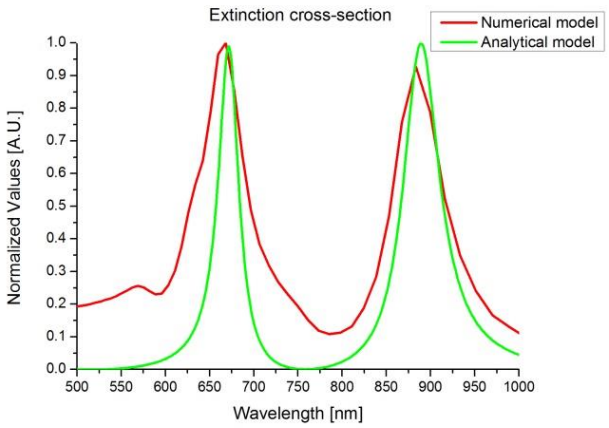


Figura 1.43: Spettro di estinzione per la nanoparticella bow-tie modificata dall'incisione dielettrica con *f=10nm; g=80nm e* θ=30°.

Le distribuzioni di campo elettrico alle due lunghezze d'onda di risonanza della nanoparticella bow-tie modificata dall'incisione dielettrica mostrano come il campo elettrico sia maggiormente confinato tra i due prismi alla lunghezza d'onda di *668nm* corrispondente alla risonanza della particella classica (Figura 1.44) mentre il campo è più focalizzato all'interno dell'incisione dielettrica alla lunghezza d'onda di *883nm* (Figura 1.45). Questo aspetto risulta importante per applicazioni di multi-rilevamento di tessuto biologico riportate nel proseguo.

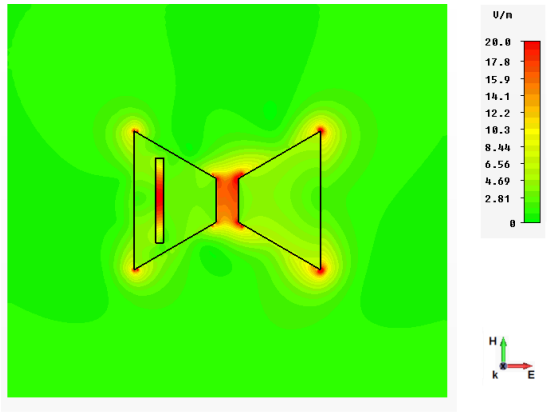


Figura 1.44: Distribuzione di campo elettrico della nanoparticella bow-tie modificata da incisione dielettrica con $\theta = 30°$; $f = 10nm$, $g = 80nm$ alla lunghezza d'onda di *668nm*.

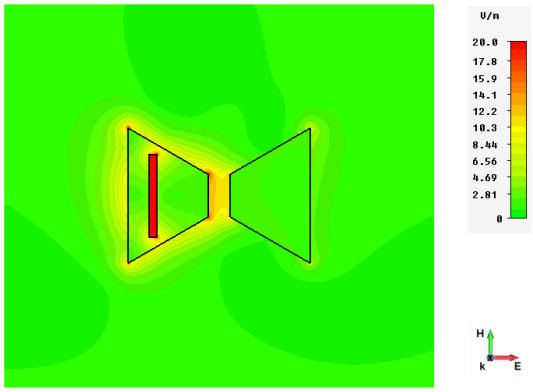


Figura 1.45: Distribuzione di campo elettrico della nanoparticella bow-tie modificata da incisione dielettrica con $\theta = 30°$; $f = 10nm$, $g = 80nm$ alla lunghezza d'onda di *883nm*.

Di particolare interesse risulta la possibilità di variare la lunghezza di risonanza in ampiezza e larghezza di banda modificando i parametri geometrici dell'incisione dielettrica (Figure 1.46-1.47). In particolare si può osservare come sia più conveniente modificare l'altezza dell'incisione dielettrica per la sintonizzazione la risposta elettromagnetica nello spettro di interesse piuttosto che operare nella modifica della larghezza della stessa. Tuttavia tali analisi vanno contestualizzate anche in relazione alla massimizzazione della sensibilità per possibili applicazioni di biorilevamento.

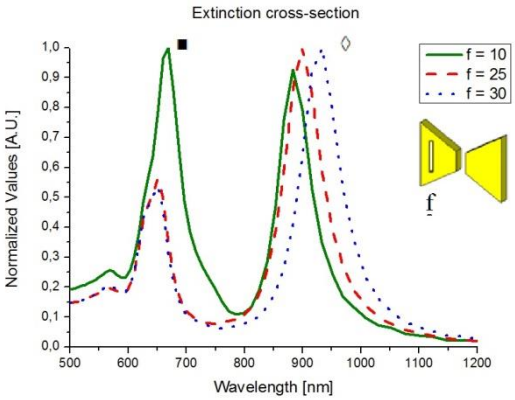


Figura 1.46: Spettro di estinzione della naporticella bow-tie modificata da incisione dielettrica al variare della larghezza dell'incisione dielettrica con 10 nm< f <30 nm; θ=30°; g=80 nm.

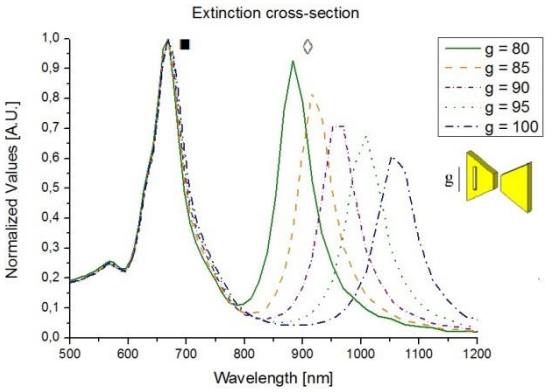


Figura 1.47: Spettro di estinzione della naporticella bow-tie modificata da incisione dielettrica al variare dell'altezza dell'incisione dielettrica con 80 nm< g <100 nm; θ=30°; f=10 nm.

Le prestazioni di sensibilità sono state valutate per l'indice di rifrazione del mezzo circostante nel range 1-1.6 al variare dei parametri geometrici dell'incisione della nanoparticella ed i risultati sono stati riportati in Tabella 1.13.

Da tali analisi è emerso che l'utilizzo della nanoparticella di tipo bow-tie modificata dalla presenza dell'incisione dielettrica permette di ottenere valori di sensibilità più elevati rispetto alla configurazione bow-tie tradizionale anche per il primo picco di risonanza (■) che risulta poco influenzato dalle variazioni geometriche dei parametri dimensionali g ed f. Viceversa tali variazioni dei parametri geometrici influenzano fortemente il picco di risonanza (◊) ottenendo le migliori prestazioni in

termini di sensibilità con l'incremento della dimensione geometrica relativa all'altezza dell'incisione rettangolare (parametro g).

Tabella 1.13: Lunghezze d'onda di risonanza e valore medio di sensibilità per diverse configurazioni dell'incisione dielettrica della nanoparticella modificata di tipo bow-tie.

Geometrical parameters: $a = 2b\tan\theta + c$; $b = 100nm$; $c = 50nm$; $d = 20nm$; $e = 25nm$; $\theta = 30°$.	**Size (nm)**	**Resonant wavelength** λ [nm]				**Mean Sensitivity Values** [nm/RIU]
		n=1	*n=1.2*	*n=1.4*	*n=1.6*	
$g = 80nm$; $f = 10nm$.	■	668	749	852	951	471
	◊	883	1034	1180	1336	755
$g = 85nm$; $f = 10nm$.	■	664	755	855	968	506
	◊	920	1073	1235	1374	756
$g = 90nm$; $f = 10nm$.	■	668	760	853	952	473
	◊	960	1136	1295	1455	825
$g = 95nm$; $f = 10nm$.	■	668	762	856	958	511
	◊	1009	1180	1347	1534	875
$g = 100nm$; $f = 10nm$.	■	668	762	875	975	511
	◊	1051	1234	1416	1585	890
$g = 80nm$; $f = 15nm$.	■	659	738	836	932	455
	◊	869	1007	1174	1300	718
$g = 80nm$; $f = 20nm$.	■	652	738	825	919	445
	◊	883	1029	1180	1339	760
$g = 80nm$; $f = 25nm$.	■	652	727	825	913	435
	◊	900	1053	1207	1372	786
$g = 80nm$; $f = 30nm$.	■	652	729	820	916	440
	◊	932	1094	1240	1413	801

Procedendo nella ricerca delle peculiari proprietà di questa particella, in [55] è stato osservato come l'uso di incisioni asimmetriche sulla superficie della particella bow-tie permetta di ottenere una ulteriore risonanza. La particella risulta quindi modificata come riportato in Figura 1.48.

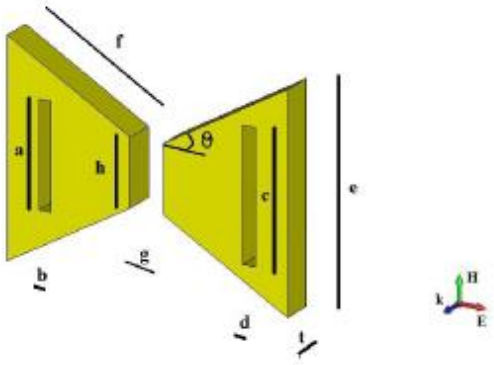


Figura 1.48: Geometria della nanoparticella di tipo bow-tie modificata con incisioni di tipo asimmetrico.

Il modello analitico descritto con le formule 1.46-1.49 risulta essere ancora valido tuttavia necessita delle modifiche per tenere in conto dell'ulteriore incisione dielettrica. Bisogna considerare la polarizzabilità complessiva della particella come somma della polarizzabilità della particella classica, la cui espressione è riportata in 1.46, e la polarizzabilità delle due ulteriori incisioni dielettriche indicate con i termine α_2 (Formula 1.49) e α_3 attraverso la seguente formula:

$$\alpha_{tot}=\alpha_1+\alpha_2+\alpha_3 \tag{1.50}$$

dove:

$$\alpha_3=c\cdot d\cdot t\frac{\varepsilon_e\left(\varepsilon_i-\varepsilon_e\right)}{\varepsilon_e+L_3\left(\varepsilon_i-\varepsilon_e\right)}$$
$$L_3=\frac{1}{3\pi}\left(1-\frac{c}{\sqrt{16t^2+c^2}}\right)\mathrm{Sinc}\left(\sqrt{\frac{2}{5}\frac{d}{c}}+1\right) \tag{1.51}$$

Come riportato nel caso della nanoparticella di tipo bow-tie con singola incisione dielettrica anche in questo caso è possibile sintonizzare le tre risonanze nello spettro di interesse. Un esempio dello spettro di estinzione per la piattaforma sintonizzata nello spettro del Visibile e Vicino Infrarosso è riportato in Figura 1.49.

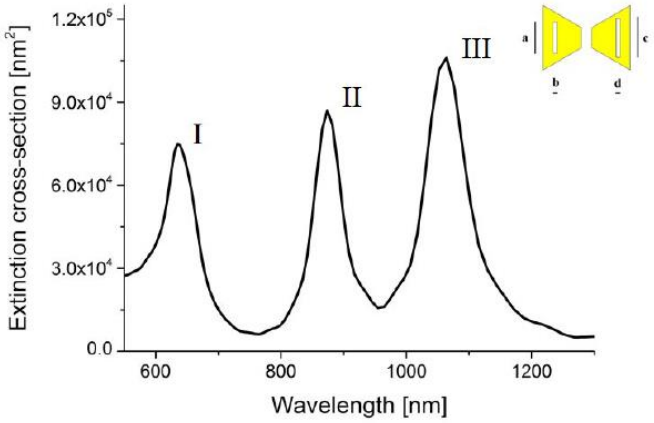


Figura 1.49: Spettro di estinzione per la nanoparticella di tipo bow-tie con incisioni asimmetriche con a = 80nm ; b = d =10nm ;c =100nm ; e =160nm ; g = 25nm ; h = 50nm ; t = 25nm ;θ = 30°.

Questo tipo di nanoparticella si presta al multi-rilevamento di tessuti biologici e composti organici in virtù delle interessanti prestazioni di sensibilità. In particolare, è possibile osservare che la variazione dell'indice di rifrazione locale all'interno dell'incisione dielettrica comporta la variazione del solo picco di risonanza associato mantenendo inalterata la lunghezza d'onda delle altre risonanze (Figura 1.50-1.51).

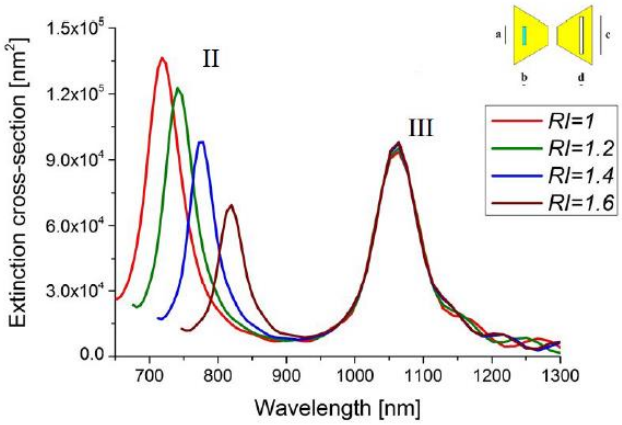


Figura 1.50: Spettro di estinzione per la nanoparticella di tipo bow-tie con incisioni asimmetriche per variazioni dell'indice di rifrazione all'interno dell'incisione asimmetrica riportata in azzurro con a = 50nm ; b = d =10nm ;c =100nm ; e =160nm ; g = 25nm ; h = 50nm ; t = 25nm ;θ = 30°.

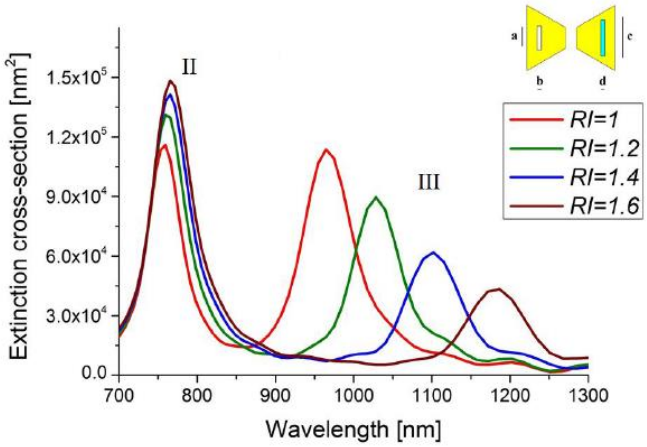


Figura 1.51: Spettro di estinzione per la nanoparticella di tipo bow-tie con incisioni asimmetriche per variazioni dell'indice di rifrazione all'interno dell'incisione asimmetrica riportata in azzurro con a = 60nm ; b = d =10nm ;c =90nm ; e =160nm ; g = 25nm ; h = 50nm ; t = 25nm ;θ = 30°.

Al fine di valutare la possibilità di effettuare il multi-rilevamento di tessuti biologici sono stati considerati i valori sperimentali dell'indice di rifrazione di diverse lesioni del tessuto cerebrale presenti in [56]. I risultati numerici ottenuti sono riportati in Figura 1.52 – 1.53.

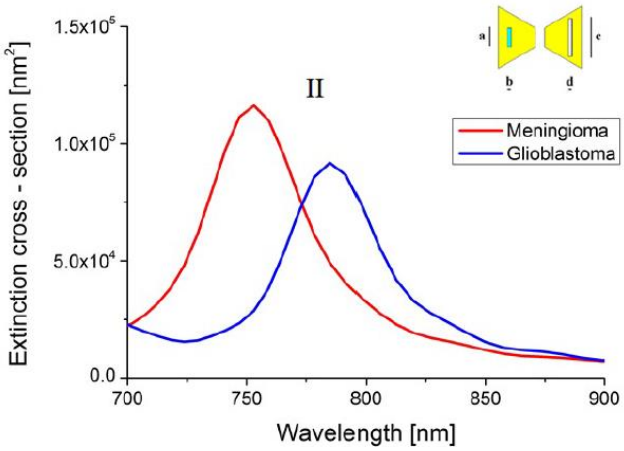


Figura 1.52: Spettro di estinzione per la nanoparticella di tipo bow-tie con incisioni asimmetriche per due differenti tessuti cerebrali affetti da diverse lesioni neoplastice (meningioma, glioblastoma) posti all'interno dell'incisione asimmetrica riportata in azzurro con a = 50nm ; b = d =10nm ;c =100nm ; e =160nm ; g = 25nm ; h = 50nm ; t = 25nm ;θ = 30°.

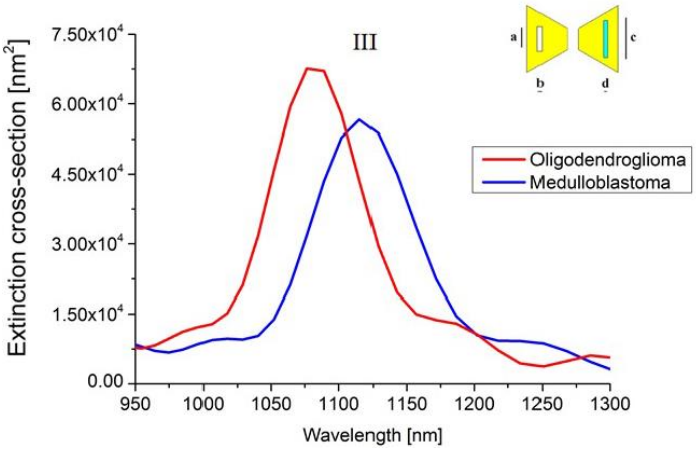


Figura 1.52: Spettro di estinzione per la nanoparticella di tipo bow-tie con incisioni asimmetriche per due differenti tessuti cerebrali affetti da diverse lesioni neoplastice (oligodendroglioma, medulloblastoma) posti all'interno dell'incisione asimmetrica riportata in azzurro con a = 50nm ; b = d =10nm ;c =100nm ; e =160nm ; g = 25nm ; h = 50nm ; t=25nm ;θ=30°.

I risultati ottenuti mostrano come sia teoricamente possibile effettuare il multi-rilevamento di differenti tessuti biologici utilizzato un campione estremamente ridotto. Tali analisi possono estendersi anche alla valutazione di composti in/organici.

Nel successivo paragrafo vengono riportati i risultati di ricerca relativi agli studi condotti sulla possibilità di impiegare nanoparticelle per il rilevamento di alterazioni genetiche come indice di predisposizione allo sviluppo di alterazioni neoplastiche.

1.3 NANOPARTICELLE PER IL RILEVAMENTO DI ALTERAZIONI GENETICHE

L'utilizzo di nanoparticelle sta diventando di grande interesse anche per lo sviluppo di applicazioni di biorilevamento relative ala valutazione di alterazioni genetiche. Diversi gruppi scientifici [57,58] hanno combinato l'utilizzo di nanoparticelle con tecniche di ibridazione del DNA al fine di individuare marcatori genetici associati al cancro.

Le tecniche proposte in letteratura si basano sull'amplificazione del segnale proveniente da marcatori di tipo Raman funzionalizzati sulla superficie della nanoparticelle e quindi rientrano nelle classe di applicazioni basate su spettroscopia Raman per la rilevazione del DNA.

Tuttavia, la lettura dello spettro Raman non è di facile comprensione in quanto in presenza di più alterazioni e quindi di più marcatori, lo spettro che si ottiene è estremamente rigato con sovrapposizioni in banda che rendono difficile una diagnostica certa senza la necessità di ulteriori esami di conferma.

Le attività di ricerca su questa tematica hanno proposto l'utilizzo di nanoparticelle plasmoniche di differenti geometrie per il multi-rilevamento di alterazioni geometriche senza l'utilizzo di marcatori di tipo Raman.

Gli aspetti relativi alla spettroscopia di tipo Raman e gli studi condotti verso l'impiego di tecniche senza marcatori sono oggetti dei due seguenti sotto paragrafi.

1.3.1 SPETTROSCOPIA RAMAN PER LA RILEVAZIONE DEL DNA

Nel 1928 il fisico C.V. Raman dimostrò l'effetto di diffusione anelastica della radiazione luminosa nell'interazione con le molecole di un liquido o un gas [59].
Tale scoperta gli fu premiata con il riconoscimento del premio Nobel per la fisica nel 1930 e tale effetto venne denominato "Raman Effect".
I suoi studi partirono dall'idea di estendere nel visibile il fenomeno di diffusione della radiazione X nell'interazione con un bersaglio già noto ed enunciato nel 1922 dal prof. Compton. Il dott. Raman, nel suo esperimento, concentrò la radiazione solare utilizzando un telescopio (obiettivo dal diametro di 18 cm e una lunghezza focale di 230 cm) e una seconda lente con una lunghezza focale di 5 cm. Successivamente, pose nel fuoco della lente un liquido e sull'obiettivo del telescopio una coppia di filtri complementari (blu-viola, giallo-verde) al fine di bloccare la radiazione in uscita incidente sul liquido stesso.
In tali condizioni, se la luce avesse subito solamente diffusione elastica nell'interazione con le molecole del liquido, lo spostamento di uno dei due filtri (posti sull'obiettivo del telescopio) tra il campione e l'osservatore avrebbe dovuto continuare a bloccare la radiazione luminosa. In realtà riapparivano tracce di luce (Figura 1.53).

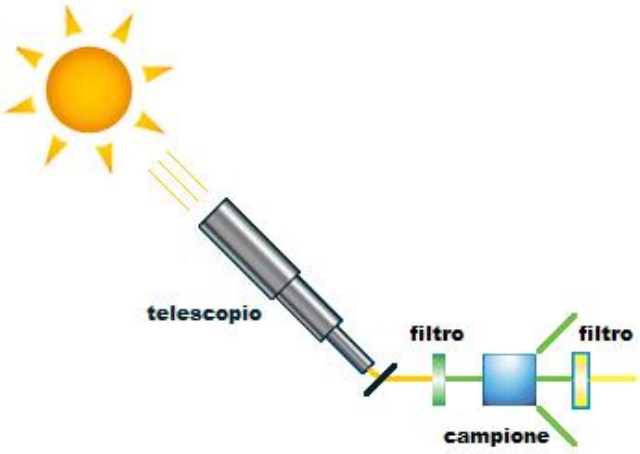


Figura 1.53: Esperimento di Raman per dimostrare la diffusione anelastica.

Il limite più grande delle tecniche spettroscopiche, basate su segnale Raman, è relativo al modesto valore della sezione d'urto delle molecole nel processo di diffusione che, tipicamente, ha un valore che oscilla tra i $10^{-30} - 10^{-25}\ \mathrm{cm}^2/\mathrm{molecola}$ (ad esempio la spettroscopia di fluorescenza ha una sezione d'urto che può arrivare a $10^{-16}\ \mathrm{cm}^2/\mathrm{molecola}$).

Risulta evidente che, per ottenere un segnale intenso con una sezione d'urto così piccola, è necessario "raccogliere il segnale" da un gran numero di molecole. Tuttavia, nel 1974, lo scienziato ceco Martin Fleischmann osservò un intenso segnale Raman ad opera di molecole di piridina adsorbite sulla superficie di un elettrodo di argento immerso all'interno di una soluzione acquosa di piridina. Lo associò all'elevato numero di molecole che sulla superficie metallica disperdevano la radiazione, senza riconoscere un effetto di amplificazione.

Successivamente, nel 1977, Van Duyne e Jeanmaire [60] indipendentemente da Albrecht e Creighton [61] dedussero che un tale aumento dell'intensità nei segnali Raman (milioni di volte superiore a quella teorica), non poteva essere spiegato in base ad un aumento della concentrazione delle molecole di piridina presenti sull'elettrodo rispetto a quelle che normalmente si trovano in soluzione e lo associarono, correttamente, ad un'amplificazione dovuta alla particolare condizione di adsorbimento delle molecole di piridina sulla superficie metallica dell'elettrodo.

Tale effetto denominato SERS (Surface Enhanched Raman Scattering) è stato in seguito osservato per un vasto numero di molecole adsorbite sulla superficie di substrati metallici (tipicamente oro e argento). I substrati SERS attivi attualmente più utilizzati sono costituiti da nanoparticelle metalliche con dimensioni dell'ordine di $10 - 150\ \mathrm{nm}$.

Studi successivi [57,58] hanno combinato la tecnica SERS con tecniche di ibridazione del DNA, al fine di individuare marcatori genetici associati al cancro.

Negli organismi viventi il DNA è presente nel nucleo di ogni cellula come una coppia di filamenti saldamente intrecciati tra loro a formare una struttura definita doppia elica. Dal punto di vista chimico il DNA è un polimero organico costituito da monomeri chiamati nucleotidi. Tutti i nucleotidi sono costituiti da un gruppo fosfato, il deossiribosio e una base azotata. Le basi azotate che possono essere utilizzate nella formazione dei nucleotidi da incorporare nella molecola di DNA sono l'adenina, la guanina, la citosina e la timina. Ogni nucleotide è costituito da uno scheletro laterale, che ne permette il legame covalente con i nucleotidi adiacenti, e da una base azotata, che instaura legami idrogeno con la corrispondente base azotata presente sul filamento opposto (Figura 1.54).

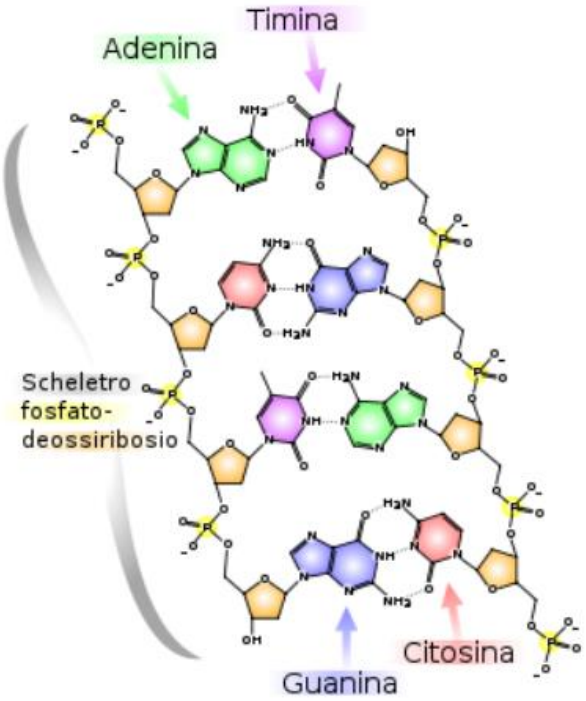


Figura 1.54: Schematizzazione di un tratto di DNA

La disposizione in sequenza delle quattro basi azotate costituisce il patrimonio genetico dell'individuo. Il DNA può essere alterato dall'azione di numerosi agenti, genericamente definiti mutageni come ad esempio agenti ossidanti, agenti alchilanti ed anche radiazioni ad alta energia, come i raggi X e gli UV. Il tipo di

danno causato al DNA dipende dal tipo di agente: gli UV, ad esempio, danneggiano il DNA generando la formazione di dimeri di timina, costituiti da ponti aberranti che si instaurano tra basi pirimidiniche adiacenti. Agenti ossidanti come i radicali liberi o il perossido di idrogeno, invece, producono danni di tipo più eterogeneo, come modificazioni di basi (in particolare di guanine) o rotture del DNA a doppio filamento. Secondo diversi studi, in ogni cellula umana almeno 500 basi al giorno sono sottoposte a danni ossidativi.

Alcuni agenti devono il loro potere mutageno alla capacità di intercalarsi tra due basi azotate consecutive. Gli intercalanti sono tipicamente molecole planari come la daunomicina, la doxorubicina o la talidomide in grado di inibire sia la trascrizione che la replicazione del DNA, aumentando la possibilità di insorgenza di mutazioni. Tuttavia, proprio grazie alla loro capacità di inibire trascrizione e replicazione, tali molecole sono anche utilizzate in chemioterapia per inibire le cellule neoplastiche a rapida crescita.

Le neoplasie hanno sempre origine monoclonale, ovvero si sviluppano a partire da una singola cellula che, esposta ad un agente mutageno, subisce un danno irreversibile del proprio DNA. Il tumore non si sviluppa in una sola fase, occorrono in genere migliaia di mutazioni che vanno a colpire i geni deputati al controllo di alcune funzioni cellulari. I principali geni coinvolti nella formazione del tumore sono di due tipi:

- i geni oncosoppressori. La cellula è in grado di riparare i danni del DNA, e lo fa utilizzando specifici geni, chiamati oncosoppressori proprio perché in grado di bloccare la formazione di una cellula tumorale. Se questi geni vengono mutati e la cellula non è più in grado di difendersi dagli attacchi al DNA, aumentano le probabilità di formazione di una cellula tumorale.
- i geni protoncogeni o oncogeni. Sono i geni che controllano la proliferazione cellulare, che di norma vengono attivati e disattivati in funzione di ben determinati stimoli proliferativi. Se viene meno questo controllo a causa di una mutazione genica, la cellula inizia a proliferare

senza controllo. Questi geni sono chiamati protoncogeni perché favorisono attivamente la formazione del tumore.

La ricerca ha evidenziato che nessun tumore si forma per la mutazione di un solo gene, ma quasi sempre in seguito a modificazioni multiple che comportano l'attivazione di diversi geni protoncogeni e la perdita di più geni oncosoppressori [62].

Attualmente sono stati individuati diversi geni che risultano mutati nella stragrande maggioranza dei tumori ed in particolare è stato riportato come sia possibile per il BRCA1 (BReast CAncer susceptibility gene 1) che è un gene oncosoppressore del tumore della mammela e dell'ovaio analizzare diversi tipi di mutazioni [63].

Questo gene interviene nel controllo del ciclo cellulare regimando le modalità con cui esso avviene. Il ciclo cellulare è la serie di eventi che avvengono in una cellula tra una divisione cellulare e quella successiva. E' un processo geneticamente controllato costituito da una serie di eventi coordinati e dipendenti tra loro dai quali dipende la corretta proliferazione delle cellule.

Una mutazione del BRCA1 fa perdere il controllo del ciclo cellulare e la riproduzione cellulare potrà dare origine a cellule figlie con mutazioni del DNA con conseguente suscettibilità alla formazione di neoplasie. I ricercatori hanno evidenziato oltre cento tipologie di mutazione nel gene BRCA1 molte delle quali sono associate al rischio di carcinoma mammario [64,65]. Queste mutazioni fanno si che il gene produca proteine, che non funzionino correttamente e, quindi, non in grado di contribuire a risolvere le mutazioni che si verificano in altri geni. Questi difetti si accumulano e possono consentire alle cellule di crescere e dividersi in maniera incontrollata per formare la neoplasia.

Per rilevare mutazioni del gene BRCA1 basandosi su tecnica SERS, è necessario innanzitutto indurre l'ibridazione del DNA al fine di separare i due filamenti che lo costituiscono (Figura 1.55).

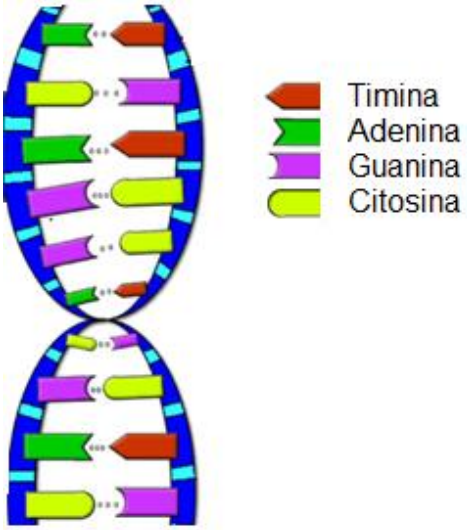


Figura 1.55: Rottura dei legami ad idrogeno e produzione di due filamenti (ssDNA)

Il processo di ibridazione consiste nel riscaldamento del DNA al fine di rompere i legami ad idrogeno esistenti tra le basi azotate. Tenendo presente che i possibili legami tra le basi azotate sono adenina – timina e citosina – guanina è evidente come avendo a disposizione un singolo filamento di DNA denominato ssDNA (single side DNA) sia possibile andare alla ricerca di una determinata sequenza di basi azotate attraverso la sua sequenza complementare.

Negli studi riportati in [63] sono state considerate le tipologie di mutazioni più frequenti del gene BRCA1 che vengono utilizzate per valutare una determinata propensione nei confronti della neoplasia comprendono in genere diversi gruppi di esoni. Un esone è la porzione di un gene che viene trascritta dalla RNA polimerasi (enzima indispensabile per la replicazione cellulare) durante la trascrizione. Tutta la sequenza che codifica per una proteina risiede sempre in uno o più esoni. Il gene BRCA1 comprende ben 24 esoni di cui sono state considerate le quattro possibili mutazioni nella sequenza di esoni del gene BRCA1 corrispondenti rispettivamente ai tratti 11 – 12, 8 – 12, 3 – 6, 5 – 7.

La tecnica utilizzata è quella di prendere la sequenza di DNA da identificare ovvero la target sequence (TS) ad esempio quella corrispondente alla mutazione

del tratto 11 – 12 risulta $\mathrm{CAT-AGT-CCC-ACT-TCG-TCG-TAG-ACC}$ e suddividerla dal punto di vista schematico in due sottosequenze ovvero:

$\underbrace{\mathrm{CAT-AGT-CCC-ACT}}$ – $\underbrace{\mathrm{TCG-TCG-TAG-ACC}}$. Di questa sequenza ne viene costruita la complementare $\underbrace{\mathrm{GTA-TCA-GGG-TGA}}$ – $\underbrace{\mathrm{AGC-AGC-ATC-TGG}}$. La prima sottosequenza complementare PS (probing strand) viene funzionalizzata alla nanoparticelle con marcatore Raman attraverso il legame covalente che si viene a instaurare tra la nanoshell e la sottosequenza stessa per mezzo del tiolo T_{10}. La seconda sottosequenza complementare CS (capturing strand) viene funzionalizzata ad un substrato per mezzo del legame covalente che si instaura tra l'oro e la sottosequenza per mezzo del tiolo.

La nanoparticella può legarsi a costituire esclusivamente se è presente nel campione da analizzare la sequenza TS. Quanto detto è ripetibile per tutti i tipi di mutazioni.

Specifiche sequenze di mutazioni possono essere estratte dalla banca dati dei geni (GenBank).

A titolo di esempio si riporta lo spettro Raman presente nella letteratura tecnica in [63] ottenuto in presenza di un campione con tutte le mutazioni utilizzando nanoparticelle funzionalizzate con quattro tipi diversi di marcatori Raman e quattro sequenze polinucleotidiche complementari a quelle delle mutazioni illuminando il campione alla lunghezza d'onda di $785\ \mathrm{nm}$ (Figura 1.56).

Come si può osservare in Figura 1.56 è possibile identificare picchi corrispondenti alla presenza di singole mutazioni relativamente alla presenza del marcatore Raman. La tecnica prevede l'acquisizione singola di quattro spettri con la presenza di una sola mutazione per volta al fine di correlare i picchi di ogni spettro con quello complessivo.

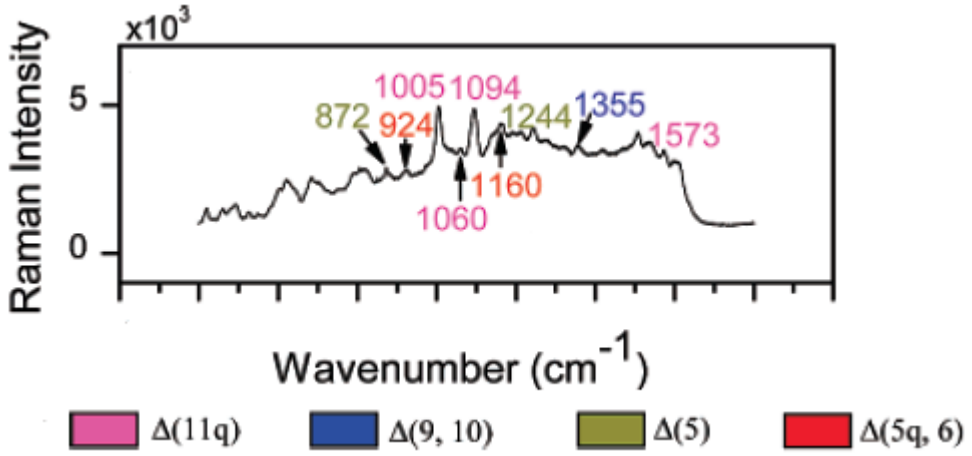


Figura 1.56: Spettro Raman con identificati i picchi corrispondenti alle diverse mutazioni del gene BRCA1.

Il limite di questa tecnica è la difficile lettura dello spettro dovuta al rapporto segnale / rumore che risulta essere troppo basso per applicazioni diagnostiche. Inoltre, tenendo presente che un esame diagnostico deve necessariamente essere ripetibile è indispensabile definire un protocollo di misura standard per confrontare i risultati.

Nel paragrafo seguente vengono mostrati i risultati della ricerca condotti per lo sviluppo di piattaforme di biorilevamento adatte ad applicazioni di rilevamento di alterazioni del DNA senza l'utilizzo di marcatori Raman.

1.3.2 UTILIZZO DI NANOPARTICELLE SENZA MARCATORI RAMAN

Al fine di individuare mutazioni a livello genetico senza l'utilizzo di marcatori di tipo Raman in [66] è stato proposto uno schema per il biorilevamento multiplo di tre alterazioni dello stesso gene BRCA1. Tale schema è costituito da nanoparticelle che differiscono in forma e dimensioni geometriche in modo tale da mostrare la risonanza in bande spettrali differenti. Le nanoparticelle considerate sono della tipologia nanocube, nanorod ed elliptycal nanocylinder descritte analiticamente nel paragrafo 1.1.

Sfruttando i modelli analitici proposti nella sezione 1.1, sono stati assunti i seguenti parametri geometrici per le particelle:

- Nanocube: *l=51nm;*
- Nanorod: h=*64nm;* a_r*=9nm*
- Elliptical cylinder: *a=35nm; b=7nm; h=10nm.*

In queste condizioni le nanoparticelle mostrano una lunghezza d'onda di risonanza differente (nanocube 5*42nm*; nanorod *671nm*; elliptical cylinder *808nm*) con bande spettrali non sovrapposte. Partendo dallo stato attuale delle conoscenze sulla possibilità di funzionalizzare singoli filamenti di DNA sulla superficie di nanoparticelle non sferiche [67,68] è stata considerata ciascuna tipologia di nanoparticella funzionalizzata con una sequenza PS corrispondente a sequenze di basi azotate relative a differenti mutazioni del gene BRCA1 come riportato nella schematizzazione di Figura 1.57.

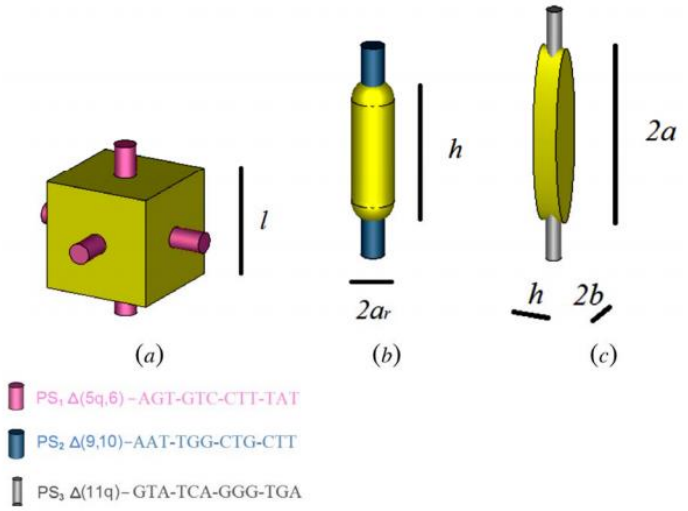


Figura 1.57: Nanoparticelle di differenti geometrie funzionalizzate con PS corrispondenti a differenti mutazioni del gene BRCA1: (a) nanocube; (b) nanorod; (c) elliptycal nanocylinder.

Le tre corrispondenti sequenze di cattura (CS) si considerano funzionalizzate sulla superficie di piccoli patch di forma quadrata disposti su un substrato di silicio (Figura 1.58).

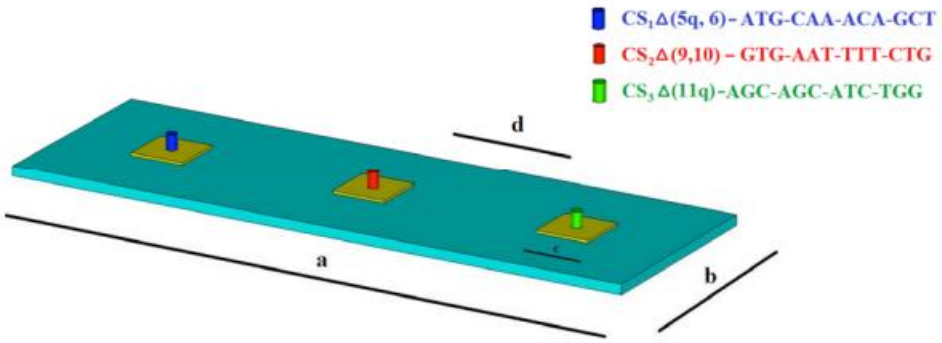


Figura 1.58: Piattaforma di biorilevamento funzionalizzata con tre differenti sequenze di cattura.
Le dimensioni geometriche della piattaforma risultano: *a=600nm; b=200nm; c=50nm; d=150nm.*

In queste condizioni operative, la nanoparticella si lega alla piattaforma solo se la sequenza in analisi TS (ovvero la mutazione) è presente. Un esempio, in caso di presenza di tutti e tre i tipi di alterazioni è riportata in Figura 1.59.

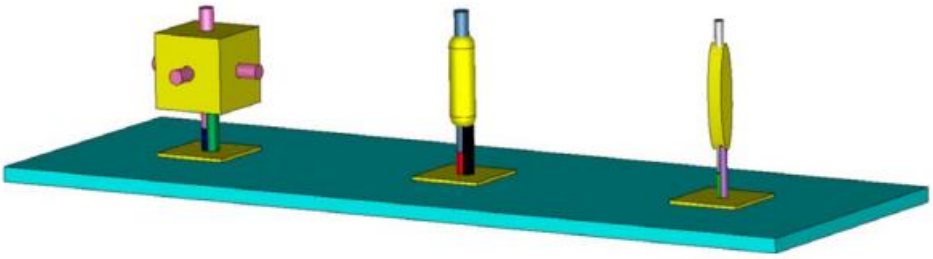


Figura 1.59: Schema di biorilevamento in presenza di tutti e tre i tipi di alterazione del gene BRCA1.

In generale, sono biologicamente significativi i possibili legami riportati in Figure 1.60-1.63, di cui si mostrano i relativi spettri di estinzioni (legame di ciascuna particella con la piattaforma e legame di tutte le particelle con la stessa).

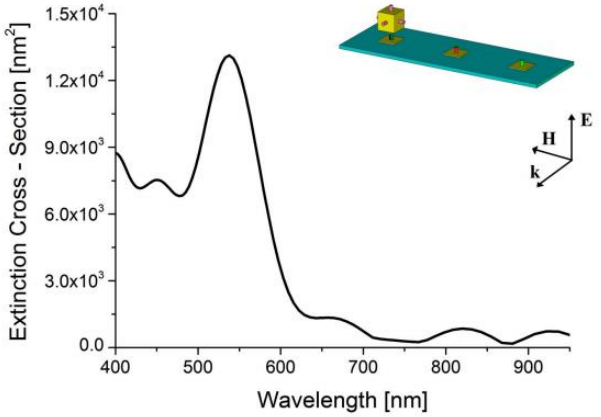


Figura 1.60: Spettro di estinzione ottenuto per il legame della nanoparticella di tipo nanocube con la piattaforma in caso di presenza di alterazione del tratto 5-6 del gene BRCA1.

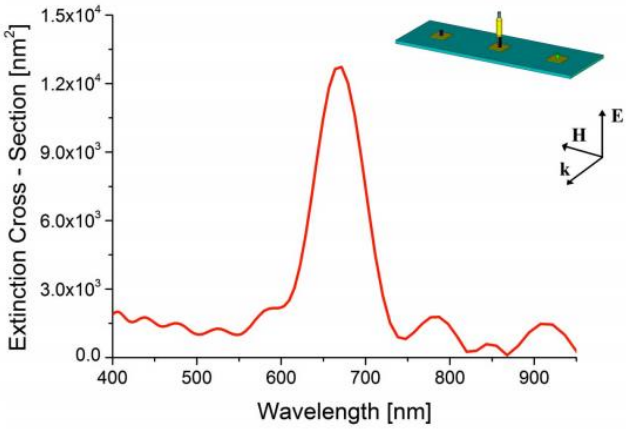


Figura 1.61: Spettro di estinzione ottenuto per il legame della nanoparticella di tipo nanord con la piattaforma in caso di presenza di alterazione del tratto 9-10 del gene BRCA1.

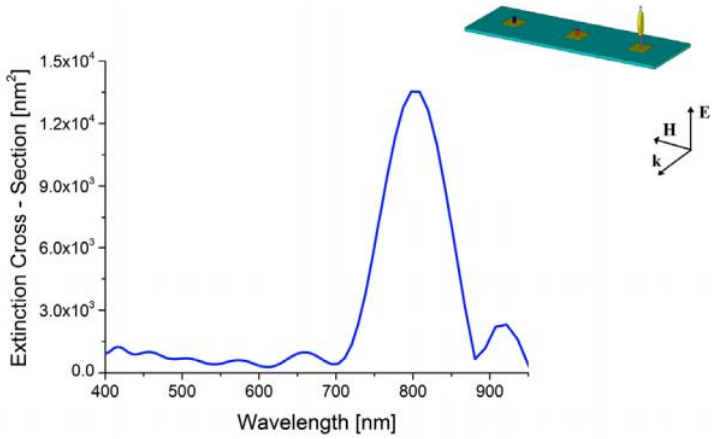


Figura 1.62: Spettro di estinzione ottenuto per il legame della nanoparticella di tipo elliptycal cylinder con la piattaforma in caso di presenza di alterazione del tratto 11 del gene BRCA1.

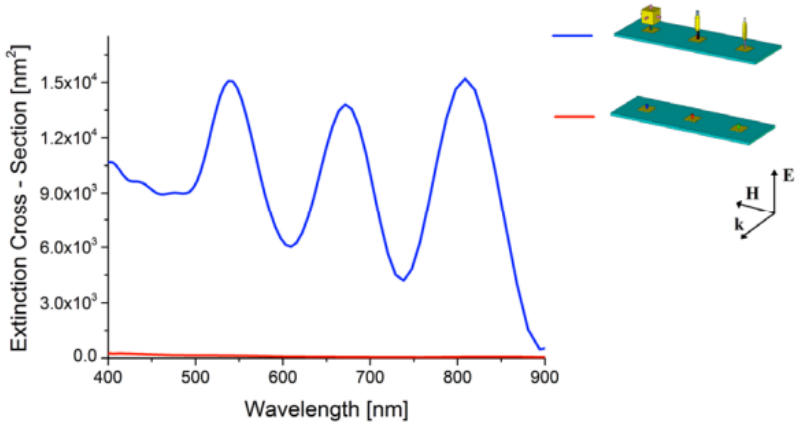


Figura 1.63: Spettro di estinzione ottenuto per il legame di tutte le nanoparticelle con la piattaforma in caso di presenza simultanea di tutte e tre le alterazioni del gene BRCA1.

Si può osservare come riportato in Figura 1.63 la possibilità, nel caso di presenza di tutte e tre le alterazioni del gene BRCA1 in esame, di distinguere nettamente le righe spettrali senza interferenza tra le varie nanoparticelle. Le distribuzioni di campo elettrico alle tre lunghezze di risonanza considerando la presenza di tutte e tre le alterazioni sono riportati in Figura 1.64.

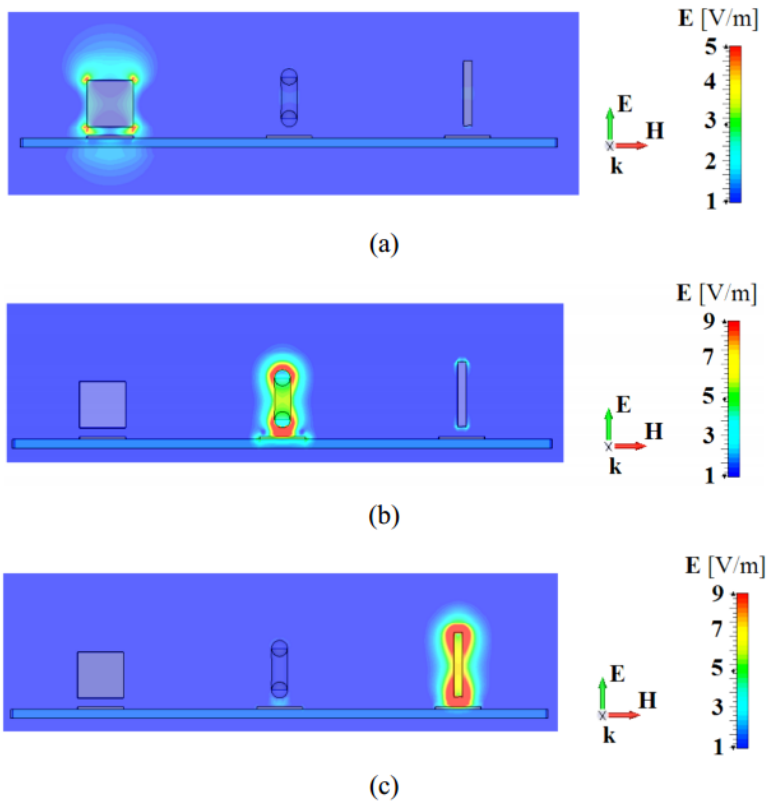


Figura 1.64: Distribuzione di campo elettrico della piattaforma di biorilevamento alla lunghezza d'onda di risonanza della particella (a) di tipo nanocube (542nm); (b) nanoord (671nm); (c) elliptycal cylinder (808nm).

Le distribuzioni di campo di Figura 1.64 mostrano come sia trascurabile l'effetto di mutuo accoppiamento tra le nanoparticelle durante il multi-rilevamento di alterazioni del gene BRCA1.

Nel successivo paragrafo verrà considerata la possibilità di utilizzare nanoparticelle come vettore di trasporto di farmaco selettivamente a cellule neoplastiche. Questo scenario sta diventando sempre più concreto in relazione alla disponibilità di realizzare nanoparticelle con interni cavi.

1.4 NANOPARTICELLE PER IL TRASPORTO INTELLIGENTE DI FARMACO

Le attuali tecniche di sintesi delle nanoparticelle permettono di avere delle strutture cave al cui interno è possibile inserire delle sostanze chimiche [69].
Ciò proietta a soluzioni tecnologiche in cui nanoparticelle, con all'interno del farmaco possano agire selettivamente su una sede cellulare patologica di interesse.
La selettività di interazione con le sole cellule neoplastiche viene garantita dall'individuazione di specifiche interazioni tra antigene ed anticorpo secondo lo schema di Figura 1.65.

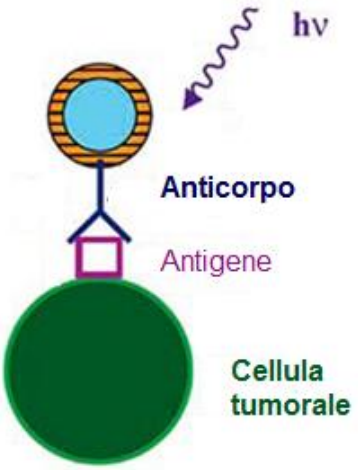


Figura 1.65: Schema di interazione di una nanoparticella funzionalizzata con anticorpo legata all'intigene di una cellula neoplastica.

Le cellule infatti sviluppano sulla superficie della loro membrana due tipologie di antigeni:

- la prima comprende gli antigeni tumore - specifici (TSA, Tumor Specific Antigen) che sono espressi esclusivamente su cellule tumorali e che sono

quindi potenzialmente in grado di evocare una risposta immune spontanea in quanto riconosciuti come antigeni estranei.

- la seconda comprende gli antigeni tumore – associati (TAA, Tumor Associated Antigen) che, invece, sono espressi anche sulla membrana di cellule normali ma che compaiono sulla superficie delle cellule tumorali in modo abnorme per quantità, sede e tempo. Soltanto raramente inducono una risposta del sistema immunitario.

L'idea è quella, in sede di progetto, di funzionalizzare la nanoparticella con un anticorpo che si leghi in maniera specifica con l'antigene TSA sotto indagine. In questo modo le nanoparticelle così funzionalizzate costituiscono un legame stabile con il distretto cellulare di interesse.

Le nanoparticelle per questo tipo di applicazioni sono di tipologia cava con all'interno farmaco (tipicamente doxorubicina) e sono rivestite da un polimero organico che cambia conformazione con il calore (Figura 1.66 a-b). Sulla superficie del polimero viene chimicamente sintetizzato l'anticorpo TSA.

Una volta avvenuto il legame antigene-anticorpo, con l'esposizione alla radiazione elettromagnetica, la nanoparticella si scalda ed il polimero, sensibile alle variazioni di temperatura, modifica la sua conformazione lasciando fuoriuscire il farmaco contenuto nella nanoparticella stessa Figura 1.66 (c) per far esplicare la sua azione terapeutica.

Dal punto di vista del processo biologico nel suo complesso sono distinguibili tre fasi che consistono nell'emissione delle nanoparticelle (momento di somministrazione), nella loro diffusione (tempo necessario ad arrivare al distretto cellulare di interesse) e nella ricezione (tempo necessario alla formazione dei legami antigene-anticorpo).

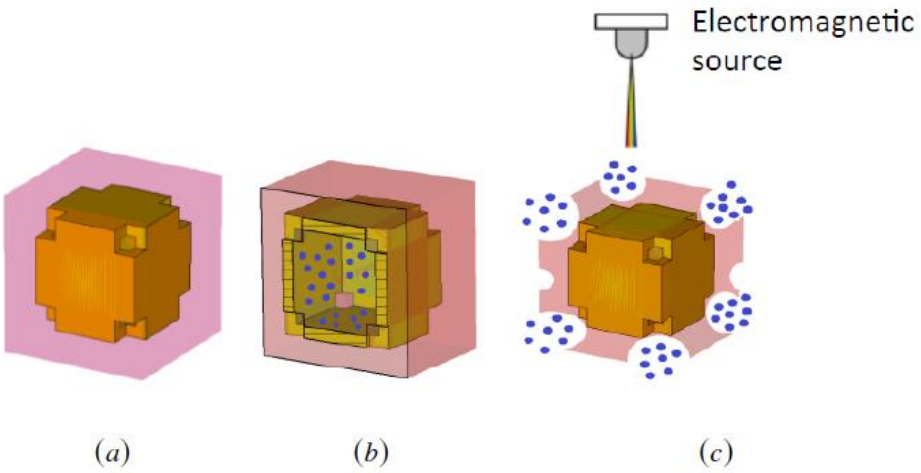


Figura 1.66: Processo di rilascio del farmaco dovuto all'interazione del campo elettromagnetico con la nanoaprticella:
(a) Nanoparticella di forma cubica con fori ai vertici rivestita dal polimero "pNIPAAM – riportato in rosa";
(b) sezione della nanoparticella con all'interno il farmarco chemioterapico "DOX-doxorubicina";
(c) cambio di conformazione del polimero e conseguente rilascio del farmaco per effetto del surriscaldamento del nanocubo ad opera del campo elettromagnetico incidente.

Per descrivere queste fasi in [66] sono stati sviluppati dei modelli circuitali equivalenti per la descrizione processo di emissione (Figura 1.67) e del processo di ricezione (Figura 1.68). In questo scenario si è ipotizzala la somministrazione in soluzione di tre differenti tipologie di nanoparticelle ad esempio allo scopo di veicolare farmaci differenti ad un distretto cellulare.

Dallo schema di Figura 1.67 si può notare che il flusso totale di nanoparticelle indicato con la corrente $I_{in}(t)$ è costituito dalla somma delle correnti relative al flusso di ciascun tipo di nanoparticella. I blocchi costituiti dagli elementi circuitali *RC* indicano il tempo di latenza necessario all'emissione di ciascun flusso di nanoparticelle.

Per quanto riguarda il processo di diffusione non è stato sviluppato un modello circuitale in quanto si sono supposte valide le leggi della diffusione descritte dalle equazioni di Fick.

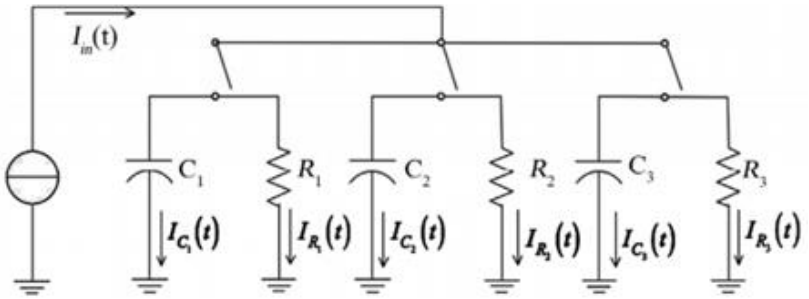


Figura 1.67: Modello circuitale relativo al processo di emissione di tre tipologie di nanoparticelle ove ogni gruppo circuitale RC caratterizza una costante di tempo relativa alla latenza del processo di emissione.

Per quanto riguarda il processo di ricezione lo schema di Figura 1.68 evidenzia la presenza di un diodo che caratterizza "l'azione di cattura delle nanoparticelle ad opera della cellula mediante il legame che si instaura tra l'antigene e l'anticorpo, escludendo una volta che si è verificato la possibilità di sgancio e quindi di flusso di nanoparticelle in verso contrario.

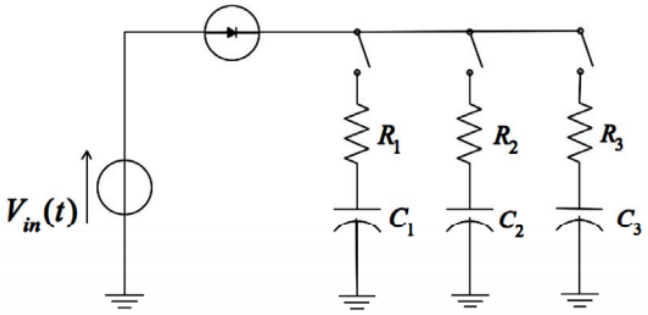


Figura 1.68: Modello circuitale relativo al processo di ricezione di tre tipologie di nanoparticelle ove ogni gruppo circuitale RC caratterizza una costante di tempo relativa alla latenza del processo di ricezione.

Nel successivo capitolo verranno mostrati i risultati della ricerca relativamente allo studio di metasuperifici microstrutturate per applicazioni bioelettromagnetiche. Parte di tali attività di ricerca sono state condotte con l'apporto delle competenze del Dott. Giacomo Gucciardo, Dirigente dell'Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini di Roma.

Referenze bibliografiche

[1] L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Nanoparticle Electromagnetic Properties for Sensing Applications," Advances in Nanoparticles, Vol. 1, No. 2, 2012, pp. 9-14.

[2] E. M. Larsson, J. Alegret, M. Kall and D. S. Sutherland, "Sensing Characteristics of NIR localized Surface Plasmon Resonances in Gold Nanoring for Application as Ul- trasensitive Biosensors," Nano Letters, Vol.5, No. 5, 2007, pp. 1256-1263.

[3] R. Bukasov, T. A. Ali, P. Nordlander and J. S. Shumaker- Parry, "Probing the Plasmonic Near-Field of Gold Nanocrescent Antennas," ACS Nano, Vol.4, No. 11, 2010, pp. 6639-6650.

[4] W. J. Galush, S. A. Shelby, M. J. Mulvihill, A. Tao, P. Yang and J. T. Groves, "A Nanocube Plasmonic Sensor for Molecular Binding on Membrane Surfaces," Nano Letters, Vol. 9, No. 5, 2009, pp. 2077-2082.

[5] M. Y. Sham, H. Xu and R. Cromer, "SERS Nanoparticles: a New Optical Detection Modality for Cancer Diagnosis," Nanomedicine, Vol. 2, No. 5, 2007, pp. 725-734.

[6] L. Sun, C. Yu and J. Irudayaraj, "Raman Multiplexers for Alternative Gene Splicing," Analytical Chemistry, Vol. 80, No. 9, 2008, pp. 3342-3349.

[7] X. Huang, P. K. Jain, I. H. El-Sayed and M. A. El-Sayed, "Plasmonic Photothermal Therapy (PPTT) Using Gold Nanoparticles," Lasers in Medical Science, Vol. 23, No. 3, 2008, pp. 217-228.

[8] W. Cai, T. Gao, H. Hong and J. Sun, "Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology," Nanotechnology, Science and Applications, Vol. 1, 2008, pp. 17-32.

[9] M. Tréguer-Delapierre, J. Majimel, S. Mornet, E. Duguet and S. Ravaine, "Synthesis of non-spherical gold nanoparticles," Gold Bulletin, Vol. 41, No.2, 2008, pp. 195-207.

[10] P.K. Jain, K.S. Lee, I.H. El-Sayed, and M.A. El-Sayed,"Calculated Absorption and Scattering Properties of Gold Nanoparticles of Different Size, Shape, and Composition: Applications in Biological Imaging and Biomedicine," J. Phys. Chem B, Vol. 110, 2006, pp. 7238-7248.

[11] F. Wang, F. and Y. R. Shen, "General properties of local plasmons in metal nanostructures," Phys. Rev. Lett., Vol. 97, 2006, 206806.

[12] C.Bohren and D. Huffmann, "Absorption and Scattering of Light by Small Particles," John Wiley, New-York, 1983.

[13] G. Mie, "Contributions to the optics of turbid media, particullary of colloidal metal solutions," *Ann. Phys.*, vol.25, 1908, pp. 377-445.

[14] A. Sihvola, "Electromagnetic Mixing Formulas and Applications," The Institution of Engineering and Technology, London, 2008.

[15] I.V. Lindell, "Methods for electromagnetic field analysis," IEEE Press and Oxford University Press, 1995.

[16] J.G. Van Bladel, "Electromagnetic Fields," John Wiley & Sons, Hoboken, 2007.

[17] H.-L. Wu, C.-H. Kuo and M. H. Huang, "Seed-Mediated Synthesis of Gold Nanocrystals with Systematic Shape Evolution from Cubic to Trisoctahedral and Rhombic Do- decahedral Structures," Langmuir, Vol. 26, No. 14, 2010, pp. 12307-12313.

[18] P. Hanarp, M. Käll and D. S. Sutherland, "Optical Prop- erties of Short Range Ordered Arrays of Nanometer Gold Disks Prepared by Colloidal Lithography," The Journal of Physical Chemistry B, Vol. 107, No. 24, 2003, pp. 5768- 5772.

[19] L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Electromagnetic modeling of ellipsoidal nanoparticles for sensing applications," Optical Engineering, Vol. 52, No. 5, 2013, pp. 051205-1 – 051205-5.

[20] L. La Spada, R. Iovine, R. Tarparelli and L. Vegni, “Conical Nanoparticles for Blood Disease Detection,” ANP - Advances in Nanoparticles, Vol. 2, No. 3, 2013, pp. 259-265.

[21] F.J Garcìa de Abajo and A. Howie, "Retarded field calculation of electron energy loss in inhomogeneous dielectrics," Physical Review B, Vol. 65, 2002, pp. 115418.1-115418.17.

[22] R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, “Nanoparticle device for biomedical and optoelectronics applications,” COMPEL – The International Journal for Computation and Mathematics in Electrical and Electronic Engineering, Vol. 31, No. 5, 2013, pp.1596-1608.

[23] U. Hohenester, and J. Krenn, "Surface plasmon resonances of single and coupled metallic nanoparticles: A boundary integral method approach," Phys. Rev. B, Vol. 72, 2005, pp.195429.

[24] U. Hohenester, and A. Trugler, "MNPBEM- A Matlab toolbox for the simulation of plasmonic nanoparticles," Computer Physics Communications, Vol. 183, 2012, pp. 370-381.

[25] C.C. Liang, M.Y. Liao, W.Y. Chen, T.C. Cheng, W.H. Chang and C.H. Lin, “Plasmonic metallic nanostructures by direct nanoimprinting of gold nanoparticles,” Optics Express, Vol. 19, 2011, pp. 4768-4776.

[26] T. Chung, S.-Y. Lee, E.Y. Song, H. Chun and B. Lee, “Plasmonic Nanostructures for Nano-Scale Bio-Sensing,” Sensors, Vol. 11, No.11, 2011, pp.10907-10929.

[27] W. Yunus and A. Rahman, “Refractive index of solutions at high concentrations,” Applied Optics, Vol. 27, 1988, p. 3341-3343.

[28] A.M. Zisk, E.J. Chaney, and S.A. Boppart, "Refractive index of carciogen-induced rat mammary tumours," Phys. Med. Biol., Vol. 51, 2006, pp. 2165-2177.

[29] R. Iovine, L. La Spada, F. Bilotti and L. Vegni, “Electromagnetic properties design of non-spherical nanoparticles,” Proc. of the Third Conference of

the Italian National Bioengineering Group (GNB 2012), Rome, Italy, 26-29 June, 2012, paper 384.

[30] R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Nanoparticle device for biomedical and optoelectronics applications," Proc. of the 15th IGTE Symposium 2012, Graz, Austria, 16-19 September, 2012, pp. 25-30.

[31] C. Balanis, "Antenna Theory: Analysis and Design," John Wiley & Sons, United States of America, 2010.

[32] L. La Spada, R. Iovine, F. Bilotti and L. Vegni, "Nanorod-based glucose sensor," Proc. of the Sixth International Congress on Advanced Electromagnetic Materials in Microwaves and Optics - Metamaterials 2012, St. Petersburg, Russian, 17-22 September, 2012, pp. 375-377.

[33] R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Biconical nanoparticles as a tool for ultra-sensitive biosensing applications," Proc. of the 3rd International Conference on Bio-Sensing Technology, Sitges, Spain, 12-15 May, 2013, paper 357.

[34] R. Tarparelli, R. Iovine and L. Vegni, "Optical Sensor Based on LSPR Phenomenon to Reveal Cholesterol Concentrations for Biomedical Applications," Proc. of Progress In Electromagnetics Research Symposium, Stockholm, Sweden, 12-15 August, 2013, pp. 797-800.

[35] L. La Spada, R. Iovine, F. Bilotti and L. Vegni, "Planar nanoparticles array for biomedical sensing," Proc. of the Third Conference of the Italian National Bioengineering Group (GNB 2012), Rome, Italy, 26-29 June, 2012, paper 383.

[36] R. Iovine, L. La Spada, F. Bilotti and L. Vegni, "Gold Nano-particles as a Platform for Biosensing," Proc. of the XIX RiNEm 2012, pp. 79-82, Rome, Italy, 10-14 September, 2012.

[37] R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Nanophotonic device based on gold nanoparticles for biomedical applications," Proc. of the European Optical

Society Annual Meeting - EOSAM 2012, Aberdeen, Scotland, 25-28 September, 2012, pp. 3

[38] R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Nanoplasmonic sensor for chemical measurements," Proc. SPIE 8774, Optical Sensors 2013, 877411, Prague, Czech Republic, 15-18 Apr., 2013.

[39] R.E. Shangraw, and F. Jahoor, "Lipolysis and lipid oxidation in cirrhosis and after liver transplantation," Am. J. Gastrointest. Liver Physiol. Vol.278, No. 6, 2000, pp.G976-73.

[40] R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Optical properties of modified nanorod particles for biomedical sensing," Proc. of the 19th International Conference on the Computation of Electromagnetic Fields, COMPUMAG 2013, Budapest, Hungary, 30 June – 4 July, 2013, paper 340.

[41] R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Optical Properties of Modified Nanorod Particles for Biomedical Sensing," IEEE Transactions on Magnetics, Vol. 50, No. 2, 2014, paper 7004004.

[42] H. Wang, D. W. Brandl, F. Le, P. Nordlander, and N. J. Halas, "Nanorice: A hybrid plasmonic nanostructure," Nano Lett., Vol. 6, Vo. 4, 2006, pp. 827–832.

[43] V.H. Pham, T.T. Dang, S.H. Hur, E.J. Kim, and J.S. Chung, "Highly Conductive Poly(methyl methacrylate) (PMMA)-Reduced Graphene Oxide Composite Prepared by Self-Assembly of PMMA Latex and Graphene Oxide through Electrostatic Interaction," App. Mat. & Int., vol.4, 2012, pp.2630-2636.

[44] R. Tarparelli, R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Surface Plasmon Resonance of Nanoshell Particles with PMMA-Graphene Core," Proc. International Symposium on Theoretical Electrical Engineering, Pilsen, Czech Republic, 24-26 June, 2013.

[45] R. Tarparelli, R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Surface Plasmon Resonance of Nanoshell Particles with PMMA-Graphene Core," COMPEL

– The International Journal for Computation and Mathematics in Electrical and Electronic Engineering, Vol. 33, No. 6, 2014, pp. 2016-2029.

[46] A. Alù and N. Engheta, "Dielectric Sensing in Epsilon-Near-Zero Narrow Waveguide Channels," Phys. Rev. B, Vol. 78, 2008, pp. 045102-1-15.

[47] R. Iovine, R. Tarparelli and L. Vegni, "Plasmon Hybridization of Multilayer Cylinder Nanoparticles," Proc. of the Sixteenth Biennial IEEE Conference on Electromagnetic Field Computation CEFC 2014, Annecy, France, 25-28 May, 2014.

[48] X. Zuo, and Z. Sun, "Hybrid surface plasmon modes in metal-clad Si/SiO_2 waveguide for compact integration," Frontiers of Optoelectronics, Vol. 6, No. 3, 2013, pp. 261-269.

[49] Y. S. Joe, A. M. Satanin, and C. S. Kim, "Classical analogy of Fano resonances," Physica Scripta, Vol. 74, No. 2, 2006, pp. 259-279.

[50] R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, "Modified Bow-tie Nanoparticles Operating in the Visible and Near Infrared frequency Regime," ANP - Advances in Nanoparticles, Vol. 2, No.1, 2013, pp. 21-27.

[51] W. Ding, R. Bachelot, S. Kostcheev, P. Royer and R.E. de Lamaestre, "Surface Plasmon Resonances in Silver Bowtie Nanoantennas with Varied Bow Angles," Journal of Applied Physics, Vol. 108, No. 12, 2010, pp. 124314.

[52] H. Fischer and O. J. F. Martin, "Engineering the Optical Response of Plasmonic Nanoantennas," Optics Express, Vol. 15, No. 12, pp. 9144-9154.

[53] Y. Zhao, N. Engheta and A. Alù, "Effects of Shape and Loading of Optical Nanoantennas on Their Sensitivity and Radiation Properties," Journal of the Optical Society of America B, Vol. 28, No. 5, 2011, pp. 1266-1274.

[54] A. Weber-Bargioni, A. Schwartzberg, M. Schmidt, B. Harteneck, D. F. Ogletree, P. J. Schuck and S. Cabrini, "Functional Plasmonic Antenna

Scanning Probes Fabricated by Induced-Deposition Mask Lithography," Nanotechnology, Vol. 21, No. 6, 2010, pp. 1-6.

[55] R. Iovine, L. La Spada, R. Tarparelli and L. Vegni, "Multi resonant platform based on modified metallic nanoparticles for biological tissue characterization," Proc. SPIE 8789, Modeling Aspects in Optical Metrology IV, 87890Q, Munich, Germany, 13-16 May, 2013.

[56] Biswas, T. K., Ramadan, S., Ghosh, S. N. and Bhattacharya, R. N., "Uniqueness of refractive index as an effective diagnostic parameter for brain lesions: a novel noninvasive technique to predict refractive index from ct-mr fusion image by applying feynman's equation," The Internet Journal of Radiology Vol.14, No.1, 2012.

[57] D. Graham, B.J. Mallinder, D. Whitcomb, N.D. Watson and W.E. Smith, "Simple Multiplex Genotyping by Surface – Enhanced Resonance Raman Scattering," Anal. Chem., Vol.74, 2002, pp. 1069-1074.

[58] M.B. Wabuyele and T. Vo – Dinh, "Detection of human immunodeficiency virus type 1 DNA sequence using plasmonic nanoprobes," Anal. Chem., vol.77, 2005, pp. 7810-7815.

[59] C.V. Raman and K.S. Krishnan, "A New Type of Secondary Radiation," Nature, Vol.121, 1928, pp. 501-502.

[60] D.L. Jeanmaire and R.P. Van Duyne, "Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode," J. Electroanal. Chem., Vol.84, 1977, pp. 1-20.

[61] M.G. Albrecht and J.A. Creighton, "Anomalously Intense Raman Spectra of Pyridine at a Silver Electrode," Journal of the American Chemical Society, Vol.99, 1977, pp. 5215-5217.

[62] L.A. Loeb, K.R. Loeb and J.P. Anderson, "Multiple mutations and cancer," Proc. Natl. Acad. Sci., vol.100, 2003, pp. 776-781.

[63] L. Sun, C. Yu, and J. Irudayaraj, "Raman Multiplexers for Alternative Gene Splicing," Anal. Chem., Vol.80, 2008, pp. 3342-3349.

[64] T.I. Orban and E. Olah, "Expression profiles of BRCA1 splice variants in asynchronous and G1/S synchronized tumor cell lines," Biochem. Biophys. Res. Commun., vol.280, 2001, pp. 32-38.

[65] M. Mixon, F. Kittrell and D. Medina, "Expression of BRCA1 and splice variant BRCA1delta11 RNA levels in mouse mammary gland during normal development and tumorigenesis," *Oncogene,* Vol.19, 2000, pp.5237-5243.

[66] R. Iovine, V. Loscrì, S. Pizzi, R. Tarparelli and A.M. Vegni, "Model of Multi-Source Nanonetworks for the Detection of BRCA1 DNA Alterations Based on LSPR Phenomenon," ANP – Advances in Nanoparticles, Vol. 2, No. 4, 2013, pp. 301-312.

[67] B. Gupta, W. Rouesnel, I. Y. Goon, R. Amal and J. J. Gooding, "DNA Hybridization for Nanocube Function- alization," International Conference on Nanoscience and Nanotechnology (ICONN), Sydney, 22-26 Febraury 2010, pp. 166-170.

[68] I. E. Sendroiu, M. E. Warner and R. M. Corn, "Fabrica-tion of Silica-Coated Gold Nanorods Functionalized with DNA for Enhanced Surface Plasmon Resonance Imaging Biosensing Applications," Langmur, Vol. 25, No. 19, 2009, pp. 11282-11284.

[69] M.S. Yavuz, Y. Cheng, J. Chen, C.M. Cobley, Q. Zhang, M. Rycenga, J. Xie, C. Kim, A.G. Schwartz, L.V. Wang and Y.Xia, "Gold nanocages covered by smart polymers for controlled release with near-infrared light," Nat Mater., Vol. 8, 2009, pp. 935-939.

Metasuperfici microstrutturate per applicazioni bioelettromagnetiche

I progressi della tecnologia stanno rendendo possibile la sintesi di nuovi materiali artificiali che in virtù delle loro peculiari proprietà elettromagnetiche difficilmente riscontrabili in natura prendono il nome di metamateriali [1-3].

Le prime teorie su tali materiali risalgono al 1967 e si devono al fisico Victor Veselago, che fu il primo a proporre lo studio teorico di un materiale avente valori negativi di permeabilità magnetica e permittività elettrica e quindi di particolari proprietà magnetiche ed elettriche [4].

I metamateriali sono costituiti da un insieme di inclusioni metalliche o di tipo dielettrico (strutture che costituiscono l'elemento elementare della struttura) disperse ordinatamente o in maniera casuale, la cui spaziatura tipicamente è minore della lunghezza d'onda del campo incidente [5]. In tali circostanze le proprietà elettromagnetiche della struttura possono essere descritte attraverso parametri costitutivi macroscopici efficaci.

I metamateriali sono suddivisi sostanzialmente in due categorie secondo una classificazione che viene effettuata distinguendo quelli con entrambe le parti reali dei parametri dielettrici (permittività e permeabilità) negative, detti Double NeGative (DNG) da quelli che ne presentano solo una, denominati Single NeGative (SNG).

A quest'ultima categoria appartengono i materiali ENG e MNG che presentano, rispettivamente, valori negativi della sola permittività dielettrica ε o della sola permeabilità magnetica μ.

Tra le principali proprietà innovative derivanti dall'uso di tale tecnologia si citano [Veselago]:

- indice di rifrazione negativo;
- velocità di fase opposta alla velocità di gruppo;

- vettore di Poynting opposto al verso di propagazione del campo elettromagnetico;
- frequenza di Doppler ribaltata.

Le ricerche sui metamateriali stanno interessando anche la medicina/biologia con applicazioni di rilevamento di campioni biologici che prospettano a nuove applicazioni di tipo bioelettromagnetico.

Non mancano esempi in letteratura in cui micro-risuonatori vengono impiegati per il rilevamento di biomolecole sfruttando il confinamento del campo elettromagnetico, le ridotte dimensioni, mostrando valori di sensibilità superiori alle configurazioni classiche [6].

Le attività di ricerca condotte in questo specifico contesto hanno riguardato lo studio ed il progetto di metamateriali di tipo complementare (metasuperfici) per innovative applicazioni bioelettromagnetiche. Metamateriali di questa tipologia sono costituiti da una lamina metallica con incisioni dielettriche delle dimensioni inferiori a quelle della lunghezza d'onda del campo incidente [7-9] e possono essere utilizzati per realizzare filtri selettivi in frequenza per l'illuminazione di un campione biologico o piattaforme di biorilevamento basate sulle misurazioni di indice di rifazione.

Nell'ambito di tali attività sono stati sviluppati dei modelli circuitali per la descrizione analitica del comportamento elettromagnetico di tali strutture, nonché sviluppato un modello basato sullo studio della funzione di Green spettrale per metasuperifici e prospettato diverse soluzioni per la rilevazione di tessuti e composti in/organici.

Tali aspetti vengono analizzati nel presente capitolo.

2.1 METAMATERIALI A CONFIGURAZIONE COMPLEMENTARE

Applicazioni bioelettromagnetiche basate sulle proprietà dei metamateriali a configurazione complementare sono di grande interesse in molti campi come ad esempio, in medicina, microbiologia, sicurezza ambientale e personale. I sensori per applicazioni biomediche (es. per misurare le concentrazioni molecolari, studiare il DNA, stimare il pH, etc.) devono soddisfare specifici requisiti [10].
Per applicazioni il cui scopo è quello di rilevare le caratteristiche dei materiali organici è necessario che la risposta del biosensore sia simultaneamente sensibile e selettiva nei confronti delle proprietà dielettriche del campione [11].
Allo stesso tempo, utilizzando misure di assorbanza è possibile studiare modifiche strutturali e composizione molecolare del campione in esame. In particolare, alle lunghezze d'onda corrispondenti all'Infrarosso (IR) le misure di assorbimento svolgono un ruolo cruciale nell'analisi chimica per rivelare la presenza di un composto molecolare specifico in un campione biologico ovvero valutarne la concentrazione [12].
Ciò è dovuto al fatto che, nella gamma di frequenze IR, ogni composto molecolare mostra differenze significative nello spettro di assorbimento. Le bande di assorbimento sono dovute alle frequenze vibrazionali dei legami molecolari che costituiscono il composto chimico.

Al fine di caratterizzare un composto biologico è necessario identificare tali "bande di assorbimento specifiche" e conseguentemente irradiare il campione in modo selettivo, eccitante solo i gruppi chimici di interesse, senza indurre la risposta di bande di assorbimento di altri elementi chimici presenti nel campione biologico.
Si rende quindi necessario progettare dei filtri selettivi. Una tecnologia possibile per la realizzazione di filtri selettivi è quella basata su metasuperfici in

configurazione complementare che permettono di ottenere dal punto di vista delle applicazioni bioelettromagnetiche i seguenti vantaggi [13]:

• riduzione della dimensione dei sensori con elevata sensibilità: a causa della piccola dimensione della struttura, il volume del campione biologico necessario per l'analisi è decisamente piccolo. In aggiunta a questo, il miglioramento della sensibilità del sensore lo si ottiene grazie alla focalizzazione del campo sul campione biologico che massimizza l'interazione tra il campo elettrico e il campione.

• regolazione delle frequenze del filtro variando parametri geometrici delle inclusioni oppure controllando l'angolo che il vettore di propagazione del campo elettromagnetico incidente forma con la metasuperficie.

A tal fine in [14] è stato proposta la metasuperficie di Figura 2.1 costituita da tre incisioni dielettriche di tipologia quadrata di dimensioni geometriche differenti.

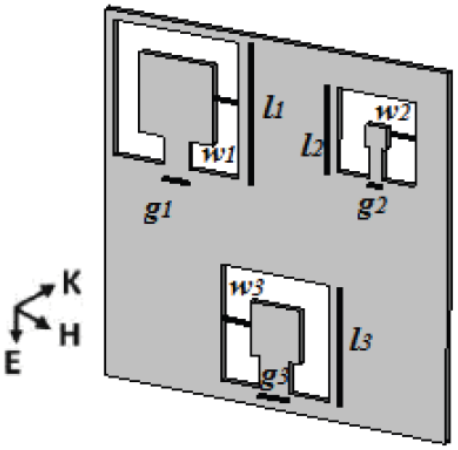


Figura 2.1: Cella unitaria della metasuperficie costituita da tre incisioni dielettriche di tipo quadrato di differenti dimensioni su lamina di argento [14].

Questa configurazione permette di filtrare tre lunghezze d'onda differenti e quindi di analizzare i moti vibrazionali dei composti chimici su tre frequenze.

Ulteriori studi hanno riguardato lo sviluppo di una metasuperficie con incisione dielettrica mostrata in Figura 2.2 in grado di analizzare i moti vibrazionali dei composti chimici su due frequenze sfruttando la multi-risonanza che si ottiene

variando l'angolo che il vettore di propagazione del campo elettromagnetico incidente forma con la metasuperficie stessa.

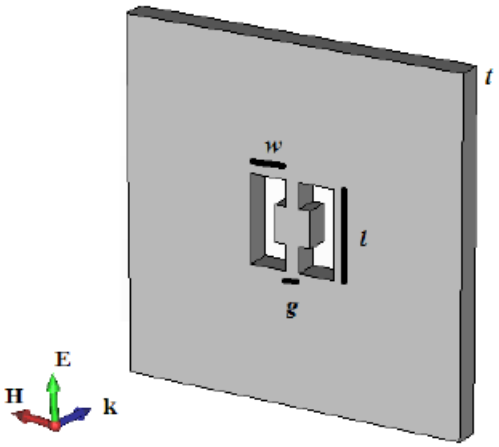


Figura 2.2 Cella unitaria della metasuperficie costituita da un incisione dielettrica su lamina di argento [13].

Le metasuperfici a configurazione complementare possono essere impiegate anche per applicazioni diagnostiche basate su misure di indice di rifrazione. In questo contesto è stato proposto in [15] il possibile impiego di un risonatore basato su metamateriali per il rilevamento di tessuti neoplastici operante nella banda S-C (2-8 GHz). La struttura del sensore è riportata in Figura 2.3. In questo caso, la variazione di permittività dielettrica e quindi di indice di rifrazione dell'ambiente dielettrico circostante determina una variazione della risposta spettrale che può essere utilizzata per il progetto di sensori bioelettromagnetici.

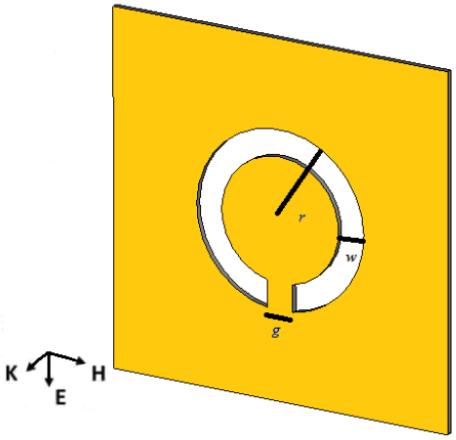


Figura 2.3 Cella unitaria della metasuperficie costituita da un incisione dielettrica circolare su lamina metallica [6].

Nei due seguenti sottoparagrafi vengono riportate le metodologie che sono state utilizzate per il progetto delle strutture ed in particolare vengono proposti dei modelli circuitali equivalenti delle strutture e lo studio analitico della funzione spettrale di Green per metasuperfici.

2.1.1 SVILUPPO DI MODELLI CIRCUITALI EQUIVALENTI

La descrizione delle strutture mediante la formulazione di modelli circuitali equivalenti si basa sull'approccio quasi-statico che risulta valido per dimensioni delle incisioni dielettriche decisamente più piccole della lunghezza d'onda del campo elettromagnetico incidente. Tale condizione è sempre verificata per le strutture proposte. In queste condizioni i fenomeni reattivi elettrici e magnetici possono essere descritti per il tramite di circuiti equivalenti risonanti di tipo *LC* [16,17].

In particolare considerando la metasuperficie di Figura 2. 4(a) ,in cui è stata scelta la geometria dell'incisione di tipo quadrato per la sua elevata sensibilità, si è supposto il campo elettromagnetico incidente costituito da un'onda TE [13].

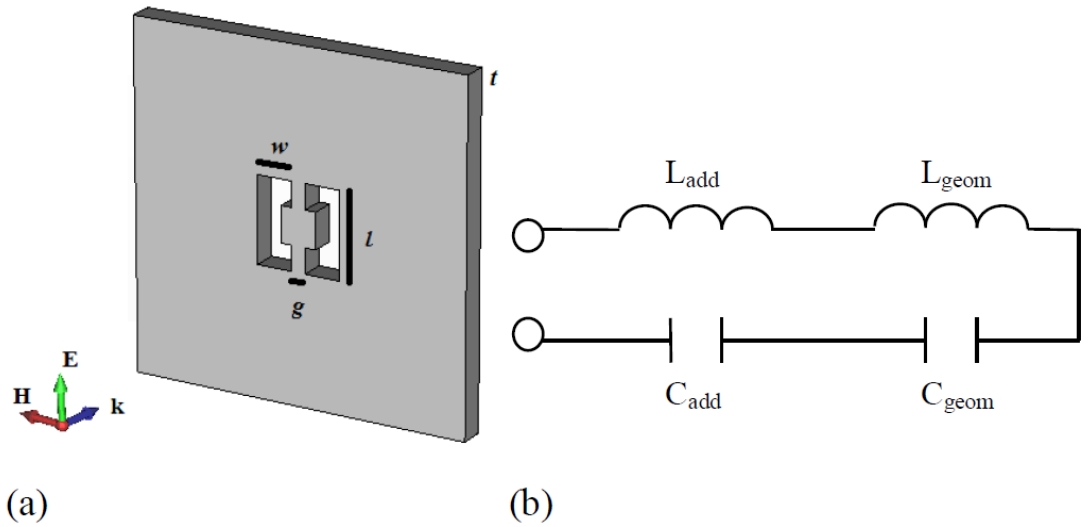


Figura 2.4 (a): Cella unitaria della metasuperficie costituita da un incisione dielettrica di tipo quadrato; *le caratteristiche elettromagnetiche della lamina sono descritte dal modello di Drude con i seguenti parametri:* $\omega_p=2\cdot\pi\cdot2175\cdot10^{12}$ *Hz,* $\gamma=9\cdot10^{12}$*Hz. (b): Modello circuitale equivalente della metasuperficie.*

Alle lunghezze d'onda di interesse lo spessore del metallo non può essere trascurato e il suo carattere dispersivo può essere tenuto in conto attraverso il modello di Drude con parametri indicati in Figura 2.4(a). Il circuito equivalente riportato in Figura 2.4(b) tiene conto della non idealità del metallo attraverso i termini L_{add} e C_{add}.

L'induttanza totale del circuito può essere valutata come la somma di due termini attraverso la seguente espressione:

$$L_{tot}=L_{geom}(l,w,g,t)+L_{add}(l,w,g,t,\omega_p,\gamma,\omega) \tag{2.1}$$

dove il termine L_{geom} ha dipendenza dai soli parametri geometrici della metasuperifice ed L_{add} ha dipendenza funzionale dai parametri elettromagnetici della lamina metallica e dalla pulsazione del campo incidente.

Il termine L_{geom} può a sua volta essere espresso come la somma di due termini attraverso la seguente espressione:

$$L_{geom}(l,w,g,t)=L_{gap}(l,w,g,t)+L_{square}(l,w,g,t) \tag{2.2}$$

ove L_{gap} descrive il flusso magnetico all'intorno del gap ed L_{square} descrive il flusso magnetico attorno la lamina ed hanno la seguente espressione:

$$L_{gap}(l,w,g,t)=\mu_0\mu_r\left[\left(w+t+g\right)+\left(\frac{2w}{\pi}\right)Arc\cosh\left[\frac{l-g}{g}\right]\right]$$

$$L_{square}(l,w,g,t)=2\mu_0\mu_r\frac{t+w}{\pi}Log\left[\frac{8l}{\pi g}\right] \tag{2.3}$$

Il termine L_{add} può essere descritto attraverso la seguente espressione:

$$L_{add}(l,w,t,\omega_p,\gamma,\omega)=\varepsilon_0\frac{l}{wt}\frac{\omega^2+\gamma^2}{\omega^2\omega_p{}^2} \tag{2.4}$$

dove ω è la frequenza angolare del campo incidente [rad/s], ω_p la pulsazione di plasma [rad/s], γ la frequenza di collisione [Hz], μ_0 la permeabilità magnetica del vuoto , μ_r la permeabilità relativa ed ε_0 la permittività dielettrica del vuoto.

Per quanto riguarda la capacità totale del circuito si può utilizzare la seguente espressione:

$$\frac{1}{C_{tot}}=\frac{1}{C_{geom}(l,w,t)}+\frac{1}{C_{add}(l,w,t,\varepsilon_r)} \tag{2.5}$$

dove il termine C_{geom} ha dipendenza dai soli parametri geometrici della metasuperifice ed C_{add} ha dipendenza funzionale dai parametri elettromagnetici della struttura secondo le seguenti espressioni:

$$C_{geom}(\mathrm{l,w,t})=\frac{\varepsilon_0}{4\pi}l\left(\begin{array}{l}2Log[2l]-\frac{w^2}{3t^2}Log[w]-\frac{t^2}{3w^2}Log[t]-\left(1-\frac{t^2}{6w^2}-\frac{w^2}{6t^2}\right)Log[w^2+t^2]+\\-\frac{4w}{3t}ArcTan\left[\frac{t}{w}\right]-\frac{4t}{3w}ArcTan\left[\frac{w}{t}\right]+\frac{13}{6}\end{array}\right) \quad (2.6)$$

$$C_{add}(\mathrm{l,w,t})=\varepsilon_0\varepsilon_r\frac{tw}{l}$$

La frequenza di risonanza può quindi essere espressa attraverso la seguente espressione:

$$f=\frac{1}{2\pi\sqrt{L_{tot}C_{tot}}} \quad (2.7)$$

2.1.2 STUDIO DELLA FUNZIONE SPETTRALE DI GREEN PER METASUPERFICI

Lo studio della funzione di Green per il calcolo della distribuzione di campo elettromagnetico in un mezzo è un approccio classico di tipo elettromagnetico. Recenti studi ne hanno proposto l'utilizzo per strutture tridimensionali anisotrope [18], per lo studio di linee di trasmissione con perdite [19] e per l'analisi spettrale di mezzi dielettrici [20].

La tecnica della funzione di Green è stata impiegata per investigare l'interazione del campo elettromagnetico con diversi tipi di mezzi come ad esempio substrati dielettrici multistrato [21], mezzi stratificati bi-isotropi e multi-strato sferici [22].

Le attività di ricerca relative allo studio della funzione di Green hanno riguardato la valutazione della funzione spettrale di Green nel dominio di Fourier per descrivere il fenomeno della risonanza plasmonica di superficie per metasuperfici [23,24]. La geometria che è stata studiata è quella mostrata in Figura 2.5 dove lo strato costituito dalla metasuperificie infinitamente esteso nel piano *xz* è posto tra il piano di massa ed il semispazio superiore costituito dal vuoto. I parametri costitutivi della metasuperficie sono stati presi in accordo all'idea di Veselago [4].

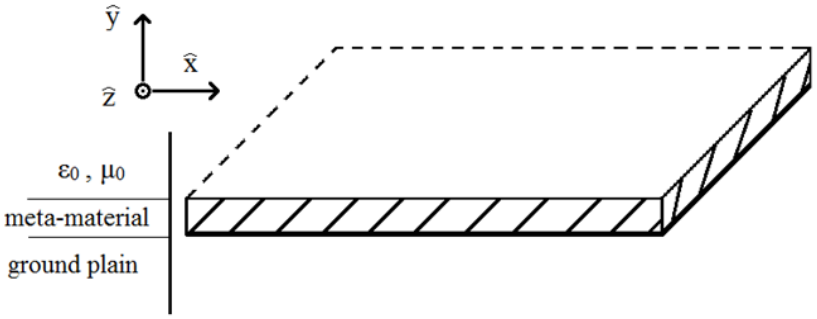


Figura 2.5: Geometria della metasuperficie infinitamente estesa nel piano xz.

Lo studio elettromagnetico della struttura può essere sviluppato a partire dalle equazioni di Maxwell nel dominio del tempo con la sola corrente impulsiva **J** posta in *(x=0, y=-h, z=0)* secondo lo schema di Figura 2.6.

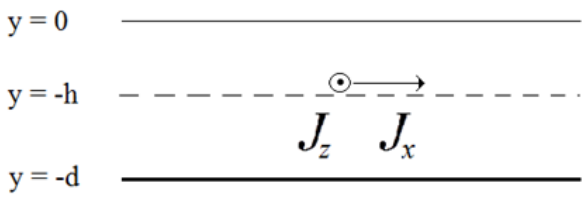


Figura 2.6: Metasuperficie con l'indicazione dell'allocazione della sorgente planare impulsiva.

Il campo elettrico può essere espresso [25] con la seguente espressione:

$$\mathbf{E} = \int_V \underline{\mathbf{G}}(\mathbf{r}|\,\mathbf{r}') \cdot \mathbf{J}(\mathbf{r}')dV \tag{2.8}$$

dove $\underline{\mathbf{G}}(\mathbf{r}|\,\mathbf{r}')$ è la funzione di Green diadica che normalmente è una matrice completa 3x3 ma sotto l'ipotesi di eccitazione planare la funzione di Green $\underline{\mathbf{G}}(\mathbf{r}|\,\mathbf{r}')$ si riduce ad una diade 2x2. L'espressione nel dominio trasformato di Fourier risulta la seguente:

$$\tilde{\mathbf{E}}(\alpha, y, \beta) = \int_{-\infty}^{+\infty} \tilde{\underline{\mathbf{G}}}(\alpha, y, \beta | y') \cdot \tilde{\mathbf{J}}(y')dy' \tag{2.9}$$

Al fine di valutare la distribuzione spaziale del campo elettrico è necessario ritornare al dominio di partenza ricordando le seguenti espressioni:

$$\begin{cases} \mathrm{E}_x(x,y,z) = \dfrac{1}{4\pi^2} \displaystyle\int_{-\infty}^{+\infty}\int_{-\infty}^{+\infty} \tilde{\mathrm{G}}_{xx}(\alpha, y, \beta | -h)\, \tilde{J}_x(\alpha, -h, \beta) e^{j(\alpha x + \beta z)}\, d\alpha\, d\beta \\ \mathrm{E}_y(x,y,z) = \dfrac{1}{4\pi^2} \displaystyle\int_{-\infty}^{+\infty}\int_{-\infty}^{+\infty} \tilde{\mathrm{G}}_{yx}(\alpha, y, \beta | -h)\, \tilde{J}_x(\alpha, -h, \beta) e^{j(\alpha x + \beta z)}\, d\alpha\, d\beta \\ \mathrm{E}_z(x,y,z) = \dfrac{1}{4\pi^2} \displaystyle\int_{-\infty}^{+\infty}\int_{-\infty}^{+\infty} \tilde{\mathrm{G}}_{zx}(\alpha, y, \beta | -h)\, \tilde{J}_x(\alpha, -h, \beta) e^{j(\alpha x + \beta z)}\, d\alpha\, d\beta \end{cases} \tag{2.10}$$

In maniera similare all'approccio riportato in [25] ed assumendo la corrente impulsiva **J** diretta lungo l'asse x come mostrato in Figura 2.6 ed utilizzando la seguente trasformazione:

$$d\alpha\, d\beta = \left|\det\left[\text{Jacobian}\left(\xi,\delta\right)\right]\right| d\xi\, d\delta = \xi\, d\xi\, d\delta \tag{2.11}$$

per y>0 la distribuzione di campo elettrico diviene:

$$\begin{cases} \mathrm{E_x}\left(x,y,z\right) = \dfrac{-j\,\Im_0}{4\pi^2}\omega\mu\displaystyle\int_0^{2\pi}\cos^2\delta\int_0^{+\infty}\xi\,\dfrac{\mathrm{sh}\left[\gamma_1\left(d-h\right)\right]}{\Phi\left(\gamma_1 d\right)}e^{-\gamma_2 y}e^{j\xi\left(\sin\delta x+\cos\delta z\right)}d\xi\, d\delta + \\ -\dfrac{j\,\Im_0}{4\pi^2\omega\varepsilon_0}\displaystyle\int_0^{2\pi}\sin^2\delta\int_0^{+\infty}\xi\,\gamma_1\gamma_2\,\dfrac{\mathrm{sh}\left[\gamma_1\left(d-h\right)\right]}{\Gamma\left(\gamma_1 d\right)}e^{-\gamma_2 y}e^{j\xi\left(\sin\delta x+\cos\delta z\right)}d\xi\, d\delta \\ \mathrm{E}_y\left(x,y,z\right) = \dfrac{\Im_0}{4\pi^2\omega\varepsilon_0\,\varepsilon_r}\displaystyle\int_0^{2\pi}\sin\delta\int_0^{+\infty}\xi^2\gamma_1\,\dfrac{\mathrm{sh}\left[\gamma_1\left(d-h\right)\right]}{\Gamma\left(\gamma_1 d\right)}e^{-\gamma_2 y}e^{j\xi\left(\sin\delta x+\cos\delta z\right)}d\xi\, d\delta \\ \mathrm{E}_z\left(x,y,z\right) = \dfrac{j\,\Im_0}{8\pi^2}\omega\mu\displaystyle\int_0^{2\pi}\sin 2\delta\int_0^{+\infty}\xi\,\dfrac{\mathrm{sh}\left[\gamma_1\left(d-h\right)\right]}{\Phi\left(\gamma_1 d\right)}e^{-\gamma_2 y}e^{j\xi\left(\sin\delta x+\cos\delta z\right)}d\xi\, d\delta + \\ +\dfrac{j\,\Im_0}{8\pi^2\omega\varepsilon_0}\displaystyle\int_0^{2\pi}\sin^2 2\delta\int_0^{+\infty}\xi\,\gamma_1\gamma_2\,\dfrac{\mathrm{sh}\left[\gamma_1\left(d-h\right)\right]}{\Gamma\left(\gamma_1 d\right)}e^{-\gamma_2 y}e^{j\xi\left(\sin\delta x+\cos\delta z\right)}d\xi\, d\delta \end{cases} \tag{2.12}$$

dove $\Im_0$ è la trasformata di Fourier bidimensionale dell'impulso di corrente **J**, ed avendo posto le seguenti uguaglianze:

$$\Phi\left(\gamma_1 d\right) = \gamma_1\,\mathrm{ch}\left(\gamma_1 d\right) + \gamma_2\,\mathrm{sh}\left(\gamma_1 d\right) \tag{2.13}$$

$$\Gamma\left(\gamma_1 d\right) = \varepsilon_r\,\gamma_2\,\mathrm{ch}\left(\gamma_1 d\right) + \gamma_1\,\mathrm{sh}\left(\gamma_1 d\right) \tag{2.14}$$

$$\begin{cases} \gamma_1^{\,2} = \xi^2 - k_0^{\,2}\varepsilon_r \\ \gamma_2^{\,2} = \xi^2 - k_0^{\,2} \end{cases}, \quad k_0^{\,2} = \omega^2\mu_0\,\varepsilon_0 \tag{2.15}$$

Le formule sono valide anche nella regione di spazio $y \in (-h,0]$ e $y \in [-d,-h]$. Utilizzando le coordinate polari (ρ,φ) del piano $xz:\{x=\rho\cos\varphi, z=\rho\sin\varphi\}$ e svolgendo l'integrale rispetto la variabile δ l'espressione 2.12 assume la seguente forma:

$$\begin{cases} \boxed{\rho\,\xi \in \mathbb{R}} \\ \mathrm{E_x}(x,y,z) = \dfrac{-j\,\Im_0}{4\pi^2}\omega\mu\displaystyle\int_0^{+\infty} \mathrm{J_1}(\rho\xi)\dfrac{\mathrm{sh}\left[\gamma_1(d-h)\right]}{\Phi(\gamma_1 d)}e^{-\gamma_2 y}d\xi\ + \\ -\dfrac{j\,\Im_0}{2\pi\omega\varepsilon_0}\displaystyle\int_0^{+\infty}\xi\gamma_1\gamma_2\left(\dfrac{\mathrm{J_1}(\rho\xi)}{\rho\xi}-\mathrm{J_2}(\rho\xi)\right)\dfrac{\mathrm{sh}\left[\gamma_1(d-h)\right]}{\Gamma(\gamma_1 d)}e^{-\gamma_2 y}d\xi \\ \mathrm{E}_y(x,y,z) = \dfrac{j\,\Im_0}{4\pi^2\omega\varepsilon_0\varepsilon_r}\displaystyle\int_0^{+\infty}\xi^2\gamma_1\mathrm{J_1}(\rho\xi)\dfrac{\mathrm{sh}\left[\gamma_1(d-h)\right]}{\Gamma(\gamma_1 d)}e^{-\gamma_2 y}d\xi \\ \mathrm{E}_z(x,y,z) = 0 \end{cases} \tag{2.16}$$

Al fine di provare l'esistenza del campo elettrico plasmico è necessario imporre la condizione di campo superficiale ed esaminare i piani di interfaccia. Per la condizione di campo superficiale si ha $\mathrm{E_y}(x,y,z)=0$. Questa condizione la si ottiene scegliendo la condizione di polo dominante che risulta:

$$\gamma_1 = 0 \tag{2.17}$$

o equivalentemente:

$$\xi = k_0\sqrt{\varepsilon_r} \tag{2.18}$$

In queste condizioni il campo elettrico plasmonico ha un numero d'onda che si riduce alla circonferenza di raggio $\xi = k_0\sqrt{\varepsilon_r}$ e l'integrale dipende solo da questi contributi spettrali. Quindi, la presenza del campo elettrico plasmonico è assicurato dalle seguenti tipologie di metasuperfici:

- dielettrici Epsilon Near Zero (ENZ);
- dielettrici Single-Negative (SNG);
- dielettrici SNG e ENZ.

A partire dall'espressione 2.16 si ottiene:

$$\begin{cases} \boxed{y=0^{+}} \\ \mathrm{E_x}(x,y,z) = -\dfrac{j\Im_0}{2\pi}\omega\mu\dfrac{d-h}{1+d\,k_0\sqrt{\varepsilon_r-1}}\dfrac{\mathrm{J_1}\left(\rho\,k_0\sqrt{\varepsilon_r}\right)}{\rho} \\ \mathrm{E}_y(x,y,z)=0 \\ \mathrm{E}_z(x,y,z)=0 \end{cases} \tag{2.19}$$

$$\begin{cases} \boxed{y=0^{-}} \\ \mathrm{E_x}(x,y,z) = -\dfrac{j\Im_0}{2\pi}\omega\mu(d-h)\dfrac{\mathrm{J_1}\left(\left|\rho\,k_0\sqrt{\varepsilon_r}\right|\right)}{\rho} \\ \mathrm{E}_y(x,y,z)=0 \\ \mathrm{E}_z(x,y,z)=0 \end{cases} \tag{2.20}$$

Le formule 2.19 e 2.20 mostrano che il campo elettrico all'interfaccia ha una discontinuità, che risulta essere secondo la seguente espressione il campo elettrico plasmonico:

$$\begin{cases} \mathrm{E}_{\mathrm{x}}^{(SPR)}(x,y,z) = -\dfrac{j\,\Im_0}{2\pi\rho}\,\omega\,\mu(d-h)\left(\dfrac{\mathrm{J}_1\left(\rho\,k_0\sqrt{\varepsilon_r}\right)}{1+d\,k_0\sqrt{\varepsilon_r-1}} - \mathrm{J}_1\left(\left|\rho\,k_0\sqrt{\varepsilon_r}\right|\right)\right), \\ \mathrm{E}_{y}^{(SPR)}(x,y,z) = 0, \\ \mathrm{E}_{z}^{(SPR)}(x,y,z) = 0. \end{cases} \tag{2.21}$$

Ovviamente il campo elettrico plasmonico può essere composto da contributi provenienti da altri punti spettrali tuttavia si può considerare che la condizione di polo dominante include la parte più importante dello spettro.

Nel seguente paragrafo verranno mostrate le possibili applicazioni bioelettromagnetiche utilizzando metasuperfici in particolare per il rilevamento di tessuti e composti organici.

2.2 APPLICAZIONI BIOELETTROMAGNETICHE DEI METAMATERIALI MICROSTRUTTURATI PER IL RILEVAMENTO DI TESSUTI E COMPOSTI ORGANICI

Come evidenziato, tutti i composti organici ed inorganici assorbono in specifiche regioni spettrali. Le bande di assorbimento sono dovute alle vibrazioni molecolari dei legami chimici che nel loro insieme costituiscono il campione biologico in esame [26]. Gli stati vibrazionali delle molecole possono essere valutati mediante spettroscopia infrarossa, a causa del fatto che le transizioni vibrazionali richiedono tipicamente una quantità di energia che corrisponde alla regione infrarossa dello spettro. A tali frequenze i composti biologici mostrano diversi picchi di assorbimento. La specificità e l'unicità degli spettri di assorbimento rendono l'analisi spettroscopica di grande interesse per il rilevamento di composti organici.

Pertanto, per il riconoscimento del composto organico è necessario illuminare in modo selettivo il campione biologico. Ciò si ottiene sintonizzando le frequenze di risonanza delle metasuperfici con le frequenze vibrazionali tipiche del composto sotto esame. Quando le frequenze di risonanza della metasuperficie sono prossime a quelli presenti nello spettro assorbanza della sostanza in esame, la forma della risposta è notevolmente modificata in termini di grandezza e larghezza di banda. In particolare, tali modifiche sono in relazione con il tasso di assorbimento del materiale e quindi la sua concentrazione. Tali informazioni permettono di rilevare importanti caratteristiche del campione sotto analisi. In Figura 2.7 è mostrato lo schema di funzionamento del sistema di rilevamento. Nella configurazione proposta, l'assorbimento della radiazione elettromagnetica viene rilevata dalle variazioni del coefficiente di trasmissione.

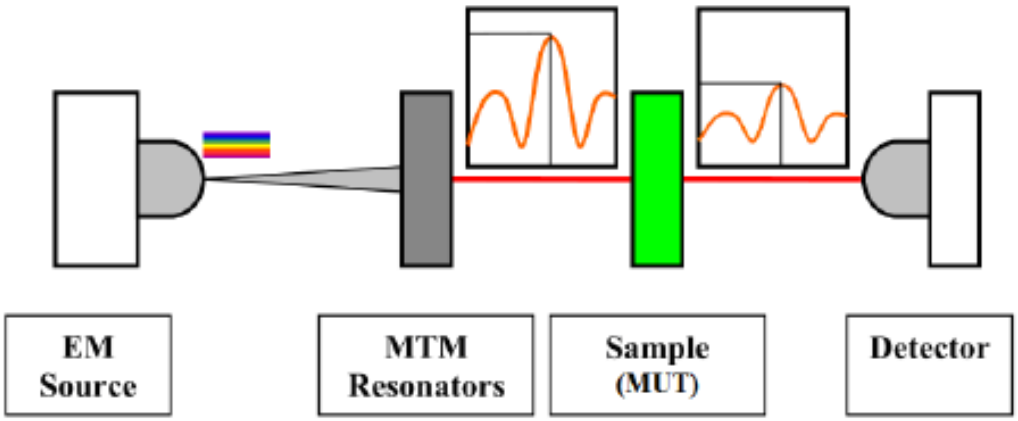


Figura 2.7: Piattaforma di biorilevamento per composti organici.
In grigio è riportata la metasuperficie ed in verde il campione biologico.

La metasuperficie riportata in grigio nello schema è illuminata da un campo elettromagnetico nella regione spettrale dell'Infrarosso – IR. In tali condizioni operative, la metasuperficie a configurazione di tipo complementare funge da filtro lasciando passare, secondo progetto, le sole componenti spettrali coincidenti con le frequenze dei moti vibrazionali del composto in esame. A questo punto la presenza del campione biologico, riportato in verde nello schema, influenza

l'ampiezza e la larghezza di banda del segnale trasmesso in relazione alle caratteristiche di assorbimento del campione biologico.

Nelle attività di ricerca è stato indagato un altro possibile schema basato su metasuperfici particolarmente adatto per il biorilevamento di tessuti neoplastici, che si basa su misure di indice di rifrazione. In questo schema riportato in Figura 2.8 la metasuperficie (riportata in grigio) è direttamente in contatto con il campione biologico (riportato in verde).

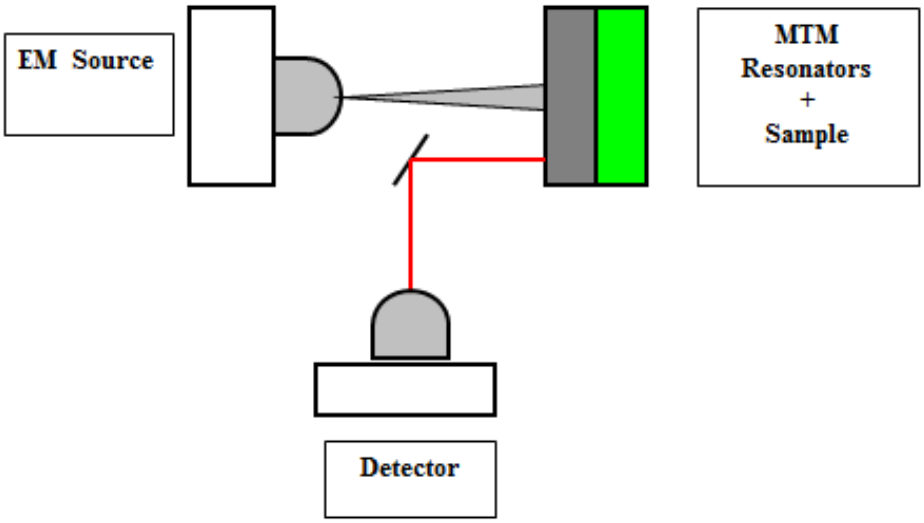
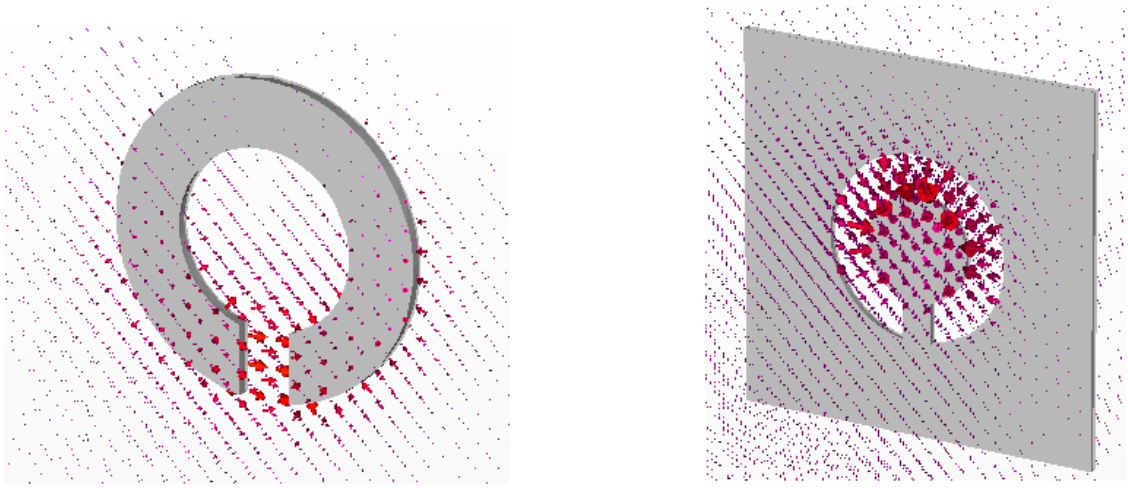


Figura 2.8: Piattaforma di biorilevamento per tessuti neoplastici.
In grigio è ripoarta la metasuperficie ed in verde il campione biologico.

Il parametro utilizzato per il biorilevamento in questo caso è il coefficiente di riflessione che risulta modificato in relazione all'indice di rifrazione che assume il campione biologico con cui risulta a contatto. Tale schema risulta particolarmente utile ai fini di diagnostica medica in quanto a differenze di indice di rifrazione di un tessuto possono essere associate condizioni fisiopatologiche differenti [27,28].

La scelta della tecnologia per la metasuperficie è ricaduta sulla configurazione di tipo complementare cui un esempio è riportato in Figura 2.9 (b).



(a) (b)

Figura 2.9: (a) Split Ring Resonator tradizionale; (b) Split Ring Resonator di tipo Complementare.

Tale configurazione offre il vantaggio di una maggiore interazione tra il campo elettrico e il campione biologico rispetto al tradizionale Split Ring Resonator (riportato in Figura 2.9a). Infatti nella configurazione di tipo complementare le linee del campo elettrico non solo localizzare esclusivamente nel gap (Figura 2.9 a) ma lungo tutta la geometria dell'anello (Figura 2.9 b).

Nei seguenti sotto paragrafi vengono mostrate le applicazioni proposte per il rilevamento di tessuti (sano e neoplastico della mammella) e composti organici (misurazione della concentrazione di emoglobina e valutazione del contenuto di acqua in campioni biologici).

2.2.1 METASUPERFICI PER APPLICAZIONI DI MISURA DELLA CONCENTRAZIONE DI EMOGLOBINA IN CAMPIONI BIOLOGICI

Il rapporto ossi-deossiemoglobina è un parametro estremamente importante per le indagini diagnostiche di routine in quanto permette di stimare il grado di perfusione nei tessuti. Considerando la metasuperficie di Figura 2.4 è stato proposto in [13] il

suo possibile utilizzo per valutare attraverso misure di assorbimento, secondo lo schema di Figura 2.7, il rapporto di concentrazione ossi/deossiemoglobina.

In particolare, considerando che i picchi di assorbimento dell'emoglobina ossigenata e deossigenata sono presenti rispettivamente a 315 e 400 THz [29], è stata progettata la metasuperficie di tipo quadrato a configurazione complementare assumendo i parametri riportati in Figura 2.10.

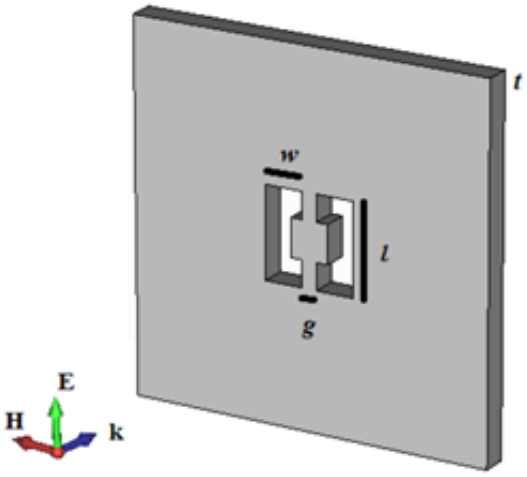


Figura 2.10: Cella unitaria della metasuperficie costituita da un incisione dielettrica di tipo quadrato con *l=240nm; w=79nm; g=40nm; t=70nm. Modello di Drude lamina in argento con i seguenti parametri:* $\omega_p=2\cdot\pi\cdot2175\cdot10^{12}$ *Hz,* $\gamma=9\cdot10^{12}$*Hz.*

Con tali parametri, scelti opportunamente seguendo la modellistica di cui al paragrafo 2.1.1, si ottiene per il coefficiente di trasmissione il diagramma di Figura 2.11. Tale diagramma mostra come sia possibile sintonizzare la risposta elettromagnetica della struttura per farla coincidere con i picchi di assorbimento della ossi/deossiemoglobina.

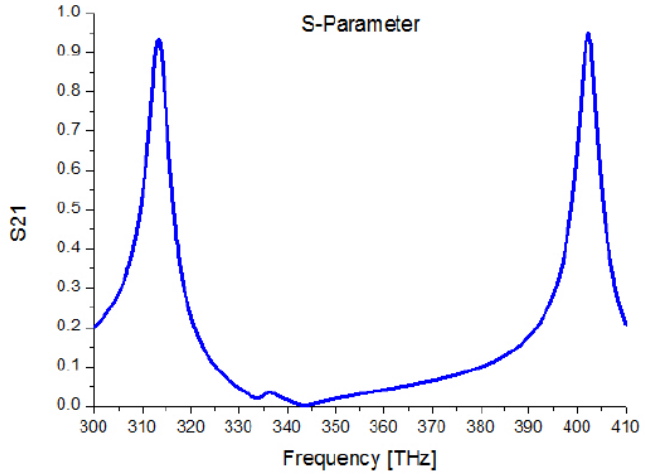


Figura 2.11: Spettro di trasmissione per metasuperficie costituita da un incisione dielettrica di tipo quadrato con *l=240nm; w=79nm; g=40nm; t=70nm. Modello di Drude lamina in argento con i seguenti parametri:* $\omega_p=2\cdot\pi\cdot2175\cdot10^{12}$ *Hz,* $\gamma=9\cdot10^{12}$*Hz.*

Per descrivere il comportamento elettromagnetico del campione biologico in esame sono stati utilizzati i modelli di assorbanza riportata in [29].

Le misurazioni ottenute attraverso simulazioni numeriche sono riportati in Figura 2.12.

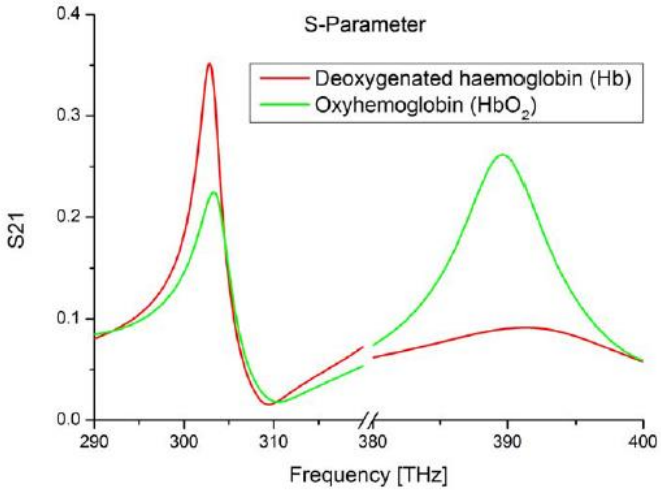


Figura 2.12: Spettro di trasmissione per il biorilevamento della ossiemoglobina e la deossiemoglobina, utilizzando la metasuperficie di Figura 2.11 nello schema di Figura 2.7 con i modelli del campione biologico riportati in [9 del 7].

I risultati mostrano che si ottengono differenti curve per ossi/deossiemoglobina. In particolare i picchi relativi alla risonanza della struttura subiscono una brusca

attenuazione in caso di differenti concentrazioni di ossi/deossiemoglobina. Ciò suggerisce un possibile utilizzo di tali strutture per la valutazione della concentrazione di diversi composti organici.
Nel successivo paragrafo verrà mostrata la possibilità di utilizzare metasuperfici per la valutazione del contenuto di acqua in campioni biologici.

2.2.2 METASUPERFICI PER LA VALUTAZIONE DEL CONTENUTO DI ACQUA IN CAMPIONI BIOLOGICI

La valutazioni del contenuto di acqua in campioni biologici è un parametro importante nelle indagini di diagnostica medica. E' ben noto che meccanismi alterati di perfusione dei tessuti possono essere collegati a diverse condizioni fisiopatologiche degli organi [30]. E' quindi di grande interesse la possibilità di misurare il quantitativo d'acqua in campioni biologici. La soluzione tecnologica proposta in [14] si basa sulle peculiari caratteristiche delle bande di assorbimento dell'acqua nell'infrarosso. Tali bande sono legate alle vibrazioni molecolari che coinvolgono varie combinazioni dei modi fondamentali di vibrazione delle molecole d'acqua. Quando un'onda elettromagnetica si propaga attraverso un mezzo contenente molecole di acqua cede porzione della sua energia elettromagnetica che viene assorbita da tali molecole. Tale assorbimento si verifica a certe frequenze caratteristiche mentre il resto dello spettro viene trasmesso con effetti minimi. In particolare, considerando che i picchi di assorbimento dell'acqua sono presenti rispettivamente a 55, 60 e 100 THz [26], è stata progettata una metasuperficie in grado da filtrare la radiazione elettromagnetica incidente su tali frequenze ed illuminare il campione biologico secondo lo schema di Figura 2.7. La metasuperficie proposta in [14] è riportata in Figura 2.13.

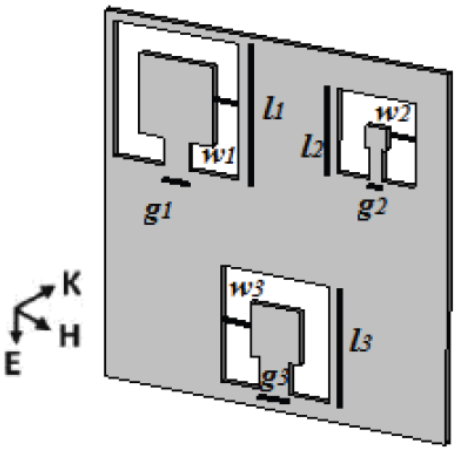


Figura 2.13: Cella unitaria della metasuperficie costituita da tre incisioni dielettriche di tipo quadrato con l_1=880nm; l_2=544nm; l_3=760nm; w_1=180nm; w_2=200nm; w_3=205nm; g_1=180nm; g_2=80nm; g_3=205nm [14].

I parametri di progetto indicati in didascalia di Figura 2.13 garantiscono le risonanze in corrispondenza delle tre frequenze caratteristiche. I risultati delle simulazioni numeriche condotte avendo considerato le caratteristiche di assorbimento dell'acqua presenti in [26] sono riportate in Figura 2.14.

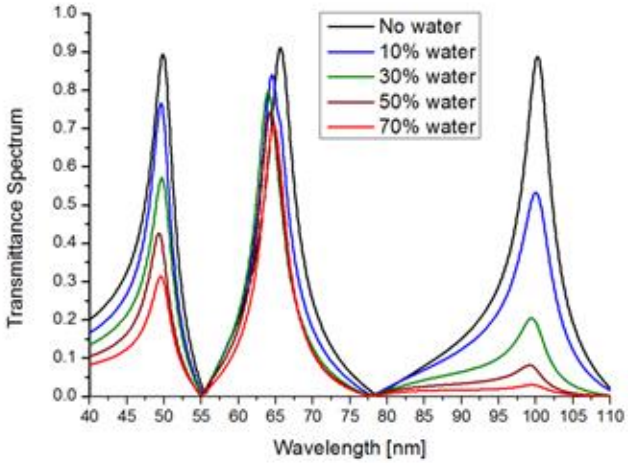


Figura 2.14: Spettro di assorbimento dell'acqua contenuta in tessuto [14].

Si può osservare dalla Figura 2.14 come all'aumentare del contenuto di acqua all'interno di un tessuto biologico diminuisca l'ampiezza dello spettro di trasmissione in relazione all'energia assorbita dall'acqua stessa.
La struttura proposta può trovare applicazione anche per il biorilevamento di tessuti sani e neoplastici in virtù del differente contenuto di acqua al proprio interno.
Nel successivo paragrafo viene proposto l'utilizzo di metasuperfici per il biorilevamento di tessuti neoplastici.

2.2.3 METASUPERFICI PER IL BIORILEVAMENTO DI TESSUTI NEOPLASTICI

In questo studio [15] è stato presentato un biosensore basato su metasuperfici operante nella banda S-C (2-8 GHz). Il sensore è progettato per rilevare la presenza di tessuti neoplastici mediante misurazioni della variazione del coefficiente di riflessione per effetto dell'inserzione del materiale biologico. I cambiamenti nella risposta elettromagnetica del sensore in termini di shift in frequenza e variazioni in ampiezza sono relazionabili ai differenti valori di permittività e assorbimento del tessuto neoplastico rispetto a quello normale. Tale studio è avvenuto in collaborazione congiunta tra il Laboratorio di Elettromagnetismo Applicato (Università Roma Tre) e l'U.O.S.D. Chirurgia oncologica della mammella e gestione percorsi diagnostici terapeutici (Azienda Ospedaliera San Camillo - Forlanini).
Per applicazioni il cui scopo è quello di rilevare le caratteristiche dei materiali organici è necessario che la risposta del biosensore sia simultaneamente sensibile e selettiva nei confronti delle proprietà dielettriche del campione.
Il sensore è costituito da un array di inclusioni di tipo complementare, ossia inclusioni dielettriche di forma circolare incise su lastra metallica (Figura 2.15).

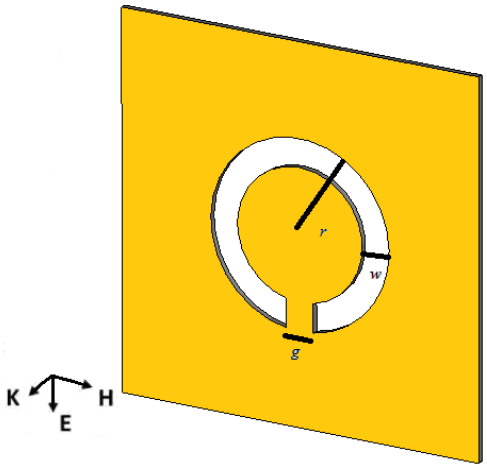


Figura 2.15: Metasuperficie con inclusione circolare dielettrica (r=5 mm, w=g=0.3*r mm, spessore lamina=0.3*r).

La focalizzazione e l'intensificazione del campo in prossimità delle inclusioni permette di ottenere ottime prestazioni in termini di sensibilità e selettività di risposta. Attraverso simulazioni di tipo numerico, i parametri geometrici relativi alle dimensioni delle inclusioni sono stati ottimizzati .

Il sistema proposto trova applicazione nel campo della sensoristica elettromagnetica per il rilevamento di campioni ex-vivo di tessuti sani e neoplastici. La struttura ha specifiche caratteristiche elettromagnetiche legate alla sua geometria ed in particolare presenta una frequenza di risonanza quando viene eccitata da un'onda piana con il vettore di propagazione **k** perpendicolare al piano del sensore (Figura 2.15). Il materiale da testare viene posto dietro il sensore ed il sistema “sensore - campione biologico" è illuminato da una sorgente elettromagnetica secondo lo schema di Figura 2.8. Il segnale rilevato (in riflessione) ha una frequenza di risonanza e un’ampiezza che sono dipendenti dalle caratteristiche elettromagnetiche del sistema complessivo (Figura 2.16).

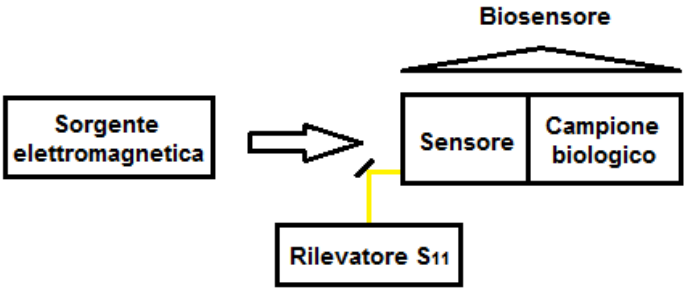


Figura 2.16: Schema a blocchi della piattaforma di biorilevamento.

Il comportamento elettromagnetico del sistema è legato alla variazione della permittività dell'intera struttura, causata dalla presenza del campione biologico che produce un cambiamento della frequenza di risonanza propria del sistema a causa della variazione di permittività indotta dal materiale biologico. La risposta del sensore è notevolmente modificata in termini di larghezza di banda in relazione alle caratteristiche di assorbimento del campione in esame.

Al fine di testare il sensore, sono stati utilizzati i valori sperimentali della permittività di tessuti sani e neoplastici presenti in letteratura [27]. I campioni biologici del tessuto sano e neoplastico sono posti a diretto contatto con il sensore. In questa configurazione, la variazione della permittività del sistema, causata dalle diverse caratteristiche elettromagnetiche dei campioni in esame, gioca un ruolo rilevante nella risposta in frequenza. Dalla variazione della frequenza di risonanza è possibile distinguere accuratamente i tessuti sani da quelli neoplastici. In Figura 2.17 sono mostrati i risultati nel caso di tessuti sani e tumorali della mammella. Il parametro utilizzato per il biorilevamento è il coefficiente di riflessione del sistema.

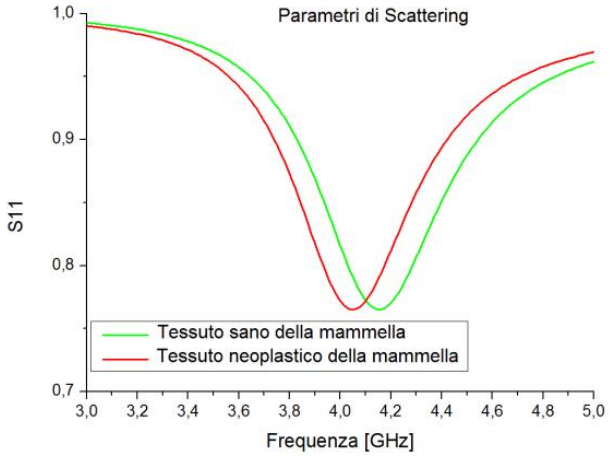


Figura 2.17: Variazione della frequenza di risonanza tra tessuto normale (verde) e tessuto maligno (rosso).

La criticità operativa del setup sperimentale consiste nella preparazione dei campioni biologici per i quali è necessario studiare l'ottimizzazione delle geometrie dell'assieme risonatore - campione biologico.

Nel successivo capitolo vengono discusse ulteriori tematiche che sono state sviluppate a complemento rispetto all'attività principale di ricerca.

Referenze bibliografiche

[1] R.W. Ziolkowski, “Design, fabrication, and testing of double negative metamaterials,” IEEE Transactions on Antennas and Propagation, Vol. 51, No. 7, 2003, pp.1516-1529.

[2] A. Boltasseva and V.M. Shalaev, “Fabrication of optical negative-index metamaterials: Recent advances and outlook,” Metamaterials, Vol. 2, No. 1, 2008, pp.1-17.

[3] W. Wu, E. Kim, E. Ponizovskaya, Y. Liu, Z. Yu, N. Fang, Y.R. Shen, A.M. Bratkovsky, W. Tong, C. Sun, X. Zhang, S.Y. Wang and R.S. Williams, “Optical metamaterials at near and mid-IR range fabricated by nanoimprint lithography,” Appl. Phys., A Mater. Sci. Process, Vol. 87, No.2, 2007, pp.143–150.

[4] V.G. Veselago, “The electrodynamics of substances with simultaneously negative values of ε and μ ,” Soviet Physics Uspekhi, Vol. 10, No. 4, 1968, pp.509-514

[5] J.B. Pendry, D. Schirig and D.R. Smith, Controlling electromagnetic fields, Science, Vol. 312, No. 5781, 2006, pp.1780-1782.

[6] A.Yalçin, K.C. Popat, J.C. Aldridge, T.A. Desai, J. Hryniewicz, N. Chbouki, B.E. Little, O. King, V. Van, S. Chu, D. Gill, M. Anthes-Washburn, M. Selim Unlu, and B.B. Goldberg, “Optical sensing of biomelecules using microring resonators,” IEEE J. Selected Topics in Quantum Electronics, Vol. 12, 2006, pp. 148-155.

[7] C. Rockstuhl, T. Zentgraf, T.P. Meyrath, H. Giessen and F. Lederer, “Resonances in complementary metamaterials and nanoapertures,” Optics Express, Vol. 16, No.3, 2008, pp.2080-2090.

[8] J. Ding, B. Arigong, H. Ren, M. Zhou, J. Shao, M. Lu, Y. Chai, Y. Lin and H. Zhang, “Tuneable complementary metamaterial structures based on

graphene for single and multiple transparency windows," Scientific Reports, Vol. 4, No. 6128, 2014, pp.1-7.

[9] H.-T. Chen, J.F. O'Hara, A.J. Taylor, R.D. Averitt, C. Highstrete, M. Lee and W.J. Padilla, "Complementary planar terahertz metamaterials," Optics Express, Vol. 15, No. 3, 2007, pp.1084-1095.

[10] T. Vo-Dinh and L. Allain, "Biosensors for Medical Applications", Biomedical Photonics Handbook, CRC Press, 2003.

[11] Z. Salamon, H.A. Macleod, and G. Tollin, "Surface plasmon resonance spectroscopy as a tool for investigating the biochemical and biophysical properties of membrane protein systems. I: Theoretical principles," Biochimica and Biophysica Acta, Vol. 1331,1997, pp. 117–129.

[12] R.A. Yotter, L.A. Lee, D.M. and Wilson, "Sensor technologies for monitoring metabolic activity in single cells – part II: nonoptical methods and applications," IEEE Sensors Journal, Vol. 4, 2004, pp. 395-411.

[13] L. La Spada, R. Iovine and L. Vegni, "Metamaterial-based sensor for hemoglobin measurements," Proc. of the Loughborough Antennas & Propagation Conference - LAPC, Loughborough, United Kingdom, 12-13 November, 2012, pp. 5.

[14] L. La Spada, R. Iovine, F. Bilotti and L. Vegni, "Infrared absorption measurements using metamaterials," Proc. of the XIX RiNEm 2012, pp. 501-504, Rome, Italy, 10-14 September, 2012.

[15] R. Iovine, L. La Spada, G. Gucciardo, F. Bilotti, A. Lozito and L. Vegni, "Sensore basato su metamateriali per il biorilevamento di tessuti neoplastici," Proc. Of C.I.S.A.M., S. Piero a Grado, Pisa, 30-31 May, 2012.

[16] F. Bilotti, A. Toscano, L. Vegni, K. Aydin, K.B. Alici, and E. Ozbay, "Equivalent-Circuit Models for the Design of Metamaterials Based on Artificial Magnetic Inclusions," IEEE Trans. Microw. Theory Tech., Vol. 55, 2007, pp. 2865-2873.

[17] T. Zentgraf, T. P. Meyrath, A. Seidel, S. Kaiser, and H. Giessen, "Babinet's principle for optical frequency metamaterials and nanoantennas," Physical Review B, Vol. 76, 2007, pp. 033407-1-4.

[18] H. Koçak and A. Yildirim, "Numerical solution of 3D Green's function for the dynamic system of anisotropic elasticity," Physics Letters A, Vol. 373, No. 35, 2009, pp. 3145–3150.

[19] G. Antonini, "A Dyadic Green's Function Based Method for the Transient Analysis of Lossy and Dispersive Multiconductor Transmission Lines", IEEE Transactions on Microwaves Theory and Techniques, Vol. 56, No. 4, 2008, pp. 880-895.

[20] T. Danov and T. Melamed, "Spectral Analysis of Relativistic Dyadic Green's Function of Moving Dielectric Medium." IEEE Trans. Ant. Propagat., Vol.59, 2011, pp. 2973-2979.

[21] N.K. Das and D.M. Pozar, "A Generalized Spectral-Domain Green's Function for Multilayer Dielectric Substrates with Application to Multilayer Transmission Lines," IEEE Trans. Microwave Theory and Techniques, Vol. 35, No.3, 1987, pp.326-335.

[22] L-W. Li, P.-S. Kooi, M.-S. Leong and T.-S. Yee, "Green's Function in Spherically Multilayered Media," IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, Vol. 42, No. 12, 1994, pp. 2302-2310.

[23] R. Iovine, L. La Spada, R. Tarparelli and L. Vegni, "Spectral Green's function for SPR metastructures," Proc. Eighth Japanese-Mediterranean Workshop on Applied Electromagnetic Engineering for Magnetic, Superconducting, Multifunctional and Nanomaterials, Athens, Greece, 23-26 June, 2013, pp. 5.

[24] R. Iovine, L. La Spada, R. Tarparelli and L. Vegni, "Spectral Green's function for SPR meta-structures," Materials Science Forum, Vol. 792, 2014, pp.110-114.

[25] L. Vegni, R. Cicchetti and P. Capace, “Spectral dyadic Green's function formulation for planar integrated structures,” IEEE Transactions Antennas and Propagation, Vol. 36, 1988, pp. 1057-1065.

[26] R.M. Silverstein, F.X. Webster, and D.J. Kiemle, Spectrometric Identification of Organic Compounds, Wiley, New York, 2005.

[27] M. Lazebnik, M. Okoniewski, J.H. Booske, and S.C. Hagness, “Highly Accurate Debye Models for Normal and Malignant Breast Tissue Dielectric Properties at Microwave Frequencies”, IEEE Microw. Wireless Compon. Lett., Vol. 17, 2007, pp. 822 – 824.

[28] A.P. O'Rourke, M. Lazebnik, J.M. Bertram, M.C. Converse, S.C. Hagness, J.G. Webster, and D.M. Mahvi, “Dielectric properties of human normal, malignant and cirrhotic liver tissue: in vivo and ex vivo measurements from 0.5 to 20 GHz using a precision open-ended coaxial probe”, Phys. Med. Biol., vol. 52, 2007, pp. 4707–4719.

[29] Dirk J. Faber, Maurice C. G. Aalders, Egbert G. Mik, Brett A. Hooper, Martin J. C. van Gemert, and Ton G. van Leeuwen, "Oxygen Saturation-Dependent Absorption and Scattering of Blood", Physical Review Letters, Vol. 93, 2004, pp. 028102-1-4.

[30] D. Groshar, A.J. McEwan, M.B. Parliament, R.C. Urtasun, L.E. Golberg, M. Hoskinson, J.R. Mercer, R.H. Mannan, L.I. Wiebe and J.D. Chapman, “Imaging tumor hypoxia and tumor perfusion,” J. Nucl. Med. Vol.34, No.6, 1993, pp.885-888.

Ulteriori tematiche

Nell'ambito dell'attività di ricerca triennale sono emerse ulteriori nuove tematiche affini ai settori del bioelettromagnetismo, delle telecomunicazioni e dell'elettronica biomedica che hanno portato allo sviluppo di diversi prodotti di ricerca marginalmente coerenti con la tematica della tesi dottorale.
In particolare sono state affrontate le seguenti problematiche:

- studio di strutture in grafene per comunicazioni wireless;
- studio delle tecniche anti-inquinamento ambientali basate su nanoparticelle;
- analisi del quadro normativo relativo alla determinazione delle fasce di rispetto per gli elettrodotti;
- analisi elettromagnetica della stimolazione cerebrale profonda.

Tali aspetti vengono analizzati nei paragrafi che seguono.

3.1 STRUTTURE IN GRAFENE PER COMUNICAZIONI WIRELESS

Le strutture in grafene si stanno proponendo come la tecnologia emergente in grado di realizzare le comunicazioni di tipo wireless tra nanosistemi. Questo nuovo campo di ricerca è chiamato Graphene-enabled Wireless Communications (GWC) [1,2]. Il grafene ed i suoi derivati sono stati anche proposti per lo sviluppo di nuovi transistor ad alta velocità [3] e celle solari [4].
Nel campo dello sviluppo di nanoantenne il grafene permette il vantaggio di utilizzare strutture dell'ordine di pochi micrometri come antenne, in una banda di frequenze attorno ad 1THz [5]. La teoria classica delle antenne a microonde, che lega la dimensione con la frequenza di risonanza, non può essere applicata in questo scenario. Infatti, nel vuoto tale frequenza equivale ad una lunghezza

d'onda di circa 300μm. Il grafene permette quindi di ottenere antenne con dimensioni notevolmente inferiori rispetto a quelle metalliche a parità di frequenza. Diverse ricerche hanno riguardato il progetto di nuove nanoantenne, analizzando ad esempio in [6] le proprietà elettromagnetiche di geometrie comuni di antenna (rettangolare, ellittica, triangolare e circolare).

Gli sviluppi delle attività di ricerca in questo contesto hanno riguardato lo studio delle proprietà elettromagnetiche di strutture dalle geometrie più complesse per la verifica della possibilità di implementazione di tali strutture per comunicazioni wireless.

In particolare, in [7] si è proceduto allo studio delle caratteristiche di conducibilità del grafene ed è stata proposta una particolare geometria della particella definita di tipo bow-tie (Figura 2.18).

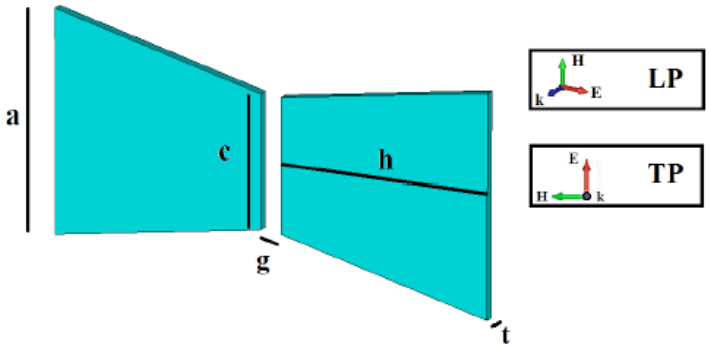


Figura 2.18: Geometria della struttura in grafene di tipo bow-tie con rappresentazione delle due polarizzazioni studiate.

Per tale struttura è stata studiata dal punto di vista numerico l'interazione con la radiazione elettromagnetica secondo le polarizzazioni riportate in Figura 2.18. A titolo di esempio si riporta lo spettro di assorbimento della nanoparticella di tipo bow-tie per la polarizzazione del campo incidente di tipo longitudinale *LP* (Figura 2.19) e la relativa distribuzione di campo elettrico alla frequenza di risonanza (Figura 2.20).

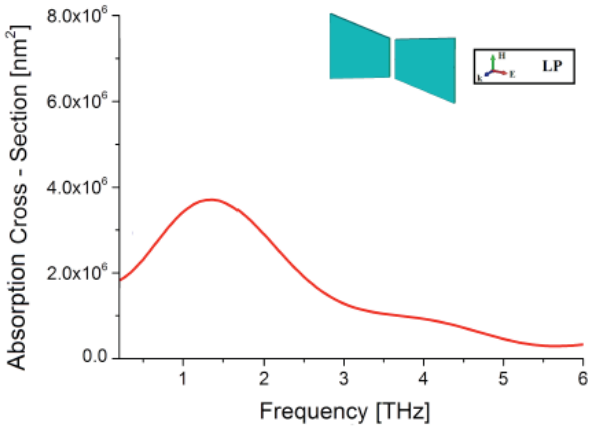


Figura 2.19: Spettro di assorbimento per polarizzazione longitudinale della nanoparticella bow-tie con *a=5000nm; c=3000nm; h=5000nm; g=500*; *t=200nm*.

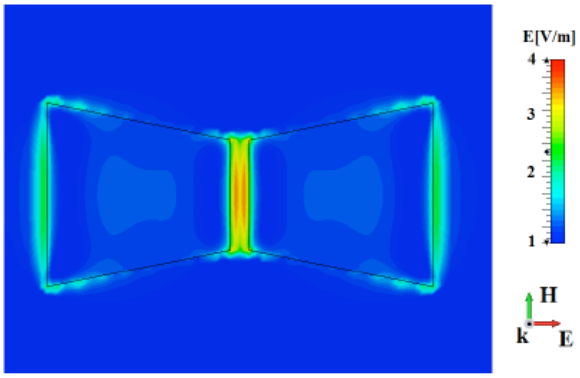


Figura 2.20: Distribuzione di campo elettrico alla frequenza di risonanza di 1.37 THz per polarizzazione longitudinale della nanoparticella bow-tie con *a=5000nm; c=3000nm; h=5000nm; g=500*; *t=200nm*.

I risultati mostrano che la frequenza di risonanza per l'antenna in grafene è pari ad 1.37 THz per i parametri indicati in didascalia di Figura 2.19, ricadendo nell'intervallo di interesse per le nanocomunicazioni wireless [8].

E' stato altresì valutato lo spettro di assorbimento al variare dei parametri geometrici dell'antenna (Figura 2.21A, Figura 2.21B, Figura 2.21C). Come risultato si può osservare che la risonanza e l'assorbimento di questo tipo di strutture può essere ottimizzato variando i parametri geometrici.

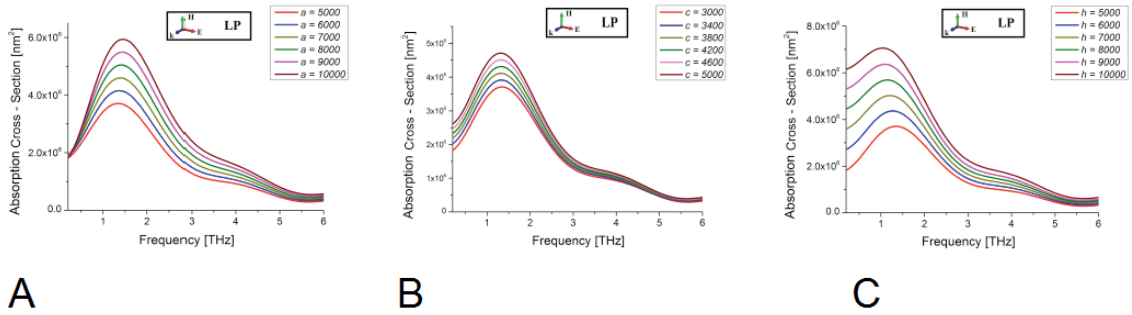


Figura 2.21:A) Spettri di assorbimento per polarizzazione longitudinale variando il parametro 5000nm<a<10000nm; B) Spettri di assorbimento per polarizzazione longitudinale variando il parametro 3000nm<c<5000nm; C) Spettri di assorbimento per polarizzazione longitudinale variando il parametro 5000nm<h<10000nm.

In [9] è stato ulteriormente approfondito lo studio di strutture in grafene in particolare proponendo in alternativa a strutture convenzionali quali patch quadrati e circolari [6] strutture con incisioni dielettriche ottenendo così strutture ad anello circolare e quadrato (Figura 2.22).

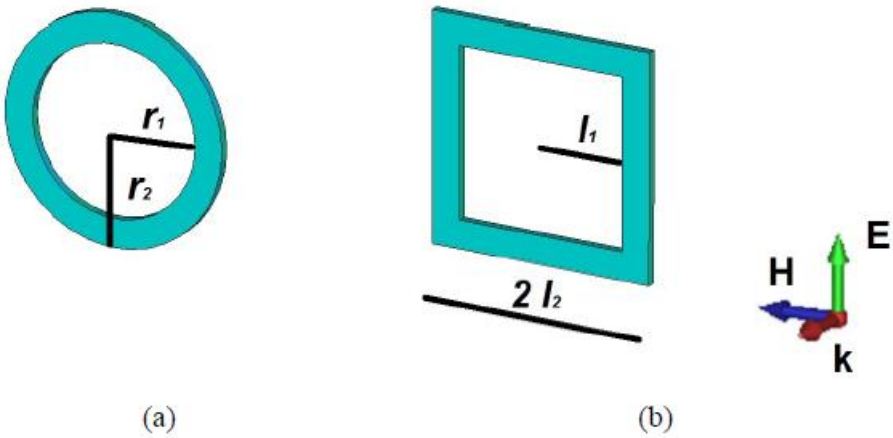


Figura 2.22: Geometria delle strutture in grafene: (a) anello circolare (b) anello quadrato.

I parametri geometrici di tali strutture sono stati progettati per ottenere la risonanza nella banda 1-4 THz (Figura 2.23a, Figura 2.23b).

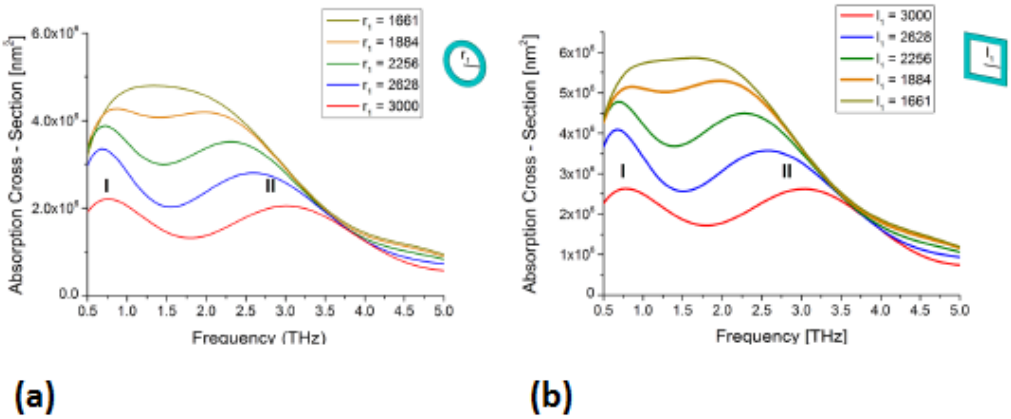


Figura 2.23: Spettro di assorbimento per (a) anello circolare variando r_1 con r_2=4000nm; b) anello quadrato variando l_1 con l_2=4000nm.

Dalle analisi parametriche di Figura 2.23 si può osservare che l'utilizzo di strutture con incisioni dielettriche permette di ottenere una risonanza ulteriore rispetto alle strutture convenzionali. In particolare, variando il parametro geometrico r_1 per l'anello circolare ed il parametro l_1 per la struttura ad anello quadrato è possibile ottenere una risposta a larga banda (ottimale per le comunicazioni wireless). La relativa distribuzione di campo alla frequenza di risonanza per una particolare configurazione delle strutture (r_1=1661nm; r_2=4000nm e l_1=1661nm; l_2=4000nm) è riportata in Figura 2.24.

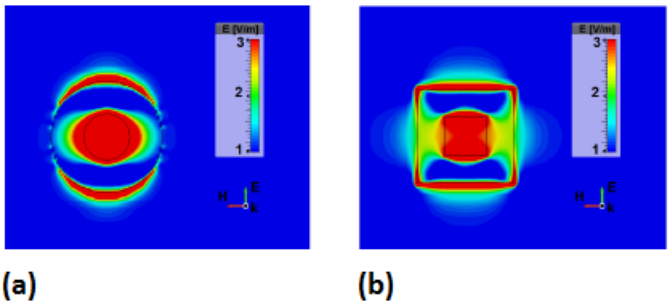


Figura 2.24: Distribuzione di campo elettrico alla frequenza di 1.5 THz con r_1=1661nm; r_2=4000nm per la configurazione ad anello circolare (a); l_1=1661nm; l_2=4000nm per la configurazione ad anello quadrato (b).

In conclusione, con strutture ad anello circolare e quadrato si è ottenuto un buon allargamento di banda che può essere ottimizzato variando le caratteristiche geometriche delle strutture stesse.

3.2 STUDIO DELLE TECNICHE ANTI-INQUINAMENTO AMBIENTALI BASATE SU NANOPARTICELLE

Per quanto riguarda l'attività relativa allo studio delle tecniche anti-inquinamento ambientali basate su nanoparticelle, in [10] sono state analizzate diverse tecniche di bonifica da siti contaminati da composti organici del cloro. I composti organici del cloro sono più densi e meno viscosi dell'acqua e tendono a stratificarsi nelle zone più profonde dell'acquifero, pertanto risultano difficilmente estraibili dalla falda. Vengono comunemente definiti DNAPLs (Dense Non Aqueous Phase Liquids) [11]. La decontaminazione da questa tipologia d'inquinante risulta assai complicata, essi sono in grado di permanere all'interno della falda per diversi anni aggravandone il tasso di inquinamento. Il TriCloroEtilene (TCE) è uno degli inquinanti ambientali maggiormente analizzati [12] in quanto l'inalazione prolungata di questo solvente può arrecare danni al sistema nervoso [13]. I solventi clorurati sono composti organici derivanti da idrocarburi con l'aggiunta di un alogeno [14], risultano scarsamente biodegradabili e rappresentano una fonte di inquinamento a lungo termine. Tali composti sono inoltre volatili e il loro contatto con l'aria provoca la contaminazione dell'ambiente circostante [15].

La scelta del tipo di tecnica da utilizzare per la decontaminazione prevede la valutazione di molti aspetti. L'alternativa migliore dipende soprattutto dalle caratteristiche specifiche del sito, come il tipo di contaminante, la tipologia di suolo o la sua eterogeneità e il tempo disponibile per la bonifica [16,17].

I metodi per bonificare un sito sono principalmente due: eliminando il contaminante o rimuovendolo dal suolo.

Le soluzioni posso essere distinte in:

- interventi in situ;
- interventi ex situ.

Gli interventi in situ sono preferibili a quelli ex situ, sono più economici e non prevedono lo spostamento del contaminante, riducendo il suo contatto con l'ambiente circostante.

Nei trattamenti ex situ l'inquinante viene estratto per essere trattato con appropriato intervento in un impianto esterno.

Una delle tecniche più utilizzate per il risanamento di siti inquinati, è quella del Pump&Treat in cui l'acqua contaminata viene prelevata dalla falda tramite l'impiego di pompe e successivamente trattata in un impianto esterno. Di natura diversa sono i principi alla base delle Barriere Permeabili Reattive, questa tecnica infatti prevede la bonifica del contaminante direttamente all'interno della falda. Quando il plume contaminato attraversa la barriera, il materiale reattivo in essa contenuto provvede alla sua degradazione [18].

Una valida alternativa per l'eliminazione dei composti organo clorurati, è fornita dal ferro zero valente [19] , (uno dei reagenti maggiormente impiegati all'interno delle barriere), la sua elevata reattività viene esaltata se ridotto nella forma nanometrica. Tramite reazioni superficiali, il ferro zero valente è in grado di eliminare i composti DNAPLs o di ridurli a forme più facilmente biodegradabili. È inoltre possibile aumentare la reattività del nano ferro zero valente attraverso il "coating" con un altro metallo [20].

Dalle analisi condotte in [10] è emerso che l'uso delle nanoparticelle di ferro zero valente costituisce una delle tecniche più promettenti per la rimozione dei solventi organo clorurati.

3.3 ANALISI DEL QUADRO NORMATIVO RELATIVO ALLA DETERMINAZIONE DELLE FASCE DI RISPETTO PER GLI ELETTRODOTTI

Il tema delle fasce di rispetto per gli elettrodotti si inserisce nella più vasta problematica della protezione della salute della popolazione dall'esposizione ai campi elettrici, magnetici ed elettromagnetici nell'intervallo di frequenza da 0 Hz a 300 GHz. La materia è normata sia in ambito nazionale sia in quello europeo. La Comunità europea ha posto come base del proprio quadro normativo il razionale dell'ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection) che nelle linee guida del 1998 e del 2011 propone limiti di esposizione determinati sulla base degli effetti di danno alla salute scientificamente accertati. La normativa italiana ha invece adottato il Principio di Precauzione con conseguenti limiti di esposizione più prudenziali di quegli europei (Figura 2.25).

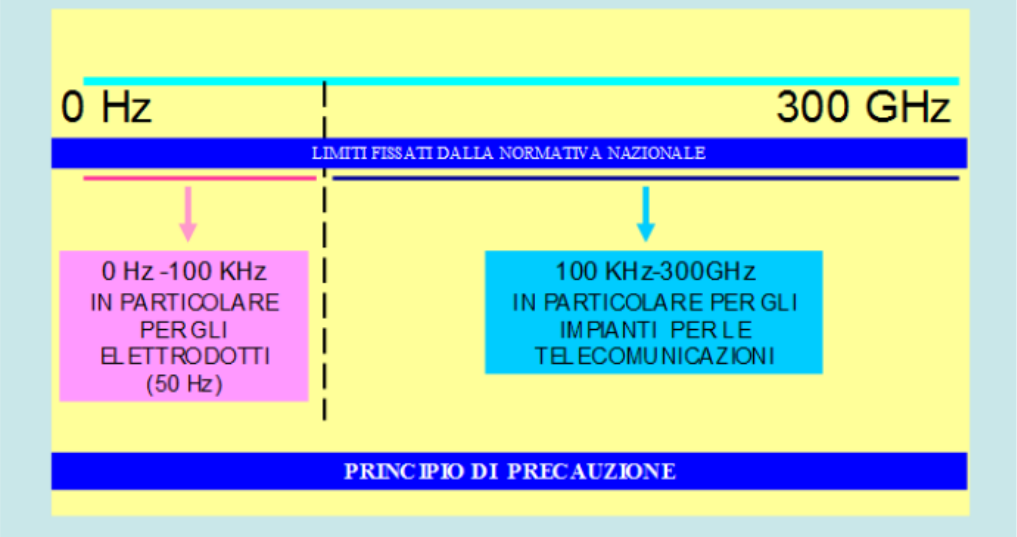


Figura 2.25: Intervallo di frequenze previsto dalla normativa nazionale e internazionale per la protezione della popolazione e dei lavoratori dalla esposizione ai campi elettrici-magnetici ed elettromagnetici.

Il Principio di Precauzione è una politica cautelativa per la gestione del rischio enunciata dall'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) da adottare nelle circostanze caratterizzate da un alto grado di incertezza scientifica e riflette la

necessità di intervenire nei confronti di un rischio potenzialmente grave senza attendere i risultati della ricerca scientifica. La scelta del legislatore nazionale di introdurre il Principio di Precauzione per la gestione della fattispecie elettromagnetica come fattore di rischio per la popolazione ha così posto l'intera normativa italiana del settore in posizione unica rispetto al Quadro normativo europeo che si basa sul razionale dell'ICNIRP. In questo scenario in [21] si è riportata una breve sintesi che illustra il quadro normativo nazionale per la gestione degli elettrodotti con particolare attenzione alla salute delle popolazioni esposte e dei lavoratori professionalmente impegnati in prossimità di tali impianti.

3.4 ANALISI ELETTROMAGNETICA DELLA STIMOLAZIONE CEREBRALE PROFONDA

Negli ultimi anni diverse ricerche nel campo del bioelettromagnetismo hanno focalizzato l'attenzione sulla stimolazione elettrica e magnetica per applicazione di tipo medico [22,23]. In questo campo si è osservato come la stimolazione elettromagnetica permetta di ottenere dei benefici in pazienti affetti da disturbi cerebrali (epilessia, morbo di Parkinson e diverse altre condizioni patologiche) [24,25]. Ad esempio, la stimolazione di tipo cerebrale profonda DBS (Deep Brain Stimulation) che è a tutti gli effetti una procedura neurochirurgica è stata utilizzata per la terapia del morbo di Parkinson ed altre patologie tra cui la sindrome di Tourette e disturbi ossessivo-compulsivo [26]. In questo tipo di trattamenti gli impulsi elettrici sono applicati attraverso coppie di elettrodi sul tessuto cerebrale (subtalamo). Come nei pacemaker, gli elettrodi sono collegati ad un generatore che invia impulsi che interferiscono distruttivamente con i segnali spontanei del paziente che causano i tremori. Questo tipo di trattamento non è semplice e le principali complicazioni derivano dal giusto set di parametri da utilizzare per il trattamento.

Nell'attività di ricerca condotta in [27] è stata studiata la propagazione elettromagnetica del segnale di neurostimolazione in una rete neurale multistrato al fine di simulare la tecnica DBS (Deep Brain Stimulation). In particolare la rete neurale considerata è costituita da 176 neuroni suddivisi in tre strati:

- primo strato: 100 neuroni connessi direttamente all'elettrodo di stimolazione;
- secondo strato o strato intermedio: 50 neuroni;
- terzo strato: 25 neuroni connessi con i neuroni bersaglio.

Ciascun neurone è considerato composto da un soma, dieci diramazioni dendritiche ed un assone secondo il modello di Hodgink-Huxley [28]. Come si può osservare dallo schema di Figura 2.26 il terzo strato di neuroni è connesso secondo due differenti vie: venti neuroni sono connessi ai dendriti e cinque al soma del neurone bersaglio.

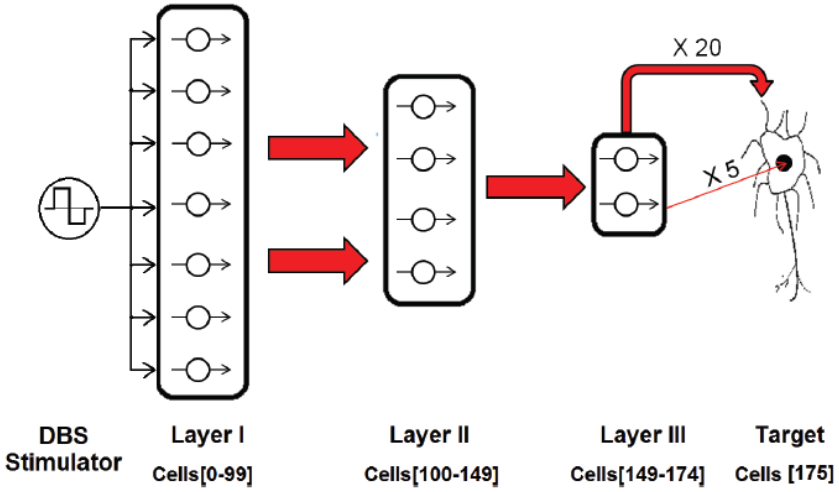


Figura 2.26: Topologia della rete neurale considerata in [21].

Negli studi di propagazione dell'impulso nella rete di topologia di Figura 2.26, effettuati con il software Neuron [29], sono stati utilizzati parametri tipici per lo

stimolatore in termini di tensione di ampiezza *(V_{max})*, frequenza *(f)* e duty cycle *(DC)* corrispondenti a valori utilizzati nei trattamenti DBS [30].

Le simulazioni sono state condotte considerando un DC del 50% ed una forma d'onda di tipo monofasica. In queste condizioni operative, la propagazione dell'impulso dipende solo dalla frequenza e dall'ampiezza della stimolazione.

In un singolo neurone, per avere una propagazione ottimale è necessario che il tempo che intercorre tra due impulsi successivi sia maggiore del periodo refrattario del neurone stesso. Per una rete complessa di neuroni questo concetto risulta estremamente più articolato e legato alla topologia della rete. Al fine di valutare la massima frequenza degli impulsi *(f)* trasmissibile per differenti valori di ampiezza *(V_{max})* sono state effettuate diverse simulazioni numeriche con risultati mostrati in Figura 2.27 e Figura 2.28.

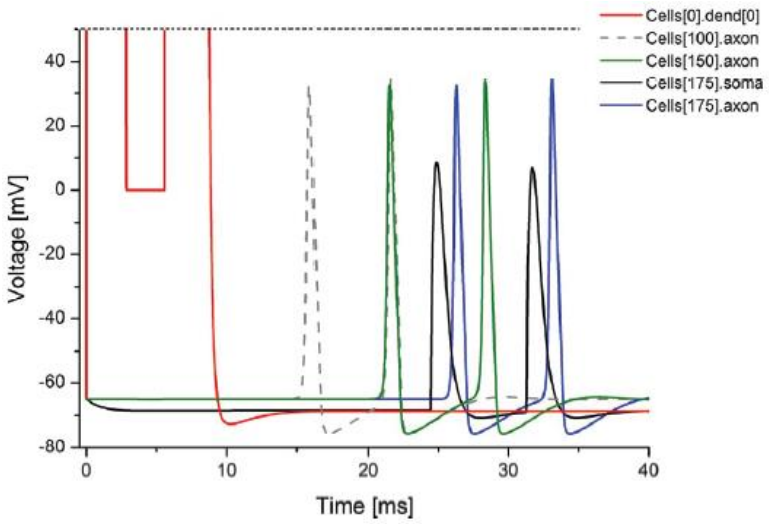


Figura 2.27: Propagazione dell'impulso per la rete di topologia di Figura 2.26 con: V_{max} = 1V, f = 179 Hz, DC = 50%. I punti di misurazione sono: dendrite 0 del neurone 0 (linea rossa); assone del neurone 100 (grigio tratteggiato); assone del neurone 150 (linea verde); soma del neurone bersaglio (linea nera) ed assone del neurone bersaglio (linea blu).

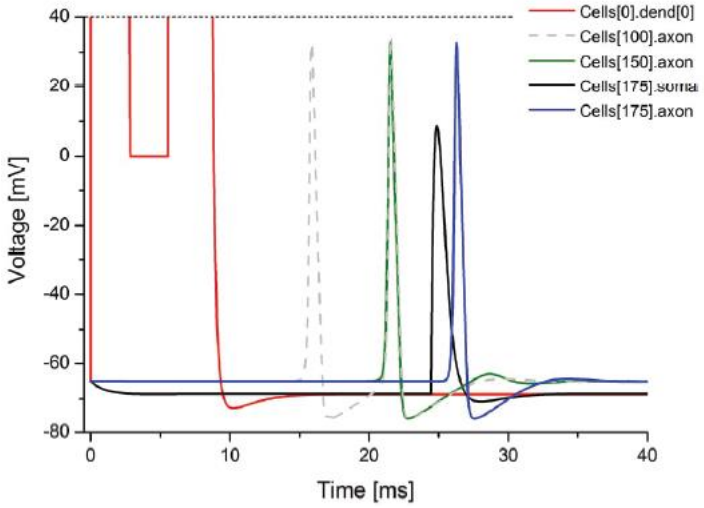


Figura 2.28: Propagazione dell'impulso per la rete di topologia di Figura 2.26 con: V_{max} =1V, f =180 Hz, and DC=50%. I punti di misurazione sono: dendrite 0 del neurone 0 (linea rossa); assone del neurone 100 (grigio tratteggiato); assone del neurone 150 (linea verde); soma del neurone bersaglio (linea nera) ed assone del neurone bersaglio (linea blu).

Si può osservare che al di sotto della frequenza di 180 Hz per un impulso con ampiezza di 1V si ottiene l'eccitazione del neurone bersaglio (Figura 2.27), viceversa per frequenze superiori (Figura 2.28) non vi è la trasmissione del secondo impulso. Ulteriori simulazioni hanno permesso di ottenere il diagramma di Figura 2.29 che lega l'ampiezza dell'impulso con la massima frequenza utilizzabile.

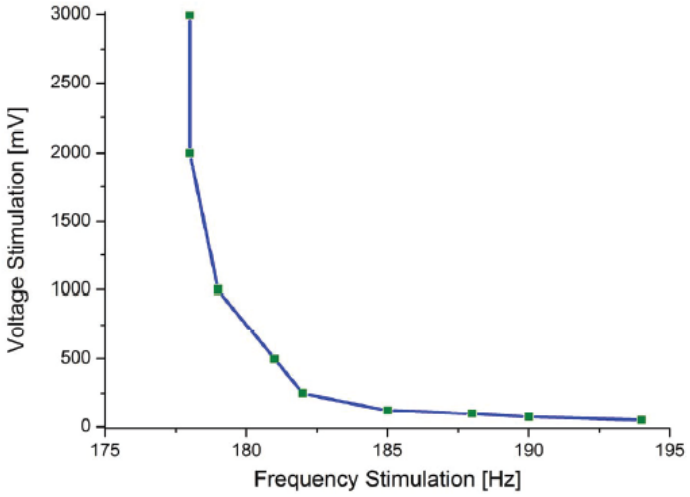


Figura 2.29: Massimo valore della frequenza per differenti ampiezze dell'impulso di eccitazione.

Il diagramma di Figura 2.29 mostra una proporzionalità di tipo inverso tra ampiezza dell'impulso e la massima frequenza utilizzabile.

Il risultato delle simulazioni effettuate attraverso l'utilizzo del software Neuron indicano la possibilità di predire i corretti parametri di stimolazione del pacemaker da utilizzare a patto che si riesca ad individuare l'equivalente rete neurale sulla quale si vuole agire terapeuticamente.

Referenze bibliografiche

[1] I. Llatser, S. Abadal, R. Gómez Cid-Fuents, J.M. Jornet, A. Cabellos-Aparicio, E. Alarcon, J. Sole-Pareta, and I.F. Akyildiz, "Prospects of Graphene-enabled Wireless Communications," Proc. of GRAPHENE 2012, Brussels, Belgium, April 2012.

[2] S. Abadal, J.M. Jornet, I. Llatser, A. Cabellos-Aparicio, E. Alarcon and I.F. Akyildiz, "Wireless NanoSensor Networks using Graphene-based Nano-Antennas," in Proc. of GRAPHENE 2011, Bilbao, Spain, April 2011.

[3] L. Liao, Y.-C. Lin, M. Bao, R. Cheng, J. Bai, Y. Liu, Y. Qu, K.L. Wang, Y. Huang and X. Duan, "High-speed graphene transistors with a self-aligned nanowire gate," Nature Letter., Vol.467, No. 7313, 2010, pp. 305-308.

[4] X. Chen, B. Jia, Y. Zhang and M. Gu, "Exceeding the limit of plasmonic light trapping in textured screen-printed solar cells using Al nanoparticles and wrinkle-like graphene sheets," Light: Science and Applications, Vol. 2, No.e92, 2013, pp. 1-6.

[5] S. Abadal, E. Alarcón, A. Cabellos-Aparicio, M. Lemme and M. Nemirovsky, Graphene-enabled wireless communication for massive multicore architectures, IEEE Communications Magazine, Vol. 51, No. 11, 2013, pp. 137-143.

[6] K.Q. Costa, V. Dmitriev, C.M. Nascimento and G.L. Silvano, "Graphene nanoantennas with different shapes," in Proc. Of SBMO/IEEE MTT-S Intl. Microwave & Optoelectronics Conference (IMOC) 2013, pp.1-5, Aug. 2013.

[7] R. Iovine, R. Tarparelli, A.M. Vegni, "Graphene Bow-tie Nanoantenna for Wireless Communications in the Terahertz Band," Proc. of 1st ACM International Conference on Nanoscale Computing and Communication, Atlanta, Georgia, USA, 13-14 May, 2014.

[8] J. M. Jornet and I. F. Akyildiz, “Channel Modeling and Capacity Analysis for Electromagnetic Wireless Nanonetworks in the Terahertz Band;” IEEE Transaction on Wireless Communications, Vol. 10, 2011, pp. 3211-3221.

[9] R. Iovine, R. Tarparelli and L. Vegni, “Electromagnetic Analysis of Graphene Nanoparticles operating in the TeraHertz Band,” Advances in Nanoparticles, Vol. 3, No. 3, 2014, pp. 72-76.

[10] E. Di Lascio, R. Iovine, R. Tarparelli, A. Lozito and L. Vegni, “Tecniche di bonifica per siti contaminati da composti organici del cloro,” BEA – Bollettino degli Esperti Ambientali, Vol. 63, No. 1, 2013, pp. 14-20.

[11] J.B. Ajo-Franklin, J.T Geller, J.M. Harris, “A survey of the geophysical properties of chlorinated DNAPLs,” Journal of Applied Geophysics, Vol. 59, 2006, pp. 117-189.

[12] T. Li, S. Li, Y. Li and Z. Jin, “Dechlorination of Trichlorethylene in Groundwater by Nanoscale Bimetallic Fe/Pd Particles,” Journal of Water Resource and Protection, Vol. 1, 2009, pp. 78-83.

[13] E. Grandjean, R. Munchinger, V. Turrian, P.A. Haas, H.K. Knoepfel and H. Rosenmund, “Investigations into the Effects of Exposure to Trichlorethylene in Mechanical Engineering,” British Journal of Industrial Medicine, Vol. 12, 1955 ,pp. 131-142.

[14] D.M. Cwiertny and M.M. Scherer, “Chlorinated Solvent Chemistry: structures nomenclature and properties,” In Situ Remediation of Chlorinated Solvent Plumes, 2010, pp. 29-37.

[15] M. Narayanan, L.C. Davis and L.E. Erickson, “Fate of Volatile Chlorinated Organic Compounds in a Laboratory Chamber with Alfalfa Plants,” Environmental Science & Technology, Vol. 29, 1995, pp. 2437-2444.

[16] F.I. Khan, T. Husain and R. Hejazi, “An overview and analysis of site remediation technologies,” Journal of Environmental Management, Vol. 71, 2004, pp. 95-122.

[17] C.N. Mulligan, R.N. Yong and B.F. Gibbs, “Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation,” Engineering Geology, Vol. 60, 2001, pp. 193-207.

[18] M.M. Scherer, S. Richter, R.L. Valentine and P.J.J. Alvarez, “Chemistry and Microbiology of Permeable Reactive Barriers for In Situ Groundwater Clean Up,” Critical Reviews in Microbiology, Vol. 26, 2000, pp.221-264.

[19] A.B. Cundy, L. Hopkinson and R.L.D. Whitby, “Use of iron-based technologies in contaminated land and groundwater remediation: A review,” Science of The Total Environment, Vol. 400, 2008, pp.42-51.

[20] W. Zhang, C.B. Wang and H.L. Lien, “Treatment of chlorinated organic contaminants with nanoscananoscale bimetallic particles,” Catalysis Today, Vol.40, 1998, pp. 387-395.

[21] R. Iovine, L. La Spada, A. Lozito and L. Vegni, “Quadro normativo sulla determinazione delle fasce di rispetto per gli elettrodotti,” Catastonline.it, 2012, pp. 5.

[22] A.-L. Benabid, B. Wallace, J. Mitrofanis, C. Xia, B. Piallat, V. Fraix, A. Batir, P. Krack, P. Pollak and F. Berger, “Therapeutic electrical stimulation of the central nervous system”, Comptes Rendus Biologies, Vol. 328, 2005, pp. 177-186.

[23] E.M. Wassermann, and S.H. Lisanby, “Therapeutic application of repetitive transcranial magnetic stimulation: a review”, Clinical Neurophysiology, Vol. 112, 2001, pp. 1367-1377.

[24] B.C. Lega, C.H. Halpern, J.L. Jaggi, and G.H. Baltuch, “Deep brain stimulation in the treatment of refractory epilepsy: Update on current data and future directions”, Neurobiology of Disease, Vol. 38, 2010, pp. 354-360.

[25] C.C. McIntyre, and P.J. Hahn, “Network perspectives on the mechanisms of deep brain stimulation”, Neurobiology of Disease, Vol. 38, 2010, pp. 329-337.

[26] J.S. Perlmutter, and J.W. Mink, “Deep Brain Stimulation”, Neuroscience, Vol. 29, 2006, pp. 229-257.

[27] R. Tarparelli, R. Iovine, L. La Spada and L. Vegni, “Electromagnetic Analysis of Deep Brain Stimulation,” Proc. of International Conference on Electromagnetics in Advanced Applications, ICEAA 2013, Turin, Italy, 9-13 September, 2013.

[28] A.L. Hodgkin, and A.F. Huxley, “A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve”, J. Physiol., Vol. 117, 1952, pp. 500-544.

[29] Neuron Demo Software v7.3, http://www.neuron.yale.edu/neuron

[30] K.L. Chou, S. Grube, and P.G. Patil, “Deep Brain Stimulation: A New Life for People with Parkinson’s, Dystonia, and Essential Tremor”, Noreen Henson Editor, 2011.

Conclusioni

L'attività di ricerca triennale, inserita all'interno della tematica di ricerca "Nanoparticelle e metasuperfici microstrutturate per applicazioni bioelettromagnetiche", ha riguardato principalmente un approfondito studio delle proprietà elettromagnetiche delle nanoparticelle e delle metasuperfici microstrutturate alla base dello sviluppo di innovative applicazioni in bioelettromagnetismo.

Tali ricerche hanno l'obiettivo di studiare soluzioni tecnologiche avanzate che possano permettere futuri approcci diagnostico-terapeutici mininvasivi e/o coadiuvino quelli già esistenti con elevato valore aggiunto in termine di diagnosi precoce e/o una terapia selettiva ed efficace.

E' stata studiata l'interazione della radiazione elettromagnetica con tali strutture proponendo nanoparticelle dalle geometrie/materiali non convenzionali e metasuperfici microstrutturate a configurazione complementare per lo sviluppo di piattaforme di biorilevamento per diversi tessuti/composti organici.

In particolare, per quanto riguarda le nanoparticelle è stata studiata l'interazione tra la radiazione elettromagnetica e le stesse procedendo allo sviluppo di modelli analitici di predizione del comportamento elettromagnetico per particolari geometrie non convenzionali e alla successiva simulazione sperimentale sia con software commerciali di tipo full – wave che con lo sviluppo di codici basati sul Boundary Element Method. Sulla base di tali studi è stato proposto l'utilizzo di nanoparticelle dalle proprietà multi-risonanti per applicazioni diagnostiche ultrasensibili e il multi-rilevamento di tessuti biologici; l'utilizzo di nanoparticelle multi-strato e in grafene anche per comunicazioni wireless e lo sviluppo di modelli circuitali equivalenti per la descrizione della dinamica del trasporto di farmaco.

Per quanto concerne l'attività di ricerca relativa alle metasuperfici microstrutturate sono stati proposti diversi tipi di risuonatori basati su

metamateriali per il rilevamento di tessuti e composti chimico/organici sviluppando modelli circuitali equivalenti delle strutture e successiva simulazione sperimentale con software commerciali di tipo full – wave. E' stato altresì proposto lo studio della funzione spettrale di Green per la valutazione del campo elettromagnetico relativo alle metasuperfici.

L'attività di ricerca dall'ottobre 2013 è stata inquadrata all'interno dell'Accordo Quadro tra l'Azienda Ospedaliera San Camillo – Forlanini e l'Università Roma Tre, responsabile scientifico prof. Lucio Vegni.

L'ampia multidisciplinarità degli argomenti trattati, in particolare quelli relativi ad aspetti medici, sono stati affrontati con il costante supporto del Dott. Giacomo Gucciardo, Direttore della Chirurgia oncologica della mammella e gestione dei percorsi diagnostico terapeutici – Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini di Roma cui va un profondo ringraziamento.

L'attività di ricerca, nel suo complesso, ha portato alla produzione di quaranta pubblicazioni scientifiche tra comunicazioni congressuali (26), riviste scientifiche (13, di cui 7 a primo nome) e capitoli di libri (uno).