



*Instituto de Ciencias
Centro de Investigaciones en Dispositivos Semiconductores
Posgrado en Dispositivos Semiconductores*

**ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LAS
NANOPARTÍCULAS DE Ag Y COMPOSITOS DE
Ag/POLIMETILMETACRILATO COMO SUSTRATOS SERS**

*Tesis sometida como requisito para obtener el grado de
Doctora en Dispositivos Semiconductores*

Presentada por:

Mayra Matamoros Ambrocio (218570589)

Dirigida por:

Dra. Estela Gómez Barojas
Directora

Dr. Enrique Sánchez Mora
Co-Director Externo

Dr. José Alberto Luna López
Co-Director

©BUAP, Agosto 2022.
Todos los derechos reservados.

Beca CONACyT # 712521

“Remember to look up at the stars and not down at your feet. Try to make sense of what you see and wonder about what makes the universe exist. Be curious. And however difficult life may seem, there is always something you can do and succeed at.”

Stephen Hawking

Agradecimientos

Primero quiero agradecer a mi familia, especialmente a mi mamá Lucia y a mi papá Trinidad, por el apoyo que me han brindado durante todo este tiempo, por enseñarme que con esfuerzo, trabajo y dedicación todo es posible. Un agradecimiento especial a Daniel, por su apoyo incondicional, consejos y compañía en este trayecto.

A mis directores de tesis, a la Dra. Estela Gómez Barojas y al Dr. Enrique Sánchez Mora por guiarme en este proyecto, por su ayuda ilimitada para la realización del trabajo y también por su amistad, apoyo y consejos.

A los miembros de mi comité, al Dr. José Luis Sosa Sánchez, al Dr. Mauricio Pacio Castillo, a la Dra. Ana Lilia González Ronquillo, a la Dra. María Josefina Robles Águila, al Dr. César Márquez Beltrán y al Dr. José Alberto Luna López agradezco sus recomendaciones y el tiempo dedicado en la revisión y seguimiento de este trabajo.

Al Dr. Rutilo Silva González y a la Dra. Laura Elvira Serrano de la Rosa del IFUAP por el apoyo en las mediciones de SEM, espectroscopia UV-Vis y micro-Raman. También me gustaría expresar mi agradecimiento a la Dra. Anabel Romero López y a la Dra. María Eunice de Anda Reyes por su apoyo en el laboratorio de síntesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de doctorado número 712521, y a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP-BUAP) por apoyos económicos otorgados para el desarrollo del proyecto.

Finalmente, agradezco a mis compañeros del posgrado por su amistad y ayuda durante este trayecto.

A todos, muchas gracias...

Resumen

En este proyecto se presenta la síntesis, caracterización y aplicación de sustratos SERS basados en Ag-NPs y compositos Ag/PMMA para la detección de bajas concentraciones de azul de metileno (AM).

Inicialmente, se sintetizaron microesferas de polimetilmetacrilato (PMMA) mediante el método de polimerización en emulsión libre de surfactante. Las cantidades de monómero e iniciador se variaron sistemáticamente para controlar el tamaño de las microesferas en el intervalo de 235 a 323 nm. Las microesferas son estables y presentan una carga superficial positiva debido a que se obtuvieron valores de potencial zeta de 51.1 ± 5.4 mV y pH de 3.3. Las microesferas de PMMA son amorfas y dieléctricas debido a que presentan una estructura de bandas indirecta con valores de E_g en el intervalo de 4.36 a 4.73 eV, sin observar una relación directa entre el tamaño de las microesferas de PMMA y el E_g .

Posteriormente, estas microesferas de PMMA se utilizaron para obtener ópalos mediante el método de sedimentación. A partir de micrografías SEM, se observó que las microesferas que forman los ópalos presentan un arreglo periódico uniforme con estructura cúbica centrada en las caras (*fcc*). Los espectros de reflectancia especular de ángulo variable muestran que los ópalos poseen una banda pseudofotónica (PBG, por sus siglas en inglés; *Pseudo-photonic Band Gap*) en las regiones visible e IR cercano. Se observó que la PBG se desplaza hacia mayores longitudes de onda a medida que aumenta el diámetro de las microesferas de PMMA que forman el ópalo. También se observó que la intensidad de las PBGs disminuye a medida que se aumenta el ángulo de incidencia.

Las nanopartículas de Ag (Ag-NPs) se sintetizaron mediante el método de reducción química. Estas presentaron una morfología cuasi-esférica con un diámetro de 15 ± 3.7 nm. Las nanopartículas son estables y presentan una carga superficial negativa, debido a que su potencial zeta es de -42.5 ± 2.8 mV, la cual está asociada a los iones de bis (p-sulfonatofenil) fenilfosfina dihidrato de sal dipotásica (BSPP); presentes en su superficie. La banda de resonancia de plasmón superficial se determinó mediante absorción UV-Vis y se localizó en 400 nm.

Se prepararon compositos de Ag/PMMA en forma de películas sobre obleas de Si mediante la técnica de *co-deposición*, a partir de la mezcla de soluciones de Ag-NPs y PMMA, en las cuales se eliminó el solvente por evaporación. Se prepararon tres diferentes tipos de

compositos considerando únicamente microesferas de PMMA con diámetro de 298 ± 8 nm, y tres concentraciones diferentes de Ag-NPs.

Las micrografías SEM muestran que las Ag-NPs se depositaron sobre las microesferas de PMMA y se observó que el ordenamiento periódico de los ópalos se ve afectado por la presencia de las Ag-NPs. Este efecto se visualizó también mediante los estudios de reflectancia especular de ángulo variable debido a que las PBGs se desplazaron hacia mayores longitudes de onda, disminuyendo en intensidad y se ensanchan a medida que aumenta la concentración de las Ag-NPs.

Finalmente, las películas de las Ag-NPs y los compositos de Ag/PMMA se evaluaron como sustrato SERS utilizando como molécula de prueba azul de metileno (AM). En los estudios se consideraron como variables la concentración de Ag-NPs y la concentración de AM. Los resultados mostraron que con todos los sustratos SERS se observa un aumento lineal del factor de mejora Raman (EF, por sus siglas en inglés; *Enhanced Factor*) a medida que aumenta la concentración de AM. Los sustratos SERS basados en Ag-NPs presentan un EF de un orden de magnitud mayor que los compositos Ag/PMMA. Por último, tanto en los sustratos SERS de Ag-NPs como en los compositos, los valores de EF aumentan a medida que aumenta la concentración de Ag-NPs. Cabe señalar que los sustratos SERS con mayor concentración de Ag-NPs presentan un mayor EF debido probablemente a la formación de cúmulos metálicos en la superficie de la película, lo que genera mayor cantidad de “puntos calientes”.¹

Palabras clave: Microesferas de PMMA, Nanopartículas de Ag, ópalos, propiedades ópticas, sustratos SERS

¹Los “puntos calientes” surgen en las uniones de nanopartículas plasmónicas, son regiones donde se intensifica significativamente el campo electromagnético.

Abstract

The synthesis, characterization and application of SERS substrates based on Ag-NPs and Ag/PMMA composites for the detection of low concentrations of methylene blue (MB) is presented in this work. Initially, polymethylmethacrylate (PMMA) microspheres were synthesized by a surfactant free emulsion polymerization (SFEP) method. The monomer and initiator quantities were varied systematically to control the microspheres size in the range from 235 to 323 nm. The obtained microspheres are stable and present a positive surface charge with Zeta potentials of 51.1 ± 5.4 mV and pH 3.3. The PMMA microspheres are amorphous and with dielectric properties since they present an indirect band structure with E_g values in the range from 4.36 to 4.73 eV. No direct relation between the microspheres size and the E_g values was observed.

Subsequently, these PMMA microspheres were used to obtain opals. SEM micrographs show that these opals exhibit a periodical uniform array with a face-centered cubic (*fcc*) structure. Variable angle specular reflectance spectra show that the opals possess a pseudo-photonic band gaps (PBG) in the visible and near infrared (NIR) regions. The PBG shifts towards longer wavelengths as the PMMA microspheres size increases. It was also observed that the intensity of the PBGs decreases as the angle of incidence increases.

Silver nanoparticles (Ag-NPs) were synthesized by the chemical reduction method. They present a quasi-spherical shape with a diameter of 15 ± 3.7 nm. The nanoparticles are stable and have a negative surface charge since their zeta potential is -42.5 ± 2.8 mV. This is associated with the bis(*p*-sulfonatophenyl) phenylphosphine dihydrate dipotassium salt (BSPP) ions present on their surface. The surface plasmon resonance band was located at 400 nm in the UV-Vis absorption spectra.

Ag/PMMA composites were prepared in the form of films on Si wafers by the co-deposition technique, from a mixture of Ag-NPs and PMMA solutions, in which the solvent was removed by evaporation. Three different composites were prepared considering only PMMA microspheres with a diameter of 298 ± 8 nm, and three different concentrations of Ag-NPs.

SEM micrographs show that the Ag-NPs were deposited onto the PMMA microspheres, and it was observed that the periodic ordering of the opals is affected by the presence of the Ag-NPs. It was also visualized in the variable angle specular reflectance spectra, that the

PBGs maximum shifts towards longer wavelengths, they decrease in intensity, and they broaden as the concentration of the Ag-NPs increases.

Finally, Ag-NPs films and Ag/PMMA composites were evaluated as SERS substrates using MB as a probe molecule. In these studies, the concentration of Ag-NPs and the concentration of MB were considered variables. The calculation results show that with all SERS substrates, a linear increase of the Raman Enhancement Factor (EF) is observed as the MB concentration increases. SERS substrates based on Ag-NPs present an EF one order of magnitude greater than that of the Ag/PMMA composites. Finally, in both the Ag-NPs substrates and the composites SERS substrates, the EF values increase as the concentration of the Ag-NPs increases. It should be noted that SERS substrates with higher concentrations of Ag-NPs have a higher EF due to the formation of metallic clusters adsorbed on the surface of the film, which generates more "hot spots".

Keywords: PMMA Microspheres, Ag Nanoparticles, opals, optical properties, SERS substrates.

Índice

Resumen	I
Abstract	III
Índice de Figuras	VIII
Índice de Tablas	XII
Objetivos	XIV
Introducción	1
Capítulo 1. Marco Teórico	4
1.1 Cristales Fotónicos.....	4
1.2 Ópalos.....	7
1.2.1 Fabricación de Ópalos.....	8
1.2.2 Propiedades Ópticas de los Ópalos.....	10
1.3 Polimetilmetacrilato (PMMA).....	12
1.3.1 Microesferas de PMMA.....	14
1.4 Nanopartículas Metálicas.....	16
1.4.1 Resonancia de Plasmón Superficial Localizada.....	18
1.4.2 Nanopartículas de Ag.....	21
1.4.2.1 Síntesis de Nanopartículas de Ag.....	23
1.5 Compositos Poliméricos.....	26
1.5.1 Compositos Ag/PMMA.....	28
1.6 Espectroscopia Raman Mejorada en Superficie.....	31
1.6.1 Dispersión Raman.....	31
1.6.2 Dispersión Raman Mejorada en Superficie.....	33
1.6.2.1 Mecanismo Electromagnético del Efecto SERS.....	34
1.6.2.2 Mecanismo Químico del Efecto SERS.....	36

1.7	Sustratos SERS.....	37
Capítulo 2. Desarrollo Experimental.....		43
2.1	Síntesis de los Materiales.....	43
2.1.1	Síntesis de Microesferas de PMMA	43
2.1.2	Obtención de Ópalos de PMMA.....	45
2.1.3	Síntesis de Nanopartículas de Plata	46
2.1.4	Obtención de Ópalos Compositos de Ag/PMMA.....	47
2.2	Caracterización de los Materiales.....	48
2.2.1	Microscopia Electrónica de Barrido	48
2.2.2	Espectroscopia de Rayos-X por Dispersión en Energía.....	50
2.2.3	Difracción de Rayos-X	52
2.2.4	Espectroscopia Raman e Infrarrojo.....	53
2.2.5	Espectroscopia UV-Vis.....	56
2.2.6	Dispersión Dinámica de la Luz y Potencial Zeta.....	58
2.3	Estudio de los Sustratos SERS.....	60
2.3.1	Preparación de los Sustratos SERS	60
2.3.2	Azul de Metileno.....	61
2.3.3	Preparación de las Soluciones Estándar.....	63
2.3.4	Procedimientos para las Mediciones de los Sustratos SERS.....	64
Capítulo 3. Resultados y Discusión.....		65
3.1	Microesferas de PMMA	65
3.1.1	Análisis FT-IR y Micro-Raman.....	65
3.1.2	Análisis SEM y DLS.....	67
3.1.3	Análisis DRS.....	73
3.2	Ópalos de PMMA	79
3.2.1	Propiedades Ópticas.....	80
3.3	Nanopartículas de Ag	82
3.3.1	Análisis UV-Vis y DLS.....	82
3.3.2	Análisis SEM, EDS y Micro-Raman.....	86
3.4	Compositos Ag/PMMA	89
3.4.1	Análisis XRD.....	89

3.4.2	Análisis SEM, EDS y Micro-Raman.....	90
3.4.3	Propiedades Ópticas.....	95
3.5	Estudio de los Sustratos SERS	99
3.5.1	Análisis de las Soluciones Estándar.....	99
3.5.2	Sustratos SERS basados en Ag-NPs.....	101
3.5.3	Sustratos SERS basados en Compositos Ag/PMMA.....	110
Conclusiones.....		115
Referencias.....		117
Productos Generados.....		130

Índice de Figuras

1.1	Varios ejemplos de cristales fotónicos en la naturaleza: (a) Alas de la mariposa <i>Morpho</i> donde se aprecia la iridiscencia azul y una imagen SEM de la estructura	5
1.2	Representación esquemática de CFs: (a) unidimensional 1-D, (b) bidimensional 2-D (c) tridimensional 3-D.....	6
1.3	Esquemas de diferentes métodos utilizados para formar ópalos. (a) Sedimentación por gravedad.....	10
1.4	Esquema que describe la interacción de la luz con el material periódico y la luz dispersada por los planos formados por las esferas: (a) interferencia constructiva y (b) interferencia destructiva de fotones.....	11
1.5	Estructura molecular del: (a) Monómero de Metilmetacrilato y (b) Polimetilmetacrilato (PMMA).....	13
1.6	Estructura molecular de los iniciadores más utilizados en la síntesis mediante SFEP de las microesferas de PMMA.....	16
1.7	Copa <i>Lycurgus</i> (a) cuando se ilumina desde el exterior y (b) cuando se ilumina desde el interior. (c) Cinco muestras originales preparadas por Michael Faraday	17
1.8	Diagrama esquemático que ilustran un plasmón de superficie localizado.....	19
1.9	Espectros de extinción (negro), absorción (rojo) y dispersión (azul) calculados para nanopartículas de Ag de diferentes formas.....	20
1.10	Estudio de las propiedades ópticas de absorción y dispersión de las Ag-NPs coloidales mediante espectroscopia de absorción UV-Vis.....	23
1.11	Principales métodos empleados para la síntesis de Ag-NPs.....	24
1.12	Técnicas de incorporación <i>in-situ</i> y <i>ex-situ</i> de las NPs metálicas en la matriz polimérica.....	27
1.13	Ilustración esquemática de los diferentes tipos de dispersión de radiación por una molécula.....	32

1.14	Mecanismo electromagnético del efecto SERS. (a) Mejora basada en nanoesferas plasmónicas. (b) Ilustración esquemática de un “punto caliente” en el espacio entre partículas adyacentes.....	35
1.15	Mecanismo químico del efecto SERS. La ilustración muestra esquemáticamente las diferentes contribuciones asociadas.....	36
2.1	Ilustración esquemática del arreglo experimental empleado en la síntesis de las microesferas de PMMA mediante una polimerización en emulsión libre de surfactante.....	44
2.2	Ilustración esquemática del arreglo experimental empleado en la síntesis de las Ag-NPs.....	47
2.3	Representación esquemática del proceso usado para la obtención de los compositos Ag/PMMA.....	48
2.4	Diagrama de un Microscopio Electrónico de Barrido.....	49
2.5	Representación de la emisión de rayos-X característicos. El electrón en el haz incidente expulsa un electrón secundario en uno de los orbitales del átomo, lo cual deja inestable al átomo.....	51
2.6	Ley de Bragg: se presenta una red cristalina bidimensional y un conjunto de planos imaginarios.....	53
2.7	Diagrama de un espectrometro Raman con geometría de recolección 90°.....	56
2.8	Representación esquemática de una nanopartícula de plata en solución.....	59
2.9	Estructura molecular del AM. (a) Espectro Raman del polvo de AM sólido, (b) espectro Raman obtenido a partir de la solución acuosa de AM.....	61
2.10	Espectros de absorción de AM de las soluciones estándar con concentración conocida, (b) Fotografías de las soluciones estándar.....	63
3.1	Espectro FT-IR y micro-Raman de las microesferas de PMMA obtenida.....	66
3.2	Micrografías SEM de las microesferas de PMMA.....	69
3.3	Gráfica del diámetro de las microesferas vs mmol de MMA y diámetro de las microesferas vs mmol de iniciador.....	70
3.4	Ilustración esquemática de la reacción de protonación del grupo carboxilo que rodea la superficie de la microesfera de PMMA.....	73
3.5	Espectros de reflectancia difusa UV-Vis-NIR (mostrado como absorbancia) de las microesferas de PMMA.....	74
3.6	Estimación de la energía de banda prohibida (E_g) de las microesferas de PMMA en polvo aplicando el formalismo de Kubelka-Munk.....	76

3.7	Variación del coeficiente de absorción (α) en función de la energía del fotón ($h\nu$) de las microesferas de PMMA.....	78
3.8	Imágenes SEM de ópalos de PMMA preparados con microesferas de PMMA_4 que muestran el autoensamblaje de las microesferas.....	79
3.9	Espectros de reflectancia especular de los ópalos (a) PMMA-7, (b) PMMA-8 y (c) PMMA-9.....	80
3.10	Espectros de absorción UV-vis de las Ag-NPs en diferentes etapas de la reacción.....	83
3.11	Esquema que muestra la adsorción del ion citrato en la superficie de la Ag-NP.....	84
3.12	Esquema que muestra la adsorción del ion BSPP en la superficie de la Ag-NP.....	86
3.13	Imágenes SEM de las Ag-NPs obtenidas y su distribución en los diferentes sustratos SERS empleados.....	87
3.14	Espectros EDS de las Ag-NPs soportadas en la oblea de Si usado como sustrato SERS Ag-S3.....	88
3.15	Espectros Raman de las Ag-NPs utilizadas como sustratos SERS.....	89
3.16	Patrones de difracción de rayos-X de: (a) ópalos de PMMA, (b) Ag/PMMA-S2 y (c) Ag/PMMA-S3.....	90
3.17	Imágenes SEM del composito Ag/PMMA-S1 a X20,000 y X100,000 (inserto).....	91
3.18	Imágenes SEM del composito Ag/PMMA-S2 a X20,000 y X100,000 (inserto).....	92
3.19	Imágenes SEM del composito Ag/PMMA-S3 a X20,000 y X100,000 (inserto).....	93
3.20	Espectros EDS del composito Ag/PMMA-S3 soportadas en la oblea de Si usado como sustrato SERS.....	93
3.21	Espectros Raman de los ópalos de PMMA y los compositos Ag/PMMA-S1, Ag/PMMA-S2 y Ag/PMMA-S3.....	94
3.22	Espectro reflectancia difusa (expresados como absorbancia) de las microesferas de PMMA y de los compositos Ag/PMMA.....	95
3.23	Espectros de reflectancia especular a 20° y 70° para los ópalos de PMMA e imágenes SEM a X100,000 de los ópalos obtenidos mediante sedimentación y deposito vertical.....	96
3.24	Espectros de reflectancia especular a diferentes ángulos de incidencia (20-70°) de: (a) los ópalos de PMMA y compositos (b) Ag/PMMA-S1, (c) Ag/PMMA-S2, (d) Ag/PMMA-S3.....	97
3.25	Imágenes SEM a X20,000 de los compositos de : (a) Ag/PMMA-S1, (b) Ag/PMMA-S2 y (c) Ag/PMMA-S3.....	98

3.26	Fotografías ópticas de las tres regiones analizadas (a) R1-centro de la gota, (b) R2-región intermedia y (c) R3-orilla de la gota.....	100
3.27	Efecto SERS del usar el sustrato Ag-S1 en las soluciones estándar de AM.....	102
3.28	Gráficas de barras comparativos que muestran la intensidad Raman vs la concentración de AM en las diferentes regiones analizadas para cada sustrato SERS.....	103
3.29	Efecto SERS de los sustratos en las soluciones estándar de AM, comportamiento de la banda de interés ubicada en 1632 cm^{-1} y ajuste lineal de la relación entre las concentraciones de AM y la banda de interés para los sustratos basados en Ag-NPs.....	105
3.30	Gráfico comparativo de los valores de EF obtenidos para cada sustrato SERS (Ag-S1, Ag-S2 y Ag-S3) en función de la concentración.....	109
3.31	Espectro Raman promedio de las soluciones estándar de AM depositadas sobre el sustrato basado en PMMA.....	110
3.32	Efecto SERS de los sustratos en las soluciones estándar de AM, comportamiento de la banda de interés ubicada en 1632 cm^{-1} y ajuste lineal de la relación entre las concentraciones de AM y la banda de interés para los sustratos basados en los compositos Ag/PMMA.....	112
3.33	Gráfico comparativo de los valores de EF obtenidos para cada sustrato SERS Ag/PMMA en función de la concentración de AM.....	113

Índice de Tablas

1.1	Propiedades físicas, químicas y mecánicas del PMMA.....	14
1.2	Síntesis de Ag-NPs con diferentes morfologías mediante métodos químicos, físicos y biológicos	25
1.3	Ejemplos de compositos Ag/PMMA obtenidos en estudios previos.....	29
1.4	Algunos ejemplos de sustratos SERS basados en nanopartículas metálicas en solución	40
1.5	Algunos ejemplos de sustratos SERS basados en nanopartículas inmovilizadas en un soporte sólido.....	41
1.6	Algunos ejemplos de sustratos SERS basados en matrices ordenadas de nanopartículas	42
2.1	Etiquetado de las muestras de PMMA con diferente volumen de monómero e iniciador, manteniendo constante el volumen de agua.....	44
2.2	Asignación de bandas Raman observadas del polvo de AM en estado sólido y del sólido obtenido a partir de la solución acuosa de AM.....	62
2.3	Parámetros de adquisición de los espectros Raman usados en los experimentos de SERS.....	64
3.1	Condiciones de síntesis de las microesferas de PMMA, diámetro medio medido por SEM (D_m), diámetro hidrodinámico medido mediante DLS (D_h), PDI y valores de potencial zeta (ζ).....	68
3.2	Efecto de la variación de monómero e iniciador en la síntesis de varios polímeros utilizando el método SFEP.....	71
3.3	Banda prohibida de energía directa ($E_{g/D}$), banda prohibida de energía indirecta ($E_{g/I}$), energía de Urbach (E_t) y constante de absorción (α_0) de las microesferas de PMMA obtenidas.....	77
3.4	Posición de la longitud de onda de la banda fotónica de los ópalos (λ), datos de ajuste de intercepción y pendiente, diámetro interplanar de las microesferas de PMMA (D) y fracción de volumen sólido (φ) de los cristales fotónicos obtenidos.....	82

3.5	Etapa de síntesis de las Ag-NPs, diámetro hidrodinámico medido mediante DLS (D_h), PDI y valores de potencial zeta (ζ).....	85
3.6	Posición de la longitud de onda de la banda fotónica (λ), datos de ajuste de intersección y pendiente, distancia interplanar (d_{111}), diámetro (D) y fracción de volumen sólido (φ) de los ópalos de PMMA y compositos Ag/PMMA obtenidos.....	98
3.7	Comparación de las intensidades promedio obtenidas empleando los diferentes sustratos SERS para cada concentración.....	106
3.8	Concentración de AM, número de moléculas de AM en el punto láser, porcentaje del área total ocupada por las moléculas de AM, y N_{Raman}	107
3.9	Concentración de AM y valores de EF obtenido para los diferentes sustratos SERS basados en Ag-NPs.....	108
3.10	Comparación de las intensidades promedio obtenidas empleando los diferentes sustratos SERS para cada concentración.....	111
3.11	Concentración de AM y valores de EF obtenido para los diferentes sustratos SERS basados en compositos Ag/PMMA.....	113

Objetivos

Objetivo General

Sintetizar nanopartículas de Ag y microesferas de PMMA para estudiar sus propiedades ópticas y el efecto de los ópalos de PMMA sobre las Ag-NPs en la aplicación como sustratos SERS de los compositos de Ag/PMMA.

Objetivos Específicos

1. Obtener microesferas de polimetilmetacrilato (PMMA) con tamaños en el intervalo de 235 a 325 nm de diámetro mediante el método de polimerización en emulsión libre de surfactante.
2. Preparar ópalos de PMMA mediante las técnicas de sedimentación y depósito vertical a partir de las microesferas de PMMA obtenidas.
3. Sintetizar nanopartículas de Ag mediante la reducción de Ag^+ con NaBH_4 .
4. Preparar compositos Ag/PMMA mediante la técnica de depósito vertical y sedimentación usando tres diferentes concentraciones de nanopartículas de Ag.
5. Estudiar la morfología, composición elemental, estructura cristalina y propiedades ópticas de las microesferas de PMMA, de las nanopartículas de Ag y de los compositos de Ag/PMMA mediante Microscopia Electrónica de Barrido; Espectroscopia de Rayos-X por Dispersión en Energía, Difracción de Rayos-X y Espectrofotometría UV-Vis.
6. Estudiar el efecto de las nanopartículas de Ag en los compositos de Ag/PMMA (preparados mediante el método de depósito vertical) como sustratos SERS, utilizando como molécula de prueba azul de metileno.

Introducción

Desde el descubrimiento del efecto Raman en 1928 por Sir C. V. Raman y K.S. Krishan [1], la espectroscopia Raman es una técnica ampliamente usada en varios campos de investigación como la química, física, biología y ciencia de materiales. Esta técnica se basa en efectos de dispersión inelástica para proporcionar información detallada sobre los modos vibracionales de un sistema bajo análisis, lo que permite su identificación. Sin embargo, la principal limitante de esta técnica es que la dispersión inelástica es típicamente muy débil, aproximadamente 1 de cada 10^6 - 10^{10} fotones se dispersan de forma inelástica; como resultado se dificulta su aplicación en la detección de compuestos orgánicos con concentraciones del orden de partes por millón (ppm, mg/L).

La Espectroscopia Raman Mejorada en Superficie (SERS, por sus siglas en inglés; *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*) supera estas limitaciones y aumenta considerablemente la sensibilidad de detección de concentraciones hasta del orden de picogramos por litro (pg/L). El efecto SERS fue reportado por primera vez en 1974 por Fleischmann et al. [2], quienes observaron una señal de dispersión Raman mejorada cuando adsorbieron piridina en un electrodo rugoso de plata. La razón de esta mejora en la dispersión Raman está asociada con una mejora electromagnética inducida por las superficies metálicas nanoestructuradas (sustrato SERS) y está vinculada a la resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR, por sus siglas en inglés; *Localized Surface Plasmon Resonance*).

Las principales ventajas de la técnica SERS (al igual que en la espectroscopia Raman normal) son: no se necesita preparación de las muestras, se puede trabajar con muestras sólidas, líquidas y gaseosas, es una técnica no destructiva, no invasiva y no se requieren condiciones de trabajo específicas de presión y temperatura. Sin embargo, el éxito de SERS se basa en el sustrato utilizado, que generalmente es una superficie rugosa de metales tales como Au, Ag y Cu. Además, es importante considerar que un sustrato SERS eficaz debe cumplir con criterios de homogeneidad, portabilidad, reproducibilidad y sensibilidad. Esta combinación permite el aumento en intensidad de la señal Raman y por lo tanto, la capacidad de detectar analitos con bajas concentraciones.

En este contexto, las nanopartículas de Ag (Ag-NPs) presentan ventajas con respecto a las nanopartículas de otros metales nobles; debido a su bajo costo, amplia absorción en la

región visible e IR y a diferencia de otros metales, es el que exhibe mayor dispersión Raman mejorada en superficie.

Recientemente, los composites poliméricos que contienen NPs metálicas se han utilizado como sustratos SERS, lo que proporciona una alternativa interesante que permite el desarrollo de nuevas herramientas para la detección de compuestos orgánicos con bajas concentraciones. Así mismo, se ha reportado que en los materiales composites metal/polímero, el polímero actúa como un recubrimiento que permite la retención del analito dentro de las uniones creadas por las NPs metálicas envueltas por el polímero, lo que promueve la sensibilidad analítica del sustrato SERS [3].

Un composite metal/polímero puede estar formado por biopolímeros (como la celulosa) o polímeros sintéticos que funcionan como matrices. En informes recientes el polimetilmetacrilato (PMMA) se ha investigado como matriz polimérica ya que ofrece ventajas en la fabricación de sustratos SERS incluida una buena estabilidad mecánica, biocompatibilidad, alta transmisión óptica en la región visible y baja autofluorescencia [4]. Por otro lado, la posibilidad de obtener cristales fotónicos (ópalos) de este material sugiere un enfoque para la fabricación de sustratos SERS híbridos (metal/polímero) con una estructura plasmónica periódica que ajuste las propiedades LSPR de las NPs metálicas y de esta forma mejore la dispersión SERS necesaria para detectar la presencia de compuestos orgánicos con bajas concentraciones.

En este proyecto se sintetizaron y evaluaron sustratos SERS basados en Ag-NPs y composites Ag/PMMA para mejorar la señal de dispersión Raman del azul de metileno (AM) con bajas concentraciones (5×10^{-7} M). La primera parte consiste en un estudio sistemático de la influencia de las cantidades del iniciador y del monómero (utilizados en la síntesis del PMMA) en el tamaño de las microesferas de PMMA, así como en las propiedades estructurales, morfológicas y ópticas. Para ello, se usa el método de polimerización en emulsión libre de surfactante (SFEP, por sus siglas en inglés; *Surfactant-Free Emulsion Polymerization*) con el que se prepararan microesferas coloidales monodispersas. El proyecto continuó con la obtención de ópalos de PMMA mediante dos métodos simples: sedimentación por gravedad y depósito vertical; con estos procedimientos se obtuvieron ópalos con buena calidad y alto grado de ordenamiento. La formación de los ópalos se confirmó mediante SEM y reflectancia difusa y especular.

La segunda parte del proyecto consistió en sintetizar Ag-NPs mediante reducción química empleando AgNO_3 como precursor y NaBH_4 como agente reductor y BSPP como agente estabilizante. Estas Ag-NPs posteriormente se utilizaron para formar el composite

Ag/PMMA en forma de película mediante la técnica de *co-deposición*. La formación de los compositos se confirmó mediante diferentes técnicas de caracterización.

Finalmente, la eficiencia de los sustratos SERS basados en películas de compositos Ag/PMMA se determinó utilizando AM como molécula prueba y con fines comparativos se realiza un estudio análogo con sustratos SERS basados en películas de Ag-NPs.

El orden del presente trabajo es el siguiente: se presentan el objetivo general y los objetivos particulares planteados. En el Capítulo 1 se presenta el marco teórico referente al tema de tesis; en el Capítulo 2 se describen los métodos de síntesis empleados para obtención de las microesferas de PMMA, las Ag-NPs y los compositos Ag/PMMA. También, se describen brevemente los fundamentos de las técnicas de caracterización empleadas. En el Capítulo 3, se presentan los resultados y discusión de la caracterización de las muestras obtenidas y su aplicación como sustratos SERS. Finalmente, se presentan las conclusiones de este proyecto de investigación de tesis doctoral.

Capítulo 1

Marco Teórico

Este capítulo tiene como objetivo proporcionar una base teórica y los antecedentes que cubren los principales temas desarrollados a lo largo de este proyecto. Inicialmente se presenta información relevante sobre los cristales fotónicos, incluidas las técnicas de fabricación. Además, se proporciona información sobre el PMMA y se explican algunas propiedades fundamentales. Luego, se presenta información sobre las NPs metálicas y se discute la teoría de cómo y por qué el tamaño de las NPs afecta sus propiedades. Posteriormente, se proporciona información referente a los composites Ag/PMMA incluida una revisión bibliográfica que presenta sus principales aplicaciones. La sección final brinda información referente a la Espectroscopia Raman Mejorada en Superficie y los factores que llevan a la mejora en la dispersión Raman. Se incluye una revisión bibliográfica de algunos sustratos SERS poniendo énfasis en la disposición de las NPs metálicas en el sustrato.

1.1. Cristales Fotónicos

Los cristales fotónicos (CFs) son estructuras altamente ordenadas cuya constante dieléctrica es modulada con periodos en la escala de longitudes de onda de la luz visible [5]. Como se puede apreciar en la [Figura 1.1](#), los CFs están presentes en la naturaleza, por ejemplo en las alas de las mariposas [6], las plumas de las aves [7], en algunos insectos [8], en piedras preciosas de ópalos [9] e incluso en la flora [10].

La característica común entre estos materiales u objetos ([Figura 1.1](#)) es su color iridiscente o estructural, que depende de la dirección, es decir, el color cambia según el ángulo de observación, y es causado por la interacción de la luz con la estructura periódica del diseño natural de estos materiales [11].

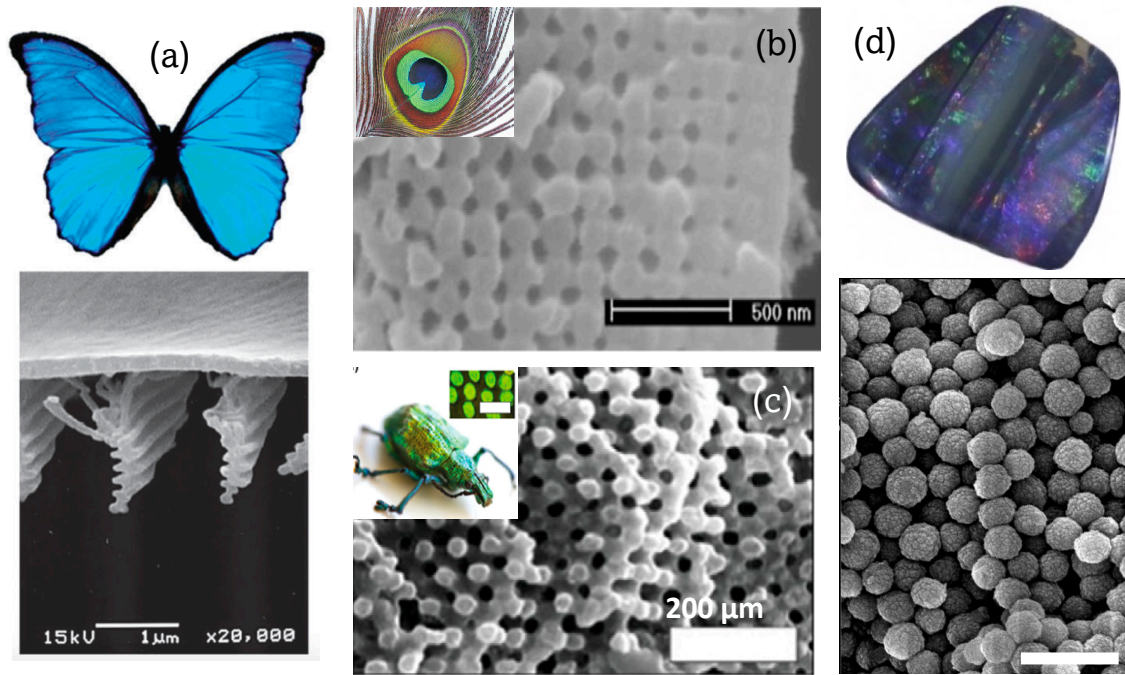


Figura 1.1 Varios ejemplos de cristales fotónicos en la naturaleza: (a) Alas de la mariposa *Morpho* donde se aprecia la iridiscencia azul y una imagen SEM de la estructura. (b) Pluma de pavo real multicolor e imagen TEM de la sección transversal de la estructura, específicamente del área en color azul. (c) Escarabajo brasileño *Lamprocyphus augustus* las escamas reflejan un verde iridiscente, en la imagen SEM se observa que se debe a estructuras microscópicas en forma de diamante. (d) Piedra preciosa de ópalo natural e imagen SEM de su estructura formada de esferas de silicio.

Para entender la teoría referente a los CFs es común compararlos con los materiales semiconductores. En un semiconductor, los electrones se propagan a través del potencial periódico sin dispersarse, si cumplen criterios específicos. Sin embargo, en ciertos intervalos de energía y direcciones se prohíbe su propagación, lo que lleva a la formación de “*bandas prohibidas*”. Si la prohibición se extiende a todas las posibles direcciones de propagación, el fenómeno se conoce como “*banda prohibida completa*” [12].

Con respecto a los cristales fotónicos, los átomos o moléculas son reemplazados por medios macroscópicos con diferentes constantes dieléctricas. El potencial periódico se reemplaza por una función dieléctrica periódica. Si las constantes dieléctricas de los materiales en el cristal son diferentes y si la absorción de luz por los materiales es mínima, entonces las refracciones y reflexiones de luz en los CFs lleva a la generación de bandas fotónicas prohibidas (PBG, por sus siglas en inglés; *Photonic Band Gap*) que impide que los fotones puedan propagarse dentro del cristal.

Dependiendo de la periodicidad en el índice de refracción, los CFs se clasifican en unidimensionales (1-D), bidimensionales (2-D) y tridimensionales (3-D), con periodicidad en

una, dos o tres dimensiones, respectivamente; como se ilustra en la [Figura 1.2](#). El ejemplo más simple de un cristal fotónico 1-D es la rejilla de Bragg, una estructura en capas hecha de películas alternas de alto y bajo índice de refracción, estas estructuras no presentan una PBG completa porque las interfaces del material tienen lugar solo a lo largo de una dirección. Una disposición periódica de orificios circulares o de varillas (o barras) dieléctricas en un sustrato de silicio, son ejemplos de CFs 2-D. Las estructuras de esferas interconectadas con una gran diferencia en las constantes dieléctricas de los materiales constituyentes forman un cristal fotónico 3-D, en esta estructura la periodicidad en el índice de refracción se da a lo largo de los tres ejes y pueden poseer una PBG completa [13].

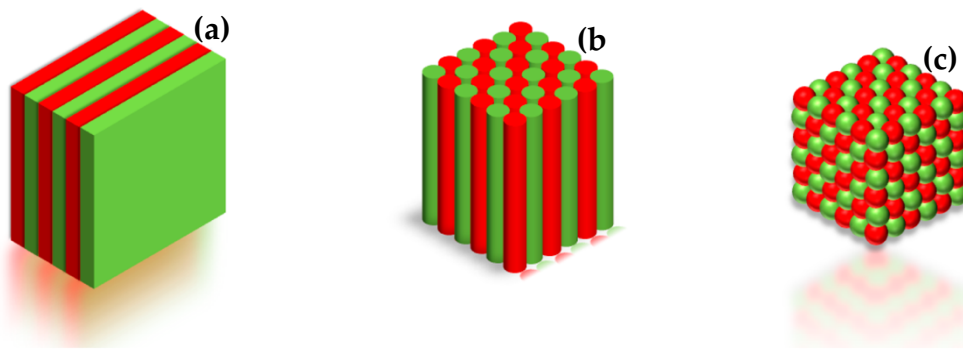


Figura 1.2 Representación esquemática de CFs: (a) unidimensional 1-D, (b) bidimensional 2-D, (c) tridimensional 3-D. El color diferente representa materiales con diferentes constantes dieléctricas.

Los CFs se caracterizan por tres parámetros: el contraste del índice de refracción de los materiales constituyentes, la topología de la red y el parámetro de red del cristal. Mediante una selección adecuada de estos parámetros se ajusta la posición de la PBG para adaptarse a frecuencias específicas que es la cualidad más atractiva de los CFs ya que de ello depende su aplicación en diferentes áreas científicas.

Inicialmente, los CFs fueron estudiados por Yablonovitch [14] y John [15] quienes propusieron a los CFs como el análogo óptico de los materiales semiconductores, además unieron el concepto de electromagnetismo clásico y la física del estado sólido en forma de PBG omnidireccionales. Yablonovitch [14] sugirió que, en una matriz periódica tridimensional (3-D) mediante la presencia de una banda electromagnética prohibida se podían controlar las propiedades radiativas de los materiales y, por lo tanto, limitar la emisión de radiación espontánea, esto permitiría obtener dispositivos ópticos más eficientes, por ejemplo; láseres semiconductores, transistores bipolares de heterounión y celdas solares.

Por su parte, los trabajos de John [15] se centraron en cómo las estructuras periódicas afectan la localización de fotones mediante una variación aleatoria del índice de refracción. Supuso que en un dieléctrico que varía periódicamente en una escala de longitud comparable a la longitud de onda de interés, un CF puede usarse para fotones altamente localizados. Además, basándose en el efecto cuántico de la localización de electrones en los semiconductores, argumento que los defectos específicos incrustados dentro de los CFs podrían admitir modos localizados, lo que permitiría que la luz sea atrapada por la PBG.

Estos dos estudios sentaron las bases actuales de la investigación referente a los CFs, y desde entonces se han producido innumerables reportes basados en simulación teórica y la realización experimental de estos materiales, explorando principalmente el desarrollo de nuevos métodos de fabricación hacia la obtención de CFs 1-D, 2-D y 3-D, incluso en la escala nanométrica, y con la posibilidad de obtener PBG completas.

1.2. Ópalos

Los ópalos o cristales coloidales son estructuras periódicas formadas a partir de partículas coloidales monodispersas con diámetros que oscilan entre 200 y 900 nm. Son un subgrupo de los cristales fotónicos, debido a que su estructura periódica es capaz de reflejar radiación UV a IR, de acuerdo con el tamaño de los coloides que forman el ópalo [16]. De hecho, los ópalos naturales como el que se muestra en la [Figura 1.1d](#) consisten en esferas de silicio amorfo con diámetros que varían desde 150 a 400 nm organizadas en una matriz periódica tridimensional. Este ordenamiento periódico de las esferas de silicio es el responsable de que los ópalos naturales presenten propiedades de opalescencia o iridiscencia que consiste en un cambio en su coloración cuando se observa desde un ángulo diferente, de allí su nombre en latín y griego, *opalus* y *opallios*, que ambos significan “*ver un cambio de color*” [11].

La importancia del estudio de los ópalos o cristales coloidales se debe a que pueden usarse como un prototipo de CF, ya que consisten en sistemas periódicos tridimensionales, que son el tipo de cristal fotónico más interesante debido a su dimensionalidad. Además, los métodos de fabricación son fáciles debido a que generalmente emplean mecanismos de autoensamblado. En este contexto, la fabricación de ópalos artificiales se remonta a 1972, cuando la empresa “*Gilson Created Opal*” fabricó por primera vez un ópalo sintético con el objetivo de imitar un ópalo natural. Sin embargo, las características detalladas de su fabricación se mantuvieron confidenciales, lo que impidió continuar con el desarrollo de

estos materiales. No fue hasta 1989 cuando se presentó públicamente el primer informe sobre el crecimiento de un ópalo sintético [17]. En la actualidad el objetivo crucial no es imitar ópalos naturales, el interés se ha centrado en el desarrollo de técnicas de fabricación de ópalos para aplicaciones específicas, como por ejemplo para fines fotónicos. A pesar de ello, todos los métodos de fabricación comienzan con una suspensión de coloides monodispersos que se ordenan debido a interacciones repulsivas entre partículas en suspensión y una acción externa (campo magnético/eléctrico, flujo, cambio de volumen, etc.). Entonces, el éxito en la fabricación de ópalos artificiales depende en gran medida de la disponibilidad de esferas coloidales monodispersas con tamaños y propiedades de superficie controladas y con la capacidad de auto-ensamblarse en matrices ordenadas cuya estructura esté bien definida.

Actualmente, los materiales más utilizados para la fabricación de ópalos artificiales son el dióxido de silicio y polímeros, principalmente el poliestireno (PS) y el polimetilmetacrilato (PMMA). Sin embargo, los coloides poliméricos suelen ser los más usados debido a sus múltiples opciones de composición mediante su funcionalización química, a la posibilidad de ajustar el tamaño del coloide y a la capacidad de cambiar su forma [18]. Además, tienden a comportarse mejor que los coloides de silicio debido principalmente a una mayor relación entre carga superficial y densidad [19]. En cuanto a las técnicas de obtención de ópalos los métodos más usados son los basados en el auto-ensamblado como la sedimentación por gravedad, la centrifugación, y el depósito vertical, debido principalmente a su simplicidad y bajo costo, como más adelante se discute.

1.2.1 Fabricación de Ópalos

Existen dos métodos principales para fabricar ópalos o cristales coloidales: las técnicas “de lo complejo a lo simple” (*top-down*) y “de lo simple a lo complejo” (*bottom-up*). La primera comprende las técnicas como la litografía; sin embargo, presentan la desventaja de ser costosas, lentas y solo son capaces de producir materiales de unas pocas capas de espesor estructural [5]. Por su parte, las técnicas *bottom-up* se basan en procesos de auto-ensamblado en el que las partículas coloidales se depositan desde una dispersión acuosa aprovechando su tendencia natural de ensamblarse en estructuras ordenadas en condiciones adecuadas para formar cristales coloidales.

El auto-ensamblado de coloides es uno de los métodos más usados para la fabricación de cristales coloidales 3-D. En este método los coloides (de silicio o polímeros)

generalmente en forma de esferas se organizan espontáneamente en una estructura compacta. Para que exista el auto-ensamblado debe haber un equilibrio de fuerzas, las primeras inducidas por fenómenos coloidales y una fuerza externa que actúe sobre el sistema. Existen diferentes enfoques para el auto-ensamblado de esferas monodispersas en estructuras ordenadas. Los diferentes métodos se analizan en términos de los fenómenos o fuerzas que utilizan para influir en su ordenamiento como: fuerzas gravitatorias o de inercia, tensión superficial o fuerzas capilares, y campos eléctricos o magnéticos [18], [20], [21]. Los métodos más utilizados del auto-ensamblados son los siguientes:

1. Sedimentación por gravedad: El método más simple para el auto-ensamblado de coloides es la sedimentación por gravedad, en esta técnica las esferas coloidales se asientan debido al campo gravitacional. Para que esto ocurra de forma natural, la densidad de las esferas debe ser superior a la del medio de dispersión. Esta técnica presenta la ventaja de producir estructuras gruesas y ordenadas cuyo espesor se controla mediante la concentración de la mezcla de esferas coloidales. La limitación de esta técnica es que, dependiendo del tamaño de las esferas, este proceso dura de varios días a varios meses. Por esta razón, no es adecuada para la producción a gran escala [21].
2. Centrifugación: La sedimentación de esferas coloidales es más rápida mediante la aplicación de fuerzas externas, por ejemplo, bajo fuerza centrífuga. El uso de la centrifugación permite obtener estructuras gruesas sin soporte, esta técnica se utiliza para cualquier tamaño de esferas siempre que la diferencia de densidad entre ellas y el dispersante sea alta y la velocidad de centrifugado sea lo suficientemente alta. Sin embargo, esta técnica presenta dificultades cuando se requieren muestras en un soporte o sustrato [5].
3. Depósito Vertical: Una de las estrategias más comunes y que permite obtener películas de buena calidad, es el depósito vertical. Esta técnica se basa en la evaporación forzada por las interacciones capilares. El desarrollo de esta técnica fue presentado por Colvin et al. [22], que describieron el proceso de auto-ensamblado convectivo colocando en la suspensión de las esferas un sustrato de vidrio en forma vertical, que se retiró hacia arriba lentamente. Las esferas se transfirieron por fuerzas capilares al sustrato de vidrio durante la evaporación. El equilibrio entre las fuerzas capilares y el flujo de partículas convectivas durante la evaporación del solvente es esencial para la formación de cristales coloidales. Los factores que rigen el desempeño de esta técnica como el ordenamiento, el espesor y la velocidad de formación de la película son: la humedad, la temperatura, la concentración de la

suspensión coloidal y el diámetro de las esferas [23]. Existen variaciones de este método basadas en la extracción del soporte; por extracción mecánica lenta, eliminación controlada del líquido con una bomba peristáltica, incluso en algunos casos no se retira el sustrato y solo se realiza la evaporación del solvente [24].

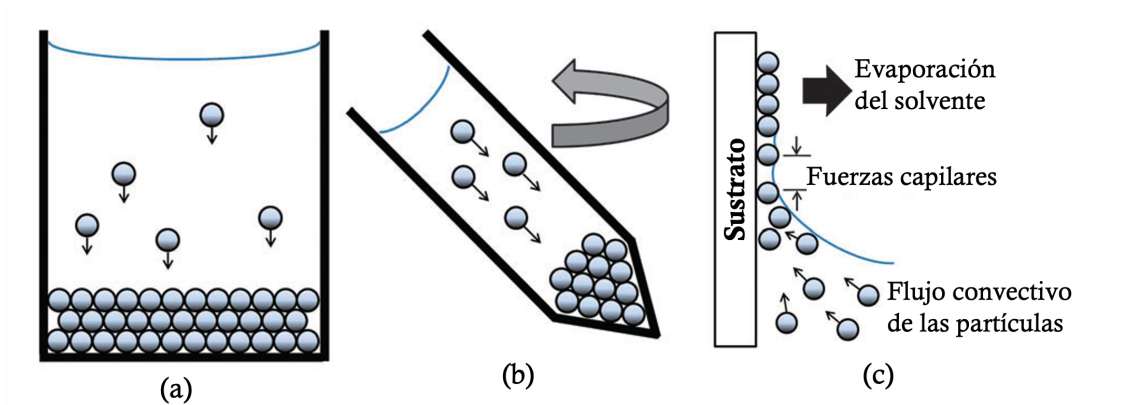


Figura 1.3 Esquemas de diferentes métodos de auto-ensamblado utilizados para formar ópalos. (a) Sedimentación por gravedad: las esferas se asientan debido a la fuerza gravitacional. (b) Centrifugación: se aplica una fuerza centrífuga a las esferas coloidales. (c) Depósito vertical: un sustrato se coloca verticalmente en una suspensión de esferas coloidales [24].

Generalmente, al usar los métodos de auto-ensamblado se obtienen ópalos con un arreglo periódico tridimensional y con una disposición de las esferas en estructuras cúbica centrada en las caras (*fcc*, por sus siglas en inglés; *face centered cubic*) o hexagonales compactas (*hcp*, por sus siglas en inglés; *hexagonal close-packed*), en la que los planos (111) son paralelos al sustrato adyacente. Muchas veces es difícil distinguir entre las dos configuraciones en la fabricación del ópalos; aunque la estructura *fcc* se favorece energéticamente sobre la *hcp*, con una diferencia de energía mínima [5].

1.2.2 Propiedades Ópticas de los Ópalos

Los ópalos presentan propiedades ópticas únicas que son características de los CFs, estas propiedades se deben principalmente a los diferentes medios dieléctricos y el contraste en el índice de refracción de los materiales constituyentes. Como consecuencia, la luz se dispersa desde la superficie, produciendo una banda de frecuencias prohibidas

donde la interferencia de las ondas es destructiva en todas las direcciones; por lo tanto, la luz no se propaga dentro de esta región y cuanto mayor es el contraste del índice de refracción, más ancha se vuelve esta PBG. Cuando la propagación de la luz está prohibida en todas las direcciones se tiene una PBG completa. Sin embargo, si la luz se propaga solo en algunas direcciones el cristal fotónico posee una PBG incompleta o pseudo PBG, a veces denominada *stop-band* (banda de parada). Aunque los ópalos no poseen una PBG completa, redistribuyen fuertemente los fotones en su interior de acuerdo con su estructura de bandas, lo que los hace atractivos para diferentes aplicaciones ópticas y fotónicas [25].

Experimentalmente, solo se puede obtener una PBG completa en los ópalos inversos; que son las réplicas inversas de los ópalos originales. Los ópalos inversos consisten en arreglos periódicos tridimensionales de huecos esféricos rodeados por paredes sólidas, estas estructuras ofrecen un enfoque versátil para preparar materiales fotónicos que puedan exhibir una PBG completa [16].

Para estudiar las propiedades ópticas de los ópalos se modela como una película multicapa con dos medios de diferente índice de refracción, como el que se muestra en la Figura 1.4. En esta estructura uno de los índices de refracción es típicamente el vacío, el aire o un líquido, y el otro corresponde al del material constituyente. Entonces, se deriva una modificación de la ley de Snell para la refracción de la luz entre los diferentes índices de refracción de los materiales constituyentes, y la ley de Bragg para la difracción óptica que describe el color estructural dependiente de la longitud de onda observable en los ópalos.

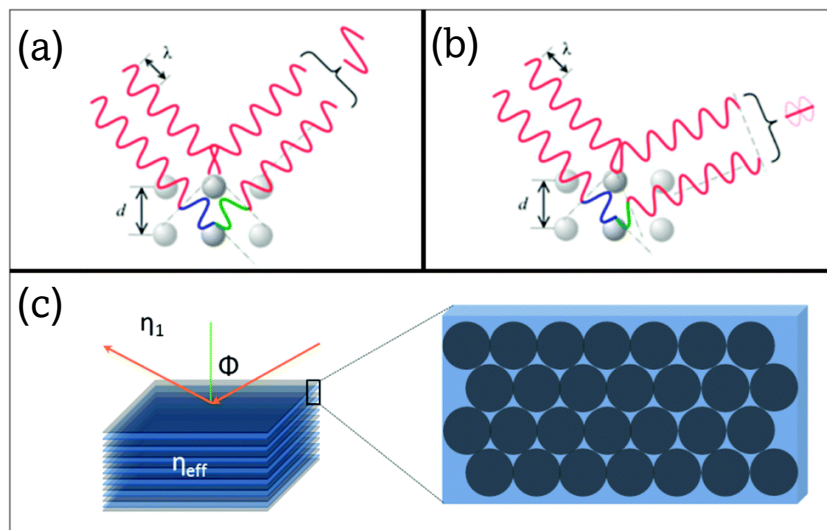


Figura 1.4 Esquema que describe la interacción de la luz con el material periódico y la luz dispersada por los planos formados por las esferas: (a) interferencia constructiva y (b) interferencia destructiva de fotones. (c) Representación esquemática de una película de ópalo multicapa de dos medios con diferentes índices de refracción [6].

Cuando hay interferencia constructiva de fotones difractados, la ley de Bragg es:

$$m\lambda = 2\eta_{eff}d \sin \theta_2 \quad (1.1)$$

donde λ es la longitud de onda correspondiente a la posición de la *stop-band*, d es el espacio interplanar, que tiene un valor de $d = \sqrt{3/2D}$ para el plano (111) de los ópalos empaquetados con una estructura *fcc*, D es el diámetro de las esferas. θ_2 , es el ángulo de incidencia, m es el orden de la difracción de Bragg y η_{eff} es el índice de refracción efectivo del medio, que depende de los índices de refracción de las esferas y del medio circundante. La ley de Snell para la luz que incide en el ángulo θ_1 se puede escribir como:

$$\eta_1 \sin \theta_1 = \eta_2 \sin \theta_2 \quad (1.2)$$

Una combinación de ambas leyes generalmente se conoce como la ley de Bragg-Snell y se escribe como:

$$m\lambda = 2d \sqrt{\eta_{eff}^2 - \sin^2 \theta_1} \quad (1.3)$$

A partir de la ley de Bragg-Snell modificada, Ecuación (1.3), la posición de la banda fotónica o pico de Bragg se cambia mediante la manipulación de uno o varios factores como; el diámetro de las esferas, el contraste en el índice de refracción efectivo y el factor de llenado o empaquetamiento. Como los ópalos siguen la ley de Bragg-Snell para la luz refractada o difractada, esta ley puede usarse para estudiar sus propiedades ópticas mediante experimentos de reflexión y transmisión de luz con ángulo variable, que es una característica útil al diseñar y sintetizar ópalos.

1.3. Polimetilmetacrilato (PMMA)

Los polímeros son materiales formados por la unión mediante enlaces covalentes de una o más unidades simples llamadas monómeros. El polimetilmetacrilato, también conocido por sus siglas PMMA es un polímero termoplástico amorfo que pertenece a la familia de los acrilatos, es muy transparente y se obtiene de la polimerización del monómero metilmetacrilato mostrado en la [Figura 1.5](#). Debido a su transparencia y resistencia, se usa como un sustituto del vidrio, ya que muestra resistencia al impacto y es liviano [26].

El PMMA fue descubierto a principios de la década de 1930 por los químicos británicos Rowland Hill y John Crawford, seguido de su primera aplicación por el químico alemán Otto

Rohm en 1934 [26], desde entonces el PMMA se produce para diferentes aplicaciones bajo las marcas de Altuglas, Plexiglas y Diakon.

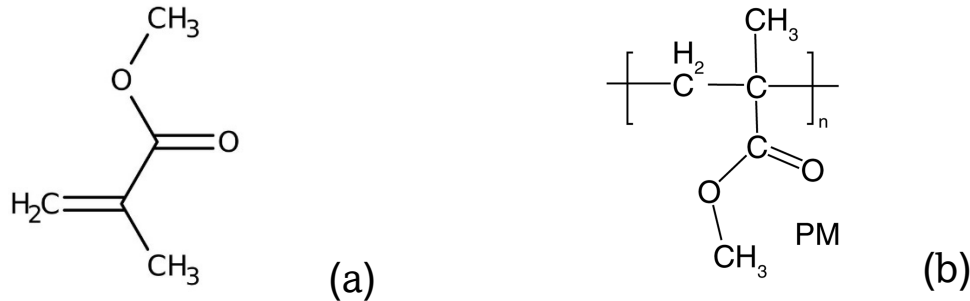


Figura 1.5 Estructura molecular del: (a) Monómero de Metilmetacrilato y (b) Polimetilmetacrilato (PMMA).

El PMMA se ha utilizado ampliamente debido a sus notables propiedades, entre las que destacan sus propiedades mecánicas, al ser uno de los termoplásticos más duros y con alta capacidad térmica lo hace adecuado para fines de ingeniería eléctrica. Las aplicaciones ópticas del PMMA se deben a su índice de refracción y a la buena resistencia a la luz UV. Además, es un plástico transparente con una naturaleza amorfa, que le otorga ~92% de transmitancia en el intervalo visible y la mayor parte de la región infrarroja [26]. Algunas de sus propiedades físicas, químicas y mecánicas del PMMA se enlistan en la [Tabla 1.1](#). Dadas estas propiedades del PMMA, se ha utilizado ampliamente en dispositivos ópticos y de fibra óptica [27], sensores de gas [28], inmovilizador de semiconductores para aplicaciones de fotocatalisis heterogénea [29], matriz anfitriona en celdas solares sensibilizadas por colorante (DSSC, por sus siglas en inglés; *Dye-Sensitized Solar Cell*) [30], membrana electrolito en baterías de ion Li [31]. Incluso, recientemente la existencia de interacciones entre polímeros y nanomateriales abrió un nuevo campo de estudio, ofreciendo una mejora sustancial en las propiedades del material, como son la resistencia mecánica, la solubilidad, la conductividad eléctrica, las propiedades ópticas, entre otras. Lo que genera una aplicación más amplia y la generación de nuevos materiales con aplicaciones específicas.

Tabla 1.1 Propiedades físicas, químicas y mecánicas del PMMA

Propiedad	PMMA	Referencia
Color	Incoloro	[32]
Densidad (g/cm ³)	1.18	[33]
Punto de fusión (°C)	220-240	[32]
Temperatura de transición vítrea (T _g)	110-120	[33]
Expansión térmica lineal (×10 ⁻⁵ mm/mm.k)	6.3	[34]
Coefficiente de expansión térmica 20°C (×10 ⁻⁴ K ⁻¹)	1.8	[33]
Compresibilidad isotérmica a 20°C (×10 ⁻⁵ bar ⁻¹)	2.7	[33]
Absorción de agua (%)	0.3	[26]
Conductividad térmica a 20°C (W/mK)	0.17	[35]
Resistencia a la tracción (MPa)	72	[34]
Módulo de tracción (GPa)	3.10	[34]
Alargamiento a la rotura (%)	5	[34]
Módulo de Young (MPa)	3300	[26]

Con respecto a la síntesis de PMMA existen varias técnicas de polimerización con las cuales se pueden obtener una amplia gama de tamaños de partícula con diferente composición química, entre ellas destacan la emulsión, suspensión y la microemulsión. Estas técnicas permiten diseñar partículas con características especiales, como las propiedades mecánicas, el tamaño de partícula, las propiedades interfaciales y la carga superficial.

1.3.1 Microesferas de PMMA

Los coloides son partículas sólidas en un medio que suele ser fluido, el tamaño típico de las partículas sólidas de los coloides varía de nanómetros a micrómetros. Generalmente, suelen ser esféricas representando la forma más simple que adopta una partícula coloidal durante el proceso de síntesis [36]. Los coloides esféricos se sintetizan a partir de materiales inorgánicos como el óxido de silicio (SiO₂), y de materiales orgánicos como los polímeros entre los que destacan el poliestireno (PS) y el PMMA. Con respecto al PMMA, este suele ser más usado que el PS debido a que se requieren menos tiempos de reacción para su síntesis y el alto grado de monodispersidad de las partículas obtenidas.

La cristalización coloidal de partículas esféricas monodispersas ha sido ampliamente utilizada en la fabricación de ópalos. Para lograrlo, el tamaño y la distribución de tamaño

(monodispersidad) de las esferas son un punto clave ya que son los elementos básicos para la construcción de la estructura ordenada. Las técnicas tradicionales para preparar esferas coloidales monodispersas con tamaños que van desde decenas de nanómetros hasta varios micrómetros, incluyen la emulsión y la polimerización en emulsión libre de surfactante (SFEP, por sus siglas en inglés; *Surfactant-Free Emulsion Polymerization*).

La SFEP es una variación de la polimerización en emulsión, la diferencia recae en el uso de un surfactante; por lo tanto, esta polimerización solo requiere de tres componentes que son el monómero, el iniciador y el disolvente, que generalmente es agua. Al igual que la polimerización en emulsión convencional, la SFEP se divide en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. En la iniciación se lleva a cabo la descomposición térmica del iniciador, que genera los radicales libres para la reacción (oligómeros), posteriormente los oligómeros se suman al doble enlace del monómero de MMA para formar micelas. La etapa de propagación consiste en la adición sucesiva de monómeros de MMA al extremo del radical libre de la cadena polimérica lo que hace que la cadena crezca. En cada paso, el consumo de un radical libre va acompañado de la formación de un nuevo radical libre más grande. Finalmente, en la etapa de terminación la polimerización se detiene por una reacción que consume, pero no forma radicales libres, como la combinación de dos radicales libres [37].

Uno de los elementos más importantes en la síntesis de microesferas de PMMA mediante el método de SFEP es la elección del iniciador, debido a la falta de surfactante en este proceso, el iniciador tiene una doble función; el de iniciar la polimerización y también proporcionar la estabilidad a las microesferas a través de sus grupos terminales [38]. Las estructuras químicas de los iniciadores más utilizados en la SFEP se muestran en la [Figura 1.6](#), la característica común de estos iniciadores es que son iónicos y proporcionan una carga superficial específica a las microesferas dependiendo de su grupo terminal. El persulfato de potasio (KPS), por ejemplo, introduce una pequeña carga superficial negativa en las partículas coloidales y el diclorhidrato de 2'2-azobis(2-metilpropionamida) (AIBA) introduce una carga superficial positiva.

La principal ventaja de usar esta técnica de polimerización es que es posible controlar el tamaño de las esferas de PMMA, la distribución de tamaño y la eficiencia de polimerización, lo cual se logra monitoreando las condiciones de reacción, las concentraciones de monómero e iniciador y la temperatura [39], [40]. En general, diferentes estudios han confirmado que, para obtener partículas de tamaño pequeño, debemos aumentar la temperatura, usar mayores cantidades de iniciador o disminuir la cantidad de monómero. En el otro caso, para obtener un tamaño de partícula grande, se debe aumentar

la cantidad de monómero, disminuir la cantidad de iniciador o realizar la reacción a temperaturas más bajas [5], [40]–[43]. Por lo tanto, el control de estos parámetros en la síntesis de las microesferas de PMMA es de vital importancia. En el caso de la temperatura, es necesario un controlador de temperatura preciso. La agitación debe ser constante, permitiendo una distribución homogénea de la temperatura, ya que la polimerización es una reacción exotérmica, que generalmente eleva la temperatura del sistema de reacción. También es necesaria una atmósfera inerte, ya que la presencia de oxígeno puede capturar electrones libres, evitando la propagación de la cadena de radicales libres [44].

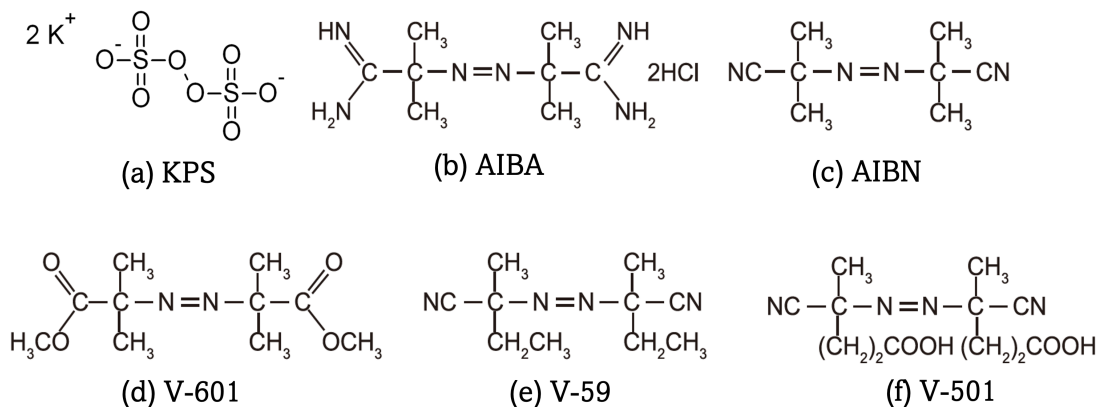


Figura 1.6 Estructura molecular de los iniciadores más utilizados en la síntesis mediante SFEP de las microesferas de PMMA: (a) Persulfato de potasio (KPS). (b) Diclorhidrato de 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) (AIBA). (c) 2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN). (d) Dimetil 2,2'-azobis(2-metilpropionato) (V-601). (e) 2,2'-azobis(2-metilbutironitrilo) (V-59). (f) Ácido 4,4'-Azobis(4-cianoaléico) (V-501).

1.4. Nanopartículas Metálicas

Las nanopartículas (NPs) son partículas que varían en tamaño entre 1 y 100 nm. El término “nanopartícula” se acuñó de la palabra griega “*nano*” que significa “enano o pequeño” y cuando se usa como prefijo indica un tamaño de 10^{-9} m (una mil millonésima parte de un metro) [45]. La disminución del tamaño de las partículas a un tamaño nanométrico ha demostrado cambio en sus propiedades como la morfología, la distribución del tamaño y la relación superficie/volumen que suele ser entre 35-45% mayor que la del material en bulto. En general, estas características exclusivas de las nanopartículas son responsables de sus propiedades multifuncionales y de su aplicación en diversos campos científicos y tecnológicos [46].

Las nanopartículas metálicas basadas en metales nobles como el oro (Au), la plata (Ag) y el platino (Pt) se destacan de la mayoría de los otros nanomateriales. Las propiedades ópticas, que incluyen una enorme absorción, dispersión y mejora de campo eléctrico, permiten una amplia gama de aplicaciones. Además, sus protocolos de síntesis reproducibles y la facilidad de modificación superficial genera opciones factibles que abordan problemas relacionados con la funcionalidad en comparación con otros nanomateriales [47].

Las nanopartículas metálicas se han utilizado desde la antigüedad para obtener hermosos colores en tazas, vidrieras y cerámicas. Por ejemplo, las nanopartículas de oro se utilizaron durante mucho tiempo para introducir un color rojo llamativo en el vidrio, como el de la copa *Lycurgus*, fabricada por los romanos en el siglo IV, la copa es color verde cuando se ilumina desde el exterior (Figura 1.7a), pero cambia a rojo (Figura 1.7b) cuando se ilumina desde el interior. Otro ejemplo del uso de las nanopartículas metálicas en vidrio fundido fue el de las vidrieras de las iglesias medievales en toda Europa. La preparación de estos colores de esmalte y a base de vidrio fundido se atribuyen a Andreas Cassius. Sin embargo, la preparación de oro coloidal con un compuesto de estaño se reportó por primera vez por Johann Rudolph Glauber [48].

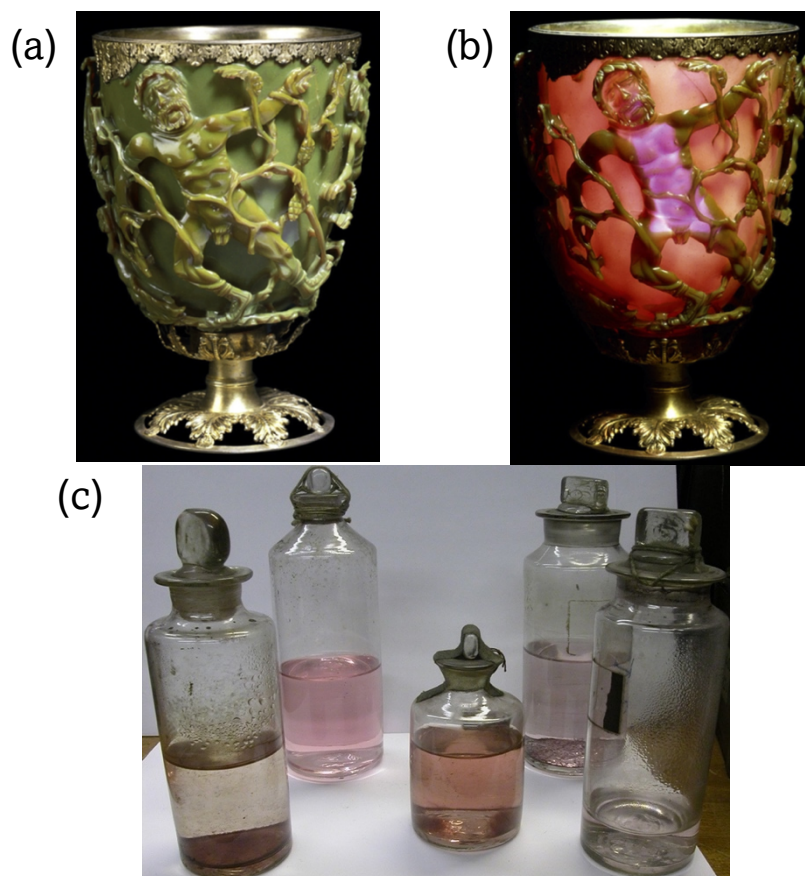


Figura 1.7 Copa Lycurgus (a) cuando se ilumina desde el exterior y (b) cuando se ilumina desde el interior. (c) Cinco muestras originales preparadas por Michael Faraday.

El paso más importante en la investigación de las nanopartículas lo dio Michael Faraday. En 1857 publicó su trabajo sobre "Relaciones experimentales del oro (y otros metales) con la luz" en la *Royal Society of Londres* [49]. En ese trabajo Faraday preparó dispersiones de oro coloidal en un sistema de dos fases que consistía en una solución acuosa de una sal de oro y una solución de fósforo en disulfuro de carbono. Después de un breve tiempo de reacción, el color amarillo brillante de la solución de $\text{Na}[\text{AuCl}_4]$ se convirtió en un color rubí característico de las nanopartículas de oro (Figura 1.7c). Estos estudios sistemáticos sobre la interacción de la luz con las nanopartículas metálicas se consideran el comienzo de la química coloidal moderna y el surgimiento de la nanociencia y la nanotecnología.

1.4.1 Resonancia de Plasmón Superficial Localizada

La resonancia de plasmón es un efecto óptico que surge de la oscilación colectiva de los electrones de conducción en un metal cuando son perturbados de sus posiciones de equilibrio [50]. Tal perturbación generalmente es inducida por una onda electromagnética (luz), en la que los electrones libres de un metal son impulsados por el campo eléctrico alterno para oscilar coherentemente a una frecuencia resonante específica. Las frecuencias de plasmón para la mayoría de los metales ocurren en la región ultravioleta (UV), pero algunos metales de transición como Cu, Ag y Au exhiben frecuencias de plasmón en la región visible.

Debido a que la profundidad de penetración de una onda electromagnética en una superficie metálica es limitada, solo los plasmones causados por electrones superficiales son significativos [51] y comúnmente se les conoce como plasmones de superficie. En este sentido, si un plasmón de superficie está asociado con una superficie metálica extendida, se denomina plasmón de superficie en propagación. Por su parte, si la oscilación colectiva de los electrones libres se limita a un volumen finito, como ocurre en una nanopartícula metálica, el plasmón correspondiente se denomina plasmón de superficie localizado.

La Figura 1.8 muestra la interacción entre el campo eléctrico de la luz incidente y los electrones libres de una esfera metálica cuyo tamaño es menor que la longitud de onda de la luz incidente. Este campo eléctrico hace que los electrones libres se alejen de la partícula metálica en una dirección, creando un dipolo que puede cambiar de dirección con el cambio en el campo eléctrico. Cuando la frecuencia del plasmón dipolar es aproximadamente la misma que la luz incidente, se alcanza una condición de resonancia que genera una interferencia constructiva y una señal más intensa para el plasmón. Tal condición se denomina resonancia de plasmones de superficie o resonancia de plasmones de superficie

localizada (LSPR, por sus siglas en inglés; *Localized Surface Plasmon Resonance*). Para nanopartículas esféricas de Ag y Au con diámetros inferiores a 30 nm, se trata principalmente de resonancia de plasmón dipolar; sin embargo, para partículas más grandes, se puede observar también, resonancia de plasmón cuadrupolar de dos polos cargados negativamente y dos polos cargados positivamente.

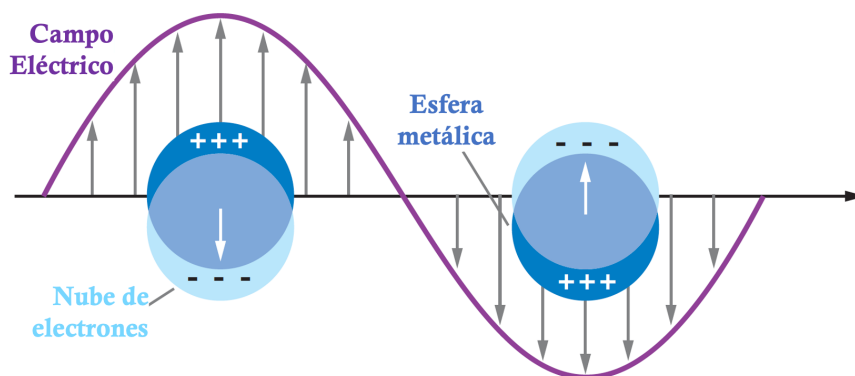


Figura 1.8 Diagrama esquemático que ilustran un plasmón de superficie localizado

El interés de las NPs metálicas, especialmente Ag y Au, se debe a sus propiedades plasmónicas. Las superficies de las NPs de Ag y Au se unen fácilmente con ligandos biológicos, esto permite su aplicación en detección de biomoléculas con alta sensibilidad y bajo costo [52], [53]. Por otro lado, las NPs plasmónicas se utilizan para mejorar los campos electromagnéticos locales. La LSPR crea campos eléctricos locales intensos dentro de unos pocos nanómetros de la superficie de una nanopartícula. Este efecto de campo cercano mejora las secciones transversales de dispersión Raman de moléculas adsorbidas en la superficie. Este tipo de mejora ha llevado al desarrollo de un nuevo campo de exploración científico conocido como Espectroscopia de Dispersión Raman Mejorada en Superficie (SERS, por sus siglas en inglés; *Surface-Enhanced Raman Scattering Spectroscopy*) [2], [54].

Se ha demostrado que tanto la frecuencia como la amplitud de la resonancia son sensibles a la forma de las NPs. Por lo tanto, cualquier variación en la forma o tamaño de una partícula metálica que altere la polarización de superficie provoca un cambio en la resonancia de plasmón. Esta dependencia ofrece la capacidad de adaptar la LSPR de NPs metálicas a través de la síntesis controlada por la forma.

La Figura 1.9 compara los espectros LSPR calculados para NPs de Ag de diferentes formas suspendidas en agua [55]. En el caso de los espectros de extinción, absorción y dispersión para las esferas de Ag de 40 nm (Figura 1.9a) se obtuvieron utilizando la teoría de Mie [56], mientras que el método de aproximación de dipolo discreto (DDA) [57] se

utilizó para las demás formas. En los espectros calculados para la esfera de Ag de 40 nm se observan dos bandas de resonancia: la primera del dipolo principal ubicada en 410 nm y una resonancia de cuadrupolo más débil posicionada en 370 nm (hombro). La resonancia dipolar surge de un lado de la superficie de la esfera que tiene carga positiva, mientras que en el lado opuesto tiene carga negativa, lo que le da a la partícula un momento dipolar que invierte el signo a la misma frecuencia de la luz incidente. La resonancia cuadrupolar débil surge de pérdidas de energía que causan la falta de uniformidad de la luz incidente a través de la esfera y la formación de dos dipolos paralelos de signo opuesto [58].

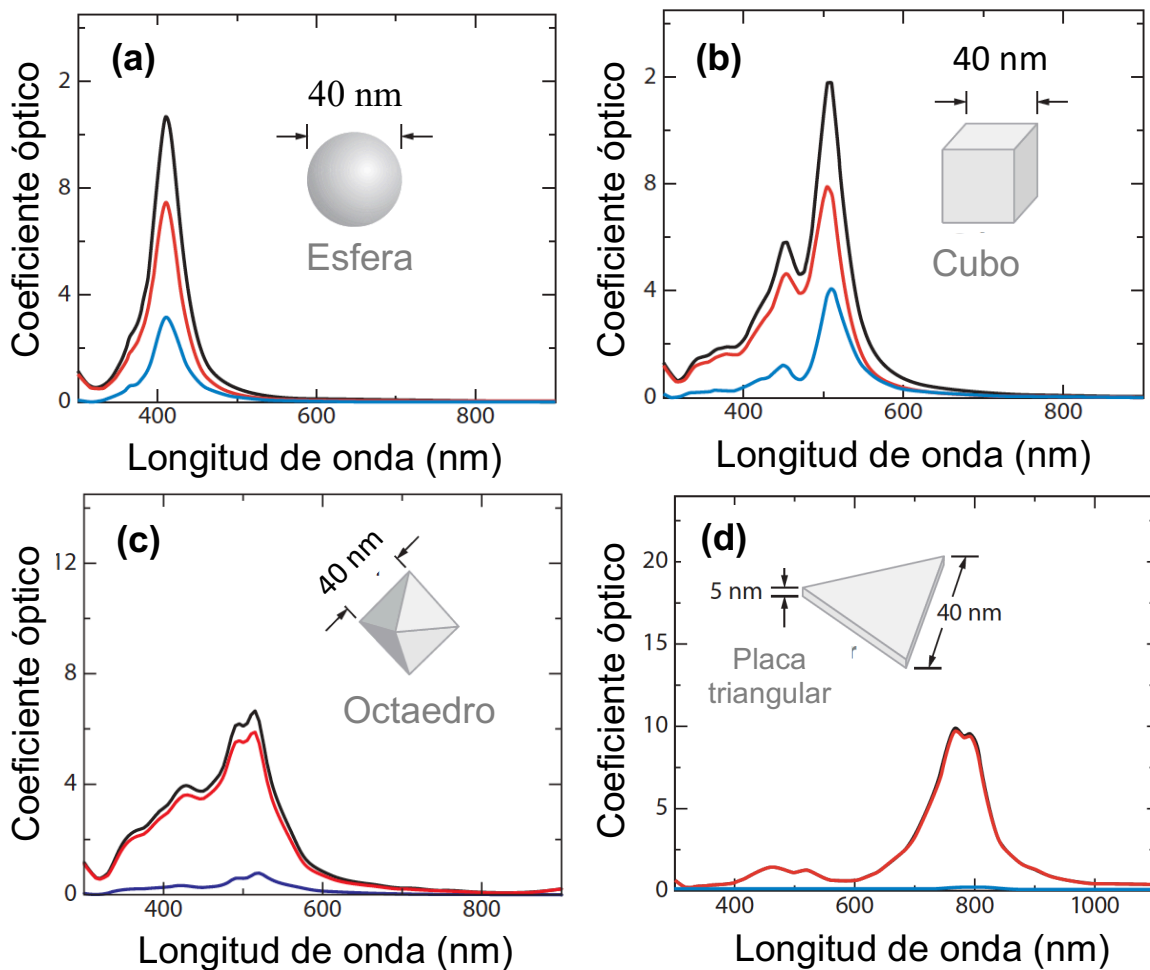


Figura 1.9 Espectros de extinción (negro), absorción (rojo) y dispersión (azul) calculados para nanopartículas de Ag de diferentes formas: (a) un esfera que muestra solo un pico de resonancia dipolar, (b) un cubo, (c) un octaedro y (e) una placa triangular [55].

Para el caso de un cubo de Ag de 40 nm los espectros de extinción, absorción y dispersión calculados por DDA se muestran en la [Figura 1.19b](#). A diferencia de la nanoesfera, el nanocubo tiene varias simetrías para la resonancia dipolar, lo que da lugar a más bandas. En cuanto a la posición de estas bandas, la más intensa se desplaza hacia mayores

longitudes de onda en comparación con la nanoesfera. Este cambio es causado por la acumulación de cargas superficiales en las esquinas del nanocubo; en general, este comportamiento lo presenta cualquier nanopartícula con esquinas afiladas [59]. Siguiendo esta tendencia, un octaedro muestra más bandas de LSPR desplazadas hacia mayores longitudes de onda, esto se debe a que tiene esquinas aún más agudas que los cubos, como se muestra en los espectros simulados de la [Figura 1.9c](#). Por su parte, la [Figura 1.9d](#) muestra los espectros calculados para una placa triangular. Esta estructura es anisotrópica bidimensional (2D), su forma facilita una mayor separación de carga cuando se polariza a lo largo de uno de sus bordes. Aunque las esquinas afiladas aumentan la separación de carga y dan como resultado una LSPR desplazada a mayores longitudes de onda, la simetría de la partícula determina la intensidad de las resonancias dipolares [60].

De manera general, las bandas de resonancia del dipolo se desplazan a mayores longitudes de onda al aumentar el número de esquinas y la anisotropía de las partículas. La intensidad máxima de la LSPR aumenta con la simetría de las nanopartículas y el número de bandas de LSPR está determinado por el número de formas en que se puede polarizar la nanoestructura. Todas estas características se pueden manipular mediante diferentes métodos y condiciones de síntesis [51].

1.4.2 Nanopartículas de Ag

Entre la amplia gama de nanopartículas metálicas, las nanopartículas de Ag (Ag-NPs) son las más estudiadas, debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Las ventajas de las Ag-NPs con respecto a las NPs de otros metales es que no son tóxicas, tienen alta conductividad eléctrica y térmica, buena estabilidad en condiciones ambientales, bajo costo (en comparación con otros metales nobles como el oro y el platino), amplia absorción en la región visible e IR, estabilidad química, actividad catalítica y antimicrobiana. Además, las Ag-NPs exhiben dispersión Raman mejorada en superficie [61].

Las características más importantes de las Ag-NPs están relacionadas con la composición química, el tamaño y la forma, las cuales determinan sus propiedades fisicoquímicas que facilitan su utilización en numerosas aplicaciones. La composición química de las Ag-NPs está relacionada con el agente surfactante, de protección o modificador de superficie. Este componente es directamente responsable del signo y la magnitud de la carga superficial de las NPs, que a su vez influyen en los radios hidrodinámicos y la estabilidad de la agregación [62]. También, el máximo de la LSPR de

las NPs metálicas depende del agente surfactante, ya que la constante dieléctrica del medio circundante cambia cerca de la superficie de las NPs.

El tamaño es otra característica importante que, junto con la composición química, determina la mayoría de las propiedades de las Ag-NPs. Las características dependientes del tamaño de las NPs se atribuyen al efecto de tamaño cuántico. En un material en bulto, sus propiedades están determinadas por el promedio de todas las fuerzas cuánticas que afectan a todos los átomos que conforman el material, pero al disminuir el tamaño de las partículas, se llega al punto en el que el promedio ya no es representativo. Este comportamiento distintivo de los átomos o moléculas en grupos pequeños en comparación con el material en bulto se denomina efecto de tamaño cuántico. Otro concepto a considerar en las NPs, es el exceso de energía de la superficie que contribuye a sus propiedades, ya que la superficie específica aumenta drásticamente con la disminución del tamaño de las partículas [63].

La influencia de la forma sobre las propiedades de las Ag-NPs se correlaciona con varios factores. El primero de ellos está asociado a la modificación el área superficial específica. Por ejemplo, si comparamos una NP esférica con una en forma de varilla, se ha determinado que la NP esférica tiene una superficie específica 2.5 veces mayor que la que tiene la NP en forma de varilla (relación de aspecto 16:1) [64]. El segundo efecto se debe a las limitaciones en el movimiento de los electrones dentro de la NP, que está relacionado con la posición de la banda de LSPR, como anteriormente se discutió. Además, la mayor relación superficie-volumen implica una mayor adsorción y desorción, así como la distribución de las moléculas adsorbidas, que por su puesto cambia con la forma de las NPs [65].

Además, de estas tres características de las NPs ya mencionadas, se suman las propiedades ópticas, térmicas y catalíticas. Entre ellas, las propiedades ópticas de las Ag-NPs son las más enfatizadas y discutidas ampliamente en la literatura, estas propiedades se deben a la LSPR el cual está relacionado con la absorción de la luz en longitudes de onda específicas. Esta luz absorbida depende del tamaño y la forma de las Ag-NPs y en consecuencia, determina el color de éstas. En un estudio de las propiedades ópticas de absorción y dispersión de diferentes coloides de Ag-NPs se observó que cada coloide presentaba diferentes colores con longitudes de onda máximas en los espectros de absorción entre 393 a 738 nm lo cual se debe a los diferentes tamaños y formas de las Ag-NPs (ver [Figura 1.10](#)) [66].

Entre las aplicaciones más destacadas de las Ag-NPs, se encuentra su uso como sustrato ultrasensible para la espectroscopia Raman mejorada en superficie (SERS). En esta área, la Ag ha exhibido óptimos resultados como sustrato SERS que sus contrapartes (Au y Cu), lo

cual se debe a la eficiencia del plasmón de superficie de las Ag-NPs que es mayor que las NPs de Au y Cu. Otra ventaja de la Ag sobre el Au es que la LSPR de las Ag-NPs puede ajustarse a cualquier longitud de onda en la región visible del espectro. Además, la Ag es mucho más barata que el Au [67].

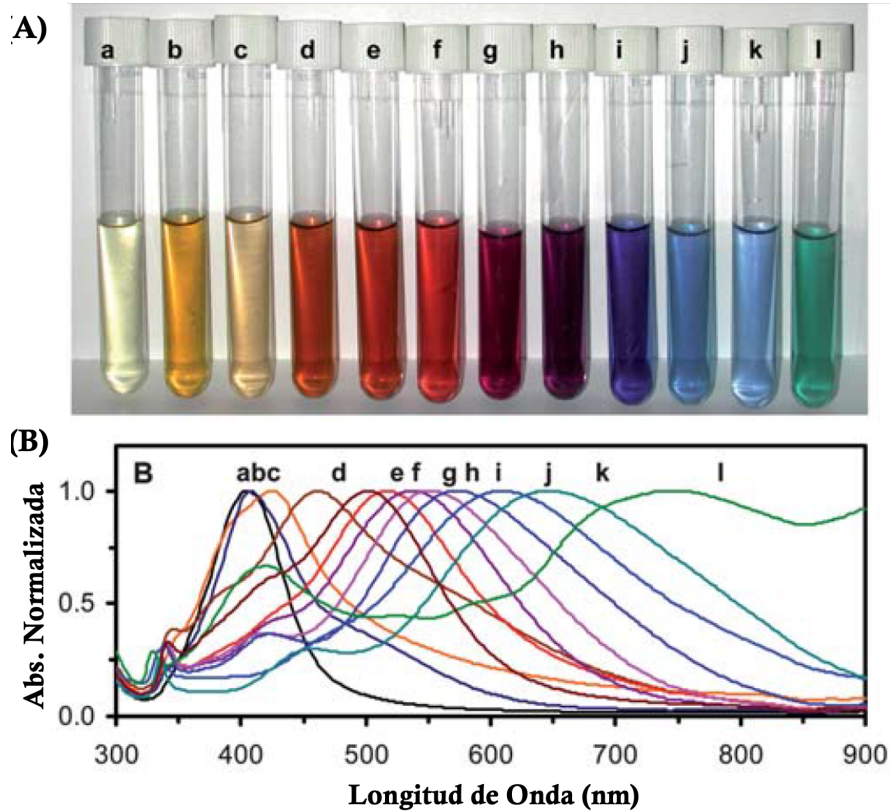


Figura 1.10 Estudio de las propiedades ópticas de absorción y dispersión de las Ag-NPs coloidales mediante espectroscopia de absorción UV-Vis: (A) fotos de coloides de Ag-NPs de diferentes formas, (B) absorbancia normalizada de los espectros de absorción UV-Vis de los coloides que se muestran en (A) [66].

1.4.2.1 Síntesis de Nanopartículas de Ag

Recientemente, se han utilizado diversas técnicas para la síntesis de Ag-NPs basadas en métodos químicos, físicos, fotoquímicos y biológicos. Cada método tiene sus ventajas y desventajas relacionadas con los costos, la escalabilidad, tamaño, forma de las partículas, y la distribución de tamaños. Dependiendo de la ruta de síntesis seleccionada y de las diferentes condiciones experimentales es posible controlar diferentes características de las Ag-NPs relacionadas con su aplicación.

A pesar de que existe una basta cantidad de métodos para la síntesis de Ag-NPs, estos se dividen en dos principales enfoques de síntesis básicos, *top-down* y *bottom-up*. Los métodos *top-down* implican la generación de nanopartículas a partir del material a granel, mediante la reducción de su tamaño. En cambio, los enfoques *bottom-up* corresponden a la variedad de técnica de síntesis, que utilizan los componentes moleculares, atómicos o iónicos para producir las nanopartículas [63]. En la Figura 1.11 se resumen las principales técnicas empleadas para la síntesis de Ag-NPs, de acuerdo con los diferentes enfoques.

Como se ha mencionado, las propiedades químicas, físicas, ópticas y electrónicas de las NPs en general dependen de su tamaño, forma y entorno químico. Por lo tanto, la síntesis controlada es un desafío clave para alcanzar las mejores características. En este contexto, en los últimos años se han propuesto diferentes técnicas para sintetizar Ag-NPs esféricas, planas triangulares, tridimensionales como cúbicas, piramidales, entre otras. En la Tabla 1.2 se resumen algunos reportes de la síntesis de las Ag-NPs con diferentes formas y tamaños empleando métodos físicos, químicos y biológicos. Entre estos, el enfoque químico presenta ventajas interesantes como el control de la forma y el tamaño de las Ag-NPs, además son métodos rápidos, reproducibles, y recientemente han utilizado agentes reductores extraídos de frutas y hojas, generando técnicas amigables con el medio ambiente [68].

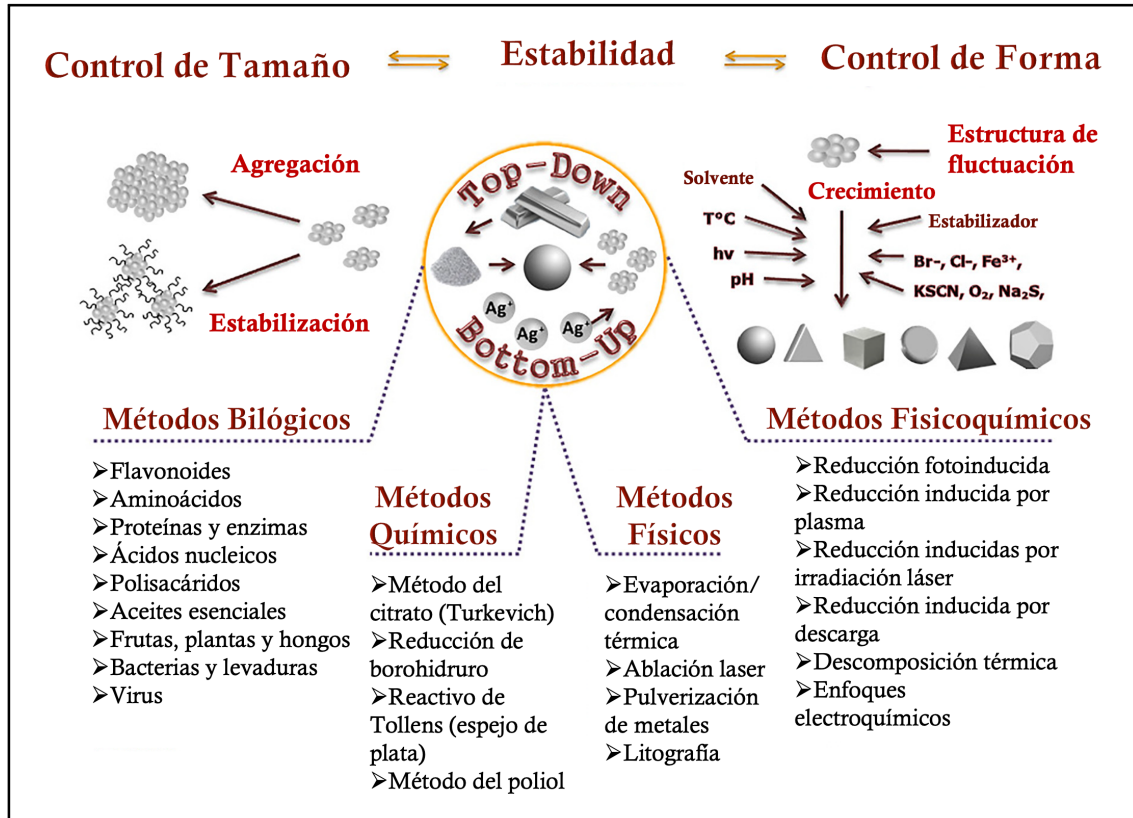


Figura 1.11 Principales métodos empleados para la síntesis de Ag-NPs [63].

Tabla 1.2 Síntesis de Ag-NPs con diferentes morfologías mediante métodos químicos, físicos y biológicos.

Método	Agente reductor o solvente	Agente estabilizador o surfactante	Tamaño de partícula	Forma	Referencia
Físico	Ablación láser	~	2-80 nm	Esférica	[69]
Físico	Descomposición térmica	~	40-50 nm	Irregular	[70]
Físico	TX-100, irradiación UV	TX-100	30 nm	Esférica	[71]
Físico	Ablación láser	~	10.6 ± 2.6 nm	Esférica	[72]
Químico	Parafina	Oleilamina	10-14 nm	Esférica	[73]
Químico	Hidracina y citrato de sodio	Dodecilsulfato sódico	10-20 nm	Esférica	[74]
Químico	Borohidruro de sodio	Citrato de sodio	~ 5 nm	Esférica	[75]
Químico	Pentanodiol (H-1.5 DOP)	PVP	~	Poliédrica	[76]
Químico	Anilina	CTAB	10-30 nm	Esférica	[77]
Fotoquímico	Quitosano carboximetilado (CMCTS)	Quitosano carboximetilado (CMCTS)	2-8 nm	Cúbica	[78]
Químico	D-glucosa	CMC, NaOH	5-15 nm	Esférica	[79]
Químico	Lignina alcalina	Lignina alcalina	7.3 ± 2.2, 14.3 ± 1.8	Irregular	[80]
Químico (asistido con microondas)	Etilenglicol	PVP	~	Nanocables	[81]
Químico (asistido con microondas)	Éteres monoalquílicos de etilenglicol	PVP	~	Nanoprismas	[82]
Biológico	Bacilo cepa CS 11	Bacilo cepa CS 11	42-92 nm	Esférica	[83]
Biológico	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	18-63 nm	Esférica	[84]
Biológico	<i>Cassia angustifolia</i>	<i>Cassia angustifolia</i>	9-31 nm	Esférica	[85]
Biológico	<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Deinococcus radiodurans</i>	4-50 nm	Esférica	[86]

PVP: Polivinilpirrolidona; CTAB: Bromuro de hexadeciltrimetilamonio; CMC: Carboximetilcelulosa

Entre los métodos químicos, la técnica más simple y utilizada es la reducción química de sales metálicas. Este método utiliza una sal metálica, un agente reductor y un agente estabilizante. Este agente estabilizante tiene la función de cubrir la partícula y evitar un mayor crecimiento o agregación, dado que es posible controlar el proceso de crecimiento mediante la elección del agente estabilizador, es posible manipular la forma y el tamaño de las Ag-NPs [87]. La síntesis de Ag-NPs a partir de reducción química de sales de Ag en presencia de citrato de sodio a través de un método fotoquímico fue propuesto por primera vez en 1889 por Lea [88]. También, siguiendo el método de Turkevich [89] sobre la síntesis de Au-NPs publicado en 1951, la síntesis de Ag-NPs se ha logrado con un método similar [87], [90].

La síntesis de Ag-NPs mediante reducción química usando sales de Ag en presencia de un agente reductor como el citrato de sodio generalmente se da en dos fases: nucleación y crecimiento. El ion plata Ag^+ se reduce a Ag^0 en presencia del agente reductor, la fase de nucleación comienza cuando aumenta la concentración de Ag^+ , los iones disueltos se unen y forman una superficie estable. El paso de nucleación termina cuando no se suministra más Ag^+ en la solución, como resultado, los iones disueltos en la solución se difunden través de la solución y se adsorben en el núcleo inicial dando como resultado el paso de crecimiento o maduración de Ostwald [91]. Después, las partículas de Ag reducidas tienden a estabilizarse en la superficie para evitar un mayor crecimiento o la formación de agregados, esto se logra mediante la adición de un agente estabilizador o de protección, que se adsorbe a la superficie, de esta forma se evita el crecimiento de las Ag-NPs. Entonces, al modificar las cantidades del agente reductor y del agente estabilizante, se logra el control del tamaño y la forma de las Ag-NPs

1.5 Compositos Poliméricos

Un composito está formado por al menos dos materiales distintos cuya identidad química se conserva en el material final. Por lo general, se tienen dos componentes, uno que se encuentra en mayor cantidad y actúa como matriz anfitriona, y un material de relleno que se dispersa en la matriz. En caso de tener un polímero como anfitrión, dicho material se denomina composito basado en polímero (composito polimérico). Además, si el material de relleno tiene al menos una dimensión en la nanoescala, el material puede denominarse nanocomposito [92].

Varios polímeros como el nailon, poliéster, poliestireno (PS), PMMA, polianilina (PANI), polietileno (PE), polipropileno (PP), entre otros se utilizan como matriz polimérica, mientras

que diferentes componentes inorgánicos, como las NPs metálicas, Pd [93] y Co [94], cuya aplicación en diversos campos han mostrado resultados interesantes. Nanomateriales de carbono y nanoarcillas se incorporan también a una matriz polimérica para formar nanocompositos con propiedades mejoradas [95]. En los nanocompositos poliméricos se observan efectos sinérgicos provenientes de sus componentes individuales.

En particular, los compositos basados en polímeros que contienen nanopartículas metálicas como relleno exhiben propiedades eléctricas y ópticas únicas, estas propiedades están inherentemente relacionadas con su tamaño y forma, lo que constituye la principal razón para su incorporación en matrices poliméricas. Se han incorporado una variedad de NPs metálicas para una amplia gama de aplicaciones, por ejemplo; Au [96], Cu [97], Ag [98], Pd [93] y Co [94], cuya aplicación en diversos campos han mostrado resultados interesantes.

La preparación de nanocompositos poliméricos utilizando diversas técnicas de procesamiento adecuadas es importante para obtener su alta eficiencia. De acuerdo con la literatura, existen dos diferentes enfoques para la preparación de nanocompositos poliméricos; la técnica *in-situ* y *ex-situ*, la representación esquemática de estas técnicas se muestra en la Figura 1.12.

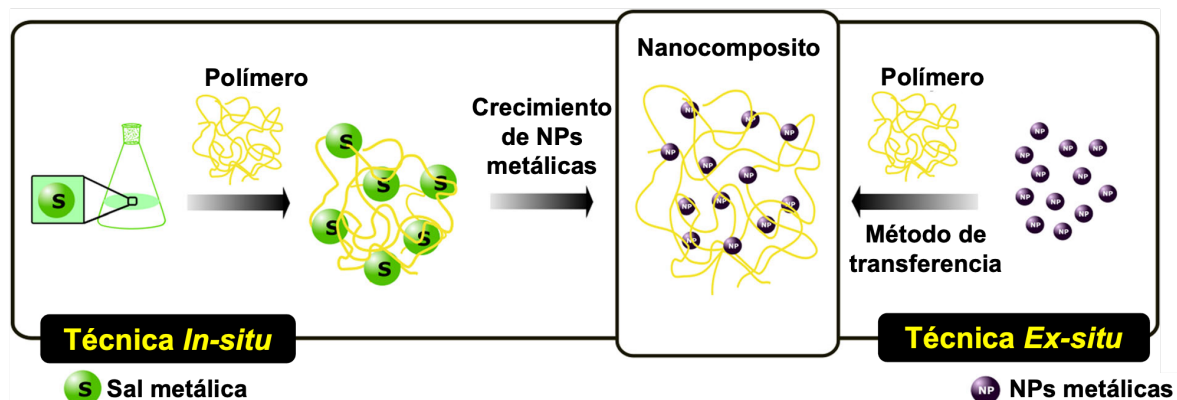


Figura 1.12 Técnicas de incorporación *in-situ* y *ex-situ* de las NPs metálicas en la matriz polimérica [99].

La técnica *in-situ* implica la síntesis de NPs metálicas dentro de la matriz polimérica y esto se logra mediante: (1) la reducción de la sal metálica que ya está presente en la matriz ya sea por descomposición (termólisis, fotólisis y radiólisis) o métodos químicos [100] y (2) depósito de vapor de metal en la masa fundida de la matriz poliméricas a una mayor temperatura [101].

La técnica *ex-situ* involucra la síntesis inicial de NPs metálicas por rutas químicas seguidas de la introducción de las NPs en las matrices poliméricas ya sea por polimerización

previa o posterior [102]. En esta técnica, la mezcla directa de NPs (reellenos) y la matriz polimérica es el enfoque más apropiado para obtener nanocompositos basados en polímeros con NPs de tamaño nanométrico o submicrométrico, y la matriz polimérica con una dimensión de 1 o 2 ordenes de magnitud mayor que las NPs dispersas.

1.5.1 Compositos Ag/PMMA

Las propiedades de los nanocompositos varían ampliamente según la combinación de las nanopartículas y el polímero. Entre los materiales poliméricos, el PMMA ofrece ventajas como la disponibilidad del grupo funcional carboxilato para un enlace químico con iones metálicos y una alta solubilidad en compuestos como dimetilformamida (DFM), hidracina y borohidruro de sodio (NaBH_4); que así mismo sirve para la reducción de algunos precursores metálicos como el nitrato de plata (AgNO_3) [103].

Además, como ocurre con la mayoría de los nanocompositos, las Ag-NPs al añadirse a una matriz polimérica como el PMMA mejora significativamente sus propiedades, como su resistencia mecánica, solubilidad y propiedades ópticas [104]. En este contexto, el composito Ag/PMMA por sus propiedades superiores ha sido aplicado exitosamente en diferentes campos como catálisis, sensores, materiales antimicrobianos y como sustrato SERS, entre otras. Con respecto a su síntesis, en la literatura se han reportado diversos procedimientos para la preparación de estos nanocompuestos basados en las técnicas previamente mencionadas (*in-situ* y *ex-situ*) destacando la implantación de iones, co-depósito en fase vapor al vacío y polimerización en suspensión, entre otros. El principal problema en la tecnología de síntesis de nanocompositos poliméricos es evitar la aglomeración de las partículas. Este problema se ha disminuido mediante la modificación de la superficie de las partículas, ya que mejora la interacción interfacial entre las partículas metálicas y la matriz polimérica [105]. En la [Tabla 3](#) se muestra una lista de varios nanocompositos Ag/PMMA, el método de síntesis para su obtención, las aplicaciones y algunas características obtenidas en el estudio.

Tabla 1.3. Ejemplos de compositos Ag/PMMA obtenidos en estudios previos

Método de síntesis	Aplicaciones	Características	Referencia
Polimerización térmica espontánea	Sensor colorimétrico para la detección de H ₂ O ₂	El PMMA evitó la precipitación y agregación de la Ag-NPs. Actuó como un recubrimiento.	[104]
Polimerización en miniemulsión <i>in-situ</i>	Sustrato SERS para análisis químico y detección molecular de ADN	La detección selectiva de bases de ADN (guanina y citosina) fue posible mediante SERS variando el pH de la solución bajo análisis.	[4]
Polimerización <i>in-situ</i> foto asistida con irradiación UV	Excelente desempeño antibacteriano contra bacterias Gramnegativas <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y Grampositivas, <i>Staphylococcus aureus</i>	EL nanocompuesto exhibió una menor tendencia hacia la agregación en comparación con las Ag-NPs sintetizadas con borohidruro.	[106]
Procedimiento <i>ex-situ</i> : Las Ag-NPs se sintetizaron por fotorreducción se transfirieron a las películas de PMMA	Sustrato SERS flexible para la detección ultrasensible paratióin (PT) y fenitrotiún (FNT) en tomate y limón.	Las capacidades de detección superior se atribuyeron a la formación de una gran cantidad de <i>hot-spots</i> (puntos calientes) por las Ag-NPs. Además, el sustrato SERS exhibió características como buena uniformidad, alta reproducibilidad y buena estabilidad mecánica.	[98]
Polimerización <i>in-situ</i> utilizando dimetilformamida	Estudio de sus propiedades mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)	El PMMA actuó como un agente protector y restringe la movilidad de los iones de plata durante la reacción y, por lo tanto, la aglomeración se controla.	[107]
Ruta química <i>ex-situ</i> (Ag-NPs pre-sintetizadas se dispersaron en PMMA con la ayuda de PVP y etanol	Modificación de las propiedades ópticas, estructurales y eléctricas del PMMA mediante la incorporación Ag-NPs	La concentración de Ag-NPs influyó fuertemente en las propiedades ópticas, estructurales y eléctricas de la matriz de PMMA. Además, aumentó la conductividad eléctrica y la energía de Urbach al aumentar la concentración de Ag-NPs.	[108]

THF: tetrahidrofurano, CHCl₃: cloroformo.

Tabla 1.3. Ejemplos de compositos Ag/PMMA obtenidos en estudios previos (continuación)

Método de síntesis	Aplicaciones	Características	Referencia
Ruta química <i>ex-situ</i> (En la síntesis de las Ag-NPs se usó THF como co-disolvente. El PMMA se disolvió en CHCl ₃ y THF)	Actividad antibiopelícula contra <i>Escherichia coli</i> . El crecimiento se redujó 10 ⁶ veces en el nanocomposito.	Con la incorporación de las Ag-NPs la morfología del polímero cambio y su superficie se volvió más suave y compacta. La interacción entre los materiales es principalmente con el grupo funcional del polímero	[109]
Ruta química <i>ex-situ</i> (Ag-NPs cubiertas con oleilamina se incrustaron en PMMA mediante sonicación)	Estudio de propiedades térmicas y eléctricas del nanocomposito Ag/PMMA	Los nanocomositos mostraron una transición asistida térmicamente con inicios a 230 K. La resistividad eléctrica exhibe una conductividad similar a la de un semiconductor a temperaturas altas.	[110]
Técnica <i>in-situ</i> a varias temperaturas	Estudio de las propiedades dependientes de la temperatura	El tamaño y la distribución del Ag/PMMA dependió de las temperaturas de los reactivos. El corrimiento de la banda LSPR hacia mayores longitudes onda indicó el aumento en el tamaño de las partículas. Además, los patrones XRD exhibieron una estructura de dos fases una cristalina y otras amorfa.	[103]
Ruta química <i>ex-situ</i> (Las Ag-NPs se prepararon con extractos de hojas, después un recubrimiento por spin coating del PMMA)	Estudio del comportamiento catalítico en la reducción de 4-nitrofenol a 4-aminofenol	El proceso es amigable con el medio ambiente, ya que la formación de las Ag-NPs se lleva a cabo en la superficie de hojas, seguido de un recubrimiento por spin coating del PMMA. El composito exhibió interesantes propiedades plasmónicas y catalíticas.	[111]

THF: tetrahidrofurano, CHCl₃: cloroformo.

1.6 Espectroscopia Raman Mejorada en Superficie

1.6.1 Dispersión Raman

La espectroscopia Raman es una técnica espectroscópica basada en el efecto de dispersión inelástica o dispersión Raman de los fotones de la luz incidente por un átomo o molécula. Es una técnica no destructiva usada para estudiar los modos de vibración, rotación y otros modos de baja frecuencia en el sistema analizado. Proporciona información detallada sobre la composición molecular, la estructura y las interacciones dentro de la muestra. La espectroscopia Raman pertenece a la familia de la espectroscopia vibracional, lo que significa que mide los niveles de energía vibracional que está asociada con los movimientos de los enlaces químicos en la molécula estudiada.

La espectroscopia Raman se basa en el efecto de dispersión de la luz, por lo cual es importante conocer en que consiste este proceso. Cuando una onda electromagnética de frecuencia ν_0 interactúa con el material los electrones se perturban periódicamente con la misma frecuencia que la del campo eléctrico de la onda incidente. Esto induce un momento dipolar que polariza la molécula, debido a esta polarización la molécula pasa a un estado de energía virtual (estado de excitación). Cuando la molécula se relaja, emite un fotón. Este fenómeno se describe mediante la siguiente ecuación:

$$E_{scatt} = h\nu \pm \Delta E_{vib} \quad (1.4)$$

donde E_{scatt} es la energía de los fotones dispersados, h es la constante de Planck, ν es la frecuencia de fotón y ΔE_{vib} es la diferencia de energía para un modo de vibración dado.

La mayor parte de la luz dispersada por una molécula es dispersión elástica, es decir, la energía de los fotones dispersados tiene la misma energía (frecuencia o longitud de onda) que el fotón incidente, entonces $E_{scatt} = h\nu$. Esta dispersión comúnmente se conoce como dispersión Rayleigh. Sin embargo, la dispersión puede ser inelástica. Según la descripción matemática mostrada en la Ecuación 1.4, la energía del fotón dispersado tiene un aumento o disminución de la energía de la radiación incidente, esta dispersión se conoce como dispersión Raman. Si la energía se desplaza a mayores longitudes de onda (menor energía) se produce una dispersión Raman Stokes. Por el contrario, si los fotones dispersos tienen una longitud de onda menor o poseen mayor energía se conoce como una dispersión Raman Anti-Stokes. La dispersión Raman Stokes es más intensa que la Anti-Stokes, debido a que la mayoría de las moléculas se encuentran en el estado de vibración fundamental y el fotón se dispersa a una energía menor [112]. Estas distintas transiciones energéticas se representan esquemáticamente en la [Figura 1.13](#).

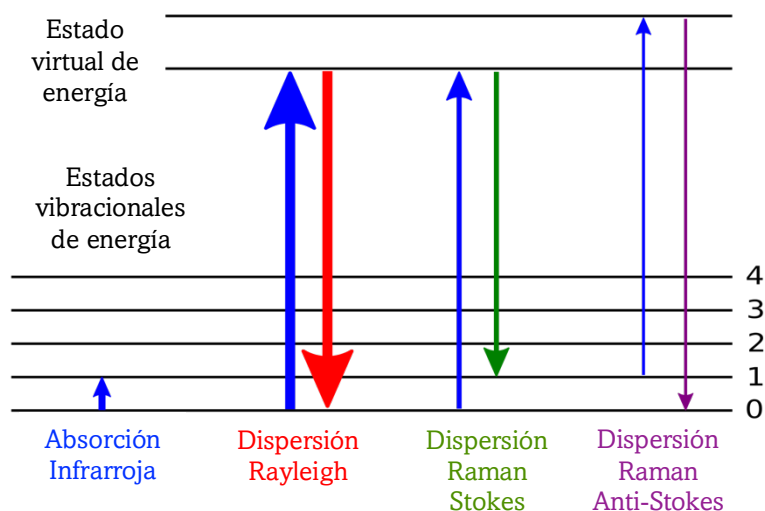


Figura 1.13 Ilustración esquemática de los diferentes tipos de dispersión de radiación por una molécula. El grosor de las líneas es proporcional a la intensidad de la señal de las diferentes transiciones.

El cambio en la energía del fotón cuando interactúa con una molécula (dispersión inelástica) se predijo por primera vez en 1923 por Adolf Smekal. Sin embargo, no fue hasta 1928 cuando el físico hindú Chandrasekhara Venkata Raman quien junto con su estudiante K. S. Krishnan observaron experimentalmente por primera vez este efecto [113]. En un artículo publicado en 1928 en *Nature*, C. V. Raman y Krishnan [1] describieron el proceso mediante el cual al irradiar moléculas de agua y alcoholes con un haz monocromático producía una “radiación secundaria” que era el resultado de colisiones inelásticas con las moléculas. Desde entonces, este efecto se conoce como dispersión Raman. Debido a la exploración experimental de este fenómeno, C. V. Raman fue galardonado con el Premio Nobel de física en 1931.

A pesar de las ventajas iniciales del descubrimiento de la dispersión Raman, su aplicación espectroscópica se limitó bastante debido a que en los primeros años como fuente de excitación se usaba una lámpara de arco de mercurio, que si bien proporcionaba una fuente muy intensa con líneas bien definidas, que se podían filtrar con placas de vidrio, muchas de estas bandas estaban cerca de las transiciones electrónicas de las muestras analizadas y la fluorescencia era un problema inherente. De hecho, fue hasta la década de 1960, cuando se desarrollaron los primeros láseres que proporcionaron fuentes estables, coherentes e intensas y con ello la espectroscopia Raman comenzó a utilizarse con más frecuencia como una técnica de análisis.

Actualmente, la espectroscopia Raman es una técnica muy utilizada, debido a su sencillez y amplia gama de aplicaciones, dada la capacidad para examinar materiales en

estado sólido, soluciones acuosas e incluso muestras gaseosas. Además, la manipulación espectral es mínima y una sencilla interpretación de los datos es suficiente para la detección química de nuevos compuestos. En comparación con muchas técnicas analíticas, la espectroscopia Raman es una técnica de uso rutinario, por ser muy versátil y por la facilidad en la medición. Sin embargo, existen dos desventajas relevantes que deben ser consideradas al usar esta técnica. La primera es la debilidad en la intensidad de la dispersión Raman, a pesar de que en la actualidad se cuenta con láseres de alta energía, su uso tiende a causar daños irreversibles a las muestras analizadas. La segunda desventaja es la eventual emisión de fluorescencia debido a impurezas o características propias de las muestras que pueden ocultar bandas del espectro Raman. Para aumentar la sensibilidad de este método, es necesario mejorar la resolución espectral y adquirir información más específica sobre las muestras analizadas, por lo que se han desarrollado variaciones de esta técnica, entre las que destaca la Espectroscopia Raman Mejorada en Superficie (SERS, por sus siglas en inglés; Surface-Enhanced Raman Scattering).

1.6.2 Dispersión Raman Mejorada en Superficie

En 1974, Fleischman et al. [2] reportaron la fabricación de un electrodo de Ag con una alta área superficial mediante ciclos sucesivos electroquímicos de oxidación-reducción. Cuando se adsorbió piridina en la superficie de este electrodo, se obtuvo una señal inusualmente intensa, aproximadamente de 10^6 veces la intensidad de la señal, en comparación con el espectro Raman estándar de la piridina. Inicialmente, este fenómeno se atribuyó al aumento del área superficial, que proporcionó mayores regiones para adsorber más moléculas de piridina, creando así una mayor densidad superficial de la piridina. En 1977, dos grupos más notaron de forma independiente y simultánea que el efecto no se debía estrictamente al área superficial, sino a una mejora de la eficiencia de la dispersión Raman [54], [114]. Por lo cual, se denominó dispersión Raman Mejorada en Superficie (SERS). Jeanmaire y Van Duyne [54] propusieron que la mejora de la dispersión Raman se debía a un efecto electromagnético mientras que Albrecht y Creighton [114] propusieron que se debía a un efecto de transferencia de carga. Finalmente, en 1978, Martin Moskovits [115] explicó por primera vez que el aumento inusual de la dispersión Raman se debía a la presencia de NPs metálicas plasmónicas.

Hoy en día se sabe que SERS es un efecto que ocurre en superficies metálicas rugosas o nanoestructuradas donde, la señal Raman de una molécula se intensifica considerablemente. La principal causa de la mejora de la señal es electromagnética derivada

de la acción de la LSPR pero en algunos casos también está involucrada una mejora química, que surge de las interacciones de transferencia de carga con especies quimisorbidas que no son de naturaleza plasmónica pero que, proporcionan una mejora de la señal. Los principios de ambos mecanismos se explican en las siguientes secciones.

1.6.2.1 Mecanismo Electromagnético del Efecto SERS

La luz del láser incidente es la fuerza impulsora externa necesaria para las oscilaciones colectivas de los electrones en las superficies metálicas. La luz elástica resonante que se dispersa en una esfera metálica conduce a un aumento en intensidad del campo local E_{loc} en relación con el campo incidente E_0 . El origen de dicho campo electromagnético mejorado es el mecanismo electromagnético que contribuye al efecto SERS en sustratos plasmónicos (NPs metálicas). A su vez, esta mejora se debe a dos procesos fundamentales: el primero es una mejora del campo local cerca de las NPs plasmónicas a la frecuencia incidente resonante (ω_0), y el segundo en una mejora adicional de la luz Raman dispersada cuando la frecuencia Raman (ω_R), se superpone con la resonancia del plasmón; este proceso se muestra esquemáticamente en la [Figura 1.14a](#). Si las frecuencias de la luz laser incidente y la dispersión Raman Stokes en la molécula de prueba con similares, las mejoras de ambos procesos suelen ser comparables. Por lo tanto, la magnitud del aumento en la intensidad de la señal (I_M) es aproximadamente proporcional a la cuarta potencia de la amplitud del campo (E_{loc}/E_0) [116], que se puede expresar mediante la siguiente ecuación:

$$I_M = \frac{|E_{loc}(\omega_0)|^2 |E_{loc}(\omega_R)|^2}{|E_0(\omega_0)|^2 |E_0(\omega_R)|^2} \approx \frac{|E_{loc}(\omega_R)|^4}{|E_0(\omega_0)|^4} \quad (1.5)$$

La mejora electromagnética, es independiente de la naturaleza de las moléculas del analito, en su lugar está determinada por la fuerza de los campos electromagnéticos en presencia de las NPs metálicas, que se ajusta modulando la morfología de la nanoestructura, las funciones dieléctricas y el acoplamiento plasmónico entre NPs para generar “puntos calientes” electromagnéticos (por sus siglas en inglés; *hot-spots*) entre las nanopartículas metálicas vecinas.

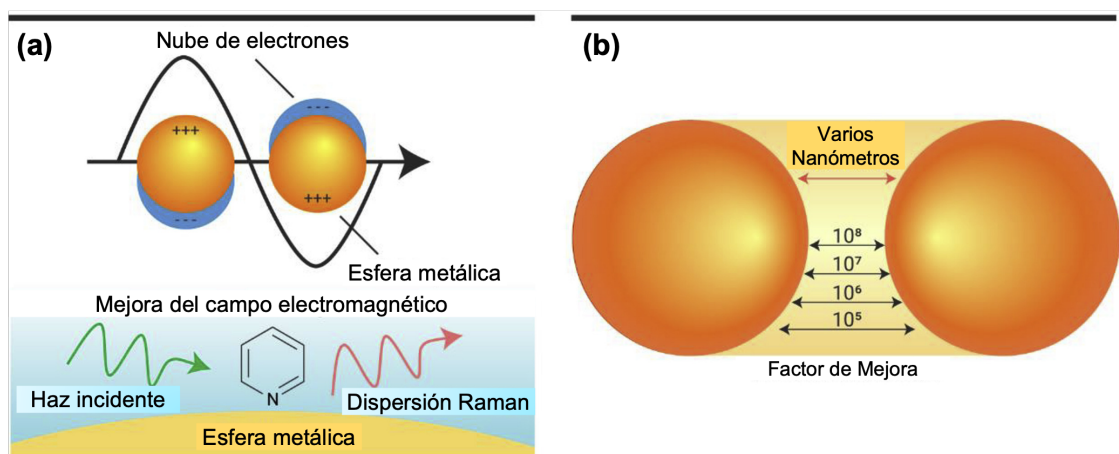


Figura 1.14 Mecanismo electromagnético del efecto SERS. (a) Mejora basada en nanoesferas plasmónicas. (b) Ilustración esquemática de un “punto caliente” en el espacio entre partículas adyacentes y el cambio correspondiente en el factor de mejora SERS con posiciones relativas [117].

Teóricamente, la mejora máxima que se atribuye al mecanismo electromagnético del efecto SERS es de 10^{11} [118]; sin embargo, disminuye significativamente si la distancia entre las NPs metálicas aumenta. En estudios teóricos Petryayeva y Kull [119], observaron una variación en el campo electromagnético sensible de la brecha entre dos NPs, con una mejora SERS de 10^5 a 10^9 a medida que la brecha entre las nanoesferas de Au adyacentes disminuía de 10 nm a 2 nm (ver Figura 1.14b). Este mecanismo es el más significativo para la mejora SERS, incluso en algunos reportes han verificado que, a pesar de una distribución uniforme de las moléculas en la superficie del sustrato, las señales Raman en varios lugares hacen diferentes contribuciones a la señal Raman total. Esto se debe a que los sitios activos SERS (puntos calientes) representan solo 63 de cada 1,000,000 sitios, pero contribuyen en un 24% a la intensidad SERS [120].

La segunda contribución a la mejora electromagnética está asociada a la eficiencia de la molécula para radiar la señal Raman aumentada cuando está cerca del sustrato metálico. Por ejemplo, una molécula irradiará de manera diferente si se excita en el vacío o en la interfaz entre diferentes materiales. Este fenómeno se denomina emisión espontánea modificada. Para explicarlo, se considera un dipolo en el vacío o incrustado en un medio homogéneo, la potencia radiada se difunde en el espacio siguiendo el patrón de emisión típico de un dipolo. Sin embargo, si existen interfaces alrededor de la molécula, el campo electromagnético irradiado por el dipolo se dispersa en estas interfaces y se refleja parcialmente hacia atrás de la posición del dipolo. Esta radiación retrodispersada influye en la forma en que el dipolo irradia energía, que se vuelve dependiente del entorno, tamaño, forma y disposición de las NPs metálicas [121].

1.6.2.2 Mecanismo Químico del Efecto SERS

Aunque el mecanismo electromagnético supera considerablemente al mecanismo químico, teóricamente se estima que la intensificación alcanza un valor de 10^3 ; este último juega un papel importante debido a que explica como el sistema sustrato-molécula altera la distribución de densidad de electrones de las moléculas, lo que da como resultado una mayor polarizabilidad, y por lo tanto una dispersión Raman mejorada [122].

Para explicar el mecanismo químico en un sustrato metálico, Jensen et al. [123] propuso tres diferentes contribuciones; la transferencia de carga del estado fundamental interfacial (μ_{GSCT}), la resonancia de transferencia de carga fotoinducida (μ_{PICT}) y la resonancia de excitación electrónica dentro de la propia molécula. La Figura 1.15 muestra un esquema de estas tres contribuciones.

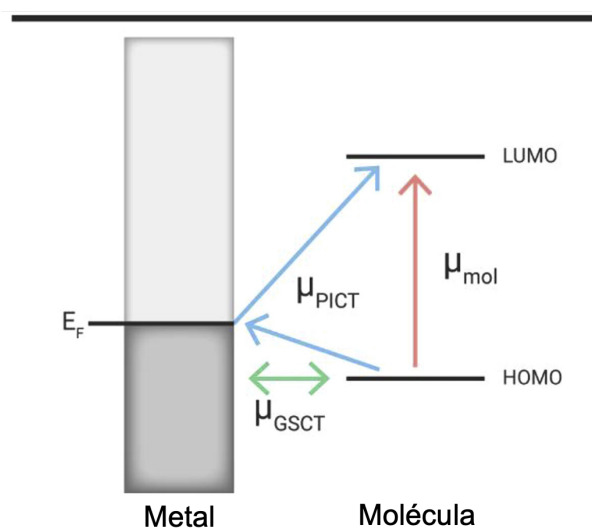


Figura 1.15 Mecanismo químico del efecto SERS. La ilustración muestra esquemáticamente las diferentes contribuciones asociadas con la transferencia de carga entre la molécula orgánica y un sustrato metálico [117].

Primero, la mejora de señal μ_{GSCT} es una contribución no resonante característica de las interacciones entre la molécula y el sustrato en el estado fundamental, sin excitaciones. La adsorción de una molécula sobre un sustrato se clasifica en función de la fuerza de la interacción. La fisisorción (adsorción física) se refiere a un proceso de adsorción en el que la entalpía de interacción es menos negativa (~ 25 kJ/mol). Por su parte, la quimisorción (adsorción química), en cambio, se refiere a un proceso de adsorción en el que la entalpía es más negativa (~ 40 kJ/mol). En el primer caso, las fuerzas de Van der Waals impulsan el

proceso de adsorción y por lo tanto, la estructura de la molécula se modifica ligeramente. Se espera una perturbación más fuerte en el último caso, en el que se forma un enlace químico entre la molécula y la superficie. En ambas situaciones, aunque en distinta medida, la estructura electrónica y la geométrica de la molécula se ve alterada por la interacción con la superficie y, por tanto, las secciones transversales Raman de sus modos vibracionales serán diferentes con respecto a los de la molécula libre [121].

En segundo lugar, el efecto μ_{PICT} depende de la longitud de onda atribuido a la transferencia de carga entre el sustrato y una molécula en resonancia con los fotones de excitación. En un sistema molécula-metal, esta transferencia de carga ocurre del metal a la molécula, o de la molécula al metal, según las ubicaciones relativas del nivel de Fermi en el metal y el orbital molecular más alto ocupado (HOMO) y el orbital más bajo desocupado (LUMO). El efecto es mayor cuando la carga se transfiere desde niveles de la molécula al nivel de Fermi del metal. La última contribución es la dispersión de resonancia Raman, esta sucede cuando la frecuencia de excitación del láser está cerca de la frecuencia de transición electrónica de la molécula (μ_{mol}), lo que generalmente contribuye en una magnitud de 10^2 - 10^6 a la intensidad Raman total [117].

La mejora asociada con la transferencia de carga proporciona una justificación para estudios recientes en los que se han observado mejoras significativas en la intensidad Raman para sistemas de moléculas orgánicas en sustratos SERS basados en semiconductores, para los cuales la excitación de los plasmones no ocurre [124].

1.7 Sustratos SERS

Desde el descubrimiento del efecto SERS hace más de cuarenta años el desarrollo de sustrato se ha intensificado significativamente debido a las numerosas aplicaciones y los resultados prometedores que se han reportado. De manera general, un sustrato SERS presenta las siguientes características [125], [126]:

1. *Mejora promedio alta* ($>10^5$): Las mejoras más grandes permiten un análisis más sensible y/o más rápido.
2. *Uniformidad, reproducibilidad y alta área*: Los sustratos uniformes y reproducibles facilitan las mediciones, ya que no es necesario probar varios puntos para encontrar el más eficiente, y los resultados son reproducibles de un sustrato a otro. Ambas características son cruciales si se van a realizar mediciones cuantitativas. Las áreas

grandes son particularmente útiles con instrumentos portátiles, ya que normalmente no están acoplados a un microscopio.

3. *Estabilidad*: Los sustratos conservan un buen rendimiento durante un tiempo considerable (aproximadamente un mes) después de la fabricación. Además, no deben ser degradados por los disolventes (u otros agentes) con los que entran en contacto.
4. *Facilidad de fabricación/bajo costo de producción*: Los métodos de fabricación de sustratos escalables y de bajo costo son cruciales para una difusión de la técnica SERS.
5. *Superficies limpias*: La superficie del sustrato no debe tener contaminantes residuales del proceso de fabricación.

Entonces, un buen sustrato SERS debe poseer las características previamente mencionadas. Aunque algunas aplicaciones específicas requerirán ciertas preferencias; por ejemplo, para ensayos cuantitativos se busca uniformidad/reproducibilidad, en cambio sí se busca determinar contaminantes en bajas concentraciones se buscará un sustrato con mejora promedio alta.

Los primeros estudios sobre sustratos SERS consistían en coloides de Au, Ag y Cu en láminas o alambres que se grababan química o electroquímicamente para crear una superficie rugosa activa. Hoy en día, los sustratos SERS más comunes se clasifican en tres categorías: nanopartículas metálicas en solución, nanopartículas inmovilizadas (ensambladas) en una superficie sólida, y nanoestructuras ordenadas fabricadas sobre sustratos sólidos mediante litografía o síntesis basada en plantillas. Cada categoría de sustratos se analiza a continuación.

En los sustratos SERS basados en nanopartículas metálicas en solución, los coloides esféricos de Au y Ag son los más usados. En este tipo de sistemas, un método eficiente para aumentar la señal Raman se basa en la aglomeración de las nanopartículas, agregando una sal como NaCl o NaNO₃ a la solución. En ocasiones, el propio analito desempeña este papel, si es un colorante iónico o debido a sus grupos funcionales. El uso de nanopartículas aglomeradas en solución es un método práctico para su aplicación como sustratos SERS, explorando materiales fáciles de sintetizar y en condiciones adecuadas proporcionando mejoras muy intensas. Un inconveniente de este método es que el proceso de aglomeración es difícil de controlar y a menudo, conduce a resultados no reproducibles, lo que dificulta la implementación del análisis cuantitativo [127]. En la [Tabla 1.4](#) se resumen ejemplos de nanopartículas coloidales empleadas como sustratos SERS.

El problema asociado con la agregación se soluciona mediante la inmovilización de las nanopartículas en un sustrato sólido, proporciona un medio para acercar a las nanopartículas entre sí. Se han empleado varias estrategias para inmovilizar nanopartículas en sustratos sólidos. Por ejemplo; las técnicas electroquímicas son métodos versátiles para el depósito de nanoestructuras metálicas dadas las condiciones experimentales debido a que son fáciles de ajustar, permitiendo la creación de una amplia gama de nanoelectrodos con diferentes tamaños, formas y distribuciones [128], [129]. Con respecto a los soportes, estudios recientes se han centrado en depositar nanopartículas sobre sustratos flexibles como papel [130] y hojas orgánicas [131]. Las ventajas de este tipo de sustratos son su simplicidad y bajo costo. En la [Tabla 1.5](#) se resumen ejemplos de sustratos SERS con nanopartículas inmovilizadas en un soporte sólido.

El último enfoque consiste en distribuir uniformemente las NPs metálicas en el sustrato SERS y no solo en una dirección, sino que se han desarrollado matrices altamente ordenadas utilizando principalmente técnicas litográficas. Estas técnicas permiten controlar con precisión la geometría del sustrato con un alto grado de reproducibilidad, por lo tanto, es ideal para fabricar sustratos cuyas propiedades han sido diseñadas teóricamente para optimizar la mejora SERS y llevar a cabo estudios de estructura y propiedades. Sin embargo, no son adecuados para fabricar sustratos de gran área y también son métodos muy costosos [132]. Finalmente, en la [Tabla 1.6](#) se resumen ejemplos de sustratos SERS con arreglo periódico ordenado, destacando los resultados obtenidos asociados con una estructura 3D.

Tabla 1.4 Ejemplos de sustratos SERS basados en nanopartículas metálicas en solución

Plataforma SERS	Analito	Límite de detección	Factor de Mejora (EF)	Comentarios	Referencia
Solución coloidal de nanopartículas de Ag	Estrona Bisfenol A (BPA)	Estrona: 3.7×10^{-10} M BPA: 4.4×10^{-10} M	N. D.	Debido a una reacción de acoplamiento entre los iones de diazonio y los estrógenos fenólicos, se forman compuestos azo con una fuerte actividad SERS.	[133]
NPs de Au y Ag en agua, acetonitrilo e isopropanol mediante ablación láser	TNT	7.8×10^{-18} g	N. D.	Las señales Raman no se observaron en las NPs coloidales, lo que se asoció con la falta de sitios activos (<i>hot-spots</i>) ya que tienen una gran influencia en la mejora de las intensidades de la señal Raman.	[134]
Dímeros de nanopartículas de Au	Anticuerpos biotinilados: gliadina IgG y Ara h1 IgG	9.43×10^{-12} M	0.86×10^6	Como consecuencia de la estrategia de bioconjugación implementada, el dímero NPs de Au, presenta la ventaja de combinar en una única nanoestructura las capacidades de detección de ambos anticuerpos.	[135]
Nanoestrellas de Au	Anticuerpo de mercapto benzonitrilo (MBN).	8.0×10^7 M	5.2×10^5	Los resultados de mejora en la intensidad SERS se deben principalmente a la cobertura superficial de MBN en las nanoestrellas de AuNS en lugar de efectos electromagnéticos.	[136]

Tabla 1.5. Ejemplos de sustratos SERS basados en nanopartículas inmovilizadas en un soporte sólido.

Plataforma SERS	Analito	Límite de detección	Factor de Mejora (EF)	Comentarios	Referencia
Nanocomposito de Fe ₃ O ₄ /Ag modificado con nanopartículas de ácido nitriloacético de hierro	Dopamina en líquido cefalorraquídeo artificial	5×10^{-15} M	N. D.	Las propiedades magnéticas permitieron la separación de moléculas, la Ag actuó como una plataforma SERS. Las Ag-NPs y magnetita se unieron con el carboximetilquitosano, que mejora la sensibilidad debido a la presencia de grupos carboxilo.	[137]
Hoja de taro natural recubierta con Ag Ag evaporada	Rodamina 6G (R6G)	10^{-8} M	10^6	El sustrato exhibió micropapilas que exhibieron superhidrofobicidad para el enriquecimiento de analitos, las nanoplacas cruzadas proporcionaron <i>hot-spots</i> que en conjunto condujeron a una mejora SERS.	[131]
Matriz de nanocubos de Ag ensamblados mediante la técnica de Langmuir-Blodgett	Rodamina 6G (R6G)	10^{-16} M	10^{11}	La plataforma superhidrofóbica confina las moléculas de analito dentro de un área pequeña y evita la dispersión aleatoria de moléculas lo que aumenta la señal Raman	[138]
Óxido de grafeno (GO) unido a nanopopcorn de Au	Rodamina 6G <i>Staphylococcus Aureus</i> (MRSA)	R6G: 10^{-10} M MRSA: 10 UFC/ml	R6G: 3.8×10^{11}	Las señales Raman se pueden amplificar en 10^{11} para R6G ajustando simultáneamente el efecto electromagnético y químico. El EF para el óxido de grafeno híbrido es aproximadamente 10^2 mayor que el de las nanopopcorn de Au.	[139]

Tabla 1.6. Ejemplos de sustratos SERS basados en matrices ordenadas de nanopartículas

Plataforma SERS	Analito	Límite de detección	Factor de Mejora (EF)	Comentarios	Referencia
Microcilindro nanoporoso decorado con nanopartículas de Au	Bencenotiol	N. D.	6.5×10^4	Los nanoporos 3D permiten una alta carga de nanopartículas de Au y la formación de abundantes <i>hot-spots</i> que facilitan la rápida difusión de moléculas de analito que resulta en una mejora significativa de la intensidad SERS.	[140]
Nanobarras de Au alineadas verticalmente (GNR) ensambladas en la interfaz líquido-líquido	Rodamina 6G (R6G) Yoduro de 1-10-dietil-2-20-cianina (DCI)	R6G: 10^{-9} M DCI: 10^{-8} M	R6G: 10^6	La orientación vertical de las nanobarras de Au en una interfaz líquida inmiscible puede lograr una amplificación de la señal Raman que es hasta de 10^3 a 10^4 más alta que la de una solución de nanobarras de Au orientadas aleatoriamente.	[141]
Prisma fabricado fotolitográficamente decorado con una monocapa compacta de nanocubos de Ag	4-metilbencenotiol	N. D.	3.4×10^6	Los <i>hot-spots</i> se extiende en las tres direcciones ortogonales lo que puede lograr intensidades SERS fuertes y homogéneas con microestructuras de hasta $10 \mu\text{m}$ de altura	[142]
Deposición selectiva de oro en bordes de octaedros de plata	4-metilbencenotiol	N. D.	1.1×10^5 (Nivel de partículas individuales)	Las mediciones SERS de una sola partícula demuestran factores de mejora de 10^{10} veces mayores en comparación con octaedros de Ag puros.	[143]

Capítulo 2

Desarrollo Experimental

En este capítulo se presentan los métodos de síntesis empleados para la obtención de las microesferas de PMMA, las Ag-NPs y los compositos Ag/PMMA. Se describen brevemente los fundamentos de las técnicas de caracterización utilizadas para el estudio de las propiedades estructurales, morfológicas y ópticas. En la última parte del capítulo se presenta la preparación de los sustratos SERS y finalmente se describe el protocolo seguido para el estudio de los sustratos SERS.

2.1. Síntesis de los Materiales

2.1.1 Síntesis de las Microesferas de PMMA

Las microesferas de polimetilmetacrilato (PMMA) se sintetizaron mediante el método de polimerización en emulsión libre de surfactante (SFEP, *Surfactant-Free Emulsion Polymerization*, por sus siglas en inglés). El protocolo de síntesis fue adaptado de procedimientos introducidos previamente, implementando algunas modificaciones [5], [144]. La síntesis de las microesferas de PMMA se llevó a cabo en un sistema como el que se muestra en la [Figura 2.1](#), que consiste en un sistema de reflujo formado por un refrigerante conectado a un matraz de reacción de tres bocas de 250 mL y una entrada de gas N₂ y con agitación magnética. Se prepararon diferentes muestras de microesferas de PMMA con diferente tamaño, variando el volumen de monómero y la cantidad de iniciador, y manteniendo constante el volumen de agua (160 mL), la temperatura (75°C), el flujo de N₂ (0.2 cm³/s) y la velocidad de agitación (~400 rpm). El etiquetado de las muestras y las condiciones de síntesis para cada una de ellas se muestran en la [Tabla 2.1](#).

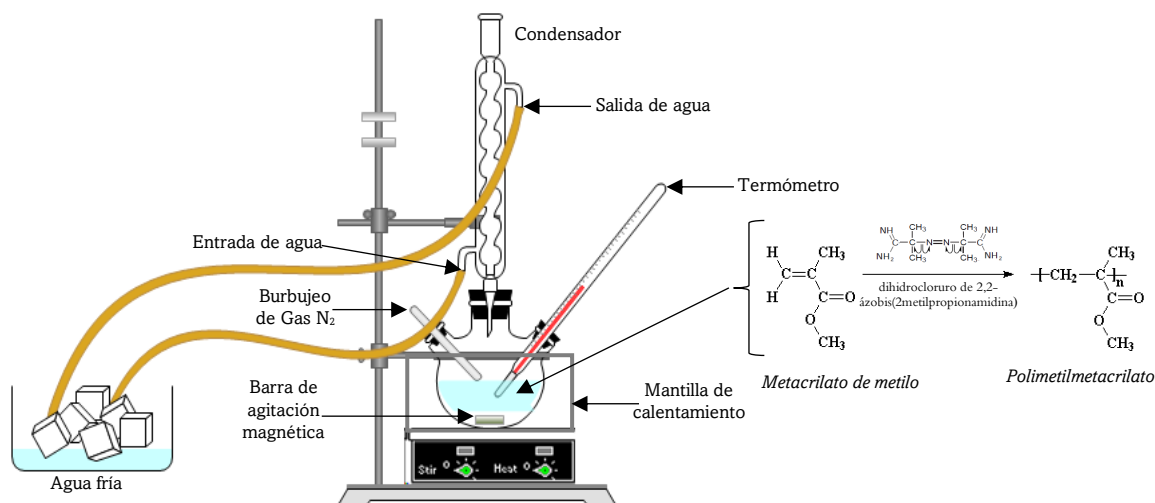


Figura 2.1 Ilustración esquemática del sistema experimental empleado en la síntesis de las microesferas de PMMA mediante una polimerización en emulsión libre de surfactante.

Tabla 2.1 Etiquetado de las muestras de PMMA con diferente volumen de monómero e iniciador, manteniendo constante el volumen de agua (160 mL), temperatura (75°C), el flujo de N₂ (0.2 cm³/s) y la velocidad de agitación (~400 rpm)

Muestra	Cantidad Monómero (mmol)	Cantidad Iniciador (mmol)
PMMA-1	190	1.65
PMMA-2	190	1.10
PMMA-3	190	0.55
PMMA-4	285	1.65
PMMA-5	285	1.10
PMMA-6	285	0.55
PMMA-7	380	1.65
PMMA-8	380	1.10
PMMA-9	380	0.55

Para la síntesis de las microesferas de PMMA, primeramente, se añadió el volumen requerido de metacrilato de metilo (MMA; 99%, Sigma-Aldrich), dependiendo de la muestra y 160 mL de agua desionizada (DI, 18.2 MΩ) al sistema de reacción. Se inició el calentamiento, así como la agitación y el burbujeo de N₂. Esto se mantuvo constante durante todo el tiempo que duró la reacción para eliminar el oxígeno, evitando la captura de los radicales libres durante la polimerización, lo que conduciría a detener la propagación de la

cadena de radicales libres. Después de que el sistema de reacción alcanzó los 75°C, se agregó al sistema de reacción la cantidad de indicador 2,2'-azo-bis(2-metilpropionamidina) (V50; 97%, Sigma-Aldrich) requerida dependiendo de la muestra al sistema de reacción (el iniciador se descompone con la temperatura y produce los radicales que inician el proceso de polimerización). Pocos minutos después de la adición del iniciador, se observó que la mezcla de reacción se tornó de un color blanco (lechoso). Como la polimerización es una reacción exotérmica, la temperatura del sistema de reacción incremento hasta ~95°C, misma que se mantuvo durante 2 horas. Una vez terminada la reacción el sistema se enfrió hasta temperatura ambiente. Después de enfriar las suspensiones obtenidas se lavaron para eliminar residuos de monómero, de iniciador y de los productos secundarios no deseables. Para esto, las muestras se sometieron a ultrasonido durante 15 min y posteriormente se centrifugaron durante 30 min a 6000 rpm en un equipo HERMLE Z36 HK. Este proceso se realizó tres veces consecutivas adicionando agua DI y alcohol isopropílico 50/50 v/v. Por último, se almacenaron en viales para su uso posterior.

2.1.2 Obtención de Ópalos de PMMA

Los ópalos de PMMA se obtuvieron empleando la técnica de auto-ensamblado de las microesferas de PMMA. Para tal efecto se emplearon dos variantes de este método a fin de determinar cuál proporcionaba un ópalo de mejor calidad, los métodos empleados y el procedimiento seguido se mencionan a continuación:

1. **Sedimentación por gravedad:** este es uno de los métodos más sencillos para preparar un ópalo donde se aprovechan las características naturales de las microesferas de PMMA de auto-ensamblarse, debido a que no se requiere una fuerza externa. Para la obtención de un ópalo a través de este método en primer lugar se tomaron ~50 mL de la solución de microesferas de PMMA previamente lavadas y se vertieron en una caja Petri, se aseguró que se mantuviera el sistema en un lugar plano y se evitó que se sometiera a movimientos que pudieran afectar la calidad del ópalo. Después de tres semanas, el agua DI en la que estaban suspendidas las esferas de PMMA se evaporó y solo se observó un sólido con un espesor de ~ 3 mm que presentaba el fenómeno de iridiscencia. A continuación, la caja Petri que contenía el ópalo se colocó en una mufla (Thermocientific

Thermolyne) a una temperatura de 70° durante 48 horas, para asegurar la evaporación completa del agua y para aumentar la resistencia mecánica del ópalo.

2. **Depósito Vertical:** este método es uno de los más usados debido a su versatilidad y facilidad para la obtención de películas de ópalos de diferentes espesores variando algunos parámetros como la concentración de las microesferas de PMMA, temperatura de depósito, solvente y tipo de sustrato. En este caso, para la obtención de los ópalos se emplearon obleas de silicio cristalino de tipo-n (100) (Wafer World, Inc.) con dimensiones de 10 mm x 10 mm, que fueron previamente lavadas con una solución piraña (H₂SO₄:H₂O₂;7:1). Una vez limpias las obleas se introdujeron verticalmente en un vaso de precipitado que contenía una solución compuesta por 270 µL de microesferas de PMMA dispersadas en 40 ml de DI (8 mg/mL). Posteriormente, el vaso de precipitado se colocó en una mufla (Thermocientific Thermolyne) a una temperatura de 75° durante 24 horas para evaporar el solvente y se obtuvo una película blanca que correspondió al ópalo de PMMA.

2.1.3 Síntesis de Nanopartículas de Plata

Las nanopartículas de plata (Ag-NPs) se prepararon basándose en los métodos propuestos por Zhan, et al. [145] y Xue et al. [146]. Inicialmente, en un matraz de tres bocas de 250 mL se mezclaron 95 mL de agua desionizada (DI), 0.5 mL de una disolución acuosa de nitrato de plata (AgNO₃, Sigma-Aldrich, 99%) 20 mM y 1 mL de una disolución acuosa de citrato de sodio dihidrato (Na₃C₆H₅O₇, J. T. Baker, 99.2%) 30 mM. El sistema de reacción se sumergió en un baño de hielo (~5°C) con flujo constante de gas N₂ (0.2 cm³ s⁻¹) y agitación magnética (~400 rpm) durante aproximadamente 1 hora. A continuación, se inyectó rápidamente en el sistema de reacción 1 mL de una disolución acuosa de borohidruro de sodio (NaBH₄, Sigma-Aldrich, 98%) 50 mM recién preparada con agua helada. Cinco minutos más tarde se añadieron 100 µL de disolución de NaBH₄ a la solución resultante, este proceso se repitió cada 2 minutos hasta completar 500 µL de disolución de NaBH₄. En este momento, se mezcló 1 mL de una disolución acuosa de bis (p-sulfonatofenil) fenilfosfina (BSPP, Sigma-Aldrich, 97%) 5 mM con 1 mL de la disolución de NaBH₄ y se añadió gota a gota al sistema de reacción. El coloide de Ag resultante se mantuvo bajo agitación magnética durante 16 horas en baño de hielo en la oscuridad. Por último, el coloide de las Ag-NPs se lavó por centrifugación a 20000 rpm (HERMLE Z36 HK) con DI en repetidas

ocasiones para eliminar los iones de Na^+ , NO_3^- y H^+ . Finalmente, las Ag-NPs fueron redispersadas en 50 mL de agua DI para obtener una concentración 0.94 mM.

En la [Figura 2.2](#) se presenta una ilustración esquemática del arreglo experimental y el procedimiento empleado en la síntesis de las Ag-NPs.

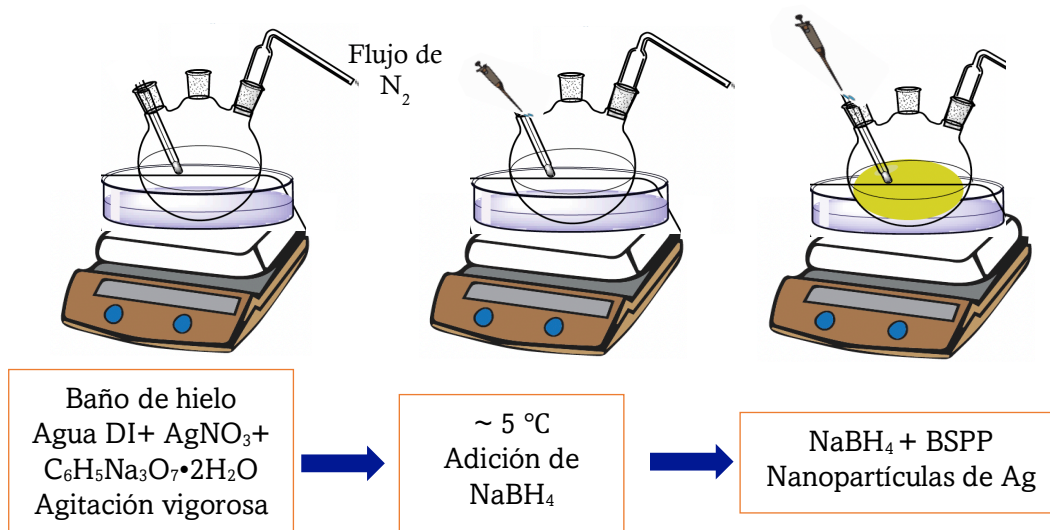


Figura 2.2 Ilustración esquemática del arreglo experimental empleado en la síntesis de las Ag-NPs.

2.1.4 Obtención de Ópalos Compositos de Ag/PMMA

Los compositos de Ag/PMMA se prepararon utilizando el método de co-depósito vertical.

Inicialmente, se cortaron obleas de Si cristalino tipo-n (100) (Wafer World, Inc.) con dimensiones de 10 mm \times 10 mm. Estas obleas fueron sometidas a un riguroso lavado con solución piraña, previo a su aplicación. Luego, se preparó una solución con 270 μL de microesferas de PMMA considerando únicamente microesferas con diámetro de 298 ± 8 nm en 40 mL de DI obteniendo una concentración de ~ 8 mg/mL. La solución obtenida se mantuvo en agitación vigorosa durante 30 min para asegurar una dispersión uniforme de las microesferas.

A continuación, en un vial de 10 mL se añadieron 5 mL de la solución de PMMA y 1 mL de la solución de Ag-NPs 0.94 mM que se mantuvo en agitación magnética vigorosa durante 30 min. Entonces, la oblea de Si se suspendió verticalmente en el vial. Para asegurar la formación de las películas el solvente se eliminó lentamente por evaporación durante un periodo de 24 horas a 75°C en un horno (Termolyne, Thermo Scientific). A esta película se

le etiqueto como Ag/PMMA-S1. Se prepararon dos películas más Ag/PMMA-S2 y Ag/PMMA-S3 con un procedimiento análogo; la concentración de la solución de PMMA se mantuvo constante, sin embargo, la concentración de las Ag-NPs aumentó a 1.41 mM y 1.88 mM, respectivamente. En la [Figura 2.3](#) se presenta una ilustración esquemática del arreglo experimental y el procedimiento empleado en la síntesis de los compositos Ag/PMMA.

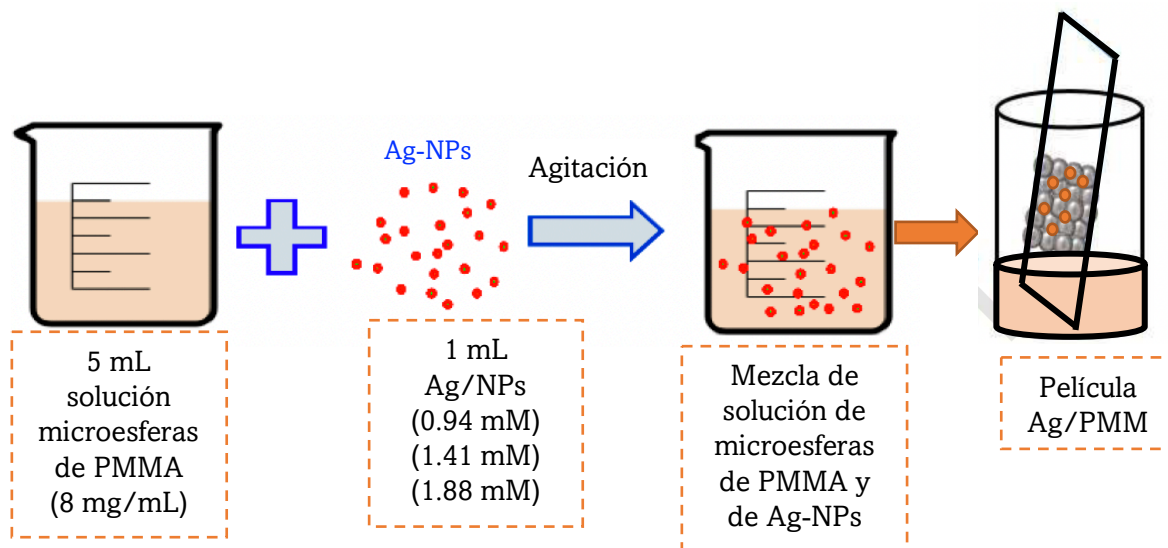


Figura 2.3 Representación esquemática del proceso usado para la obtención de los compositos Ag/PMMA.

2.2. Caracterización de los Materiales

En esta sección se describen las técnicas de caracterización y los equipos empleados para estudiar la morfología, estructura cristalina, composición elemental, estabilidad coloidal, así como las propiedades ópticas de los ópalos de PMMA, las Ag-NPs y los compositos Ag/PMMA.

2.2.1 Microscopia Electrónica de Barrido

La microscopia electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés; *Scanning Electron Microscopy*) es una herramienta de uso común en la ciencia de los materiales para observar la micro y nanoestructuras de las muestras. El fundamento de SEM es la observación de la interacción de los electrones con el material en lugar de la interacción con fotones (como en la microscopia óptica). El equipo SEM utiliza un haz de electrones de alta energía

(~50 keV) para interactuar con la superficie de la muestra, donde tienen lugar una serie de eventos de dispersión. Los electrones retrodispersados de alta energía y los electrones secundarios de menor energía pueden liberarse, después de interactuar con los átomos cercanos a la superficie de la muestra produciendo señales que contienen información sobre la composición de la superficie y la topología de la muestra para obtener así una micrografía SEM. Los rayos-X también pueden emitirse por relajación de electrones a orbitales inferiores y brindar información sobre la composición [147].

La Figura 2.4 muestra una representación esquemática de un microscopio electrónico de barrido. Los electrones son emitidos por un filamento de tungsteno que produce un haz de electrones de alta energía por emisión termiónica. En esta fuente de electrones, la corriente calienta el filamento mediante calentamiento resistivo, donde la función de trabajo del material se supera mediante el calentamiento a una polarización de alto voltaje que libera electrones con alta energía cinética, que son acelerados a través de la columna.

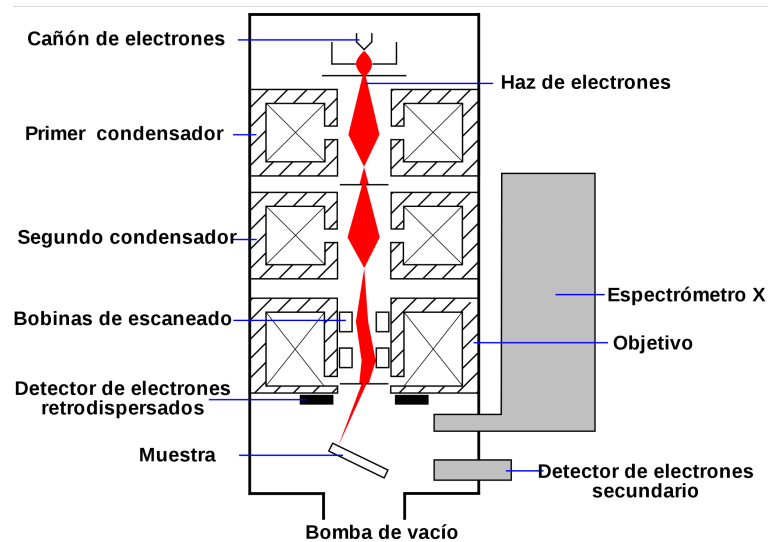


Figura 2.4 Diagrama de un Microscopio Electrónico de Barrido.

El papel de las lentes del condensador es enfocar el haz de electrones reduciendo el tamaño del haz y ajustando la forma. Dos pares de bobinas de exploración desvían el haz de electrones para lograr una exploración y obtener imágenes de la superficie de la muestra. Los conjuntos de lentes finales son las lentes objetivo, que hacen converger el haz de electrones en un haz fino y enfocado. También se encuentra un corregidor de astigmatismo que es un conjunto de bobinas con control bidimensional (x-y) del haz y que corrige cualquier astigmatismo del haz; éste forma un haz de electrones agudo y redondo que se enfoca en la superficie de la muestra.

El SEM también requiere de un entorno de vacío para evitar que la fuente de electrones se oxide debido a la presencia de oxígeno en la cámara, lo que puede reducir la vida útil de la fuente de filamento de tungsteno y, por lo tanto, provocar un cambio en la energía de los electrones emitidos. El vacío también evita la dispersión del haz de electrones dentro de la columna, este vacío se mantiene mediante una bomba de difusión respaldada por una bomba rotativa de desbaste.

En este proyecto se empleó la técnica de SEM para obtener imágenes representativas y la morfología de las microesferas de PMMA, de los ópalos de PMMA y de las Ag-NPs. En todas las mediciones se usó un equipo JSM-7800F, de la marca JEOL. Para el caso de las microesferas de PMMA el voltaje de aceleración del SEM fue de 5 kV, para estas mediciones se tomó una pequeña alícuota de las esferas y se diluyó con agua DI, y luego una gota de esta dispersión se depositó sobre una oblea de silicio (1 x 1 cm) previamente lavada. Las micrografías se tomaron después de la evaporación completa del líquido. A partir de estas, se determinó el diámetro promedio de las esferas, tomando aproximadamente 300 esferas individuales.

2.2.2 Espectroscopia de Rayos-X por Dispersión en Energía

La Espectroscopia de Rayos-X por Dispersión en Energía (EDS, por sus siglas en inglés; *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*) es una técnica comúnmente utilizada para el análisis elemental o en la caracterización química.

Además de la detección de electrones secundarios y retrodispersados, un equipo SEM también puede estar equipado con un detector de rayos-X. Este detector de energía dispersiva mide la energía de los rayos-X creados a través del bombardeo de electrones que golpean la superficie de la muestra. Si un electrón de la capa interna de un átomo es excitado por encima del nivel de Fermi por el haz de electrones incidente proveniente del SEM el átomo se vuelve inestable y, para regresar a su estado basal, otro electrón del orbital siguiente o de cualquier otro llena la vacancia mediante una transición electrónica. Sin embargo, la energía de los orbitales es diferente, y al llenarse el hueco, la diferencia de energía entre los orbitales se libera como radiación característica de rayos-X (ver [Figura 2.5](#)) [147].

La técnica EDS se basa en el hecho de que la estructura química de cada elemento químico es diferente y al excitarlos emiten un patrón característico de rayos-X. Es decir, cada elemento químico emite un rayo-X con determinada energía, longitud de onda y patrón, que es como su huella digital. Por lo tanto, esta técnica se aplica en el estudio de la

composición química de pequeñas partículas de material desconocido, en el análisis de la distribución de la concentración de elementos químicos en una muestra heterogénea, ya sea en un punto específico o en un área (mapeo). Así mismo, es posible determinar la composición química de películas delgadas depositadas sobre un sustrato.

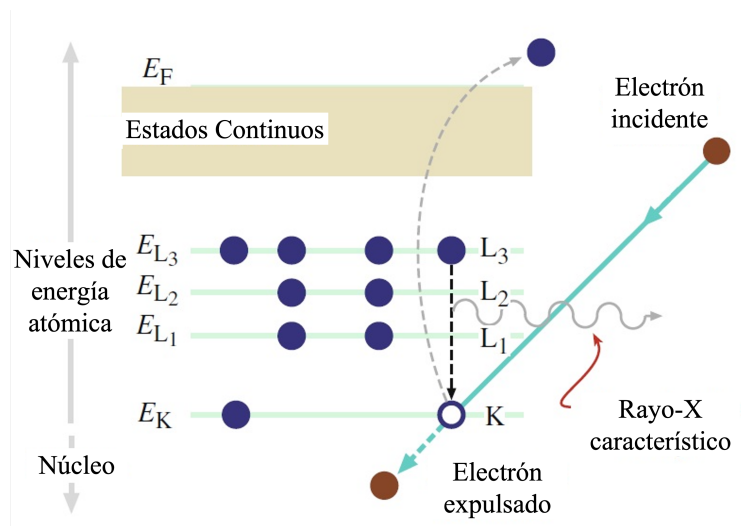


Figura 2.5 Representación de la emisión de rayos-X característicos. El electrón en el haz incidente expulsa un electrón secundario en uno de los orbitales del átomo, lo cual deja inestable al átomo. Para regresar a su estado basal, otro electrón de un orbital distinto llena el hueco; la diferencia de energía debido a la transición del electrón se libera como rayos-X característicos.

La técnica de EDS se caracteriza por analizar todos los elementos de la tabla periódica con número atómico mayor que el berilio ($Z \geq Be$), la concentración mínima de detección varía desde un 0.1% en peso a 1% en peso, con una exactitud en el análisis cuantitativo del 2-5% para elementos con número atómico mayor a 9, y del 5-10% para elementos ligeros como el B, C, N, O y F. El tiempo de análisis controlado por el tiempo de adquisición es menor a 2 minutos, la resolución espacial es de $\approx 1 \mu\text{m}$ y la profundidad del análisis varía desde 0.5 a $10 \mu\text{m}$, según la densidad atómica de la muestra y del voltaje de aceleración.

Generalmente, esta técnica se encuentra integrada en un equipo SEM y funciona de la siguiente manera: la muestra al ser excitada por el haz de electrones acelerados emite un fotón de rayos-X, el cual, al entrar al detector, generalmente de Si-Li, se transforma en un pulso de carga, que después es convertido en un pulso de voltaje por un preamplificador y un procesador de pulsos. Luego, se convierte en una señal digital, que produce una cuenta adicional a un canal específico en un multicanal analizador. Después de un tiempo, las cuentas correspondientes a los elementos químicos en la muestra se acumulan en un canal

diferente, dependiendo de la energía del rayo-X que las produjo, y forman un histograma o espectro de rayos-X.

Para la identificación de los componentes químicos de las muestras en este trabajo se empleó el mismo equipo SEM JSM-7800F de la marca JEOL y un detector marca Oxford Instruments.

2.3.3 Difracción de Rayos-X

La Difracción de Rayos-X (XRD, por sus siglas en inglés; *X-Ray Diffraction*) es una técnica que permite identificar las estructuras cristalinas de materiales sólidos. En DRX, los rayos-X interactúan con la estructura cristalina del material y son parcialmente difractados por los átomos de la red. La parte de los rayos-X que no se difracta pasa al siguiente plano de átomos donde, nuevamente parte de los rayos-X se difracta y el resto pasa al siguiente plano, esto provoca un patrón de difracción global. Si los rayos-X difractados por planos consecutivos están en fase, se produce una interferencia constructiva y el patrón de difracción muestra un pico. Pero, si están desfasados, se produce una interferencia destructiva y no parece ningún pico en el patrón de difracción.

El ángulo en el que se produce la interferencia constructiva, definido por la separación entre los planos de la red y la longitud de onda de los rayos-X sigue la ley de Bragg [148]. Entonces los picos de difracción solo ocurren sí:

$$\sin \theta = \frac{n\lambda}{2d} \quad (2.1)$$

Donde θ es el ángulo incidente del rayo-X, n es un número entero, λ es la longitud de onda del rayo-X incidente y d es el espacio entre los planos de la red atómica. La [Figura 2.6](#) muestra cómo se da el proceso de difracción.

El método de polvos es el método más usado para análisis por XRD. En esta técnica, la muestra a examinar es reducida a un polvo fino que se compone de una gran cantidad de cristales pequeños orientados aleatoriamente, de esta forma, todos los planos de la red son detectados al mismo tiempo. Para el análisis, se emplea un difractómetro de rayos-X, en el cual se usa un haz de rayos-X monocromático (es decir, de una sola longitud de onda) que incide sobre la muestra. Este equipo posee un accesorio que permite cambiar continuamente el ángulo de incidencia del haz; entonces se obtiene un patrón de difracción de la intensidad de difracción en función del ángulo formado entre el haz incidente y el

reflejado. Cada serie de picos, obtenidos en el difractograma, con diferente posición (2θ) e intensidad, corresponde a una familia de planos cristalinos [149].

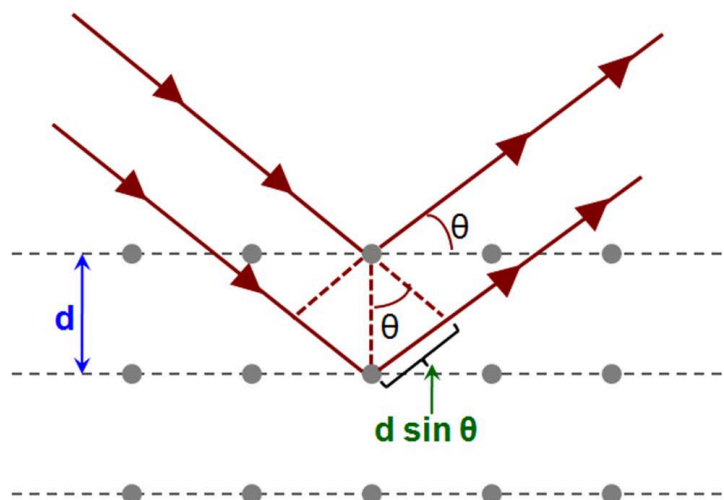


Figura 2.6. Ley de Bragg: se presenta una red cristalina bidimensional y un conjunto de planos imaginarios. Los rayos-X que inciden sobre el cristal en un ángulo θ producen una difracción coherente (en fase) cuando la diferencia en la distancia recorrida ($2d \sin \theta$) es igual a un número entero de la longitud de onda ($n\lambda$).

Como cada fase cristalina tiene un patrón de difracción característico, son las posiciones e intensidades de los picos los que proporcionan información sobre las fases presentes y su estructura cristalina. La identificación se realiza mediante el análisis del patrón de difracción obtenido con fichas PDF (Power Diffraction Files); que son un conjunto de datos con datos cristalográficos de materiales únicos.

Los ópalos de PMMA y los composites Ag/PMMA se analizaron con un difractómetro Panalytical Empyrean que utiliza radiación Cu-K α . El patrón de difracción fue adquirido con un paso de 0.02° y 0.5 s, respectivamente.

2.2.4 Espectroscopia Raman e Infrarrojo

La espectroscopia Raman e Infrarroja (IR) forman parte de la espectroscopia vibracional, lo que significa que miden los niveles de energía vibracional que están asociados con los movimientos de los enlaces químicos en la molécula estudiada. Para la detección de las vibraciones de las moléculas estas técnicas se basan en procesos de absorción infrarroja y dispersión Raman. Ambas técnicas son no-destructivas y no-invasivas, capaces de brindar información detallada sobre la composición molecular, la estructura y las interacciones

dentro de una muestra, por lo que también son útiles para la detección química. Además, presentan la ventaja de que las muestras a examinar pueden estar en estado líquido, sólido y gaseoso.

La espectroscopia Raman e IR son técnicas complementarias y, por lo general, se requieren ambas para medir completamente los modos de vibración de una molécula; aunque algunas vibraciones pueden estar activas tanto en Raman como en IR. En general, la espectroscopia Raman es mejor para vibraciones simétricas de grupos no polares, mientras que la espectroscopia IR es mejor para vibraciones asimétricas de grupos polares.

La radiación infrarroja es radiación electromagnética que cubre la región comprendida entre 12500 cm^{-1} y 10 cm^{-1} . A su vez se divide en tres subregiones: infrarrojo cercano (NIR, por sus siglas en inglés; *Near-Infrared*) que comprende de $12500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ($800\text{--}2500\text{ nm}$). Infrarrojo medio (MIR, por sus siglas en inglés; *Mid-Infrared*) de 4000 a 400 cm^{-1} ($2.5\text{--}25\text{ }\mu\text{m}$) y el infrarrojo lejano (FIR, por sus siglas en inglés; *Far-Infrared*) de 400 a 10 cm^{-1} ($25\text{--}1000\text{ }\mu\text{m}$). Los compuestos orgánicos tienen vibraciones fundamentales en la región del MIR, por lo cual esta región se usa en la espectroscopia infrarroja.

En la espectroscopia de absorción, cuando la radiación IR pasa a través de una muestra la relación entre las intensidades de radiación incidente y transmitida se rige por la ley de Beer-Lambert. El espectro IR se obtiene trazando la intensidad (absorbancia o transmitancia) contra el número de onda, que es proporcional a la diferencia de energía entre el estado fundamental y los estados vibratorios excitados. Existen dos componentes importantes en el proceso de absorción IR: la frecuencia de radiación y el momento dipolar de la molécula. La interacción de la radiación con las moléculas se describe en términos de una condición de resonancia donde la frecuencia de radiación oscilante específica coincide con la frecuencia natural de un modo de vibración normal particular. Para que la energía se transfiera del fotón IR a la molécula a través de la absorción, la vibración molecular provoca un cambio en el momento dipolar de la molécula. Esta es la regla de selección para la espectroscopia IR, ya que requiere un cambio en el momento dipolar durante la vibración para estar activo en IR [150].

A diferencia de la espectroscopia IR, la espectroscopia Raman se basa en fenómenos de dispersión de la luz que es producida por dipolos oscilantes inducidos en la molécula por los campos electromagnéticos (EM) de la radiación incidente. Los fotones dispersos de luz incluyen principalmente dispersión Rayleigh y una cantidad muy pequeña de luz dispersada Raman (ver Sección 1.6.1). El momento dipolar inducido ocurre como resultado de la polarizabilidad molecular, que es la deformación de la nube de electrones alrededor de la molécula inducida por un campo eléctrico.

La dispersión Raman y la absorción IR son técnicas significativamente diferentes por lo que requieren de instrumentación específica para sus mediciones. Para la espectroscopia IR, los espectrómetros se dividen en dos grupos: espectrómetro infrarrojo dispersivo (IR), que utiliza un monocromador de rejilla para dispersar la radiación de una fuente policromática en diferentes elementos espectrales, que luego son medidos por el detector, esto hace que el muestreo sea tedioso y como solo se mide una pequeña porción de la radiación, la intensidad de la señal es bastante débil. Por su parte, el espectrómetro infrarrojo de Transformada de Fourier (FT-IR) utiliza un interferómetro para generar un interferograma, que al tratarlo mediante la transformada de Fourier se obtiene el espectro. En un instrumento FT-IR, todas las longitudes de onda se miden simultáneamente, lo que da como resultado un muestreo más rápido y una mejor relación señal/ruido en comparación con los instrumentos dispersivos. El interferómetro más utilizado es el de Michelson.

En el caso de la espectroscopia Raman, el equipo utilizado generalmente es un espectrómetro micro-Raman, ya que posee un microscopio con el que se observan áreas diminutas de materiales enfocando el láser hasta el nivel de un micrómetro. La disposición de un equipo Raman se ilustra esquemáticamente en la [Figura 2.7](#). Inicialmente, se genera un haz monocromático, luego este haz se enfoca en la superficie de la muestra mediante el microscopio. La luz dispersada Raman, reflejada desde un área pequeña de la muestra es recolectada por el microscopio y enviada al detector. Se utiliza un filtro holográfico para bloquear la luz del láser en el sistema detector junto con la luz dispersada de forma inelástica. Antes de ser registrada por el detector, la longitud de onda de la luz de dispersión Raman se elige mediante un sistema de rejillas de difracción [150].

En este proyecto, la espectroscopia IR se usó para confirmar la obtención de PMMA, para ello se empleó un espectrofotómetro modelo Spectrum One de la marca Perkin Elmer, que posee un accesorio ATR. Las mediciones se hicieron de las microesferas en polvo con una velocidad de barrido de 8 segundos, a una presión de 30 MPa. El espectro se obtuvo en el modo de transmitancia, en la región de $900\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$.

La espectroscopia Raman se empleó en este proyecto para realizar la caracterización estructural de las microesferas de PMMA, para lo cual se usó un equipo LabRAM HR de la marca Horiba Jobin Yvon, con un láser He-Ne ($\lambda=632.8\text{ nm}$) acoplado con un detector CCD (*Charge Couple Detector*, por sus siglas en inglés). El microscopio óptico del sistema se utilizó un objetivo de 50X para seleccionar la región de interés. El espectro se obtuvo en el rango de $200\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$.

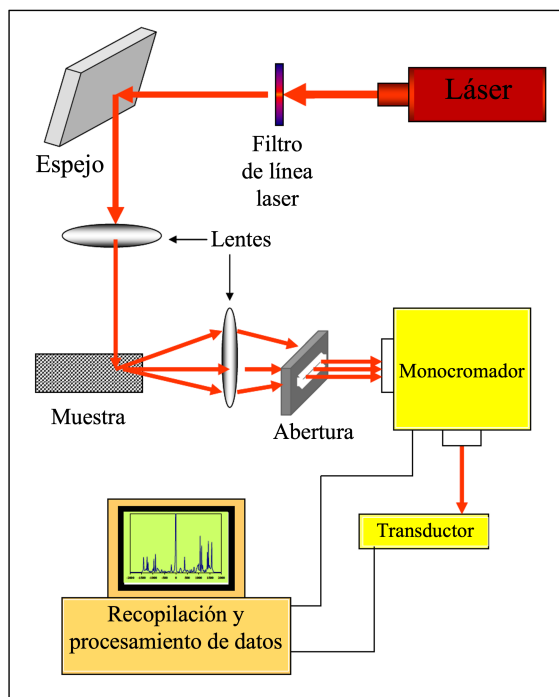


Figura 2.7. Diagrama de un espectrometro Raman con geometría de recolección 90°.

2.2.5 Espectroscopía UV-Vis

En algunas moléculas y átomos, los fotones de luz UV y visible (200-800 nm) tienen suficiente energía para provocar transiciones desde un nivel de energía inferior a un nivel de energía superior. Estas transiciones dan como resultado bandas de absorción en longitudes de onda muy características que denotan las transiciones electrónicas.

La espectroscopia de absorción UV-Vis permite estimar la concentración de las especies absorbentes a partir de las bandas de absorción según la ley de Beer-Lambert

$$\text{Absorbance} = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot C \cdot d \quad (2.2)$$

Si la radiación de la intensidad I_0 (intensidad del haz incidente) pasa a través de una muestra de espesor d , entonces, la intensidad resultante I (intensidad del haz transmitido) disminuye debido a los procesos de absorción. La absorbancia, A , es proporcional a la concentración C y a el espesor d , con la absorptividad molar ε como el factor proporcional. Sin embargo, esta linealidad solo es válida en un determinado rango de concentración de aproximadamente 5000 ppm.

En la espectroscopia UV-Vis existen varias configuraciones incluyendo transmisión, reflectancia difusa y reflectancia especular. En general, el modo de transmitancia se usa en

muestras que tienen cierto grado de transparencia. A menudo, estos materiales son películas delgadas soportadas en sustratos transparentes a la luz visible. La luz incide sobre la muestra de trabajo y se absorbe energía a longitudes onda características correspondientes a las transiciones electrónicas de la muestra. Un espectrómetro recoge la luz transmitida y compara la salida con una medición de referencia que se referencia como 100 % de transmisión (I_0).

En la configuración de reflectancia difusa (DRS, por sus siglas en inglés *Diffuse Reflectance Spectroscopy*), el espectrómetro mide la luz difusa reflejada, en lugar de la luz transmitida de una muestra. Las muestras que mejor se adaptan a esta configuración incluyen polvos y películas soportadas en sustratos metálicos (no permiten la transmisión de luz). Típicamente, para las mediciones de reflectancia especular implica el uso de una esfera integradora para capturar todos los fotones que se reflejan en todas las direcciones de la muestra. La esfera integradora tiene un puerto de entrada conectado a la fuente de luz, un puerto de salida conectado a un medidor de señal que recoge la luz difusa reflejada y una abertura donde se colocan las muestras a analizar para la medición. El interior de la esfera integradora está cubierto con un material altamente reflejante, como politetrafluoroetileno (PTFE) o BaSO_4 [151].

Además de la reflectancia difusa, otra configuración es la reflectancia especular. La reflexión especular ocurre cuando el haz incidente llega a la muestra y se refleja en un ángulo que es igual al ángulo de incidencia. La luz reflejada especularmente no sufre un proceso de absorción y, por lo tanto, contiene poca información sobre transiciones electrónicas en el material. El accesorio de reflectancia especular mide la reflectancia de una muestra en comparación con la luz reflejada de un espejo de aluminio usado como referencia. Por lo general, esta técnica se usa para la medición de la reflectancia de muestras como: películas depositadas en metales y revestimientos de metales.

Las caracterizaciones mediante espectroscopia UV-VIS se realizaron con un espectrómetro UV-Vis-NIR (200–2500 nm) Cary 5000 UV-Vis-NIR de la marca Agilent. Para las mediciones de reflectancia difusa se usó el accesorio DRA-CA-30I y un Labsphere como referencia. Las microesferas de PMMA en polvo se compactaron y se colocaron en el portamuestras. Para las mediciones de reflectancia especular de ángulo variable se usó el accesorio VASRA y un espejo de Al como referencia, las mediciones de las películas de ópalos de PMMA ($\sim 1 \text{ cm}^2$) se realizaron a diferentes ángulos en el intervalo de 20–70°.

2.2.6 Dispersión Dinámica de la Luz y Potencial Zeta

La dispersión dinámica de la luz (DLS, por sus siglas en inglés; *Dynamic Light Scattering*) analiza los cambios en la dispersión de luz láser que se genera al pasarlo a través de una suspensión líquida de micro o nanopartículas que experimentan un movimiento browniano. Se utiliza como una técnica estándar de caracterización de nanopartículas que proporciona información como el diámetro hidrodinámico de las partículas, el peso molecular y la polidispersidad.

Las partículas presentan movimiento browniano durante el cual las más pequeñas se mueven relativamente rápido mientras que las más grandes se mueven relativamente a una velocidad menor. El coeficiente de difusión traslacional, D , se utiliza para definir la velocidad a la que se mueven estas partículas y está relacionado con el diámetro hidrodinámico de las partículas, D_h , mediante la ecuación de Stokes-Einstein que se muestra en la Ecuación 2.3:

$$D_h = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (2.3)$$

donde: D_h es el diámetro hidrodinámico, k es la constante de Boltzmann, T es la temperatura, η es la viscosidad del medio de dispersión y D es el coeficiente de difusión traslacional. El diámetro obtenido es equivalente al diámetro de una esfera dura que se difundiría al mismo ritmo que las partículas de la muestra. Se espera que el valor obtenido para el diámetro hidrodinámico sea mayor que el diámetro real de la partícula porque el movimiento de las partículas en solución está influenciado por el tamaño de la capa de hidratación circundante y, por lo tanto, se ve afectado por la carga superficial de la partícula y la elección del solvente.

En las mediciones, se dirige un haz luz monocromática a través de la suspensión de la muestra y se recoge un patrón de dispersión mediante un detector de fotodiodo de avalancha (APD) colocado a 173° de la trayectoria de la luz en el instrumento. Las fluctuaciones de la intensidad de la luz son monitoreadas por un correlador digital a intervalos de tiempo regulares que normalmente están en el rango de milisegundos. La similitud en la dispersión con la colección anterior se rastrea generando una función de autocorrelación.

Las partículas se mueven a través de una solución con una doble capa eléctrica formada por la capa de Stern y el plano de deslizamiento, que se ilustra en la [Figura 2.8](#). El potencial zeta es el potencial entre el plano deslizante y la solución en general.

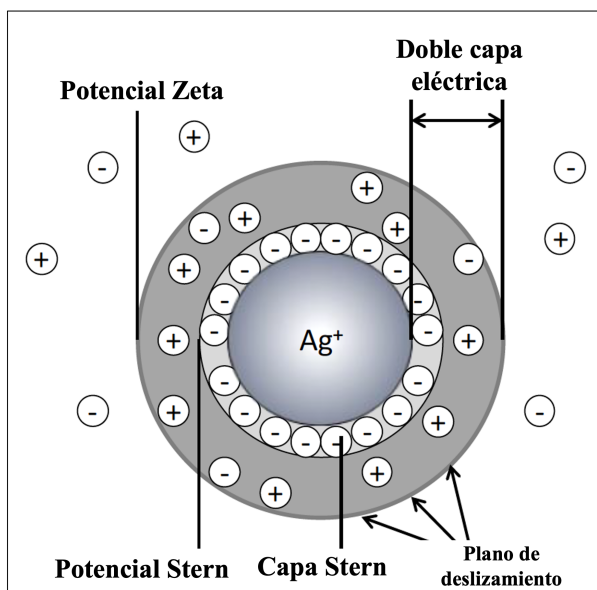


Figura 2.8 Representación esquemática de una nanopartícula de plata en solución

La medición del potencial zeta utiliza la electroforesis que ocurre cuando las partículas cargadas se mueven hacia un electrodo con carga opuesta bajo la aplicación de un campo eléctrico. La velocidad a la que se mueven las partículas se conoce como movilidad electroforética, U_E , y está relacionada con el potencial Zeta (ζ) mediante la ecuación de Henry [9] que se muestra en la Ecuación 2.4:

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(ka)}{3\eta} \quad (2.4)$$

donde ε es la constante dieléctrica del medio, η es la viscosidad del medio de dispersión y $f(ka)$ es la función de Henry. En esta función, a es el radio de la partícula y k se conoce como el parámetro de Debye-Hückel, su inverso (k^{-1}) tiene dimensiones de longitud y representa la distancia a la cual el potencial ζ disminuye, recibiendo el nombre de espesor de la doble capa eléctrica. $f(ka)$ depende de la forma de la partícula, que se establece con un valor de 1.5 para mediciones realizadas en soluciones acuosas según la aproximación de Smoluchowski [152].

La configuración óptica utilizada en el Zetasizer para medir el potencial Zeta consta de un láser de 633 nm que pasa a través de un divisor de haz, dividiendo la fuente de luz en dos haces: un incidente y un haz de referencia. El haz incidente viaja a través de la celda de muestra capilar electroforética, a la que se aplica un voltaje alterno, y luego se dispersa a 17° hacia la óptica de combinación donde se combina con el haz de referencia antes de ser

recolectado en el detector. El software produce un espectro de frecuencia que se utiliza para calcular el potencial Zeta.

En este trabajo de investigación, la técnica DLS se empleó para determinar los diámetros promedio y los índices de polidispersidad (PDI) de las esferas de PMMA y las Ag-NPs. Se empleó un equipo Nano Zetasizer de la marca Malvern Instruments. El haz de luz del DLS se aplicó a un ángulo de 173° usando un láser de He-Ne de 4 mW operando a 633 nm. Los valores de PDI correspondiente a la distribución de tamaño de las partículas se obtuvieron directamente del software proporcionado por el equipo. Para la preparación de las muestras para el análisis, las suspensiones de PMMA y de nanopartículas metálicas obtenidas fueron diluidas con agua DI antes de las mediciones. Los diámetros promedio y las distribuciones de tamaño reportados aquí son el promedio de tres mediciones consecutivas, cada una de las cuales incluyo 10 corridas individuales.

2.3 Estudio de los Sustratos SERS

2.3.1 Preparación de los Sustratos SERS

Las películas del composito Ag/PMMA obtenidos en este proyecto fueron empleados como sustratos SERS, para ello, se usaron directamente como se obtuvieron (ver Sección 2.1.4). Sin embargo, para un estudio comparativo también se evaluó la eficiencia de sustratos SERS basados únicamente en las Ag-NPs obtenidas. Para la preparación de estos sustratos se utilizó la técnica de evaporación.

Se usaron obleas de Si cristalino de tipo-n con dimensiones de 10 mm x 10 mm, igual que en los casos anteriores, las obleas se lavaron previamente con una solución piraña. Después, se depositaron directamente sobre la oblea 50 μ L de la solución de Ag-NPs 0.94 mM y se eliminó el solvente por evaporación durante 1 hora a una temperatura de 70 $^\circ$ C en un horno tubular (Thermocientific Lindberg/Blue M; Modelo: TF55030A-1; tubo de trabajo de cuarzo) usando un flujo de gas N_2 (0.2 cm^3/s) constante para evitar la oxidación de las Ag-NPs; a este sustrato SERS se le denominó Ag-S1. Se prepararon dos sustratos más aumentando la concentración de las Ag-NPs a 1.41 mM y 1.88 mM, los sustratos se identificaron como Ag-S2 y Ag-S3, respectivamente. Cabe destacar que se cuidó que la concentración de las Ag-NPs fuera la misma en los sustratos SERS basados en Ag-NPs y los basados en los compositos Ag/PMMA con la intención de que la cantidad de Ag-NPs no fuera una variable a considerar cuando se comparen las eficiencias SERS entre los sustratos con la misma concentración de Ag-NPs.

2.3.2 Azul de Metileno

Para evaluar la eficiencia de los sustratos SERS obtenidos en este proyecto se usó azul de metileno (AM) como molécula de prueba. Se eligió el AM debido a su prevalencia en la investigación de sustratos SERS [153]–[155] y su capacidad de adsorberse [156]. Además, estudios recientes muestran que la exposición a AM tiende a causar efectos adversos para la salud humana, como vómitos, shock y necrosis tisular [157], [158], lo que lleva a que la identificación de AM en bajas concentraciones resulte de vital importancia. Por estas razones, el AM es una molécula prueba ideal para observar y cuantificar adecuadamente la dispersión Raman en los sustratos obtenidos.

En la [Figura 2.9](#) se muestra el espectro Raman del polvo de AM en estado sólido como referencia; esto con el fin de determinar las bandas asociadas al AM en ausencia de interferencias causadas por el agua. Esta medición también sirvió para verificar la pureza del reactivo y comparar el comportamiento de la molécula en estado sólido, en solución acuosa y como adsorbato sobre los diferentes sustratos SERS utilizados. Por su parte, en la [Figura 2.9b](#) se presenta el espectro Raman del AM en solución acuosa a una concentración $200 \mu\text{M}$ ($2 \times 10^{-4} \text{ M}$), depositado sobre una oblea de Si.

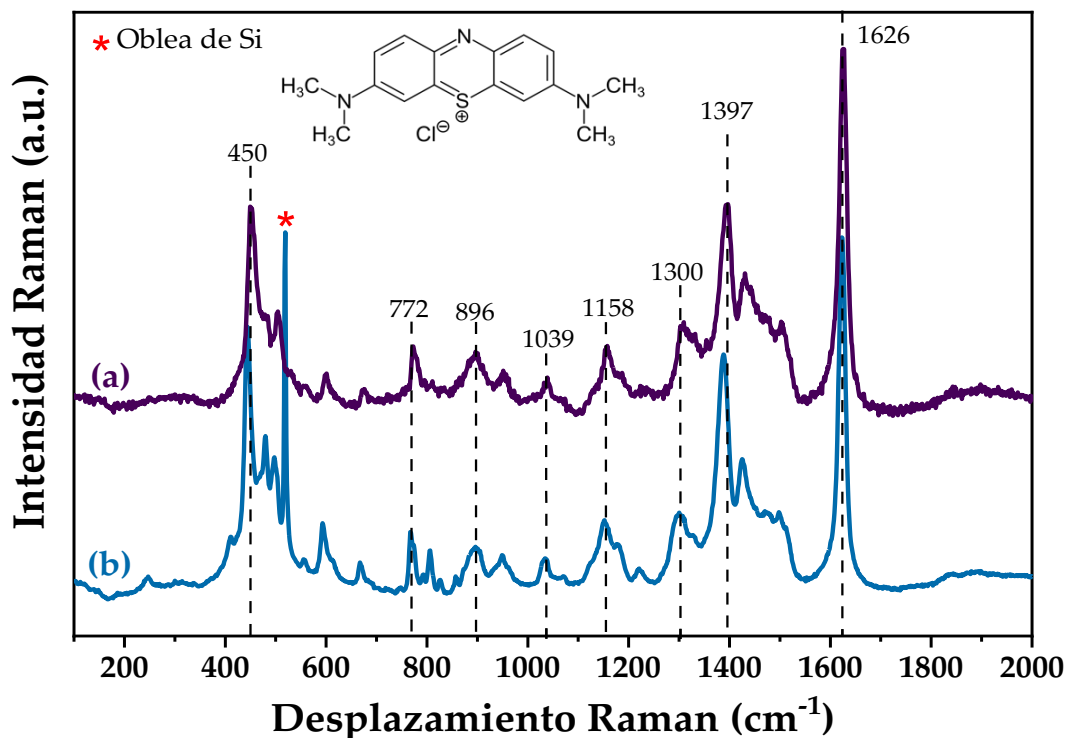


Figura 2.9 (a) Espectro Raman del polvo de AM sólido, (b) espectro Raman obtenido a partir de la solución acuosa de AM con una concentración $200 \mu\text{M}$ ($2 \times 10^{-4} \text{ M}$) soportado en una oblea de Si.

Como se aprecia en la [Figura 2.9](#), ambos espectros muestran una excelente concordancia, lo que indica de manera general que no hay interferencia del disolvente (agua) en las mediciones Raman. La asignación de las bandas del AM tanto en estado sólido como en solución acuosa se realizó en base a los datos reportados en la literatura [154], [159], [160], como a continuación se discute.

En los espectros de la [Figura 2.9](#), las bandas más intensas y definidas se ubican en 443, 497, 767, 1034, 1152, 1300, 1388, 1425 y 1626 cm^{-1} para la solución de AM depositada sobre la oblea de Si. En cuanto al polvo de AM las bandas más intensas y bien definidas se localizan en 450, 504, 772, 1039, 1158, 1309, 1397, 1430 y 1626 cm^{-1} , la diferencia en las posiciones de las bandas de la solución depositada en la oblea de Si con respecto al cristalito sólido de AM no es significativa y sólo se debe a la interacción con el solvente (agua). Por lo tanto, la asignación de las bandas es correspondiente entre ambos espectros. Sin embargo, en el espectro correspondiente a la solución de AM depositada en la oblea de Si se observa una banda muy intensa ubicada en 519 cm^{-1} (ver [Figura 2.9b](#)) que no se observa en el espectro correspondiente al AM en polvo, esta banda se debe a la oblea de Si que es el soporte usado para las mediciones de las soluciones de AM.

La asignación completa de las bandas correspondientes a cada espectro de AM se presenta en la [Tabla 2.2](#).

Tabla 2.2 Asignación de bandas Raman observados del polvo de AM en estado sólido y del sólido obtenido a partir de la solución acuosa de AM con una concentración 200 μM (2×10^{-4} M) soportado en una oblea de Si.

Banda Raman AM sólido (cm^{-1})	Banda Raman AM en oblea de Si (cm^{-1})	Asignación
450	443	Deformación esquelética del enlace C–N–C
504	497	Deformación esquelética del enlace C–N–C
601	593	Deformación esquelética del enlace C–S–C
676	667	Flexión en el plano del anillo C–C–C
772	767	Flexión en el plano del enlace C–H
896	896	Flexión en el plano del enlace C–H
951	950	Flexión en el plano del enlace C–H
1039	1034	Flexión en el plano del enlace C–H y C–S
1158	1152	Flexión en el plano del enlace C–H
1309	1300	Deformación en el plano del anillo C–H
1397	1388	Estiramiento simétrico del enlace C–N
1430	1425	Estiramiento asimétrico del enlace C–N
1502	1498	Estiramiento simétrico del enlace C–C
1626	1626	Estiramiento del enlace del anillo C–C

2.3.3 Preparación de las Soluciones Estándar

Las soluciones estándar, consisten en soluciones en las que se conoce con precisión la concentración de AM. Para su obtención primero se preparó una solución “madre” de AM con una concentración de 2×10^{-4} M (AM, Hycel de México, 99%) y se diluyó para obtener cinco soluciones con concentraciones más bajas: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 μM .

Para monitorear si la concentración de las soluciones estándar es la adecuada, se usó espectroscopia de absorción UV-Vis. Para ello, primero se tomaron los espectros de absorción UV-Vis de las soluciones estándar (ver [Figura 2.10a](#)). Después, de los espectros obtenidos, se determinaron los valores máximos de absorbancia en cada caso, que para la molécula de AM ocurre a una longitud de onda de 664 nm. Posteriormente, se graficó el valor de la absorbancia en 664 nm en función de la concentración (ver [Figura 2.10c](#)). De acuerdo con la Ley de Beer, la relación entre estos parámetros debe ser lineal, por lo tanto, se hace un ajuste lineal de los datos obtenidos, el factor de correlación ($R^2=0.995$) nos indica que se cumple la Ley de Beer, y por lo tanto la dilución de la solución madre para la obtención de las soluciones estándar se realizó adecuadamente.

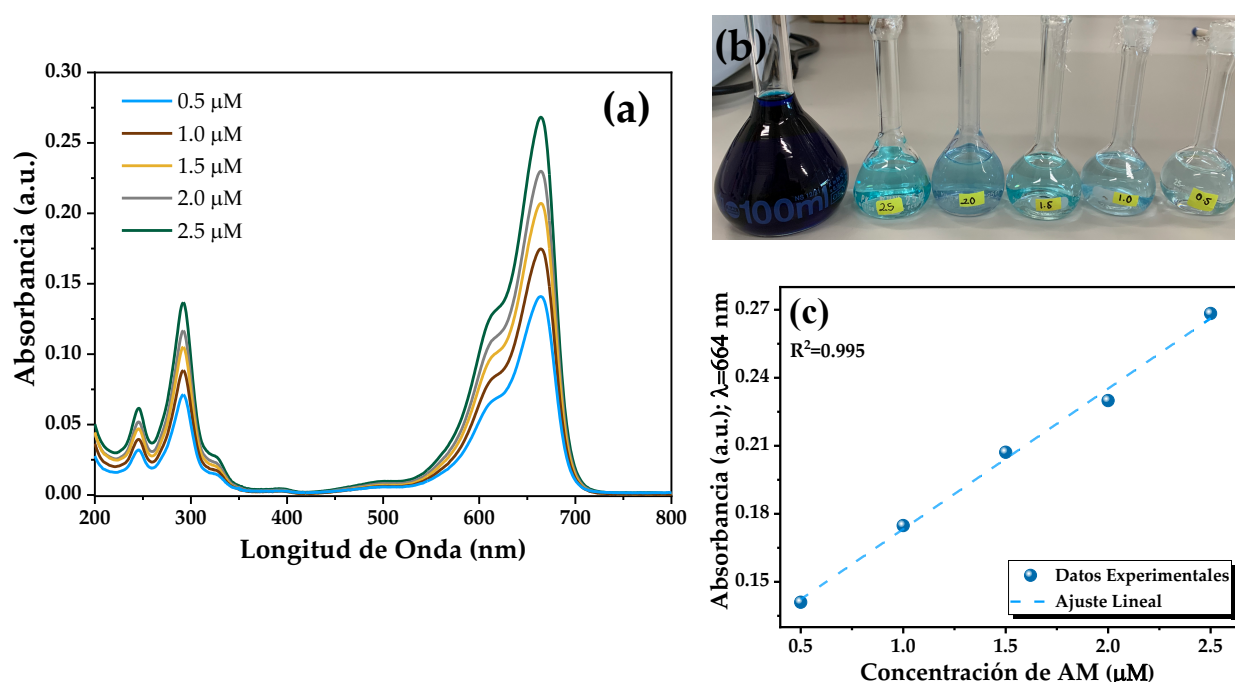


Figura 2.10 (a) Espectros de absorción de AM de las soluciones estándar con concentración conocida, (b) fotografías de las soluciones estándar y (c) Curva de calibración.

2.3.4 Procedimiento para las Mediciones de SERS

Para las mediciones Raman usando los sustratos SERS, inicialmente se realizó el estudio de las soluciones estándar mediante micro-Raman, para ello se depositó una gota con volumen de 50 μL de las soluciones estándar sobre las obleas de Si, previamente tratadas con solución piraña. Para eliminar el solvente se secaron a 50° C durante 30 minutos en un horno tubular (Thermocientific Lindberg/Blue M; Modelo: TF55030A-1; tubo de trabajo de cuarzo) usando un flujo de gas N_2 constante (0.2 cm^3/s). Posteriormente, se obtuvo el espectro Raman de las obleas con AM empleando para ello un espectrómetro micro-Raman Horiba Jobin Yvon LabRAM HR con un microscopio Olympus BX41 acoplado al sistema y un láser He-Ne (longitud de onda de 632.8 nm) como fuente de excitación, los parámetros de adquisición para las mediciones se resumen en la [Tabla 2.3](#).

Para el análisis con los sustratos SERS se realizó un procedimiento similar al detallado previamente. Se depositó una gota con volumen de 50 μL de las soluciones estándar sobre cada uno de los sustratos SERS. Se eliminó el solvente mediante evaporación bajo las mismas condiciones anteriormente descritas, y se obtuvo el espectro micro-Raman de los sustratos SERS con AM. Los parámetros de adquisición se resumen en la [Tabla 2.3](#), para todas las mediciones las condiciones de trabajo fueron las mismas.

Tabla 2.3 Parámetros de adquisición de los espectros Raman usados en los experimentos de SERS

Parámetro	Valor
Láser	He-Ne; $\lambda = 632.8 \text{ nm}$
Poder del láser	9.26 mW
Tiempo de adquisición	5 s
Número de mediciones	10
Slit	200 μm
Hole	200 μm
Objetivo del microscopio	X50
Diámetro del punto láser	4 μm
Intervalo de mediciones	100-2000 cm^{-1}
Filtros	D 0.3, D 0.6, D 1, D 2 y D 3.

Capítulo 3

Resultados y Discusión

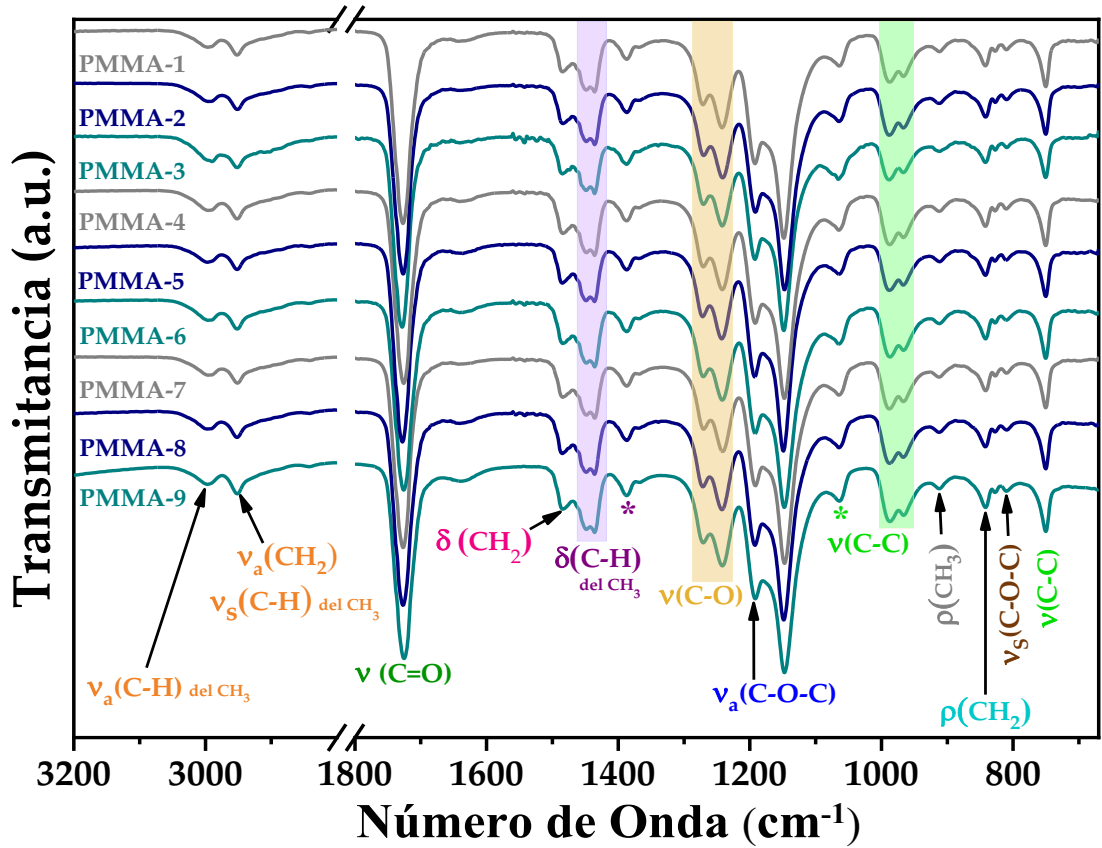
En este capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos de las caracterizaciones estructurales, morfológicas y ópticas de las microesferas de PMMA, las Ag-NPs y los compositos Ag/PMMA obtenidos. Por otra parte, se presentan los resultados de la eficiencia de los materiales obtenidos como sustratos SERS.

3.1. Microesferas de PMMA

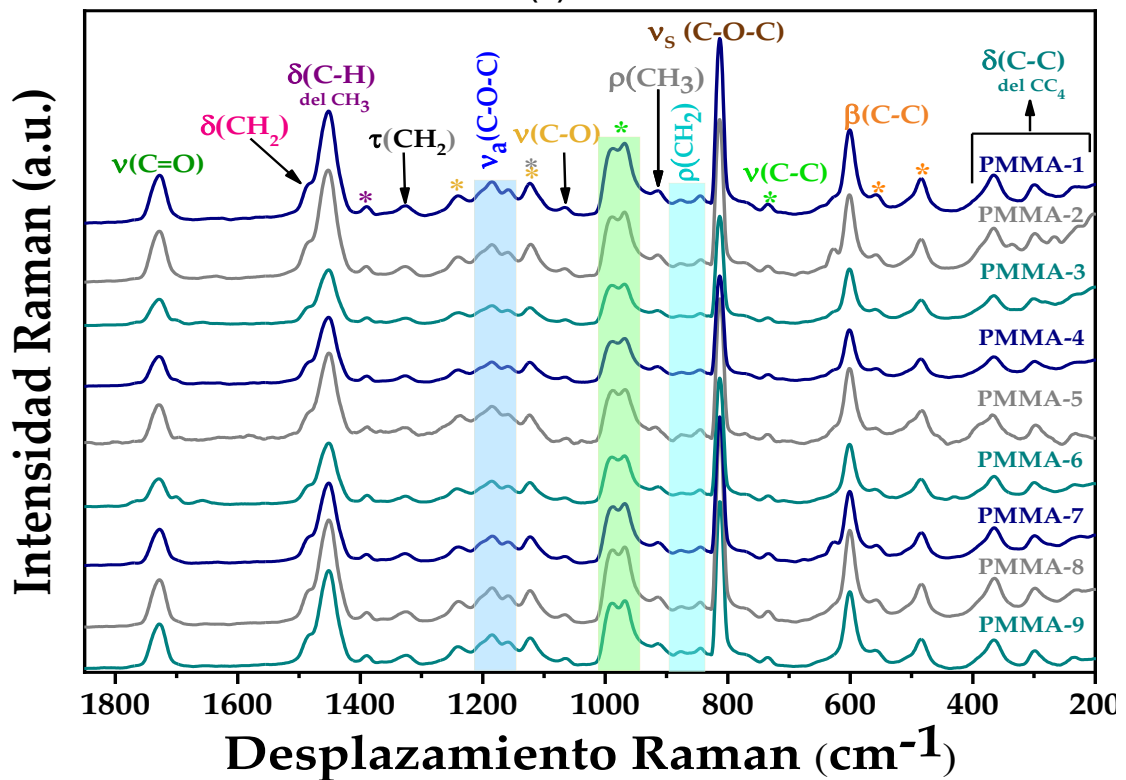
Las caracterizaciones más significativas de las dispersiones coloidales son el tamaño y la distribución de tamaño. Aunque la mayoría de las dispersiones de interés científico y tecnológico están compuestas de partículas que difieren enormemente en tamaño y pueden tener formas irregulares, las partículas sintetizadas por el método SFEP son normalmente esféricas y su distribución de tamaño es razonablemente estrecha (monodispersa). La Dispersión Dinámica de la Luz y la Microscopía Electrónica de Barrido se utilizaron para determinar los tamaños y características de las microesferas de PMMA. En cuanto a la caracterización estructural se realizó mediante espectroscopia FT-IR, micro-Raman y Difracción de rayos-X.

3.1.1 Análisis FT-IR y Micro-Raman

La síntesis de las microesferas de PMMA se confirmó mediante sus espectros FT-IR y micro-Raman que se muestran en la [Figuras 3.1a-b](#), respectivamente. La estructura del PMMA está compuesta por el grupo éster, un grupo metileno (CH_2) y dos grupos metilo (CH_3). Por lo tanto, las bandas presentes en los espectros corresponden a modos vibracionales de estos grupos.



(a)



(b)

Figura 3.1. (a) Espectro FT-IR y (b) micro-Raman de las microesferas de PMMA obtenidas.

El grupo metilo presenta estiramientos simétricos y asimétricos que se han asignado a las bandas ubicadas en 2999 y 2952 cm^{-1} en el espectro FT-IR. Las bandas observadas en las frecuencias 1448, 1448, 1436 y 1387 cm^{-1} en el espectro FT-IR y en 1452 y 1390 cm^{-1} en el espectro micro-Raman se deben a los modos de deformación del enlace C-H del grupo metilo. En el caso de las bandas ubicadas en 1123 y 914 cm^{-1} en el espectro micro-Raman y 912 cm^{-1} en el espectro FT-IR se han asignado a los modos de balanceo del CH_3 [161]. El grupo metileno también presenta un modo vibracional de estiramiento simétrico que se observa en el espectro FT-IR a 2952 cm^{-1} . Y los modos de deformación son observados en 1484 y 1481 cm^{-1} en FT-IR y micro-Raman, respectivamente. La banda que se encuentra en 1326 cm^{-1} en el espectro micro-Raman se debe al modo de torsión del enlace C-H. Finalmente, los modos vibracionales de balanceo corresponden a las bandas en 877 y 875 cm^{-1} presentes en el espectro micro Raman y en 842 cm^{-1} en el espectro FT-IR [162]. La presencia de la banda que corresponde al enlace C=O generalmente se encuentra en la región de 1500-2000 cm^{-1} , en este caso se encontró el modo de estiramiento que está ubicado en 1727 y 1728 cm^{-1} en el espectro FT-IR y Raman, respectivamente. En el caso de los modos de estiramiento del enlace C-O estos se encontraron en la región de 1000-1400 cm^{-1} en ambos espectros. A pesar de que la presencia de las bandas que corresponden al enlace C-C es más evidente en el espectro micro-Raman, las bandas asignadas al modo de estiramiento en la región de 900-1000 cm^{-1} se encuentran en ambos espectros. Pero en el caso de las flexiones en el plano correspondientes a este enlace, solo se observan en micro-Raman en 484, 558 y 601 cm^{-1} . También, en el espectro micro-Raman, en la región de 400-200 cm^{-1} se presentan bandas que corresponden a los modos de deformación del enlace C-C. Las bandas restantes se asignaron a los modos vibracionales de estiramiento simétricos y asimétricos del enlace C-O-C. En el espectro micro-Raman se observaron en 813, 1159 y 1185 cm^{-1} . Mientras que en el espectro FT-IR están ubicadas en 810, 1242 y 1271 cm^{-1} [162].

3.1.2 Análisis SEM y DLS

La Figura 3.2 muestra micrografías SEM a X5,000 y X10,000 de las microesferas de PMMA preparadas. Además, se presentan los correspondientes histogramas de distribución de tamaño que aparecen en los insertos en cada micrografía.

Como anteriormente se mencionó, se prepararon microesferas de PMMA manteniendo fija la cantidad de monómero en 285 mmol mientras se variaba la cantidad de iniciador en 0.55, 1.10 y 1.65 mmol. De acuerdo con las imágenes SEM, con 0.55 mmol de iniciador se obtuvieron microesferas de PMMA con un diámetro medio (D_m) de 298 nm ($\sigma = \pm 8$ nm),

para 1.10 mmol se obtuvo un $D_m=273$ nm ($\sigma = \pm 7$ nm) y para 1.65 mmol de iniciador el D_m de las microesferas fue de 249 nm ($\sigma = \pm 7$ nm). Así, en base a estas micrografías SEM inferimos que la influencia del iniciador está en el tamaño de las microesferas de PMMA, a menor cantidad de iniciador mayor diámetro de las microesferas. En las micrografías SEM a $10\ 000\times$ (Figura 3.2(b), (d) y (f)) se observa con más detalle que todas las partículas de PMMA tienen forma esférica. Este resultado confirma el término esférico que se ha utilizado en el texto.

Las microesferas de PMMA también se analizaron mediante DLS. Los valores del diámetro hidrodinámico (D_h) se enumeran en la Tabla 3.1. Se encontró que los diámetros de las microesferas de PMMA medidos por DLS son mayores que los dados por los histogramas de distribución en las micrografías SEM, (ver Figura 3.2). Esta diferencia se debe a que las mediciones de DLS se realizaron a partir de microesferas de PMMA en solución acuosa; entonces, se debe considerar la formación de una capa molecular de agua en la superficie de las microesferas de PMMA. La formación de esta capa se debe a los puentes de hidrógeno en la protonación de la superficie de las microesferas de PMMA que da lugar a una carga superficial positiva.

Los índices de polidispersidad (PDI) correspondientes también se enumeran en la Tabla 3.1. En todos los casos, los valores de PDI son inferiores a 0.1, lo que indica una distribución uniforme de las microesferas [152].

Tabla 3.1 Condiciones de síntesis de las microesferas de PMMA, diámetro medio medido por SEM (D_m), diámetro hidrodinámico medido mediante DLS (D_h), PDI y valores de potencial zeta (ζ)

Muestra	Monómero (mmol)	Iniciador (mmol)	D_m (nm)	D_h (nm)	PDI	ζ (mV)
PMMA-1	190	1.65	235 ± 9.0	292 ± 17.1	0.034	47.3 ± 5.3
PMMA-2	190	1.10	244 ± 11.2	301 ± 17.3	0.023	43.9 ± 5.2
PMMA-3	190	0.55	247 ± 15.1	303 ± 17.4	0.069	47.2 ± 5.5
PMMA-4	285	1.65	298 ± 8.0	390 ± 19.7	0.045	51.1 ± 5.4
PMMA-5	285	1.10	273 ± 7.0	380 ± 19.5	0.034	48.5 ± 49.7
PMMA-6	285	0.55	249 ± 7.0	360 ± 19.0	0.042	49.7 ± 5.4
PMMA-7	380	1.65	323 ± 9.0	413 ± 20.3	0.083	46.1 ± 4.9
PMMA-8	380	1.10	311 ± 8.1	398 ± 20.0	0.082	41.4 ± 4.4
PMMA-9	380	0.55	306 ± 11.0	379 ± 19.5	0.088	46.1 ± 4.8

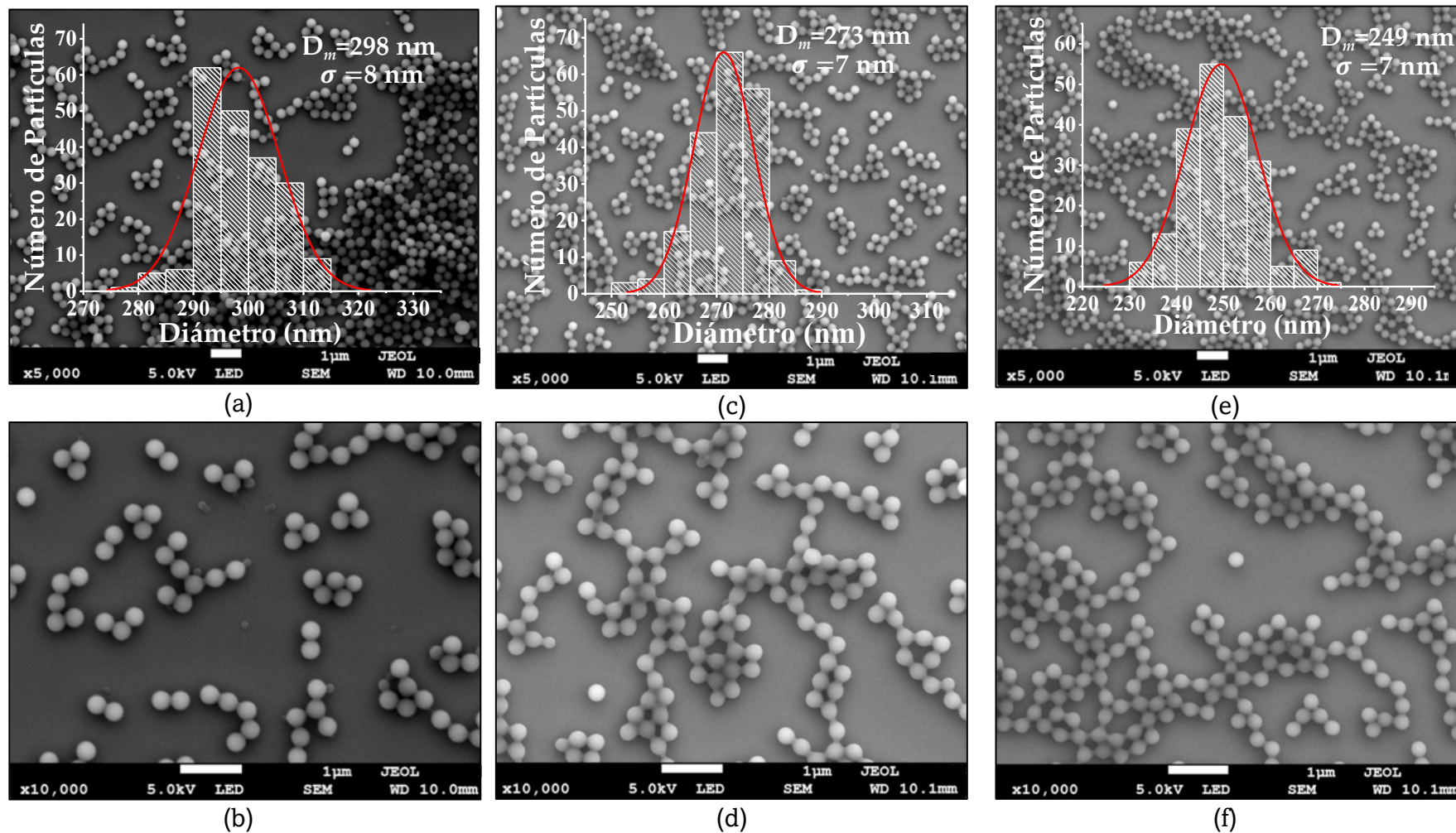


Figura 3.2 Micrografías SEM de las microsferas de PMMA que muestran la formación con 285 mmol de monómero y: (a-b) 1.65 mmol de iniciador, (c-d) 1.10 mmol de iniciador y (e-f) 0.55 mmol de iniciador. Los insertos presentan los histogramas de distribución de tamaño de las microsferas de PMMA de cada muestra.

Para una mejor visualización, los datos de la [Tabla 3.1](#) se representan en la [Figura 3.3a](#) que muestra el diámetro de las microesferas de PMMA frente a la cantidad de monómero a una cantidad constante de iniciador. Se observa una tendencia no lineal de los diámetros de las microesferas de PMMA a medida que aumentan los mmol de monómero; esta tendencia es seguida tanto por las medidas de los diámetros SEM y DLS. Este comportamiento está de acuerdo con los resultados obtenidos por Waterhouse et.al. [5], Nandiyanto et.al. [40] y Yohanala et.al. [43], incluso cuando sintetizaron PS, como se puede apreciar de mejor forma en la [Tabla 3.2](#). En la [Figura 3.3b](#), se ve que, para cantidades fijas de monómero (285 y 380 mmol) con cantidades variables de iniciador (0.55, 1.10 y 1.65 mmol), el diámetro de las microesferas de PMMA aumenta linealmente. Sin embargo, cuando la cantidad de monómero se fija en 190 mmol con cantidades variables de iniciador (0.55, 1.10 y 1.65 mmol), el diámetro de las microesferas de PMMA disminuye linealmente.

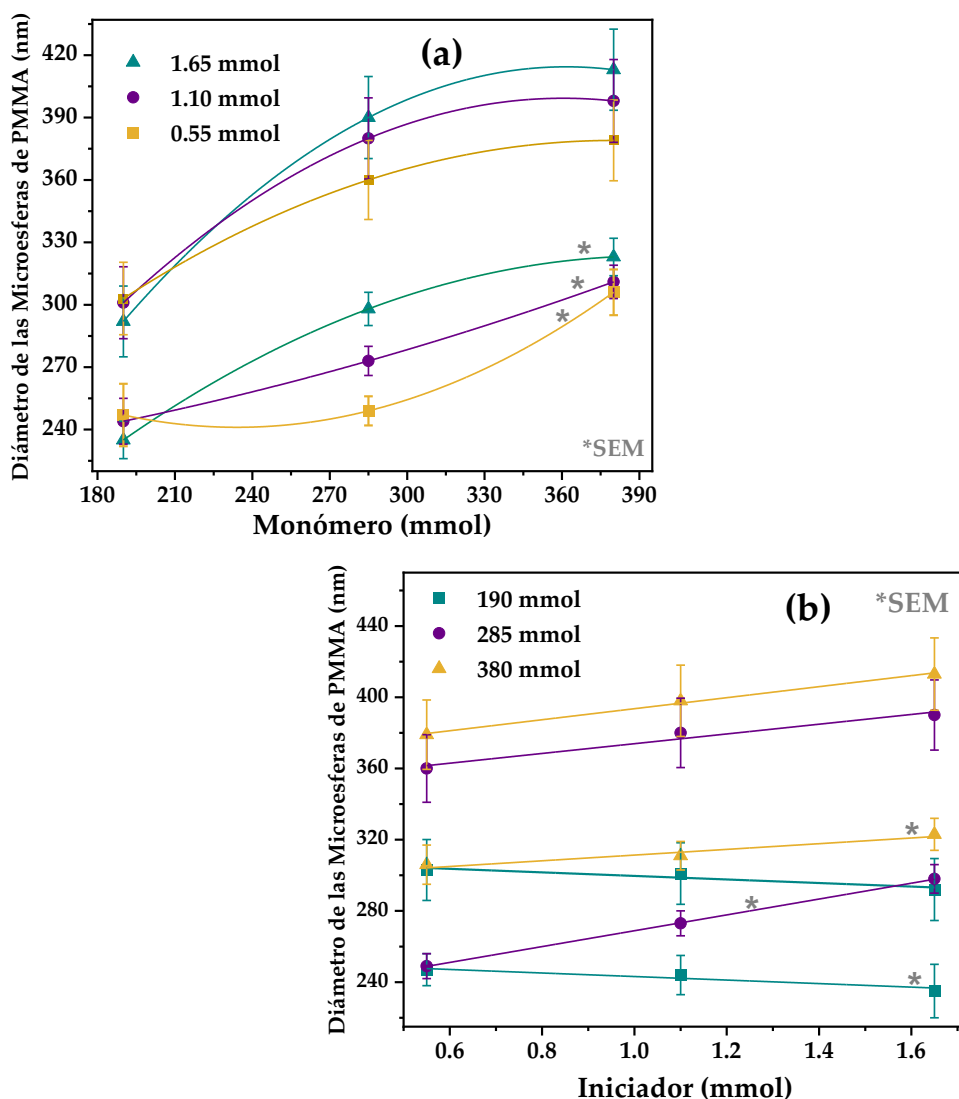


Figura 3.3 (a) Gráfica del diámetro de las microesferas vs mmol de MMA y (b) diámetro de las microesferas vs mmol de iniciador. Los diámetros se midieron por SEM (*) y DLS.

Este resultado es inesperado, aunque está de acuerdo con las tendencias reportadas por Yamamoto et al. [42] quienes, para cantidades de monómero fijadas en 380 y 285 mmol con cantidades variables de iniciador (0.55, 1.10 y 1.65 mmol), los D_m de las microesferas tendieron a aumentar. Sin embargo, para una cantidad fija de monómero de 190 mmol con las mismas cantidades crecientes de iniciador, D_m tiende a disminuir. Este resultado inesperado está en desacuerdo con lo informado por Waterhouse et al. [5], probablemente porque variaron dos parámetros simultáneamente: la cantidad de monómero y la temperatura (ver [Tabla 3.2](#)). En este sentido, se destaca esta investigación ya que los experimentos aquí son más fiables que los de Waterhouse et al. [5], debido a que se varió un solo parámetro de síntesis a la vez.

En la [Figura 3.3\(b\)](#) se observa que, para una cantidad fija de monómero (190 mmol) cuando se duplica la cantidad de iniciador de 0.55 a 1.10 mmol, el diámetro de las microesferas de PMMA permanece prácticamente constante. Lo mismo ocurre cuando la cantidad de iniciador se triplica a 1.65 mmol. Por lo tanto, inferimos que el monómero actúa como agente reactivo limitante durante la reacción. Es decir, una vez que el monómero ha reaccionado, inhibe la formación de más microesferas o inhibe el aumento del tamaño de las esferas. Así, aunque la cantidad de monómero es mucho mayor que la cantidad de iniciador, este último debe ser una pequeña cantidad para ser considerado un catalizador de reacción.

Tabla 3.2. Efecto de la variación de monómero e iniciador en la síntesis de varios polímeros utilizando el método SFEP.

Polímero	Iniciador	Monómero	T (°C)	Efecto del monómero en el D_m	Efecto del iniciador en el D_m	Ref.
PMS	V-50 4.23 mM 22.3 mM	Metilestireno 424 mM	70		D_m disminuye con el aumento de la concentración del iniciador.	[37]
PS	KPS 0.05, 0.2 g	Estireno 5%, 10%, 14% (v/v)	80	El monómero se varió entre cantidades. El D_m de las esferas de poliestireno aumentó de 223 a 316 nm cuando se incrementó la concentración del monómero estireno.	Cuando la concentración de monómero de estireno se mantuvo constante al 10 % (v/v), el D_m de las esferas de PS disminuyó de 249 nm utilizando 0.05 g de iniciador a 181 nm utilizando 0.2 g de iniciador.	[43]

Tabla 3.2. Efecto de la variación de monómero e iniciador en la síntesis de varios polímeros utilizando el método SFEP (continuación).

Polímero	Iniciador	Monómero	T (°C)	Efecto del monómero en el D_m	Efecto del iniciador en el D_m	Ref.
PMMA	V-50 0.75 to 3.0 g	Metilmetacrilato 300 to 400 ml	70 a 80	D_m incrementa de 364 nm a 415 nm cuando la cantidad de monómero aumenta de 300 a 400 ml con 1.5 g de iniciador fijo y $T=70$ °C.	El efecto de la cantidad de iniciador no es concluyente porque la cantidad de monómero y la temperatura varían simultáneamente.	[5]
PS	AIBA 0.0008, 0.004, 0.008, 0.04 wt%	Estireno 0.40, 0.80, 2.0 wt%	55 a 90	Para cada cantidad de iniciador, el monómero se varió a tres diferentes cantidades. Se observó una tendencia similar: el D_m aumentó a medida que aumentó la cantidad de monómero.	Para cada cantidad de monómero, el iniciador se varió en cuatro cantidades distintas. Se observó una tendencia similar: el D_m incrementó a medida que se incrementó la cantidad de iniciador.	[40]
PMMA	V-50 0.034, 0.061, 0.186 g	Metilmetacrilato 28.3, 14.2, 2.83 g	70		Para cantidades fijas de monómero: 28.3, 14.2 g, al aumentar el iniciador, D_m aumenta. Para una cantidad fija de monómero: 2.83 g, al aumentar el iniciador, D_m disminuye.	[42]
PMMA	V-50 0.55, 1.10, 1.65 mmol	Metilmetacrilato 190, 285, 380 mmol	75	Para cada cantidad de iniciador, el monómero se varió. En todos los casos se observó una tendencia no lineal similar: el D_m aumenta a medida que aumenta la cantidad de monómero.	Para cantidades fijas de monómero: 380 y 285 mmol, al aumentar el iniciador, aumentó el D_m . Para una cantidad fija de monómero: 190 mmol, al aumentar el iniciador, D_m disminuyó.	Este trabajo

PMS: polimetilrestireno; PS: poliestireno; PMMA: polimetilmetacrilato.

En la [Tabla 3.1](#), también se enumeran los valores de potencial ζ obtenidos a partir de microesferas de PMMA; se encuentran en el intervalo de 41.4 a 51.1 mV. Por lo tanto, se concluye que las dispersiones son estables [\[152\]](#). También es importante mencionar que no se encontró relación entre las variables de reacción utilizadas en este estudio. Yamamoto y Higashitani [\[163\]](#) han sugerido que un potencial ζ positivo para las microesferas de PMMA está asociado a los grupos funcionales en el iniciador V50. Si este fuera el caso, las bandas correspondientes a las vibraciones C-N y N-H estarían presentes en los espectros FT-IR y Raman. Dado que, en los espectros correspondientes del conjunto de microesferas, estas bandas no están presentes (ver [Figura 3.1a-b](#)), se infiere que el potencial ζ es positivo debido a la protonación del grupo carboxilo, como se ilustra esquemáticamente en la [Figura 3.4](#) y se confirma con el pH = 3.30 medido a partir de las dispersiones coloidales de las microesferas de PMMA.

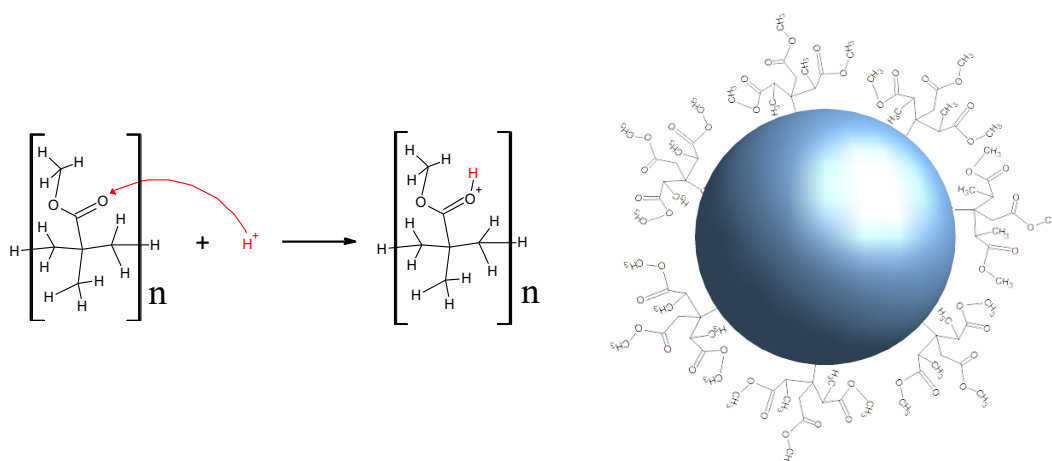


Figura 3.4. Ilustración esquemática de la reacción de protonación del grupo carboxilo que rodea la superficie de la microesfera de PMMA.

3.1.3 Análisis DRS

La [Figura 3.5](#) muestra los espectros de reflectancia difusa (expresados como absorbancia) en el intervalo UV-Vis-NIR de las microesferas de PMMA en forma de polvo, sintetizadas con diferentes condiciones de reacción. Todos los espectros en la región UV (200 a 400 nm) muestran un borde de absorción pronunciado, mientras que en la región visible (400 a 800 nm), la absorción es baja y prácticamente constante. En la región NIR (800 a 2500 nm) están presentes siete bandas relacionadas con las vibraciones de los enlaces C-H y C-O. A continuación, se realiza un análisis detallado de las bandas en la región NIR.

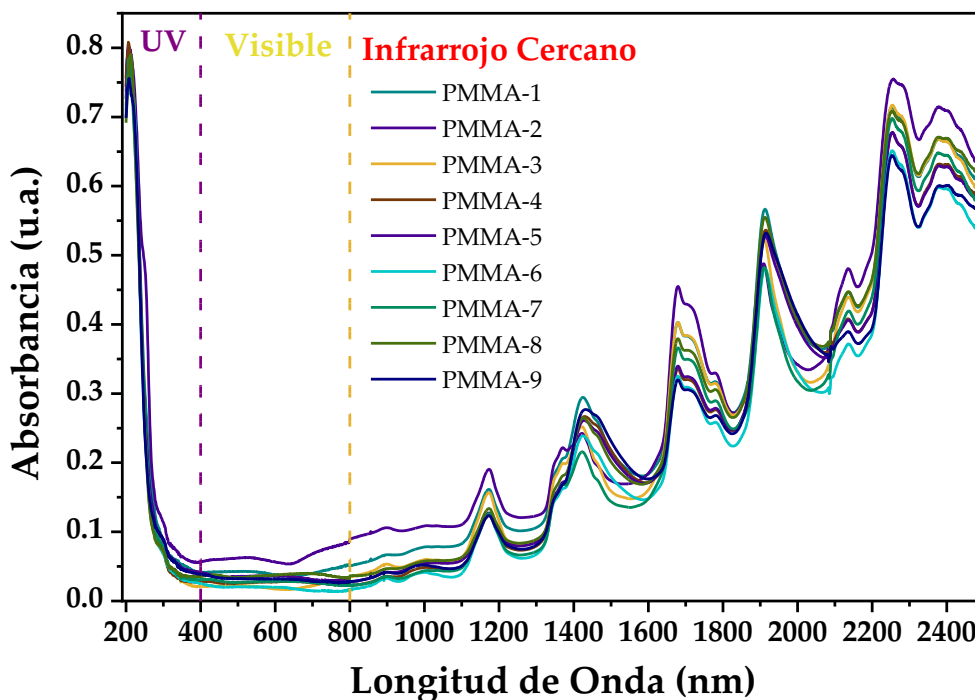


Figura 3.5. Espectros de reflectancia difusa UV-Vis-NIR (mostrado como absorbancia) de las microesferas de PMMA.

En la región NIR, las bandas más intensas se ubican en 1173, 1425, 1679, 1912, 2136, 2256 y 2377 nm. La banda de 1173 nm se asigna a los segundos armónicos de las vibraciones fundamentales de estiramiento de los enlaces C-H, CH₃ y CH₂. En esta región (800 a 1350 nm), las bandas son de baja intensidad en comparación con las bandas ubicadas en longitudes de onda más largas debido a los armónicos característicos de las vibraciones involucradas [164]. Los grupos CH₃ y CH₂ también son responsables de la banda ubicada en 1425 nm, que se debe a la combinación de vibraciones de estiramiento y deformación del enlace C-H. Las bandas ubicadas 1679 y 1697 nm se asignan a las vibraciones fundamentales de estiramiento del enlace C-H del grupo CH₃, mientras que las bandas en 1717 y 1779 nm corresponden al primer armónico del grupo CH₂ [165]. La banda situada en 1912 nm se ha asignado al segundo sobretono del estiramiento del enlace C=O, mientras que la banda situada en 2133 nm se debe a una combinación de vibraciones de estiramiento del enlace C-H de los grupos OCH₃ y al estiramiento del C=O del éster [164]. Finalmente, las bandas ubicadas en 2256 y 2377 nm se deben a una combinación de vibraciones de estiramiento y flexión del enlace C-H en los grupos CH₃ y CH₂, respectivamente [166]. Estos resultados confirman que los enlaces C-N debido al iniciador están ausentes y la carga positiva indicada en los resultados de potencial ζ , se deben a la protonación del grupo carboxilo.

En la región UV, se observa un borde de absorción agudo en aproximadamente 270 nm debido a las transiciones electrónicas del orbital de nivel n (HOMO, el orbital molecular ocupado más alto) al nivel σ^* (LUMO, el orbital molecular desocupado más bajo), según la teoría de los orbitales moleculares [167]. Este borde de absorción también está asociado con la banda prohibida de energía que es la diferencia de energía entre el mínimo de la banda de conducción y el máximo de la banda de valencia. Los valores de E_g de las microesferas de PMMA se determinaron utilizando el formalismo de Kubelka-Munk (K-M) [168] proporcionado por la ecuación (3.1):

$$[F(R_\infty)h\nu]^{1/n} = C(h\nu - E_g), \quad (3.1)$$

donde h es la constante de Planck, ν es la frecuencia de la radiación electromagnética, C es una constante de proporcionalidad y el valor de n depende de la naturaleza de la transición electrónica del material. En el caso de un compuesto con banda prohibida de energía directa, $n = 2$, y para una banda prohibida de energía indirecta, $n = 1/2$. $F(R_\infty)$ es la función K-M, que relaciona los coeficientes de dispersión y absorción dados por la ecuación (3.2):

$$F(R_\infty) = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty} = \frac{K}{S} \quad (3.2)$$

donde R_∞ es la relación entre la reflectancia de la muestra y la de la referencia:

$$R_\infty = \frac{R_{sample}}{R_{reference}} \quad (3.3)$$

Está ampliamente aceptado en la literatura determinar los valores de E_g de PMMA considerando ambos casos de energía de banda prohibida directa e indirecta.

Los valores de E_g se determinaron trazando $[F(R_\infty)h\nu]^{1/n}$ vs $h\nu$, haciendo un ajuste lineal al borde de absorción, y el valor de E_g se obtuvo por la intersección con el eje $h\nu$. La Figura 3.6 muestra un gráfico $[F(R_\infty)h\nu]^{1/n}$ vs $h\nu$ considerando en (a-c) una transición directa, y en (d-f) se considera una transición indirecta. Los valores de E_g obtenidos se enumeran en la Tabla 3.3.

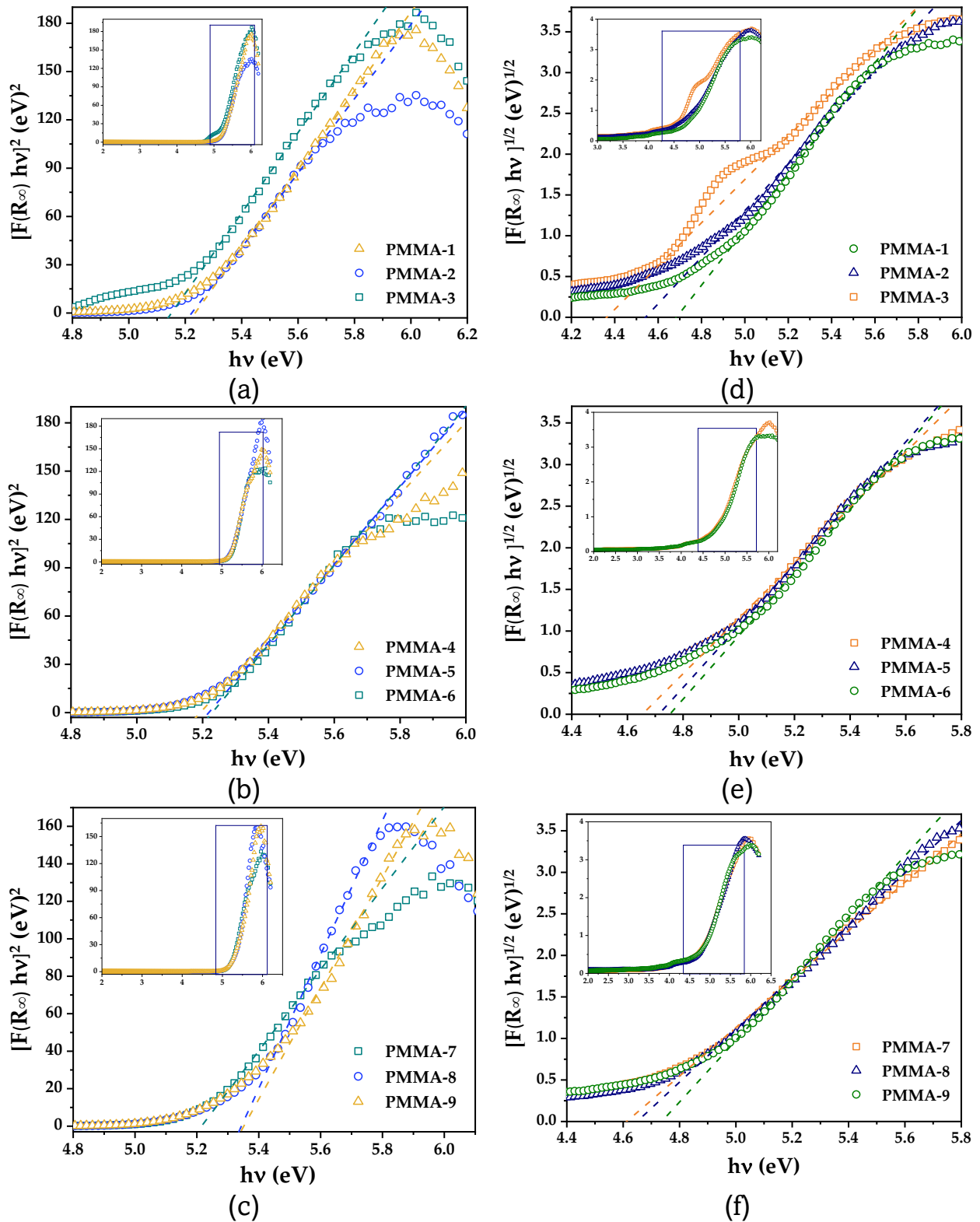


Figura 3.6. Estimación de la energía de banda prohibida (E_g) de las microsferas de PMMA en polvo aplicando el formalismo de Kubelka-Munk: (a), (b) y (c) considerando una estructura de banda directa, y (d), (e) y (f) considerando una estructura de banda indirecta.

Tabla 3.3. Banda prohibida de energía directa ($E_{g/D}$), banda prohibida de energía indirecta ($E_{g/I}$), energía de Urbach (E_t) y constante de absorción (α_0) de las microesferas de PMMA obtenidas.

Muestra	$E_{g/D}$ (eV)	$E_{g/I}$ (eV)	E_t (eV)	$\alpha_0 \cdot 10^{-5}$ (cm^{-1})
PMMA-1	5.23 ± 0.06	4.68 ± 0.01	0.484 ± 0.01	2.030
PMMA-2	5.22 ± 0.05	4.54 ± 0.03	0.509 ± 0.03	2.870
PMMA-3	5.15 ± 0.06	4.36 ± 0.02	0.558 ± 0.02	3.500
PMMA-4	5.19 ± 0.07	4.65 ± 0.05	0.522 ± 0.02	3.920
PMMA-5	5.22 ± 0.09	4.71 ± 0.04	0.403 ± 0.05	2.670
PMMA-6	5.23 ± 0.06	4.75 ± 0.03	0.479 ± 0.01	1.500
PMMA-7	5.21 ± 0.04	4.61 ± 0.02	0.544 ± 0.02	5.089
PMMA-8	5.34 ± 0.05	4.65 ± 0.03	0.537 ± 0.03	4.992
PMMA-9	5.35 ± 0.06	4.73 ± 0.03	0.403 ± 0.03	0.155

En la [Tabla 3.3](#), se ve que los valores de E_g para una banda prohibida de energía directa son mayores que los de una estructura de banda indirecta. Estos valores son cercanos a los reportados por Aziz et al. [\[167\]](#), quienes reportaron un valor de 5.04 eV para una banda prohibida de energía directa y 4.8 eV para una indirecta en relación con películas delgadas de PMMA. Sin embargo, estos valores son menores que el valor teórico de 7.0996 eV calculado por Hazim et al. [\[169\]](#) utilizando la teoría funcional de la densidad (DFP). La diferencia en los valores de E_g del PMMA aquí se debe a que las microesferas de PMMA presentan defectos puntuales como vacancias de oxígeno y defectos estructurales como fronteras de grano, que son los mismos que presentan las microesferas amorfas de SiO_2 [\[170\]](#).

Para determinar qué tipo de transición ocurre en las microesferas de PMMA, se consideraron dos enfoques, según Gupta et al. [\[171\]](#); cuando el valor del coeficiente de absorción α es superior a $10^4 cm^{-1}$, se produce una transición electrónica directa, mientras que, cuando $\alpha < 10^4 cm^{-1}$, se produce una transición indirecta. La [Figura 3.7](#) muestra el coeficiente de absorción en función de la radiación incidente. Se observa que el coeficiente de absorción es menor a $10^4 cm^{-1}$ en el intervalo de energía de 4.5 a 5.7 eV; por lo tanto, se infiere que la transición electrónica del PMMA en este estudio es indirecta.

Por otro lado, la estructura de la banda de energía de los polímeros se ha investigado mediante el cálculo de la energía de Urbach a través de la ecuación (3.4):

$$\alpha = \alpha_0 \exp\left(\frac{hv}{E_t}\right) \quad (3.4)$$

donde E_t es energía de cola de Urbach.

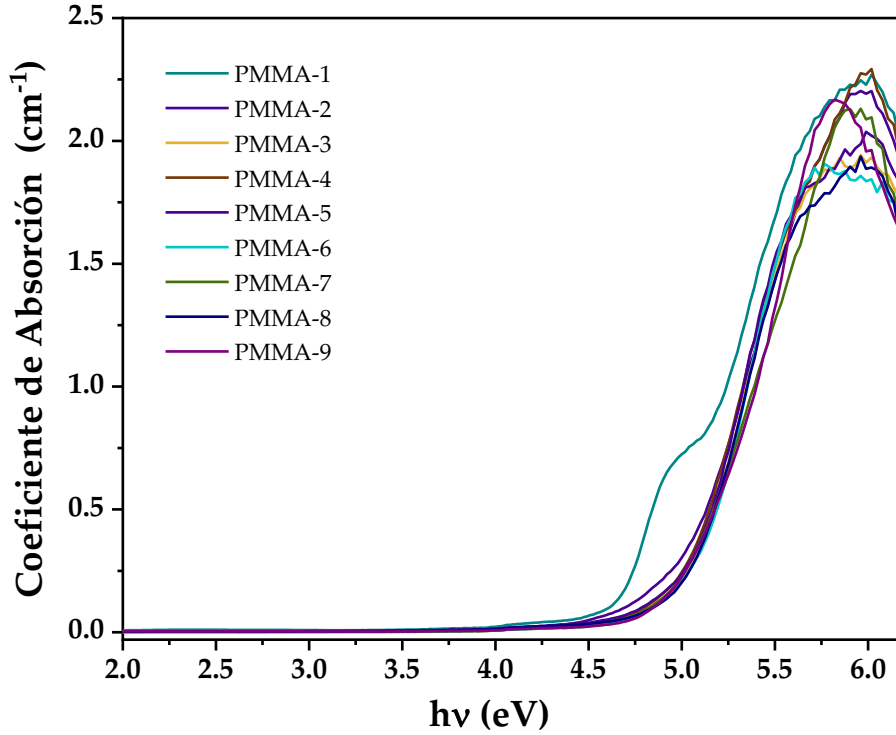


Figura 3.7. Variación del coeficiente de absorción (α) en función de la energía del fotón ($h\nu$) de las microesferas de PMMA.

Se ha demostrado que la aproximación $F(R_\infty) \sim \alpha$ se considera lo suficientemente precisa como para evaluar las propiedades ópticas de los materiales a través de los estudios de reflectancia difusa [172]; por lo tanto, la ecuación (3.4) se aproxima a:

$$F(R_\infty) = \alpha_0 \exp\left(\frac{h\nu}{E_t}\right) \quad (3.5)$$

donde $F(R_\infty) = \alpha$, que es el coeficiente de absorción óptica, α_0 es una constante, $h\nu$ es la energía del fotón incidente y E_t es la energía de Urbach que se refiere al ancho de las colas de los estados localizados. E_t se puede determinar tomando la pendiente recíproca de la línea recta en la gráfica $\ln \alpha$ vs $h\nu$. Los resultados correspondientes se enumeran en la [Tabla 3.3](#). En esta tabla, se ve que los valores de E_g que consideran una banda de energía prohibida directa e indirecta disminuyen a medida que aumentan los valores de E_t . Dado que la energía de Urbach es la cola de banda de estados localizados en la banda de energía prohibida, se espera que, en el PMMA, las transiciones indirectas tengan lugar primero; luego, con la ayuda de fonones, se produce la transición a la banda de conducción (LUMO). De hecho, $(E_{g/I} + E_t)$ es aproximadamente igual a $E_{g/D}$ [173].

3.2. Ópalos de PMMA

La [Figura 3.8](#) muestra micrografías SEM de microesferas de PMMA que forman un ópalo o cristal coloidal. En (a) a X25,000, observamos las propiedades de autoorganización y un desorden intrínseco que es inevitable en el proceso de autoensamblado de las esferas coloidales. En (b), algunas regiones de la matriz periódica continua se observan con más detalle. En (c) se observa una micrografía SEM a X100,000 donde se delinea una estructura cúbica centrada en las caras (*fcc*) formada por el apilamiento de las microesferas de PMMA con los planos (111) que forman las microesferas paralelas al sustrato subyacente. Esta estructura puede no ser una *fcc* pura con una secuencia de apilamiento ABC repetida a lo largo de la dirección de crecimiento [\[174\]](#) ya que según los estudios de Versmold [\[175\]](#) y Verhaegh et al. [\[176\]](#), el tipo o estructura más común en los cristales coloidales ordenados es el apilamiento aleatorio cercano de planos compactos.

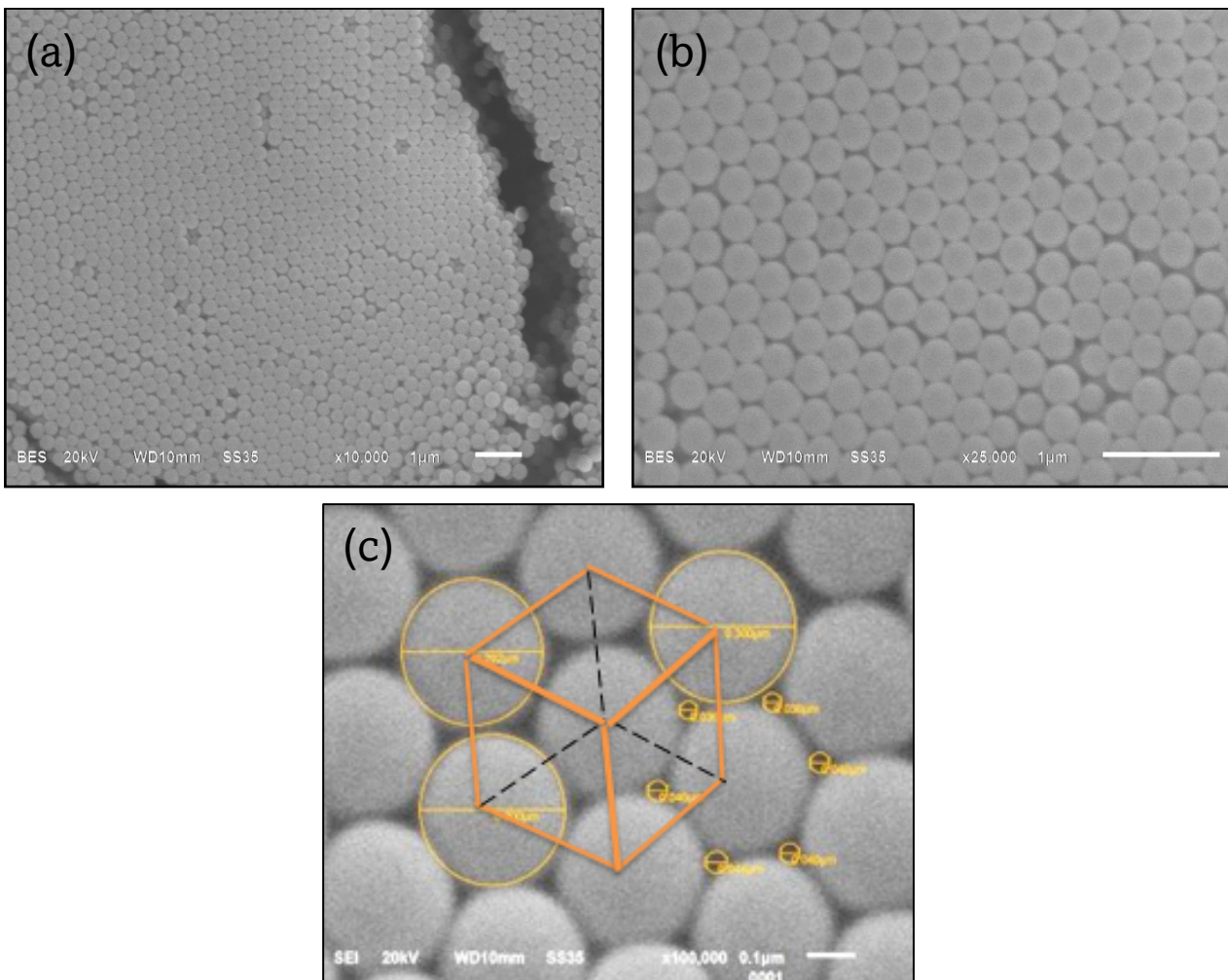


Figura 3.8. Imágenes SEM de ópalos de PMMA preparados con microesferas de PMMA-4 que muestran el autoensamblado de las microesferas: (a) X10,000, (b) X25,000 y (c) X100,000.

3.2.1 Propiedades Ópticas

La Figura 3.9(a-c) muestra los espectros de reflectancia especular de los cristales fotónicos (ópalos) versus la longitud de onda, medidos en diferentes ángulos de incidencia (20 a 70°, $\Delta=10^\circ$) y preparados con microesferas individuales etiquetadas como PMMA-7, PMMA-8 y PMMA-9. Debido a la alta periodicidad de las microesferas de PMMA que constituyen cada ópalo, exhiben bandas fotónicas estrechas (PBG) en la dirección (111).

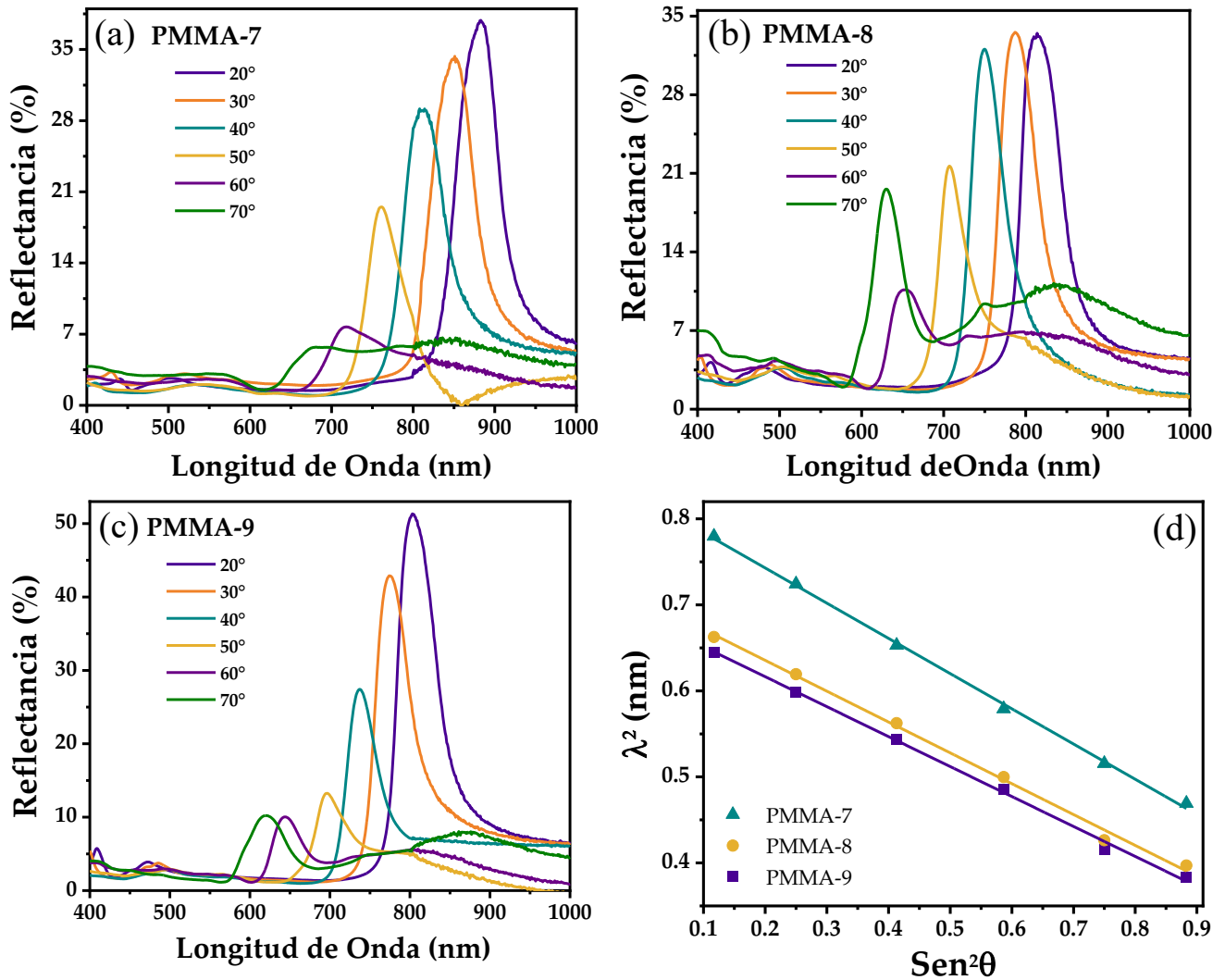


Figura 3.9. Espectros de reflectancia especular de los ópalos (a) PMMA-7, (b) PMMA-8 y (c) PMMA-9. En (d), se puede observar el comportamiento lineal de la longitud de onda máxima de las bandas fotónicas en función del ángulo.

La posición de la banda fotónica de los ópalos satisface la ley de Bragg-Snell dada por la ecuación (3.6), [5]:

$$\lambda = 2(d_{hkl}/m)(n_{eff}^2 - \sin^2\theta)^{1/2} \quad (3.6)$$

donde λ es la longitud de onda máxima de la banda de reflectancia (es decir, la posición de la banda fotónica), d_{hkl} es la distancia entre los planos h, k, l . m es el orden de la difracción de Bragg, n_{eff} es el índice de refracción efectivo del material, y θ es el ángulo de incidencia de la luz durante las mediciones. El índice de refracción efectivo se calcula usando la ecuación (3.7):

$$n_{eff} = \varphi \times n_{PMMA} + (1 - \varphi)n_{air} \quad (3.7)$$

donde φ es la fracción de volumen sólido, para una estructura *fcc* es $\varphi = 0.74$, n_{PMMA} y n_{air} son los índices de refracción del PMMA (1.492) y del aire (1.000), respectivamente. Por lo que $n_{eff} = 1.364$. En el caso de difracción de primer orden desde los planos (111), $m = 1$ y $d_{hkl} = d_{111} = 0.816D$, donde D es el diámetro de las microesferas de PMMA. Entonces la ecuación (3.6) toma la siguiente forma:

$$\lambda = 1.632D \sqrt{1.364^2 - \sin^2\theta} \quad (3.8)$$

De la gráfica λ^2 vs $\sin^2\theta$ que se muestra en la Figura 3.9(d), se ve que se satisface una condición de difracción de Bragg porque se observa que los datos se ajustan a una línea recta; además, la pendiente es igual a $-(2d_{111})^2$ y la intersección con el eje y es $(2d_{111})^2 n_{eff}^2$. Luego, a partir de esta relación, fue fácil calcular la distancia interplanar (d_{111}), el índice de refracción efectivo (n_{eff}), el diámetro de las microesferas de PMMA (D) y la fracción de volumen sólido (φ). Estos resultados se enumeran en la Tabla 3.4.

Como se ve en la Figura 3.9(a-c), la posición de la banda fotónica de cada ópalo se desplaza hacia longitudes de onda más cortas a medida que θ aumenta de acuerdo con la Ecuación (3.8). Este cambio desplazamiento indica la naturaleza de pseudo banda prohibida del cristal fotónico porque las frecuencias de la luz que se permite que se propague dentro del cristal varían con el ángulo de los fotones incidentes [5].

Comparando la posición de las bandas fotónicas a 20° de los ópalos: PMMA-7, PMMA-8 y PMMA-9, las PBGs se ubicaron a 883, 814 y 803 nm, respectivamente. Se observó que la mayor longitud de onda de la PBG del ópalo PMMA-7 corresponde al mayor tamaño de microesferas de PMMA (323 nm), con respecto a los ópalos PMMA-8 (311 nm) y PMMA_9 (306 nm). Estos resultados concuerdan con los mostrados en la Tabla 3.1, confirmando el

incremento de tamaño de las microesferas de PMMA a medida que aumenta la concentración de iniciador. Además, podemos inferir de estos resultados experimentales que la PBG de los ópalos se puede diseñar optimizando el tamaño de las microesferas de PMMA con las concentraciones óptimas de iniciador y monómero.

De los datos de la [Tabla 3.4](#) notamos que la fracción de volumen sólido calculada supera el valor de 0.74 para una red *fcc*, esto se debe a que en algunas regiones las microesferas no están en contacto puntual entre sí, sino que están levemente presionadas [177]. Además, cabe señalar que el diámetro de la microesfera obtenido a partir de la ecuación (3.8) es mayor que el diámetro obtenido por micrografías SEM, creemos que la razón es que hay pequeños espacios entre las microesferas (ver [Figura 3.8](#)), y si recordamos, *D* es en realidad la distancia del centro al centro de las esferas, este espacio entre las esferas aumentaría la distancia entre ellas y por tanto el diámetro de las microesferas obtenidas.

Tabla 3.4. Posición de la longitud de onda de la banda fotónica de los ópalos (λ), datos de ajuste de intercepción y pendiente, diámetro interplanar de las microesferas de PMMA (*D*) y la fracción de volumen sólido (φ) de los cristales fotónicos obtenidos.

Muestra	$\lambda(\theta=20^\circ)^a$ (nm)	Intersección	Pendiente	d_{111}^b (nm)	D^b (nm)	n_{eff}^b	φ^b	$\lambda(\theta=20^\circ)^b$ (nm)
PMMA-7	883	0.8248	-0.4094	320 ± 22	392 ± 9	1.420 ± 0.02	0.852	880 ± 14
PMMA-8	814	0.7072	-0.3586	300 ± 18	367 ± 11	1.404 ± 0.01	0.820	816 ± 18
PMMA-9	803	0.6861	-0.3482	295 ± 15	361 ± 7	1.403 ± 0.03	0.820	803 ± 22

^a Datos obtenidos directamente de espectros de reflectancia especular. ^b Datos calculados a partir de la ley de Bragg-Snell.

3.3. Nanopartículas de Ag

3.3.1 Análisis UV-Vis y DLS

La [Figura 3.10](#) muestra los espectros de absorción UV-Vis de la solución coloidal de las Ag-NPs, como se aprecia en el inserto las nanopartículas obtenidas muestran un color amarillo claro y exhiben el espectro correspondiente a nanopartículas esféricas con la banda LSPR en 400 nm [178]. Como se observa en el espectro de las nanopartículas, la banda LSPR

cae en parte de la región visible, además el espectro es amplio y estas características son muy útiles en los experimentos SERS.

Los diferentes espectros mostrados en la [Figura 3.10](#) corresponden a las diferentes etapas involucradas en la síntesis de Ag-NPs. El espectro 1 corresponde al sistema inicial formado por la solución del precursor metálico y la solución de citrato de sodio que actúa como un agente estabilizante. El espectro 2 corresponde a la segunda etapa, asociada a la adición de NaBH_4 . La siguiente etapa de la reacción, el espectro 3, corresponde a la adición de BSPP y, finalmente el espectro 4 corresponde a las Ag-NPs finales.

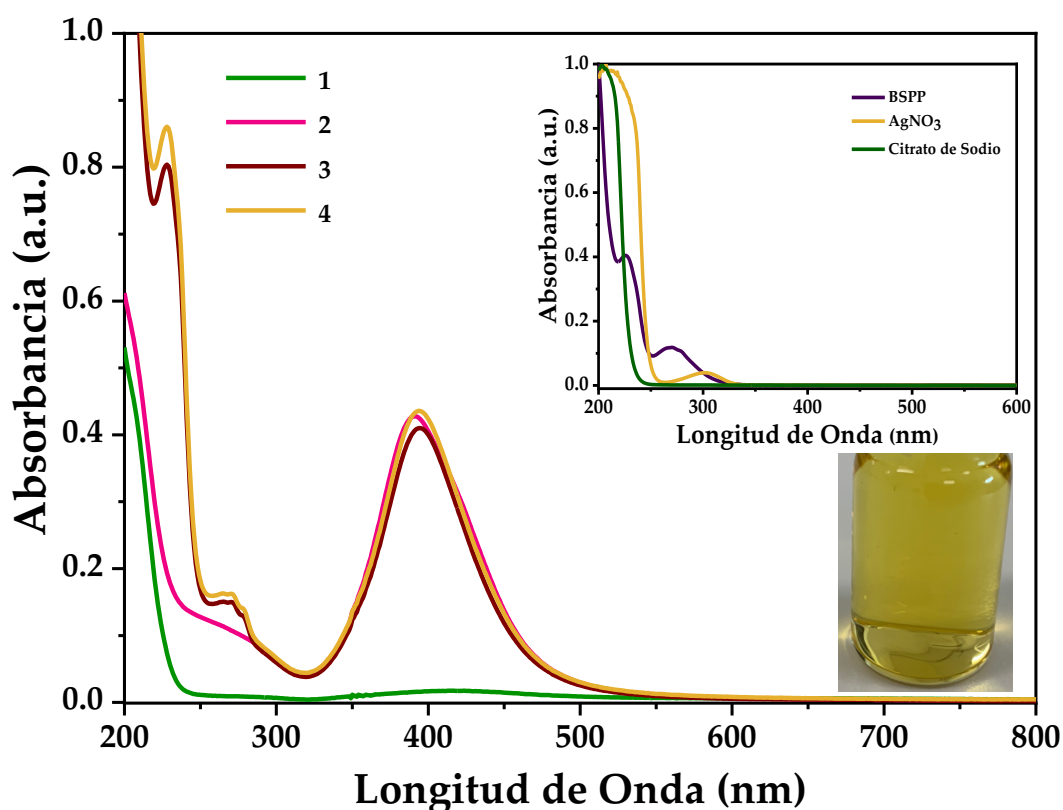
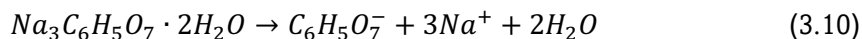


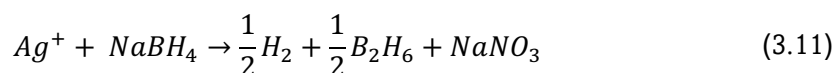
Figura 3.10. Espectros de absorción UV-Vis de las Ag-NPs en diferentes etapas de la reacción. Se incluyen en el inserto superior los espectros del BSPP, AgNO_3 y el citrato de sodio como referencia. La fotografía en el inserto inferior muestra la apariencia final de las Ag-NPs.

En el espectro 1 se observa una banda intensa en el intervalo de 200 a 230 nm que se debe a la transición electrónica del nivel $n \rightarrow \pi^*$ del citrato de sodio, como se observa en el inserto de la [Figura 3.10](#). Debido a que la reacción se lleva a cabo a baja temperatura ($\sim 5^\circ\text{C}$) en esta etapa de la reacción solo se aprecia la disociación de los precursores. Como se indica en las reacciones mostradas por las ecuaciones (3.9) y (3.10).





La etapa 2 (espectro 2) consiste en la adición del NaBH_4 lo que lleva a la formación de las Ag-NPs mediante la reacción de reducción del ion Ag^+ (ver ecuación 3.11), esto se confirma con la aparición de una banda bien definida cuyo máximo se encuentra en 395 nm correspondiente al plasmón de superficie que representa la resonancia dipolar típica de las nanopartículas de forma esférica. También en este espectro se observa la banda en el intervalo de 200 a 230 nm asociada al citrato de sodio.



La estabilidad coloidal es un parámetro importante en las dispersiones de nanopartículas, para lograr esta estabilidad las fuerzas repulsivas (electrostáticas o estéricas) deben superar las fuerzas atractivas de van der Waals entre las nanopartículas. En este punto de la reacción, las Ag-NPs se estabilizan debido a la presencia de iones citrato adsorbidos en la superficie de las Ag-NPs (ver [Figura 3.11](#)) y el valor del potencial zeta se estimó en -30 mV (ver [Tabla 3.5](#)) lo que confirma su estabilidad.

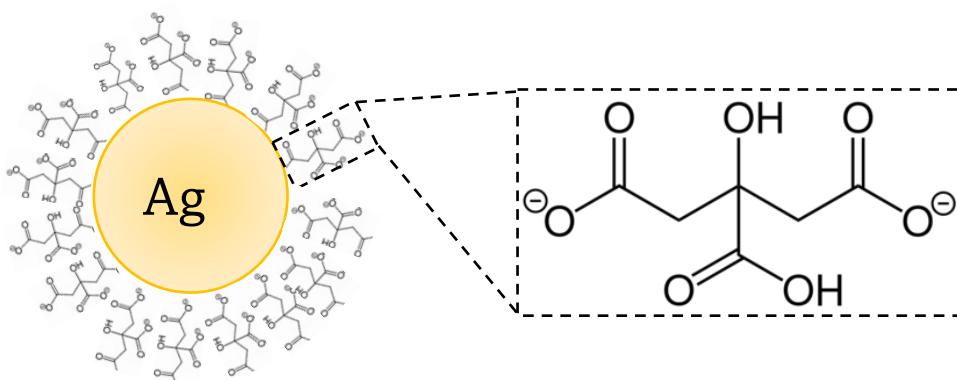


Figura 3.11 Esquema que muestra la adsorción del ion citrato en la superficie de la Ag-NP.

Los valores correspondientes a diámetro hidrodinámico (D_h), índice de polidispersidad (PDI) y potencial zeta (ζ) se resumen en la [Tabla 3.5](#) para todas las etapas analizadas.

En el espectro que corresponde a la etapa 3 se observa el efecto que tuvo la adición del BSPP en las Ag-NPs, de manera general podemos observar tres bandas bien definidas. Las bandas que están ubicadas en 240 nm y 280 nm corresponden a las transiciones electrónicas $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$ del BSPP, respectivamente. Lo cual se aprecia en el inserto de la [Figura](#)

3.10, donde se observa el espectro UV-Vis del BSPP. La tercera banda corresponde a la resonancia del plasmón de superficie de las Ag-NPs.

Tabla 3.5 Etapa de síntesis de las Ag-NPs, diámetro hidrodinámico medido mediante DLS (D_h), PDI y valores de potencial zeta (ζ)

Etapa de Síntesis	SPR-λ_{max} (nm)	D_h (nm)	PDI	ζ (mV)
Etapa 1	~	~	~	~
Etapa 2	395	25.0 ± 5.0	0.850	-30.0 ± 4.8
Etapa 3	396	29.3 ± 6.0	0.415	-35.8 ± 5.4
Etapa 4	400	36.6 ± 10.0	0.450	-42.5 ± 5.9

De acuerdo con la literatura, el BSPP es un derivado soluble en agua de la trifenilfenilfosfina que se utiliza comúnmente como estabilizador en la síntesis de Ag-NPs, al formar un complejo de coordinación con la Ag. Entonces se espera que las Ag-NPs sean más estables, lo cual se confirma con los datos obtenidos mediante DLS referentes a esta etapa mostrados en la [Tabla 3.5](#), donde se observa que la presencia del BSPP hizo que el PDI y el ζ aumentaran con respecto a la etapa anterior. Lo cual confirma que el BSPP proporciona mayor estabilidad y disminuye la agregación de las nanopartículas [179]. Además, como los iones de citrato se adsorben físicamente a la superficie de las Ag-NPs, están débilmente asociados. Entonces, cuando el BSPP se incorpora a la reacción, se realiza un intercambio iónico, mediante el desplazamiento del ion citrato por el ion BSPP, lo cual se evidencia en el espectro UV-Vis, donde la banda correspondiente al BSPP sustituye a la del citrato.

Finalmente, la última etapa considera las 16 horas de agitación después de añadir el BSPP y los lavados de las Ag-NPs mediante centrifugación. El espectro UV-Vis correspondiente a esta etapa muestra el mismo comportamiento de la etapa anterior, exhibiendo la presencia de BSPP en la superficie de las Ag-NPs a pesar de los lavados que se realizaron, por lo cual las Ag-NPs quedan funcionalizadas con el grupo sulfonato del BSPP (ver [Figura 3.12](#)). Así mismo, se observó un ligero incremento en la absorción y un desplazamiento en la posición máxima de la banda LSPR hacia mayores longitudes de onda. Este cambio infiere un aumento en el tamaño de las Ag-NPs, lo cual se confirma con los valores de D_h obtenidos en esta etapa. El cambio en el tamaño se debe a que el tiempo en

el que las Ag-NPs se mantuvieron en agitación continuaron con el proceso de maduración de Oswald y con esto aumentaron ligeramente su tamaño y estabilidad.

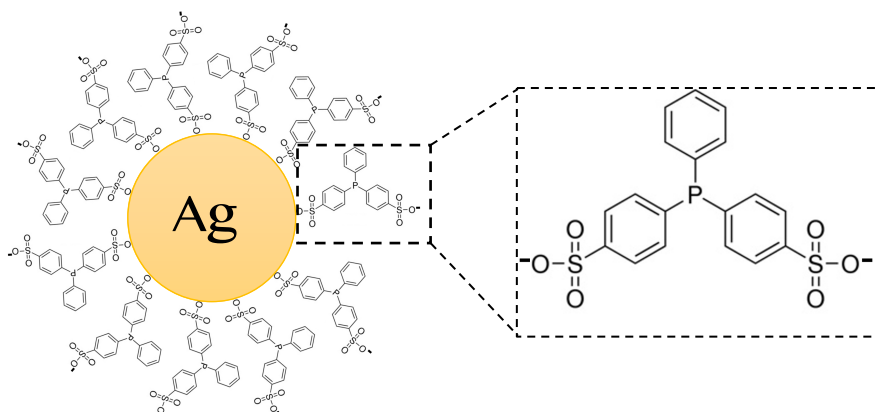


Figura 3.12 Esquema que muestra la adsorción del ion BSPP en la superficie de la Ag-NP.

3.3.2 Análisis SEM, EDS y Micro-Raman

El análisis mediante SEM permitió determinar la forma, tamaño y distribución de las Ag-NPs. La [Figura 3.13](#) muestra imágenes SEM representativas de las Ag-NPs y su distribución en los diferentes sustratos SERS obtenidos. Las [Figuras 3.13a](#) y [3.13b](#) corresponden al sustrato Ag-S1, las [Figuras 3.13c](#) y [3.13d](#) al sustrato Ag-S2 y las [Figuras 3.13e](#) y [3.13f](#) corresponden al sustrato Ag-S3. Como se observa en las imágenes, las nanopartículas tienen una forma cuasi-esférica con diámetro de alrededor de 15 nm ($\sigma = \pm 3.7$ nm); el cual se estimó a partir del histograma de distribución de tamaño, como se aprecia en el inserto de la [Figura 3.13a](#). La diferencia en los valores de los diámetros de las Ag-NPs obtenidos mediante SEM y DLS se debe a la presencia de los iones de BSPP en la superficie de las Ag-NPs, los cuales no se observan en las imágenes SEM.

En las imágenes SEM también se observa el estado de aglomeración de las Ag-NPs, que cambia significativamente de un sustrato a otro. Para el sustrato Ag-S1, la aglomeración es baja, de hecho, las nanopartículas están distribuidas uniformemente a lo largo de toda la oblea. Esta distribución de las nanopartículas se asocia a grupos silanol creados en la oblea de Si después de ser tratada con solución piranha. Estos grupos son muy activos y, por lo tanto, tienden a formar enlaces de acoplamiento con compuestos orgánicos como el BSPP, presente en la superficie de las Ag-NPs.

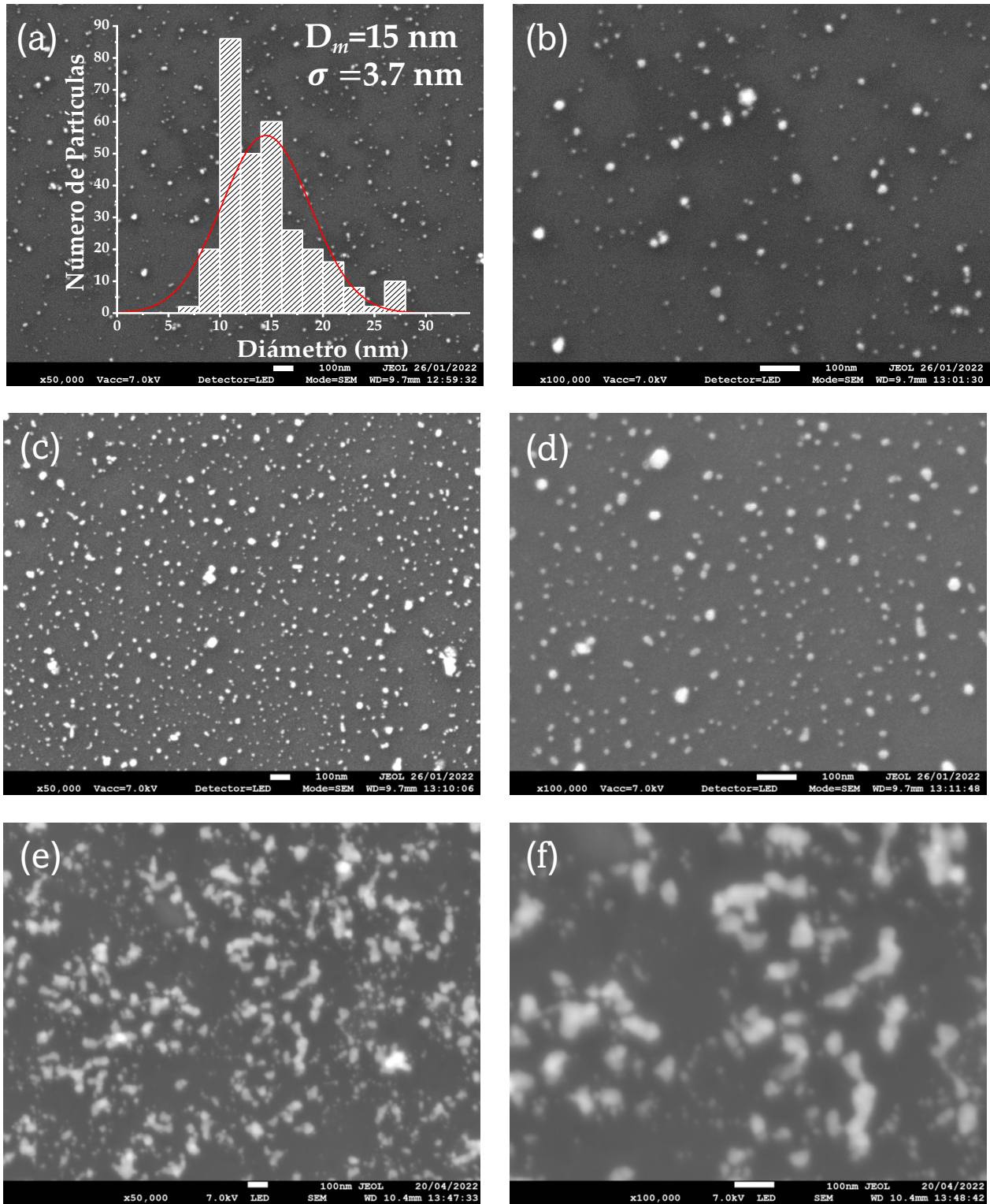


Figura 3.13. Imágenes SEM de las Ag-NPs obtenidas y su distribución en los diferentes sustratos SERS empleados: (a-b) corresponden al sustrato Ag-S1, (c-d) corresponden a los sustratos Ag-S2 y (e-f) corresponden al sustrato Ag-S3.

En el sustrato Ag-S2, al aumentar la cantidad de Ag-NPs, aumenta su presencia sobre el soporte; sin embargo, su distribución en la oblea de Si sigue siendo uniforme y solo se observan pequeñas regiones con aglomerados. En este sustrato, se observa una mayor interacción (unión) entre las Ag-NPs; induciendo un acoplamiento plasmónico entre las nanopartículas que aumenta el campo electromagnético local y conduce a los llamados “puntos calientes”, que mejoran la respuesta SERS; como más adelante se discute.

Finalmente, el sustrato Ag-S3 a diferencia de los otros dos sustratos, presenta un mayor grado de aglomeración. Al aumentar la concentración de las Ag-NPs, estas comienzan a auto-ensamblarse en arreglos bidimensionales (formación de cúmulos), la interacción entre las nanopartículas en este sustrato empieza a darse en dos direcciones, lo que llevaría a que los campos locales electromagnéticos formados sean más intensos y presenten más ventajas al aplicarlos como sustratos SERS.

Anteriormente se presentó el espectro UV-Vis de las Ag-NPs, a pesar de que el espectro es característico de las Ag-NPs, este no confirma la obtención de Ag metálica. Con la intención de confirmar la formación de Ag que a su vez pueda atribuirse a la formación de las nanopartículas, los sustratos SERS se analizaron por espectroscopia de rayos-X por dispersión en energía (EDS). En la [Figura 3.14](#) se presenta el espectro correspondiente al sustrato Ag-S3. En este espectro aprecia la señal de los rayos característicos de los elementos Si, O, C y Ag (3 keV). Cabe destacar que no se detectaron rayos-X característicos correspondientes a otros elementos asociados a impurezas presentes en las muestras o a la posible oxidación de Ag metálica para formar Ag_2O , ya que el contenido de O presente en la muestra es propio del ambiente. La presencia de Si corresponde a la oblea de Si usada como soporte y su intensidad se debe a que el contenido de este es mucho mayor que el de las Ag-NPs. Por lo tanto, se concluye que las nanopartículas obtenidas efectivamente son de Ag metálica.

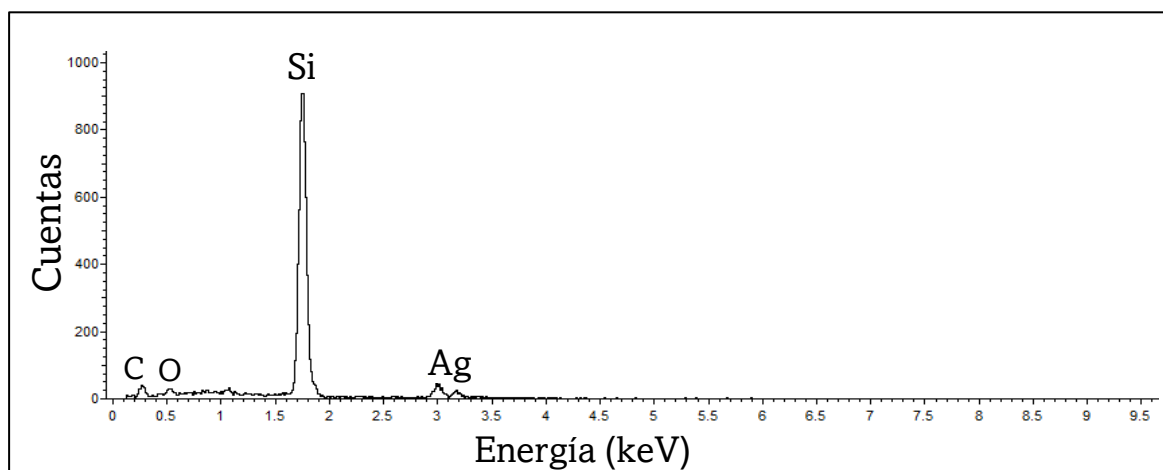


Figura 3.14 Espectros EDS de las Ag-NPs soportadas en la oblea de Si usado como sustratos SERS Ag-S3.

Las Ag-NPs usadas como sustratos SERS también se analizaron mediante micro-Raman. En la [Figura 3.15](#) se presenta el espectro micro-Raman de los tres diferentes sustratos SERS con diferentes cantidades de Ag-NPs. La principal razón de realizar esta caracterización fue para identificar bandas asociadas a las Ag-NPs que pudieran afectar las mediciones al usarlas como sustratos SERS. Sin embargo, las bandas más intensas se deben al soporte de Si usado, a excepción de la banda ubicada en la región de 200 a 250 cm^{-1} . Como las Ag-NPs no presentan alguna banda característica, las bandas presentes se deben en realidad a los compuestos orgánicos utilizados durante la síntesis.

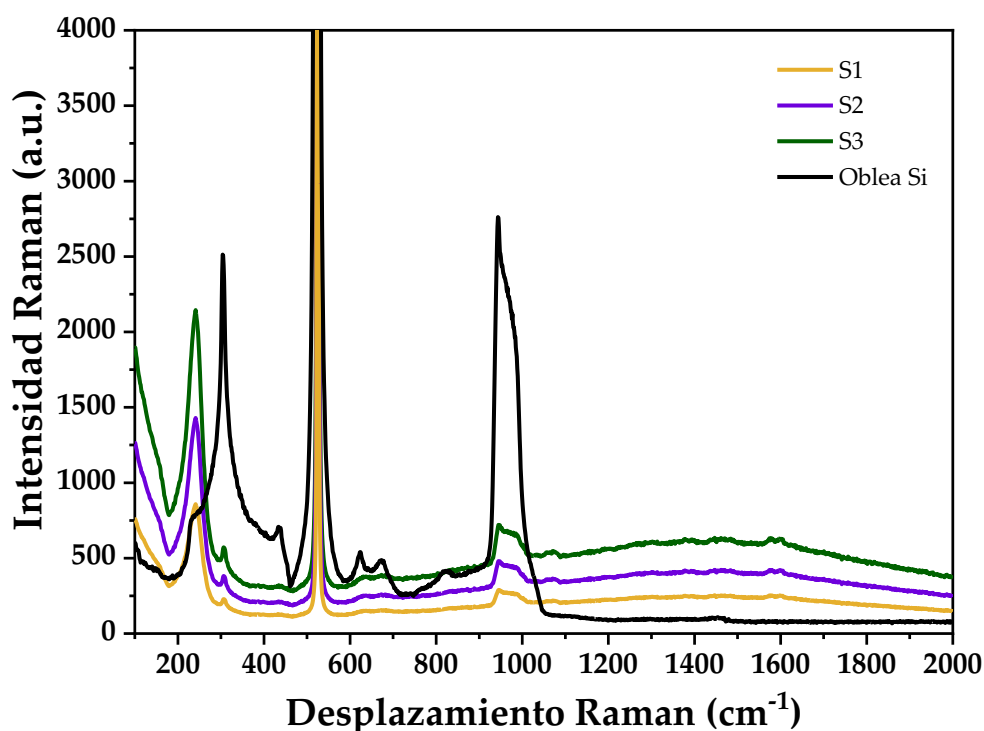


Figura 3.15 Espectros Raman de las Ag-NPs utilizadas como sustratos SERS

3.4. Compositos Ag/PMMA

3.4.1 Análisis XRD

En la [Figura 3.16](#) se presentan los patrones de difracción de los ópalos de PMMA y de dos compositos Ag/PMMA, los correspondientes a mayor contenido de Ag. En todos ellos se observan picos de difracción anchos y poco intensos en $2\theta=32^\circ$ y 43° que confirman la naturaleza amorfa del PMMA. En el caso de los patrones de difracción correspondientes a

los composites de Ag/PMMA no mostraron ningún pico correspondiente a la Ag metálica lo cual se atribuye a que la cantidad de Ag presente en las muestras es menor al límite de detección del equipo. Sin embargo, empleando otras técnicas como EDS y mediante los espectros de reflectancia difusa si se observa la presencia de la banda de LSPR lo que confirma la presencia de las Ag-NPs en los composites.

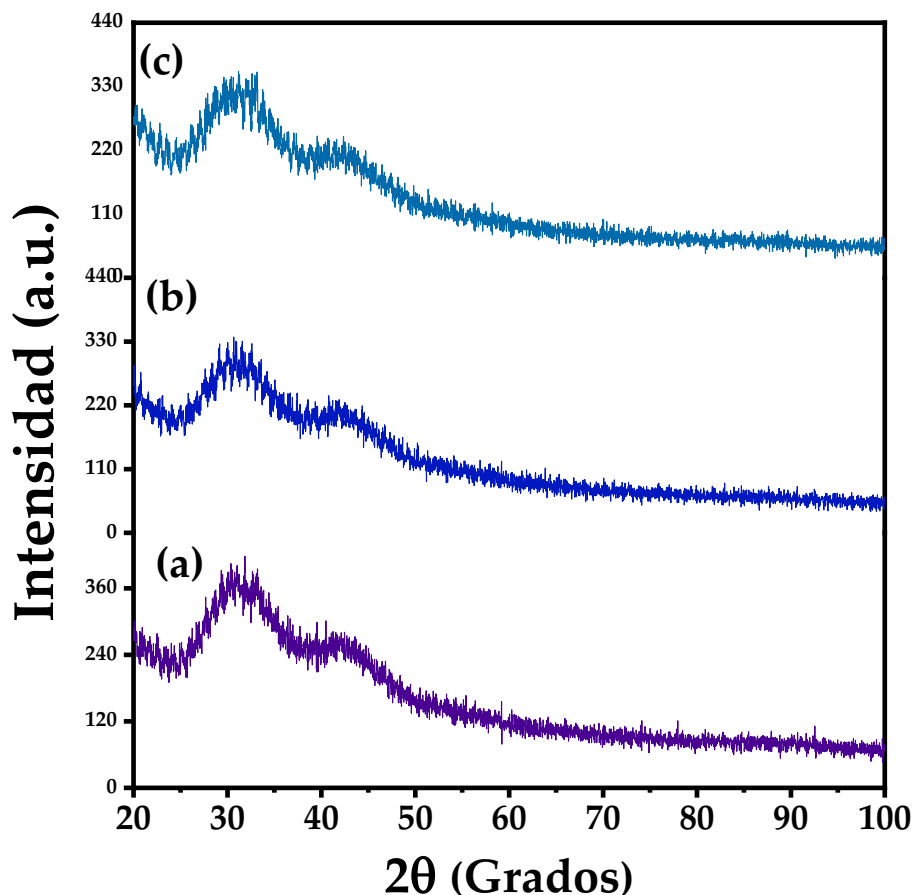


Figura 3.16. Patrones de difracción de rayos-X de: (a) ópalos de PMMA, (b) Ag/PMMA-S2 y (c) Ag/PMMA-S3.

3.4.2 Análisis SEM, EDS y Micro-Raman

Las Ag-NPs obtenidas y utilizadas como sustratos SERS también se mezclaron con microesferas de PMMA de 298 ± 8 nm para formar el composite Ag/PMMA. Al igual que en los sustratos SERS basados únicamente en Ag-NPs, se obtuvieron tres diferentes sustratos donde se aumentó la cantidad de Ag-NPs. Las imágenes SEM correspondientes al composite Ag/PMMA-S1 a diferentes ampliaciones se muestran en la [Figura 3.17](#), donde se aprecia que las Ag-NPs se incorporaron en la superficie de las microesferas de PMMA.

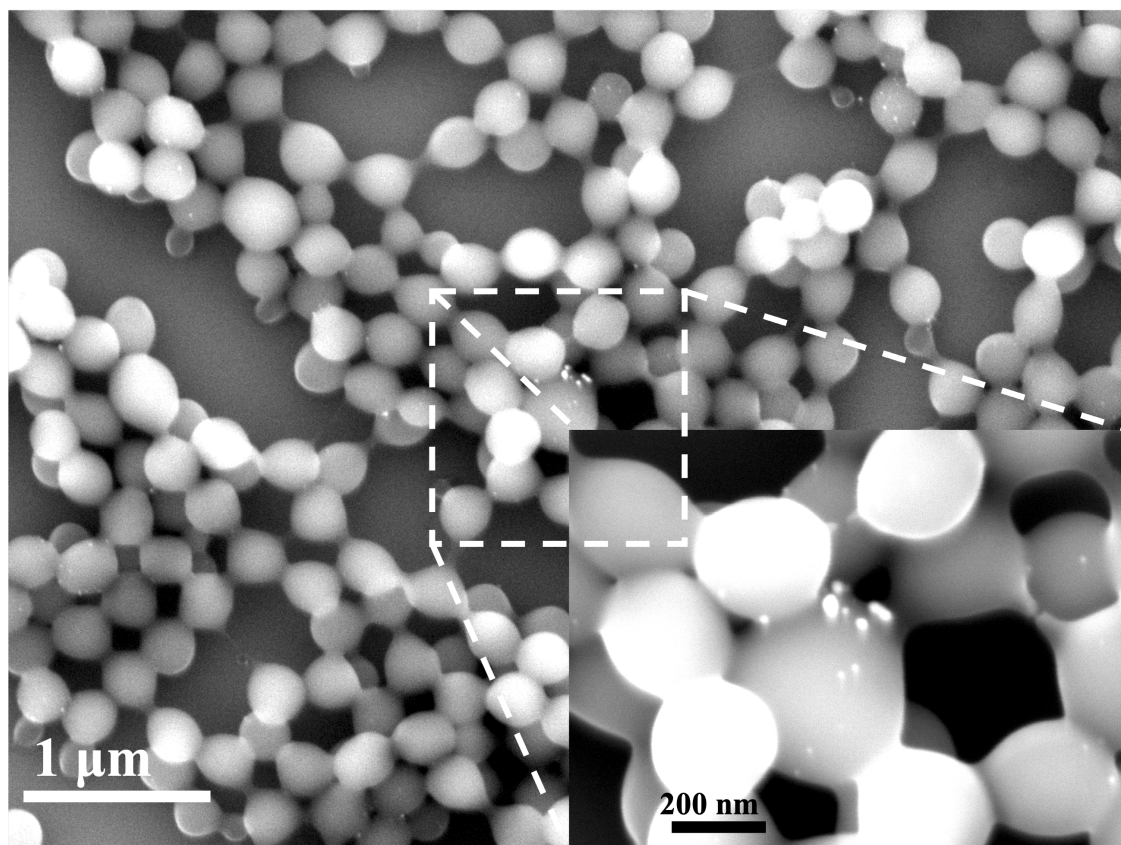


Figura 3.17 Imágenes SEM del compositos Ag/PMMA-S1 a X20,000 y X100,000 (inserto).

A diferencia de los ópalos obtenidos mediante sedimentación (Figura 3.8), los compositos se obtuvieron mediante depósito vertical y se observa que las microesferas no presentan el ordenamiento característico del ópalo. La diferencia en este comportamiento de las microesferas de PMMA se debe entonces a características de la técnica de obtención. El éxito en la formación de una película uniforme mediante la técnica de depósito vertical depende de las características de la solución precursora (viscosidad), la velocidad y temperatura de evaporación y la interacción entre los componentes (PMMA y Ag-NPs). En este sistema la presencia de los grupos funcionales de los componentes afecta la interacción y las características de la solución precursora lo que a su vez se refleja en el ordenamiento de las microesferas de PMMA. Sin embargo, como se observa en las micrografías a mayor amplificación sí se da una interacción entre las microesferas de PMMA y las Ag-NPs debido a que se incorporan sobre la superficie de las microesferas de PMMA.

En la Figura 3.18 se muestran las imágenes SEM correspondientes al composito Ag/PMMA-S2, en la formación de este composito la cantidad de Ag-NPs aumentó, lo cual es evidente en las imágenes. Nuevamente se observa que las microesferas de PMMA están unidas y tienden a organizarse, pero no se da la formación completa de un ópalo, además se aprecia que las microesferas dejan de tener la forma esférica característica y definida,

esta deformación podría estar asociada con la interacción de las microesferas de PMMA y los compuestos orgánicos utilizados como surfactantes en la síntesis de las Ag-NPs.

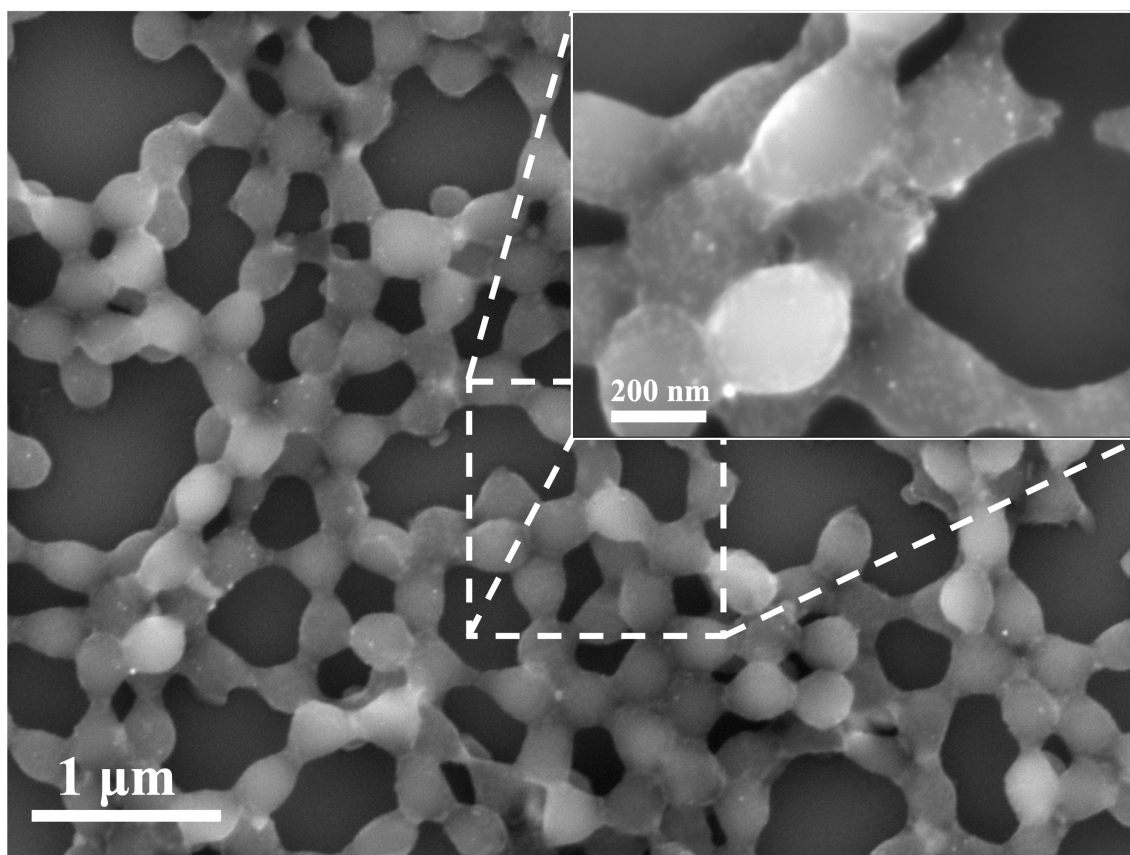


Figura 3.18 Imágenes SEM del composites Ag/PMMA-S2 a X20,000 y X100,000 (inserto).

Las imágenes SEM correspondientes al compuesto Ag/PMMA-S3 se presentan en la [Figura 3.19](#). Cabe destacar que estas imágenes se tomaron en una zona menos densa para observar con detalle la interacción; sin embargo, el ordenamiento de las microesferas de PMMA y las Ag-NPs es similar en las tres muestras. Como era de esperarse, en esta muestra (Ag/PMMA-S3) la cantidad de Ag-NPs es mayor, de hecho, hay zonas con un mayor número de Ag-NPs aglomeradas sobre la superficie de las microesferas de PMMA. En el inserto de la [Figura 3.19](#) se observa con mayor detalle la ubicación y distribución de las Ag-NPs. Al igual que en las imágenes correspondientes al compuesto Ag/PMMA-2 las microesferas de PMMA comienzan a perder la forma esférica bien definida, que como anteriormente se mencionó se debe a los iones de BSPP presente en la superficie de las Ag-NPs; sin embargo, en las imágenes SEM solo se observa la parte inorgánica correspondiente de las Ag-NPs.

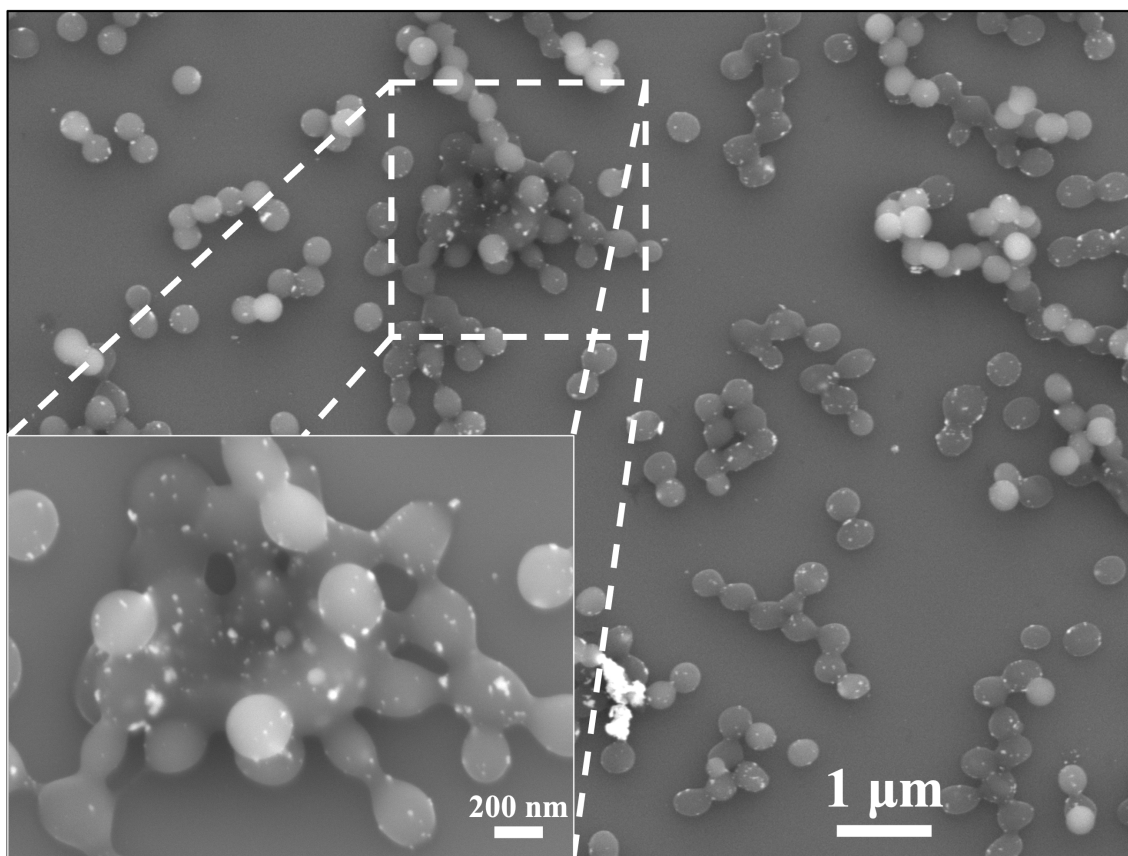


Figura 3.19 Imágenes SEM del composites Ag/PMMA-S3 a X20,000 y X100,000 (inserto).

Los composites Ag/PMMA se analizaron por EDS. En la [Figura 3.20](#) se presenta el espectro correspondiente al composito Ag/PMMA-S3. En este espectro se aprecia la presencia de los rayos-X característicos de C, O, Si y Ag, no se aprecia alguna otra señal asociada a otro elemento. A diferencia de los espectros de las Ag-NPs (ver [Figura 3.14](#)) aquí, la presencia de C es mucho mayor, lo cual se atribuye a la presencia del polímero de PMMA.

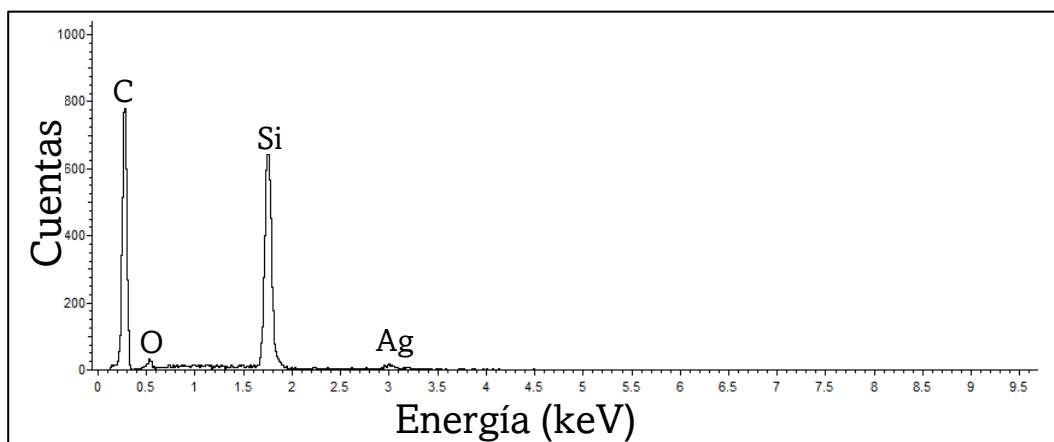


Figura 3.20 Espectros EDS del composito Ag/PMMA-S3 soportadas en la oblea de Si usado como sustratos SERS.

El Si presente en los espectros EDS es atribuido a la oblea de Si, la Ag es plata metálica y el O está asociado al ambiente. Con esto se confirma que los composites están compuestos por Ag-NPs metálicas y microsferas de PMMA.

Al igual que las Ag-NPs soportadas en la oblea de Si, estos composites se analizaron mediante espectroscopia micro-Raman para identificar las bandas asociadas al sustrato SERS que pueden interferir en las mediciones posteriores.

En la [Figura 3.21](#) se presentan los espectros Raman de los ópalos de PMMA y los composites de Ag/PMMA. El espectro correspondiente al ópalo de PMMA muestra las bandas características de este compuesto que ya se han descrito y analizado a detalle anteriormente (ver [sección 3.1.1](#)). En general, cuando se incorporan las Ag-NPs en los ópalos de PMMA, las bandas de este último se desplazan hacia menores frecuencias ($\sim 5 \text{ cm}^{-1}$), lo que se atribuye a la interacción entre las Ag-NPs y el PMMA. Sin embargo, las bandas presentes en los composites son las mismas que las asociadas al PMMA prístino, no se observa la formación de alguna nueva banda asociada a la presencia de las Ag-NPs.

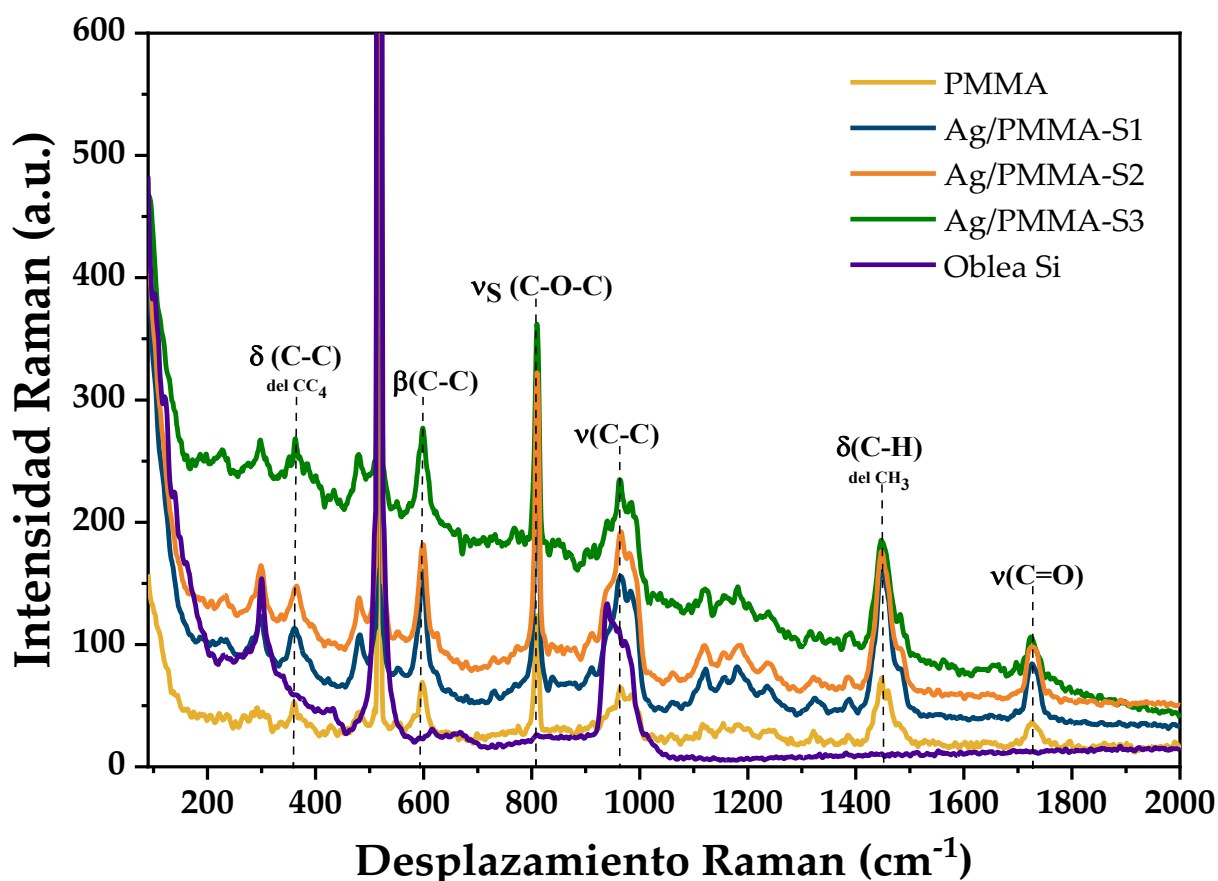


Figura 3.21 Espectros Raman de los ópalos de PMMA y los composites Ag/PMMA-S1, Ag/PMMA-S2 y Ag/PMMA-S3. Se incluye el espectro correspondiente a la oblea de Si para descartar las bandas asociadas a este soporte en el composite.

3.4.3 Propiedades Ópticas

Las propiedades ópticas de los composites de Ag/PMMA se analizaron mediante reflectancia difusa y especular, en los estudios se incluyen los espectros correspondientes al PMMA para su comparación.

En la [Figura 3.22](#) se muestran los espectros de reflectancia difusa (expresados como absorbancia) de PMMA y los composites Ag/PMMA. En todos los espectros se nota un borde de absorción en aproximadamente 270 nm el cual está asociado a la transición electrónica indirecta del polímero con un E_g de 4.3 eV. En el caso de las muestras que contienen Ag, se observa una pequeña banda en 400 nm; esta banda está asociada con la LSPR de las Ag-NPs, los resultados indican que mediante esta técnica es posible verificar la presencia de Ag en los composites. La identificación y asignación de cada una de las bandas en la región del IR cercano se realizó previamente (ver [sección 3.1.3](#)).

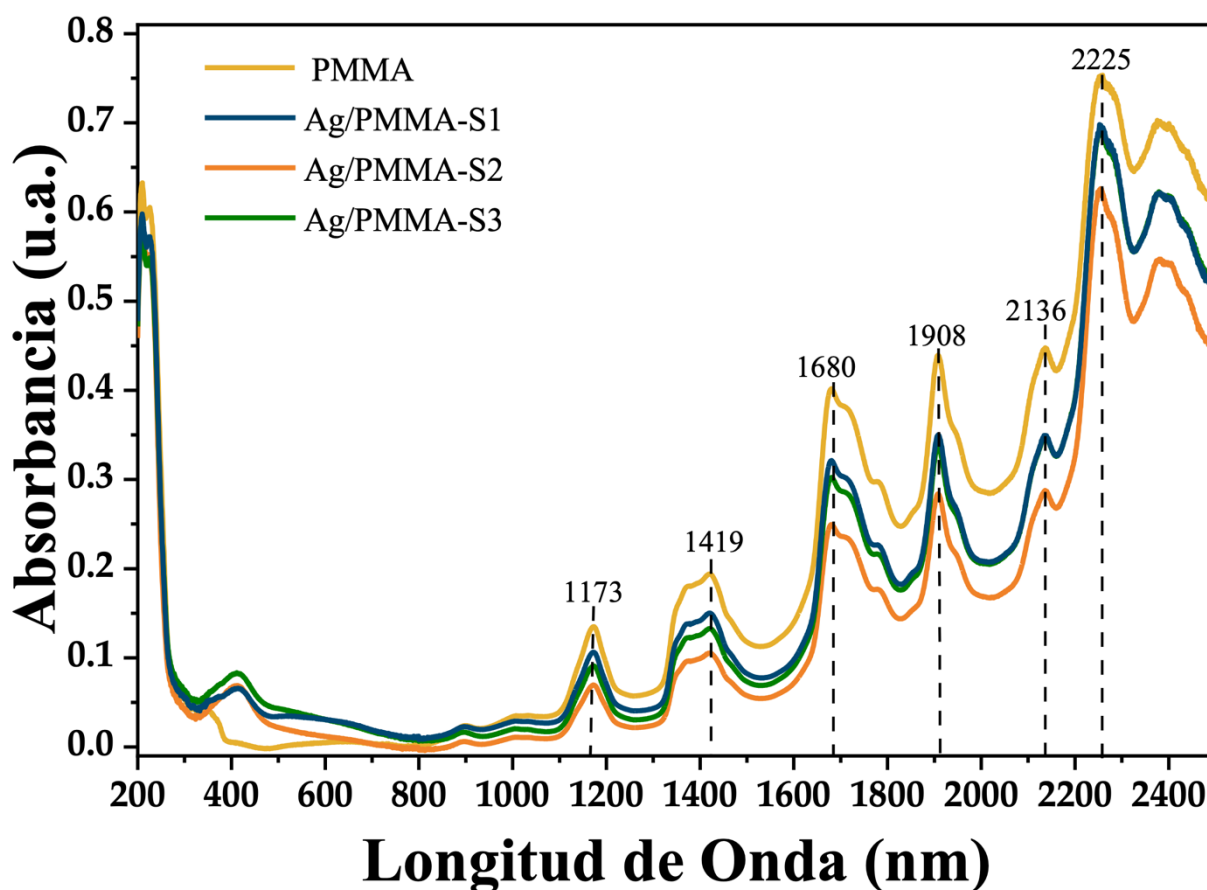


Figura 3.22 Espectros de reflectancia difusa (expresados como absorbancia) de las microesferas de PMMA y de los composites Ag/PMMA.

Mediante reflectancia especular a ángulo variable se estudió el efecto del método de obtención de los ópalos y compositos en la formación de las bandas fotónicas, asociada a sistemas ordenados, así como el efecto de la incorporación de las Ag-NPs.

En la [Figura 3.23\(a\)](#) se muestran los espectros de reflectancia especular a ángulos de incidencia de 20° y 70° de los ópalos de PMMA obtenidos con los métodos de sedimentación y depósito vertical, respectivamente. En los espectros se observa que las bandas en ambos casos son estrechas y disminuyen sus intensidades a medida que aumenta el ángulo de incidencia. Otra diferencia entre ellas es la asimetría de las bandas fotónicas, siendo mayor la intensidad y la simetría que presentan los ópalos obtenidos por el método de sedimentación. Estas diferencias son debidas probablemente al ordenamiento de largo alcance que presentan los ópalos de PMMA obtenidos por el método de sedimentación comparado con el ordenamiento de corto alcance que presentan los ópalos de PMMA obtenidos mediante depósito vertical, los cuales se muestran en las imágenes SEM, [Figuras 3.23\(b\) y \(c\)](#).

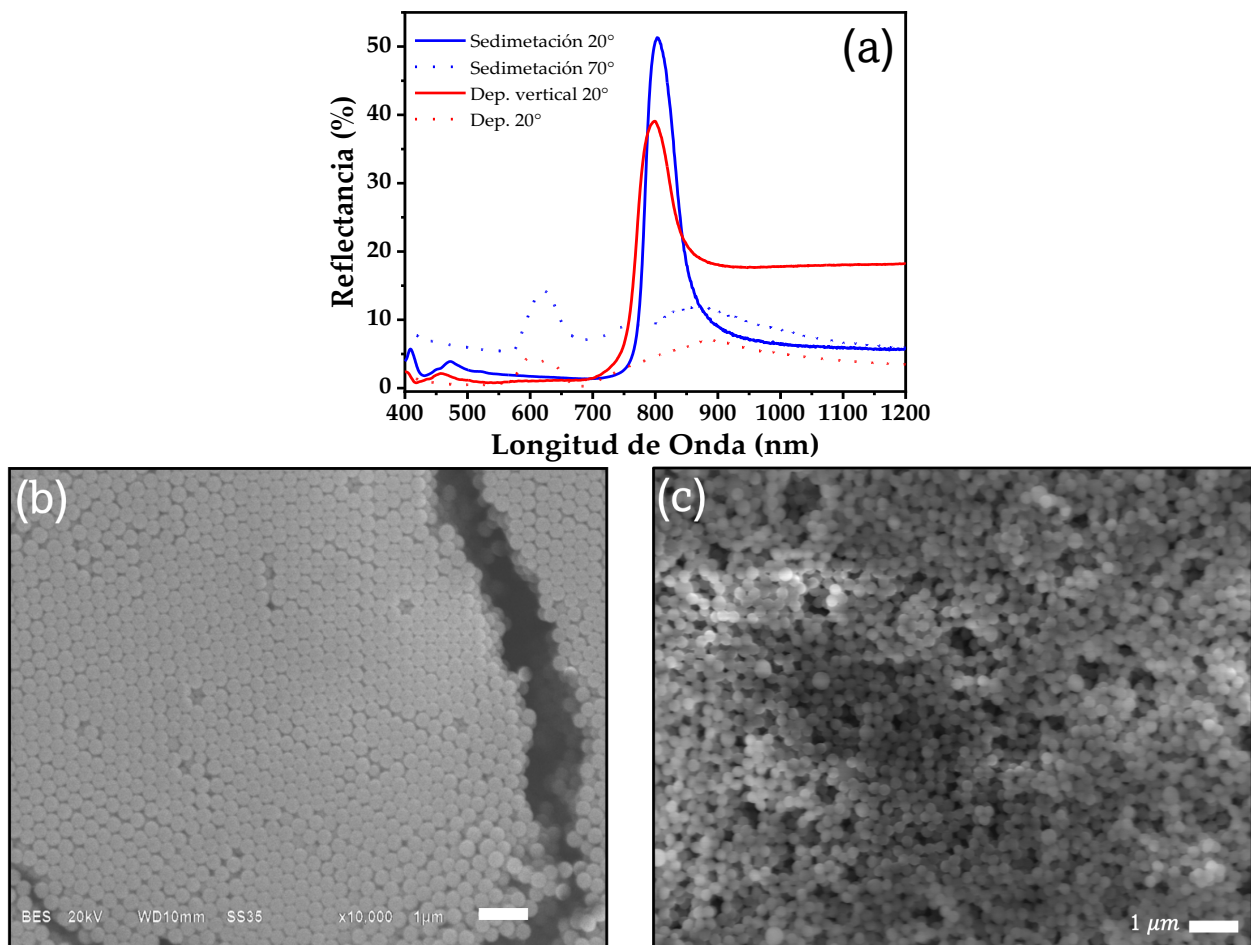


Figura 3.23 (a) Espectros de reflectancia especular a 20° y 70° para los ópalos de PMMA e imágenes SEM a X10,000 de los ópalos obtenidos mediante: (a) método de sedimentación y (b) depósito vertical.

Cuando se añaden las Ag-NPs a los ópalos de PMMA, se observa un desplazamiento de las bandas fotónicas hacia menores longitudes de onda, adicionalmente ocurre una disminución significativa en la intensidad y un ensanchamiento de las bandas fotónicas a medida que aumenta la concentración de las Ag-NPs (Figura 3.24 y Tabla 3.6, columna 2) y en las imágenes SEM, mostradas en la Figura 3.25, se observa con mayor detalle una variación en la adsorción de las microesferas de PMMA sobre el sustrato de Si lo que conlleva a la pérdida del ordenamiento a medida que aumenta la cantidad de Ag-NPs. Estos resultados podrían asociarse al cambio en la viscosidad de la solución resultante de la mezcla de las soluciones de las microesferas de PMMA y la de las Ag-NPs, la cual podría afectar en la adsorción y ordenamiento de las partículas sobre la oblea de Si

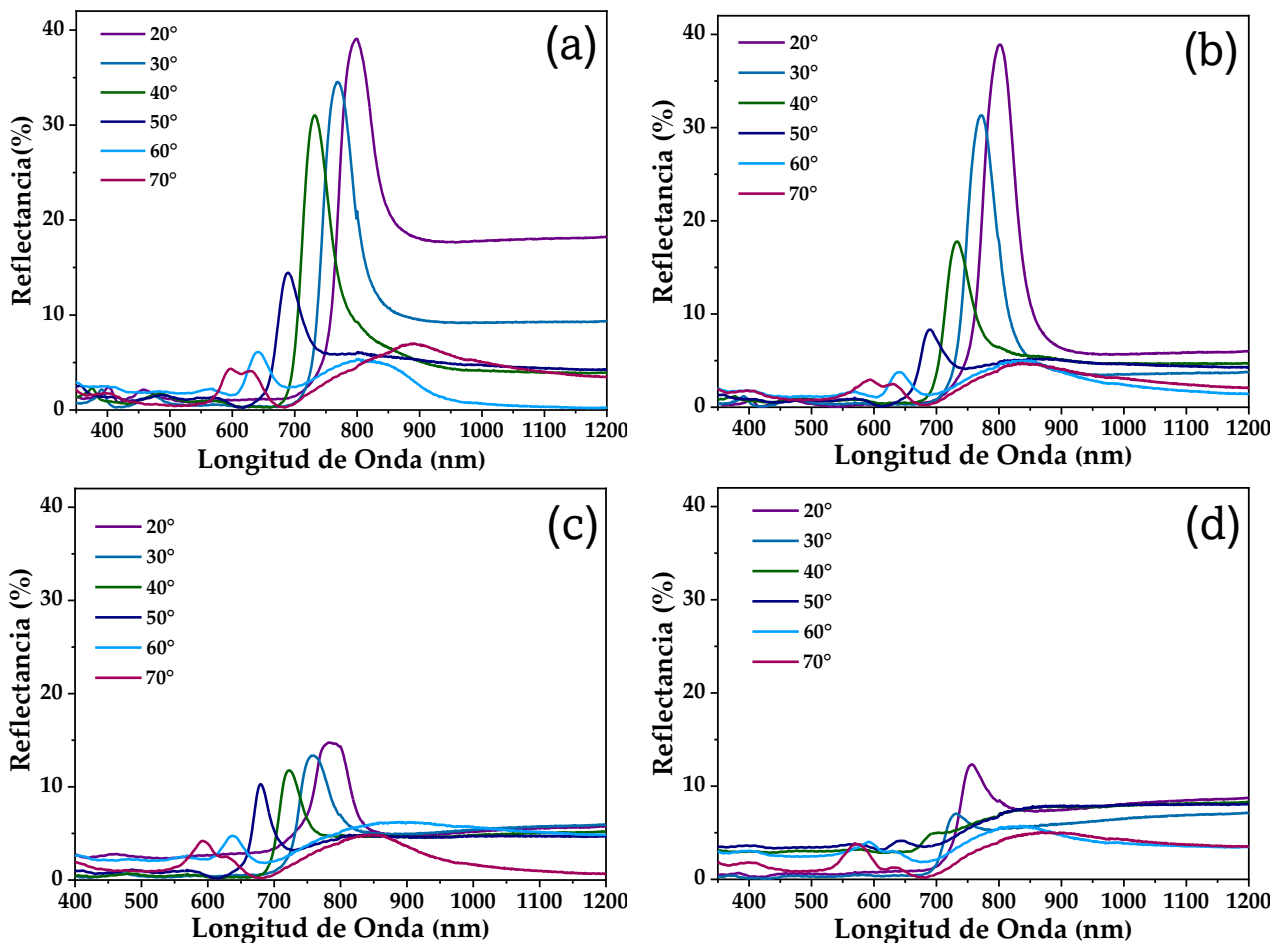


Figura 3.24 Espectros de reflectancia especular a diferentes ángulos de incidencia (20-70°) de: (a) ópalos de PMMA y de los composites (b) Ag/PMMA-S1, (c) Ag/PMMA-S2 y (d) Ag/PMMA-S3.

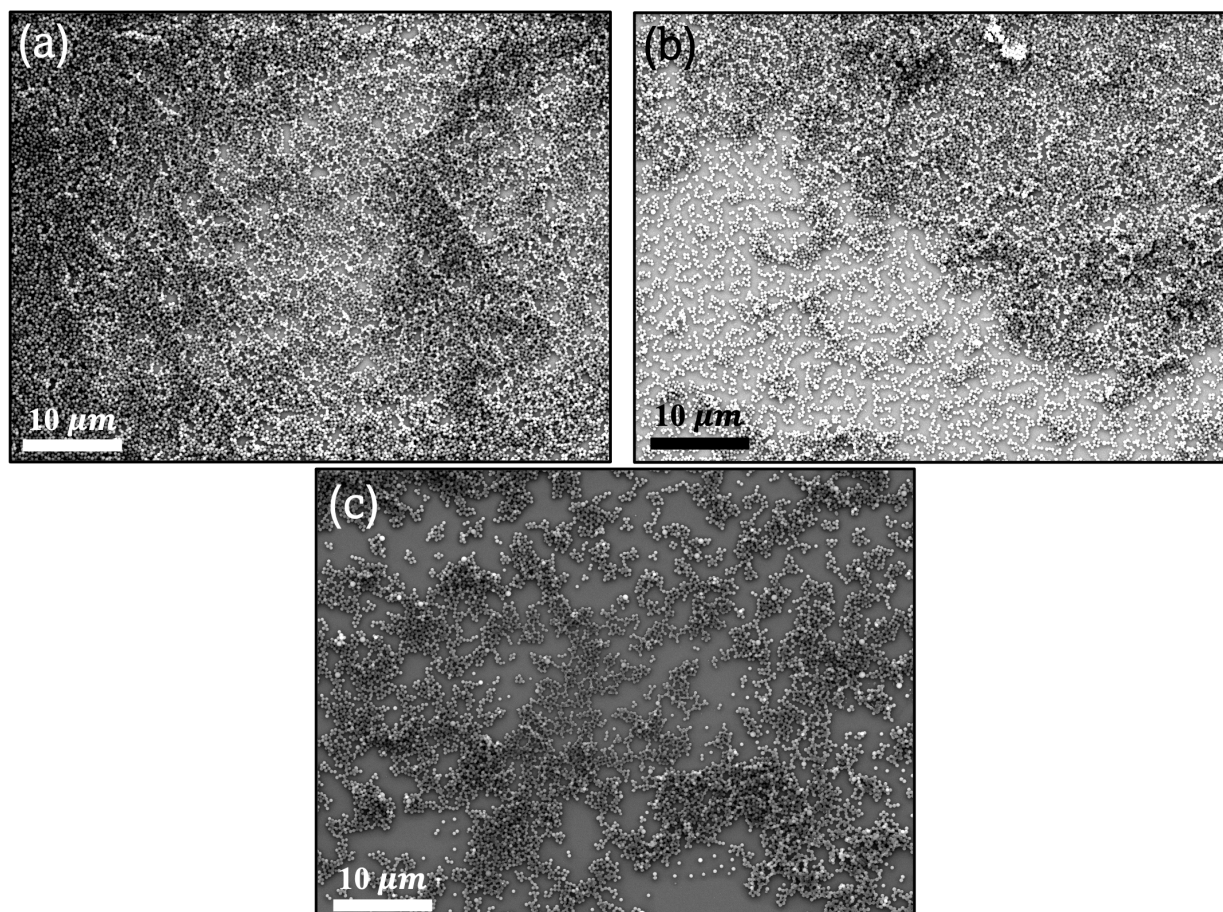


Figura 3.25 Imágenes SEM a X2,000 de los composites de: (a) Ag/PMMA-S1, (b) Ag/PMMA-S2 y (c) Ag/PMMA-S3.

Adicionalmente se realizó el tratamiento de los datos obtenidos directamente de los espectros de reflectancia utilizando la ecuación de Bragg-Snell y un procedimiento similar al descrito en la [Sección 3.2.1](#). Se utilizaron las condiciones descritas previamente debido a que la cantidad de Ag-NPs es muy pequeña y estas no cubren los intersticios del arreglo de microsferas de PMMA. Los resultados obtenidos se muestran en la [Tabla 3.6](#).

Tabla 3.6. Posición de la longitud de onda de la banda fotónica (λ), datos de ajuste de intersección y pendiente, distancia interplanar (d_{111}), diámetro (D) y fracción de volumen sólido (φ) de los ópalos de PMMA y composites Ag/PMMA obtenidos.

Muestra	$\lambda(\theta=20^\circ)^a$ (nm)	Intersección	Pendiente	d_{111}^b (nm)	D ^b (nm)	n_{eff}^b	φ^b
PMMA-S	805	0.690	-0.381	308 ± 12	378 ± 9	1.367 ± 0.02	0.746
Ag/PMMA-S1	800	0.685	-0.366	302 ± 10	371 ± 8	1.344 ± 0.01	0.701
Ag/PMMA-S2	782	0.620	-0.346	293 ± 11	359 ± 7	1.343 ± 0.03	0.700
Ag/PMMA-S3	757	0.658	-0.333	288 ± 12	353 ± 8	1.405 ± 0.02	0.824

^a Datos obtenidos directamente de espectros de reflectancia especular. ^b Datos calculados a partir de la ley de Bragg-Snell.

3.5 Estudio de los Sustratos SERS

3.5.1 Análisis de las Soluciones Estándar

Previo al análisis de los sustratos SERS, se analizaron las soluciones estándar. El AM es un tinte catiónico con una carga positiva, al disociarse en agua se forman iones de AM cargados positivamente [180]. Por lo tanto, un sustrato cargado negativamente puede ser favorable para la adsorción de los iones de AM y permitir una distribución homogénea de los mismos sobre toda la superficie de la oblea de Si. Para ello, la oblea de Si fue cargada negativamente mediante una activación química usando una solución de H_2SO_4 y H_2O_2 (solución piraña). Sin embargo, al depositar la gota de la solución acuosa de AM sobre la superficie de la oblea de Si y dejar que se seque a temperatura ambiente en una atmósfera de N_2 condujo a una distribución no uniforme de las moléculas de AM sobre la oblea después del secado; a pesar de la activación química de la oblea de Si. Este patrón no uniforme resulta en el llamado “*efecto anillo*” descrito por Deegan et al. [181], quienes sugirieron que las razones de evaporación diferencial a lo largo de la gota inducen un flujo capilar hacia el perímetro de la gota para reponer el líquido perdido por la evaporación cerca del borde. Este flujo hacia el borde da como resultado que una mayor cantidad de soluto llegue al borde y produzca el efecto anillo.

Las Figuras 3.26(a-c) muestran imágenes obtenidas con el objetivo de X50 del equipo micro-Raman empleado para las mediciones de tres diferentes regiones de una gota de AM seca sobre la superficie de la oblea de Si. Además, en las fotografías se incluyeron círculos correspondientes al diámetro del haz láser. Se observó que cada imagen presentó una distribución diferente de las moléculas de AM, de hecho, en la Figura 3.26(c) se presenta el borde del área seca de la gota donde claramente se observa el efecto anillo. Estos resultados evidencian la falta de uniformidad de las muestras.

Con el objetivo de analizar y comparar la falta de uniformidad de las muestras en las intensidades Raman, se midieron los espectros de estas tres diferentes zonas de las soluciones estándar y se muestran en la Figura 3.26(d-f). Como era de esperarse, las intensidades máximas de las señales Raman son diferentes en cada región que se analizó. Estos resultados se deben al número, tamaño y forma de distribución de los grupos moleculares del AM sobre la oblea de Si en las diferentes regiones que se analizaron.

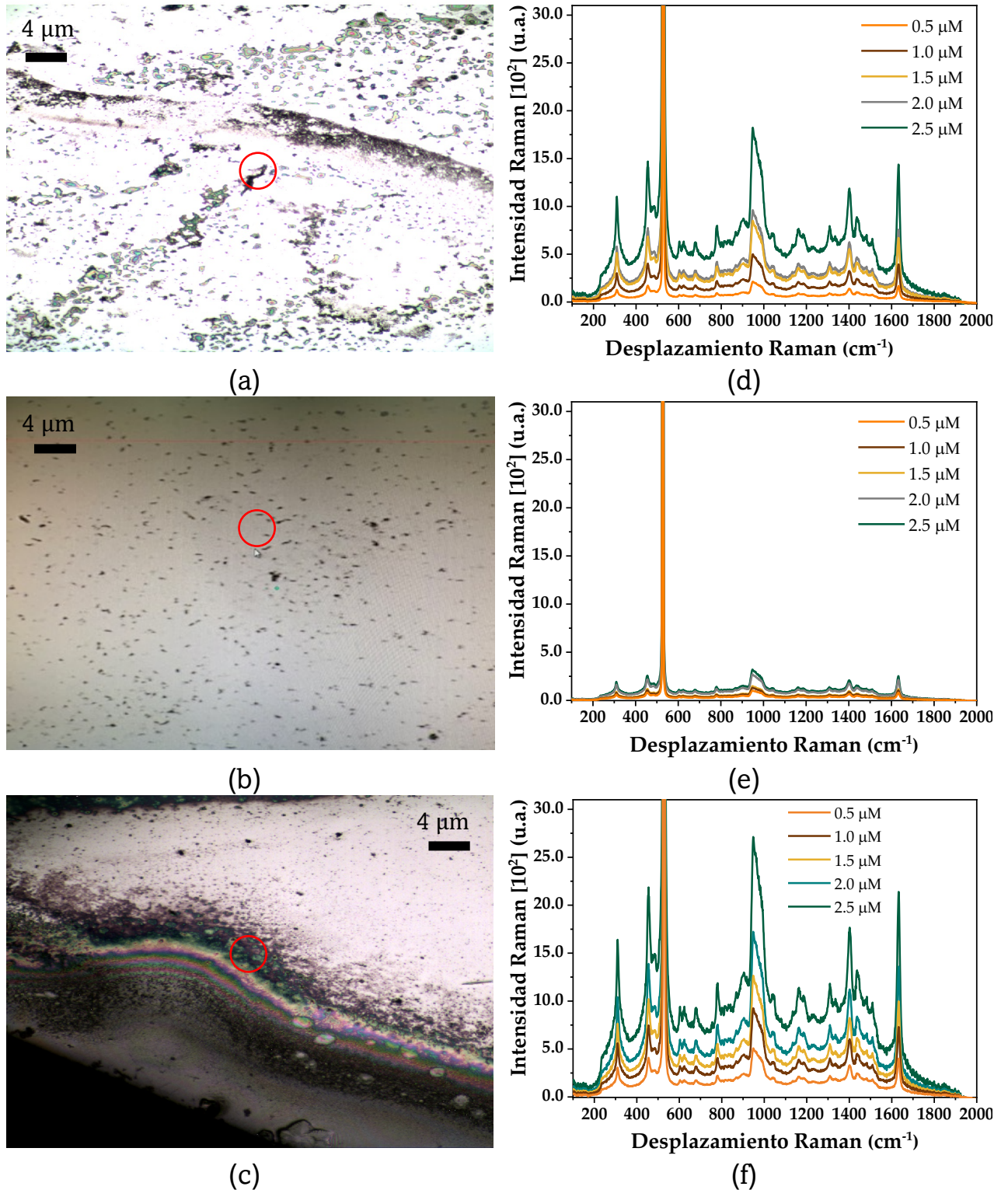


Figura 3.26. Fotografías ópticas de las tres regiones analizadas (a) R1-centro de la gota, (b) R2-región intermedia y (c) R3-orilla de la gota. Todas las imágenes se tomaron usando el objetivo 50× del microscopio acoplado al equipo micro-Raman. Las circunferencias incluidas en las fotografías representan el área del punto láser. También se muestran los espectros Raman de las soluciones estándar de AM con diferente concentración depositados en la oblea de Si en las regiones analizadas: (d) R1, (e) R2 y (f) R3.

La región 1 (R1) representa el centro de la gota donde se aprecian zonas con agregados distribuidos uniformemente a lo largo del sustrato (ver Figuras 3.25(a) y (d)). Sin embargo, la región 2 (R2) que comprende un punto intermedio, se observan pequeños puntos que representan la distribución del colorante, a pesar de ser homogéneos su distribución es limitada, hay zonas donde el colorante aparentemente no se depositó y por lo mismo en el espectro Raman se muestran intensidades muy bajas en comparación con el espectro Raman de la R1 (ver Figura 3.25(b) y (e)). Finalmente, la región 3 (R3) representa la orilla de la gota, donde se observa el efecto anillo. En esta zona se observa una acumulación considerable de AM en comparación con las otras regiones, por lo cual en esta región se observan las mayores intensidades Raman (ver Figura 3.25(c) y (f)).

3.5.2 Sustratos SERS basados en Ag-NPs

Los sustratos con diferente concentración de Ag-NPs (Ag-S1, Ag-S2 y Ag-S3) se utilizaron para determinar su efectividad como sustratos SERS, para tal efecto se usaron las soluciones estándar de AM como analito objetivo en diferentes concentraciones (0.5-2.5 μM). Al depositar la gota de AM sobre el sustrato SERS se observó el mismo efecto anillo descrito anteriormente, por lo cual los espectros Raman se tomaron considerando las tres regiones similares. En la Figura 3.27(a)-(c) se presentan los espectros Raman de AM medidos en las tres regiones del sustrato Ag-S1. Los resultados obtenidos de las intensidades Raman presentan el mismo comportamiento que presentaron las soluciones estándar sin la presencia de las Ag-NPs; las mayores intensidades Raman se obtuvieron en la región R3-orilla de la gota, y las intensidades menores se observan en la región intermedia. Nuevamente, estos resultados se asocian a la distribución no uniforme del AM sobre el sustrato SERS, como anteriormente se discutió.

Sin embargo, el efecto SERS se muestra claramente al usar las Ag-NPs en las soluciones estándar, debido a que las intensidades Raman aumentaron en dos órdenes de magnitud en todas las regiones analizadas con respecto a las intensidades de la señal Raman de las soluciones estándar. A pesar de que todas las bandas presentan un aumento significativo en la intensidad, las bandas ubicadas en 455 cm^{-1} (asignada a la deformación esquelética de los enlaces C–N–C) y 1632 cm^{-1} (asignada al estiramiento del enlace del anillo C–C) son las bandas con mayor intensidad. No obstante, se observa un ligero corrimiento ($\sim 6\text{ cm}^{-1}$) hacia mayores números de onda en las posiciones de las bandas del AM al usar las Ag-NPs como sustrato SERS. Estos cambios se deben a la interacción de las moléculas de AM con el sustrato lo que afecta los modos de vibración de la molécula [160]. Sin embargo, este

desplazamiento no es significativo. Cabe destacar que no se observa la presencia de alguna nueva banda, que pudiera dar indicios de una modificación del analito (AM) por la presencia de las Ag-NPs.

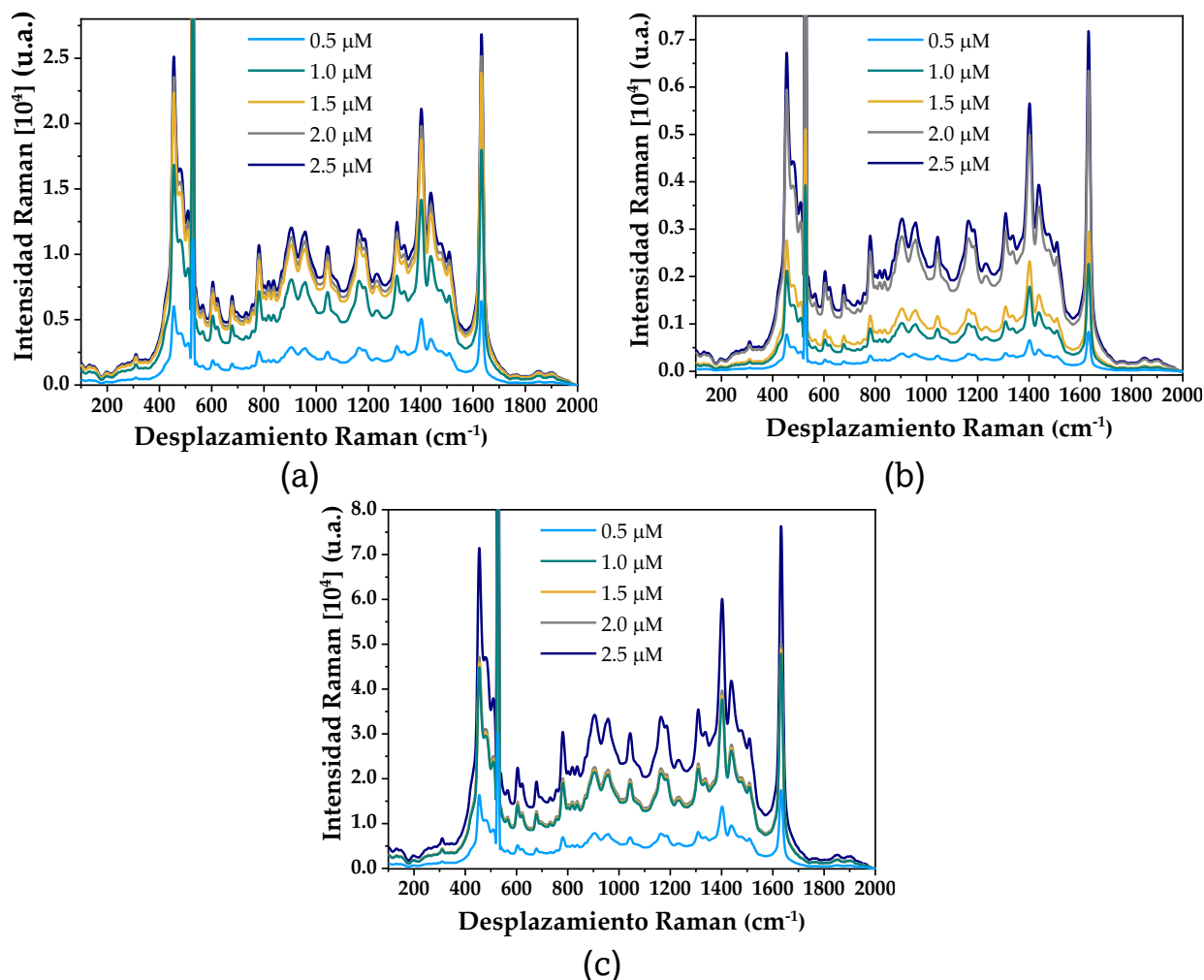


Figura 3.27. Efecto SERS al usar el sustrato Ag-S1 en las soluciones estándar de AM. Los espectros se tomaron en tres regiones distintas de la gota de AM formada sobre el sustrato SERS: (a) R1-centro de la gota, (b) R2-región intermedia y (c) R3-orilla de la gota.

Un análisis similar se realizó a los sustratos Ag-S2 y Ag-S3. En la [Figura 3.28](#) se muestran las gráficas comparativas de las concentraciones de AM en las diferentes regiones analizadas de las soluciones estándar para cada sustrato SERS. Los resultados indican que al igual que lo observado en los espectros de la [Figura 3.27](#), en los tres sustratos SERS (Ag-S1, Ag-S2 y Ag-S3) la intensidad de la señal Raman depende de la zona donde se realiza la medición, pero las mayores intensidades se observan en la R3-orilla de la gota, seguido de la R1-centro de la gota, y las menores intensidades se encuentran en la R2- región

intermedia. Este comportamiento, como anteriormente se discutió se asocia a la distribución del AM en el sustrato SERS.

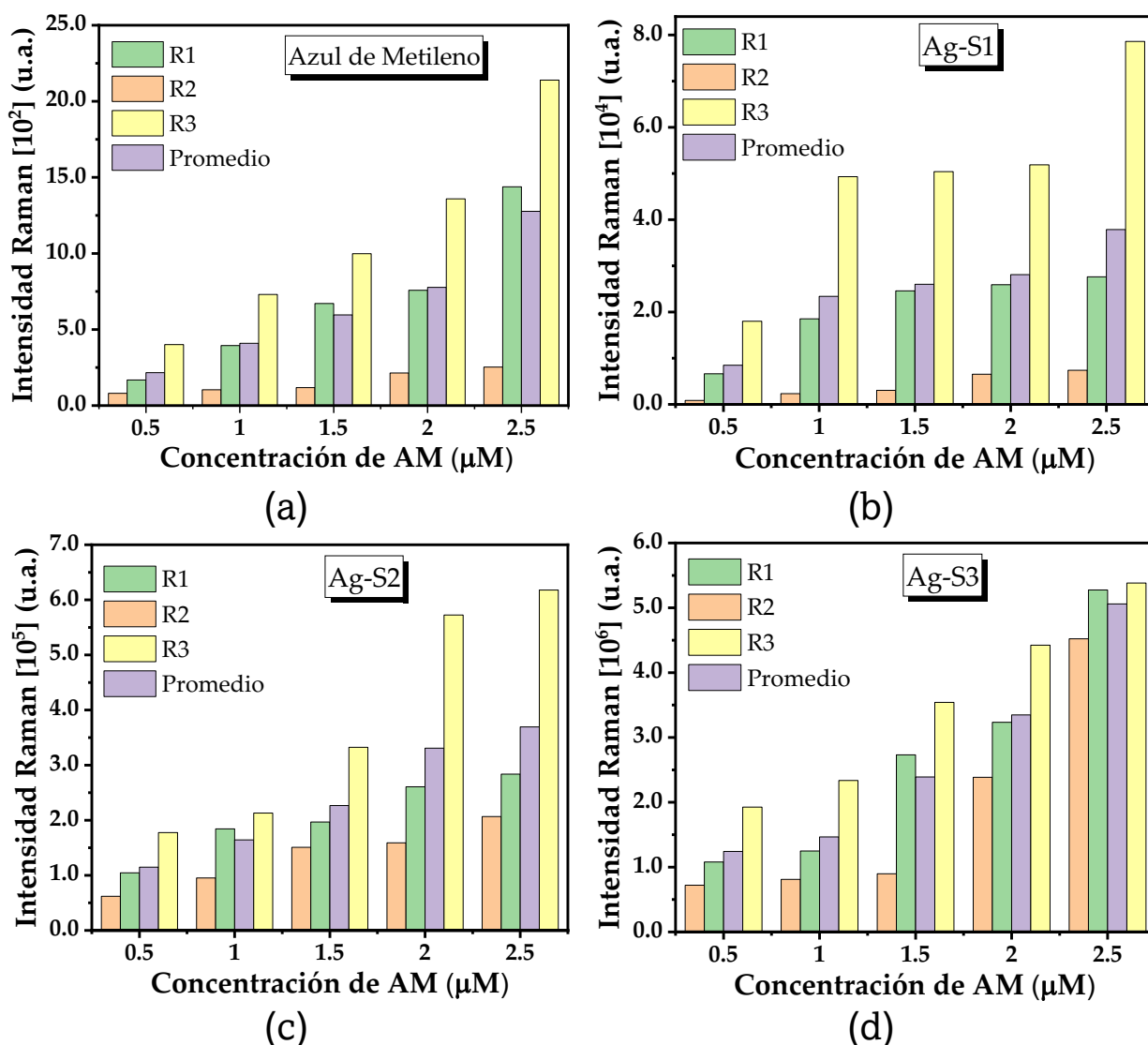


Figura 3.28. Gráficas de barras comparativas que muestran la intensidad Raman vs la concentración de AM en las diferentes regiones analizadas para cada sustrato SERS: (a) soluciones estándar, (b) Ag-S1, (c) Ag-S2, y (d) Ag-S3. Además, se muestra el valor promedio de la intensidad Raman en cada caso.

La intensidad de los espectros Raman depende de la uniformidad del AM sobre el sustrato SERS y de la zona analizada. Por lo tanto, los resultados no son representativos. Es decir, la abundancia o escasez de moléculas de AM en el área iluminada por el haz del láser no es característica de toda la muestra, debido a que las intensidades de los espectros dependen en gran medida de la ubicación del haz del láser en la muestra. Para realizar un

análisis y una comparación de los resultados de las intensidades Raman, se obtuvieron los promedios para cada sustrato SERS considerando las tres regiones mencionadas anteriormente. Para ello, se consideró la intensidad Raman de cada concentración y se obtuvo la intensidad promedio de ésta, considerando las tres regiones. Así, para una concentración dada, por ejemplo, de 2.5 μM el valor de la intensidad promedio considera las mediciones en el centro, en la región intermedia y en la orilla de la gota. El comportamiento de la intensidad Raman promedio con respecto a las intensidades en cada región se muestran en los gráficos comparativos de la [Figura 3.28](#). Donde se observa que los valores de las intensidades promedio son similares a los obtenidos para la región central de la gota, lo cual se observa en todos los casos. Entonces, se consideró que los valores de las intensidades promedio son representativos de lo que sucede en el sustrato SERS y, por lo tanto, se decidió considerar los valores promedio para analizar la eficiencia de los sustratos.

Los espectros Raman promedio para cada sustrato SERS se presentan en la [Figura 3.29](#), es muy evidente como aumenta significativamente la intensidad de la señal Raman, hasta en cuatro órdenes de magnitud, a medida que aumenta la cantidad de Ag-NPs en el sustrato SERS a pesar de la baja concentración (0.94 mM) y cantidad de las Ag-NPs empleadas en la preparación de los sustratos. Además, el incremento de las intensidades Raman sugiere una exitosa adsorción del analito (AM) sobre la superficie de los sustratos.

En las [Figuras 3.29\(b\), \(e\) y \(h\)](#) se observa el comportamiento de la banda Raman ubicada en 1632 cm^{-1} , se escogió esta banda debido a su intensidad y posición, ya que no hay junto a ella una banda que pueda causarle interferencia. En estos gráficos podemos apreciar mejor como la intensidad Raman aumenta gradualmente a medida que aumenta la concentración de AM. Por su parte en las [Figuras 3.29\(c\), \(f\) e \(i\)](#) se muestra la relación entre la intensidad Raman y la concentración de AM y se determinó que exhiben un comportamiento lineal dentro de las concentraciones de AM usadas. Debido a que se obtuvieron altas relaciones lineales con coeficientes de correlación de $R^2= 0.93$ para el sustrato Ag-S1, $R^2= 0.98$ para el sustrato Ag-S2 y $R^2= 0.95$ para el sustrato Ag-S3.

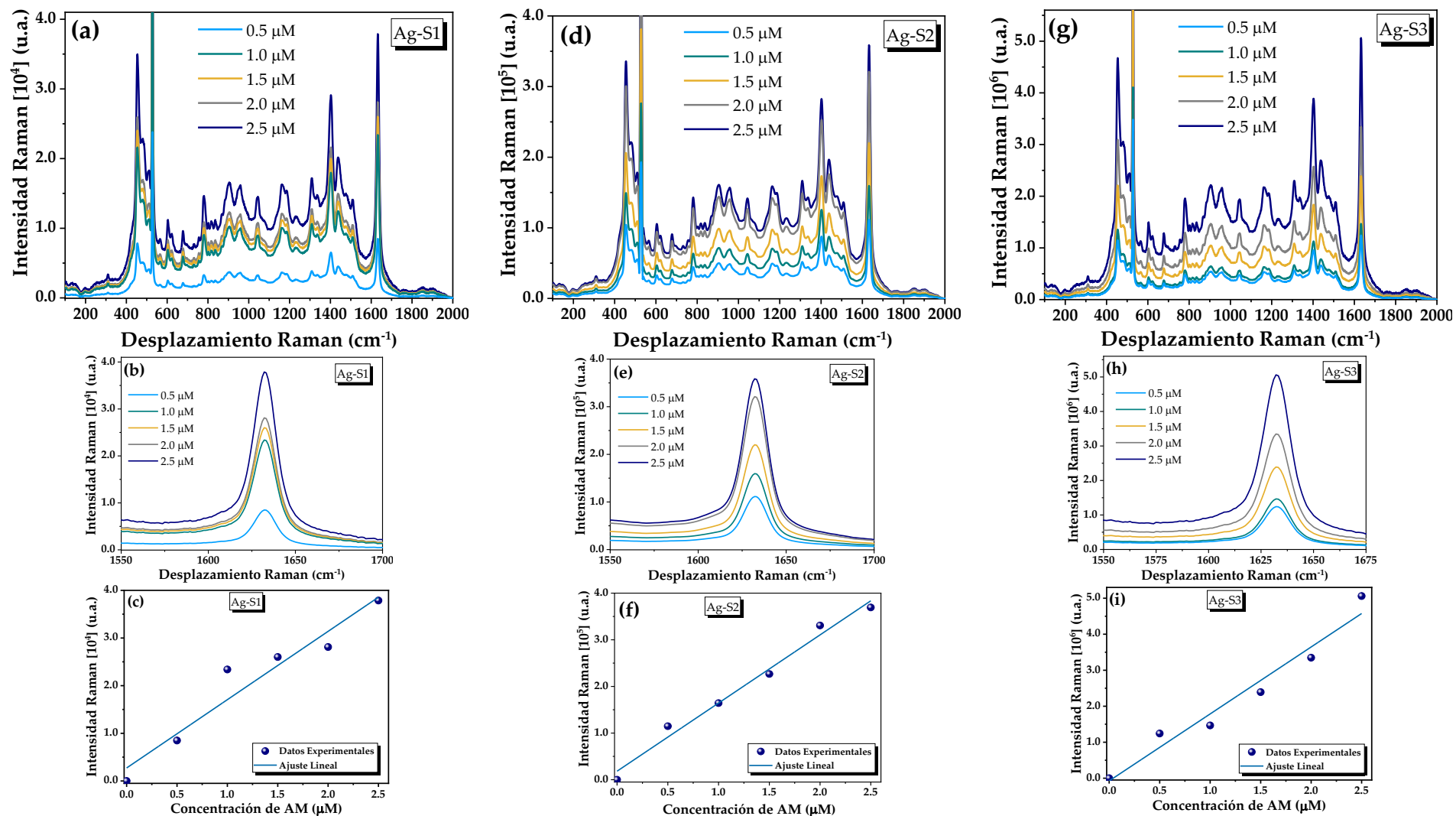


Figura 3.29. Efecto SERS de los sustratos en las soluciones estándar de AM, comportamiento de la banda de interés ubicada en 1632 cm⁻¹ y ajuste lineal de la relación entre las concentraciones de AM y la intensidad de la banda ubicada en 1632 cm⁻¹ para los sustratos Ag-S1 (a, b y c), Ag-S2 (d, e y f) y Ag-S3 (g, h, e i).

La comparación del comportamiento de las intensidades Raman para cada sustrato SERS se resumen en la [Tabla 3.7](#). Podemos notar que las intensidades más altas se observaron al usar el sustrato Ag-S3, donde la intensidad aumentó hasta en cuatro órdenes de magnitud, con respecto a las soluciones estándar. Seguido del sustrato Ag-S2 donde la intensidad aumentó en tres órdenes de magnitud. Finalmente, el sustrato Ag-S1 presentó un aumento de la intensidad en dos órdenes de magnitud. Estos resultados muestran que los sustratos SERS obtenidos tiene una alta capacidad de detección incluso a concentraciones moleculares bajas de AM (5.0×10^{-7} M), donde la señal Raman fue fácilmente detectada y las bandas Raman características obtenidas están bien definidas.

Tabla 3.7 Comparación de las intensidades promedio obtenidas empleando los diferentes sustratos SERS para cada concentración.

Concentración de AM (M)	Intensidad Raman ($\times 10^2$)	Intensidad Raman Ag-S1 ($\times 10^4$)	Intensidad Raman Ag-S2 ($\times 10^5$)	Intensidad Raman Ag-S3 ($\times 10^6$)
0.5×10^{-6}	2.14	0.85	1.15	1.24
1.0×10^{-6}	4.05	2.34	1.64	1.47
1.5×10^{-6}	5.83	2.60	2.27	2.39
2.0×10^{-6}	7.32	2.81	3.31	3.35
2.5×10^{-6}	12.9	3.80	3.69	5.06

Para evaluar el rendimiento de los sustratos SERS se determinó el Factor de Mejora SERS (SERS-EF) (por sus siglas en inglés *Enhanced Factor*) es el parámetro clave para comparar la eficiencia de los sustratos para mejorar la señal Raman. Se calculó el EF usando la banda de mayor intensidad ubicada en 1632 cm^{-1} y utilizando la Ecuación (3.11) [182]:

$$EF = \frac{I_{SERS}/N_{SERS}}{I_{Raman}/N_{Raman}} \quad (3.11)$$

donde: I_{SERS} y I_{Raman} denotan las intensidades medidas SERS y Raman de la banda característica ubicada en 1632 cm^{-1} , respectivamente. N_{SERS} y N_{Raman} representan los correspondientes números de moléculas excitadas en el sustrato SERS y sin el mismo, que representan el número de dispersores en la adquisición de los espectros. N_{Raman} depende únicamente de la concentración del analito y del área específica donde se lleva a cabo la medición. Por otro lado N_{SERS} está relacionado con el número de moléculas del analito

adsorbido sobre el sustrato SERS y se obtiene considerando la cobertura de superficie activa sobre el área objetivo donde se llevó a cabo la medición.

N_{Raman} fue calculada considerando el número de moléculas de AM en 50 μL a las diferentes concentraciones utilizadas en el área superficial promedio ocupada por el AM después de ser goteado sobre el sustrato. Al depositar el AM sobre el sustrato se observa una mancha con un diámetro de ≈ 1.0 cm, lo que da un área de esta mancha de $7.85 \times 10^7 \mu\text{m}^2$. Sin embargo, no toda el área ocupada por el AM en el sustrato es analizada durante las mediciones Raman, sólo se consideran el número de moléculas dentro del punto láser del equipo que tiene un área de $12.57 \mu\text{m}^2$ (ver [Tabla 3.8](#)), considerando que se usó el objetivo de X50. Por lo tanto, N_{Raman} es el número de moléculas de AM irradiadas por el láser durante la adquisición del espectro Raman. No obstante, como anteriormente se mencionó la distribución del AM no es homogénea en el sustrato, y existen regiones donde no se depositaron moléculas de AM. Por lo cual, se determinó la relación entre el área total cubierta por la gota de AM en el sustrato, el área que ocupa una molécula de AM y el número de moléculas disponibles de AM.

Tabla 3.8 Concentración de AM, número de moléculas de AM en el punto láser, porcentaje del área total ocupada por las moléculas de AM, y N_{Raman} .

Concentración de AM (M)	Número de moléculas de AM en el punto láser ($\times 10^6$)	Porcentaje del área total ocupada por las moléculas de AM (%)	$N_{Raman} (\times 10^6)$
0.5×10^{-6}	1.9	8.7	0.16
1.0×10^{-6}	3.8	17.5	0.66
1.5×10^{-6}	5.7	26.2	1.50
2.0×10^{-6}	7.6	35.0	2.60
2.5×10^{-6}	9.5	43.7	4.13

Para los cálculo de N_{Raman} y N_{SERS} se consideró que la molécula de AM se adsorbió sobre el sustrato de Si y sobre las Ag-NPs con una orientación horizontal, es decir, con el átomo de nitrógeno que se encuentra en el anillo aromático central [183]. Por lo tanto, el área de la base horizontal de la molécula de AM es de $4.56 \times 10^{-7} \mu\text{m}^2$. Considerando el área total de la región marcada por la gota y el área de una sola molécula de AM, se requieren $\approx 1.72 \times 10^{14}$ moléculas de AM para cubrir toda el área disponible. Sin embargo, como se aprecia en la [Tabla 3.9](#), a la concentración más alta usada (2.5×10^{-6} M) el número total de moléculas disponibles sólo es de 7.5×10^{13} , por lo tanto, no toda la región enmarcada por

la gota de AM contiene moléculas. Los porcentajes del área ocupada por moléculas de AM para cada concentración se enlistan en la [Tabla 3.9](#), así como los resultados finales correspondientes al valor de N_{Raman} .

Por otra parte, para el cálculo de N_{SERS} es necesario considerar que únicamente las moléculas de AM sobre las Ag-NPs son las responsables de la intensidad SERS. Por lo cual primero se realizó un análisis detallado a las imágenes SEM de los sustratos utilizando el software *ImageJ64*, con lo cual se determinó un número aproximado de Ag-NPs dentro del punto láser. Por ejemplo, para el sustrato Ag-S1, se determinó que en el área del punto láser alrededor del 10% del área es ocupada por las Ag-NPs. Nuevamente, tomando en cuenta el área ocupada por una molécula de AM adsorbida horizontalmente y considerando que en todas las Ag-NPs se depositaron moléculas de AM hay un total de 1.35×10^3 moléculas de AM que son las responsables del efecto SERS y, por lo tanto, el valor de N_{SERS} . Finalmente, se calculó el valor de EF. Los valores finales de EF se enlistan en la [Tabla 3.9](#). Así, como los valores de EF para los sustratos SERS restantes; Ag-S2 y Ag-S3.

Tabla 3.9 Concentración de AM y valores de EF obtenido para los diferentes sustratos SERS basados en Ag-NPs.

Concentración de AM (M)	Ag-S1 ($\times 10^4$)	Ag-S2 ($\times 10^5$)	Ag-S3 ($\times 10^6$)
0.5×10^{-6}	0.62 ± 0.03	2.18 ± 0.07	1.14 ± 0.12
1.0×10^{-6}	1.35 ± 0.04	3.30 ± 0.08	1.44 ± 0.13
1.5×10^{-6}	1.56 ± 0.05	4.75 ± 0.07	1.62 ± 0.15
2.0×10^{-6}	1.79 ± 0.04	4.92 ± 0.08	3.25 ± 0.11
2.5×10^{-6}	1.81 ± 0.05	5.34 ± 0.09	5.18 ± 0.09

En la [Figura 3.29](#) se presenta un gráfico comparativo de los valores de EF para cada sustrato (Ag-S1, Ag-S2 y Ag-S3) en función de la concentración de AM. Donde se aprecia que el EF aumenta linealmente a medida que aumenta la concentración de AM, y para cada sustrato el comportamiento es similar. Además, se puede apreciar claramente que el sustrato SERS Ag-S3 es el que presenta el mejor rendimiento en comparación con los otros sustratos. Este resultado puede explicarse por la mayor concentración de Ag-NPs presentes en el sustrato lo que a su vez implica una mayor cantidad de “puntos calientes” responsables de la mejora en el campo electromagnético y a su vez una mejora en la señal Raman.

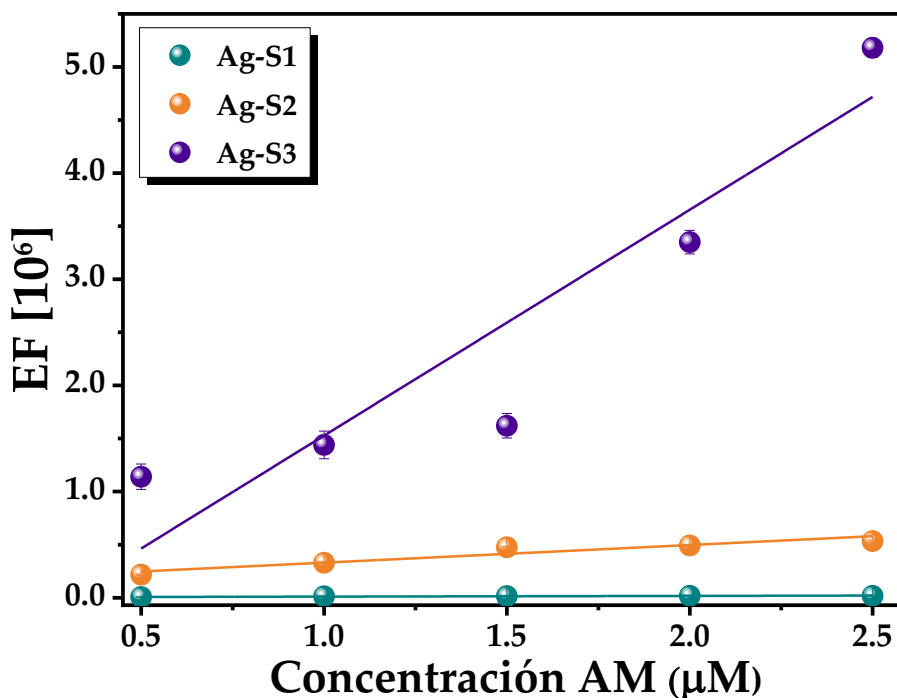


Figura 3.30. Gráfico comparativo de los valores de EF obtenidos para cada sustrato SERS (S-1, S-2 y S-3) en función de la concentración de AM.

Sin embargo, se observó que la intensidad Raman no aumentó con la misma tendencia que la concentración de las Ag-NPs en el sustrato. Debido a que el aumento de EF es mucho mayor para el sustrato Ag-S3, a pesar de que la diferencia en la concentración de las Ag-NPs entre los sustratos es la misma. Este resultado puede explicarse por el número de aglomerados y la disposición de ellos en el sustrato (ver [Figura 3.13](#)). Se espera que en los aglomerados existan cúmulos de Ag-NPs los que a su vez presentan un efecto de acoplamiento plasmónico vertical (apilamiento vertical) adicional al efecto de acoplamiento plasmónico horizontal (mismo plano) que usualmente presentan las Ag-NPs en un sustrato SERS, esta disposición generó una mayor cantidad de puntos calientes que en los otros sustratos donde solamente se da el acoplamiento plasmónico horizontal, y por lo tanto la señal Raman mejoró aún más en el sustrato SERS Ag-S3.

3.5.2 Sustratos SERS basados en Compositos Ag/PMMA

Al igual que las Ag-NPs, los compositos Ag/PMMA se analizaron como sustratos SERS empleando AM. Inicialmente, se realizó un análisis de las soluciones estándar sobre el sustrato basado en ópalos de PMMA, en la [Figura 3.31\(a\)](#) se presentan los espectros Raman correspondientes a estas mediciones, donde se aprecia que la intensidad Raman aumentó ligeramente al usar los ópalos de PMMA como sustrato, lo cual se aprecia mejor en la [Tabla 3.10](#). Este aumento no se debe a un efecto electromagnético, debido a que este fenómeno solo se presenta cuando existen NPs metálicas.

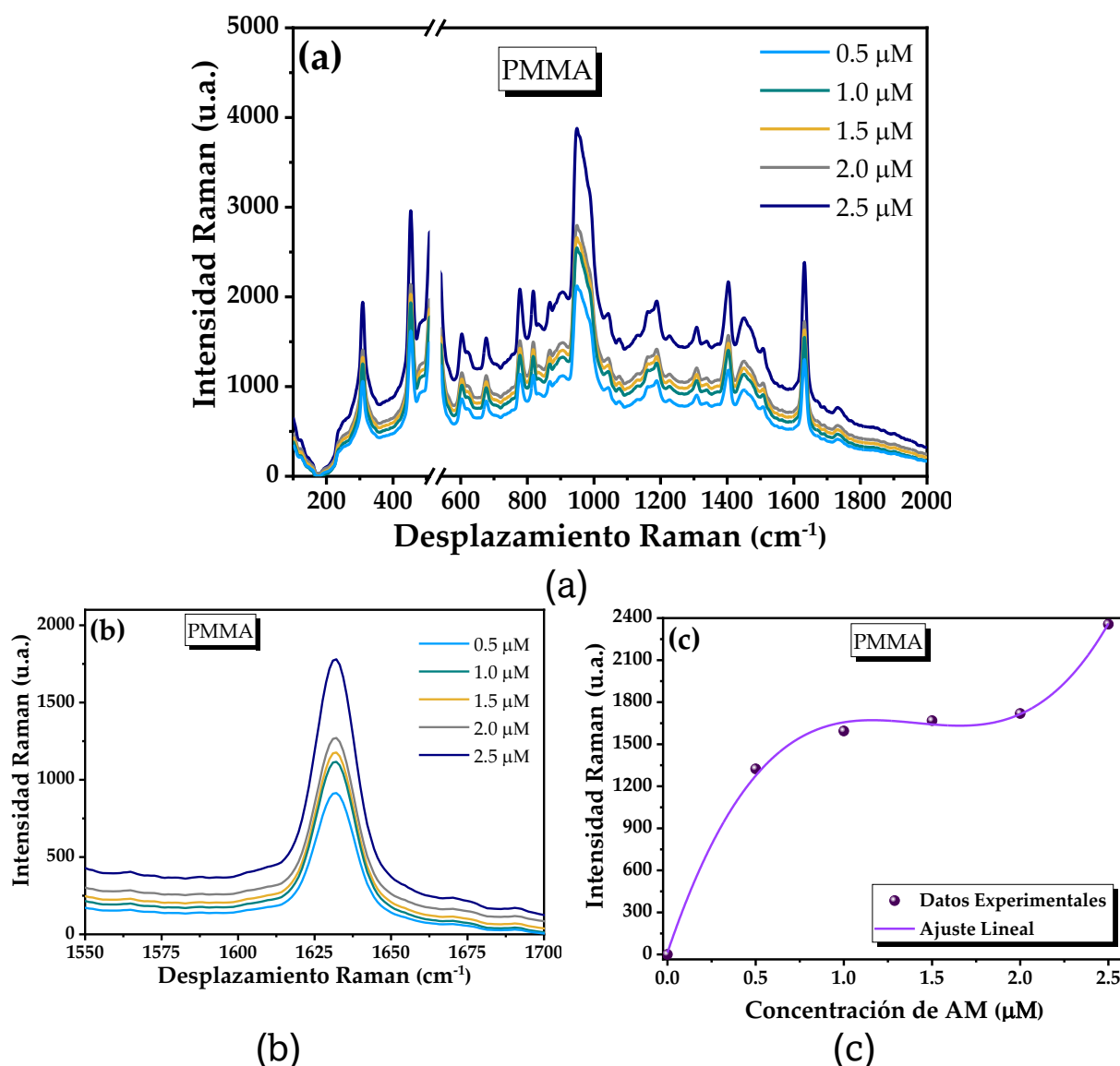


Figura 3.31. (a) Espectro Raman promedio de las soluciones estándar de AM depositadas sobre el sustrato basado en PMMA. (b) Comportamiento de la banda de interés ubicada en 1625 cm^{-1} , y (c) Ajuste de la relación entre las concentraciones de AM de las soluciones estándar y la intensidad de la banda característica de interés en 1625 cm^{-1} .

A pesar de que en la literatura se ha reportado una mejora en la señal Raman al usar ópalos de PMMA como sustratos SERS, no se describe un posible mecanismo asociado a esta mejora [184]. Por lo tanto, el aumento en la intensidad que se observa aquí se asocia a un efecto de adsorción del colorante en las microesferas de PMMA.

Tabla 3.10 Comparación de las intensidades promedio obtenidas empleando los diferentes sustratos SERS para cada concentración.

Concentración de AM (M)	Intensidad Raman ($\times 10^2$)	Intensidad Raman PMMA ($\times 10^3$)	Intensidad Raman Ag/PMMA-S1 ($\times 10^4$)	Intensidad Raman Ag/PMMA-S2 ($\times 10^4$)	Intensidad Raman Ag/PMMA-S3 ($\times 10^5$)
0.5×10^{-6}	2.14	1.32	3.79	7.78	2.96
1.0×10^{-6}	4.05	1.59	2.81	5.32	1.16
1.5×10^{-6}	5.83	1.66	2.60	3.51	8.97
2.0×10^{-6}	7.32	1.71	2.34	2.13	0.54
2.5×10^{-6}	12.9	2.35	0.85	1.25	0.31

En la [Figuras 3.31](#), se presentan los espectros Raman correspondientes a los sustratos SERS basados en composites Ag/PMMA y para su comparación los valores de las intensidades se presentan en la [Tabla 3.10](#). Se aprecia claramente que la intensidad Raman aumento hasta en tres ordenen de magnitud cuando se usó el composite Ag/PMMA como sustrato SERS. Además, se aprecia que la intensidad aumentó en todas las bandas, resaltando las bandas asociadas a la deformación esquelética de los enlaces C–N–C (455 cm^{-1}) y el estiramiento del enlace del anillo C–C (1626 cm^{-1}). Cabe destacar que no se observó la presencia de alguna banda asociada al sustrato de PMMA, a pesar de que su caracterización individual mediante micro-Raman presentara claramente las bandas características asociadas al PMMA (ver [Figura 3.21](#)) lo cual sugiere que este no afecta en las mediciones de SERS. Tampoco se observo algún desplazamiento en las bandas de AM que pudiera dar indicios de su modificación o alteración por la presencia del PMMA o las Ag-NPs. Al igual que en los resultados observados al usar las Ag-NPs como sustratos SERS, la intensidad Raman aumenta linealmente a medida que aumenta la concentración de AM. Entonces, se espera que los fenómenos asociados a la mejora en la intensidad Raman sean similares en ambos sistemas, y esto se puede corroborar comparando los espectros Raman, donde se observa que en ambos casos las bandas en 455 y 1626 cm^{-1} son más intensas; por lo tanto, la adsorción y orientación de la molécula de AM en los diferentes sustratos SERS es similar.

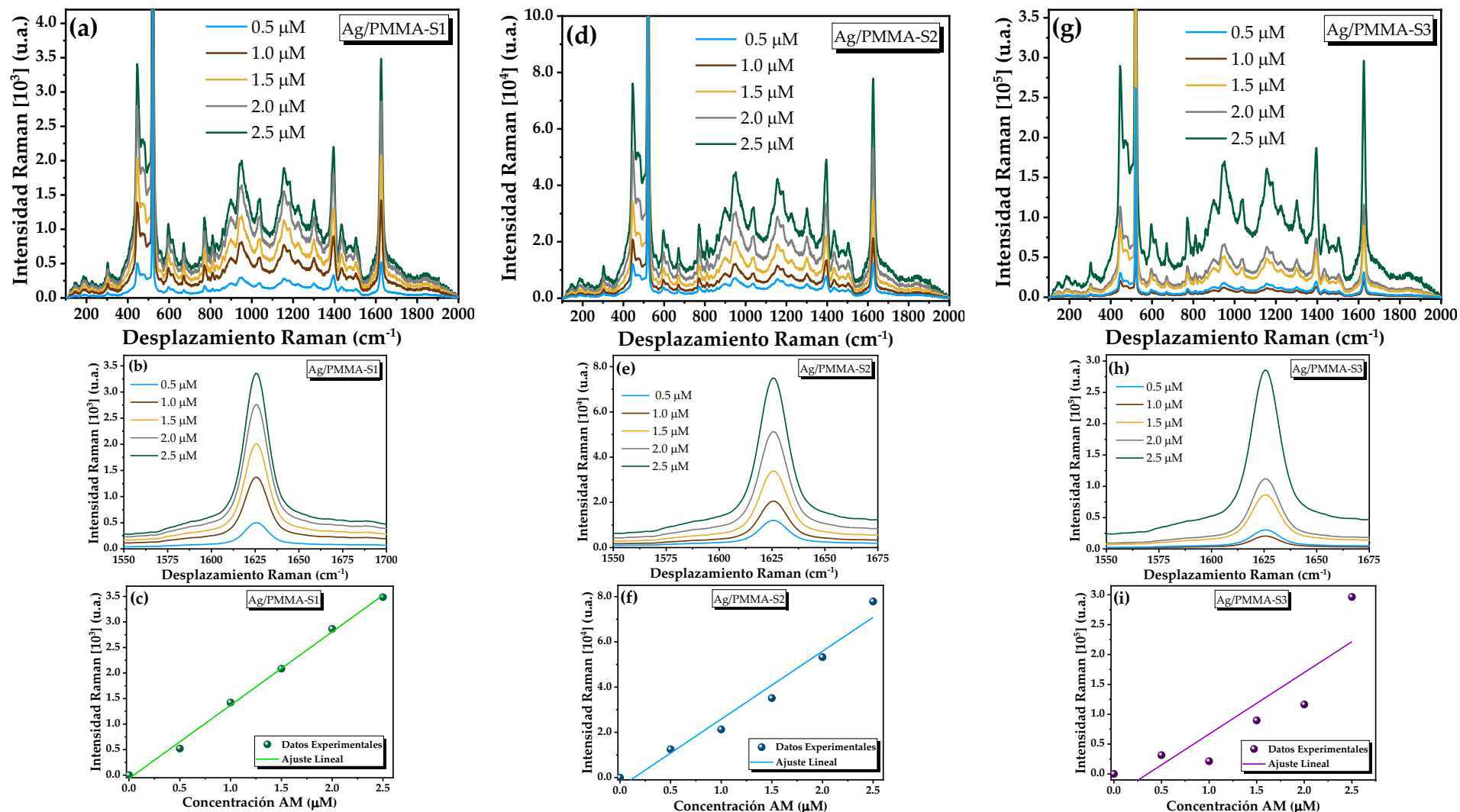


Figura 3.32. Efecto SERS de los sustratos en las soluciones estándar de AM, comportamiento de la banda de interés ubicada en 1626 cm^{-1} y ajuste lineal de la relación entre las concentraciones de AM y la intensidad de la banda de interés para los sustratos Ag/PMMA-S1 (a, b y c), Ag/PMMA-S2 (d, e y f) y Ag/PMMA-S3 (g, h, e i).

Se calcularon los EF de los sustratos SERS basados en los composites Ag/PMMA utilizando un procedimiento similar al que describió previamente, los resultados obtenidos se resumen en la [Tabla 3.11](#), además su comportamiento se muestra gráficamente en la [Figura 3.33](#). Observamos que los EF obtenidos aquí son menores a los obtenidos cuando se usaron únicamente Ag-NPs como sustratos SERS, lo que sugiere que las microesferas de PMMA presentes en el composite afectan significativamente la mejora en la intensidad Raman de las Ag-NPs.

Tabla 3.11 Concentración de AM y valores de EF obtenido para los diferentes sustratos SERS basados en composites Ag/PMMA.

Concentración de AM (M)	Ag/PMMA-S1 ($\times 10^3$)	Ag/PMMA-S2 ($\times 10^4$)	Ag/PMMA-S3 ($\times 10^5$)
0.5×10^{-6}	0.80 ± 0.11	0.41 ± 0.05	0.47 ± 0.08
1.0×10^{-6}	2.35 ± 0.07	0.80 ± 0.07	0.85 ± 0.09
1.5×10^{-6}	2.70 ± 0.09	1.38 ± 0.09	1.48 ± 0.12
2.0×10^{-6}	3.12 ± 0.14	2.21 ± 0.09	2.04 ± 0.10
2.5×10^{-6}	3.91 ± 0.12	2.30 ± 0.08	3.69 ± 0.11

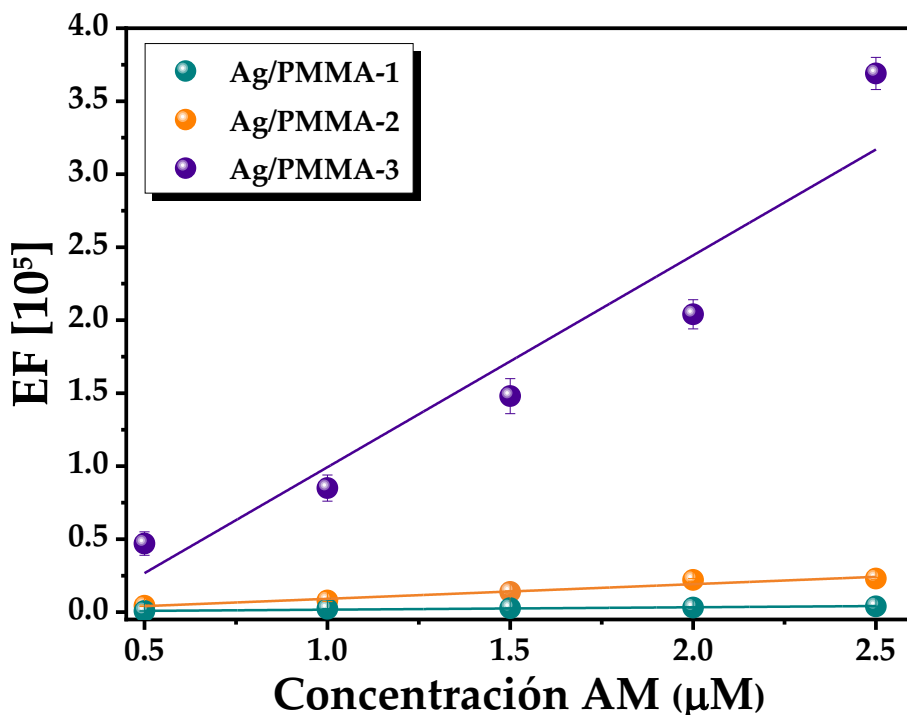


Figura 3.33. Gráfico comparativo de los valores de EF obtenidos para cada sustrato SERS Ag/PMMA en función de la concentración de AM.

Como previamente se discutió, las Ag-NPs se depositan preferentemente sobre las microesferas de PMMA, lo cual se corrobora con el hecho de que las microesferas de PMMA tienen una carga superficial positiva de 51.5 mV y las Ag-NPs tienen una carga superficial negativa de -42.5 mV, sugiriendo que existe la posibilidad de un contacto de superficie a superficie. Sin embargo, debido a que tanto las microesferas de PMMA como las Ag-NPs tienen grupos orgánicos en su superficie la interacción se da entre estos compuestos, y no directamente entre la esfera dieléctrica y la NP metálica. Esta interacción afecta el acoplamiento plasmónico de las Ag-NPs, como resultado se esperan menos puntos calientes que contribuyan a la mejora del campo electromagnético y por lo tanto al efecto SERS.

Además, si observamos a detalle las imágenes SEM (ver Figuras 3.17-3.19) notamos que de hecho, las microesferas de PMMA permiten una distribución uniforme de las Ag-NPs y esto a su vez hace que se presenten menos aglomerados, este fenómeno puede afectar de manera negativa al acoplamiento plasmónico necesario para generar puntos calientes, entonces la falta de interacción entre las Ag-NPs sumado a los grupos orgánicos presentes en las Ag-NPs y microesferas de PMMA llevan a una disminución significativa del EF en estos sistemas compositos.

Conclusiones

1. Se sintetizaron microesferas de PMMA mediante el método de polimerización en emulsión libre de surfactante, se confirmó que la variación en las cantidades de monómero e iniciador permiten controlar el tamaño de las microesferas. Las mediciones de potencial Zeta confirmaron la estabilidad de las microesferas de PMMA obtenidas debido a que presentaron una carga superficial positiva con valor de 51.1 ± 5.4 mV y pH de 3.3.
2. Las microesferas de PMMA obtenidas son amorfas y dieléctricas debido a que presentaron una E_g indirecta. Sin embargo, no se observó una relación entre el tamaño de las microesferas de PMMA y la E_g .
3. Los ópalos obtenidos a partir de las microesferas de PMMA empleando el método de sedimentación presentaron un arreglo periódico uniforme con estructura cúbica centrada en las caras (*fcc*). Además, los espectros de reflectancia especular de ángulo variable mostraron que los ópalos poseen una banda pseudofotónica (PBG) en la región visible e IR cercano.
4. Las Ag-NPs presentaron una morfología cuasi-esférica ($D_m = 15 \pm 3.7$ nm). La carga superficial negativa se asoció a los iones de BSPP presentes en su superficie de las Ag-NPs. La banda de resonancia de plasmón superficial se determinó mediante absorción UV-Vis y esta se localizó en 400 nm.
5. Los composites de Ag/PMMA en forma de películas se depositaron sobre obleas de Si mediante la técnica de *co-deposición*. Las micrografías SEM confirmaron que las Ag-NPs se depositaron sobre las microesferas de PMMA y se observó que el ordenamiento periódico de los ópalos se ve afectado por la presencia de las Ag-NPs. A medida que se aumentó la concentración de las Ag-NPs, las PBGs se desplazaron hacia mayores longitudes de onda, su intensidad disminuyó y se ensacharon.
6. Las películas de las Ag-NPs y los composites de Ag/PMMA se evaluaron como sustrato SERS utilizando como molécula de prueba AM. En los estudios se consideraron como variables la concentración de Ag-NPs y la concentración de AM. Los resultados mostraron que con todos los sustratos SERS se observó un aumento lineal del factor de mejora Raman (EF) a medida que aumentó la concentración de AM.

7. Los sustratos SERS basados en Ag-NPs presentan un EF de un orden de magnitud mayor (5.18×10^6) que los compositos Ag/PMMA (3.69×10^5). Por último, tanto en los sustratos SERS de Ag-NPs como en los compositos, los valores de EF aumentaron a medida que incrementó la concentración de Ag-NPs. Cabe señalar que los sustratos SERS con alta concentración de Ag-NPs presentaron un mayor EF debido a la formación de cúmulos metálicos en la superficie de la película, lo que generó un aumento en la cantidad de “puntos calientes”.
8. De este estudio inferimos que los sustratos SERS obtenidos aquí pueden utilizarse como sensores para la detección y cuantificación de diferentes compuestos orgánicos cuya concentración no se pueda detectar fácilmente con otras técnicas.

Referencias

- [1] C. V. Raman and K. S. Krishnan, "A New Type of Secondary Radiation," *Nature*, vol. 121, no. 3048, pp. 501–502, 1928.
- [2] M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, "Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 26, no. 2, pp. 163–166, 1974.
- [3] R. A. Alvarez-Puebla and L. M. Liz-Marzán, "Traps and cages for universal SERS detection," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, no. 1, pp. 43–51, 2012.
- [4] P. C. Pinheiro, S. Fateixa, H. I. S. Nogueira, and T. Trindade, "SERS studies of DNA nucleobases using new silver poly(methyl methacrylate) nanocomposites as analytical platforms," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 46, no. 1, pp. 47–53, 2015.
- [5] G. I. N. Waterhouse and M. R. Waterland, "Opal and inverse opal photonic crystals: Fabrication and characterization," *Polyhedron*, vol. 26, no. 2, pp. 356–368, 2007.
- [6] E. Armstrong and C. O'Dwyer, "Artificial opal photonic crystals and inverse opal structures-fundamentals and applications from optics to energy storage," *J. Mater. Chem. C*, vol. 3, no. 24, pp. 6109–6143, 2015.
- [7] J. Zi *et al.*, "Coloration strategies in peacock feathers," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 100, no. 22, pp. 12576–12578, 2003.
- [8] K. Yu, T. Fan, S. Lou, and D. Zhang, "Biomimetic optical materials: Integration of nature's design for manipulation of light," *Prog. Mater. Sci.*, vol. 58, no. 6, pp. 825–873, 2013.
- [9] E. Gaillou *et al.*, "Common gem opal: An investigation of micro- to nano-structure," *Am. Mineral.*, vol. 93, no. 11–12, pp. 1865–1873, 2008.
- [10] K. S. Gould and D. W. Lee, "Physical and ultrastructural basis of blue leaf iridescence in four Malaysian understory plants," *Am. J. Bot.*, vol. 83, no. 1, pp. 45–50, 1996.
- [11] F. Marlow, Muldarisnur, P. Sharifi, R. Brinkmann, and C. Mendive, "Opals: Status and prospects," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 48, no. 34, pp. 6212–6233, 2009.
- [12] R. D. V. Meade, S. G. Johnson, and J. N. Winn, *Photonic Crystals*, Second edi. Princeton University Press, 2008.
- [13] A. Chiappini *et al.*, "Photonic crystal stimuli-responsive chromatic sensors: A short review," *Micromachines*, vol. 11, no. 3, pp. 1–25, 2020.
- [14] E. Yablonovitch, "Inhibited Spontaneous Emission in Solid-State Physics and Electronics," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 58, no. 20, pp. 2059–2062, 1986.
- [15] S. John, "Strong localization of photons in certain disordered dielectric superlattices," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 58, no. 23, pp. 2486–2489, 1987.

- [16] B. Lange, F. Fleischhaker, and R. Zentel, "Chemical approach to functional artificial opals," *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 28, no. 12, pp. 1291–1311, 2007.
- [17] A. P. Philipse, "Solid opaline packings of colloidal silica spheres," *J. Mater. Sci. Lett.*, vol. 8, no. 12, pp. 1371–1373, 1989.
- [18] J. Zhang, Z. Sun, and B. Yang, "Self-assembly of photonic crystals from polymer colloids," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 14, no. 2, pp. 103–114, 2009.
- [19] C. Paquet and E. Kumacheva, "Nanostructured polymers for photonics," *Mater. Today*, vol. 11, no. 4, pp. 48–56, 2008.
- [20] Z. Li, J. Wang, and Y. Song, "Self-assembly of latex particles for colloidal crystals," *Particuology*, vol. 9, no. 6, pp. 559–565, 2011.
- [21] G. von Freymann, V. Kitaev, B. V. Lotsch, and G. A. Ozin, "Bottom-up assembly of photonic crystals," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 42, no. 7, pp. 2528–2554, 2013.
- [22] P. Jiang, J. F. Bertone, K. S. Hwang, and V. L. Colvin, "Single-crystal colloidal multilayers of controlled thickness," *Chem. Mater.*, vol. 11, no. 8, pp. 2132–2140, 1999.
- [23] N. V. Dziomkina and G. J. Vancso, "Colloidal crystal assembly on topologically patterned templates," *Soft Matter*, vol. 1, no. 4, pp. 265–279, 2005.
- [24] A. Stein, B. E. Wilson, and S. G. Rudisill, "Design and functionality of colloidal–crystal–templated materials—chemical applications of inverse opals," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 42, no. 7, pp. 2763–2803, 2013.
- [25] S. G. Romanov, T. Maka, C. M. Sotomayor Torres, M. Müller, and R. Zentel, "Photonic band-gap effects upon the light emission from a dye-polymer-opal composite," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 75, no. 8, pp. 1057–1059, 1999.
- [26] U. Ali, K. J. B. A. Karim, and N. A. Buang, "A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA)," *Polym. Rev.*, vol. 55, no. 4, pp. 678–705, 2015.
- [27] J. Yu, X. Tao, H. Tam, and M. S. Demokan, "Modulation of refractive index and thickness of poly(methyl methacrylate) thin films with UV irradiation and heat treatment," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 252, no. 5, pp. 1283–1292, 2005.
- [28] S. Shang, L. Li, X. Yang, and Y. Wei, "Polymethylmethacrylate-carbon nanotubes composites prepared by microemulsion polymerization for gas sensor," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 69, no. 7–8, pp. 1156–1159, 2009.
- [29] R. M. Cámara, R. Portela, F. Gutiérrez-Martín, and B. Sánchez, "Evaluation of several commercial polymers as support for TiO₂ in photocatalytic applications," *Glob. NEST J.*, vol. 16, no. 3, pp. 525–535, Jun. 2014.
- [30] W. Li *et al.*, "Physical and optical properties of sol-gel nano-silver doped silica film on glass substrate as a function of heat-treatment temperature," *J. Appl. Phys.*, vol. 93, no. 12, pp. 9553–9561, 2003.
- [31] X. H. Flora, M. Ulaganathan, and S. Rajendran, "Role of different plasticizers in li-ion

- conducting poly(acrylonitrile)- poly(methyl methacrylate) hybrid polymer electrolyte,” *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, vol. 62, no. 14, pp. 737–742, 2013.
- [32] D. W. Van Krevelen and K. Te Nijenhuis, *Properties of Polymers*. 2009.
- [33] J. E. Mark, *Physical Properties of Polymers Handbook*, vol. 199, no. Part_1. New York, NY: Springer New York, 2007.
- [34] M. Kutz, *Handbook of Materials Selection*. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2002.
- [35] C. Y. Zhi, Y. Bando, W. L. Wang, C. C. Tang, H. Kuwahara, and D. Golberg, “Mechanical and thermal properties of polymethyl methacrylate-BN nanotube composites,” *J. Nanomater.*, vol. 2008, no. 1, 2008.
- [36] Y. Xia, B. Gates, Y. Yin, and Y. Lu, “Monodispersed colloidal spheres: Old materials with new applications,” *Adv. Mater.*, vol. 12, no. 10, pp. 693–713, 2000.
- [37] T. Tanrisever, O. Okay, and I. Ç. Sönmezoğlu, “Kinetics of emulsifier-free emulsion polymerization of methyl methacrylate,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 61, no. 3, pp. 485–493, 1996.
- [38] C. G. Dobie and K. V. K. Boodhoo, “Surfactant-free emulsion polymerisation of methyl methacrylate and methyl acrylate using intensified processing methods,” *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, vol. 49, no. 9, pp. 901–911, 2010.
- [39] S. T. Camli, F. Buyukserin, O. Balci, and G. G. Budak, “Size controlled synthesis of sub-100 nm monodisperse poly(methylmethacrylate) nanoparticles using surfactant-free emulsion polymerization,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 344, no. 2, pp. 528–532, 2010.
- [40] A. B. D. Nandiyanto, A. Suhendi, T. Ogi, T. Iwaki, and K. Okuyama, “Synthesis of additive-free cationic polystyrene particles with controllable size for hollow template applications,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 396, pp. 96–105, 2012.
- [41] M. N. Gorsd, M. N. Blanco, and L. R. Pizzio, “Synthesis of Polystyrene Microspheres to be Used as Template in the Preparation of Hollow Spherical Materials: Study of the Operative Variables,” *Procedia Mater. Sci.*, vol. 1, pp. 432–438, 2012.
- [42] T. Yamamoto and K. Higashitani, “Growth processes of poly methylmethacrylate particles investigated by atomic force microscopy,” *Adv. Powder Technol.*, vol. 18, no. 5, pp. 567–577, 2007.
- [43] F. Yohanala P. T., R. Mulya Dewa, K. Quarta, W. Widiyastuti, and S. Winardi, “Preparation of Polystyrene Spheres Using Surfactant-Free Emulsion Polymerization,” *Mod. Appl. Sci.*, vol. 9, no. 7, p. 121, 2015.
- [44] Z. Z. Gu, H. Chen, S. Zhang, L. Sun, Z. Xie, and Y. Ge, “Rapid synthesis of monodisperse polymer spheres for self-assembled photonic crystals,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 302, no. 1–3, pp. 312–319, 2007.
- [45] P. G. Jamkhande, N. W. Ghule, A. H. Bamer, and M. G. Kalaskar, “Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and

- applications,” *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 53, no. July 2018, p. 101174, 2019.
- [46] F. J. Heiligtag and M. Niederberger, “The fascinating world of nanoparticle research,” *Mater. Today*, vol. 16, no. 7–8, pp. 262–271, 2013.
- [47] L. Wang, M. Hasanzadeh Kafshgari, and M. Meunier, “Optical Properties and Applications of Plasmonic-Metal Nanoparticles,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 2005400, pp. 1–28, 2020.
- [48] L. B. Hunt, “The true story of Purple of Cassius - The birth of gold-based glass and enamel colours,” *Gold Bull.*, vol. 9, no. 4, pp. 134–139, 1976.
- [49] M. Faraday, “X. The Bakerian Lecture. —Experimental relations of gold (and other metals) to light,” *Philos. Trans. R. Soc. London*, vol. 147, no. 1857, pp. 145–181, 1857.
- [50] Y. Xia and D. J. Campbell, “Plasmons: Why Should We Care?,” *J. Chem. Educ.*, vol. 84, no. 1, p. 91, Jan. 2007.
- [51] X. Lu, M. Rycenga, S. E. Skrabalak, B. Wiley, and Y. Xia, “Chemical synthesis of novel plasmonic nanoparticles,” *Annu. Rev. Phys. Chem.*, vol. 60, pp. 167–192, 2009.
- [52] N. Nath and A. Chilkoti, “A Colorimetric Gold Nanoparticle Sensor To Interrogate Biomolecular Interactions in Real Time on a Surface,” *Anal. Chem.*, vol. 74, no. 3, pp. 504–509, 2002.
- [53] N. T. Kim Thanh and Z. Rosenzweig, “Development of an aggregation-based immunoassay for anti-protein A using gold nanoparticles,” *Anal. Chem.*, vol. 74, no. 7, pp. 1624–1628, 2002.
- [54] D. L. Jeanmaire and R. P. Van Duyne, “Surface raman spectroelectrochemistry,” *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, vol. 84, no. 1, pp. 1–20, 1977.
- [55] B. J. Wiley, S. H. Im, Z. Y. Li, J. McLellan, A. Siekkinen, and Y. Xia, “Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 32, pp. 15666–15675, 2006.
- [56] G. Mie, “Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen,” *Ann. Phys.*, vol. 330, no. 3, pp. 377–445, 1908.
- [57] W. H. Yang, G. C. Schatz, and R. P. Van Duyne, “Discrete dipole approximation for calculating extinction and Raman intensities for small particles with arbitrary shapes,” *J. Chem. Phys.*, vol. 103, no. 3, pp. 869–875, 1995.
- [58] U. Kreibig and M. Vollmer, *Optical Properties of Metal Clusters*, vol. 25. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1995.
- [59] J. Kottmann, O. J. Martin, D. R. Smith, and S. Schultz, “Plasmon resonances of silver nanowires with a nonregular cross section,” *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, vol. 64, no. 23, pp. 2354021–23540210, 2001.
- [60] K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, and G. C. Schatz, “The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment,” *J. Phys. Chem. B*,

- vol. 107, no. 3, pp. 668–677, 2003.
- [61] N. Chouhan, “Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Applications,” in *Silver Nanoparticles - Fabrication, Characterization and Applications*, InTech, 2018, p. 13.
- [62] P. Bélteky *et al.*, “Silver nanoparticles: Aggregation behavior in biorelevant conditions and its impact on biological activity,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 14, pp. 667–687, 2019.
- [63] O. Pryshchepa, P. Pomastowski, and B. Buszewski, “Silver nanoparticles: Synthesis, investigation techniques, and properties,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 284, pp. 87–100, 2020.
- [64] L. K. Harris and J. A. Theriot, “Surface Area to Volume Ratio: A Natural Variable for Bacterial Morphogenesis,” *Trends Microbiol.*, vol. 26, no. 10, pp. 815–832, 2018.
- [65] D. Aherne, D. M. Ledwith, M. Gara, and J. M. Kelly, “Optical properties and growth aspects of silver nanoprisms produced by a highly reproducible and rapid synthesis at room temperature,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 18, no. 14, pp. 2005–2016, 2008.
- [66] T. Huang and X. H. N. Xu, “Synthesis and characterization of tunable rainbow colored colloidal silver nanoparticles using single-nanoparticle plasmonic microscopy and spectroscopy,” *J. Mater. Chem.*, vol. 20, no. 44, pp. 9867–9876, 2010.
- [67] Y. Zhao *et al.*, “A facile method for the synthesis of large-size Ag nanoparticles as efficient SERS substrates,” *J. Raman Spectrosc.*, vol. 47, no. 6, pp. 662–667, 2016.
- [68] B. Khodashenas and H. R. Ghorbani, “Synthesis of silver nanoparticles with different shapes,” *Arab. J. Chem.*, vol. 12, no. 8, pp. 1823–1838, 2019.
- [69] Z. S. Pillai and P. V. Kamat, “What factors control the size and shape of silver nanoparticles in the citrate ion reduction method?,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 108, no. 3, pp. 945–951, 2004.
- [70] M. C. Lea, “On allotropic forms of silver,” *Am. J. Sci.*, vol. s3-38, no. 223, pp. 47–49, Jul. 1889.
- [71] J. Turkevich, P. C. Stevenson, and J. Hillier, “A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold,” *Discuss. Faraday Soc.*, vol. 11, no. c, p. 55, 1951.
- [72] P. C. Lee and D. Meisel, “Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols,” *J. Phys. Chem.*, vol. 86, no. 17, pp. 3391–3395, 1982.
- [73] N. L. Pacioni, C. D. Borsarelli, V. Rey, and A. V. Veglia, *Synthetic Routes for the Preparation of Silver Nanoparticles: A Mechanistic Perspective*. 2015.
- [74] C. G. Moura *et al.*, “Effects of laser fluence and liquid media on preparation of small Ag nanoparticles by laser ablation in liquid,” *Opt. Laser Technol.*, vol. 97, pp. 20–28, 2017.
- [75] S. M. Hosseinpour-Mashkani and M. Ramezani, “Silver and silver oxide nanoparticles: Synthesis and characterization by thermal decomposition,” *Mater. Lett.*, vol. 130, pp. 259–262, 2014.

- [76] S. Kumar Ghosh, S. Kundu, M. Mandal, S. Nath, and T. Pal, "Studies on the Evolution of Silver Nanoparticles in Micelle by UV-Photoactivation," *J. Nanoparticle Res.*, vol. 5, no. 5/6, pp. 577–587, 2003.
- [77] M. Dell'Aglio *et al.*, "Silver and gold nanoparticles produced by pulsed laser ablation in liquid to investigate their interaction with Ubiquitin," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 374, pp. 297–304, 2016.
- [78] R. Sato-Berfú, R. Redón, A. Vázquez-Olmos, and J. M. Saniger, "Silver nanoparticles synthesized by direct photoreduction of metal salts. Application in surface-enhanced Raman spectroscopy," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 40, no. 4, pp. 376–380, 2009.
- [79] M. Guzman, J. Dille, and S. Godet, "Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 8, no. 1, pp. 37–45, 2012.
- [80] V. V. Pinto, M. J. Ferreira, R. Silva, H. A. Santos, F. Silva, and C. M. Pereira, "Long time effect on the stability of silver nanoparticles in aqueous medium: Effect of the synthesis and storage conditions," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 364, no. 1–3, pp. 19–25, 2010.
- [81] A. Tao, P. Sinsersuksakul, and P. Yang, "Polyhedral silver nanocrystals with distinct scattering signatures," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 45, no. 28, pp. 4597–4601, 2006.
- [82] Z. Khan, S. A. Al-Thabaiti, A. Y. Obaid, and A. O. Al-Youbi, "Preparation and characterization of silver nanoparticles by chemical reduction method," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 82, no. 2, pp. 513–517, 2011.
- [83] L. Huang *et al.*, "UV-induced synthesis, characterization and formation mechanism of silver nanoparticles in alkalic carboxymethylated chitosan solution," *J. Nanoparticle Res.*, vol. 10, no. 7, pp. 1193–1202, 2008.
- [84] P. Prema, S. Thangapandiyam, and G. Immanuel, "CMC stabilized nano silver synthesis, characterization and its antibacterial and synergistic effect with broad spectrum antibiotics," *Carbohydr. Polym.*, vol. 158, pp. 141–148, 2017.
- [85] S. Hu and Y. Lo Hsieh, "Silver nanoparticle synthesis using lignin as reducing and capping agents: A kinetic and mechanistic study," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 82, pp. 856–862, 2016.
- [86] N. V. Nghia, N. N. K. Truong, N. M. Thong, and N. P. Hung, "Synthesis of Nanowire-Shaped Silver by Polyol Process of Sodium Chloride," *Int. J. Mater. Chem.*, vol. 2, no. 2, pp. 75–78, 2012.
- [87] T. Darmanin *et al.*, "Microwave-assisted synthesis of silver nanoprisms/nanoplates using a 'modified polyol process,'" *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 395, pp. 145–151, 2012.
- [88] V. L. Das, R. Thomas, R. T. Varghese, E. V. Soniya, J. Mathew, and E. K. Radhakrishnan,

- “Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the Bacillus strain CS 11 isolated from industrialized area,” *3 Biotech*, vol. 4, no. 2, pp. 121–126, 2014.
- [89] S. Shanthi, B. David Jayaseelan, P. Velusamy, S. Vijayakumar, C. T. Chih, and B. Vaseeharan, “Biosynthesis of silver nanoparticles using a probiotic Bacillus licheniformis Dahb1 and their antibiofilm activity and toxicity effects in Ceriodaphnia cornuta,” *Microb. Pathog.*, vol. 93, pp. 70–77, 2016.
- [90] T. P. Amaladhas, S. Sivagami, T. A. Devi, N. Ananthi, and S. P. Velammal, “Biogenic synthesis of silver nanoparticles by leaf extract of Cassia angustifolia,” *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 3, no. 4, pp. 1–8, 2012.
- [91] R. R. Kulkarni, N. S. Shaiwale, D. N. Deobagkar, and D. D. Deobagkar, “Synthesis and extracellular accumulation of silver nanoparticles by employing radiation-resistant Deinococcus radiodurans, their characterization, and determination of bioactivity,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 10, pp. 963–974, 2015.
- [92] S. Fateixa, H. I. S. Nogueira, and T. Trindade, “SERS Research Applied to Polymer Based Nanocomposites,” in *Raman Spectroscopy*, InTech, 2018, p. 13.
- [93] E. Jamróz, P. Kulawik, and P. Kopel, “The effect of nanofillers on the functional properties of biopolymer-based films: A review,” *Polymers (Basel)*, vol. 11, no. 4, pp. 1–42, 2019.
- [94] X. J. Chen, J. Zhang, D. F. Ma, S. C. Hui, Y. L. Liu, and W. Yao, “Preparation of gold-poly(vinyl pyrrolidone) core-shell nanocomposites and their humidity-sensing properties,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 121, no. 3, pp. 1685–1690, Aug. 2011.
- [95] K. Delgado, R. Quijada, R. Palma, and H. Palza, “Polypropylene with embedded copper metal or copper oxide nanoparticles as a novel plastic antimicrobial agent,” *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 53, no. 1, pp. 50–54, 2011.
- [96] T.-J. Wang, N. R. Barveen, Z.-Y. Liu, C.-H. Chen, and M.-H. Chou, “Transparent, Flexible Plasmonic Ag NP/PMMA Substrates Using Chemically Patterned Ferroelectric Crystals for Detecting Pesticides on Curved Surfaces,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 13, no. 29, pp. 34910–34922, 2021.
- [97] R. U. Islam, M. J. Witcomb, E. Van Der Lingen, M. S. Scurrrell, W. Van Otterlo, and K. Mallick, “In-situ synthesis of a palladium-polyaniline hybrid catalyst for a Suzuki coupling reaction,” *J. Organomet. Chem.*, vol. 696, no. 10, pp. 2206–2210, 2011.
- [98] N. A. Luechinger, N. Booth, G. Heness, S. Bandyopadhyay, R. N. Grass, and W. J. Stark, “Surfactant-free, melt-processable metal-polymer hybrid materials: Use of graphene as a dispersing agent,” *Adv. Mater.*, vol. 20, no. 16, pp. 3044–3049, 2008.
- [99] K. Manojkumar, A. Sivaramakrishna, and K. Vijayakrishna, “A short review on stable metal nanoparticles using ionic liquids, supported ionic liquids, and poly(ionic liquids),” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 18, no. 4, 2016.
- [100] Y. M. Mohan, T. Premkumar, K. Lee, and K. E. Geckeler, “Fabrication of silver

- nanoparticles in hydrogel networks,” *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 27, no. 16, pp. 1346–1354, 2006.
- [101] S. Deki, K. Sayo, T. Fujita, A. Yamada, and S. Hayashi, “Dispersion of nano-sized gold particles into polymers: Dependence on terminal groups of polymers and morphology of vapor-deposited gold,” *J. Mater. Chem.*, vol. 9, no. 4, pp. 943–947, 1999.
- [102] M. K. Corbierre *et al.*, “Polymer-Stabilized Gold Nanoparticles and Their Incorporation into Polymer Matrices,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 123, no. 42, pp. 10411–10412, 2001.
- [103] N. D. Singho, M. R. Johan, and N. A. C. Lah, “Temperature-dependent properties of silver-poly (methylmethacrylate) nanocomposites synthesized by in-situ technique,” *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–6, 2014.
- [104] G. G. Carbone, A. Serra, A. Buccolieri, and D. Manno, “A silver nanoparticle-poly(methyl methacrylate) based colorimetric sensor for the detection of hydrogen peroxide,” *Heliyon*, vol. 5, no. 11, 2019.
- [105] G. Kickelbick, “Concepts for the incorporation of inorganic building blocks into organic polymers on a nanoscale,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 28, no. 1, pp. 83–114, 2003.
- [106] S. Borse, M. Temgire, A. Khan, and S. Joshi, “Photochemically assisted one-pot synthesis of PMMA embedded silver nanoparticles: antibacterial efficacy and water treatment,” *RSC Adv.*, vol. 6, no. 61, pp. 56674–56683, 2016.
- [107] N. D. Singho, N. A. C. Lah, M. R. Johan, and R. Ahmad, “FTIR studies on silver-poly(methylmethacrylate) nanocomposites via in-situ polymerization technique,” *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 7, no. 6, pp. 5596–5603, 2012.
- [108] A. Goyal, A. Sharma, I. Saini, N. Chandak, and P. Sharma, “Tailoring of optical and electrical properties of PMMA by incorporation of Ag nanoparticles,” *Bull. Mater. Sci.*, vol. 40, no. 4, pp. 615–621, 2017.
- [109] S. N. Sawant, V. Selvaraj, V. Prabhawathi, and M. Doble, “Antibiofilm Properties of Silver and Gold Incorporated PU, PCLm, PC and PMMA Nanocomposites under Two Shear Conditions,” *PLoS One*, vol. 8, no. 5, pp. 1–9, 2013.
- [110] M. K. Abyaneh, S. Jafarkhani, and S. K. Kulkarni, “Electrical transport behaviour of silver-PMMA nanocomposite films at low temperature,” *J. Exp. Nanosci.*, vol. 6, no. 2, pp. 159–173, 2011.
- [111] M. D. Prasad and M. G. Krishna, “Facile green chemistry-based synthesis and properties of free-standing Au- and Ag-PMMA films,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 2, no. 6, pp. 1453–1460, 2014.
- [112] P. A. Mosier-Boss, “Review of SERS substrates for chemical sensing,” *Nanomaterials*, vol. 7, no. 6, 2017.
- [113] M. Fleischmann, G. Sundholm, and Z. Q. Tian, “An SERS study of silver electrodeposition from thiourea and cyanide containing solutions,” *Electrochim. Acta*, vol. 31, no. 8, pp. 907–

- 916, Aug. 1986.
- [114] M. G. Albrecht and J. A. Creighton, "Anomalous intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 99, no. 15, pp. 5215–5217, 1977.
- [115] M. Moskovits, "Surface roughness and the enhanced intensity of Raman scattering by molecules adsorbed on metals," *J. Chem. Phys.*, vol. 69, no. 9, pp. 4159–4161, 1978.
- [116] E. C. Le Ru and P. G. Etchegoin, "Rigorous justification of the $|E|^4$ enhancement factor in Surface Enhanced Raman Spectroscopy," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 423, no. 1–3, pp. 63–66, 2006.
- [117] S. Cong, X. Liu, Y. Jiang, W. Zhang, and Z. Zhao, "Surface Enhanced Raman Scattering Revealed by Interfacial Charge-Transfer Transitions," *Innov.*, vol. 1, no. 3, 2020.
- [118] J. P. Camden *et al.*, "Probing the structure of single-molecule surface-enhanced Raman scattering hot spots," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 130, no. 38, pp. 12616–12617, 2008.
- [119] E. Petryayeva and U. J. Krull, "Localized surface plasmon resonance: Nanostructures, bioassays and biosensing-A review," *Anal. Chim. Acta*, vol. 706, no. 1, pp. 8–24, 2011.
- [120] Y. Fang, N.-H. Seong, and D. D. Dlott, "Measurement of the Distribution of Site Enhancements in Surface-Enhanced Raman Scattering," *Science (80-.)*, vol. 321, no. 5887, pp. 388–392, 2008.
- [121] R. Pilot, R. Signorini, C. Durante, L. Orian, M. Bhamidipati, and L. Fabris, "A review on surface-enhanced Raman scattering," *Biosensors*, vol. 9, no. 2, 2019.
- [122] H. K. Lee *et al.*, "Designing surface-enhanced Raman scattering (SERS) platforms beyond hotspot engineering: Emerging opportunities in analyte manipulations and hybrid materials," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 48, no. 3, pp. 731–756, 2019.
- [123] L. Jensen, C. M. Aikens, and G. C. Schatz, "Electronic structure methods for studying surface-enhanced Raman scattering," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 37, no. 5, pp. 1061–1073, 2008.
- [124] M. Yilmaz *et al.*, "Nanostructured organic semiconductor films for molecular detection with surface-enhanced Raman spectroscopy," *Nat. Mater.*, vol. 16, no. 9, pp. 918–924, 2017.
- [125] M. J. Natan, "Concluding Remarks: Surface enhanced Raman scattering," *Faraday Discuss.*, vol. 132, p. 321, 2006.
- [126] X. M. Lin, Y. Cui, Y. H. Xu, B. Ren, and Z. Q. Tian, "Surface-enhanced Raman spectroscopy: Substrate-related issues," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 394, no. 7, pp. 1729–1745, 2009.
- [127] L. Guerrini and D. Graham, "Molecularly-mediated assemblies of plasmonic nanoparticles for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy applications," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, no. 21, pp. 7085–7107, 2012.
- [128] G. Giallongo *et al.*, "Silver Nanoparticle Arrays on a DVD-Derived Template: An easy&cheap SERS Substrate," *Plasmonics*, vol. 6, no. 4, pp. 725–733, 2011.

- [129] C. Durante, V. Perazzolo, A. A. Isse, M. Favaro, G. Granozzi, and A. Gennaro, "Electrochemical Activation of Carbon-Halogen Bonds: Electrocatalysis at Palladium-Copper Nanoparticles," *ChemElectroChem*, vol. 1, no. 8, pp. 1370–1381, 2014.
- [130] W. W. Yu and I. M. White, "Inkjet printed surface enhanced raman spectroscopy array on cellulose paper," *Anal. Chem.*, vol. 82, no. 23, pp. 9626–9630, 2010.
- [131] J. A. Huang, Y. L. Zhang, Y. Zhao, X. L. Zhang, M. L. Sun, and W. Zhang, "Superhydrophobic SERS chip based on a Ag coated natural taro-leaf," *Nanoscale*, vol. 8, no. 22, pp. 11487–11493, 2016.
- [132] M. E. Stewart *et al.*, "Nanostructured plasmonic sensors," *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 2, pp. 494–521, 2008.
- [133] X. X. Han, P. Pienpinijtham, B. Zhao, and Y. Ozaki, "Coupling reaction-based ultrasensitive detection of phenolic estrogens using surface-enhanced resonance raman scattering," *Anal. Chem.*, vol. 83, no. 22, pp. 8582–8588, 2011.
- [134] G. M. Herrera, A. C. Padilla, and S. P. Hernandez-Rivera, "Surface enhanced raman scattering (Sers) studies of gold and silver nanoparticles prepared by laser ablation," *Nanomaterials*, vol. 3, no. 1, pp. 158–172, 2013.
- [135] P. A. Mercadal, E. R. Encina, and E. A. Coronado, "Colloidal SERS Substrate for the Ultrasensitive Detection of Biotinylated Antibodies Based on Near-Field Gradient within the Gap of Au Nanoparticle Dimers," *J. Phys. Chem. C*, 2019.
- [136] A. Y. F. Mahmoud, C. J. Rusin, and M. T. McDermott, "Gold nanostars as a colloidal substrate for in-solution SERS measurements using a handheld Raman spectrometer," *Analyst*, vol. 145, no. 4, pp. 1396–1407, 2020.
- [137] V. Ranc *et al.*, "Magnetically assisted surface-enhanced Raman scattering selective determination of dopamine in an artificial cerebrospinal fluid and a mouse striatum using Fe₃O₄/Ag nanocomposite," *Anal. Chem.*, vol. 86, no. 6, pp. 2939–2946, 2014.
- [138] H. K. Lee *et al.*, "Superhydrophobic surface-enhanced Raman scattering platform fabricated by assembly of Ag nanocubes for trace molecular sensing," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 5, no. 21, pp. 11409–11418, 2013, doi: 10.1021/am403655g.
- [139] Z. Fan, R. Kanchanapally, and P. C. Ray, "Hybrid graphene oxide based ultrasensitive SERS probe for label-free biosensing," *J. Phys. Chem. Lett.*, vol. 4, no. 21, pp. 3813–3818, 2013.
- [140] S. Y. Lee *et al.*, "Freestanding and arrayed nanoporous microcylinders for highly active 3D SERS substrate," *Chem. Mater.*, vol. 25, no. 12, pp. 2421–2426, 2013.
- [141] K. Kim *et al.*, "Interfacial liquid-state surface-enhanced Raman spectroscopy," *Nat. Commun.*, vol. 4, 2013.
- [142] Q. Zhang, Y. H. Lee, I. Y. Phang, C. K. Lee, and X. Y. Ling, "Hierarchical 3D SERS substrates fabricated by integrating photolithographic microstructures and self-assembly

- of silver nanoparticles,” *Small*, vol. 10, no. 13, pp. 2703–2711, 2014.
- [143] Y. Liu *et al.*, “Precision synthesis: Designing hot spots over hot spots via selective gold deposition on silver octahedra edges,” *Small*, vol. 10, no. 23, pp. 4940–4950, 2014.
- [144] R. C. Schroden, M. Al-Daous, C. F. Blanford, and A. Stein, “Optical properties of inverse opal photonic crystals,” *Chem. Mater.*, vol. 14, no. 8, pp. 3305–3315, 2002.
- [145] J. Zhang, M. R. Langille, and C. A. Mirkin, “Photomediated synthesis of silver triangular bipyramids and prisms: The effect of pH and BSPP,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 132, no. 35, pp. 12502–12510, 2010.
- [146] C. Xue and C. A. Mirkin, “pH-Switchable Silver Nanoprism Growth Pathways,” *Angew. Chemie*, vol. 119, no. 12, pp. 2082–2084, 2007.
- [147] C. Scheu and W. D. Kaplan, “Introduction to Scanning Electron Microscopy,” *In-Situ Electron Microsc. Appl. Physics, Chem. Mater. Sci.*, pp. 1–37, 2012.
- [148] W. H. Bragg and W. L. Bragg, “The reflection of X-rays by crystals,” *Proc. R. Soc. London. Ser. A, Contain. Pap. a Math. Phys. Character*, vol. 88, no. 605, pp. 428–438, 1913.
- [149] B. D. Cullity and J. W. Weymouth, “Elements of X-Ray Diffraction,” *Am. J. Phys.*, vol. 25, no. 6, pp. 394–395, 1957.
- [150] P. J. Larkin, “Instrumentation and Sampling Methods,” in *Infrared and Raman Spectroscopy*, Elsevier, 2018, pp. 29–61.
- [151] Z. Chen, H. N. Dinh, and E. Miller, *Photoelectrochemical Water Splitting*. New York, NY: Springer New York, 2013.
- [152] S. Bhattacharjee, “DLS and zeta potential - What they are and what they are not?,” *J. Control. Release*, vol. 235, pp. 337–351, 2016.
- [153] C. Kavitha, K. Bramhaiah, N. S. John, and S. Aggarwal, “Improved surface-enhanced Raman and catalytic activities of reduced graphene oxide–osmium hybrid nano thin films,” *R. Soc. Open Sci.*, vol. 4, no. 9, 2017.
- [154] R. V. William, G. M. Das, V. R. Dantham, and R. Laha, “Enhancement of Single Molecule Raman Scattering using Sprouted Potato Shaped Bimetallic Nanoparticles,” *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–12, 2019.
- [155] P. Garg, R. K. Soni, and R. Raman, “Fabrication of sensitive graphene oxide decorated silver nanodendrites as SERS substrate,” *AIP Conf. Proc.*, vol. 2220, 2020.
- [156] G. L. Dotto, J. M. N. Santos, I. L. Rodrigues, R. Rosa, F. A. Pavan, and E. C. Lima, “Adsorption of Methylene Blue by ultrasonic surface modified chitin,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 446, pp. 133–140, 2015.
- [157] G. Muthuraman and T. T. Teng, “Extraction and recovery of rhodamine B, methyl violet and methylene blue from industrial wastewater using D2EHPA as an extractant,” *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 15, no. 6, pp. 841–846, 2009.
- [158] R. S. Razmara, A. Daneshfar, and R. Sahrai, “Determination of methylene blue and sunset

- yellow in wastewater and food samples using salting-out assisted liquid-liquid extraction,” *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 17, no. 3, pp. 533–536, 2011.
- [159] S. Dutta Roy, M. Ghosh, and J. Chowdhury, “Adsorptive parameters and influence of hot geometries on the SER(R) S spectra of methylene blue molecules adsorbed on gold nanocolloidal particles,” *J. Raman Spectrosc.*, vol. 46, no. 5, pp. 451–461, 2015.
- [160] C. Li, Y. Huang, K. Lai, B. A. Rasco, and Y. Fan, “Analysis of trace methylene blue in fish muscles using ultra-sensitive surface-enhanced Raman spectroscopy,” *Food Control*, vol. 65, pp. 99–105, 2016.
- [161] B. Kaczmarczyk, B. Morejko-Buz, and A. Stolarzewicz, “Investigation of infrared calibration methods for application to the study of methyl methacrylate polymerization,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 370, no. 7, pp. 899–903, 2001.
- [162] M. R. Mas Haris, S. Kathiresan, and S. Mohan, “FT-IR and FT-Raman Spectra and Normal Coordinate Analysis of Poly methyl methacrylate,” *Der Pharma Chem.*, vol. 2, no. 4, pp. 316–323, 2010.
- [163] T. Yamamoto and K. Higashitani, “Size control of polymeric particle in soap-free emulsion polymerization,” *KONA Powder Part. J.*, vol. 2018, no. 35, pp. 66–79, 2018.
- [164] X. Li and T. A. King, “Microstructure and optical properties of PMMA/gel silica glass composites,” *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 4, no. 1, pp. 75–82, 1995.
- [165] O. H. Wheeler, “Near Infrared Spectra Of Organic Compounds,” *Chem. Rev.*, vol. 59, no. 4, pp. 629–666, 1959.
- [166] H. W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, and H. M. Heise, *Near-Infrared Spectroscopy*. Wiley, 2001.
- [167] S. B. Aziz, O. G. Abdullah, A. M. Hussein, and H. M. Ahmed, “From insulating PMMA polymer to conjugated double bond behavior: Green chemistry as a novel approach to fabricate small band gap polymers,” *Polymers (Basel)*, vol. 9, no. 11, pp. 1–15, 2017.
- [168] A. Escobedo Morales, E. Sánchez Mora, and U. Pal, “Use of diffuse reflectance spectroscopy for optical characterization of un-supported nanostructures,” *Rev. Mex. Física*, vol. 53, no. 5, pp. 18–22, 2007.
- [169] A. Hazim, H. M. Abduljalil, and A. Hashim, “First Principles Calculations of Electronic, Structural and Optical Properties of (PMMA–ZrO₂–Au) and (PMMA–Al₂O₃–Au) Nanocomposites for Optoelectronics Applications,” *Trans. Electr. Electron. Mater.*, vol. 22, no. 2, pp. 185–203, 2021.
- [170] A. J. Carmona-Carmona, M. A. Palomino-Ovando, O. Hernández-Cristobal, E. Sánchez-Mora, and M. Toledo-Solano, “Synthesis and characterization of magnetic opal/Fe₃O₄ colloidal crystal,” *J. Cryst. Growth*, vol. 462, no. December 2016, pp. 6–11, 2017.
- [171] A. K. Gupta, M. Bafna, and Y. K. Vijay, “Study of optical properties of potassium permanganate (KMnO₄) doped poly(methylmethacrylate) (PMMA) composite films,”

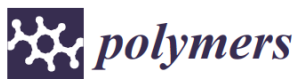
- Bull. Mater. Sci.*, vol. 41, no. 6, pp. 1–7, 2018.
- [172] G. D. Gesesse, A. Gomis-Berenguer, M. F. Barthe, and C. O. Ania, “On the analysis of diffuse reflectance measurements to estimate the optical properties of amorphous porous carbons and semiconductor/carbon catalysts,” *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 398, no. April, p. 112622, 2020.
- [173] V. S. Bhat, S. B. Kapatkar, N. H. Ayachit, I. Naik, and M. S. Murari, “Doping-induced modulation of optical properties of PFO/PMMA composite films,” *Polym. Bull.*, no. 0123456789, 2020.
- [174] Z. L. Wang, C. T. Chan, W. Y. Zhang, Z. Chen, N. B. Ming, and P. Sheng, “Optical properties of inverted opal photonic band gap crystals with stacking disorder,” *Phys. Rev. E - Stat. Physics, Plasmas, Fluids, Relat. Interdiscip. Top.*, vol. 67, no. 1, p. 10, 2003.
- [175] H. Versmold, “Neutron diffraction from shear ordered colloidal dispersions,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 75, no. 4, pp. 763–766, 1995, doi: 10.1103/PhysRevLett.75.763.
- [176] N. A. M. Verhaegh, J. S. Van Duijneveldt, A. Van Blaaderen, and H. N. W. Lekkerkerker, “Direct observation of stacking disorder in a colloidal crystal,” *J. Chem. Phys.*, vol. 102, no. 3, pp. 1416–1421, 1995.
- [177] R. Zhang, Z. Qiang, and M. Wang, “Integration of Polymer Synthesis and Self-Assembly for Controlled Periodicity and Photonic Properties,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 31, no. 1, pp. 1–8, 2021.
- [178] N. G. Bastús, F. Merkoçi, J. Piella, and V. Puntès, “Synthesis of highly monodisperse citrate-stabilized silver nanoparticles of up to 200 nm: Kinetic control and catalytic properties,” *Chem. Mater.*, vol. 26, no. 9, pp. 2836–2846, 2014.
- [179] T. Pellegrino, R. A. Sperling, A. P. Alivisatos, and W. J. Parak, “Gel Electrophoresis of Gold-DNA Nanoconjugates,” *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2007, pp. 1–9, 2007.
- [180] V. K. Gupta and Suhas, “Application of low-cost adsorbents for dye removal - A review,” *J. Environ. Manage.*, vol. 90, no. 8, pp. 2313–2342, 2009.
- [181] R. D. Deegan, O. Bakajin, T. F. Dupont, G. Huber, S. R. Nagel, and T. A. Witten, “Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops,” *Nature*, vol. 389, no. 6653, pp. 827–829, 1997.
- [182] D. C. Rodrigues, M. L. De Souza, K. S. Souza, D. P. Dos Santos, G. F. S. Andrade, and M. L. A. Temperini, “Critical assessment of enhancement factor measurements in surface-enhanced Raman scattering on different substrates,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 17, no. 33, pp. 21294–21301, 2015.
- [183] P. Jia, H. Tan, K. Liu, and W. Gao, “Removal of methylene blue from aqueous solution by bone char,” *Appl. Sci.*, vol. 8, no. 10, 2018, doi: 10.3390/app8101903.
- [184] R. A. A. Tahrin and S. Kassim, “3D photonic crystals based poly (methyl methacrylate) for active photonic SERS substrates,” *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 440, no. 1, 2018.

Productos Generados

Los productos generados de este trabajo de Tesis son:



Artículos en revista:

1. Matamoros-Ambrocio, M.; Sánchez-Mora, E.; Gómez-Barojas, E.; Luna-López, J.A. Synthesis and Study of the Optical Properties of PMMA Microspheres and Opals. *Polymers*, **2021**, *13*, 2171.



Article

Synthesis and Study of the Optical Properties of PMMA Microspheres and Opals

Mayra Matamoros-Ambrocio ¹, Enrique Sánchez-Mora ^{2,*} , Estela Gómez-Barojas ¹ and José Alberto Luna-López ¹ 

¹ Centro de Investigación en Dispositivos Semiconductores, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, P.O. Box 196, 72000 Puebla, Mexico; mayra.matamoros@alumno.buap.mx (M.M.-A.); egomez@ifuap.buap.mx (E.G.-B.); jose.luna@correo.buap.mx (J.A.L.-L.)

² Instituto de Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Eco campus Valsequillo, Independencia O 2 sur No. 50, San Pedro Zacachimalpa, P.O. Box J-48, 72960 Puebla, Mexico

* Correspondence: esanchez@ifuap.buap.mx; Tel.: +52-222-229-5610 (ext. 1383)

Abstract: Polymethylmethacrylate (PMMA) microspheres were synthesized by surfactant-free emulsion polymerization. These microspheres were used to obtain opals by the self-assembly method. Monomer and initiator quantities were varied systematically to monitor the size of PMMA microspheres. From SEM and DLS measurements, a trend was observed showing as the monomer and initiator amounts increased the average diameter of PMMA microspheres increased except when a minimum monomer amount was reached, for which the size of the microspheres remained practically constant. Diffuse reflectance spectra were processed by the Kubelka–Munk treatment to estimate the energy band gap (E_g) of the PMMA microspheres. It was found that PMMA microspheres present an indirect transition. From SEM micrographs, it is seen that PMMA opals photonic crystals are formed by microspheres in a uniform periodic face-centered cubic (fcc) array. Variable-angle specular reflectance spectra show that the opals possess a pseudo photonic band gap (PBG) in the visible and near-IR regions. Furthermore, it was found that PBGs shift towards larger wavelengths as the average diameter of the PMMA microspheres increases.

Keywords: PMMA microspheres; opals photonics crystals; optical properties



Citation: Matamoros-Ambrocio, M.; Sánchez-Mora, E.; Gómez-Barojas, E.; Luna-López, J.A. Synthesis and Study of the Optical Properties of PMMA Microspheres and Opals. *Polymers* **2021**, *13*, 2171. <https://doi.org/10.3390/polym13132171>

Academic Editor: Jem-Kun Chen

Trabajos Presentados en Congresos:

1. Synthesis and Study of the Optical Properties of PMMA Microspheres and Opals, - Mayra Matamoros-Ambrocio, Enrique Sánchez-Mora, Estela Gómez-Barojas, and José A. Luna López. Presentado en *XXIX International Materials Research Congress*, Quintana-Roo, México **2021**. Modalidad: Póster.
2. Incorporación de Nanopartículas de Plata en Ópalos de PMMA: Síntesis y Estudio de sus propiedades Ópticas, - Mayra Matamoros-Ambrocio, Enrique Sánchez-Mora, Estela Gómez-Barojas, José A. Luna López. Presentado en *LXIV Congreso Nacional de Física*, Tijuana, Mexico **2021**. Modalidad: Póster en Línea.
3. Ag Nanoparticles Incorporated on PMMA Opals: Synthesis and Optical Properties Studys, Mayra Matamoros-Ambrocio, Enrique Sánchez-Mora, Estela Gómez-Barojas, José A. Luna López. Presentado en *XIV International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum*, Zacatecas, Mexico **2021**. Modalidad: Póster en Línea.
4. Surface-Enhanced Raman substrates based on Ag-Nanoparticles/PMMA Opals Composites. - Mayra Matamoros-Ambrocio, Enrique Sánchez-Mora and Estela Gómez-Barojas. Presentado en *XXX International Materials Research Congress*, Quintana-Roo, México **2022**. Modalidad: Oral.