

## 暗场显微镜下的纳米颗粒识别与观测细胞膜上的扩散运动 ——推荐一个化学测量学实验

孙元芳<sup>1,2,3</sup>, 张然<sup>1,2,3</sup>, 罗天<sup>1,2,3</sup>, 张欣<sup>1,2,3</sup>, 王翊如<sup>1,2,\*</sup>, 黄腾翔<sup>1,2,3,\*</sup>, 方宁<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>厦门大学化学化工学院, 固体表面物理化学国家重点实验室, 谱学分析与仪器教育部重点实验室, 福建 厦门 361005

<sup>2</sup>化学国家级实验教学示范中心(厦门大学), 福建 厦门 361005

<sup>3</sup>福建省能源材料科学与技术创新实验室, 福建 厦门 361102

**摘要:** 单颗粒示踪是实现动态生物过程实时观测的重要技术突破, 对于挖掘静态观察中所隐藏的机制尤为重要。随着光学显微成像的发展, 商品化仪器能够轻松实现微观尺度下对于生物过程的实时观察。本实验采用纳米金、银材料作为成像探针, 探讨了等离激元纳米材料的尺寸效应; 并设计活细胞成像实验, 通过观察金纳米棒在细胞膜上的扩散运动将单颗粒示踪技术引入本科生教学, 并将其作为化学测量学的示范性试验。本实验内容丰富、趣味性强, 面向已基本掌握化学、化学生物学等基础知识并对化学测量学感兴趣的二、三年级本科生, 旨在将单颗粒示踪领域研究前沿融入本科生教学, 引导学生自主探索, 有利于激发学生的科研兴趣与培养专业素养。

**关键词:** 单颗粒示踪; 等离激元纳米颗粒; 活细胞成像; 科教融合; 综合化学实验

**中图分类号:** G64; O6

## Identification of Nanoparticles and Observation of Diffusion on Cell Membranes Using Darkfield Microscopy: Recommending a Chemical Measurement Experiment

Yuanfang Sun<sup>1,2,3</sup>, Ran Zhang<sup>1,2,3</sup>, Tian Luo<sup>1,2,3</sup>, Xin Zhang<sup>1,2,3</sup>, Yiru Wang<sup>1,2,\*</sup>,  
Tengxiang Huang<sup>1,2,3,\*</sup>, Ning Fang<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup> The MOE Key Laboratory of Spectrochemical Analysis and Instrumentation, State Key Laboratory of Physical Chemistry of Solid Surfaces, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China.

<sup>2</sup> National Demonstration Center for Experimental Chemistry Education (Xiamen University), Xiamen 361005, Fujian Province, China.

<sup>3</sup> Innovation Laboratory for Sciences and Technologies of Energy Materials of Fujian Province (IKKEM), Xiamen 361102, Fujian Province, China.

**Abstract:** Single-particle tracking represents a significant technological breakthrough for real-time observation of dynamic biological processes, particularly in uncovering mechanisms hidden in static observations. With advancements in optical microscopy, commercial instruments now enable real-time observation of biological processes at the microscopic scale. This experiment explores the size effect of plasmonic nanomaterials using gold and silver nanoparticles as imaging probes. Additionally, live cell imaging experiments are designed to introduce single-particle tracking into undergraduate education by observing the diffusion of gold nanorods on cell

收稿: 2024-09-25; 录用: 2024-10-22; 网络发表: 2024-12-16

\*通讯作者, Emails: nfang@xmu.edu.cn (方宁); txhuang@xmu.edu.cn (黄腾翔); yrwang@xmu.edu.cn (王翊如)

基金资助: 国家自然科学基金(32230063); 教育部基础学科拔尖学生培养计划2.0(20222111, 20232023); 福建省本科高校教育教学研究重大项目(FBJY20230270); 中央高校基本科研业务费专项(20720220016); 教育部化学“101计划”——化学测量学实验课程建设项目; 教育部第三批虚拟教研室建设试点——“101计划”化学测量学实验课程虚拟教研室

membranes as an exemplary experiment in Chemical Metrology and Technology. The experiment is rich in content and engaging, targeting second- and third-year undergraduates who have a foundational understanding of chemistry and chemical biology and are interested in Chemical Metrology and Technology. The goal is to integrate cutting-edge research in single-particle tracking into undergraduate teaching, encouraging independent exploration and stimulating students' interest in scientific research while cultivating their professional skills.

**Key Words:** Single-particle tracking; Plasmonic nanoparticles; Live-cell imaging; Integration of science and education; Integrated chemistry experiments

单颗粒示踪是一种使用高灵敏度的显微成像设备来实时观测微小颗粒的动态行为的技术<sup>[1,2]</sup>。在活细胞这样一个非均质、高度动态的系统里对于单个颗粒的实时观测和追踪,不仅能揭示被集群平均掩盖的微粒活动特点,还能反映细胞微环境的异质性,促进对生命过程的深入研究。荧光探针因其光化学分解与光漂白的不可逆性,故而常常在单颗粒示踪实验中存在观察时间有限、信号强度不稳定等局限性<sup>[3]</sup>。为了规避荧光探针的局限性,等离激元金、银纳米颗粒已被开发为优异的成像探针,其具有良好的光稳定性,尤其是局域等离激元共振波长处有非常大的散射和吸收截面,以及由形状诱导的各向异性光学性质<sup>[4]</sup>。暗场显微镜下通过检测纳米粒子的散射光信号,实现了对纳米颗粒的显微观察。此外,由于纳米颗粒的散射信号主要受颗粒形状、尺寸、配体修饰等影响,因此在显微镜下呈现特定颜色易于区分。通过表面修饰赋予生物与医学特性,金、银纳米材料已经成为应用单颗粒示踪技术发展纳米医学领域单细胞层面研究的重要新型探针<sup>[5]</sup>。

本实验将利用暗场显微镜来观察多种金、银纳米颗粒,让学生通过暗场显微镜观察不同尺寸、不同长径比的金、银纳米颗粒,掌握暗场显微镜的原理及操作,并理解纳米颗粒的形貌、尺寸等因素与所呈现颜色的关系,综合锻炼学生仪器操作和实验现象结合理论知识进行分析探讨的能力。此外,在掌握显微镜操作的基础上,增设了观察并采集金纳米棒在细胞膜上的扩散运动实验,通过采集并分析实验数据,让学生了解成像实验的关键参数设置的同时,初步了解单颗粒示踪技术,掌握单颗粒示踪实验的规范化数据处理流程,并引导学生自主探讨扩散运动特征及类型。本实验旨在给学生提供一次在纳米科学技术前沿的探索之旅,提高学生对这一高度交叉领域的认识,激发科研兴趣。

## 1 实验部分

### 1.1 实验目的

- (1) 能够阐述暗场显微镜的工作原理及其在纳米材料表征方面的特点。
- (2) 能够说明金、银纳米颗粒的显色原理及尺寸与纳米颗粒所呈现出的颜色的关系。
- (3) 能够制备用于显微镜观察的金、银纳米颗粒成像样品和细胞成像样品,并掌握暗场显微镜的操作。
- (4) 能够简述单颗粒示踪技术的操作流程,包括设置成像实验的关键参数及处理实验数据。

### 1.2 实验原理

#### 1.2.1 表面等离激元共振效应

表面等离激元共振效应(Surface Plasmon Resonance, SPR)是指当光照射到金属纳米材料表面时,引发金属表面的自由电子振荡,产生等离激元;当自由电子的振荡频率和入射光频率相匹配时,进而产生共振现象。SPR的共振波长与金属的性质、环境介质以及光照射的角度等因素有关,通过改变这些因素,可以调节SPR的共振波长<sup>[6]</sup>。

局域表面等离激元共振(Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR)是指当光线照射到贵金属纳米颗粒上时,光波与金属表面自由电子耦合会形成一种沿着金属表面传播的近场电磁波。当入射光子频率与贵金属纳米颗粒或金属传导电子的整体振动频率一致时,发生的共振现象会使得电磁场在

金属表面发生局域增强<sup>[7]</sup>。

### 1.2.2 尺寸、形貌对于金银纳米颗粒光学性质的影响

对于给定材料及形貌的纳米颗粒，其LSPR性质主要受尺寸影响。根据Mie理论，球形颗粒(尺寸远小于入射光波长)的散射截面与其半径的六次方( $R^6$ )成正比，吸收截面与其半径的三次方( $R^3$ )成正比。与其他金属纳米材料相比，金、银纳米材料的表面等离子共振吸收峰在可见光范围。对于金纳米粒子而言，单分散的金纳米颗粒的表面等离子共振现象会使得胶体金纳米颗粒吸收蓝绿光(~450 nm)、反射红光(650–700 nm)，等离子共振表面共振相关的吸收波长会随着颗粒大小的增加向长波长方向移动<sup>[8]</sup>。

对于粒径相似的金、银纳米颗粒，银纳米颗粒呈黄色，这是由于银纳米颗粒的等离子共振表面共振波长在400 nm附近，吸收蓝紫光，随着颗粒大小增加，吸收波长向长波长方向移动。

由于球形纳米颗粒形状上的高度对称性，等离子共振振动也是各向同性的，表现为单一的SPR峰<sup>[9]</sup>。与球形金纳米颗粒相比，金纳米棒具有各向异性，使得不同方向上的电子极化程度有差异，会产生两个表面等离子共振模式。在金纳米棒的紫外吸收谱图中，表现为两个SPR吸收峰，短波长共振吸收峰(~520 nm)由垂直于棒轴向的电子共振产生，被称为横向SPR吸收( $SPR_T$ )；另一个长波长共振吸收峰由沿着纳米棒轴向的电子共振产生，被称为纵向SPR吸收( $SPR_L$ )，变化范围较大。长径比是描述金纳米棒形貌特征的重要参数，同时也影响着两个表面等离子共振吸收峰的位置，随着金纳米棒长径比的增加， $SPR_T$ 逐渐蓝移， $SPR_L$ 线性红移<sup>[10]</sup>。

### 1.2.3 暗场显微镜成像原理

暗场显微观察是一种利用倾斜照明来提高样品对比度的技术。其原理如图1所示，当入射光通过暗场聚光镜时，暗场聚光镜通过使用不透明光阑将来自光源的中心直射光阻挡，仅让倾斜角度的光线沿聚光镜的边缘通过，激发样品发生共振瑞利散射，形成暗背景视场中的明亮图像。由此，通过在明场聚光镜底部加一片不透明光阑便可快速将明场照明改为暗场照明。纳米粒子具有强烈的吸收和散射效应，因此在暗场成像模式下有较高的信噪比，是一类良好的成像探针<sup>[11,12]</sup>。

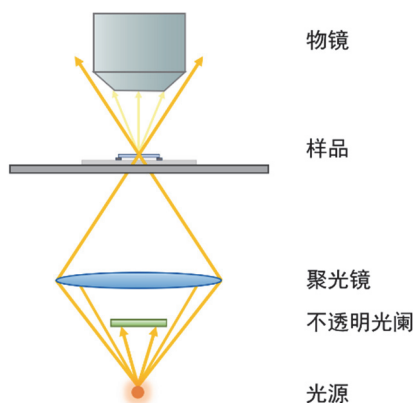


图1 暗场显微镜原理示意图

### 1.2.4 单颗粒示踪观察纳米粒子扩散行为

单颗粒示踪是以光学显微镜为工具，通过成像设备来捕捉探针的散射、荧光等光学信号的时间序列，通过对时间序列的分析，来实现对微观粒子的空间定位和轨迹提取的研究手段<sup>[13]</sup>。吸附在细胞膜上的纳米粒子在跨膜前会在细胞膜上进行扩散运动。纳米粒子的扩散行为通常受细胞膜与纳米颗粒的相互作用影响，其取决于纳米颗粒物理化学性质(尺寸、形状、表面修饰等)、配-受体相互作用、细胞外基质、细胞膜曲率等因素，因此，通过记录并分析纳米材料的运动时间序列，我们不仅可以得到粒子的运动轨迹，还能够提取轨迹特征参数进而分析纳米粒子与细胞相互作用<sup>[14]</sup>。目前纳

米粒子在生物介质中的扩散行为主要为一般扩散、反常扩散、定向扩散和受限扩散等几种模式。其中，一般扩散也指自由扩散，表征纳米粒子的随机扩散运动；反常扩散区别于自由扩散，这是由复杂生物环境的异质性决定的；定向扩散往往代指纳米粒子的定向运动，如货物在细胞微管上的定向运动；受限扩散是指纳米粒子显著受限，在微小空间里的扩散行为<sup>[15]</sup>。

### 1.3 实验试剂和仪器

#### 1.3.1 仪器与装置

暗场显微镜，光源(显微镜自带卤素灯)，暗场聚光镜，60倍物镜，CMOS相机，恒温孵育器(或细胞培养箱)，移液枪等。

#### 1.3.2 试剂

纳米金溶液(实验室预先制备或采购)，纳米银溶液(实验室预先制备或采购)，磷酸盐平衡生理盐水(PBS缓冲液)，sk-mel-2细胞系与DMEM/F-12培养基(可酌情选用其他常见细胞系，如A549、Hela等)，超纯水，75 mm × 25 mm载玻片，22 mm × 22 mm盖玻片，镜油，擦镜纸，指甲油等。

### 1.4 实验步骤

#### 1.4.1 实验一：不同金属纳米颗粒的暗场成像(鉴别四种粒子)

四种纳米粒子：银纳米颗粒(60 nm)，金纳米颗粒(55 nm)，两个尺寸的金纳米棒(分别为25 nm × 60 nm，25 nm × 87 nm)。

(1) 实验样品制备：将四种纳米粒子溶液分别进行超声分散后稀释5倍，使得后续观察时视野中颗粒数目相似。吸取10 μL稀释后的溶液滴于载玻片上，小心缓慢地盖上盖玻片并用吸水纸吸去多余液体，用指甲油液封边缘。

(2) 暗场显微操作：根据图1原理，安装暗场聚光镜和物镜。在聚光镜中心通光孔处滴适量镜油，将待观察玻片固定于样品夹；打开底部光源，调整聚光镜高度，使聚光镜的集光束汇聚在标本上，聚光镜与玻片之间充满镜油。在玻片的观察区域上方滴加适量镜油，转动粗准焦螺旋调整载物台高度，细准焦螺旋对焦观察，直至视野中观察到黑色背景中清晰明亮的图像。

(3) 实验样品观察：更换样品，观察并比较暗场模式下不同粒子的大小、颜色和运动状态。

#### 1.4.2 实验二：活细胞成像、单颗粒示踪(包括数据采集教程)

##### 1.4.2.1 细胞样品制备

将两片双面胶粘在干净的载玻片上，间隔合适的距离，将使用新鲜培养基洗涤后的提前种有细胞的盖玻片倒扣，盖玻片两端分别落在两片双面胶上，使盖玻片和载玻片中间形成一个腔室，如图2所示。取10 μL超声分散后的金纳米棒溶液，与40 μL DMEM/F-12培养基混合均匀后注入腔体中。为防止液体流出，盖玻片四周用指甲油密封。将制备好的样品置于恒温孵育器(或细胞培养箱)内，37 °C 孵育30 min。

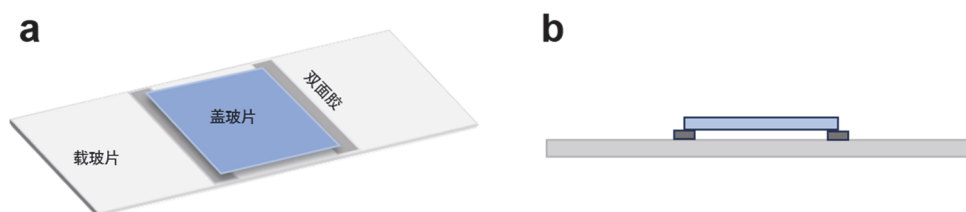


图2 活细胞成像样品制备俯视图(a)及侧视图(b)

##### 1.4.2.2 单颗粒示踪

(1) 使用暗场显微镜，可以观察到黑暗背景下明亮的细胞和纳米颗粒的图像。打开相机进行图像采集，观察暗场显微镜下细胞的形态，通过选择视野中在细胞膜表面扩散的纳米粒子为目标，在控制软件上框选该纳米颗粒及附近区域(ROI)，使运动的纳米颗粒保持在视野内。

(2) 设置拍摄参数如曝光时间、对比度、拍摄帧数、保存路径等，点击开始拍摄则可以得到一组纳米粒子在细胞膜表面运动的时间序列图像，用于后续纳米棒扩散行为的分析。

首先使用ImageJ图像数据处理软件对追踪的目标粒子进行空间定位和轨迹提取。(ImageJ是一款开源免费软件，支持多种图像格式的显示、编辑、分析及处理，可通过插件扩展功能，广泛用于生物医学领域。)图像处理具体步骤如下：

(1) 将拍摄的文件在ImageJ中打开，框选目标粒子裁剪画幅(Duplicate stack)，尽量避开其他背景信号，拖动进度条确保粒子始终在框内。

(2) 调节对比度阈值(见图3)，识别纳米粒子(Image-Adjust-threshold)，设置合适的阈值范围，在设定对比度范围内的区域被识别显示为红色，拖动进度条检查，确保每一帧都识别到目标粒子，防止遗漏影响后续轨迹分析。

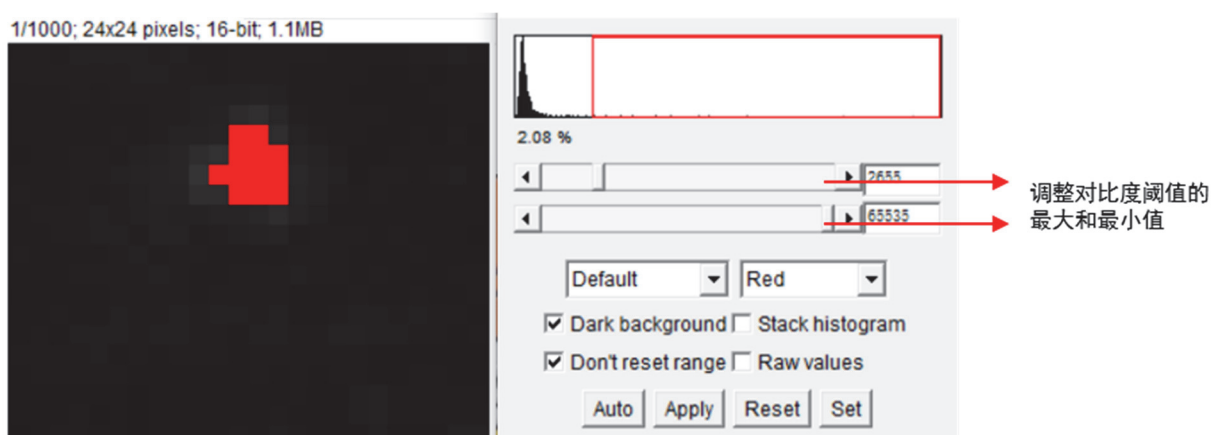


图3 软件中调节对比度阈值

(3) 获取粒子位置信息(Analysis-Analysis particles)。根据具体情况设置识别粒子大小即像素个数的阈值(见图4)。获得序列中目标粒子的XY轴坐标，复制数据到Excel表格。此处得到XY轴的坐标单位为像素单位，可根据系统的放大倍数换算成长度单位。

须注意的是，背景信号可能被识别造成干扰，可以根据前后XY坐标、粒子图像大小等辅助信息来判断出目标粒子，将其他在背景中识别的粒子坐标信息删除，确保最终获得帧数与探针位置一一对应的数据。

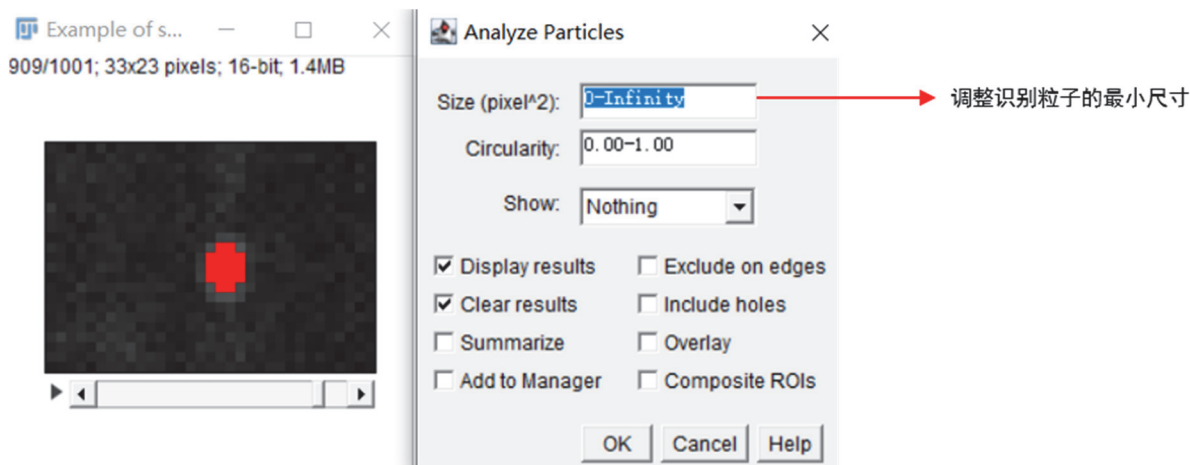


图4 ImageJ软件中粒子分析功能找到并定位观测中的纳米颗粒

(4) 计算均方位移(Mean Square Displacement, MSD), 分析粒子的扩散行为。均方位移(MSD)是粒子随时间移动后位置相对于参考位置的偏差。在给定一个具有 $N$ 个连续二维位置的单个粒子轨迹 $X = (x_i, y_i) (i = 1, \dots, N)$ , 并在确定时间间隔 $\Delta t$ 下记录, MSD被定义为时间延迟 $n\Delta t$ 时刻的系综平均:

$$\rho(n\Delta t) = \frac{1}{N-n} \sum_{i=1}^{N-n} (X_{i+n} - X_i)^2 \quad (1)$$

代入不同 $n$ 值, 得到不同时间间隔的MSD, 以 $n\Delta t$ 为横坐标绘制MSD曲线。

在此基础上, 使用幂函数进行拟合, 可以得到扩散系数 $D$ , 并根据 $\alpha$ 数值分析粒子的扩散模式。其中,  $\alpha < 1$ 为异常指数,  $D$ 为扩散系数:

$$\rho(n\Delta t) = 4D(n\Delta t)^\alpha \quad (2)$$

### 1.4.3 注意事项

- (1) 金、银纳米溶液需要提前超声分散, 避免粒子聚集。
- (2) 更换样品时先将载物台下移, 接着转动物镜转换台, 避免更换样品时划伤光学器件。
- (3) 观察细胞样品时需要区分细胞上下膜表面, 样品腔室内细胞膜下表面(远离盖玻片一面)更有利于观察纳米棒在细胞膜上的扩散运动。
- (4) 采集图像前可通过调焦、光源强度、物镜的数值孔径(Numerical Aperture)和相机曝光时间等来改善图像质量, 同时应避免相机过曝。
- (5) 实验结束及时关闭显微镜和相机, 避免影响仪器使用寿命。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同金、银纳米材料样品的暗场显微镜观察

对于粒径相似的金、银纳米颗粒, 由于银纳米颗粒的表面等离子共振波长在400 nm附近, 因此呈现蓝色; 55 nm金纳米颗粒的表面等离子共振吸收在540 nm左右, 因此呈现绿色。

比较两种不同长径比的金纳米棒, 通过查阅资料可知, 长径比为2的金纳米棒的纵向LSPR峰在600 nm左右, 而长径比3的金纳米棒纵向LSPR峰在700 nm左右, 因此, 目镜下可观察到随着长径比的增加, 金纳米棒的颜色由橙红向深红转变。图5是四种纳米颗粒在目镜下使用手机拍摄得到的图像。

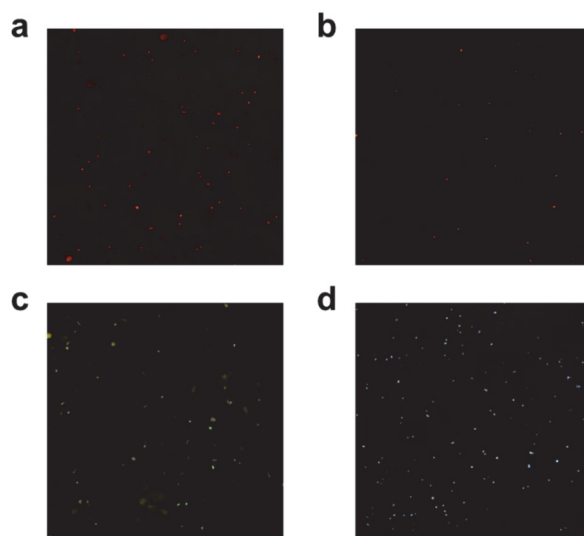


图5 目镜下使用手机拍摄不同金银纳米材料

(a) 25 nm × 87 nm金纳米棒; (b) 25 nm × 71 nm金纳米棒;  
(c) 55 nm金纳米颗粒; (d) 60 nm银纳米颗粒

## 2.2 金纳米棒在细胞膜上的扩散运动分析

通过对纳米粒子进行逐帧定位，我们可以绘制纳米粒子的二维运动轨迹并计算均方位移。通过对均方位移曲线拟合，得到扩散系数与指数数值，进一步分析纳米粒子在细胞膜上的扩散运动情况<sup>[16]</sup>。当拍摄的时间序列较长时，整段分析往往不够准确，因此结合轨迹图像进行分段分析，将有助于分析纳米棒相对于细胞膜运动到不同位置的扩散行为异质性。例如图6为一段3000帧的轨迹，对该轨迹进行整体分析时，扩散系数为 $23871.25 \text{ nm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ， $\alpha = 1.668$ ，反映为反常扩散；将其分为三段分别进行分析可得(图7)，随着时间推移，扩散系数与反常指数 $\alpha$ 都逐渐增大，运动速度增加，扩散行为由自由扩散转变为反常扩散<sup>[17]</sup>。

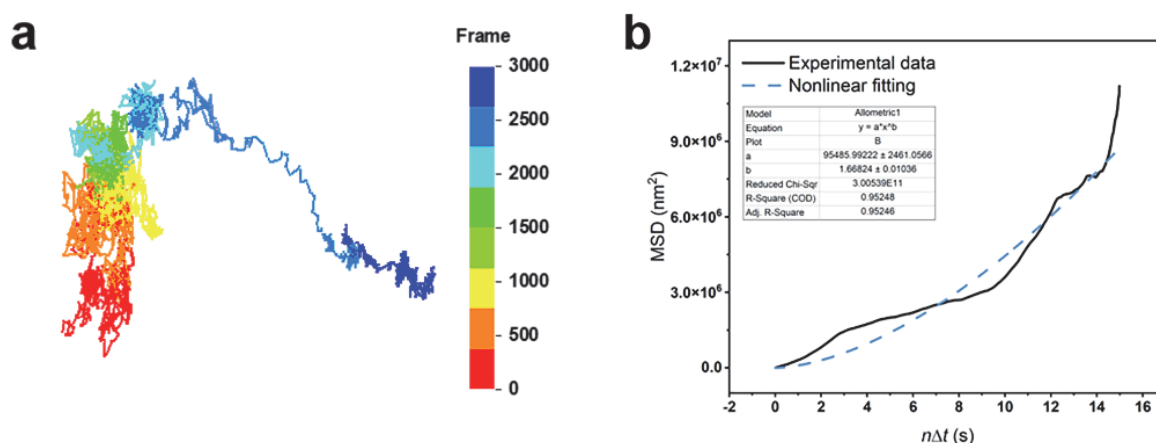


图6 金纳米棒在细胞膜上的扩散运动轨迹图(a)与MSD曲线拟合(b)

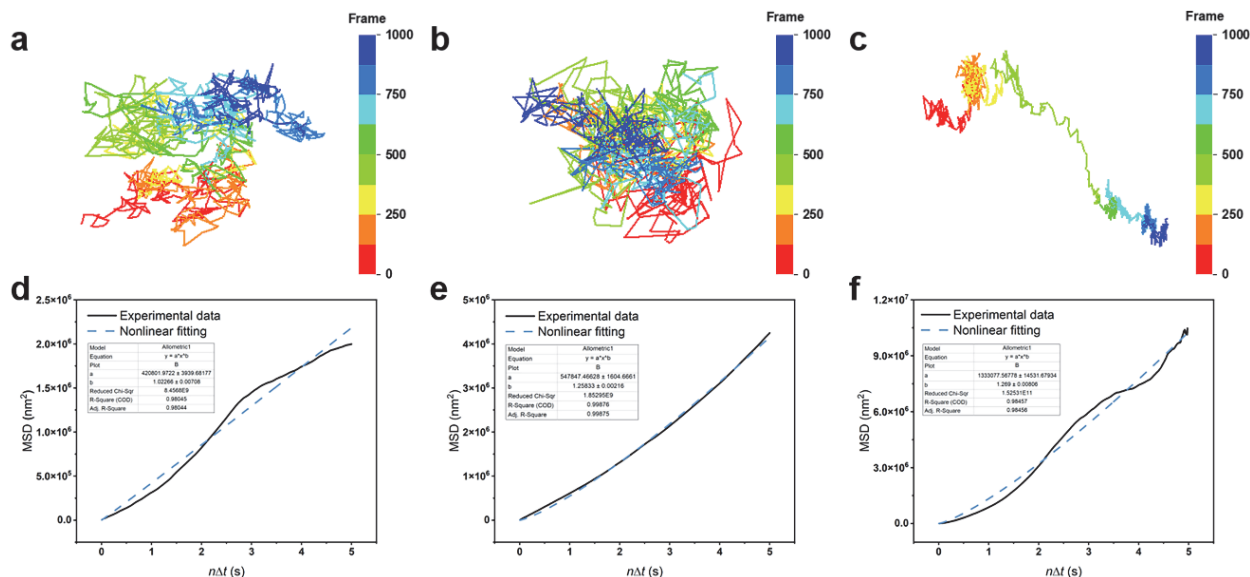


图7 分段扩散运动轨迹及MSD曲线拟合

1–1000帧轨迹(a)及MSD曲线拟合(d); 1001–2000帧轨迹(b)及MSD曲线拟合(e); 2001–3000帧轨迹(c)及MSD曲线拟合(f)

## 3 实验教学设计

### 3.1 课前预习

提前2周在QQ群、学习通等平台发布学习任务及学习材料，要求学生查阅相关文献，理解暗场

成像的实验原理, 对比不同技术的优缺点; 撰写实验预习报告, 完成如下预习思考题。

(1) 贵金属纳米材料的用途有哪些? 举例说明;

(2) 对比紫外可见吸收光谱、电镜表征和显微镜暗场成像, 并查阅相关资料, 讨论三者技术在表征纳米材料方面的优缺点;

(3) 通过查阅文献了解金、银纳米颗粒在细胞环境扩散运动的研究进展, 选取一篇文献进行介绍。

### 3.2 课堂理论知识讲解

通过日常中使用的相机导入介绍成像知识及实验原理, 并将超分辨成像在科研领域的成就融入研讨过程, 激发学生学习兴趣。接着讲授实验内容, 带领学生理顺实验步骤及注意事项, 明确实验安排。最后, 教师引导学生根据课前预习和课上听讲进行自由提问和讨论, 加深学生对本实验的认识与理解。

### 3.3 实操训练

由教师进行样本制作演示, 随后学生两人一组进行样品制备。上机操作时, 学生分成两个大组按照实验步骤在显微镜下观察样品。在实操过程中, 教师须巡查并注意学生操作规范, 解答学生实操过程中的疑问, 最后对学生的实验操作表现进行记录和评分。

### 3.4 实验结果处理

实验后统一讲解使用ImageJ和MATLAB进行金纳米棒在细胞膜上扩散运动的实验数据处理和分析教学, 由教师先使用样例进行演示讲解, 再由学生自己动手处理分析, 同一组学生用本组采集的同一原始数据进行数据处理, 以培养学生分析实验数据的能力和科研意识。

### 3.5 实验小结

针对学生在实验过程及撰写实验报告中普遍出现的问题, 通过QQ群进行讲解。同时, 鼓励学生查阅更多关于暗场成像研究的相关文献, 激发学生对该领域的研究兴趣。采用线上线下混合式教学方法, 能够充分调动学生参与实验教学的积极性, 培养学生实验技能、归纳总结及分析实验数据的能力, 促进发展良好的创新意识。

## 4 结语

单颗粒示踪技术能够实时、高分辨地揭示生物分子动态行为, 对推动基础科学研究、药物研发等方面具有关键作用, 是细胞生物学和纳米科学领域中不可或缺的重要技术。本实验巧妙地运用了金、银纳米颗粒作为成像探针, 探讨了等离激元纳米材料的尺寸效应, 并设计了活细胞成像实验, 旨在将金纳米棒在细胞膜上的扩散运动作为单颗粒示踪技术的生动教学案例, 引入本科教学实验中。实验内容充实, 现象明显, 科学性及可操作性强。在实验结束后, 使用MATLAB和ImageJ软件进行数据处理和分析, 并撰写实验报告, 有助于培养学生应用现代科研软件和归纳总结等能力。本实验提供了一个单颗粒示踪的教学示范实验, 实验内容紧跟科研前沿, 通过这一实验, 学生不仅能够在实践中深化对单颗粒示踪技术的理解与应用, 还锻炼了学生的实践技能, 培养了学生的文献查阅能力及良好的创新意识, 有利于调动学生的学习热情和学习能动性, 对培养具备扎实理论基础、卓越实践能力及高度创新意识的高素质本科生具有促进作用。

## 5 创新性声明

(1) 将单颗粒示踪技术引入本科教学, 探究金纳米棒在细胞膜上的扩散运动。

(2) 将金、银贵金属纳米颗粒作为成像探针, 利用其表面等离激元效应, 使学生理解纳米材料的形貌、尺寸等因素与所呈现颜色的关系。

(3) 利用ImageJ提取粒子轨迹并使用MATLAB计算均方位移, 培养学生数据处理与分析的能力。

参 考 文 献

- [1] Zhao, F.; Chen, K. C.; Dong, B.; Yang, K.; Gu, Y.; Fang, N. *Opt. Express* **2017**, *25* (9), 9860.
- [2] Gu, Y.; Ha, J. W.; Augspurger, A. E.; Chen, K. C.; Zhu, S. B.; Fang, N. *Nanoscale* **2013**, *5* (22), 10753.
- [3] Fang, N.; Chen, K. C.; Cheng, X. D. *Nat. Commun.* **2018**, *8*, 887.
- [4] Stender, A. S.; Marchuk, K.; Liu, C.; Sander, S.; Meyer, M. W.; Smith, E. A.; Neupane, B.; Wang, G. F.; Li, J. J.; Cheng, J. X.; *et al.* *Chem. Rev.* **2013**, *113* (4), 2469.
- [5] Sun, Y. F.; Song, D. L.; Zhang, X.; Zhang, Q. L.; Li, B. Y.; Chen, K. C.; Fang, N. *J. Phys. Chem. C* **2023**, *127* (15), 7327.
- [6] Bansal, A.; Sekhon, J. S.; Verma, S. S. *Plasmonic* **2014**, *9* (1), 143.
- [7] Augspurger, A. E.; Stender, A. S.; Marchuk, K.; Greenbowe, T. J.; Fang, N. *J. Chem. Educ.* **2014**, *91* (6), 908.
- [8] Nehl, C. L.; Hafner, J. H. *Chem. Mater.* **2008**, *18* (21), 2415.
- [9] Nan, C.; Zhang, Y.; Li, Y. *Univ. Chem.* **2019**, *34* (1), 58.
- [10] Ke, S. L.; Kan, C. X.; Mo, B.; Cong, B.; Zhu, J. J. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2012**, *28* (6), 1275.
- [11] Jing, C.; Gu, Z.; Ying, Y. L.; Li, D. W.; Zhang, L.; Long, Y. T. *Anal. Chem.* **2012**, *84* (10), 4284.
- [12] Jing, C.; Long, Y. T. *J. Electrochem.* **2023**, *29* (6), 2218006.
- [13] Shen, H.; Tauzin, L. J.; Baiyasi, R.; Wang, W.; Moringo, N.; Shuang, B.; Landes C. F. *Chem. Rev.* **2017**, *117* (11), 7331.
- [14] Janczura, J.; Kowalek, P.; Loch-Olszewska, H.; Szwabinski, J.; Weron, A. *Phys. Rev. E* **2020**, *102* (3), 032402.
- [15] Kowalek, P.; Loch-olszewska, H.; Szwabinski, J. *Phys. Rev. E* **2019**, *100* (3), 032410.
- [16] Yu, Y. Q.; Gao, Y.; Yu, Y. *ACS Nano* **2018**, *12* (12), 11871.
- [17] Yi, R. H.; Xu, Z.; Hu G. Q. *Physics of Gases* **2018**, *3* (4), 1.