



DESARROLLO DE SUPERFICIES
NANOESTRUCTURADAS PARA LA FABRICACIÓN DE
BIO-SENSORES

Por

Héctor Santiago Hernández

COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN OPTOMECASTRÓNICA

DIVISIÓN DE FOTÓNICA,
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ÓPTICA, A.C.
LEÓN, GUANAJUATO, MÉXICO.

2011

Supervisores: Dr. Raúl Alfonso Vázquez Nava
Dr. Juan Luis Pichardo Molina

Sinodales: Dr. Claudio Frausto Reyes (CIO)
Dr. Gregorio Hernández Cocoltzi (BUAP)

Contenido

Contenido	v
Lista de Figuras	vii
Resumen	xii
Agradecimientos	xiii
1. Introducción	1
1.1. Antecedentes	2
1.2. Fabricación de nanomateriales	8
1.2.1. Métodos de fabricación <i>de arriba hacia abajo</i>	9
1.2.2. Métodos de fabricación <i>de abajo hacia arriba</i>	13
1.3. Técnicas de caracterización de nanomateriales	15
1.3.1. Espectroscopía de absorción	15
1.3.2. Microscopio de Transmisión Electrónica	18
1.3.3. Microscopio de Fuerza Atómica	20
2. Teoría	23
2.1. Efecto Raman	23
2.1.1. Reglas de selección Raman	28
2.2. Plasmones	30
2.2.1. Modelos simples	31
2.2.2. Relación de dispersión	35
2.3. Espectroscopia Raman Amplificada por efecto Superficial	42

2.3.1. Mecanismo electromagnético (EM)	46
2.3.2. Mecanismo Químico (TC)	52
3. Desarrollo de superficies nanoestructuradas	57
3.1. Síntesis de NPs de oro	57
3.2. Modificación de la superficie de sustratos de vidrio	62
3.3. Depósito de NPs sobre sustratos	64
4. Resultados	75
4.1. Aumento de la Dispersión Raman por efecto Superficial	81
4.2. Detección molecular	87
4.3. Reproducibilidad para la detección molecular	90
5. Conclusiones	95
A. Plan de negocios	101
Referencias	114

Índice de figuras

1.1. Esquema de funcionamiento del método mecánico (agitador de molien- da) de arriba hacia abajo.	11
1.2. Representación esquemática del microscopio de barrido Electrónico (SEM).	18
1.3. Esquema que muestra las componentes y la vía óptica de la ra- diación Electrónica en el microscopio Electrónico de transmisión (TEM).	19
1.4. Deformaciones fundamentales del cantilever.	20
1.5. Esquema del funcionamiento de un microscopio de fuerza Atómica.	21
2.1. Diagrama de niveles de energía mostrando las tres formas de dis- persión de la radiación electromagnética.	26
2.2. Espectro esquemático de Raman.	27
2.3. Modelo de una molécula.	29

2.4. Región cargada \mathcal{R} (azul) en un conductor homogéneo. La carga Q contenida dentro de la superficie gaussiana Σ produce un campo $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$ (flechas gruesas) que produce una densidad de corriente $\mathbf{j}(\mathbf{r}, t)$ (flechas delgadas) que fluye a través de la superficie Σ , modificando Q en el tiempo y manteniendo una oscilación de plasma.	32
2.5. Región cargada \mathcal{R} en la superficie de un conductor semi-infinito El campo $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$ es como en la figura 2.4, pero ahora la densidad de corriente $\mathbf{j}(\mathbf{r}, t)$ (flechas delgadas) solo son inducidas en la mitad del espacio dentro del conductor. Así la carga sólo fluye cruzando la mitad de la superficie Gaussiana Σ (línea punteada).	33
2.6. Esfera metálica (línea sólida), todos los electrones son desplazados la misma distancia ξ ocupando una región desplazada (línea punteada), produciendo cargas negativas (en la cima) y positivas (en el fondo). El interior (parte oscura) permanece neutra. La polarización (flechas delgadas) y el campo eléctrico (flechas gruesas) se encuentran dentro dentro de la esfera.	34
2.7. Sistema semi-infinito, donde se muestra el vector de onda incidente, reflejado, transmitido y sus componentes paralelas y perpendiculares.	40
2.8. Representación de una molécula anclada a una nanoesfera metálica a una distancia d	47
2.9. Diagrama de energía donde se ilustra la banda de energía del metal nanoestructurado y la banda HOMO-LUMO de la molécula adsorbida.	54
3.1. Procedimiento para obtener nanoesferas de oro.	58

3.2. Espectros de absorción normalizados de distintas soluciones de NPs de oro sintetizadas con citrato de sodio.	59
3.3. Imagen TEM de NPs esféricas sintetizadas mediante citrato de sodio.	60
3.4. Imagen TEM de NPs esféricas sintetizadas mediante citrato de sodio.	61
3.5. Procedimiento para la fabricación de superficies nanoestructuradas de oro.	63
3.6. Método A para el desarrollo del sustrato para SERS formando aglomeraciones con la molécula.	65
3.7. Método B para el desarrollo del sustrato para SERS formando aglomeraciones con Sal.	66
3.8. Fotografía de sustratos fabricados mediante la metodología aquí propuesta.	67
3.9. Espectros de absorción normalizados de los sustratos para SERS elaborados mediante el método A con la molécula Rodamina-B (Ro_A) y Rosa de Bengala (Be_A) respectivamente.	68
3.10. Espectros de absorción normalizados de los sustratos SERS elaborados mediante el método B con la molécula Rodamina-B (Ro_B) y Rosa de Bengala (Be_B) respectivamente.	69
3.11. Imágenes AFM del sustrato Ro_A. a) distribución del depósito de aglomerados sobre el sustrato, b) topografía en tercera dimensión de la superficie nanoestructurada, y d) perfil del sustrato.	70
3.12. Imágenes AFM del sustrato Be_A. a) distribución del depósito de aglomerados sobre el sustrato, b) topografía en tercera dimensión de la superficie nanoestructurada, y d) perfil del sustrato.	71

3.13. Imágenes AFM del sustrato Ro_B. a) distribución del depósito de aglomerados sobre el sustrato, b) topografía en tercera dimensión de la superficie nanoestructurada, y d) perfil del sustrato.	73
4.1. Equipo de medición Raman: a) fotografía del equipo de marca comercial Renishaw, b) esquema de la óptica integrada.	76
4.2. Espectros Raman de la molécula Rodamina-B a distintas concentraciones sobre un sustrato de aluminio.	77
4.3. Espectros Raman de la molécula Rodamina-B a distintas concentraciones sobre un sustrato de vidrio.	78
4.4. Espectros Raman de la molécula Rosa de Bengala a distintas concentraciones sobre un sustrato de Aluminio.	79
4.5. Espectros Raman de la molécula Rosa de Bengala a distintas concentraciones sobre un sustrato de vidrio.	80
4.6. Espectros Raman del vidrio y NPs de Oro sobre vidrio.	81
4.7. Estimación del aumento por SERS de la molécula Rodamina-B medida sobre aluminio, sobre vidrio y en el sustrato Ro_A a una concentración de 10^{-6} M.	82
4.8. Estimación del aumento por SERS de la molécula Rodamina-B medida sobre aluminio, sobre vidrio y en el sustrato Ro_B a una concentración de 10^{-6} M.	83
4.9. Estimación del aumento por SERS de la molécula Rosa de Bengala medida sobre aluminio, sobre vidrio y en el sustrato Be_B a una concentración de 10^{-6} M.	84

4.10. Comparación de nuestros resultados con los reportados en [20]. (a, b) espectros SERS de nanopartículas hidrofóbicas e hidrofílicas usando Rodamina-B (10^{-3} M). (c) Dispersión Raman de La Rodamina-B sobre silicio (10^{-3} M). (d) Espectro Raman de la rodamina-B (10^{-6} M) de nuestros sustratos. La fuente de excitación láser para (a,b y c) fue de 633 nm (potencia de 0.9 mW).	86
4.11. Detección molecular mediante el sustrato Ro_A para SERS a una concentración de 10^{-6} M	87
4.12. Detección molecular mediante el sustrato Ro_B para SERS a una concentración de 10^{-6} M	88
4.13. Detección molecular mediante el sustrato Be_B para SERS a una concentración de 10^{-6} M.	89
4.14. Esquema del muestreo del sustrato para SERS especial.	90
4.15. Muestreo de la señal Raman de la molécula Rosa de rodamina-B con el sustrato especial para SERS “Ro_B”.	91
4.16. Muestreo de la señal Raman de la molécula Rodamina-B con el sustrato especial para SERS “Ro_A”.	92
4.17. Muestreo de la señal Raman de la molécula Rodamina-B con el sustrato especial para SERS “Ro_B”.	93
4.18. Muestreo de la señal Raman de la molécula Rosa de Bengala con el sustrato especial para SERS “Be_B”.	94
A.1. Resumen ejecutivo.	102
A.2. Descripción del producto y valor distintivo.	107

Resumen

La Dispersión Raman Amplificada por Efecto Superficial (SERS, de sus siglas en inglés Surface Enhanced Raman Scattering) es una técnica analítica altamente sensible, que consiste en lograr un aumento de la señal Raman de una molécula utilizando una superficie nanoestructurada. Dado que, para lograr un aumento adecuado de la señal Raman es muy importante la estructura que tenga la superficie, en el presente trabajo proponemos un método para la preparación de superficies nanoestructuradas que presentan alta reproducibilidad y pueden ser utilizadas en el análisis de moléculas orgánicas por medio de SERS. La fabricación de dichas superficies se realiza a partir de nanopartículas esféricas (NPs), las cuales se sintetizan por medio de un método de reducción química de una sal metálica, Ácido tetracloroáurico (III) y un reductor, citrato de sodio, el cual a su vez también actúa como surfactante. Las NPs obtenidas son depositadas por agregación, sobre la superficie, modificada por medio de compuestos silanos, de un sustrato de vidrio. En este trabajo reportamos resultados obtenidos con dos técnicas de aglomeración de las NPs.

Sobre nuestros sustratos depositamos moléculas de Rodamina-B o Rosa de Bengala. Se obtuvieron experimentalmente los espectros Raman de las moléculas a una concentración de 10^{-6} M, lo cual demuestra que esta presente el incremento de la señal Raman por efecto superficial. Se tomó el espectro Raman en 16 diferentes zonas del sustrato y obtuvimos la misma amplificación de la señal por lo que podemos decir que nuestros sustratos presentan una buena reproducibilidad.

AGRADECIMIENTOS

Ante todo, agradezco a Dios por la fantástica experiencia de estudiar la maestría en optomecatrónica en el Centro de Investigaciones en Óptica (CIO) y que culmina ahora con la la presente tesis.

Agradezco especialmente a mi madre y mi padre por enseñarme a trabajar y amar, ya que de ésta manera he logrado estos niveles de estudio con ética y valores que demanda la sociedad actual.

Agradezco a mis hermanos: Alberto, Eloisa y Julio por el apoyo incondicional que siempre me han brindado y el ejemplo de éxito que han inspirado en mi.

Agradezco a mi novia Marcela por transmitirme su fortaleza en mis momentos de flaqueza y sobre todo su inigualable compañía.

Agradezco profundamente a la familia Vázquez Flores por el apoyo y preciada amistad.

Al Dr. Raúl Alfonso Vázquez Nava, director de mi tesis, de quien tengo la fortuna de haber trabajado bajo su asesoramiento, y de esta manera aprender de él como maestro, como amigo y como un gran ser humano. Agradezco además su paciencia, dedicación y confianza para transmitirme sus conocimientos.

Al Dr. Juan Luis Pichardo Molina, co-director de mi tesis, de quien también

tengo la fortuna de haber trabajado bajo su asesoría. Agradezco profundamente toda su disponibilidad, paciencia, dedicación, amistad y confianza para transmitirme sus conocimientos.

Al Quím. Martín Olmos López agradezco su disponibilidad de transmitirme sus conocimientos y facilitarme material y equipo dentro del laboratorio de materiales.

Al Departamento de Formación Académica, agradezco en especial al Dr. Francisco J. Cuevas de la Rosa, Lic. Guillermina Muñoz Palancares y Lic. Laura Gonzales Ochoa por todo el apoyo durante mi formación en la maestría en optomecatrónica.

Agradezco a mis compañeros y amigos de la maestría en optomecatrónica y ciencias ópticas, en quienes encontré una familia durante toda esta aventura, en especial a Adrian Coronel, Josúe Calderón Zavala, David Ignacio Serrano, Geliztle Parra, Yanely Machuca, Adrian Martinez, Salomón Rodriguez, Carlos Froylan y Alan D. Blanco.

A todos mis profesores de la maestría por sus sabios consejos, amistad y sobre todo sus enseñanzas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por apoyarme directamente con la beca que me proporcionó para el desarrollo de mi maestría en optomecatrónica.

Y de manera muy especial agradezco al Centro de Investigaciones en Óptica (CIO) por darme la oportunidad de crecer profesionalmente en sus instalaciones y mostrándome las fascinantes áreas de la óptica, mecánica, electrónica, computación y del impacto de estas mismas para el desarrollo científico y tecnológico de nuestro país México.

1 Introducción

En este capítulo hacemos una breve introducción al tema de los biosensores, dando primero una descripción de lo que es un biosensor y sus componentes esenciales. Posteriormente presentamos una clasificación de los biosensores y puesto que el biosensor propuesto en esta tesis es uno de tipo óptico basado en la espectroscopia Raman amplificada por efecto superficial, hacemos una breve descripción de en que consiste este tipo de estudio. En el proceso de amplificación de la señal Raman es muy importante que la superficie sobre la que se deposita la molécula sea una superficie nanoestructurada para lograr una adecuada amplificación de la señal. Por ello gran parte de mi trabajo de tesis consistió en la obtención de dicha superficie nanoestructurada utilizando diferentes métodos de síntesis de NPs es por ello que en la sección 1.2 damos una breve descripción de las diferentes técnicas que existen actualmente para la síntesis de nanoestructuras y posteriormente en la sección 1.3 comentamos las diferentes técnicas de caracterización.

1.1. Antecedentes

Un *biosensor* se define como un dispositivo compuesto por un elemento de reconocimiento biológico, capaz de reconocer un analito, y por un transductor físico-químico capaz de generar una respuesta proporcional a la concentración de ese analito. Como resultado de la interacción del elemento de reconocimiento biológico con el analito, se produce un cambio físico-químico que el transductor convierte en una señal medible [1].

Las dos características más importantes de un biosensor son la sensibilidad y la selectividad. Además de estas dos características, los biosensores también presentan las características siguientes:

- Elevada fiabilidad y estabilidad, que otorguen un tiempo de uso prolongado.
- Versatilidad, que les permita seleccionar diferentes receptores biológicos para determinar diferentes analitos o grupos de analitos.
- Capacidad de miniaturización, para desarrollar dispositivos portátiles con los cuales se puedan realizar mediciones in situ.
- Posibilidad de realizar análisis simultáneos.
- Bajo costo de producción, para permitir su fabricación en serie.
- Tiempo de análisis corto.
- Mínimo pretratamiento de la muestra.

- Volumen reducido de la muestra.
- Manejo sencillo, que permita su uso por usuarios no especializados.
- Capacidad de automatización, para integrarlos en procesos industriales o estaciones de medición.

Aunque es difícil conseguir dispositivos que cumplan todas estas características, algunos de los biosensores desarrollados hasta el momento reúnen muchas de ellas, por lo que presentan numerosas ventajas respecto a las técnicas analíticas convencionales.

En la construcción de biosensores, se deben considerar diferentes aspectos como el diseño de sistemas de microfluídica, la química de inmovilización de biomoléculas en la superficie del sensor, el formato de ensayos y el análisis de datos. La naturaleza multidisciplinaria de este tipo de dispositivos les ha convertido en un punto de encuentro de diferentes áreas del conocimiento científico y tecnológico [2].

Como se muestra en la tabla 1.1, la mayor aplicación y demanda de los biosensores ocurre en el área médica en la vigilancia intensiva de pacientes, detección de alergias, infecciones, entre otras; también, en la misma tabla se observa la utilidad de los biosensores en otros campos como el medio-ambiental en la detección de contaminantes orgánicos, metales pesados, plaguicidas, entre otros; o bien en aplicaciones en la industria agroalimentaria y farmacéutica e incluso en seguridad y defensa. De esta manera nos damos cuenta que esta tecnología ha suscitado un gran interés en las áreas mencionadas, lo que ha ocasionado la aparición de un amplio abanico de aplicaciones.

Diagnóstico clínico		Control medioambiental	
Vigilancia intensiva	glucosa urea lactato	Contaminantes orgánicos	Fenoles PCBs PAHs
Alergias	IgE	Metales pesados	Zinc Mercurio
Infecciones Bacterianas	Salmonella E. Coli	Plaguicidas	Organofosforados Carbamatos
Infecciones víricas	Hepatitis B HIV	Patógenos	BOD
Toxinas	SEB Botulina	Industria alimentaria	
Enfermedades cardíacas	Mioglobina cTnI/T	Calidad alimentaria	Azúcares Etanol
Seguimiento de fármacos	teofilina	Seguridad alimentaria	Alérgenos Patógenos
Drogas ilegales	cocaína	Procesos industriales	Fermentación
Control endocrino/reproductivo	hCG estradiol	Seguridad	
Detección temprana de cáncer	PSA BRCA-1	Bacterias	Ántrax Neumonía
Industria farmacéutica		Toxinas	Cólera Botulismo
Descubrimiento de nuevos fármacos		Virus	Viruela

Cuadro 1.1: Principales aplicaciones de los biosensores.

El primer biosensor, conocido como electrodo enzimático, fue propuesto por Clark y Lyons en 1962 [3] y desarrollado por Updicke y Hicks en 1967 [4] para la detección de la glucosa. En 1975 se presentó el primer analizador de glucosa en sangre por parte de la empresa Yellow Springs Instruments (Ohio, EEUU) [5]. Desde entonces, el desarrollo de biosensores a despertado un gran interés desde el punto de vista científico y comercial. El diseño y construcción de biosensores es un proceso largo y complejo, como se menciona anteriormente, en el que intervienen grupos de trabajo multidisciplinarios que involucran la biología molecular, la ciencia y tecnología de materiales, la microelectrónica, la macro-fabricación, la nanotecnología y la biotecnología.

La clasificación de los biosensores está definida por las propiedades de sus dos componentes fundamentales, la naturaleza del elemento de reconocimiento biológico y el tipo de transductor empleado tal como se observa en la tabla 1.2. En ésta misma tabla podemos apreciar que existe una gran cantidad tanto de elementos de reconocimiento (catalíticos, afinidad y afinidad biomiméticos) como de sistemas de transducción (electroquímicos, ópticos, piezoeléctricos y nanomecánicos), que a su vez proporcionan múltiples combinaciones disponibles para la fabricación de biosensores.

Las características del analito a estudiar determinan la elección del elemento de reconocimiento en el diseño del bio-sensor. Una vez que se ha elegido el elemento de reconocimiento biológico se estudia su interacción con el analito para encontrar las variaciones en las propiedades físico-químicas que nos permitirán elegir el tipo de transductor mas adecuado.

Elemento de reconocimiento biológico		Transductor	
Catalíticos	Enzimas	Electroquímicos	Amperométricos
	Células/Orgánulos		Potenciométricos
	Tejidos		Conductimétricos
Afinidad	Anticuerpos	Ópticos	Impedimétricos
	Receptores		Fibra óptica
	Ácidos nucleicos		TIRF
Afinidad-Biomiméticos	MIPs	Piezoeléctricos	SPR
	Aptámeros		Interferómetros (onda evanescente)
			QCM
		Nanomecánicos	Micropalanca

Cuadro 1.2: Clasificación de los biosensores.

Como se menciona en el resumen del presente trabajo, nuestro objetivo es sentar las bases para el desarrollo de un sensor biológico basado en la espectroscopia Raman Amplificada por efecto superficial. Sin embargo, debemos aclarar que en el presente trabajo solo presentaremos los resultados preliminares que permitirán en un futuro desarrollar dicho sensor. De acuerdo a la tabla 1.2, el sensor propuesto en este trabajo de tesis lo podemos considerar como un bio-sensor óptico, cuyo funcionamiento se basa en la resonancia de plasmones de superficie (SPR). Los plasmones de superficie son oscilaciones de la densidad de carga en la superficie de un conductor. Como veremos en los capítulos siguientes, los plasmones se excitan

de distintas maneras dependiendo del tamaño y forma del material conductor, por lo que se clasifican como plasmones de bulto, plasmones de superficie o plasmones localizados.

La espectroscopía Raman es una técnica ampliamente establecida para el estudio e identificación de moléculas a través de su espectro vibracional. Es una técnica elegida por su alta especificidad, por su carácter no-destrutivo y no-invasivo, porque se implementa utilizando tecnologías ya bien desarrolladas como son láseres y dispositivos ópticos. Sin embargo, su debilidad es que tiene una baja sección eficaz, es decir, sólo en concentraciones altas de la molécula de interés es posible utilizarla con facilidad. En las últimas décadas, se ha descubierto que a través de mecanismos resonantes del campo incidente es posible obtener una señal Raman amplificada. Uno de esos mecanismos resonantes consiste en aprovechar la fuerte amplificación del campo electromagnético en el campo cercano de nanoestructuras metálicas, las cuales actúan como nano-antenas permitiendo una amplificación de la señal Raman entre 5 o 10 ordenes de magnitud. Esta técnica es llamada Espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS por sus siglas en inglés, Surface Enhanced Raman Spectroscopy). Dicha técnica ha permitido la detección y estudio, incluso, de moléculas individuales.

Cuando una onda electromagnética interactúa con una superficie metálica, los campos cercanos a la superficie son diferentes a aquellos que se observan en el campo lejano. Si la superficie es rugosa, la onda electromagnética puede excitar plasmones de superficie localizados los cuales dan lugar a una amplificación de los campos electromagnéticos cercanos a la superficie [6].

Desde que se descubrió que la señal Raman puede ser enormemente amplificada al colocar moléculas cerca de una superficie metálica rugosa, esta técnica ha originado la generación de varias aplicaciones. Desafortunadamente, hasta la fecha SERS ha mostrado usos limitados, en principio por la pobre reproducibilidad en el aumento de la señal. El origen de dicho aumento es un tópico de actuales debates, comúnmente se acepta la existencia de dos mecanismos principales. El mecanismo de intensificación electromagnético (EM) y el mecanismo químico o de transferencia de carga (TC). Hasta ahora no hay acuerdo sobre que es lo verdaderamente trascendental para que un sustrato genere el aumento de la señal Raman [7].

La excitación de los plasmones en nuestro bio-sensor se lleva a cabo particularmente en NPs metálicas de oro depositadas sobre una superficie de vidrio, generando de esta manera una superficie nanoestructurada que permitirá el aumento de la señal Raman mediante la excitación de “plasmones localizados” como se explica en los capítulos siguientes.

1.2. Fabricación de nanomateriales

El 29 de diciembre de 1959, en el Instituto de tecnología de California, Richard P. Feynman en el encuentro anual de la Sociedad Americana de Física, presentó una visión tecnológica de extrema miniaturización, él habló acerca del problema de manipular y controlar cosas de una escala pequeña, esto construyendo nano-objetos átomo por átomo o molécula por molécula.

Nanotecnología, literalmente significa que alguna tecnología es formada a una

nanoescala ($10^{-9}m$) que tiene sus aplicaciones en escalas mayores para la producción y aplicación en sistemas físicos, químicos y biológicos; prometiéndole grandes avances en áreas como manufactura y materiales, nanoelectrónica, medicina y asistencia sanitaria, energía, biotecnología, información tecnológica y seguridad nacional; teniendo finalmente un profundo impacto en nuestra economía y sociedad.

Existen diferentes vías para obtener coloides con partículas de diversas morfologías, nanoalambres, nanotubos, nanocápsulas, aleaciones nanoestructuradas y polímeros, sólidos nanoporosos y chips de ADN; sin embargo la fabricación de los nanomateriales puede generalizarse en dos procesos: *de arriba hacia abajo* (extrayendo material de un bulto) o *de abajo hacia arriba* (adición de átomos o moléculas).

Los métodos de fabricación *de arriba hacia abajo* comienzan con materiales en bulto (*de arriba*) que posteriormente serán reducidos a NPs (*hacia abajo*) utilizando métodos químicos, físicos o procesos mecánicos. Por otro lado, los métodos *de abajo hacia arriba* comienzan con átomos y moléculas (*de abajo*) que reaccionan bajo circunstancias físicas o químicas para formar nanomateriales (*hacia arriba*). Una confusión de los límites de cada método, origina una tercera posibilidad para formar nanomateriales que es una fusión entre las dos técnicas [8].

1.2.1. *Métodos de fabricación de arriba hacia abajo*

Los métodos de fabricación de nanomateriales *de arriba hacia abajo* se basan en varios de métodos utilizando energía mecánica, altas energías, energía térmica,

energía química, técnicas fotográficas y métodos naturales; los cuales se describen a continuación.

Energía mecánica. Algunos de los métodos mecánicos para producir nanomateriales a partir de un material en volumen basan su acción en la energía cinética, algunos de estos métodos son mediante: el corte, vueltas, batimiento, compactación, molienda y pulverización. Desde una perspectiva tradicional de la química, estos procesos mecánicos no producen cambios químicos de la materia, es decir, en el proceso no se presenta reacción química alguna.

Uno de los métodos mecánicos mas importantes para producir NPs es por medio de las **bolas de molienda** y el **agitador de molienda**, el cual basa su funcionamiento en el desgaste del bulto. En la figura 1.1 se muestra un esquema del funcionamiento de este método, donde las bolas de molienda son de metal, cerámica o polímeros con el solo propósito de reducir el tamaño del material.

Esta técnica, aunque parece simple, es muy sofisticada, costosa y las partículas obtenidas presentan deficiencias en el ancho y el tamaño.

Método térmico. Otro método *de arriba hacia abajo* en el cual una fuente externa de calor se aplica durante el proceso de fabricación de nanomateriales. Éste método emplea un proceso físico (calentamiento) que no produce algún cambio químico en la muestra ya que no causa reacción. Existen varios métodos que utilizan esta técnica, de entre los cuales podemos mencionar:

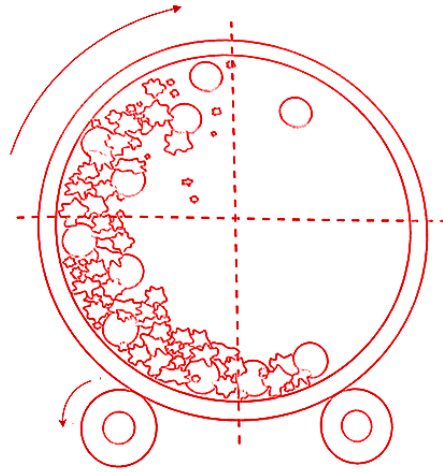


Figura 1.1: Esquema de funcionamiento del método mecánico (agitador de molienda) de arriba hacia abajo.

recocido, giros de fusión del bloque frío, atomización electrodinámica (EH-DA), electrospinning, compactación del líquido hidrodinámico (LCD), atomización gaseosa, evaporación, extrusión, sublimación, termólisis, combustión y carbonización de co-polímeros.

El método de **giros de fusión del bloque frío y solidificación** es un proceso que inicialmente aplica calor al material en bulto intentando fusionar el material y realizar un proceso de extrusión. se forma una aleación de material en bulto que consiste de NPs de aluminio de 10 – 30 nm de tamaño. Este método ha demostrado resistencia a la tracción en el rango de gigapascales.

Altas energías. Arco descargas, ablación láser y vaporización solar son los tres métodos *de arriba hacia abajo* que son capaces de generar nanomateriales

utilizando altas energías. Cada método es capaz de formar nanotubos de carbon de sustratos de grafito que contienen partículas catalíticas de Fe y Cu. Consideramos cualquier proceso que involucra plasma para ser un proceso de altas energías. Estos métodos de altas energías no son practicas de desarrollar, exceptuando la vaporización solar debido a las grandes cantidades de energía necesarias.

Métodos químicos. Si una transformación química ocurre durante el proceso de fabricación de los nanomateriales, diremos que el método de fabricación es químico. Dentro de los métodos químicos para la fabricación de NPs podemos mencionar el método de ataque químico, pulidor mecánico-químico, pulidor eléctrico, anodizador y combustión.

Litografía. Los métodos litográficos son los mas utilizados en el sector industrial para el desarrollo de tecnología como elementos de computadoras, circuitos integrados, maquinas micro-electromecánicas (MEMS), entre otros.

Para entender ésta técnica, se analiza la fotolitografía, la cual utiliza el mismo principio que todas las técnicas que funcionan con el principio de litografía. Este proceso inicia con una luz brillante que pasa a través de una foto-mascara que esta sobre un material fotoresistivo; el material fotoresistivo es químicamente alterado por exposición a la luz; entonces la imagen de la foto-mascara es grabada, o bien su contorno, dependiendo de la naturaleza del sustrato. De esta manera, circuitos son producidos.

técnicas litográficas de óptica moderna utiliza fuentes de radiación con longitud de onda que va desde unos 300 nm o 400 nm. Entre los métodos

litográficos que podemos mencionar están las nano-impresiones y litografía de nanoesferas, las cuales son técnicas simples y de alta resolución.

Naturales. Obviamente existen métodos naturales de fabricación de nano-materiales tanto *de arriba hacia abajo* como *de abajo hacia arriba* y la mayoría de estos métodos son muy conocidos por los seres humanos debidos a la misma interacción con la naturaleza. Dentro de estos métodos naturales que podemos mencionar esta, la erosión, el grabado en rocas por ácidos en el ambiente, hidrólisis, actividad volcánica, incendios forestales, degradación de materiales por actividad solar, presión-temperatura, descomposición biológica y digestión.

1.2.2. *Métodos de fabricación de abajo hacia arriba*

La fabricación de nanomateriales *de abajo hacia arriba* se basa en la selección de átomos o moléculas, por tanto es considerada como una técnica de adición. Las técnicas de fabricación *de abajo hacia arriba* se pueden clasificar en cuatro categorías: (1) métodos en fase gaseosa, (2) métodos en fase líquida, (3) métodos en fase sólida y (4) métodos biológicos. Una técnica es definida como gaseosa, líquida o sólida dependiendo del medio en el proceso se presenta, o bien de la sustancia activa del cual el nanomaterial es formado es gaseosa, líquida o sólida.

Métodos en fase gaseosa. Reacciones en fase de vapor pueden ser homogéneas o heterogéneas. Si existe un vapor en el proceso, entonces podemos considerar que el método de fabricación es un proceso en fase gaseosa. Dentro de

éstos métodos podemos mencionar: deposición química de vapor, capa de deposición Atómica, combustión, termólisis, vapor organometálico de oxido metálico (MOCVD, por sus siglas en inglés), epitaxia de haces moleculares, implantación iónica, condensación en fase gaseosa, síntesis de plantilla sólida, entre otros.

Métodos en fase líquida. Muchos de los procesos químicos se llevan a cabo en medios de fase líquida, esto gracias a que los líquidos proveen un ambiente en el que es posible soportar moléculas, materiales meta-estables y otras formas de materiales que sin líquidos son capaces de reaccionar, aglomerarse o simplemente existir. Dentro de ésta técnica, podemos mencionar las siguientes métodos: auto-ensamble molecular, química supra-molecular, síntesis Sol-Gel, deposición electrolítica y métodos de fabricación biológica.

Métodos en fase sólida. Esta categoría es la mas difícil de definir ya que cualquier definición es insuficiente o lejana, sin embargo, se puede decir que la formación de nano-huecos formadas de pequeñas cavidades o vacantes puede etiquetarse como método de fabricación del estado solido *de abajo hacia arriba*; a diferencia del método de fabricación *de arriba hacia abajo* en el que el proceso convierte el estado de bulto del material en nanomateriales.

Plantilla de síntesis. Esta técnica es una de las más fáciles para la fabricación de nanomateriales de abajo hacia arriba. Una plantilla es un material que se utiliza como calibrador, patron o molde que se usa para guiar la fabricación de otras piezas. Por ejemplo DNA sirve como una plantilla para la formación de otras macromoléculas como RNA.

La plantilla de síntesis utiliza una arquitectura sólida o líquida que tiene la habilidad de aislar una reacción química dentro de sus fronteras físicas. Las plantillas pueden contener un arreglo de varias celdas o una sola celda de tal manera que el confinamiento de reacciones químicas para la formación de materiales solo puede existir en estas celdas.

1.3. Técnicas de caracterización de nanomateriales

Cuando un material es fabricado en el laboratorio, es necesario evaluar tanto el método como las propiedades del material tales como estructura, morfología y composición. Dependiendo de la naturaleza del material en cuestión, una gran cantidad de técnicas son utilizadas para evaluar la dichas propiedades de los materiales que están siendo investigados. Algunas técnicas son cualitativas, de tal manera que de una imagen sobre la superficie, y otras técnicas proporcionan información cuantitativa como concentraciones relativas de átomos que comprenden el material [9]. A continuación se describen varias técnicas de caracterización de materiales.

1.3.1. Espectroscopía de absorción

Es bien conocido que cuando materiales como la plata y el oro forman nanoestructuras de orden nanométrico, aparecen diversos fenómenos físicos, uno de estos es la alta eficiencia de absorción o esparcimiento de luz al estar presentes

nano-partículas del orden de 2 a 100 nm. Esto se debe al fenómeno colectivo resonante, de los electrones de superficie presentes en las partículas metálicas, que interactúan con el campo eléctrico.

Debido a las propiedades de los materiales metálicos de magnitudes nanométrica como la absorción de la luz o la excitación de plasmones que en materiales de volumen no se presentan al interactuar directamente con la luz [10], la espectroscopia UV-Vis permite monitorizar el tamaño de nano-partículas metálicas de algunas morfologías mediante la banda de absorción del plasmón [11].

Los materiales a nivel nanométrico presentan propiedades ópticas que difieren grandemente de sus contrapartes en bulto. Los espectros de absorción óptica de NPs metálicas son dominados por resonancias de plasmón superficial. La posición y forma del pico de absorción dependen principalmente de factores como el tamaño, la forma y la polidispersidad de las partículas, el medio circundante y las sustancias absorbidas en sus superficies.

El pico de absorción tiende a ubicarse hacia longitudes de onda mayores, a medida que el tamaño de la partícula aumenta. por ejemplo, la emisión de un pico a 400 nm corresponde a NPs de plata de 5nm de diámetro, mientras que si el pico de absorción se desplaza hacia 420 nm, el tamaño predominante de las partículas es de alrededor de 20 nm [12]. Además la agregación de las NPs provoca una disminución en la intensidad del pico, y la aparición de hombros en longitudes de onda mayores. Por otra parte, el número de picos de resonancia disminuye con el incremento de la simetría de la partícula. De acuerdo con la teoría de Mie, solo una banda simple de resonancia de plasmón superficial se presenta en espectros de

absorción de NPs esféricas, mientras que en NPs anisotrópicas se pueden presentar dos o más bandas, dependiendo de la forma de las partículas.

Microscopio de Barrido Electrónico

El microscopio de barrido Electrónico (SEM, por sus siglas en inglés) utiliza un haz de electrones en vez de un haz de luz para formar imágenes. El SEM es un instrumento que permite la observación y caracterización superficial de materiales orgánicos e inorgánicos, proporcionando información morfológica del material analizado. Las principales utilidades del SEM son la alta resolución que está entre los 4 y 20 nm, dependiendo del microscopio, la gran profundidad de campo que le da apariencia tridimensional a las imágenes y la sencilla preparación de las muestras ya sólo requieren que éstas sean conductoras.

En la figura 1.2 se muestran los principales componentes de un microscopio de barrido Electrónico. Este tipo de microscopio cuenta con un cañón de electrones en la parte superior donde se genera un haz de electrones que se enfoca en un diámetro de $\sim 50 \text{ \AA}$ hasta la parte baja de toda la columna "óptica" mediante un conjunto de lentes magnéticas. Los detectores se localizan en una zona muy cercana a la muestra.

El SEM está compuesto por tres detectores que se clasifican en imágenes de electrones secundarios, imágenes de electrones de retrodispersión y analizador EDS de rayos x, los cuales están instalados dentro de la cámara de vacío. La muestra se coloca en el portamuestras de la cámara de vacío del microscopio, en donde es escaneada por medio de un haz de luz de electrones, convirtiendo las señales

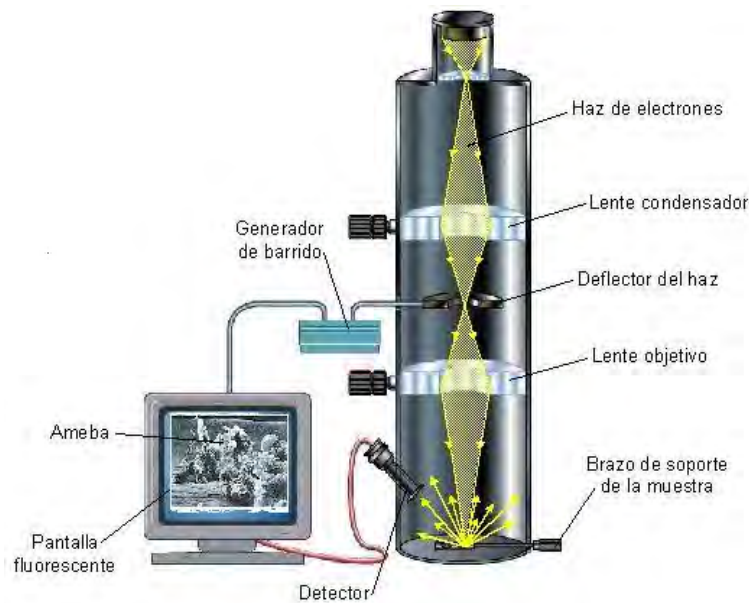


Figura 1.2: Representación esquemática del microscopio de barrido Electrónico (SEM).

eléctricas en una imagen tridimensional que se observa en el monitor de las computadoras.

1.3.2. Microscopio de Transmisión Electrónica

El Microscopio de Transmisión Electrónica (TEM, por sus siglas en inglés) es la técnica más importante para caracterizar NPs metálicas, ya que permite determinar el tamaño, forma, estructura cristalina a través de difracción de electrones.

En el TEM un haz de electrones es dirigido hacia la superficie de una muestra. Los electrones que penetran la muestra, son dispersados a medida que la atraviesan, luego entonces son enfocados por la lente objetivo, pasan por la lente

magnificadora y finalmente la imagen deseada es producida (figura 1.3). Dos tipos de imagen pueden ser obtenidas: campo oscuro y campo claro. Las imágenes en campo claro son producidas por los electrones que se propagan a través de la muestra. Por otro lado en el campo oscuro la imagen es producto por los electrones difractados. En equipos de alta resolución se pueden obtener resoluciones de 0.1 nm o menos. La imagen es formada por los electrones que se transmiten a través del material analizado. Los patrones de difracción de electrones permiten determinar las constantes de redes de las partículas, lo que ayuda a identificar estructuras atómicas.



Figura 1.3: Esquema que muestra las componentes y la vía óptica de la radiación Electrónica en el microscopio Electrónico de transmisión (TEM).

La preparación de las muestras para su observación en TEM, consiste en realizar una dispersión de las NPs en un solvente y dejarlas secar sobre una rejilla de cobre con recubrimiento de carbono. Existen muchos tipos de rejillas, así como también los recubrimientos de estas, las más comunes para observar NPs metálicas (son de las más económicas) son las rejillas de cobre recubiertas con una película de cobre y una de película de Formvar.

1.3.3. Microscopio de Fuerza Atómica

El Microscopio de fuerza Atómica (AFM, por sus siglas en inglés) es una herramienta muy utilizada para el estudio topográfico de superficies en diferentes materiales y especialmente en el estudio de películas delgadas. En el estudio de topográfico se incluye la formación de granos y rugosidad superficial.

La principio de funcionamiento de AFM se basa en interacciones atractivas y repulsivas entre átomos de la superficie y átomos de la punta de una sonda soportada en el extremo de un cantilever (barra flexible, figura 1.4) y cuya deflexión o torsión será proporcionada por la fuerza de interacción.

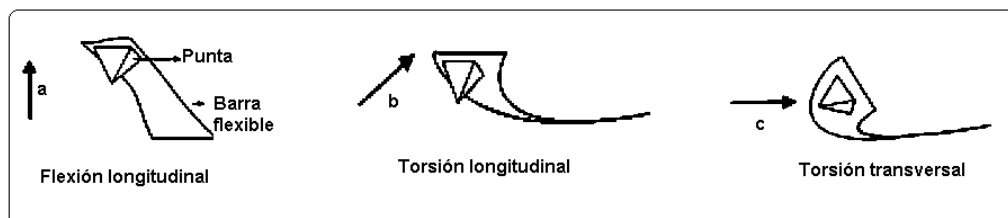


Figura 1.4: Deformaciones fundamentales del cantilever.

Este sistema óptico se muestra en el esquema de la figura 1.5 y consta de un haz láser que incide sobre el cantilever, un espejo ajustable que dirige este haz sobre un arreglo de fotodetectores los cuales a su vez dan información del desplazamiento del haz a medida que la punta barre la superficie. Estos desplazamientos del haz amplifican los movimientos angulares de la punta y finalmente esta señal es traducida en términos de alturas.

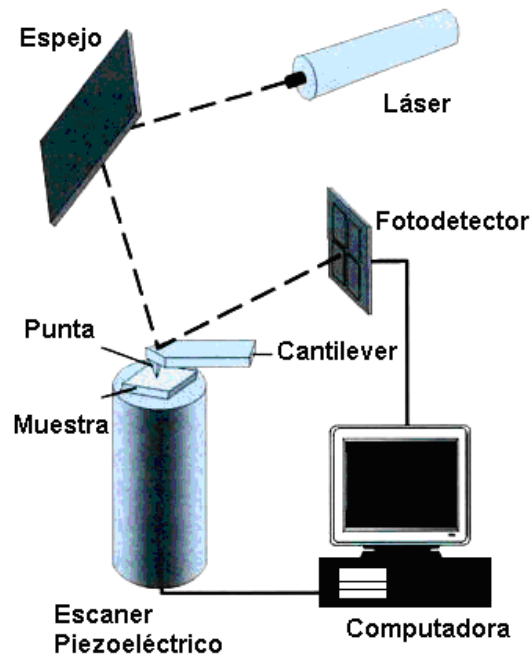


Figura 1.5: Esquema del funcionamiento de un microscopio de fuerza Atómica.

Una de las ventajas del AFM frente al microscopio de barrido (aparte de su mayor resolución vertical) es que su funcionamiento no requiere condiciones de vacío, pudiendo operar con la muestra al aire o inmersa en fluidos.

2 Teoría

En este capítulo presentamos los conceptos teóricos necesarios para entender la dispersión Raman amplificada por superficie. En la sección 2.1, desarrollamos la teoría para entender la dispersión Raman, en la sección 2.2 presentemos algunos modelos simples que nos permiten entender lo que son los plasmones de superficie y como es su relación de dispersión, y en la sección 2.3 presentamos la teoría referente a los mecanismos de amplificación de la señal Raman, el mecanismo electromagnético y el mecanismo químico.

2.1. Efecto Raman

Entre 1920 y 1930, el físico de la india C. V. Raman publicó una serie de investigaciones respecto a la difracción molecular de la luz. En 1928 reportó el efecto que lleva su nombre y en 1930 recibió el Premio Nobel por su trabajo.

El efecto Raman es un fenómeno de dispersión de la luz. Desde el punto de vista clásico, las ecuaciones de la dispersión Raman son fáciles de derivar. La luz

incidente se puede describir por la siguiente ecuación:

$$\mathbf{E}(x, t) = \mathbf{E}_0 \cos(\omega t - kx), \quad (2.1)$$

éste campo induce un dipolo descrito por

$$\mathbf{P} = \alpha \mathbf{E} \quad (2.2)$$

donde α es la constante de proporcionalidad, la polarizabilidad de la molécula. La polarizabilidad es una medida de cuánto la nube electrónica que rodea la molécula puede deformarse. Substituyendo la luz del campo eléctrico (ecuación 2.1) tenemos que el momento dipolar nos queda como:

$$\mathbf{P} = \alpha \mathbf{E}_0 \cos(\omega_L t) \quad (2.3)$$

La polarizabilidad depende de la distribución de los átomos dentro de la molécula, la cual cambia al cambiar las vibraciones de la misma molécula de tal manera que la polarizabilidad esta en función de la coordenadas vibracionales $\alpha(Q)$. Expandiendo en series de Taylor la polarizabilidad tenemos

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right) Q + \dots \quad (2.4)$$

donde $Q = Q_0 \cos(\omega_M t)$.

Al sustituir la polarizabilidad en la ecuación del dipolo inducido (ecuación 2.3) obtenemos:

$$\begin{aligned} \mathbf{P} &= \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(\omega_L t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right) Q_0 \mathbf{E}_0 \cos(\omega_M t) \cos(\omega_L t) \quad (2.5) \\ &= \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(\omega_L t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right) Q_0 \mathbf{E}_0 \{ \cos[(\omega_L - \omega_M)t] + \cos[(\omega_L + \omega_M)t] \} \end{aligned} \quad (2.6)$$

De la ecuación (2.5) se puede ver que los tres términos representan tres diferentes frecuencias de luz emitida. El primer término muestra que la frecuencia de la luz emitida es igual que la luz incidente y la cual es llamada dispersión Rayleigh. Para el segundo y tercer término se ve que la frecuencia de la luz emitida tiene un desplazamiento en la frecuencia con respecto a la frecuencia incidente. Tales términos corresponden a los procesos de dispersión Raman Stokes y anti-Stokes respectivamente.

Para explicar este efecto, consideramos a la radiación electromagnética como partícula (fotón) que interactúa con una molécula, el fotón puede ser dispersado de tres maneras:

Dispersión elástica: el fotón emitido tiene la misma longitud de onda (misma frecuencia y energía) que el fotón incidente

Dispersión inelástica: hay un cambio en la frecuencia (energía y longitud de onda) entre el fotón incidente y el emitido. Este cambio o desplazamiento puede ocurrir de dos maneras: cuando el fotón le cede energía a la molécula, la energía de la radiación dispersada es menor que la de la radiación incidente (dispersion Stokes); en cambio, si el fotón obtiene energía de la molécula se observa lo contrario (dispersion anti-Stokes). El desplazamiento en la frecuencia corresponde a energías vibracionales, rotacionales o de transiciones electrónicas de la molécula (ν_{int}).

En términos clásicos la interacción puede verse como una perturbación del campo eléctrico de la molécula. En mecánica cuántica la dispersión se describe

como la excitación a un estado virtual de energía mas baja que una transición electrónica real y se explica gráficamente con un diagrama de energía como lo muestra la figura 2.1.

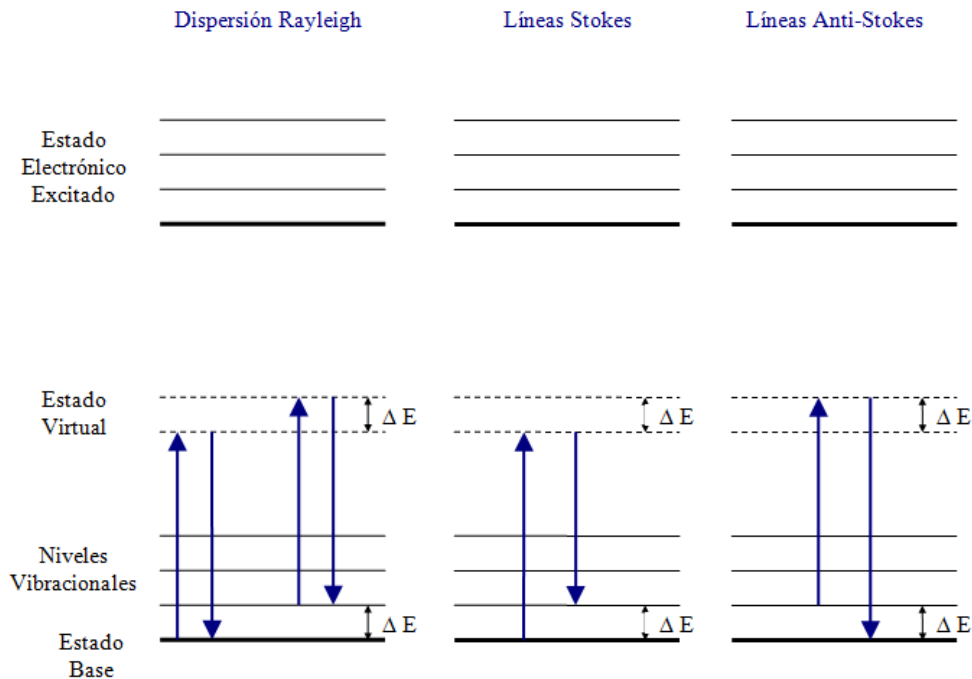


Figura 2.1: Diagrama de niveles de energía mostrando las tres formas de dispersión de la radiación electromagnética.

Este fenómeno tiene su origen en la interacción de la radiación electromagnética con una nube electrónica deformable (polarizable). Para que una vibración sea activa en Raman, la polarizabilidad de la molécula debe cambiar con el movimiento vibracional. Tanto la espectroscopia de IR como la de Raman miden energías

vibracionales, pero estas se basan en diferentes reglas de selección siendo así complementarias.

La región espectroscópica en la que se observa el efecto Raman depende de dos factores: la energía de la radiación incidente y la energía de los niveles moleculares involucrados en el desplazamiento. La dispersión Raman comprende a una fracción muy pequeña de los fotones incididos (aproximadamente 1 en 10^7).

Al graficar la intensidad de la radiación dispersada como función de la diferencia de su frecuencia con la de la radiación incidente obtenemos un espectro de Raman como lo indica el esquema de la figura 2.2 donde la línea anti-Stokes es mucho menos intensa que la línea Stokes porque a temperaturas normales la población en el estado basal es mayor que en uno de mayor energía (distribución de Boltzmann), entonces las transiciones anti-Stokes tienen menor probabilidad de ocurrir. En la espectroscopia Raman normalmente se mide solo la línea Stokes.

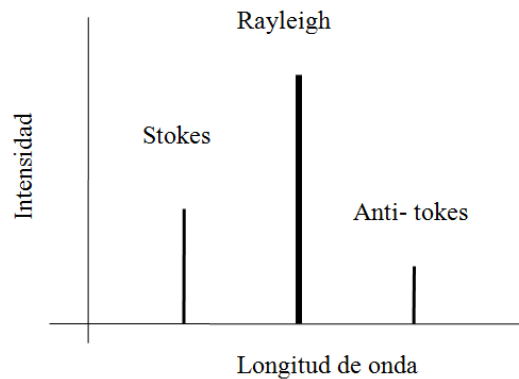


Figura 2.2: Espectro esquemático de Raman.

La información que podemos obtener de este espectro está relacionado con la estructura de la molécula (modos vibracionales), en otras palabras, la diferencia de frecuencia (energía) es característica para cada modo vibracional y esto nos habla de los enlaces de la molécula. Una de las limitantes en el análisis por espectroscopía de Raman es la fluorescencia. La intensidad de la fluorescencia es varios órdenes de magnitud más grande que la de la dispersión Raman.

La espectroscopía de Raman como la conocemos actualmente, fue posible gracias al desarrollo tecnológico del láser. Dado que la dispersión Raman es mucho menos intensa que la de Rayleigh (1 de 10^7 fotones son Raman), se requiere que la fuente de la radiación sea muy potente, por otra parte, en un espectro de Raman analizamos la diferencia entre la energía (número de onda) de la radiación incidente y la emitida por lo que es necesario que la fuente sea monocromática.

2.1.1. Reglas de selección Raman

Los átomos que forman una molécula están unidos por fuerzas de origen electrostático que asemejan uniones elásticas y, en consecuencia sus movimientos son periódicos o cuasiperiódicos; es posible modelar una molécula por átomos unidos por medio de un resorte tal como lo muestra la figura 2.3. Un modo vibracional depende de la estructura molecular y el ambiente, es decir, la energía vibracional de la molécula depende de la masa atómica, del orden del enlace, geometría molecular y enlaces de hidrógeno. La espectroscopia Raman no está limitada a vibraciones intramoleculares, sino que también analiza vibraciones de mallas cristalinas y otros movimientos de los sólidos.

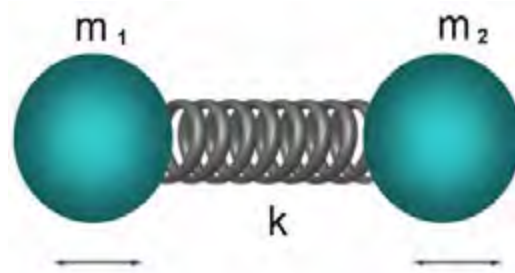


Figura 2.3: Modelo de una molécula.

Como ya se mencionó en la sección anterior (capítulo 2.1), el momento dipolar \mathbf{P} de una molécula (ecuación 2.2) es inducido por un campo eléctrico externo \mathbf{E}_0 , de tal manera que el dipolo inducido emite o dispersa a una frecuencia óptica de la onda de luz incidente. Dicha emisión de la luz ocurre debido a una vibración molecular que cambia la polarizabilidad (dispersión Raman). El cambio está descrito por la derivada de la polarizabilidad $\frac{\partial\alpha}{\partial\mathbf{Q}}$ donde \mathbf{Q} es la coordenada normal de la vibración. La regla de selección para una vibración activa Raman donde halla un cambio en la polarizabilidad durante la vibración está dada por la ecuación 2.7.

$$\frac{\partial\alpha}{\partial\mathbf{Q}} \neq 0. \quad (2.7)$$

La intensidad de la dispersión de la luz es proporcional al cuadrado del momento dipolar inducido, que es el cuadrado de la derivada de la polarizabilidad

$$\left(\frac{\partial\alpha}{\partial\mathbf{Q}}\right)^2. \quad (2.8)$$

Si la vibración no genera cambios en la polarizabilidad, entonces la derivada de la polarizabilidad estaría cercana a cero y la intensidad de la banda Raman sería baja.

2.2. Plasmones

Considerando que en un metal los electrones de conducción pueden moverse libremente, y que en equilibrio las cargas eléctricas negativas son balanceadas por los iones positivos del metal. Si de alguna manera dicho balance es alterado al incrementar la densidad de electrones en alguna región \mathcal{R} quedando cargada negativamente, después los electrones podrían ser expulsados de la misma región debido a su mutua repulsión. Así, después de algún intervalo de tiempo, \mathcal{R} podría cargarse positivamente. Los electrones podrían entonces ser atraídos a esta carga positiva, deteniendo su movimiento de ida induciendo un movimiento de regreso de los electrones. Al pasar de nuevo la situación de equilibrio, \mathcal{R} se vuelve negativo de nuevo y todo el ciclo se repetiría hasta que la energía asociada con la perturbación se pierda por calentamiento Joule o algún proceso disipativo. Así, una oscilación de la densidad de carga puede establecerse dentro de los conductores. Debido a la analogía entre la dinámica electrónica dentro de un metal y el movimiento de los iones cargados dentro de un plasma, las oscilaciones de carga descritas anteriormente son conocidas como “*oscilaciones de plasma*”, las cuales tienen una oscilación característica ω_p conocida como “*frecuencia de plasma*” que depende de la masa, densidad y la carga de los portadores. Una oscilación de plasma cuantizada de un conductor con una típica energía $E_p = \hbar\omega_p$ es conocida como “*plasmón*” con $\hbar = h/2\pi$, donde h es la constante de plank.

2.2.1. Modelos simples

Para estimar la frecuencia de plasma, se considera el modelo más simple de un conductor, en el cual un gas de electrones con número de densidad n_0 moviéndose libremente en un fondo cargado positivamente de forma homogénea e interactuando con su mismo campo \mathbf{E} . Si de alguna manera una acumulación de carga Q es localizada en una region \mathcal{R} producida debido a la compresión o rarefacción del gas de electrones (figura 2.4), este produce a lo lejos un campo Colombiano $E(\mathbf{r}) = Q\mathbf{r}/r^3$ donde el vector \mathbf{r} va desde \mathcal{R} hasta el punto de observación. Cada electrón es acelerado de acuerdo a la segunda ley de Newton

$$\mathbf{F} = m \frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} = -e \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \quad (2.9)$$

donde m y $-e$ son la masa y la carga electrónica respectivamente, de tal manera que es posible re-expresar la ecuación 2.9 en términos de la densidad de corriente de la forma:

$$\frac{\partial \mathbf{j}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = \frac{n_0 e^2}{m} \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \quad (2.10)$$

donde $\mathbf{j} = -n_0 e d\mathbf{r}/dt$ es la densidad de corriente eléctrica en \mathbf{r} . Integrando sobre una superficie cerrada Σ que rodea completamente la carga, obtenemos

$$\frac{d}{dt} \oint_{\Sigma} d\mathbf{a} \cdot \mathbf{j} = \frac{n_0 e^2}{m} \oint_{\Sigma} d\mathbf{a} \cdot \mathbf{E} \quad (2.11)$$

la cual se convierte en una simple ecuación diferencial de la carga

$$\frac{d^2 Q}{dt^2} = -\frac{4\pi n_0 e^2}{m} Q \quad (2.12)$$

al introducir la ecuación de continuidad $\oint_{\Sigma} d\mathbf{a} \cdot \mathbf{j} = -dQ/dt$ y la ley de Gauss $\oint_{\Sigma} d\mathbf{a} \cdot \mathbf{E} = 4\pi Q$. Esta solución $Q(t) = Q(0)e^{-i\omega_p t}$ oscila con una frecuencia de

plasma de bulto

$$\omega_p = \left(\frac{4\pi n e^2}{m} \right)^{1/2} \quad (2.13)$$

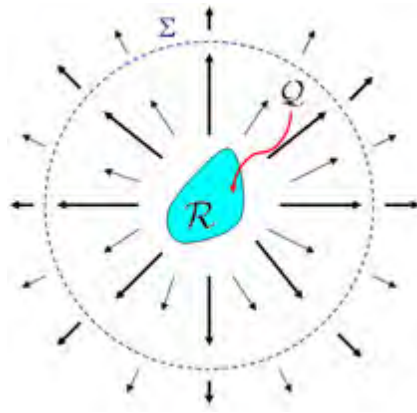


Figura 2.4: Región cargada \mathcal{R} (azul) en un conductor homogéneo. La carga Q contenida dentro de la superficie gaussiana Σ produce un campo $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$ (flechas gruesas) que produce una densidad de corriente $\mathbf{j}(\mathbf{r}, t)$ (flechas delgadas) que fluye a través de la superficie Σ , modificando Q en el tiempo y manteniendo una oscilación de plasma.

Si la carga fuera localizada en la superficie de un semiconductor semi-infinito, la mitad de las líneas de campo estarían en el vacío y no inducirían corriente eléctrica (figura 2.5), el flujo de corriente cruzando la superficie Σ sería cortado a la mitad teniendo una ecuación diferencial del sistema ahora como

$$\frac{d^2 Q}{dt^2} = -\frac{\omega_p^2}{2} Q \quad (2.14)$$

en vez de la ecuación 2.12. La solución oscilación $Q(t) = Q(0)e^{-i\omega_s t}$ es una oscilación de “la frecuencia superficial de plasma”

$$\omega_s = \frac{\omega_p}{\sqrt{2}} \quad (2.15)$$

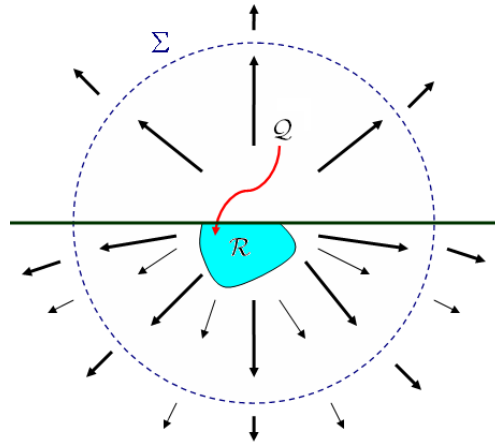


Figura 2.5: Región cargada \mathcal{R} en la superficie de un conductor semi-infinito El campo $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$ es como en la figura 2.4, pero ahora la densidad de corriente $\mathbf{j}(\mathbf{r}, t)$ (flechas delgadas) solo son inducidas en la mitad del espacio dentro del conductor. Así la carga sólo fluye cruzando la mitad de la superficie Gaussiana Σ (línea punteada).

Como último ejemplo, se considera una pequeña partícula metálica esférica la cual es inicialmente perturbada por el desplazamiento de todos los electrones ξ tal como lo muestra la figura 2.6. De esta manera, se tiene una acumulación de electrones en uno de los hemisferios y deficiencia de electrones en el otro hemisferio. Por consiguiente, la carga superficial $\sigma = \mathbf{P} \cdot \hat{n}$ produce una depolarización homogénea del campo eléctrico $\mathbf{E} = -(4\pi/3)\mathbf{P}$, donde $\mathbf{P} = -n_0e\xi$ es la polarización

eléctrica. Este campo acelera las cargas de acuerdo a la segunda ley de Newton

$$\mathbf{F} = m \frac{d^2 \xi}{dt^2} = -e \mathbf{E}(\xi, t), \quad (2.16)$$

haciendo el análisis igual que en las ecuaciones anteriores de (bulto y superficie), la ecuación (2.16) se convierte en

$$\frac{d^2}{dt^2} \xi = -\frac{\omega_p^2}{3} \xi \quad (2.17)$$

donde la solución $\xi(t) = \xi(0)e^{-\omega_d t}$ oscila con una frecuencia dipolar de plasma superficial

$$\omega_d = \frac{\omega_p}{\sqrt{3}} \quad (2.18)$$

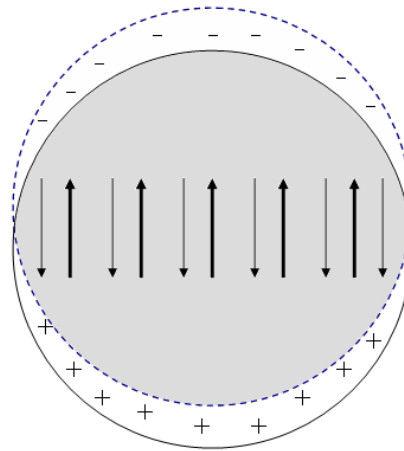


Figura 2.6: Esfera metálica (línea sólida), todos los electrones son desplazados la misma distancia ξ ocupando una región desplazada (línea punteada), produciendo cargas negativas (en la cima) y positivas (en el fondo). El interior (parte oscura) permanece neutra. La polarización (flechas delgadas) y el campo eléctrico (flechas gruesas) se encuentran dentro de la esfera.

Los anteriores ejemplos muestran diferentes sistemas en los que podemos tener plasmones, es decir, excitaciones colectivas que implican fluctuaciones en la densidad de carga, con diferentes frecuencias las cuales no solo dependen de las propiedades del material sino también de las propiedades geométricas como el tamaño y la forma.

2.2.2. Relación de dispersión

En la sección anterior se mostraron simples modelos que predicen las oscilaciones de cargas de frecuencia ω_p , ω_s y ω_d en un conductor infinito, semi-infinito y conductores pequeños respectivamente. En esta sección se calculan esas cantidades en un contexto más general y se obtienen expresiones que son independientes de un modelo particular para un sistema.

Plasmones de bulto

Para un sistema en ausencia de cargas externas, de acuerdo a la ley de Gauss, se tiene que

$$\nabla \cdot \mathbf{D} = 0 \quad (2.19)$$

En términos generales el vector de desplazamiento del campo eléctrico está dado por

$$\mathbf{D}(\mathbf{r}, t) = \int \int \hat{\epsilon}(\mathbf{r}, \mathbf{r}', t, t') \mathbf{E}(\mathbf{r}', t') d\mathbf{r}' dt' \quad (2.20)$$

donde $(\hat{\epsilon})$ denota un tensor de la respuesta dieléctrica dado por

$$\hat{\epsilon} = \begin{pmatrix} \epsilon_{xx} & \epsilon_{xy} & \epsilon_{xz} \\ \epsilon_{yx} & \epsilon_{yy} & \epsilon_{yz} \\ \epsilon_{zx} & \epsilon_{zy} & \epsilon_{zz} \end{pmatrix}, \quad (2.21)$$

$t - t'$ representa un retraso entre el tiempo de excitación t' y el tiempo de observación t , y la integral se realiza para todos los tiempos de excitación posibles. Finalmente, es posible que la respuesta de un sistema en una posición \mathbf{r} dependa de la excitación no solo en \mathbf{r} , sino también de un punto cercano \mathbf{r}' , así que la forma más general de la respuesta lineal puede estar dada por

$$\mathbf{D}(\mathbf{r}, t) = \int d^3\mathbf{r}' \int dt \hat{\epsilon}(\mathbf{r}, \mathbf{r}', t - t') \mathbf{E}(\mathbf{r}', t'). \quad (2.22)$$

De la ecuación (2.22) es posible notar que las propiedades del material están dadas por el vector de desplazamiento que depende de la función respuesta dieléctrica $(\hat{\epsilon})$ en la presencia de un campo eléctrico (\mathbf{E}) , entonces, es posible simplificar dicha función dieléctrica considerando que el material es *homogéneo en el tiempo*, es decir, la respuesta del sistema en la presencia de un campo eléctrico siempre será la misma a cualquier momento mientras el intervalo de tiempo $(t - t')$ sea el mismo, de tal manera que la expresión (2.20) no depende del tiempo y se puede expresar en términos de la frecuencia (espacio de Fourier) como

$$\mathbf{D}(\mathbf{r}, \omega) = \int \hat{\epsilon}(\mathbf{r}, \mathbf{r}', \omega) \mathbf{E}(\mathbf{r}', \omega) d\mathbf{r}'. \quad (2.23)$$

Por otra parte, es posible que los materiales respondan diferente en puntos distintos $(\mathbf{r}$ y $\mathbf{r}')$ de tal manera que ésta condición puede simplificarse considerando

que el material es un *sistema local*, es decir, responde de la misma manera en un punto cualquiera como en puntos vecinos, permitiendo expresar el vector de desplazamiento eléctrico como

$$\mathbf{D}(\mathbf{r}, \omega) = \hat{\epsilon}(\mathbf{r}, \omega)\mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega). \quad (2.24)$$

También, los sistemas pueden variar en todas sus componentes tensoriales (2.21) como respuesta a la presencia de un campo eléctrico, sin embargo es posible simplificar dicha respuesta considerando que el material es *isotrópico*, es decir, que la respuesta es la misma sin importar la dirección de incidencia del mismo campo, de tal manera que la función respuesta solo cambia en sus componentes diagonales del tensor convirtiéndola en una función escalar, permitiendo de esta manera expresar el vector de desplazamiento eléctrico como

$$\mathbf{D}(\mathbf{r}, \omega) = \epsilon(\mathbf{r}, \omega)\mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega). \quad (2.25)$$

así, la ecuación de la divergencia del desplazamiento eléctrico (2.19) es posible re-expresarla tomando en cuenta que el sistema es homogéneo ($\epsilon(\mathbf{r}, \omega) = \epsilon(\omega)$) obteniendo

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \mathbf{D}(\mathbf{r}, \omega) &= \nabla \cdot \epsilon(\omega)\mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega) \\ &= \epsilon(\omega)\nabla \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega) \\ &= 0 \end{aligned} \quad (2.26)$$

De la ecuación (2.26) es posible observar que para que la igualdad se cumpla tenemos dos casos posibles, uno es que $\nabla \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega) = 0$, lo cual implica que no exista

una densidad de cargas eléctricas dentro del sistema y que el campo eléctrico sea transversal, el otro caso es que $\epsilon(\omega) = 0$ que sería un caso en el que existe una frecuencia para la cual $\epsilon = 0$ donde el campo eléctrico tendría una contribución longitudinal y de esta manera las fluctuaciones de carga pueden aparecer dentro de un sólido pero solo si la función dieléctrica es nula.

Ahora, considerando el “*modelo de Drude*”, en el cual se asume que los electrones responden de manera libre e independiente a las perturbaciones del campo eléctrico. Esperamos que los electrones independientes no son capaces de soportar oscilaciones colectivas. Sin embargo, la interacción electrón-electron se agrega dentro del modelo de Drude identificando el campo perturbador con su propio campo \mathbf{E} , el cual incluye un valor medio del campo producido por los mismos electrones, y no como un campo externo. La función dieléctrica de Drude es

$$\epsilon_{\omega}^D = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad (2.27)$$

y que conduce a la oscilación de plasma si vale cero, es decir

$$\omega^D = \omega_p \quad (2.28)$$

Entonces, la excitación de plasmones dentro de un sólido solo es posible debido a la dispersión temporal de la función dieléctrica, como la constante puede solo desvanecer en frecuencias finitas pero nunca en el límite estático.

Ahora bien, si hablamos de un sistema “*no local*” donde la respuesta del material es distinta en los puntos \mathbf{r} y \mathbf{r}' ; además considerando al sistema como homogéneo donde ϵ depende solo del intervalo $r - r'$ entre la excitación y el punto de observación, entonces, la ecuación (2.22) se convierte en una convolución en tiempo y

espacio; entonces, en el espacio de Fourier se transforma en un simple producto algebraico

$$\mathbf{D}(\mathbf{q}, \omega) = \epsilon(\mathbf{q}, \omega)\mathbf{E}(\mathbf{q}, \omega). \quad (2.29)$$

Un sistema “*no local*”, implica que la respuesta dieléctrica $\epsilon(\mathbf{q}, \omega)$ dependa del vector de onda \mathbf{q} además de la frecuencia ω . Entonces, en un medio no local \mathbf{q} tiene una dirección preferida, incluso dentro de un medio isotrópico. Por lo tanto, la respuesta no local del sistema para un campo transversal $E^T(\mathbf{q}, \omega) \perp \mathbf{q}$ y un campo longitudinal $E^L(\mathbf{q}, \omega) \parallel \mathbf{q}$ puede diferir, así que escribiremos

$$\mathbf{D}^T(\mathbf{q}, \omega) = \epsilon^T(\mathbf{q}, \omega)\mathbf{E}^T(\mathbf{q}, \omega) \quad (2.30)$$

$$\mathbf{D}^L(\mathbf{q}, \omega) = \epsilon^L(\mathbf{q}, \omega)\mathbf{E}^L(\mathbf{q}, \omega) \quad (2.31)$$

en vez de la simple ecuación 2.29

En el espacio de Fourier tenemos que $\nabla \rightarrow i\mathbf{q}$, entonces de la ecuaciones (2.19) y (2.31) deducimos que la *relación de dispersión* de los plasmones de bulto está dada por

$$\epsilon^L(\mathbf{q}, \omega) = 0 \quad (2.32)$$

es decir, para un vector de onda dado \mathbf{q} , las ondas longitudinales pueden propagarse siempre que su frecuencia $\omega_{\mathbf{q}}$ es tal que la función dieléctrica longitudinal se desvanece.

Plasmones de superficie

Considerando una onda electromagnética E^i incidiendo sobre la superficie de un conductor semi-infinito (local e isotrópico) con función dieléctrica $\epsilon(\omega)$ como se

muestra en la figura 2.7. El conjunto de cargas en movimiento dentro del conductor radian una onda reflejada de amplitud E^r .

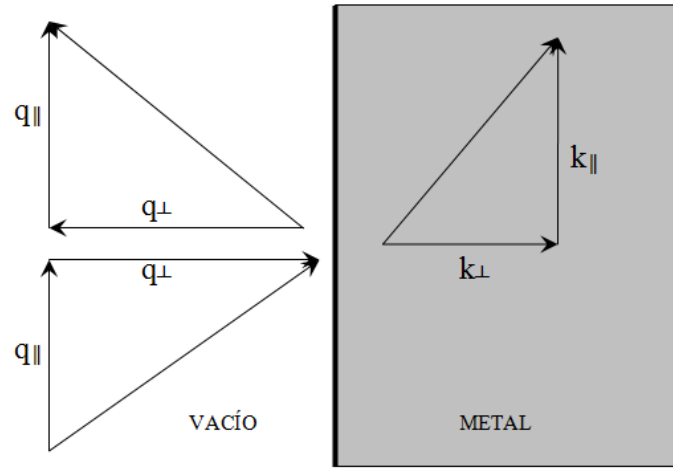


Figura 2.7: Sistema semi-infinito, donde se muestra el vector de onda incidente, reflejado, transmitido y sus componentes paralelas y perpendiculares.

Para luz incidente polarizada (transversal eléctrica y transversal magnética), la onda reflejada tiene la misma polarización, así que podemos definir las amplitudes de reflexión por las formulas de Fresnel:

$$r_s = \frac{q_{\perp} - k_{\perp}}{q_{\perp} + k_{\perp}}, \quad (2.33)$$

$$r_p = \frac{\epsilon_{\omega} q_{\perp} - k_{\perp}}{\epsilon_{\omega} q_{\perp} + k_{\perp}}, \quad (2.34)$$

donde $\mathbf{q} = (q_{\parallel}, q_{\perp})$ es el vector de onda de la onda incidente en el vacío y $\mathbf{k} = (k_{\parallel}, k_{\perp})$ es el vector de onda transmitida dentro del metal. Por otra parte, la ley de Snell requiere que $k_{\parallel} = q_{\parallel}$ por lo que las ecuaciones de onda electromagnética

requieren que

$$q_{\perp} = \left[\left(\frac{\omega}{c} \right)^2 - q_{\parallel}^2 \right]^{1/2}, \quad (2.35)$$

$$q_{\perp} = \left[\epsilon(\omega) \left(\frac{\omega}{c} \right)^2 - q_{\parallel}^2 \right]^{1/2}. \quad (2.36)$$

Las amplitudes de reflexión (ecuaciones 2.33 y 2.34) tienen la naturaleza de funciones respuesta superficial y por lo tanto, sus polos nos da los modos normales superficiales del sistema. Sustituyendo las ecuaciones (2.35 y 2.36) dentro de la condición de modo normal $\epsilon_{\omega} q_{\perp} + k_{\perp} = 0$ obtenemos la relación de dispersión del plasmón superficial

$$q_{\parallel} = \frac{\omega}{c} \left(\frac{\epsilon_{\omega}}{\epsilon_{\omega} + 1} \right)^{1/2} \quad (2.37)$$

Partículas esféricas

El potencial escalar $\Psi_{lm}^{ind}(r, \theta, \phi) = C_{lm}^{ind} Y_{lm}(\theta, \phi) r^{-l-1}$ es producido en $r > a$ por las cargas inducidas en la superficie de una esfera metálica de radio a sujeta a un potencial externo $\Psi_{lm}^{ext}(r, \theta, \phi) = C_{lm}^{ext} Y_{lm}(\theta, \phi) r^l$ con momento angular lm que se obtiene en el límite no retardado al resolver la ecuación de Laplace $\nabla^2 \Psi = 0$ dentro de la esfera y en el vacío que la rodea imponiendo las condiciones en la frontera en $r = a$. Este procedimiento nos da la función respuesta de la esfera

$$S_{lm} \equiv \frac{C_{lm}^{ind}}{C_{lm}^{ext}} = - \frac{\epsilon_{\omega} - 1}{\epsilon + (l+1)/l} a^{2l+1}, \quad (2.38)$$

para cada valor de l y m . De esta manera, los modos colectivos de la esfera, es decir, sus modos superficiales multipolares, son dados por los ceros del denominador,

$$\epsilon_{\omega} = \frac{l+1}{l}. \quad (2.39)$$

2.3. Espectroscopia Raman Amplificada por efecto Superficial

Como ya se explicó, la espectroscopia Raman, es ampliamente usada para el análisis de los materiales, ya que la información vibracional es muy específica de los enlaces químicos que caracterizan las moléculas, proporcionando huellas dactilares que permiten la identificación de la especie analizada.

Junto con la debilidad intrínseca del efecto Raman, se presenta otra desventaja de esta técnica que es la presencia de emisión de fluorescencia que puede llegar a ocultar la señal Raman debido al uso de fuentes de excitación láser. Una solución experimental para reducir la fluorescencia consiste en el uso del láser con menor energía, pero en muchos de los casos es inevitable el solapamiento de las dos emisiones (raman y fluorescencia).

El fenómeno del aumento de la señal por efecto superficial fue descubierto por Fleischmann en 1974, al intentar registrar el espectro raman de la piridina sobre un electrodo de plata sometido a varios ciclos de oxidación-reducción. Desde entonces, se han realizado numerosos estudios teóricos y experimentales para explicar este fenómeno. Dicho efecto se basa en el aumento de la dispersión inelástica (señal Raman) procedente de determinadas moléculas cuando se hallan en presencia de una superficie metálica nanoestructurada especialmente preparada cuya intensidad excede en un factor de $\sim 10^6$ del que se observa en ausencia del metal. Otra característica general de este efecto es la marcada dependencia de la intensificación observada con la naturaleza del metal empleado y su morfología superficial, la

naturaleza de la molécula a estudiar y un gran número de variables experimentales (concentración, potencial del electrodo, longitud de la onda de excitación, entre otras).

La interpretación de los espectros SERS han sido en muchos casos experiencias frustrantes, debidas a los intentos de obtener rápidamente resultados de amplificación de la señal Raman. Dichas dificultades tienen una explicación sencilla, ya que el espectro SERS observado es una función que depende de muchos factores que son muy difícil controlar, y peor aun, cuando el experimentador desconoce las multiples variables o factores que de los que depende la señal SERS.

Si comenzamos a analizar el espectro vibracional Raman de una molécula en fase gaseosa, nos damos cuenta que las componentes básicas involucradas en este caso son simplemente la molécula y la radiación incidente. El espectro Raman queda descrito por los siguientes pasos:

1. Se determinan los niveles vibracionales de energía estacionarios de la molécula.
2. Se define la radiación incidente en términos de la monocromaticidad, polarización e intensidad.
3. La interacción dinámica entre la molécula y la radiación incidente, la energía de interacción y las reglas de selección establecerán la forma del espectro observado.

Por otra parte, las componentes básicas involucradas en la espectroscopía

SERS, son una molécula, un metal nanoestructurado y la radiación electromagnética. Esta diferencia hace más complejos los experimentos relacionados con mediciones de la señal Raman. La interpretación de los espectros SERS depende de varios factores que a continuación se describen:

1. En principio, la molécula se encuentra interactuando con un metal nanoestructurado. La adsorción sobre una superficie sólida se puede dividir en dos categorías de acuerdo a la fuerza de enlace entre la partícula y el sustrato: adsorción-física y adsorción-química. La adsorción-física se refiere a interacciones débiles originadas por las fuerzas Van der Waals, con energías de adsorción muy por debajo de los enlaces químicos normales. Cuando la energía de adsorción es suficientemente grande con energías de enlace químico se utiliza el término de adsorción-química.
2. Los fotones incidentes pueden ocasionar la excitación del sustrato. En particular, la absorción de la luz por nanoestructuras pueden crear fuertes campos eléctricos locales en el sitio donde se encuentra la especie adsorbida. Este nuevo aumento del campo local afectará fuertemente las propiedades del adsorbato y es el principal factor para lograr este fenómeno del gigante efecto SERS.
3. La interacción de la radiación con las moléculas adsorbidas producen una foto-disociación, foto-reacciones o simplemente foto-desadsorción. Todos estos procesos pueden dejar su propio huella dactilar en el SERS observado.
4. La interacción de la luz con nanoestructuras metálicas dependen del valor de

la función dieléctrica compleja a la excitación de la longitud de onda, y esta determinará el aumento observado en una frecuencia dada de excitación. Debido a que la absorción y dispersión de la luz dependen de la forma y el tamaño del metal nanoestructurado, por tanto las intensidades SERS dependen de esos factores. Además, la excitación de las nano-estructuras son fuertemente influenciadas por la constante dieléctrica del medio.

5. La dinámica de la interacción de la luz con el adsorbato produce un patron de intensidades Raman determinadas por las reglas de selección.
6. SERS por lo general se obtiene con excitación de luz visible o luz infrarroja-cercana. La presencia de metal nanoestructurado permite nuevas y complejas excitaciones de la molécula.
7. Finalmente, pequeñas cantidades de impurezas pueden presentarse, provocando señales que complican la interpretación del espectro SERS observado.

Para explicar el efecto SERS, actualmente se acepta la existencia de dos principales contribuciones del fenómeno SERS: el mecanismo de intensificación electromagnético (EM) y el mecanismo químico o de transferencia de carga (TC). En la actualidad se acepta que el mecanismo EM esta presente en toda la experiencia SERS, mientras que el mecanismo TC puede o no participar dependiendo de las condiciones. Sin embargo, no existe un acuerdo definitivo de la contribución de cada uno de ellos en el factor de intensificación total.

2.3.1. Mecanismo electromagnético (EM)

El mecanismo electromagnético ha sido la teoría fundamental para la aproximación computacional para los aumentos SERS y ha sido completamente analizado.

La absorción y dispersión de la luz por medio de NPs metálicas (partículas cuyo tamaño es menor de la longitud de onda de la luz) se considera la propiedad más importante que da lugar a SERS. Específicamente, la resonancia plasmónica de las nanoestructuras es la condición necesaria para la observación de este fenómeno.

La posición de la frecuencia de oscilación plasmónica en el espectro electromagnético está determinada por la función dieléctrica del metal y por el tamaño y la forma de la NP. Para una NP suficientemente pequeña, todas las transiciones electrónicas interbandas se consideran insignificantes excepto en el plasmón asociado al dipolo (aproximación dipolar). Sistemas con electrones libres presentarían estas excitaciones, y cuanto más libres se encuentren los electrones, más estrecha e intensa resultará la resonancia plasmónica dipolar.

Modelo esférico

Consideraremos una simple molécula esférica en la superficie de una partícula esférica con función dieléctrica $\epsilon(\omega)$ inmersa en un medio con constante dieléctrica ϵ_m . El modelo para una molécula a una distancia de la nanoestructura metálica se muestra en la figura 2.8.

Una esfera al estar inmersa en un campo eléctrico se polariza ya que se genera un desplazamiento colectivo de los electrones con respecto al núcleo. Para entender este modelo de aumento del campo eléctrico por efecto superficial, es necesario primero aclarar y separar los diferentes campos eléctricos involucrados en el modelo. La oscilación incidente del campo eléctrico es una onda plana electromagnética con campo eléctrico $\mathbf{E}_0(r, \omega_0)$ en el punto r y con frecuencia ω_0 . De acuerdo a la figura 2.8, la molécula esta localizada en el *campo cercano* de la esfera.

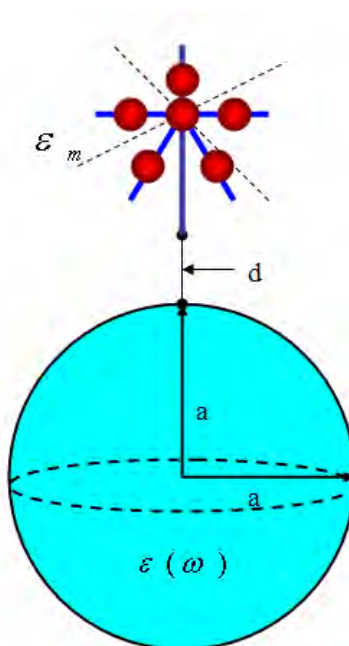


Figura 2.8: Representación de una molécula anclada a una nanoesfera metálica a una distancia d .

Polarización de la esfera

En el problema electrostático de la esfera de radio a y función dieléctrica $\epsilon(\omega)$, la esfera se encuentra sumergida en un medio dieléctrico con constante dieléctrica ϵ_m , a la cual se le aplica un campo uniforme a lo largo del eje $-z$, donde el centro de la esfera es el origen del sistema de coordenadas, el potencial Φ dentro y fuera de la esfera son soluciones de la ecuación de Laplace. El potencial escalar fuera de la esfera esta dado por

$$\Phi_{OUT} = -\mathbf{E}_0 r \cos \theta + g \frac{a^3}{r^2} \mathbf{E}_0 \cos \theta. \quad (2.40)$$

El primer término es el potencial debido al campo incidente \mathbf{E}_0 y el resultado de las condiciones a la frontera cuando $(\Phi_{OUT})_{r \rightarrow \infty} = -\mathbf{E}_0 r \cos \theta$. El segundo término es equivalente al potencial debido a un dipolo ideal en el centro de la esfera, debido a la polarización de la esfera con polarizabilidad α . El dipolo inducido en la esfera metálica, en el sistema internacional está dado por

$$\mathbf{P}_0 = \alpha \mathbf{E}_0 = 4\pi\epsilon_0 g a^3 \mathbf{E}_0, \quad (2.41)$$

donde la polarizabilidad general esta dada por

$$\alpha = 4\pi\epsilon_0 \frac{\epsilon(\omega) - \epsilon_m}{\epsilon(\omega) + 2\epsilon_m} a^3 = 4\pi\epsilon_0 g a^3. \quad (2.42)$$

El factor g determina el aumento de la polarizabilidad y el dipolo inducido. Para un campo externo con frecuencia ω_0 y en el vacío ($\epsilon_m = 1$), el factor g queda como

$$g_0 = \frac{\epsilon(\omega_0) - 1}{\epsilon(\omega_0) + 2}. \quad (2.43)$$

El campo local esta dado por el gradiente $\mathbf{E} = -\nabla\Phi$. Tomando el gradiente en coordenadas polares, la componente radial esta dada por

$$\mathbf{E}_r = \mathbf{E}_0 \cos\theta \left(1 + 2g_0 \frac{a^3}{r^3}\right) \mathbf{a}_r. \quad (2.44)$$

La dispersión depende del valor absoluto del cuadrado del campo, y \mathbf{E}_r^2 en $r = a$ es

$$\mathbf{E}_r^2 = (1 + 4g_0^2 + 4g_0) \mathbf{E}_0^2 \cos^2\theta \quad (2.45)$$

Polarización de la molécula

Para una molécula aislada, la dispersión Raman se debe a la radiación del dipolo eléctrico inducido $\mathbf{p}_M = \alpha_M \mathbf{E}_0$, donde α_M es la polarizabilidad de la molécula. De acuerdo a la teoría de polarizabilidad de Placzek, la variación de la polarizabilidad se puede expresar por la expansión en series de Taylor del tensor α en función de las coordenadas normales como:

$$\alpha_M = \alpha_0 + \alpha_0^2 Q_1 + \frac{1}{2} \alpha_0^{11} Q_1^2 + \dots + \alpha_0^{12} Q_1 Q_2 + \dots \quad (2.46)$$

donde: $\alpha_0^1 = \left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q_1}\right)_0$; $\alpha_0^{12} = \left(\frac{\partial^2\alpha}{\partial Q_1 \partial Q_2}\right)_0$. Y $Q_1 = Q_{10} \cos(w_1 t + \delta_1)$ es la coordenada normal.

El primer término es el responsable de la dispersión Rayleigh, el segundo término es la derivada de la polarizabilidad, dando la dispersión Raman para vibraciones fundamentales y los demás términos corresponden a otras combinaciones.

Polarización del sistema Esfera-Molécula

La dispersión Raman de una molécula cerca de una esfera metálica tiene dos componentes. La primer componente se debe a una molécula con polarizabilidad α_M , que se encuentra a una distancia de un campo local \mathbf{E}_r ; dicha molécula puede describirse como un dipolo $\mathbf{p}_1 = \alpha_M \mathbf{E}_r$, es preciso notar que la oscilación de \mathbf{p}_1 está a una frecuencia Raman ω . Es posible ver que la polarizabilidad y sus derivadas puede ser grandemente afectadas por la superficie del metal que se encuentra cerca, provocando un nuevo campo inducido y propiciando varios efectos que comúnmente se atribuyen al aumento por efecto químico.

La segunda componente se observa en el campo lejano debido a la dispersión del campo. Este campo se asocia con el nuevo dipolo \mathbf{p}_1 y se puede evaluar de la misma manera que \mathbf{E}_r . Este campo lo podemos llamar $\mathbf{E}_{\text{DIP}}(\omega)$, donde la nueva frecuencia es la frecuencia Raman (desplazada) de la molécula sobre la superficie.

El nuevo campo $\mathbf{E}_{\text{DIP}}(\omega)$ polariza la esfera e induce un dipolo $\mathbf{p}_2 = 4\pi\epsilon_0 g a^3 \mathbf{E}_{\text{DIP}}$. De acuerdo a la ecuación (2.40), el potencial en este caso esta dado por

$$\Phi_{out} = -\mathbf{E}_r r \cos \theta + g \frac{a^3}{r^2} \mathbf{E}_r \cos \theta \quad (2.47)$$

y el nuevo campo \mathbf{E}_{SC} se obtiene al calcular el gradiente en coordenadas de la ecuación 2.47 polares dando

$$\mathbf{E}_{\text{DIP}} = \mathbf{E}_r \cos \theta a_r + 2g \frac{a^3}{r^3} \mathbf{E}_r \cos \theta a_r. \quad (2.48)$$

En el campo lejano o zona de radiación, el campo Raman detectado para el sistema esfera-molécula tendrá la contribución de dos dipolos oscilantes \mathbf{p}_1 y \mathbf{p}_2 .

En resumen, en el sistema se tienen tres dipolos inducidos: (1) \mathbf{p}_0 , debido a las oscilaciones colectivas de la esfera con frecuencia ω_0 y que puede dar el aumento de la dispersión Rayleigh; (2) \mathbf{p}_1 y (3) \mathbf{p}_2 , dipolos con una frecuencia ω de la dispersión Raman. El dipolo \mathbf{p}_1 crea un nuevo campo dipolar $\mathbf{E}_{\text{DIP}}(\omega_{\text{Raman}})$ que es el primer contribuyente para observar la radiación Raman. \mathbf{E}_{DIP} , a su vez induce un dipolo \mathbf{p}_2 en la esfera oscilando a una frecuencia ω (frecuencia Raman). La dispersión Raman total se observa en SERS a una distancia lejos del sistema esfera-molécula y se debe al campo eléctrico creado por \mathbf{p}_1 [$\mathbf{E}_{\text{DIP}}(\omega_0)$] sumado coherentemente con el campo [$\mathbf{E}_{\text{SC}}(\omega)$] dado por \mathbf{p}_2 . La potencia total radiada es proporcional a $|\mathbf{p}_1 + \mathbf{p}_2|^2$ que puede ser comparada con la potencia radiada por la molécula en ausencia de la esfera, \mathbf{p}_M^2 . Por lo tanto el factor de aumento está dado por

$$EF = \frac{|\mathbf{p}_1 + \mathbf{p}_2|^2}{|\mathbf{p}_M|^2}. \quad (2.49)$$

Aunque en la práctica las esferas no son las mejores partículas para el aumento de la señal, en cuestiones pedagógicas son la mejor herramienta para mostrar este fenómeno físico de aumento de la señal.

Por otra parte, como se vio en el capítulo 2.2, la resonancia plasmónica puede ser modelada por el tamaño, la forma y la constante dieléctrica (ϵ_m). Por lo tanto el mecanismo electromagnético proporciona una guía para preparar estructuras superficiales para lograr aumentos de la señal raman. Experimentos SERS son casos específicos, es decir, cada problema requiere sintonizar de las condiciones experimentales para maximizar la señal y disminuir el ruido o bien maximizar los límites de detección para un analito dado.

2.3.2. Mecanismo Químico (TC)

El segundo modelo de aumento es por medio del mecanismo químico de transferencia de carga entre la superficie y la molécula.

Se ha discutido en la interpretación de la señal Raman amplificada por efecto superficial sobre el mecanismo del aumento del campo electromagnético (EM) y el efecto de las interacciones electrónicas entre el metal y el adsorbato (TC).

La nube electrónica del adsorbato representado por un volumen $\alpha(Q, \omega)$ puede distorsionarse debido a la interacción con la superficie metálica de la nano-estructura. Entonces cuando la energía de esta interacción (entalpía de adsorción) es mayor que $\sim -25 \text{ kJ mol}^{-1}$, la interacción se clasifica como fisi-adsorción. Cuando la entalpía de adsorción es muy negativa y comparable con energías de enlace químico, se usa el término de quimi-adsorción, se asume que la quimi-adsorción se presenta cuando la energía de interacción es menor que -40 kJ mol^{-1} .

La quimi-adsorción produce un gran cambio en el volumen ($\alpha(Q, \omega)$), donde Q es la coordenada normal que diagonaliza la función de energía potencial y ω es la frecuencia armónica; por lo que se considera como una nueva molécula mas compleja con distinta simetría (diferente espectro vibracional) y nuevos estado electrónicos. La Fisi-adsorción también modifica el volumen $\alpha(Q, \omega)$, la polarizabilidad y además induce una orientación molecular fija. El espectro SERS de especies quimi-adsorbidas necesitan una nueva etiqueta del análisis vibracional ya que es posible tener un espectro vibracional muy diferente al del adsorbato sólo, esto debido a que las fuerzas que unen el adsorbato con la superficie metálica

generan en principio otro tipo de enlace [10].

La excitación de la transferencia de carga (TC) ha tomado una posición destacada en la teoría y experimentos de SERS. En investigaciones acerca de los mecanismos que explican la TC, todos coinciden en que éste fenómeno se presenta por variaciones en los procesos de resonancia Raman; de varios mecanismos de TC discutidos en varios artículos, pueden clasificarse en dos grupos:

1. El primer caso general del fenómeno de TC involucra la transferencia de un electrón del nivel de Fermi del metal a un orbital molecular desocupado del adsorbato o viceversa. La evidencia para este particular tipo de excitaciones ha sido principalmente obtenido de experimentos electroquímicos.
2. El segundo enfoque de TC es la producción de dispersión Raman resonante de metales complejos formados con la molécula adsorbida.

Dichos metales complejos pueden ser parte de NPs metálicas que soportan plasmones de partículas dipolares, o complejos aislados en ausencia de NPs capaces de soportar plasmones de las partículas dipolares.

Transferencia de carga metal-molécula o molécula-metal

La excitación producida por el láser da la posibilidad de generar transiciones TC entre el nivel de Fermi de un metal nanoestructurado y el LUMO de la molécula adsorbida, ya sea la transferencia del metal a la molécula o de la molécula al metal. Este último se ilustra en la figura 2.9, donde IP es el potencial de ionización del

adsorbato, φ es la función trabajo del metal y el nivel de energía de Fermi está entre las energías del HOMO y del LUMO del adsorbato. Para que TC se presente, la molécula debe ser adsorbida sobre el sustrato metálico. La línea del láser incidente podría estar en resonancia con la transición electrónica produciendo un caso de resonancia de dispersión Raman (RRS).

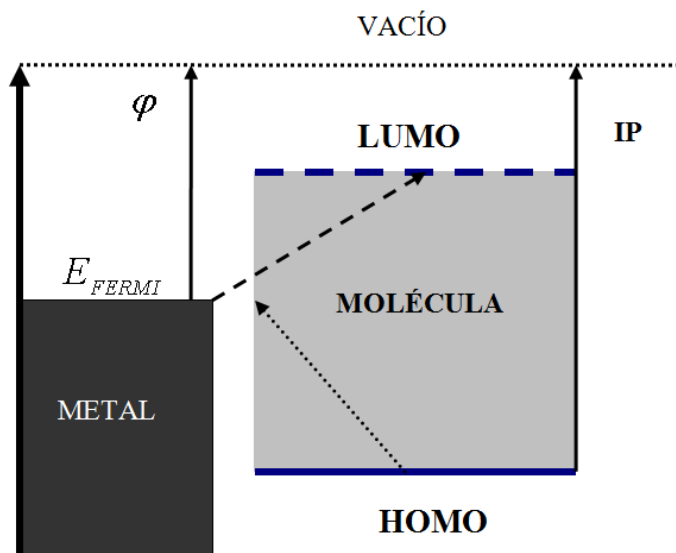


Figura 2.9: Diagrama de energía donde se ilustra la banda de energía del metal nanoestructurado y la banda HOMO-LUMO de la molécula adsorbida.

El efecto está limitado a la primera capa de moléculas adsorbidas (efecto de la primera capa). Las moléculas pueden ser químicamente adsorbidas sobre una partícula metálica, dando lugar a la formación de nuevos enlaces químicos que pueden observarse en el espectro SERS.

SERS a partir de una superficie compleja

Se hace una aproximación acerca de la formación de superficies complejas (metal-molécula) entre el metal y el adsorbato. El tratamiento para superficies complejas con transiciones electrónicas en resonancia debidas a la línea de excitación del láser, forma parte de un gran número de investigaciones que se discuten como parte del fenómeno de TC. Una transferencia compleja de carga es cuando un donador y un aceptor interactúa junto con la misma transferencia de carga eléctrica, por lo general facilitado por el aceptor.

Debido a que los espectros de absorción de superficies complejas por lo general no se conocen, la interpretación de del espectro se convierte en un juego de adivinanzas. Por lo tanto, la caracterización de superficies complejas es el centro de investigación y poder revelar superficies complejas sin transiciones electrónicas.

La principal tarea en la caracterización de superficies complejas es obtener el espectro de absorción, de esta manera las condiciones de resonancia son claramente identificadas; después los perfiles de excitación Raman.

3 Desarrollo de superficies nanoestructuradas

En el presente capítulo, se presenta el desarrollo experimental de este trabajo, en el cual se discutirá ampliamente la metodología para la síntesis de NPs, el procedimiento de preparación de sustratos especiales para SERS, Inmovilización de la molécula (Rodamina-B y Rosa de Bengala) sobre los sustratos de vidrio y su análisis mediante espectroscopia Raman por SERS.

En las siguientes subsecciones se discute de manera muy detallada cada uno de los procesos que seguimos hasta obtener los sustratos de vidrio que usamos para el análisis mediante espectroscopia Raman.

3.1. Síntesis de NPs de oro

Como ya se mencionó, para el aumento de la señal Raman por efecto superficial, se requiere de una superficie nanoestructurada, de tal manera que la fabricación de las NPs metálicas es una de las partes esenciales de este trabajo. A continuación

se describe a detalle el protocolo de las síntesis:

En la figura 3.1 se muestra de manera gráfica el proceso de síntesis de NPs de oro. Primero (a) se prepara una solución de Ácido tetracloroáurico (III) a 1 mM (con 99.9% en trazas metales base, Sigma-Aldrich) , Manteniéndola en agitación constante y en calentamiento hasta alcanzar su punto de ebullición el cual es cercano a los 100°C (b), en seguida se agrega 2 mL citrato de sodio (diluida al 1%) por cada 20 mL de la solución de oro (c) y finalmente para asegurar la formación de las NPs esféricas, es preciso observar durante la síntesis que la solución es transparente al momento de agregar el citrato de sodio, algunos minutos después la tonalidad comienza a oscurecerse has alcanzar un tono violeta y finalmente un rojo rubí intenso (d). Cuando alcanza este color, el coloide es retirado del calentamiento y se permite que este se enfríe a temperatura ambiente [13].

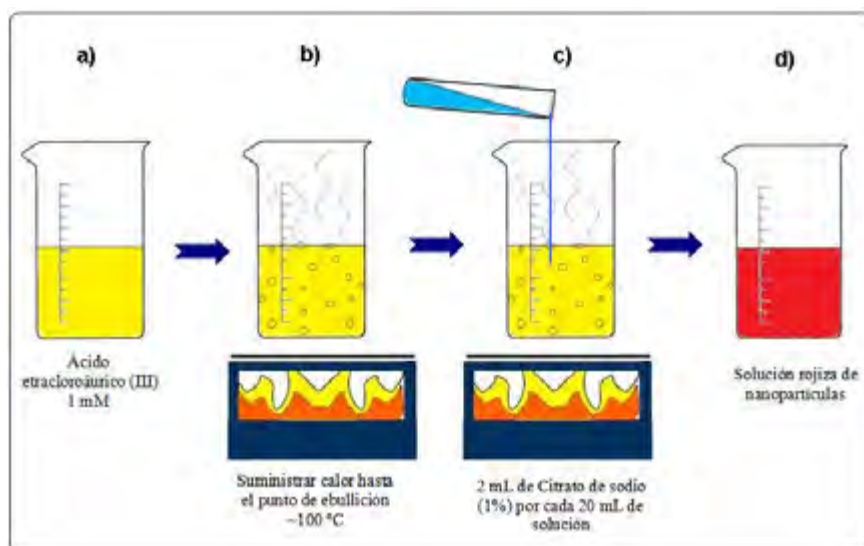


Figura 3.1: Procedimiento para obtener nanoesferas de oro.

Las NPs de oro fueron caracterizadas por medio de espectroscopia de absorción (figura 3.2) y mediante imágenes de transmisión electrónica TEM (figuras 3.3 y 3.4), obteniendo así información de las partículas acerca de su tamaño, morfología y región de excitación del plasmón.

En la figura 3.2 se muestran los espectros de absorción normalizados de las NPs esféricas en solución acuosa, donde es posible observar que las partículas cuentan con una sola banda de absorción en ~ 525 nm. De esta banda de absorción podemos inferir características de las NPs tales como el posible tamaño de las partículas $\sim 15 - 30$ nm y una morfología esférica por tener un solo máximo.

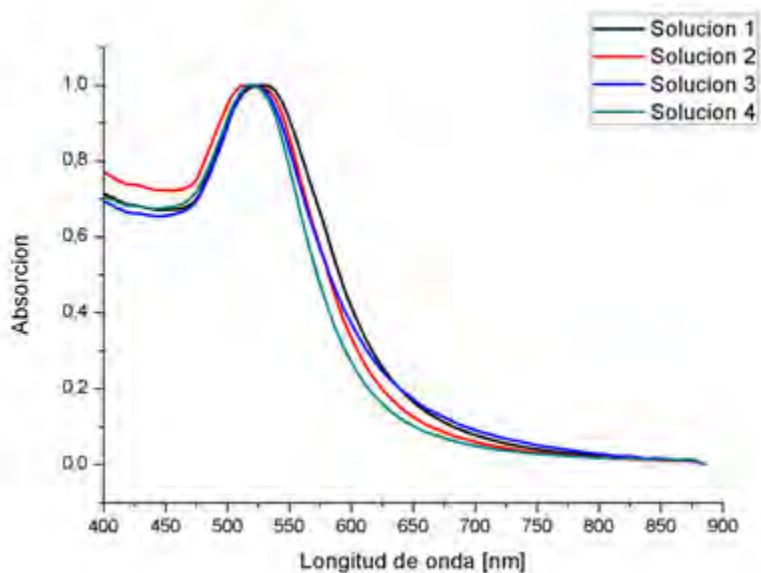


Figura 3.2: Espectros de absorción normalizados de distintas soluciones de NPs de oro sintetizadas con citrato de sodio.

Para comprobar las inferencias hechas sobre las NPs acerca de su morfología y tamaño, las mismas partículas se caracterizan mediante imágenes de alta resolución proporcionadas por un microscopio de transmisión electrónica TEM (figuras 3.3 y 3.4), revelando que las partículas tienen en general una morfología esférica de $\sim 15 - 20$ nm.

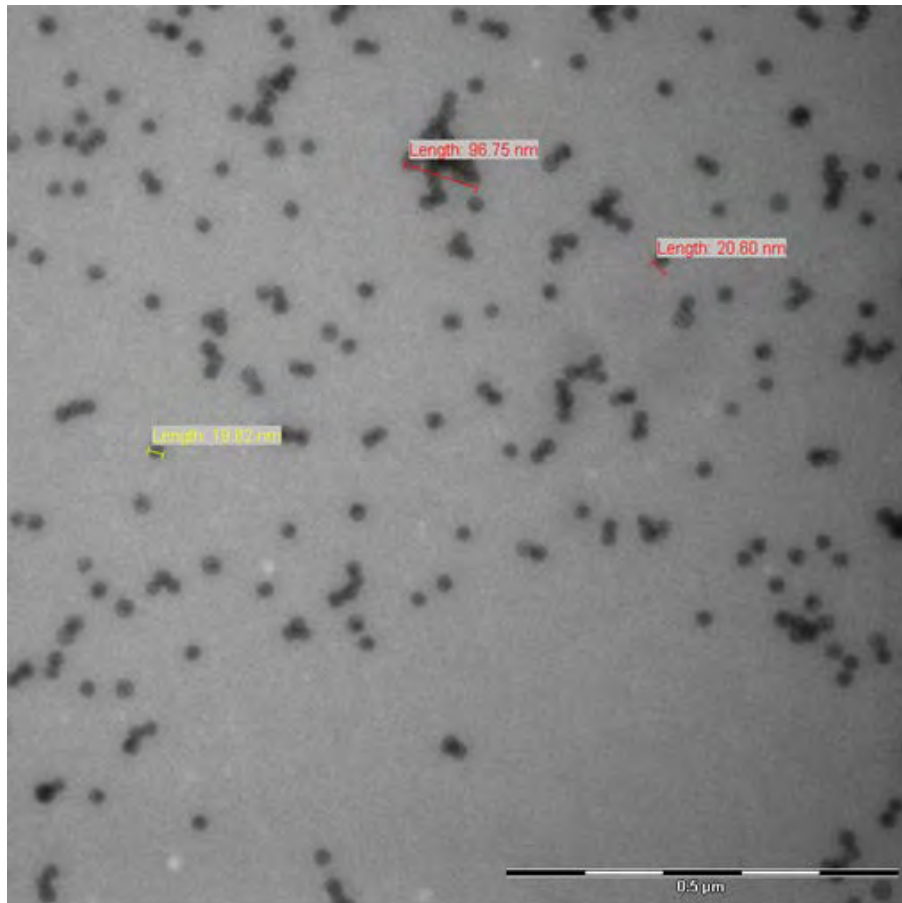


Figura 3.3: Imagen TEM de NPs esféricas sintetizadas mediante citrato de sodio.

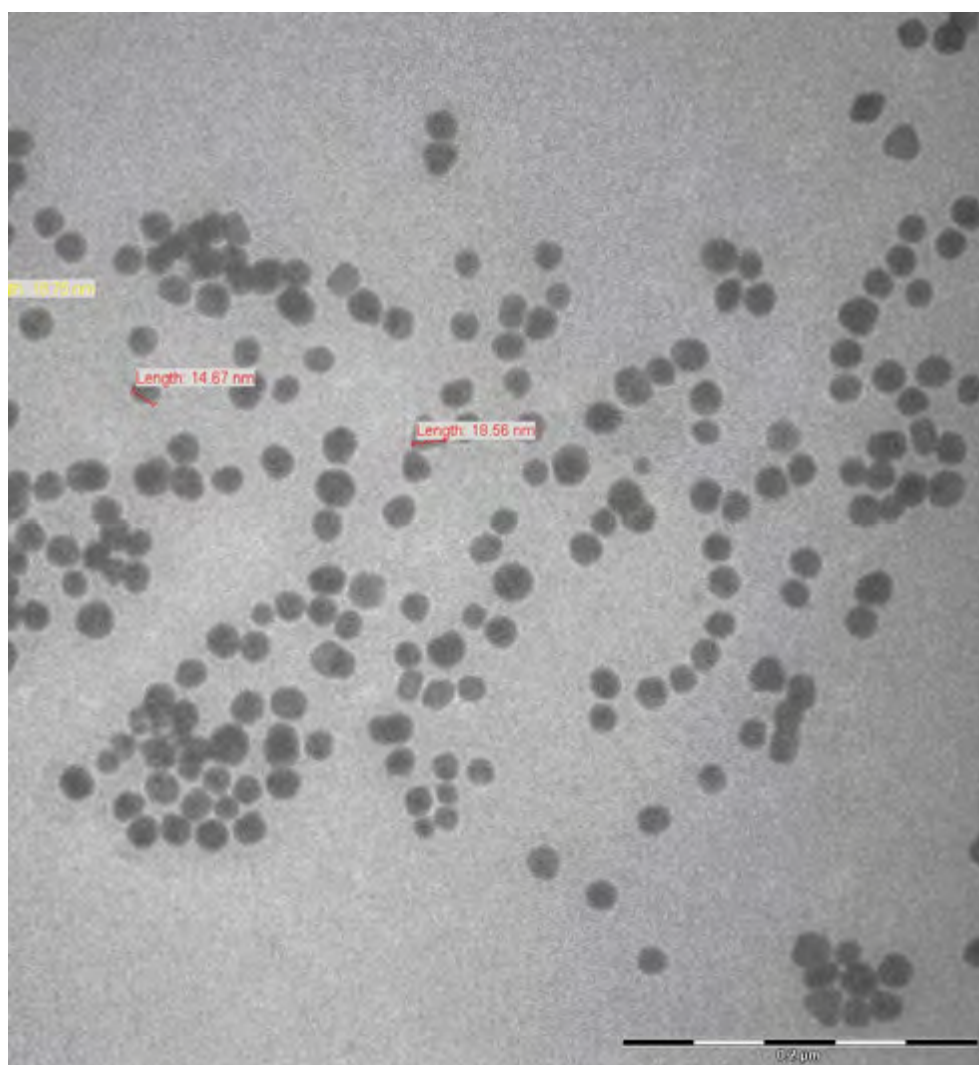


Figura 3.4: Imagen TEM de NPs esféricas sintetizadas mediante citrato de sodio.

3.2. Modificación de la superficie de sustratos de vidrio

A continuación se describe en detalle la preparación de los sustratos de vidrio para su aplicación en espectroscopia Raman por SERS.

En la figura 3.5 se muestra de manera gráfica el protocolo de preparación de los sustratos de vidrio (porta objetos, marca courning, 0.8-1.1 mm de espesor), iniciamos la preparación con la limpieza de los sustratos la cual consiste en lavar el vidrio con agua y jabón para retirar contaminantes presentes en el sustrato (a); después se da un enjuague bajo agitación ultrasónica con metanol y agua desionizada durante 15 minutos (b); en seguida se prepara una mezcla de Agua oxigenada (H_2O_2) y ácido sulfúrico (H_2SO_4) en una razón volumétrica de 30 a 70 %, los sustratos son sumergidos en esta solución durante 45 min. a una temperatura de 80 °C (c) con el objetivo de generar enlaces tipo OH sobre la superficie del vidrio; después se da otro enjuague con agua desionizada bajo agitación ultrasónica (d); Finalmente los sustratos son secados en horno a una temperatura de 110 °C para retirar el agua mediante evaporación sin necesidad de tocar la superficie del vidrio (e); ya limpio el sustrato y con OH libres, el sustrato se sumerge 24 horas en una solución de moléculas de 3-aminopropyl-silane (APTMS) diluida al 1.25 % en metanol para funcionalizar el vidrio (f); en seguida el sustrato es enjuagado con metanol y agua desionizada respectivamente bajo agitación ultrasónica para retirar residuos de APTMS (g) [14].

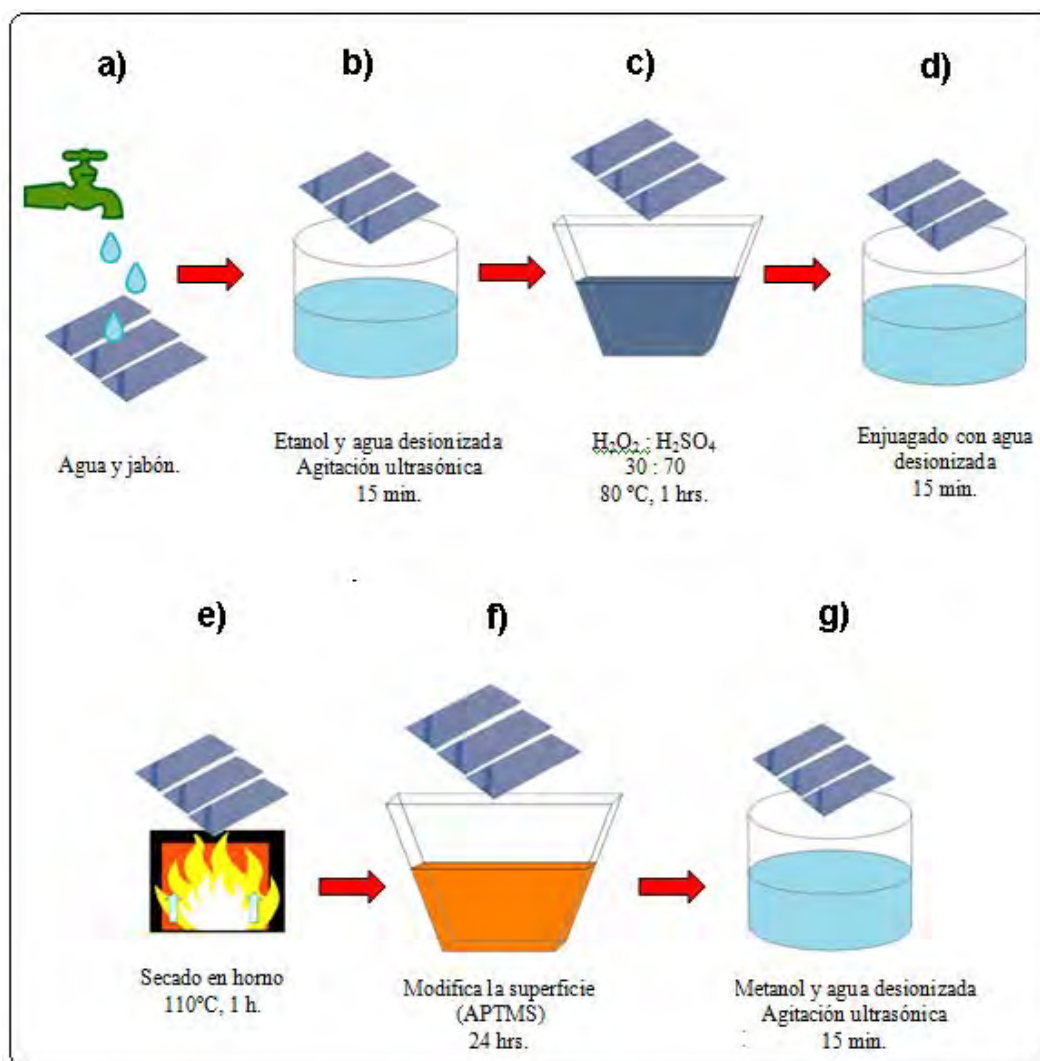


Figura 3.5: Procedimiento para la fabricación de superficies nanoestructuradas de oro.

3.3. Depósito de NPs sobre sustratos

Como se ha reportado en trabajos teóricos y experimentales, el aumento de la señal Raman por efecto superficial es mayor cuando se tienen aglomerados de NPs y los cuales denominan como hot-spots [16–19]. En el presente trabajo se proponen dos técnicas para generar aglomerados de NPs de oro en el sustrato, y con ello una mejor eficiencia de los sustratos en la detección de moléculas orgánicas mediante SERS.

Una vez limpia y modificada la superficie del vidrio, la formación de la superficie nanoestructurada con aglomerados de NPs se llevó a cabo por medio de dos métodos de preparación:

En el primer método de preparación (método A) la molécula en estudio se mezcla con el coloide metálico de forma que provoque agregación parcial (debido a la interacción electrostática), esto implica que dicha molécula se localice dentro y sobre los agregados para posteriormente adherirse al vidrio. El proceso es sencillo y se basó en los resultados reportados en [14, 15]. Como se muestra en la figura 3.6, primero se agrega la molécula en estudio a la solución de NPs para quedar finalmente a una concentración molecular de 10^{-6} M (a), después se introducen los sustratos funcionalizados de forma vertical en la misma solución durante 24 horas para formar la superficie nanoestructurada (b); finalmente el sustrato es enjuagado exhaustivamente con un chorro de agua desionizada para retirar los residuos de partículas-moléculas que no fueron adheridas al vidrio (c).

El segundo método (Método B) consiste en formar aglomerados de NPs con

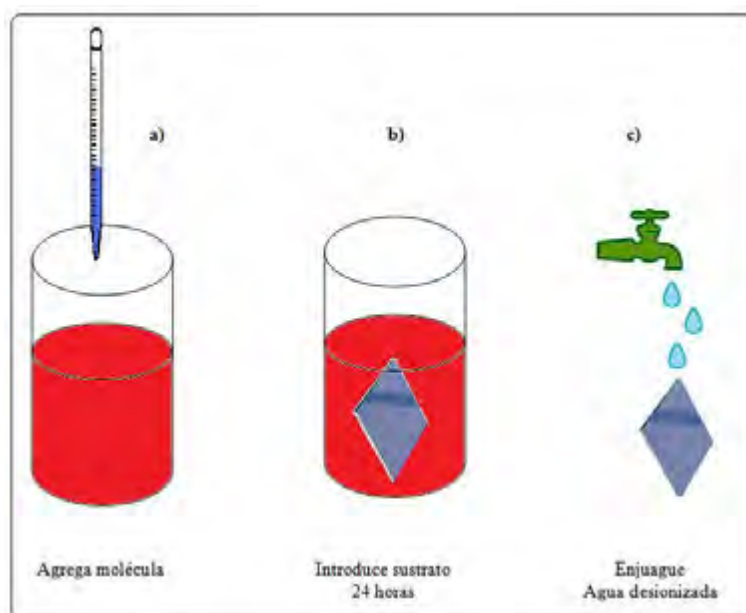


Figura 3.6: Método A para el desarrollo del sustrato para SERS formando aglomeraciones con la molécula.

ayuda de una sal binaria como lo es cloruro de sodio (NaCl), el proceso se describe en la figura 3.7 y esta basado en los resultados reportados en [14, 15]. Durante el proceso de formación de la superficie nanoestructurada, se agrega NaCl a la solución de NPs quedando la solución a una concentración de 10^{-2} M de Sal (a); la sal agrega las NPs por medio de la interacción electrostática observando claramente un cambio en el coloide de rojizo claro a rojo oscuro. En seguida se introduce el sustrato funcionalizado de forma vertical en el coloide con NaCl (b), Después de retirar el sustrato del coloide, este es enjuagado (c). Finalmente la molécula es inmovilizada sobre el sustrato simplemente sumergiendo el sustrato por 24 hrs (d) y es secado a temperatura ambiente (e).

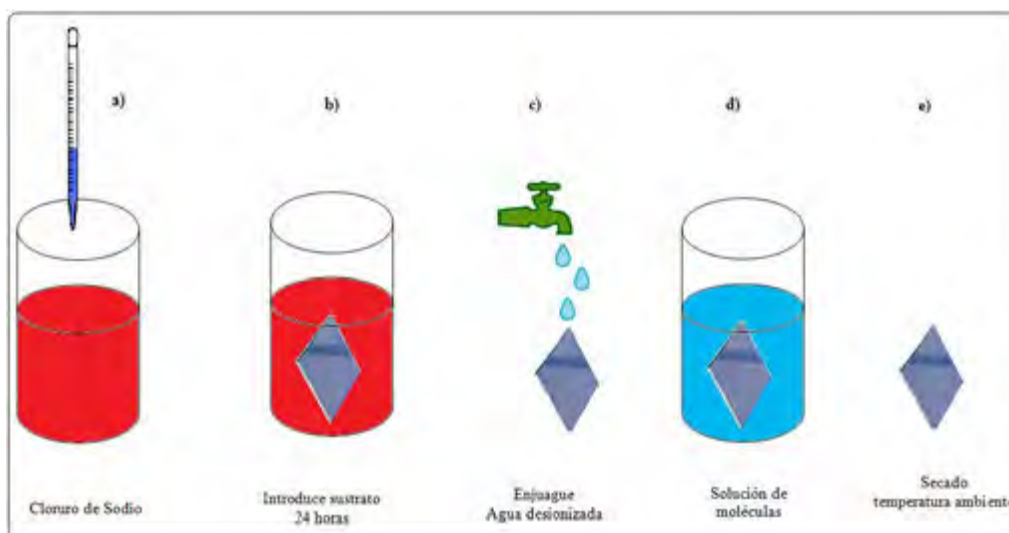


Figura 3.7: Método B para el desarrollo del sustrato para SERS formando aglomeraciones con Sal.

Los sustratos para SERS, como ya se mencionó, son fabricados mediante dos métodos. En la figura 3.8 se observa una fotografía de dichos sustratos fabricados para el aumento de la señal Raman por efecto superficial.

Los sustratos fueron caracterizados mediante espectroscopia de absorción óptica, microscopio de fuerza atómica y espectroscopia Raman; esto para conocer la topografía de la superficie nanoestructurada; además para determinar la banda de excitación del plasmón del mismo sustrato; con dicha información se pretende determinar las características y propiedades sustrato especial para SERS que establezcan lo verdaderamente trascendental para el aumento de la señal Raman por efecto superficial de nuestros sustratos.

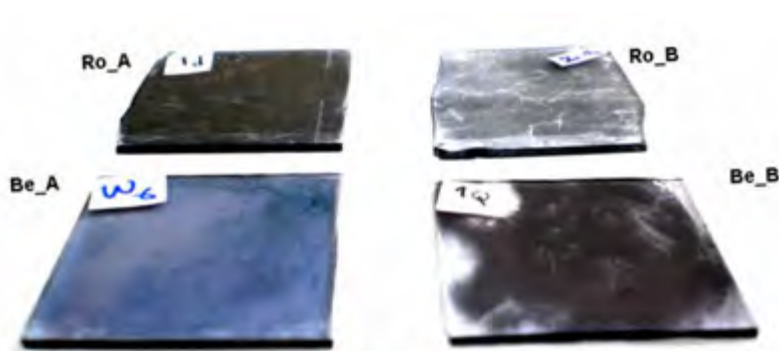


Figura 3.8: Fotografía de sustratos fabricados mediante la metodología aquí propuesta.

En la figura 3.9 se muestran los espectros de absorción normalizados de los sustratos Ro_A y Be_A, obtenidos mediante el método A con la molécula Rodamina-B y Rosa de Bengala respectivamente; donde es posible observar notorias diferencias entre ambas tanto en el ensanchamiento de la banda de absorción como en el corrimiento de la misma. Ambas presentan un mínimo en común en ~ 485 nm, mientras que el sustrato con Rodamina-B (sustrato Ro_A) presenta un máximo en ~ 730 nm y el sustrato con Rosa de Bengala (sustrato Be_A) presenta un máximo en ~ 580 nm. De los mismos espectros, se puede inferir que dichas diferencias son debidas a que cada molécula afecta de forma diferente en las aglomeraciones de NPs formando como consecuencia agregados con características diferentes.

En la figura 3.10 se muestran los espectros de absorción normalizados de los sustratos Ro_B y Be_B, los cuales fueron fabricados mediante el método 2 con la molécula Rodamina-B y Rosa de Bengala respectivamente. En los espectros de la misma figura 3.10 es posible observar notorias diferencias sobre todo en el ancho de

la banda de absorción. Ambas presentan en común un mínimo en ~ 480 nm y un máximo en ~ 590 nm, además el sustrato con Ro_B presenta un máximo en ~ 700 nm y el sustrato Be_B presenta un máximo en ~ 730 nm. De los mismos espectros se puede inferir que las diferencias son debidas al diferencias en las dimensiones de los aglomerados a pesar de que el método fue el mismo, además el espectro de absorción de cada molécula es distinto.

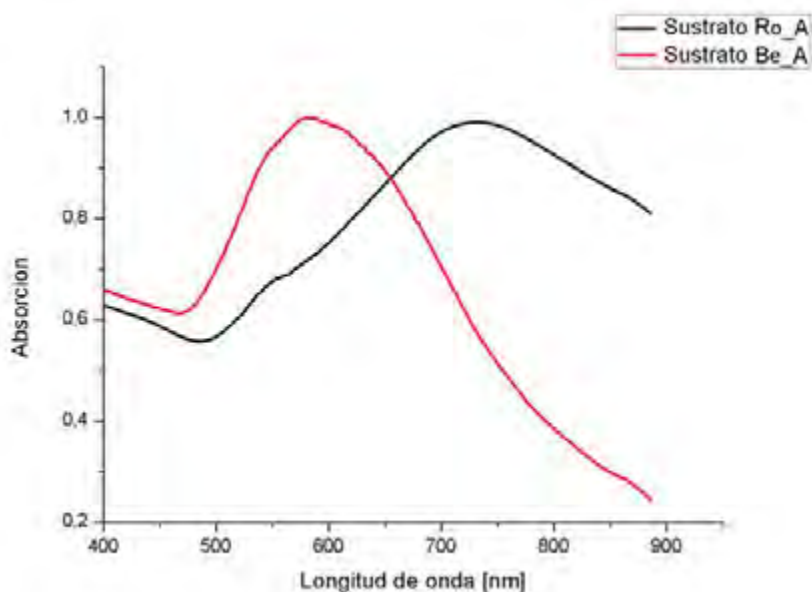


Figura 3.9: Espectros de absorción normalizados de los sustratos para SERS elaborados mediante el método A con la molécula Rodamina-B (Ro_A) y Rosa de Bengala (Be_A) respectivamente.

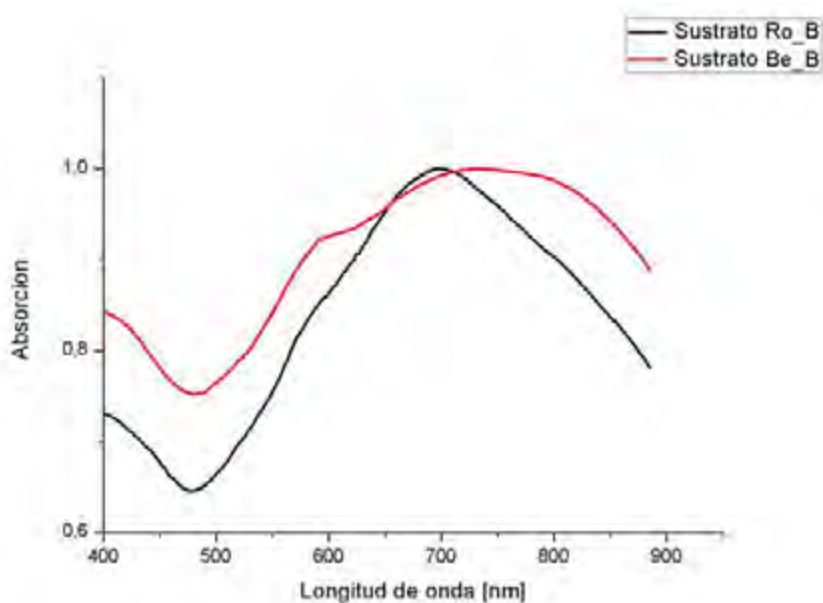


Figura 3.10: Espectros de absorción normalizados de los sustratos SERS elaborados mediante el método B con la molécula Rodamina-B (Ro_B) y Rosa de Bengala (Be_B) respectivamente.

Para conocer más a detalle la estructura de la superficie de nuestros sustratos, se tomaron imágenes de alta resolución con un microscopio de fuerza atómica, y de esta manera conocer la forma en que se depositaron los agregados de NPs y el tamaño de los agregados.

En la figura 3.11 se muestran imágenes AFM del sustrato Ro_A. En la imagen (a) se observa el depósito de los aglomerados de nanopartículas sobre una sección del sustrato ($6\mu\text{m} \times 6\mu\text{m}$) observando un depósito bastante homogéneo; en la imagen (b) es posible observar una topografía áspera de la superficie en tercera dimensión; finalmente, en la imagen (c) se muestra un perfil de la superficie en

un punto específico del sustrato, donde es posible estimar las dimensiones de la estructura superficial del orden de $\sim 15,67$ nm.

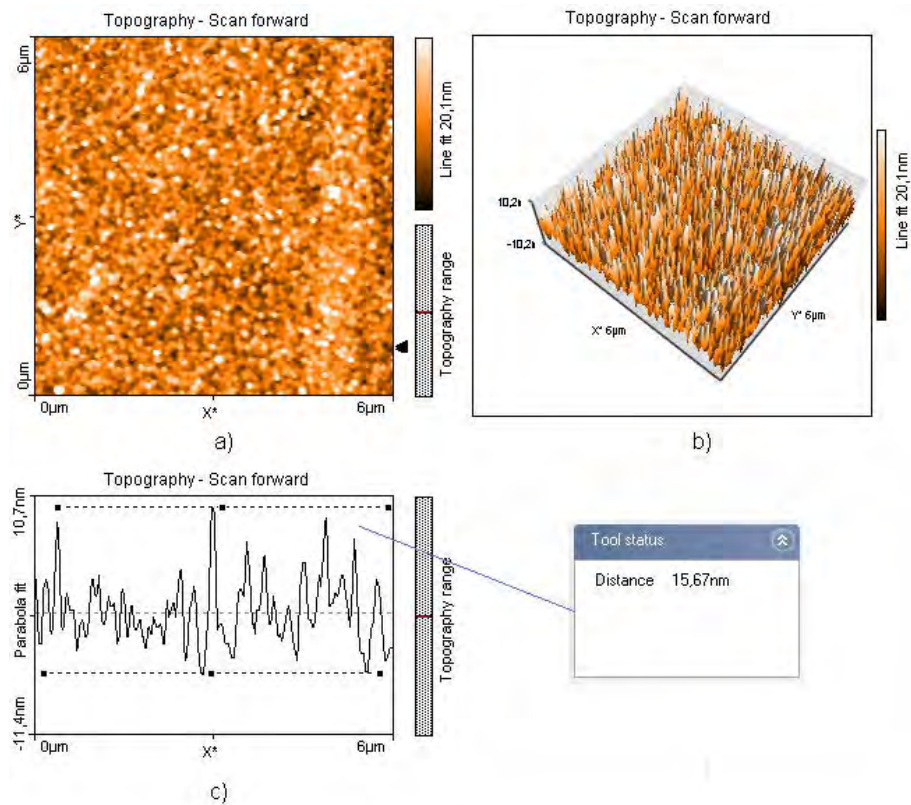


Figura 3.11: Imágenes AFM del sustrato Ro_A. a) distribución del depósito de aglomerados sobre el sustrato, b) topografía en tercera dimensión de la superficie nanoestructurada, y d) perfil del sustrato.

En la figura 3.12 se muestran imágenes AFM del sustrato Be_A. En la imagen (a) se observa el depósito de los aglomerados de nanopartículas sobre una sección del sustrato ($6\mu m \times 6\mu m$) observando un depósito bastante homogéneo; en la

imagen (b) es posible observar una topografía áspera de la superficie en tercera dimensión, con aglomerados mas pequeños que el sustrato Ro_A; finalmente, en la imagen (c) se muestra un perfil de la superficie en un punto específico del sustrato, donde es posible estimar las dimensiones de la estructura superficial del orden de $\sim 14,49$ nm.

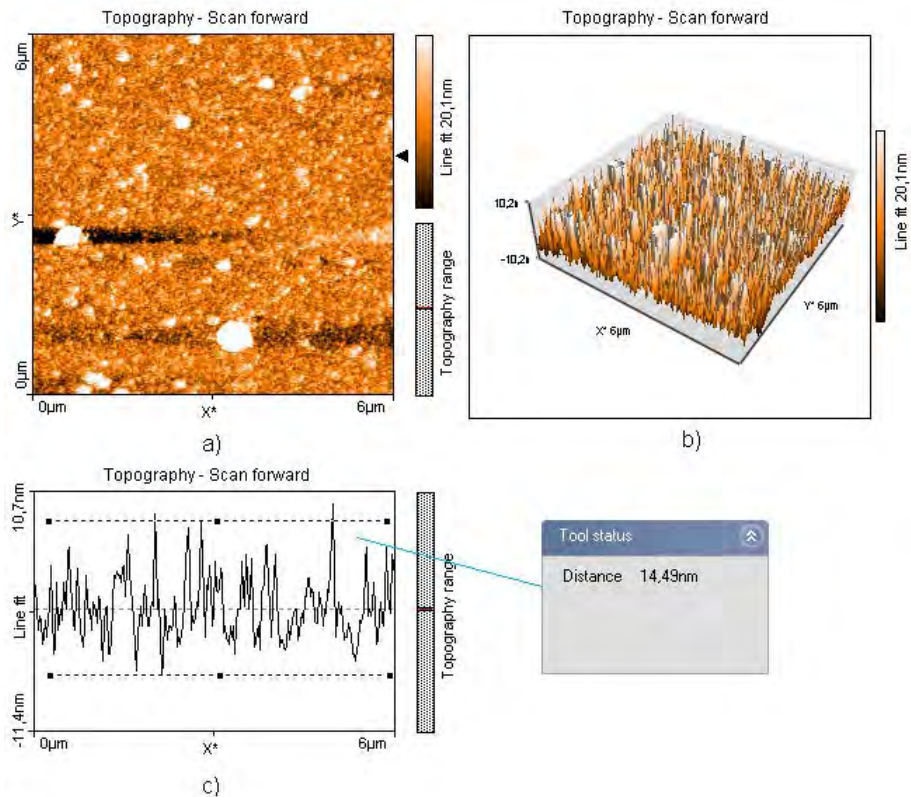


Figura 3.12: Imágenes AFM del sustrato Be_A. a) distribución del depósito de aglomerados sobre el sustrato, b) topografía en tercera dimensión de la superficie nanoestructurada, y d) perfil del sustrato.

En la figura 3.13 se muestran imágenes AFM del sustrato Ro_B. En la imagen (a) se observa el depósito de los aglomerados de nanopartículas sobre una sección del sustrato ($6\mu m \times 6\mu m$) observando un depósito bastante inhomogéneo con aglomerados bastante grandes (del orden de $\sim 1\mu m$); en la imagen (b) es posible observar una topografía áspera de la superficie en tercera dimensión; finalmente, en la imagen (c) se muestra un perfil de la superficie en un punto específico del sustrato, donde es posible estimar las dimensiones de la estructura superficial del orden de $\sim 16,65$ nm.

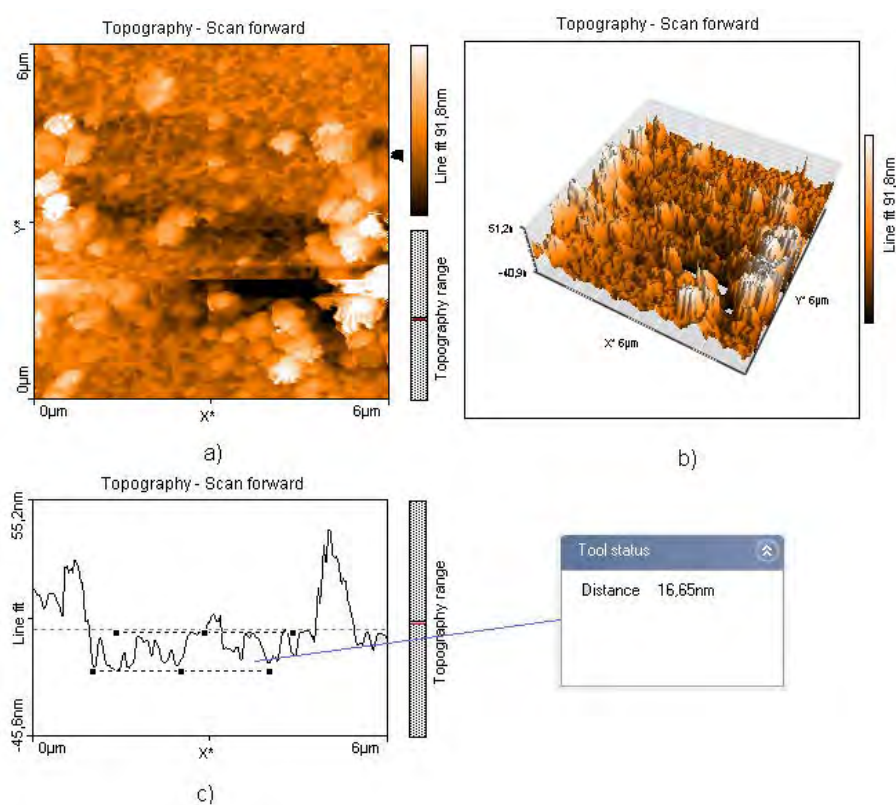


Figura 3.13: Imágenes AFM del sustrato Ro_B. a) distribución del depósito de aglomerados sobre el sustrato, b) topografía en tercera dimensión de la superficie nanoestructurada, y d) perfil del sustrato.

4 Resultados

En el presente capítulo se mostrarán los resultados obtenidos en la detección molecular de la Rodamina-B y Rosa de Bengala mediante espectroscopia Raman Amplificada por efecto superficial, además se mostrará la eficiencia de los sustratos en la obtención de la señal Raman realizando un muestreo en 16 puntos distribuidos homogéneamente sobre todo el sustrato.

Las mediciones de espectroscopia Raman por SERS, se llevaron a cabo mediante el uso de un espectrómetro Raman comercial (Renishaw, 1000B). Todos los sustratos se analizaron bajo las mismas condiciones experimentales, una fuente de excitación localizada en los 830 nm, con una potencia de 7 mW, el cual fue enfocado con un objetivo 50X, y usando un tiempo de integración de 30 segundos. En la figura 4.1 se muestra una imagen del sistema utilizado (a), así como un diagrama esquemático del mismo (b).

Antes de comenzar con el análisis SERS, es necesario conocer los espectros Raman de las moléculas a detectar, así como de los sustratos con y sin NPs.

Las moléculas en cuestión (Rodamina-B y Rosa de Bengala) fueron depositadas

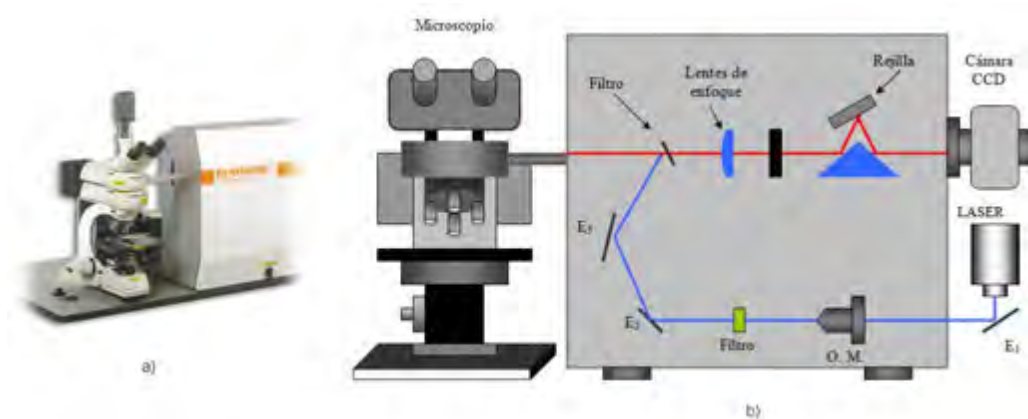


Figura 4.1: Equipo de medición Raman: a) fotografía del equipo de marca comercial Renishaw, b) esquema de la óptica integrada.

por goteo ($\sim 5 \mu L$) sobre sustratos de vidrio y aluminio a distintas concentraciones (10^{-2} M, 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M, y 10^{-6} M,) con el objetivo de conocer el espectro Raman característico de dichas moléculas a altas concentraciones y conocer el límite mínimo de detección molecular sin la superficie nanoestructurada para finalmente comprobar la eficiencia de detección molecular con nuestros sustratos mediante SERS.

En la figura 4.2 se muestran los espectros Raman de la Rodamina-B a distintas concentraciones colocada sobre sustratos de papel aluminio, donde es posible observar que a una concentración de 10^{-6} M fue imposible detectar la molécula. En esta imagen también es posible observar picos característicos de la Rodamina-B en el corrimiento Raman en $\sim 620 \text{ cm}^{-1}$, 734 cm^{-1} , 1011 cm^{-1} , 1069 cm^{-1} , 1194 cm^{-1} , 1280 cm^{-1} , 1356 cm^{-1} , 1510 cm^{-1} y 1650 cm^{-1} , los cuales representan la huella dactilar de la misma molécula útiles para la detección molecular.

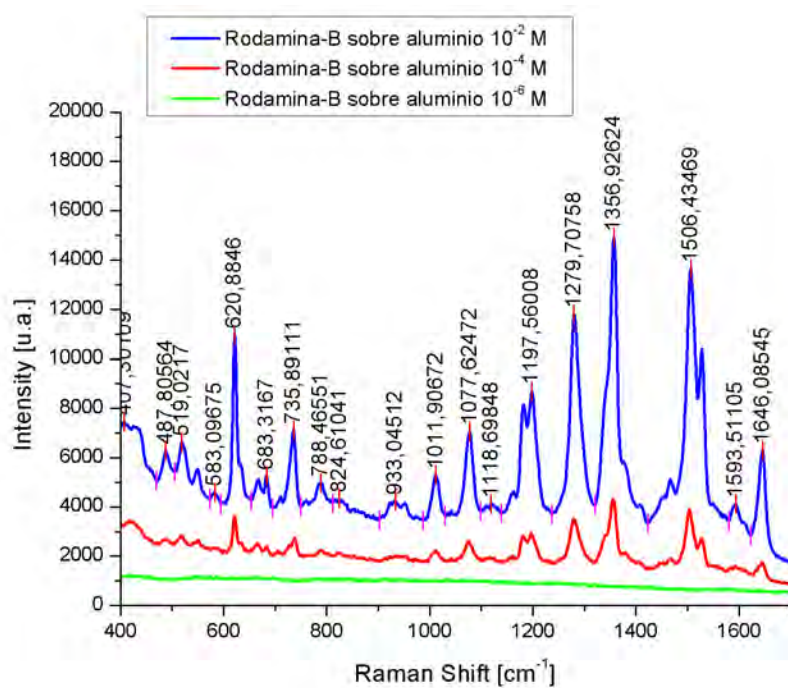


Figura 4.2: Espectros Raman de la molécula Rodamina-B a distintas concentraciones sobre un sustrato de aluminio.

En la figura 4.3 se muestran los espectros Raman de la Rodamina-B a distintas concentraciones colocada sobre sustratos de vidrio, donde es posible observar que a una concentración de 10^{-2} M fue imposible detectar la molécula colocada sobre el mismo vidrio.

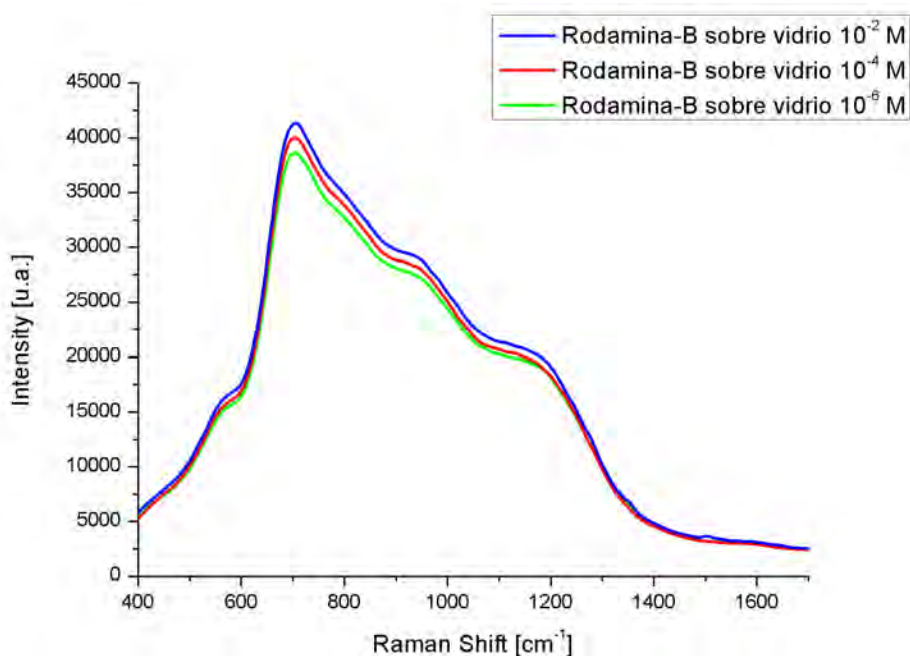


Figura 4.3: Espectros Raman de la molécula Rodamina-B a distintas concentraciones sobre un sustrato de vidrio.

Por otra parte, el mismo análisis fue realizado para la molécula Rosa de Bengala, de esta manera, en la figura 4.4 se muestran los el espectros Raman de la Rosa de Bengala a distintas concentraciones colocada sobre sustratos de papel aluminio, donde es posible observar que a una concentración de 10^{-6} M fue imposible detectar la molécula. En esta imagen también es posible observar picos característicos de la Rosa de Bengala en el corrimiento Raman en ~ 614 cm^{-1} , 952 cm^{-1} , 1007 cm^{-1} , 1044 cm^{-1} , 1159 cm^{-1} , 1289 cm^{-1} , 1482 cm^{-1} y 1612 cm^{-1} , los cuales representan la huella dactilar de la misma molécula útiles para la detección molecular.

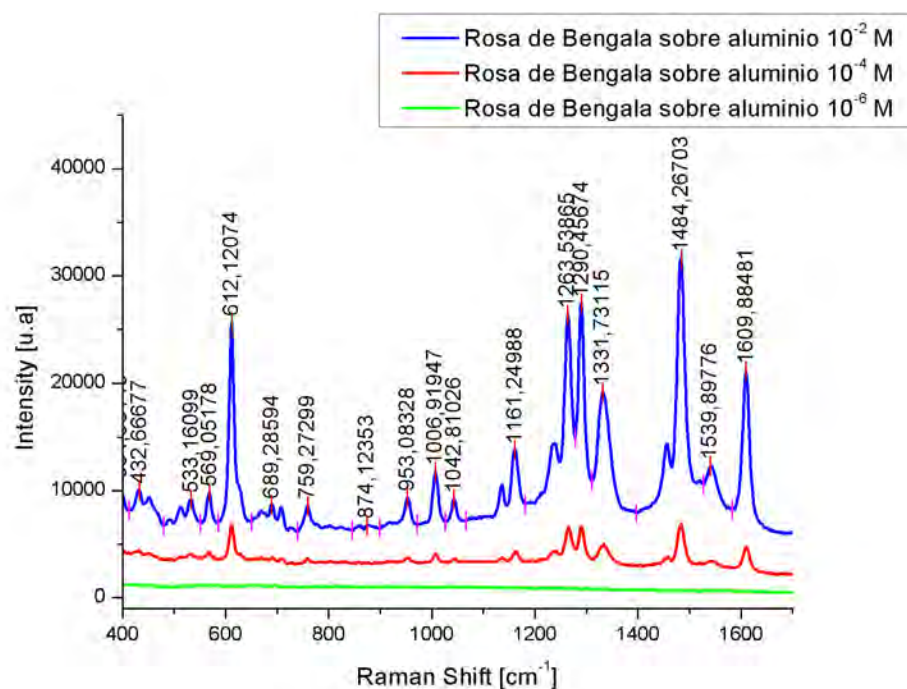


Figura 4.4: Espectros Raman de la molécula Rosa de Bengala a distintas concentraciones sobre un sustrato de Aluminio.

En la figura 4.5 se muestran los espectros Raman de la molécula Rosa de Bengala a distintas concentraciones colocada sobre sustratos de vidrio, donde es posible observar que a una concentración alta (10^{-2} M) fue imposible detectar la molécula colocada sobre el mismo vidrio.

Debido a que nuestros sustratos están compuestos por vidrio y NPs de oro, estos fueron analizados mediante espectroscopia Raman, en la figura 4.6 se muestran los espectros Raman para determinar la influencia de estos elementos en los resultados finales SERS. En los mismos espectros es posible observar que los espectros del vidrio y las NPs son muy similares, ambos presentan un máximo en

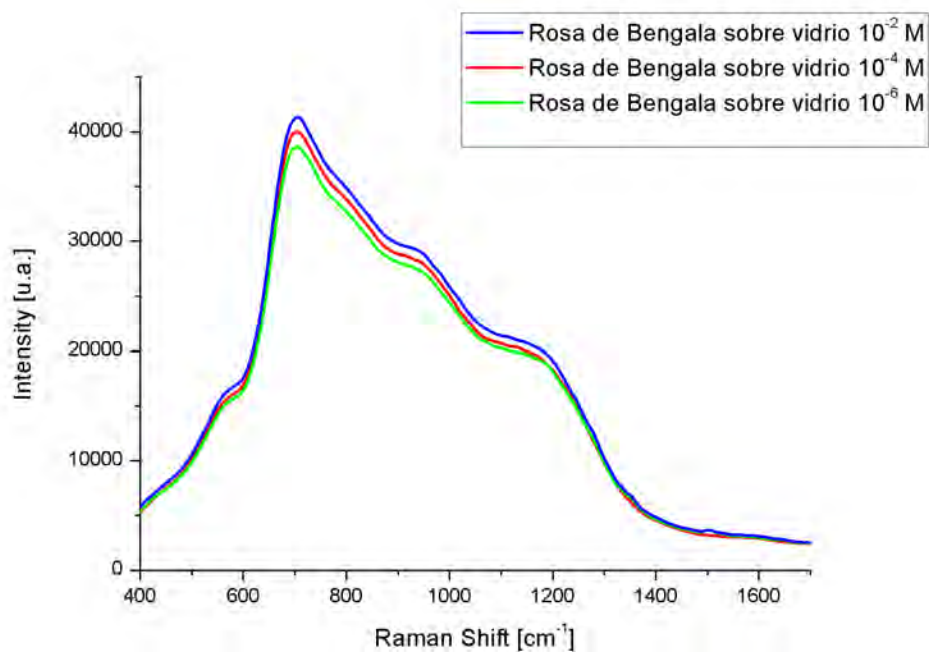


Figura 4.5: Espectros Raman de la molécula Rosa de Bengala a distintas concentraciones sobre un sustrato de vidrio.

$\sim 700 \text{ cm}^{-1}$ y un mínimo hasta $\sim 1400 \text{ cm}^{-1}$. De esta similitud entre los espectros es posible inferir que el espectro de las NPs es la misma señal producida por el vidrio pero amplificada por el efecto de la superficie nanoestructurada.

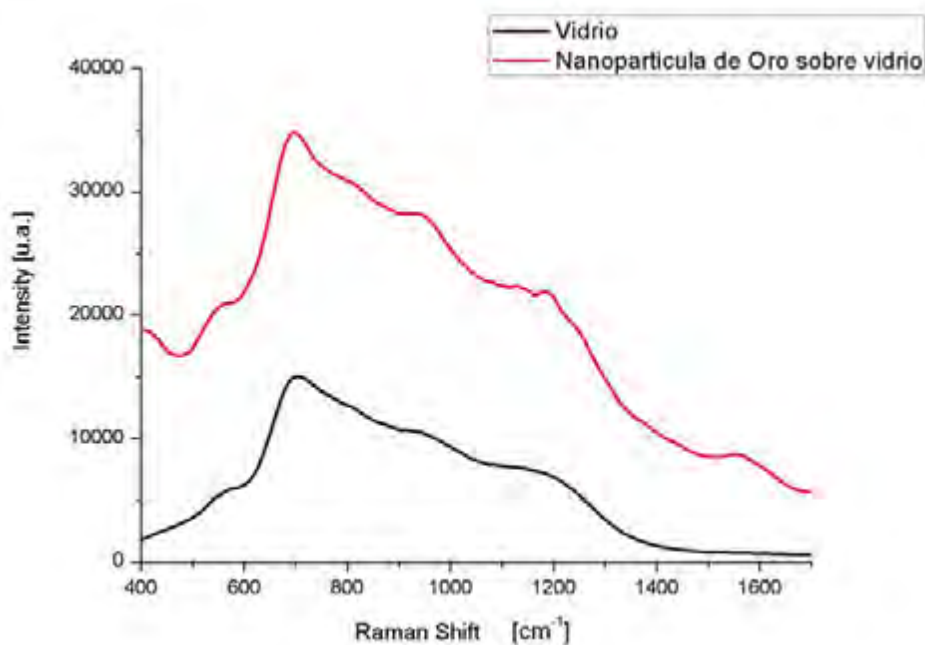


Figura 4.6: Espectros Raman del vidrio y NPs de Oro sobre vidrio.

4.1. Aumento de la Dispersión Raman por efecto Superficial

En esta sección se presentan los resultados correspondientes de los sustratos nanoestructurados mediante espectroscopia Raman por SERS, como ya se mencionó, para dicha prueba usamos dos moléculas comerciales rodamina B y Rosa de Bengala. El aumento de la dispersión es estimado al comparar los espectros de las mismas moléculas a una concentración 10^{-6} M, tanto en el sustrato SERS como en aluminio y sobre vidrio (material del sustrato). Además de estimar el aumento, en esta misma sección se presentan los resultados sobre la detección

molecular, comparando el espectro Raman característico de las moléculas con los sustratos especiales para SERS elaborados en el presente trabajo. Finalmente se muestra que la metodología aquí propuesta es muy eficiente para la preparación de sustratos altamente reproducibles en la obtención de la señal Raman, mostrando como se obtienen señales Raman sobre todo el sustrato sin la necesidad de enfocar puntos específicos.

En la figura 4.7 se observa un claro aumento de la señal Raman de la Rodamina-B en el sustrato Ro_A ya que ni en el sustrato de vidrio ni en el sustrato de aluminio se logra ver señal Raman de la molécula a una concentración de 10^{-6} M.

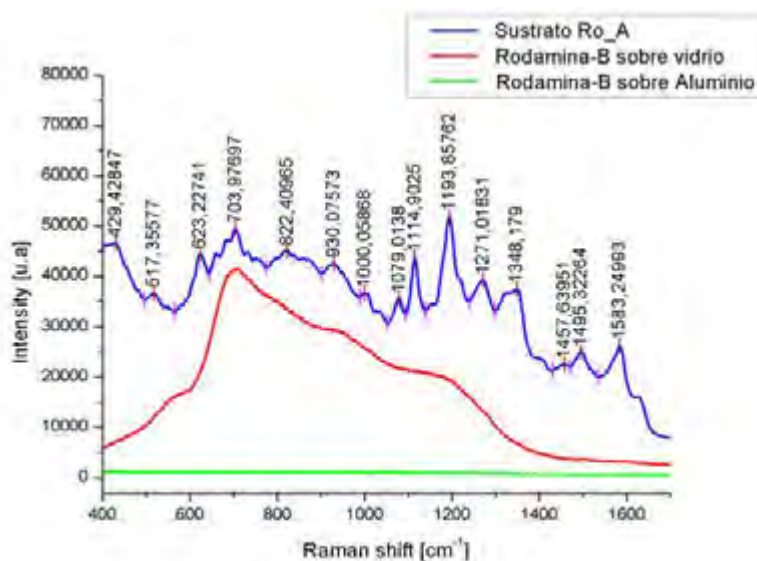


Figura 4.7: Estimación del aumento por SERS de la molécula Rodamina-B medida sobre aluminio, sobre vidrio y en el sustrato Ro_A a una concentración de 10^{-6} M.

En el sustrato Be_A no se detecto la señal Raman en ningún punto, se infiere que no fue posible la detección molecular debido a que la concentración de Rosa de Bengala no fue suficiente para generar aglomerados (producen mayor aumento la señal Raman) tal como lo muestra la imagen de AFM.

En la figura 4.8 se observa un claro aumento de la señal Raman de la Rodamina en el sustrato Ro_B ya que ni en el sustrato de vidrio ni en el sustrato de aluminio se logra ver señal Raman de la molécula a una concentración de 10^{-6} M.

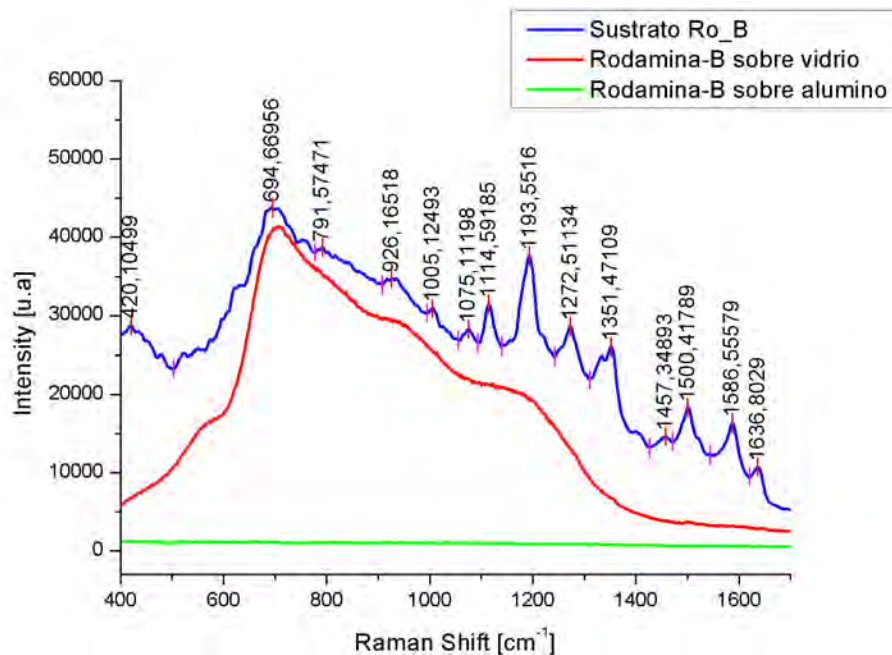


Figura 4.8: Estimación del aumento por SERS de la molécula Rodamina-B medida sobre aluminio, sobre vidrio y en el sustrato Ro_B a una concentración de 10^{-6} M.

Para la Rosa de Bengala, es posible observar en la figura 4.9 cómo la intensidad del espectro es muy baja pero con picos Raman bien definidos, esto es debido a que la potencia original (7 mW) tuvo que disminuirse al 10% debido a que el detector se saturaba evitando la obtención de la señal Raman. de esta manera entonces si es posible observar un claro aumento de la señal Raman de la Rosa de Bengala en el sustrato Be.B ya que ni en el sustrato de vidrio ni en el sustrato de aluminio se logra ver señal Raman de la molécula a una concentración de 10^{-6} M.

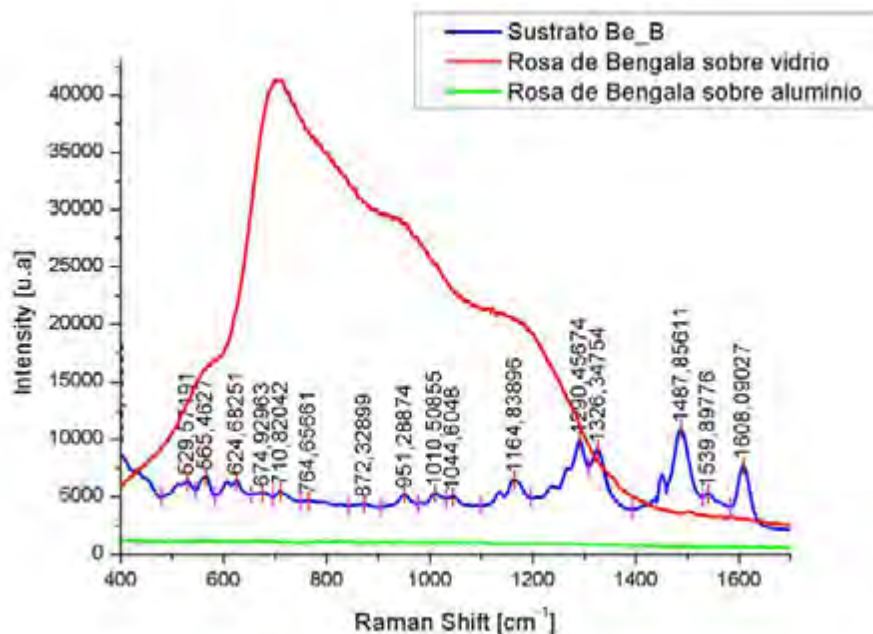


Figura 4.9: Estimación del aumento por SERS de la molécula Rosa de Bengala medida sobre aluminio, sobre vidrio y en el sustrato Be.B a una concentración de 10^{-6} M.

Al comparar los resultados del aumento de la Señal Raman por SERS de nuestros sustratos con los sustratos reportados en [20], nos daremos cuenta de la eficacia para el aumento de la señal y en la detección molecular de nuestros sustratos como lo muestran los espectros de la figura 4.10. En ésta figura se observan los espectros de la molécula Rodamina-B a una concentración de 10^{-3} M sobre un sustrato de silicio con una superficie nanoestructurada de oro. El aumento lo comprobamos de la misma figura 4.10-c donde se observan un espectro Raman bastante débil de la molécula Rodamina-B colocada sobre el una simple oblea de silicio a una concentración de 10^{-3} M, mientras que en los espectros (a y b) se tienen espectros con picos bien definidos de la molécula Rodamina-B sobre sustratos de silicio con una superficie nanoestructurada de oro hidrofóbicas e hidrofílicas respectivamente a una concentración de 10^{-3} M, mientras que en el espectro de color rojo (d) se observa un espectro de Rodamina-B medida experimentalmente con nuestros sustratos a una concentración de 10^{-6} M.

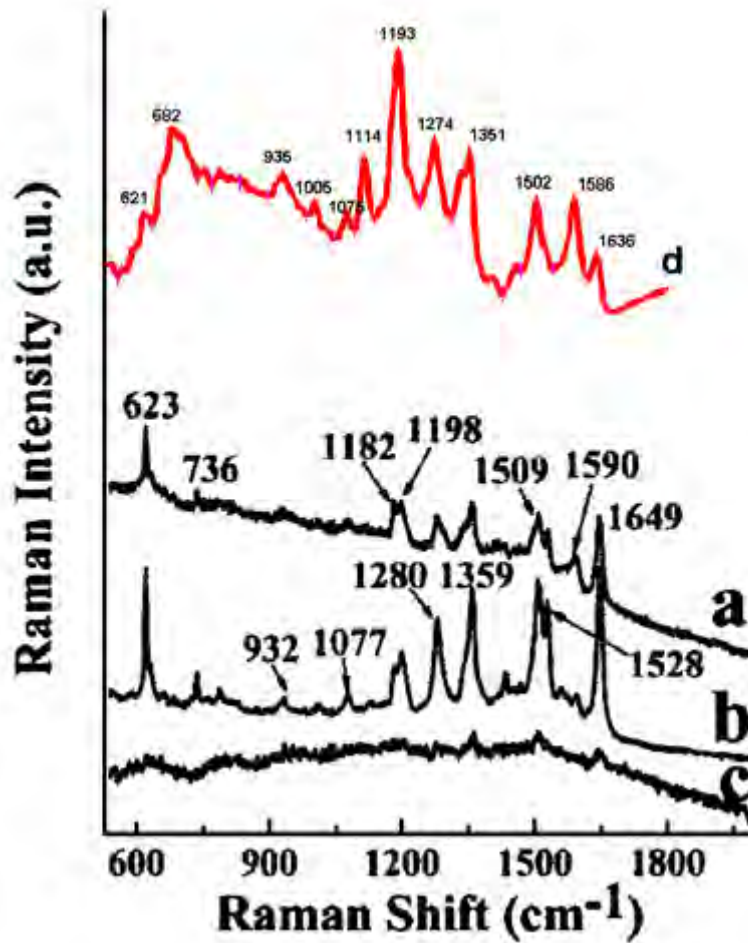


Figura 4.10: Comparación de nuestros resultados con los reportados en [20]. (a, b) espectros SERS de nanopartículas hidrofóbicas e hidrofílicas usando Rodamina-B (10^{-3} M). (c) Dispersión Raman de la Rodamina-B sobre silicio (10^{-3} M). (d) Espectro Raman de la rodamina-B (10^{-6} M) de nuestros sustratos. La fuente de excitación láser para (a, b y c) fue de 633 nm (potencia de 0.9 mW).

4.2. Detección molecular

En la figura 4.11 se muestran los espectros Raman normalizados de la molécula Rodamina (10^{-2} M, sobre sustrato de aluminio) y el espectro Raman (promedio de 16 muestras) del sustrato Ro_A. En esta misma imagen es posible observar la eficiente detección de nuestro sustrato para la molécula Rodamina-B a una concentración de 10^{-6} M, obteniendo los picos característicos del espectro Raman de la Rodamina-B.

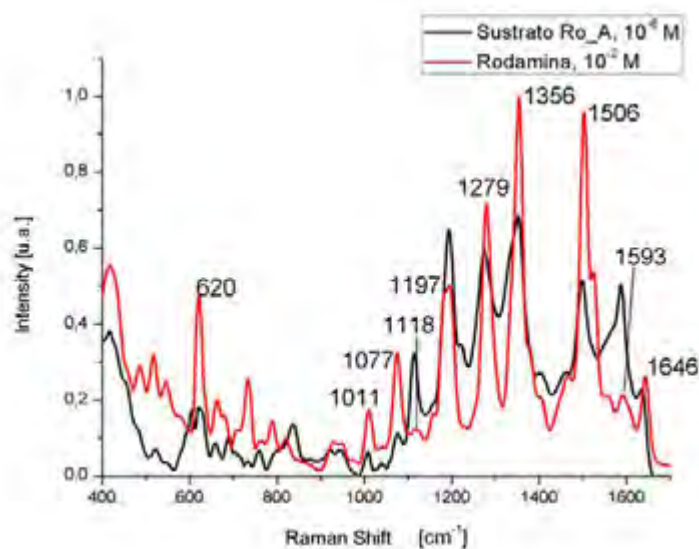


Figura 4.11: Detección molecular mediante el sustrato Ro_A para SERS a una concentración de 10^{-6} M .

En la figura 4.12 se muestran los espectros Raman normalizados de la molécula Rodamina (10^{-2} M, sobre sustrato de aluminio) y el espectro Raman (promedio

de 16 muestras) del sustrato Ro_B. En esta misma imagen es posible observar la eficiente detección de nuestro sustrato para la molécula Rodamina-B a una concentración de 10^{-6} M, obteniendo los picos característicos del espectro Raman de la Rodamina-B.

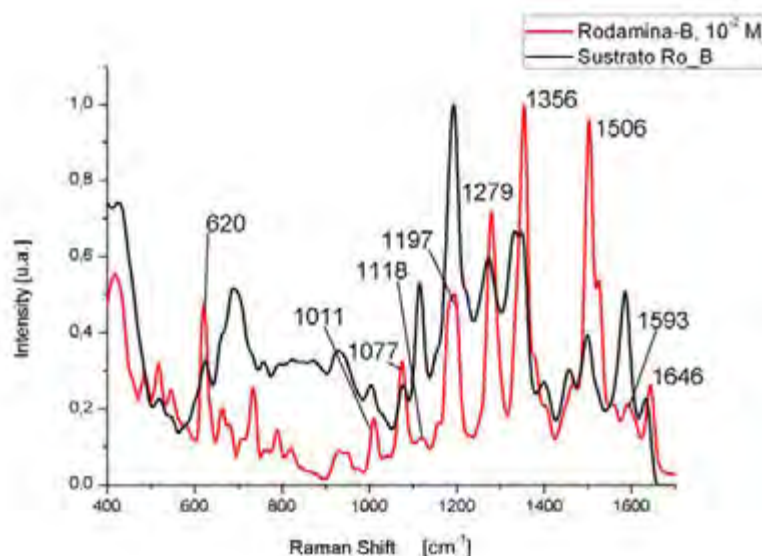


Figura 4.12: Detección molecular mediante el sustrato Ro_B para SERS a una concentración de 10^{-6} M .

En las mismas imágenes (4.11 y 4.12) es preciso observar que la detección molecular es más eficiente en la región que comprende de $900-1700\text{ cm}^{-1}$, mientras que en la región $400-800\text{ cm}^{-1}$ la señal Raman amplificada por efecto superficial se encuentra oculta debido seguramente a la fluorescencia producida por el vidrio (material del sustrato) tal como se observa en el espectro del mismo vidrio en la figura 4.6 donde es posible apreciar un máximo en cuentas Raman en $\sim 700\text{ cm}^{-1}$.

En la figura 4.13 se muestran los espectros Raman normalizados de la molécula Rosa de Bengala (10^{-2} M, sobre sustrato de aluminio) y el espectro Raman (promedio de 16 muestras) del sustrato Be_B. En esta misma imagen es posible observar la eficiente detección de nuestro sustrato para la molécula Rosa de Bengala a una concentración de 10^{-6} M, obteniendo los picos característicos del espectro Raman de la Rosa de Bengala.

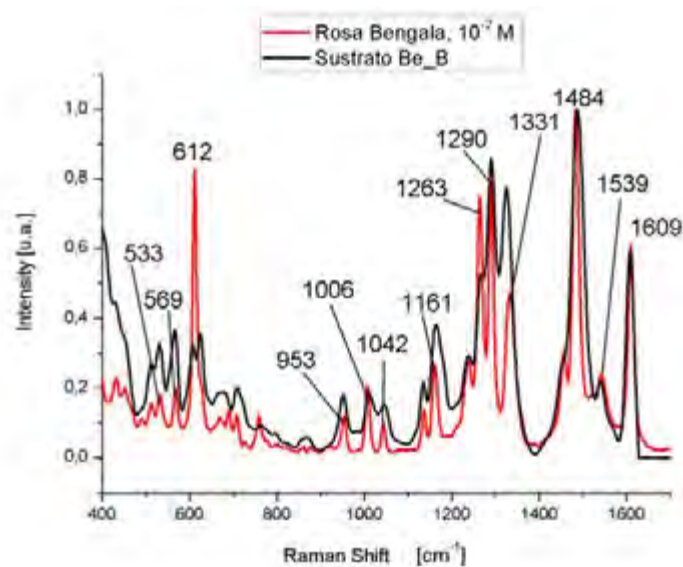


Figura 4.13: Detección molecular mediante el sustrato Be_B para SERS a una concentración de 10^{-6} M.

4.3. Reproducibilidad para la detección molecular

En esta subsección se presentan los resultados obtenidos de los sustratos al hacer un muestreo de mediciones de la señal Raman en 16 distintas zonas distribuidas homogéneamente en una cuadrícula de $\sim 1.2 \text{ cm} \times 1.2 \text{ cm}$ sobre el sustrato. Una representación esquemática del muestreo se presenta en la figura 4.14.

La figura 4.14 representa la metodología seguida para el muestreo de un sustrato fabricado mediante uno de los dos protocolos (método B) para producir aglomeraciones, en éste caso fueron producidas mediante NaCl, donde la molécula se encuentra en la superficie o quizás puede pasar a través de huecos que hay en el aglomerado. En el otro caso (método A) es muy probable que una gran cantidad del material este inmerso dentro y en al superficie del agregado

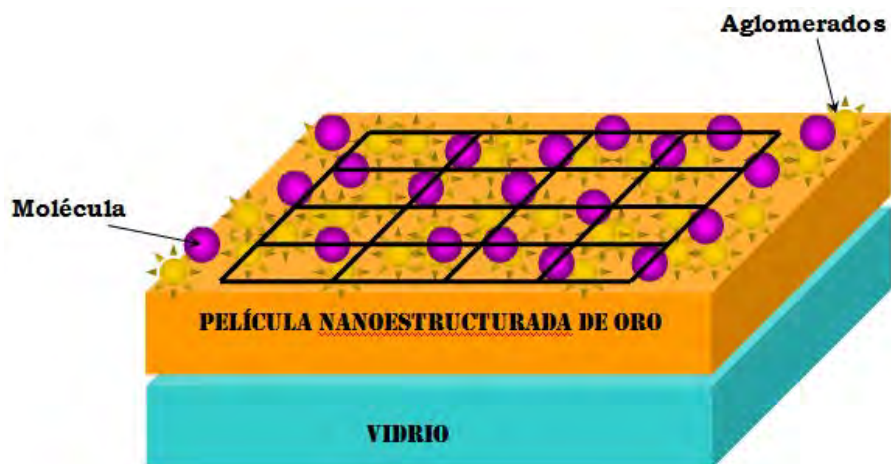


Figura 4.14: Esquema del muestreo del sustrato para SERS especial.

El muestreo como ya se mencionó, se llevó a cabo sobre todo el sustrato formando una cuadrícula, obteniendo resultados en todas la muestras bastante homogéneos, esto se puede observar claramente en la figura 4.15 que corresponde al muestreo del sustrato Ro_B

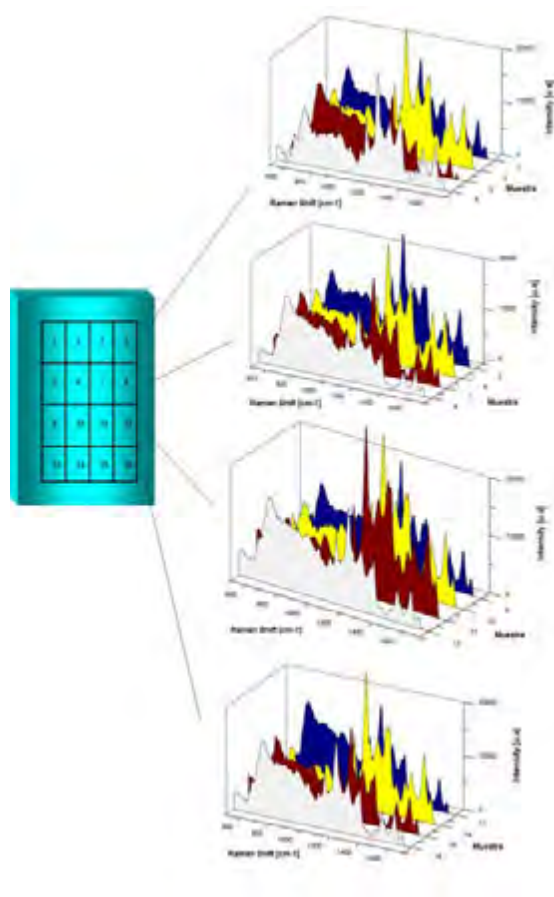


Figura 4.15: Muestreo de la señal Raman de la molécula Rosa de rodamina-B con el sustrato especial para SERS “Ro_B”.

De igual manera se realizó el muestreo para todos los sustratos (Ro_A, Ro_B y Be.B), como se muestra en las figuras 4.16, 4.17 y 4.18, se observa la obtención de la señal Raman bastante homogénea sobre todo el sustrato.

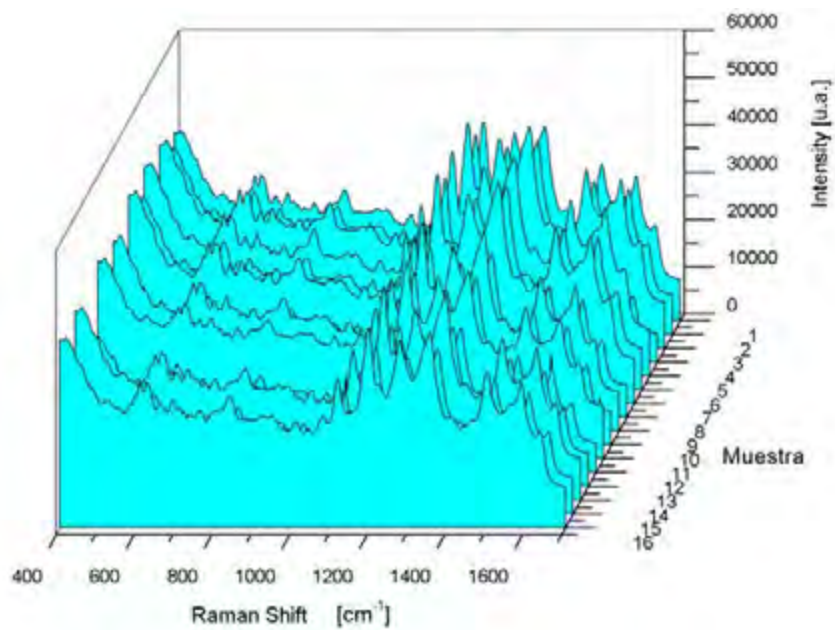


Figura 4.16: Muestreo de la señal Raman de la molécula Rodamina-B con el sustrato especial para SERS “Ro_A”.

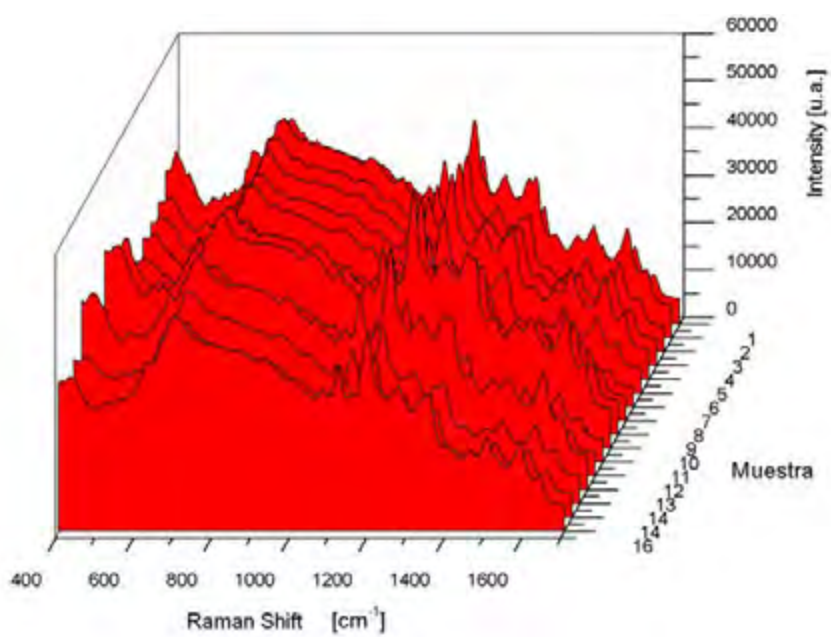


Figura 4.17: Muestreo de la señal Raman de la molécula Rodamina-B con el sustrato especial para SERS “Ro_B”.

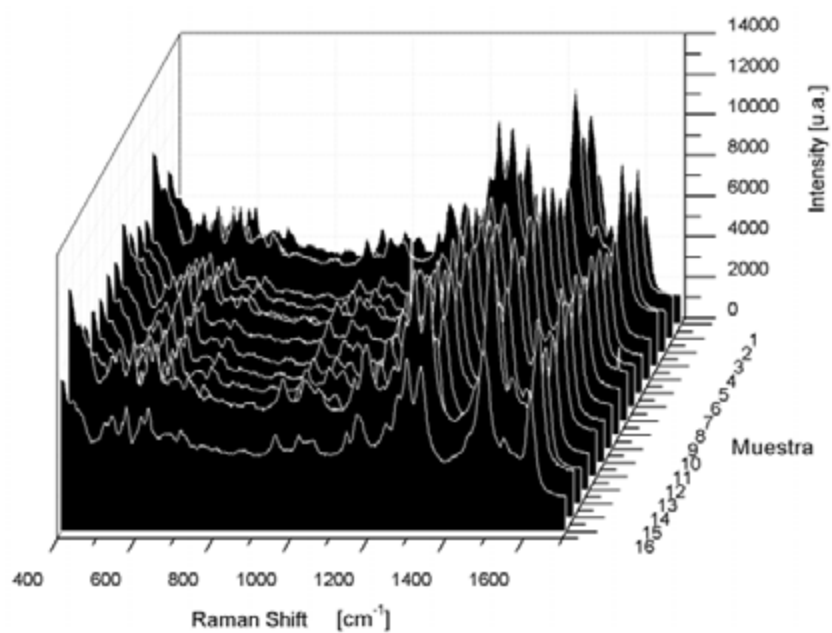


Figura 4.18: Muestreo de la señal Raman de la molécula Rosa de Bengala con el sustrato especial para SERS “Be_B”.

5 Conclusiones

Desde el descubrimiento del Aumento de la Dispersión Raman por efecto Superficial, se ha demostrado que la propiedad más importante que da lugar a SERS es la resonancia plasmónica (de nano-estructuras metálicas) originada por la interacción de la luz con la densidad electrónica del mismo metal. Es por ello que diversos grupos de investigación se han ocupado por analizar las mayores variables involucradas en el aumento de la señal Raman y finalmente determinar lo verdaderamente trascendental en la fabricación de eficientes sustratos para SERS. Por tanto, en la presente tesis se lleva a cabo un análisis de los fundamentos físicos y resultados experimentales encontrados hasta el momento acerca de éste fenómeno para controlar finalmente las mayores variables posibles en el desarrollo de nuestro sustrato; de ésta manera, se propone una metodología para la fabricación de sustratos SERS, mostrando el proceso de síntesis de NPs metálicas (oro), el auto-ensamblaje y deposición de las NPs sobre vidrio, la inmovilización de las moléculas en cuestión y finalmente la detección molecular.

Con los resultados encontrados en el presente trabajo es posible afirmar que se desarrolló una metodología para hacer sustratos especiales que aumentan la

dispersión Raman por efecto superficial debido a la resonancia plasmónica de la superficie nanoestructurada y posiblemente un aumento debido a una transferencia de carga entre la molécula y las NPs de oro debido a las fuerzas que mantienen unidas estas partículas. El análisis de la contribución de cada mecanismo de aumento esta fuera de alcance del presente trabajo debido a que no fue el objetivo principal.

El aumento de la señal Raman por efecto superficial de los sustratos fabricados en el presente trabajo fue comprobado experimentalmente al comparar los espectros Raman de la molécula sobre una superficie metálica nanoestructurada y sobre una superficie lisa de vidrio (sin NPs metálicas).

La fabricación de nuestro sustrato ha mostrado un aumento de la señal Raman por efecto superficial debido principalmente a los aglomerados de NPs generados en la película delgada, logrando una detección de la molécula de 10^{-6} M. Cabe mencionar que las dos técnicas reportadas en éste trabajo han comprobado el efectivo aumento de la señal Raman, sin embargo el método de aglomerar NPs mediante Cloruro de Sodio presenta problemas de irreproducibilidad, y el método de aglomerar NPs mediante la misma molécula es más estable y reproducible. Por tanto, al intentar detectar ordenes de menor magnitud con nuestro sustrato fabricado con la segunda técnica, es necesario generar con otro método aglomeraciones de NPs, por lo que para resolver dicha cuestión de las concentraciones moleculares, es necesario realizar experimentos con otros elementos que garanticen el aglomerado de las NPs junto con la molécula, cuestión que en un futuro proximo se resolverá dándole seguimiento a los resultados ya obtenidos.

Una propiedad importante del sustrato y ventaja con respecto a otros trabajos de ésta naturaleza, es la obtención de la señal Raman en cualquier zona al azar de todo el sustrato, dando de ésta manera una característica al sustrato que atiende cuestiones propias de un sensor.

Refiriéndonos específicamente del trabajo realizado como sensor biológico, se puede decir que se ha logrado desarrollar un sistema con alta sensibilidad y sobre todo selectividad que son las dos características más importantes que definen un sensor; además el ahora prototipo ya atiende cuestiones para ser comercializado tales como:

1. Elevada estabilidad.
2. Elevada fiabilidad.
3. Tiempo de vida prolongado.
4. Alta capacidad de miniaturización.
5. Capacidad para modificar la morfología del sustrato que permita ajustarse a diversas necesidades.
6. Teniendo el equipo necesario, es posible hacer mediciones simultaneas de una misma muestra.
7. Bajo costo de producción permitiendo un desarrollo comercial.
8. Tiempo de análisis corto.
9. Mínimo o nulo pretratamiento de la muestra

10. Cantidades diminutas de la muestra.

Por otra parte, es evidente y necesario aclarar que falta mucho trabajo por realizar, comenzando por caracterizar el sensor y sobre todo eficientar el sistema de tal manera que sea más fácil su integración al mercado, atendiendo cuestiones de automatización para ser integrado en procesos industriales o estaciones de medida, y por otra parte, el desarrollo de tecnología de espectroscopia Raman para que lo pueda utilizar cualquier persona sin necesidad de acudir con alguien especializado, y sobre todo, aunque por el momento es muy ambicioso, el desarrollar un sensor multi-funcional que sea útil para cualquier tipo de molécula biológica, ya que hasta el momento solo se ha logrado que un tipo de sustrato funcione específicamente para un tipo de molécula.

En concreto, los logros obtenidos en mi trabajo de tesis pueden puntualizarse de la siguiente manera:

- Se hizo un análisis de la literatura para entender el fenómeno SERS y conocer lo reportado hasta el momento acerca de éste fenómeno. Con lo cual fue posible dominar diversos procesos para la fabricación de sustratos para SERS como: síntesis de NPs de distintas morfologías y tamaños, métodos de auto-ensamblaje de NPs, formación de películas delgadas nanoestructuradas.
- Se desarrolló y estableció la metodología para la fabricación de sustratos para SERS con capacidad de detección de 10^{-6} M y con grandes posibilidades de disminución de las concentraciones de detección.
- En la fabricación de sustratos para SERS se proponen dos técnicas para

generar aglomerados: mediante Cloruro de sodio y mediante la misma molécula en cuestión; siendo la técnica de aglomerados con la molécula la que presenta mayor reproducibilidad.

- Con el sustrato para SERS se logró desarrollar un “sensor prototipo” para elementos biológicos con alta especificidad, no destructivo, no invasivo con otras propiedades como capacidad de miniaturización que ponen al sensor en un plano con posibilidades de comercialización.
- Aunque existen diversos métodos para la fabricación de sustratos para SERS, la metodología propuesta en el presente trabajo pretende atender los mismos objetivos que los otros sustratos pero con técnicas y materiales menos costosos.

A Plan de negocios

En este apéndice, planteamos el desarrollo de un plan de negocios, el cual esta enfocado en solicitar fondos económicos para poner en operación una empresa dedicada al desarrollo tecnológico de biosensores. Para esto mostramos la fiabilidad y sustentabilidad del proyecto, realizando una análisis tanto del emprendedor como del mercado y de la misma empresa.

Resumen ejecutivo

Nombre del Proyecto:	Ultra-SERS
Nombre del Incubado:	Héctor Santiago Hernández
No. Folio:	

Ultra-Sers será una empresa dedicada al diseño, fabricación y venta de sensores biológicos para distintos sectores productivos tanto públicos como privados tales como medicina, industria farmacéutica, control ambiental, industria alimentaria, seguridad y defensa.

La producción se llevará a cabo en instalaciones adecuadas con equipo químico, físico y biológico. La venta se llevará a cabo en un punto específico o vía internet

donde el cliente podrá acudir a solicitar equipo de detección biológica adaptable a sus necesidades productivas.

Además de la venta del equipo de detección biológica, el cliente podrá solicitar la instalación del equipo, se ofrecerá el servicio de capacitación de uso e incluso soporte técnico.

La empresa busca excelencia y calidad en sus productos y servicios ya que contará con personal altamente capacitado para la investigación y desarrollo de nuevas tecnologías. Además del personal capacitado para la instalación, capacitación y soporte técnico.



Figura A.1: Resumen ejecutivo.

La empresa tiene grandes oportunidades de crecimiento, ya que por estar dedicada al desarrollo y transferencia de tecnología de punta en biosensado, abarca varios sectores tanto de producción como de salud e incluso en seguridad y defensa. Debido a que el empresario esta relacionado tanto con investigadores tecnológicos como con personal industrial, será fácil la detección de problemas y personal calificado para sus soluciones.

Para la empresa de bio-sensores **Ultra-SERS** hay poca competencia nacional e internacional, ya que pocos grupos selectos de institutos especializados a nivel mundial desarrollan investigación y tecnología con nuevas técnicas. Además los productos comerciales utilizados actualmente en la detección de elementos biológicos aun son ineficientes, costosos y poco adaptables a distintos sectores productivos.

Las amenazas latentes de la empresa están en los institutos de investigación y empresas de países desarrollados que tiene mayor equipo para el desarrollo y comercialización de nuevas tecnologías.

Actualmente el proyecto esta financiado por estímulos económicos de investigación de mi asesor el Dr. Juan Luis Pichardo M. gastándose aproximadamente \$1000 mensuales en materia prima, \$1000 en viáticos y distintos equipos de detección con costo aproximado de \$100,000 del mismo centro de Investigaciones en Óptica.

En la actualidad el desarrollo tecnológico está aun en desarrollo, para que la empresa comience a operar se requiere de inversionistas que retomen el proyecto

para comenzar a encubar y generar por lo menos 5 empleos de alto nivel (Investigadores) y otros tantos para administración y producción.

El emprendedor

Información del empresario

Nombre del Emprendedor			
Héctor Santiago Hemández			
Fecha de nacimiento:	07/06/83	Edad:	27 años
RFC:			
Dirección			
Privada Santa Virtudes # 125 Colonia: Haciendas del Rosario, León Gto.			
Teléfono:	4771242617	C.P.:	

Experiencia y conocimientos del empresario

El objetivo principal del empresario es desarrollar tecnología de última generación, competitiva a nivel nacional e internacional, generar empleos de alto valor para investigadores y profesionistas en áreas químicas, físicas, mecánicas, eléctricas, biológicas y computacionales; generar empleos administrativos y de producción.

El empresario Héctor Santiago Hernández cuenta con estudios profesionales de físico-matemático, maestría en optomecatrónica, cursos empresariales y de mercado. En su trayectoria académica se ha dedicado a la investigación en distintas áreas como física-médica, oceanografía física y actualmente en nanotecnología. Además los cursos empresariales, de mercadotecnia y negocios han sido perfilados para ser líder en el sector empresarial nacional en la transferencia de tecnología.

El empresario es originario de Guadalajara de una familia trabajadora, ha

tenido una trayectoria científica que le ha permitido interactuar con personas profesionistas, honrados, responsables y capaces de resolver problemas en distintos niveles productivos e industriales. De esta manera, consciente del potencial cognocitivo, productivo y humano tanto de su familia, como de sus profesores, colegas y amigos, sabe que es posible explotar dichos talentos y riquezas nacionales para generar empleos de alto valor y competitividad internacional que finalmente serán traducidos en mejor calidad de vida para nuestra sociedad mexicana.

Descripción del producto y valor distintivo

Descripción de la empresa

Ultra-SERS es una empresa dedicada al desarrollo de sensores biológicos para distintos sectores industriales, de salud o seguridad. La descripción del producto y su valor distintivo se describen en las secciones siguientes y se muestra en el esquema de la figura A.2.

La venta del producto se llevará a cabo en un punto específico de venta o por vía internet, donde el cliente solicita un sensor específico que satisfaga sus necesidades de detección biológica.

Realizada la venta, el cliente si lo requiere podrá solicitar instalación, capacitación de uso, y soporte técnico del mismo bio-sensor.

Factores de éxito

- Única empresa con el servicio de desarrollar tecnología para distintos sectores de producción, seguridad o defensa en cuanto a detección biológica se refiere.

- Amplio mercado por ser aplicable a muchos sectores antes mencionados.
- Cuenta con el personal experimentado y capacitado para desarrollo y transferencia de tecnología.
- La tecnología de biosensado desarrollada por la empresa complementa técnicas ya utilizadas o bien las reemplaza por tener mayor eficiencia.
- Ayuda en la certificación de empresas por la utilización de tecnologías de última generación.

Ventaja competitiva

Además de tener al personal calificado y experimentado para el desarrollo de tecnología, se ofrece el servicio de capacitación y soporte técnico del producto, se presenta al cliente tecnología de última generación y de competencia internacional que facilitara los trámites, el uso del equipo, el soporte técnico y finalmente la facilidad de un trato personalizado con el cliente de la misma región donde se instalará en la empresa **Ultra-SERS**.

Impacto económico y social del proyecto

La empresa generará directamente 3 empleos de alto valor a investigadores tecnológicos, generará otros empleos a personal administrativo y de producción. Por otra parte, una empresa de transferencia de tecnología con nivel competitivo internacional puede generar mayores riquezas a la región al abarcar mercados extranjeros.

Planeación estratégica

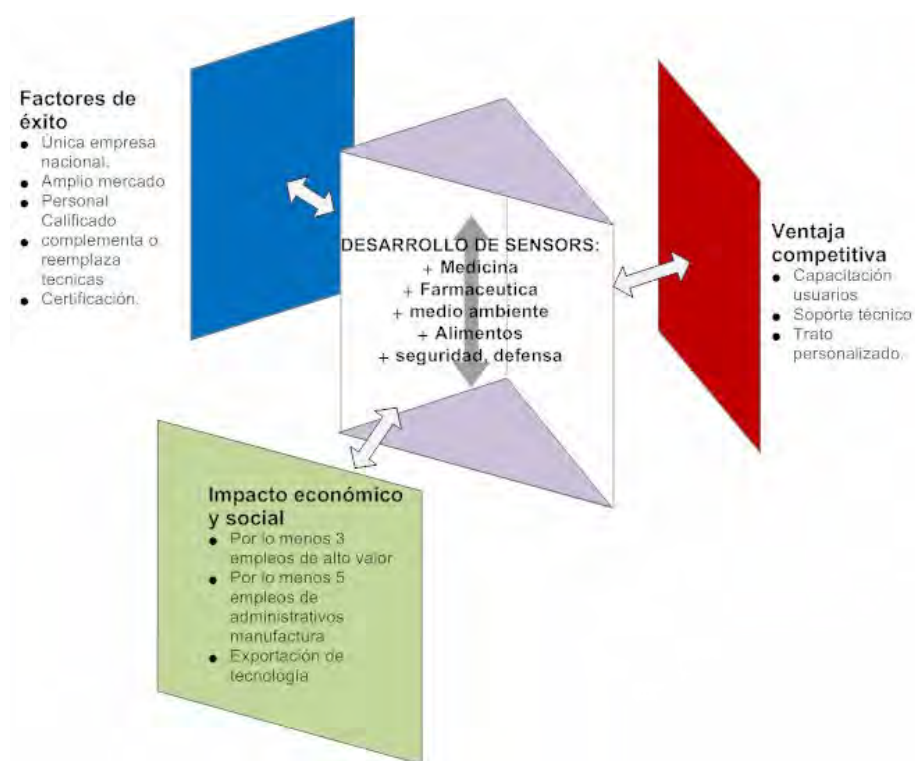


Figura A.2: Descripción del producto y valor distintivo.

Misión

Dar un servicio de venta de sensores biológicos a distintos sectores productivos e industriales con la finalidad de que los clientes atiendan necesidades de sensor biológico de manera confiable para incrementar sus ventas o bien solucionar problemas de contaminación en las distintas líneas de producción.

Visión

Ser la empresa de venta de sensores biológicos reconocida internacionalmente

por sus servicios, confiabilidad y profesionalismo tanto en el servicio como en su personal. Complementar o reemplazar técnicas de bio-sensado ineficientes con tecnología de vanguardia. Además de generar empleos de alto valor con investigadores nacionales al cargo del desarrollo tecnológico en la empresa que traerán mayor riqueza a la región donde se ubique la empresa.

Valores

Servicio. Atender necesidades de nuestros clientes.

Calidad. Desarrollar tecnología de vanguardia que asegura el eficiente funcionamiento del sensor para complementar o reemplazar técnicas ineficientes.

Confialilidad. El contar con el personal altamente calificado y de competencia internacional se da la confianza al cliente de que la tecnología desarrollada es de ultima generación con los métodos y técnicas mas eficientes.

Objetivos

1. Resolver problemas tecnológicos con productos nacionales de alta confiabilidad.
2. Mejorar técnicas de detección biológica actuales.
3. Mejorar precios de productos internacionales.
4. Generar empleos de alto valor contratando investigadores expertos en el área.
5. Generar empleos administrativos y de producción en la región.

6. Facilitar el trámite de adquisición del producto a clientes nacionales.

7. trato personalizado al cliente.

Análisis FODA



Cuadro A.1: Analisis FODA.

Mercadotecnia

Para que la empresa **Ultra-SERS** realice todas las actividades de negocios necesarias para desarrollar tecnología de sensado biológico que satisfaga necesidades de los clientes potenciales, se le asigne un precio al producto, sea promovido y distribuido, es necesario hacer un estudio profundo de mercadotecnia. Por tanto se realiza un diagnóstico permanente, en el cual se analizan distintos escenarios (segmentación del mercado) y se realizan propuestas de comercialización para una eficiente interacción con el mercado potencial.

Análisis de la oferta

En esta etapa, se analiza la cantidad de biosensores que entran en el mercado nacional e internacional, un estudio de empresas dedicadas al desarrollo de tecnología en biosensado, investigación en desarrollo de tecnología de naturaleza de sensores y el costo de su producto.

En la actualidad se tiene la competencia de una sociedad formada por 24 de empresas internacionales dedicadas al desarrollo de sensores biológicos, por otra parte, las instituciones y centros de investigación que se encuentran haciendo desarrollo tecnológico en ésta área, son equipos que pueden ofertar productos de bio-sensado.

A pesar de la competencia, cabe mencionar que las empresas internacionales desarrollan tecnología de sensado para distintos elementos y con tecnologías diversas, que además utilizan tecnologías y técnicas viejas y no del todo eficientes.

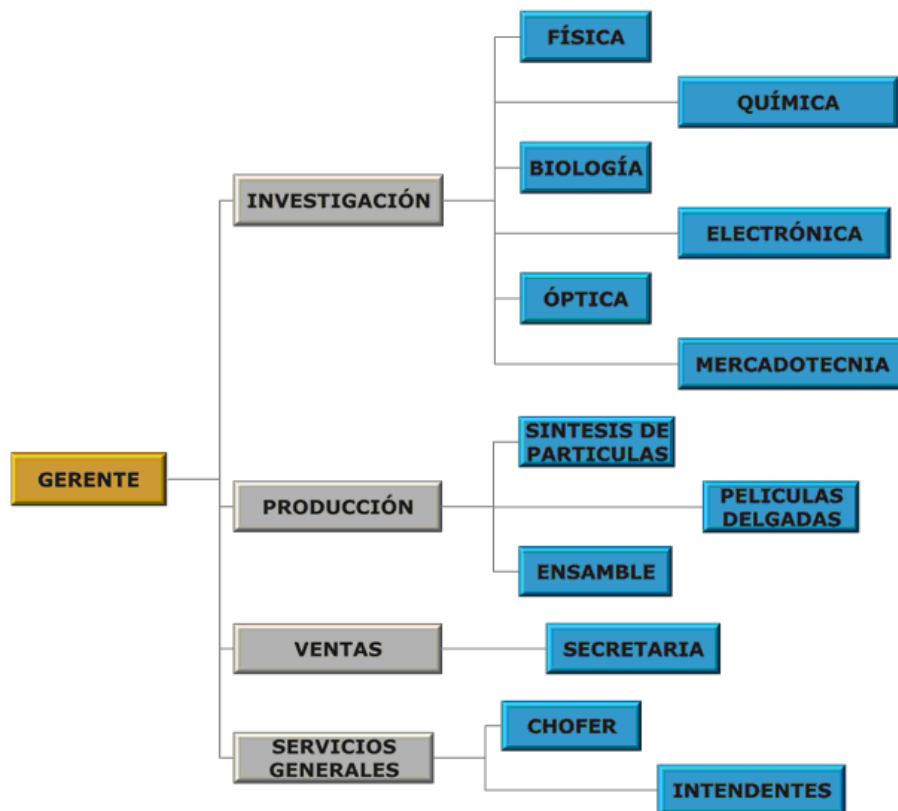
Análisis de la demanda

para la demanda de nuestros productos se tiene un mercado grandisimo, abarcando industrias como:

1. Industria médica.
2. Industria farmacéutica.
3. Medio ambiente.
4. Industria alimentaria.
5. Seguridad.
6. Defensa nacional.

Equipo directivo y organización

La estructura organizacional de la empresa se basa en la administración de los recursos humanos, materiales y financieros disponibles quedando como lo indica la figura A.2.



Cuadro A.2: Organigrama empresarial.

Reclutamiento del personal

Para reclutar el personal que laborará en la empresa, se hace la promoción del perfil requerido a través de las fuentes tradicionales de difusión, como son por radio, periódico local, anuncios universitarios, internet, presidencia municipal o bien por medio de recomendaciones de los empleados actuales de la empresa.

Contratación de personal

PUESTO	ACTIVIDAD	SUELDO MENSUAL
GERENTE	<ul style="list-style-type: none"> • Reclutamiento de personal. • Evaluaciones periódicas acerca del cumplimiento de las funciones de los diferentes departamentos. • Planear y desarrollar metas a corto y largo plazo. • asegurar que los registros y sus análisis se están ejecutando correctamente. • Crear y mantener buenas relaciones con los clientes, personal, y proveedores para mantener el buen funcionamiento de la empresa 	\$50,000.00
INVESTIGACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> • Analizar el producto y mercado de la empresa para eficientar su producción y venta. 	6 X \$25,000,00
PRODUCCIÓN	<ul style="list-style-type: none"> • Sintetizar partículas. • Películas delgadas. • Ensamble del producto 	\$10,000.00
VENTAS	<ul style="list-style-type: none"> • Contacto con el cliente, venta del producto. 	\$7,000.00
SERVICIOS GENERALES	<ul style="list-style-type: none"> • Chofer. • Intendentes 	2 X \$5000.00
TOTAL		\$ 227,000.00

Cuadro A.3: funciones y sueldos.

La contratación de todo el personal es sin duda un aspecto legal de la empresa, por tanto primero se determinan las funciones del empleado, los derechos y obligaciones dentro de la misma empresa. Aceptadas las condiciones del aspirante aun puesto dentro de la empresa, se procede a la firma del contrato.

La relación entre el empleado y el patrón sera de acuerdo a lo estipulado en la Ley Federal del trabajo, con el fin de respaldar las responsabilidades tanto del empleado como de la empresa. Todos los contratos son por tiempo indeterminado y la fecha de su firma constata la antigüedad del trabajador, teniendo efectos en el cálculo de finiquitos y vacaciones.

Referencias

- [1] Turner, A. P. F., I. Karube, and G. S. Wilson, *Biosensors: Fundamentals and applications*. Oxford University Press.(1989).
- [2] Juan Treviño Castrillo, *Desarrollo de un biosensor de resonancia de plasmón superficial para la determinación de hormonas pituitarias en muestras biológicas*. Tesis, Departamento de química analítica instrumental de la facultad de ciencias de la Universidad Autonoma de Madrid pp. 30-71. (2009).
- [3] Clark Jr., L.C., Lyons, C., *Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery*. Annals of the New York Academy of Sciences, **102**, 29-45 .(1962).
- [4] Updike, S.J.; Hicks, G.P., *The Enzyme Electrode*. Nature, **214**, 986-988. (1967).
- [5] Thomas Ming-Hung Lee, *Over-the-Counter Biosensors: Past, Present, and Future* . Sensors, **8**, 5535-5559. (2008).
- [6] George C. Schatz and Richard P. Van Duyne, *Electromagnetic Mechanism of Surface-enhanced Spectroscopy*. Handbook of Vibrational Spectroscopy, John

- M. Chalmers and Peter R. Griffiths (Editors). John Wiley & Sons Ltd, Chichester (2002).
- [7] Jeremy J. Baumberg, Timothy A. Kelf, Yoshihiro Sugawara, Suzanne Cintra, Mamdouh E. Abdelsalam, Phillip N. Bartlett y Andrea E. Russell, *Angle-Resolved Surface-Enhanced Raman Scattering on Metallic Nanostructured Plasmonic Crystals*. NANO-LETTERS. **5**, 2262-2267. (2005).
- [8] Bharat Bhushan (Ed.), *Springer Handbook of Nanotechnology*. Springer. (2004).
- [9] Bradley D. Fahlman, *Materials Chemistry*. Springer, pag. 357. (2007).
- [10] Ricardo Aroca, *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*. University of Windsor, Ontario, Canada. John Wiley & Sons, Ltd. pags. 50-53, 73-129. (2006).
- [11] M. Mercedes Velázquez Salicio y M. Dolores Merchán Moreno, *Coloides e interfaces*. Ediciones Universidad Salamanca. pag. 243. (2005).
- [12] An, J.; Zhang, M.; Wang, S. Tang J., *Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP*. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie, **41**, 1100-1107. (2008).
- [13] TURKEVICH J, Stevensen P.C., Hillier J., *Nucleation and growth process in synthesis of colloidal gold*. Discuss Faraday Soc., **11**, 55-75. (1951).

- [14] Kwarnpong Muanpho, Piyasan Prasertthdam and Varong Pavaram, *Surface Modification for Fabrication of Gold Nanoparticles Thin Film on Glass substrate*. Center of excellence on catalysis and catalytic reaction engineering.
- [15] M. Cyrankiewicz, T. Wybranowski and S. Kruszewski, *Study of SERS efficiency of metallic colloidal systems*. Journal of Physics, **79**, 012013.(2007)
- [16] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R.R. Dasari and M.S. Feld, *Ultrasensitive chemical analysis by Raman spectroscopy*. Chem. Rev. **99**, 2957.(1999).
- [17] Fan-Ching Chien, Wen Yen Huang, Jau-Ye Shiu, Chiung Wen Kuo y Peilin Chen, *Revealing the spatial distribution of the site enhancement for the surface enhanced Raman scattering on the regular nanoparticle arrays*. OPTICS EXPRESS. **17**, 13974-13981. (2009).
- [18] P. Etchegoin, L. F. Cohen, H. Hartigan, R. J. C. Brown, M. J. T. Milton, J. C. Gallop, *Electromagnetic contribution to surface enhanced Raman scattering revisited*. Journal of chemical physics. **119**, 5281-5289. (2003).
- [19] Mark I. Stockman, Sergey V. Faleev y David J. Berman, *Localization versus Delocalization of Surface Plasmon in Nanosystems: Can One State Have Both Characteristics?* Physical review letters. **87**, 167401. (2003).
- [20] Chengmin Shen, Chao Hui, Tianzhong Yang, Congwen Xiao, Jifa Tian, Lihong Bao, Shutang Chen, Hao Ding, and Hongjun Gao, *Monodisperse Noble-Metal Nanoparticles and Their Surface Enhanced Raman Scattering Properties*. Chem. Mater. **20**, 6939-6944. (2008).

- [21] J. Gómez, Aya Ramírez, *Efectos Espectroscopicos de Plasmones Superficiales*. Revista colombiana de física, **41**, 385-387. (2009).
- [22] P.J.G. Goulet, N.P.W. Pieczonka y R.F. Aroca, *Overtones and combinations in single-molecule surface-enhanced resonance Raman scattering spectra*. Anal. Chem., **75**, 1918-1923. (2003).
- [23] S. Nie and S.R. Emory, *Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering*. Science, **275**, 1102-1106. (1997).
- [24] H.I.S. Nogueira, J.J.C. Teixeira-Dias y T. Trindade, *Nanostructured metals in surface enhanced Raman spectroscopy*. Encycl. Nanosci. Nanotechnol, **7**, 699-715. (2004).
- [25] W.E. Doering and S. Nie, *Single-molecule and single-nanoparticle SERS: examining the roles of surface active sites and chemical enhancement*. J. Phys. Chem. B, **106**, 311-317. (2002).
- [26] Amy M. Michaels, Jiang Jiang, and Louis Brus, *Ag Nanocrystal Junctions as the Site for Surface-Enhanced Raman Scattering of Single Rhodamine 6G Molecules*. J. Phys. Chem. B, **104**, 11965-11971. (2000).
- [27] Hsin-Lun Wu, Chiu-Hua Chen and Michael H. Huang, *seed-Mediated Synthesis of Brached Gold Nanocrystals Deriver from the Side Growth of Pentagonal Bipyramids and the formation of Gold Nanostars*. Chem. Mater. **21**, 110-114. (2009).
- [28] Kashiwagi, K; Yamamoto, M y Nakamoto, *Facile size-regulated synthesis of silver nanoparticles by controled thermolysis of silver alkylcarboxylates in the*

- presence of alkylamines with different chain lengths.* Journal of Colloid and Interface Science, **300**, 196-175. (2006).
- [29] Chungang Wang, Zhanfang Ma y Zhongmin Su, *Synthesis and self-assembly of silica-coated anisotropic gold nanoparticle films.* Institute of physics publishing, Nanotechnology. **17**,1819-1824. (2006).
- [30] Yong Yang, Jianlin Shi, Go Kawamura y Masayuki Nogami, *Preparation of Au-Ag, core-shell bimetallic nanoparticles for surface enhanced Raman scattering.* Scripta Materialia. **58**,862-865. (2008).
- [31] Miguel Angel Aguilar Mendez, *Sintesis y caracterización de nanopartículas de plata: Efecto sobre colletotrichum glosporioides.* Tesis, Instituto polotecnico nacional, centro de investigación en ciencia apilcada y tecnología avanzada, pp. 20-29. (2009).
- [32] Summet Mahajan, Robin M. Cole, Jonathon D. Speed, Suzanne H. Pelfrey, Andrea E. Russell, Philip N. Bartlett, Stephen M. Barnett y Jeremy J. Baumberg, *Understanding the Surface-Enhanced Raman spectrsocopy "Background".* J. Phys. Chem. **114**,7242-7250. (2010).
- [33] Ha Minh Hiep, Tatsuro Endo, Kagan Kerman, Miyuki Chikae, Do-Kyun Kim, Shohei Yamamura, Yuzuru Takamura, Eiichi Tamiya, *A localized surface plasmon resonance based immunosensor for the detection of casein in milk.* Science and Technology of Advanced Materials, **8**, 331-338. (2007).

- [34] A. L. Simonian, T. A. Good, S. S. Wang, J. R. Wild, *Nanoparticle-based optical biosensors for the direct detection of organophosphate chemical warfare agents and pesticides*. *Analytica Chimica Acta*. **534**, 69-77. (2004).
- [35] Dejun Xiong and Haibing Li, *Colorimetric detection of pesticides based on calixarene modified silver nanoparticles in water*. *Nanotechnology*, **19**, 465502. (2008).
- [36] M. Fleischmann, P.J. Hendra y A.J. McQuillan, *Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode*. *Chemical Physics Letters*. **26**, 163-166. (2005).
- [37] D. Y. Wu, B. Ren y Z. Q. Tian, *Progress in the Theory of Surface Enhanced Raman Scattering*. *The internet Journal of vibrational Spectroscopy*. **4**, edition 2, 10.
- [38] Ivan Gorelikov y Naomi Matsuura, *Single Step Coating of mesoporous silica on CTAB-Capped Nanoparticles*. *Nano Lett.* **8**, 369-373. (2008).
- [39] Charles P. Pooler Jr. y Frank J. Owens, *Introducción a la nanotecnología*. Editorial Reverte. (1983).
- [40] R. A. Vázquez Nava, W. L. Mochán y G. H. Coccoletzi, *Electron energy loss spectroscopy of surface plasmon*. *Recent Research Photonics*. (2006).
- [41] A. G. Sharpe, *Química inorgánica*. Editorial Reverte. pp. 429. (1993).