



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



Instituto de Física "Ing. Luis Rivera Terrazas"

"Estudio de compositos $\text{SiO}_2\text{-Au}$ y $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ como substratos SERS de Glucosa y Tiroxina"

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORADO EN CIENCIAS

(EN LA ESPECIALIDAD DE CIENCIA DE MATERIALES)

PRESENTA

M. en C. M. PAULINA DE LEÓN PORTILLA

ASESORES

Dra. Ana Lilia González Ronquillo

Dr. Enrique Sánchez Mora

PUEBLA, MÉXICO

Fecha: junio de 2022

Resumen

En este trabajo de tesis se fabricaron películas de nanopartículas (NPs) de Au, NPs de Ag y de compositos de SiO₂-Au y SiO₂-Ag, con el fin de utilizarlos como amplificadores de la señal Raman de glucosa y tiroxina. Las NPs de Au y NPs de Ag se sintetizaron por el método de crecimiento mediado por semillas con morfología esférica y de tamaños de aproximadamente de 50 nm de diámetro. Por otro lado, las esferas de SiO₂ porosas se obtuvieron por el método de Stöber y con un tamaño promedio de 290 nm de diámetro.

Tanto las NPs metálicas como las esferas de SiO₂ presentaron una carga negativa en la superficie, debida a los agentes funcionalizantes. En el caso de las NPs de Au determinamos que están funcionalizadas con ácido ascórbico y con su plasmon de superficie en $\lambda=537$ nm, mientras que las NPs de Ag están funcionalizadas con ácido tánico y con un plasmon en $\lambda=421$ nm. Las esferas de SiO₂ están funcionalizadas con grupos hidroxilo y presentan una brecha de energía prohibida (band gap) de 3.98 eV, lo cual manifiesta el carácter dieléctrico del material.

Los compositos de SiO₂-Au y SiO₂-Ag se prepararon a partir de las soluciones individuales de las NPs metálicas y de las esferas de SiO₂, formando películas sobre silicio cristalino. Las micrografías por AFM y SEM muestran que a lo largo de las películas las NPs se encuentran solas o formando cúmulos alrededor de las esferas de SiO₂.

Los experimentos de SERS se llevaron a cabo tanto en los sustratos de NPs metálicas como en los compositos, depositando tiroxina (T4) y glucosa. Se estudió el efecto de la concentración de los analitos en la respuesta SERS de los materiales.

Con los cuatro tipos de sustratos y a diferentes concentraciones del analito, se observó que a medida que se incrementa la concentración de los analitos, el Factor de Realce SERS (SERS-EF) aumenta. Para ambos analitos, glucosa y T4, los compositos SiO₂-Ag presentaron el mayor SERS-EF, mientras que los sustratos de NPs de Au fueron los menos eficientes. Todos los sustratos SERS aumentan la señal Raman de la glucosa de manera más eficiente que la de T4. La concentración mínima de detección es de 0.01 mM para la T4 y 0.5 mM para la glucosa.

Apoiados por modelaciones teórico-numéricas, se realizó un estudio sistemático de la influencia de cada componente de los sustratos SERS en las eficiencias ópticas, el campo

eléctrico local y el SERS-EF. Se determinó que la resonancia del plasmon de superficie (RPS) dipolar para una NP de Ag se encuentra en $\lambda=392$ nm y para una NP de Au en $\lambda=522$ nm. Estas resonancias se encuentran a menores longitudes de onda en comparación con la resonancia de un cúmulo de 3 NPs. Es decir, la interacción entre NPs y sus plasmones individuales generan una distribución de carga cuya resonancia está desplazada a una longitud de onda mayor. En particular, la resonancia dipolar del colectivo se ubica en $\lambda=673$ nm y $\lambda=724$ nm para los cúmulos de NPs de Ag y de Au, respectivamente.

A una longitud de onda de 632 nm, los resultados mostraron que el campo eléctrico de una esfera de SiO₂ es más débil y más uniforme a medida que aumenta su porosidad. También, en base a los resultados bajo condiciones fuera de resonancia, encontramos que un dímero de Au-SiO₂ con una esfera dieléctrica no porosa tiene un EF máximo de 3.2×10^3 , mientras que con una porosa es de 8.6×10^2 .

Para un sistema formado por un cúmulo de tres NPs metálicas sobre un grupo de tres esferas de SiO₂, el SERS-EF máximo es del orden de 10^4 ; esta mejora de la señal Raman se atribuye principalmente a los puntos calientes que se forman en el cúmulo metálico.

En general, las esferas dieléctricas juegan el papel de un sustrato que tiene el efecto de disminuir la intensidad de las eficiencias ópticas, así como de disminuir el campo eléctrico local.

De las mediciones experimentales se determinó que, para ambos analitos, glucosa y T4, los compositos SiO₂-Ag presentaron el mayor SERS-EF, del orden de 10^6 - 10^7 . Nuestras simulaciones numéricas dan cuenta de una contribución del mecanismo electromagnético del orden de 10^4 . Es importante mencionar que las contribuciones al SERS-EF total por el mecanismo químico no fueron abordadas en el presente trabajo.

Abstract

Herein, thin film substrates of Au nanoparticles (NPs), Ag NPs, and SiO₂-Au and SiO₂-Ag composites were fabricated to be tested as Raman signal enhancers of glucose and thyroxine. Au and Ag NPs were synthesized by seed-mediated growth method. They have a spherical morphology and a size of approximately 50 nm in diameter. Apart, porous SiO₂ spheres were obtained by the Stöber method with an average size of 290 nm in diameter.

Both, metallic NPs and SiO₂ spheres, presented a negative charge on the surface because of the functionalizing agents. For the case of Au NPs, it was discovered they are functionalized with ascorbic acid and their surface plasmon is located at $\lambda=537$ nm, while Ag NPs are functionalized with tannic acid and their plasmon is at $\lambda=421$ nm. For the case of SiO₂ spheres, they are functionalized with hydroxyl groups and present a prohibited energy band (band gap) of 3.98 eV, indicating the dielectric character of the material.

SiO₂-Au and SiO₂-Ag composites were prepared from the individual solutions of metal NPs and SiO₂ spheres, forming films on crystalline silicon wafers. The AFM and SEM micrographs show that throughout the films the NPs are found alone or forming clusters around the SiO₂ spheres.

SERS experiments were carried out with both metal NPs and composite substrates, using thyroxine and glucose as probe molecules. The effect of the analyte concentration on the SERS response of the materials was addressed.

With all four kind of substrates and for different concentrations of the analyte, it was observed that as the analyte concentration increases, the SERS Enhancement Factor (SERSEF) does. For both analytes, glucose and T4, SiO₂-Ag composites presented the highest SERS-EF, while Au NP substrates were the least efficient. All SERS substrates increase the Raman signal of glucose more efficiently than that of T4. The minimum detection concentration is 0.01 mM for T4 and 0.5 mM for glucose.

Supported by numerical-theoretical tools, a systematic study of the influence of each SERS substrate component on the optical efficiencies, local electric field and SERS-EF was performed. It was determined that the dipole surface plasmon resonance (SPR) for an Ag NP is at $\lambda=392$ nm and for an Au NP at $\lambda=522$ nm. These resonances are found at lower

wavelengths compared to the resonance of a cluster of 3 NPs. That is, the interaction between NPs and their individual plasmons generates a charge distribution whose resonance is shifted to a longer wavelength. In particular, the dipole resonance of the collective is located at $\lambda=673$ nm and $\lambda=724$ nm for the Ag and Au NPs cluster, respectively.

At a wavelength of 632 nm, the results showed that the electric field of a SiO₂ sphere is weaker and more uniform as its porosity increases. Also, based on the results under offresonance conditions, we found that an Au-SiO₂ dimer with a non-porous dielectric sphere has a maximum EF of 3.2×10^3 , while with a porous one it is of 8.6×10^2 .

For a system consisting of a cluster of three metal NPs resting on a cluster of three SiO₂ spheres, the maximum SERS-EF is of the order of 10^4 ; this enhancement of the Raman signal is mainly attributed to the hot spots formed in the metal cluster.

In general, the dielectric spheres play the role of a substrate that has the effect of decreasing the intensity of the optical efficiencies as well as decreasing the local electric field.

From the experimental measurements it was determined that, for both analytes, glucose and T4, the SiO₂-Ag composites presented the highest SERS-EF, of the order of 10^6 - 10^7 . Our numerical simulations show a contribution of the electromagnetic mechanism of the order of 10^4 . It is important to mention that the contributions to the total SERS-EF by the chemical mechanism were not addressed in the present work.

Productos obtenidos en este trabajo

Capítulo de libro:

P. De León Portilla, E. Sánchez-Mora, A.L. González Ronquillo. (2021). Theoretical and Experimental study on the functionalization effect on the SERS Enhancement Factor of SiO₂-Ag composite films. *Silver Micro-Nanoparticles - Properties, Synthesis, Characterization, and Applications*. Editor Dr. Samir Kumar. Editorial **IntechOpen**, Gran Bretaña.

Artículo

P. De León Portilla, E. Sánchez-Mora, A.L. González Ronquillo. Influence on SERS enhancement factor of the components of an artificial opal loaded with metal NPs: A systematic study. (2022). *Current Applied Physics*. 39, 248-257. DOI: 10.1016/j.cap.2022.05.003

Asistencia a congresos

Asistencia y presentación de poster al congreso 15th International Topical Meeting on Nanostructured Materials and Nanotechnology (Nanotech 2019), con el título “Synthesis And Characterization Of SiO₂ And Au NP”, llevado a cabo el 21 al 25 de octubre 2019.

Presentación en línea del poster con el título “Películas de SiO₂-Au y SiO₂-Ag depositadas por evaporación de solvente” en el LXIII Congreso Nacional de Física, que se llevó a cabo del 4 al 9 de octubre de 2020

Presentación de poster en línea con el título “Simulación numérica del factor de amplificación de la señal SERS de una NP metálica funcionalizada y bajo un ambiente de esferas dieléctricas” en el LXIV Congreso Nacional de Física llevado a cabo del 4 al 9 de octubre del 2021.

Presentación tipo poster con el título “Determination and Understanding of the Raman Signal Enhancement with Metal NPs Loaded in SiO₂ Artificial Opals” en el XXX International Materials Research Congress, los días 14-19 de Agosto del 2022. Aceptado.

Presentación tipo poster con el título de "Detection Of Thyroxine At Low Concentrations Using Films Of SiO₂-Au And SiO₂-Ag By Sers Substrates" en el XXX International Materials Research Congress, los días 14-19 de Agosto del 2022. Aceptado.

Índice general

Resumen	i
Abstract	iii
Productos obtenidos	v
Índice de tablas	viii
Índice de Figuras	x
Tabla de abreviaciones	xv
Objetivos	xvii
Introducción	1
Capítulo 1	4
1.1 Fundamentos de Raman y SERS	4
1.2 Glucosa y métodos para su detección	8
1.3 Tiroxina y métodos para su detección	10
1.4 Ópalos artificiales dieléctricos	11
1.5 NPs metálicas y su respuesta plasmónica	12
1.5.1 Aproximación de longitud de onda larga modificada (MLWA)	15
1.6 Fundamentos de la Aproximación de dipolo discreto	17
1.7 Campo eléctrico cercano	19
1.8 Aproximación $ E ^4$	20
Capítulo 2	22
2.1 Metodología de las de las técnica de síntesis empleadas	22
2.1.1 Síntesis de esferas de SiO ₂	22
2.1.2 Síntesis de NPs de Au	24
2.1.3 Síntesis de NPs de Ag	25
2.1.4 Preparación de los sustratos SERS y depósito de los analitos	27
2.2 Metodología del modelo teórico-numérico empleado	28
Capítulo 3 Resultados y su discusión	31
3.1 Resultados de la parte experimental	31
3.1.1 Morfología y superficie de las esferas de SiO ₂	31
3.1.2 NPs de Au sintetizadas y su caracterización	35
3.1.3 NPs de Ag sintetizadas y su caracterización	40
3.1.4 Estructura de las películas compositas de SiO ₂ -Au y SiO ₂ -Ag	43
3.1.5 Sustratos SERS de NPs metálicas y compositas	44
3.1.5.1 Señales Raman y N_{Raman} de la Tiroxina	44
3.1.5.2 SERS-EF de la T4 con las NPs de Au.	50
3.1.5.3 SERS-EF de la T4 con las NPs de Ag.	54
3.1.5.4 SERS-EF de la T4 con los compositos de SiO ₂ -Au.	56
3.1.5.5 SERS-EF de la T4 con los compositos de SiO ₂ -Ag.	58
3.1.5.6 Señales Raman y N_{Raman} de la glucosa.	60
3.1.5.7 SERS-EF de la glucosa con las NPs de Au.	62
3.1.5.8 SERS-EF de la glucosa con las NPs de Ag.	65

3.1.5.9 SERS-EF de la glucosa con los compositos de SiO ₂ -Au.	67
3.1.5.10 SERS-EF de la glucosa con los compositos de SiO ₂ -Ag.	69
3.2 Modelado y Simulación numérica	72
3.2.1 Determinación teórico-numérica del tamaño de NP óptimo	72
3.2.2 Origen de las bandas de las eficiencias ópticas de las NP	76
3.2.3 Respuesta óptica de las esferas de SiO ₂	81
3.2.4 Determinación del valor de SERS-EF de las películas compositas	84
Conclusiones	98
Referencias	102
Anexo	110

Índice de tablas

Tabla 1.1. Frecuencias de plasma de los metales nobles oro y plata [40].	14
Tabla 2.1. Reactivos utilizados para la obtención de esferas de SiO ₂ .	23
Tabla 2.2. Reactivos utilizados para la obtención de NPs de Au.	24
Tabla 2.3. Reactivos utilizados para la obtención de la solución de semillas NPs Ag.	26
Tabla 3.1 Relación de la concentración de T4 con el total de moléculas depositadas sobre la oblea de Si, así como también el grosor de la película de T4 y su N _{Raman} .	49
Tabla 3.2. Número de moléculas (N _{SERS}) de la T4 depositadas sobre el sustrato de NPs de Au en función del grosor de la capa de T4.	51
Tabla 3.3. SERS-EF de la tiroxina sobre NPs de Au y considerando una capa 3 nm de grosor de T4. Se tomó como referencia la banda ubicada en 1042 cm ⁻¹ .	52
Tabla 3.4. SERS-EF de una capa de T4 sobre NPs de Au. El grosor de la capa está en función de la concentración de T4.	53
Tabla 3.5. SERS-EF de la tiroxina sobre NPs de Ag y considerando una capa 3 nm de grosor de T4. Se tomó como referencia la banda ubicada en 1042 cm ⁻¹ .	55
Tabla 3.6. El N _{SERS} y SERS-EF en función de la concentración de T4 sobre un sustrato de NP de Ag. El grosor de la capa que forman las moléculas sobre las NPs de Ag fue determinado a partir de la concentración de T4.	56
Tabla 3.7. SERS-EF de la tiroxina sobre SiO ₂ -Au y considerando una capa 3 nm de grosor de T4. Se tomó como referencia la banda ubicada en 1042 cm ⁻¹ .	57
Tabla 3.8. El N _{SERS} y SERS-EF en función de la concentración de T4 sobre un sustrato de SiO ₂ -Au. El grosor de la capa que forman las moléculas sobre SiO ₂ -Au fue determinado a partir de la concentración de T4.	58
Tabla 3.9. SERS-EF de la tiroxina sobre SiO ₂ -Ag y considerando una capa 3 nm de grosor de T4. Se tomó como referencia la banda ubicada en 1042 cm ⁻¹ .	59
Tabla 3.10. El N _{SERS} y SERS-EF en función de la concentración de T4 sobre un sustrato de SiO ₂ -Ag. El grosor de la capa que forman las moléculas sobre SiO ₂ -Ag fue determinado a partir de la concentración de T4.	59
Tabla 3.11. Relación de la concentración de la glucosa con el total de moléculas depositadas sobre la oblea de Si, el grosor de la capa de la glucosa y su N _{Raman} .	62
Tabla 3.12. N _{SERS} de la glucosa sobre el sustrato de NPs de Au en función de su grosor.	64
Tabla 3.13. SERS-EF de la tiroxina sobre NPs de Au y considerando una capa 3 nm de grosor de glucosa. Se tomó como referencia la banda ubicada en 862 cm ⁻¹ .	64
Tabla 3.14. SERS-EF de una capa de glucosa sobre NPs de Au. El grosor de la capa está en función de la concentración de glucosa.	65

Tabla 3.15. N_{SERS} de la glucosa sobre el sustrato de NPs de Ag en función de su grosor	66
Tabla 3.16. SERS-EF de la tiroxina sobre NPs de Ag y considerando una capa 3 nm de grosor de glucosa. Se tomó como referencia la banda ubicada en 862 cm^{-1} .	66
Tabla 3.17. SERS-EF de una capa de glucosa sobre NPs de Ag. El grosor de la capa está en función de la concentración de glucosa.	67
Tabla 3.18. N_{SERS} de la glucosa sobre el sustrato de $\text{SiO}_2\text{-Au}$ en función de su grosor.	68
Tabla 3.19. SERS-EF de la tiroxina sobre $\text{SiO}_2\text{-Au}$ y considerando una capa 3 nm de grosor de glucosa. Se tomó como referencia la banda ubicada en 862 cm^{-1} .	69
Tabla 3.20. SERS-EF de una capa de glucosa sobre $\text{SiO}_2\text{-Au}$. El grosor de la capa está en función de la concentración de glucosa.	69
Tabla 3.21. N_{SERS} de la glucosa sobre el sustrato de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ en función de su grosor.	70
Tabla 3.22. SERS-EF de la tiroxina sobre $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ y considerando una capa 3 nm de grosor de glucosa. Se tomó como referencia la banda ubicada en 862 cm^{-1} .	70
Tabla 3.23. SERS-EF de una capa de glucosa sobre $\text{SiO}_2\text{-Ag}$. El grosor de la capa está en función de la concentración de glucosa.	71
Tabla 3.24. Posición de la banda de eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una NP de Au en agua.	74
Tabla 3.25. Posición de la banda de eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una NP de Ag en agua.	76
Tabla 3.26 Máximo de SERS EF obtenido de una NP de Au y Ag a diferentes longitudes de onda. También de un NP de Au y Ag con una capa de 1 nm de grosor de ácido ascórbico y ácido tánico, respectivamente.	81
Tabla 3.27 Máximo SERS-EF de los dímeros de $\text{SiO}_2\text{-Au}$ cuando son excitados en $\lambda=632 \text{ nm}$ y $\lambda=522 \text{ nm}$.	86
Tabla 3.28 Máximo de SERS EF obtenido de los dímeros de $\text{SiO}_2\text{-Au}$, considerando desde una esfera no porosa ($n=1.46$) hasta una muy porosa ($n=1.05$). También de un NP de Au con una capa de 1 nm de grosor de ácido ascórbico para su comparación.	88
Tabla 3.29 Máximo SERS-EF de los dímeros de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ cuando son excitados en $\lambda=632 \text{ nm}$ y $\lambda=392 \text{ nm}$.	89
Tabla 3.30 Máximo de SERS-EF obtenido de los dímeros de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$, considerando desde una esfera no porosa ($n=1.46$) hasta una muy porosa ($n=1.05$). También de un NP de Ag con una capa de 1 nm de grosor de ácido tánico para su comparación.	91
Tabla 3.31 Máximo valor SERS-EF que se puede alcanzar con el material compuesto, a las longitudes de onda indicadas	93
Tabla 3.32 Posición de las resonancias dipolares y cuadrupolares de las NPs solas y del clúster de 3 NPs.	95

Índice de figuras

Figura 1-1. Esquema de dispersión de la luz por una molécula. La dispersión Rayleigh es un fenómeno elástico, mientras que la dispersión Raman es inelástico [17].	4
Figura 1-2. Esquemas de dispersión de luz por a) efecto Raman convencional y b) SERS.	6
Figura 1-3. Fórmula química del isómero a) “D” y b) “L” de la glucosa [33].	9
Figura 1-4. Fórmula química de la Tiroxina.	10
Figura 1-5. Fórmula química de la hormona TSH.	11
Figura 1-6. Representación de un plasmon de superficie dipolar en una NP esférica metálica. t es un instante de tiempo dado y T es el periodo del campo eléctrico incidente.	13
Figura 1-7. Representación de un plasmon de superficie cuádrupolar en una NP metálica.	14
Figura 1-8. Una partícula con forma esférica representada por una matriz de N dipolos puntuales (esferas diminutas) en la aproximación DDA, en A) $N=462,758$ y en B) $N=3,775$.	18
Figura 2-1. Gráfico de la relación del diámetro de la esfera con respecto al número de moles de TEOS manteniendo las relaciones molares de $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ constantes. Las cantidades usadas correspondientes para la curva A son 0.46/2.89/2.15 y para la curva B 0.41/2.20/2.15 [35]. La figura se modificó para indicar el tamaño de esfera de 300 nm y su correspondiente valor de moles de TEOS.	22
Figura 2-2. Fotografía de la solución coloidal de esferas de SiO_2 .	23
Figura 2-3. Fotografía de la solución coloidal de NPs de Au del último crecimiento.	25
Figura 3-1. a) Imagen por TEM de las esferas de SiO_2 donde es posible observar su estructura porosa [56]. b) Esquema de la estructura de un poro, donde el círculo punteado representa el poro, se presentan grupos OH en la superficie o pared del poro.	31
Figura 3-2 a) Imagen por AFM de las esferas de SiO_2 depositadas sobre sustrato de silicio cristalino donde se observa su arreglo tridimensional y b) su histograma de distribución de tamaños	32
Figura 3-3. Espectro de absorbancia de las esferas de SiO_2 en a) solución coloidal y b) espectro determinado de $\alpha(h\nu)^2$ vs energía de las esferas de SiO_2 .	32
Figura 3-4. Gráfica del potencial zeta de la solución de esferas de SiO_2 .	35
Figura 3-5. Fotografía de las soluciones coloidales de Au en agua desionizada sus diferentes etapas de crecimiento.	35
Figura 3-6. Espectros de absorbancia de las soluciones acuosas de NPs de Au en sus diferentes etapas de síntesis, utilizando una celda de 1 cm de grosor. El espectro del 2º crecimiento está aumentado por 15.	36
Figura 3-7. Espectros de absorbancia de la solución coloidal de las NPs de Au, ácido ascórbico-L y de la PVP.	37
Figura 3-8. a) Diámetro hidrodinámico y b) potencial zeta de las soluciones de NPs de Au en sus diferentes etapas de síntesis.	38

Figura 3-9. Mecanismos de reacción para la formación de NPs de Au cuando se reduce el ion Au^{+3} con ácido ascórbico-L [63].	38
Figura 3-10. Esquema de la NP de Au funcionalizada con el ácido ascórbico.	39
Figura 3-11. Imágenes SEM de las NPs de Au a 15,000X y a 50,000X. En el inserto se muestra el histograma de distribución de tamaños.	39
Figura 3-12. Fotografía de las soluciones coloidales de las NPs de Ag en sus diferentes etapas de crecimiento.	40
Figura 3-13. Imagen SEM de las NPs de Ag a a) 15,000X y b) 50,000X. En el inserto se muestra el histograma de distribución de tamaños.	40
Figura 3-14. Espectros de absorbancia de las soluciones de NPs de Ag en las diferentes etapas de crecimiento.	41
Figura 3-15. Espectros de absorbancia de las NPs de Ag, ácido tánico y del citrato de sodio.	41
Figura 3-16. Ilustración de la NP de Ag funcionalizada con el ácido ascórbico.	42
Figura 3-17. Gráficas de las curvas de distribución de a) diámetro hidrodinámico y b) potencial zeta de las soluciones de NPs de Ag en sus diferentes etapas de síntesis.	42
Figura 3-18. Mecanismo de reducción del ion Ag^+ y estabilización de las NPs de Ag mediante el ácido tánico [64].	40
Figura 3-19. a) Imagen por AFM y b) por SEM de un arreglo de esferas de SiO_2 con NPs de Au situadas en los intersticios.	43
Figura 3-20. a) Imagen AFM y b) SEM de las esferas de SiO_2 -Ag.	43
Figura 3-21. Estructura química de la Tiroxina. A) tridimensional y B) bidimensional. Las esferas rosas son los átomos de yodo, las rojas de oxígenos, azul nitrógenos, grises carbono y blancas hidrógenos.	44
Figura 3-22. Espectro Raman de la T4 (en polvo) del frasco reactivo.	45
Figura 3-23. a) Espectros Raman de las soluciones estándar de la T4 a diferentes concentraciones depositadas sobre una oblea de Si cristalino. En el inserto se presenta el espectro Raman de la oblea de silicio cristalino. b) Espectro Raman ampliado de la T4 a diferentes concentraciones.	46
Figura 3-24. a) Espectros Raman de la Tiroxina a diferentes concentraciones, usando el sustrato SERS de NPs de Au. y b) con acercamiento a la banda 1042 cm^{-1} .	47
Figura 3-25. Imagen de las moléculas de T4 adsorbidas sobre la superficie de la NP de Au.	47
Figura 3-26. Imagen de la molécula de Tiroxina dentro de un prisma rectangular.	49
Figura 3-27. Micrografía SEM del sustrato SERS de NPs de Au y su gráfico de distribución de tamaño.	50
Figura 3-28. a) Imagen de campo cercano de una NP de Au con un diámetro de 100 nm, determinado mediante DDA. b) gráfica de la intensidad de campo cercano en función de la distancia de separación desde la superficie de la NP de Au.	52
Figura 3-29. Gráfica del EF-SERS en función del espesor de la película de T4 con concentraciones de 1.00, 0.30 y 0.10 mM, depositadas sobre las NPs de Au.	54

- Figura 3-30.** a) Espectros Raman de la Tiroxina a diferentes concentraciones, usando el sustrato SERS de NPs de Ag. y b) con acercamiento de la banda 1042 cm^{-1} . 54
- Figura 3-31.** Micrografía SEM del sustrato SERS de NPs de Ag y su gráfico de distribución de tamaño. El círculo verde indica el área del spot del láser. 55
- Figura 3-32.** a) Espectro Raman en la región de $1000\text{ a }1100\text{ cm}^{-1}$ de la tiroxina a diferentes concentraciones y b) imagen por SEM del compuesto de $\text{SiO}_2\text{-Au}$. 57
- Figura 3-33.** a) Espectro Raman en la región de $1000\text{ a }1100\text{ cm}^{-1}$ de la tiroxina a diferentes concentraciones y b) imagen por SEM del compuesto de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$. 58
- Figura 3-34.** Espectro Raman de cristales de glucosa-D obtenidas del frasco reactivo 60
- Figura 3-35.** Espectros Raman de las soluciones de glucosa-D sobre una oblea de Si. 61
- Figura 3-36.** Imagen de la molécula de glucosa dentro de un prisma rectangular. 61
- Figura 3-37.** Espectros Raman de las soluciones de glucosa-D utilizando NPs de Au. 62
- Figura 3-38.** Imagen de la interacción de la glucosa con el ácido ascórbico situado en la superficie de la NP de Au. 63
- Figura 3-39.** Espectros Raman de las soluciones de glucosa-D utilizando NPs de Ag como sustrato SERS 65
- Figura 3-40.** Espectros Raman de soluciones de glucosa-D a diferentes concentraciones y utilizando la película compuesta de $\text{SiO}_2\text{-Au}$. 67
- Figura 3-41.** Espectros Raman de soluciones de glucosa-D a diferentes concentraciones y utilizando la película compuesta de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$. 70
- Figura 3-42.** Gráfica de SERS-EF en función de la concentración de a) T4 y b) glucosa. Se consideró una capa de 3 nm de grosor del analito sobre los sustratos SERS. En los recuadros se observa el comportamiento del SERS-EF a las concentraciones más bajas. 72
- Figura 3-43.** Espectros ópticos de eficiencia de a) extinción, b) absorción y c) dispersión una NP de Au, en agua, a diferentes tamaños. 74
- Figura 3-44.** Imágenes de campo cercano de una NP de Au, en agua, con un diámetro de a) 20 nm, b) 40 nm, c) 60 nm, d) 80 nm y e) 100 nm. La longitud de onda del campo incidente es de $\lambda=632\text{ nm}$. 75
- Figura 3-45.** Espectros de eficiencia de Q_{ext} , Q_{abs} y Q_{dis} de una NP de Ag con diferentes tamaños. 75
- Figura 3-46.** Imágenes de campo cercano de una NP de Ag de diámetro de a) 20 nm, b) 40 nm, c) 60 nm, d) 80 y e) 100 nm, a una excitación de $\lambda=632\text{ nm}$ en agua. 76
- Figura 3-47.** a) Eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una NP de Au de 100 nm de diámetro en aire, calculados con DDA. b) Extinción óptica de la NP descrita en a), pero obtenida usando DDA, MLWA y QUAD. 77
- Figura 3-48.** Imágenes de SERS-EF de una NP de Au de diámetro de 100 nm, en aire, utilizando distinta longitud de onda incidente. Se utilizaron 100,000 dipolos puntuales para los cálculos, además, la onda incidente se propaga en dirección X con un estado de polarización en dirección Y. 78

- Figura 3-49.** Imágenes de SERS-EF de una NP de Au de 100 nm de diámetro a) sin capa y b) con capa de ácido ascórbico-L de 1 nm de grosor. Se emplearon 100,000 dipolos puntuales para los cálculos y $\lambda=632$ nm, propagándose en dirección X con un estado de polarización en dirección Y. 78
- Figura 3-50.** a) Eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una NP de Ag de 100 nm de diámetro en aire, calculados con DDA. b) Extinción óptica de la NP descrita en a), pero obtenida usando DDA, MLWA y QUAD. 79
- Figura 3-51.** Imágenes de SERS-EF de una NP de Ag de diámetro de 100 nm, en aire, utilizando distinta longitud de onda incidente. Se utilizaron 100,000 dipolos puntuales para los cálculos, además, la onda incidente se propaga en dirección X con un estado de polarización en dirección Y. 80
- Figura 3-52.** Imágenes de SERS-EF de una NP de Ag de 100 nm de diámetro a) sin capa y b) con capa de ácido tánico de 1 nm de grosor. Se emplearon 100,000 dipolos puntuales para los cálculos y $\lambda=632$ nm, propagándose en dirección X con un estado de polarización en dirección Y. 77
- Figura 3-53.** a) Espectros de eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una esfera de SiO₂ no porosa, de 290 nm. En b), espectros de eficiencia de extinción variando la porosidad, de un índice de refracción efectivo de 1.46 (no porosa) a 1.15 (extremadamente porosa). Se consideró como medio circundante el aire. 82
- Figura 3-54.** SERS-EF de una esfera de SiO₂ de 290 nm de diámetro considerando un índice de refracción efectivo alto $n=1.46$ hasta bajo $n=1.1$, su magnitud está indicada por la escala de colores y su dirección por las flechas. El campo eléctrico incidente aplicado está representado por la línea roja, y satisface la ecuación 3.12, con $\lambda=632$ nm, su vector de onda es paralelo al ecuador (eje x) y el estado de polarización es paralelo al eje y. 83
- Figura 3-55.** El campo externo incide sobre el dímero con un estado de polarización perpendicular (C-1), paralelo (C-2) y a 45° (C-3) respecto de su eje principal. 84
- Figura 3-56.** Imágenes de campo cercano de un dímero de una esfera de SiO₂ (290 nm de diámetro) con una NP de Au de 100 nm de diámetro, cuando el campo incidente tiene un estado de polarización perpendicular (C-1), paralelo (C-2) y a 45 grados (C-3) respecto del eje del dímero. Del lado izquierdo la longitud de onda incidente es de 632 nm, la del lado derecho es de 522 nm y corresponde a la SPR dipolar de la NP de Au. 85
- Figura 3-57.** Espectros de Q_{ext} de la NP de Au sola, NP de Au con su capa de ácido ascórbico, de la esfera de SiO₂ y a) con los tres espectros de las configuraciones C-1, C-2 y C-3; b) del promedio de las tres configuraciones. 87
- Figura 3-58.** Imágenes de $|E_{loc}|^4$ de un dímero de una esfera de SiO₂ con una NP de Au. La porosidad de la esfera se ha modelado usando un índice de refracción efectivo entre 1.46 (no porosa) y 1.05 (extremadamente porosa). La longitud de onda de excitación empleada es de 632 nm. El campo incidente corresponde a la configuración C-2. 87
- Figura 3-59.** Imágenes de campo cercano de un dímero de una esfera de SiO₂ (290 nm de diámetro) con una NP de Ag de 100 nm de diámetro, cuando el

campo incidente tiene un estado de polarización perpendicular (C-1), paralelo (C-2) y a 45 grados (C-3) respecto del eje del dímero. Del lado izquierdo la longitud de onda incidente es de 632 nm, la del lado derecho es de 392 nm y corresponde a la SPR dipolar de la NP de Ag.

- 89
- Figura 3-60.** Espectros de Q_{ext} de la NP de Ag sola, NP de Ag con su capa de ácido tánico, de la esfera de SiO_2 y a) con los tres espectros de las configuraciones C-1, C-2 y C-3; b) del promedio de las tres configuraciones. 90
- Figura 3-61.** Imágenes de $|E_{\text{loc}}|^4$ de un dímero de una esfera de SiO_2 con una NP de Ag. La porosidad de la esfera se ha modelado usando un índice de refracción efectivo entre 1.46 (no porosa) y 1.05 (extremadamente porosa). La longitud de onda de excitación empleada es de 632 nm. El campo incidente corresponde a la configuración C-2. 91
- Figura 3-62.** Esquema de tres esferas de SiO_2 (290 nm) en el plano yz y una o tres nanopartículas metálicas reposando sobre ellas. a) y b) son vistas superiores, mientras que a') y b') son vistas laterales. Se ha asumido un campo eléctrico incidente que viaja en dirección de x positivo (incidencia normal), además, su estado de polarización está a lo largo del eje y. 92
- Figura 3-63.** SERS-EF de una y tres NPs sobre esferas dieléctricas. Los planos graficados corresponden a los planos xy que cruzan las esferas en la posición de las líneas discontinuas marcadas en los paneles de la Figura 3-62. En a) y b) las partículas pequeñas son de plata y en c) y d) de oro. La longitud de onda incidente es de 632 nm y su estado de polarización está a lo largo del eje y. 93
- Figura 3-64.** SERS-EF de una y tres NP's sobre esferas dieléctricas. Los planos graficados corresponden a los planos xy que cruzan las esferas en la posición de las líneas discontinuas marcadas en los paneles de la Figura 3-62. En a) y b) las partículas pequeñas son de plata y en c) y d) de oro. La longitud de onda incidente es de 392 nm para Ag y de 522 para Au. 94
- Figura 3-65.** Eficiencias ópticas de a) NPs de Ag y b) NPs de Au que dan cuenta de las resonancias de modos colectivos de los arreglos de 3 nanopartículas metálicas (sin la presencia de esferas dieléctricas). El estado de polarización y la dirección de propagación del campo incidente es el mismo que el indicado en la Figura 3-62. 95
- Figura 3-66.** $|E_{\text{loc}}|^4$ de un cúmulo no lineal de tres nanopartículas metálicas de a) Ag y b) Au. En a') y b'), las NP de Ag y Au descansan sobre tres esferas de SiO_2 , respectivamente. En los paneles c) y c'), se presenta el campo eléctrico de un grupo de tres esferas de SiO_2 en diferentes planos. 96

Tabla de abreviaciones

AFM –microscopia de fuerza atómica.
DDA –aproximación de dipolo discreto.
DLS –dispersión dinámica de luz.
EF –factor de realce.
EM –electromagnético.
NP Au@ascórbico –nanopartícula de oro recubierta de una capa de ácido ascórbico.
NP Ag@tánico –nanopartícula de plata recubierta de una capa de ácido tánico.
NPs –nanopartículas.
PS –plasmon de superficie.
PSL –plasmon de superficie localizado.
 Q_{ext} –eficiencia de extinción.
 Q_{abs} –eficiencias de absorción.
 Q_{dis} –eficiencias de dispersión.
RPS –resonancia de plasmon de superficie.
SEM –microscopia electrónica de barrido.
SERS –espectroscopia o dispersión Raman aumentada por la superficie.
SERS-EF –factor de realce de la dispersión Raman aumentada por la superficie.
T4 –tiroxina.
TEM –microscopia electrónica de transmisión.
TSH –tirotropina.

Agradecimientos

Agradezco a mis asesores la Dra. Ana Lilia González Ronquillo y al Dr. Enrique Sánchez Mora por su apoyo, tiempo y paciencia a lo largo del trabajo de tesis

Se agradece al Dr. Francisco Javier Flores Ruiz, del Instituto de Física de la Universidad Autónoma de Puebla, por su ayuda para la obtención de imágenes por AFM de las NPs y compositos de SiO₂-Ag y SiO₂-Au. También al Dr. Nicolás Rutilo Silva González, del Instituto de Física de la Universidad Autónoma de Puebla, por las imágenes de SEM de las muestras.

Agradezco a CONACYT por la beca de doctorado 330633. Al apoyo de la VIEP-BUAP por los proyectos 100504244-VIEP2019 y 100504244-VIEP2021.

Le agradezco a mis padres por su apoyo y motivación para poder continuar con mis estudios y su amor incondicional. A mis hermanos que, sin su constante motivación, no hubiera llegado a donde estoy.

Objetivos

Objetivo General

- ▶ Sintetizar y caracterizar sustratos de NPs metálicas de Au y Ag soportadas en esferas de SiO₂ y su posible uso como sensores para la detección de glucosa y T4.

Objetivos específicos

- 1) Realizar cálculos teórico-numéricos para estimar la intensidad de campo eléctrico cercano y correlacionar el factor de realce con el campo cercano en la superficie de las NPs con los resultados experimentales.
- 2) Sintetizar NPs de Ag y Au por el método de Turkevich, de tamaño cercano al determinado mediante los cálculos numéricos, indicados en el objetivo 1).
- 3) Sintetizar esferas de SiO₂ por el método Stöber y su posterior depósito sobre sustratos de silicio cristalino o de vidrio con y sin inclusión de NPs metálicas.
- 4) Caracterizar las NPs metálicas y las películas de SiO₂ experimentalmente y por modelado teórico-numérico.
- 5) Determinar la concentración mínima de la glucosa y tiroxina para su detección mediante los sustratos SERS

Introducción

Las nanopartículas (NPs) metálicas han encontrado un lugar importante en diversas áreas de aplicación debido a sus propiedades químicas y físicas. A escala nanométrica las NPs tienen diferentes propiedades que permiten observar fenómenos que no se aprecian macroscópicamente o en bulto [1]. Una de las propiedades físicas de suma importancia en este trabajo de tesis son las ópticas, en específico, la resonancia de plasmones de superficie localizados (RPSL). Éstos generan campos eléctricos localizados o cercanos en la superficie de la NP, que son de suma importancia para diversas aplicaciones, una de las más novedosas es utilizar NPs metálicas como sustratos SERS [2].

El fenómeno de dispersión Raman mejorada por la superficie (SERS, por sus siglas en inglés) permite aumentar las señales Raman de un analito depositado sobre un sustrato plasmónico. Por medio de la contribución de los campos eléctricos cercanos por la RPSL se genera una mejoría en las señales del orden de 10^3 a 10^{16} [3-9]. Estos ordenes de aumento en la señal se conocen como factor de realce SERS (SERS-EF, por sus siglas en inglés). Este fenómeno ha sido particularmente de interés para utilizar sustratos SERS como sensores de diversos analitos a muy bajas concentraciones.

Existen diferentes tipos de sustratos SERS, los factores más comunes que afectan el SERS-EF son el tipo de material plasmónico [4,6], el tamaño [4,6,9] y morfología de éste [4,5,8]; la distancia entre el analito y la superficie de la NP, así como también la longitud de onda de excitación [5]. En este trabajo de tesis nos enfocamos en sistemas de una matriz de esferas de SiO_2 , que generan películas con un área superficial alta que propicia la dispersión y distribución de las NPs de Au o NP de Ag en los sitios intersticiales.

El SiO_2 es un material estable químicamente con transparencia óptica e inerte con varios agentes de acoplamiento [10]. Por otro lado, la plata y el oro son los materiales plasmónicos por excelencia. A través de la distribución de NPs en el ópalo es posible tener una gran cantidad de puntos calientes que favorecen el SERS-EF.

Una ventaja de los sustratos propuestos es el bajo costo de los reactivos, además de la reproducibilidad de las NPs y las esferas de SiO_2 . El depósito por el método de evaporación de solvente de los sustratos SERS es sencillo y también es menos costoso que otros métodos, como el de litografía [11].

En este trabajo se utilizaron sustratos SERS de NPs de Au y Ag, así como también sustratos de SiO₂-Au y SiO₂-Ag, para detectar moléculas de tiroxina y glucosa. Éstas moléculas son de suma importancia en el cuerpo humano, ya que afectan su funcionamiento cuando las concentraciones están fuera de los niveles normales. Para los experimentos de SERS se seleccionaron concentraciones entre los rangos hipo e hiper que definen enfermedades con éstas moléculas [12,13]. También se determinó su SERS-EF y la concentración mínima de detección.

Para comprender como los sustratos SERS propuestos mejoran las señales Raman, utilizamos modelos y simulaciones numéricas para determinar la intensidad del campo eléctrico en la superficie de la NP y fuera de ella. Existen varios métodos que permiten calcular los campos eléctricos cercanos como el método de elementos finitos, el de diferencias finitas en el dominio del tiempo o ecuaciones integrales de volumen [14,15]. Para nuestro trabajo se utilizó en particular, la aproximación de dipolo discreto (DDA) que permite estudiar la respuesta óptica de partículas de diferentes tamaños, sean menores o similares a la longitud de onda incidente, también permite modelar diferentes morfologías sean simétricas o no. Se escogieron diversos arreglos que representan la estructura de los sustratos SERS obtenidos y se calcularon los campos cercanos de éstos. Para relacionar el campo eléctrico cercano generado por las RPS con el SERS-EF utilizamos la aproximación de $|E|^4$ [2].

Comenzamos con el capítulo 1 abarcando los antecedentes y fundamentos del fenómeno SERS, la respuesta plasmónica de las NPs metálicas e información general de los ópalos dieléctricos. En este capítulo también se presentan las generalidades de los sustratos SERS y como se determina experimental y teóricamente el EF usando la aproximación de $|E|^4$. En las últimas secciones del capítulo se describen las características de las moléculas prueba de glucosa y tiroxina.

En el capítulo 2 se aborda la metodología de síntesis de las NPs de Au, NPs de Ag y esferas de SiO₂. Luego, se detallan los pasos seguidos para la obtención de los sustratos SERS y la preparación de las soluciones de los analitos a detectar. Finalmente, en éste capítulo se proporciona información técnica sobre los cálculos que se realizaron.

En el capítulo 3 se muestran los resultados derivados de las diferentes técnicas experimentales y las simulaciones numéricas de todos los sistemas de estudio. También se incluye un análisis y la discusión correspondiente.

En una última sección se presentan las conclusiones más relevantes de éste trabajo.

Capítulo 1

En este capítulo se abordan los antecedentes y fundamentos de la respuesta Raman y de la técnica de SERS. También se incluyen los fundamentos de la aproximación de dipolo discreto (DDA, por sus siglas en inglés) que se usó para calcular el campo local, el cual se relaciona con el factor de realce SERS.

Posteriormente, se describen la composición química y las características de la glucosa y tiroxina. Además, se detallan los métodos comúnmente usados en el sector médico para detectar los analitos bajo estudio.

1.1 Fundamentos de Raman y SERS

El efecto Raman o dispersión Raman fue descubierto en 1928 por Sir Chandrasekhara Venkata Raman [16]. Éste efecto surge a partir de la dispersión inelástica de una onda electromagnética (EM) al interactuar con un átomo o molécula, ver Figura 1-1. Las dispersiones inelásticas de la onda EM pueden ser tipo Anti-Stokes o Stokes, las que comúnmente se reportan son las últimas, por ser de mayor intensidad que las primeras [2]. En la dispersión Raman Anti-Stokes la longitud de onda dispersada es menor que la del láser, mientras que en la Stokes ocurre lo opuesto. La energía de las dispersiones Raman no es suficiente para excitar la molécula a un nivel electrónico de mayor energía; pero es la necesaria para generar un cambio de estado vibracional de la molécula. Además, la señal Raman está fuertemente ligada a la polarizabilidad y sección transversal óptica de la molécula [2].

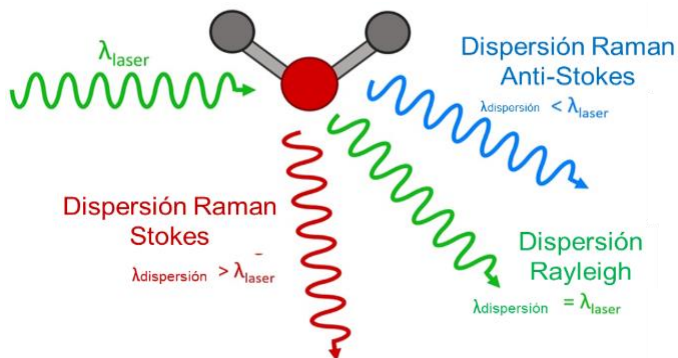


Figura 1-1. Esquema de dispersión de la luz por una molécula. La dispersión Rayleigh es un fenómeno elástico, mientras que la dispersión Raman es inelástico [17].

Los usos de la espectroscopia Raman están intrínsecamente limitados por la señal débil generada por la luz inelástica dispersada por una molécula. Uno de cada 10^7 fotones es dispersado inelásticamente. Por consiguiente, la concentración de moléculas es un factor relevante para su análisis estructural o detección. Por ejemplo, en nuestro caso, para la obtención de espectros Raman de las moléculas de prueba en solución se necesitaron concentraciones mayores a 5 M. Para aplicaciones en nanomedicina o de sensado es deseable poder detectar la señal Raman de concentraciones muy bajas, del orden de $1\mu\text{M}$ [18]; o mejor aún, de una sola molécula [19-21]. Para lograrlo, se han buscado maneras de poder mejorar o aumentar la señal Raman. Actualmente, se puede mejorar a través de la técnica de espectroscopia Raman amplificada por la superficie (SERS, por sus siglas en inglés), la cual permite la detección estructural altamente sensible de analitos a baja concentración sobre una superficie metálica. La amplificación de la señal se logra por los campos EM generados por la excitación de resonancia de plasmones de superficie (RPS) del metal. Un plasmon se define como la oscilación de los electrones libres o electrones de conducción, sobre la superficie de un metal cuando interactúa con una onda EM plana [2].

Los materiales plasmónicos comúnmente usados como sustratos SERS son los metales nobles Au, Ag, Cu, Pt, entre otros. En escala nanométrica, éstos metales nobles presentan bandas de plasmones de superficie muy intensas en la región visible del espectro.

El primer espectro Raman obtenido utilizando sustratos SERS fue el de piridina adsorbida en una superficie de plata rugosa, tratada electroquímicamente mediante ciclos continuos de oxidación-reducción, en 1974 por Fleischmann y colaboradores [22]. Desde entonces, el campo de investigación usando SERS ha progresado notablemente. A través de diferentes técnicas experimentales se han obtenido nuevos sustratos con propiedades plasmónicas, como las películas bimetálicas [23], sustratos nano-estructurados [24], entre otros. Con ellos, se ha logrado aumentar la intensidad de las señales Raman para detectar concentraciones de nM. Para la detección de una sola molécula, se ha reportado que es necesario un sustrato que amplifique la señal por un factor de 10^8 o mayor [19,20,25].

En la Figura 1-2 a) se muestra un esquema donde incide luz con energía $h\nu_0$ sobre una molécula, de la interacción resulta luz dispersada con energía $h\nu'$; a este fenómeno se le conoce como la señal Raman convencional. Mientras en la figura 1-2 b) la molécula se

encuentra sobre una superficie metálica, así que la onda EM incidente interactúa con el material plasmónico, excitando su plasmon de superficie, y también a la molécula. La señal resultante tiene una energía $h\nu'$ que depende del campo eléctrico incidente y del campo generado por el plasmon de superficie ($E_0 + E_{loc}$). Esta señal es mucho más intensa que la Raman convencional. Es importante hacer notar que la molécula puede estar adsorbida sobre la superficie del metal o cerca de ella para amplificar su señal Raman.

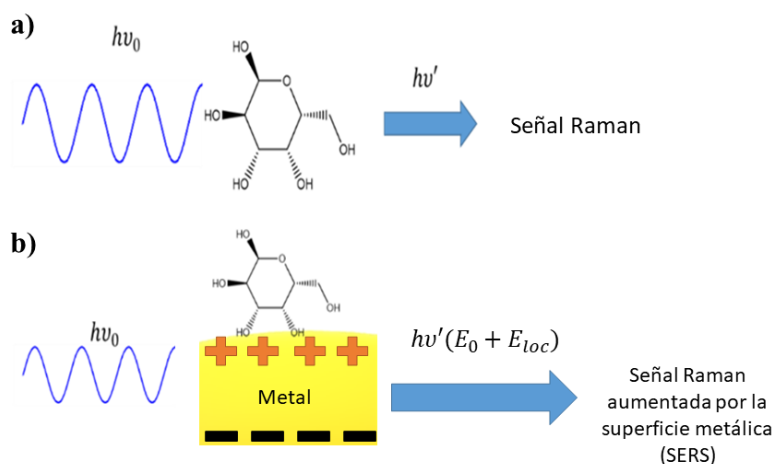


Figura 1-2. Esquemas de dispersión de luz por a) efecto Raman convencional y b) SERS.

La mejora o factor de realce (EF) de la señal Raman se atribuye a dos mecanismos principales, 1) el mecanismo electromagnético surge por campos electromagnéticos aumentados debido a la excitación de la superficie plasmónica, su valor es de 10^3 hasta 10^{16} [7-13]; 2) el mecanismo químico, éste involucra varios fenómenos, uno de ellos ocurre cuando el tensor de polarizabilidad se modifica, por la adsorción con la superficie metálica, produciendo una dispersión Raman resonante en longitudes de onda en las que las moléculas no adsorbidas no serían resonantes, otro es la redistribución de carga asociada a los niveles de energía de la molécula, otro es una posible transferencia de carga entre la molécula y la superficie metálica; su contribución al SERS-EF total es de 10 a 10^2 [26]. Sin embargo, es importante mencionar que no hay una frontera definida entre ambos mecanismos y uno puede inducir al otro.

El SERS-EF total es del orden de 10^2 - 10^{16} . Después de décadas de debate y una gran variedad de teorías, ahora se acepta que el contribuyente dominante a la mayoría de los procesos SERS es el mecanismo de mejora electromagnética. Por ello, en este trabajo nos restringimos al estudio del mecanismo electromagnético.

Actualmente, existen dos grandes grupos de sustrato SERS, los coloidales y los de superficie. Los coloidales consisten de NPs plasmónicas en soluciones acuosas, mientras que los de superficie son a base de recubrimientos metálicos sobre un sustrato. Dependiendo de sus características físicas (rugosidad, morfología, tamaños, distribución espacial, etc.) los sustratos proporcionan un SERS-EF diferente. El presente trabajo se enfoca en los sustratos de superficie.

En la literatura se reporta una amplia variedad de sustratos SERS fabricados solo con NPs metálicas, considerando como variables su tamaño y morfología. Un ejemplo muy claro son los sustratos reportados por Yong Yang y colaboradores [4], quienes sintetizaron NPs de Ag por el método solvotermal. Ellos reportaron diferentes morfologías como: esferas, cubos, platos hexagonales, platos triangulares, varillas esféricas y varillas triangulares. Al usar un láser de $\lambda=514$ nm, observaron que el SERS-EF tiene diferentes intensidades, siendo el de las nanovarillas >platos triangulares> platos hexagonales> cubos> esferas. Encontraron que los mayores factores de realce se obtienen con morfologías anisotrópicas y con mayor número de picos o vértices agudos. Esto mismo lo observaron Kudun y colaboradores [4] al comparar sustratos de NPs de Ag esféricas, hilos y tipo hojuelas cuando se utiliza un láser de $\lambda=632$ nm. Ellos reportaron factores de realce de 10^6 - 10^7 , siendo los sustratos de NPs en forma de hojuelas los que presentaron el mayor SERS-EF. En el caso de Leonardo Pérez-Mayen y colaboradores, utilizaron sustratos de NPs Au en forma de estrella de múltiples picos llegando a un SERS-EF de 10^9 [8].

El tamaño de las NPs también determina el SERS-EF, al respecto, Seongmin Hong y colaboradores [9] estudiaron el efecto del tamaño de NPs de Au en el SERS-EF. Sintetizaron NPs esféricas de 17 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm y 80 nm de diámetro para la detección de 4-Aminothiophenol utilizando un láser de $\lambda=647$ nm. Ellos observaron que el SERS-EF incrementaba de 10 a 9×10^5 conforme aumentaba el tamaño. Por otro lado, J.M. Romo-Herrera y colaboradores [6] observaron que al utilizar un láser de $\lambda=633$ nm sobre nanocubos cóncavos de lado 18 nm, 34 nm y 60 nm, el que presentó un mayor SER-EF fue el de 34 nm. Además, repitieron los experimentos usando un láser de $\lambda=785$ nm, en este caso los cubos de 60 nm presentaron un SERS-EF mayor que los demás. Esto indica que la longitud de onda o frecuencia de excitación es importante para lograr una mejora de la señal Raman. Esto esta correlacionado con el fenómeno de resonancia entre la frecuencia del campo externo y la

frecuencia de excitación plasmónica del metal. Al estar en resonancia se genera un mayor SERS-EF, mientras que al utilizar una longitud de onda fuera de su resonancia no se logra excitar por completo a los plasmones [6] y por ende se obtienen factores pobres en intensidad.

Se han reportado múltiples esfuerzos para mejorar el SERS-EF proponiendo un sinfín de sustratos que combinan diversos materiales plasmónicos [11-13]; algunos soportan NPs metálicas sobre matrices de materiales dieléctricos [27-29] o sobre semiconductores [30]. El depósito de NPs sobre materiales de soporte como los ópalos artificiales ofrece la posibilidad de mejorar la señal Raman, debido a que permite un depósito de NPs en una matriz ordenada periódicamente, creando una superficie rugosa, la cual contribuye en el aumento de las señales Raman [29,31].

Experimentalmente se suele determinar el EF a partir de mediciones empleando un sustrato convencional y uno tipo SERS. Se deposita una concentración del analito (C_{RS}) sobre el sustrato convencional y se mide la intensidad de la señal Raman (I_{RS}). Aparte, replicando las mismas condiciones de medición (longitud de onda láser, potencia de láser, lentes, tiempo, entre otras.), se deposita una concentración diferente (C_{SERS}) del mismo analito en el sustrato SERS y se mide la intensidad de señal SERS (I_{SERS}). El factor de aumento de la señal se estima con la siguiente ecuación:

$$EF = \frac{I_{SERS}/C_{SERS}}{I_{RS}/C_{RS}}. \quad (1.1)$$

1.2 Glucosa y métodos para su detección

La glucosa es un compuesto orgánico perteneciente al grupo de los azúcares. Es una hexosa (contiene 6 átomos de carbono) y una aldosa (tiene un grupo carbonilo en el extremo de la molécula). El nombre viene de la palabra griega $\gamma\lambda\epsilon\upsilon\kappa\omicron\varsigma$ que significa "dulce" [32]. La glucosa presenta dos isómeros ópticos el "D" y "L" (ver Figura 1-3), ambos son ópticamente activos con la quiralidad opuesta. Sin embargo, sólo la glucosa "D" está involucrada en el metabolismo humano. En los alimentos están presentes ambos isómeros, en mayor cantidad la glucosa "D" [32].

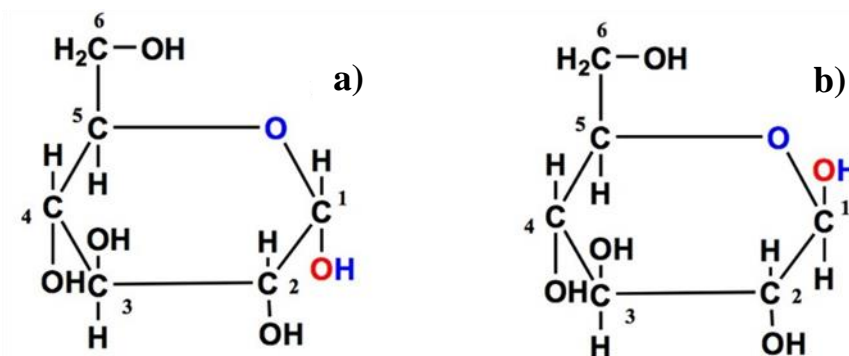


Figura 1-3. Fórmula química del isómero a) “D” y b) “L” de la glucosa [33].

La glucosa transporta hidratos de carbono, el cual es un combustible importante para avivar la energía metabólica en todas las células humanas. Ésta participa en una gran cantidad de reacciones bioquímicas metabólicas moduladoras tanto fisiológica como patológicamente [32]. La glucosa tiene un papel crítico en la producción de proteínas y en el metabolismo lipídico.

El nivel de glucosa en la sangre es un parámetro de un alto valor predictivo en trastornos tales como diabetes mellitus, enfermedad coronaria y la hipertensión arterial. El tener niveles normales de glucosa en el torrente sanguíneo es de suma importancia; los niveles normales de glucosa en la sangre son de 4.0 a 6.11 mM (82 a 110 mg/dl). Por debajo de esto se considera escasos de glucosa (hipoglucemia) que genera convulsiones, desorientación, entre otras. Mientras que en concentraciones altas (hiperglucemia) puede causar derrames cerebrales, neuropatía, nefropatía, entre otras [12].

Los métodos convencionales para la detección de glucosa en la sangre son:

1) Pruebas de uso personal donde se utilizan tiras reactivas que contienen una enzima (glucosa oxidasa) que reacciona con la glucosa presente en la sangre, generando un cambio de coloración. Con la ayuda de un glucómetro se determina la concentración de glucosa.

2) Las pruebas de laboratorio se realizan utilizando una enzima (comúnmente glucosa oxidasa) que cataliza a la glucosa produciendo ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol 4-aminofenazona en presencia de peroxidasa. La solución con la muestra de sangre cambia de coloración, la intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa. Para

cuantificar el resultado se utiliza un espectrofotómetro, se compara el espectro de absorbancia de la muestra con el de una solución patrón [12].

1.3 Tiroxina y métodos para su detección

La tiroxina, comúnmente denominada T4, es una hormona secretada por la glándula tiroidea que se sitúa inmediatamente por debajo de la laringe y delante de la tráquea. Está conformada por 4 yodos, grupos aminos y fenilos (ver Figura 1-4). La T4 se encarga del metabolismo y del crecimiento del cuerpo [34]. La ausencia completa de secreción tiroidea suele hacer que el metabolismo basal disminuya un 40-50% por debajo de lo normal (hipotiroidismo), mientras que los excesos extremos de secreción tiroidea pueden hacer que el metabolismo basal se eleve un 60- 100% por encima de lo normal (hipertiroidismo). La secreción tiroidea está controlada por la secreción de tirotrópina (TSH, por su abreviación en inglés) que es secretada por la apófisis anterior [11,12,34]. En la Figura 1-5 se muestra la fórmula química de la TSH.

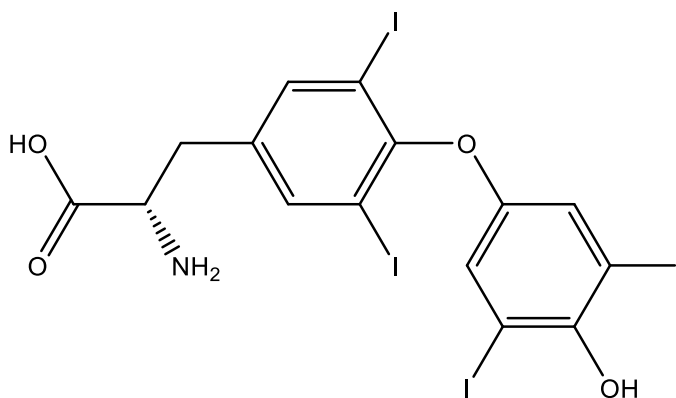


Figura 1-4. Fórmula química de la Tiroxina.

Los avances en la sensibilidad y especificidad de los análisis de la TSH han mejorado sustancialmente la valoración a nivel de laboratorio de la función tiroidea. Debido a que los niveles de TSH cambian de modo dinámico en respuesta a las alteraciones de las T4 libres, un enfoque lógico para las pruebas tiroideas consiste en establecer en primer lugar si la TSH está suprimida, normal o elevada. Con raras excepciones la concentración de TSH normal excluye una anomalía primaria de la función tiroidea.

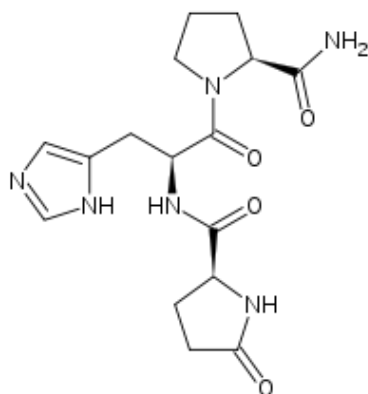


Figura 1-5. Fórmula química de la hormona TSH.

Para la detección de la T4 se usa el análisis inmunoradiométrico (IRMA, por su abreviación en inglés) de la TSH. Este análisis se basa en la formación específica de los complejos antígeno-anticuerpo y es sensible a isótopos radioactivos [12]. Si la concentración de TSH es anormal, se deben determinar los niveles de hormona circulante para establecer el diagnóstico de hipertiroidismo ($T4 > 0.11$ ppm (0.141 mM) o de hipotiroidismo ($T4 < 0.05$ ppm (0.064 mM)). Otros métodos de análisis directo es la separación física de la fracción de hormona libre mediante ultra-centrifugación o diálisis de equilibrio, sin embargo, no son muy exactos [11].

1.4 Ópalos artificiales dieléctricos

Uno de los objetivos que se plantearon en este trabajo fue fabricar ópalos de esferas de SiO_2 como soporte de NPs de Au o Ag para su posterior empleo como sustratos SERS. Los ópalos son estructuras formadas por microesferas de SiO_2 que tienden a depositarse ordenadamente en un empaquetamiento cúbico centrado en las caras (FCC) o en empaquetamiento hexagonal compacto [35]. Los ópalos presentan el fenómeno de iridiscencia, que consiste en el cambio de la longitud de onda de la luz reflejada en función del ángulo de observación.

En 1965 Werner Stöber y Arthur Fink fueron los primeros en sintetizar microesferas de SiO_2 por el método de sol-gel [36] para crear ópalos artificiales. En la actualidad, se pueden obtener ópalos artificiales de esferas dieléctricas de diversos materiales como polimetilmetacrilato, poli estireno, dióxido de titanio, entre otros [28-31].

Los dieléctricos tienen la característica de que todos sus electrones se encuentran fuertemente unidos a los núcleos, lo cual limita su movimiento a una región alrededor de los últimos. En un dieléctrico cristalino los electrones de cada átomo orbitan alrededor de cada núcleo. Al interactuar con un campo eléctrico la distribución espacial de carga se distorsiona. Los núcleos son muy masivos (carga positiva) y los electrones (carga negativa) a su alrededor responden en dirección contraria al campo eléctrico, generando dipolos dentro del material. El vector del momento dipolar del material es la suma de las cargas (q_i) en su posición (r_i), siendo i el i -ésimo átomo, dentro del material y es descrita:

$$\vec{p} = \sum_i^n q_i r_i, \quad (1.2)$$

debido a la distribución de los dipolos dentro del material, un extremo de la superficie del dieléctrico queda con exceso de carga positiva y el extremo opuesto con exceso de carga negativa, este fenómeno se conoce como polarización [37]. El vector de polarización \vec{P} se relaciona con la susceptibilidad dieléctrica χ :

$$\vec{P} = \frac{d\vec{p}}{dV} = \chi \vec{E}. \quad (1.3)$$

1.5 NPs metálicas y su respuesta plasmónica

Se ha hecho énfasis en que la técnica SERS requiere de materiales plasmónicos para amplificar la señal Raman, además, también se mencionó que su morfología y tamaño permiten modificar el valor del SERS-EF. En este trabajo se depositaron NPs de Au o Ag en forma esférica en ópalos de SiO₂. Al referirnos a NPs nos referimos a aquellos materiales que poseen dimensiones menores o alrededor de 100 nm.

Las NPs presentan diferentes propiedades, las cuales no se observan en los materiales de bulto, como el efecto superficial efectivo y el efecto cuántico. Estos efectos afectan la reactividad química, sus propiedades mecánicas, ópticas, eléctricas y magnéticas [38].

El efecto superficial ocurre cuando el número de átomos en la superficie es mayor al del bulto. Los átomos en la superficie tienen menos vecinos, generando una menor energía de enlace. La relación de la superficie específica con el volumen y el área del material está dada por:

$$\text{Superficie Específica (SE)} = \frac{\text{área superficial}}{\text{volumen}}, \quad (1.4)$$

para el caso de una esfera la relación es $SE=3/r$, si consideramos que la esfera es 50 nm de radio tenemos una SE de $6 \times 10^7 \text{ m}^{-1}$.

Por otro lado, el efecto cuántico ocurre cuando la disminución de tamaño genera un confinamiento de los electrones, generando cambios de momento magnéticos por los *spins* no apareados (materiales magnéticos), también genera cambios en la aceptación y donación de carga (semiconductores), entre otros [38]. El confinamiento de los electrones genera cambios en la función dieléctrica del metal respecto a su contraparte en bulto [39]. Estos efectos son despreciables para partículas mayores a 100 nm de diámetro.

Los plasmones dipolares se presentan cuando el tamaño de la NP es menor a la longitud de onda incidente. En el caso de nanopartículas, los plasmones de superficie se encuentran localizados. Los electrones, al estar bajo un campo eléctrico se desplazan en dirección contraria al mismo, acumulándose en un extremo del metal generando una distribución de carga. En la Figura 1-6, se ejemplifica una distribución de carga dipolar, que ocurre cuando el tamaño de la NP es mucho menor en comparación con la longitud de onda del campo incidente. Asumiendo un campo eléctrico que oscila periódicamente, al tiempo (t) las cargas se distribuyen en dirección contraria al campo. Posteriormente, al tiempo $t + T/2$, siendo T el periodo, la distribución de carga se invierte debido al cambio de dirección del campo. El dipolo que se genera en la superficie de la NP también oscila periódicamente.

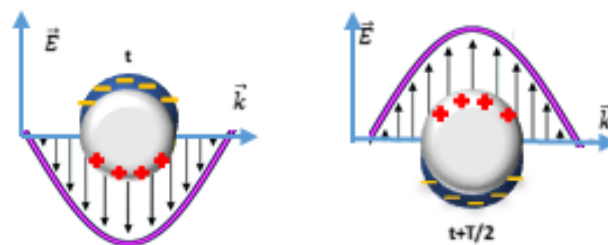


Figura 1-6. Representación de un plasmon de superficie dipolar en una NP esférica metálica. t es un instante de tiempo dado y T es el periodo del campo eléctrico incidente.

Cuando el tamaño es mayor se generan otro tipo de distribuciones de carga, dando lugar a los llamados plasmones multipolares como el cuadrupolar o el octupolar. En la Figura 1-7 se muestra una representación de un plasmon cuadrupolar. La distribución de carga obedece a la dirección del campo.

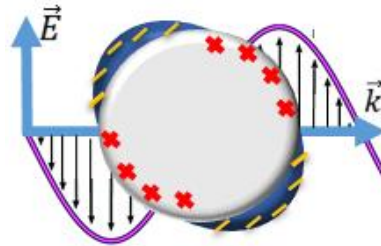


Figura 1-7. Representación de un plasmon de superficie cuadrupolar en una NP metálica.

En los metales en bulto, sus plasmones oscilan a una frecuencia característica de éste, también conocida como frecuencia de plasma (ω_p). Ésta frecuencia está dada por:

$$\omega_p = \sqrt{\frac{4\pi n_e e^2}{m_e}}, \quad (1.5)$$

donde m_e es la masa del electrón, n_e es la densidad de los electrones libres y e es la carga del electrón. En nuestro caso se sintetizaron NPs de Ag y NPs de Au, la ω_p de estos metales se muestra en la tabla 1.1, siendo \hbar la constante de Planck reducida y τ el tiempo de relajación*.

Tabla 1.1. Frecuencias de plasma de los metales nobles oro y plata [40].

<i>Metal</i>	$\hbar\omega_p$ (eV)	$1/\omega_p\tau$
<i>Oro</i>	8.55	0.0126
<i>Plata</i>	9.6	0.00188

En el límite de longitud de onda larga, la función dieléctrica (ϵ) esta correlacionada con ω_p por medio de la siguiente expresión:

$$\epsilon \approx 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2}. \quad (1.6)$$

*El tiempo de relajación es el intervalo de tiempo que transcurre entre dos colisiones del electrón libre con los iones o átomos de la estructura cristalina [41].

Para metales, la expresión anterior es válida para longitudes de onda en el infra rojo. En nuestro caso, nos interesa el intervalo del visible, por lo que emplearemos la función dieléctrica compleja del material volumétrico [39].

La longitud de onda o frecuencia de resonancia de los plasmones dipolares o cuadrupolares se puede determinar con la aproximación de longitud de onda larga modificada, la cual se presenta a continuación.

1.5.1 Aproximación modificada de longitud de onda larga (MLWA)

Si la partícula es muy pequeña en comparación con la longitud de onda de la luz (típicamente $<1\%$), el campo eléctrico incidente se puede considerar constante y la interacción se rige por interacciones electrostáticas en lugar de electrodinámicas. Esto a menudo se denomina aproximación cuasiestática, ya que se utiliza la función dieléctrica dependiente de la longitud de onda de la partícula metálica, ϵ_m , y del medio circundante, ϵ_s .

La aproximación electrostática es especialmente útil en el tratamiento de partículas con formas especiales, como esferoides, donde la ecuación de Laplace ($\nabla^2 V = 0$) se puede resolver analíticamente considerando dos condiciones de contorno: (i) que el potencial eléctrico (V) sea una función continua en la superficie de la esfera y (ii) que la componente normal del desplazamiento eléctrico \vec{D} también sea continua, donde $\vec{D} = \epsilon \vec{E}$ [42]. Cuando se implementa con correcciones perturbativas que incluyen efectos electrodinámicos hasta el orden $1/\lambda^3$ [42], el tratamiento electrostático se puede extender a partículas que tienen una dimensión de hasta el 10% de la longitud de onda de la luz. A este tratamiento electrostático corregido se le conoce como “la aproximación modificada de longitud de onda larga” (MLWA, por sus siglas en inglés) [42-44]. Para una esfera, la polarización \vec{P} se escribe como:

$$\vec{P} = \alpha(\vec{E}_{loc} + \vec{E}_{rad}) , \quad (1.7)$$

siendo el campo de corrección radiativo \vec{E}_{rad} expresado como

$$\vec{E}_{rad} = \frac{2}{3} ik^3 \vec{P} - \frac{k^2}{a} \vec{P}, \quad (1.8)$$

donde a es el radio de la partícula y k el número de onda ($k=2\pi/\lambda$). El primer término del lado derecho de la expresión (1.8) describe el “amortiguamiento radiativo”. Surge de la emisión espontánea de radiación por el dipolo inducido. Esta emisión crece rápidamente con el tamaño de la partícula, eventualmente reduciendo el tamaño del dipolo inducido y aumentando el ancho de línea del plasmón. El segundo término proviene de la despolarización de la radiación a través de la superficie de la partícula debido a la relación finita entre el tamaño de la partícula y la longitud de onda. Este término de despolarización dinámica provoca un desplazamiento hacia el rojo de la resonancia del plasmón a medida que aumenta el tamaño de las partículas.

Los términos anteriores producen una modificación en la polarización generando un factor de corrección dado por

$$F = \left\{ 1 - \frac{2}{3} ik^3 \alpha - \frac{k^2}{a} \alpha \right\}^{-1}. \quad (1.9)$$

La solución de la ecuación de Maxwell muestra que en realidad se trata de un dipolo radiante y, por lo tanto, contribuye a la extinción y la dispersión de Rayleigh por la esfera.

Bajo la MLWA la eficiencia de extinción está dada como [43]:

$$Q_{ext,MLWA} = 4 x \text{Im}(g_d F), \quad (1.10)$$

donde $x = 2\pi a/\lambda$, es el llamado parámetro de tamaño, a es el radio de la partícula, λ es la longitud de onda incidente del campo y

$$g_d F = \frac{\varepsilon_m - \varepsilon_s}{\varepsilon_m + 2\varepsilon_s} \left\{ 1 - \frac{2}{3} ik^3 \alpha - \frac{k^2}{a} \alpha \right\}^{-1}, \quad (1.11)$$

donde ε_m es la función dieléctrica del material y ε_s es la función dieléctrica del medio circundante. La MLWA proporciona una descripción del comportamiento de la resonancia dipolar.

A medida que el tamaño de la esfera aumenta, el término cuadrupolar se vuelve relevante en los espectros de extinción. Para éste caso, la solución de la ecuación de Laplace se considera momentos angulares de orden 2. La polarizabilidad asociada a un cuadrupolo es:

$$\beta = g_{cuad} a^5, \quad (1.12)$$

con

$$g_{cuad} = \frac{\varepsilon_m - \varepsilon_s}{\varepsilon_m + (3/2)\varepsilon_s}. \quad (1.13)$$

La expresión de la eficiencia de extinción bajo la aproximación del cuadrupolo cuasiestática es [43]:

$$Q_{ext,cuad} = 4 x \operatorname{Im} \left[\frac{x^2}{12} g_{cuad} + \frac{x^2}{30} (\varepsilon_m - 1) \right]. \quad (1.14)$$

1.6 Fundamentos de la Aproximación de dipolo discreto

Existen diferentes modelos teórico-numéricos con los cuales se puede calcular la respuesta óptica de nanoestructuras, en específico, los espectros de extinción, absorción y dispersión de la luz cuando incide sobre cierto material. Estos métodos tienen ventajas y desventajas que están intrínsecamente ligadas con el tipo de geometría a analizar [2]. En los siguientes párrafos se detalla el modelo teórico y el método de simulación numérica utilizado en este trabajo de tesis para estudiar la respuesta óptica de NPs esféricas de Au y Ag, así como de los materiales compositos.

La Aproximación de dipolo discreto (DDA, por sus siglas en inglés) es una aproximación que resuelve las ecuaciones de Maxwell para calcular las eficiencias ópticas (extinción, dispersión y absorción). Es un método desarrollado por Purcell y Pennypacker en 1973 para estudiar polvos interestelares [45]. Sin embargo, fueron los trabajos de Draine y Flatau [46,47], los que permitieron mejorar y estudiar sistemas con diversas morfologías y tamaños. El método consiste en representar el blanco-objetivo de estudio generando una matriz de \mathbf{N} dipolos puntuales, los cuales determinan la convergencia y el error numérico. Cada dipolo se encuentra en un sitio de la matriz con una distancia entre cada dipolo \mathbf{d}_0 (parámetro de red), menor que la longitud de onda del campo eléctrico incidente [46]. En la Figura 1-8, se muestra un blanco-objetivo con forma esférica representada por $\mathbf{N} = 462,758$ y $\mathbf{N} = 3,775$, a menor número de dipolos se tiene una representación de la superficie más burda, lo que da origen a efectos espúreos en los resultados. Una de las desventajas de este método es que está intrínsecamente ligado con la capacidad computacional; a mayor número de dipolos mayor precisión en el método, pero mayor costo en el tiempo de cómputo.

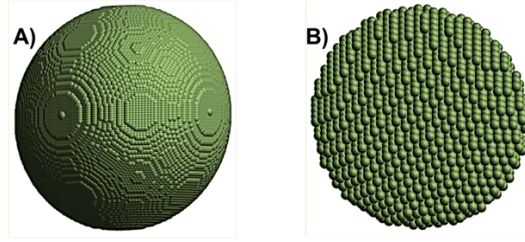


Figura 1-8. Una partícula con forma esférica representada por una matriz de N dipolos puntuales (esferas diminutas) en la aproximación DDA, en A) $N=462,758$ y en B) $N=3,775$.

La DDA supone que la partícula interactúa con una onda electromagnética (EM) plana monocromática. Siendo el blanco-objetivo representado por dipolos puntuales, estos al interactuar con la onda EM generan momento dipolar en cada uno de ellos. Por lo que las interacciones dipolo-dipolo originan un campo eléctrico inducido dado por:

$$\vec{E}_{ind,i} = - \sum'_j \mathbb{A}_{ij} \cdot \vec{p}_j \quad i=1, \dots, N, \quad (1.15)$$

donde \mathbb{A}_{ij} representa la interacción dipolo-dipolo y depende de la posición relativa entre el dipolo i y j ($\vec{r}_{ij} = \vec{r}_j - \vec{r}_i$), \sum'_j indica que $i \neq j$, \vec{p}_j es el momento dipolar del j -ésimo dipolo. Convencionalmente cuando $i = j$, $\mathbb{A}_{jj} = 0$. Considerando que $\vec{p}_i = \alpha_i \vec{E}_{T,i}$, siendo α_i el tensor de polarización y $\vec{E}_{T,i}$ el campo total en \vec{r}_i y que

$$\vec{E}_{T,i} = \vec{E}_{inc,i} + \vec{E}_{ind,i}, \quad (1.16)$$

obteniendo ecuaciones complejas de $3N$ que en notación matricial se expresa como:

$$\hat{\mathbb{B}} \vec{P} = \vec{E}_{inc}, \quad (1.17)$$

donde $\vec{P} = (\vec{p}_1, \vec{p}_2, \dots, \vec{p}_N)$, $\vec{E}_{inc} = (\vec{E}_{inc,1}, \dots, \vec{E}_{inc,N})$ y $\hat{\mathbb{B}}$ una matriz simétrica de $N \times N$ [46]. La ecuación (1.17) es la ecuación fundamental de DDA.

Para resolver la ecuación (1.17) se utilizó el software DDSCAT, que es una implementación numérica de DDA. El mismo software calcula las secciones transversales de extinción, absorción y dispersión por medio de las siguientes ecuaciones:

$$C_{ext} = \frac{k}{|\vec{E}_{inc}|^2 \epsilon_0} \sum_{i=1}^N \text{Im}\{\vec{E}_{inc}^* \cdot \vec{p}_i\}, \quad (1.18)$$

$$C_{abs} = \frac{k}{|\vec{E}_{inc}|^2 \epsilon_0} \sum_{i=1}^N (\text{Im}\{\vec{p}_i \cdot (\alpha_i^{-1}) \vec{p}_i^*\} - \frac{\omega}{6\pi} k |\vec{p}_i|^2), \quad (1.19)$$

$$C_{dis} = \frac{k^4}{|\vec{E}_{inc}|^2 4\pi\epsilon_0} \int |\sum_{i=1}^N [\vec{p}_i - \hat{n}(\hat{n} \cdot \vec{p}_i)]|^2 d\Omega \quad (1.20)$$

donde \hat{n} es un vector unitario en la dirección de dispersión y $d\Omega$ es el elemento de ángulo sólido [45]. De los espectros de las secciones transversales, se obtiene la posición de la longitud de onda de resonancia de los plasmones de superficie.

1.7 Campo eléctrico cercano

El campo eléctrico cercano es aquel que el material origina debido a su polarización y se encuentra en zonas cercanas a la superficie del metal. La polarización del material está dada por

$$\vec{P} = n\alpha\vec{E}_{micro}, \quad (1.21)$$

donde \vec{E}_{micro} es el campo eléctrico cercano, α es la polarizabilidad del material y n es la densidad atómica del material. Se puede relacionar el campo cercano con el campo eléctrico lejano, $\vec{P} = \frac{1}{4\pi}(\epsilon - 1)\vec{E}_{macro}$. Por otro lado, usando la relación de Clausius-Mossotti:

$$\frac{4\pi n\alpha}{3} = \frac{\epsilon - 1}{\epsilon + 2}, \quad (1.22)$$

Podemos considerar que la polarización es la misma, por lo que al sustituir se tiene que

$$\vec{E}_{macro} = \left(\frac{3}{\epsilon + 2}\right) \vec{E}_{micro}, \quad (1.23)$$

donde ϵ es la función dieléctrica del material [37,48].

Una vez que $\vec{p}_1, \vec{p}_2, \dots, \vec{p}_N$ son conocidos, con DDA también se puede calcular el campo eléctrico interno, cercano y lejano del objetivo de estudio. Siendo de interés el SERS-EF, este trabajo se enfoca en el campo eléctrico cercano y lejano de la partícula. El código DDSCAT permite calcular el campo eléctrico en un punto con coordenadas $\vec{r}=(x, y, z)$:

$$\vec{E}(x, y, z) = \vec{E}_{inc}(x, y, z) + \vec{E}_{dis}(x, y, z), \quad (1.24)$$

donde se especifica un campo incidente de magnitud 1, es decir, $|\vec{E}_{inc}| = E_{inc} = 1$ y \vec{E}_{dis} es el campo dispersado de los N dipolos radiantes que representan el blanco-objetivo [48]. En términos de los momentos dipolares el campo eléctrico total en cualquier punto está dado por:

$$\vec{E}(\vec{r}, t) = \sum_j \frac{\exp(ik_0 R_j)}{|R_j|^3} \left\{ k_0^2 \vec{R}_j \times (\vec{P}_j \times \vec{R}_j) + \frac{(1-ik_0 R_j)}{R_j^2} [3\vec{R}_j(\vec{R}_j \cdot \vec{P}_j) - R_j^2 \vec{P}_j] \right\} + \vec{E}_0 \exp(i\vec{k}_0 \cdot \vec{r}) \quad (1.25)$$

con $\vec{R}_j \equiv \vec{r} - \vec{r}_j$, la distancia de separación entre el punto del espacio y la posición del dipolo jésimo; $k_0 = \omega/c$ es la magnitud del vector de onda incidente [49].

1.8 Aproximación $|E|^4$

Cuando se consideran solo el mecanismo de mejora EM, se puede correlacionar el campo eléctrico local de la partícula metálica ($E_{loc}(\omega_{exc})$) con el campo local inducido por el momento dipolar de la molecular ($E_{loc}(\omega_{Raman})$). La partícula metálica es excitada a la frecuencia de la longitud de onda incidente, ω_{exc} , generando una excitación de los plasmones. Mientras que el campo local inducido reemite a una frecuencia angular de las señales Stokes o señales Raman, ω_{Raman} . Cuando el corrimiento Raman es muy pequeño, se puede aproximar $\omega_{exc} \approx \omega_{Raman}$ [2]. Por lo que la ecuación de la aproximación de $|E|^4$ queda de la siguiente manera:

$$EF \approx \frac{|E_{loc}(\omega_{exc})|^2}{|E_{inc}|^2} \frac{|E_{loc}(\omega_{Raman})|^2}{|E_{inc}|^2} \approx \frac{|E_{loc}(\omega_{exc})|^4}{|E_{inc}|^4}. \quad (1.26)$$

En nuestro caso, usamos la DDA para calcular el campo cercano o local a partir de un campo incidente conocido, ver sección 1.4. Sin embargo, hacemos énfasis en que la aproximación puede no funcionar si el corrimiento Raman no se aproxima a la frecuencia de excitación [50].

En las siguientes secciones se presentan las generalidades de las NPs metálicas y esferas dieléctricas que sirvieron para fabricar los de los sustratos SERS de este trabajo de tesis.

Capítulo 2

2.1 Metodología de las técnicas de síntesis empleadas

En este capítulo se describen los métodos de síntesis de las esferas de SiO_2 , las NPs de Au, las NPs de Ag y los compositos de SiO_2 -Au y SiO_2 -Ag. También se presenta el procedimiento de la preparación de las muestras para ser utilizadas como sustratos SERS.

2.1.1 Síntesis de las esferas de SiO_2 .

Para obtener esferas de SiO_2 de un tamaño de 300 nm de diámetro se tomó como base el trabajo reportado por Razo y colaboradores [35]. Ellos determinaron la dependencia entre el tamaño de la esfera de SiO_2 y el número de moles de tetraetilortosilicato (TEOS), manteniendo constantes los moles de NH_3 , H_2O y $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. En la Figura 2-1 se muestran dos curvas con diferentes moles de NH_3 , H_2O y $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ para la obtención microesferas de tamaños desde 100 nm hasta 550 nm de diámetro. Nosotros tomamos de base la curva A.

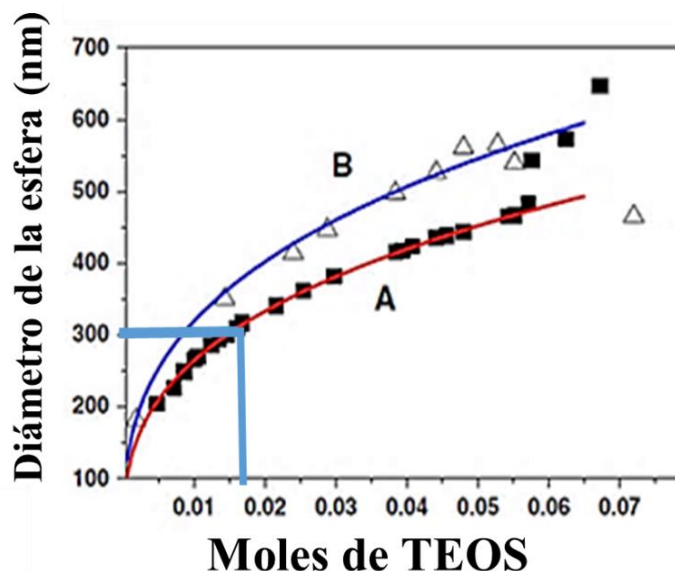


Figura 2-1. Gráfico de la relación del diámetro de la esfera con respecto al número de moles de TEOS manteniendo las relaciones molares de $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ constantes. Las cantidades usadas correspondientes para la curva A son 0.46/2.89/2.15 y para la curva B 0.41/2.20/2.15 [35]. La figura se modificó para indicar el tamaño de esfera de 300 nm y su correspondiente valor de moles de TEOS.

De acuerdo con la curva A para la obtención de microesferas de 300 nm de diámetro se utilizaron 0.018 moles de TEOS y la relación molar de 0.46/2.89/2.15 de $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Las cantidades de cada uno de los reactivos que se utilizaron para obtener esferas de SiO_2 se presentan en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Reactivos utilizados para la obtención de esferas de SiO_2 .

<i>Reactivo</i>	<i>Marca</i>	<i>Pureza (%)</i>	<i>Volumen (ml)</i>
Tetraetilortosilicato	Sigma Aldrich	98	9.0
Etanol	CTR Scientific	96%	125.0
Hidróxido de amonio	Sigma Aldrich	28-30	30.0
Agua desionizada			52.0

Para sintetizar las esferas de SiO_2 se prepararon dos soluciones: una solución “A” formada por TEOS y etanol la cual se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. La solución “B” estuvo formada por agua desionizada e hidróxido de amonio. Una vez obtenidas las dos soluciones, éstas se mezclaron y se agitaron a 1100 rpm por 3 h a temperatura ambiente. El sistema final presentó una coloración blanquecina que se asoció a la formación de las esferas de SiO_2 (Figura 2-2).

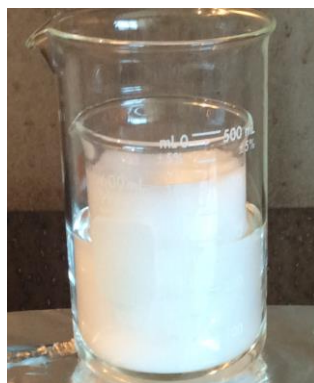
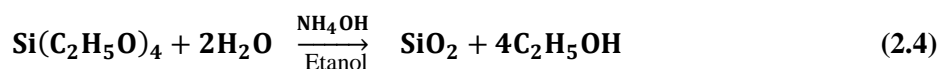
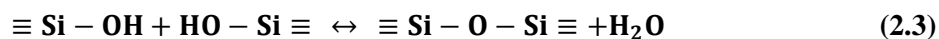
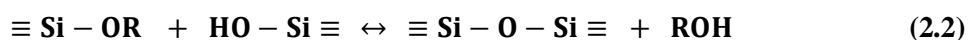


Figura 2-2. Fotografía de la solución coloidal de esferas de SiO_2 .

Se centrifugó la muestra de las esferas de SiO_2 a 8,000 rpm durante 15 minutos y posteriormente se extrajo el etanol, hidróxido de amonio y agua que no reaccionaron. Las esferas se redispersaron en 15 ml de etanol usando un baño sónico durante 15 minutos para posteriormente volver a centrifugar y en seguida eliminar el solvente. Esto se repitió 3 veces.

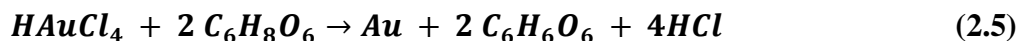
A 100°C se calentaron 15 ml de la solución coloidal de las esferas de SiO₂ para evaporar el solvente y obtener las esferas de SiO₂ secas. A partir de éstas se preparó una solución con una concentración 5 mM de SiO₂ en agua.

El proceso de síntesis consiste en la hidrólisis de un alcóxido de silicio (Si(OC_nH_{2n+1})₄) en un medio alcohólico amoniacal y la posterior condensación de las especies hidrolizadas formando grupos siloxano [36]. El proceso está descrito por las reacciones (2.1) a (2.3) y la reacción total se indica en la ecuación (2.4).



2.1.2 Síntesis de NPs de Au

Se sintetizaron NPs de Au con el método de crecimiento mediado de semillas propuesto por Damato y colaboradores [54]. El método consiste en reducir el ácido cloroáurico (HAuCl₄, Sigma Aldrich, 99.9%) con ácido ascórbico-L (C₆H₈O₆, Sigma Aldrich, 98%), cuando éste pierde sus hidrógenos origina la reducción. Para mantener estable a las NPs de Au se utilizó como agente estabilizante a la polivinilpirrolidona (PVP, Sigma Aldrich). La reacción general se presenta en la ecuación (2.5).



Las cantidades utilizadas se muestran en la tabla 2.2.

Tabla 2.2. Reactivos utilizados para la obtención de NPs de Au.

<i>Reactivo</i>	<i>Marca</i>	<i>Pureza (%)</i>	<i>mg</i>	<i>Concentración (mM)</i>
HAuCl ₄	Sigma Aldrich	99.9		1 mM
C ₆ H ₈ O ₆	Sigma Aldrich	98	60	-
PVP	Sigma Aldrich		35	-

El método de síntesis consistió en mezclar la PVP y ácido ascórbico-L en 6 ml de agua desionizada por 10 minutos y se agregó 3 ml de ácido cloroaúrico; el tiempo de reacción fue de 3 h.

Para el crecimiento de las semillas se agregaron 3 ml de ácido cloroaúrico (1 mM) a la solución de semillas, posteriormente pasando el tiempo de reacción de 3 h, se dejó reaccionar por otras 3 h. En el último crecimiento se agregaron otros 3 ml de ácido cloroaúrico esperando otras 3 h, obteniendo NPs de Au de mayor tamaño con una coloración morada (ver figura 2-3). Todo el procedimiento de síntesis se realizó a una temperatura constante de 90°C.

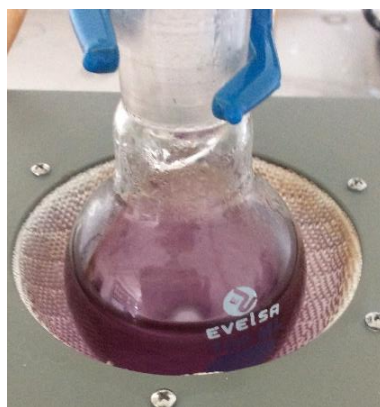


Figura 2-3. Fotografía de la solución coloidal de NPs de Au del último crecimiento.

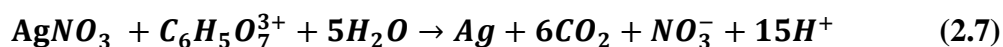
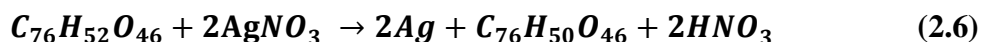
De la reacción indicada en la ecuación (2.5) resultan como subproductos el ácido clorhídrico y la cetona, los cuales pueden afectar a las NPs. Por lo que se deben de extraer, para ello se centrifugó la solución de las NPs de Au a 18,000 rpm durante 15 minutos para extraer los subproductos de la reacción y agua. Las NPs de Au se redispersaron en 20 ml en agua desionizada usando un baño sónico durante 15 minutos para posteriormente volver a centrifugar. El procedimiento se repitió 4 veces.

2.1.3 Síntesis de las NPs de Ag

La síntesis de las NPs de Ag se llevó a cabo mediante el método propuesto por Bastus y colaboradores [55], quienes reportaron la obtención controlada de NPs de Ag esféricas de tamaños entre 4 nm y 200 nm de diámetro. En ese artículo reportaron tres métodos de crecimiento para diferentes tamaños de NPs de Ag: el primero de 4 a 40 nm de diámetro, el

segundo de 45 a 110 nm de diámetro y el tercero de 130 a 200 nm de diámetro. Se seleccionó el segundo método para la obtención de NPs de aproximadamente 100 nm de diámetro.

El método elegido consistió en reducir nitrato de plata utilizando ácido tánico y citrato de sodio. En las ecuaciones (2.6) y (2.7) se muestra la reacción general de la reducción de la sal de plata con los agentes reductores y los subproductos de las dos reacciones.



El método de síntesis consistió de dos partes: la primera consiste en obtener la solución de semillas de NPs de Ag y la segunda consiste en los crecimientos de las semillas de las NPs de Ag.

Para la obtención de las NPs se mezclaron las soluciones de ácido tánico y citrato de sodio en agua a 90 °C, posteriormente se agregó 1 ml de nitrato de plata y se dejó reaccionar durante 10 min. Las cantidades utilizadas se muestran en la tabla 2.3. Los productos secundarios de las reacciones (2.6) y (2.7) pueden afectar a las semillas de NPs de Ag, para evitarlo se centrifugó la solución de semillas a 20,000 rpm por 15 min. Esto con el fin de depositar las NPs y extraer el solvente con los subproductos; posteriormente se redispersaron las NPs en 20 ml de agua desionizada por 15 min en un baño sónico, esto se repitió 3 veces.

Tabla 2.3. Reactivos utilizados para la obtención de la solución de semillas NPs Ag.

Reactivo	Marca	Pureza %	Concentración (mM)	Volumen (ml)
Ácido tánico	Sigma Aldrich	99%	0.1	50
Citrato de sodio	J. T. Baker	99.98%	5	50
Nitrato de plata	Riedel-de Haën	98%	25	1

En la segunda parte se realizaron 4 etapas de crecimiento de las semillas de NPs de Ag hasta alcanzar aproximadamente un tamaño de 100 nm de diámetro. Para esto se diluyeron 20 ml de la solución de semillas (0.21 M) en 16 ml de agua desionizada, posteriormente se agregaron 500 µl de citrato de sodio (25 mM), 1.5 ml de ácido tánico (2.5 mM) y 1ml de nitrato de plata (25 mM) dejando reaccionar por 30 min a 90°C. Esto se repitió 3 veces manteniendo el tiempo de reacción de 30 min entre cada una.

Los productos secundarios de reacción se eliminaron mediante la centrifugación de la muestra de las NPs de Ag a 18,000 rpm durante 15 minutos, posteriormente se extrajo el solvente. Las NPs de Ag se redispersaron en 20 ml agua usando un baño sónico durante 15 minutos para luego volver a centrifugar. Esto se repitió 5 veces.

2.1.4 Preparación de los sustratos SERS y depósito de los analitos

Para determinar experimentalmente el SERS-EF de los analitos en estudio (Glucosa y Tiroxina) se usaron obleas de silicio cristalino como sustratos. Primero se prepararon las obleas, para ello se procedió a cortarlas en pequeñas secciones de 1cm^2 , luego se utilizó aire comprimido para quitar residuos. Posteriormente, se sumergieron en una solución de Xileno (Sigma Aldrich, 98%), la solución fue agitada usando un baño ultrasónico durante 10 minutos. Pasado ese tiempo se enjuagaron las obleas 3 veces usando agua desionizada y se procedió a depositarlas en una solución de acetona (Sigma Aldrich, 98%) dentro de baño ultrasónico durante 10 minutos. Luego se enjuagaron 3 veces con agua desionizada. Por último, se depositaron en etanol durante 10 minutos mientras se agitaban dentro de un baño ultrasónico. Finalmente, las obleas se secaron en una mufla a 100°C .

Para la obtención de los espectros Raman convencionales de los analitos, se usaron las obleas previamente tratadas de la manera que se describió arriba. Sobre los trozos de oblea se depositaron $50\ \mu\text{L}$ de la solución con concentraciones de 25, 15, 5 y $0.5\ \text{mM}$ en agua desionizada para la Glucosa y de 1.00, 0.30, 0.10, 0.05 y $0.01\ \text{mM}$ en metanol-agua desionizada (1:1) para la tiroxina. En el caso de la glucosa, se evaporó el solvente a temperatura ambiente usando un horno tubular Thermo Scientific Linderberg Blue M con un flujo de nitrógeno de $0.5\ \text{ml/s}$ durante 5 h. Para la tiroxina, se evaporó el solvente a 50°C en un horno tubular con la misma velocidad de flujo del nitrógeno, pero durante 3 h.

Los sustratos SERS de NPs metálicas se prepararon de la siguiente manera: se depositó $50\ \mu\text{l}$ de una solución $3\ \text{mM}$ de NPs de Ag o NPs de Au sobre un trozo de silicio cristalino de $1\ \text{cm}^2$. Se evaporó el solvente usando el horno tubular, a 60°C , con un flujo de nitrógeno de $0.2\ \text{ml/s}$.

Los sustratos SERS de películas compositas de SiO₂-Au y SiO₂-Ag, se prepararon con una solución 5 mM agua desionizada de esferas de SiO₂ y una solución 3 mM en agua desionizada de NPs de Au y NPs de Ag, respectivamente. Sobre el sustrato de silicio cristalino con un área de 1 cm², se depositaron 50 µl de la solución de esferas de SiO₂. Se evaporó el solvente usando un horno tubular a 70°C, con un flujo de nitrógeno de 0.1 ml/s por 2 h. Una vez obtenida la película de esferas de SiO₂, se depositaron 50 µl de NPs de Ag o NPs de Au 3 mM y se evaporó el solvente en el horno tubular a 70°C con la misma velocidad de flujo de nitrógeno por 3 h.

Para el depósito de la Glucosa y Tiroxina sobre los sustratos SERS de NPs metálicas y de los compositos se depositó 50 µl de cada una de las soluciones. Los solventes se evaporaron usando las mismas condiciones que se utilizaron para la obtención de las películas de los analitos sobre las obleas de Si.

Para todos los experimentos se usó un equipo Micro-Raman LabRam HR de la marca HORIBA Jobin Yvon, con un láser monocromático de He-Ne (632.8 nm). Se seleccionó una potencia de 6 mW, con un tiempo de captura de 10 s y 5 ciclos, sin utilizar filtros. El equipo Raman cuenta con un microscopio OLYMPUS BX41 y una videocámara que se empleó para enfocar la zona de estudio, se utilizó una amplificación de 100x.

Para determinar la morfología, composición y respuesta plasmónica de los materiales, nos apoyamos de diversas técnicas experimentales como microscopia electrónica de barrido (SEM), microscopia electrónica de transmisión (TEM), microscopia de fuerza atómica (AFM), espectroscopia UV-Vis y dispersión dinámica de luz. Los detalles de los equipos se indican en el capítulo 3.

2.2 Metodología del modelo teórico-numérico empleado

Nos apoyamos de la aproximación de dipolo discreto y de su implementación numérica DDSCAT, para determinar la posición de resonancia de los plasmones de superficie, también para estimar la magnitud del campo local y por ende el SERS-EF. A continuación, se proporcionan los detalles técnicos para llevar a cabo los cálculos.

Los cálculos teórico-numéricos se realizaron usando el código computacional DDSCAT 7.3.0. El código calcula los momentos dipolares del arreglo de dipolos que define

al sistema en estudio, además, proporciona como datos de salida las eficiencias ópticas en función de la longitud de onda (ver ecuación (1.18), (1.19) y (1.20)) y el campo eléctrico (ver ecuación (1.25)) en una región del espacio definida por el usuario.

Para los cálculos se utilizó el cluster Txamula que se encuentra en las instalaciones del IFUAP. Cuenta con 28 procesadores Xeon de 216 cores y 800 GB en memoria RAM, con una memoria RAM distribuida en 8 nodos.

El código DDSCAT tiene la particularidad de fijar la propagación de la luz incidente en dirección \mathbf{x} , así que, para conocer la respuesta óptica en diferentes orientaciones, se debe rotar el blanco (objeto sobre el cual incide la radiación electromagnética) según las necesidades.

El código proporciona subrutinas para generar arreglos de dipolos que representan blancos de varias geometrías. Las subrutinas ya incluidas generan esferas, elipsoides, tetraedros, prismas rectangulares, entre otros.

Además, el código permite calcular el campo eléctrico cercano (como se mencionó en la sección 1.2.2) y obtener datos del mismo en diferentes planos del blanco de estudio

Inicialmente, se buscó determinar el tamaño de una partícula esférica metálica que presente la mayor intensidad de campo eléctrico cercano a 632 nm, en agua y en aire. Para ello, calculamos el campo para esferas de diferente tamaño utilizando la subrutina ELLIPSOID, la cual genera las coordenadas de dipolos puntuales en un mallado cúbico que representa una esfera. Nosotros usamos alrededor de 100,000 dipolos puntuales para evitar efectos espúreos y garantizar convergencia numérica.

Como dato de entrada se debe proporcionar el índice de refracción o función dieléctrica del material del blanco. Para las esferas metálicas isotrópicas se utilizó la función dieléctrica de Au y Ag en bulto reportadas por Johnson y Christy [56].

Para el desarrollo del trabajo fue necesario emplear diversas subrutinas. La subrutina CONELLIPS nos permitió modelar la respuesta óptica de una NP esférica cubierta con una capa del agente estabilizante. La subrutina CONELLIPS genera dos elipsoides concéntricos, que representan un arreglo núcleo-capa. Para definir el arreglo geométrico se requieren 6 parámetros, los primeros tres dan cuenta de las dimensiones del elipsoide externo (capa del agente estabilizante), mientras que los otros tres generan el elipsoide interno que representa al núcleo (la NP metálica). Se utilizaron alrededor de 200,000 dipolos puntuales. Para los

cálculos se proporcionó la función dieléctrica en bulto del Au y Ag, así como también el índice de refracción del material que estabiliza a la NP, es decir, que evita su aglomeración. De acuerdo a la información proporcionada por las técnicas experimentales, encontramos que las NPs de Ag tienen una capa de ácido tánico, al cual le asignamos un índice de refracción 1.704, mientras que las de Au tienen una capa de ácido ascórbico, con un índice de refracción 1.36.

Para modelar la respuesta óptica de las películas compositas, partimos de un sistema simple: un dímero formado por una esfera de SiO_2 y una NP metálica. Para el cálculo se creó un programa que genera las posiciones de dipolos puntuales formando una esfera pequeña con una capa (que representa la NP con el agente estabilizante) y otra esfera de otro tamaño (que representa la esfera dieléctrica). El programa permite variar el grosor de la capa de la esfera pequeña y la separación entre las esferas. Teniendo las posiciones de los dipolos puntuales, coordenadas (x,y,z) , se procede a generar el archivo shape.dat. El índice de refracción del SiO_2 se asumió independiente de la frecuencia en el intervalo del visible, igual a 1.46.

Capítulo 3

Resultados y su discusión

Inicialmente, en este capítulo, se presentan y se discuten los resultados de la caracterización de las esferas de SiO_2 , las NPs de Au y de NPs de Ag, además de las películas compositas de SiO_2 -Au y SiO_2 -Ag. Posteriormente se detalla la determinación del SERS-EF de la T4 y glucosa en todos los sustratos SERS. Se presentan los resultados obtenidos por DDA para la determinación teórica del SERS-EF de SiO_2 , las NPs de Au y Ag aisladas. Se concluye con los estudios de SERS-EF de las películas compositas de SiO_2 -Au y SiO_2 -Ag, considerando diferentes arreglos.

3.1 Resultados de la parte experimental

3.1.1 Morfología y superficie de las esferas de SiO_2 .

En la Figura 3-1a) se presenta la imagen TEM de las esferas de SiO_2 , se observa que tienen una morfología esférica y son porosas, por lo tanto, son amorfas. En la Figura 3-1 b) se ilustra la estructura de un poro. Los poros se producen cuando algunas cadenas periódicas de Si-O no se forman durante la reacción de polimerización, además, se ha reportado que presentan grupos OH en la superficie [57].

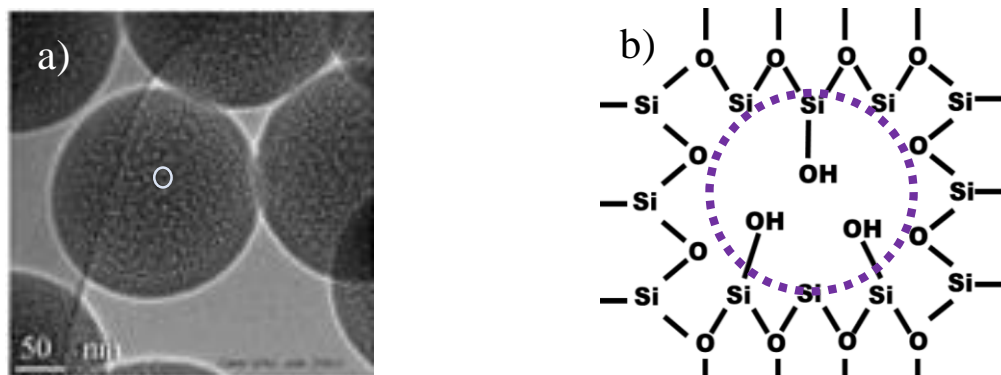


Figura 3-1. a) Imagen por TEM de las esferas de SiO_2 donde es posible observar su estructura porosa [57]. b) Esquema de la estructura de un poro, donde el círculo punteado representa el poro, se presentan grupos OH en la superficie o pared del poro.

En la Figura 3-2 a) se muestra una micrografía por AFM de las esferas de SiO_2 . La imagen se obtuvo empleando un equipo de la marca Bruker, modelo Dimension Edge, utilizando la técnica de contacto directo. Se observa que tienen morfología esférica, además,

una gran cantidad de éstas se encuentra cubriendo el sustrato de vidrio. La característica principal es que presentan un orden de corto alcance formando matrices hexagonales y multicapas. Se realizó un análisis estadístico de 250 esferas a lo largo de la película obteniendo una distribución de tamaño de 289 nm de diámetro con una desviación estándar de ± 55 nm, ver Figura 3-2 b).

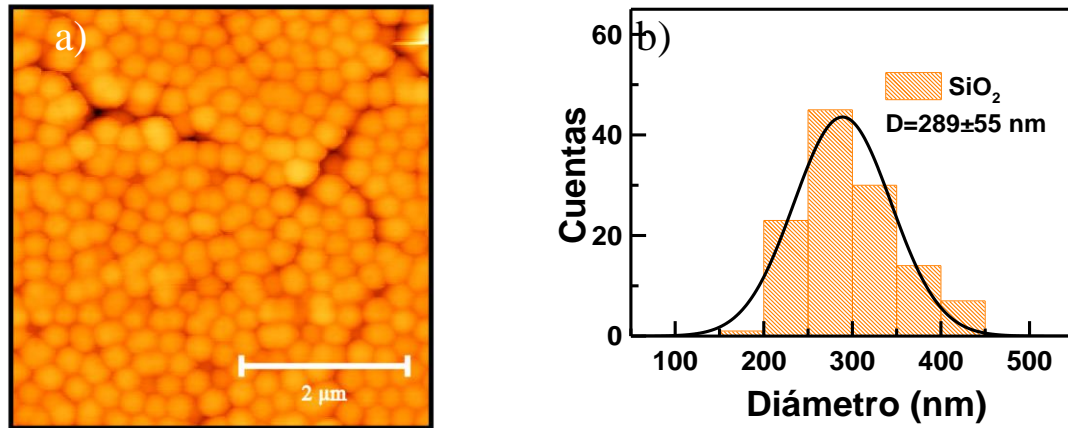


Figura 3-2. a) Imagen por AFM de las esferas de SiO₂ depositadas sobre sustrato de silicio cristalino donde se observa su arreglo tridimensional y b) su histograma de distribución de tamaños.

El espectro de absorbancia de las esferas de SiO₂ en solución coloidal utilizando un espectrofotómetro Cary 5000 UV-Vis-NIR, se muestra en la Figura 3-3. Se observa un borde de absorción en la región entre 290 y 300 nm.

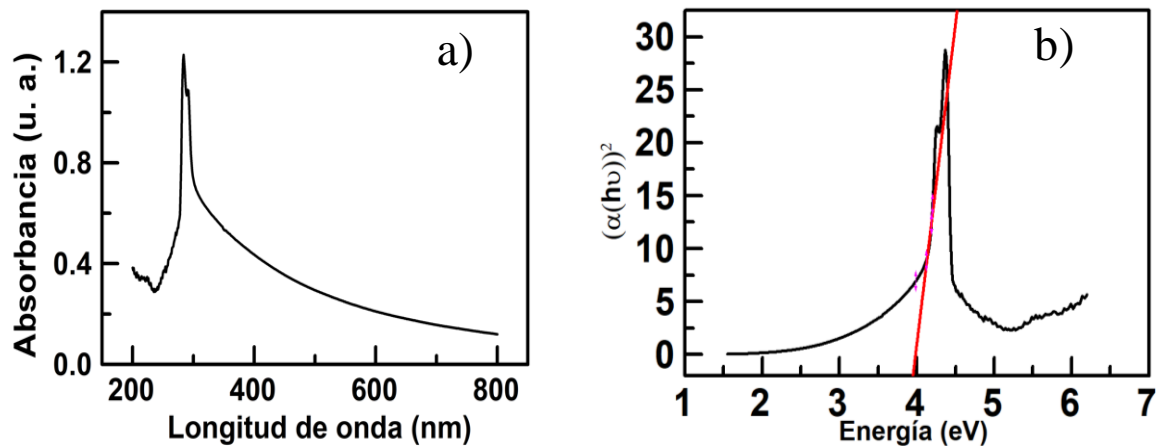


Figura 3-3. Espectro de absorbancia de las esferas de SiO₂ en solución en a) solución coloidal y b) espectro determinado de $\alpha(h\nu)^2$ vs energía de las esferas de SiO₂.

A partir del espectro, se determinó la energía de banda prohibida (E_g) utilizando el método de Tauc [58,59]. Para determinar la E_g del compuesto se utilizó la siguiente ecuación:

$$\alpha h\nu = A(h\nu - E_g)^{r/2}, \quad (3.1)$$

$$A = \frac{q^2 (2m)^{3/2}}{nch^2m}, \quad (3.2)$$

donde α es el coeficiente de absorción, A es una constante, $h\nu$ es la energía de la luz incidente, E_g es la energía de banda prohibida, q es la carga del electrón, n el índice de refracción, m la masa del electrón, h la constante de Planck y r es un valor que depende del tipo de transición; $m = 1$ para una transición directa y $m = 4$ para una transición indirecta.

El SiO_2 amorfo en bulto presenta una estructura de bandas directa [59], por lo que $m=1$, sustituyendo este valor en la ecuación se tiene que α^2 es directamente proporcional a $(h\nu - E_g)$. Entonces cuando $\alpha^2 = 0$, $h\nu = E_g$.

En la práctica, se procede a seleccionar una zona que presente un incremento intenso en la absorción. Posteriormente se realiza la regresión lineal en esa zona, conociendo el valor de la ordenada al origen de la recta y la pendiente podemos conocer E_g , como se observa en la Figura 3-3 b).

En un material cristalino en bulto, el potencial periódico de la red directa determina el ancho de banda prohibida, E_g , [41]. Cuando hay presencia de poros en el material, éstos “rompen” la periodicidad del cristal, además, también producen un confinamiento cuántico de los electrones (principalmente en el plano transversal a los poros) y por ende el valor del E_g se ve modificado respecto de aquel del material cristalino. Existe evidencia de que la porosidad tiene un efecto sobre el E_g , lo anterior se ha deducido a partir de espectros de absorbancia. Como ejemplo, podemos mencionar al silicio, cuyo E_g sufre un corrimiento hacia el azul a mayor porosidad [60]. M. Cruz y colaboradores modelaron la estructura de bandas del silicio cristalino y poroso, tomando en cuenta distribución, forma y tamaño de poro. Resolvieron el hamiltoniano para determinar el comportamiento electrónico en un material poroso y encontraron que la producción de un poro ensancha el E_g [61]. A partir de estudiar las propiedades electrónicas del silicio poroso, los resultados de Cruz y colegas aportaron conocimiento en el entendimiento de las propiedades ópticas, en particular de la

luminiscencia en el espectro del visible. Así, queda evidente la relación entre las propiedades electrónicas y ópticas de los materiales porosos.

También se ha reportado que la reflectancia del silicio en bulto disminuye a medida que su porosidad aumenta [62]. Para determinar la respuesta óptica de un material cuya función dieléctrica o índice de refracción varía espacialmente, se suele emplear la Aproximación de Medio Efectivo. Esta aproximación se puede emplear en el caso de un material poroso cuando la longitud de onda del campo electromagnético incidente es menor que las dimensiones características de los poros, Consiste en tratar al material macroscópicamente inhomogeneo como un material homogéneo con una función dieléctrica o índice de refracción efectivo. En particular, el llamado modelo de Bruggeman, ha sido ampliamente usado para estudiar sistemas porosos, el modelo asigna un índice de refracción efectivo en función de la fracción de volumen de los poros, la fracción de volumen del material en bulto, del índice de refracción del material en bulto o matriz y del material que llena a los poros (puede ser líquido o gas). El modelo de Bruggeman, ha servido como herramienta para determinar la relación entre el índice de refracción efectivo y la porosidad de muestras de silicio y dióxido de silicio, encontrando que a medida que aumenta la porosidad el índice de refracción disminuye [63].

Por la pandemia covid 2019 no fue posible realizar en tiempo experimentos para determinar el índice de refracción efectivo de las esferas de SiO_2 . Sin embargo, para poder continuar con simulaciones numéricas necesarias para el entendimiento de la respuesta óptica de los materiales de interés, se usó la consideración de que el índice de refracción del material poroso es menor que el del material matriz (en nuestro caso SiO_2 cristalino, $n=1.46$) y mayor que el del aire ($n \cong 1$). Por lo anterior, se realizaron cálculos con índice de refracción efectivo entre 1.46 y 1.1. Es interesante mencionar que se han reportado películas de SiO_2 ultraporosas con un índice de refracción de 1.09 [64].

Siguiendo el método descrito en el párrafo anterior, encontramos el valor de $E_g=3.98$ eV en la transición de banda directa. Este valor de E_g se ha reportado antes en nano esferas de SiO_2 amorfo poroso [57,65]. Por lo que, el E_g encontrado lo relacionamos con la porosidad de las esferas, como lo evidencian las micrografías por TEM. El valor determinado de E_g es menor que el reportado para el SiO_2 cristalino en bulto (cuarzo) que es de aproximadamente 9 eV [66].

Se realizaron mediciones del potencial zeta con el fin de conocer la carga superficial de las esferas, además de determinar su estabilidad en la solución coloidal. El equipo utilizado fue un Malvern Zetasizer modelo Nano-ZS 90. En la Figura 3-4 se muestra la gráfica del potencial zeta de las esferas de SiO_2 , el potencial es negativo (-44.1 mV), lo que indica que tiene una carga superficial negativa, la cual la asociamos a la presencia de los grupos OH en la superficie de los poros. Dado que el valor es mayor a ± 30 mV, podemos afirmar que la solución coloidal de esferas de SiO_2 es estable [67]. La carga superficial obtenida nos ayudaría a determinar con qué especies podría interactuar, como podría ser metales o surfactantes, entre otros.

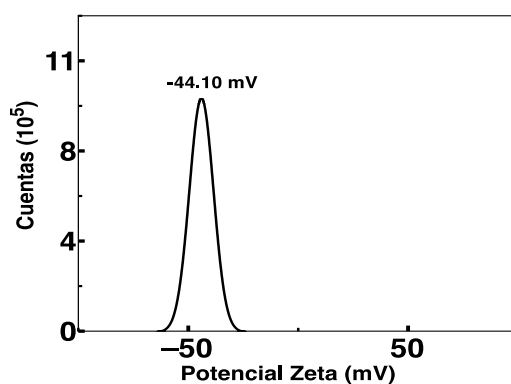


Figura 3-4. Gráfica del potencial zeta de la solución de esferas de SiO_2 .

3.1.2 NPs de Au sintetizadas y su caracterización

En el capítulo 2 se describió la técnica de síntesis de las NPs de Au basada en el método propuesto por Damato y colaboradores [54]. En las diferentes etapas del crecimiento de las NPs de Au se observó un cambio de coloración de un lila muy claro a uno más fuerte, ver Figura 3-5. Estos cambios de coloración se han reportado en la literatura y están relacionados con el tamaño y morfología de las NPs de Au [68].



Figura 3-5. Fotografía de las soluciones coloidales de Au en agua desionizada en sus diferentes etapas de crecimiento.

Se obtuvieron alícuotas entre cada crecimiento, las cuales se caracterizaron por espectroscopia UV-Vis. En la Figura 3-6 se muestran los espectros de absorbancia de las NPs de Au en sus diferentes etapas de crecimiento.

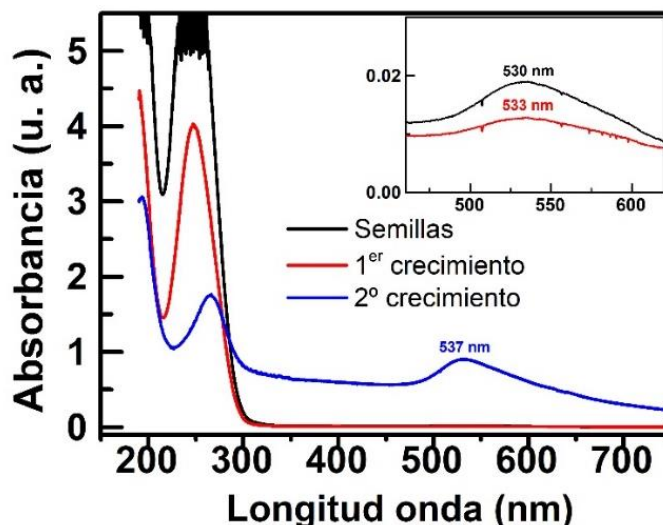


Figura 3-6. Espectros de absorbancia de las soluciones acuosas de NPs de Au en sus diferentes etapas de síntesis, utilizando una celda de 1 cm de grosor. El espectro del 2º crecimiento está aumentado por 15.

El espectro de color negro corresponde a la solución de semillas, mientras que el espectro de color rojo y azul corresponden al primer y segundo crecimiento, respectivamente.

La banda observada entre 500 y 550 nm (ver recuadro de la Figura 3-6) está asociada con plasmones de superficie de las NPs de Au [9] y ésta se desplaza hacia longitudes de onda mayores a medida que las NPs de Au aumentan de tamaño. En la solución de semillas, el máximo de la banda que corresponde a los plasmones de superficie se encuentra en $\lambda=530$ nm, en las siguientes etapas de crecimiento en $\lambda=537$ nm. También se observa una banda intensa situada en $\lambda=265$ nm. Para conocer a qué se deben estas bandas, se obtuvieron los espectros de absorbancia del ácido ascórbico-L (pKa 4 a 11 dependiendo de la disociación de los cuatro hidrógenos) y de la PVP, los cuales se muestran en la Figura 3-7.

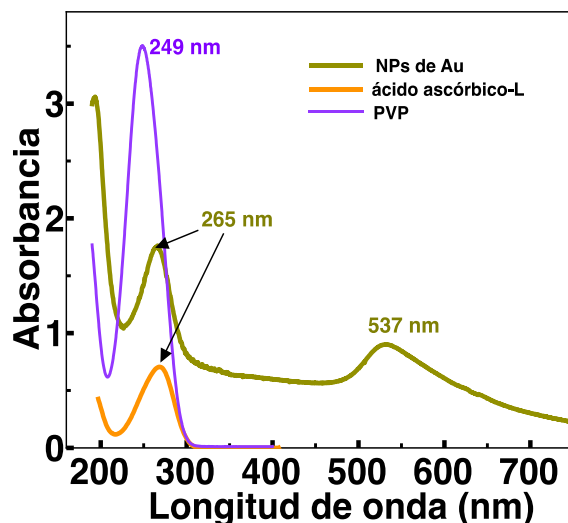


Figura 3-7. Espectros de absorción de la solución coloidal de las NPs de Au, ácido ascórbico-L y de la PVP.

El máximo del espectro del ácido ascórbico-L coincide con la banda de 265 nm del espectro de las NPs de Au. La banda correspondiente a la PVP está ubicada en 249 nm, por lo que probablemente el ácido ascórbico-L se encuentra enlazado en la superficie de las NPs de Au. Al parecer, a pesar de los procesos de lavado no se logró eliminarlo y se encuentra funcionalizando a las NPs de Au. Para corroborar lo anterior, se realizaron mediciones de potencial zeta, las cuales se muestran en la Figura 3-8 b).

Se determinó el diámetro hidrodinámico por DLS, con el fin de determinar el tamaño de las NPs considerando que son esféricas y dispersas, ver Figura 3-8 a). Se observa en la distribución de tamaño un pico en 110 nm y otro, menos definido y ancho, con un máximo en 23 nm. El pico ubicado en 110 nm se desplaza ligeramente hacia un valor mayor de 134 nm a medida que aumenta el tamaño de la NP en las etapas de crecimiento.

El potencial zeta se obtuvo con el fin de conocer la carga de superficie coloidal para verificar su estabilidad en solución en las diferentes etapas de crecimiento de las NPs de Au se muestra en la Figura 3-8 b). Se observa que, conforme crece la NP de Au su carga superficial se incrementa negativamente hasta alcanzar un valor de -29.51 mV. Este resultado confirma que al ser funcionalizadas con ácido ascórbico-L las NPs de Au en solución.

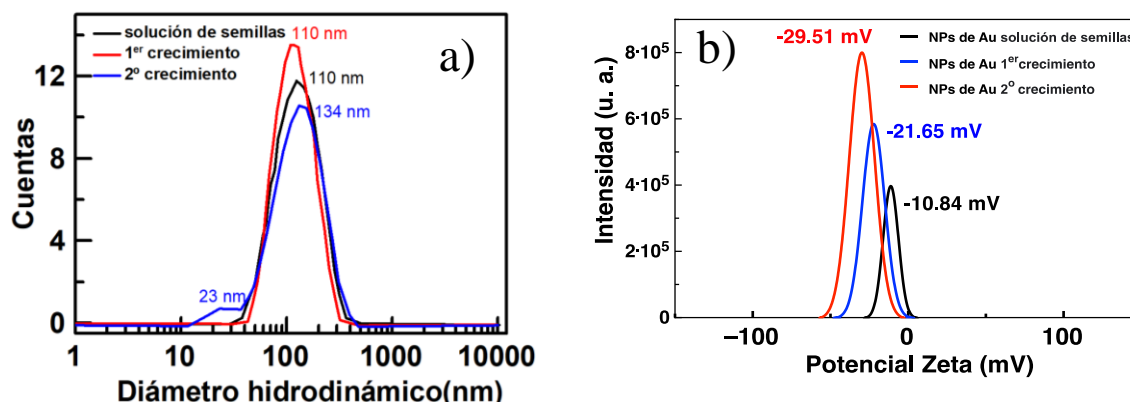
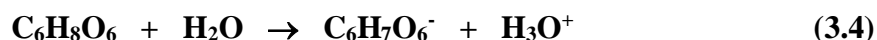
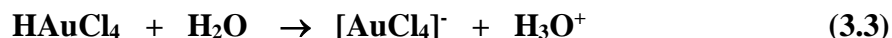


Figura 3-8. a) Diámetro hidrodinámico y b) potencial zeta de las soluciones de NPs de Au en sus diferentes etapas de síntesis.

A continuación, se da una explicación para la carga negativa del la NP. La reducción del Au^{+3} del ácido cloroáurico (HAuCl_4) y la funcionalización de la NP de Au ha sido estudiada en [69]. El mecanismo se lleva a cabo inicialmente por la disociación del HAuCl_4 y del ácido ascórbico, ver reacciones (3.3) y (3.4).



Posteriormente se lleva a cabo la interacción entre el ion cloroaurato con el ion ascorbato para la formación de Au metálico coordinado con el ion ascorbato de acuerdo con el siguiente mecanismo:

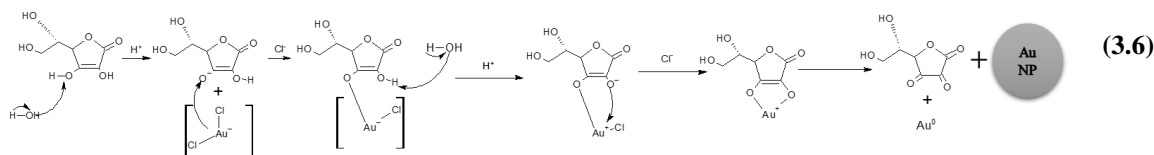
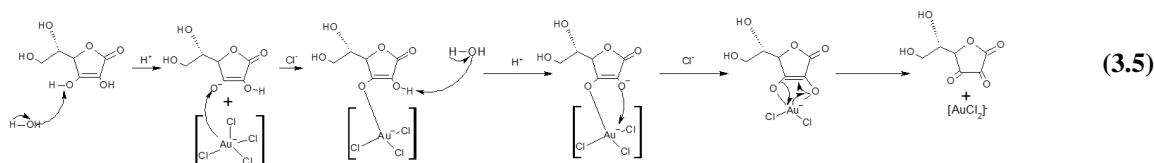


Figura 3-9. Mecanismos de reacción para la formación de NPs de Au cuando se reduce el ion Au^{+3} con ácido ascórbico-L [69].

Al final, las NPs de Au quedan funcionalizadas con el ácido ascórbico, como se ilustra en la Figura 3-10.

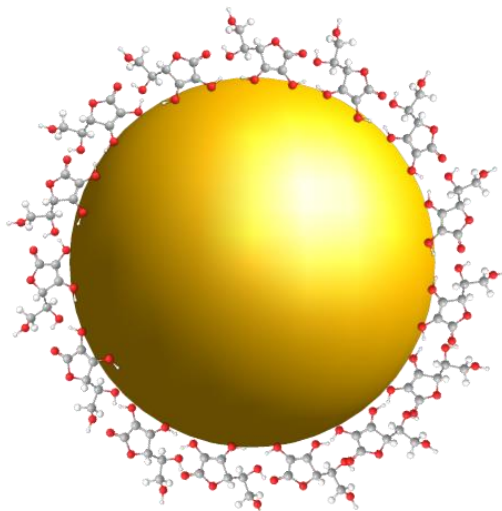
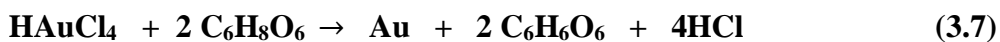


Figura 3-10. Esquema de la NP de Au funcionalizada con el ácido ascórbico.

La reacción completa de la reducción del ión Au^{+3} es la siguiente:



En la Figura 3-11 se muestran las imágenes SEM de las NPs de Au a 15,000X y 50,000X. La muestra se obtuvo al depositar 100 μl de la solución de NPs de Au de 5 mM sobre una oblea de silicio cristalino. Se observa que las NPs de Au son esféricas y con un tamaño promedio de 53 nm de diámetro con una desviación estándar de ± 15 nm como lo muestra la curva de distribución de tamaño, esta última se aprecia en el inserto de la Figura 3-11 a). La gráfica de distribución tamaños fue determinada con el muestreo de 150 NPs. La discrepancia entre los resultados de los tamaños de partículas obtenidos por DLS y SEM la atribuimos a la presencia de agregados de NPs de Au en la solución acuosa.

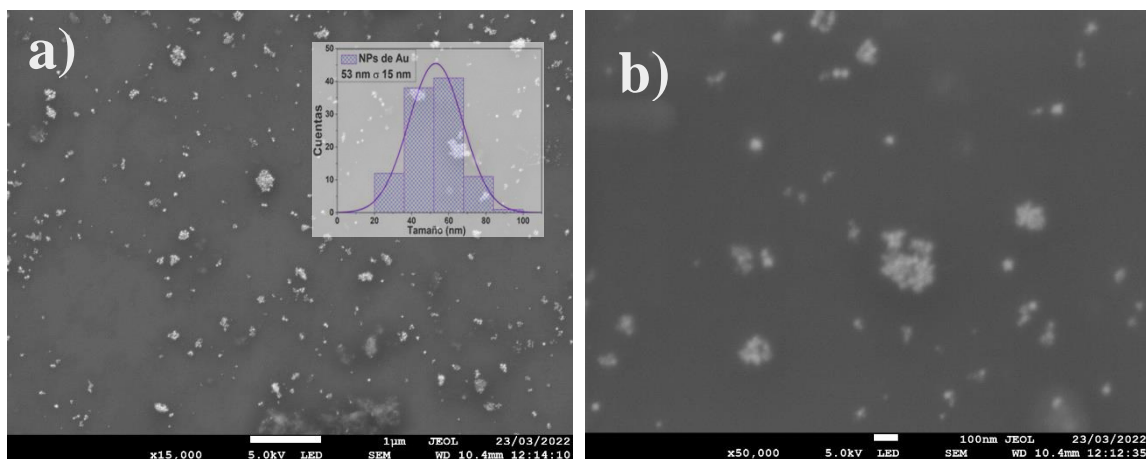


Figura 3-11. Imágenes SEM de las NPs de Au a 15,000X y a 50,000X. En el inserto se muestra el histograma de distribución de tamaños.

3.1.3 NPs de Ag sintetizadas y su caracterización

Al igual que las NPs de Au, se observó un cambio de coloración a medida que se forman las NPs, pasando de amarillo claro a un amarillo fuerte de la solución (Figura 3-12). Estos cambios de coloración están relacionados con el tamaño y morfología de las NPs de Ag [56].

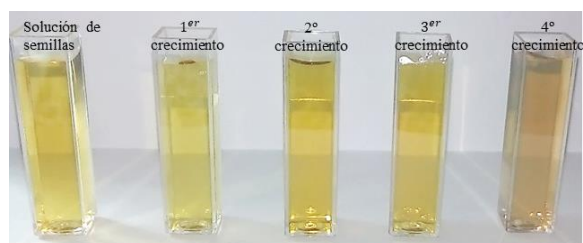


Figura 3-12. Fotografía de las soluciones coloidales de las NPs de Ag en sus diferentes etapas de crecimiento.

La Figura 3-13 muestra las imágenes SEM de las NPs de Ag a 15,000X y 50,000X depositadas sobre una oblea de silicio cristalino. En éstas se observa que su morfología es cuasi esférica, con un tamaño promedio de 46 nm de diámetro con una desviación estándar de ± 9 nm. La estadística se obtuvo de un muestreo de 150 NPs. En la Fig. 3-13b se observan cúmulos de estas NPs.

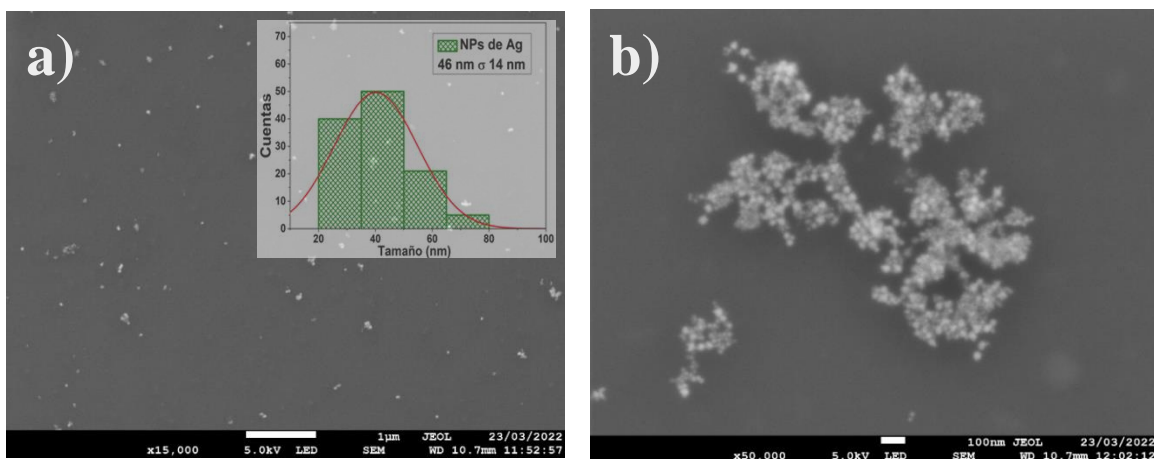


Figura 3-13. Imagen SEM de las NPs de Ag a a) 15,000X y b) 50,000X. En el inserto se muestra el histograma de distribución de tamaños.

Los espectros de absorción de las soluciones de NPs de Ag en sus diferentes etapas de crecimiento se muestran en la Figura 3-14. En los espectros se observan dos bandas de absorción cuyos máximos se encuentran bien identificados en $\lambda=214$ nm y 277 nm, una tercera banda tiene una posición diferente para cada etapa de crecimiento, localizada entre $\lambda=403$ nm y 421 nm.

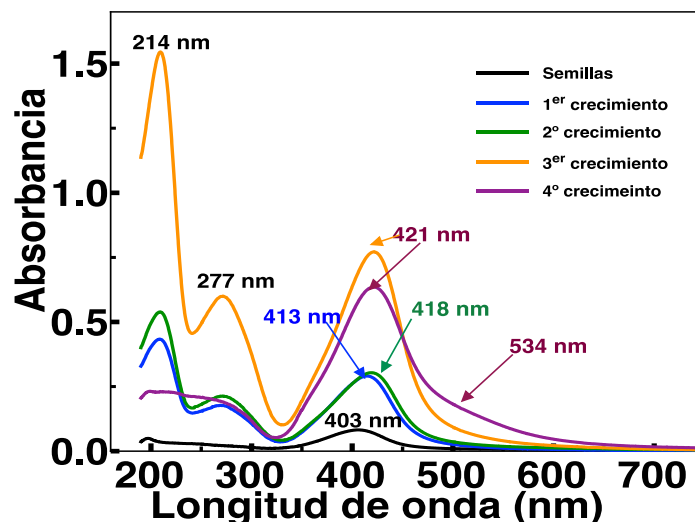


Figura 3-14. Espectros de absorción de las soluciones de NPs de Ag en las diferentes etapas de crecimiento.

Al comparar el espectro de las NPs de Ag (del último crecimiento) con el del ácido tánico ($pK_a=6$ a 10 dependiendo de la disociación de los hidrógenos) y del citrato de sodio ($pK_a=3.05$) en solución acuosa, concluimos que las bandas ubicadas en $\lambda=214$ y 277 nm se asocian al ácido tánico, ver la Figura 3-15. Por lo que las NPs de Au pueden estar funcionalizadas con éste. Un esquema propuesto se presenta en la Figura 3-16.

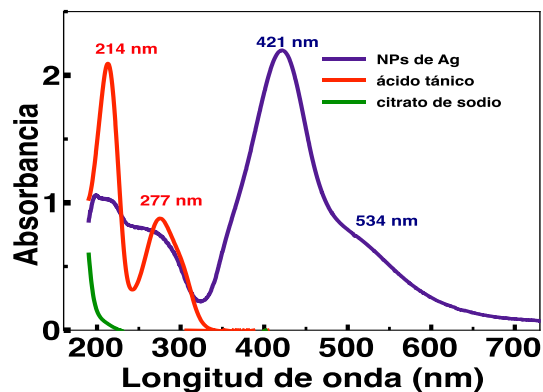


Figura 3-15. Espectros de absorción de las NPs de Ag, ácido tánico y del citrato de sodio.

Por otro lado, la banda de la solución semilla situada en 403 nm está asociada al plasmon de superficie de las NPs de Ag [53]. Esta banda se desplaza hasta $\lambda=421$ nm a medida que aumenta el tamaño de la NP. En el cuarto crecimiento se observa un hombro con un máximo en 534 nm, más adelante mostraremos que corresponde a la presencia de NPs de 100 nm.

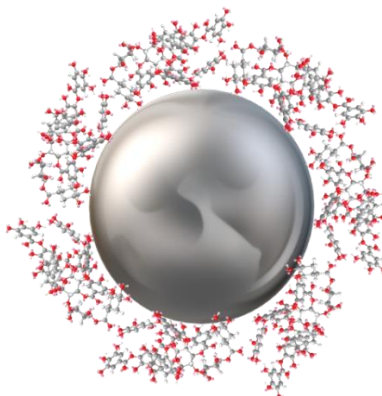


Figura 3-16. Ilustración de la NP de Ag funcionalizada con el ácido ascórbico.

En la Figura 3-17 a) y b) se muestran las curvas de distribución del diámetro hidrodinámico de las NPs de Ag y su potencial zeta en sus diferentes etapas de crecimiento. En el cuadro a) se observa que las soluciones de semillas de las NPs de Ag presentan dos curvas de distribución de tamaños, una aproximadamente de 4 nm de diámetro y otra aproximadamente en 30 nm. Los picos de las curvas de distribución se desplazan hacia tamaños mayores en las diferentes etapas de crecimiento. En la última etapa de crecimiento los máximos de la curva de distribución de tamaño se encuentran en 8 nm y 80 nm de diámetro aproximadamente.

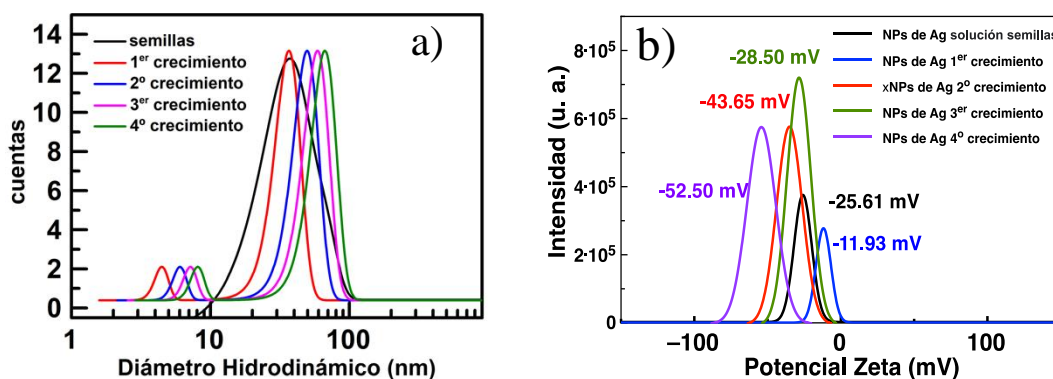


Figura 3-17. Gráficas de las curvas de distribución de a) diámetro hidrodinámico y b) potencial zeta de las soluciones de NPs de Ag en sus diferentes etapas de síntesis.

Se observa que la carga superficial de las NPs de Ag es diferente en cada etapa; en el caso de la solución semilla tiene una carga de -28.5 mV, mientras que, en la etapa final de crecimiento, presentan un valor máximo de -52.50 mV: Este resultado indica que la solución coloidal es estable, además las NPs de Ag presentan una carga superficial negativa consecuencia de la capa de ácido tánico. El mecanismo de reducción del ion Ag^+ y estabilización de la NP de Ag se puede revisar en la referencia [70], donde se propone que la quinona se forma como intermediario y la carga negativa es debida a los grupos OH unidos al benceno de la quinona, como se muestra en la siguiente reacción:

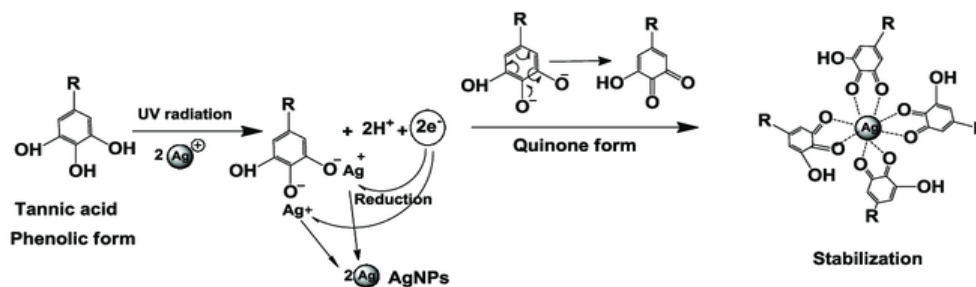


Figura 3-18. Mecanismo de reducción del ion Ag^+ y estabilización de las NPs de Ag mediante el ácido tánico [70].

3.1.4 Estructura de las películas compuestas de SiO_2 -Au y SiO_2 -Ag.

En las Figuras 3-19 y 3-20 se muestran las micrográficas por AFM y SEM de las películas compuestas de SiO_2 -Au y de SiO_2 -Ag. En los dos tipos de compuesto, mediante AFM se observa que en algunas regiones las esferas de SiO_2 tienden a formar un empaquetamiento hexagonal, pero de muy corto alcance. Las NPs de Au y Ag se encuentran en los intersticios ya sea de manera individual o en cúmulos de 3 o 4 NPs. También estas NPs pueden estar adsorbidas individualmente sobre la esfera de SiO_2 como se muestra en las imágenes de SEM.

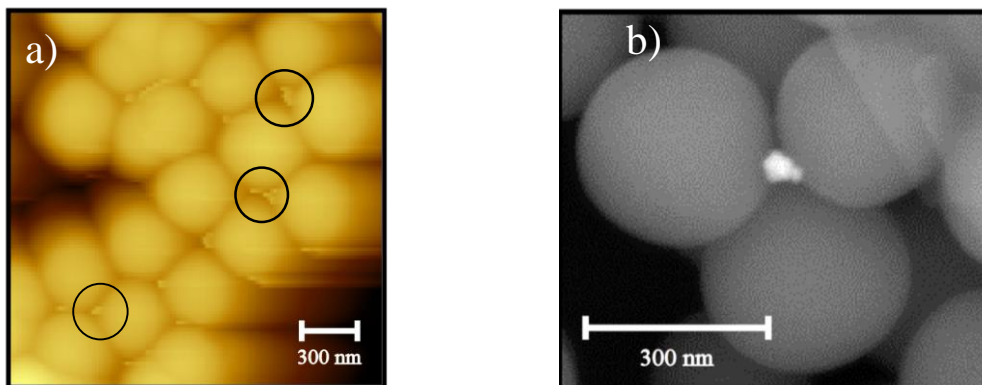


Figura 3-19. a) Imagen por AFM y b) por SEM de un arreglo de esferas de SiO_2 con NPs de Au situadas en los intersticios.

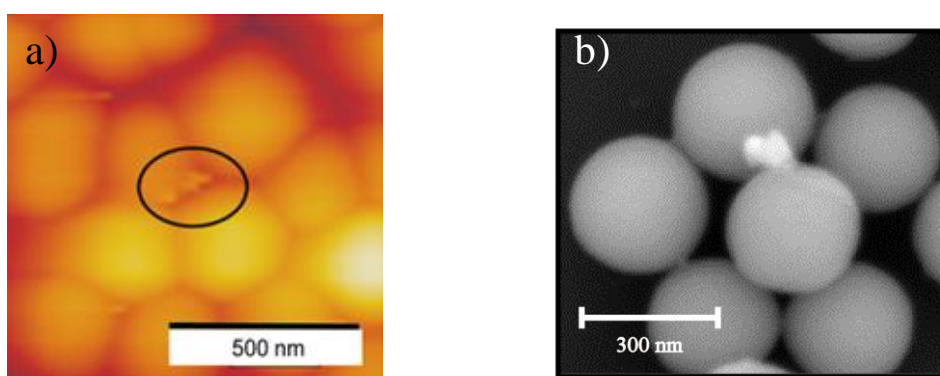


Figura 3-20. a) Imagen AFM y b) SEM de las esferas de SiO_2 -Ag

3.1.5 SERS-EF de los sustratos de las NPs metálicas y los compósitos.

Para estudiar el comportamiento de las diferentes muestras como sustratos SERS para la detección de glucosa y tiroxina, primero se obtuvieron los espectros UV-Vis y Raman de estos compuestos orgánicos. A continuación, se presentan los resultados.

3.1.5.1 Señales Raman y N_{Raman} de la Tiroxina

La tiroxina (T4, L-3,3',5,5'-tetraiodotironina) es un compuesto orgánico que presenta 4 átomos de yodo, dos anillos bencénicos, y grupos funcionales hidroxilo, amino y un ácido carboxílico, como se muestra en la estructura tridimensional y bidimensional de la Figura 3-21.

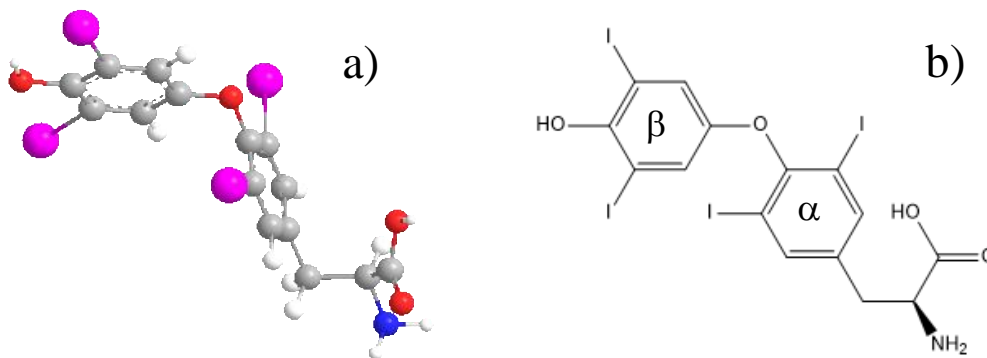


Figura 3-21. Estructura química de la Tiroxina. a) tridimensional y b) bidimensional. Las esferas rosas son los átomos de yodo, las rojas de oxígenos, azul nitrógenos, grises carbono y blancas hidrógenos.

En la Figura 3-22 se muestra el espectro Raman en polvo de la tiroxina obtenida del frasco reactivo. En el espectro se observan diversas bandas, las más intensas se presentan en 216 y 1044 cm^{-1} .

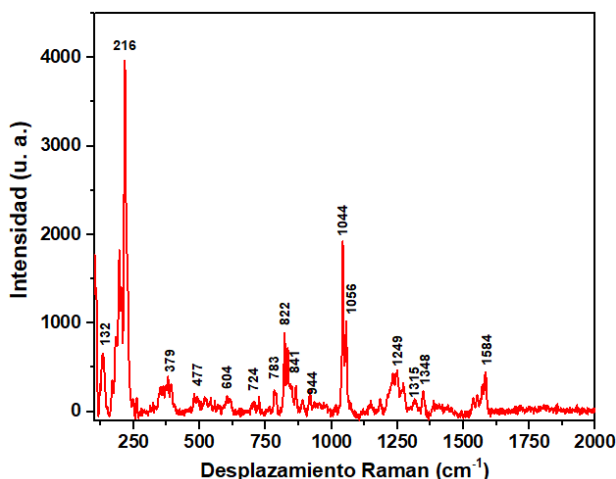


Figura 3-22. Espectro Raman de la T4 (en polvo) del frasco reactivo.

La asignación de los modos vibracionales de la molécula de tiroxina se ha propuesto por intervalos de números de onda, así, las bandas ubicadas en la región de 100 a 190 cm^{-1} son originadas al $\gamma(\text{I-C-C-C})$ [71]. Mientras que las bandas observadas de 200 a 300 cm^{-1} son ocasionadas por las vibraciones $\beta(\text{C-C-I})$ [71, 72], mientras que las bandas que están ubicadas en la región de 300-700 cm^{-1} son contribuciones de $\nu(\text{C-I})$ y $\beta(\text{C-C-N})$ [72]. Las bandas observadas en 700 a 950 cm^{-1} son consecuencia de vibraciones de $\gamma(\text{O-C-C-C})$, $\beta(\text{C-C-C})$, $\nu(\text{C-C})$, $\delta(\text{C-H})$ y $\tau(\text{H-C-C-C})$ [72,73]. Las bandas 1044 cm^{-1} y 1056 cm^{-1} son provocadas por contribuciones de $\nu(\text{C-O})$ y $\beta(\text{C-N})$, mientras que las bandas de 1100 a 1250 cm^{-1} son

contribuciones de $\beta(\text{H-C-C})$, $\beta(\text{H-N-C})$ y $\nu(\text{C-O})$ [71-73]. Por último, las bandas que están situadas en la región de 1250 a 1600 cm^{-1} son causadas por las vibraciones $\nu(\text{C-O})$ y $\nu(\text{C=C})$ [71]. Los caracteres δ , ν , γ y τ corresponden a los modos vibracionales de deformación; alargamiento simétrico, alargamientos asimétricos y torsión de los enlaces, mientras que α y β corresponden a los anillos de benceno indicados en la Figura 3-21.

Los espectros Raman de la tiroxina seca obtenidas a partir de las soluciones a concentraciones de 0.01 , 0.05 , 0.10 , 0.30 y 1.00 mM , sobre obleas de Si se muestran en la Figura 3-23. En todos los espectros se observan dos bandas; una muy intensa ubicada en 521 cm^{-1} y otra banda de baja intensidad en 941 cm^{-1} . Como la tiroxina se depositó sobre las obleas de Si, estas bandas corresponden a las del silicio cristalino (ver inserto de la Figura 3-23 a). La Figura 3-23 b) muestra una escala menor en el eje Y, de los espectros Raman de la tiroxina, en la cual se observa que, a estas concentraciones no se presenta ninguna banda Raman de la molécula T4.

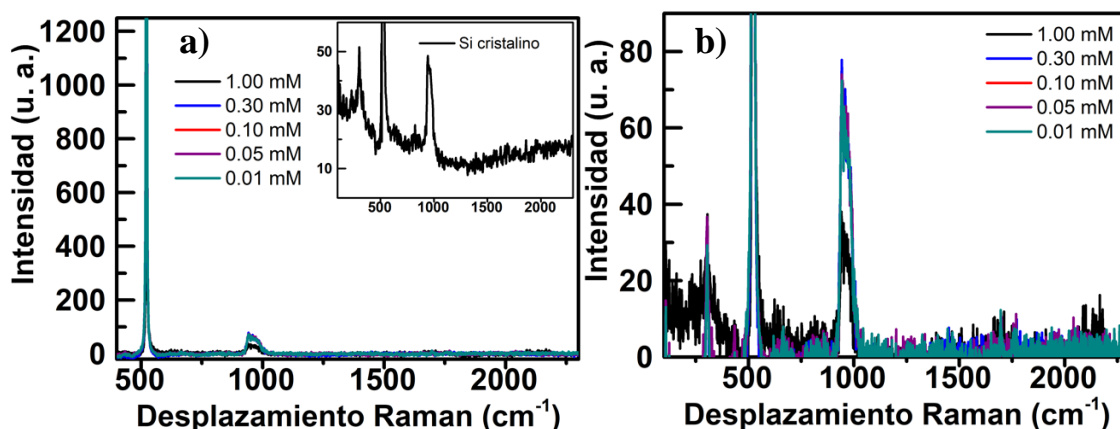


Figura 3-23. a) Espectros Raman de las soluciones estándar de la T4 a diferentes concentraciones depositadas sobre una oblea de Si cristalino. En el inserto se presenta el espectro Raman de la oblea de silicio cristalino. b) Espectro Raman ampliado de la T4 a diferentes concentraciones.

Por otro lado, los espectros de Raman de la tiroxina a diferentes concentraciones usando como sustrato SERS las NPs de Au se muestran en la Figura 3-24. En los espectros se observan dos bandas muy intensas que corresponden a la oblea de Si. También se observan bandas poco intensas debidas a la tiroxina, de las cuales sobresalen las bandas que se encuentran en la región de 1000 a 1100 cm^{-1} y que son debidas a las vibraciones de elongación del enlace C-O del grupo carbonilo y al enlace C-N. Estas bandas aumentan en

intensidad a medida que aumenta la concentración de tiroxina, como se observa en el espectro de la Figura 3.24 b). Estos resultados son debido a que los grupos $-NH_2$ y el oxígeno de los grupos $-OH$ del grupo carboxilo de la tiroxina interaccionan, mediante enlaces de puente hidrógeno, con los grupos $-OH$ del ácido ascórbico que se encuentra en la superficie de la NP de Au (reacción 3.6), quedando la molécula de tiroxina adsorbida sobre la superficie de la NP de Au de forma vertical, como se ilustra en la Figura 3-25.

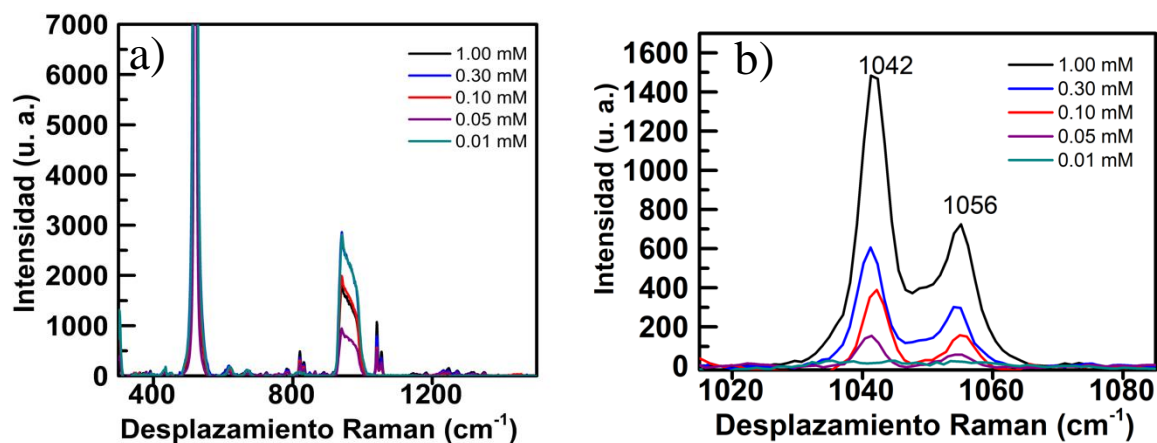


Figura 3-24. a) Espectros Raman de la Tiroxina a diferentes concentraciones, usando el sustrato SERS de NPs de Au. y b) con acercamiento a la banda 1042 cm⁻¹.

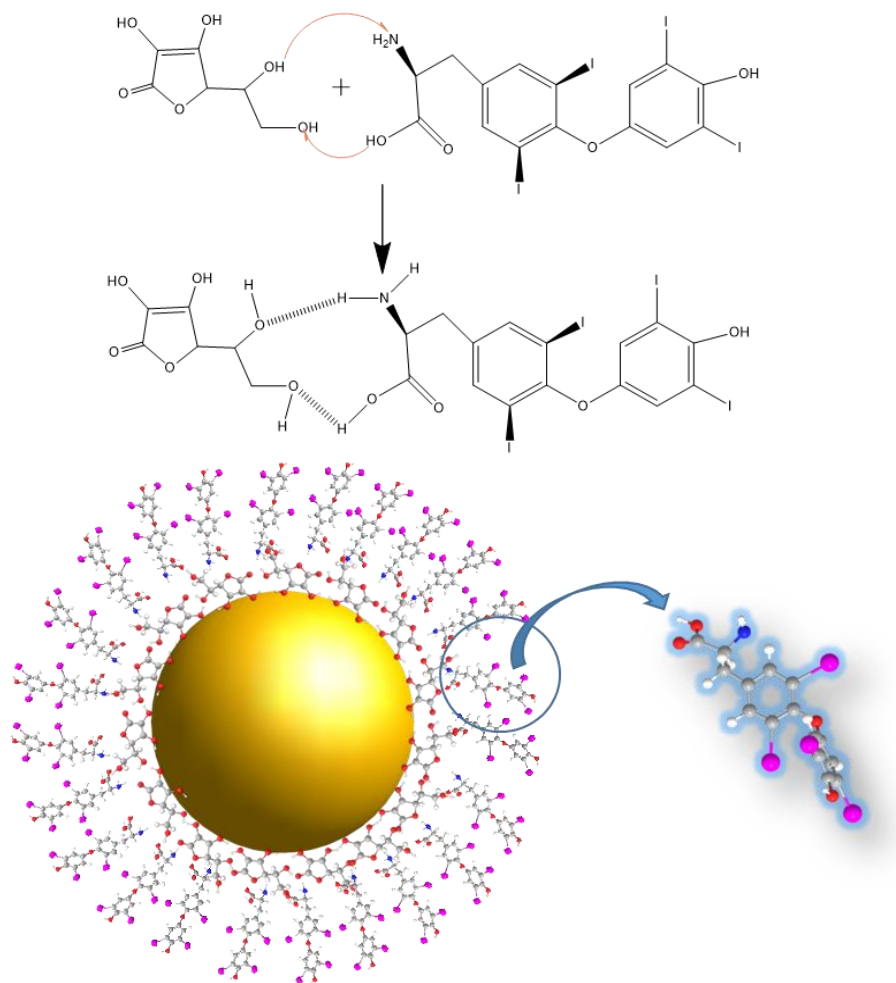


Figura 3-25. Esquema de las moléculas de T4 adsorbidas sobre la superficie de la NP de Au.

Al comparar los espectros Raman de la tiroxina con y sin la presencia de las NPs de Au, se observó un realce en la intensidad de las bandas Raman de la tiroxina debido a la interacción del compuesto orgánico con la NP metálica. El tipo de interacción es de tipo físico (fisisorción) y no químico (quimisorción) debido a que no se observaron bandas adicionales o desaparición de éstas en los espectros Raman.

Basándose en el pico más intenso localizado en 1042 cm^{-1} y utilizando la ecuación (3.8) [28]; se estimó el SERS-EF para la tiroxina a las diferentes concentraciones y utilizando las NPs de Au como sustrato SERS.

$$EF = \frac{I_{SERS}/N_{SERS}}{I_{RAMAN}/N_{RAMAN}} \quad (3.8)$$

donde I_{SERS} e I_{Raman} son las intensidades SERS y Raman de la tiroxina respectivamente. N_{Raman} y N_{SERS} corresponden al número de moléculas de tiroxina excitadas por el haz del láser.

Para la determinación de N_{Raman} de la T4 se consideró lo siguiente:

- 1) El volumen de la solución de T4 (50 μL) cubrió toda la superficie de la oblea de silicio (1 cm^2).
- 2) La película de tiroxina es homogénea y puede formar multicapas,
- 3) Las moléculas de T4 se encuentran adsorbidas verticalmente sobre la superficie de la oblea de silicio, y
- 4) Las moléculas de T4 que son excitadas son las que se encuentran en el área del spot del láser.

Para una concentración de 1.00 mM de T4, el número de moléculas de T4 contenidas en 50 μL es de 3.01×10^{16} . Por otro lado, se utilizó el software ChemDraw ultra 12.0 para determinar el área y volumen que ocupa una molécula de T4. La determinación se hizo considerando una geometría de prisma rectangular con dimensiones de $8.37 \text{ \AA} \times 80.6 \text{ \AA} \times 11.47 \text{ \AA}$, sobre la superficie de Si (Figura 3-26), cuya base de cada prisma tiene un valor de 0.675 nm^2 .

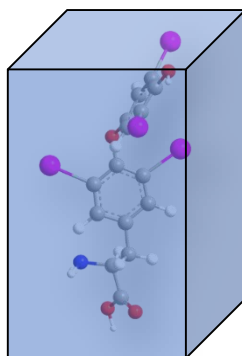


Figura 3-26. Imagen de la molécula de Tiroxina dentro de un prisma rectangular.

El área de la oblea es de 1 cm^2 ($1 \times 10^{14} \text{ nm}^2$) y considerando el área de la base de la molécula de Tiroxina se adsorbe verticalmente, la cantidad de moléculas que cubren la oblea es de 1.48×10^{14} moléculas. Este valor es menor al número total de moléculas de T4 que se adsorbieron, por lo que se consideró la formación de multicapas de moléculas de T4. Para calcular el número de capas se dividió el total de moléculas depositadas entre el total de moléculas que cubren la superficie de la oblea de Si. Además, el grosor de la capa se calculó multiplicando la altura de la molécula (1.15 nm) con el número de capas.

Teniendo en cuenta esto, se consideró el área del círculo del spot del láser, siendo ésta de $4 \text{ }\mu\text{m}$ de diámetro a una amplificación de 100X, por lo que el área del spot del láser es de $12.5 \text{ }\mu\text{m}^2$ ($12.5 \times 10^6 \text{ nm}^2$). Por consiguiente, el N_{Raman} se determinó utilizando la siguiente ecuación

$$N_{\text{Raman}} = \frac{(\text{moléculas totales de "Y" concentración})(\text{área del spot})}{\text{área de la oblea}} \times \text{Grosor de la T4} \quad (3.9)$$

Este procedimiento se realizó para todas las concentraciones de T4 y los resultados se muestran en la tabla 3.1

Tabla 3.1 Relación de la concentración de T4 con el total de moléculas depositadas sobre la oblea de Si, así como también el grosor de la película de T4 y su N_{Raman} .

Concentración de T4 (Mm)	No. de moléculas de T4	No. de capas de T4	Grosor de capa de T4 (Nm)	N_{Raman}
1.00	3.010×10^{16}	203	233.7	3.78×10^9
0.30	0.900×10^{16}	61	70.1	1.13×10^9
0.10	0.300×10^{16}	20	23.4	0.38×10^9
0.05	0.015×10^{16}	10	11.6	0.19×10^9
0.01	0.003×10^{16}	2	2.3	0.04×10^9

3.1.5.2 SERS-EF de la T4 con las NPs de Au.

Para el cálculo del SERS-EF, inicialmente se calculó el N_{SERS} de la T4. Para esto se consideró lo siguiente:

- 1) El volumen de la solución de T4 (50 μL) cubrió toda la superficie de la oblea de silicio (1 cm^2).
- 2) La película de tiroxina es homogénea y puede formar multicapas,
- 3) Las moléculas se encuentran adsorbidas verticalmente sobre la superficie de la oblea de silicio y de las NPs de Au.

- 4) Las moléculas de T4 que son excitadas son las que se encuentran en la superficie y cubren la mitad de la NP de Au y en el área del spot del láser.

A partir de varias imágenes SEM se determinó el número promedio de NPs de Au en el área del círculo del spot de láser (4 μm de diámetro). En la Figura 3-27 a) se muestra una imagen SEM representativa a 15,000X de las NPs de Au depositadas sobre la oblea de silicio. El círculo dibujado da una idea de la distribución de NPs bajo el spot del láser. El número promedio de NPs es de 150 NPs. La gráfica de la distribución de tamaño de las NPs se presenta en la Figura 3-27 b), el diámetro promedio es de 53 nm, con una desviación estándar de ± 15 nm.

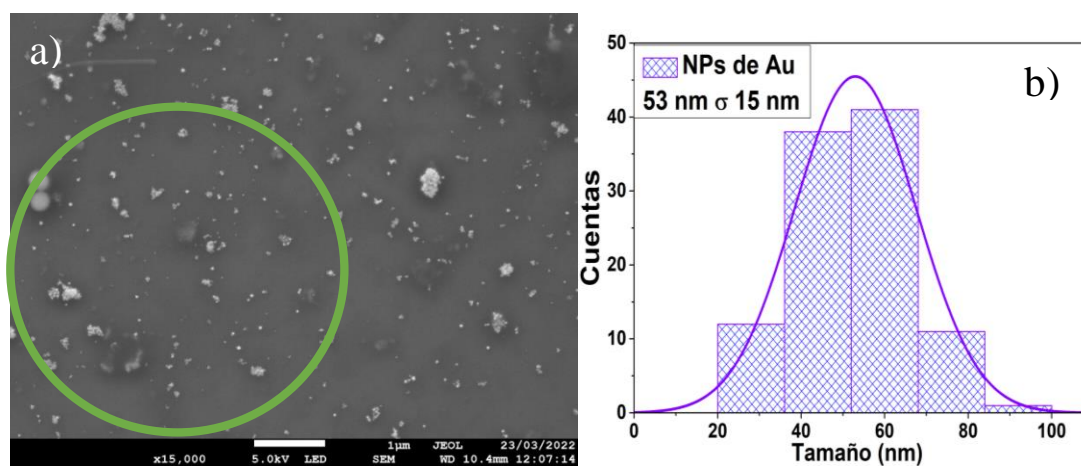


Figura 3-27. a) Micrografía SEM del sustrato SERS de NPs de Au y b) su gráfico de distribución de tamaño.

Conociendo el tamaño y el número de NPs de Au en el área del spot del láser, se calculó el área de una esfera con el radio de la NP el cual fue de $8.82 \times 10^3 \text{ nm}^2$. Debido a que algunas NPs están aglomeradas, se consideró la mitad de la esfera, siendo un área de $4.41 \times 10^3 \text{ nm}^2$. El área total de las NPs de Au se determinó mediante el producto del área de la media esfera por el número de NPs de Au en el spot, el cual se tuvo un valor de $6.62 \times 10^5 \text{ nm}^2$.

Una vez determinada el área total de las NPs de Au que ocupa en el spot del láser, se consideró que las NPs están cubiertas totalmente por las moléculas de T4 en posición vertical. Por lo tanto, el área base de la T4 es de 0.675 nm^2 por lo que 9.81×10^5 moléculas de T4 se absorben sobre todas las NPs de Au en el spot del láser.

De los resultados obtenidos de N_{Raman} , sabemos que se depositaron multicapas de T4 por lo que se calculó el N_{SERS} considerando diferentes capas sobre las NPs de Au usando la siguiente ecuación

$$N_{SERS} = \frac{\text{(moleculas que forman una capa sobre las NPs de Au* el grosor de la capa de T4, en nm)}}{\text{altura de la molecula de T4 en posicion vertical}}. \quad (3.10)$$

En la tabla 3.2 se muestran los resultados de N_{SERS} dependiendo del grosor de la capa sobre las NPs. Se tuvo en cuenta que la película de Tiroxina puede no generar ese grosor a diferentes concentraciones.

Tabla 3.2. Número de moléculas (N_{SERS}) de la T4 depositadas sobre el sustrato de NPs de Au en función del grosor de la capa de T4.

Grosor de la capa de T4 (nm)	N_{SERS}
1	8.53×10^5
3	2.56×10^6
5	4.26×10^6
10	8.53×10^6
15	1.28×10^7
20	1.71×10^7
25	2.13×10^7
75	6.39×10^7
233	1.99×10^8

En el cálculo del SERS-EF se consideraron las intensidades de la banda Raman sin las NPs de Au (I_{Raman}) y, debido a que no se observó ninguna banda en 1042 cm^{-1} , se consideró una intensidad de 1 para las diferentes concentraciones de T4. Los valores I_{SERS} se determinaron a partir de los espectros Raman de la Figura 3-24 b); se consideraron los valores de N_{Raman} indicados en la tabla 3.1 y para N_{SERS} se consideró constante este valor para una capa de 3 nm. Se ha reportado que los gaps entre NPs metálicas juegan un papel importante en el incremento de la eficiencia SERS [74,75] y la distancia entre 2 y 5 nm entre partículas metálicas han mostrado un efecto significativo en el factor de realce [76,77].

Esta consideración también está basada en los resultados de simulación numérica (ver sección 3.2.2) realizados para una NP de Au donde la intensidad de campo eléctrico cercano es alta entre 1 y 5 nm y esta disminuye a medida que la distancia aumenta con respecto a la superficie de la NP. Un resultado similar ocurre con la NP de Ag.

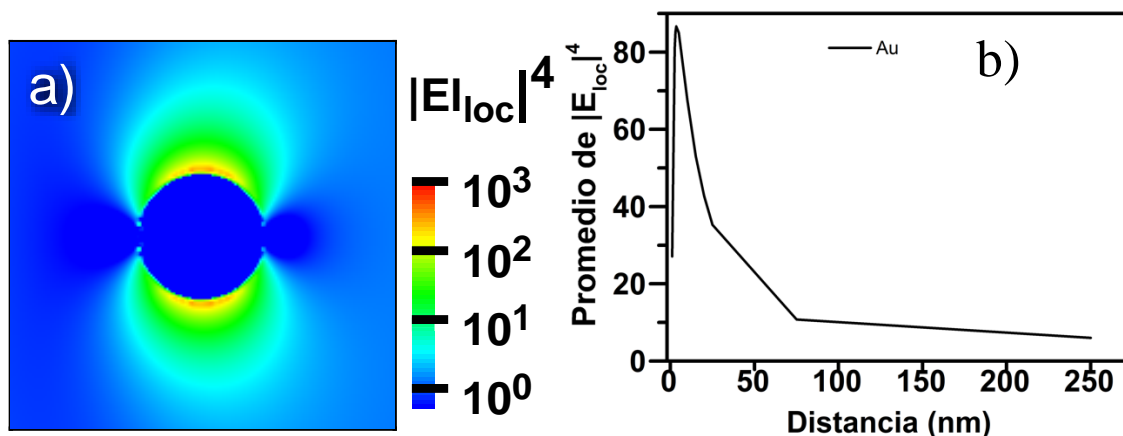


Figura 3-28. a) Imagen de campo cercano de una NP de Au con un diámetro de 100 nm determinado mediante DDA. b) gráfica de la intensidad de campo cercano en función de la distancia de separación desde la superficie de la NP de Au.

Los resultados de SERS-EF para todas las concentraciones de T4 y usando como sustrato SERS las NPs de Au se muestran en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. SERS-EF de la tiroxina sobre NPs de Au y considerando una capa 3 nm de grosor de T4. Se tomó como referencia la banda ubicada en 1042 cm^{-1} .

Concentración de T4	I_{Raman}	I_{SERS}	N_{Raman}	N_{SERS}	EF
1.00 mM	1	1022	3.78×10^9	2.56×10^6	2.20×10^6
0.30 mM	1	739	1.13×10^9	2.56×10^6	2.68×10^5
0.10 mM	1	516	0.38×10^9	2.56×10^6	5.49×10^4
0.05 mM	1	478	0.19×10^9	2.56×10^6	1.20×10^4
0.01 mM	1	1	0.004×10^9	2.56×10^6	1.18×10^2

Los resultados de los cálculos de SERS-EF considerando los diferentes grosores de la capa de tiroxina desde 1 hasta 233 nm se muestran en la tabla 3.4. Los resultados muestran que el SERS-EF disminuye de 10^6 hasta 10^4 conforme la capa se hace más gruesa o conforme la molécula de la T4 se aleja de la NP metálica y podría presentar una relación entre la intensidad de campo cercano con el SERS-EF dado que los comportamientos de las Figuras 3-28 b) y 3-29 son muy parecidos. Estos resultados también pueden deberse a la aglomeración de las NPs de Au, lo cual genera un aumento de puntos calientes que contribuyen al aumento de las señales Raman de la tiroxina.

Para comparar nuestros resultados, al menos cualitativamente, podemos mencionar el trabajo realizado por S. M. Kim y colaboradores [78]. Ellos detectaron 1 mM de T4 empleando como sustrato SERS nanogusanos compuestos por NPs de Au y telurio, para la

detección se asistieron del azul de metileno y de sus espectros Raman y SERS. Los resultados experimentales indican un SERS-EF de 6.4.

Recubrimientos de NPs de Au con ordenamiento aleatorio han sido empleados para detectar otras moléculas orgánicas como rodamina 6G a una concentración de 3.7 μ M bajo una excitación de $\lambda=606$ nm, el SERS-EF reportado es de 10^{11} [79].

Nuestro factor de aumento no es tan grande como lo reportado para otros sustratos de Au y Ag que alcanzan un orden de 10^{12} . Pero exitosamente hemos logrado detectar T4 sin emplear moléculas etiquetadoras y con recubrimientos sin grandes cantidades de Au.

Tabla 3.4. SERS-EF de una capa de T4 sobre NPs de Au. El grosor de la capa está en función de la concentración de T4.

Grosor de la capa de T4 (nm)	<i>SERS-EF de la T4 a diferentes concentraciones</i>				
	1.00 mM	0.30 mM	0.10 mM	0.05 mM	0.01 mM
1	6.60 x10 ⁶	8.05 x10 ⁵	1.65 x10 ⁵	3.60 x10 ⁴	3.54 x10 ²
3	2.20 x10 ⁶	2.68 x10 ⁵	5.49 x10 ⁴	1.20 x10 ⁴	1.18 x10 ²
5	1.32 x10 ⁶	1.61 x10 ⁵	3.29 x10 ⁴	7.21 x10 ³	7.07 x10 ¹
10	6.60 x10 ⁵	8.05 x10 ⁴	1.65 x10 ⁴	3.60 x10 ³	3.54 x10 ¹
15	4.40 x10 ⁵	5.37 x10 ⁴	1.10 x10 ⁴	2.40 x10 ³	2.36 x10 ¹
20	3.30 x10 ⁵	4.03 x10 ⁴	8.23 x10 ³	1.80 x10 ³	1.77 x10 ¹
25	2.64 x10 ⁵	3.22 x10 ⁴	6.58 x10 ³	1.44 x10 ³	1.41 x10 ¹
75	8.80 x10 ⁴	1.07 x10 ⁴	2.19 x10 ³	4.80 x10 ²	4.72 x10 ¹
233	2.83 x10 ⁴	3.46 x10 ³	7.06 x10 ²	5.03 x10 ¹	1.52 x10 ¹

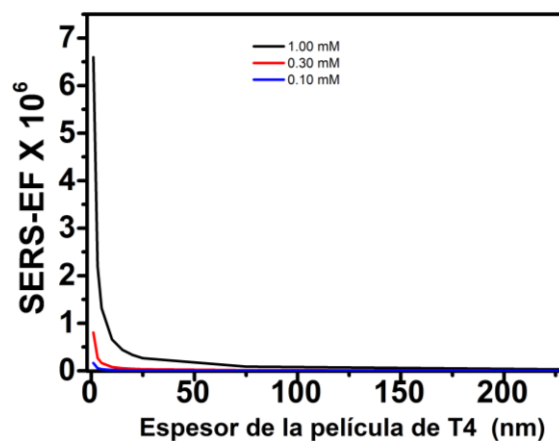


Figura 3-29. Gráfica del SERS-EF en función del espesor de la película de T4 con concentraciones de 1.00, 0.30 y 0.10 mM, depositadas sobre las NPs de Au

3.1.5.3 SERS-EF de la T4 con las NPs de Ag.

En la Figura 3-30 a) se presentan los espectros de Raman de la tiroxina a diferente concentración usando como sustrato SERS las de NPs de Ag. Al igual que con los resultados con las NPs de Au, el espectro Raman de la T4 presentó un realce en las intensidades de las bandas en comparación con los espectros de la T4 sin las NPs de Ag. La banda ubicada en 1041 cm^{-1} (ver Figura 3-30 b)), fue la que se tomó como referencia para determinar el SERS-EF.

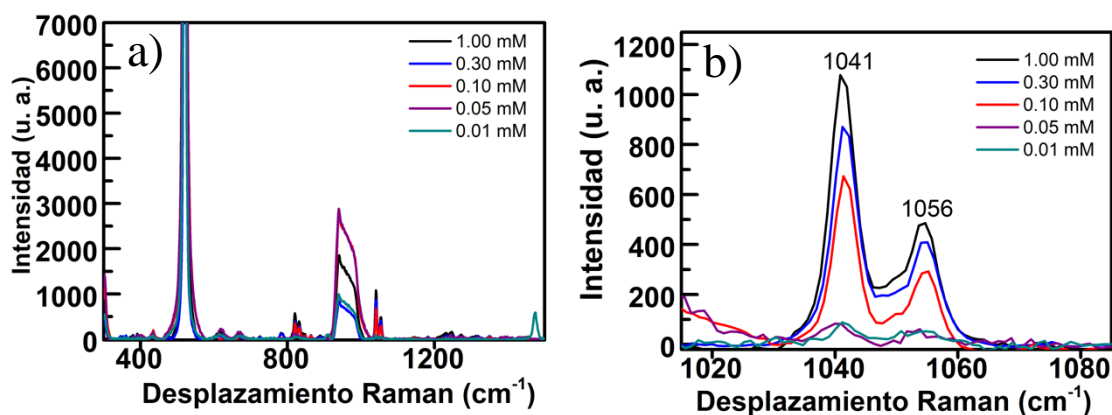


Figura 3-30. a) Espectros Raman de la Tiroxina a diferentes concentraciones, usando el sustrato SERS de NPs de Ag. y b) con acercamiento de la banda 1042 cm^{-1} .

Utilizando varias micrografías SEM (ver Figura 3-31), se determinó el tamaño y la cantidad de NPs de Ag promedio en el área del spot del láser, los cuales fueron de $46 \pm 14\text{ nm}$ y 70 NPs, respectivamente.

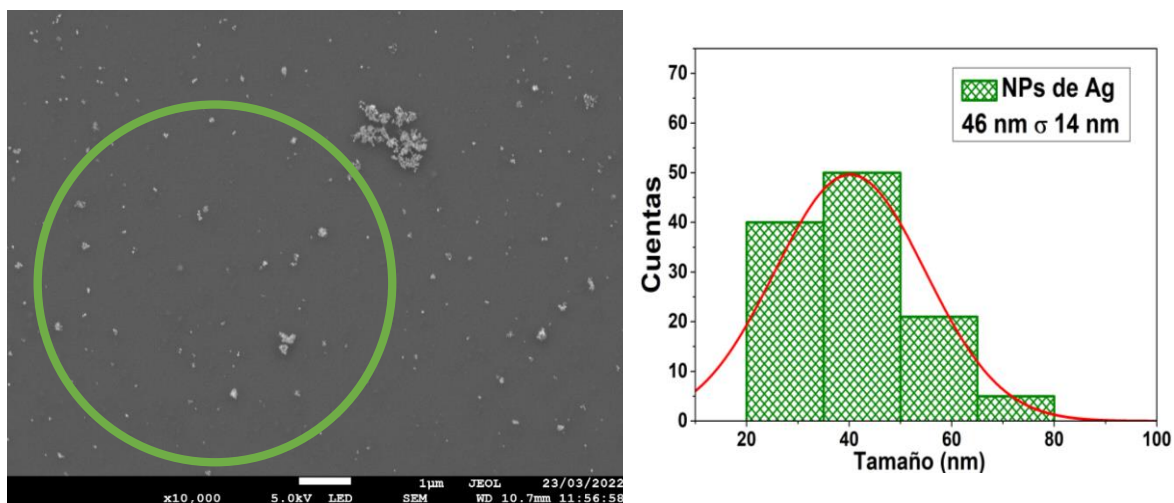


Figura 3-31. Micrografía SEM del sustrato SERS de NPs de Ag y su gráfico de distribución de tamaño. El círculo verde indica el área del spot del láser.

Para el cálculo de la N_{SERS} se tomaron en cuenta las consideraciones que se hicieron para las NPs de Au, por lo que realizaron cálculos similares. Así, el área de una NP de Ag esférica fue de $6.65 \times 10^3 \text{ nm}^2$, el área de la mitad de la esfera fue de $3.32 \times 10^3 \text{ nm}^2$, la cantidad de NPs de Ag en el spot del láser fue de $2.33 \times 10^5 \text{ nm}^2$. Esta área se dividió entre el área de la molécula para determinar en número de moléculas forman una capa sobre las NPs de Ag.

Los cálculos se realizaron para todas las concentraciones de T4 utilizadas en los estudios SERS. Se consideró el mismo N_{SERS} para todos los cálculos. Los valores de I_{Raman} e I_{SERS} se determinaron de los espectros Raman de la T4 sin y con NPs de Ag. Finalmente se obtuvieron los SERS-EF considerando una capa de 3 nm y los resultados se muestran en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. SERS-EF de la tiroxina sobre NPs de Ag y considerando una capa 3 nm de grosor de T4. Se tomó como referencia la banda ubicada en 1042 cm^{-1} .

Concentración	I_{Raman}	I_{SERS}	N_{Raman}	N_{SERS}	SERS-EF
1.00 mM	1	1073	3.78×10^9	8.99×10^5	4.52×10^6
0.30 mM	1	870	1.13×10^9	8.99×10^5	1.10×10^6
0.10 mM	1	681	3.78×10^8	8.99×10^5	2.86×10^5
0.05 mM	1	79	1.88×10^8	8.99×10^5	1.66×10^4
0.01 mM	1	91	3.77×10^7	8.99×10^5	3.82×10^3

Utilizando la ecuación (3.10) se calcularon los N_{SERS} de dependiendo del grosor de la capa sobre las NPs, es decir, de las concentraciones, ver tabla 3.6. También, se presentan los valores de SERS-EF considerando los grosores de la T4 desde 1 hasta 233 nm.

Tabla 3.6. El N_{SERS} y SERS-EF en función de la concentración de T4 sobre un sustrato de NP de Ag. El grosor de la capa que forman las moléculas sobre las NPs de Ag fue determinado a partir de la concentración de T4.

Grosor de la capa de T4 (nm)	<i>SERS-EF de la T4 a diferentes concentraciones</i>					
	N_{SERS}	1.00 mM	0.30 mM	0.10 mM	0.05 mM	0.01 mM
1	3.00×10^5	1.35×10^7	3.29×10^6	8.59×10^5	4.97×10^4	1.14×10^4
3	8.99×10^5	4.52×10^6	1.10×10^6	2.86×10^5	1.66×10^4	3.82×10^3
5	1.50×10^6	2.71×10^6	6.59×10^5	1.72×10^5	9.94×10^3	2.29×10^3
10	3.00×10^6	1.35×10^6	3.29×10^5	8.59×10^4	4.97×10^3	1.14×10^3
15	4.50×10^6	9.03×10^5	2.20×10^5	5.73×10^4	3.31×10^3	7.63×10^2
20	5.99×10^6	6.77×10^5	1.65×10^5	4.30×10^4	2.48×10^3	5.72×10^2
25	7.49×10^6	5.42×10^5	1.32×10^5	3.44×10^4	1.99×10^3	4.58×10^2
75	2.25×10^7	1.81×10^5	4.39×10^4	1.15×10^4	6.62×10^2	1.53×10^2
233	6.98×10^7	5.81×10^4	1.41×10^4	3.69×10^3	1.43×10^{-8}	4.91×10^1

Se observa que el SERS-EF aumenta conforme el grosor de la capa disminuye de 10^4 hasta 10^7 . Al igual que el caso de los sustratos SERS de NPs de Au las NPs de Ag generaron un SERS-EF de 10^6 . Esto es debido a los aglomerados y los puntos calientes que generan este orden.

Es difícil comparar nuestros resultados con otros sustratos SERS de NPs de Ag para detectar la molécula de T4 porque los parámetros experimentales son diferentes. Sin embargo, existen sustratos SERS de NPs de Ag para detectar otras moléculas como cristal de violeta y Rodamina 6G. Li y colaboradores [80] utilizaron sustratos SERS de polvos de diamante recubiertas con una capa de SiO_2 y NPs de Ag. Se utilizaron para detectar cristal violeta y rodamina 6G desde concentraciones de 0.001 mM a 1×10^{-9} mM. Determinaron que el SERS-EF para el cristal violeta y rodamina 6G es del orden de 10^8 y del orden de 10^9 , respectivamente.

Nosotros no hemos encontrado hasta el momento reportes sobre la detección de T4 utilizando NPs de Ag como sustratos SERS.

3.1.5.4 SERS-EF de la T4 con los compositos de SiO_2 -Au.

Los aspectos de Raman, en la región de 1000 a 1100 cm^{-1} de la tiroxina a diferentes concentraciones soportada sobre el sustrato SERS de los compositos de SiO_2 -Au, se presentan en la Figura 3-32 a). Se utilizaron varias imágenes SEM con diferentes ampliificaciones para determinar el número de NPs de Au bajo el área del láser, siendo de 45 NPs en promedio. La figura 3-32 b) es una imagen representativa donde se aprecia a las NPs.

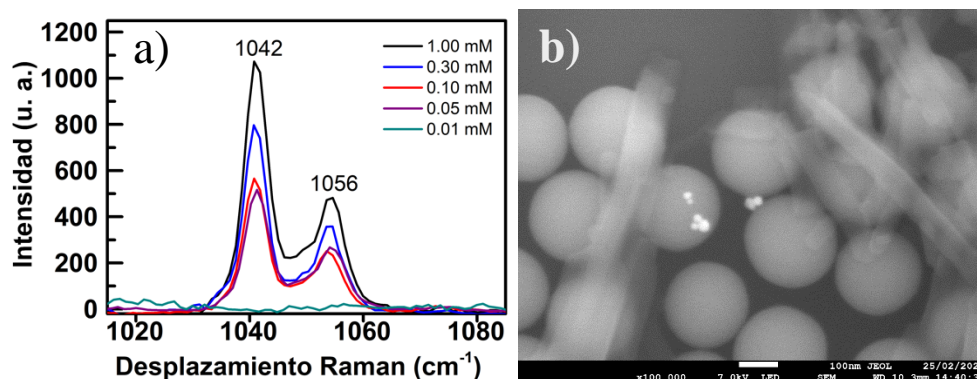


Figura 3-32. a) Espectro Raman en la región de 1000 a 1100 cm^{-1} de la tiroxina a diferentes concentraciones y b) imagen por SEM del compuesto de SiO_2 -Au

Se calcularon los valores de N_{Raman} y N_{SERS} de acuerdo con las consideraciones indicadas anteriormente, mientras que los valores de I_{Raman} e I_{SERS} se obtuvieron a partir de los espectros Raman de la T4, a diferentes concentraciones, depositadas sobre la oblea de silicio y sobre el compuesto de $\text{SiO}_2\text{-Au}$, respectivamente. Los resultados del SERS-EF para un grosor de 3 nm de T4 se presentan en la Tabla 3.7. observando que el factor de realce para 1.00 mM el SERS-EF es de 10^6 y para 0.01 mM es de 10.

Tabla 3.7. SERS-EF de la tiroxina sobre $\text{SiO}_2\text{-Au}$ y considerando una capa 3 nm de grosor de T4. Se tomó como referencia la banda ubicada en 1042 cm^{-1} .

Concentración	I_{Raman}	I_{SERS}	N_{Raman}	N_{SERS}	SERS-EF
1.00 mM	1	1022	3.78×10^9	7.67×10^5	5.04×10^6
0.30 mM	1	739	1.13×10^9	7.67×10^5	1.09×10^6
0.10 mM	1	516	3.78×10^8	7.67×10^5	2.54×10^5
0.05 mM	1	478	1.88×10^8	7.67×10^5	1.17×10^5
0.01 mM	1	1	3.77×10^7	7.67×10^5	4.91×10^1

Se consideraron las mismas condiciones de que se depositó una capa homogénea de la tiroxina y que forma multicapas sobre la NP del compuesto, por consiguiente, se calculó el N_{SERS} para grosores de 1 hasta 233 nm, cuyos se presentan en la Tabla 3.8.

Nosotros no hemos encontrado hasta el momento reportes sobre la detección de T4 utilizando esferas de SiO_2 con NPs de Au como sustratos SERS. Sin embargo, se ha reportado sustratos de esferas de SiO_2 con NPs de Ag a diferentes concentraciones para detectar 0.01 mM de rodamina 6G [81].

Tabla 3.8. El N_{SERS} y SERS-EF en función de la concentración de T4 sobre un sustrato de $\text{SiO}_2\text{-Au}$. El grosor de la capa que forman las moléculas sobre $\text{SiO}_2\text{-Au}$ fue determinado a partir de la concentración de T4.

Grosor de la capa de T4 (nm)	SERS-EF de la T4 a diferentes concentraciones					
	N_{SERS}	1.00 mM	0.30 mM	0.10 mM	0.05 mM	0.01 mM
1	2.56×10^5	1.51×10^7	3.28×10^6	7.63×10^5	3.52×10^5	1.47×10^2
3	7.67×10^5	5.04×10^6	1.09×10^6	2.54×10^5	1.17×10^5	4.91×10^1
5	1.28×10^6	3.02×10^6	6.56×10^5	1.53×10^5	7.04×10^4	2.95×10^1
10	2.56×10^6	1.51×10^6	3.28×10^5	7.63×10^4	3.52×10^4	1.47×10^1
15	3.84×10^6	1.01×10^6	2.19×10^5	5.09×10^4	2.35×10^4	9.83×10
20	5.12×10^6	7.56×10^5	1.64×10^5	3.82×10^4	1.76×10^4	7.37×10
25	6.39×10^6	6.05×10^5	1.31×10^5	3.05×10^4	1.41×10^4	5.90×10
75	1.92×10^7	2.02×10^5	4.37×10^4	1.02×10^4	4.70×10^3	1.97×10
233	5.96×10^7	6.49×10^4	1.41×10^4	3.27×10^3	1.68×10^{-8}	6.33×10^{-1}

3.1.5.5 SERS-EF de la T4 con los compositos de SiO₂-Ag.

Los espectros Raman (en la región de 1000 a 1100 cm⁻¹) de la tiroxina, a diferentes concentraciones y depositadas sobre los sustratos SERS de compositos de SiO₂-Ag, se muestran en la Figura 3-33 a). Se observa que la intensidad de la banda ubicada en 1042 cm⁻¹ decrecen conforme disminuye la concentración de T4. También se presenta una imagen por SEM del compósito, ver Figura 3-33 b), observando que en algunas zonas hay aglomerados de NPs de Ag. En este caso se determinó que hay aproximadamente 15 NPs de Ag en el área del spot del láser.

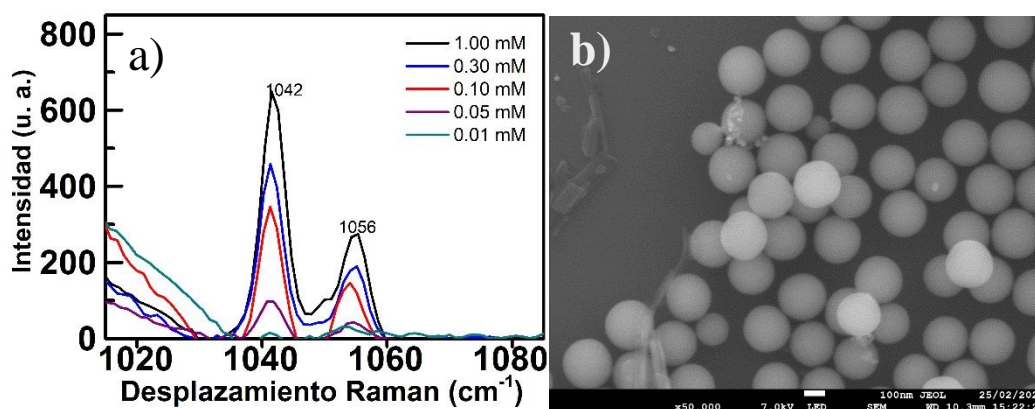


Figura 3-33. a) Espectro Raman en la región de 1000 a 1100 cm⁻¹ de la tiroxina a diferentes concentraciones y b) imagen por SEM del compósito de SiO₂-Ag

Al igual que en los casos anteriores, se calcularon los valores de N_{Raman} y N_{SERS} , de acuerdo a las consideraciones de T4 indicadas anteriormente. Los valores de I_{Raman} e I_{SERS} se obtuvieron a partir de los espectros Raman de la T4, a diferentes concentraciones, depositada sobre la oblea de silicio y sobre el compósito de SiO₂-Ag. Los resultados del SERS-EF para un grosor de 3 nm de T4 se presentan en la Tabla 3.9.

Tabla 3.9. SERS-EF de la tiroxina sobre SiO₂- Ag y considerando una capa 3 nm de grosor de T4. Se tomó como referencia la banda ubicada en 1042 cm⁻¹.

Concentración	I_{Raman}	I_{SERS}	N_{Raman}	N_{SERS}	SERS-EF
1.00 mM	1	647	3.78×10^9	1.93×10^5	1.27×10^7
0.30 mM	1	456	1.13×10^9	1.93×10^5	2.69×10^6
0.10 mM	1	348	3.78×10^8	1.93×10^5	6.83×10^5
0.05 mM	1	100	1.88×10^8	1.93×10^5	9.78×10^4
0.01 mM	1	17	3.77×10^7	1.93×10^5	3.33×10^3

Como el N_{SERS} depende de la cantidad de moléculas, y de la formación de multicapas, en la Tabla 3.10 se presentan los resultados del SERS-EF con grosores de 1 hasta 233 nm.

En la actualidad no hemos encontrado reportes de la detección de T4 usando sustratos SERS de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$. algunos sustratos SERS similares al nuestro han sido probados con moléculas orgánicas. Podemos mencionar que Wu y colaboradores [82] reportaron sustratos SERS de esferas de SiO_2 recubiertas de NPs esféricas de Ag generando nanoestructuras con morfologías tipo fresas para la detección de acrilamida desde concentraciones de 0.1 nM hasta 10000 mM con SERS-EF del orden de 10^7 .

Tabla 3.10 El N_{SERS} y SERS-EF en función de la concentración de T4 sobre un sustrato de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$. El grosor de la capa que forman las moléculas sobre $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ fue determinado a partir de la concentración de T4.

Grosor de la capa de T4 (nm)	SERS-EF de la T4 a diferentes concentraciones					
	N_{SERS}	1.00 mM	0.30 mM	0.10 mM	0.05 mM	0.01 mM
1	6.42×10^4	3.81×10^7	8.06×10^6	2.05×10^6	2.93×10^5	9.98×10^3
3	1.93×10^5	1.27×10^7	2.69×10^6	6.83×10^5	9.78×10^4	3.33×10^3
5	3.21×10^5	7.62×10^6	1.61×10^6	4.10×10^5	5.87×10^4	2.00×10^3
10	6.42×10^5	3.81×10^6	8.06×10^5	2.05×10^5	2.93×10^4	9.98×10^2
15	9.63×10^5	2.54×10^6	5.37×10^5	1.37×10^5	1.96×10^4	6.65×10^2
20	1.28×10^6	1.91×10^6	4.03×10^5	1.02×10^5	1.47×10^4	4.99×10^2
25	1.61×10^6	1.52×10^6	3.22×10^5	8.20×10^4	1.17×10^4	3.99×10^2
75	4.82×10^6	1.61×10^5	3.40×10^4	8.65×10^3	1.24×10^3	4.21×10^1
233	1.50×10^7	3.81×10^7	8.06×10^6	2.05×10^6	2.93×10^5	9.98×10^3

3.1.5.6 Señales Raman y N_{Raman} de la Glucosa

El espectro Raman de los cristalitos de la glucosa se presentan en la Figura 3-34, en la que se observan bandas con diferentes intensidades. Las bandas que se presentan en la región de 400 a 790 cm^{-1} son debidas a modos vibracionales de flexión $\beta(\text{C-C-C})$, $\beta(\text{C-C-O})$ y $\beta(\text{O-C-O})$ [83], mientras que en la región de 800 a 950 cm^{-1} corresponden a los modos vibracionales de estiramiento de $\nu(\text{C-O-H})$, $\nu(\text{C-C-H})$ y $\nu(\text{O-C-H})$. En la región de 950 a 1200 cm^{-1} las bandas observadas corresponden a los modos vibracionales de flexión de $\nu(\text{CO})$, $\nu(\text{CC})$ y $\beta(\text{COH})$ [83-85], además las bandas asociadas a $\delta(\text{CH}_2)$, $\omega(\text{CH}_2)$ y $\tau(\text{CH}_2)$ [84] se encuentran en la región de 1250 a 1500 cm^{-1} . Los caracteres δ , ν , ω , β y τ

corresponden a los modos vibracionales de tijereteo, estiramiento, alargamiento, flexión y torsión de los enlaces.

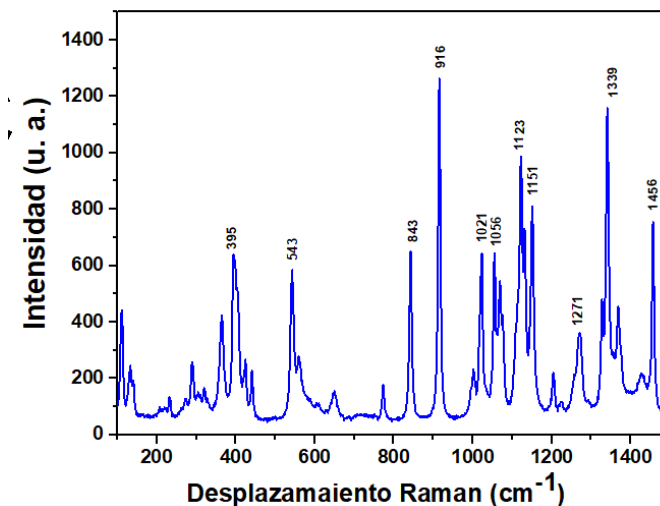


Figura 3-34. Espectro Raman de cristales de glucosa-D obtenidas del frasco reactivo.

Por otro lado, los espectros Raman de la glucosa a diferentes concentraciones (0.5, 5, 15 y 25 mM) depositada sobre las obleas de Si, se presentan en la Figura 3-35. Se observa que solo se presentan las bandas del silicio cristalino, en 301cm^{-1} , 521cm^{-1} , 622cm^{-1} , 670cm^{-1} y 944cm^{-1} y no se observó ni una banda de la glucosa.

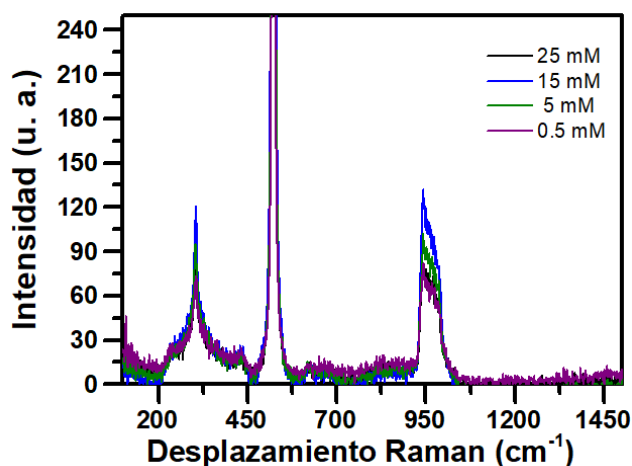


Figura 3-35. Espectros Raman de las soluciones de glucosa-D sobre una oblea de Si.

Para determinar el N_{Raman} de la glucosa sobre la oblea de Si, se realizaron las mismas consideraciones que con el estudio de la T4. En este caso, el número de moléculas de glucosa

contenidas en 50 μl de solución a diferentes concentraciones está indicada en la Tabla 3.11, columna 2.

Utilizando el software de ChemDraw ultra 12.0 se determinaron las dimensiones de la molécula de glucosa, se presenta las dimensiones indicadas en la Figura 3-36. El área de la molécula es de 0.37 nm^2 . Como el área de la oblea de Si es de 1 cm^2 ($1 \times 10^{14} \text{ nm}^2$); el número de moléculas de glucosa distribuidos vertical y homogéneamente en una monocapa es de 2.70×10^{14} moléculas.

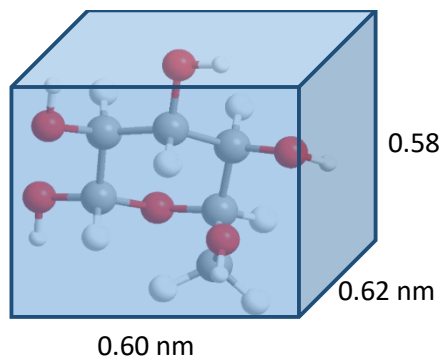


Figura 3-36. Imagen de la molécula de glucosa dentro de un prisma rectangular.

Al ser menor las moléculas de una monocapa del total de moléculas depositadas, se consideró que se formaron multicapas de glucosa sobre la superficie de la oblea de Si. Para el cálculo del número de multicapas y el grosor de ésta se consideró la altura de la molécula, siendo de 0.58 nm. Para calcular el número de capas se dividió el total de moléculas depositadas entre el total de moléculas de glucosa depositadas en la oblea de Si. El grosor se calculó multiplicando la altura de la caja de la molécula con el número de capas.

Por último, se calculó la cantidad de moléculas que fueron excitadas en un área de $12.5 \mu\text{m}^2$ ($12.5 \times 10^6 \text{ nm}^2$) que es el spot del láser. Por consiguiente, se determinó el N_{Raman} utilizando la siguiente ecuación

$$N_{\text{Raman}} = \frac{(\text{moléculas totales de glucosa depositada})(\text{área que es excitada por el láser})}{\text{área total de la oblea}} \quad (3.11)$$

En la tabla 3.11 se muestran los valores de N_{Raman} de la molécula de glucosa, los cuales se utilizarán para el cálculo de EF de los sustratos SERS para sensar la glucosa. Concluimos que N_{Raman} depende de la cantidad de moléculas excitadas en el spot del láser y de la concentración.

Tabla 3.11. Relación de la concentración de la glucosa con el total de moléculas depositadas sobre la oblea de Si, el grosor de la capa de la glucosa y su N_{Raman} .

Concentración de glucosa (mM)	No. de moléculas de glucosa	No. de capas de glucosa	Grosor de capa de glucosa (nm)	N_{Raman}
25.0	7.53×10^{17}	2,786	1,672	9.46×10^{10}
15.0	4.51×10^{17}	1,669	1,001	5.67×10^{10}
5.0	1.51×10^{17}	557	334	1.89×10^{10}
0.5	1.51×10^{16}	56	33	1.89×10^9

3.1.5.7 SERS-EF de la glucosa con las NPs de Au.

Una vez obtenido el N_{Raman} de las moléculas de glucosa, se obtuvieron los espectros Raman de la glucosa a diferentes concentraciones depositados sobre los sustratos SERS de NPs de Au, los cuales se muestran en la Figura 3-37.

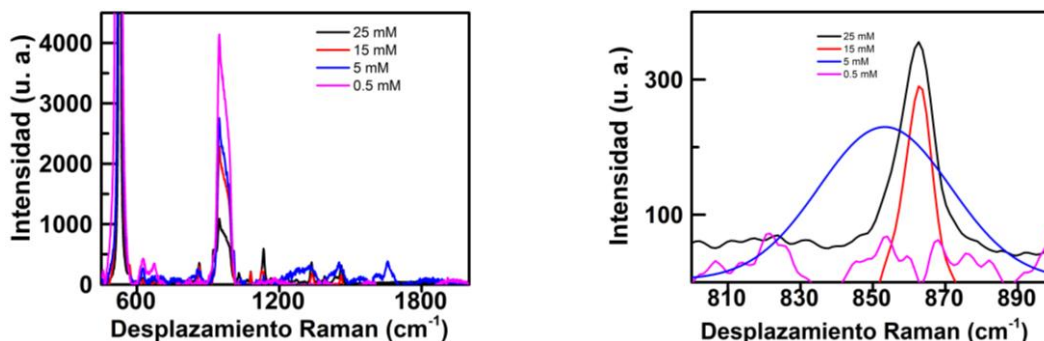


Figura 3-37. Espectros Raman de las soluciones de glucosa-D utilizando NPs de Au.

En los espectros se observan diversas bandas, algunas no están bien definidas. Un análisis más detallado del espectro, muestra que la banda ubicada en 862 cm^{-1} para las concentraciones de 25 y 15 mM de glucosa está mejor definida, ver Figura 3-37 b). Esta banda es la más cercana a la banda ubicada en 843 cm^{-1} en el espectro de la glucosa cristalina la cual corresponde a estiramiento del enlace O-H. Este desplazamiento podría deberse a la interacción entre el ácido ascórbico que rodea a la NP de Au y la glucosa, como se muestra en la Figura 3-38.

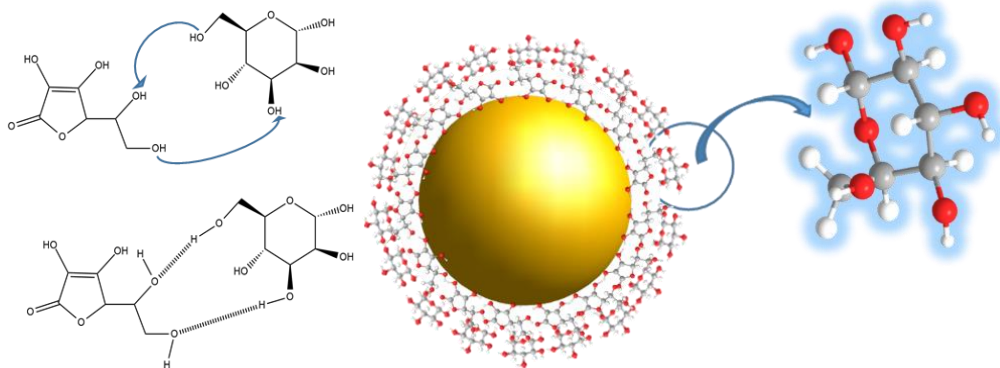


Figura 3-38. Esquema de la interacción de la glucosa con el ácido ascórbico situado en la superficie de la NP de Au.

También se observa que el espectro de la glucosa a una concentración de 5.0 mM la banda está ubicada en 853 cm^{-1} , por lo que se decidió utilizar el máximo de esa banda sabiendo que los desplazamientos pueden variar por diferentes factores.

Para calcular el N_{SERS} , se consideró diversas imágenes SEM como la mostrada en la Figura 3-27. Como se indicó anteriormente, el tamaño promedio de las NPs de Au es de $53 \pm 15\text{ nm}$, el número de partículas promedio en el spot del láser es de 150, el área de las superficies de la media esfera es de $4.41 \times 10^3\text{ nm}^2$ y el área total de las NPs en el spot del láser es de $6.62 \times 10^5\text{ nm}^2$.

De los resultados obtenidos de N_{Raman} sabemos que se depositaron multicapas de glucosa sobre la superficie del sustrato, por lo que calculó el N_{SERS} considerando diferentes capas sobre las NPs de Au y considerando una posición vertical, para ello utilizamos la ecuación (3.11) y los resultados se muestran en la Tabla 3.12. Observando que conforme sea más gruesa la capa el N_{SERS} aumenta.

Tabla 3.12. N_{SERS} de la glucosa sobre el sustrato de NPs de Au en función de su grosor.

Grosor (nm)	N_{SERS}
1	2.01×10^6
3	1.00×10^7
5	1.67×10^7
10	3.34×10^7
15	5.01×10^7
20	6.69×10^7
25	8.36×10^7
75	2.51×10^8
250	8.36×10^8

Para calcular el SERS-EF se utilizó la ecuación (3.8) y se consideraron las intensidades de la banda de la glucosa en el espectro Raman sin NPs (I_{Raman}) en la que, como no se observó ninguna banda en 862 cm^{-1} , se consideró una intensidad de 1. Se consideraron los valores de N_{SERS} de glucosa para una capa de 3 nm y los valores de I_{SERS} se obtuvieron a partir de las intensidades de la banda ubicada en 862 cm^{-1} de los espectros mostrados en la Figura 3-37 b). En la tabla 3.13 se presentan los valores de EF.

Tabla 3.13. SERS-EF de la glucosa sobre NPs de Au y considerando una capa 3 nm de grosor de glucosa. Se tomó como referencia la banda ubicada en 862 cm^{-1} .

Concentración	I_{Raman}	I_{SERS}	N_{Raman}	N_{SERS}	EF
25.0 mM	1	356	9.46×10^{10}	1.00×10^7	3.36×10^6
15.0 mM	1	291	5.67×10^{10}	1.00×10^7	1.64×10^6
5.0 mM	1	201	1.89×10^{10}	1.00×10^7	3.79×10^5
0.5 mM	1	7	1.89×10^9	1.00×10^7	1.32×10^3

Al considerar diferentes grosores de la capa de glucosa desde 1 hasta 250 nm, el SERS-EF presenta una tendencia a disminuir conforme aumente el grosor de la capa de glucosa, ver tabla 3.14. Se observa que el EF disminuye conforme la capa se hace más gruesa pasando de factor de realce de 10^7 hasta 10^4 . Esto puede deberse al aumento de N_{SERS} . Viendo los EF podemos concluir que el orden del EF de la película SERS de NPs de Au es de 10^6 y esto se debe a que las NPs de Au están aglomeradas generando un aumento de puntos calientes que contribuyen al aumento de las señales Raman de la glucosa.

Tabla 3.14. SERS-EF de una capa de glucosa sobre NPs de Au. El grosor de la capa está en función de la concentración de glucosa.

Grosor (nm)	SERS-EF de la Glucosa			
	25.0 mM	15.0 mM	5.0 mM	0.5 mM
1	1.68×10^7	8.22×10^6	1.90×10^6	6.60×10^3
3	3.36×10^6	1.64×10^6	3.79×10^5	1.32×10^3
5	2.02×10^6	9.87×10^5	2.27×10^5	7.92×10^2
10	1.01×10^6	4.93×10^5	1.14×10^5	3.96×10^2
15	6.72×10^5	3.29×10^5	7.58×10^4	2.64×10^2
20	5.04×10^5	2.47×10^5	5.69×10^4	1.98×10^2
25	4.03×10^5	1.97×10^5	4.55×10^4	1.58×10^2
75	1.34×10^5	6.58×10^4	1.52×10^4	5.28×10^1
250	4.03×10^4	1.97×10^4	4.55×10^3	1.58×10^1

Existen diversos sustratos SERS de NPs de Au, con diferentes parámetros de medición, para la detección de la glucosa los cuales han podido detectar concentraciones 0.1 mM. Los cuales Yang y colaboradores que reportan sustratos de pilares de ZnO recubiertos con NPs de Au de 20 nm diámetro. Detectaron glucosa desde concentraciones de 30 mM hasta 0.1 mM utilizando un láser de $\lambda=785$ nm. Obtuvieron un SERS-EF del orden de 10^8 , el cual atribuyeron al aglomeramiento de las NPs de Au sobre los pilares [86].

3.1.5.8 SERS-EF de la glucosa con las NPs de Ag.

Los espectros Raman, en la región de 800 a 900 cm^{-1} de la glucosa con diferentes concentraciones, usando como sustrato SERS a las NPs de Ag, se muestran en la Figura 3-39. En este espectro se observa que la banda de 862 cm^{-1} aumenta a medida que se incrementa la concentración de glucosa.

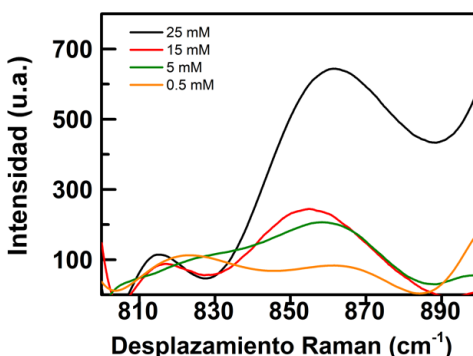


Figura 3-39. Espectros Raman de las soluciones de glucosa-D utilizando NPs de Ag como sustrato SERS

El N_{SERS} se calculó considerando de varias imágenes de SEM como la mostrada en la Figura 3-31. Como se indicó anteriormente, el tamaño promedio de las NPs de Ag es de 48 ± 14 nm, el número de partículas promedio en el spot del láser es de 70, el área de las superficies de la media esfera fue de 3.32×10^3 nm^2 y el área total de las NPs en el spot del láser fue de 2.33×10^5 nm^2 .

De los resultados obtenidos de N_{Raman} sabemos que se depositaron multicapas de glucosa sobre la superficie del sustrato, por lo que calculó el N_{SERS} considerando diferentes capas sobre las NPs de Au y considerando una posición vertical, para ello utilizamos la ecuación (3.11) y los resultados se muestran en la Tabla 3.15. De la Tabla se observa que el

N_{SERS} aumenta conforme la capa de glucosa se hace más gruesa. Podemos observar un comportamiento similar observado con el sustrato de NP de Au.

Tabla 3.15. N_{SERS} de la glucosa sobre el sustrato de NPs de Ag en función de su grosor.

Grosor (nm)	N_{SERS}
1	1.18×10^6
3	3.53×10^6
5	5.88×10^6
10	1.18×10^7
15	1.76×10^7
20	2.35×10^7
25	2.94×10^7
75	8.81×10^7
250	2.94×10^8

Anteriormente se comentó que la imagen de campo cercano de la NP de Ag muestra un mayor SERS-EF al considerar una distancia de 3 nm alrededor de la superficie, por lo que en la tabla 3.16 se muestran los valores de SERS-EF obtenidos cuando se utiliza un sustrato de NPs de Ag. Se observa la mejora de las señales Raman es de 10^4 a 10^7 conforme aumenta la concentración. También se observa que el sustrato de NPs de Ag presentan un mejor SERS-EF que el sustrato de NPs de Au.

Tabla 3.16. SERS-EF de la glucosa sobre NPs de Ag y considerando una capa 3 nm de grosor de glucosa. Se tomó como referencia la banda ubicada en 862 cm^{-1} .

Concentración	I_{Raman}	I_{SERS}	N_{Raman}	N_{SERS}	EF
25.0 mM	1	645	9.46×10^{10}	3.53×10^6	1.73×10^7
15.0 mM	1	248	5.67×10^{10}	3.53×10^6	3.99×10^6
5.0 mM	1	206	1.89×10^{10}	3.53×10^6	1.11×10^6
0.5 mM	1	88	1.89×10^9	3.53×10^6	4.72×10^4

Al considerar diferentes grosores de la capa de glucosa desde 1 hasta 250 nm, el SERS-EF presenta una tendencia a disminuir conforme aumenta el grosor de la capa de glucosa, ver tabla 3.17.

Tabla 3.17. SERS-EF de una capa de glucosa sobre NPs de Ag. El grosor de la capa está en función de la concentración de glucosa.

Grosor (nm)	SERS-EF de la Glucosa			
	25.0 mM	15.0 mM	5.0 mM	0.5 mM
1	5.19×10^7	1.20×10^7	3.32×10^6	1.42×10^5
3	1.73×10^7	3.99×10^6	1.11×10^6	4.72×10^4
5	1.04×10^7	2.39×10^6	6.63×10^5	2.83×10^4
10	5.19×10^6	1.20×10^6	3.32×10^5	1.42×10^4

15	3.46×10^6	7.97×10^5	2.21×10^5	9.44×10^3
20	2.60×10^6	5.98×10^5	1.66×10^5	7.08×10^3
25	2.08×10^6	4.78×10^5	1.33×10^5	5.67×10^3
75	6.93×10^5	1.59×10^5	4.42×10^4	1.89×10^3
250	2.08×10^5	4.78×10^4	1.33×10^4	5.67×10^2

Para comparar nuestros resultados, al menos cualitativamente, podemos mencionar el trabajo realizado por G. Qi y colaboradores [87]. Ellos detectaron 0.01 mM hasta 20 mM de glucosa empleando como sustrato SERS de NPs de Ag usando un láser de $\lambda=532$ nm.

3.1.5.9 SERS-EF de la glucosa con los compositos de SiO₂-Au.

Los espectros Raman de la glucosa a diferentes concentraciones adsorbida sobre la superficie de los compositos de SiO₂-Au se presentan en la Figura 3-40. En los espectros se observa que la intensidad de la banda ubicada en 862 cm⁻¹ aumenta a medida que se incrementa la concentración de la glucosa.

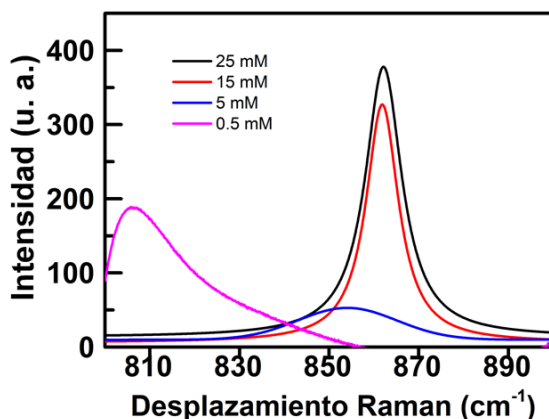


Figura 3-40. Espectros Raman de soluciones de glucosa-D a diferentes concentraciones y utilizando la película compuesta de SiO₂-Au.

Se observa la banda bien definida a concentraciones de 25 mM y 15 mM, mientras que a 5 mM disminuye y se ensancha. En esa posición no se observa una banda a 0.5 mM, sin embargo, se observa una banda en los 798 cm⁻¹ esta puede deberse a la banda de 773 cm⁻¹ que son debidas a las deformaciones de C-C-C. por consiguiente consideramos que a 0.5 mM la intensidad de la banda es de 1.

El cálculo del SERS-EF con el composito SiO₂-Au se llevó a cabo considerando el tamaño de NP de Au de 53 nm de diámetro, la cantidad de NP de Au en el área del láser fue 45 NPs, por lo que el área total de las NPs en el spot del láser fue de 1.99×10^5 nm². En la

Tabla 3.18 se muestran los valores del N_{SERS} en función del grosor de la capa de la glucosa. Al igual que los resultados anteriores, se observa que el N_{SERS} aumenta conforme la capa de glucosa se hace más gruesa.

Tabla 3.18. N_{SERS} de la glucosa sobre el sustrato de $\text{SiO}_2\text{-Au}$ en función de su grosor.

Grosor (nm)	N_{SERS}
1	6.02×10^5
3	3.01×10^6
5	5.01×10^6
10	1.00×10^7
15	1.50×10^7
20	2.01×10^7
25	2.51×10^7
75	7.52×10^7
250	2.51×10^8

Como se indicó anteriormente, las imágenes de campo cercanos de las NPs de Ag presentan un mayor SERS-EF al considerar una distancia de 3 nm alrededor de la superficie, por lo que en la tabla 3.19 mostramos los resultados del SERS-EF con esta consideración. También se tomó en cuenta la I_{Raman} e I_{SERS} de los espectros de las Figuras 3-33 y 3-39. Los resultados mostraron un EF de 10^2 a 10^7 conforme aumenta la concentración. También se tiene que el sustrato compositos de $\text{SiO}_2\text{-Au}$ es mejor que el sustrato de NPs de Au, sin embargo, el sustrato de NPs de Au generan más señales en la concentración de 0.5 mM. Para ambas la concentración mínima de detección es de 0.5 mM.

Tabla 3.19. SERS-EF de la glucosa sobre $\text{SiO}_2\text{-Au}$ y considerando una capa 3 nm de grosor de glucosa. Se tomó como referencia la banda ubicada en 862 cm^{-1} .

Concentración	I_{Raman}	I_{SERS}	N_{Raman}	N_{SERS}	EF
25.0 mM	1	378	9.46×10^{10}	3.01×10^6	1.19×10^7
15.0 mM	1	326	5.67×10^{10}	3.01×10^6	6.14×10^6
5.0 mM	1	56	1.89×10^{10}	3.01×10^6	3.52×10^5
0.5 mM	1	1	1.89×10^9	3.01×10^6	6.29×10^2

Se muestra en la tabla 3.20, al igual que en los casos anteriores, los resultados SERS-EF al considerar diferentes grosores de la capa de glucosa desde 1 hasta 250 nm. Se observa que el EF disminuye su orden de 10^7 hasta 10^5 .

Tabla 3.20. SERS-EF de una capa de glucosa sobre SiO₂-Au. El grosor de la capa está en función de la concentración de glucosa.

SERS-EF de la Glucosa				
Grosor (nm)	25.0 mM	15.0 mM	5.0 mM	0.5 mM
1	5.94 x10 ⁷	3.07 x10 ⁷	1.76 x10 ⁶	3.14 x10 ³
3	1.19 x10 ⁷	6.14 x10 ⁶	3.52 x10 ⁵	6.29 x10 ²
5	7.13 x10 ⁶	3.68 x10 ⁶	2.11 x10 ⁵	3.77 x10 ²
10	3.57 x10 ⁶	1.84 x10 ⁶	1.06 x10 ⁵	1.89 x10 ²
15	2.38 x10 ⁶	1.23 x10 ⁶	7.04 x10 ⁴	1.26 x10 ²
20	1.78 x10 ⁶	9.21 x10 ⁵	5.28 x10 ⁴	9.43 x10 ¹
25	1.43 x10 ⁶	7.37 x10 ⁵	4.22 x10 ⁴	7.54 x10 ¹
75	4.76 x10 ⁵	2.46 x10 ⁵	1.41 x10 ⁴	2.51 x10 ¹
250	1.43 x10 ⁵	7.37 x10 ⁴	4.22 x10 ³	7.54 x10 ⁰

Para comparar nuestros resultados no podemos compararlos con otros sustratos SERS utilizados para detectar glucosa, pero podemos mencionar el trabajo realizado por Bock y colaboradores [88]. Los cuales sintetizaron esferas de SiO₂ de 200 nm de diámetro y las recubrieron con NPs de Au para detectar hidrato de cloruro de oro (III) utilizando un láser de $\lambda=785$ nm a diferentes concentraciones desde 50 μ M a 500 μ M.

3.1.5.10 SERS-EF de la glucosa con los compositos de SiO₂-Ag.

Finalmente presentamos en la Figura 3-41 los espectros Raman de la glucosa, a diferentes concentraciones, adsorbida sobre el sustrato SERS del compuesto SiO₂-Ag.

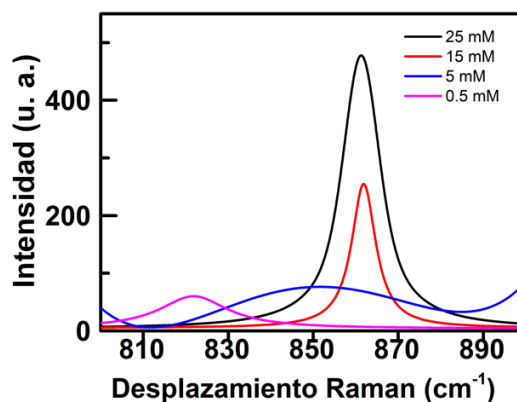


Figura 3-41. Espectros Raman de soluciones de glucosa-D a diferentes concentraciones y utilizando la película compuesta de SiO₂-Ag.

Se consideró el tamaño de NP de Ag de 48 nm de diámetro, además de que hay un promedio de 15 NPs en el spot del láser y que el número de moléculas de glucosa adsorbidas en las NPs de Ag es de 5×10^4 . En la tabla 3.21, se muestra el N_{SERS} de diferentes grosores de la capa de glucosa.

Tabla 3.21. N_{SERS} de la glucosa sobre el sustrato de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ en función de su grosor.

Grosor (nm)	N_{SERS}
1	2.52×10^5
3	7.55×10^5
5	1.26×10^6
10	2.52×10^6
15	3.78×10^6
20	5.04×10^6
25	6.30×10^6
75	1.89×10^7
250	6.30×10^7

En la tabla 3.22 se muestran los resultados del SERS-EF considerando una distancia de 3 nm alrededor de la superficie. También se tomó en cuenta la I_{Raman} e I_{SERS} de los espectros de las Figuras 3-33 y 3-40. Los resultados mostraron un EF de 10^3 a 10^7 conforme aumenta la concentración.

Tabla 3.22. SERS-EF de la glucosa sobre $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ y considerando una capa 3 nm de grosor de glucosa. Se tomó como referencia la banda ubicada en 862 cm^{-1} .

Concentración	I_{Raman}	I_{SERS}	N_{Raman}	N_{SERS}	EF
25.0 mM	1	476	9.46×10^{10}	7.55×10^5	5.96×10^7
15.0 mM	1	259	5.67×10^{10}	7.55×10^5	1.94×10^7
5.0 mM	1	80	1.89×10^{10}	7.55×10^5	2.00×10^6
0.5 mM	1	1	1.89×10^9	7.55×10^5	2.50×10^3

Se muestra en la tabla 3.23 al igual que en los casos anteriores, los SERS-EF al considerar diferentes grosores de la capa de glucosa desde 1 hasta 250 nm. Se observa que el EF disminuye conforme la capa se hace más gruesa del orden de 10^8 hasta 10^5 .

Tabla 3.23. SERS-EF de una capa de glucosa sobre $\text{SiO}_2\text{-Ag}$. El grosor de la capa está en función de la concentración de glucosa.

Grosor (nm)	SERS-EF de la Glucosa			
	25.0 mM	15.0 mM	5.0 mM	0.5 mM
1	1.79×10^8	5.83×10^7	6.01×10^6	7.51×10^3
3	5.96×10^7	1.94×10^7	2.00×10^6	2.50×10^3
5	3.58×10^7	1.17×10^7	1.20×10^6	1.50×10^3

10	1.79×10^7	5.83×10^6	6.01×10^5	7.51×10^2
15	1.19×10^7	3.89×10^6	4.01×10^5	5.01×10^2
20	8.94×10^6	2.91×10^6	3.00×10^5	3.76×10^2
25	7.16×10^6	2.33×10^6	2.40×10^5	3.00×10^2
75	2.39×10^6	7.77×10^5	8.01×10^4	1.00×10^2
250	7.16×10^5	2.33×10^5	2.40×10^4	3.00×10^1

En resumen, al comparar el SERS-EF de los cuatro tipos de sustratos con diferentes las diferentes concentraciones de T4, se observó que a medida que la concentración de T4 se incrementa el SERS-EF aumenta. Sin embargo, los sustratos SERS de NPs metálicas son los que promovieron un menor SERS-EF. Los compositos SiO₂-Ag presentaron un SERS-EF mayor que los de SiO₂-Au, siendo del orden de 10⁷ y 10⁶, respectivamente, ver Figura 3-42 a).

En el recuadro de la Figura 3-42 a) se muestra el comportamiento del SERS-EF a bajas concentraciones de la T4. Se observa que a estas concentraciones el SERS-EF de la T4 está por arriba de la línea de la tendencia observada de los resultados experimentales (líneas continuas). De acuerdo a estos resultados podemos concluir que la concentración mínima confiable que se puede detectar es de aproximadamente de 0.05 mM para los sustratos SERS de NPs de Au y para los demás es de alrededor de 0.04 mM, como lo muestran los círculos indicados en la gráfica.

En el caso de la glucosa, también se observó que a medida que la concentración incrementa el SERS-EF aumenta. También se obtuvo el mayor SERS-EF con los sustratos de SiO₂-Ag. Un aspecto a resaltar es que para concentraciones mayores a 17 mM los sustratos de NPs de Ag son más eficientes que los de SiO₂-Au, pero a menores concentraciones ocurre lo opuesto, ver Figura 3-42 b). El comportamiento del SERS-EF a bajas concentraciones de glucosa, se muestra en el recuadro de la Figura 3-42 b). Se observa que de acuerdo a las tendencias presentadas por resultados experimentales, la concentración mínima confiable que se puede determinar es de aproximadamente 2.5 mM para los sustrato SERS de NPs metálicas y 2 mM para los sustratos SERS compositos.

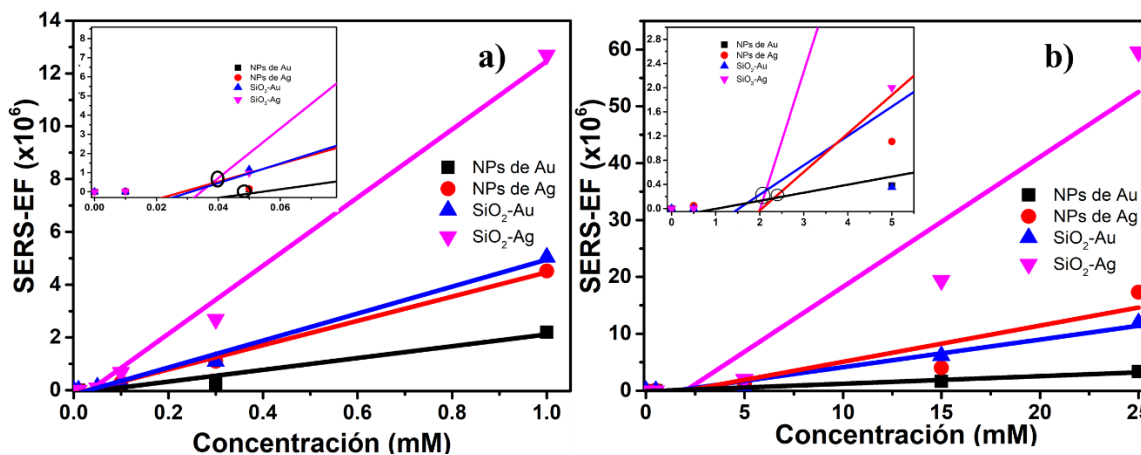


Figura 3-42. Gráfica de SERS-EF en función de la concentración de a) T4 y b) glucosa. Se consideró una capa de 3 nm de grosor del analito sobre los sustratos SERS. En los recuadros se observa el comportamiento del SERS-EF a las concentraciones más bajas.

3.2 Modelado y Simulación numérica

En la siguiente sección se aborda la simulación numérica de i) NPs solas, ii) esferas de SiO₂, iii) dímeros de NP-esfera y iv) de un arreglo de tres esferas con una o tres NPs en el intersticio formado por las primeras. Como nuestro objetivo es el empleo de composites de esferas de SiO₂ con NPs para la detección de las moléculas prueba, por consiguiente, se modeló y estudió el campo eléctrico cercano de los sistemas mencionados con el fin de estudiar la contribución EM al SERS-EF.

3.2.1 Determinación teórico-numérica del tamaño de NP metálicas óptimo

En el capítulo 1 sección 1.8 se abordó la relación del SERS-EF con el campo eléctrico local, $SERS - EF \propto |E_{loc}|^4$. Se mostró que el valor de SERS-EF es una función de la longitud de onda de excitación y del plasmón de la superficie metálica, además, para obtener el mayor SERS-EF es conveniente que ambas coincidan. En nuestro caso, el láser del equipo Raman que se utilizó en los experimentos de SERS tiene una $\lambda=632$ nm. Es importante mencionar que éste láser se propuso desde antes de iniciar la fabricación de las NPs metálicas. En cuanto a la morfología de las NPs, se optó por la esférica ya que su respuesta plasmónica ofrece una independencia al estado de polarización del campo incidente. Por lo que, para una

longitud de onda de 632 nm y NPs metálicas de forma esférica, la primera pregunta fue ¿Cuál es el tamaño óptimo de NP para obtener el mayor SERS-EF? Para hallar la respuesta, nos apoyamos de DDA y el uso del código DDSCAT.

Para la simulación numérica se consideró que las NPs por sintetizar estarían en medio acuoso. Por lo tanto, se tomó en cuenta como índice de refracción del medio 1.33. Además, el programa DDSCAT asume una onda electromagnética plana de la forma

$$\vec{E}_{inc,i} = \vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r}_i - \omega t)}; \quad (3.11)$$

aquí, hemos elegido $\vec{k} = k_x \hat{x} = \left(\frac{2\pi}{\lambda}\right) \hat{x}$, siendo λ la longitud de onda y $\vec{E}_0 = E_0 \hat{p} = \hat{p}$, donde \hat{p} es la dirección del campo.

En la Figura 3-43. se presenta la eficiencia de extinción (Q_{ext}), eficiencia de absorción (Q_{abs}) y eficiencia de dispersión (Q_{dis}) de esferas de Au, de tamaños entre 20 nm y 100 nm. Se observa que conforme aumenta el tamaño de la NP, la banda de extinción, absorción y dispersión se desplaza a longitudes de onda mayores. En los espectros de Q_{abs} se presenta un incremento de la intensidad de la banda para NPs de 20 nm a 70 nm de diámetro. Para tamaños mayores a 70 nm empieza a disminuir la intensidad de la banda de absorción y se ensancha. En cambio, los espectros de Q_{dis} presentan un crecimiento de la banda a medida que se incrementa el tamaño de NP. La Q_{ext} está relacionada con la absorbancia y la dispersión por medio de $Q_{ext} = Q_{abs} + Q_{dis}$. Teniendo en cuenta lo anterior, a tamaños menores a 60 nm, la contribución de absorción es mayor que la de dispersión; pero a tamaños mayores, las contribuciones son similares, siendo de igual importancia ambos fenómenos.

En la tabla 3.24 se muestra la posición de las bandas de Q_{ext} , Q_{abs} y Q_{dis} de la NP de Au a diferentes tamaños. Se aprecia que a medida que aumenta el tamaño de la NP, el máximo de la eficiencia de extinción se corre hacia el rojo. También, se observa que la banda de extinción más cercana a $\lambda=632$ nm es la de $\lambda=577$ nm, que corresponde a la esfera de 100 nm de diámetro. Sin embargo, su banda de absorción está un poco más lejos, en $\lambda=554$ nm.

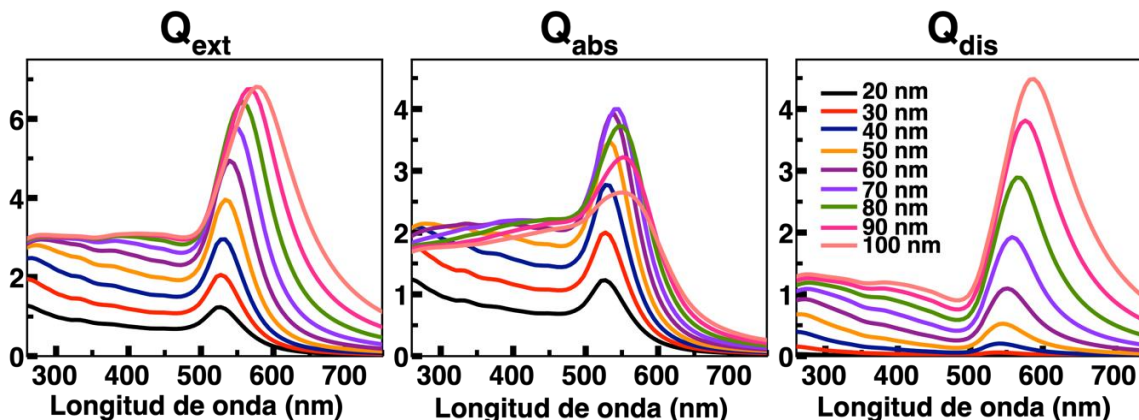


Figura 3-43 Espectros ópticos de eficiencia de a) extinción, b) absorción y c) dispersión de una NP de Au en agua.

Tabla 3.24. Posición de la banda de eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una NP de Au en agua.

Diámetro de la NP (nm)	Posición de la banda de Q_{ext} (nm)	Posición de la banda de Q_{abs} (nm)	Posición de la banda de Q_{dis} (nm)
20	526	524	539
30	529	526	540
40	530	530	543
50	534	533	548
60	541	536	550
70	548	543	557
80	557	547	565
90	567	554	575
100	577	554	584

A continuación, en la Figura 3-44, se presentan las imágenes de campo cercano de una NP de Au de diferentes tamaños, en agua. El campo resulta de una excitación a 632 nm. Para todos los casos se observa una distribución de campo característica de un dipolo orientado de manera paralela al campo incidente, por lo que, $|E_{loc}|$ decrece a medida que nos alejamos de la superficie. Además, a simple vista se observa que $|E_{loc}|$ es más intenso cuando el tamaño de la NP aumenta.

Dado que el $|E_{loc}|$ de mayor intensidad, para $\lambda=632$ nm, es el de una NP de Au de 100 nm, se eligió éste como el tamaño a sintetizar. El $|E_{loc}|$ de las NPs de 100 nm es muy intenso porque su banda de extinción está cerca de $\lambda=632$ nm.

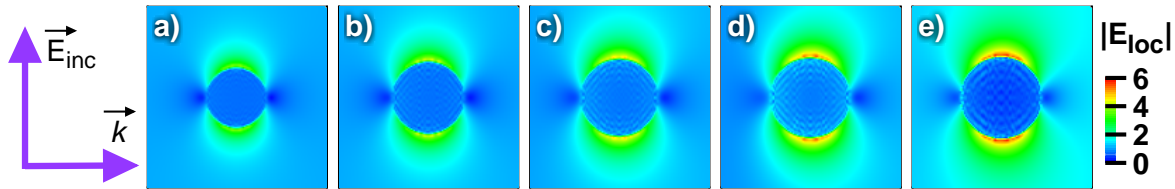


Figura 3-44. Imágenes de campo cercano de una NP de Au, en agua, con un diámetro de a) 20 nm, b) 40 nm, c) 60 nm, d) 80 nm y e) 100 nm. La longitud de onda del campo incidente es de $\lambda=632$ nm.

En la Figura 3-45 se muestran las Q_{ext} , Q_{abs} y Q_{dis} de las NPs de Ag de tamaños entre 20 nm y 100 nm de diámetro, en agua. En las eficiencias de extinción se muestra que conforme el tamaño aumenta se ven de una a dos bandas, una está entre los $\lambda=350$ nm y 400 nm y otra entre $\lambda=450$ nm y 550 nm. En los espectros de Q_{abs} se observa una sola banda para NPs de tamaños menores a 50 nm de diámetro. Esta banda se desplaza a longitudes de onda mayores al incrementar el tamaño de la NP. De 50 nm hasta 100 nm aparecen las dos bandas mencionadas anteriormente, siendo la que está a longitudes de onda mayores la más ancha y poco definida. Ambas bandas tienden a desplazarse a longitudes de onda mayores conforme aumenta el tamaño. En cambio, los espectros de Q_{dis} de NPs de hasta 80 nm de diámetro presentan solo una banda; para 90 nm y 100 nm de diámetro hay una banda poco intensa entre $\lambda=385$ nm y 392 nm, respectivamente. Las bandas presentan la misma tendencia de desplazamiento observadas en Q_{abs} . Las bandas observadas en Q_{abs} y Q_{dis} claramente definen la línea de los espectros de Q_{ext} . En la Tabla 3.25 se muestran las posiciones del máximo de las bandas más intensas de extinción, absorción y dispersión. La posición de la banda de extinción más cercana a 632 es la de tamaño de 100 nm de diámetro que está en 496 nm, teniendo una mayor contribución de dispersión.

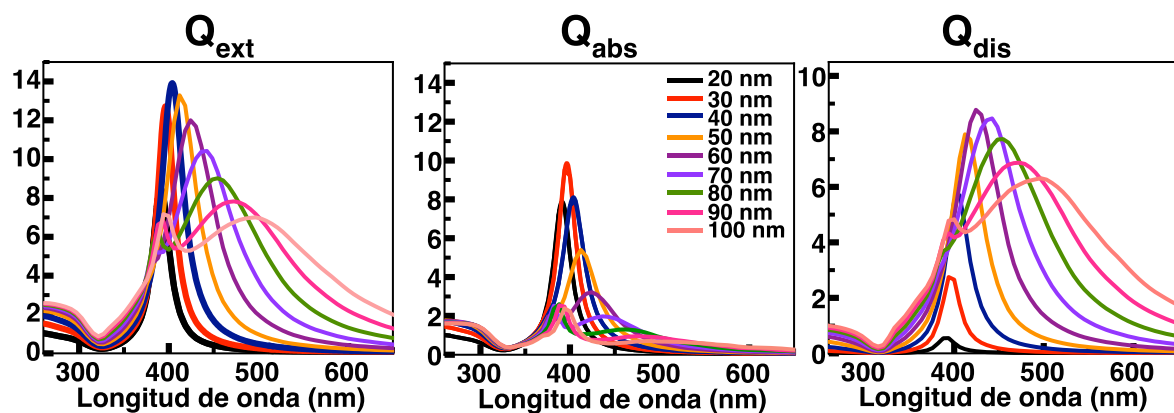


Figura 3-45. Espectros de eficiencia de Q_{ext} , Q_{abs} y Q_{dis} de una NP de Ag con diferentes tamaños.

Tabla 3.25. Posición de la banda de eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una NP de Ag en agua.

Diámetro de la NP (nm)	Posición de la banda de Q_{ext} (nm)	Posición de la banda de Q_{abs} (nm)	Posición de la banda de Q_{dis} (nm)
20	392	392	391
30	395	394	395
40	405	400	405
50	410	409	410
60	425	422	425
70	441	439	440
80	453	459	453
90	471	470	471
100	496	490	496

Recordemos que, el $|E_{\text{loc}}|$ está relacionado con el campo dispersado, por lo que resulta importante calcular el campo de las esferas. En la Figura 3-46, se muestran las imágenes de campo cercano de una NP de Ag a diferentes tamaños y en agua, a una excitación de 632 nm. Se observa un comportamiento similar a lo mostrado por la NP de Au, ésto es, el $|E_{\text{loc}}|$ aumenta conforme el tamaño de la NP es mayor. Además, la distribución del campo es similar a la de un dipolo. Concluimos que, para los tamaños estudiados, la NP de Ag de 100 nm es la que tiene una mayor intensidad de $|E_{\text{loc}}|$.

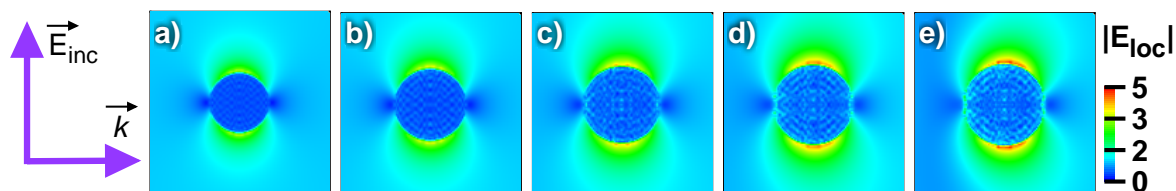


Figura 3-46. Imágenes de campo cercano de una NP de Ag de diámetro de a) 20 nm, b) 40 nm, c) 60 nm, d) 80 y e) 100 nm, a una excitación de 632 nm en agua.

3.2.2 Origen de las bandas de las eficiencias ópticas de la NP

Usando DDA, se calculó Q_{ext} , Q_{abs} y Q_{dis} de una NP de Au de 100 nm, en aire como medio circundante, ver Figura 3-47 a). Es importante mencionar que se consideró el aire como medio porque suponemos que en los sustratos SERS de las NPs no hay residuos acuosos. Se observa que la posición de la banda de Q_{ext} , Q_{abs} y Q_{dis} es diferente a las observadas cuando la NP está rodeada de agua. Cuando se considera que el aire rodea a la NP la banda se desplaza 50 nm a longitudes de onda menores con respecto a cuándo está en

agua. La banda de extinción está en 522 nm, la de dispersión en 530 nm y la de absorción en 517 nm.

Para entender el origen de esas bandas utilizamos, además de DDA, las aproximaciones de dipolo y cuadrupolo descritas en la sección 1.5.1 del capítulo 1. Utilizando la ecuación (1.10) de la MLWA se calculó la eficiencia de extinción asociada a un dipolo (línea azul, MLWA). También se calculó la eficiencia de extinción de un cuadrupolo usando la ecuación (1.14) (línea verde, QUAD), ver Figura 3-47 b). Se aprecia que la posición de la banda del dipolo coincide con la posición de la banda predicha por DDA en 522 nm. Mientras que, en el espectro del cuadrupolo, calculado a la longitud de onda de interés, no se observa ninguna banda. La posición de la RPS de un cuadrupolo se calculó utilizando la ecuación (1.13) del capítulo 1 sección 1.5.1. Para ello se debe cumplir la condición $\varepsilon_m + \left(\frac{3}{2}\right)\varepsilon_s = 0$; en el caso de la NP de Au de 100 nm, en aire, se obtuvo que su posición está en 374 nm. En ésta posición no se aprecia la banda en el espectro de Q_{ext} , debido a su pobre intensidad, que además es superada por la extinción de luz debida a los electrones interbanda [39]. Por lo tanto, en el intervalo de longitudes de onda entre 300 nm y 500 nm, la luz absorbida es el resultado de la respuesta de los electrones interbanda e intrabanda al campo incidente.

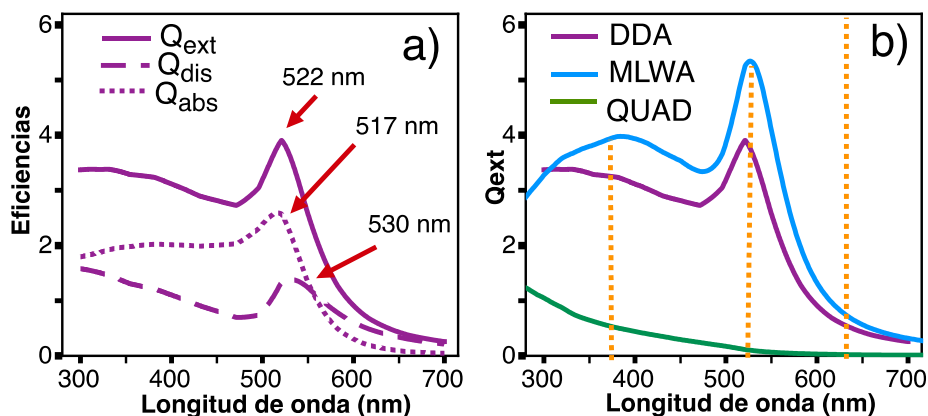


Figura 3-47 a) Eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una NP de Au de 100 nm de diámetro en aire, calculados con DDA. b) Extinción óptica de la NP descrita en a), pero obtenida usando DDA, MLWA y QUAD.

En la Figura 3-48, se presenta el campo cercano a la cuarta potencia, o bien, el SERS-EF. El plano graficado es aquel que pasa por el centro de la esfera. Hemos considerado una onda incidente de $\lambda=374$ nm, 517 nm, 522 nm y 632 nm, que son las longitudes de onda discutidas en el párrafo de arriba. Al excitar en $\lambda=374$ nm se observa un campo con configuración esencialmente dipolar paralela al campo incidente, sin embargo, hay una ligera

distorsión que asociamos a una débil componente cuadrupolar [42]. Mientras que en $\lambda=632$ nm la distribución del campo es uniforme y representa una contribución de un plasmon dipolar. Se observa que a longitudes de onda entre $\lambda=374$ nm y $\lambda=522$ nm la distribución de campo tiene contribuciones de dipolo, mayormente, y de cuadrupolo, muy debilmente. Se observa que el campo más intenso se obtiene para $\lambda=522$ nm, que corresponde a la RPS dipolar.

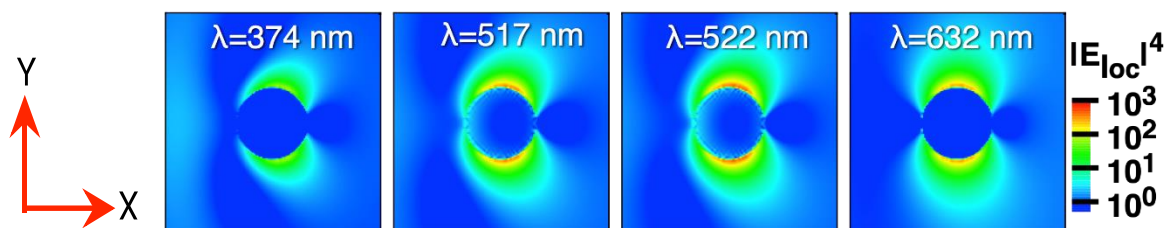


Figura 3-48. Imágenes de SERS-EF de una NP de Au de diámetro de 100 nm, en aire, utilizando distinta longitud de onda incidente. Se utilizaron 100,000 dipolos puntuales para los cálculos, además, la onda incidente se propaga en dirección X con un estado de polarización en dirección Y.

De los espectros de absorbancia medidos, se concluyó que las NPs de Au están funcionalizadas con ácido ascórbico-L (NP Au@ascórbico). Para determinar el efecto de la capa del agente estabilizador sobre el campo cercano, se estudió una esfera cubierta por una capa de 1 nm de grosor de ácido ascórbico-L ($n=1.36$), ver Figura 3-49. Se eligió una capa de 1 nm porque se ha reportado este grosor de los agentes funcionalizantes [54,55]. En los cuadros 3-49 a) y b) no se observa una diferencia de distribución de SERS-EF relevante.

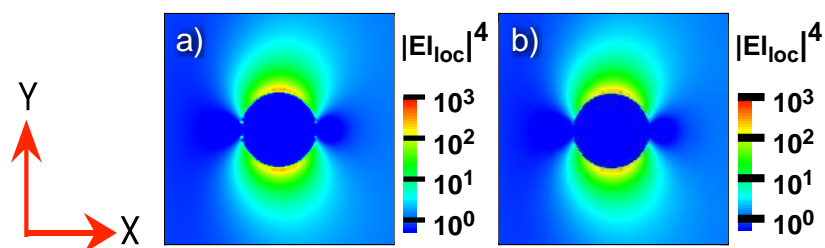


Figura 3-49. Imágenes de SERS-EF de una NP de Au de 100 nm de diámetro a) sin capa y b) con capa de ácido ascórbico-L de 1 nm de grosor. Se emplearon 100,000 dipolos puntuales para los cálculos y $\lambda=632$ nm, propagándose en dirección X con un estado de polarización en dirección Y.

En los experimentos para medir el desempeño de los sustratos fabricados, se asume que no hay residuos acuosos ya que se dejaron secar los sustratos. Por lo anterior, es útil determinar la posición de las resonancias cuando se tiene al aire como medio circundante.

En la Figura 3-50a) se presentan los espectros de Q_{ext} , Q_{abs} y Q_{dis} de una NP de Ag de 100 nm de diámetro, utilizando como índice de refracción del medio ambiente 1.0. Una banda de extinción se encuentra en 392 nm y otra en 353 nm, que corresponden a las bandas encontradas cuando el medio es agua (Figura 3-45), pero desplazadas 102 nm y 44 nm, respectivamente. Tanto en Q_{dis} como en Q_{ext} se observa una banda en $\lambda=392$ nm. En cambio, en el espectro de Q_{abs} se observa dos bandas, una en $\lambda=400$ nm y otra en $\lambda=353$ nm. Para conocer si las bandas son contribuciones de resonancia de plasmones dipolar o cuadrupolar se calcularon los espectros de extinción usando MLWA y QUAD. En la Figura 3-50 b) se presentan los espectros de extinción calculados utilizando DDA (línea roja), MLWA (línea rosa) y QUAD (línea verde). Podemos observar que la banda obtenida con la aproximación dipolar está cerca de la de $\lambda=392$ nm predicha por DDA, pero no empatan. Lo anterior nos indica que esa banda no es completamente dipolar. Por otro lado, podemos observar que la banda en $\lambda=353$ nm está muy cerca de la cuadrupolar (línea verde), lo que nos hace suponer que se debe principalmente a una distribución de carga cuadrupolar. Para visualizar lo anterior, a continuación, presentamos los campos a la cuarta potencia.

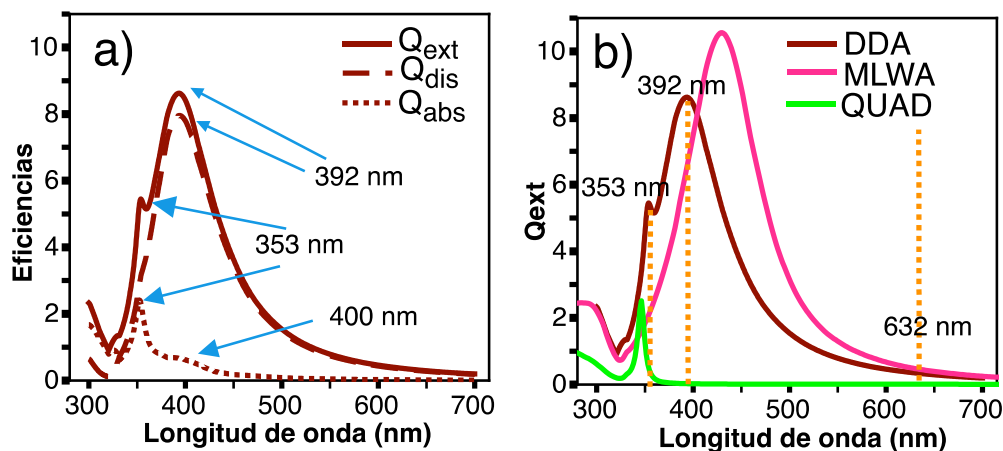


Figura 3-50 a) Eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una NP de Ag de 100 nm de diámetro en aire, calculados con DDA. b) Extinción óptica de la NP descrita en a), pero obtenida usando DDA, MLWA y QUAD.

En la Figura 3-51 se presentan imágenes de campo cercano a la cuarta potencia, o bien, el SERS-EF, utilizando longitudes de onda de 353 nm, 392 nm, 400 nm y 632 nm. Cuando se excita en $\lambda=353$ nm se observa una distribución con carácter principalmente cuadrupolar [43] y a $\lambda=632$ nm es una contribución principalmente dipolar. Las excitaciones entre $\lambda=353$

nm y 632 nm dan origen a distribuciones de campo con contribuciones de carácter dipolar y cuadrupolar.

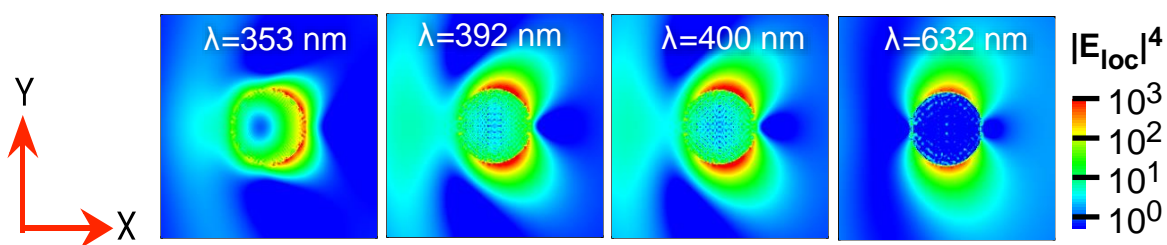


Figura 3-51 Imágenes de SERS-EF de una NP de Ag de diámetro de 100 nm, en aire, utilizando distinta longitud de onda incidente. Se utilizaron 100,000 dipolos puntuales para los cálculos, además, la onda incidente se propaga en dirección X con un estado de polarización en dirección Y.

De los espectros de absorbancia medidos, se concluyó que las NPs de Ag se encuentran funcionalizadas con el ácido tánico (NP Ag@tánico). Para determinar el efecto de la capa del agente estabilizador sobre el campo cercano, se estudió una esfera cubierta por una capa de 1 nm de grosor de ácido tánico ($n=1.704$). En los cuadros 3-52 a) y b) se observa diferencia en la distribución de $|E_{loc}|^4$, principalmente en la superficie. En el caso de la NP de Ag la capa dieléctrica de ácido tánico genera que la distribución sea más simétrica, sin embargo, la región de puntos calientes disminuye.

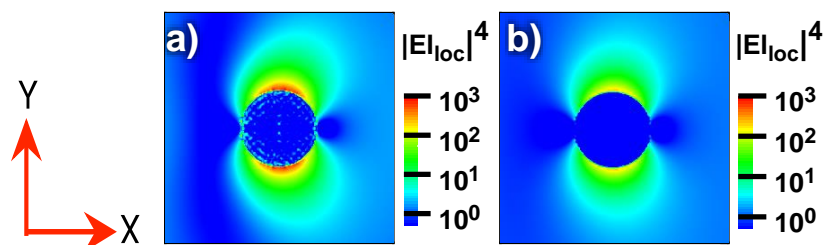


Figura 3-52. Imágenes de SERS-EF de una NP de Ag de 100 nm de diámetro a) sin capa y b) con capa de ácido tánico de 1 nm de grosor. Se emplearon 100,000 dipolos puntuales para los cálculos y $\lambda=632$ nm, propagándose en dirección X con un estado de polarización en dirección Y.

En la tabla 3.26 presentamos los valores máximos del SERS-EF de una NP de Ag y Au recubierta con ácido y sin ácido. De las imágenes 3-48, 3-49, 3-51 y 3-52, presentadas anteriormente, se hizo un análisis de los datos para determinar los valores de SERS-EF. Se hizo un programa en fortran que elimina del archivo de datos el campo eléctrico de todos los puntos que se encuentran en el interior de la esfera y más allá de 5 nm fuera de su superficie.

Posteriormente se determinaron los valores máximos de SERS-EF de NP Au, NP de Ag, NP Au@ascórbico y NP Ag@Tánico con ayuda del software PRO FIT versión 7.1.

La NP de Au presenta un mayor SERS-EF del orden de 10^3 cuando se excita a una frecuencia cercana o igual a su RPS ($\lambda=522$ nm). Cuando se considera la capa del agente funcionalizante el SERS-EF disminuye a un orden de 10^2 .

En el caso de la NP de Ag se logra un SERS EF de 10^3 , para todas las longitudes de onda, ver tabla 3.26. Como vemos en la Figura 3-51, la longitud de onda del láser de 632 nm está muy lejos de cualquiera de las RPS; en consecuencia, se produce el SERS-EF más bajo. G.C. Schatz reporta que NPs de Ag esféricas de 30 nm de diámetro tienen un SERS-EF del orden de 10^3 [3]. Observamos que el SERS-EF sí se ve afectado cuando la capa de ácido tánico se toma en cuenta disminuyendo del orden de 10^3 a 10^2 , cuando se excita a 632 nm, ver Figura 3-52.

Tabla 3.26 Máximo de SERS EF obtenido de una NP de Au y Ag a diferentes longitudes de onda. También de un NP de Au y Ag con una capa de 1 nm de grosor de ácido ascórbico y ácido tánico, respectivamente.

Máximo SERS-EF					
Longitud de onda (λ)	374 nm (RPS cuadrupolo muy débil)	517 nm (principalmente RPS dipolar)	522nm (principalmente RPS dipolar)	530nm (principalmente RPS dipolar)	632 nm (RPS dipolar))
NP de Au	1.2×10^2	1.1×10^3	1.4×10^3	1.8×10^3	9.1×10^2
NP Au@ascórbico			8.5×10^2		5.7×10^2
Longitud de onda (λ)	353 nm (RPS cuadrupolo)	392 nm (RPS dipolar+débil-cuadrupolo)	400 nm (RPS dipolar+débil-cuadrupolo)	632 nm (RPS dipolar)	
NP de Ag	2.8×10^3	5.8×10^3	5.0×10^3	2.1×10^3	
NP Ag@tánico		3.1×10^3			3.4×10^2

3.2.3 Respuesta óptica de las esferas de SiO₂

A partir del empleo de técnicas experimentales se determinó que las esferas de SiO₂ tienen un diámetro de 290 nm. Además, se observó que presentan cierto grado de porosidad. A continuación, se presenta la eficiencia de extinción calculada de una esfera de SiO₂ con

distintos grados de porosidad, ver Figura 3-53. Se asume que en el rango óptico el índice de refracción es independiente de la frecuencia, es decir, es constante. En la Figura 3-53 a), se muestran las eficiencias ópticas de una esfera sólida ($n=1.46$), se observa una curva decreciente la cual se debe solo a contribución de Q_{dis} , la Q_{abs} es prácticamente cero, lo cual concuerda a la naturaleza dieléctrica del material. Se asume que el grado de porosidad afecta el índice de refracción, a mayor número de poros, menor índice de refracción. Por lo que, para los cálculos, propusimos simplemente usar diferentes índices de refracción efectivos. El índice de refracción más alto, $n=1.46$, representa SiO_2 no poroso, los otros valores menores, representan SiO_2 poroso, hemos asignado $n=1.15$ a un hipotético grado de porosidad muy alto. En la Figura 3-53 b) se muestra que la eficiencia de extinción es menor a medida que la porosidad aumenta. Por consiguiente, se esperan algunas diferencias entre el campo eléctrico de las esferas.

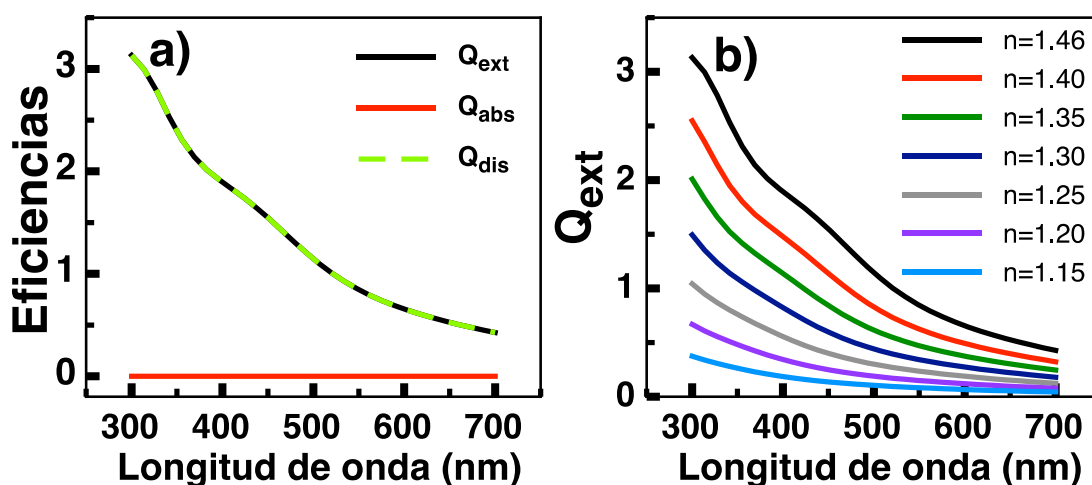


Figura 3-53 a) Espectros de eficiencia de extinción, absorción y dispersión de una esfera de SiO_2 no poroso, de 290 nm. En b), espectros de eficiencia de extinción variando la porosidad, de un índice de refracción efectivo de 1.46 (no porosa) a 1.15 (extremadamente porosa). Se consideró como medio circundante el aire.

En la Figura 3-54 se presentan imágenes del campo eléctrico de una esfera de SiO_2 con distinto grado de porosidad. El plano que se muestra es aquel que pasa por el centro de la esfera. La esfera sólida o con porosidad cero ($n=1.46$) muestran valores máximos $|E_{loc}|$, que se alcanzan en el interior de la esfera, por lo que es irrelevante para la mejora de la señal Raman. El campo en el interior es resultado de la polarización del dieléctrico. Por el contrario, el campo eléctrico cerca de la superficie es muy bajo, este es un resultado esperado

debido a la naturaleza dieléctrica del SiO₂. En las imágenes presentamos la magnitud del campo eléctrico cercano por la escala de colores y su dirección por las flechas. Cada flecha indica la dirección del campo eléctrico en la posición de su punto inicial, además, se ha escalado la longitud de la flecha para tener una mejor visualización del comportamiento del campo. Para una mejor visualización del campo, cada 20 nm está una flecha, independientemente de la distancia de separación entre dipolos utilizada en los cálculos DDA. Se observa que el $|E_{loc}|$ disminuye y tiende a volverse más uniforme dentro de la esfera a medida que el índice de refracción efectivo disminuye. La falta de uniformidad es algo esperado ya que la longitud de onda incidente es comparable al tamaño de la esfera ($\lambda \approx 2.2D$, D es el diámetro de la esfera). En general, el campo dispersado por la esfera decae rápidamente, por lo tanto, fuera y lejos de la superficie de la esfera $|E_{loc}| \approx 1$, correspondiente a la intensidad del campo incidente. Recordando que el campo local es la suma del campo incidente y el dispersado, también hemos graficado al primero, corresponde a la línea roja incidente al campo local. En particular usamos la expresión:

$$\vec{E}_{inc}(x, t = 0) = \vec{E}_0 \cos(k_x x) \hat{y}, \quad (3.12)$$

donde $k_x = (2\pi/\lambda)$ y $\vec{E}_0 = \hat{y}$.

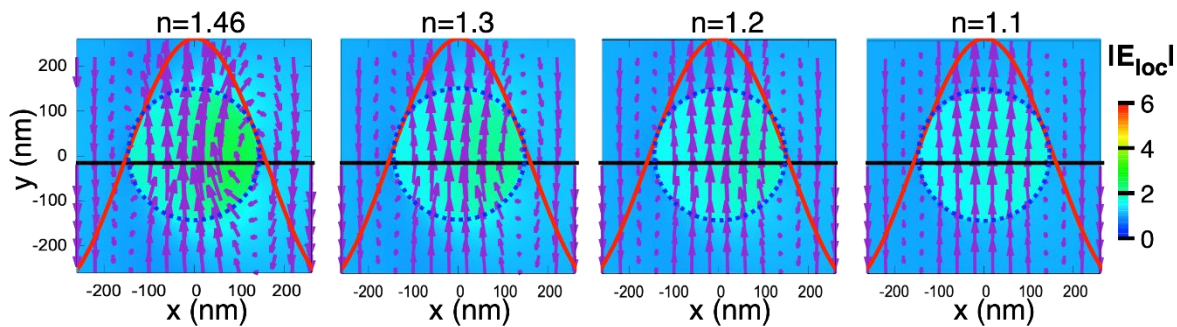


Figura 3-54. El campo eléctrico de una esfera de SiO₂ de 290 nm de diámetro considerando un índice de refracción efectivo alto $n=1.46$ hasta bajo $n=1.1$, su magnitud está indicada por la escala de colores y su dirección por las flechas. El campo eléctrico incidente aplicado está representado por la línea roja, y satisface la ecuación 3.12, con $\lambda = 632$ nm, su vector de onda es paralelo al ecuador (eje x) y el estado de polarización es paralelo al eje y .

3.2.4 Determinación del valor de SERS-EF de las películas compuestas

Las imágenes obtenidas por AFM y por SEM mostraron que las películas compositas no tienen arreglos periódicos. Además, en el caso de las muestras de las NPs de Au depositadas sobre las esferas de SiO₂, se observó que éstas se encuentran localizadas en los intersticios del ensamble de las esferas de SiO₂. Por otro lado, en las muestras con NPs de Ag, se encontró que estas NPs se aglomeran en la superficie de las esferas de SiO₂; al igual que el Au, también forman aglomerados. En ambas películas compositas se observaron clusters metálicos pequeños, de unas cuantas NPs (ver Figuras 3-19 y 3-20), los cuales se encuentran rodeados de esferas de SiO₂.

Para identificar los posibles cambios del campo eléctrico de la NPs metálicas, al estar rodeadas por esferas dieléctricas, nos dimos a la tarea de estudiar primero dímeros, y luego un conjunto de una o tres NPs metálicas depositadas sobre tres esferas dieléctricas.

A continuación, se presentan los resultados de un dímero, en aire, formado por una esfera de SiO₂ de 290 nm de diámetro y una NP metálica de 100 nm, con una separación entre ellas de 1 nm. También se consideró una capa del agente estabilizante (cuya presencia se determinó de las técnicas experimentales) de un grosor de 1 nm. El tener un dímero de dos esferas de diferente tamaño genera una asimetría; por consiguiente, el estado de polarización del campo incidente tiene un papel relevante. Elegimos tres configuraciones principales, ver Figura 3-55. En la primera configuración (C-1), el estado de polarización es perpendicular al eje principal del dímero, en la segunda configuración (C-2) es paralela, y en la tercera configuración (C-3) forma un ángulo de 45° con el estado de polarización.

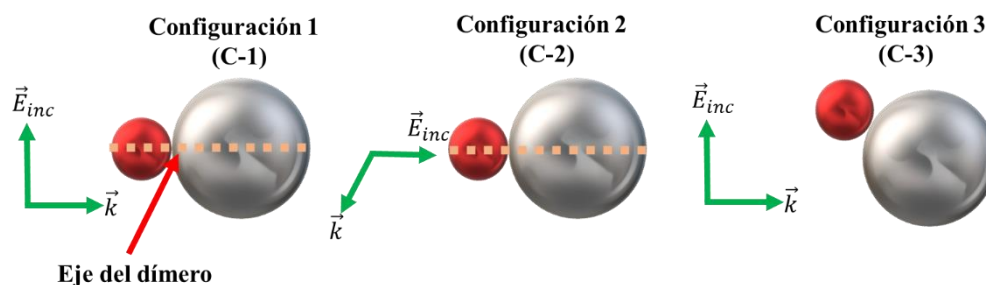


Figura 3-55. El campo externo incide sobre el dímero con un estado de polarización perpendicular (C-1), paralela (C-2) y a 45° (C-3) respecto de su eje principal.

En la Figura 3-56, se presentan imágenes de campo cercano del dímero de SiO₂-Au, se consideró una capa de ácido ascórbico de 1nm de grosor sobre la NP. Se utilizó una longitud de onda incidente del láser de $\lambda = 632$ nm y de su resonancia de plasmón de superficie dipolar,

la cual se estudió en secciones anteriores y se encuentra en $\lambda=522$ nm. En el panel a) y a') se observa el resultado de la configuración C-1, a $\lambda=632$ nm la distribución del campo eléctrico alrededor de la NP es dipolar, mientras que a $\lambda=522$ nm la distribución es principalmente dipolar con una débil contribución cuadrupolar, tal como se observó anteriormente en la sección 3.2.2. Sin embargo, el SERS-EF disminuyó debido a la presencia de la esfera dieléctrica que al estar en contacto con el campo eléctrico incidente se polarizó, generando un campo que afecta a los plasmones de superficie de la NP. Cuando el campo incidente tiene un estado de polarización como el de la configuración C-2, el campo eléctrico alrededor de la NP es muy intenso, por lo que penetra a la esfera dieléctrica de SiO_2 por varios nanómetros, además, la penetración es mayor cuando es excitada a $\lambda=632$ nm, ver b) y b'). En la configuración C-3, se observa que el campo mantiene una distribución esencialmente dipolar, además, es tan intenso que penetra por algunos nanómetros a la esfera dieléctrica, la penetración es ligeramente mayor al ser excitada a su RPS, ver paneles c) y c').

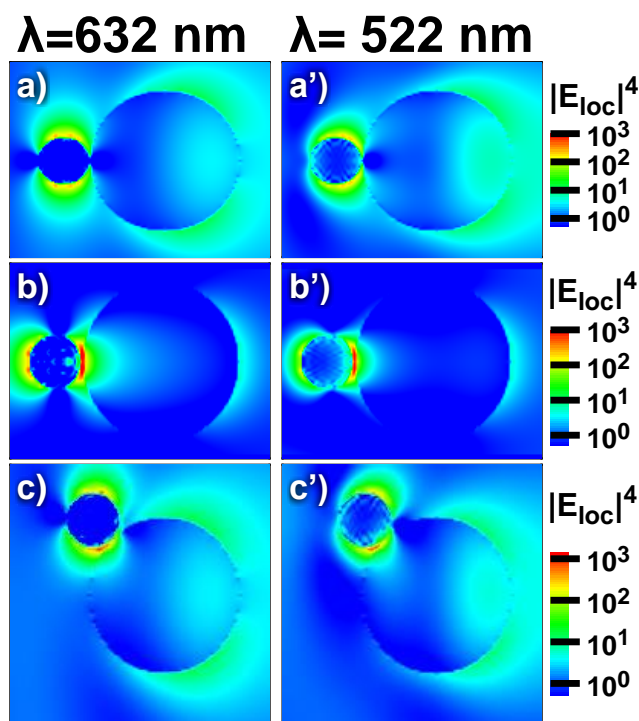


Figura 3-56. Imágenes de campo cercano de un dímero de una esfera de SiO_2 (290 nm de diámetro) con una NP de Au de 100 nm de diámetro con una capa de ácido ascórbico de 1 nm de grosor, cuando el campo incidente tiene un estado de polarización perpendicular (C-1), paralelo (C-2) y a 45 grados (C-3) respecto del eje del dímero. Del lado izquierdo la longitud de onda incidente es de 632 nm, la del lado derecho es de $\lambda=522$ nm y corresponde a la SPR dipolar de la NP de Au.

En la tabla 3.27 mostramos los valores máximos de SERS-EF para el dímero de SiO₂-Au aquí estudiado, podemos concluir que el orden de magnitud del SERS-EF no se ve afectado cuando está excitado con una longitud de onda fuera o dentro de la resonancia. Para todas las configuraciones el orden del SERS-EF no se ve afectado cuando se incide una longitud de onda de $\lambda=632$ nm o una $\lambda=522$ nm. Para las configuraciones C-2 y C-3 su SERS-EF es del orden de 10^3 . Mientras que el SERS-EF de C-1 es de 10^2 .

Tabla 3.27 Máximo SERS-EF de los dímeros de SiO₂-Au cuando son excitados en $\lambda=632$ nm y $\lambda=522$ nm.

Máximo SERS-EF

λ	NP Au	SiO ₂	C-1	C-2	C-3
632 nm	5.7×10^2	1.5×10^1	4.3×10^2	3.3×10^3	1.0×10^3
522 nm	8.5×10^2	1.5×10^1	4.2×10^2	3.7×10^3	1.2×10^3

Para conocer el efecto que tiene la esfera de SiO₂ sobre la respuesta óptica de la NP, se calcularon las eficiencias de Q_{ext} . En la Figura 3-57 a) mostramos los espectros de extinción de la NP de Au sola (línea negra) y de una esfera de SiO₂ (línea gris), las cuales discutimos anteriormente. El espectro de una NP de Au con la capa de ácido ascórbico de 1 nm (Au@ascórbico, línea azul) muestra que la respuesta óptica de la NP no se ve afectada por la presencia de la capa. En cambio, en el dímero de SiO₂-Au la intensidad de la banda del plasmon dipolar disminuye, en el espectro predominan los efectos de dispersión de luz por la esfera de SiO₂, para todas las configuraciones. En la C-1 su máximo corresponde a la posición del plasmon de la NP, pero su intensidad es casi la mitad, mientras que las C-2 y C-3 tienen un máximo en $\lambda=530$ nm y $\lambda=528$ nm, respectivamente. En los experimentos la onda incidente cubre un área del sustrato, donde se espera que las NPs de Au y las esferas de SiO₂ tengan configuraciones C-1, C-2 o C-3, por lo que el detector captará una señal que resulte del promedio de todas esas configuraciones. Por consiguiente, se obtuvo el promedio de la respuesta de las tres configuraciones, ver Figura 3-57b, el espectro del promedio (línea guinda) tiene una banda muy débil en $\lambda=528$ nm.

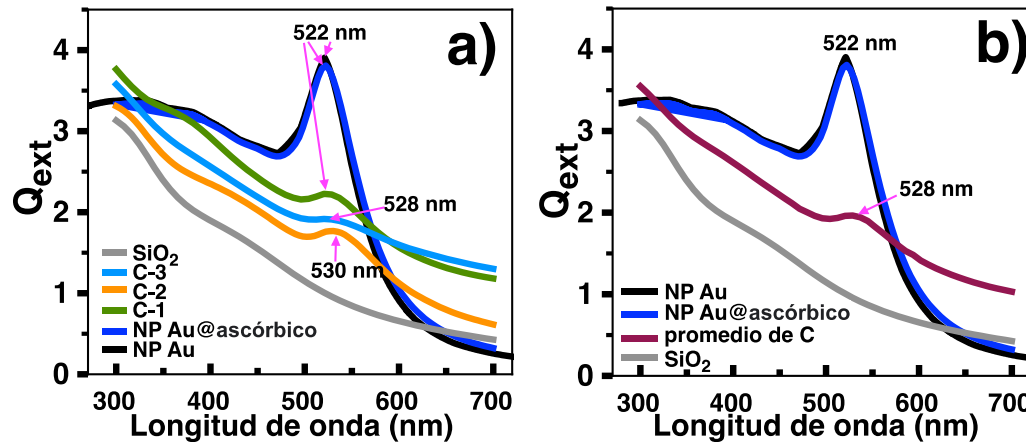


Figura 3-57. Espectros de Q_{ext} de la NP de Au sola, NP de Au con su capa de ácido ascórbico, de la esfera de SiO_2 y a) con los tres espectros de las configuraciones C-1, C-2 y C-3; b) del promedio de las tres configuraciones.

El posible efecto de la porosidad de la esfera de SiO_2 sobre el campo cercano del dímero de SiO_2 -Au también fue estudiado. En la Figura 3-58 mostramos imágenes de campo cercano del dímero, cuando el índice de refracción de la esfera de SiO_2 varía de 1.46 (no porosa) a 1.05 (extremadamente porosa). Realizamos cálculos para las tres configuraciones, C-1, C-2 y C-3, observamos resultados similares para todos los casos, así que para fines ilustrativos solo presentamos el campo correspondiente C-3. A medida que la porosidad aumenta, la distribución espacial del campo no se ve afectada, pero sí su intensidad. La región de puntos calientes que se encuentra en la interfaz metal-dieléctrico presenta una disminución en su intensidad. Además, a medida que la esfera es más porosa, su presencia ya no afecta tanto a la NP, ya que el campo tiende a parecerse más al de la nanopartícula aislada.

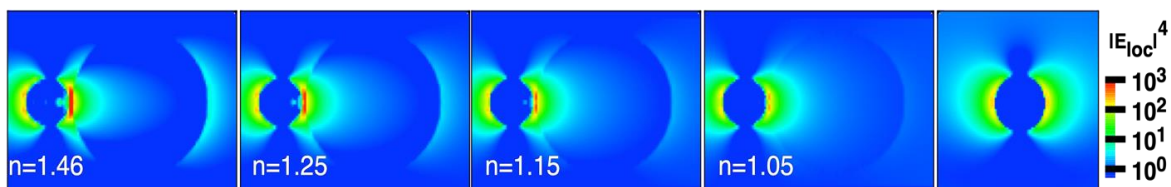


Figura 3-58. Imágenes de $|E_{loc}|^4$ de un dímero de una esfera de SiO_2 con una NP de Au con una capa de ácido ascórbico. La porosidad de la esfera se ha modelado usando un índice de refracción efectivo entre 1.46 (no porosa) y 1.05 (extremadamente porosa). La longitud de onda de excitación empleada es de 632 nm. El campo incidente corresponde a la configuración C-2.

En la tabla 3.28 se muestran los valores de SERS-EF del orden de 10^2 con la configuración C-1, no hay un efecto apreciable conforme aumenta la porosidad de la esfera

de SiO₂. Mientras que con las configuraciones C-2 y C-3, conforme aumenta la porosidad de la esfera dieléctrica el SERS-EF disminuye acercándose al valor de una NP de Au@ascórbico.

Tabla 3.28 Máximo de SERS EF obtenido de los dímeros de SiO₂-Au, considerando desde una esfera no porosa (n=1.46) hasta una muy porosa (n=1.05). Para fines de comparación, en la última columna se reporta el SERS EF de una NP de Au con una capa de 1 nm de grosor de ácido ascórbico para su comparación.

Máximo SERS-EF

	1.46	1.25	1.15	1.05	NP@ascórbico
C-1	4.3x10 ²	4.1x10 ²	3.9x10 ²	3.7x10 ²	5.7x10 ²
C-2	3.3x10 ³	1.9x10 ³	8.9x10 ²	5.6x10 ²	5.7x10 ²
C-3	1.0x10 ³	8.4x10 ²	6.9x10 ²	6.4x10 ²	5.7x10 ²

Para el caso del dímero de SiO₂-Ag se realizaron los mismos cálculos ahora considerando a la NP de Ag. La RPS de las NPs de Ag se encuentra en $\lambda=392$ nm por lo que se obtuvieron imágenes de campo cercano a la cuarta potencia a esa longitud de onda. En la Figura 3-59a) y a') se observa el campo cercano de la C-1, se aprecia que cuando la onda incidente es de 632 nm, el campo de la NP tiene una distribución de plasmon dipolar, tal como se presentó en la sección 3.2.3. Al usar $\lambda=392$ nm, que coincide con la RPS, la distribución del $|E_{loc}|^4$ es resultado de una contribución dipolar y cuadrupolar, estas contribuciones permiten generar más puntos calientes; al ser una distribución asimétrica y muy intensa el campo penetra a la esfera dieléctrica. En la C-2 se presenta una distribución de campo considerablemente dipolar, cuando el estado de polarización es paralelo al ecuador de las esferas la distribución del campo cercano es mayor cuando es excitada fuera de la resonancia de la NP sola, ver b) y b'). En el caso C-3, se observa que la intensidad del campo de la NP es suficiente para penetrar por algunos nm a la esfera dieléctrica, la penetración es mayor cuando se excita a la RPS de la NP, ver paneles c) y c'). Para todas las interacciones el SERS-EF es del orden de 10³ en los puntos calientes. En la tabla 3.29 se muestra los valores de SERS-EF de todos los casos analizados, donde se observa que los valores más intensos se alcanzan cuando se incide una onda de 392 nm.

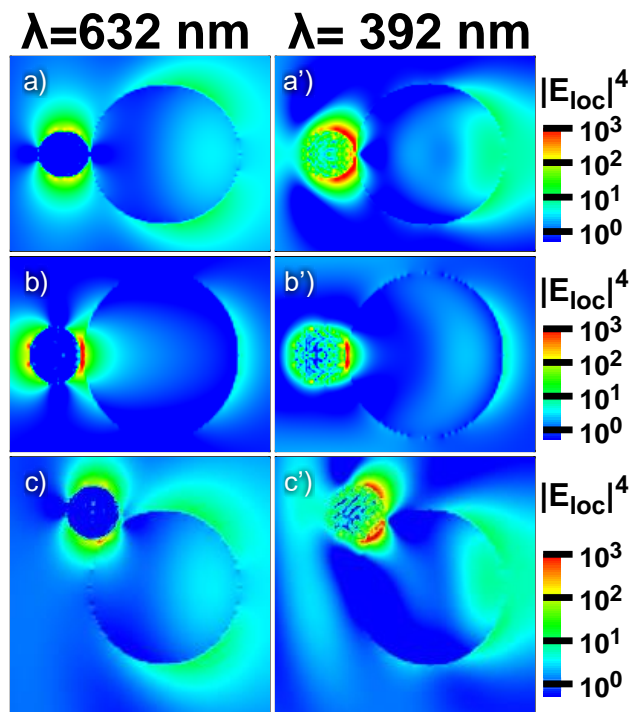


Figura 3-59. Imágenes de campo cercano de un dímero de una esfera de SiO_2 (290 nm de diámetro) con una NP de Ag de 100 nm de diámetro con una capa de ácido tánico de 1 nm de grosor, cuando el campo incidente tiene un estado de polarización perpendicular (C-1), paralelo (C-2) y a 45 grados (C-3) respecto del eje del dímero. Del lado izquierdo la longitud de onda incidente es de 632 nm, la del lado derecho es de $\lambda=392$ nm y corresponde a la SPR dipolar de la NP de Ag.

Los valores de SERS-EF de los dímeros de SiO_2 -Ag se muestran en la tabla 3.29. Se observa que a una fuente de excitación de $\lambda=632$ nm, el orden del SERS-EF de las configuraciones C-1 y C-3 es de 10^2 . En cambio, para C-2 es del orden de 10^3 . Cuando se excita en la RPS de la NP de Ag ($\lambda=392$ nm) el máximo SERS-EF aumenta de 10^2 a 10^3 para la configuración C-3. Se observa que la configuración C-1 no se ve muy afectada si la longitud incidente es $\lambda=392$ nm ó $\lambda=632$ nm.

Tabla 3.29 Máximo SERS-EF de los dímeros de SiO_2 -Ag cuando son excitados en $\lambda=632$ nm y $\lambda=392$ nm.

Máximo SERS-EF

	NP Ag	SiO_2	C-1	C-2	C-3
632 nm	3.4×10^2	1.5×10^1	3.1×10^2	4.5×10^3	9.6×10^2
392 nm	3.1×10^3	1.5×10^1	4.1×10^2	8.3×10^3	8.1×10^3

Se obtuvieron los espectros de Q_{ext} con el fin de conocer el efecto de la esfera de SiO_2 sobre la NP de Ag, ver Figura 3-60. Mostramos en a) los espectros de extinción de la NP de Ag sola (línea negra) y de la esfera de SiO_2 (línea gris), las cuales discutimos anteriormente. En el caso de una NP de Ag con la capa de ácido tánico (Ag@tánico, línea azul) de 1 nm se observó que la capa afecta levemente la respuesta de la NP, apreciando un desplazamiento de 2 nm hacia longitudes de onda mayor. En el espectro del dímero de SiO_2 -Ag se observa un caso similar al dímero de oro, la intensidad del espectro es menor al de la NP sola y hay una fuerte contribución de la dispersión de la esfera de SiO_2 . En la C-1 y C-2 se observa un desplazamiento en la posición de la banda del plasmon dipolar a 402 nm y 422 nm, respectivamente. También se observa la desaparición de la banda de los plasmones cuadrupolares. Mientras que en el espectro de C-3 hay un pequeño hombro que pudiera ser por un plasmon cuadrupolar y se encuentra desplazado a longitudes de onda menores, 363 nm. También se obtuvo el promedio de la respuesta de las tres configuraciones, ver Figura 3-60 b), en el espectro del promedio (línea guinda) la posición de su banda de plasmones dipolares se encuentra en 402 nm y es menos intensa en comparación con la NP sola.

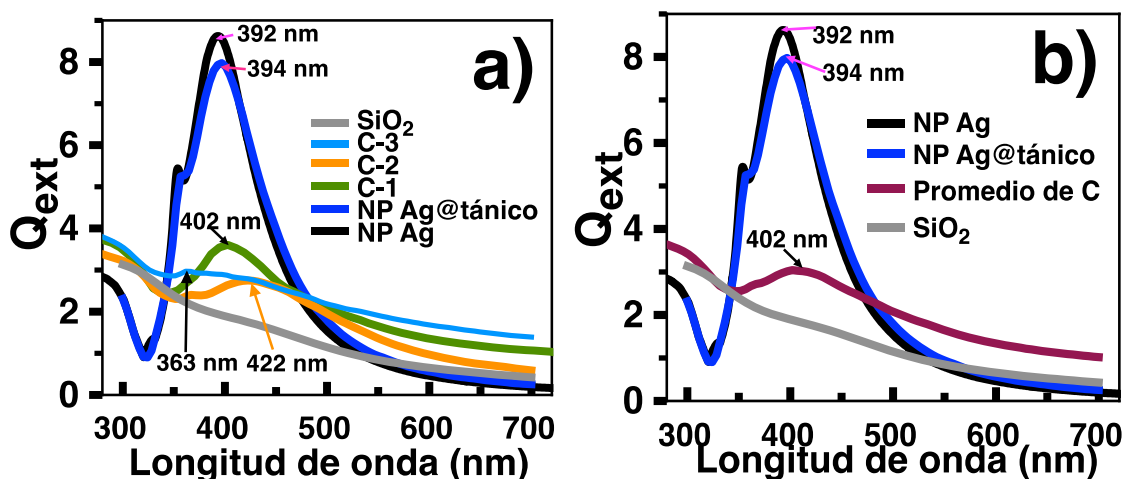


Figura 3-60. Espectros de Q_{ext} de la NP de Ag sola, NP de Ag con su capa de ácido tánico, de la esfera de SiO_2 y a) con los tres espectros de las configuraciones C-1, C-2 y C-3; b) del promedio de las tres configuraciones.

Las imágenes por TEM indican que las esferas de SiO_2 son porosas por lo que se calculó el arreglo del dímero variando la porosidad de las esferas de $n=1.25$ a 1.05 , ver Figura 3-61. La porosidad afecta la distribución de campo como se observó en el caso de las NPs

de Au, en el caso de las NPs de Ag los valores obtenidos de SERS-EF respecto al grado de porosidad son mostrados en la tabla 3.30.

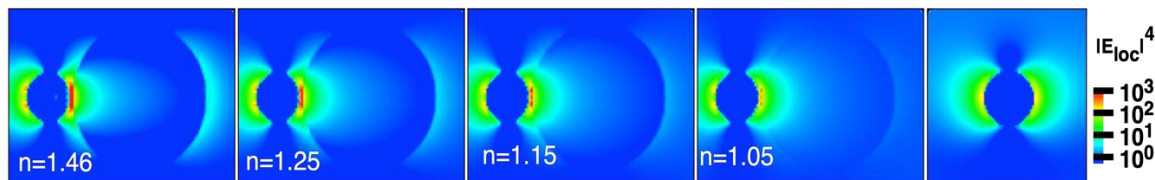


Figura 3-61. Imágenes de $|E_{loc}|^4$ de un dímero de una esfera de SiO_2 con una NP de Ag. La porosidad de la esfera se ha modelado usando un índice de refracción efectivo entre 1.46 (no porosa) y 1.05 (extremadamente porosa). La longitud de onda de excitación empleada es de 632 nm. El campo incidente corresponde a la configuración C-2.

Se muestra que los valores máximos de SERS-EF tienen un comportamiento similar al del dímero con NP de Au. En la configuración C-1 y C-3 el orden de magnitud del SERS-EF se mantiene en 10^2 , mientras que en la configuración C-2 disminuyó de un valor de 4.5×10^3 a 8.1×10^2 acercándose a valores de SERS-EF correspondientes a NP Ag@tánico.

Tabla 3.30 Máximo de SERS-EF obtenido de los dímeros de SiO_2 -Ag, considerando desde una esfera no porosa ($n=1.46$) hasta una muy porosa ($n=1.05$). También de un NP de Ag con una capa de 1 nm de grosor de ácido tánico para su comparación.

Máximo SERS-EF

	1.46	1.25	1.15	1.05	NP deAg@tánico
C-1	3.1×10^2	3.1×10^2	3.1×10^2	2.8×10^2	3.4×10^2
C-2	4.5×10^3	3.2×10^3	1.6×10^3	8.1×10^2	3.4×10^2
C-3	9.6×10^2	8.1×10^2	6.7×10^2	6.1×10^2	3.4×10^2

El modelado de un dímero asimétrico nos sirvió para entender el efecto que provoca una esfera dieléctrica sobre el campo de una NP metálica. En seguida, se presenta el estudio de sistemas que se parecen más a lo que se observa en las películas compositas (ver las imágenes por microscopia de la sección 3.1.4). La Figura 3-62 muestra los esquemas propuestos de los sistemas que se modelaron. Se consideró un arreglo de tres esferas de SiO_2 no porosas, separadas por una distancia superficie-a-superficie de 1 nm y con una o tres NPs en su intersticio. Se tomó en cuenta una onda electromagnética que atraviesa primero las NPs metálicas y después las esferas de SiO_2 , es decir, la onda viaja en dirección del eje x positivo

(incidencia normal respecto al plano de las esferas de sílice no porosas). El estado de polarización está en la dirección y .

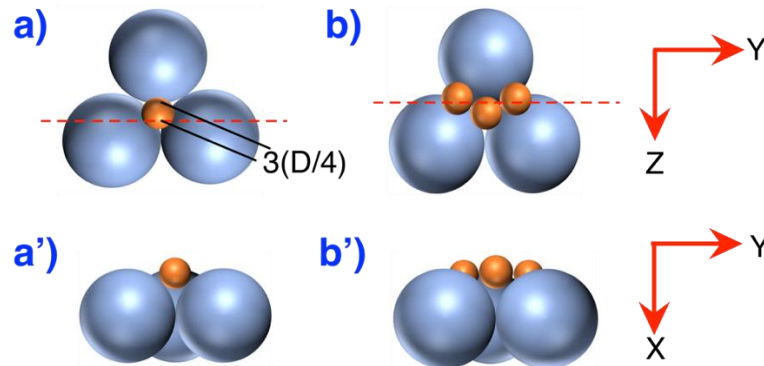


Figura 3-62. Esquema de tres esferas de SiO_2 (290 nm) en el plano yz y una o tres nanopartículas metálicas reposando sobre ellas. a) y b) son vistas superiores, mientras que a') y b') son vistas laterales. Se ha asumido un campo eléctrico incidente que viaja en dirección de x positivo (incidencia normal), además, su estado de polarización está a lo largo del eje y .

La Figura 3-63 muestra el SERS-EF a lo largo de un plano, paralelo al plano xy , que cruza las esferas en la posición de la línea discontinua marcada en las Figuras 3-62a) y b). En los paneles de a) y b) las partículas pequeñas son de plata y en c) y d) de oro. Los círculos y circunferencias de color rosa son solo una guía para indicar la posición de las esferas. Debido a la proximidad entre las NPs metálicas, el área de puntos calientes aumenta a medida que aumenta el número de NPs metálicas. Los valores correspondientes del SERS-EF máximo se proporcionan en la Tabla 3.31. En particular, cuando la longitud de onda incidente es de 632 nm, el arreglo de esferas dieléctricas con el grupo de tres NPs de Au presenta el SERS-EF máximo, alrededor de 4.3×10^4 .

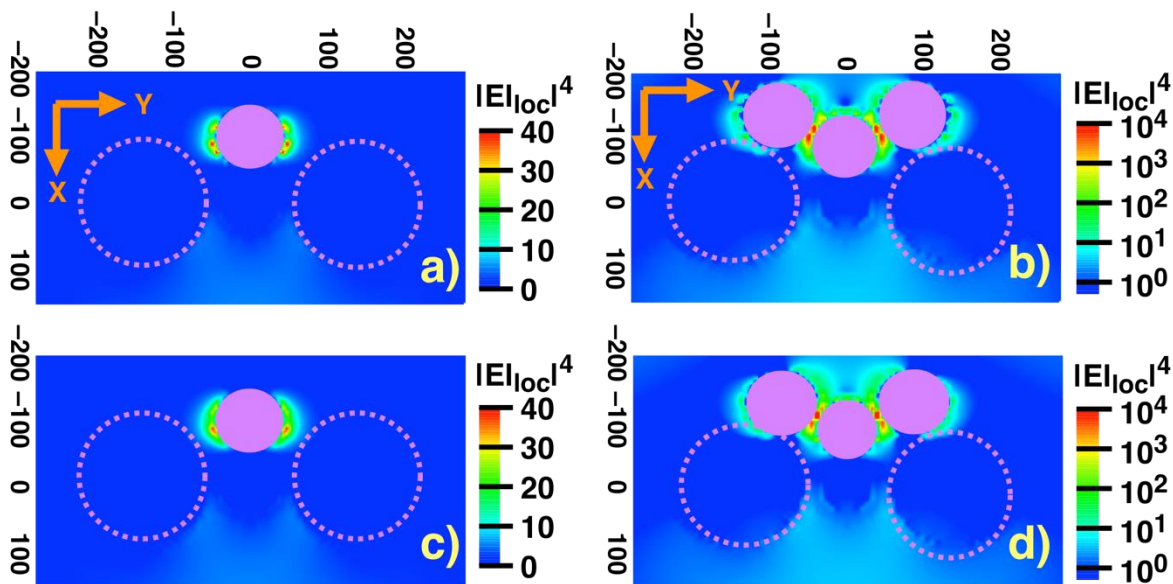


Figura 3-63. SERS-EF de una y tres NPs sobre esferas dieléctricas. Los planos graficados corresponden a los planos xy que cruzan las esferas en la posición de las líneas discontinuas marcadas en los paneles de la Figura 3-62. En a) y b) las partículas pequeñas son de plata y en c) y d) de oro. La longitud de onda incidente es de 632 nm y su estado de polarización está a lo largo del eje y .

Tabla 3.31 Máximo valor SERS-EF que se puede alcanzar con el material compuesto, a las longitudes de onda indicadas.

Excitación	1 Ag-SiO ₂	1 Au-SiO ₂	3 Ag-SiO ₂	3 Au-SiO ₂
$\lambda=632$ nm	6.1×10^1	4.3×10^1	3.5×10^4	4.3×10^4
$\lambda=392$ nm	4.3×10^1		1.7×10^3	
$\lambda=522$ nm		4.2×10^1		4.28×10^2

Para fines de comparación, también se calculó el SERS-EF de los arreglos anteriores para la longitud de onda de la SPR dipolar de una sola NP metálica. Para el compuesto con NPs de Ag usamos una longitud de onda incidente de $\lambda=392$ nm y con NPs de Au una longitud de onda de $\lambda=522$ nm, ver Figura 3-64. Para los dos materiales compósitos, con el clúster de tres NPs metálicas, se obtuvo un SERS-EF de alrededor de 10^4 a $\lambda=632$ nm, mientras que, al excitar con las longitudes de onda de resonancia de una NP, el máximo SERS-EF es menor, 10^2 - 10^3 . Los valores se encuentran en la tabla 3.31. Para explicar porque el SERS-EF es menor a la resonancia de la NP que a la del láser, nos basamos en estudios reportados previamente por G. C. Schatz y colegas [3]. Ellos encontraron que la SPR

longitudinal de un clúster lineal de tres esferas metálicas se encuentra desplazada hacia el infrarrojo; además, el desplazamiento depende de la distancia de separación entre esferas adyacentes. Al notar que no tenemos un cúmulo lineal pero que el tamaño de nuestras esferas y la distancia de separación son similares a los estudiados por G. C. Schatz, deducimos que: 1) una SPR colectiva del arreglo no lineal de NPs se encuentra en una longitud de onda relativamente más grande que la de una sola NP; y, 2) el cúmulo de 3 nanopartículas tiene un máximo de la eficiencia de extinción que está más cerca de $\lambda=632$ nm que de la SPR de una nanopartícula.

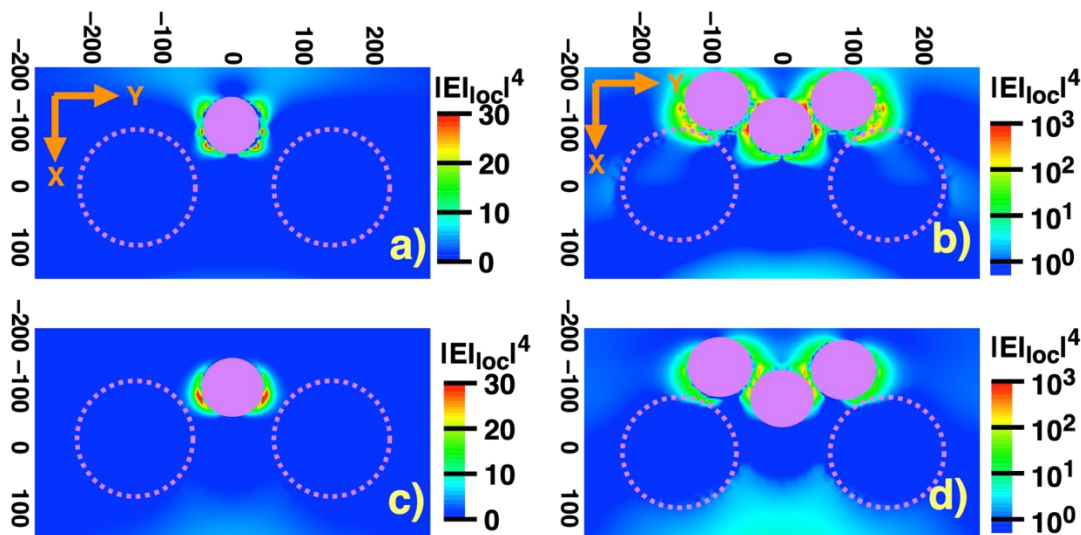


Figura 3-64. SERS-EF de una y tres NPs sobre esferas dieléctricas. Los planos graficados corresponden a los planos xy que cruzan las esferas en la posición de las líneas discontinuas marcadas en los paneles de la Figura 3-62. En a) y b) las partículas pequeñas son de plata y en c) y d) de oro. La longitud de onda incidente es de 392 nm para Ag y de 522 para Au.

Para verificar nuestras deducciones, hemos calculado los espectros ópticos de cada clúster, ver Figura 3-65. Lo que encontramos para ambos clusters es un amplio espectro con dos resonancias principales de modos colectivos. Como era de esperar, el espectro está desplazado hacia el rojo en comparación con el de una sola NP. El origen de la banda menos intensa, situada en longitudes de onda menores, tiene carácter de cuadrupolo, mientras que la otra, ubicada en longitudes de onda mayores, tiene carácter de dipolo, [3]. Las posiciones de las resonancias dipolares y cuadrupolares de los clusters se encuentran en la tabla 3.32. Por lo tanto, hemos verificado nuestra hipótesis, el modo colectivo dipolar y cuadrupolar del

cúmulo está desplazado hacia el rojo en comparación con la SPR dipolar y cuadrupolar de una NP.

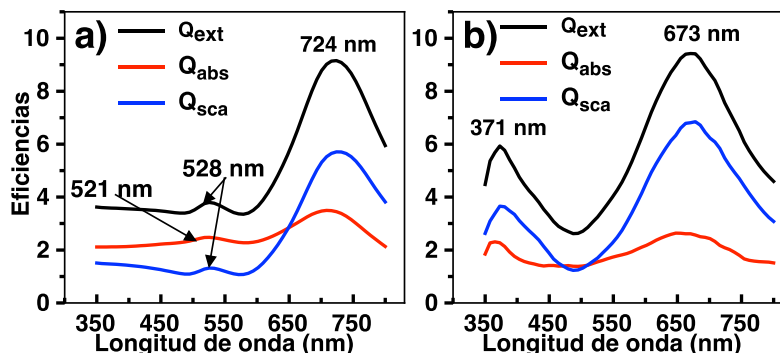


Figura 3-65. Eficiencias ópticas de a) NPs de Ag y b) NPs de Au que dan cuenta de las resonancias de modos colectivos de los arreglos de 3 nanopartículas metálicas (sin la presencia de esferas dieléctricas). El estado de polarización y la dirección de propagación del campo incidente es el mismo que el indicado en la Figura 3-62.

Tabla 3.32 Posición de las resonancias dipolares y cuadrupolares de las NPs solas y del clúster de 3 NPs.

	NP Au /cluster Au	NP Ag /cluster Ag
Dipolar	522 nm /724 nm	392 nm / 673 nm
cuadrupolar	--- nm/528 nm	353 nm / 371 nm

Los datos de la tabla 3.32 nos permiten identificar que la longitud de onda de 632 nm es la que se encuentra más cerca de la resonancia dipolar de cada clúster. Por ello, de las tres longitudes de onda de excitación empleadas, $\lambda=632$ nm, $\lambda=393$ nm y $\lambda=522$ nm, es con la primera con la que se alcanzan los valores máximos de SERS-EF con cada material compuesto (Tabla 3.31). Sin embargo, a $\lambda=632$ nm los materiales compuestos están fuera de resonancia, esto explica el bajo SERS-EF de 10^3 - 10^4 . La señal de SERS ciertamente se incrementará aplicando un láser con una longitud de onda cercana a $\lambda=673$ nm y $\lambda=724$ nm, para los cúmulos de Ag y Au, respectivamente.

Por último, mostramos en la Figura 3-66 el SERS-EF de aglomerados de NPs metálicas con y sin la presencia de esferas dieléctricas, sistema presentado en la Figura 3-62b) y d). El panel a) muestra las tres NPs de Ag aisladas las cuales presentan un SERS-EF del orden de 10^6 , mientras que cuando están en contacto con las esferas de SiO_2 su SERS-EF disminuye a 10^4 , ver panel a'). El aglomerado de tres NPs de Au manifiesta un comportamiento similar al de Ag (ver panel b y b'). Como se mencionó anteriormente al polarizarse las esferas de SiO_2 , el campo generado por éstas afecta a la NP, y por consiguiente al SERS EF. Anteriormente

mostramos imágenes de campo de una esfera dieléctrica, ahora mostramos dos planos diferentes del arreglo de 3 esferas dieléctricas, las cuales tienen 1 nm de separación entre sus superficies. El panel c) muestra el mismo plano de los paneles a') y b'), donde el $|E_{loc}|^4$ de las esferas apenas alcanza un valor de 15. Mientras que en c') se muestra el plano que pasa por el centro de dos esferas de SiO₂ (la tercera esfera está detrás de ellas); en éste plano en la zona de separación entre las esferas hay un valor de $|E_{loc}|^4$ de 45. Cuando la esfera de SiO₂ está sola tiene una contribución nula al SERS-EF, pero cuando más de dos esferas están cerca generan una ligera contribución al SERS-EF, entre 15 y 45.

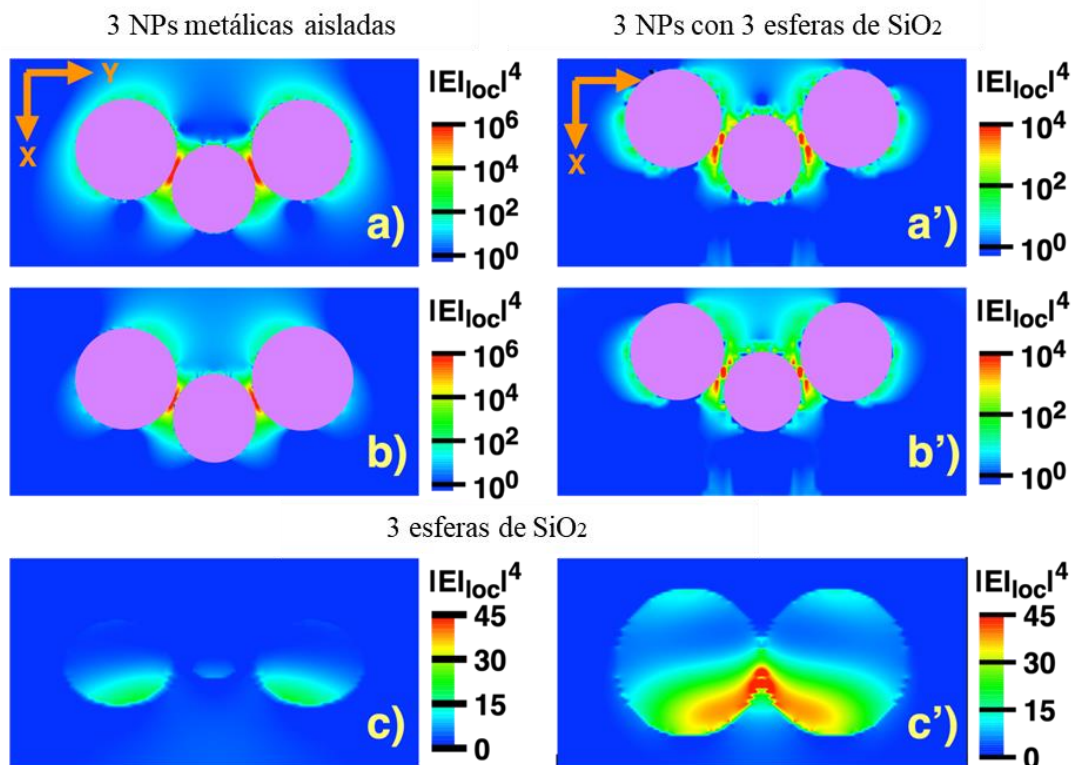


Figura 3-66. $|E_{loc}|^4$ de un cúmulo no lineal de tres nanopartículas metálicas de a) Ag y b) Au. En a') y b'), las NP de Ag y Au descansan sobre tres esferas de SiO₂, respectivamente. En los paneles c) y c'), se presenta el campo eléctrico a la cuarta potencia de un grupo de tres esferas de SiO₂ en diferentes planos.

Los valores de SERS-EF que se pueden alcanzar con los materiales aquí propuestos son pequeños en comparación con otros. Por ejemplo, existen materiales con clusters de nanopartículas con morfologías anisotrópicas que han permitido una amplificación de la intensidad Raman de 10^8 a 10^{10} [6-8]. Entre las desventajas de esos sistemas es la orientación aleatoria de las nanopartículas, la baja reproducibilidad y la ausencia de control en los hot

spots. Para aumentar el factor SERS-EF de nuestras muestras, proponemos emplear un láser que se acerque más a la resonancia dipolar de cada clúster metálico.

Por último, es importante mencionar que las simulaciones numéricas predicen un SERS-EF del orden de 10^4 , este valor es más pequeño que el estimado a partir de los experimentos con glucosa y T4. Una posible explicación es que falta considerar la contribución del factor de realce por el mecanismo químico, el cual se conoce que suele ser del orden de 10^1 - 10^2 . También es necesario tomar en cuenta la presencia de clusters con más de tres NPs, las cuales indudablemente contribuyen con un mayor número de puntos calientes, por ende, a un mayor número de moléculas excitadas.

Conclusiones

En este trabajo de tesis doctoral desarrollamos la síntesis y caracterización de diversos sustratos para aumentar la señal Raman de la glucosa y la tiroxina. Determinamos el tamaño y forma de nanopartículas metálicas de Au (53 nm) y Ag (48 nm) sintetizadas por diferentes métodos químicos. También se fabricaron esferas dieléctricas de SiO₂ por el método de Stöber, se mostró que las esferas de SiO₂ son porosas y de un diámetro cercano a de 290 nm.

La producción independiente de coloides de NPs metálicas y SiO₂ fue la base para fabricar películas compuestas por el método de evaporación del solvente. Con base a los resultados obtenidos por diferentes técnicas experimentales, concluimos que en las películas compositas se encuentran NPs individuales y también aglomerados de ellas. Además, a partir de mediciones de potencial zeta se determinó el signo de carga superficial de las NPs, encontrando que se encuentra el agente estabilizante empleado durante la síntesis. En el caso de las NPs de Ag, la capa es de ácido tánico, mientras que las NPs de Au tienen una capa de ácido ascórbico.

De los experimentos de SERS-EF con los cuatro tipos de sustratos (NPs de Ag, NPs de Au, SiO₂-Ag y SiO₂-Au) y diferentes concentraciones del analito (glucosa y T4), se concluye que a medida que se incrementa la concentración el SERS-EF aumenta. Para ambos analitos, los compositos SiO₂-Ag presentan el mayor valor de SERS-EF. Mientras que los sustratos de NPs de Au son los menos eficientes. Todos los sustratos aumentan la señal Raman de la glucosa de manera más eficiente que la de la T4. La menor concentración detectada confiable es de 0.05 mM para la T4, este valor se encuentra por debajo del intervalo que define al cuerpo humano sano y que es (0.064-0.141 mM). Por lo tanto, los sustratos SERS empleados nos permiten detectar concentraciones de T4 que definen condiciones de hipotiroidismo. Por otro lado, la menor concentración detectada confiable para la glucosa es de 5 mM, siendo éste un valor dentro de los niveles normales del cuerpo humano (4-6.11 mM). Es importante resaltar que se logró detectar glucosa a una concentración de 0.5 mM, concluyendo que los sustratos pueden ser útiles para diagnosticar casos de hipoglucemia.

A partir de los experimentos encontramos SERS-EF del orden 10⁶ -10⁷ para nuestras muestras, este factor de aumento no es tan grande como lo reportado para otros sustratos de solo Au y Ag que alcanzan un orden mayor a 10¹². Pero exitosamente hemos logrado detectar

T4 y glucosa a bajas concentraciones sin emplear moléculas etiquetadoras y con recubrimientos sin grandes cantidades de Au o Ag.

Por otro lado, existen muy pocos reportes de sustratos SERS para detectar T4, algunos con componentes de SiO₂ y NPs de Au o Ag se han empleado para detectar moléculas básicas como rodamina 6G, cristal de violeta y azul de metileno. Lo anterior revela que nuestros sustratos son una propuesta novedosa y original para detectar T4. Por el contrario, se encuentra una gran cantidad de sustratos SERS para detectar glucosa incluso en condiciones experimentales in vivo, sin embargo, no podemos realizar una comparación directa con esos sustratos porque hay al menos un parámetro diferente con los nuestros, por ejemplo, morfología, distribución de tamaño, entre otros.

Apoiados por herramientas teórico-numéricas, desarrollamos un estudio sistemático de la influencia de cada componente de los sustratos SERS en las eficiencias ópticas, el campo eléctrico local y el SERS-EF. Primero, calculamos las eficiencias ópticas de una sola NP metálica, determinamos la posición de sus resonancias dipolar y cuadrupolar. Hallamos que la RPS dipolar para una NP de Ag se encuentra en $\lambda=392$ nm y para una NP de Au en $\lambda=522$ nm. Encontramos que estas resonancias se encuentran a menores longitudes de onda en comparación con la resonancia de un cúmulo de 3 NPs. Es decir, la interacción entre NPs y sus plasmones individuales genera una distribución de carga cuya resonancia está a la derecha de la resonancia individual de una NP. En particular, la resonancia dipolar del colectivo se ubica en $\lambda=673$ nm y $\lambda=724$ nm para el cúmulo de Ag y Au, respectivamente.

La mayoría de los cálculos se realizaron a la misma longitud de onda del láser utilizado en los experimentos SERS, $\lambda=632$ nm. A esa longitud de onda, encontramos que el campo eléctrico de una esfera de SiO₂ es más débil y más uniforme a medida que aumenta su porosidad. También encontramos que en condiciones fuera de resonancia, un dímero de Au-SiO₂ con una esfera dieléctrica no porosa tiene una EF máximo de 3.2×10^3 , mientras que con una porosa es menor, de 8.6×10^2 .

Para modelar el SERS EF en regiones específicas de los sustratos compositos, nos limitamos a una sección representativa de los mismos, que consiste en una o tres NPs que descansan sobre un grupo de tres esferas dieléctricas. El SERS-EF máximo, del orden de 10^4 ,

se obtuvo con tres NPs de Au sobre esferas de SiO₂ no porosas; ésta mejora se atribuye principalmente a los puntos calientes que se forman en el cúmulo metálico.

En general, las esferas dieléctricas porosas juegan el papel de un sustrato que tiene el efecto de disminuir la intensidad de las eficiencias ópticas, así como de disminuir el campo eléctrico local.

La principal ventaja de las películas compositas aquí propuestas es la orientación de las NPs y la gran cantidad de puntos calientes que se presentan a lo largo de la superficie por los cúmulos metálicos.

Trabajo a futuro

Finalmente, se planea continuar con el proyecto y cubrir algunos puntos pendientes como:

- Fabricar películas de SiO_2 con una mayor concentración de esferas, a fin de lograr obtener ópalos artificiales.
- Trabajar en controlar la distribución y agregación de NPs.
- Fabricar los ópalos artificiales con carga de NPs metálicas evitando la porosidad de las esferas dieléctricas y probando este sustrato SERS con un láser de 785 nm.
- Cargar los ópalos con NPs metálicas de forma triangular, cúbica, entre otras, ya que se espera lograr un mayor SERS-EF con ellas.

Referencias

- [1] D. Vollath. (2013). *Nanomaterials: an introduction to synthesis, proprieties and applications*. Wiley.
- [2] E.L. Ru, P. Etchegoin. *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*, fist ed., Oxford, United Kingdom: Elsevier, 2009.
- [3] T. Jensen, L. Kelly, A. Lazarides, G.C. Schatz. (1999). Electrodynamics of Noble Metal Nanoparticles and Nanopartile Clusters. *J. Clust. Sci.* 10, 295-317. DOI: 10.1023/A:1021977613319
- [4] Y. Yang, S. Matsubara, L. Xiong, T. Hayakawa, M. Nogami. (2007). Solvothermal Synthesis of Multiple Shapes of Silver Nanoparticles and Their SERS Properties. *J. Phys. Chem. C.* 111, 9095-9104. DOI: 10.1021/jp068859b
- [5] S. Kundu, U. Nithiyantham. (2013). In-situ formation of Curcumin Stabilized Shape-selective Ag Nanostructures in aqueous Solution and their pronounced SERS Activity. *RSC Adv.* 3, 25278-25290. DOI: 10.1039/C3RA44471F
- [6] J.M. Romo-Herrera, A.L. González, L. Guerrini, F.R. Castiello, G. Alonso-Nuñez, O.E. Contreras, R.A. Alvarez-Puebla. (2016). Study of Depth and Size of Concave Cube Au Nanoparticles as Highly Sensitive SERS Probes. *Nanoscale.* 8, 7326-7333. DOI: 10.1039/C6NR01155A
- [7] Y. Han, S. Liu, B. Liu, C. Jiang, Z. Zhang. (2014). In situ loading of Ag nanocontacts onto silica nanospheres: a SERS platform for ultrasensitive detection. *RSC Adv.* 4, 2776–2782. DOI: 10.1039/c3ra44377a
- [8] L. Pérez-Mayen, J. Oliva, A. Torres-Castro, E. D. la Rosa. (2015). SERS substrates fabricated with star-like gold nanoparticles for zeptomole detection of analytes. *Nanoscale.* 7, 10249-10258. DOI: 10.1039/C5NR02004B
- [9] S. Hong, X. Li. (2013). Optimal size of gold nanoparticle for Surface-Enchanted Raman Spectroscopy under different condition. *J. of Nanomaterials.* 2013, 1-9. DOI:10.1155/2013/790323
- [10] P. Munnik, P.E. de Jongh, K.P. de Jong. (2015) Recent Developments in the Synthesis of Supported Catalysts. *Chemical Reviews.* 115(14), 6687–6718. DOI: 10.1021/cr500486u
- [11] C. Lu, R.H. Lipson. (2010). Interference lithography: a powerful tool for fabricating preiodic structures. *Laser Photonics Rev.* 4, 568-580. DOI: 10.1002/lpor.200810061
- [12] J. M. McMillin. (1990) *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory*. Boston: Butterworths.
- [13] G. Hennemann. (1986). *Thyroid Hormone Metabolism (Basic and Clinical Endocrinology Series)*. Marcel Dekker Inc

- [14] Z. Zeng, Y. Liu, J. Wei. (2016). Recent advances in surface enhanced Raman spectroscopy (SERS): finite difference time domain (FDTD) method for SERS and sensing applications. *Trends in Analytical Chemistry*. 75, 162–173. DOI: 10.1016/j.trac.2015.06.009
- [15] S.Y. Ding, E.M. You, J. Yi. (2017) Further expanding versatility of surface-enhanced Raman spectroscopy: From non-traditional SERS-active to SERS-inactive substrates and single shell-isolated nanoparticle. *Faraday Discuss.* 205, 457–468. DOI: 10.1039/C7FD00144D
- [16] Raman, C. V. (1998). A new radiation [Reproduced from Indian J. Phys., 1928, 2, 387–398]. *Current Science*, 74(4), 382–386. <http://www.jstor.org/stable/24101519>
- [17] Paul. (Abril de 2022). What is Raman Spectroscopy? Edinburgh Instruments. <https://www.edinst.com/fr/blog/what-is-raman-spectroscopy/>
- [18] K.E. Shafer-Peltier, C.L. Haynes, M.R. Glucksberg, R.P. Van Duyne. (2003). Toward a Glucose Biosensor Based on Surface-Enhanced Raman Scattering. *J. Am. Chem. Soc.* 125, 588-593. DOI: 10.1021/ja028255v
- [19] S. Nie, S.R. Emory. (1997). Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science*. 275, 1102-1106. DOI: 10.1126/science.275.5303.1102
- [20] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L.T. Perelman, I. Itzkan, R.R. Dasari, M.S. Feld. (1997). Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *Phys. Rev. Lett.* 78 (9), 1667-1670.
- [21] Z.Y. Li, Y. Xia. (2010). Metal Nanoparticle with Gain toward Single-Molecule Detection by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Nano Lett.* 10, 243-249. DOI: 10.1021/nl903409x
- [22] M. Fleischmann, P.J. Hendra, A.J. McQuillan (1974). Raman Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode. *Chem. Phys. Lett.* 26 (2), 163–166. DOI:10.1016/0009-2614(74)85388-1
- [23] S. Kaja, A. Nag. (2021) Bimetallic Ag–Cu Alloy Microflowers as SERS Substrates with Single-Molecule Detection Limit. *Langmuir*. 37 (44), 13027–13037. DOI: 10.1021/acs.langmuir.1c02119
- [24] W. Xie, B. Walkenfort, S. Schlücker. (2013). Label-Free SERS Monitoring of Chemical Reactions Catalyzed by Small Gold Nanoparticles Using 3D Plasmonic Superstructures. *J. Am. Chem. Soc.* 135 (5), 1657–1660. DOI: 10.1021/ja309074a
- [25] D. Majumdar, A. Singha, P.K. Mondal, S. Kundu. (2013). DNA-Mediated Wirelike Clusters of Silver Nanoparticles: An Ultrasensitive SERS Substrate. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 5 (16), 7798–7807. DOI: 10.1021/am402448j
- [26] N. Valley, N. Greeneltch, R.P. Van Duyne, G.C. Schatz. (2013). A Look at the Origin and Magnitude of the Chemical Contribution to the Enhancement Mechanism of Surface-

Enhanced Raman Spectroscopy (SERS): Theory and Experiment. *J. Phys. Chem. Lett.* 4, 2599-2604. DOI: 10.1021/jz4012383

[27] Z. Cai, Y.J. Liu, X. Lu, J. Teng. (2013). In Situ “Doping” Inverse Silica Opals with Size-Controllable Gold Nanoparticles for Refractive Index Sensing. *J. Phys. Chem. C.* 117, 9440–9445. DOI: 10.1021/jp4024298 |

[28] L.A.R. Cruz, A.S. Gómez, M.A.P. Ovando, O.H. Cristobal, E.S. Mora, A.L. González, M.T. Solano. (2018). Surface enhanced Raman scattering due to interstitial gold nanoparticles into SiO₂ spheres array, *Superlattices Microstruct.* 123, 71-80. DOI: 10.1016/j.spmi.2018.02.022

[29] G. C. Schatz, R. P. Van Duyne. (2002) Electromagnetic mechanism of surface-enhanced spectroscopy. Handbook of vibrational spectroscopy.

[30] M.P. Hong, J. Y. Kim, K. Vemula, H.S. Kima, K.B. Yoon. (2012). Synthesis of monodisperse mesoporous TiO₂ spheres with tunable sizes between 0.6 and 3.1 μm and effects of reaction temperature, Ti source purity, and type of alkylamine on size and monodispersity. *Chem. Commun.* 48, 4250-4252. DOI: 10.1039/C2CC30391D

[31] D.A. Stuart, A.J. Haes, C.R. Yonzon, E.M. Hicks, R.P. Van Duyne. (2005). Biological applications of localised surface plasmonic phenomena. *Proc. Nanobiotechnol.* 152 (1), 13-32. DOI: 10.1049/ip-nbt:20045012

[32] E. Feduchi, I. Blasco, C. Romero, E. Yáñez. (2011). Bioquímica conceptos esenciales. Panamericana.

[33] Juan José Martínez Guerra. (abril 2022). Estructura y función de la glucosa. Universidad autónoma de Aguascalientes. <https://libroelectronico.uaa.mx/capitulo-8-catabolismo-de/estructura-y-funcion-de-la.html>

[34] L. Krawiec, G. Juvenal, M. Pisarev. (2005). Fisiopatología Endocrinológica: Bioquímica y Métodos Diagnósticos. Química Montpellier.

[35] D. A. S Razo, L. Pallavidino, E. Garrone, F. Geobaldo, E. Descrovi, A. Chiodoni, F. Giorgis. (2008). A version of Stöber synthesis enabling the facile prediction of silica nanospheres size for the fabrication of opal photonic crystals. *J Nanopart Res.* 10, 1225-1229. DOI: 10.1007/s11051-008-9373-4

[36] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn. (1968). Controlled growth of monodisperse silica spheres in micron size range. *J. Colloid Interface Sci.* 26 (1), 62-69. DOI: 10.1016/0021-9797(68)90272-5

[37] D. J. Griffiths. (1999). Introduction to electrodynamics. Prentice-Hall, Inc.

[38] D. Vollath. (2013). Nanomaterials: an introduction to synthesis, properties and applications. Wiley.

- [39] A.L. González Ronquillo. (2008). Propiedades Ópticas de Nanopartículas Metálicas. (Tesis doctoral) Instituto de Física, UNAM, Ciudad de México.
- [40] M. Blaber, M. Arnold, M. Ford. (2009). Search for the ideal plasmonic nanoshell: the effect of surface scattering and alternatives to gold and silver. *J. Phys. Chem. C.* 113, 3041-3045. DOI:10.1021/jp810808h
- [41] N.W. Ashcroft, N.D. Mermin. Solid State Physics. First ed., New York, E.U.A. Cengage Learning, 1976.
- [42] K.L. Kelly, E. Coronado, L.L. Zhao, G.C. Schatz. (2003). The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *J. Phys. Chem. B.* 107, 668-677. DOI:10.1021/jp026731y
- [43] T. Jensen, L. Kelly, A. Lazarides, G.C. Schatz. (1998). Electrodynamics of noble Metal Nanoparticles and Nanoparticle Clusters. *J. of Cluster Sci.* 10 (2), 295-317. DOI: 10.1023/A:1021977613319
- [44] M. Kiraka, O. Cankob, M. Keskin. (2008). Dynamic Dipole and Quadrupole Phase Transitions in the Kinetic Metamagnetic Spin -3/2 Blume-Emery-Griffiths Model. *Zeitschrift fur Naturforschung a.* 64, 3-4. DOI: 10.1515/zna-2009-3-405
- [45] E. M. Purcell, C. R. Pennypacker. (1973). Scattering and absorption of light by nonspherical dielectric grains. *Astrophys. J.* 186, 705-714. DOI: 10.1086/152538
- [46] B.T. Draine, E.J. Flatau. (1994). Discrete-dipole approximation for scattering calculations. *J. Opt. Soc. Am. A.* 11(4), 1491-1499. DOI: 10.1364/JOSAA.11.001491
- [47] E.M. Purcell, C.R. Pennypacker. (1973) Scattering and absorption of light by nonspherical dielectric grains. *Astrophysical Journal.* 186; 705-714. DOI:10.1086/152538
- [48] J.D. Jackson. (1999) Classical Electrodynamics. New York: John Wiley and Sons Inc.
- [49] B.T. Draine, P.J. Flatau. (2008). The Discrete Dipole Approximations for Periodic Targets: Theory and Tests. *J. Opt. Soc. Am. A.* 25, 2693-2703. DOI: 10.1364/JOSAA.25.002693
- [50] E.L. Ru, P. Etchegoin. (2006). Rigorous justification of the $|E|^4$ enhancement factor in Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Chem. Phys. Lett.* 423, 63-66. DOI: 10.1016/j.cplett.2006.03.042
- [51] E. Feduchi, I. Blasco, C. Romero, E. Yáñez. (2011). Bioquímica conceptos esenciales. Panamericana.
- [52] Juan José Martínez Guerra. (abril 2022). Estructura y función de la glucosa. Universidad autónoma de Aguascalientes. <https://libroelectronico.uaa.mx/capitulo-8-catabolismo-de/estructura-y-funcion-de-la.html>

- [53] L. Krawiec, G. Juvenal, M. Pisarev. (2005). Fisiopatología Endocrinológica: Bioquímica y Métodos Diagnósticos. Química Montpellier.
- [54] T.C. Damato, C.C. de Oliveira, R.A. Ando, P.H.C. Camargo. (2013). A Facile Approach to TiO₂ Colloidal Spheres Decorated with Au Nanoparticles Displaying Well-Defined Sizes and Uniform Dispersion Tatiana. *Langmuir*. 29 (5), 1642-1649. DOI: 10.1021/la3045219
- [55] N.G. Bastus, F. Merkiçi, J. Piella, V. Puntès. (2014). Synthesis of Highly Monodisperse Citrate-Stabilized Silver Nanoparticles of up to 200 nm: Kinetic Control and Catalytic Properties. *Chem. Mater.* 26 (9), 2836-2846. DOI: 10.1021/cm500316k
- [56] P.B. Johnson, R.W. Christy. (1972). Optical Constants of the Noble Metals. *Phys. Rev. B*. 6, 4370-4379. DOI: 10.1103/PhysRevB.6.4370
- [57] A.J. Carmona-Carmona, M.A. Palomino, O. Hernández, E. Sánchez, M. Toledo. (2017) Synthesis and characterization of magnetic opal/Fe₃O₄ colloidal crystal. *Journal of Crystal Growth*. 462, 6-11. DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2016.12.105
- [58] J. Tauc, R. Grigorovici, A. Vancu. (1966). Optical Properties and Electronic Structure of Amorphous Germanium. *Physica Status Solidi (b)*. 15(2), 627–637. DOI: 10.1002/pssb.19660150224
- [59] A. Escobedo-Moralesa, I.I. Ruiz-López, M. deL.Ruiz-Peraltaa, L. Tepech-Carrillobc, M. Sánchez-Cantúa, J.E. Moreno-Oreaa. (2019). Automated method for the determination of the band gap energy of pure and mixed powder samples using diffuse reflectance spectroscopy. *Heliyon*. 5 (4), e01505. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01505
- [60] A. Mortezaali, S. R. Sani, F.J. Jooni. (2009). Correlation Between Porosity of Porous Silicon and Optoelectronic Properties. *J. of Non-Oxide Glasses*. 1 (3), 293-299.
- [61] M. Cruz, C. Wang, M. R. Beltrán. (1996). Morphological effects on the electronic band structure of porous silicon. *Physical Review B*. 53 (7), 3827-3832. DOI: 10.1103/PhysRevB.53.3827
- [62] M. Kadi, E.M. Media, H. Gueddaoui, R. Outemzabet. (2014). Reflectance modeling of electrochemically P-type porosified silicon by Drude–Lorentz model. *Appl. Surf. Sci.* 312, 34-38. DOI: 10.1016/j.apsusc.2014.06.046
- [63] E.V. Astrova, V.A. Tolmachev. (2000). Effective refractive index and composition of oxidized porous silicon films. *Materials Science and Engineering B*. 69, 142-148. DOI: 10.1016/S0921-5107(99)00236-6
- [64] Y. Wan, N.A. Krueger, C.R. Ocier, P. Su, P.V. Braun, B.T. Cunningham. (2017). Resonant Mode Engineering of Photonic Crystal Sensors Clad with Ultralow Refractive Index Porous Silicon Dioxide. *Adv. Optical Mater.* 1700605. DOI: 10.1002/adom.201700605
- [65] N. Bachan, A. Asha, W.J. Jeyarani, D.A. Kumar, J.M. Shyla. (2015). A Comparative Investigation on the Structural, Optical and Electrical Properties of SiO₂–Fe₃O₄ Core–Shell

Nanostructures with Their Single Components. *Acta Metallurgica Sinica*. 28, 1317-1325. DOI: 10.1007/s40195-015-0328-3

[66] Z.A. Weinberg, G.W. Rubloff, E. Bassous. (1979). Transmission, photoconductivity, and the experimental band gap of thermally grown SiO₂ films. *Phys. Rev. B*. 19 (3107), 3107-3117. DOI: 10.1021/la403269u

[67] S. Bhattacharjee. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*. 235, 337–351. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017

[68] P. Slepíčka, N.S. Kasálková, J. Siegel, Z. Kolská, V. Švorčík. (2019). Methods of Gold and Silver Nanoparticles Preparation. *Materials*. 13 (1), 1. DOI: 10.3390/ma13010001

[69] S. Annur, S.J. Santosa, N.H. Aprilita. (2018). pH Dependence of Size Control in Gold Nanoparticles Synthesized at Room Temperature. *Oriental Journal of Chemistry*. 34,2305-2312. DOI: 10.13005/ojc/340510

[70] T. Ritthichai, V. Pimpan. (2019). Ammonia sensing of silver nanoparticles synthesized using tannic acid combined with UV radiation: Effect of UV exposure time. *Journal of King Saud University – Science*. 31, 277–284. DOI: 10.1016/j.jksus.2017.10.003

[71] M.M. Borah, T.G. Devi. (2017). Vibrational studies of Thyroxine hormone: Comparative study with quantum Chemical calculations. *Journal of Molecular Structure*. 1148, 293-313. DOI: 10.1016/j.molstruc.2017.07.063

[72] R.V.K. Rizzon, Z.M.D.C. Ludwing, L. Modesto-Costa, V. Ludwing. (2020). Thyroxine: A Theoretical Study of the Vibrational and Electronic Properties. *QUARKS: Braz. Electron. J. of Phys. Chem. And Mat. Sci.* 3 (1), 31-40. DOI: 10.34019/2674-9688.2020.v3.30941

[73] R.M.S. Álvarez, C.O.D. Védova, H.G. Mack, R.N. Farías, P. Hilderbrandt. (2002). Raman spectroscopic study of the conformational changes of thyroxine induced by interactions with phospholipid. *Eur. Biophys. J.* 31, 448-453. DOI: 10.1007/s00249-002-0238-y

[74] Cho, W. J.; Kim, Y.; Kim, J. K. (2012). Ultrahigh-Density Array of Silver Nanoclusters for SERS Substrate with High Sensitivity and Excellent Reproducibility. *ACS Nano*. 6, 249–255. DOI: 10.1021/nm2035236

[75] D.K. Lim, K.S. Jeon, J.H. Hwang, H. Kim, H. Kwon, Y.D. Suh, J.M. Nam. (2011). Highly uniform and reproducible surface-enhanced Raman scattering from DNA-tailorable nanoparticles with 1-nm interior gap. *Nanotechnol.* 6, 452–460 DOI: 10.1038/nnano.2011.79.

[76] k. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R.R. Dasari, M.S.J. Feld. (2002). Surface-Enhanced Raman Scattering: A Technique of Choice for Molecular Detection. *Phys.: Condens. Matter*.14, R597–R624. DOI: 10.4028/www.scientific.net/MSF.754.143

- [77] D. Majumdar, A. Singha, P.K. Mondal, S. Kundu. (2013). DNA-Mediated Wirelike Clusters of Silver Nanoparticles: An Ultrasensitive SERS Substrate. *Appl. Mater. Interfaces* 2013, 5, 7798–7807 DOI: 10.1021/am402448j
- [78] S.M. Kim, J. Kim, G. Yim, H.J. Ahn, M. Lee, T.H. Kim, C. Park, J. Min, H. Jang, T. Lee. (2021). Fabrication of a surface-enhanced Raman spectroscopy-based analytical method consisting of multifunctional DNA three-way junction-conjugated porous gold nanoparticles and Au-Te nanoworm for C-reactive protein detection. *Anal. and Bioanal. Chem.* 414 (10), 3197-3204. DOI: 10.1007/s00216-021-03559-2
- [79] R. Gupta, W.A. Weimer. (2003). High enhancement factor gold films for surface enhanced Raman spectroscopy. *Chem. Phys. Letter.* 374, 302-306. DOI: 10.1016/S0009-2614(03)00737-1
- [80] Y. Li, W. Duan, J. Wei. (2021). Synthesis of Diamond@SiO₂@Ag composite materials for high SERS effect. *Ceramics International.* 4, 16870-16875. DOI: 10.1016/j.ceramint.2021.02.262
- [81] Y.L. Guevera, J.H. Torres, A.B. Rodríguez, L.Z. Peredo. (2021). Estudio SERS de nanopartículas de Ag-SiO₂ sintetizadas mediante fotodeposición y agitación. *Materia.* 26, 3. DOI:10.1590/S1517-707620210003.13055
- [82] L. Wu, W. Zhang, C. Liu, M.F. Foda, Y. Zhu. (2020). Strawberry-like SiO₂/Ag nanocomposites immersed filter paper as SERS substrate for acrylamide detection. *Food Chem.* 328,127106. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127106
- [83] H.A. Wells, R.H. Atalla. (1990). An investigation of the vibrational spectra of glucose, galactose and mannose. *Journal of Molecular Structure.* 224, 385-424. DOI: 10.1016/0022-2860(90)87031-R
- [84] E. Wiercigroch, E. Szafraniec, K. Czamara, M.Z. Pacia, K. Majzner, K. Kochan, A. Kaczor, M. Baranska, K. Malek. (2017). Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 185, 317-335. DOI: 10.1016/j.saa.2017.05.045
- [85] N.V. Fredeen, N.I. Lesack, A. Ciocoiu, A.M. Garner, W.F. Zandberg, A. Jirasek, J.F. Holzman. (2020). The dynamic morphology of glucose as expressed via Raman and terahertz spectroscopy. *OSA Continuum.* 3,515-527. DOI: 10.1364/OSAC.386119
- [86] D. Yang, S. Afroosheh, J.O. Lee, H. Cho, S. J. Kumar, R.H. Siddique, V. Narasimhan, Y.Z. Yoon, A.T. Zayak, H. Choo. (2018). Glucose Sensing Using Surface-Enhanced Raman-Mode Constraining. *Anal. Chem.* 90,14269-14279. DOI: 10.1021/acs.analchem.8b03420
- [87] G. Qi, K. Jia, C. Fu, S. Xu, W. Xu. (2015). A highly sensitive SERS sensor for quantitative analysis of glucose based on the chemical etching of silver nanoparticles. *Journal of Optics.* 17(11), 114020. DOI:10.1088/2040-8978/17/11/114020

[88] S. Bock, Y.S. Choi, M. Kim. (2022) Highly sensitive near-infrared SERS nanoprobe for in vivo imaging using gold-assembled silica nanoparticles with controllable nanogaps. *J Nanobiotechnol* 20, 130. DOI:10.1186/s12951-022-01327-7

Anexo Técnicas de caracterización

1. Espectrofotometría UV-Vis

Es una técnica analítica que permite determinar la absorbancia y/o transmitancia de una solución coloidal a diferentes longitudes de onda. En nuestro caso se hicieron mediciones en el rango del ultravioleta (aproximadamente de 180 a 380 nm) y en el visible (aprox. 380 a 780 nm).

Cuando la luz es absorbida por una molécula o átomo se origina una transición electrónica desde un estado energético basal o fundamental, E_1 , a un estado de mayor energía (estado excitado), E_2 . La diferencia de energía tiene una frecuencia ν dada por:

$$h\nu = E_2 - E_1. \quad (\text{a.1})$$

Nuestros sistemas de estudio están en solución coloidal, por lo que la cantidad de energía que estos absorben depende de sus componentes y de sus concentraciones molares. A bajas concentraciones el sistema debe cumplir la ley de Beer-Lambert [1].

La ley de Beer-Lambert establece una relación lineal de la absorbancia (A) con la concentración de una sustancia en solución. Cuando una radiación monocromática pasa a través de ella, la razón de la intensidad de la radiación incidente (I_0) con la transmitida (I) esta relacionada con la absorbancia a través de la siguiente relación:

$$\text{Absorbancia} = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon Cl, \quad (\text{a.2})$$

donde l es el camino que recorre la radiación al atravesar la muestra (normalmente es 1 cm), C es la concentración de la solución coloidal que absorbe en ese camino óptico y ϵ es la constante de absorptividad molar, depende de la naturaleza del analito y la longitud de onda.

La obtención de los espectros de absorbancia óptica de las NPs y de las esferas de SiO_2 fue realizada en el Laboratorio Central del Instituto de Física de la BUAP por medio del espectrofotómetro CARY 5000 UV-Vis-NIR.

2. Microscopia Electrónica de Transmisión

La diferencia entre un microscopio óptico y un microscopio electrónico de transmisión radica en el empleo de un haz de electrones en lugar de uno de fotones. La longitud de onda pequeña de los electrones hace posible una resolución miles de veces más pequeña que la de un microscopio óptico, haciendo posible la observación de objetos de unos cuantos Angstroms ($10^{-10} m$) [1].

El microscopio de transmisión utiliza lentes electromagnéticas que coliman a los electrones en un haz muy delgado, el cual interactúa con el material en estudio y dependiendo de la densidad del material, algunos electrones son dispersados. Posteriormente los electrones que no fueron dispersados dan lugar a una imagen de campo oscuro.

En el capítulo de resultados se muestran imágenes obtenidas por esta técnica en el Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN) de la UNAM, el microscopio utilizado fue un JEOL modelo JEM 2010.

3. Microscopia Electrónica de Barrido

Esta técnica también funciona con una fuente que emite un haz de electrones, usualmente la fuente es un filamento de Tungsteno (W). Esencialmente participan dos procesos: uno de excitación, debido a que durante la interacción del haz de electrones con la muestra se liberan electrones de la capa interna o de valencia, y el segundo proceso es la desexcitación, la cual es el regreso de los electrones a su estado basal. Los electrones liberados pueden ser detectados para la obtención de información, los llamados electrones secundarios permiten obtener imágenes de la superficie del material.

La microscopia electrónica de barrido proporciona información morfológica y topográfica de la superficie de los sólidos en estudio, permitiendo observar algunas propiedades de los materiales. Algunos equipos permiten obtener micrografías con amplificaciones de hasta 200,000 veces.

El equipo con el cual se obtuvieron las imágenes SEM de las esferas de SiO_2 , de las NPs y del compuesto de SiO_2 -Au y SiO_2 -Ag fue un microscopio de la marca JEOL modelo JSM 7800F, que se encuentra en el Laboratorio de Análisis de Superficies del Instituto de Física de la BUAP.

4. Espectroscopia Micro-Raman

El efecto de dispersión Raman surge a partir de la interacción de la luz incidente con los electrones de una molécula iluminada. En la dispersión Raman la energía de la luz incidente no es suficiente para excitar la molécula a un nivel electrónico de mayor energía. Así el resultado de la dispersión Raman es cambiar el estado vibracional de la molécula.

Para que una molécula exhiba el efecto Raman, la luz incidente debe inducir un cambio en el momento dipolar o un cambio en la polarizabilidad molecular. La dispersión Raman contiene líneas Stokes y anti-Stokes; sus frecuencias corresponden a la suma y diferencia de las frecuencias de la luz incidente y las frecuencias vibracionales moleculares permitidas. Si la molécula se encontraba inicialmente en un estado rotacional o vibracional excitado, es posible que la luz dispersada tenga mayor energía que el incidente (efecto Raman anti-Stokes), siempre y cuando el sistema decaiga a un estado de menor energía que la del estado inicial. Como normalmente la población de los estados excitados es mucho menor que la del estado basal, la dispersión Raman Stokes es mucho más intensa que la dispersión anti-Stokes.

Para la obtención de los espectros Raman se utilizó el equipo Micro-Raman LabRam HR de la marca HORIBA Jobin Yvon con un láser monocromático de He-Ne (632.8 nm) y un microscopio OLYMPUS BX41 del Laboratorio Central del Instituto de Física de la BUAP.

5. Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)

La resolución de un microscopio de éste tipo depende de la punta y el cantiléver que la sostiene. La punta realiza un barrido sobre el plano de la muestra, al tiempo que el cantiléver se deflexiona arriba o abajo y esta deflexión es detectada mediante un láser que finalmente incide sobre la superficie de un fotodetector, el cual se encarga de seguir la evolución de la sonda del microscopio [2].

Los microscopios modernos permiten escanear áreas que miden desde cientos de nanómetros cuadrados hasta de 200 micras cuadradas.

Los modos de operación son: el de contacto, el de no contacto y el intermitente. EL de contacto como indica la punta esta próxima a la superficie del material de estudio, comúnmente se utiliza en materiales inorgánicos más adecuado para superficies planas y rígidas como cristales, polímeros duros y tejido que no presenten gran resistencia de

repulsión. El modo de no contacto es conveniente para materiales blandos ya que la punta está a una distancia lejana de la muestra, las oscilaciones del cantiléver y la punta sufren cambios debidos a las interacciones tipo de van der Waals. El modo intermitente es la combinación del modo de contacto y del no contacto.

En el presente trabajo utilizamos el microscopio de la marca Bruker modelo Diminsion Edge, usando el modo de contacto directo. El microscopio se encuentra en el Laboratorio de microcopia de fuerza atómico en el Instituto de Física de la BUAP.

6. Potencial Z [2]

En un sistema electroforético actúan fuerzas opuestas sobre la partícula con carga eléctrica:

La fuerza debida al campo eléctrico es

$$F = Q \cdot E \quad (1)$$

donde Q es la carga eléctrica de la partícula (positiva o negativa); E es la intensidad del campo eléctrico y F es la fuerza debida a la resistencia de que viene dada por la ley de Stokes

$$F' = 6 \cdot \pi \cdot r \cdot \tau \cdot v \quad (2)$$

donde r es el radio de la partícula, τ es la viscosidad de la solución y v es la velocidad de la partícula.

El resultado de ambas fuerzas es el movimiento de la partícula a través de la solución a una velocidad constante. Esta velocidad dividida por la intensidad del campo eléctrico se conoce como movilidad electroforética. Su símbolo es U y su unidad es $m^2s^{-1}v^{-1}$:

$$F = F' \quad (3)$$

$$\frac{v}{E} = \frac{Q}{6\pi r \tau} = U_E \quad (4)$$

La movilidad electroforética es directamente proporcional a la carga eléctrica de las partículas e inversamente proporcional a su tamaño y a la viscosidad de la solución.

Cabe señalar que el equipo mide la movilidad electroforética ($U_E = \frac{v_p}{E}$) y mediante la ecuación de Henry (ecuación 5) se determina el potencial zeta.

$$U_E = \frac{v_p}{E} = \frac{2\varepsilon Z f(Ka)}{3\mu} \quad (5)$$

donde U_E es la movilidad electroforética, v_p es la velocidad de la partícula medida experimentalmente, E es el campo eléctrico, ϵ es la constante dieléctrica, μ es la viscosidad, z es el potencial zeta y $f(Ka)$ es la función de Henry, que adquiere un valor igual a 1.5 (aproximación de Hückel) cuando el sistema se encuentra en un medio polar y 1 (aproximación de Smoluchowski) cuando el sistema se encuentra en un medio no polar.

La técnica utilizada para medir esta velocidad de las partículas es por medio de la velocimetría láser Doppler (LDV por sus siglas en inglés) lo que se mide es la velocidad de las partículas diminutas dentro de las corrientes de fluido que se mueven a la velocidad del fluido. Por lo tanto, LDV está bien ubicado para medir la velocidad de las partículas que se mueven a través de un fluido en un experimento de electroforesis. La óptica receptora está enfocada para transmitir la dispersión de partículas en la celda. La luz dispersada en un ángulo de 17° se combina con el haz de referencia. Esto produce una señal de intensidad fluctuante donde la tasa de fluctuación es proporcional a la velocidad de las partículas. Se utiliza un procesador de señal digital para extraer las frecuencias características en la luz dispersa. Un perfeccionamiento del sistema implica en modular uno de los rayos láser con un espejo oscilante. Esto da una medida inequívoca del signo del potencial Zeta. Un segundo beneficio del modulador es que las partículas de movilidad baja o nula dan una señal igualmente buena, por lo que la medición es tan precisa como para partículas con una alta movilidad. Esta técnica asegura un resultado preciso en cuestión de segundos, con posiblemente millones de partículas observadas.

7. Dispersión dinámica de luz [2]

La dispersión dinámica de luz (DLS), también conocida como espectroscopia de correlación de fotones (PCS), es la técnica más prometedora para elaborar tal monitoreo. Esta técnica mide directamente el coeficiente de difusión efectivo de partículas suspendidas en movimiento browniano en un medio viscoso. La dispersión de luz se debe a fluctuaciones locales en la constante dieléctrica del medio. El hecho de que las partículas en suspensión usualmente tengan índices de refracción diferentes a aquel del disolvente, hace que la luz sea dispersada principalmente por estas últimas. Las partículas están en un constante movimiento llamado “movimiento Browniano”. Como resultado de esto, en un experimento de

dispersión, varía tanto la relación de fase de la luz dispersada por diferentes partículas que se mueven al azar como el número de partículas en el volumen de dispersión. Ambos efectos producen una fluctuación de la intensidad de luz dispersada. Debido a que el movimiento Browniano o la difusión de partículas en suspensión es la causa de las fluctuaciones, se puede obtener información acerca del proceso de difusión a partir de un análisis de la intensidad y distribución de las fluctuaciones en términos de una función de correlación.

Cuando la luz es dispersada por las partículas se somete a interferencia ya sea constructiva o destructiva de las partículas circundantes, y dentro de esta fluctuación de intensidad, la información viene definida por la escala de tiempo de movimiento de los haces dispersados.

La dependencia del tiempo con la intensidad de dispersión parece ruido blanco, Sin embargo, si se observa la intensidad a dos tiempos separado por un intervalo τ , los valores de intensidad $I(t)$ y $I(t+\tau)$ tendrán valores distintos. Pero si τ es pequeño comparado con el tiempo característico de las fluctuaciones, $I(t)$ y $I(t+\tau)$ serán muy parecidos, y estarán de alguna manera correlacionados. Se puede demostrar que la función de autocorrelación de la intensidad dispersada por partículas monodispersas está dada según la ecuación 6:

$$I(\tau) = Ae^{-\tau/\tau_D} \quad (6)$$

En el caso de real de muestras polidispersas (con coloides de distintos tamaños) se puede hacer un análisis de los datos descritos simulación de la función de autocorrelacion con una función del tipo:

$$\text{Ln}(G(t)) = a+bt+ct^2+dt^3+et^4+\dots \quad (7)$$

El valor de b se conoce como el acumulativo de segundo orden, o el coeficiente de difusión promedio z. Solo los primeros tres términos a, b, c se utilizan en el análisis estándar para evitar una resolución excesiva de los datos; sin embargo, esto significa que es probable que el tamaño medio Z se interprete incorrectamente si la distribución es muy amplia (es decir, tiene una alta polidispersidad). El coeficiente del término al cuadrado, c, cuando se escala como $2c/b^2$ se conoce como polidispersidad o índice de polidispersidad (PDI). Para 8, varía entre 0 a 1, para indicar la anchura de la distribución ce tamaño con respecto del valor medio. El valor cero correspondería a una muestra perfectamente monodispersa mientras que indicaría una alta polidispersidad.

En tiempos cortos, la correlación es alta debido a que las partículas no tienen la oportunidad de moverse en gran medida desde el estado inicial en el que estaban. Las dos señales son así esencialmente las mismas en comparación después de sólo un intervalo de tiempo muy corto. Cuando los tiempos se hacen más largos, la correlación decae exponencialmente, lo que significa que, después de que haya transcurrido un período de tiempo largo, no existe una correlación entre la intensidad dispersada de los estados inicial y final. Este decaimiento exponencial está relacionado con el movimiento de las partículas y a su vez específicamente con el coeficiente de difusión.

Para un modelo de difusión simple de las fluctuaciones de luz dispersada, el tiempo de decaimiento, τ_D , se pueden expresar de la siguiente forma:

$$\tau_D = q^2 D \quad (8)$$

donde q es el vector de dispersión, $q = \left(4\pi/\lambda\right)n \sin(\theta/2)$, siendo λ la longitud de onda de la luz dispersada, n el índice de refracción del disolvente y θ el ángulo de dispersión. D es la constante de difusión de las partículas. De acuerdo con la relación de Einstein-Stokes:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \quad 9)$$

Aquí η es la viscosidad del disolvente, T su temperatura y R_h es el radio hidrodinámico de las partículas. El radio hidrodinámico nos da una idea del tamaño aparente de una partícula solvatada en agua. Así, estas se encuentran rodeadas por moléculas de agua que se disponen formando una esfera conocida como esfera de solvatación. A la hora de difundir la disolución de partículas, estas se movilizarán sin dejar de estar solvatadas por moléculas de agua, por lo que el radio que obtendríamos de dicha difusión no sería el real, sino por el conjunto formado. Ajustando la data experimental de dispersión de luz con la expresión (6) es posible obtener el radio hidrodinámico y el número relativo de partículas presentes en el medio [3].

Si el sistema es monodisperso, sólo debe haber una población, mientras que un sistema polidisperso mostraría múltiples poblaciones de partículas. También se pueden realizar estudios de estabilidad usando DLS convenientemente, realizando medidas periódicas de DLS de una muestra se puede observar si las partículas se agregan con el tiempo viendo si el radio hidrodinámico de las partículas aumenta. Si las partículas se han agregado, habrá una mayor población de partículas con un radio mayor (Figura 2).

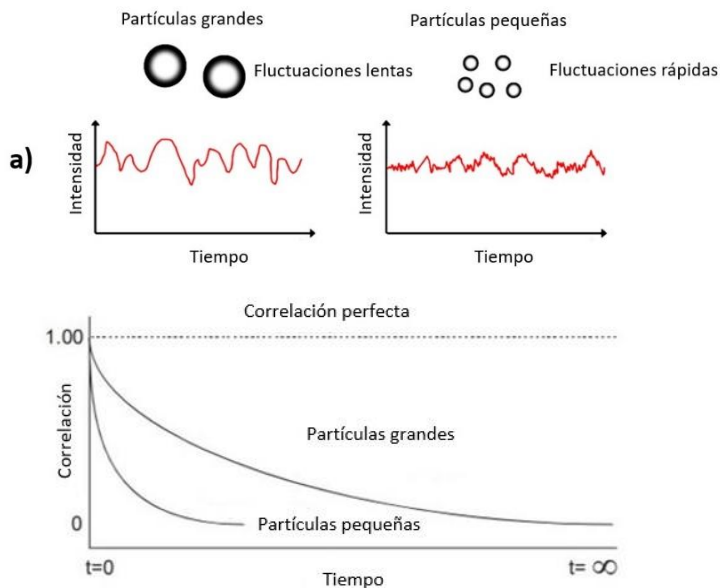


Figura 2. Comparación entre la intensidad y la función de correlación con respecto del tiempo cuando las partículas varían en su tamaño.

La determinación del Potencial Z y DLS se realizó por medio del equipo Zetasizer modelo Nano ZS90 el intervalo de medición es 0.3 nm a 5 micras y cuenta con un láser estándar a 633 nm, las mediciones se realizaron en condiciones ambientales. El equipo se encuentra en el Laboratorio Central de IFUAP Ecocampus.

Referencias

- [1] Paulina De León Portilla “ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DEL COMPÓSITO Cu@SiO₂”, Tesis de Maestría, Instituto de Física, BUAP. (2016).
- [2] Jesús Iván Peña Flores “Efecto de la luz sobre la humectabilidad de las partículas ensambladas de SiO₂, TiO₂ y Fe₂O₃,” Tesis de Doctorado, Instituto de Física, BUAP. (2021).
- [3] C. M. Hoo, N. Starostin, P. West, M. L. Mecartney, A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions, *J. Nanopart Res*, 10 (2008) 89–96.