



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERIA DE MATERIALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES**

***“SUPERFICIES METÁLICAS NANOESTRUCTURADAS Y SU
APLICACIÓN EN ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL”***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS E INGENIERIA DE MATERIALES

PRESENTA:

FÍS. JUAN CARLOS BALLEZA GARCÍA

TUTOR:

DR. ROBERTO YSACC SATO BERRÚ

CENTRO DE CIENCIAS APLICADAS Y DESARROLLO TECNOLÓGICO, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DRA. AMÉRICA ROSALBA VÁZQUEZ ÓLMOS

CENTRO DE CIENCIAS APLICADAS Y DESARROLLO TECNOLÓGICO, UNAM

DR. DWIGHT ROBERTO ACOSTA NAJARRO

INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

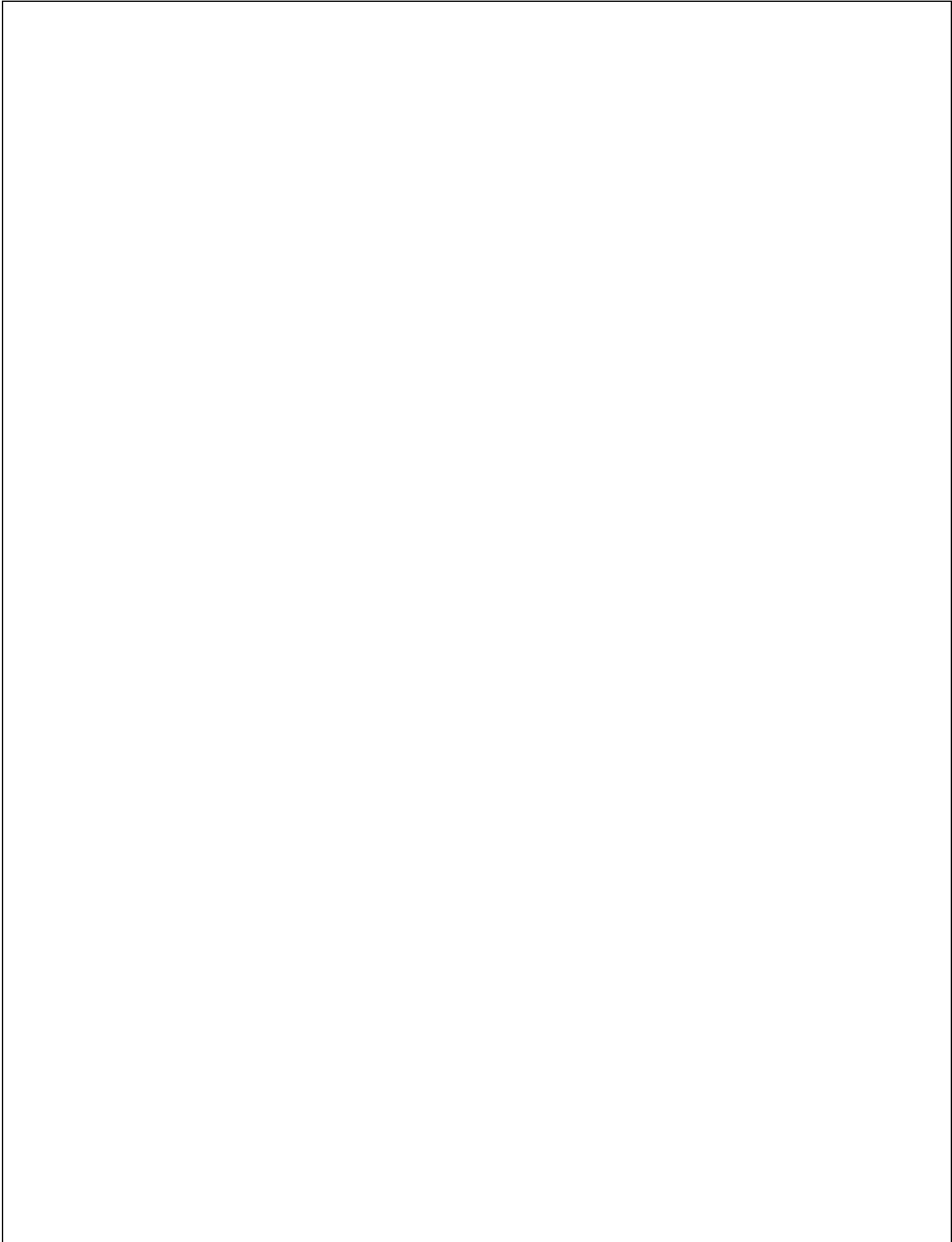


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Agradecimientos.

A mi asesor de tesis, el **Doctor Roberto Sato**, por toda la ayuda que me ha brindado para concluir este trabajo: su dirección al trabajo y la asesoría que me ofreció en los puntos difíciles del trabajo. Gracias por todo.

A la **Doctora América Vázquez Olmos** y el **Doctor Dwight Acosta**, por las observaciones y comentarios realizados a mi trabajo durante su elaboración.

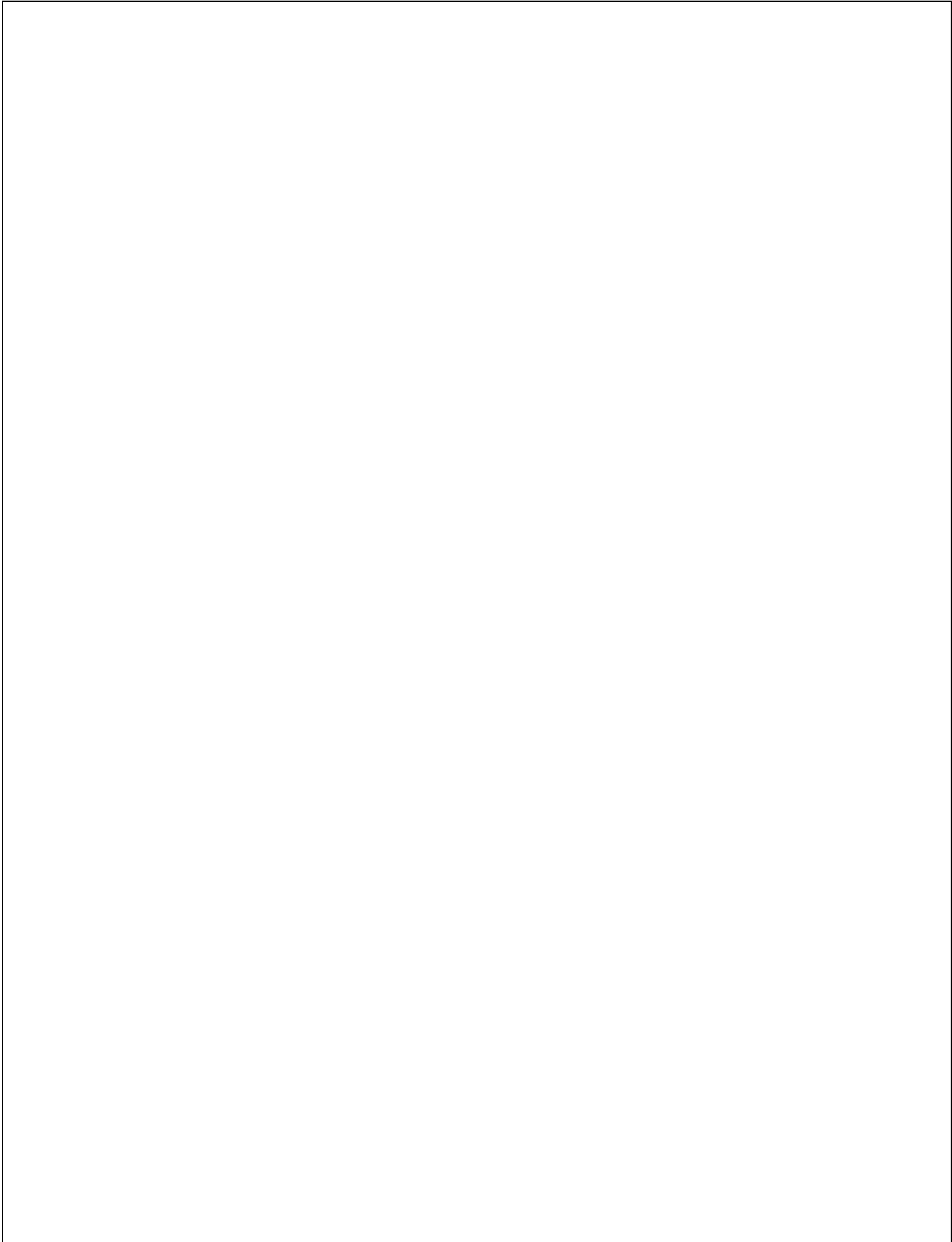
Al Doctor José Saniger y el Doctor José Ocotlán Flores, por su asesoría en la parte química de mi trabajo; el Doctor José Guadalupe Bañuelos por su ayuda en la adquisición de imágenes por AFM; a la Doctora Esther Mata por su asesoría en pruebas de Ciclos de Óxido Reducción.

A los miembros de mi comité de sinodales: la Doctora Gabriela Murguía, el Doctor José Saniger, el Doctor Doroteo Mendoza y el Doctor Claudio Frausto: por el tiempo dedicado a revisar mi trabajo, por su asesoría y contribución al mismo. Gracias.

Al Doctor Doroteo Mendoza por las facilidades otorgadas para utilizar las instalaciones del Laboratorio de Depósito de películas delgadas. Al Maestro Alejandro Esparza por su asesoría.

A todas las personas del Laboratorio de Materiales y Nanotecnología que me ayudaron en la fase inicial del trabajo y posteriormente a los miembros del Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE), cuya ayuda fue fundamental en la elaboración del presente trabajo. Gracias.

Al CONACYT por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría.



Muchas Gracias a **Aurora García y Armando Balleza, mis padres**, quienes han sido un gran apoyo, fuente de motivación y quienes siempre han estado para mí en todo momento.

A mi hermano **Miguel Angel** por sus consejos y apoyo. Porque tu nunca te rindes y verte aceptar con gusto los retos más difíciles es fuente de inspiración para ser mejor.

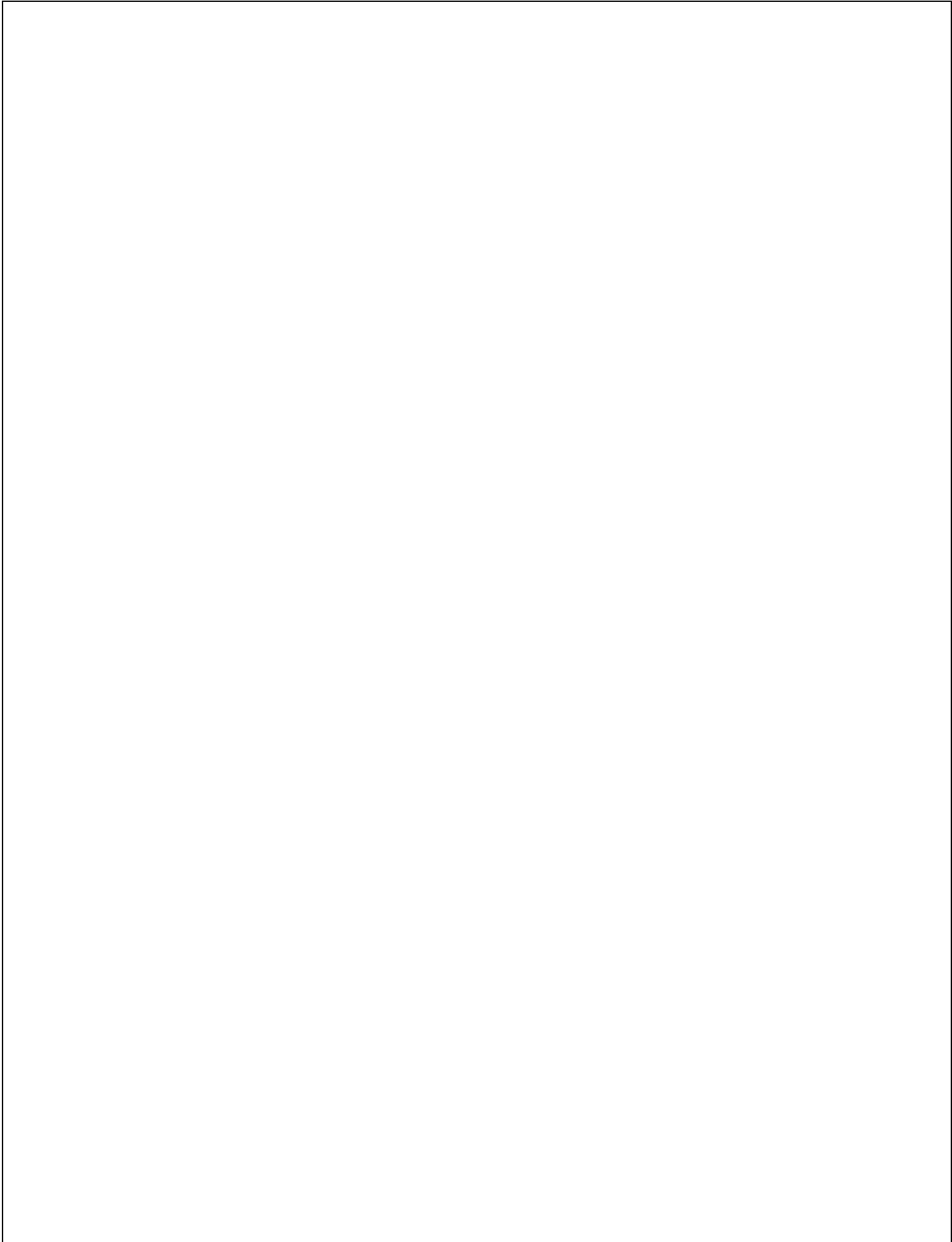
Muchas gracias por todo.

A mis abuelos Juana Gómez, José García y Armando Balleza porque siempre se preocupan y me motivan a que sea una mejor persona.

A mi abuela Doña Celia, que estoy seguro le daría mucho gusto ver y compartir este logro.

A mis amigos Raúl, Dario, Israel, Mariana, Luis Alberto por motivarme a concluir ésta meta.

Gracias a mis compañeros del CCADET, por su ayuda durante mi estancia en el Centro.



Índice

Hipótesis.....	vii
Objetivo General.....	vii
Objetivos específicos.....	vii
1 Superficies metálicas.....	1-1
1.1 Métodos de generación de superficies metálicas.....	1-1
1.1.1 Técnicas de depósito de películas delgadas.....	1-2
1.1.2 Principales técnicas de depósito de películas delgadas.....	1-4
1.1.3 Uso de recubrimientos en película delgada en la actualidad.....	1-18
1.2 Técnicas para generar sustratos SERS.....	1-20
2 Espectroscopia Raman.....	2-1
2.1 Historia de la espectroscopia Raman.....	2-1
2.2 Efecto Raman.....	2-2
2.3 Polarizabilidad.....	2-7
2.4 Intensidad de una banda Raman.....	2-10
2.5 Vibraciones Moleculares.....	2-10
2.6 Microscopia Raman.....	2-12
2.7 Aplicaciones espectroscopia Raman.....	2-14
2.7.1 Aplicación de la técnica Raman en la detección de biomoléculas.....	2-15
2.8 Espectroscopia Raman y su papel en el Análisis cuantitativo de moléculas. ...	2-16
2.9 Espectroscopia Raman de señal Amplificada por efecto de Superficie (SERS)...	2-17
2.9.1 Antecedentes.....	2-17
2.9.2 Mecanismo molecular del efecto SERS.....	2-18
2.9.3 Superficies activas SERS.....	2-19
2.9.4 Resonancia de plasmón superficial.....	2-20
2.9.5 Puntos calientes en el sustrato SERS como fuente donde se origina la amplificación de señal Raman.....	2-20
3 Equipos y métodos.....	3-1

3.1	Equipos.....	3-1
3.1.1	Sistema Raman Almega XR.....	3-1
3.1.2	Sistema Raman Witec.....	3-2
3.1.3	Microscopio de campo oscuro.....	3-3
3.2	Superficies metálicas nanoestructuradas.....	3-3
3.2.1	Limpieza de sustratos.....	3-3
3.2.2	Fabricación de sustratos por reacción de Tollens.....	3-5
3.3	Técnica de análisis usando un sustrato de Aluminio.....	3-6
3.4	Moléculas en estudio.....	3-7
3.5	Análisis cuantitativo.....	3-9
4	Resultados y análisis.....	4-1
4.1	Sustratos metálicos.....	4-1
4.2	Pruebas SERS.....	4-9
4.3	Análisis vibracional de aminoácidos.....	4-17
5	Conclusiones.....	5-1
6	Apéndices.....	6-1
	Apéndice 1: Vibraciones de la molécula de agua: H ₂ O.....	6-1
	Apéndice 2: Grupos funcionales en la química orgánica.....	6-6
	Apéndice 3: Frecuencias características Raman.....	6-14
	Apéndice 4: Procesos de interacción luz-materia.....	6-19
	Apéndice 5: Sección transversal de la dispersión Raman.....	6-22
7	Bibliografía.....	7-2

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURA 1-1 EVAPORACIÓN RESISTIVA Y POR HACES DE ELECTRONES. _____	1-7
FIGURA 1-2 ARREGLO PARA DEPÓSITO DE PELÍCULAS POR SPUTTERING. _____	1-8
FIGURA 1-3 ARREGLO PARA DEPÓSITO POR PLATEADO IÓNICO _____	1-9
FIGURA 1-4 ARREGLO GENERAL DE DEPÓSITO POR CASTING Y SPIN CASTING. _____	1-10
FIGURA 1-5 ARREGLO PARA ELECTRODEPÓSITO DE PELÍCULAS DELGADAS. _____	1-12
FIGURA 1-6 ARREGLO PARA DEPÓSITO POR SPRAY PYROLYSIS. _____	1-13
FIGURA 1-7 ESQUEMA DE LOS PROCESOS QUE OCURREN EN UN DEPÓSITO POR CVD. _	1-14
FIGURA 1-8 REACTOR PARA DEPÓSITO POR EPITAXIA. _____	1-16
FIGURA 1-9 . ARREGLO PARA DEPÓSITO POR OXIDACIÓN TÉRMICA. _____	1-17
FIGURA 2-1 MECANISMOS DE VARIOS PROCESOS DE ESPARCIMIENTO DE LA LUZ. (A) RAYLEIGH, (B) RAMAN NO-RESONANTE, (C) RAMAN PRE-RESONANTE, (D) RAMAN RESONANTE Y (E) FLUORESCENCIA RESONANTE. _____	2-3
FIGURA 2-2 DIAGRAMA DE NIVELES DE ENERGÍA PARA EL ESPARCIMIENTO RAMAN. (A) ESPARCIMIENTO RAMAN STOKES Y (B) ESPARCIMIENTO RAMAN ANTI-STOKES. _	2-6
FIGURA 2-3 ESPECTRO RAMAN, STOKES Y ANTI-STOKES _____	2-7
FIGURA 2-4 REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LAS MEDICIONES DEL COCIENTE DE DESPOLARIZACIÓN REALIZADAS EN UN EXPERIMENTO RAMAN CON LÁSER. _____	2-9
FIGURA 2-5 MODOS VIBRACIONALES. (+) Y (-) SIGNIFICAN FUERA DEL PLANO DEL PAPEL. 2-	12
FIGURA 2-6 CONFIGURACIÓN DE BACKSCATTERING. _____	2-13
FIGURA 2-7 JABLONSKI RAMAN, FLUORESCENCIA E IR. _____	2-18
FIGURA 2-8 RESONANCIA DE PLASMONES SUPERFICIALES [116] _____	2-20
FIGURA 3-1 ESPECTROFOTÓMETRO RAMAN DISPERSIVO NICOLETALMEGA XR _____	3-2
FIGURA 3-2 EQUIPO RAMAN-AFM _____	3-2
FIGURA 3-3 MICROSCOPIO AXIOSCOPE CARL ZEISS _____	3-3
FIGURA 3-4 ESQUEMA DE LIMPIADO DE VIDRIOS. _____	3-4
FIGURA 3-5 UTILIZACIÓN DEL SUBSTRATO DE ALUMINIO. (1) SISTEMA RAMAN, (2) SUJETADOR DEL OBJETIVO DEL MICROSCOPIO, (3) OBJETIVO (100X), (4) HAZ LÁSER 532NM, (5) ESPARCIMIENTO RAMAN, (6) SUBSTRATO DE ALUMINIO Y MUESTRA Y (7) PORTAOBJETO. _____	3-7
FIGURA 3-6 PERFIL GAUSSIANA DEL HAZ LÁSER, “d” ES LA CINTURA DEL HAZ _____	3-10
FIGURA 4-1 IMÁGENES AFM DE LOS SUSTRATOS METÁLICOS. DIFERENTES CONCENTRACIONES. _____	4-4
FIGURA 4-2 GRÁFICA CORRESPONDIENTE A LOS PARÁMETROS DE LA TABLA 4-3 PARA VALORES DE RUGOSIDAD. _____	4-6
FIGURA 4-3 IMÁGENES AFM DE LOS SUSTRATOS METÁLICOS. DIFERENTES TIEMPOS DE SÍNTESIS. _____	4-7
FIGURA 4-4. GRÁFICA CORRESPONDIENTE A LOS PARÁMETROS DE LA TABLA 4-4 PARA VALORES DE RUGOSIDAD. _____	4-9
FIGURA 4-5. SUSTRATOS DE AG A 100 MM CON DIFERENTES TIEMPOS DE SÍNTESIS. _	4-10
FIGURA 4-6. ESPECTROS DE COLORANTES EN SUSTRATO DE ALUMINIO, POTENCIA DE EXCITACIÓN 1 MW. _____	4-11
FIGURA 4-7 IMAGEN DE ZONA MUESTREADA CON RODAMINA B EN LA FIGURA 4-8. _	4-12

FIGURA 4-8 ESPECTROS RAMAN DE LOS COLORANTES SOBRE SUSTRATOS DE AG. POTENCIA DE EXCITACIÓN 1 MW.	4-13
FIGURA 4-9 IMAGEN DE ZONAS MUESTREADAS PARA ESPECTROS DE LA FIGURA 4-10	4-14
FIGURA 4-10 ESPECTRO RAMAN DE LA RODAMINA 6G EN DIFERENTES SUSTRATOS DE AG	4-15
FIGURA 4-11. SEÑAL RAMAN DE R6G 1×10^{-6} MOLAR EN SUSTRATO POR EVAPORACIÓN.	4-16
FIGURA 4-12. SEÑAL RAMAN DE R6G 1×10^{-6} MOLAR EN SUSTRATO POR SPUTTERING.	4-17
FIGURA 4-13 ESPECTRO RAMAN DE LA GLICINA OBTENIDO DE UNA MUESTRA ESTÁNDAR (EN POLVO)	4-18
FIGURA 4-14 ÁREAS MONITOREADAS DE SUSTRATOS CON GLICINA DEL ESPECTRO EN FIGURA 4-15.	4-20
FIGURA 4-15 SEÑAL RAMAN DE LA GLICINA (1000 PPM) EN SUSTRATOS DE PLATA A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SÍNTESIS. POTENCIA DEL LÁSER, 1 MW SOBRE MUESTRA.	4-21
FIGURA 4-16 . ZONAS MONITOREAS EN LA FIGURA 4-17.	4-22
FIGURA 4-17 : SEÑAL RAMAN DE LA GLICINA (1000 PPM) CON DIFERENTES SUSTRATOS DE AG (T100) Y A DIFERENTES TIEMPOS DE SÍNTESIS). POTENCIA DEL LÁSER, 1 MW SOBRE MUESTRA.	4-23
FIGURA 4-18 ESPECTRO RAMAN DEL ÁCIDO ASPARTICO (MUESTRA ESTÁNDAR)	4-24
FIGURA 4-19 ZONAS MONITOREADAS EN LA FIGURA 4-20	4-25
FIGURA 4-20 SEÑAL RAMAN DEL ÁCIDO ASPÁRTICO (1 μ L A 200 PPM) SOBRE TRES DIFERENTES SUSTRATOS: 2 DE AG A CONCENTRACIÓN 100MM, Y SOBRE UN SUSTRATO DE ALUMINIO. LA POTENCIA DEL LÁSER ES 1MW.	4-26
FIGURA 4-21. ZONAS MONITOREADAS EN LA FIGURA 4-22.	4-27
FIGURA 4-22 SEÑAL RAMAN DEL ÁCIDO ASPÁRTICO (1 μ L A 200 PPM) SOBRE DIFERENTES SUSTRATOS DE AG (T100/X; X=4,5,6,7 MIN). POTENCIA DEL LÁSER, 1 MW SOBRE MUESTRA	4-28
FIGURA 4-23 ESPECTRO RAMAN DE LA SERINA (MUESTRA ESTÁNDAR).	4-29
FIGURA 4-24 ZONAS MUESTREADAS EN LA FIGURA 4-25.	4-30
FIGURA 4-25 SEÑAL RAMAN DE LA SERINA (1 μ L A 200 PPM) SOBRE DIFERENTES SUSTRATOS DE AG (T100/X; X=5,6,7 MIN). POTENCIA DEL LÁSER, 1 MW SOBRE MUESTRA.	4-31
FIGURA 4-26 ESPECTRO RAMAN DE LA LISINA (MUESTRA ESTÁNDAR)	4-31
FIGURA 4-27 SEÑAL RAMAN DE LA LISINA (1 μ L A 200 PPM) SOBRE UN SUSTRATO DE AG (T100). POTENCIA DEL LÁSER, 1 MW SOBRE MUESTRA	4-32
FIGURA 6-6 NIVELES ELECTRÓNICOS PARA PROCESOS DE ABSORCIÓN, FLUORESCENCIA Y FOSFORESCENCIA.	6-20
FIGURA 6-7 PROCESOS DE DISPERSIÓN INELÁSTICA DE LA LUZ: RAYLEIGH, STOKES Y ANTI-STOKES.	6-21
FIGURA 6-8 C.V. RAMAN, FÍSICO HINDÚ.	6-22

Índice de Tablas:

TABLA 0-1 CUADRO COMPARATIVO DE SECCIONES TRANSVERSALES DE DIFERENTES ESPECTROSCOPIAS.	XI
TABLA 1-1 CLASIFICACIÓN DE TÉCNICAS UTILIZADAS PARA DEPÓSITO DE PELÍCULAS DELGADAS.	1-3
TABLA 3-1 CONCENTRACIÓN DE PRECURSORES PARA LA REACCIÓN DE TOLLENS.	3-6
TABLA 3-2 CONCENTRACIÓN INICIAL DE LA MUESTRA EN MOLARIDAD (M)	3-11
TABLA 3-3 CANTIDAD DE RESIDUO EN GRAMOS (G)	3-11
TABLA 4-1 CONCENTRACIÓN DE PRECURSORES TOLLENS A DIFERENTES TIEMPOS.	4-3
TABLA 4-2 CONCENTRACIÓN DE PRECURSORES TOLLENS A 100 MM CON DIFERENTES TIEMPOS DE REACCIÓN.	4-3
TABLA 4-3 VALORES DE RUGOSIDAD PARA LOS SUSTRATOS GENERADOS POR VARIACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE PRECURSORES.	4-5
TABLA 4-4. VALORES DE RUGOSIDAD PARA LOS SUSTRATOS GENERADOS POR VARIACIÓN EN LOS TIEMPOS DE REACCIÓN, MANTENIENDO LA CONCENTRACIÓN CONSTANTE (100MM).	4-8
TABLA 4-5 MOLÉCULAS DE LA RODAMINA B Y 6G	4-12
TABLA 4-6 ASIGNACIÓN DE BANDAS PARA LA RODAMINA [120]	4-13

Glosario.

AFM: acrónimo de Atomic Force Microscope. Su traducción al español es: Microscopio de Fuerza atómica.

SERS: acrónimo de Surface Enhanced Raman Spectroscopy. Su traducción al español es: Espectroscopia Raman de Señal Amplificada por efecto de Superficie.

SEIRS: acrónimo de Surface Enhanced Infrared Spectroscopy. Su traducción al español es: Espectroscopia en el Infrarojo de Señal Amplificada por efecto de Superficie.

TERS: acrónimo de Tip Enhanced Raman Scattering. Variante de la espectroscopia Raman que involucra el uso del microscopio de fuerza atómica (AFM).

Superficies SERS: con este término nos referimos a los sustratos que permiten obtener SERS.

Problema científico.

En el análisis de biomoléculas, la técnica de espectroscopia Raman presenta baja sensibilidad con respecto a otras técnicas de caracterización. Para ello, se propone usar superficies metálicas nanoestructuradas que nos ayuden a detectar la señal Raman de algunos aminoácidos en concentraciones de hasta 200 PPM.

Hipótesis.

Se supone que la interacción combinada entre luz, moléculas y superficies metálicas rugosas (en condiciones adecuadas), presenta efectos muy interesantes y prometedores en lo que respecta a la amplificación de señales Raman, lo que nos será útil para detectar aminoácidos (por ejemplo: Glicina, Lisina, Serina y Ácido Aspártico) en concentraciones bajas (menores a 1 ppm); así también nos puede ser útil para apagar la fluorescencia de diversas moléculas, por ejemplo la Rodamina 6G en concentración de 1×10^{-6} M.

Objetivo General.

Obtener superficies metálicas nanoestructuradas que sean fáciles, reproducibles y de bajo costo para ser usadas en la amplificación de señales Raman de moléculas de interés biológico.

Objetivos específicos.

1. Obtener superficies metálicas nanoestructuradas mediante una técnica fácil, reproducible y de bajo costo, para probar su viabilidad como sustratos que amplifican la señal Raman de disoluciones de aminoácidos en bajas concentraciones.
2. Implementar y modificar la técnica de Tollens de acuerdo a nuestros requerimientos, para ver cómo la modificación de parámetros tales como la concentración de precursores, incide en las características morfológicas de las películas.
3. Variar la concentración del precursor (AgNO_3) para generar diferentes superficies rugosas.
4. Evaluar los sustratos generados con muestras de prueba y de interés, para comprobar sus ventajas en cuanto a amplificación de señal Raman de aminoácidos y también en la disminución de fluorescencia de Rodamina 6G.

Resumen

Hemos revisado la literatura existente alrededor de la generación de superficies metálicas nanoestructuradas (en forma de película delgada). Teniendo una visión general de las técnicas disponibles para fabricar sustratos metálicos, se decidió utilizar un método químico en fase líquida (reacción de Tollens), para recubrir láminas portaobjetos de vidrio con plata metálica y con rugosidad nanométrica, además de su facilidad de implementación en nuestro laboratorio.

Los sustratos recubiertos con plata se utilizaron como auxiliar en pruebas de espectroscopia Raman, con los siguientes objetivos: a) suprimir la fluorescencia de una molécula de tipo colorante (Rodamina); b) obtener la señal Raman de algunos aminoácidos (Glicina, Lisina, Ácido Aspártico y Serina); c) determinar el límite de detección Raman-SERS de los aminoácidos en los sustratos de plata generados por el método de Tollens el cual resultó ser de aproximadamente 10^{-13} gr.

Se fabricaron recubrimientos por la reacción de Tollens variando las concentraciones del precursor desde 25 hasta 125 mM. Con un perfilómetro se midió el espesor de las películas así generadas; el rango de espesores es variable desde aproximadamente 60 nm para las películas obtenidas con una concentración de 50 mM, y de 125 nm para las películas generadas con una concentración de 125 mM. Con pruebas de AFM estimamos la rugosidad de nuestros sustratos en el orden de 40 nm. Los sustratos obtenidos son fáciles de preparar.

El proceso para generar los sustratos metálicos presenta la ventaja de ser escalable, lo que consideramos un aspecto muy positivo en el trabajo realizado.

Introducción.

Las espectroscopia Raman e Infraroja son las principales técnicas espectroscópicas para identificar especies químicas y también para inferir información estructural de la especie en estudio.

La espectroscopia Raman fue descubierta en 1928 por Sir Chandrasekhara Venkata Raman, al descubrir que en la dispersión de luz (en la interacción luz-materia) aproximadamente 1 fotón de cada 10^7 es dispersado de manera inelástica.

Entre las ventajas de la espectroscopia Raman se pueden mencionar: que las muestras requieren mínima o ninguna preparación para llevar a cabo el análisis, y se puede realizar el análisis de diversas muestras (líquidas, sólidas y gases). Como una desventaja se puede menciona su baja sensibilidad intrínseca. Por otro lado, se debe mencionar que los procesos de fluorescencia son el principal inconveniente de esta técnica.

A pesar que la técnica fue descubierta en 1928, no fue sino hasta la década de 1960 cuando se pudo empezar a utilizar en el laboratorio gracias al descubrimiento del láser. La espectroscopia Raman presenta muy baja eficiencia con respecto a otras técnicas de caracterización, lo que está dado así porque la sección transversal es varios órdenes de magnitud menor con respecto, por ejemplo, a la fluorescencia.

Técnica espectroscópica	cm ²
Fluorescencia	1×10^{-16}
Dispersión Rayleigh	1×10^{-28}
Raman	1×10^{-30}

Tabla 0-1 Cuadro comparativo de secciones transversales de diferentes espectroscopias.

En 1974 Fleischmann et al. descubrieron una manera de amplificar la señal Raman, para lo cual la molécula de estudio debe adsorberse sobre una superficie metálica con rugosidad del orden de nanómetros.

El problema científico planteado en esta tesis es: en el análisis de biomoléculas, la técnica de espectroscopia Raman presenta una baja sensibilidad con respecto a otras técnicas de caracterización. Para ello, se sabe que haciendo uso de

superficies metálicas nanoestructurada es posible amplificar la señal Raman en varios órdenes de magnitud. Dichas superficies metálicas se denominan superficies adecuadas para **SERS** (acrónimo de: **Surface Enhanced Raman Spectroscopy**, su traducción al español es: **Espectroscopia Raman de señal Aumentada por efecto de Superficie**) NOTA: A partir de este momento en el texto se utilizará el acrónimo SERS para referirse a **Espectroscopia Raman de señal Aumentada por efecto de Superficie**, y el término “*superficies SERS*” para referirnos a los sustratos que permiten obtener SERS. Al día de hoy preparar *superficies SERS* de alta estabilidad y reproducibilidad, implica el uso de técnicas de depósito de superficies muy caras y que requieren el uso de instrumentación no siempre disponible en todos los laboratorios.

Del amplio universo de técnicas para generar sustratos metálicos hemos escogido la técnica por reacción de Tollens dada la relativa simplicidad y bajo costo con respecto a otras técnicas más sofisticadas de generación de películas metálicas.

En el capítulo 1 se proporciona información sobre las diferentes técnicas para generar sustratos metálicos: el tipo de depósito que permite cada técnica así como sus ventajas y desventajas en la elaboración de sustratos metálicos.

En el capítulo 2 se tratan los principios básicos de la espectroscopia Raman, la cuál es una técnica de espectroscopia vibracional que permite la identificación unívoca de compuestos químicos. Se proporcionan ejemplos donde el uso de la espectroscopia Raman ha ayudado en la detección de biomoléculas, lo cual es otro de los intereses que se plantea cubrir en esta tesis. Así mismo se describe en qué consiste el efecto SERS, lo cual es una mejora a la técnica Raman para hacer detección de compuestos en bajas concentraciones.

Los equipos utilizados para la realización de esta tesis fueron: un sistema Raman Almega XR para la espectroscopia Raman, un sistema Raman Witec con AFM para las mediciones de rugosidad de los sustratos, y un microscopio de campo oscuro Carl Zeiss. Todo lo anterior se describe en el capítulo 3, donde también se habla del proceso de depuración y fabricación de los sustratos por reacción de Tollens. Se explica la técnica de análisis cuantitativo, con lo que se estimó la cantidad de muestra monitoreada bajo el spot del láser para el caso de los aminoácidos.

En el capítulo 4 se discuten los resultados obtenidos en la tesis: se presentan los resultados de AFM realizados a los sustratos metálicos, las pruebas SERS realizadas en colorantes y las pruebas de espectroscopia Vibracional aplicadas a aminoácidos en bajas concentraciones.

En el capítulo 5 se presentan las conclusiones obtenidas para el trabajo realizado.

Capitulo 1

Superficies metálicas

Nuestra motivación para el presente trabajo se encuentra en el trabajo de Jeanmaire y Van Duyne, quienes en 1977 demostraron que la dispersión Raman de piridina adsorbida en una superficie metálica de plata es amplificada de manera considerable, permitiendo observar bandas que no eran detectables por experimentos de Raman ordinario ^[1].

Como primer paso del presente trabajo hicimos una revisión bibliográfica de las técnicas más comúnmente utilizadas para generar superficies metálicas, principalmente en forma de películas delgadas. A continuación se presentan los principales métodos de generación de superficies metálicas.

1.1 Métodos de generación de superficies metálicas.

Los avances tecnológicos más recientes están basados en el desarrollo de películas delgadas, con buenas propiedades físico-mecánicas ^{[2][3]}.

La definición de película delgada (un material en forma de película delgada) es: cualquier material con alguna de sus dimensiones del tamaño de nanómetros y hasta micras, generado a partir de la condensación controlada de especies iónicas-atómicas o moleculares sobre cierto sustrato ^[4]. Como ejemplos de tecnologías que usamos cotidianamente, cuyo avance se ha visto de mayor desarrollo porque contienen materiales en forma de película delgada, se puede mencionar los recubrimientos ópticos y todos los dispositivos de tipo semiconductor, principalmente. También se puede mencionar el caso del

almacenamiento de información, donde se utilizan películas delgadas de materiales ferromagnéticos, como en el caso de materiales cerámicos en película delgada, que son utilizados como protección contra desgaste, oxidación y corrosión. La principal desventaja de los materiales en película delgada es que aún no se entienden del todo los procesos involucrados.

Se habla de películas delgadas en el caso de materiales cuyo espesor es menor o igual a una micra.

Los materiales en forma de película delgada se pueden integrar en muchos dispositivos electrónicos que utilizamos hoy en día: sensores magnéticos, sensores de gas, películas anti-reflejantes, filtros de interferencia, polarizadores, celdas solares, etc ^[5]. Se depositan principalmente por técnicas físicas o químicas. Pueden tener estructura cristalina y amorfa. Estando en forma de película delgada es posible controlar las propiedades por el grosor de la capa.

Las tecnologías de películas delgadas involucran campos del conocimiento como la Física y Química, ciencia de materiales, fenómenos de superficie, además de física y química aplicadas. Probablemente fue Michael Faraday el primero en depositar metales en forma de película delgada de manera sistemática, por medio de métodos electro-químicos. El depósito de materiales en película delgada permite fabricar materiales con características topográficas, geométricas, físicas y cristalográficas deseadas por el fabricante. Lo anterior permite estudiar también las propiedades de los materiales generados que dependen de la estructura ^[6].

1.1.1 Técnicas de depósito de películas delgadas.

Las técnicas se clasifican principalmente en dos categorías: i) técnicas físicas, como los métodos de evaporación; ii) técnicas químicas, como los procesos químicos en fase gas o líquido. También hay técnicas que combinan procesos químicos y físicos (métodos físico-químicos), como son los procesos sputtering.

En la tabla 1.1 se presenta una clasificación de las técnicas para depositar películas delgadas.

Tabla 1-1 Clasificación de técnicas utilizadas para depósito de películas delgadas.

Técnicas depósito de películas delgadas. [7]			
Físicas		Químicas	
Evaporación	Sputtering (Glow Discharge Processes)	en Fase Vapor	en Fase Líquida
• Evaporación al vacío	• Sputtering	• CVD	• Electroplating
• Evaporación por resistencia	• Diode Sputtering	• Epitaxia CVD	• Electroless Plating
• Evaporación por haces de electrones	• Sputtering reactivo	• APCVD (CVD a presión atmosférica)	• Anodización electrolítica
• Evaporación láser	• Ion Plating	• LPCVD (CVD en presión baja)	• Plateado por reducción química
• Evaporación por arco	• Depósito Sputter por haz de iones	• MOCVD (CVD de Metal-orgánicos)	• Chemical displacement plating
• Flash evaporation	• Reactive Ion plating	• PHCVD (CVD mejorado por luz)	• Spray pyrolysis
• Evaporación RF (Radio-Frecuencia)	• Cluster Beam Deposition	• PCVD (CVD inducido por láser)	• Técnicas spray-on
	• Proceso por plasma	• CVD inducido por electrones	• Técnicas spin-on
	• PECVD (CVD mejorado por plasma)	• Oxidación térmica	• Epitaxia en fase líquida
	• Deposito por arco catódico	• Nitridación térmica	
		• Polimerización térmica	

De las técnicas arriba descritas la técnica de reacción de Tollens (método *electroless*) pertenece a la categoría de técnicas químicas en fase líquida.

Diferencias de depósito entre técnicas químicas y físicas.

La principal diferencia reside en cómo se depositan los átomos o moléculas sobre el sustrato. Las técnicas químicas de depósito requieren de un precursor líquido que reacciona químicamente con el sustrato, esto permite un depósito que no se da en una dirección preferencial. Las técnicas físicas requieren de medios mecánicos o electromecánicos para depositar la película en el sustrato: por ejemplo se aprovecha la diferencia de temperaturas o presiones para llevar las partículas al sustrato donde se quiere depositar, o se pueden arrancar los átomos de un blanco y posteriormente condensarlos sobre el sustrato. Este tipo de depósito ocurre de manera direccional, dado que las partículas siguen una ruta lineal desde el blanco hasta el sustrato.

1.1.2 Principales técnicas de depósito de películas delgadas.

Dependiendo de las propiedades específicas que se requiera para la película delgada, se puede utilizar alguna técnica en particular: las condiciones cambian dependiendo del tipo de sustrato sobre el que se quiere depositar la película, y también de acuerdo al tipo de material que se quiere depositar (aleación, cerámico, polímero, etc.).

Cada técnica tiene sus ventajas y desventajas con respecto al material que se va a depositar; siempre hay que hacer una evaluación costo-beneficio con respecto a costo de material, equipo, condiciones de depósito y características del material sobre que se deposita.

Hay una estrecha relación entre el buen funcionamiento y bajo costo de los dispositivos fabricados a partir de tecnologías de películas delgadas: las propiedades físicas del material depositado, su procedimiento de depósito y las técnicas de caracterización espectroscópicas influyen en el desarrollo de un mejor material.

Los métodos químicos de depósito se pueden subdividir en 2 clases: uno donde la formación química se da a partir del entorno que rodea al sustrato, por ejemplo el caso del electroplating, el plateado por reducción química y el depósito en fase vapor; en el otro caso la formación de la película se da en función de los ingredientes precursores, como es el caso del CVD (Chemical Vapor Deposition: depósito químico en fase vapor), MOCVD (Metal Organic Chemical Vapor Deposition: procesos químicos órgano-metálicos, sputtering (pulverización catódica), ion beam implantation y el crecimiento térmico.

Los métodos anteriormente descritos producen películas de máximo una micra de grosor. Otras técnicas con las que se puede fabricar películas de mayor grosor son el screen printing (serigrafía), glazing (acristalamiento), depósito electroforético, flame spraying (pulverización aérea) y painting (pintado).

1.1.2.1 Técnicas físicas (PVD).

En las técnicas PVD el material a depositar es extraído de un blanco y se deposita sobre el sustrato. Las dos técnicas PVD más importantes son: evaporación y sputtering.

La técnica PVD involucra los siguientes pasos:

- Se lleva el material a depositar a fase gaseosa (por medios físicos: evaporación o bombeo)
- El gas pasa a una región de menor presión, desde el blanco hasta el sustrato.
- El vapor condensa sobre el sustrato, formando la película delgada.

Hay otra categoría de técnicas PVD (augmented energy techniques), entre las que se puede mencionar técnicas como el depósito asistido por iones, plasma o láser ^{[8][9]}.

¿Cuándo se usan técnicas PVD?

PVD es comúnmente usado para depositar metales. En este caso es más común que CVD dado que es más económico, no obstante la calidad de los materiales depositados es menor. En el caso de metales esto implica mayor resistividad y para aislantes el hecho que son materiales con más defectos y trampas. La elección entre hacer depósito por evaporación o sputtering no involucra mayor análisis, más bien dependerá de qué tecnología se tenga más a la mano.

A continuación se enlistan las principales técnicas pertenecientes al depósito PVD

1. Evaporación.

Las técnicas de evaporación son las de uso más generalizado para preparar películas delgadas. En condiciones de vacío, es posible evaporar (y depositar) una amplia gama de materiales: la temperatura de evaporación del material disminuye con respecto a si el depósito se hiciera

en condiciones de presión estándar, y de igual forma la cantidad de impurezas que se adhieren a la capa depositada.

El arreglo que se hace para hacer depósito de películas por evaporación resistiva se describe a continuación (figura 1-1): dentro de la cámara de vacío se coloca el material a depositar (la fuente) y el sustrato donde se quiere depositar la película. Se calienta la fuente hasta que ocurra la evaporación del material. En este caso las condiciones de vacío favorecen el camino libre de las moléculas que van de la fuente al sustrato. El principio anteriormente descrito ocurre de igual forma para todas las técnicas de evaporación, lo que cambiará es la manera cómo se evapora el material de la fuente. Las 2 técnicas más comunes para evaporar el material son la evaporación resistiva y la evaporación por haces de electrones. En la evaporación resistiva se coloca el material a depositar (la fuente) en un bote de tungsteno: se hace incidir una corriente sobre el bote de tungsteno lo que inducirá la evaporación del material. En la evaporación por electrones se apunta un haz de electrones a la fuente, lo que induce calentamiento local de la fuente y la consecuente evaporación (ver figura 1-1). Para elegir entre los métodos de evaporación arriba descrito se debe tomar en cuenta las propiedades de transición de fase del material que se va a depositar ^{[10] [11]}.

Las técnicas aquí mencionadas generalmente se utilizan en conjunto con otras técnicas para generar sustratos SERS.

En cuanto a técnicas PVD, se puede mencionar el trabajo de Zhang et al. ^[12], quienes recubrieron tiras de papel con plata y lograron detectar 10^{-10} mol/Litro de Rodamina 6G.

En otro trabajo ^[13] se reporta la fabricación de películas semiconductoras de compuestos Metal-Orgánicos, obteniendo distribuciones espacialmente homogéneas de nanopartículas de plata. Jenny M. Oral et al. ^[14] fabricaron arreglos de nanodiscos elípticos por litografía y posteriormente recubrieron dichas estructuras con plata por medio de PVD.

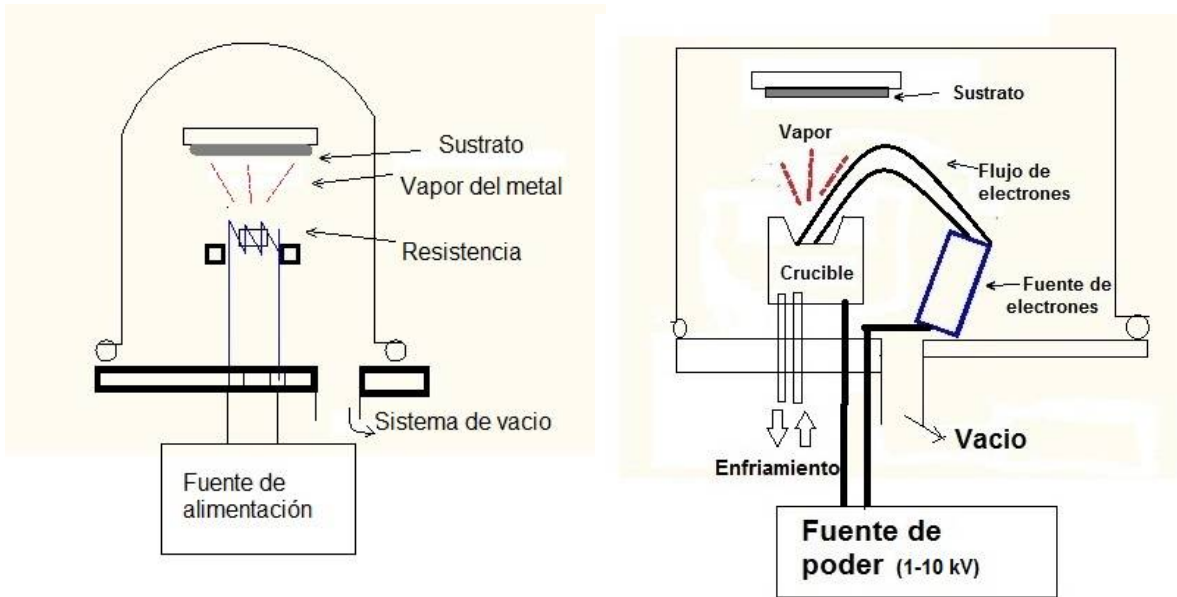


Figura 1-1 Evaporación resistiva y por haces de electrones.

2. Sputtering.

En el depósito por sputtering se tiene el material a depositar (el blanco) y ésta es bombardeada con partículas energéticas, lo que causa el desprendimiento de los átomos superficiales de la fuente (ver figura 1-2). Los átomos que se han desprendido condensan sobre la superficie del sustrato para formar la película del material deseado. El proceso por sputtering ocurre a temperaturas mucho menores que en el caso de Evaporación. Es posible depositar mezclas de varios materiales. El sustrato se coloca en una cámara de vacío junto con la fuente. Se introduce un gas inerte a baja presión. Una fuente de poder de Radio Frecuencia ioniza el gas. Los iones son acelerados la superficie de la fuente, lo que ocasiona el desprendimiento de los átomos superficiales de material en forma de vapor: el material condensa en todas direcciones y sobre el sustrato. Este método ocurre de manera muy similar para todos los procesos de tipo Sputtering; la principal diferencia será la manera en que se induce el bombardeo iónico de la fuente. De las variaciones de la técnica las más usadas son el DC sputtering, RF sputtering y el magnetrón sputtering ^[15].

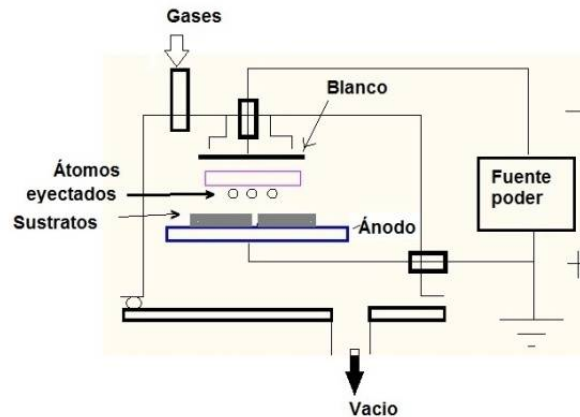


Figura 1-2 Arreglo para depósito de películas por Sputtering.

En cuanto a trabajos reportados de sustratos SERS que utilizarán de alguna forma el sputtering se puede mencionar: en 2011 Chit Yaw Fu, et al. ^[16] utilizaron sputtering para reducir la separación entre nanopartículas de un sustrato SERS de nanopartículas de oro. En 2014 Tang et al. ^[17] generaron monocapas utilizando la técnica de Langmuir Blodgett, y posteriormente fueron recubiertas por sputtering, obteniendo partículas con diámetro en el rango 250-800 nm. Dichas superficies presentaban amplificación uniforme (SERS) de Cristal Violeta adsorbido sobre la superficies generadas.

3. Plateado iónico (ion-plating)

Es una técnica de la categoría PVD donde ocurre una evaporación reactiva por haces de electrones. En Sputtering se bombardea la fuente con iones de Argón (generalmente). En el plateado iónico el material se evapora al aplicar una diferencia de potencial entre el cátodo (el blanco, i.e. material a depositar) y el ánodo. El material extraído viaja desde el blanco hacia el sustrato, donde forma la película del material deseado (ver figura 1-3). Por esta técnica se puede depositar circuitos integrados para semiconductores gracias a que el crecimiento de la película es epitaxial. Entre sus desventajas se puede mencionar la baja velocidad de depósito, la dificultad para controlar la estequiometría del depósito, y la necesidad de calentar el material una vez depositado a altas temperaturas para la cristalización del material. La técnica resulta cara en su implementación.

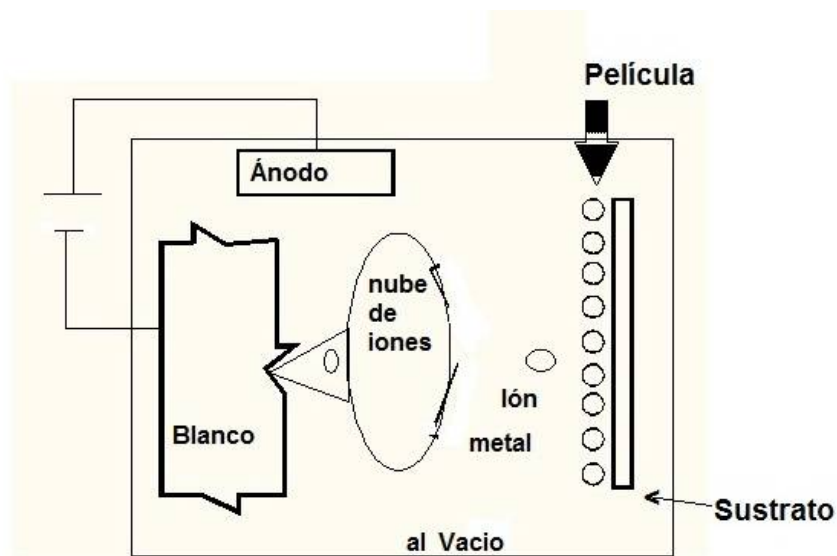


Figura 1-3 Arreglo para depósito por plateado iónico

Hasta donde tenemos conocimiento, esta técnica no ha sido utilizada directamente para generar sustratos de aplicación SERS. Se puede mencionar el trabajo de Lee et al ^[18] quienes estudiaron las propiedades tribológicas de sustratos metálicos de plata generados por plateado iónico. Esta técnica requiere que se introduzca el sustrato en una cámara con una presión de 3×10^{-6} Torr. Los autores reportan que previo a hacer el depósito de plata, limpiaron el sustrato por medio de un bombardeo continuo durante 20 minutos de iones de Argon.

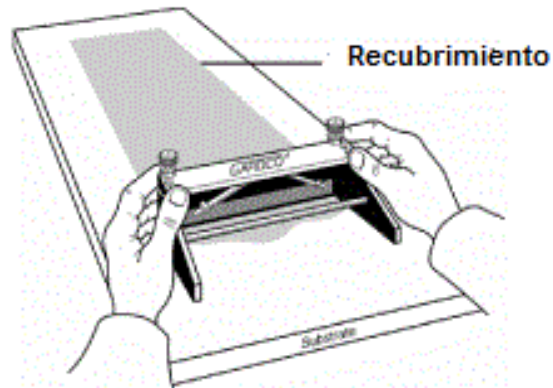
4. Casting.

Para este proceso el material a depositar es disuelto en un solvente líquido. La película del material se aplicará sobre el sustrato ya sea rociándolo con atomizador (spray), o colocando el sustrato en un aparato que gire (spin). Cuando el solvente se evapora, queda una capa delgada del material sobre el sustrato (ver figura 1-4).

Por casting se pueden depositar polímeros solubles en solventes orgánicos ó fotorresistencias sobre sustratos, para aplicaciones de fotolitografía.

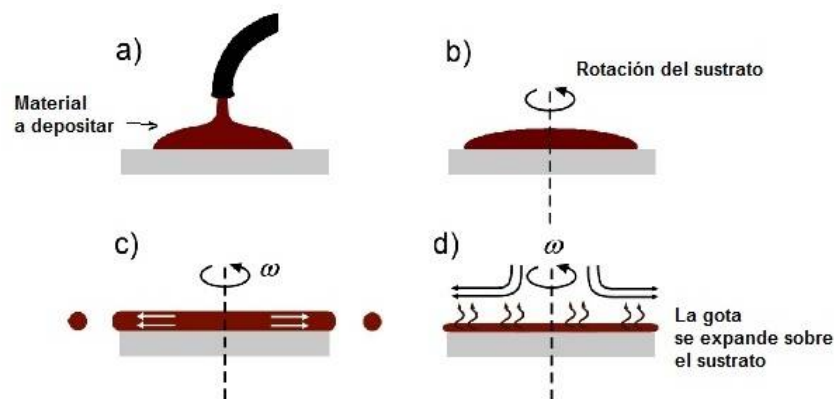
El grosor de los materiales depositados por esta técnica va desde mono capas de moléculas hasta capas de micras.

Depósito por Casting



<http://omicsonline.org/2157-7587/2157-7587-1-106.php>

Depósito por Spin-Casting



<http://large.stanford.edu/courses/2007/ph210/hellstrom1/>

Figura 1-4 Arreglo general de depósito por Casting y Spin Casting.

Se han generado películas metálicas de 20 nm de grosor por la técnica de spin casting, las cuales fueron generadas por tinta de plata transparente a una temperatura 130 °C y sin la necesidad de vacío^[19].

¿Cuándo se utiliza “Casting”?

Principalmente cuando se hace depósito de polímeros. También en aplicaciones de foto-litografía. Es posible controlar el grosor de la película con variaciones de $\pm 10\%$ el grosor deseado, dependiendo principalmente en las condiciones de depósito.

1.1.2.2 Técnicas Químicas (Gas-Líquido).

Depósito por reacciones químicas

- Reducción química de una solución iónica por un agente reductor sin importar qué tipo de sustrato se trabaja.
- Depósito electroless controlado por la reducción de cierto agente.
- Arrested precipitation technique (APT)
- Chemical bath deposition

Elementos básicos del chemical bath deposition:

Ventajas:

- Ideal para depositar películas en áreas grandes y de formas irregulares.
- No requiere instrumentación sofisticada
- Dado que el depósito ocurre a temperaturas bajas, no es corrosivo para sustratos metálicos.
- Es posible controlar el grosor del sustrato, desde nanómetros hasta micras.
- Es amplia la variedad de materiales que se pueden depositar por esta técnica.

Factores a tomar en cuenta:

- Composición del baño: si se utilizan bajas concentraciones de especies reactivas, se obtendrán películas de poco grosor. Con concentraciones más altas de las especies reactivas se mejora la uniformidad y calidad de la película.
- PH: al trabajar con especies iónicas, afectará la cantidad de iones libres en el medio.
- Tiempo de depósito: Afecta el grosor de la película
- Temperatura de depósito: Afectará la rugosidad del sustrato.

1. Electrodeposición.

El electrodeposición consiste en aplicar una corriente eléctrica a un electrolito, lo que inducirá el depósito del material sobre el sustrato (electrodo) debido a un proceso de electrolisis. Las leyes de Faraday explican el fenómeno de electrolisis: al sumergir el electrodo en una solución que contiene iones del material, el sistema tenderá al equilibrio. El electrodo adquiere cierta carga y atraerá iones o moléculas que se encuentren en el medio con carga opuesta. Entonces se forma una doble capa en la interface electrodo-electrolito: la capa interna formada por moléculas de agua junto con iones adsorbidos y una capa externa con carga opuesta a la carga del electrodo. A medida que ocurre el proceso de depósito, los iones que alcanzan la superficie del electrodo liberan sus ligandos y entonces se produce la reacción electroquímica. El adelgazamiento de la doble capa se compensa con un suministro continuo de nuevos iones provenientes del electrolito. En la figura 1-5 se muestra un esquema general del diseño experimental necesario para realizar depósito de películas delgadas por electrodeposición.

Los factores que influyen en el proceso de electro-depósito son: la densidad de corriente, la composición del baño químico, el PH del electrolito, la temperatura del baño y la forma del electrodo ^[20].

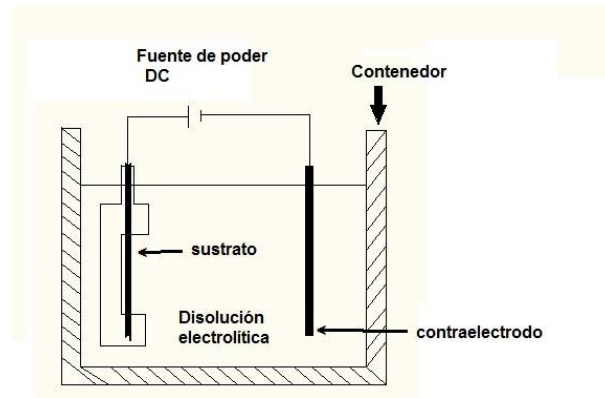


Figura 1-5 Arreglo para electrodeposición de películas delgadas.

Se han depositado sustratos SERS por electrodeposición a partir de nitrato de plata y alcohol polivinílico (PVA) ^[21]; la detección de hasta 10^{-5} M de colorante azoderivados ^[22], y también la detección de hemoglobina en sustratos SERS generados por electrolisis ^[23].

¿Cuándo se utiliza el Electrodeposición?

Se utiliza para hacer depósito de metales como son oro, níquel, plata, cobre. El grosor de la película está en el rango de 1 a más de 100 micras. En cualquier caso la superficie del sustrato debe estar recubierta con una capa conductora de electricidad.

2. Spray Pyrolysis.

En 1966 R.R. Chamberlain y J.S. Skarman utilizaron por primera vez la técnica de Spray Pyrolysis ^[24] para depositar películas delgadas de Sulfuro de Cadmio para su uso en células solares. Actualmente se utiliza para depositar materiales (principalmente óxidos) como son: SnO_x , In_2O_3 , PbO , ZnO , ZrO_2 , entre otros. Básicamente la técnica consiste en rociar el material a depositar sobre el sustrato, que necesita estar a muy alta temperatura. Una vez que las gotas del rocío llegan al sustrato, ocurrirá la descomposición pirolítica que formará una mono-capa o cúmulos del producto (ver figura 1-6). Los restos que no reaccionan para formar la película delgada se evaporan. El mantener el sustrato a alta temperatura provee la energía térmica para la descomposición y subsecuente recombinación de reactivos. De acuerdo a las características físicas del atomizador se puede modular las características del rocío. Generalmente las películas generadas por esta técnica tienen buena adherencia, buenas propiedades mecánicas. La morfología de las películas generalmente es áspera. Dado que se trabajan con altas temperaturas, la elección del sustrato está limitada a vidrio, cuarzo, materiales cerámicos u óxidos.

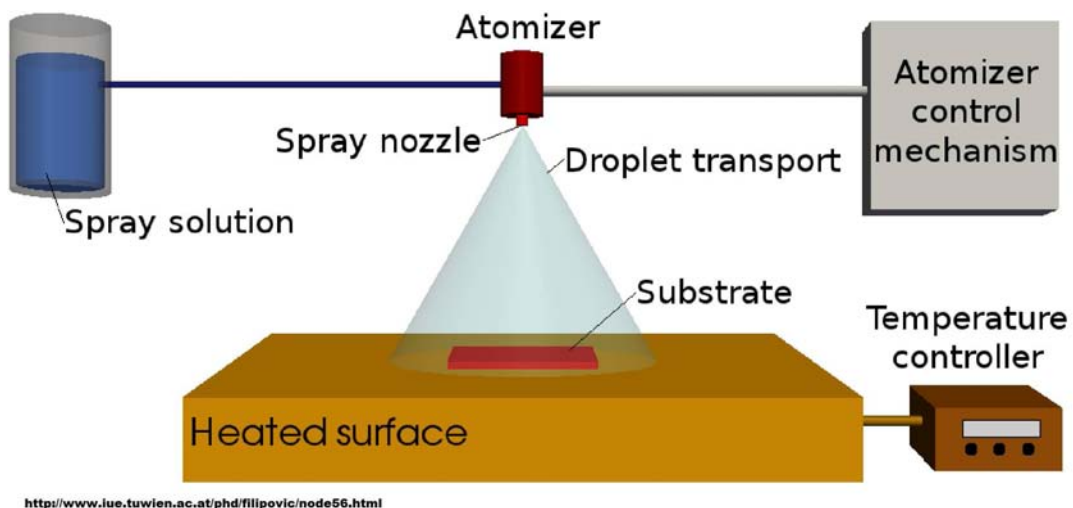


Figura 1-6 Arreglo para depósito por Spray Pyrolysis.

Como trabajos encaminados a generar sustratos SERS encontrados en la literatura se pueden mencionar: el trabajo de Semenova et al. quienes generaron estructuras porosas de formas esféricas y cúbicas, a partir de una disolución de diamminaplata $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$, la cual se forma cuando iones de plata forman un complejo con el amoniaco. La generación de sustratos activos para el SERS depende de la temperatura inducida sobre el sustrato a la hora de fabricación ^[25].

3. CVD.

En las técnicas CVD la reacción de los precursores que formarán la película delgada ocurre en fase gaseosa. Además de controlar las variables comunes del depósito (temperatura y nivel de vacío) es necesario entender bien cómo reaccionan los precursores involucrados. Para la formación de sólidos en las técnicas CVD se utilizan las siguientes reacciones químicas: pyrolysis, oxidación, reducción, hidrólisis.

Los pasos que ocurren en una reacción CVD son los siguientes (ver figura 1-7):

- Se acercan los precursores (vapor) hasta el sustrato en un flujo no isotérmico.
- Los precursores se adsorben sobre la superficie
- Se desorben los residuos de la superficie
- Los residuos son transportados fuera de la superficie.

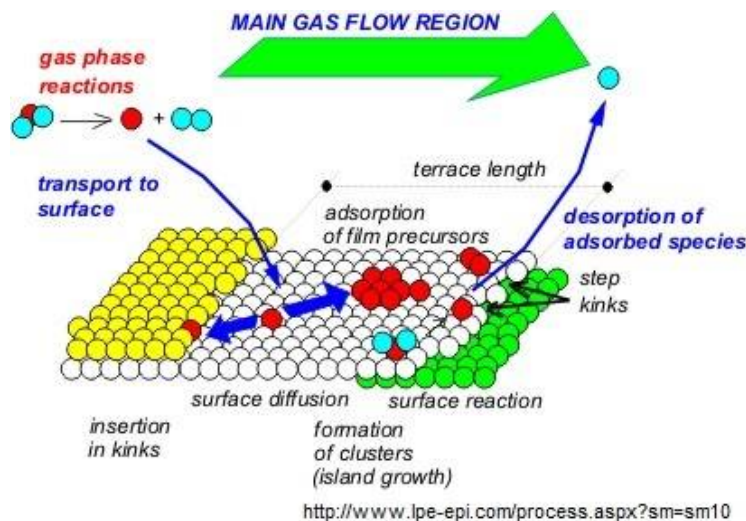


Figura 1-7 Esquema de los procesos que ocurren en un depósito por CVD.

¿Cuándo se utiliza CVD?

CVD permite hacer depósito bastante homogéneo de películas delgadas. La variedad de materiales que se puede depositar por CVD es amplia, aunque muchos son de uso limitado debido a la peligrosidad de los residuos generados durante su fabricación. La calidad del material depositado varía entre los diferentes procesos CVD; lo que sí se puede decir con seguridad es que los procesos a mayor temperatura generan estructuras de mayor calidad y menos defectos.

Utilizaron CVD para generar sustratos SERS donde se tuvo control sobre la separación entre partículas de oro ^[26]. Por su parte Chen et al. generaron películas de óxido de aluminio anodizado y las recubrieron de plata por medio de CVD ^[27]. Como se ha mencionado previamente, las técnicas aquí descritas forman alguna parte del proceso para generar sustratos SERS.

4. Epitaxia en fase líquida.

Esta tecnología es similar a los procesos CVD. Su ventaja se encuentra en que la técnica preserva la orientación cristalográfica del sustrato: en este caso el sustrato actúa como una semilla para el depósito. Si el sustrato es amorfo o policristalino, la película también será amorfa o cristalina.

La técnica más utilizada es la Epitaxia en Fase Vapor (VPE). Para el proceso se introducen varios gases en un reactor calentado por inducción. La temperatura del sustrato debe ser por lo menos la mitad del punto de fusión del material a depositar. En la figura 1-8 se muestra un esquema general del depósito de películas delgadas por Epitaxia en Fase Vapor.

La velocidad depósito para esta técnica es alta, por lo que es posible depositar capas de hasta 100 micras. Se utiliza por ejemplo para depositar sustratos de silicón sobre aislantes.

Se ha utilizado para depositar óxido de Ytrio-Bario-Cobre (YBCO) sobre sustratos metálicos de plata ^[28]. Por su parte Sashital et al. ^[29] depositaron alternadamente capas de Tiogalato de plata (AgGaS₂) por depósito vertical.

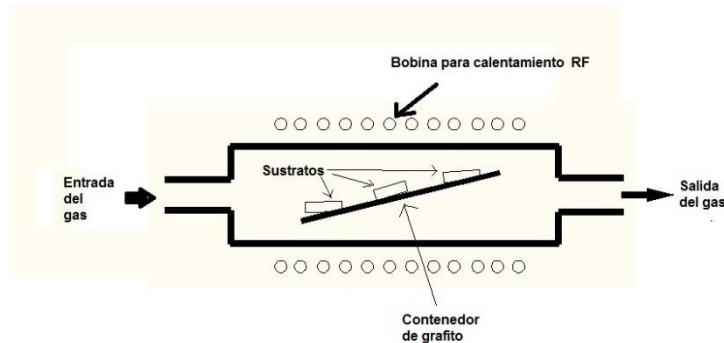


Figura 1-8 Reactor para depósito por epitaxia.

¿Cuándo se utiliza Epitaxia?

Se utiliza para aplicaciones de micromecatrónica (MEMS). Principalmente se depositan películas de silicio con grosor de entre 1 a 100 micras. Algunos procesos permiten hacer depósito selectivo de materiales.

5. Deposito Catódico

El depósito catódico es un proceso de electro-depósito. Se sumergen dos electrodos en una solución electrolítica. Se aplica una corriente eléctrica entre los electrodos: entonces los iones de la disolución se depositan en el cátodo, formando la película delgada. Las características de la película dependen del potencial y la corriente aplicada.

Se puede mencionar el depósito electroquímico de plata sobre un sustrato de carbón a partir de una disolución de AgNO_3 , realizado por Xu et al. ^[30]. Ellos controlaron el tamaño de las partículas por medio de la adición de 1-butyl-3-methyl imidazolium nitrate, $[\text{bmim}]\text{NO}_3$, y utilizaron el sustrato generado para detectar naranja de metilo con muy buenos resultados.

6. Oxidación anódica

Se utiliza para depositar películas de óxido sobre superficies metálicas. El metal se introduce en una disolución electrolítica, donde actúa como ánodo y atraerá los iones de óxido para formar la película de óxido sobre el metal. Se puede generar sustratos gruesos al aplicar la intensidad del campo eléctrico aplicado entre las terminales.

7. Oxidación térmica

Corresponde a las técnicas más sencillas de depósito. Consiste en la oxidación del sustrato en una atmósfera rica en oxígeno. Para acelerar el proceso se eleva la temperatura a 1100°C. Es la única tecnología de depósito que consume parte del sustrato durante el proceso. La película delgada crece hacia el interior del sustrato. La relación entre el tiempo de oxidación y grosor de la película es parabólica, para grosores menores a 100 nm, debido que a medida que aumenta el grosor de la película depositada es más difícil la difusión del oxígeno sobre la superficie. El proceso únicamente se puede llevar a cabo con materiales que pueden ser oxidados. Es la forma más común de generar SiO₂ en sustratos de silicio. En la figura 1-9 se muestra un esquema general del arreglo para hacer depósito por oxidación térmica.

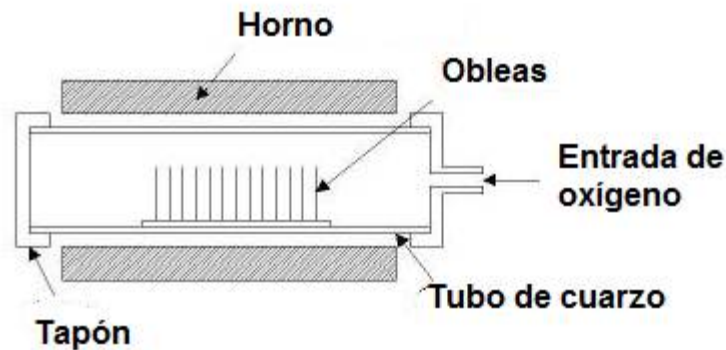


Figura 1-9 . Arreglo para depósito por oxidación térmica.

Factores que afectan las propiedades de la película delgada:

- ✓ Grosor de la película
- ✓ Surface : volume ratio
- ✓ Estructura de la superficie (rugosidad)
- ✓ Superficie Hidrofóbica o Hidrofílica
- ✓ Textura: monocristalina, microcristalina, tipos de dominios y orientación.
- ✓ Tipo de sustrato (supported or unsupported).

Parámetros importantes en la síntesis de películas delgadas.

Es importante considerar cuantos materiales diferentes se van a depositar sobre el sustrato, que los materiales depositados tengan buena uniformidad a grandes

escalas y que sean reproducibles en su fabricación. También es importante tener buen control del grosor de la película, lo que implica tener buen control de la tasa de depósito del material. Es importante contar con precursores con altos niveles de pureza y que el sistema donde se hace el depósito de la película esté completamente limpio, dado que esto afecta el desempeño del material depositado. Todos estos requerimientos han sido implementados y perfeccionados en la industria electrónica.

Ninguna técnica de las anteriormente mencionadas cumplirá todos los requerimientos buscados. Al hacer la elección de la técnica se deben considerar los siguientes aspectos:

- ✓ Viabilidad del coste de implementar determinada técnica
- ✓ Viabilidad de la técnica para depositar el material requerido.
- ✓ El tipo de microestructura que genera el depósito sobre el sustrato, y qué tanto depende de lo anterior la velocidad de depósito.
- ✓ Que se preserve la estequiometría del material fuente.
- ✓ Tratamientos especiales que requiera el sustrato donde se hará el depósito.
- ✓ Si es posible controlar la cantidad de defectos entre el sustrato y la película depositada.

1.1.3 Uso de recubrimientos en película delgada en la actualidad.

- Componentes electrónicos: es la industria que hace un uso más generalizado de las técnicas de depósito de películas delgadas. En dispositivos de estado sólido o circuitos electrónicos integrados. Para estas tecnologías se hace depósito de materiales como semiconductores, capas dieléctricas o aislantes, y también capas de metal sobre conductores.
- Displays electrónicos: por ejemplo las pantallas táctiles del cajero automático, el teléfono móvil, donde el display electrónico permite la interacción humano-dispositivo. La fabricación de este tipo de displays requiere películas conductoras (transparentes), películas luminiscentes o fluorescentes, y a su vez integrar capas aislantes.
- Recubrimientos ópticos: su uso más generalizado ocurre en la industria de las células solares, donde se utilizan como capas anti-reflectoras. En la fabricación de filtros ópticos, se depositan películas delgadas con diferentes índices de refracción (gradiente). Estos recubrimientos requieren de materiales dieléctricos con índices de refracción y absorción específicos.

También se utilizan en láseres, donde se requiere recubrimientos reflectivos que soporten altas intensidades de radiación. En los filamentos de lámparas se utilizan recubrimientos que reflejan la radiación infraroja a fin de mejorar la luminosidad.

- Materiales magnéticos para almacenamiento de información: se deposita materiales magnéticos en película delgada como medios de almacenamiento de información. Se pueden depositar sobre sustratos tan diversos como vidrio, metal o plástico. Se requiere que la película depositada tenga cierto grado de dureza.
- Recubrimientos anti-estática: son recubrimientos de materiales conductores o semiconductores, que brindan protección contra descargas electrostáticas.
- Recubrimientos de superficie dura: proveen propiedades de disipación de calor, resistencia a altas temperaturas y radiación energética. Por ejemplo recubrimientos de carbides, silicidos, nitrides, and borides.

1.2 Técnicas para generar sustratos SERS.

Los primeros sustratos SERS se hicieron después del trabajo de Fleischmann en 1973. El tratar de encontrar sustratos SERS óptimos está justificado dado que es posible optimizar parámetros tales como tamaño y forma de las nanopartículas metálicas, lo que contribuye en el parámetro más importante que debe tener un buen sustrato SERS: una mayor amplificación de señal Raman ^[31].

Las características del sustrato SERS ideal son: fácil de preparar y reproducible, químicamente estable, cuenta con muchos sitios de amplificación de señal. La literatura que habla sobre las diferentes técnicas para generar sustratos SERS se puede consultar en ^[32-42].

De acuerdo a ^[33] se pueden clasificar los sustratos SERS en 3 categorías:

1. Nanopartículas metálicas en suspensión
2. Nanopartículas metálicas depositadas sobre sustratos sólidos
3. Nanoestructuras fabricadas directamente sobre sustratos sólidos. En esta categoría se encuentran los sustratos generados por nanolitografía.

Los experimentos SERS más sencillos corresponden a la categoría 1 (nanopartículas metálicas en suspensión), donde simplemente se agrega cierta concentración del analito en una disolución con nanopartículas de plata. La principal desventaja de esta técnica es controlar la reproducibilidad del experimento, dado que muchas veces las nanopartículas metálicas tienden a formar cúmulos.

A pesar de que la formación de cúmulos es un inconveniente, las nanopartículas metálicas son ampliamente utilizadas dada su facilidad de fabricación y estabilidad. En 1997 Kneipp et.al, utilizaron suspensiones metálicas de plata para hacer detección de una molécula de cristal violeta, logrando ampliar la sección transversal de la molécula gracias al SERS hasta valores de 10^{-16} cm² / molécula ^[43].

Como se reporta en ^[33], también es posible generar nanopartículas en forma de esfera ^[44], nanopartículas anisotrópicas por adsorción de capas como por ejemplo el cetil-trimetilamonio ^[41], y reducción de nanopartículas por luz en el intervalo UV-Vis ^[45].

En el caso de nanopartículas metálicas depositadas sobre sustratos sólidos, tiene como principal desventaja la adherencia de las nanopartículas metálicas sobre el soporte. Para lograr la adhesión de partículas de oro-plata sobre vidrio es necesario modificar la superficie de vidrio con amino-propil-trimetoxisilano (APTMS) o mercapto-propil-trimetoxisilano (MPTMS) ^[46].

En cuanto a nanoestructuras fabricadas directamente sobre sustratos sólidos se requiere de técnicas de nanolitografía, lo que generalmente aumenta considerablemente el costo de los sustratos generados. Su principal ventaja es que permite muy buen control de la geometría que se busca generar sobre las nanoestructuras, lo que se ve reflejado en la reproducibilidad de dichos sustratos. Entre las técnicas que se pueden mencionar están las variaciones existentes de litografías por haces de electrones: focused ion beam lithography (FIB) , electron beam lithography (e-beam). Con dichas técnicas ha sido posible generar nano huecos sobre películas metálicas continuas ó nanopartículas metálicas sobre soportes sólidos ^[47-53].

En esta tesis hemos trabajado con la reacción de Tollens para generar sustratos recubiertos con plata metálica. En la literatura hemos encontrados los siguientes reportes de sustratos generados por este método:

Borys y Lupton reportan que al variar las condiciones de crecimiento de películas generadas por reacción de Tollens es posible correlacionar cualitativamente la respuesta lineal y no lineal del sustrato ^[54].

Por su parte Norrod et al. ^[55] hacen la comparación sobre facilidad de preparación, limite de detección, estabilidad y reproducibilidad de sustratos de plata generados por reacción electroquímica, películas de plata corroídas por plata (que resultaron ser las de preparación más sencilla), películas depositadas por técnicas físicas con vapor de plata (las que resultaron ser las de elaboración más complicada, pero que también brindan mejor control de depósito), películas de plata generadas sobre TiO₂, las que fueron utilizadas para estudiar procesos de adsorción y fotooxidación sobre TiO₂; el último sustrato generado por ellos fue hecho por reacción de Tollens: resultó ser el de mayor sensibilidad y límite de detección más bajo para la molécula de prueba (*trans-1,2-bis(4-pyridyl)-ethylene BPE*), permitiendo la detección de entre 250 a 290 fm de la molécula.

Como se ha mencionado en este capítulo, hay una gran variedad de técnicas para generar sustratos metálicos. Cada uno de dichos métodos tiene sus ventajas-desventajas, así como también el requerimiento de ciertas condiciones para su mejor aplicación.

Nosotros hemos decidido trabajar con la técnica de Tollens dada su fácil implementación en nuestro laboratorio, que nos permitió obtener de cierta manera, en una primera aproximación, sustratos activos para SERS.

Capítulo 2

Espectroscopia Raman

La presente tesis está dirigida a presentar la aplicación de superficies de plata (generadas por la reacción de Tollens) en conjunto con la espectroscopia Raman, para la detección de algunos aminoácidos y colorantes en bajas concentraciones.

Por ello consideramos conveniente revisar varios conceptos que son muy importantes en nuestro propósito. En este capítulo se revisará brevemente la historia de la espectroscopia Raman, así como también los conceptos más importantes involucrados en lo que respecta a vibraciones moleculares. También se hablará sobre las aplicaciones de la espectroscopia Raman y su aplicación en detección de biomoléculas.

2.1 Historia de la espectroscopia Raman.

El efecto Raman fue predicho teóricamente por Smekal en 1923 pero fue demostrado experimentalmente por C.V. Raman en 1928. En la dispersión de luz que incide sobre materia pueden ocurrir dos posibilidades: (i) dispersión elástica (Rayleigh); (ii) dispersión inelástica (éste tipo de dispersión es la dispersión Raman, base del efecto del mismo nombre). Sir Raman usó la luz del sol como la fuente y un telescopio como el colector; sus ojos fueron usados como el detector.

Gradualmente, los progresos en diversos componentes de la instrumentación Raman permitieron su uso generalizado. En el comienzo, los investigadores

estuvieron concentrados en el desarrollo de mejores fuentes de excitación. Varias lámparas fueron desarrolladas (ej. Helio, bismuto, plomo, zinc). Aquellos probaron ser insatisfactorios a causa de la baja intensidad de la luz. Las fuentes de mercurio también fueron desarrolladas, en principio para otros propósitos, pero desde 1930 fue utilizado para el fenómeno Raman hasta el advenimiento de los láseres. En 1962 las fuentes láser fueron desarrolladas, las cuales inmediatamente se usaron en la espectroscopia Raman.

Los progresos también ocurrieron en los sistemas de detección para mediciones Raman. Al principio las mediciones originales fueron hechas usando placas fotográficas, luego aparecieron los instrumentos fotoeléctricos, desarrollados después de la Segunda Guerra Mundial. En este modo fotoeléctrico, un fotomultiplicador fue usado como el detector en un equipo Raman. La cámara CCD (Charge Coupled Devices) es otro de los detectores utilizados recientemente en espectroscopia Raman.

Los desarrollos en las ópticas de la instrumentación Raman empezaron en la década de los sesenta. Se descubrió que un monocromador doble remueve la luz de la fuente más eficientemente que un monocromador simple. Después, un monocromador triple fue introducido, lo cual fue más eficiente para remover la luz de la fuente. Las rejillas holográficas aparecieron en 1968, las cuales se sumaron a la eficiencia de la colección del esparcimiento Raman.

Esta breve descripción del desarrollo en la instrumentación Raman nos da una idea del camino que tuvo que recorrer esta técnica en sus inicios. Ahora los espectros Raman se pueden obtener por espectroscopia de transformada de Fourier, conocido como los instrumentos FT-Raman, por espectroscopia Raman No-lineal, por microscopia Raman, por espectroscopia Raman de aumento superficial (SERS), entre otras técnicas Raman, las cuales, se pueden encontrar en libros especializados y publicaciones ^[56-61].

La espectroscopia Raman y sus diversas técnicas están ahora encontrando aplicaciones a través de un amplio rango de áreas de investigación, como en la bioquímica, biología, medicina, estado sólido, química estructural, aplicaciones industriales entre otras ^[62-65].

2.2 Efecto Raman.

Cuando un haz de luz monocromática incide sobre un conjunto de moléculas, la mayoría de los fotones son esparcidos elásticamente. Por lo tanto, los fotones esparcidos tienen la misma energía (frecuencia) y longitud de onda que los fotones incidentes. Sin embargo, una cantidad pequeña de luz (aproximadamente 1 en 10^7 fotones) es esparcida a frecuencias ópticas diferentes, usualmente más bajas que la frecuencia de los fotones incidentes. El proceso que conlleva este esparcimiento inelástico es conocido como el efecto Raman.

La diferencia de energía entre el fotón incidente y el fotón Raman-esparcido es igual a la energía de la vibración de un enlace de la molécula en estudio. Una gráfica de la intensidad de la luz esparcida versus una constante proporcional a la diferencia de energía, es un espectro Raman.

Cuando la luz interacciona con la materia, dependiendo de la energía de la fuente de excitación, se presentan varios procesos de dispersión de la luz. En la Figura 2-1 se muestran estos diferentes mecanismos de dispersión.

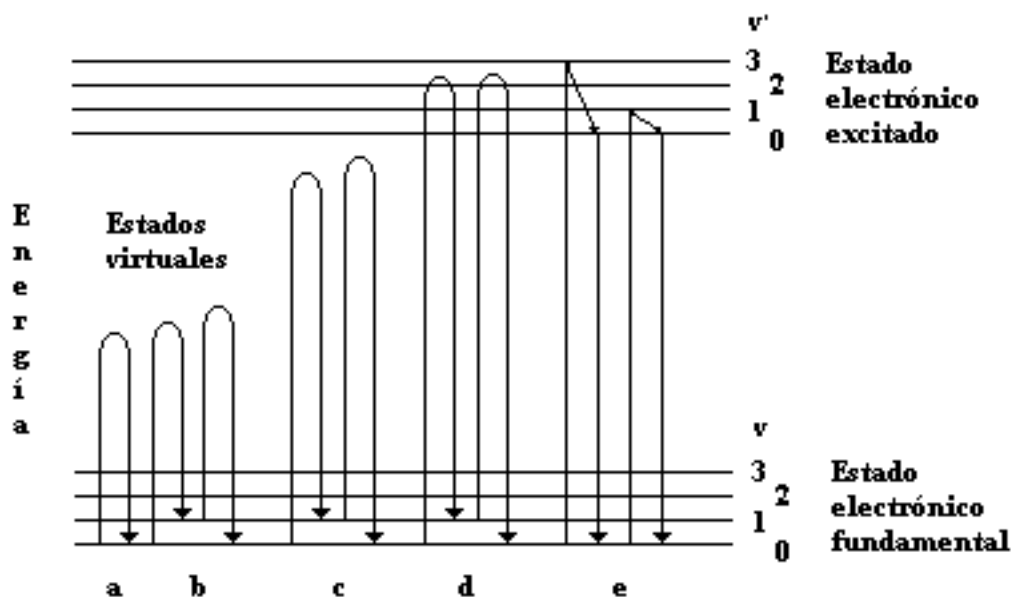


Figura 2-1 Mecanismos de varios procesos de esparcimiento de la luz. (a) Rayleigh, (b) Raman no-resonante, (c) Raman pre-resonante, (d) Raman resonante y (e) fluorescencia resonante.

De acuerdo a la **teoría clásica**, el esparcimiento Raman se produce por los cambios que tienen lugar en la polarizabilidad (α) de una molécula durante la vibración. La polarizabilidad es una medida de la facilidad con la cual pueden distorsionarse las nubes de electrones que están alrededor de los átomos en la molécula. Los átomos más pesados tienen nubes electrónicas más grandes y en consecuencia tienen mayores polarizabilidades individuales. Cuando una molécula que vibra interactúa con el campo eléctrico de un haz incidente de radiación electromagnética (el haz láser), se induce un dipolo oscilante,

$$\mu_{ind} = \alpha E ,$$

Ecuación 2-1

donde E es el campo eléctrico del haz incidente. El valor del campo eléctrico oscilante de frecuencia ν que depende del tiempo, se puede escribir como:

$$E = E_0 \cos 2\pi\nu t . \quad \text{Ecuación 2-2}$$

Por otro lado, la polarizabilidad de una molécula puede describirse por una expansión de Taylor, como:

$$\alpha_{\rho\sigma} = (\alpha_{\rho\sigma}) + \sum_k \left(\frac{\partial \alpha_{\rho\sigma}}{\partial Q_k} \right)_0 Q_k + \frac{1}{2} \sum_{k,l} \left(\frac{\partial^2 \alpha_{\rho\sigma}}{\partial Q_k \partial Q_l} \right)_0 Q_k Q_l \dots$$

si se toma únicamente un modo normal de vibración Q_k , el tensor $\alpha_{\rho\sigma}$ se puede simplificar de la siguiente manera:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dQ} \right)_0 Q + \dots, \quad \text{Ecuación 2-3}$$

donde Q se refiere a la coordenada normal, es decir, éste es el término matemático del conjunto completo de estiramientos de enlaces y flexiones de ángulos que tienen lugar durante una vibración particular y $(d\alpha/dQ)_0$ es el cambio en la polarización durante la vibración descrita por la coordenada normal Q . Los subíndices "0" indican que las cantidades se valoran en la posición de equilibrio de la vibración.

Al sustituir estas dos últimas relaciones en la ecuación 2-1, y considerando una amplitud de vibración pequeña (en términos de la separación internuclear Q), se obtiene:

$$\mu_{ind} = \left[\alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dQ} \right)_0 Q \right] E_0 \cos 2\pi\nu t . \quad \text{Ecuación 2-4}$$

Sin embargo, la coordenada normal también depende del tiempo:

$$Q = A \cos 2\pi\nu_i t , \quad \text{Ecuación 2-5}$$

donde A es una constante y ν_i es la frecuencia de la i -ésima vibración. Por lo tanto, la ecuación 2-4 se convierte en:

$$\mu_{ind} = \left[\alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dQ} \right)_0 A \cos 2\pi\nu_i t \right] E_0 \cos 2\pi\nu t . \quad \text{Ecuación 2-6}$$

Usando la relación trigonométrica:

$$2 \cos x \cos y = \cos(x + y) + \cos(x - y) ,$$

en la ecuación 2-6 y separando los términos, se tiene la ecuación final para el esparcimiento Raman:

$$\mu_{ind} = \alpha_0 E_0 \cos 2\pi\nu t + \frac{AE_0}{2} \left(\frac{d\alpha}{dQ} \right)_0 * [\cos 2\pi(\nu + \nu_i)t + \cos 2\pi(\nu - \nu_i)t] . \quad \text{Ecuación 2-7}$$

El primer término de la ecuación 2-7 representa un dipolo oscilante que radia luz de frecuencia ν (esparcimiento Rayleigh). El segundo término corresponde al esparcimiento Raman de frecuencia $(\nu + \nu_i)$ nombrado como anti-Stokes, y de frecuencia $(\nu - \nu_i)$ (Stokes). Para que los términos de derivadas no sean cero, al menos uno de los componentes de la polarizabilidad, α_{xx} , α_{xy} , etc., debe de cambiar durante la vibración descrita por una coordenada normal " Q " [57-62].

En **mecánica cuántica**, el esparcimiento es descrito como una excitación a un estado virtual, más bajo en energía que una transición electrónica real (ver Figura 2-1), con la desexcitación casi inmediata (el evento de esparcimiento ocurre en 10^{-14} segundos o menos) y un cambio en la energía vibracional, es decir, que los cambios de frecuencia en las bandas Raman son determinados por la diferencia de energía de los niveles vibracionales entre los cuales las transiciones toman lugar. A fin de encontrar qué transiciones ocurren y con qué intensidad, es necesario calcular las probabilidades de transición, las cuales son tratamientos más especializados que salen del tema de este trabajo [56].

Para amplitudes pequeñas de los núcleos de una molécula poliatómica, las cuales pueden ser consideradas como una superposición de osciladores armónicos, se

puede tomar en cuenta los resultados de la aproximación del oscilador armónico en la molécula diatómica. Esto es, el espectro Raman (también el espectro de absorción en el infrarrojo) tiene la regla de selección:

$$\Delta v_i = \pm 1$$

Ecuación 2-8

para cada vibración normal v_i . Donde los osciladores, en esta aproximación, son independientes, ningún salto simultáneo de dos o más vibraciones pueden ocurrir. La descripción del estado virtual del esparcimiento es mostrada en la Figura 2-2.

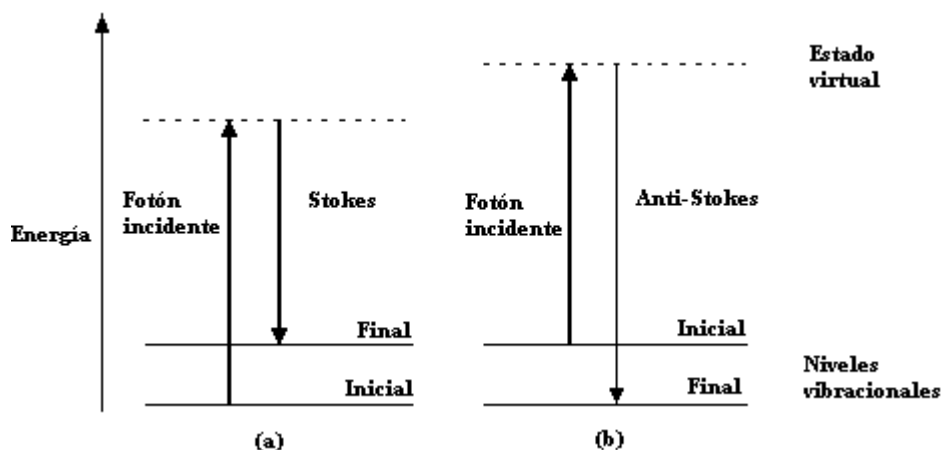


Figura 2-2 Diagrama de niveles de energía para el esparcimiento Raman. (a) esparcimiento Raman Stokes y (b) esparcimiento Raman anti-Stokes.

La diferencia de energía entre los fotones incidente y esparcido es representada por las flechas de diferentes longitudes en la Figura 2-2. Numéricamente, la diferencia de energía entre los niveles vibracionales inicial y final, o corrimiento Raman, en números de onda (cm^{-1}), es calculada a través de la siguiente ecuación:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda_{\text{incidente}}} - \frac{1}{\lambda_{\text{esparcido}}},$$

Ecuación 2-9

en la cual, $\lambda_{\text{incidente}}$ y $\lambda_{\text{esparcido}}$ son las longitudes de onda (en cm) de los fotones incidente y Raman esparcidos, respectivamente. La energía vibracional es

finalmente disipada como calor. Debido a la baja intensidad del esparcimiento Raman, la disipación de calor no causa un aumento de temperatura medible en el material.

A temperatura ambiente, la población térmica de los estados excitados vibracionales es bajo, aunque no cero. Por lo tanto, para la mayoría de las moléculas, el estado inicial es el estado base, y el fotón esparcido tendrá energía más baja (longitud de onda más grande) que el fotón excitador (llamado corrimiento Stokes). Este esparcimiento de Stokes es lo que normalmente se observa en espectroscopia Raman y se esquematiza en la Figura 2-2a.

De acuerdo a la distribución de población de estados de Boltzman, una pequeña fracción de las moléculas está en estados vibracionalmente excitados. El esparcimiento Raman de las moléculas vibracionalmente excitadas llevan a la molécula al estado base. El fotón esparcido aparece con energía más alta, como se muestra en la Figura 2-2b. Debido a la poca cantidad de moléculas excitadas, el espectro Raman de corrimiento anti-Stokes es siempre más débil que el espectro de corrimiento Stokes, ver Figura 2-3. Los espectros de Stokes y anti-Stokes contienen la misma información de frecuencia.

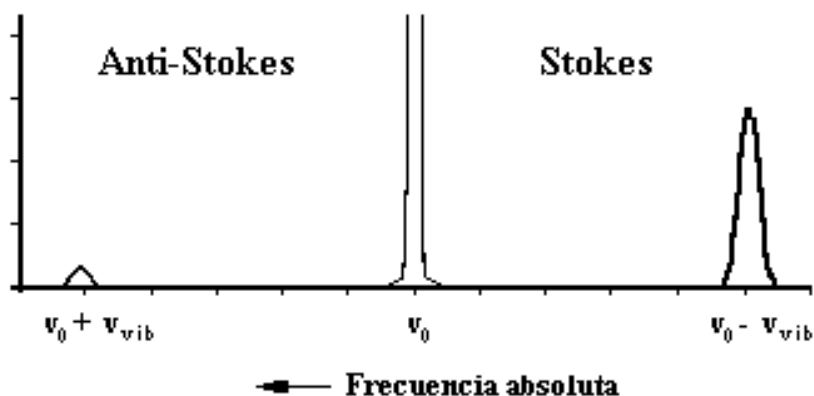


Figura 2-3 Espectro Raman, Stokes y anti-Stokes.

2.3 Polarizabilidad.

Es importante señalar que la **polarizabilidad** en equilibrio (α_0) es realmente un tensor, ya que el dipolo inducido y el campo eléctrico son cantidades vectoriales:

$$\begin{pmatrix} \mu_{ind}(x) \\ \mu_{ind}(y) \\ \mu_{ind}(z) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix} \quad \text{Ecuación 2-10}$$

Hay nueve componentes en el tensor de polarizabilidad, pero para la espectroscopia Raman convencional se utilizan seis de ellos porque $\alpha_{xy} = \alpha_{yx}$, $\alpha_{xz} = \alpha_{zx}$ y $\alpha_{yz} = \alpha_{zy}$. Hay dos propiedades invariantes (constantes a pesar de la orientación de la molécula) en este tensor: (1) el valor medio $\bar{\alpha}$ y (2) la anisotropía γ .

El valor medio puede ser escrito como:

$$\bar{\alpha} = \frac{1}{3}(\alpha_{xx} + \alpha_{yy} + \alpha_{zz}) \quad \text{Ecuación 2-11}$$

y la anisotropía como:

$$\gamma = \frac{1}{2} \left[(\alpha_{xx} - \alpha_{yy})^2 + (\alpha_{yy} - \alpha_{zz})^2 + (\alpha_{zz} - \alpha_{xx})^2 + 6(\alpha_{xy}^2 + \alpha_{xz}^2 + \alpha_{yz}^2) \right]. \quad \text{Ecuación 2-12}$$

La espectroscopia Raman tiene ventajas sobre la espectroscopia infrarroja, porque el rayo láser empleado para excitar la muestra está polarizado en un plano en la dirección vertical. Esto es una característica importante puesto que significa que para líquidos, gases y cristales individuales orientados (pero no para materiales policristalinos o pulverizados), es posible analizar la luz Raman dispersada tanto en forma paralela como perpendicular a esta polarización incidente por medio de un analizador, Figura 2-4.

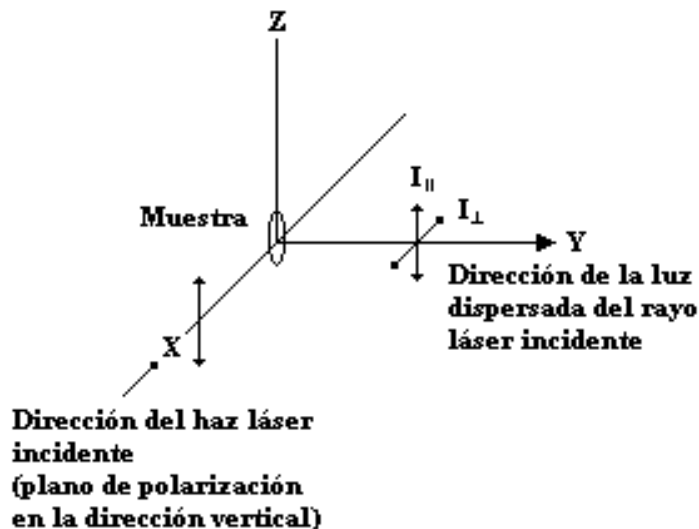


Figura 2-4 Representación esquemática de las mediciones del cociente de despolarización realizadas en un experimento Raman con láser.

Al cociente de las intensidades de la luz dispersada en estas dos orientaciones se le conoce como cociente de despolarización, ρ . Un tratamiento más extenso del cociente de despolarización se puede encontrar en las referencias ^[62-66].

$$\rho = \frac{I(\text{perpendicular})}{I(\text{paralela})} = \frac{3\gamma^2}{45\alpha^2 + 4\gamma^2} \quad \text{Ecuación 2-13}$$

Al ver los límites posibles de la ecuación (2-13), es evidente que si, $\gamma^2 = 0$, entonces $\rho = 0$. Cuando ocurre tal situación, se dice que la banda Raman está completamente polarizada. En la teoría de grupos, solo las vibraciones totalmente simétricas satisfacen esta condición. Para todas las demás vibraciones (despolarizadas), $\alpha^2 = 0$, y así la ecuación (2-13) se reducirá a 3/4. En general, es relativamente fácil identificar las bandas Raman debidas a las vibraciones totalmente simétricas por su comportamiento de polarización, ya que estos exhiben valores entre 0 y 0.75.

2.4 Intensidad de una banda Raman.

La intensidad (I) de una banda Raman depende del cuadrado de la derivada de la polarizabilidad:

$$I_{mn} = \text{constante} \cdot I_0 (\nu_0 - \nu)^4 \sum_{ij} |(\alpha_{ij})_{mn}|^2 \quad \text{Ecuación 2-14}$$

donde I_0 es la intensidad incidente, ν_0 es la frecuencia de la radiación incidente, ν es la frecuencia de la radiación dispersada, y α_{ij} representa las componentes del tensor de polarizabilidad asociado con la transición $m \rightarrow n$. Información adicional se puede encontrar en la literatura [66].

2.5 Vibraciones Moleculares.

La energía de un modo vibracional depende de la estructura molecular y su ambiente. En donde, la masa atómica, el orden del enlace, sustitutos moleculares, geometría molecular y todos los enlaces de hidrógeno afectan la constante de fuerza vibracional, la cual a su vez determina la energía vibracional. Por ejemplo, la frecuencia de stretching (estiramiento) de un enlace fósforo-fósforo son 460, 610 y 775 cm^{-1} para los enlaces simple, doble, y triple, respectivamente.

En moléculas diatómicas, la vibración ocurre únicamente a lo largo del enlace químico que conecta a los núcleos. En moléculas poliatómicas, la situación es complicada porque todos los núcleos desarrollan sus propias oscilaciones armónicas. Por lo general la molécula de N -átomos tiene $3N-6$ grados de libertad, las cuales son necesarias para especificar las posiciones de todos los átomos (las 6 coordenadas describen el movimiento traslacional y rotacional). Las moléculas lineales tienen $3N-5$ grados de libertad, ya que no existe libertad rotacional alrededor del eje molecular.

Estas $3N-6$ vibraciones de una molécula poliatómica no lineal pueden ser descritas clásicamente por un correspondiente número de modos normales. Las cuales pueden ser clasificadas de acuerdo a sus simetrías. El análisis es basado enteramente en la geometría de la molécula en su configuración de equilibrio, la cual es caracterizada por ciertas operaciones simétricas. El ensamble de operaciones simétricas forma un grupo en el sentido matemático. Esta aplicación de la teoría de grupos permite que los modos normales sean clasificados de acuerdo a ciertas especies simétricas (representaciones irreducibles) para cada

grupo. Sobre este tema se pueden encontrar capítulos enteros en la literatura ^[62-64,67].

En el Apéndice 1 se muestra a la molécula de agua como un ejemplo sobre la utilización de la teoría de grupos, con respecto al análisis de sus vibraciones moleculares y en el Apéndice 2, a manera de revisión, se muestran los grupos funcionales más comunes de la química orgánica.

A fin de visualizar las vibraciones normales. En la Figura 5 se presenta un modelo mecánico de algunos ejemplos de las vibraciones más comunes. En el Apéndice 3 se presentan las frecuencias Raman de algunos grupos orgánicos.

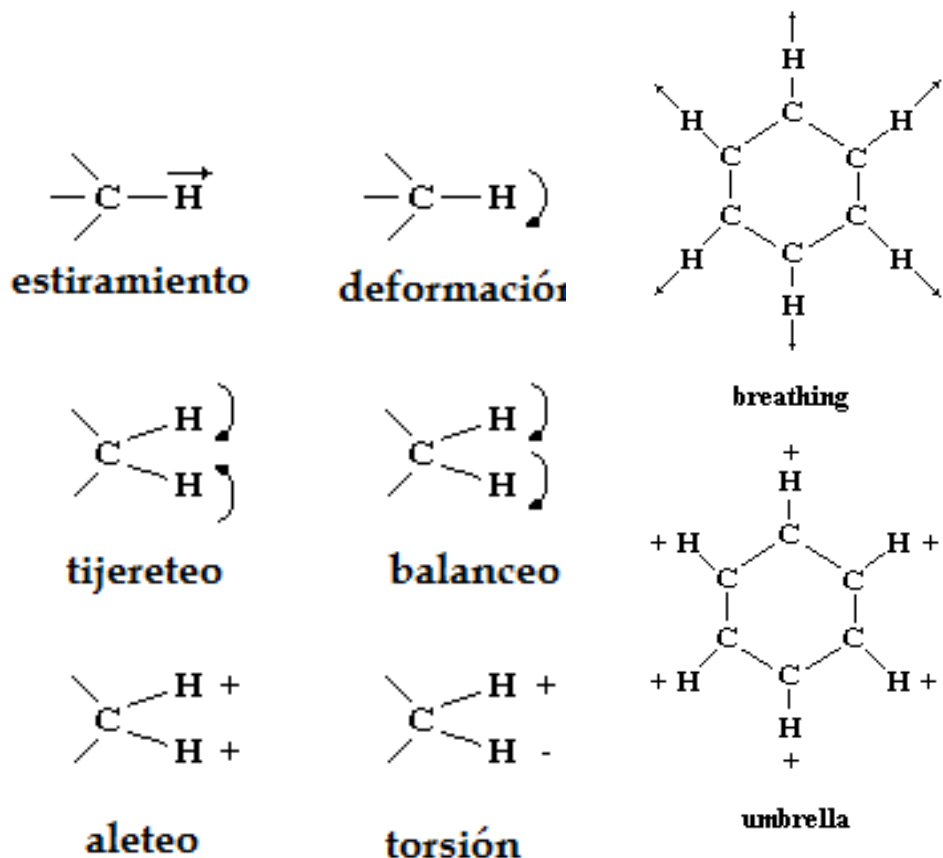


Figura 2-5 Modos vibracionales. (+) y (-) significan fuera del plano del papel.

2.6 Microscopia Raman.

La microscopia Raman fue desarrollada en los 70's. Delhaye en 1975 ^[68] hizo la primera medición con un sistema micro-Raman. Este trabajo estableció la utilidad de la espectroscopia Raman para el análisis de partículas microscópicas. La técnica proporcionó la capacidad de obtener espectro Raman analítico - cualitativo con una resolución espacial de $1\ \mu\text{m}$, usando muestras en el rango de los picogramos.

Las características importantes de la microscopia Raman están directamente relacionadas a dos consideraciones ópticas fundamentales: (1) la focalización del haz láser sobre la muestra y (2) la colección de la luz esparcida.

El sistema óptico de un micro-Raman emplea la configuración de backscattering, ver Figura 6. Las muestras son colocadas sobre la base del microscopio y visualizada usando luz blanca transmitida para una muestra transparente o luz blanca incidente para una muestra opaca, a través del ocular o algún sistema de vídeo con una cámara. El área de interés de la muestra es localizada centralmente en el campo de visión y luego, la muestra es irradiada por un haz láser.

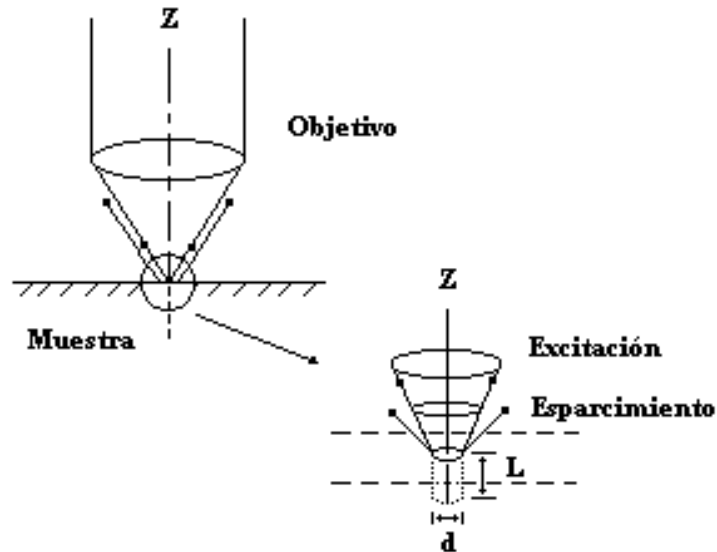


Figura 2-6 Configuración de Backscattering.

La elección de los objetivos depende del tipo de muestra a ser examinado. Si las muestras consisten de partículas en el rango de tamaños de las sub-micras, el objetivo debe tener una alta amplificación y apertura numérica (A.N.) grande (un objetivo de apertura numérica grande colectará la luz esparcida sobre un ángulo sólido mayor, es decir, más señal Raman es detectable). Si los tamaños de las muestras son de 5 micras o más, un objetivo de 50X o 60X de 0.8 de A.N. es adecuado. Un objetivo de 10X con 0.3 de A.N. o 5X con 0.1 de A.N. es usado para la visualización inicial y localización de las áreas de interés ^{[58] [59] [69]}.

2.7 Aplicaciones espectroscopia Raman.

La espectroscopia Raman tiene como una de sus principales ventajas el hecho de que la muestra no requiere prepararse de manera especial. Otra ventaja es que la superficie analizada no se modifica debido a la prueba Raman. Además se puede hacer Raman de compuestos en estado sólido, líquido o gaseoso.

Por ejemplo, la difracción de Rayos X permite estudiar cristales (únicamente); la espectroscopia Infraroja permite analizar la composición química de sólidos, aunque requiere que las muestras sean delgadas, para que sean transparentes al IR.

Las áreas de investigación que a continuación se enumeran son algunas de las principales donde la espectroscopia Raman es utilizada:

1. Catálisis y electroquímica: Recientemente ha ayudado en la identificación de mecanismos de reacción e identificación de especies intermedias.
Ciencias forenses: Al ser una técnica espectroscópica óptica no destructiva permite identificar cantidades ínfimas de compuestos, sin causar daño a la evidencia. También permite la identificación inequívoca de sustancias desconocidas ^[70-72].
3. Nanotecnología: Aunque el límite de resolución espacial de la espectroscopia Raman es de micras, también es posible estudiar materiales con estructuras del orden de nanómetros. Como ejemplo de lo anterior, la frecuencia del modo de respiración radial de nanotubos de carbono está relacionada con el diámetro del tubo, y con base en esta información se puede usar para calcular el diámetro de los nanotubos ^[73,74].
4. Semiconductores: Permite determinar la cristalinidad del material, niveles de impureza así como fuerzas de tipo stress-strain en el material ^[75,76].
5. Arte: Provee a los restauradores de arte con información acerca de los materiales que se utilizaron originalmente, gracias a su cualidad de ser no destructiva ^[77,78].
6. Farmacéuticas y biociencias: En la identificación de compuestos activos ^[79-81]. La espectroscopia Raman ha sido útil para distinguir entre tejidos cancerosos, pre-cancerosos y normales. Asimismo ha permitido la detección de cambios en los niveles de ciertas proteínas y hormonas ^[82,83].

2.7.1 Aplicación de la técnica Raman en la detección de biomoléculas.

La glicina es la molécula más pequeña entre los aminoácidos; tiene la estructura química más simple ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) y es parte de varias proteínas en la vida de las cosas. Su función dentro del organismo es como neurotransmisor inhibitor en el sistema nervioso central que actúa como compuerta del cloro. Debido a la significación clínica de las proteínas y aminoácidos en el cuerpo, es importante desarrollar nuevas y mejores técnicas para su detección y cuantificación. Espectroscopia infrarroja y Raman ofrece técnica potencialmente poderosa y no invasiva para el análisis de biomoléculas ^[60-62].

La espectroscopia Raman ha hecho grandes progresos y en parte debido a su versatilidad de análisis. Por ejemplo, las muestras no requieren ninguna preparación en comparación con otras técnicas. Sin embargo, hay una falta de información de esta técnica en el análisis cuantitativo, especialmente en la cuantificación de los residuos sólidos. Espectroscopia Raman (macroRaman) es una técnica que requiere relativamente grandes cantidades de muestras que tiene un límite de detección del orden de concentraciones superiores a microscopía Raman 10^{-3} M. (microRaman) pueden detectar pequeñas cantidades de muestra, pero todavía es necesaria una alta concentración (10^{-5} M). Esta técnica utiliza una combinación de la técnica de Raman y un microscopio óptico convencional para permitir una caracterización micrométrica del material. El método Drop Coating Deposition Raman (DCDR), basado en la deposición de alícuotas sobre sustratos hidrófobos, permite la obtención de los residuos sólidos en forma de anillos de café. Esta técnica tiene un límite de detección alrededor de 10^{-6} M. Para la detección de sustancias diluido a concentraciones más bajas, métodos como el SERS (dispersión Raman superficie mejorada) han sido desarrollados ^[66,67], que implican complejos sustratos metálicos o síntesis de suspensiones coloidales ^[68,69]. El fenómeno SERS es la mejora de la señal Raman de moléculas en presencia de nanoestructuras metálicas que tiene un límite de detección alrededor de 10^{-10} M ^[84,85].

2.8 Espectroscopia Raman y su papel en el Análisis cuantitativo de moléculas.

La espectroscopia Raman ha demostrado ser una excelente herramienta no-destructiva, no sólo para propósitos cualitativos, sino también para el análisis cuantitativo. La aplicación de la espectroscopia Raman para el análisis cuantitativo tiene un gran número de ventajas. La ventaja más importante de la espectroscopia Raman es la flexibilidad de muestreo. Los espectros Raman de soluciones acuosas se obtienen fácilmente y pueden ser analizados con poca o ninguna preparación de la muestra, en sólidos o residuos. El perfil general del espectro (posición máxima y la intensidad de la banda) proporciona una huella química única que puede utilizarse para identificar un material y distinguirlo de otros. Además, la intensidad de un espectro es directamente proporcional a la concentración. Por lo general, un procedimiento de calibración puede utilizarse para determinar la relación entre la intensidad de la banda y la concentración; luego se puede realizar mediciones rutinarias para analizar la concentración.

Varios estudios cuantitativos de la técnica Raman se han aplicado a diversas mezclas de líquidos, que pueden contener dos o más compuestos en el sistema de estudio. A diferencia de líquidos isotrópicos, mezclas de polvos en sólido presentan más complicaciones debido a la intensidad Raman del sólido depende de la reproducibilidad de algunas condiciones tales como tamaño de partícula y la homogeneidad de las mezclas. Sin embargo, algunos estudios se han realizado en este sentido debido a las posibles aplicaciones en la biología y la industria farmacéutica, así como en el análisis cuantitativo de drogas y otros compuestos

[58,69]

Los factores instrumentales que afectan el análisis cuantitativo de la técnica Raman pueden incluir variaciones en la energía del laser o longitud de onda, variaciones en el camino óptico y colocación irreproducible de la muestra. La solución al problema de la variación instrumental más común es utilizar una muestra estándar, en donde la concentración de la muestra se asume que es proporcional a la relación de la altura de la banda de la muestra a la altura estándar. La variación instrumental afecta la señal medida de la muestra estándar así como de la señal de la muestra problema, este método puede lograr excelentes resultados cuantitativos. En general, dos preguntas vienen a la mente cuando se observa un espectro Raman; en primer lugar, ¿qué es?, y en segundo lugar, ¿cuánto hay?. En un trabajo previo, hemos intentado responder a la segunda pregunta. Creemos que hemos logrado una relación matemática simple que nos ayuda a obtener un valor, como una primera aproximación, para la muestra de estudio (ver artículo anexado al final de las conclusiones).

2.9 Espectroscopia Raman de señal Amplificada por efecto de Superficie (SERS).

2.9.1 Antecedentes.

La espectroscopia Raman aumentada por la superficie (SERS) consiste en la amplificación de intensidades de señales Raman (del orden de entre 10^5 a 10^6 veces con respecto a las intensidades que se esperaba obtener). Para obtener SERS es necesario la interacción entre el analito y una superficie o partícula metálica: el analito se adsorbe en el metal. El efecto SERS fue descubierto en 1974 por Fleischmann [86] et al, quienes detectaron piridina adsorbida sobre un electrodo al que habían aplicado ciclos de óxido-reducción. La explicación que dieron al efecto observado fue: *la amplificación en la intensidad de la señal se debe a un aumento en el área superficial del electrodo, por lo tanto se adsorbe un mayor número de moléculas, y por consiguiente la intensidad es debida a un mayor número de moléculas involucradas en el proceso.*

Posteriormente Jeanmaire ^[1] y Albrecht ^[87] describieron el incremento en intensidad, no debido únicamente al “incremento del área” en el electrodo, dado que les fue posible obtener señales intensas aún en electrodos a los que se dio tratamiento para obtener rugosidad mínima.

Es posible obtener efecto SERS de moléculas adsorbidas en superficies metálicas tales como oro, plata, cobre, aluminio y platino.

Espectroscopias como fluorescencia, IR o Raman nos brindan información sobre los modos vibracionales de la molécula analizada. Para obtener información por espectroscopia IR se requiere un cambio en el momento de dipolo de la molécula μ .

La espectroscopia Raman requiere un cambio en la polarizabilidad de la molécula α . Los procesos de fluorescencia representan una relajación de la molécula, la cual pasa de un estado electrónico excitado a otro de menor energía (ver figura 2-7).

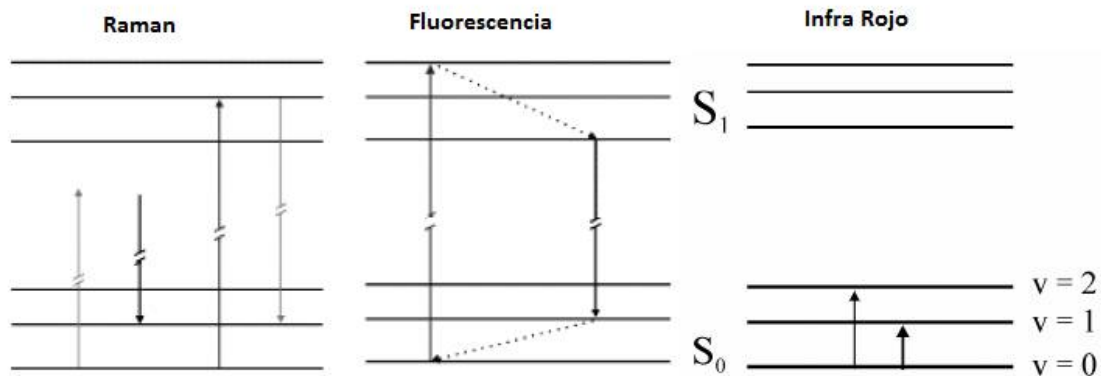


Figura 2-7 Jablonski Raman, fluorescencia e IR.

A pesar de que la espectroscopia Raman fue descubierta en 1930 (C.V. Raman [88]), no fue sino hasta la década de 1960 cuando tuvo mayor aplicación, gracias a la implementación del láser, lo que permitió obtener fuentes monocromáticas.

La espectroscopia Raman es de baja sensibilidad debido a la naturaleza inherente de la dispersión inelástica. Con el desarrollo de la técnica SERS se ha podido estudiar analitos que de otra manera sería muy difícil hacerlo.

2.9.2 Mecanismo molecular del efecto SERS.

A diferencia de la espectroscopia Raman, el efecto SERS ocurrirá únicamente en presencia de nanoestructuras metálicas. Por lo tanto es necesario entender la interacción que ocurre entre nanoestructuras metálicas y la luz, para ello la plasmónica, la cual es una rama de la fotónica que estudia la interacción entre radiación electromagnética y los electrones de conducción en interfaces metal-dieléctrico: la plasmónica explica dicha interacción en base a la existencia de oscilaciones colectivas de los electrones de conducción presentes en un metal, a lo que le da el nombre de plasmones. Dichos plasmones poseen características relacionadas con el metal, sus dimensiones, la longitud de onda de iluminación y las características del medio dieléctrico.

Los trabajos de A. Sommerfeld y R.W. Wood a principios del siglo XX sientan las bases teórica y experimental, respectivamente de lo que actualmente se conoce como plasmónica.

Es posible determinar tamaños de nanopartículas metálicas en base a la caracterización de plasmones. Otra aplicación que se le da a los plasmones es en el diseño de sensores plasmónicos de interés en procesos industriales (por ejemplo en el diseño de celdas solares) o en la detección de moléculas de origen bioquímico.

2.9.3 Superficies activas SERS.

2.9.3.1 Técnicas para generar superficies SERS.

Se presenta una búsqueda en la literatura de las técnicas para generar sustratos SERS:

- Superficies metálicas a las que se aplica ciclos de óxido-reducción ^[86,89,90].
- Islas metálicas depositadas por métodos evaporativos-térmicos sobre vidrio o cuarzo ^[91,92].
- Vapor metálico depositado en sustratos a temperaturas menores a 120°K (Moskovitz, 1983). [93]
- Arreglos de esferas metálicas por Litografía ^[94,95].
- Rejillas metálicas producidas por Litografía ^[96,97].
- Coloides metálicos producidos por reducción de una sal metálica en medio acuoso o no acuoso ^[98,99].
- Depósito de una capa rugosa de CaF₂ (40nm), posteriormente se recubre con plata ^[100,101].
- Película metálica a la que se le da rugosidad por bombardeo iónico en vacío ^[102,103].
- Película metálica a la que se le da rugosidad por mechanical polishing ^[104,105].
- Rugosidad a la película metálica por etching con ácido nítrico ^[106,107].
- Películas de Bromuro de plata a las que se les da rugosidad con radiación UV en vacío ^[108,109].
- SERS en polvos de plata ^[110,111].
- Partículas de platino sobre óxido ^[112,113].
- Partículas coloidales de plata que se adhieren a un filtro ^[114,115].

2.9.4 Resonancia de plasmón superficial.

La luz que viaja (y queda atrapada) sobre superficies metálicas con ciertas características, permite usar dichas superficies como sensores moleculares basados en plasmones superficiales, los cuales son modos electromagnéticos que se desplazan entre la interfase de un dieléctrico y un metal. Si sobre la superficie del metal se adhiere una molécula (en principio desconocida), las propiedades del plasmón superficial generado quedan determinadas unívocamente por el tipo de molécula adsorbida en el metal. Es el trabajo de muchos grupos de investigación a nivel mundial el generar superficies metálicas con buena respuesta plasmónica y que además permitan la identificación de moléculas.

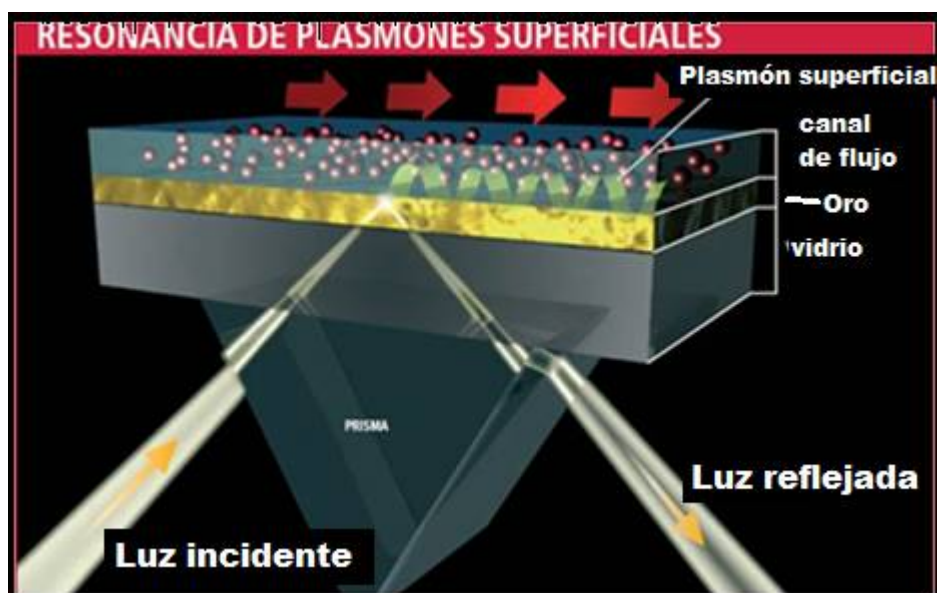


Figura 2-8 Resonancia de plasmones superficiales ^[116].

2.9.5 Puntos calientes en el sustrato SERS como fuente donde se origina la amplificación de señal Raman.

El efecto SERS es descrito por dos contribuciones: una electromagnética y otra química (transferencia de carga). De estas dos contribuciones al efecto SERS la electromagnética implica la amplificación de la luz incidente gracias a la resonancia de plasmones superficiales: es este efecto el que permite mayor

“sensibilidad” en la detección de vibraciones moleculares sobre la superficie de sustratos metálicos.

Los sustratos metálicos que tienen una gran respuesta SERS permiten la identificación de moléculas, pero también la detección de una sola molécula. Dichos sustratos también pueden ser antenas recolectoras de luz. En 1997 se descubrieron los llamados hotspots (puntos calientes) por Nie y Kneipp.

Se definen los hotspots como la coyuntura de dos o más superficies plasmónicas con radio de curvatura del orden de nanómetros (la partícula metálica y una molécula), donde se concentra la luz incidente y se amplifica el campo cercano a los alrededores de la molécula y la partícula metálica.

Capítulo 3

Equipos y métodos

En este capítulo se mencionan los equipos que fueron usados en el desarrollo de la presente tesis de maestría. Estos equipos se encuentran en el Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE), la cual se encuentra ubicada en el Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico de esta Casa de Estudios (UNAM). También, se presenta la metodología para la generación de superficies metálicas, desde la limpieza de los sustratos hasta la producción del recubrimiento metálico.

3.1 Equipos.

3.1.1 Sistema Raman Almega XR.

El análisis Raman se hizo con un equipo Raman Dispersivo Nicolet Almega XR (Figura 3-1). Este sistema está equipado con un láser de Vanadato de Ytrio dopado con Neodimio (Nd:YVO₄), el cual presenta una longitud de onda de 532nm, y una potencia de 10mW. Este equipo se encuentra en el laboratorio LUCE del CCADET-UNAM.



Figura 3-1 Espectrofotómetro Raman Dispersivo NicoletAlmega XR.

3.1.2 Sistema Raman Witec.

Las imágenes por microscopio de fuerza atómica (AFM) se tomaron con un equipo Raman Witec, el cual se encuentra en el laboratorio LUCE del CCADET UNAM.

- 2 longitudes de onda de láser: 532 y 785 nm.
- Detectores CCD
- Raman de infra-rojo cercano
- Microscopia Confocal
- Scanning Near-Field Optical Microscope (SNOM)
- Microscopio de Fuerza Atómica (AFM)

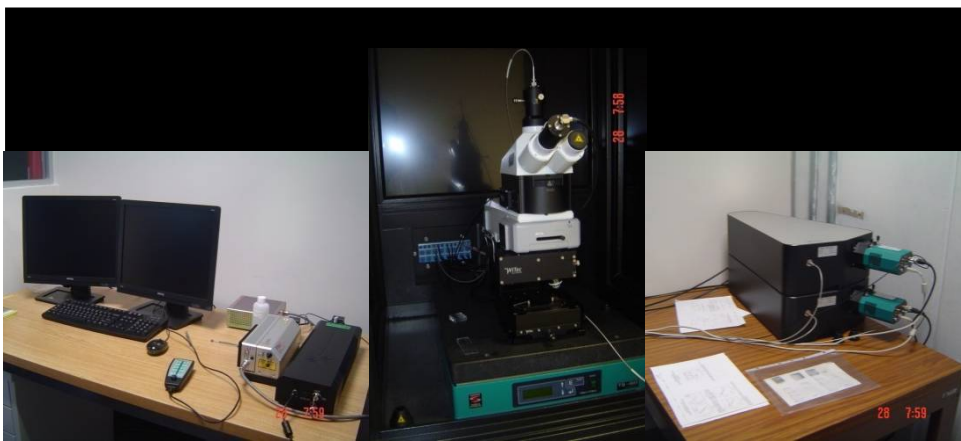


Figura 3-2 Equipo Raman-AFM.

3.1.3 Microscopio de campo oscuro.

Las imágenes de microscopio se tomaron en un microscopio AxioScope AX10 Carl Zeiss del Laboratorio LUCE del CCADET.



Figura 3-3 Microscopio AxioScope Carl Zeiss.

3.2 Superficies metálicas nanoestructuradas.

En esta sección presentamos la metodología usada en el trabajo de tesis, desde la limpieza de los sustratos hasta la obtención de las superficies metálicas.

3.2.1 Limpieza de sustratos.

Material

- Portaobjetos 7.5cm x 2.5cm
- HNO₃ Sigma Aldrich (70 %) (CAS 7697-37-2) (Número de producto 225711)
- Hidróxido de Sodio (Sigma Aldrich 99.998 %) P.M.40 g/mol
- H₂O desionizada (Hycel CAS 7732-18-5)

Procedimiento

Se recubren portaobjetos con plata metálica por medio de la reacción de Tollens. Previo a sumergir los portaobjetos en la reacción de Tollens, es preciso que cada portaobjetos encuentre lo más limpio posible.

A fin de lograr lo anterior se hace el siguiente procedimiento (ver Figura 3-4)

1. Lavar el portaobjetos con agua y jabón.
2. Colocar el portaobjetos en ácido nítrico durante 1 hora.
3. Enjuagar 1 hora en agua desionizada
4. Se deja 20 horas en una disolución de NaOH (0.2M). Con este paso la superficie del portaobjetos se corroe, lo que es de ayuda dado que se busca tener superficies rugosas.
5. Enjuagar durante media hora en agua desionizada.
6. Se coloca el portaobjetos por media hora en ácido nítrico.
7. Se enjuaga media hora en agua desionizada
8. El sustrato está listo para la reacción de Tollens (recubrimiento con plata).

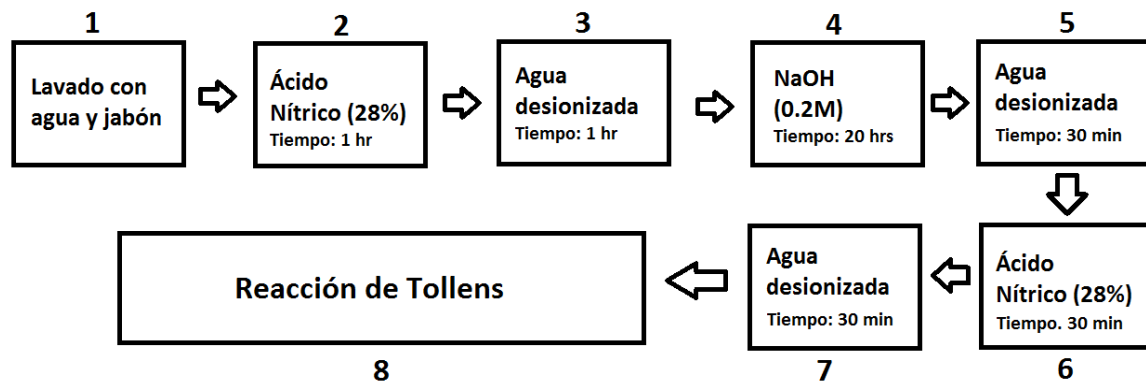


Figura 3-4 Esquema de limpieza de vidrios.

3.2.2 Fabricación de sustratos por reacción de Tollens

Material

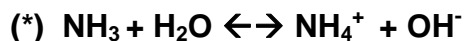
1. AgNO₃ Sigma Aldrich 99.0% (CAS 7761-18-8 P.M. 169.87 g/mol)
2. NH₄OH al 28% Sigma Aldrich (CAS 1336-21-6) (Número de Producto 338818)
3. Hidróxido de Sodio (Sigma Aldrich 99.998 %) P.M.40 g/mol
4. Glucosa Sigma Aldrich P.M. 180.16 g/mol (CAS 50-99-7)
5. Agua desionizada

Procedimiento

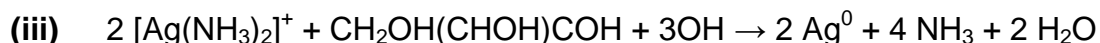
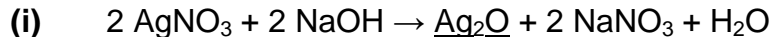
Se recubren los sustratos de Tollens tomando parte de la técnica usada por Wang et. al ^[117].

Todas las concentraciones se preparan en 70 mililitros de Agua desionizada de acuerdo al siguiente procedimiento esquematizado en la figura 3-5:

1. Se disuelve el Nitrato de Plata en 50 ml de agua desionizada, de acuerdo a la concentración de precursores deseada (ver Tabla 3-1).
2. Se disuelve el Hidróxido de Sodio en 20 ml de agua desionizada (ver Tabla 3-1).
3. Se mezclan las dos disoluciones arriba descritas. La disolución resultante se hace turbia dado que se ha formado óxido de plata (Ag₂O) Y nitrato de sodio (NaNO₃). Ver figura 3-5 (c),(d).
4. Se agregan gotas de Hidróxido de Amonio* concentrado (NH₄OH) a la disolución, hasta que la disolución se hace transparente (ver figura 3-5 (f), (g)). Esta disolución se conoce como nitrato de plata amoniacal (2Ag(NH₃)₂⁺)
5. Se agrega Glucosa. La disolución se torna amarilla, verdosa y se va hacia tonos oscuros: esto es la disolución de Tollens.
6. Se agrega la disolución de Tollens en un contenedor (donde se colocan 7 portaobjetos limpios) durante el tiempo correspondiente a la concentración (ver Tabla 3-1); después de dicho tiempo los portaobjetos quedan recubiertos de plata metálica en la superficie.



Químicamente la reacción de Tollens sucede como a continuación se enumera:



En el primer paso se mezcla nitrato de plata e hidróxido de sodio, con lo que se forma óxido de plata más nitrato de sodio y agua. En el paso (ii) se agrega hidróxido de amonio, lo que permite la formación del complejo de nitrato de plata amoniacal. En el paso (iii) se agrega glucosa a la disolución para reducir el complejo de plata, y obtener plata cero depositada sobre los vidrios.

Tabla 3-1 Concentración de precursores para la reacción de Tollens.

Concentración	H ₂ O mL	AgNO ₃ g	NaOH g	NH ₄ OH mL	C ₆ H ₁₂ O ₆ g	C mM	Tiempo min
125mM	70	1.490	0.35	3.5	1.60	T100/3	4
100mM	70	1.190	0.28	3.0	1.27	T100/4	5
75mM	70	0.892	0.21	2.3	0.96	T100/6	6
50mM	70	0.595	0.14	2.0	0.64	T100/7	8
25mM	70	0.298	0.07	1.0	0.32	T100/8	10

Tiempo min	H ₂ O mL	AgNO ₃ g	NaOH g	NH ₄ OH mL	C ₆ H ₁₂ O ₆ g	Concentración
4	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100 mM
5	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100 mM
6	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100 mM
7	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100 mM
8	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100 mM

3.3 Técnica de análisis usando un sustrato de Aluminio.

En este trabajo también se utilizó un sustrato, el cual está conformado de un papel aluminio alisado sobre un portaobjeto de vidrio, Figura 3-6. Este aluminio es fácil de adquirir, el cual después de ser utilizado puede ser desechado, evitando cualquier contaminación con la siguiente muestra. Este sustrato presenta varias ventajas con respecto a otros sustratos, por ejemplo el vidrio o silicio: la tensión superficial de la gota agregada sobre aluminio es menor a la que tiene una gota

del mismo volumen sobre vidrio o silicio. Lo anterior ayuda para que los restos dejados sobre el sustrato, una vez que se seco la gota, queden en un área de menor tamaño a los que se obtendría en los otros sustratos. Otra ventaja es que ópticamente es más fácil observar los restos sobre el sustrato de aluminio a diferencia de lo que sucede en el sustrato de vidrio. Por ejemplo es difícil visualizar los residuos dejados por muestras de estudio que están a muy bajas concentraciones, como puede ser 10 partes por millón (ppm).

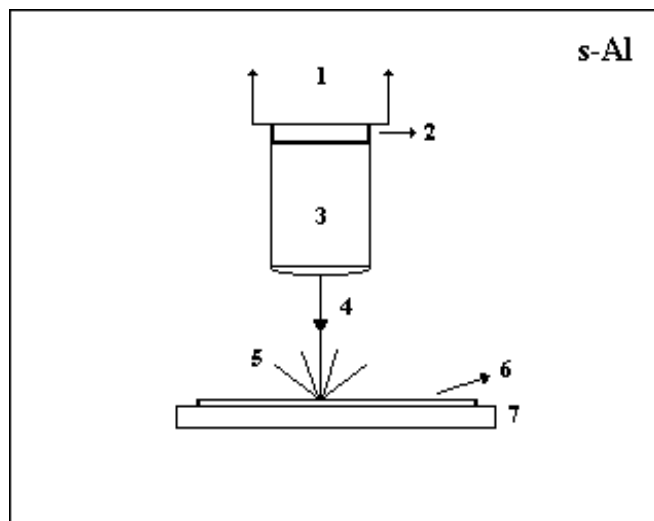


Figura 3-5 Utilización del sustrato de aluminio. (1) sistema Raman, (2) sujetador del objetivo del microscopio, (3) objetivo (100X), (4) haz láser 532nm, (5) esparcimiento Raman, (6) sustrato de aluminio y muestra y (7) portaobjeto.

3.4 Moléculas en estudio

A continuación se enlistan las moléculas de estudio con las que se trabajó en la presente tesis:

Colorantes

- **Rodamina 6G (Rodamina 590):**
Fabricante: Exciton Rodamina 590
Peso Molecular: 479.02 g/mol
Tipo: Cloride
Formula química: $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$

- **Rodamina B (Rodamina 610):** Exciton Rodamina Chloride. Peso Molecular 479.02.

Fabricante: Exciton Rodamina 610

Peso Molecular: 479.02 g/mol

Tipo Chloride

Formula química: $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$

Aminoácidos

- **Glicina**

Fabricante: Biochemika Fluka Sigma Aldrich

Peso Molecular: 75.07 g/mol

Formula química: $C_2H_5NO_2$

Es un aminoácido no esencial, y fue separado de la gelatina en 1820. Este aminoácido puede ser sintetizado a partir de serina y threonina.

Sirve para sintetizar ácidos nucleicos, ADN y también ARN. También es auxiliar en la absorción del calcio en nuestro cuerpo.

Es utilizado por el sistema nervioso central donde actúa como neurotransmisor inhibitorio de ataques epilépticos; también es utilizado en el tratamiento de hiperactividad.

- **L-Ácido aspártico**

Fabricante Biochemika Fluka Sigma Aldrich

Peso Molecular: 133.11 g/mol

Formula química: $C_4H_7NO_4$

Tiene una función importante en la síntesis de otros aminoácidos en el ciclo del ácido cítrico. A partir del ácido aspártico se puede sintetizar asparagina, arginina, lisina, metionina, threonina e isoleucina.

Su presencia en el hígado ayuda a remover el exceso de amonio y otras toxinas presentes en la sangre.

- **L-Lisina monohydrochloride**

Fabricante: Biochemika Fluka Sigma Aldrich

Peso Molecular: 182.65 g/mol

Fórmula química: $H_2N(CH_2)_4CH(NH_2)CO_2H \cdot HCl$

Es un aminoácido esencial y está presente en todas las proteínas. La primera vez que se lo pudo separar fue en 1889.

Es auxiliar en la absorción de calcio y desarrollo de huesos en los niños. También es necesario para la generación de anticuerpos, hormonas, enzimas y la reparación de tejido vivo.

➤ **L-Serina**

Fabricante: Biochemika Fluka Sigma Aldrich

Peso Molecular: 105.09 g/mol

Fórmula química:

Es un aminoácido no esencial y puede ser sintetizado a partir de glicina. Fue separado en 1865.

Forma parte del recubrimiento de nervios y proteínas presentes en el cerebro. También está presente en el metabolismo de purinas y pirimidinas. [118]

3.5 Análisis cuantitativo

En un trabajo previo del grupo de trabajo, en el cual estoy desarrollando la presente tesis, presentan una metodología para determinar cantidades del material en estudio ^[119]. Como se menciona en ese trabajo, la expresión matemática obtenida es una propuesta para cuantificar residuos sólidos sobre un sustrato de aluminio. Para una mayor información revisar el mismo artículo anexado después de las conclusiones de la tesis.

Aquí solo anotaremos algunas expresiones matemáticas que nos ayuden a vislumbrar o que nos den una idea de las concentraciones que hemos trabajado en el desarrollo y prueba de los sustratos obtenidos aquí.

En ese trabajo se estudio la siguiente relación: $C_i V_i \rightarrow A_H \rightarrow A_s$, donde se consideró que V_i y C_i son el volumen y la concentración inicial (muestra de referencia); A_H es el área en una distribución homogénea y A_s es el área del spot láser usado en el experimento Raman. Para un objetivo de microscopio (configuración micro-Raman), se usó la expresión: $d = 1.22 \lambda / NA$ como el diámetro de un círculo. Donde λ es la longitud de onda del láser y NA es la apertura numérica del objetivo, ver Figura 3-7. Considerando un haz Gaussiano,

se puede determinar, aproximadamente, el área del spot láser donde se registre la mayor probabilidad de interacción entre la luz y las moléculas.

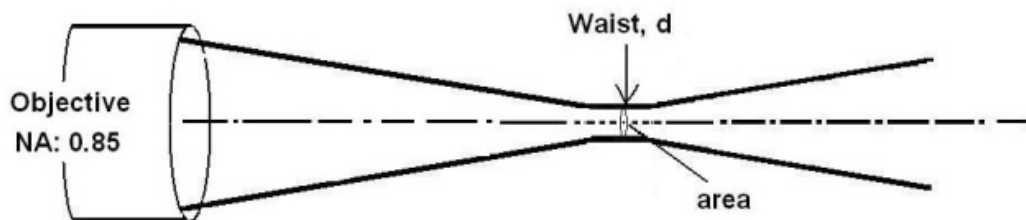


Figura 3-6 Perfil Gaussiana del haz láser, “*d*” es la cintura del haz.

Sin embargo, se observa que el número de moles “*n*” no permanece constante ($n_{initial} > n_{Homogeneo} > n_{spot}$), el cual cambia conforme el volumen de estudio decrezca. Basado en estas consideraciones, se puede obtener una expresión matemática para el número de moles existente dentro del spot láser (área o volumen):

$$n_s = \frac{A_s}{A_H} * C * V \quad \text{Ecuación 3-1}$$

donde A_s/A_H es la proporción entre el área del spot láser y el área en una distribución homogénea de los residuos en estudio. *C* es la concentración de la muestra en molaridad y *V* es el volumen de estudio en litros. Si es conocido el número de moles en un sistema entonces la masa de la muestra puede ser determinada con la siguiente relación:

$$g = n_s * W \quad \text{Ecuación 3-2}$$

Con estas expresiones determinamos nuestros rangos probables de trabajo en la presente tesis, como podemos ver en las tablas 3-2 y 3-3. La tabla 3-2 nos muestra las concentraciones en molaridad con respecto a la concentración de partes por millón y el peso molecular de las moléculas. Consecutivamente, la tabla 3-3 nos muestra idealmente y más probable la cantidad en gramos de lo trabajado. Se adjunta una propuesta de si la distribución es heterogénea. Sin embargo, lo observado experimentalmente, demuestra que la técnica de coffee rings (anillos de café) presenta una área externa (borde) de alta concentración y una interna de muy baja concentración. Lo cual es conveniente para nuestros propósitos, ya que

estaríamos monitoreando en el área central de baja concentración y esperando que la señal proveniente de dicha región sea amplificada de acuerdo a nuestro diseño experimental.

Tabla 3-2 Concentración inicial de la muestra en molaridad (M).

	Peso molecular (g/mol)						
ppm	10	50	100	200	400	800	1000
1000	1E-01	2E-02	1E-02	5E-03	3E-03	1E-03	1E-03
200	2E-02	4E-03	2E-03	1E-03	6E-04	2E-04	2E-04
100	1E-02	2E-03	1E-03	5E-04	3E-04	1E-04	1E-04
10	1E-03	2E-04	1E-04	5E-05	3E-05	1E-05	1E-05
1	1E-04	2E-05	1E-05	5E-06	3E-06	1E-06	1E-06
0.1	1E-05	2E-06	1E-06	5E-07	3E-07	1E-07	1E-07
0.01	1E-06	2E-07	1E-07	5E-08	3E-08	1E-08	1E-08
0.001	1E-07	2E-08	1E-08	5E-09	3E-09	1E-09	1E-09

Tabla 3-3 Cantidad de residuo en gramos (g).

	V_i	d_{muestra}	A_H	d_{spot}	A_s	$A=A_s/A_H$	F
	1 μL	1 mm	7.9×10^{-7}	0.8 μm	5.2×10^{-13}	6.58×10^{-7}	10
ppm	Distribución homogénea 10 – 1000 g/mol			Distribución heterogénea 10 – 1000 g/mol			
1000	6.58E-13			g	6.58E-12		
200	1.32E-13			g	1.32 E-12		
100	6.58E-14			g	6.58E-13		
10	6.58E-15			g	6.58E-14		
1	6.58E-16			g	6.58E-15		
0.1	6.58E-17			g	6.58E-16		
0.01	6.58E-18			g	6.58E-17		
0.001	6.58E-19			g	6.58E-18		

A continuación hacemos como ejemplo el cálculo (en aproximación) para los residuos de glicina a 200 partes por millón (PPM), para lo cual utilizamos la tabla 3-3.

Partimos del hecho que utilizamos un volumen de 1 micro litro (V_i). Una vez que se evapora dicho volumen, sobre nuestro sustrato queda la forma de un círculo, cuyo diámetro es 1 mili-metro (d_{muestra}). Calculamos el área homogénea como

$$A_H = \pi \left(\frac{d_{\text{muestra}}}{2} \right)^2 = \pi \left(\frac{0.001 \text{ m}}{2} \right)^2 = 7.9 \times 10^{-7} \text{ m}^2.$$

El diametro del spot del láser (para el objetivo de 100X) es 0.8 micras (d_{spot}).

$$A_s = \pi \left(\frac{d_{\text{spot}}}{2} \right)^2 = \pi \left(\frac{0.0000008 \text{ m}}{2} \right)^2 = 5.2 \times 10^{-13} \text{ m}^2.$$

Hacemos el cálculo para convertir la concentración de 200 partes por millón de glicina a Molaridad, lo cual da 2.7×10^{-3} Molar. También podemos utilizar la tabla 3-2 para obtener una aproximación del rango de Molaridad, sabiendo que el peso molecular de la glicina es de 75.07 g/mol. Entonces de la tabla mencionada podemos ver que la Molaridad de la solución está entre 2×10^{-3} (para 100 g/mol) y 4×10^{-3} (para 50 g/mol). Por tanto el rango calculado de 2.7×10^{-3} Molar sí está entre el rango que obtenemos con la tabla 3-3.

El siguiente paso es calcular g de la ecuación 3-2.

$$g \text{ (residuo de glicina en gramos)} = n_s * W$$

dónde W es el peso molecular de la glicina (75.07 g/mol) y n_s se calcula así:

$$n_s = \frac{A_s}{A_H} * C * V = \frac{(5.2 \text{ E}-13) \text{ m}^2}{(7.9 \text{ E}-7) \text{ m}^2} * (2.7 \text{ E} - 3 \text{ Molar}) * (1 \text{ E} - 6 \text{ litros}) = (1.77 \text{ E} - 15) \text{ mol}$$

luego

$$g \text{ (residuo de glicina en gramos)} = n_s * W = ((1.77 \text{ E} - 15) \text{ mol}) * \left(\frac{75.07 \text{ g}}{\text{mol}} \right) = (1.33 \text{ E} - 13) \text{ gramos}$$

Este resultado (1.33×10^{-13} gramos de residuo de glicina) corresponde a una distribución homogénea, y se presenta en la tabla 3-3. Para una distribución heterogénea se multiplica por un factor $F = 10$, donde la suposición que se hace es: los residuos se concentran en un 10% del área homogénea. En tal caso estamos midiendo residuos de 1.33×10^{-12} gramos.

Capítulo 4

Resultados y análisis

En este capítulo se reúne todo el trabajo de tesis que se ha realizado en el Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE). Se menciona la metodología realizada a través de todo el trabajo, desde la generación de los sustratos de plata y su aplicación en la amplificación de señales Raman. Para evaluar dichos sustratos se usaron muestras de referencia, como los colorantes Rodamina 6G y B. Estos colorantes, particularmente dan fluorescencia con la longitud de onda usada en la excitación de las muestras y se observó que se puede reducir la fluorescencia de dichas moléculas con el sustrato de plata, con características nanométricas, generadas en el presente trabajo. Por último, se usaron los sustratos-SERS en ciertas bio-moléculas de interés, como los aminoácidos.

4.1 Sustratos metálicos.

En el presente trabajo y en una fase inicial se exploraron y se obtuvieron sustratos mediante las técnicas de sputtering, ORC, CVD y litografía; sin embargo los resultados no fueron los esperados así como el acceso y manipulación de dichas técnicas para obtener diferentes sustratos, con la idea y propósito de controlar su crecimiento superficial. Ante la limitación antes señalada, se optó por explorar una técnica química para generar en forma controlada las superficies nanoestructuradas. Esta técnica es conocida en la literatura como *fabricación de espejos de plata por Reacción de Tollens*; el cual fue manipulado a nuestra conveniencia para obtener sustratos que en una primera expectativa parecen ser

prometedoras. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos con estos sustratos, los cuales son fáciles de elaborar.

En la figura 4-1 y 4-3 se presentan las imágenes AFM de los sustratos que se han generado en el presente trabajo. Estos sustratos fueron obtenidos mediante la técnica de Tollens como se mencionó en la parte experimental, sin embargo fueron adaptados a nuestra conveniencia. Diferentes concentraciones del precursor AgNO_3 generan diferentes superficies nanoestructuradas, así como el control de los diferentes tiempos de síntesis. En la tabla 4-1 se presentan las cantidades pesadas (en gramos) de nitrato de plata, hidróxido de sodio y glucosa para la reacción de Tollens variando la concentración de los precursores. Por ejemplo, T125 es la reacción a una concentración de 125 mM tomando como base el hecho de que la disolución del precursor indicado se lleva a cabo en 70 ml de agua. Entonces en este caso se usó 1.490 gramos de nitrato de plata (lo que nos da una concentración de 125 mM en 70 ml de agua); 0.350 gramos de hidróxido de sodio (lo que nos da también una concentración de 125 mM en 70 ml de agua), y por último 1.60 gramos de glucosa (una concentración de 125 mM en 70 ml de agua). La cantidad de amoníaco agregada a la disolución es la necesaria para hacer transparente la reacción de Tollens. El amoníaco se agrega en gotas tomadas directo de su envase y cada gota tiene un volumen aproximado de 43 microlitros. El tiempo de reacción es el tiempo mínimo en que los sustratos se recubren uniformemente de plata, y entonces son retirados de la disolución de Tollens. Se enjuagan los sustratos con agua desionizada para eliminar cualquier subproducto de la reacción.

Tabla 4-1 Concentración de precursores Tollens a diferentes tiempos.

nombre	H₂O mL	AgNO₃ g	NaOH g	NH₄OH mL	C₆H₁₂O₆ g	Concentración mM	Tiempo min
T125	70	1.490	0.35	3.5	1.60	125	4
T100	70	1.190	0.28	3.0	1.27	100	5
T75	70	0.892	0.21	2.3	0.96	75	6
T50	70	0.595	0.14	2.0	0.64	50	8
T25	70	0.298	0.07	1.0	0.32	25	10

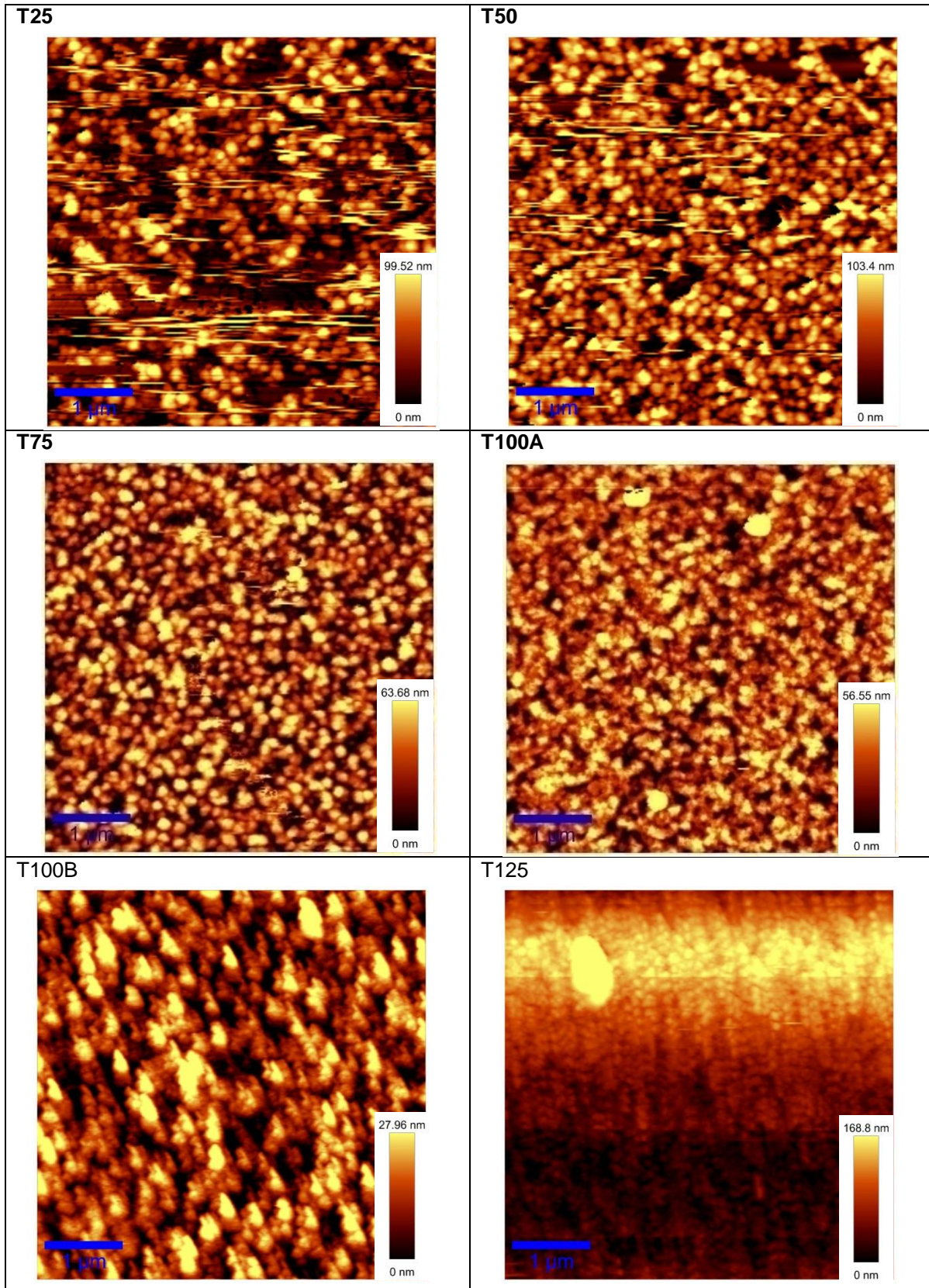
Posteriormente se dejó fija la concentración del precursor en 100 mM, y se varió el tiempo de reacción; en la tabla 4-2 se presentan los tiempos de reacción.

Tabla 4-2 Concentración de precursores Tollens a 100 mM con diferentes tiempos de reacción.

nombre	H₂O mL	AgNO₃ g	NaOH g	NH₄OH mL	C₆H₁₂O₆ g	Concentración mM	Tiempo min
T100/3	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100	4
T100/4	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100	5
T100/6	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100	6
T100/7	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100	7
T100/8	70	1.19	0.28	3.5	1.27	100	8

A continuación se presentan los resultados obtenidos en AFM y Raman para los sustratos generados. Se presentarán las imágenes de AFM y los espectros Raman, asociando los nombres con que se identifica cada reacción en las tablas 4-1 y 4-2.

Figura 4-1 Imágenes AFM de los sustratos metálicos. Diferentes concentraciones



Vemos en la figura 4-1 que a medida que se aumenta la concentración de los precursores las superficies generadas son más continuas. Lo que pasa es: para bajas concentraciones de los precursores (25mM, 50mM) la plata se deposita en forma de cúmulos dispersos a lo largo de la superficie. También se midió la rugosidad a partir de las imágenes de AFM: En la tabla 4-3 se presentan los valores de rugosidad promedio y el valor cuadrático promedio de la rugosidad (Root Mean Square) correspondientes a las imágenes AFM de la figura 4-1. En la figura 4-2 se presenta gráficamente los datos de la tabla 4-3.

Tabla 4-3 Valores de rugosidad para los sustratos generados por variación de concentración de precursores.

Nombre	Rugosidad promedio [nm]	Valor cuadrático promedio de la rugosidad (RMS) [nm]
T125	44.99	52.27
T100	53.56	62.26
T75	50.81	60.01
T50	127.68	144.22
T25	75.36	87.70

De la tabla 4-3 vemos que los sustratos generados por concentración del precursor a partir de 75 mM y hasta 125 mM tienen una rugosidad promedio entre 53.56 nm y 44.99 nm. Los valores de rugosidad para los sustratos T25 y T50 son mayores a los obtenidos para los sustratos de mayor concentración; esto puede ser así porque la plata se deposita en forma de cúmulos.

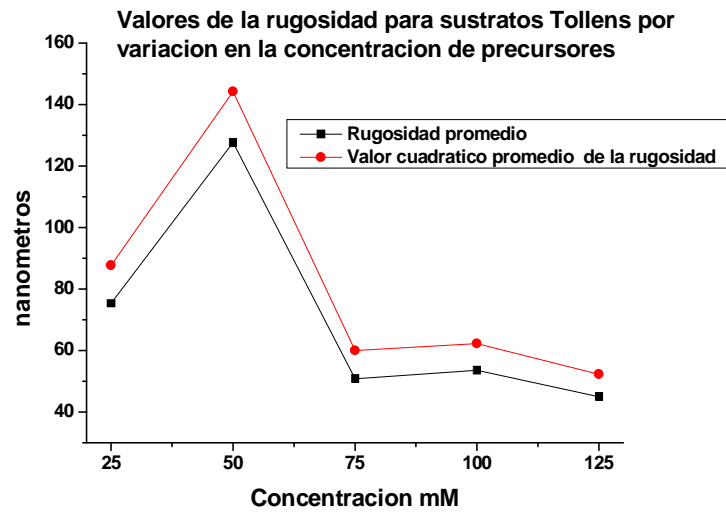


Figura 4-2 Gráfica correspondiente a los parámetros de la tabla 4-3 para valores de rugosidad.

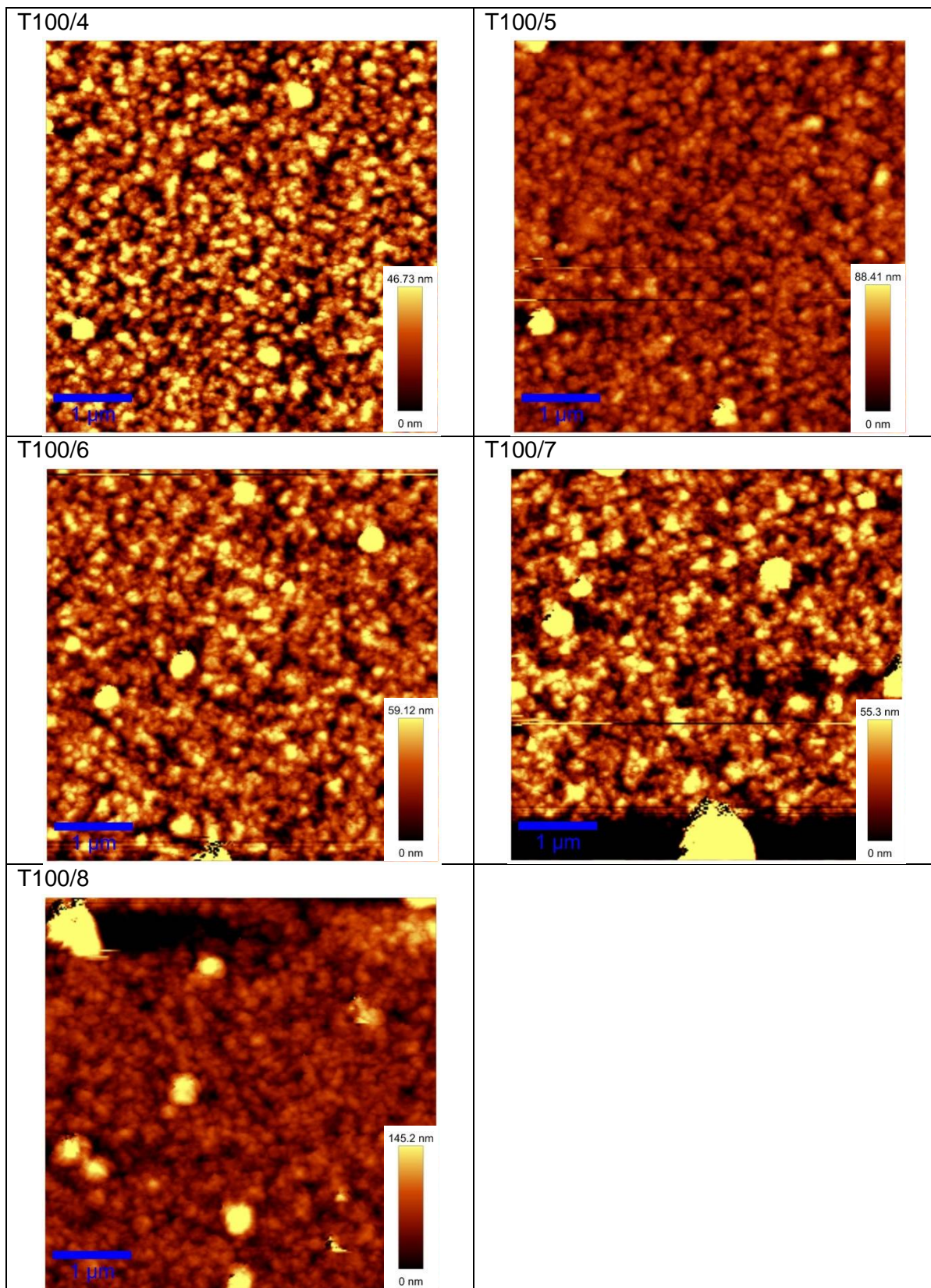


Figura 4-3 Imágenes AFM de los sustratos metálicos. Diferentes tiempos de síntesis.

En la tabla 4-4 se presentan los valores de rugosidad promedio, y el valor cuadrático promedio de la rugosidad (Root Mean Square) correspondientes a los sustratos generados a diferentes tiempos de reacción, dejando fija la concentración de los precursores en 100mM. Las imágenes AFM de dichas reacciones se presentan en la figura 4-3. En este caso vemos que las rugosidades son mayores a 100 nm para los tiempos de reacción 4,5 y 7 minutos, lo que es una característica que es muy conveniente para nuestro propósito de generar superficies rugosas.

Tabla 4-4. Valores de rugosidad para los sustratos generados por variación en los tiempos de reacción, manteniendo la concentración constante (100mM).

Nombre	Rugosidad promedio [nm]	Valor cuadrático promedio de la rugosidad (RMS) [nm]
T100/4	152.47	185.36
T100/5	116.27	133.61
T100/6	52.13	63.03
T100/7	206.46	252.88
T100/8	52.26	74.14

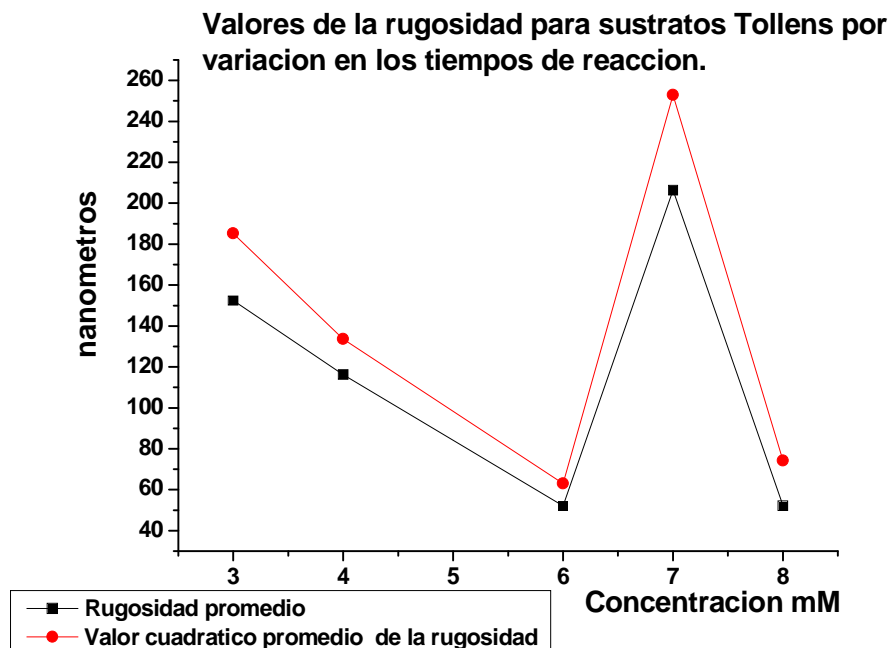


Figura 4-4. Gráfica correspondiente a los parámetros de la tabla 4-4 para valores de rugosidad.

El siguiente paso es probar nuestros sustratos en la detección de aminoácidos en disolución (en concentraciones de hasta 200 Partes por Millón), y también en la disminución de la fluorescencia de Rodamina.

4.2 Pruebas SERS.

A continuación se presentan los resultados de la evaluación de los sustratos como soportes activos para SERS. Como una primera prueba se usan colorantes orgánicos, estos presentan fluorescencia con la longitud de onda usada en la excitación y son imposible de obtener su espectro Raman, ya sea en medio liquido o sobre sustratos convencionales (vidrio, silicio y aluminio). La fluorescencia es un proceso de emisión en el cual las moléculas son excitadas por la absorción de radiación electromagnética. Las especies excitadas se relajan al estado fundamental, liberando su exceso de energía en forma de fotones una de las características más atractivas de los métodos de fluorescencia es su sensibilidad inherente, así como su intensidad que es considerable, opacando la señal Raman. Sin embargo, cuando estas moléculas se ponen en contacto con alguna superficie en la escala nano se produce un efecto favorable para nuestro propósito, literalmente la fluorescencia se reduce considerablemente y la señal Raman es perceptible; este es un primer indicio de que la superficie y las moléculas interactúan, el siguiente efecto que deseamos encontrar es el de la amplificación de la señal Raman de la molécula en estudio. El disminución de la fluorescencia por este tipo de superficies es debido a que se supone que realiza alguna forma

de relajación no radiante (conversión interna, conversión externa ó cruce de sistemas: el primero ocurre entre el nivel vibracional inferior de un estado electrónico excitado y el nivel vibracional superior de otro estado electrónico; la conversión externa implica la interacción y transferencia de energía entre la molécula excitada y el disolvente u otros solutos; por último el cruce de sistemas ocurre mientras una molécula está en un estado excitado y se da un cambio en el espín de un electrón, con lo que se adquiere una transformación de un estado singulete a un estado triplete.

En la figura 4-5 se muestra la señal obtenida en una medición Raman (1 mW) de los sustratos nanoestructurado logrados en el presente trabajo. El sustrato ideal no debe de tener señal alguna ni de contaminantes ni de otros compuestos, sin embargo los que se obtuvieron en el presente trabajo muestran ligeras bandas, que se puede asociar a los subproductos de la reacción así como a la glucosa que no ha interaccionado en la síntesis. Sin embargo, hay que enfatizar que éstas son muy débiles lo cual es muy apropiado para su uso como soporte SERS.

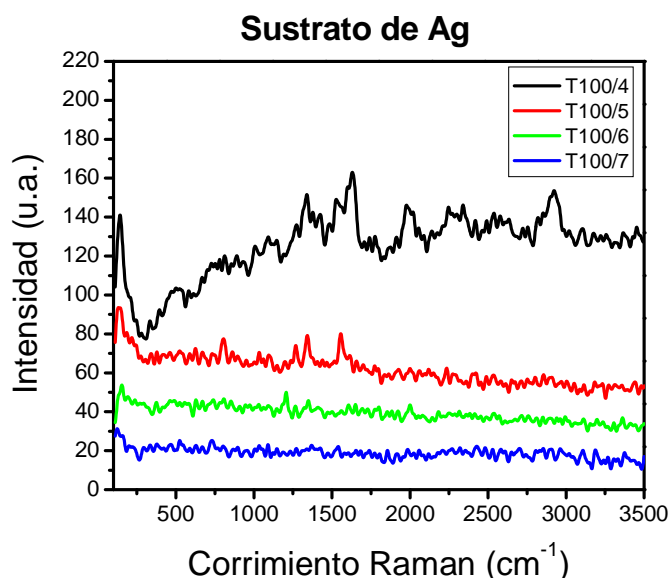


Figura 4-5. Sustratos de Ag a 100 mM con diferentes tiempos de síntesis.

Como mencionamos anteriormente, los colorantes orgánicos (Rodamina 6G y B) muestran una alta fluorescencia y para tener una evaluación de esta señal usamos bajas potencias del láser de excitación (532 nm) y un sustrato de aluminio, el cual es implementado con papel aluminio, alisado y fijado sobre un soporte de vidrio. La señal Raman de los colorantes no es apreciable, como podemos observar en la figura 4-5.

El siguiente paso consistió en evaluar los sustratos generados en el laboratorio, para ello diluimos los colorantes de prueba a 10^{-6} M y colocamos una gota ($1 \mu\text{L}$) sobre el sustrato metálico, esperamos que se evapore el líquido y monitoreamos los residuos presentes sobre el sustrato. En la figura 4-6 presentamos los espectros Raman de Rodamina 6G y Rodamina B en sólido, es decir las muestras obtenidas directamente del fabricante. La idea de usar colorantes es que son fáciles de encontrar visualmente y a través del objetivo del microscopio; así también su alta fluorescencia ya que ésta resulta en un gran reto. Así, si podemos obtener un espectro visible de estos componentes será un gran logro. La tabla 4-5 muestra la estructura molecular de los colorantes Rodamina 6G y B. En la figura 4-8 se presentan los espectros Raman de estos colorantes, los cuales se encuentran a una concentración de 1×10^{-6} M; la muestra se encuentra sobre nuestros sustratos de plata generados por reacción de Tollens. La figura 4-7 muestra una foto del área monitoreada (con Rodamina B). Como se observa en la figura 4-7 el área monitoreada con Rodamina B no presenta gran cantidad de residuos, lo que nos indica que estamos monitoreando concentraciones bajas del analito.

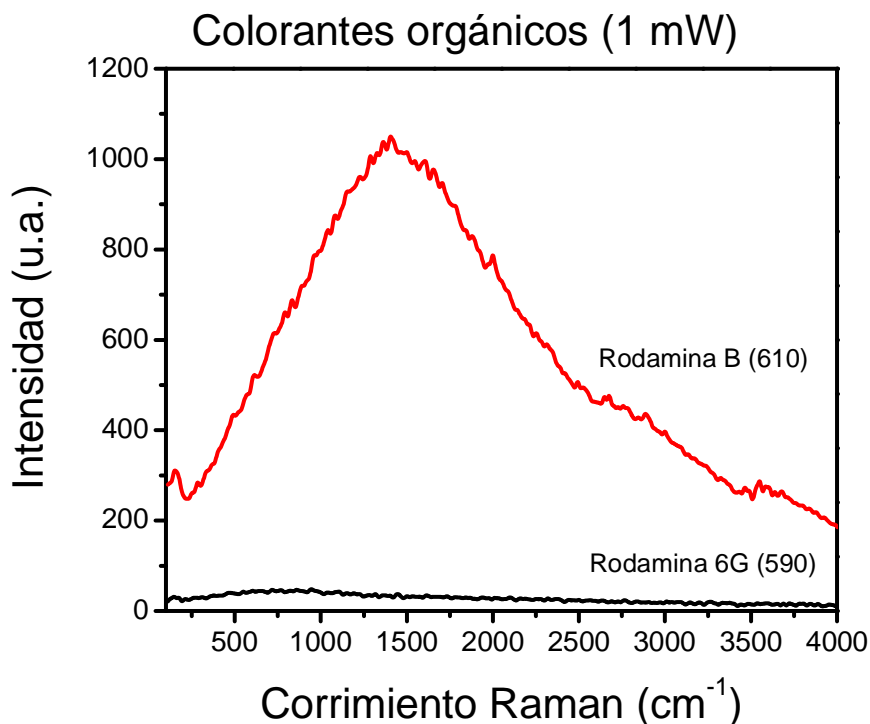


Figura 4-6. Espectros de colorantes en sustrato de aluminio, potencia de excitación 1 mW.

Tabla 4-5 Moléculas de la Rodamina B y 6G.

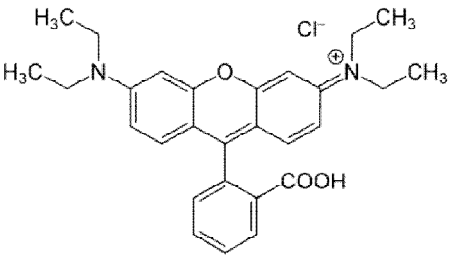
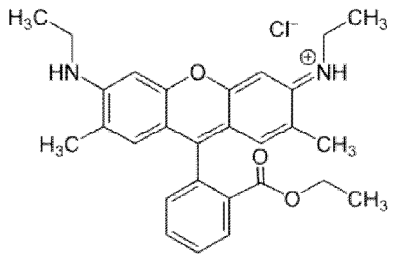
Rodamina B	Rodamina 6G
 <p>The structure shows a central xanthene ring system. At the 6-position, there is a diethylamino group (-N(CH₂CH₃)₂). At the 3-position, there is a protonated diethylamino group (-N⁺(CH₂CH₃)₂Cl⁻). At the 4-position, there is a phenyl ring with a carboxylic acid group (-COOH) at the para position.</p> <p style="text-align: center;">$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$</p>	 <p>The structure shows a central xanthene ring system. At the 6-position, there is a diethylamino group (-N(CH₂CH₃)₂). At the 3-position, there is a protonated diethylamino group (-N⁺(CH₂CH₃)₂Cl⁻). At the 4-position, there is a phenyl ring with a methyl ester group (-COOCH₂CH₃) at the para position. There are also methyl groups at the 2 and 7 positions.</p> <p style="text-align: center;">$C_{27}H_{29}ClN_2O_3$</p>



Figura 4-7 Imagen de zona muestreada con Rodamina B en la figura 4-8.

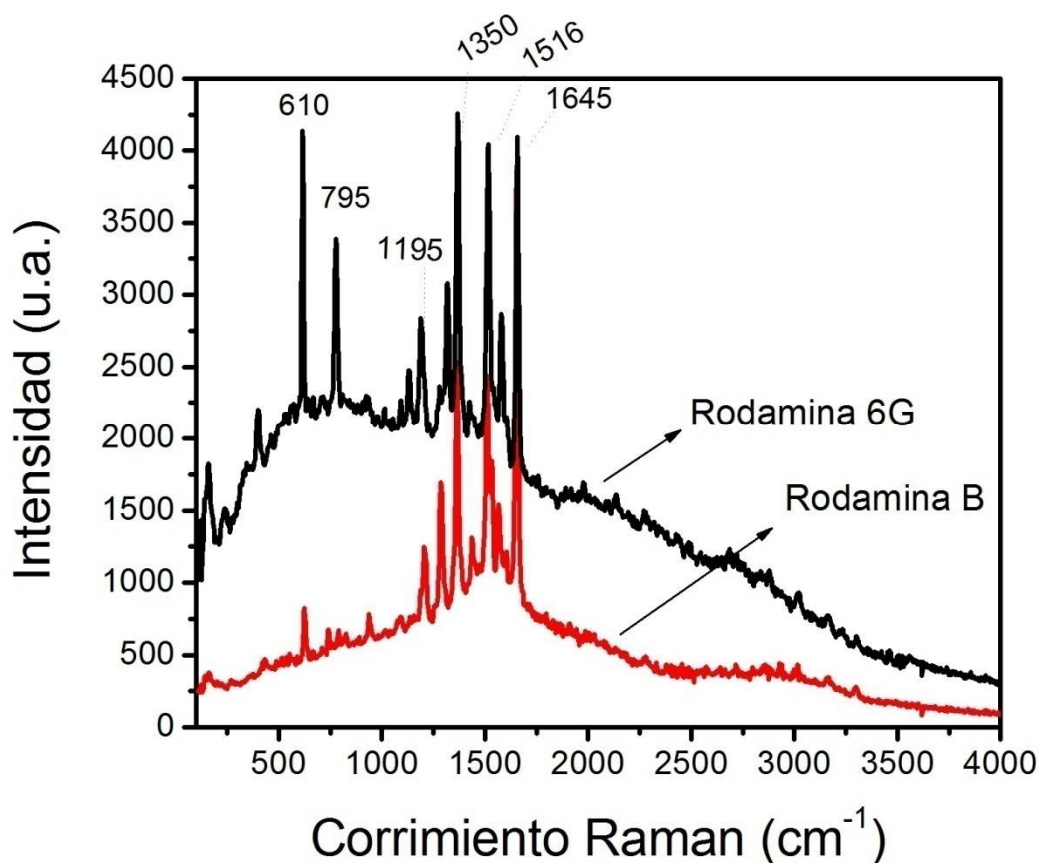


Figura 4-8 Espectros Raman de los colorantes sobre sustratos de Ag. Potencia de excitación 1 mW.

En la tabla 4-6 se presenta la asignación de bandas para la rodamina.

Tabla 4-6 Asignación de bandas para la Rodamina ^[120].

Correspondencia	C-C-C Bending	C-H Bending fuera del plano	C-C stretch	C-C stretch	C-C stretch	C-C stretch
cm ⁻¹	601	762	1175	1352	1496	1641

A continuación presentamos (en la figura 4-10) los espectros Raman de Rodamina 6G (R6G) correspondiente a los sustratos generados con diferentes tiempos de reacción de Tollens. En la figura 4-9 se muestran fotos de las zonas monitoreadas, para cada espectro de la figura 4-10.

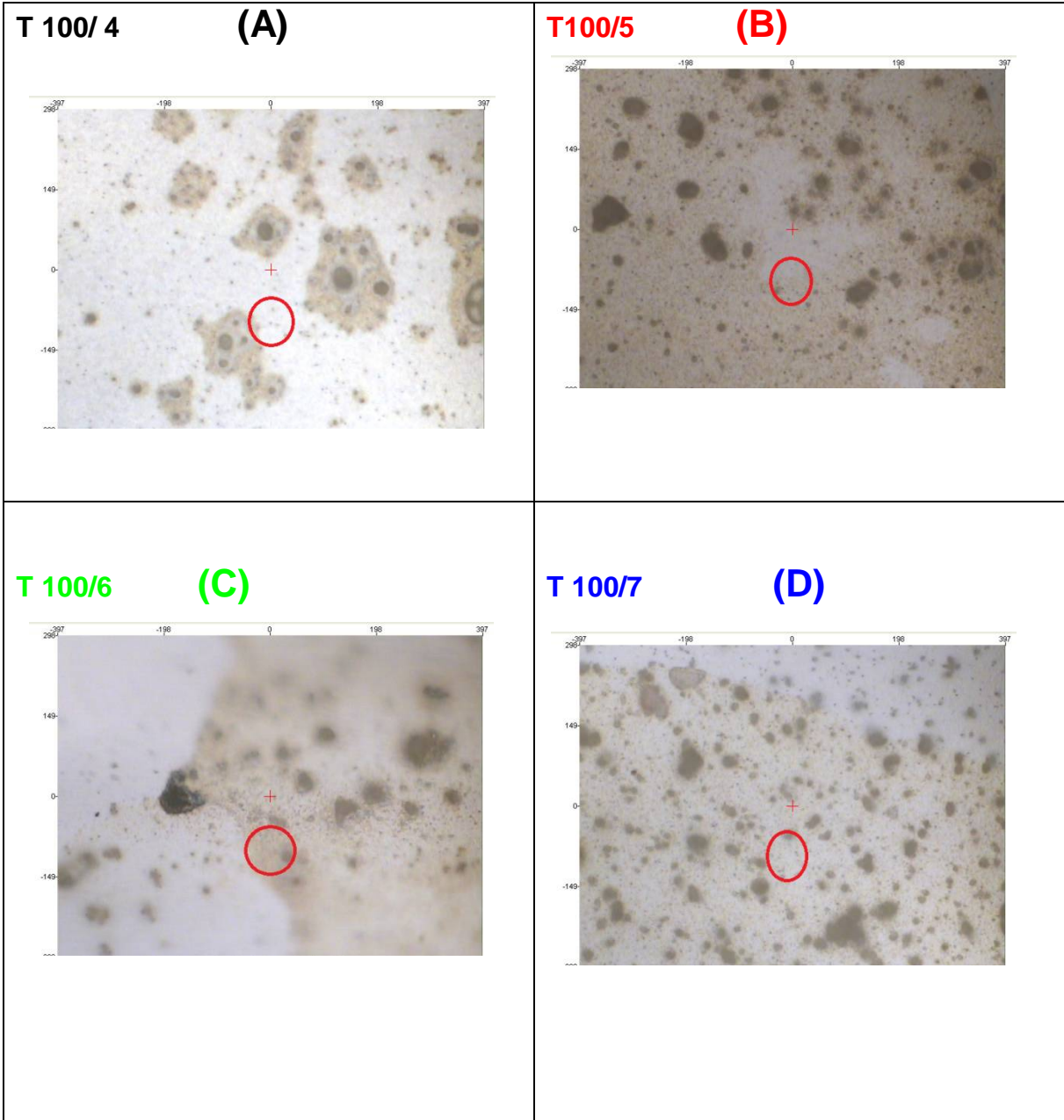


Figura 4-9 Imagen de zonas muestreadas para espectros de la figura 4-10

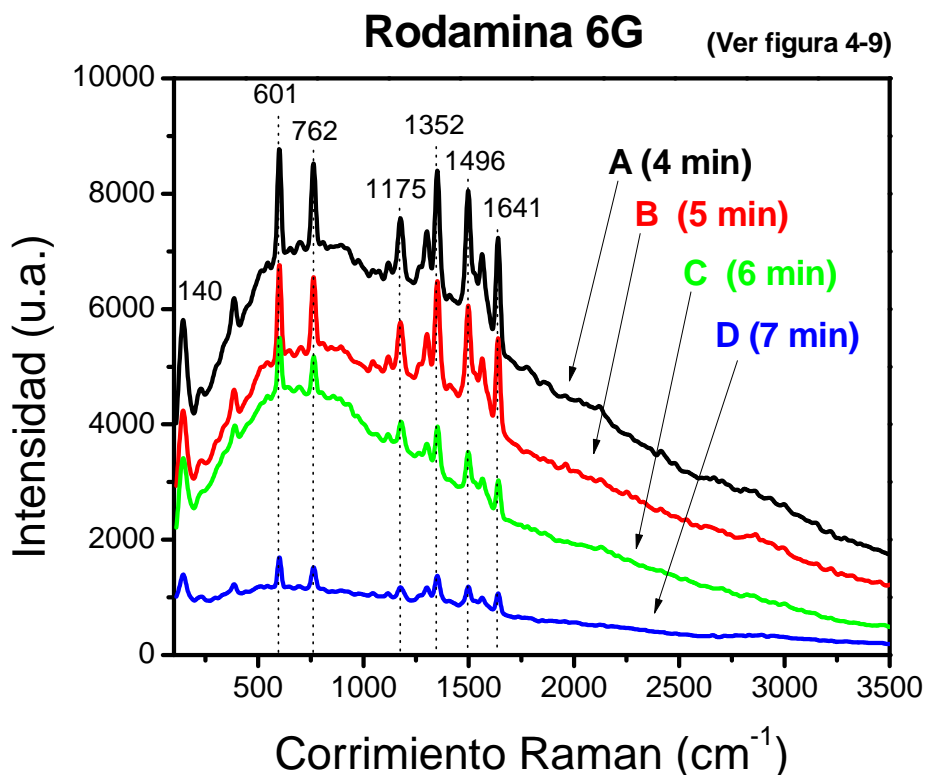


Figura 4-10 Espectro Raman de la Rodamina 6G en diferentes sustratos de Ag.

Como se puede observar de la figura 4-9 (C), ésta es la única que visualmente presenta mayor concentración de residuos. Las figuras restantes no presentan (visualmente) gran acumulación de residuos, sin embargo la señal Raman que proveen es muy buena, como se puede observar en la figura 4-10. Entonces podemos decir de las figuras 4-9 A y B que son zonas muy aptas para amplificar la señal Raman.

Como conclusión de la parte de pruebas con R6G sobre los sustratos donde se varió el tiempo de reacción, vemos que las señales Raman mejor definidas se obtuvieron para los sustratos de 4 y 5 minutos de reacción de Tollens, las cuales tienen rugosidades de 152 y 116 nanómetros respectivamente. La rugosidad es una característica importante para nuestros sustratos.

La siguiente prueba que se le practicó a nuestros sustratos fue la detección de aminoácidos en bajas concentraciones (hasta 200 ppm), y en la siguiente sección se presentan los resultados obtenidos.

Comparación entre sustratos de plata generados por diferentes técnicas de depósito.

En este apartado comparamos la señal Raman de R6G para sustratos generados por evaporación y sputtering. La rugosidad de estos sustratos es prácticamente nula, debido a las condiciones de depósito.

En la figura 4-11 se presenta el espectro Raman de Rodamina 6G (1×10^{-6} M) sobre un sustrato fabricado por evaporación. Vemos que la falta de rugosidad del sustrato no permite el apagamiento de la fluorescencia, como sí lo permiten los sustratos generados por reacción de Tollens, cuyos resultados se presentaron en la figura 4-8 y 4-10.

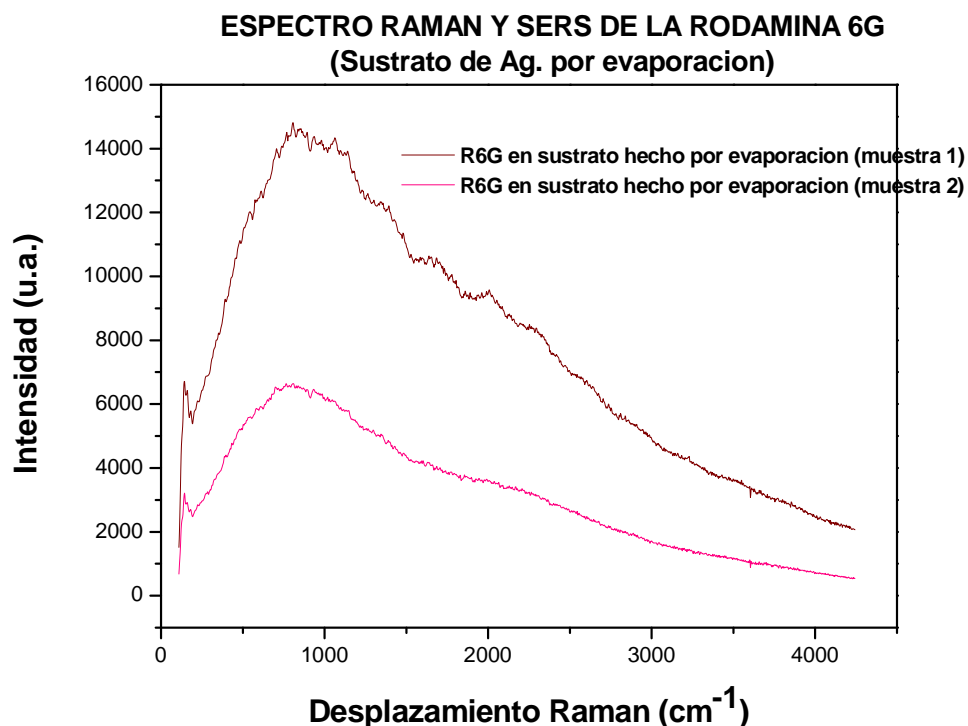


Figura 4-11. Señal Raman de R6G 1×10^{-6} Molar en sustrato por evaporación.

Lo mismo podemos decir de la interacción de los sustratos de plata generados por sputtering, en su interacción con R6G: no apagan la fluorescencia de la Rodamina debido a la falta de rugosidad de los sustratos (figura 4-12).

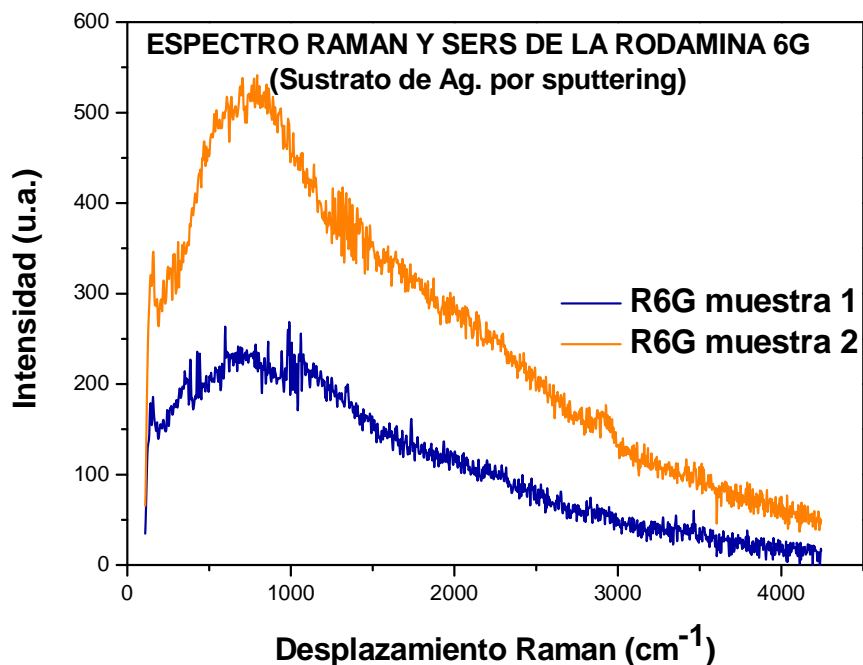


Figura 4-12. Señal Raman de R6G 1×10^{-6} Molar en sustrato por sputtering.

4.3 Análisis vibracional de aminoácidos

En esta parte del trabajo realizamos pruebas de los sustratos de plata generados por Tollens con 4 diferentes aminoácidos: (i) glicina (1000 ppm); (ii) ácido aspártico (200 ppm); (iii) serina (200 ppm) y (iv) lisina (200 ppm). En todos los casos se depositó un volumen de 1 microlitro de disolución de cada aminoácido.

GLICINA.

Como primer paso presentamos el espectro Raman de la Glicina en sólido (figura 4-13), esto significa que dicho espectro Raman es el que corresponde a la muestra como la obtenemos del fabricante. Esta muestra es nuestra referencia para la señal de la glicina.

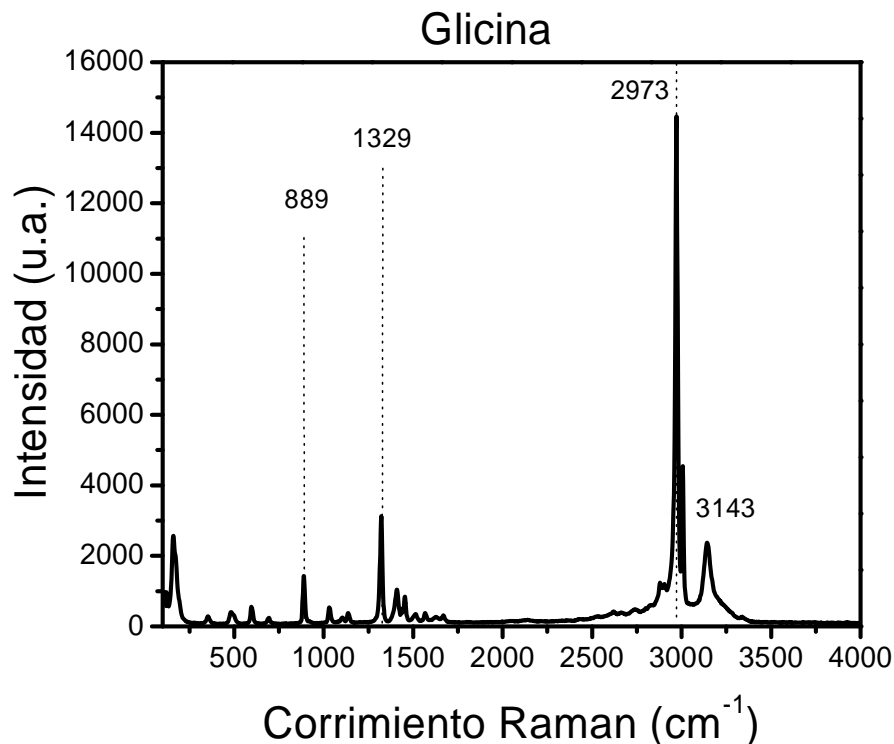


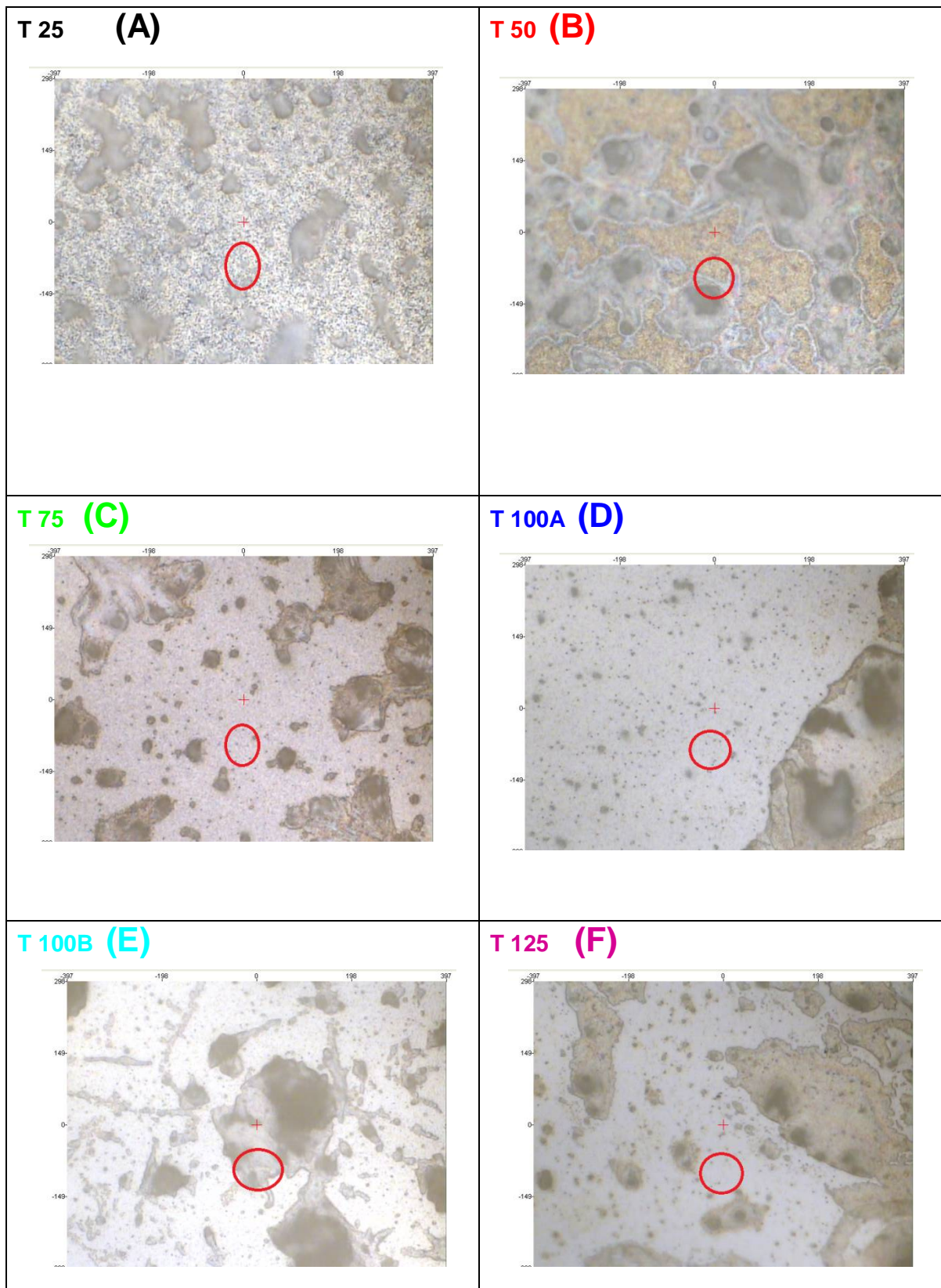
Figura 4-13 Espectro Raman de la glicina obtenido de una muestra estándar (en polvo).

En la actualidad no tenemos conocimiento de un sustrato ideal que sea utilizado indistintamente para cualquier molécula; por ello hemos evaluado diferentes sustratos generados en el ambiente de Nanoestructuras Metálicas del LUCE. Haciendo un recuento de los sustratos generados, tenemos a diferentes concentraciones (desde 25 a 125 mM) y luego, después de determinar una concentración prometedora (100mM), se evalúan otras variantes como el tiempo de síntesis.

Nuestra primer prueba consiste en tomar el espectro Raman de residuos de Glicina (1000 ppm) que quedan sobre nuestros sustratos de plata (generados por reacción de Tollens, desde el de concentración 25mM hasta 125mM); los residuos corresponden a los que deja una gota de 1 micro litro. Estos resultados se presentan en la figura 4-15. Como complemento a la figura 4-15, presentamos la figura 4-14 donde se puede ver las zonas monitoreadas correspondientes a cada espectro. Las figuras 4-14 (C), 4-14 (D) y 4-14 (F) corresponden a muestras donde visualmente no se ve gran cantidad de residuos, y sin embargo se obtiene claramente la señal de la glicina, aún cuando la muestra se encuentra a 1000 ppm ó 1.33×10^{-2} M.

Los espectros de la figura 4-15 se tomaron con una potencia del láser de 1mW (10% de la intensidad que nos permite el equipo). Esto es así porque en otras pruebas realizadas, donde utilizamos mayores potencias de láser la muestra sufre degradación, por lo que no se obtenía la señal correspondiente a la glicina.

Figura 4-14 Áreas monitoreadas de sustratos con Glicina del espectro en figura 4-15.



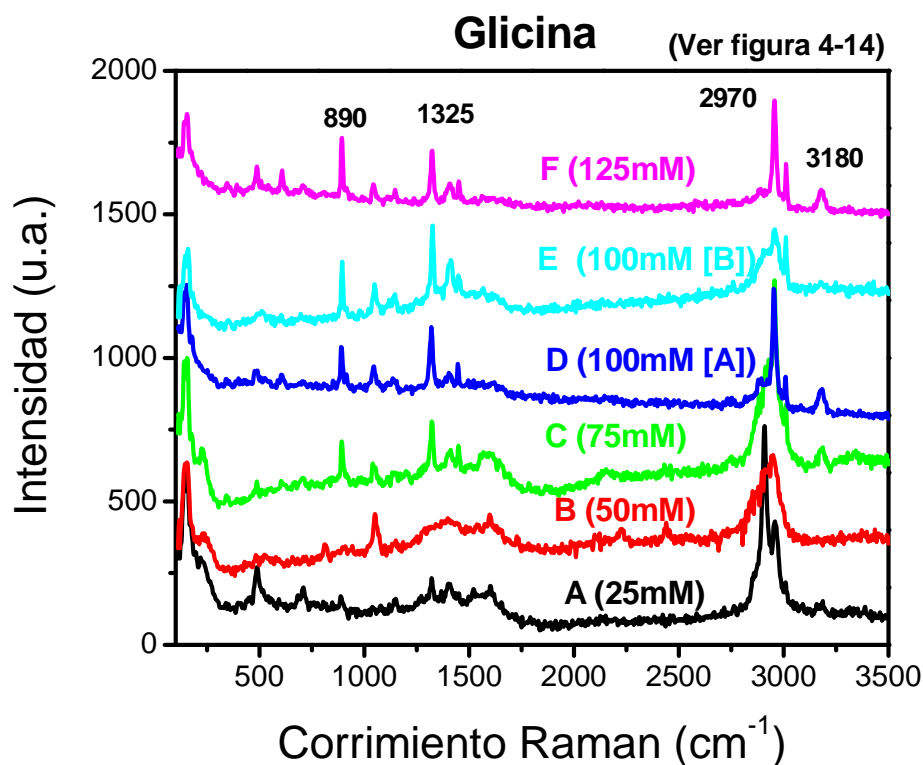


Figura 4-15 Señal Raman de la Glicina (1000 ppm) en sustratos de plata a diferentes concentraciones de síntesis. Potencia del láser, 1 mW sobre muestra.

Las siguientes pruebas con glicina (1000 ppm) las hicimos sobre los sustratos generados por reacción de Tollens, en donde se mantuvo fija la concentración de los precursores a 100mM, y se varió el tiempo de reacción. Dichos resultados se presentan en las figuras 4-16 y 4-17. En la figura 4-16 se muestran las imágenes de las zonas monitoreadas correspondientes a los espectros Raman que se muestran en la figura 4-17.

Vemos que las mejores señales de glicina se obtienen para los sustratos con 4 y 5 minutos de tiempo de reacción (ver espectro en figura 4-17.). Lo anterior nos dice que el tiempo óptimo de síntesis para estos sustratos no debe rebasar los 5 minutos. Este resultado es consistente con los resultados obtenidos para el caso de R6G: los sustratos de 4 y 5 minutos también son los que dan la mejor señal para R6G.

El siguiente aminoácido del que presentamos resultados es el ácido aspártico (200 ppm).

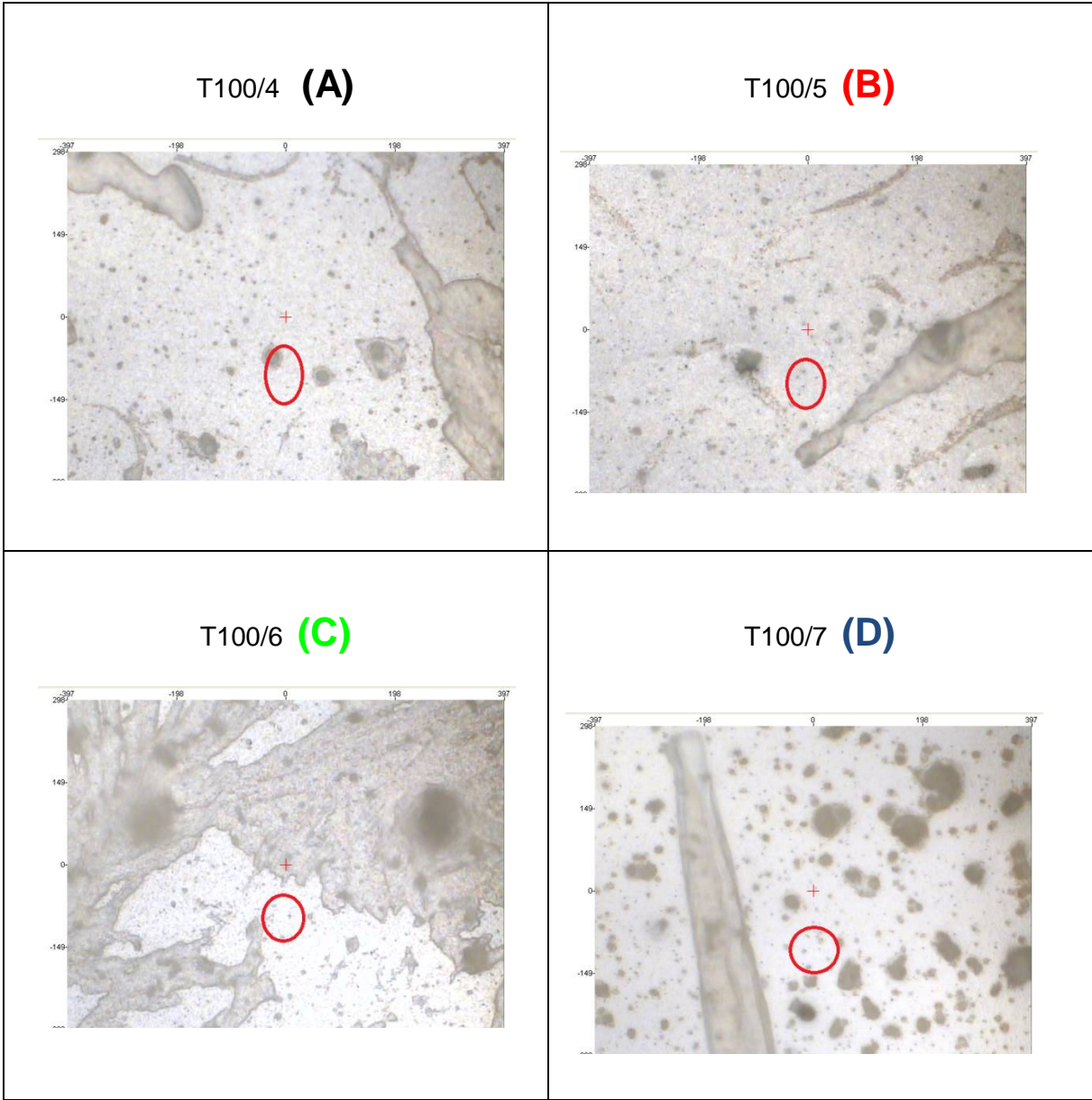


Figura 4-16 . Zonas monitoreas en la figura 4-17.

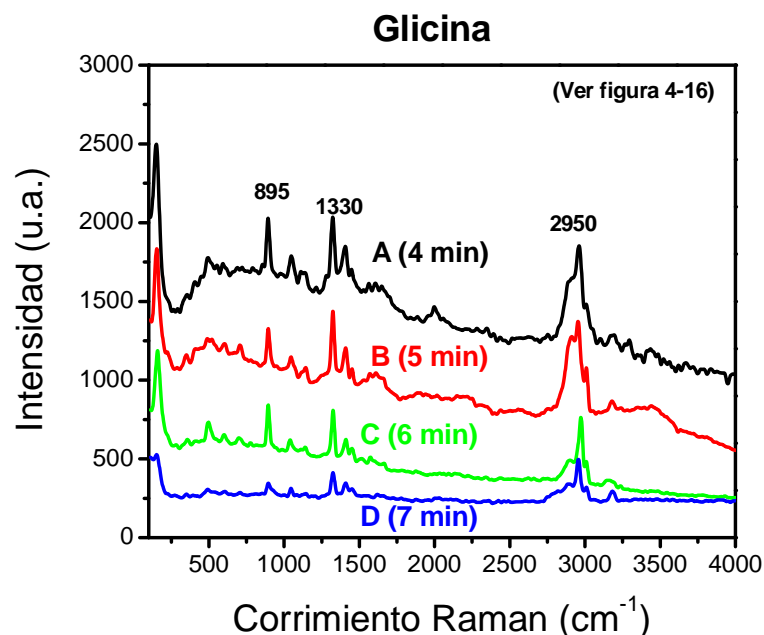


Figura 4-17 : Señal Raman de la glicina (1000 ppm) con diferentes sustratos de Ag (T100) y a diferentes tiempos de síntesis). Potencia del láser, 1 mW sobre muestra.

ÁCIDO ASPÁRTICO.

Cabe mencionar que se consideraron los aminoácidos que tienen poca señal Raman con el propósito de que cuando sean colocados sobre el sustrato de plata por reacción de Tollens, la interacción metal-aminoácido favorezca una mejor señal Raman del analito en cuestión.

Primero presentamos el espectro Raman de una muestra estándar de ácido aspártico (figura 4-18). Dicho espectro fue tomado con el objetivo de 100X y una potencia del láser de 10mW (100% de la potencia que permite el láser del equipo Raman Almega).

La razón para tomar el espectro de las muestras estándar a 10mW es: de esta manera obtenemos la máxima intensidad de las bandas Raman del aminoácido, lo que nos servirá como referencia; sin embargo cuando tomamos el espectro Raman sobre nuestros sustratos de plata, utilizamos una potencia del láser de 1mW porque para potencias del láser mayores a ésta se induce la interacción de la superficie con otras especies químicas adsorbidas en la superficie: esto se ve como una doble banda Raman de gran intensidad en 1300 cm^{-1} y 1500 cm^{-1} , lo que oculta las señales correspondientes al aminoácido.

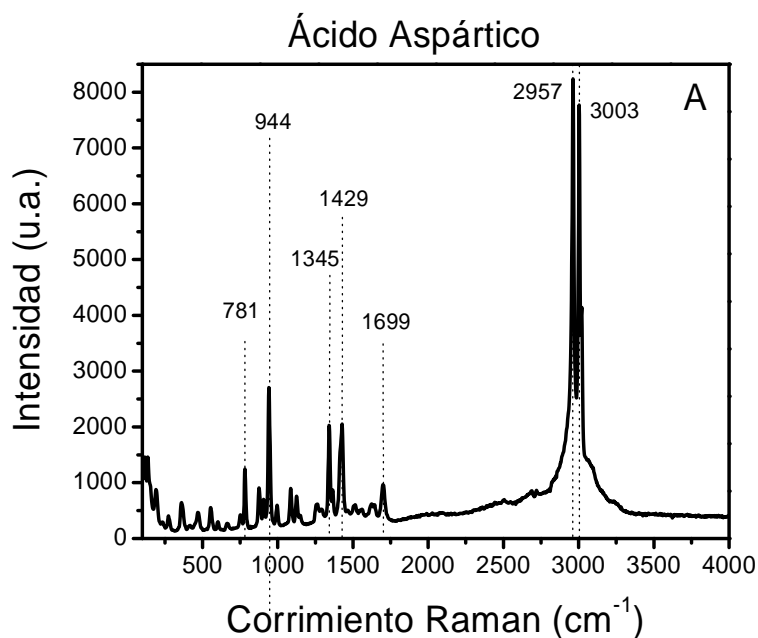


Figura 4-18 Espectro Raman del ácido aspártico (muestra estándar).

Cuando un analito presenta una señal Raman de baja intensidad, y esta se diluye, por ejemplo a 200 ppm (1.50×10^{-3} M), se vuelve mucho más complicada su detección. Este es el caso que presentamos con el análisis de los siguientes aminoácidos. Cabe resaltar que los espectros se obtuvieron con una potencia del láser de 1 mW, por lo que la señal Raman también debe salir disminuida en intensidad; sin embargo debido a la interacción entre moléculas del aminoácido con la superficie metálica, se produce un incremento en la señal lo cual juega un papel de gran importancia para alcanzar un sustrato adecuado para amplificar la señal Raman. Es de resaltar que este es una propuesta de sustrato y que presenta grandes expectativas aún falta evaluar con más moléculas y estabilizar su superficie, ya que se ha observado que con el tiempo, su tonalidad superficial varía de brillante a opaco (casi amarillento).

En la figura 4-19 se presentan las zonas monitoreadas con ácido aspártico a una concentración de 200 ppm ó 1.50×10^{-3} M. La figura 4-19(A) corresponde al espectro tomado de ácido aspártico a 200 mM sobre papel aluminio. En su espectro correspondiente en la figura 4-20, se puede observar que la señal es muy pobre, por no decir que prácticamente nula, comparada contra los sustratos generados por reacción de Tollens (B y C). La figura 4-19(B) corresponde a un sustrato de Alta Reflectividad (AR), y la 4-19(C) a un sustrato de Baja Reflectividad (BR). Para generar sustratos AR se agita el recipiente mientras los portaobjetos de

vidrio se están plateando con la reacción de Tollens; por otra parte, los sustratos BR se generan dejando el recipiente estático mientras ocurre la reacción de Tollens.

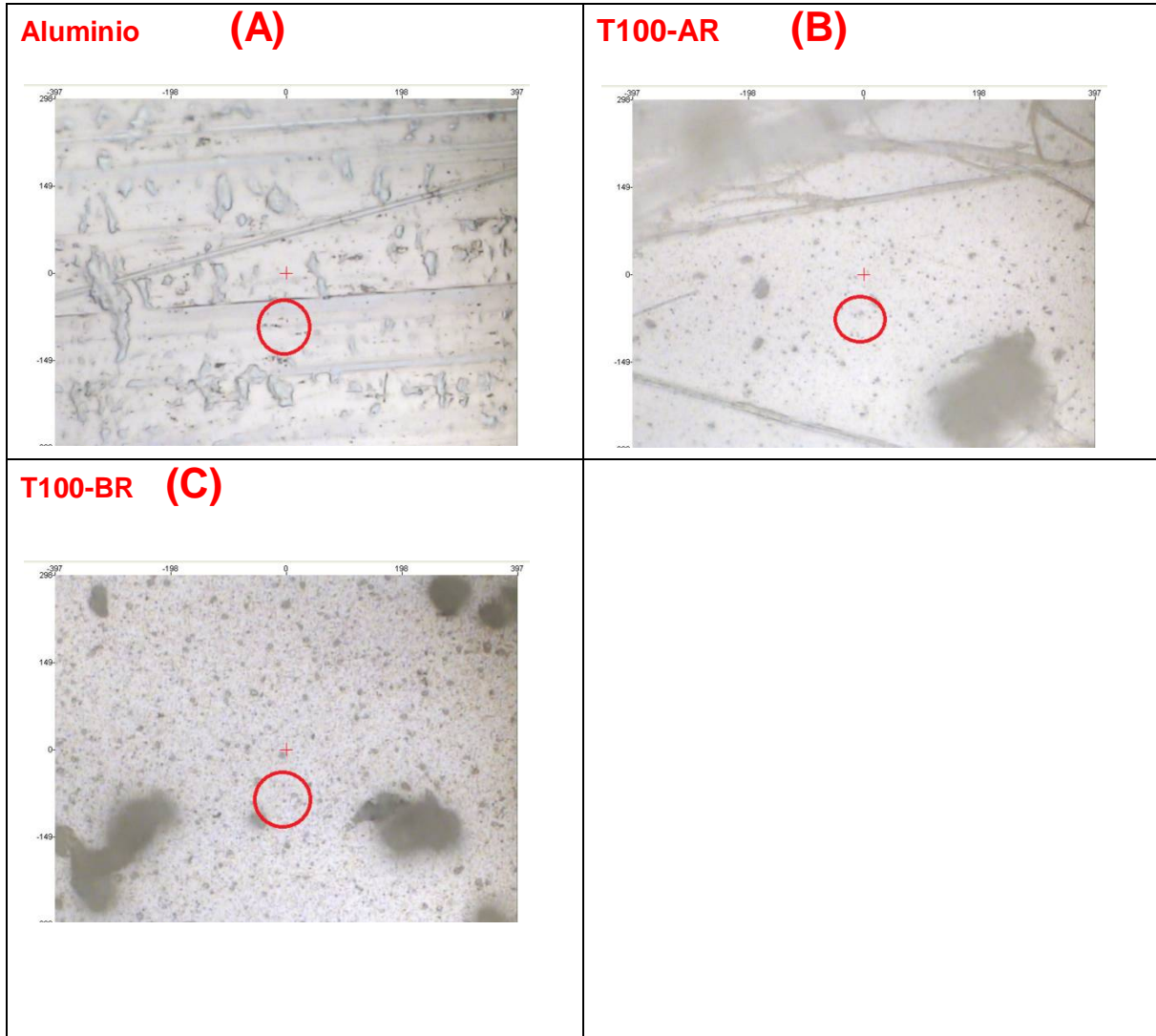


Figura 4-19 Zonas monitoreadas en la figura 4-20.

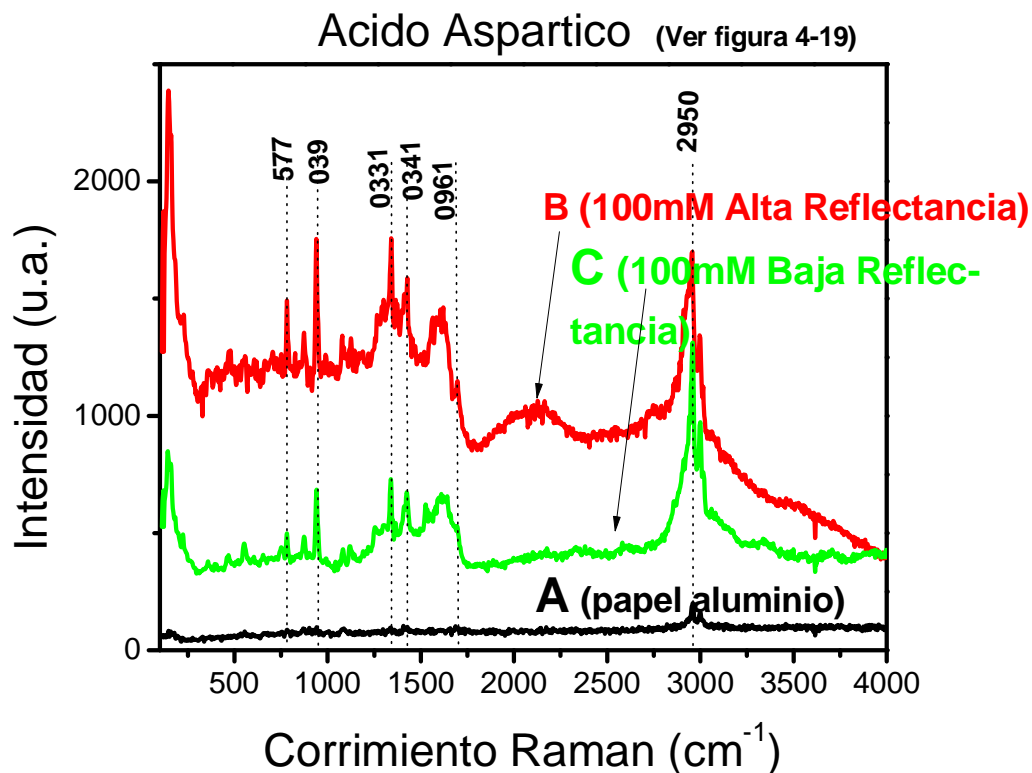


Figura 4-20 Señal Raman del ácido aspártico ($1 \mu\text{L}$ a 200 ppm) sobre tres diferentes sustratos: 2 de Ag a concentración 100mM , y sobre un sustrato de aluminio. La potencia del láser es 1mW .

La siguiente prueba con ácido aspártico la hicimos sobre los sustratos generados por reacción de Tollens (concentración 100mM de los precursores), donde se varió el tiempo de la reacción de Tollens. Dichos resultados se presentan en la figura 4-21 y 4-22: en la figura 4-22 se presentan los espectros obtenidos para volúmenes de 1 microlitro de la disolución de ácido aspártico (200 ppm). En la figura 4-21 se presentan imágenes de las zonas monitoreadas, correspondientes a los espectros en la figura 4-22.

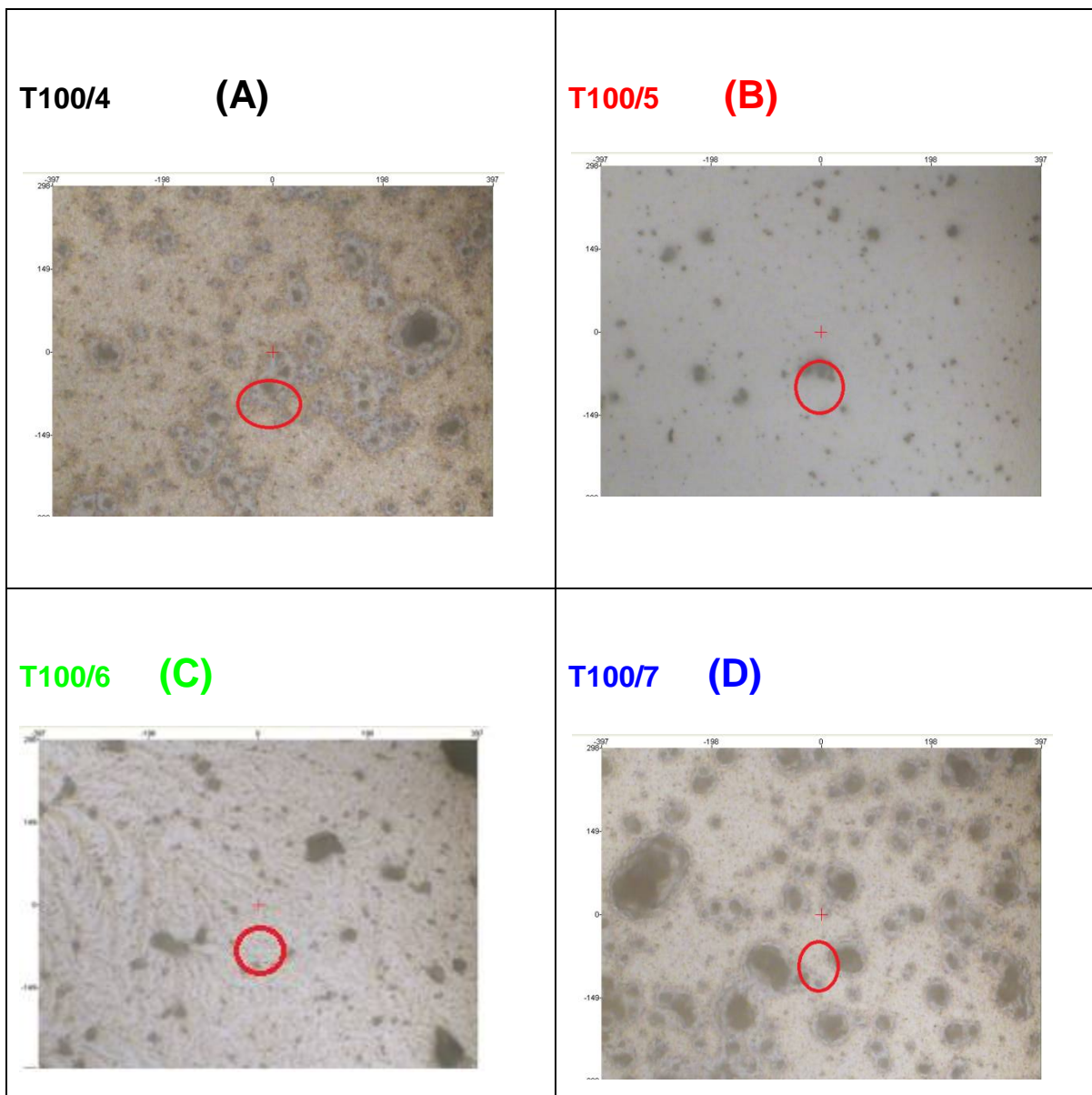


Figura 4-21. Zonas monitoreadas en la figura 4-22.

Las muestras correspondientes a 4-21(B) y 4-21(C) presentan visualmente menor cantidad de rastros dejados por el volumen de 1 microlitro de ácido aspártico; no obstante en los espectros Raman correspondientes (figura 4-22 (B) y (C)) se ha obtenido muy buena señal del aminoácido, lo que nos da evidencia de que estos sustratos son aptos para amplificar la señal Raman de aminoácidos en bajas concentraciones.

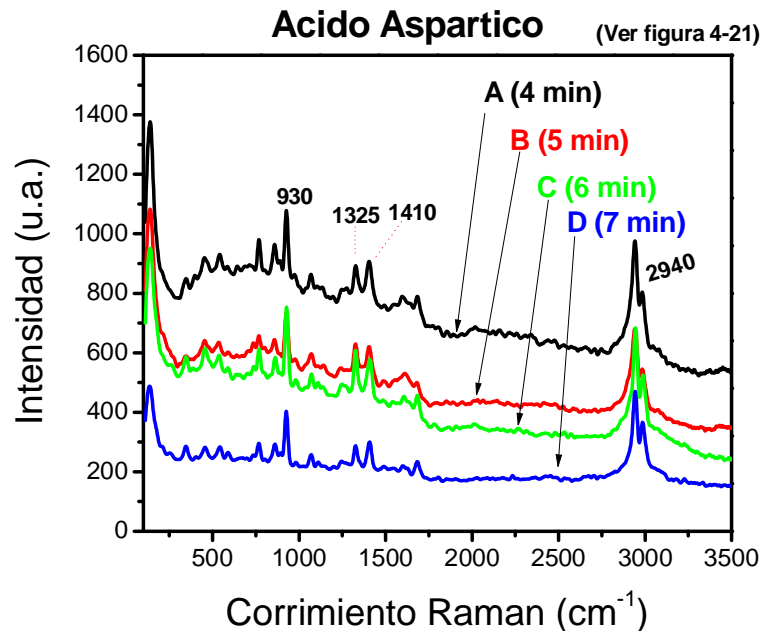


Figura 4-22 Señal Raman del ácido aspártico (1 μL a 200 ppm) sobre diferentes sustratos de Ag (T100/x; x=4,5,6,7 min). Potencia del láser, 1 mW sobre muestra.

SERINA

Como primer resultado presentamos el espectro Raman de una muestra estándar de serina (figura 4-23). La potencia del láser es 10 mW y el objetivo del microscopio 100X.

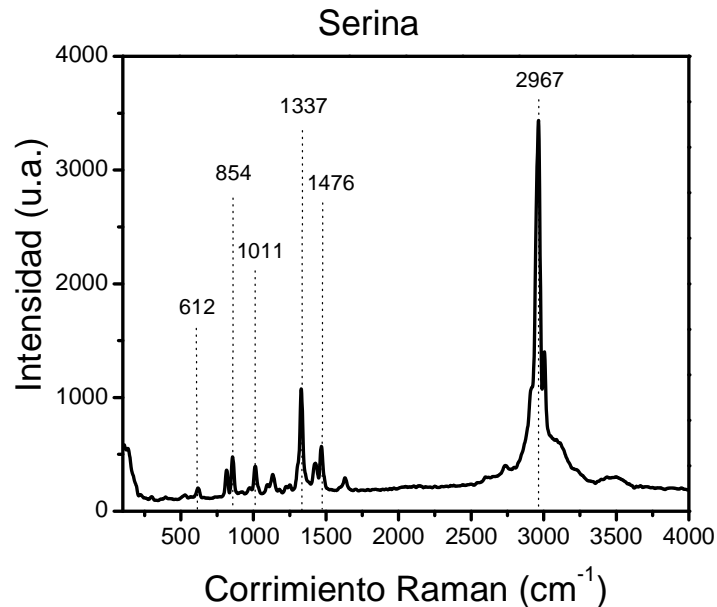


Figura 4-23 Espectro Raman de la serina (muestra estándar).

Despues presentamos los resultados de serina (200 ppm) sobre sustratos de plata hechos por reacción de Tollens, a 100mM, variando el tiempo de reacción (5, 6 y 7 minutos). La figura 4-25 corresponde a los espectros obtenidos para cada sustrato, mientras que en la figura 4-24 se muestran imágenes de las zonas monitoreadas.

De la figura 4-24 (A), 4-24 (B) y 4-24 (C) vemos que las zonas monitoreadas no presentan visualmente gran cantidad de residuos. De la figura 4-25 podemos ver que la señal de mayor intensidad se obtiene para el sustrato de 5 minutos de reacción de Tollens (4-24 A). No obstante podemos decir que es mejor el resultado obtenido para el sustrato 4-24 B y 4-24 C, dado que visualmente dichos sustratos presentan menor cantidad de residuos, con respecto a la figura 4-24 A.

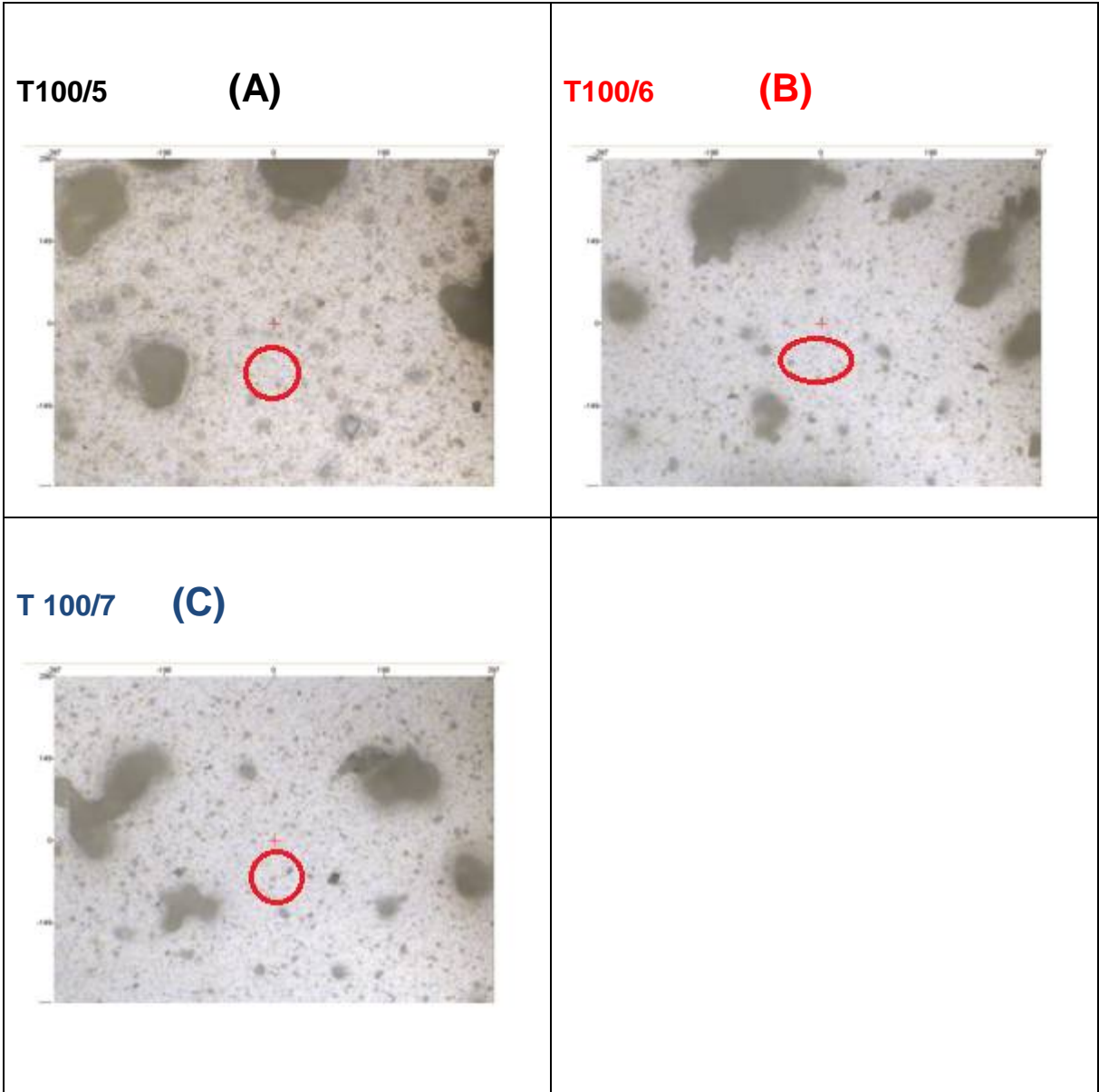


Figura 4-24 Zonas muestreadas en la figura 4-25.

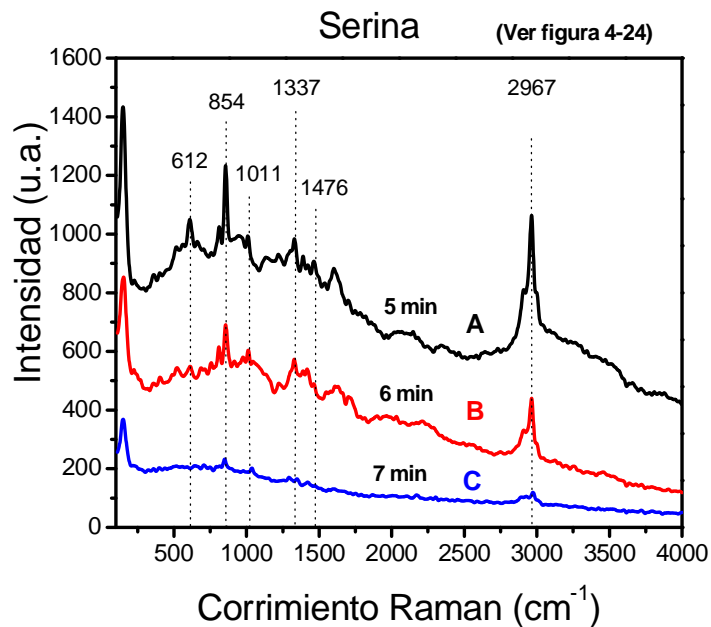


Figura 4-25 Señal Raman de la serina ($1 \mu\text{L}$ a 200 ppm) sobre diferentes sustratos de Ag (T100/x; $x=5,6,7 \text{ min}$). Potencia del láser, 1 mW sobre muestra.

LISINA

Como último resultado presentamos el resultado de Lisina (200 ppm) sobre uno de nuestros sustratos Tollens (ver figura 4-27). Comparamos dicho resultado con el de una muestra estándar de lisina (figura 4-26).

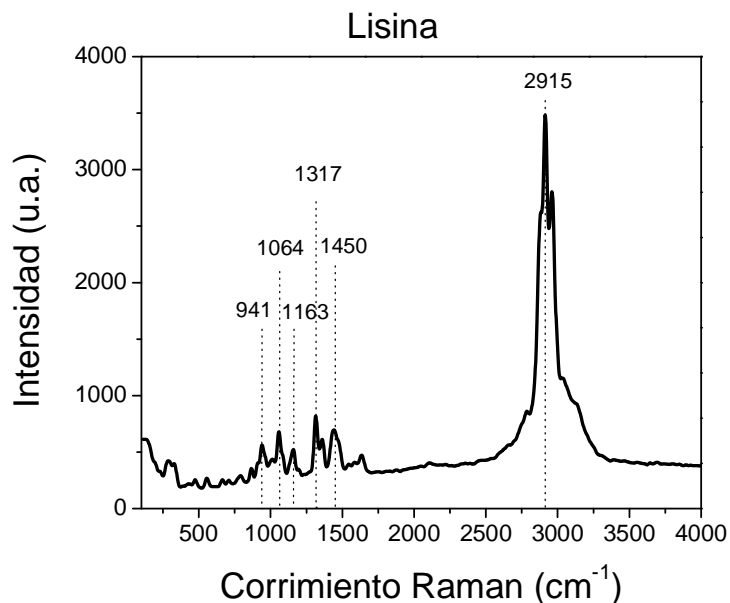


Figura 4-26 Espectro Raman de la lisina (muestra estándar).

Vemos que no obstante la baja concentración del aminoácido, es detectable al estar en contacto con nuestra superficie metálica.

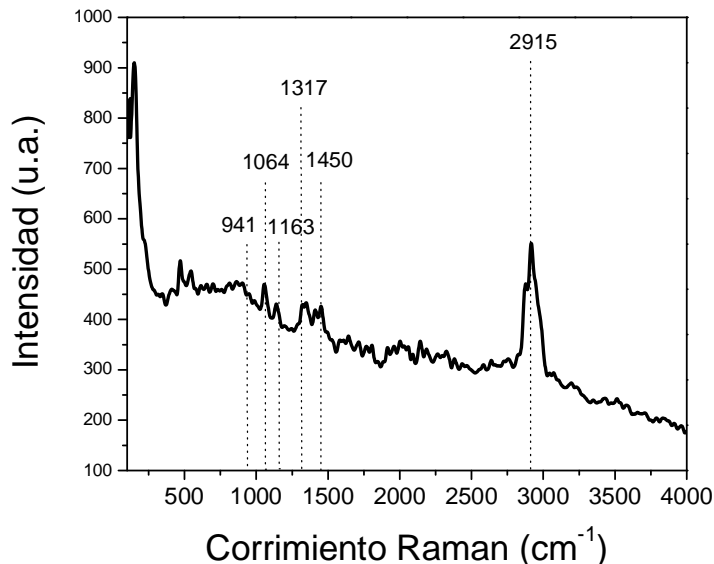


Figura 4-27 Señal Raman de la lisina (1 μ L a 200 ppm) sobre un sustrato de Ag (T100). Potencia del láser, 1 mW sobre muestra.

Aquí termina la presentación de resultados y análisis correspondiente a este trabajo de tesis. Podemos decir que con el trabajo realizado se pudo verificar la hipótesis planteada: que la interacción combinada entre luz, moléculas y superficies metálicas nos fue útil para detectar aminoácidos en concentraciones de hasta 200 ppm, y también para reducir la fluorescencia de la Rodamina y obtener su espectro Raman. De nuestro objetivo general podemos decir que se cumplió el punto de generar superficies metálicas nanoestructuradas de una forma fácil y de bajo costo, aunque aún nos falta optimizar la reproducibilidad de las películas obtenidas. En cuanto a los objetivos específicos se verificó que la modificación de parámetros tales como la concentración de precursores incide en las características morfológicas de las películas generadas.

Otro punto importante que corroboramos es que los sustratos generados por reacción de Tollens ayudan a disminuir la fluorescencia de la Rodamina 6G, mientras que los sustratos generados por evaporación y sputtering no presentan esta característica, debido a la falta de rugosidad de dichos sustratos.

Capítulo 5

Conclusiones

En el presente trabajo hemos evaluado diferentes sustratos de Ag, aunque todos ellos fueron fabricados a través del mismo método de Tollens, con ligeras variaciones para nuestra conveniencia. Creemos que este es un gran aporte en el desarrollo de esta tesis.

Podemos observar que estos sustratos presentan grandes ventajas, son fáciles de obtener, tienen una apariencia y rugosidad controlable y que finalmente nos dan grandes expectativas para ser usados como soportes activos SERS.

Falta optimizar la presentación de los sustratos, considerando depósitos con áreas definidas (máscaras) para no desperdiciar material en los bordes de los sustratos de Ag o zonas no utilizables por cercanía con otras alícuotas y así evitar contaminación entre ellas.

Falta evaluar la estabilidad de los sustratos así como su potencial en mejorar/amplificar la señal Raman de las moléculas.

A continuación plasmamos las conclusiones que se derivan de la realización de la presente tesis:

1. Se obtuvieron sustratos metálicos con una técnica fácil de implementar en un ambiente relativamente pequeño.
2. Se exploró y se manipuló el método de Tollens a nuestra conveniencia para obtener sustratos de Ag con rugosidad en la escala nanométrica, entre 30 y 150 nm.
3. Se obtuvo señal Raman de dos colorantes soportados sobre los sustratos metálicos fabricados. Estos colorantes presentan una alta fluorescencia con la

longitud de onda usada en el sistema Raman, el cual fue apagado en la interacción con el sustrato metálico nanoestructurado.

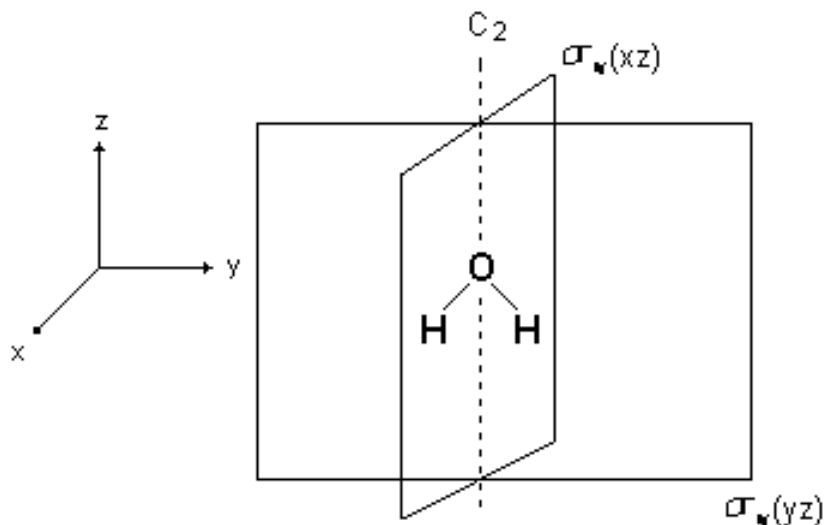
4. Se obtuvo la señal Raman de algunos aminoácidos con los sustratos metálicos fabricados. Estos aminoácidos habitualmente presentan baja actividad Raman.
5. En una primera aproximación cuantitativa podemos mencionar que la detección de los aminoácidos estuvo alrededor de 10^{-13} a 10^{-14} g. mediante la ayuda de los sustratos metálicos. En comparación con un sustrato de aluminio, adaptado también en el laboratorio, se puede llegar a estimar un límite de detección alrededor de detección entre 10^{-10} g.
6. En resumen, obtuvimos sustratos simples, fáciles de fabricar y con grandes expectativas de mejorar la señal Raman de diversas moléculas; es decir obtuvimos sustratos viables para ser usados en actividad SERS.

Capítulo 6

Apéndices

Apéndice 1: Vibraciones de la molécula de agua: H₂O

Aquí se presenta un ejemplo, en el cual se obtienen los modos vibracionales de una molécula utilizando los conceptos de simetría y teoría de grupos [7, 98]. Uno de los ejemplos más fáciles de visualizar, es la molécula de agua.



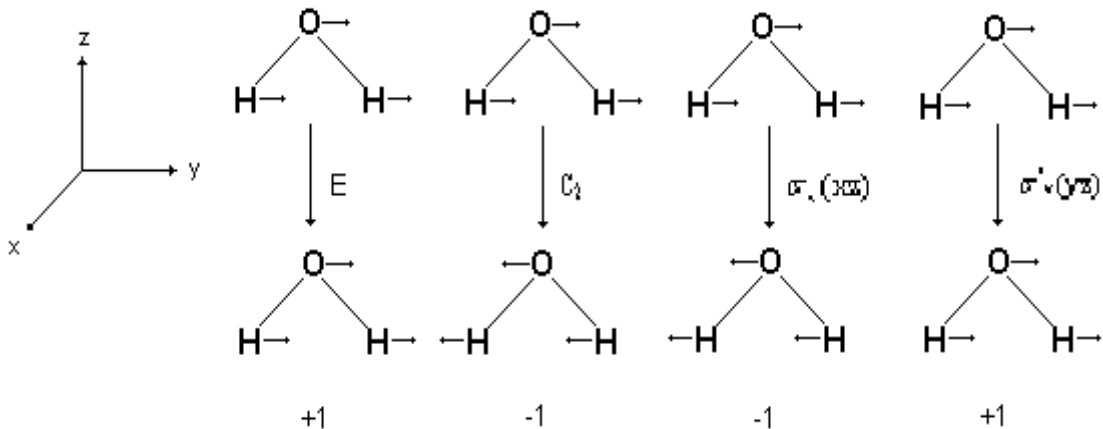
Sistema de coordenadas y elementos simétricos de la molécula de agua.

1) Grupo puntual y tabla de caracteres:

Analizando los elementos simétricos de la molécula de agua, se encuentra que tiene un eje C_2 , dos planos σ_v y de hecho la identidad E. este grupo de 4 elementos simétricos caracterizan al grupo puntual C_{2v} .

$$C_{2v} = E, C_2, \sigma_v(xz), \sigma'_v(yz)$$

Ahora, consideremos la traslación de la molécula sobre el eje "y", donde la dirección será representada por vectores unitarios sobre los átomos, e imaginamos como cambiarían cuando sufran las operaciones simétricas de C_{2v} .

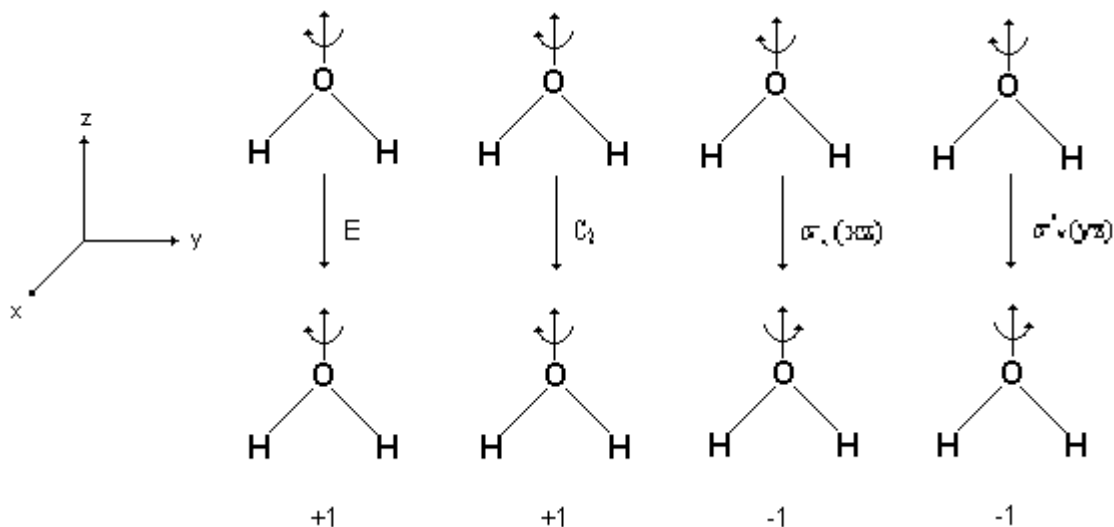


Efectos de operaciones simétricas en C_{2v} , traslación a lo largo del eje "y".

Observando en la figura anterior; la identidad (E) no altera la posición de las flechas (+1). La rotación alrededor del eje C_2 causa al vector +y a cambiar a -y, entonces es (-1). La reflexión en el plano $\sigma_v(xz)$ causa a +y a cambiar a -y (-1), pero la reflexión en el plano de la molécula, $\sigma_v(yz)$, resulta en que los vectores no cambian (+1). El grupo de las 4 etiquetas (+1, -1, -1, +1) generados en este análisis constituye una representación irreducible en el grupo puntual C_{2v} .

Un vector unitario en la dirección "+x", las etiquetas +1, -1, +1, y -1 son generadas. Un vector en la dirección "+z" no será cambiado por ninguno de las operaciones simétricas y será descrito por el grupo: +1, +1, +1, +1.

Se genera la cuarta representación irreducible al considerar la rotación de la molécula alrededor del eje "z", como se aprecia en la siguiente figura:



Efectos de operaciones simétricas en C_{2v} , rotación alrededor del eje "z".

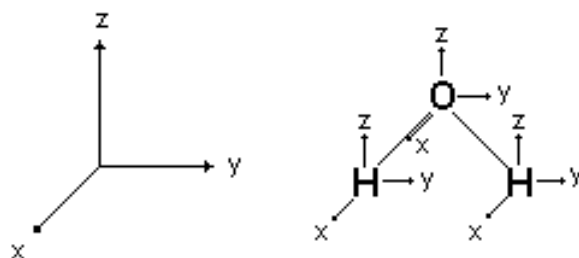
Ambas operaciones, E y C_2 dejan la dirección sin cambio (+1), pero la reflexión en algún plano causa una inversión en el sentido de la flecha (-1). El resultado es +1, +1, -1, y -1.

Muchas de las propiedades simétricas de un grupo puntual, incluyendo sus operaciones características y representaciones irreducibles, son presentadas en una tabla.

C_{2v}	E	$C_2 \sigma_v(xz)$	$\sigma_v(yz)$		
A_1	1	1	1	z	x^2, y^2, z^2
A_2	1	1	-1	R_z	xy
B_1	1	-1	1	x, R_y	xz
B_2	1	-1	-1	y, R_x	yz

2) Representación reducible:

Se representa los grados de libertad para cada átomo con los vectores de desplazamientos cartesianos, en donde los vectores "z" son paralelos al eje de rotación de más alto giro de la molécula.



Vectores de desplazamiento cartesianos para H_2O .

Los caracteres de la representación reducible son determinados al considerar los efectos combinados de cada operación simétrica sobre los vectores atómicos.

En la molécula de agua los átomos que no cambian para las operaciones E y $\sigma_v(yz)$ son los tres átomos y para las otras dos operaciones, solamente el oxígeno se mantiene sin cambio.

La contribución para cada átomo se obtiene, +3 para la operación de identidad porque los tres vectores no son afectados. En el caso de C_2 , el vector “z” sobre el átomo de oxígeno permanece estacionario mientras los vectores “x” y “y” son movidos a “-x”, y “-y”, respectivamente, produciendo un valor de -1.

Derivación de la representación reducible para la molécula de agua:

	E	$C_2\sigma_v(xz)$	$\sigma_v(yz)$
átomo sin cambio	3	1	1
Contribución por átomo	3	1	1
	3	-1	1
	1		
Γ_{tot}	9	-1	1
	3		

Usando la formula de reducción,

$$a_m = \frac{1}{h} \sum_K n\chi(K)\chi_m(K). \quad (A1-1)$$

Para descomponer la representación, se debe de aplicar a cada uno de las cuatro representaciones irreducibles en el grupo puntual C_{2v} :

$$A_1: a_m = (1/4)[(9)(1)(1) + (-1)(1)(1) + (1)(1)(1) + (3)(1)(1)] = 3$$

$$A_2: a_m = (1/4)[(9)(1)(1) + (-1)(1)(1) + (1)(-1)(1) + (3)(-1)(1)] = 1$$

$$B_1: a_m = (1/4)[(9)(1)(1) + (-1)(-1)(1) + (1)(1)(1) + (3)(-1)(1)] = 2$$

$$B_2: a_m = (1/4)[(9)(1)(1) + (-1)(-1)(1) + (1)(-1)(1) + (3)(1)(1)] = 3$$

Así, la representación reducible es resuelta en: 3 A_1 , 1 A_2 , 2 B_1 , y 3 B_2 .

Para obtener de este grupo total las representaciones para la vibración, es necesario restar las representaciones para las otras dos formas de movimiento: rotación y traslación. Se pueden identificar en la tabla de caracteres de C_{2v} . Los tres modos de traslación pertenecerán a las mismas representaciones como las funciones básicas de "x", "y", y "z", y los modos de rotación se transformarán como R_x , R_y , y R_z .

$$\Gamma_{tot} = 3 A_1 + A_2 + 2 B_1 + 3 B_2$$

$$-[\Gamma_{trans} = A_1 + B_1 + B_2]$$

$$-[\Gamma_{rot} = A_2 + B_1 + B_2]$$

$$\Gamma_{vib} = 2 A_1 + B_2$$

Apéndice 2: Grupos funcionales en la química orgánica

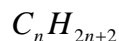
La química orgánica es la química de los compuestos del carbono. Se puede encontrar un curso completo sobre este tema en la literatura [121].

A. Grupos funcionales que forman parte del esqueleto molecular

a) Alcanos



Son hidrocarburos saturados, contienen únicamente enlaces sencillos Carbono-Carbono, acíclicos. Cumplen con la fórmula molecular:



donde, n es el número de átomos de carbono.

Para nombrar todos los hidrocarburos saturados se utiliza la terminación “-ano”. Los grupos que están unidos a la cadena principal se llaman sustituyentes.

Cicloalcanos

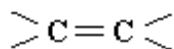
Son hidrocarburos saturados que tienen, al menos, un anillo formado con átomos de carbono, cíclicos. Los cicloalcanos se nombran colocando el prefijo “ciclo-“ al nombre del alcano que corresponde al mismo número de átomos de carbono del anillo.

Grupos Alquilo

Son sustituyentes saturados que sólo contienen carbono e hidrógeno. Un grupo alquilo se nombra a partir del nombre del alcano con el mismo número de átomos de carbono y se cambia la terminación “-ano” por “-ilo”.

Como símbolo general se utiliza la letra “R”.

b) Alquenos



Son hidrocarburos no saturados, contienen enlaces múltiples, enlaces dobles Carbono-Carbono, y por lo tanto contienen menos hidrógeno por carbono que los alcanos. Cumplen la fórmula molecular:



Para designar un doble enlace carbono-carbono, se utiliza la terminación “-eno”. Cuando se encuentran más de un doble enlace, la terminación cambia a “-dieno”, “-trieno”, etc.

Cuando en una misma molécula están presentes dos o más enlaces múltiples:

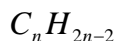
- Acumulados: $C = C = C = C$
- Conjugados: $C = C - C = C$
- Aislados: $C = C - C - C = C$

Los compuestos que contienen un doble enlace y un triple enlace se llaman “-eninos”.

c) Alquinos



Son hidrocarburos no saturados, contienen enlaces múltiples, enlaces triples Carbono-Carbono, y por lo tanto contienen menos hidrógeno por carbono que los alcanos. Cumplen la fórmula molecular:

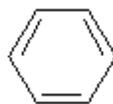


En un triple enlace $C \equiv C$ se utiliza la terminación “-ino”, dos triples enlace se usa “-diino”, etc.

Cuando en una misma molécula están presentes dos o más enlaces múltiples:

- Acumulados: $C \equiv C \equiv C \equiv C$
- Conjugados: $C \equiv C - C \equiv C$
- Aislados: $C \equiv C - C - C \equiv C$

d) Arenos



Son hidrocarburos aromáticos. Los seis hidrógenos del benceno son químicamente equivalentes.

Grupo Arilo:

Para representar a este grupo se utiliza el símbolo “**Ar**”. En los compuestos aromáticos, frecuentemente se presentan dos grupos, que tienen nombres muy especiales. Son el grupo fenilo y el grupo bencilo.

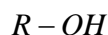
B. Grupos funcionales que contienen oxígeno

1. Con enlaces sencillos carbono-oxígeno

a) Alcoholes



Los alcoholes tienen la fórmula general:



Estructuralmente son semejantes al agua (H – O – H), en donde uno de los hidrógenos se ha reemplazado por un grupo alquilo (R). Su grupo funcional es el **grupo hidroxilo**: – OH

Según IUPAC, el grupo hidroxilo de los alcoholes se indica con la terminación “-ol”. Y comúnmente, se antepone la palabra “alcohol” al nombre del grupo alquilo, terminado en “-ílico”.

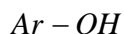
Clasificación de los alcoholes

Los alcoholes se clasifican como: primarios (1°), secundarios (2°) y terciarios (3°), lo que depende de que estén unidos por uno, dos o tres grupos alquilo al átomo de carbono que está unido al grupo hidroxilo.

b) Fenoles



Los fenoles tienen el mismo grupo funcional que los alcoholes (-OH), pero unido a un anillo aromático (Ar).



c) Éteres



Los éteres se denominan generalmente con el nombre de cada uno de los grupos alquilo (R) o arilo (R' o Ar), en orden alfabético, seguido por la palabra "éter".

Fórmula general:



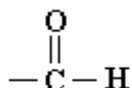
Grupo Alcóxido: – OR

c.1 Epóxidos (oxiranos): Son éteres cíclicos con un anillo de tres miembros que contiene un átomo de oxígeno.

c.2 Éteres Cíclicos: Se conocen éteres cíclicos con anillos mayores que los epóxidos, que son de tres miembros.

2. Con dobles enlaces carbono-oxígeno

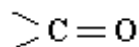
a) Aldehídos



Tienen por lo menos un átomo de hidrógeno unido al grupo carbonilo. El grupo restante puede ser otro átomo de hidrógeno o cualquier grupo orgánico.

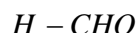


Grupo Carbonilo

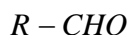


Es el grupo funcional más importante en química: C = O (CO, representa un doble enlace)

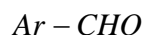
a.1 Formaldehído



a.2 Aldehído Alifático



a.3 Aldehído Aromático



Según IUPAC, la terminación característica para los aldehídos es “-al” (de la primera sílaba de aldehído) del alcano correspondiente. En el caso de los aldehídos cíclicos, se utiliza el sufijo “-carbaldehído”.

b) Cetonas

En las cetonas el átomo de carbono del grupo carbonílico está unido a otros dos átomos de carbono.

b.1 Cetona Alifática



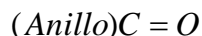
b.2 AlquilAril Cetona



b.3 Cetona Aromática



b.4 Cetona Cíclica



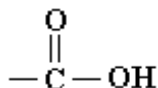
Según IUPAC, se utiliza la terminación “-ona” (de la última sílaba de cetona) del alcano correspondiente.

3. Con enlaces doble y sencillo carbono-oxígeno

a) Ácidos Carboxílicos

Los ácidos carboxílicos son los ácidos orgánicos más importantes; su grupo funcional es el grupo carboxilo. Este nombre surge de una contracción de las siguientes partes: el grupo carbonilo y el grupo hidroxilo.

Grupo Carboxilo: -COOH



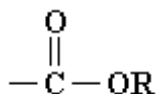
Fórmula molecular del ácido carboxílico:



Para los derivados de ácidos; el grupo “-OH”, de un ácido, se ha reemplazado por otras funciones: “-OR”, halógenos (X= Cl, Br) y otros grupos.

b) Éster

Los ésteres se obtienen al remplazar el grupo -OH de los ácidos por un grupo -OR

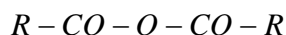
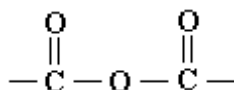


R y R' pueden ser alquilo o arilo.



c) Anhídridos de Ácido

Los anhídridos de ácido son derivados de ácidos que se forman al quitar una molécula de agua a dos grupos carboxílicos y al unir los fragmentos.



C. Grupos funcionales con nitrógeno

a) Aminas

Las aminas son compuestos orgánicos relacionados con el amoniac, que se forman al reemplazar uno, dos o los tres hidrógenos del amoniac (NH y NR, representan un enlace simple para este caso) por grupos orgánicos. Las aminas son bases.

E. Grupos funcionales con azufre

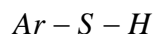
a) Tioles



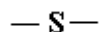
Los tioles son semejantes a los alcoholes y fenoles, excepto porque el oxígeno se ha reemplazado por azufre (S).



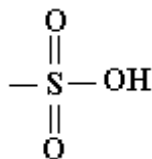
a.1 Tiofenoles



b) Tioéter



c) Ácido Sulfónico



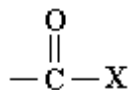
F. Grupos funcionales con halógenos

a) Halogenuro de Alquilo o de arilo



b) Halogenuro de Ácido (de Acilo)

Los halogenuros de acilo son los derivados más reactivos de los ácidos carboxílicos.



Apéndice 3: Frecuencias características Raman.

Esta información fue obtenida de D. Lin-Vien, N.B. Colthup, W.G. Fateley and J.G. Grasselli, "The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules", Academic Press, Boston, 1991.

Frecuencia (cm^{-1})	Vibración	Compuesto
0 – 500:		
178	Symmetric Cl_4 stretch	Cl_4 (solid)
160-200	Skeletal deformation	Aliphatic nitriles
267	Symmetric CBr_4 stretch	CBr_4 (liquid)
335-355	Skeletal deformation	Monoalkyl acetylenes
150-425	Chain expansion	n-Alkanes
437	Symmetric Cl_3 stretch	CHI_3 (in solution)
459	Symmetric CCl_4 stretch	CCl_4
483	Symmetric Cl_2 stretch	CH_2I_2
475-484	Skeletal deformation	Dialkyldiacetylenes
485-495	Cl stretch, T_{HHH} conformation	Tertiary iodoalkanes
485-495	Cl stretch, S_{HH} conformation	Secondary
iodoalkanes		
480-510	SS stretch	Dialkyltrisulfides
500 – 1000:		
500-510	Cl stretch, P_{H} conformation	Primary iodoalkanes
510-520	CBr stretch, T_{HHH} conformation	Tertiary bromoalkanes
523	Cl stretch	CH_3I
510-525	SS stretch	Dialkyl disulfides
539	Symmetric CBr_3 stretch	CHBr_3
535-540	CBr stretch, S_{HH} conformation	Secondary bromoalkanes
560-565	CBr stretch, P_{H} conformation	Primary bromoalkanes
560-570	CCl stretch, T_{HHH} conformation	Tertiary cloroalkanes
577	Symmetric CBr_2 stretch	CH_2Br_2
609	CBr stretch	CH_3Br
590-610	Cl stretch, P_{C} conformation	Primary iodoalkanes
605-615	CCl stretch, S_{HH} conformation	Secondary cloroalkanes
615-630	Ring deformation	Monosubstituted benzenes
640-655	CBr stretch, P_{C} conformation	Primary bromoalkanes
659	Symmetric CSC stretch	Pentamethylene sulfide
650-660	CCl stretch, P_{H} conformation	Primary cloroalkanes
668	Symmetric CCl_3 stretch	CHCl_3

688	Ring breathing	Tetrahydrothiophene
650-690	Pseudosymmetric N=C=S stretch	Alkyl isothiocyanates
703	Ring breathing	Cyclooctane
703	Symmetric CCl ₂ stretch	CH ₂ Cl ₂
709	CCl stretch	CH ₃ Cl
620-715	CS stretch (1 or more bands)	Dialkyl disulfides
720-730	CCl stretch, P _C conformation	Primary chloroalkanes
733	Ring breathing	Cycloheptane
690-735	C=S stretch	Thioamides, thioureas (solid)
585-740	CS stretch (1 or more bands)	Alkyl sulfides
650-760	Symmetric skeletal stretch	tert-Butyl group
730-760	C ₄ O skeletal stretch	Tertiary alcohols
700-785	Ring vibration	Alkyl cyclohexanes
802	Ring breathing	Cyclohexane (chair form)
815	Ring breathing	Piperidine
818	Ring breathing	Tetrahydropyran
820-825	C ₃ O skeletal stretch	Secondary alcohols
720-830	Ring breathing	Para-disubstituted benzenes
832	Ring breathing	Morpholine
832	Ring breathing	Thiophene
834	Ring breathing	1,4-Dioxane
749-835	Skeletal stretch	Isopropyl group
836	Ring breathing	Piperazine
840-851	Pseudosymmetric CON stretch	O-Alkyl hydroxylamines
866	Ring breathing	Cyclopentane
877	OO stretch	Hydrogen peroxide
899	Ring breathing	Pyrrolidine
850-900	Symmetric CNC stretch	Secondary amines
890-900	Ring breathing	Alkyl cyclopentanes
837-905	CC skeletal stretch	n-Alkanes
906	ON stretch	Hydroxylamine
914	Ring breathing	Tetrahydrofuran
830-930	Symmetric COC stretch	Aliphatic ethers
933	Ring breathing	Alkyl cyclobutanes
939	Ring breathing	1,3-Dioxolane
992	Ring breathing	Pyridine
992	Ring breathing	Benzene
985-1000	Trigonal ring breathing	2-and4-Substituted pyridines
1000 – 1500:		
1001	Ring breathing	Cyclobutane
990-1010	Trigonal ring breathing	Mono-,meta- benzenes
1026	Ring breathing	Trimethylene imine
1029	Ring breathing	Trimethylene oxide
1030	Trigonal ring breathing	Pyridine
1010-1030	Trigonal ring breathing	3-Substituted pyridines
1015-1030	In-plane CH deformation	Monosubstituted benzenes

990-1040	Ring vibration	Pyrazoles
1020-1060	Ring vibration	Orthodisubstituted
benzene		
1065	C=S stretch	Ethylene trithiocarbonate
1040-1070	S=O stretch (1 or 2 bands)	Aliphatic sulfoxides
1111	NN stretch	Hydrazine
1112	Ring breathing	Ethylene sulfide
1130	Pseudosymmetric C=C=O stretch	Ketene
1100-1130	Symmetric C=C=C stretch (2 bands)	Allenes
1140	Ring breathing	Furan
1144	Ring breathing	Pyrrole
1125-1145	Symmetric SO ₂ stretch	Dialkylsulfones
950-1150	CC stretches	n-Alkanes
1165-1172	Symmetric SO ₂ stretch	Alkyl sulfonates
1188	Ring breathing	Cyclopropane
1188-1196	Symmetric SO ₂ stretch	Alkyl sulfates
1205	C ₆ H ₅ -C vibration	Alkyl benzenes
1212	Ring breathing	Ethylene imine (aziridine)
1200-1220	Ring vibration	1,2-dialkyl
cyclopropanes		
1200-1230	Ring vibration	Para-disubstituted
benzenes		
1266	Ring breathing	Ethylene oxide (oxirane)
1251-1270	In-plane CH deformation	cis-Dialkylethylenes
1276	Symmetric N=N=N stretch	CH ₃ N ₃
1240-1280	Ring stretch	Epoxy derivatives
1275-1282	Symmetric NO ₂ stretch	Alkyl nitrates
1280-1300	CC bridge bond	Biphenyls
1295-1305	CH ₂ in-phase twist	n-Alkanes
1175-1310	CH ₂ twist and rock	n-Alkanes
1250-1310	Amide III band	Secondary amides
1290-1314	In-plane CH deformation	trans-Dialkylethylenes
1320	Ring vibration	1,1-Dialkyl
cyclopropanes		
1330-1350	CH deformation	Isopropyl group
1345-1355	Symmetric NO ₂ stretch	Tertiary nitroalkanes
1360-1375	Symmetric NO ₂ stretch	Secondary nitroalkanes
1368-1385	CH ₃ symmetric deformation	n-Alkanes
1370-1390	Ring stretch	Naphthalenes
1380-1395	Symmetric NO ₂ stretch	Primary nitroalkanes
1385-1415	Ring stretch	Anthracenes
1400-1415	Symmetric CO ₂ ⁻ stretch	α amino acids
1340-1440	Symmetric CO ₂ ⁻ stretch	Carboxylate ions
1442	N=N stretch	Azobenzene
1398-1443	Ring stretch	2-substituted thiophenes
1400-1450	Pseudosymmetric N=C=O stretch	Isocyanates
1465-1466	CH ₃ deformation	n-Alkanes

1446-1473	CH ₃ , CH ₂ deformations	n-Alkanes
1460-1480	Ring stretch	2-Furfurylidene group
1470-1480	OCH ₃ , OCH ₂ deformations	Aliphatic ethers
1500	Symmetric C=C stretch	Cyclopentadiene
1500 – 2000:		
1490-1515	Ring stretch	2-Furfuryl group
1535-1545	Antisymmetric NO ₂ stretch	Tertiary nitroalkanes
1548	N=N stretch	1-Pyrazoline
1550-1555	Antisymmetric NO ₂ stretch	Secondary nitroalkanes
1550-1560	Antisymmetric NO ₂ stretch	Primary nitroalkanes
1566	C=C stretch	Cyclobutene
1573	N=N stretch	Azomethane (in solution)
1575	Symmetric C=C stretch	1,3-Cyclohexadiene
1465-1581	C=C stretch	Iodoalkenes
1547-1596	C=C stretch	Bromoalkenes
1614	C=C stretch	Cyclopentene
1571-1616	C=C stretch	Chloroalkenes
1540-1620	Three or more coupled C=C stretch	Polyenes
1623	C=C stretch	Ethylene (gas)
1550-1630	Ring stretches (doublet)	Benzene derivative
1622-1634	Antisymmetric NO ₂ stretch	Alkyl nitrates
1637	Symmetric C=C stretch	Isoprene
1638	C=O stretch	Ethylene dithiocarbonate
1647	C=C stretch	Cyclopropene
1638-1648	C=C stretch	H ₂ C=CHR
1640-1648	N=O stretch	Alkyl nitrites
1625-1649	C=C stretch	Allyl derivatives
1590-1650	NH ₂ scissors	Primary amines
1642-1652	C=N stretch	Thiosemicarbazones (solid)
1649-1654	Symmetric C=O stretch	Carboxylic acids
1656	C=C stretch	Cyclohexene, cycloheptene
1644-1658	C=C stretch	R ₂ C=CH ₂
1610-1660	C=N stretch	Hydrazones (solid)
1649-1660	C=N stretch	Aldoximes
1650-1660	Amide I band	Secondary amides
1654-1660	C=C stretch	cis-Dialkylethylenes
1636-1663	Symmetric C=N stretch	Aldazines, ketazines
1650-1665	C=N stretch	Semicarbazones (solid)
1652-1666	C=N stretch	Ketoximes
1630-1670	Amide I band	Tertiary amides
1655-1670	Conjugated C=O stretch	Uracil, cytosine, guanine
1672	Symmetric C=O stretch	Formic acid
1666-1673	C=N stretch	Aldimines
1675	Symmetric C=O stretch	Acetic acid
1665-1676	C=C stretch	trans-Dialkylethylenes
1664-1678	C=C stretch	Trialkylethylenes

1679	C=C stretch	Methylene cyclobutane
1665-1680	C=C stretch	Tetraalkylethylenes
1636-1686	Amide I band	Primary amides (solids)
1651-1687	C=C stretch	Alkylidenecyclopentanes
1644-1689	C=C stretch	Monofluoroalkenes
1695	Nonconjugated C=O stretch	Uracil derivatives
1694-1712	C=C stretch	RCF=CFR
1715-1720	C=O stretch	O-Alkyl formates
1700-1725	C=O stretch	Aliphatic ketones
1727-1734	C=O stretch	O-Alkyl propionates
1736	C=C stretch	Methylene cyclopropane
1714-1739	C=C stretch	C=CF ₂ derivatives
1720-1740	C=O stretch	Aliphatic aldehydes
1734-1741	C=O stretch	O-Alkylacetates
1729-1743	C=O stretch	Cationic α amino acids
1744	C=O stretch	Cyclopentanone
1730-1770	C=O stretch	Halogenated aldehydes
1782	C=O stretch	Cyclobutanone
1792	C=C stretch	F ₂ C=CFCH ₃
1795	C=O stretch	Ethylene carbonate
1800	C=C stretch	F ₂ C=CF ₂ (gas)
1799-1805	Symmetric C=O stretch	Noncyclic anhydrides
1807	C=O stretch	Phosgene
1788-1810	C=O stretch	Acid halides
1820	Symmetric C=O stretch	Acetic anhydride
1840-1870	Symmetric C=O stretch	ring cyclic anhydrides
1958-1964	Antisymmetric C=C=C stretch	Allenes
1974	C \equiv C stretch	Acetylene (gas)
2000 – 2500:		
2049	Pseudoantisymmet C=C=O stretch	Ketene
2094	C \equiv N stretch	HCN
2104	Antisymmetric N=N=N stretch	CH ₃ N ₃
2140-2156	C \equiv N stretch	Alkyl thiocyanates
2100-2160	C \equiv C stretch	Alkyl acetylenes
2134-2161	N \equiv C stretch	Aliphaticisonitriles
2172	Symmetric C \equiv C-C \equiv C stretch	Diacetylene
2000-2220	C \equiv N stretch	Dialkylcyanamides
2100-2220	Pseudoantisymmet N=C=S stretch	Alkyl isothiocyanates
2232-2251	C \equiv N stretch	Aliphatic nitriles
2259	C \equiv N stretch	Cyanamide
2251-2264	Symmetric C \equiv C-C \equiv C stretch	Alkyl diacetylenes
2250-2300	Pseudoantisymmet N=C=O stretch	Isocyanates
2231-2301	C \equiv C stretch (2 bands)	R-C \equiv C-R'
2233-2316	C \equiv C stretch (2 bands)	R-C \equiv C-CH ₃
2500 – 3000:		

2560-2590	SH stretch	Thiols
2700-2850	CHO group (2 bands)	Aliphatic aldehydes
2849-2861	Symmetric CH ₂ stretch	n-Alkanes
2883-2884	Symmetric CH ₃ stretch	n-Alkanes
2912-2929	Antisymmetric CH ₂ stretch	n-Alkanes
2965-2969	Antisymmetric CH ₃ stretch	n-Alkanes
2974-2986	Symmetric NH ₃ ⁺ stretch	Alkyl ammonium chlorides
2980-2990	Symmetric =CH ₂ stretch	C=CH ₂ derivatives
3000 – 3400:		
3026	Symmetric =CH ₂ stretch	Ethylene (gas)
3000-3040	CH stretch	C=CHR derivatives
3057	Aromatic CH stretch	Alkyl benzenes
3062	CH stretch	Benzene
3070-3095	Antisymmetric =CH ₂ stretch	C=CH ₂ derivatives
3000-3100	Aromatic CH stretch	Benzene derivatives
3020-3100	CH ₂ stretches	Cyclopropane
3103	Antisymmetric =CH ₂ stretch	Ethylene (gas)
3154-3175	Bonded NH stretch	Pyrazoles
3145-3190	Bonded symmetric NH ₂ stretch	Primary amides
3290-3310	Bonded NH stretch	Secondary amides
3250-3300	Bonded symmetric NH ₂ stretch	Primary amines
3300-3335	≡CH stretch	Alkyl acetylenes
3300-3350	Bonded NH stretch	Secondary amines
3325-3355	Bonded antisymmetric NH ₂ stretch	Primary amides
3374	CH stretch	Acetylene (gas)
3340-3380	Bonded OH stretch	Aliphatic alcohols
3330-3400	Bonded antisymmetric NH ₂ stretch	Primary amines

Apéndice 4: Procesos de interacción luz-materia.

El estudio de la interacción entre radiación electromagnética y materia representa el fundamento de cualquier tipo de espectroscopia. Se hace incidir radiación electromagnética (de características conocidas), sobre el sistema que se desea investigar. En base a los cambios inducidos en las características de la radiación electromagnética es posible inferir información sobre la estructura del sistema estudiado.

La interacción radiación-materia puede ocurrir en dos formas:

i. Absorción

La materia capaz de experimentar procesos de absorción en su interacción con la radiación electromagnética se compone de grupos antenas (cromóforos), los cuales permiten la absorción de luz. Si la energía del fotón es igual o mayor que la diferencia

entre dos niveles electrónicos del cromóforo, un electrón pasa a un estado electrónico de mayor energía. Durante este proceso el cromóforo experimenta una transición de dipolo eléctrico. El cuadrado del momento dipolar de transición es proporcional a la intensidad de absorción.

En un proceso de absorción de luz UV/visible se producen transiciones en las que se producen cambios entre niveles electrónicos y vibracionales (vibrónicos).

Una molécula que se encuentra en un estado electrónico excitado, regresará a su estado fundamental (en una fracción de segundo), de las siguientes maneras:

- a. Procesos intra-moleculares.

Transiciones radiativas: Fluorescencia, fosforescencia, luminiscencia.

- b. Procesos inter-moleculares (ver figura 6-1.)

Transferencia de energía el estado excitado de la molécula transmite su energía a un estado electrónico más bajo de una segunda molécula; la segunda molécula es excitada a un estado electrónico superior.

Transferencia electrónica un donador fotoexcitado interactúa con el estado fundamental de una molécula aceptora.

Relajación vibracional si la molécula tiene un exceso de energía vibracional, puede volver a su estado vibracional más bajo de cierto estado electrónico al sufrir colisiones con otras moléculas

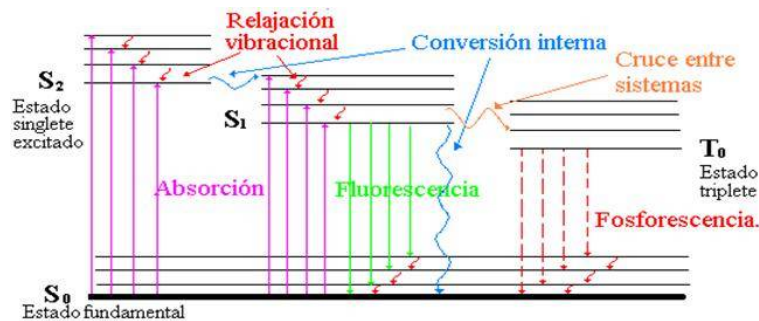


Figura 6-1 Niveles electrónicos para procesos de Absorción, Fluorescencia y Fosforescencia.

ii. Dispersión

Cuando la radiación electromagnética interactúa con los electrones del sistema, se inducen oscilaciones periódicas de dichos electrones, lo que a su vez produce momentos eléctricos oscilantes. Así se generan fuentes que emiten radiación, aunque propiamente lo que ocurre es que son fuentes que re-emiten la radiación incidente: a este fenómeno se le conoce como dispersión. [122]

Los procesos de dispersión de luz son de dos tipos:

- a. Elástica (Rayleigh) La luz dispersada tiene la misma longitud de onda que la radiación incidente.
- b. Inelástica (Raman) La longitud de onda de la luz dispersada es diferente con respecto a la que tenía la radiación incidente (en la figura 6-2 se presenta un esquema de los procesos de dispersión Rayleigh y Raman en los niveles de energía de la molécula) Hay dos tipos de dispersión inelástica:

- i. Dispersión Raman Stokes. La luz incidente cede parte de su energía a la molécula con que interaccionó. La luz dispersada tiene menor energía que la luz incidente.
- ii. Dispersión Raman Anti-Stokes. La luz incidente absorbe energía de la molécula, por lo tanto la luz dispersada tiene mayor energía que la luz incidente.

En la figura 6-2 se muestran los diagramas de Jablonski para los procesos de dispersión de luz. Se puede ver que para el proceso Rayleigh (dispersión inelástica) la molécula va del estado base a un estado virtual y decae al mismo estado base. En el proceso Raman Stokes la molécula parte de un estado base cuántico vibracional de baja energía, y dado que la energía de la luz incidente no es suficiente para alcanzar un nivel electrónico de mayor energía, llega a un estado virtual pero no decae al estado en que se encontraba inicialmente; en este caso la molécula absorbió energía del fotón incidente. Para que ocurra un proceso de dispersión Raman Anti-Stokes es necesario que la molécula se encuentre en un estado electrónico distinto al estado base; la molécula pasa a un estado virtual y decae a un estado electrónico de más baja energía al que se encontraba inicialmente: el fotón incidente tomó parte de la energía con que contaba la molécula.

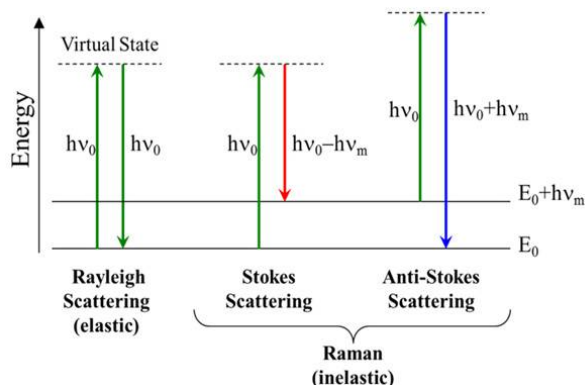


Figura 6-2 Procesos de dispersión inelástica de la luz: Rayleigh, Stokes y Anti-Stokes.

Las espectroscopias vibracionales (Raman e IR) ocurren gracias a procesos de absorción-dispersión de luz. Para que ocurra un proceso Raman es necesario que el haz incidente sobre la molécula cambie la polarizabilidad de la misma. Los procesos IR ocurren si el momento dipolar permanente de la molécula cambia debido a la interacción con la radiación.

El efecto Raman ocurre aproximadamente para 1 en 1×10^6 fotones, lo que significa que la mayor parte de la luz dispersada sale con la misma longitud de onda que la luz incidente. No fue sino hasta la década de 1960 (cuando surge el Láser) que se pudo obtener algo más cercano a un haz monocromático de luz, lo que permitió observar el efecto Raman.

El físico hindú C.V. Raman describió este tipo de dispersión [88], por lo que le fue entregado el premio Nobel de física en 1930 (Figura 6-3).

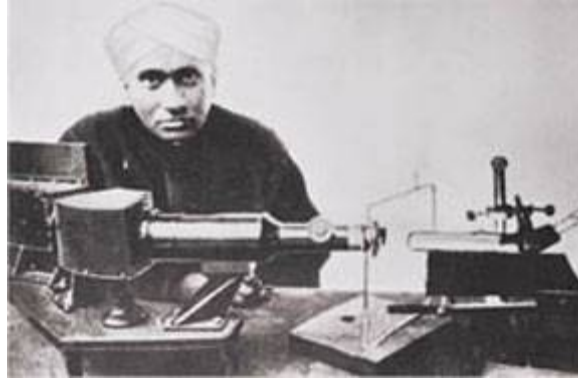


Figura 6-3 C.V. Raman, físico hindú.

Apéndice 5: Sección transversal de la dispersión Raman

Se define la sección [123] transversal σ [m^2] como la señal producida en un cierto proceso, con relación a la potencia incidente sobre la molécula.

$$[\sigma] = \frac{\text{Potencia emitida}}{\text{Potencia}_{\text{incidente sobre un área de la molécula}}} = \frac{W}{W/m^2} = m^2 \dots\dots\dots \text{Ecuación 6-1}$$

La propiedad σ es particular de cada molécula. Por ejemplo $\sigma_{\text{absorción}}$ de una molécula representa el área de la molécula que absorberá el haz incidente. Comúnmente las unidades de σ son cm^2 . A pesar de que σ está definido para una sola molécula, en la práctica están involucradas más de una. El concepto de sección transversal permite comparar la eficiencia relativa entre diferentes procesos ópticos: es una comparación entre la cantidad de fotones que llegan a la molécula durante cada proceso.

El concepto de sección transversal también se puede asociar con la idea de un proyectil impactando sobre cierta área: de esta forma, la sección transversal se puede interpretar como el área efectiva con que cierto proyectil interactuar. Entre más grande sea el valor de sección transversal, es más probable que ocurra el evento de colisión. Dado que el proceso Raman ocurre por la dispersión de 1 fotón entre 1×10^7 incidentes, se puede inferir

que la sección transversal de los procesos Raman será menor con respecto a otros procesos ópticos

Comparando la sección transversal de dos procesos, la sección transversal de los procesos de fluorescencia es del orden de $1 \times 10^{-16} \text{ cm}^2$, mientras que la sección transversal de los procesos Raman está del orden de $1 \times 10^{-26} \text{ cm}^2$ y hasta $1 \times 10^{-31} \text{ cm}^2$.



Bibliografía

- [1] D. L. Jeanmaire y R. P. Van Duyne, «Surface raman spectroelectrochemistry,» *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, vol. 84, n° 1, pp. 1-20, 1977.
- [2] D. Glocker y S. Shah, «Handbook of Thin Film Process Technology,» *Institute of Physics*, vol. 1 y 2, 2002.
- [3] A. R. West, *Solid state chemistry and its applications*, John Willy & sons, 2003.
- [4] H. Bach y D. Krause, *Thin films on glass*, Springer, 1997.
- [5] R. Frainroze Bunshah, *Handbook of deposition technologies for films and coatings: science, technology, and applications.*, William Andrew, 1994.
- [6] H. J. Glaser, *Large Area Glass Coating*, Von Ardenne Anlagentechnik, 2000.
- [7] W. Kern y K. K. Schuegraf, «Deposition Technologies and Applications: Introduction and Overview,» de *Handbook of Thin Film Deposition Processes and Techniques (Second Edition)*, 2011, pp. 11-43.
- [8] J. E. Mahan, *Physical Vapor Deposition of Thin Films*, John Wiley & Sons, 2000.
- [9] D. M. Mattox, *Handbook of Physical Vapor Deposition (PVD) Processing*, Noyes Publications, 1998.
- [10] D. M. Mattox, *The Foundations of Vacuum Coating Technology*, Noyes Publications, 2003.
- [11] D. M. Mattox y V. Harwood Mattox, *50 Years Of Vacuum Coating Technology and the Growth of the Society of Vacuum Coaters*, Society of Vacuum, 2007.
- [12] W.-Y. Zhang y e. al., «Preparation and quality of SERS test strips,» *Chemical Journal of Chinese Universities*, vol. 34, n° 6, pp. 1385-1388, 2013.
- [13] P. Alessio y e. a. de Saja Saez, «Metal–Organic Semiconductor Nanostructures for Surface-

- Enhanced Raman Scattering,» *Applied Spectroscopy*, vol. 65, n° 2, pp. 36A-52A, 2011.
- [14] J. M. e. a. Oran, «Nanofabricated periodic arrays of silver elliptical discs as SERS substrates.,» *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 39, n° 12, p. 1811–1820, 2008.
- [15] W. D. Westwood, Sputter deposition, Education Committee, AVS, 2003.
- [16] C. e. a. FU, «Sputtering growth of seed Au nanoparticles for nanogap-assisted surface-enhanced Raman scattering (SERS) biosensing,» *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, vol. 8204, 2011.
- [17] J. e. a. Tang, «Facile fabrication of large-area and uniform silica nanospheres monolayer for efficient surface-enhanced Raman scattering,» *Applied Surface Science*, vol. 308, pp. 247-252, 2014.
- [18] K. e. a. Lee, «Tribological and corrosive properties of silver thin films prepared by e-beam ion plating method,» *Surface and Coatings Technology*, Vols. %1 de %2169-170, pp. 695-698, 2003.
- [19] H. e. a. Park, «Spin-cast thin silver film via transparent silver ink and its application: Nano-imprinted bragg gratings for long-range surface plasmon polaritons,» de *2010 10th IEEE Conference on Nanotechnology, NANO 2010*, 2010.
- [20] Christopher M.A. Brett and Ana Maria Oliveira Brett, *Electrochemistry- Principles, Methods, and Applications*, Oxford University Press , 1993.
- [21] Y. Kang y e. al., «SERS spectra of xanthomonas Oryzae pv. oryzae (Xoo) on nano silver film prepared by electrolysis method,» *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi/Spectroscopy and Spectral Analysis.*, vol. 30, n° 2, pp. 372-375, 2010.
- [22] M. Si, Y. Kang y R. Liu, «Surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectra of three kinds of azo-dye molecules on silver nanoparticles prepared by electrolysis,» *Applied Surface Science*, vol. 258, n° 15, pp. 5533-5537, 2012.
- [23] Y. e. a. Kang, «Surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectra of hemoglobin on nano silver film prepared by electrolysis method,» *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 41, n° 6, pp. 614-617, 2010.
- [24] R. Chamberlin y J. Skarman, «Chemical spray deposition process for inorganic films.,» *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 113, n° 1, pp. 86-89, 1966.
- [25] A. e. a. Semenova, «Unusual silver nanostructures prepared by aerosol spray pyrolysis,» *CrystEngComm*, vol. 15, n° 39, pp. 7863-7871, 2013.

- [26] M. e. a. Seol, «Multi-layer nanogap array for high-performance SERS substrate,» *Nanotechnology*, vol. 22, n° 23, 2011.
- [27] S. e. a. Chen, «Surface-enhanced Raman spectroscopy for characterization of nanodiamond seeded substrates and ultrananocrystalline diamond at the early-stage of plasma CVD growth process,» *Diamond and Related Materials*, vol. 24, pp. 161-166, 2012.
- [28] I. e. a. Hirabayashi, «High growth rate deposition techniques for coated conductors: Liquid phase epitaxy and vapor-liquid-solid growth,» de *IEEE Transactions on Applied Superconductivity*, 1999.
- [29] S. e. a. Sashital, «MULTILAYER AgGaS//2 STRUCTURE FOR INFRARED (2-10 μ M) ELECTRO-OPTIC TUNABLE FILTERS: FABRICATION AND PERFORMANCE.,» *Journal of Applied Physics*, vol. 59, n° 3, pp. 757-760, 1986.
- [30] C. e. a. Xu, «Electrochemical deposition of silver by using ionic liquids as additive and its surface-enhanced raman scattering effect.,» *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi/Spectroscopy and Spectral Analysis*, vol. 29, n° 11, 2009.
- [31] K. Kelly, E. Coronado, L. Zhao y G. Schatz, «The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment.,» *The journal of physical chemistry B*, vol. 107, n° 3, pp. 668-677, 2003.
- [32] A. Cerf, G. Molnár y C. Vieu, «Novel approach for the assembly of highly efficient SERS substrates.,» *ACS Applied Materials and Interfaces*, , vol. 1, n° 11, pp. 2544-2550, 2009.
- [33] M. Fan, G. Andrade y A. Brolo, «A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry,» *Analytica Chimica Acta*, vol. 693, n° 1-2, pp. 7-25, 2011.
- [34] F. Yap, P. Thoniyot, S. Krishnan y S. Krishnamoorthy, «Nanoparticle cluster arrays for SERS through direct self-assemble,» *ACS Nano*, vol. 6, pp. 2056- 2070, 2012.
- [35] M. Olson, A. Coskun, R. Klajn y e. al., «Assembly of polygonal nanoparticle clusters directed by reversible noncovalent bonding interactions.,» *Nano Letters*, vol. 9, n° 9, pp. 3185-3190, 2009.
- [36] R. Sardar y J. Shumaker-Parry, «Asymmetrically functionalized gold nanoparticles organized in one-dimensional chains,» *Nano Letters*, vol. 8, n° 2, pp. 731-736, 2008.
- [37] G. Chen, Y. Wang, L. Tan y e. al, «High-purity separation of gold nanoparticle dimers and trimers,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, n° 12, pp. 4218-4219, 2009.

- [38] J. Wang, L. Huang, L. Yuan y e. al, «Silver nanostructures arrays abundant in sub-5nm gaps as highly Raman-enhancing substrates.,» *Applied surface science*, vol. 258, n° 8, pp. 3519-3523, 2012.
- [39] L. Nataraj y S. Cloutier, «Highly ordered periodic array of metallic nanodots fabricated through template- assisted nanopatterning and its use for SERS of flexible crystalline-silicon nanomembranes.,» *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 42, n° 6, pp. 1294-1297, 2011.
- [40] S. Yang y Y. Lei, «Recent progress on surface pattern fabrications based on monolayer colloidal crystal templates and related applications,» *Nanoscale*, vol. 3, n° 7, pp. 2768-2782, 2011.
- [41] Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim y S. Skrabalak, «Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: simple chemistry meets complex physics?,» *Angewandte Chemie-International Edition*, vol. 48, n° 1, pp. 60-103, 2009.
- [42] R. Gordon, D. Sinton, K. Kavanagh y A. Brolo, «A New Generation of Sensors Based on Extraordinary Optical Transmission,» *Acc. Chem. Res.*, vol. 41, n° 8, pp. 1049-1057, 2008.
- [43] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L. Perelman, I. Itzkan y R. Dasari, «Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS),» *Physical Review Letters*, vol. 78, n° 9, pp. 1667-1670, 1997.
- [44] P. Lee y D. Meisel, «Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols.,» *The journal of physical chemistry*, vol. 86, n° 17, pp. 3391-3395, 1982.
- [45] C. Tulio, R. Rocha y D. Zanchet, «Growth Aspects of Photochemically Synthesized Silver Triangular Nanoplates.,» *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 7, n° 2, pp. 618-625, 2007.
- [46] M. Fan y A. Brolo, «Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit,» *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 11, n° 34, pp. 7381-7389, 2009.
- [47] F. Lee, K. Chao, K. Hsieh y K. Ou, «Fabrication of surface enhanced raman scattering (SERS)-active substrates by using dip-pen nanolithography,» *ECS Transactions*, vol. 50, n° 12, pp. 301-305, 2012.
- [48] A. Sánchez Iglesias, P. Aldanueva Potel, W. Ni, J. Pérez Juste, I. Pastoriza Santos, R. Alvarez Puebla, B. Mbenkum y L. Liz Marzán, «Chemical seeded growth of Ag nanoparticle arrays and their application as reproducible SERS substrates.,» *Nano Today*, vol. 5, n° 1, pp. 21-27, 2010.
- [49] L. Ru, P. Etchegoin, J. Grand, N. Felidj, J. Aubard, G. Levi, A. Hohenau y J. Krenn, «Surface enhanced Raman spectroscopy on nanolithography-prepared substrates.,» *Current Applied*

Physics, vol. 8, n° 3-4, pp. 467-470, 2008.

- [50] H. Huo, C. Wang, H. Ren, M. Johnson y M. Shen, «Surface enhanced raman scattering sensing with nanostructures fabricated by soft nanolithography.,» *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, vol. 46, n° 12, pp. 1182-1184, 2009.
- [51] J. Zhao, B. Frank, F. Neubrech, C. Zhang, P. Braun y H. Giessen, «Hole-mask colloidal nanolithography combined with tilted-angle-rotation evaporation: A versatile method for fabrication of low-cost and large-area complex plasmonic nanostructures and metamaterials.,» *Beilstein Journal of Nanotechnology.*, vol. 5, n° 1, pp. 577-586, 2014.
- [52] H. Ahn, P. Thiyagarajan, L. Jia, S. Kim, J. Yoon, E. Thomas y J. Jang, «An optimal substrate design for SERS: Dual-scale diamond-shaped gold nano-structures fabricated via interference lithography.,» *Nanoscale*, vol. 5, n° 5, pp. 1836-1842, 2013.
- [53] X. Hong y D. Du, «SERS activity of Au nanoparticle films.,» *Chinese Optics Letters.*, vol. 7, n° 4, pp. 355-356, 2009.
- [54] N. Borys y J. Lupton, «Surface-enhanced light emission from single hot spots in tollens reaction silver nanoparticle films: Linear versus nonlinear optical excitation,» *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 115, n° 28, pp. 13645-13659, 2011.
- [55] K. L. e. a. Norrod, «Quantitative Comparison of Five SERS Substrates: Sensitivity and Limit of Detection,» *Applied spectroscopy*, vol. 51, n° 7, p. 994–1001, 1997.
- [56] G. Herzberg, *Molecular Spectra and Molecular Structure, V-II Infrared and Raman Spectra of Poliatomic Molecules*, Krieger Publishing Company, Florida, 1991.
- [57] N. B. Colthup, L. H. Daly y S. E. Wiberley, *Introduction to infrared and Raman spectroscopy*, Academic Press, San Diego, California, 1990.
- [58] J. Laserna, *Modern Techniques in Raman Spectroscopy*, Baffins Lane, Inglaterra: John Wiley y Sons, 1996.
- [59] G. Turrell y J. Corset, *Raman Microscopy Developments and Applications*, San Diego, California: Academic Press, 1996.
- [60] E. D. Olsen, *Métodos ópticos de análisis*, Barcelona, España: Reverté, 1990.
- [61] R. L. Garrel, «Surface-enhanced Raman Spectroscopy,» *Anal. Chem.*, vol. 61, n° 6, pp. 401A-411A, 1989.

- [62] J. R. Ferraro, K. Nakamoto y C. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*, San Diego, California: Academic Press, 1994.
- [63] K. Nakamoto, *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. part A: Theory and applications in inorganic chemistry*, New York: Wiley, 1997.
- [64] K. Nakamoto, *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry*, New York: Wiley, 1997.
- [65] S. Mulvaney y C. Keating, «Raman spectroscopy.», *Anal. Chem.*, vol. 72, pp. 145R-157R., 2000.
- [66] D. J. Gardiner y P. R. Graves, *Practical Raman Spectroscopy*, Berlin, Alemania: Springer-Verlag, 1989.
- [67] C. Banwell y E. McCash, *Fundamentals of Molecular Spectroscopy*, Inglaterra: McGraw-Hill, 1994.
- [68] M. Delhaye y P. Dhameincourt, «Raman microprobe and microscope with laser excitation,» *J. Raman Spectrosc.*, vol. 3, p. 33, 1975.
- [69] F. Mirabella, *Modern Techniques in Applied Molecular Spectroscopy*, New York, USA: John Wiley y Sons, 1998.
- [70] A. Raza y B. Saha, «In situ silver nanoparticles synthesis in agarose film supported on filter paper and its application as highly efficient SERS test stripes.», *Forensic Science International.*, vol. 237, p. e42–e46, 2014.
- [71] e. a. Yang, «Controlled fabrication of silver nanoneedles array for SERS and their application in rapid detection of narcotics.», *Nanoscale*, pp. 2663-2669, 2012.
- [72] e. a. Sägmüller, «Application of SERS spectroscopy to the identification of (3,4-methylenedioxy)amphetamine in forensic samples utilizing matrix-stabilized silver halides.», *Analyst*, vol. 126, n° 11, pp. 2066-2071, 2001.
- [73] L. Beqa y A. K. Singh, «Chemically attached gold nanoparticle–carbon nanotube hybrids for highly sensitive SERS substrate.», *Chemical Physics Letters.*, vol. 512, n° 4-6, p. 237–242, 2011.
- [74] S. Lee y M. Gwan Hahm, «Utilizing 3D SERS Active Volumes in Aligned Carbon Nanotube Scaffold Substrates.», *Advanced Materials.*, vol. 24, n° 38, p. 5261–5266, 2012.

- [75] S. Lefrant, «Raman and SERS studies of carbon nanotube systems.,» *Current Applied Physics*, vol. 2, p. 479–482, 2002.
- [76] S. Lefrant, J. Buisson y e. al., «Study of interactions in carbon nanotubes systems by using Raman and SERS spectroscopy.,» *Synthetic Metals.*, vol. 139, n° 3, pp. 783-785, 2003.
- [77] L. H. Oakley, D. M. Fabian y e. al., «Pretreatment Strategies for SERS Analysis of Indigo and Prussian Blue in Aged Painted Surfaces.,» *Analytical Chemistry*, vol. 84, n° 18, p. 8006–8012, 2012.
- [78] D. Lau, M. Livett y S. Praver, «Application of surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) to the analysis of natural resins in artworks.,» *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 39, n° 4, p. 545–552, 2008.
- [79] J. L. Pérez Mazariego, «Caracterización de analgésicos comunes mediante espectroscopia Raman,» 2000.
- [80] E. Smith, G. McNay y e. al., «New developments in SERS for the pharmaceutical industry.,» *Innovations in Pharmaceutical Technology.*, n° 34, pp. 52-56, 2010.
- [81] M. Gamberini, C. Baraldi y e. al., «Spectral analysis of pharmaceutical formulations prepared according to ancient recipes in comparison with old museum remains.,» *Source of the Document Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 401, n° 6, pp. 1839-1846, 2011.
- [82] K. Kumar Maiti y U. Dinish, «Development of biocompatible SERS nanotag with increased stability by chemisorption of reporter molecule for in vivo cancer detection.,» *Biosensors and Bioelectronics.*, vol. 26, n° 2, p. 398–403, 2010.
- [83] H. Wang y T. Vo Dinh, «Plasmonic Coupling Interference: a new approach for cancer diagnostics using SERS detection.,» *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE.*, vol. 8214, n° 821405, pp. 1-8, 2012.
- [84] B. Wopenka y J. D. Pasteris, «Raman intensities and detection limits of geochemically relevant gas mixtures for a laser Raman microprobe,» *Anal. Chem.*, vol. 59, pp. 2165-2170., 1987.
- [85] R. T. Packard y R. L. McCreery, «High-sensitivity normal and resonance Raman spectroscopy applications to transient electrochemistry.,» *Anal. Chem.*, vol. 59, pp. 2631-2637., 1987.
- [86] M. Fleischmann, P. J. Hendra y A. McQuillan, «Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode.,» *Chemical Physics Letters*, vol. 26, n° 2, pp. 163-166, 1974.
- [87] M. G. Albrecht y A. J. Creighton, «Anomalously intense raman spectra of pyridine at a silver

- electrode.,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 99, n° 15, pp. 5215-5217, 1977.
- [88] C. Raman y K. Krishnan, «A new type of secondary radiation.,» *Nature*, vol. 121, n° 3048, pp. 501-502, 1928.
- [89] V. Prokopec y e. al., «Spectroscopic study of SERS- and SEIRA-activity of copper large-scaled surface substrates prepared by electrochemical deposition: What is the role of oxidation-reduction cycle treatment?,» *Journal of Molecular Structure.*, vol. 993, n° 1-3, pp. 410-419, 2011.
- [90] K. Ou y T. e. a. Hsu, «Influence of drying treatment to electrochemically roughened Ag substrates on the corresponding surface-enhanced Raman scattering performances.,» *Materials Chemistry and Physics.*, vol. 135, n° 2-3, p. 892–896, 2012.
- [91] G. Kovacs y R. e. a. Loufty, «Distance dependence of SERS enhancement factor from Langmuir-Blodgett monolayers on metal island films: Evidence for the electromagnetic mechanism.,» *Langmuir*, vol. 2, n° 6, p. 689–694, 1986.
- [92] J. Kiser y B. Cullum, «Tunable fiber-optic imaging bundle sers substrates.,» *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE* , vol. 7313, pp. 1-8, 2009.
- [93] C. Douketis, T. L. Haslett, J. T. Stuckless, M. Moskovitz y V. M. Shalaev, «Direct and roughness-induced indirect transitions in photoemission from silver films.,» *Surface science letters*, vol. 297, n° 2, pp. 84-90, 1983.
- [94] X. Li y H. e. a. Hu, «Ordered array of gold semishells on TiO₂ spheres: An ultrasensitive and recyclable SERS substrate.,» *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 4, n° 4, p. 2180–2185, 2012.
- [95] Y. Yu y L. e. a. Gan, «Asymmetric microparticles and heterogeneous microshells via angled colloidal lithography.,» *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.*, vol. 405, n° 5, p. 51–58, 2012.
- [96] J. Mu y J. e. a. Li, «Hollow metallic pyramid plasmonic structures fabricated by direct laser writing and electron beam evaporation.,» *Microelectronic Engineering.*, vol. 110, pp. 307-310, 2013.
- [97] R. Kumar, H. Zhou y S. Cronin, «Surface-enhanced Raman spectroscopy and correlated scanning electron microscopy of individual carbon nanotubes.,» *Applied Physics Letters*, vol. 91, n° 223105, 2007.
- [98] J. Castro y M. e. a. López Ramírez, «Evidence of deprotonation of aromatic acids and amides adsorbed on silver colloids by surface-enhanced raman scattering.,» *Langmuir*, vol. 28, n° 24, pp. 8926-8932, 2012.

- [99] H. Endo y Y. e. a. Mochizuki, «Fabrication and functionalization of periodically aligned metallic nanocup arrays using colloidal lithography with a sinusoidally wrinkled substrate.,» *Langmuir*, vol. 29, n° 48, pp. 15058-15064, 2013.
- [100] E. Caballero Diaz, B. Simonet y M. Valcárcel, «Microextraction by packed sorbents combined with surface-enhanced Raman spectroscopy for determination of musk ketone in river water.,» *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 405, n° 23, pp. 7251-7257, 2013.
- [101] C. Domingo y V. e. a. Resta, «Pulsed laser deposited au nanoparticles as substrates for surface-enhanced vibrational spectroscopy.,» *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 111, n° 23, pp. 8149-8152, 2007.
- [102] A. Dhawan, Y. Zhang y e. al., «Nano-engineered surface-enhanced Raman scattering (SERS) substrates with patterned structures on the distal end of optical fibers.,» *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE*, vol. 6869, 2008.
- [103] Q. Min y M. e. a. Santos, «Localized Raman enhancement from a double-hole nanostructure in a metal film.,» *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 112, n° 39, pp. 15098-15101, 2008.
- [104] «Surface enhancement factors for Ag and Au surfaces relative to Pt surfaces for monolayers of thiophenol.,» *Applied Spectroscopy*, vol. 53, n° 10, pp. 1212-1221, 1999.
- [105] G. e. a. Kartopu, «Large-scale, reliable and robust SERS-active nanowire substrates prepared using porous alumina templates.,» *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 8, n° 2, pp. 931-935, 2008.
- [106] R. e. a. Pérez, «Study of experimental parameters for improved adsorbate detectability in SERS using etched silver substrates.,» *Surface and Interface Analysis*, vol. 30, n° 1, pp. 592-596, 2000.
- [107] H. e. a. Zhou, «New approach to fabricate nanoporous gold film.,» *Chinese Chemical Letters*, vol. 18, n° 3, pp. 365-368, 2007.
- [108] K. Wang y Y. Li, «Surfactant-aided surface-enhanced resonance Raman spectroscopic study of some anionic dye molecules.,» *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 27, n° 5, pp. 385-389, 1996.
- [109] Y. e. a. Ma, «Optimizing Au/Ag core-shell nanorods: Purification, stability, and surface modification.,» *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 16, n° 6, p. 2439, 2014.
- [110] W. e. a. Cho, «Ultrahigh-Density Array of Silver Nanoclusters for SERS Substrate with High Sensitivity and Excellent Reproducibility.,» *ACS nano*, vol. 6, n° 1, pp. 249-255, 2011.

- [111] S. e. a. Kostrewa, «Silver films on diamond particles as substrates for surface-enhanced Raman scattering.,» *Sensors and Actuators B: Chemical.*, vol. 51, n° 1-3, p. 292–297, 1998.
- [112] S. e. a. Zou, «Formation and stability of oxide films on platinum-group metals in electrochemical and related environments as probed by surface-enhanced Raman spectroscopy: Dependence on the chemical oxidant.,» *Langmuir*, vol. 16, n° 2, pp. 754-763, 2000.
- [113] S. e. a. Bilmes, «SERS from pyridine adsorbed on electrodispersed platinum electrodes.,» *Chemical Physics Letters.*, vol. 159, n° 1, pp. 89-96, 1989.
- [114] D. Wu y Y. Fang, «Surface-enhanced Raman scattering of a series of n-hydroxybenzoic acids (n = P, M and O) on the silver nano-particles.,» *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 60, n° 8-9, pp. 1845-1852, 2004.
- [115] D. Wu y Y. Fang, «The adsorption behavior of p-hydroxybenzoic acid on a silver-coated filter paper by surface enhanced Raman scattering.,» *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 265, n° 2, pp. 234-238, 2003.
- [116] F. J. García Vidal y L. M. Moreno, «Plasmones superficiales,» *Investigación y Ciencia*, Octubre 2008.
- [117] Z. Wang y L. Rothberg, «Silver nanoparticle coverage dependence of surface-enhanced Raman scattering.,» *Applied Physics B*, vol. 84, n° 1-2, pp. 289-293, 2006.
- [118] M. Meyer, «<http://www.anyvitamins.com/amino-acids-info.htm#links%20information%20on%20specific%20amino%20acids>,» Julio 2014. [En línea].
- [119] E. Araiza Reyna, R. Sato Berrú y O. A. Vázquez, «Quantification of Solid Residues by Raman Spectroscopy,» *Optics and Photonics Journal*, vol. 3, pp. 1-6, 2013.
- [120] G. Saini, S. Kaur, S. Tripathi, C. G. Mahajan, H. Thanga y A. Verma, «Spectroscopic studies of Rhodamine 6G dispersed in polymethylcianoacrilate,» *Spectrochimica Acta A*, vol. 61, pp. 653-658.
- [121] R. Thornton Morrison y R. Neilson Boyd, *Química Orgánica*, Wilmington, Delaware: Addison-Wesley Iberoamericana, 1990.
- [122] E. Hecht y A. Zajac, *Optics*, 4a ed., Addison Wesley, 2002.
- [123] E. Le Ru y P. Etchegoin, «Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy:,» *Access Online via Elsevier*, 2008.

- [124] J. Camden, J. Dieringer, J. Zhao y R. Van Duyne, «Controlled plasmonic nanostructures for surface-enhanced spectroscopy and sensing.,» *Acc Chem Res.*, vol. 41, n° 12, pp. 1653-1661, 2008.
- [125] L. e. a. He, «Gold coated zinc oxide nanonecklaces as a SERS substrate,» *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 11, n° 4, pp. 3509-3515, 2011.