



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Amplificación de la señal Raman con grafeno de
la rodamina 6G

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Físico

PRESENTA:

Emmanuel De los Santos Vázquez

TUTORA

Edna Magdalena Hernández González





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.

Hoja de datos del Jurado

1. Datos del alumno

De los Santos

Vázquez

Emmanuel

55 31 24 79 58

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Física

413095732

2. Datos del tutor

Dra

Edna Magdalena

Hernández

González

3. Datos del sinodal 1

Dra

María del Pilar

Carreón

Castro

4. Datos del sinodal 2

Dra

María Herlinda

Montiel

Sánchez

5. Datos del sinodal 3

Dr

Roberto Ysacc

Sato

Berrú

6. Datos del sinodal 4

Dr

Mathieu Christian Anne

Hautefeuille

7. Datos del trabajo escrito

Amplificación de la señal Raman

con grafeno de la rodamina 6G

111 p

2019

No he fallado, solo he encontrado 10,000 soluciones que no funcionan.
Thomas A. Edison

Agradecimientos

Agradezco al Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LU-CE) perteneciente al Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología, (ICAT-UNAM) por la caracterización de las muestras mediante la técnica Raman. En especial, agradezco a la Dra. Selene Islas y al Dr. Roberto Sato por toda la atención y apoyo brindado durante el desarrollo de este proyecto. Por otro lado, estoy muy agradecido con el laboratorio de Nanopelículas del Instituto de Ciencias Nucleares (ICN-UNAM) por permitir un espacio para el desarrollo y la preparación de las muestras de grafeno y rodamina-6G. En particular, reconozco la ayuda brindada por el Dr. Rafael O. Arcos-Ramos. Y finalmente, reconozco el apoyo del proyecto PAPPIT-TA101717 porque hizo posible el desarrollo y el financiamiento de este proyecto con el cual puedo concluir mi tesis de licenciatura.

Quiero expresar mi gratitud a la Dra. Edna M. Hernández por ser una excelente asesora académica, estoy seguro de que este escrito habla muy bien de la coordinación que tuvimos ambos, porque al final creo que formamos un gran equipo tutor-estudiante. También, quiero agradecer a la Dra. Laura Serkovic por todo el apoyo académico brindado durante el desarrollo de este proyecto. Por otro lado, doy gracias a todo el equipo del laboratorio de Nanopelículas (ICN-UNAM) entre los cuales se encuentra: la Dra. Pilar Carreón, Dra. Violeta Álvarez, M.C. Montserrat Miranda, I.Q. Socorro Cruz, por su comprensión y apoyo. Otro grupo muy importante donde me he podido desenvolver es el grupo de Óptica Cuántica (QO) de la facultad liderado por el Dr. Víctor Velázquez. Deseo de todo corazón, seguir trabajando con estos grupos de trabajos pues me han enseñado el trabajo en equipo y la interdisciplinariedad de la ciencia.

En mi etapa de estudiante en la facultad de Ciencias, agradezco a la Dra. Gabriela Murgía porque ha sido un pilar muy fuerte durante mi formación apoyándome tanto en el ámbito personal como el académico. Por otro lado, reconozco la labor de enseñanza de la Dra. Patricia Goldstein debido a que su clase de Fenómenos Colectivos han sido una de las clases que más he disfrutado en la facultad. De igual forma reconozco al Dr. Adolfo Cordero y la Dra. Beatriz Fuentes, ambos profesores de los laboratorios de Física Contemporánea, porque me instruyeron en el camino de la física experimental y me hicieron ver que es realmente increíble. Igualmente, mucho respeto al Dr. Atahualpa Solórzano porque me apoyo en un momento muy crítico y decisivo durante la elección de mi asesor de tesis, de verdad muchas gracias por haberme recomendado a una persona tan comprometida e increíble como la Dra. Edna. También, reconozco la labor de la Dra. Margarita Sánchez, nunca olvidare sus clases y la forma en que me apoyo durante mi primer Congreso Nacional de Física. El siguiente es el Dr. Jorge Chavéz

porque más que un profesor lo considero un gran amigo que me ha apoyado durante mi vida estudiantil. Por último, al matemático Luis Gallardo que aunque ya no este en este mundo estoy agradecido por siempre porque me impulsó a continuar con mis estudios en un momento difícil de mi vida.

Ahora es el momento de dedicarle todo este esfuerzo a mis padres: Celina y Bulmaro, siempre me han apoyado y brindado su cariño en los momentos difíciles durante la realización de toda mi carrera, creo firmemente que sin la habilidad para escribir heredada de mi madre y la creatividad heredada de mi padre nunca habría podido realizar un buen trabajo como este. Además agradezco en general a toda mi familia porque siempre me han apoyado emocionalmente y han confiado en el trabajo que he realizado durante toda mi vida.

Por último agradezco a las personas con las que pasé los mejores años de mi vida universitaria y es que me brindaron apoyo, risas, fiestas, ocurrencias, muchos memes y bailongos pero sobretodo me han regalado una gran amistad, ell@s son: Omar, Aurora, Carlos, Sheila, Alejandra, Soco, David, Oscar. También, gracias a este proyecto de tesis pude conocer grandes compañeros de trabajo como: Guillermo, Silvestre y Alan. Por último, mis grandes amig@s de la preparatoria que siempre me motivaban para continuar con la tesis, ya fuera con un café, una tlayuda, una plática o un meme, ell@s son: Canek, Ayelen, Iris, Sina y Rodrigo.

Índice general

Resumen	1
Introducción	3
1. Espectroscopia Raman	5
1.1. ¿ Qué es la Espectroscopia?	5
1.2. Breve descripción de tipos de transiciones.	6
1.2.1. Transiciones vibracionales	6
1.3. Espectroscopia Raman.	9
1.4. Reglas de selección para espectroscopia Raman.	10
1.4.1. Algunos modos normales de vibración comunes.	12
1.5. Arreglo experimental de espectroscopía Raman	14
1.5.1. Raman FT	14
1.5.2. Raman Dispersivo	15
2. Fluorescencia	21
2.1. Espectro de Emisión y Absorción de rodamina 6G	22
2.2. Sección transversal de fluorescencia y Raman	24
2.3. Fluorescencia y la espectroscopía Raman	26
2.4. Formas de suprimir fluorescencia	27
2.4.1. Transferencia de energía de resonancia de Förster	27
2.4.2. Transferencia de electrón fotoinducida (metal-molécula complejo)	28
3. Estructura y propiedades del grafeno	31
3.1. Estructura del grafeno	31
3.2. Modos normales de vibración del grafeno. (Raman)	33
3.3. Grafeno monocapa y multicapa	38
3.4. Dopamiento	40
4. Tipos de amplificación de señal Raman	43
4.1. SERS	44
4.1.1. Amplificación mediante mecanismo Electromagnético	44
4.1.2. Desventajas de SERS	45
4.2. GERS	46

4.2.1. Láser (energía de excitación)	47
4.2.2. Nivel de Fermi del grafeno	48
4.2.3. Molécula prueba	50
5. Experimento: GERS en rodamina 6G	57
5.1. Preparación del grafeno.	57
5.1.1. Procedimientos experimentales para la transferencia de grafeno.	58
5.2. Espectros Raman preliminares	60
5.2.1. Silicio con óxido de silicio	61
5.2.2. Grafeno sobre cobre	62
5.2.3. Espectro de grafeno en sustrato de Si/SiO ₂	63
5.2.4. Cristal de rodamina 6G	69
5.2.5. Rodamina 6G diluida	69
5.3. Deposición de rodamina 6G en grafeno	71
5.3.1. Diferentes concentraciones de rodamina 6G	73
5.3.2. Tiempo en disolución	74
5.4. Amplificación de señal Raman a partir de grafeno.	76
5.4.1. Gota de R6G sobre grafeno	76
5.4.2. Sumergimiento con PMMA y sin PMMA	77
5.4.3. Mapeo Raman	82
5.4.4. Amplificación de señal Raman en grafeno sobre cobre	84
Conclusiones	87
A. Símetria en moléculas	89
B. Ajuste de pico 2D de grafeno	91
C. Calibración de los espectros	93
Bibliografía	95

Resumen

En este proyecto, se decidió estudiar bajo el método espectroscópico GERS (amplificación de señal Raman usando grafeno) la molécula fluorescente rodamina 6G (R6G) debido a que se acopla tanto geoméricamente como electrónicamente con el grafeno lo que permite la supresión de la fluorescencia y amplifica la señal Raman de la molécula. Nosotros observamos este efecto GERS de la R6G en grafeno pristino sobre sustratos de Si/SiO₂ y cobre. Se determinaron las condiciones experimentales idóneas para observar la amplificación de la señal Raman. Con este fin se utilizaron distintos métodos para la deposición de la R6G en grafeno y se encontró que el método óptimo es sumergiendo el sustrato en R6G y después dando un lavado en agua destilada para evitar conglomerados de la molécula, también se descubrió que los parámetros adecuados para este estudio de equipo Raman dispersivo para un láser de 532 nm fue una potencia menor a 1 mW lo que evitó quemar la muestra y observar las bandas características Raman de R6G. Así mismo, se halló que cuando se utilizó PMMA para realizar la transferencia de grafeno (de Si/SiO₂ a Cu) no se observaba el efecto de amplificación de la señal Raman ni la supresión de la fluorescencia. Finalmente estudiar preliminarmente las condiciones experimentales bajo las cuales ocurre el fenómeno GERS, ayudarán para el estudio futuro de moléculas fluorescentes que no han sido analizadas bajo esta técnica espectroscópica.

Introducción

La espectroscopía Raman utiliza el esparcimiento de luz inelástica como una técnica que permite estudiar las propiedades vibracionales, de simetría y enlaces de una molécula o compuesto [1]. La radiación esparcida da lugar a fotones emergentes con una frecuencia mayor (Raman Anti-Stokes) o menor (Raman Stokes) respecto a los incidentes, el último es el más común en la literatura científica debido a que es el más probable bajo la estadística de Boltzmann. Adicionalmente el efecto de esparcimiento Raman es muy débil por lo que tuvieron que pasar muchas décadas, hasta el descubrimiento del láser y de sistemas de detección eficientes y más sensibles, como fotomultiplicadores o cámaras acopladas CCD, con el que se multiplicaron los trabajos en esta área y se incursionaron en nuevas aplicaciones [2], por ejemplo: Raman dispersivo, Raman espontáneo, Raman resonante, etc.

Actualmente, las áreas de aplicación de Raman incluyen el estudio de obras de arte y arqueología, biomoléculas y aplicaciones médicas, minerales y cerámicos, transiciones de fase, el estudio de materiales bidimensionales como el grafeno, etc. Si se pretende abundar en este tema algunas de estas referencias son de gran utilidad [3, 4].

Uno de los grandes retos en la espectroscopía Raman es suprimir la fluorescencia, que es una de las principales causas de ruido en el espectro. El uso de un láser continuo no permite separar los tiempos de vidas de la fluorescencia (de nanosegundos) y de dispersión Raman (de picosegundos) y por lo tanto la señal emitida por la fluorescencia, la cual es captada por los detectores, enmascara el espectro Raman, además, es más probable que se presente un evento de fluorescencia que uno de esparcimiento, de hecho, de cada 10^9 fotones incidentes, tan solo uno resulta ser esparcido [5]. En nuestros días, existen muchas formas de superar este reto, una de ellas consiste en el uso de longitudes de onda larga que no produzcan fluorescencia (Raman por transformada de Fourier) o el uso de nanopartículas metálicas y esta década se ha apostado por el uso de superficies bidimensionales, como el grafeno.

El uso de técnicas de amplificación para la señal Raman ha permitido superar estas limitaciones relacionadas al efecto débil del esparcimiento Raman o la fluorescencia que puedan presentar algunas muestras. SERS (Surface-enhanced Raman Spectroscopy, en inglés) consiste en el uso de sustratos metálicos como oro o plata que han permitido aumentar, en principio, la señal Raman en un orden de 10^6 gracias a un mecanismo de tipo electromagnético [2]. Otra técnica muy similar es TERS (Tip-Enhanced Raman Spectroscopy) que se basa en el uso de puntas de escala atómica para el aumento de señal Raman [6]. Por otro lado, en 2009 se descubrió una técnica de amplificación con grafeno, conocida como GERS, la cual presenta la ventaja de amplificaciones más

homogéneas respecto a SERS y por lo tanto más reproducibles, además permite el estudio de un mecanismo conocido como de «tipo químico». La interacción de la molécula y grafeno está descrita por las características de simetría y niveles de energía compatibles respecto a una energía de excitación láser [7].

GERS presentó una buena amplificación de la señal para moléculas que presentan fluorescencia[8]. Particularmente, la rodamina 6G (R6G) es una molécula, altamente fluorescente, que interacciona muy bien con el grafeno debido a las similitudes entre propiedades eléctricas, electrónicas y simétricas entre ambos. El reproducir esta técnica es un estudio preliminar para el estudio de otros compuestos, muy específicamente polímeros fluorescentes.

En el capítulo 1 se da una introducción de los tipos de transiciones entre estados cuánticos de una molécula, nos enfocamos en las transiciones de tipo vibracional. Después, se introduce a la teoría semi-clásica de la espectroscopía Raman originada por el esparcimiento inelástico de luz debido a una molécula. Esta radiación esparcida es colectada por un espectrómetro Raman y existen algunos montajes experimentales, en este capítulo se hace énfasis en los montajes de tipo dispersivo y transformada de Fourier.

En el capítulo 2, se detalla el fenómeno de fluorescencia y se presentan los espectros de absorción y emisión de la rodamina 6G, también se realiza la comparación entre los tiempos de vida y probabilidad de los fotones provenientes de la fluorescencia y dispersión Raman, esta gran diferencia entre ambos fenómenos ocasiona el opacamiento del espectro Raman debido a la fluorescencia.

En el capítulo 3, se presenta la estructura cristalina y del espacio recíproco del grafeno que definen las propiedades de energía de bandas y de dispersión de fonones en este material bidimensional, este último punto da lugar a modos normales de vibración muy particulares y visibles bajo Raman, que son estudiados y analizados a detalle en la sección.

En el capítulo 4, se introduce al lector a la amplificación Raman bajo un sustrato metálico, como plata u oro, después, se habla de la amplificación de señal Raman con el uso de grafeno como sustrato, se habla de propiedades y características que pueden lograr una buena interacción grafeno-molécula prueba.

En el capítulo 5, se analiza el espectro Raman de grafeno sobre Si/SiO₂ transferido con el uso y la ausencia de metacrilato (PMMA), posteriormente, se analizan las condiciones experimentales bajo la cual existe una amplificación del grafeno sobre rodamina 6G y finalmente se hace un mapeo Raman sobre una muestra de grafeno-Si/SiO₂ -rodamina 6G.

Finalmente, se dan las conclusiones generales del trabajo así como futuras perspectivas sobre este.

Capítulo 1

Espectroscopia Raman

1.1. ¿Qué es la Espectroscopia?

Cuando una onda electromagnética incide en un sistema de partículas cargadas como los electrones y núcleos que conforman a los átomos y moléculas, provoca una perturbación dependiente del tiempo que puede provocar transiciones entre los diferentes estados cuánticos del sistema. El estudio de estas transiciones cuánticas se puede realizar con la espectroscopía. Propongamos un modelo semiclassical para determinar la probabilidad que se produzcan ciertas transiciones en un material [5].

Para obtener la probabilidad de transición se realiza un tratamiento perturbativo de primer orden de la ecuación de Schrödinger dependiente del tiempo, considerando que la perturbación provocada por la onda electromagnética es pequeña, el operador hamiltoniano (\hat{H}) se puede escribir como:

$$\hat{H}(\mathbf{x}, t) = \hat{H}^{(0)}(\mathbf{x}) + \hat{H}'(\mathbf{x}, t) \quad (1.1)$$

donde $\hat{H}^{(0)}$ es el operador Hamiltoniano de un determinado átomo o molécula y \hat{H}' es el Hamiltoniano de la interacción entre la onda electromagnética y el átomo o molécula. En este caso, la probabilidad de que se produzca una transición del estado n al estado m se describe como [5]:

$$P_{n \rightarrow m}(t) = \frac{1}{\hbar^2} \left| \int_0^t H'_{mn}(t') e^{i\omega_{mn}t'} dt' \right|^2 \quad (1.2)$$

donde \hbar es la constante reducida de Plank, ω_{mn} y H'_{mn} se definen como:

$$\omega_{mn} = \frac{E_m^{(0)} - E_n^{(0)}}{\hbar} \quad (1.3)$$

$$H'_{mn}(t) = \langle \psi_m^{(0)} | \hat{H}'(x, t) | \psi_n^{(0)} \rangle \quad (1.4)$$

Hágase notar que $H'_{mn}(t)$ está asociado al acoplamiento perturbativo de los estados inicial y final del sistema. Cuando el sistema regresa a su estado inicial se produce un

fonón o un fotón con frecuencia ν . Según el tipo de espectroscopía que se esté utilizando, podría interesarnos el fotón emergente o una relación entre el fotón incidente y el fotón emergente dependiendo el proceso que estemos estudiando.

Sea ν la frecuencia que nos interesa estudiar. En espectroscopía la frecuencia de los fotones analizados ($\bar{\nu}$) se suele presentar en cm^{-1} y se define como $\bar{\nu} = 1/\lambda$, en consecuencia la diferencia de energías se escribe como:

$$\Delta E = h\nu = h\frac{c}{\lambda} = hc\bar{\nu} \quad (1.5)$$

Como veremos a continuación, la magnitud de ΔE es diferente dependiendo del origen de la transición entre el estado inicial y final.

1.2. Breve descripción de tipos de transiciones.

La energía total de una molécula, gracias a la aproximación de Born-Oppenheimer, puede ser expresada como: una energía nuclear relacionada a movimientos del átomo o molécula, por ejemplo: rotación, vibración y traslación, además de una energía electrónica. Cabe mencionar, que evidentemente cada una de ellas está cuantizada [5].

$$E_{Total} = E_{nuc} + E_{elec} = E_{rot} + E_{vib} + E_{elec} + E_{tras} \quad (1.6)$$

Sin embargo, la energía traslacional no produce una transición entre dos estados energéticos. En general es una constante, por lo tanto vamos a concentrarnos en los otros tres tipos de energías.

En la tabla 1.1 se podrá notar que la relación entre las transiciones es de la siguiente forma: $\Delta E_{elec} > \Delta E_{vib} > \Delta E_{rot}$. Debido a esto se pueden inducir transiciones de un sólo tipo analizando la radiación electromagnética de una frecuencia adecuada.

Espectroscopía	Rango ($\bar{\nu}$, cm^{-1})	Tipo de transición
UV-Visible	$10^6 - 10^4$	Niveles de energía electrónicos
Raman e Infrarrojo	$10^4 - 10^2$	Niveles vibracionales (cambio de configuración)
Microondas	$10^2 - 1$	Niveles rotacionales (cambio de orientación)

Tabla 1.1: Tipos de transiciones y espectros a las cuales están relacionadas.

El desarrollo de este trabajo está enfocado en las transiciones vibracionales que son observadas en la región del Infrarrojo ($10^4 - 10^2 \text{ cm}^{-1}$) y es originada en las vibraciones de los núcleos que constituyen la molécula.

1.2.1. Transiciones vibracionales

A continuación, se presentan brevemente las ecuaciones de movimiento y sus soluciones para un oscilador armónico de una molécula diatómica, tanto en su versión clásica como cuántica, estas relaciones algebraicas intuitivas pueden ser generalizadas para el estudio de moléculas poliatómicas [5].

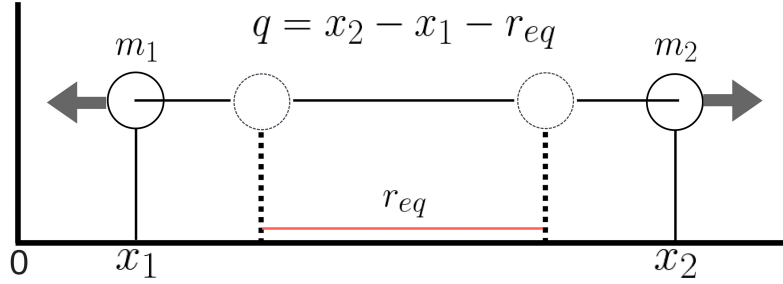


Figura 1.1: Modelo sencillo de dos masas y un resorte, que explica de una manera sencilla las vibraciones presentes en una molécula diatómica.

La ecuación de movimiento para este sistema es de la forma:

$$\mu \ddot{q} + kq = 0 \quad \mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (1.7)$$

donde μ es la masa reducida y la coordenada q es llamada la coordenada de desplazamiento de ambas masas respecto a su posición de equilibrio.

La solución a esta ecuación diferencial es del tipo seno y coseno. Sea A la amplitud de la vibración, ν la frecuencia y k es la constante del resorte.

$$q = A \cos(2\pi \nu t + \phi) \quad \nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (1.8)$$

Si se tiene en cuenta que las masas oscilan cerca del de la posición de equilibrio, el potencial del oscilador armónico puede escribirse de la siguiente forma.

$$U(q) = \frac{1}{2} \left(\frac{d^2 U}{dq^2} \right) \quad (1.9)$$

Ahora que tenemos estas ecuaciones, con ayuda de la ecuación de Schrödinger se puede tomar la naturaleza cuántica de este tipo de interacción correspondiente a un modelo que describe los enlaces químicos entre los átomos, suponiendo que estos se comportan como un resorte.

$$-\frac{\hbar^2}{2\pi\mu} \frac{d^2 \psi}{dq^2} + \left(\frac{1}{2} k q^2 \right) \psi = E \psi \quad (1.10)$$

La energía está cuantizada de la siguiente forma:

$$\epsilon_n = \left(n + \frac{1}{2} \right) h\nu \quad (1.11)$$

Se tiene una molécula de N átomos en un espacio tridimensional cartesiano, cada uno de ellos se mueve en 3 direcciones (x, y, z), por lo tanto, la molécula tendrá en total $3N$ grados de libertad de movimiento. Para describir este sistema se hace uso

de las coordenadas ponderadas de desplazamiento que siguen el mismo razonamiento respecto al sistema que se acaba de mostrar.

$$q_{3N-2} = m_N^{1/2} (x_N - x_{N,e}) \quad q_{3N-1} = m_N^{1/2} (y_N - y_{N,e}) \quad q_{3N} = m_N^{1/2} (z_N - z_{N,e}) \quad (1.12)$$

Estas coordenadas en realidad son una combinación lineal de las coordenadas normales de vibración. Es muy importante hacer este cambio ya que permitirá desacoplar las ecuaciones para el sistema.

$$q_k = \sum_{i=1}^{3N} l_{ki} Q_i \quad (1.13)$$

Se puede obtener una serie de ecuaciones de movimiento similares a las del oscilador armónico presentado al principio, con una masa reducida μ y una constante de fuerza λ_i .

$$\frac{d^2 Q_i}{dt^2} + \lambda_i Q_i^2 = 0 \quad i = 1, \dots, 3N \quad (1.14)$$

Con soluciones totalmente análogas a las ya conocidas, que pueden ser escritas en su forma clásica de senos y cosenos, o tomando una de estas funciones y agregando un desfase. En este caso B_i y ϕ_i son las amplitudes y fases, respectivamente. Las vibraciones resultantes son conocidas como los modos normales de vibración.

$$Q_i(t) = B_i \cos(\sqrt{\lambda_i} t + \phi_i) \quad (1.15)$$

Para el tratamiento cuántico de las moléculas poliatómicas, es importante tener en cuenta que si bien el sistema de una molécula de N átomos tiene $3N$ grados de libertad, existen 6 grados de libertad provenientes del movimiento traslacional de toda la molécula (centro de masa) en las 3 direcciones y el movimiento rotacional de la molécula completa respecto a los 3 ejes principales de rotación. Entonces, el número total de grados de libertad vibracionales es $3N - 6$. Para el caso de moléculas lineales, la relación se convierte en $3N - 5$ debido a que la rotación respecto al eje molecular no afecta al sistema, es decir, el sistema es el mismo después de realizar dicha rotación. La expresión para la función Hamiltoniana cuántica está dada por la siguiente ecuación [9]:

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{k=1}^{3N-6} \frac{\partial^2}{\partial Q_k^2} + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^{3N-6} \lambda_k Q_k^2 \quad (1.16)$$

Esta ecuación es separable y sus valores propios vibracionales vienen dados por:

$$E_{vib} = \sum_{k=1}^{3N-6} \varepsilon_{n_k} \quad (1.17)$$

donde las funciones ε_{n_k} son las energías vibracionales. Cabe mencionar, que la energía vibracional de todo el sistema es la suma de las energías armónicas asociadas a cada uno de los modos normales de vibración Q_k .

Las energías vibracionales para moléculas poliatómicas son análogas a la de una molécula diatómica. Además, la energía está cuantizada y esta recae sobre el valor n_k .

$$\varepsilon_{n_k} = \left(n_k + \frac{1}{2} \right) h\nu_k \quad n_k = 0, 1, 2, \dots \quad (1.18)$$

La frecuencia vibracional, siempre se mantiene de la misma forma tanto para la molécula diatómica como para esta molécula que se está estudiando.

$$\nu_k = \frac{\sqrt{\lambda_k}}{2\pi} \quad (1.19)$$

Sustituyendo la ecuación 1.19 y 1.18 en 1.17 se obtiene la energía total de la molécula bajo la expresión:

$$E_{vib} = \sum_{k=1}^{3N-6} (\nu_k + 1/2) h\nu_k \quad (1.20)$$

que es la suma de las energía armónicas asociadas a cada uno de los modos normales de vibración de Q_k .

Una vez obtenidos los niveles de energía de vibración de las moléculas poliatómicas, se pueden determinar reglas de selección que controlan las transiciones entre estos niveles. Están permitidas transiciones en las que el número cuántico vibracional ν_k cambia una unidad, y transiciones en las que cambian simultáneamente dos o más números cuánticos vibracionales [5]. Estas transiciones generarán un espectro de vibración, donde algunos de sus picos serán característicos de la espectroscopía Raman.

1.3. Espectroscopia Raman.

La radiación electromagnética interactúa con las moléculas a través de los fotones, los cuales son las partículas elementales de la radiación electromagnética y tienen asociado un momento y frecuencia específica. Cuando ocurre la interacción entre fotón y molécula da lugar a un proceso de esparcimiento que puede ser elástico o inelástico. Este tipo de esparcimiento elástico es conocida como esparcimiento de Rayleigh, en donde la frecuencia del fotón incidente es la misma que la del fotón emergente. Mientras tanto, el esparcimiento inelástico conocido como esparcimiento Raman, hay un aumento o disminución de la frecuencia del fotón incidente respecto al emergente debido a procesos vibracionales, que ocurren en la molécula interactuante [10].

La radiación inelásticamente esparcida es estudiada y constituye un espectro Raman, este tipo de técnica fue descubierta por C.V. Raman. A través de una diferencia de frecuencias entre la radiación incidente ($\bar{\nu}_0$) y la emergente. Existen dos procesos conocidos como Stokes (S) y anti-Stokes (AS), el primero corresponde a frecuencias emergentes menores que la incidente, entretanto, el segundo está relacionado con frecuencias emergentes mayores que la incidente. Los dos procesos anteriores pueden ser vistos de la siguiente forma; cuando la radiación interacciona con una molécula en el estado vibracional base puede inducirla a un estado vibracional excitado y cuando

decae se libera un cuanto de energía, $h\bar{\nu}_S = h\bar{\nu}_0 - h\bar{\nu}_{vib}$, sin embargo, la radiación interactuante con una molécula en un estado vibracional excitado puede decaer en un cuanto de energía mayor al incidente, $h\bar{\nu}_{AS} = h\bar{\nu}_0 + h\bar{\nu}_{vib}$, estos procesos se pueden observar en la figura 1.2 a) [11].

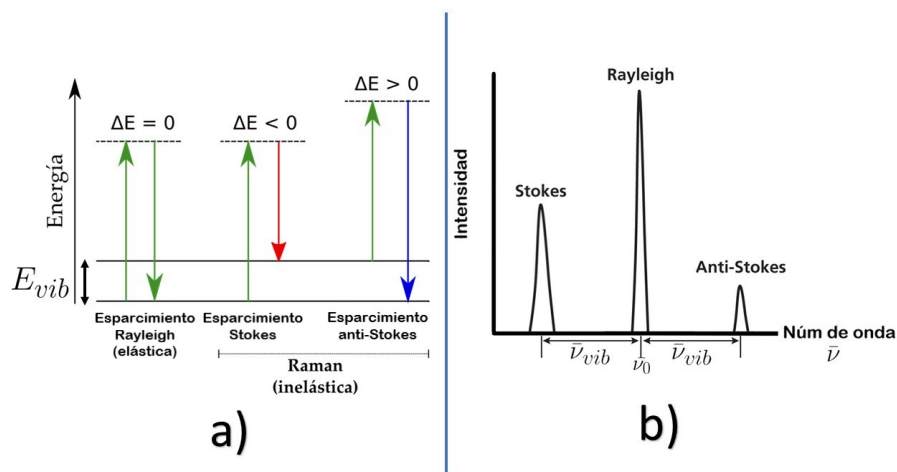


Figura 1.2: a) Se observan los procesos de espacmiento que ocurren cuando la radiación electromagnética interactúa con una molécula. b) Bandas de espacmiento presentes debido a la interacción de la radiación con una molécula.

El análisis de los fotones espacmidos por la molécula son estudiados con un espectrómetro que muestra una frecuencia central, relacionada a la radiación incidente ($\bar{\nu}_0$), así como dos bandas a ambos lados separadas una distancia $\pm\bar{\nu}_{vib} \text{ cm}^{-1}$, (ver figura 1.2 b)). La intensidad de las líneas son muy diferentes y están relacionadas con las poblaciones de los niveles implicados en las transiciones. A temperatura ambiente las moléculas se encuentran en su estado vibracional base y un número muy pequeño en el excitado, respecto a la estadística de Boltzmann. Por lo tanto, los eventos que producen la banda de Stokes son muchos más probables y debido a esto tienen una intensidad mucho mayor que la banda anti-Stokes, dando como resultado que la primera banda mencionada sea comúnmente usada en la literatura cuando se muestra un espectro Raman (figura 1.2 b)) [5, 11].

1.4. Reglas de selección para espectroscopia Raman.

Cuando una molécula es irradiada se genera una reconfiguración en las cargas provocada por el movimiento del núcleo y los electrones en direcciones opuestas. Un dipolo eléctrico inducido, que llamaremos P , se puede definir como el producto del campo eléctrico (E) por una constante (α) conocida como polarizabilidad molecular [9].

$$P = \alpha E = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (1.21)$$

La molécula irradiada por un campo electromagnético oscilante producirá un efecto muy similar al del un resorte, en este caso esta vibrará con una frecuencia ν_{vib} respecto a una coordenada de desplazamiento nuclear, q . Donde la amplitud de la vibración está dada por q_0 .

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_{vib}t) \quad (1.22)$$

La relación entre la polarizabilidad molecular y la coordenada q para vibraciones muy pequeñas puede ser descrita como una función lineal de la siguiente forma:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 q_0 \cos(2\pi\nu_{vib}t) \quad (1.23)$$

q_0 es la polarizabilidad en el punto de equilibrio y $\frac{\partial \alpha}{\partial q}$ es el cambio de la α respecto a la coordenada q , evaluada en la posición de equilibrio. Tomando esto en cuenta se puede re-escribir la ecuación 1.21 de la siguiente forma.

$$P = \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 q_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_{vib}t) \quad (1.24)$$

Esta expresión se puede separar en tres términos, donde el primero corresponda al esparcimiento de Rayleigh el segundo a la radiación esparcida inelástica correspondiente a Stokes y el tercero a anti-Stokes

$$P = \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 q_0 \mathbf{E}_0 [\cos 2\pi(\nu_0 + \nu_{vib})t + \cos 2\pi(\nu_0 - \nu_{vib})t] \quad (1.25)$$

Si $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0$ es distinto de cero, quiere decir que existe un cambio de polarizabilidad respecto a la vibración, lo que indicaría que tenemos un modo vibracional Raman activo.

Hay que tomar en cuenta que en moléculas más complicadas, el α en la ecuación 1.21 es un tensor debido a la naturaleza vectorial de P y \mathbf{E} . Se re-escribe la ecuación en una forma matricial.

$$\begin{pmatrix} P_x \\ P_y \\ P_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{E}_x \\ \mathbf{E}_y \\ \mathbf{E}_z \end{pmatrix} \quad (1.26)$$

que mediante transformaciones matriciales podemos escribir de forma diagonal el tensor de polarizabilidad [5]. Gracias a esto se determinan los ejes de polarizabilidad con los cuales se construye un elipsoide que facilita la visualización de cambios en las moléculas durante la vibración [9].

$$\alpha' = \begin{pmatrix} \alpha_{x'x'} & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_{y'y'} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_{z'z'} \end{pmatrix} \quad (1.27)$$

Convencionalmente, se gráfica $\frac{1}{\sqrt{\alpha_i}}$ ($i = x'x', y'y', z'z'$) y el objeto de revolución en 3 dimensiones es conocido como elipsoide de polarizabilidad, ver figura 1.3. Es bueno conocerlo debido a que permite observar los cambios de polarizabilidad en una molécula. Este método es muy útil, sin embargo, cuando se consideran moléculas más grandes este método se vuelve muy sencillo y se necesita el uso de teoría de grupos y operaciones de simetría [12, 13].

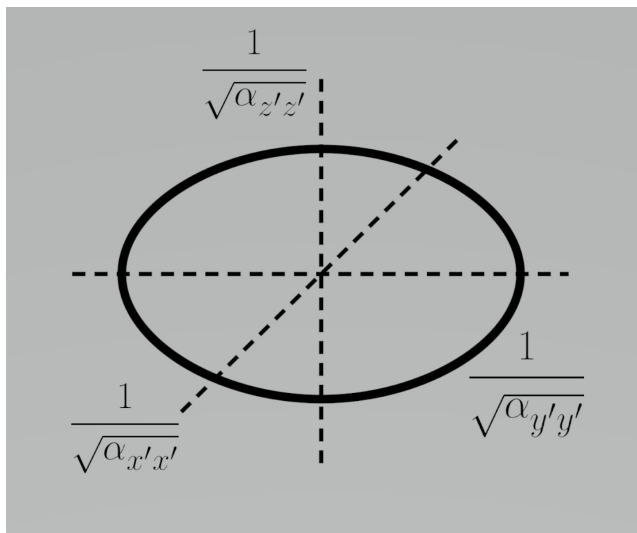


Figura 1.3: Elipsoide de polarizabilidad cuyo volumen es proporcional a $\alpha_{x'x'}$, $\alpha_{y'y'}$ y $\alpha_{z'z'}$. Tomada de [13].

1.4.1. Algunos modos normales de vibración comunes.

Para saber si una vibración asociada a una molécula es Raman activa, se necesita que el elipsoide cambie de tamaño, forma u orientación. Estos cambios deben ser muy visibles cerca del punto de equilibrio, ya que de lo contrario no se observará la vibración.

Se presentan dos casos sencillos, el primero es una molécula de CO_2 que es lineal y simétrica respecto a su centro. Esta molécula presenta cuatro modos normales de vibración: un modo de estiramiento simétrico, un estiramiento antisimétrico y dos modos de flexión; uno en el plano y otro fuera de éste, los cuales son degenerados por presentar la misma frecuencia de vibración. La figura 1.4 (lado izquierdo) ilustra el cambio de la polarizabilidad durante la vibración de una molécula de dióxido de carbono CO_2 . Únicamente, el estiramiento simétrico (symmetrical stretching, en inglés) de CO_2 conduce a un cambio en la polarizabilidad, por lo que se espera encontrar luz esparcida con frecuencia $\nu_0 \pm \nu_1$. Sin embargo, para el caso del estiramiento antisimétrico (antisymmetrical stretching) y flexión (bending) no existe un cambio en la forma de la molécula, por lo cual no se espera encontrar luz esparcida bajo estos dos modos vibracionales [12].

El segundo ejemplo es una molécula de SO_2 que no es lineal y presenta un ángulo de 119° . La molécula cuenta con tres modos normales de vibración: un estiramiento simétrico respecto a su centro, una flexión simétrica y un estiramiento antisimétrico. La forma de los modos y el cambio del elipsoide de polarizabilidad se pueden observar en la figura 1.4 (lado derecho). Para el caso de un estiramiento simétrico, el elipsoide se expande y contrae, algo muy similar es observado para el modo de flexión del SO_2 . Como existe un cambio en el tamaño por lo tanto son modos activos bajo el fenómeno de Raman. Por último, en el caso del estiramiento antisimétrico, existe un cambio en la orientación de la molécula, con lo que este modo vibracional generará esparcimiento Raman [12].

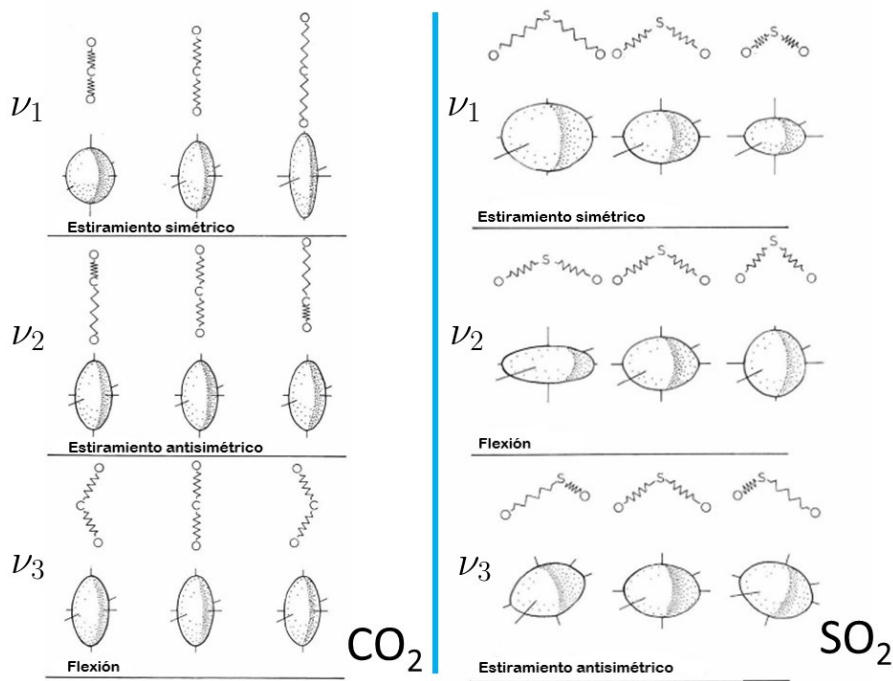


Figura 1.4: Cambios en la polarizabilidad durante la vibración de la molécula : CO_2 (lado izquierdo) y SO_2 (lado derecho), tomada de referencia [12].

Visualizar los modos normales de vibración bajo este método del elipsoide, suele ser muy complicado para moléculas con un mayor número de átomos y estructuras más compleja. Sin, embargo, existen modelos matemáticos que a partir de los elementos de simetría de la molécula permite conocer sus modos normales de vibración, los cuales puedan incluir flexiones simétricas y antisimétricas en el plano y fuera de éste [10].

1.5. Arreglo experimental de espectroscopía Raman

La espectroscopía Raman es aplicable a cualquier estado de agregación, presentando la ventaja de que para muestras acuosas, el agua no enmaraña el espectro debido a que las señales Raman que produce son muy débiles. Por otro lado, dos moléculas distintas no dan el mismo espectro Raman y la intensidad de la luz dispersada es proporcional a la cantidad del material presente en la muestra a estudiar [5].

Los espectrómetros Raman están basados en dos tipos de arreglos experimentales: Espectroscopía Raman por transformada de Fourier (FT, por sus siglas en inglés) y Raman dispersivo. A continuación explicaremos ambos tipos de Raman, pero haremos más énfasis en el Raman dispersivo debido a que es el que se utilizó en este trabajo.

1.5.1. Raman FT

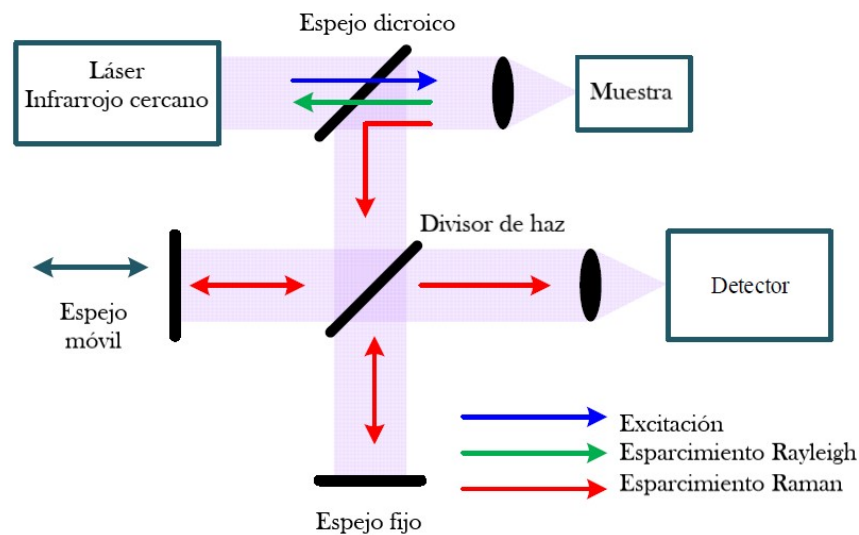


Figura 1.5: Arreglo experimental de un espectrómetro Raman por transformada de Fourier [14].

La figura 1.5 muestra el diagrama experimental del arreglo FT-Raman (Raman por transformada de Fourier). La fuente de excitación proveniente de un láser en el infrarrojo cercano, aproximadamente, 1064 nm, es enfocado a una muestra que esparcirá luz. Un espejo dicróico transmitirá la señal de onda de tipo Rayleigh y reflejará la señal de tipo Raman a un divisor de haz. A través del divisor, la mitad de la señal es transmitida a un espejo fijo y la otra mitad reflejada a un espejo móvil, debido a la diferencia de camino, los dos haces experimentarán una interferencia constructiva y destructiva, determinada por que tanto se desplazó el espejo móvil. Finalmente, la señal resultante de esta interferencia es enviada a un detector que da como resultado un interferograma al

cual se le aplicará una transformada de Fourier para obtener un espectro Raman similar al obtenido por otro arreglo conocido como dispersivo [14]. Las ventajas de utilizar este arreglo, es que debido a la longitud de onda de láser que se utiliza, la fluorescencia no está presente, sin embargo, la señal Raman es demasiado débil debido a la relación entre la intensidad Raman dispersada y longitud de onda ($1/\lambda^4$) lo que limita la sensibilidad del espectrometro para el estudio de las muestras [14].

1.5.2. Raman Dispersivo

Un láser con longitud de onda en el visible, irradia una muestra y debido a esta interacción existe una dispersión Raman la cuál es enfocada a una rejilla de difracción con el fin de separarla en sus diversas longitudes de onda, como se muestra en la figura 1.6, la luz es posteriormente dirigida a un detector que puede ser una cámara CCD o un fotomultiplicador [15]. La ventaja de este arreglo experimental es que puede operar en el visible facilitando el montaje y la alineación además que la óptica es más barata.

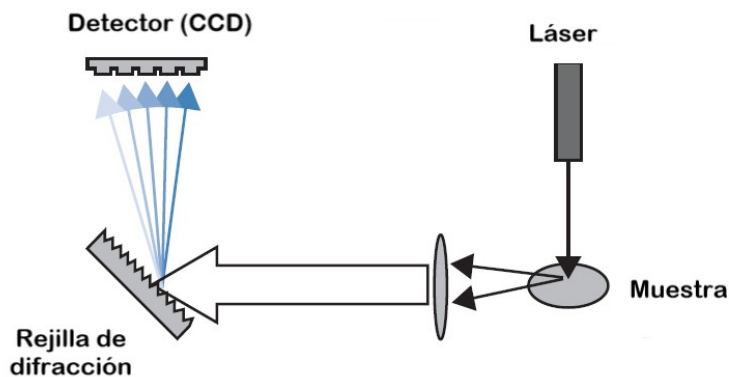


Figura 1.6: Elementos básicos que conforman un Raman dispersivo. Tomado de [15].

Láser

El láser es la fuente que normalmente es utilizada para la espectroscopía Raman debido a que en el análisis teórico se ha supuesto el uso de una fuente monocromática y colimada. Actualmente, el uso de láseres de emisión continua en el visible son muy comunes debido a que la colección es en el orden de pico-segundos por lo cual es más fácil y barato trabajar con láseres continuos.

Por otro lado, el esparcimiento producido por el efecto Raman es un proceso muy poco intenso. Usualmente, de cada 10^9 fotones incidentes, tan solo uno resulta dispersado, por lo que para poder observar el efecto es necesario el uso de una fuente

muy intensa, de hecho, el láser jugó un papel muy importante en el desarrollo de la espectroscopía Raman [5]. Los láseres continuos pueden proveer fácilmente 1-2 W de potencia [9].

Debido a la naturaleza del láser, toda esta radiación tiene un diámetro muy pequeño que permite estudiar muestras de hasta $2 \mu m$ de diámetro [9].

Microscopio confocal

Con el fin de coleccionar de una forma eficiente la radiación esparcida por la muestra de nuestro interés y eliminar o reducir señal que no será útil para el análisis del espectro Raman, se utiliza un microscopio confocal. La recolección de luz por este arreglo se basa en técnicas de filtrado espacial que elimina la luz proveniente de planos fuera de foco [16]. En el arreglo confocal, la luz coherente emitida por un láser incide sobre un divisor de haz que dirige estos rayos a la muestra de estudio. Como resultado, la muestra esparcirá luz que será colectada por un lente conocida como objetivo para después pasar a través de una abertura. Únicamente los rayos que están sobre el plano focal (enfocados) de la muestra pasarán por la abertura y serán detectados para su respectivo procesamiento, en caso de que los rayos estén fuera de foco, simplemente no llegarán al detector. El arreglo puede ser observado en figura 1.7.

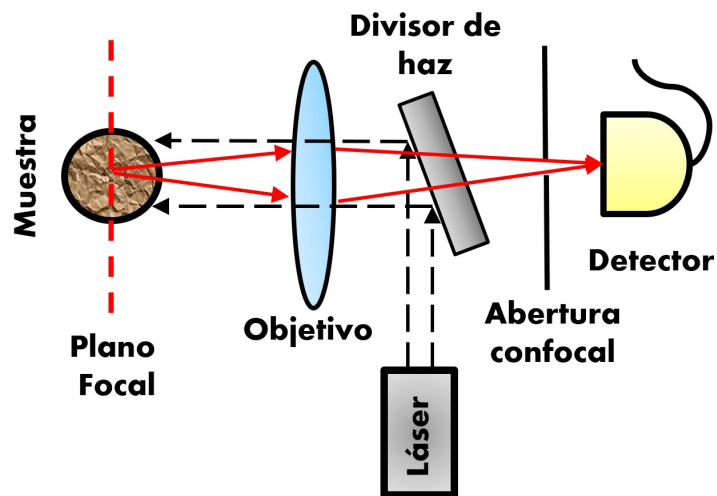


Figura 1.7: Diagrama básico de un microscopio confocal.

Rejilla de difracción

Necesitamos conocer la intensidad de los fotones emergentes para cada longitud de onda para obtener la señal Raman (ver sección 1.3). Con este fin, utilizamos una rejilla de difracción con buena resolución espectral para separar los fotones emergentes por longitudes de onda. Este tipo de resolución determina que tan detallado puede ser visto el espectro, si la resolución es muy pequeña no se podrá distinguir entre longitudes de

ondas muy cercanas, sin embargo, si la resolución es demasiado alta, el espectro puede volverse muy ruidoso debido a la observación de información irrelevante [17]. Las rejillas de difracción deben ser elegidas de acuerdo a la resolución deseada, la longitud de onda del láser y el detector en el cuál esta información será analizada.

Detectores

Debido a que las señales Raman son ciertamente muy débiles, hay ciertos problemas en la detección y amplificación de éstas. Sin embargo, esta situación ha mejorado considerablemente desde el desarrollo del láser y de técnicas de detección con un mayor sensibilidad [9]. Existen dos tipos de detectores que son utilizados comúnmente en la espectroscopía Raman: los tubos fotomultiplicadores y las cámaras intensificadas CCD, los cuales se detallan a continuación.

Foto-multiplicador La estructura simplificada de un tubo fotomultiplicador es mostrado en la figura 1.8. Este cuenta con los siguientes elementos importantes: el fotocátodo y una serie de dínodos y un ánodo. Los fotones que inciden en el cátodo generan fotoelectrones debido al efecto fotoeléctrico. Los electrones son acelerados debido a un campo eléctrico entre el cátodo y un dínodo adyacente. Cuando los electrones chocan con el dínodo producen electrones adicionales debido a una emisión secundaria. A medida que estos electrones chocan con dínodos subsecuentes producen más electrones, del orden de 10⁷ y 10¹⁰ por fotón incidente [9]. Finalmente, la cascada de electrones se reúne en el ánodo y la corriente resultante se transforma en un voltaje y se mide. La señal producida por el fotomultiplicador será proporcional al número de fotones incidentes. Una de las principales desventajas de un PMT es la corriente oscura causada por la emisión de electrones térmicos provenientes del fotocátodo. Esta emisión puede ser reducida si el tubo es termo-eléctricamente enfriado .

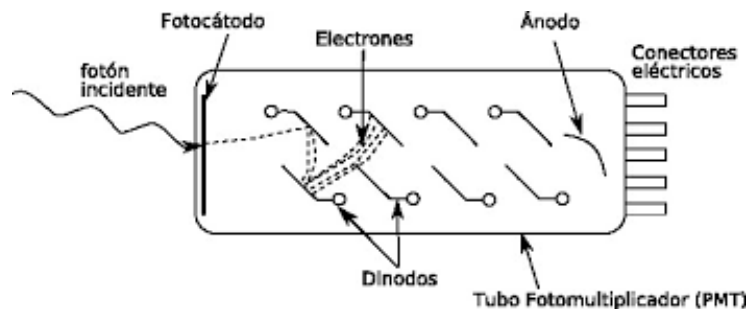


Figura 1.8: Estructura básica de un PMT.

CCD (dispositivo de carga acoplada) Las cámaras intensificadas CCD detectan la luz dispersada, por la rejilla de difracción, en un arreglo matricial compuesto por pequeños foto-sensores llamados pixeles, mostrado en la figura 1.9. Estos pixeles son dispositivo tipo MOS (Metal, Óxido, Semiconductor) construido sobre un sustrato de silicio tipo P. Cuando los fotones provenientes de la radiación dispersada interaccionan

con el sustrato, se genera un par hueco-electrón. El exceso de electrones tienden a agruparse formando un pozo (o paquete de carga) debajo del óxido (SiO_2) debido al potencial positivo aplicado en la compuerta [18].

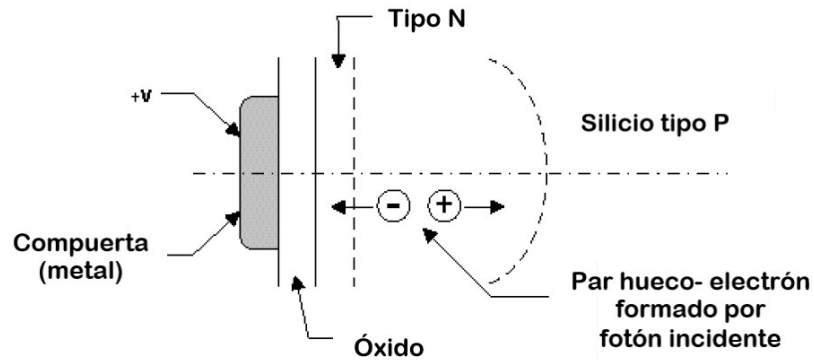


Figura 1.9: Esquema básico de un pixel de CCD.

Cuando un gran número de capacitores MOS son colocados juntos se forma un arreglo de detectores. Los paquetes de carga pueden ser desplazados de un pixel a otro por la manipulación del voltaje en las compuertas de los capacitores. El desplazamiento de paquetes de carga es efectivo si son aplicados patrones de voltaje sincronizado, como se muestra en la figura 1.10. Después la carga contenida en cada pixel es cuantificada en una señal de voltaje, esta señal analógica es posteriormente procesada para su conversión a señal digital. El proceso general es conocido como lectura de salida [18].

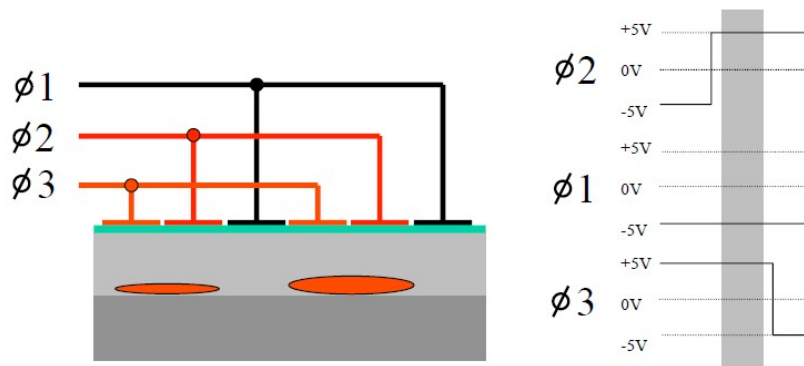


Figura 1.10: En general se tienen varios pixels que tienen diferentes voltajes en cada compuerta. En el ejemplo mostrado, se tienen voltajes positivos para las compuertas 2 y 3, mientras que un voltaje negativo para la compuerta 1. Los voltajes positivos permiten que las cargas almacenadas por pixel se puedan mover, mientras que un voltaje negativo actúa como una barrera de potencial que evita el movimiento del paquete de electrones.

Las ventajas en la utilización de este sistema de detección es que la principal contribución de ruido en este sistema proviene de la lectura de salida. Además, exhiben una gran respuesta en la región del espectro electromagnético del ultravioleta cercano (≈ 200 nm) al infrarrojo cercano ($\approx 1.1\mu\text{m}$) [19].

En este capítulo mostramos que la interacción entre el campo electromagnético y un sistema de electrones que conforman una molécula, induce transiciones entre los estados cuánticos del sistema. En particular, la espectroscopía Raman es una técnica que estudia las transiciones entre estados vibracionales de una molécula a partir del aumento (Raman anti-Stokes) o disminución (Raman Stokes) de la frecuencia de un fotón incidente respecto a uno emergente. En este trabajo se hace énfasis sobre el arreglo de tipo dispersivo bajo el esquema de Raman-Stokes. En el siguiente capítulo estudiaremos la fenomenología de la fluorescencia y además como la señal producida por este fenómeno puede enmarañar el espectro Raman dificultando el estudio de los procesos vibracionales de la muestra bajo estudio.

Capítulo 2

Fluorescencia

La fluorescencia es un fenómeno de luminiscencia que consiste en la conversión de radiación o de otras formas de energía en luz visible. Esta se puede observar en algunos compuestos químicos conocidos como fluorocromos o fluoróforos, típicamente moléculas aromáticas como la rodamina [20].

Para que se presente la fluorescencia, el electrón en el estado excitado y el electrón en el estado base deben estar apareados, dicho de otra forma, son opuestos en espín. Como resultado, el retorno del electrón excitado al estado base ocurre en decenas de nanosegundos [21].

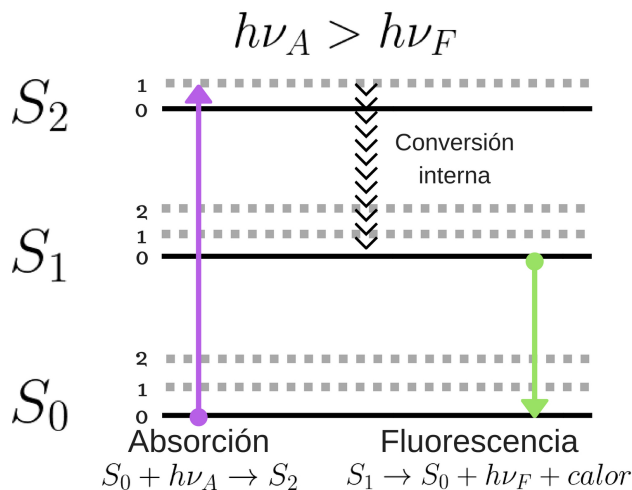


Figura 2.1: Diagrama del fenómeno de la fluorescencia.

La Fig. 2.1 muestra el proceso bajo el cual se da la fluorescencia. Se representan los estados electrónicos S_0 , S_1 y S_2 . En cada uno de los niveles electrónicos del fluorocromo existen sus respectivos niveles vibracionales, descritos por 0, 1 y 2. En la figura 2.1 se muestra un diagrama del fenómeno de la fluorescencia. El fluorocromo absorbe la

luz con lo cual un electrón es excitado a un estado vibracional excitado de S_2 . Después el electrón, decae al próximo estado vibracional más bajo, S_1 , debido a esto la energía es parcialmente disipada en forma de calor. Finalmente, se emite un fotón con energía $h\nu_F$ y el fluorocromo regresa a su estado base. Cabe notar que la frecuencia del fotón absorbido es mayor que la del emitido o dicho de otra forma, se absorben fotones con longitudes de onda menores a las longitudes de onda de los fotones emitidos.

Es importante recalcar la diferencia entre la fenomenología de la fluorescencia y la espectroscopía Raman tipo Stokes, ya que pueden parecer fenómenos muy similares, pero en realidad no lo son. En la fluorescencia un fotón es absorbido por el fluoróforo provocando una excitación de un electrón y debido al tipo de transición entre estados, el tiempo de vida es del orden de decenas de nanosegundos, en cambio en el esparcimiento de tipo Raman-Stokes el fotón solo perturba a la molécula induciéndola a que sufra una transición de tipo vibracional a un estado virtual debido a esto el tiempo de vida es de picosegundos, mucho menor si se compara con el de la fluorescencia.

2.1. Espectro de Emisión y Absorción de rodamina 6G

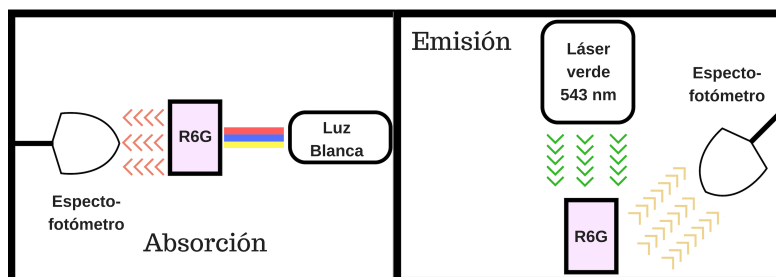


Figura 2.2: En el diagrama de la izquierda se observa que una fuente de luz blanca interacciona con la sustancia a estudiar para obtener un espectro de la absorbancia de la muestra. Mientras tanto, en el diagrama de la derecha, un haz proveniente de un láser (543 nm) interacciona con la sustancia y como resultado se obtiene un espectro de emisión reportado gracias a un espectrofotómetro.

En general, si una fuente luminosa es enfocada hacia una muestra semitransparente, una parte de la radiación incidente es absorbida y la otra transmitida, lo cual está relacionado con los niveles energéticos de la sustancia que se estudia. Estas propiedades pueden ser observadas y la forma más común es la siguiente: se incide luz blanca (constituida por longitudes de onda del visible) a la muestra que será estudiada, después con ayuda de un detector se mide la intensidad de la radiación transmitida (I) para una longitud de onda dada y gracias a la Ec. 2.1, donde I_0 es la intensidad inicial de la luz blanca incidente para la misma longitud de onda, se calcula la absorción de la sustancia, como se muestra en el panel izquierdo de la figura 2.2. A partir de la intensidad transmitida y la absorción de la sustancia, se grafica la variación de estos datos respecto a las diferentes longitudes dadas por la luz blanca y se obtiene respectivamente el espectro de emisión y absorción.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \Rightarrow \quad A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} \quad (2.1)$$

El espectro de emisión se obtiene excitando la muestra con una fuente de luz láser cuya longitud de onda se encuentre dentro del espectro de absorción y detectando la luz emitida en un ángulo de 30° con respecto a la dirección de emisión de la luz láser, como se observa en el panel derecho de la figura 2.2. Se grafica la intensidad obtenida para cada longitud de onda. Los espectros de emisión y absorción son de gran interés para el estudio de propiedades ópticas y eléctricas. Entre los tintes fluorescentes, como mencionamos arriba, se caracterizan por la absorción de fotones de alta energía (longitud de onda corta) y emite fotones a baja energía (longitudes de onda larga), existe una familia conocida como los xantenos a la cuál pertenece la rodamina 6G, conocida también como rodamina 590, que será el estudio principal de esta tesis.

La rodamina 6G es uno de los colorantes comerciales más usados, debido a que emite en la región del rojo del espectro visible, aparece como un polvo de color ladrillo o café. Este colorante es muy usado en el área de la biotecnología para la datación de ciertas proteínas, para el uso de microscopios de fluorescencia o en la implementación de láseres [22]. En la figura 2.3 se muestra su estructura química.

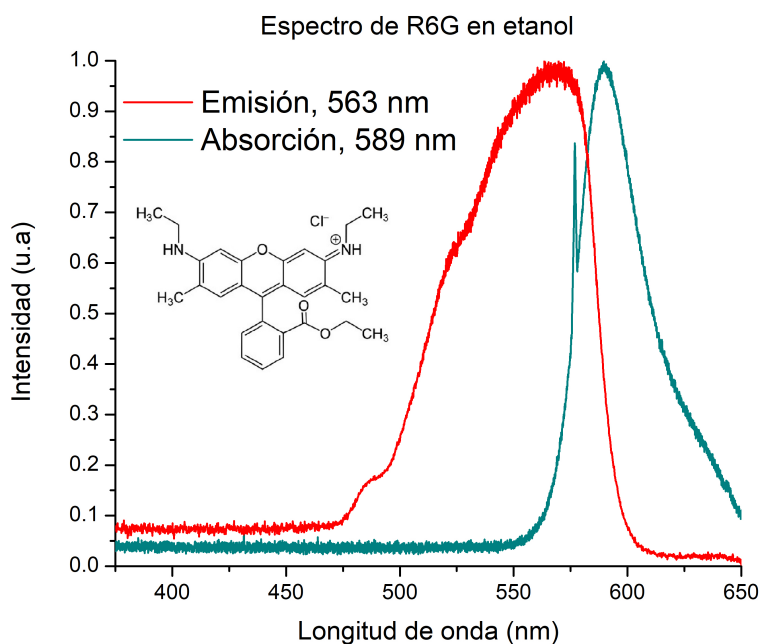


Figura 2.3: Espectro de emisión y absorción de la R6G obtenido en el laboratorio bajo el arreglo experimental de la figura 2.2. Se puede notar que la rodamina 6G disuelta en etanol (concentración molar de 0.83 M), tiene un pico de absorción en 569 nm que corresponde al color verde en el espectro visible (línea de color rojo), mientras que emite ondas propias de longitudes de onda correspondientes al color naranja (pico de emisión en 592 nm), línea de color negro. En el centro de la figura se muestra la estructura química de la rodamina 6G.

El máximo de absorción de esta sustancia está aproximadamente en los 530 nm y su máximo de emisión en los 560 nm, los valores pueden variar según la concentración e incluso el solvente utilizado [23, 20]. Hay que recalcar que la rodamina es soluble

tanto en agua como en alcoholes. En el laboratorio el pico de absorción se encontró en los 563 nm y el de emisión en 589 nm, para rodamina 6G (de la marca Exciton) disuelta en etanol, como se observa en la figura 2.3. En este caso el espectro fue tomado por un espectrómetro marca Ocean Optics modelo USB4000, y se utilizó un láser de 0.5 mW con un longitud de onda 543 nm (verde). En el centro de la figura se muestra la estructura química de la rodamina 6G cuya composición es de la forma: $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ con un peso molecular de 479.02 g/mol.

2.2. Sección transversal de fluorescencia y Raman

Cuando un haz de luz, en este caso un láser, interacciona con la materia, existe una pérdida de la potencia del haz transmitido respecto al incidente, esto es debido a dos procesos claves que se dan entre las moléculas y los fotones: uno de ellos es la absorción (el cuál puede o no conducir al proceso de fluorescencia) y el otro la dispersión (la cuál puede ser elástica o inelástica). Se puede cuantificar la pérdida de potencia a través de la diferencia entre la parte incidente y la transmitida, debido a los dos procesos ya mencionados.

$$P_{inc} - P_{Tra} = P_{atenua} = P_{abs} + P_{disp} \quad (2.2)$$

De esta forma se puede definir una sección transversal, que está relacionada con la probabilidad de que los fotones interaccionantes sean absorbidos o dispersados.

$$\sigma_{atenua} = \sigma_{abs} + \sigma_{disp} \quad (2.3)$$

Para moléculas, la dispersión es despreciable comparada con la absorción, es decir, $\sigma_{atenua} \approx \sigma_{abs}$, por lo que la espectroscopía UV-Visible es usualmente conocida como espectroscopía de absorción. Esto no es cierto en particular para nanopartículas, donde la componente de dispersión tiene un gran peso sobre la absorción. Este es una distinción particular importante para coloides metálicos, que constituyen una clase importante de sustratos SERS [2].

Una de las cantidades más relevantes obtenidas del espectro UV-Visible es la absorbancia, definida como [2]:

$$A = -\log(T) = c_{mol}\bar{\epsilon}L \quad (2.4)$$

donde c_{mol} es la concentración de la muestra en moles, L es la distancia recorrida por el haz del luz dentro de la muestra y $\bar{\epsilon}$ es el coeficiente molar de atenuación. De hecho para el caso de moléculas debido a que la sección de absorción es similar a la de atenuación el coeficiente es conocido como de absorción [2].¹

$$\bar{\epsilon} = \frac{N_A \sigma_{abs}}{\ln(10)} \quad (2.5)$$

¹En “*Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*” la ecuación 2.5 y 2.6 está descrita por σ_{atenua} , pero en el caso muy particular de colorantes se toma en cuenta la aproximación de $\sigma_{atenua} \approx \sigma_{abs}$, debido a que la sección de dispersión es más pequeña en ordenes de magnitud, que la sección de absorción.

Usando el espectrofotómetro que trabaja en UV y visible, marca PerkinElmer y modelo Lambda 35, se vio que es posible determinar la absorbancia de una muestra, ver figura 2.4 a partir de esto es posible calcular el coeficiente molar de absorción y después la sección transversal asociada. Una expresión muy útil es la siguiente, donde la sección está en unidades de cm^2 y el coeficiente en $cm^{-1} M^{-1}$ [2].

$$\sigma_{abs}[cm^2] = 3.82 \times 10^{-21} * (\bar{\epsilon}[cm^{-1}M^{-1}]) \quad (2.6)$$

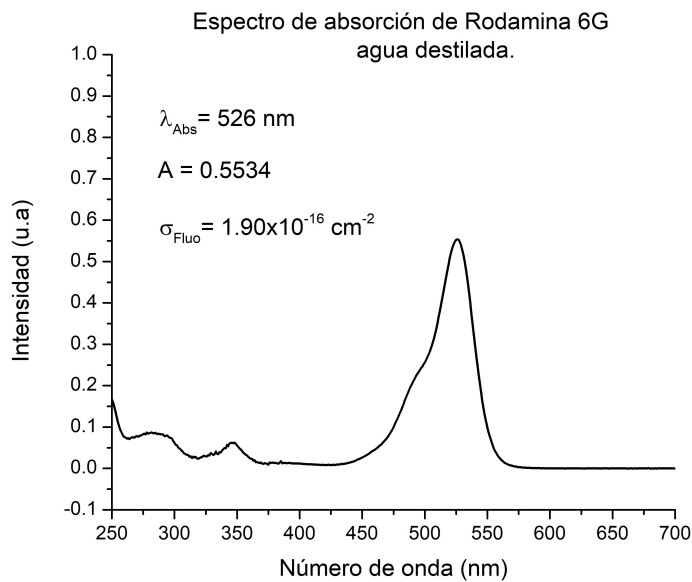


Figura 2.4: Espectro UV/Visible de absorción de la R6G en agua destilada, tomado en el equipo Lambda 35. La muestra tiene una concentración de $1 \times 10^{-5} M$, por lo que se encuentra diluida con el fin de no saturar el equipo y obtener la absorbancia de manera confiable. Con la ayuda de la relación de Beer-Lambert, la Ec. 2.6 y suponiendo que el rendimiento es de un valor aproximado a 1 [21] se puede obtener que la sección transversal de fluorescencia es de aproximadamente de $1.90 \times 10^{-16} \text{ cm}^{-1}$.

Los valores típicos para el coeficiente molar de absorción cerca de los picos de absorción son del orden de 10^5 , por ejemplo, para la rodamina 6G, cerca de 514 nm el valor es de aproximadamente 2×10^5 , por lo tanto su sección transversal en este punto es de aproximadamente: $\sigma_{abs}(514\text{nm}) \approx 2.5 \times 10^{-16} \text{ cm}^2$ [2], sin embargo este valor puede cambiar dependiendo de la interacción de los solventes o incluso por los agregados que se puedan dar entre las moléculas.

Como se había comentado en un principio, los fotones que son absorbidos pueden dar como resultado la fluorescencia, una forma de saberlo es a través de sección transversal de fluorescencia, que dicta la probabilidad de que ocurra este fenómeno. Para esto es necesario hablar del rendimiento cuántico de un colorante, en nuestro caso, que es la proporción entre los electrones que decaen radiativamente al estado base, produciendo un fotón detectable (Γ_{rad}), entre el número total de electrones excitados que

podieron decaer o no por procesos de radiación (Γ_{Tot}).

$$Q = \frac{\Gamma_{rad}}{\Gamma_{Tot}} = \frac{\Gamma_{rad}}{\Gamma_{rad} + \Gamma_{NR}} \quad 0 \leq Q \leq 1 \quad (2.7)$$

Por lo tanto la sección transversal de fluorescencia, está dada por la siguiente expresión:

$$\sigma_{fluo} = Q\sigma_{abs} \quad (2.8)$$

Es importante recalcar que muchos colorantes orgánicos tienen muy buenos rendimientos con valores muy próximos a 1, un ejemplo es la rodamina 6G, donde la sección de fluorescencia es del orden de: $\sigma_{fluo} \approx 10^{-16} \text{ cm}^2$. En particular nosotros obtuvimos que para una muestra de rodamina 6G en agua destilada con una concentración $1 \times 10^{-5} \text{ M}$, la sección de la fluorescencia es $1.90 \times 10^{-16} \text{ cm}^2$ como se observa en la figura 2.4. Como veremos más adelante, esto es un problema pues esta sección es de 6 órdenes de magnitud más grande que la sección transversal de dispersión, por lo que complica la obtención de su espectro Raman [7].

2.3. Fluorescencia y la espectroscopía Raman

Si bien la espectroscopía Raman representa una buena técnica de análisis de muestra debido a no ser destructiva, presenta una gran desventaja debido a que algunas sustancias exhiben fluorescencia al ser excitadas con un láser de onda continua (donde la longitud de onda se encuentra en el rango del visible). El láser continuo no permite separar el fenómeno de fluorescencia y Raman-Stokes, aunado a esto, la sección transversal de fluorescencia es mucho mayor que la Raman, por lo tanto, hay una mayor probabilidad de obtener fotones provenientes de la fluorescencia que opacan la señal Raman, produciendo un tipo de ruido conocido como de disparo (shot noise, en inglés).

El ruido de disparo de la fluorescencia es debido a la medición de eventos estocásticos cuánticos. El número de fotones que son detectados siguen una distribución de Poisson [24]. El número de fotones detectados en una sola toma tienen asociada una incertidumbre estadística conocida como ruido de Poisson (en nuestro caso se llama ruido de disparo), como consecuencia, la varianza en el número de estos fotones es equivalente a la raíz cuadrada de los fotones detectados [24].

Si la señal que se quiere estudiar es proporcional o menor al nivel de ruido de disparo, pequeños cambios en la señal de interés serán indistinguibles respecto al ruido y por lo tanto presentarán una gran incertidumbre en la toma del espectro. Para medir la dependencia que existe entre la señal y el ruido (SNR, en inglés), se utiliza la ecuación 2.9. Si el número de fotones contados incrementa entonces el ruido de disparo disminuye de una manera considerable y se puede obtener una señal Raman más clara. Para poder capturar más electrones, se puede aumentar el tiempo de exposición en una sola toma o quizá dos dependiendo del nivel de saturación del CCD [24].

$$SNR = \frac{\sigma_{señal}^2}{\sigma_{ruido}^2} = \frac{N}{\sqrt{N}} = \sqrt{N} \quad (2.9)$$

Existen diferentes métodos para evitar este ruido proveniente de la fluorescencia, uno de ellos es la utilización de longitudes de onda cercanas al infrarrojo, la cuál es una energía de excitación insuficiente para lograr la excitación del fluorocromo. Sin embargo, existen otras técnicas que se basan en la utilización de longitudes de ondas específicas (Raman Resonante), nanopartículas metálicas o superficies 2D [25].

2.4. Formas de suprimir fluorescencia

La intensidad de la fluorescencia puede decrecer de una manera considerable por una variedad de procesos. Cuando la intensidad, emitida por la fluorescencia, disminuye entonces estamos hablando de un fenómeno de supresión, en inglés este mecanismo es conocido como «quenching».

2.4.1. Transferencia de energía de resonancia de Förster

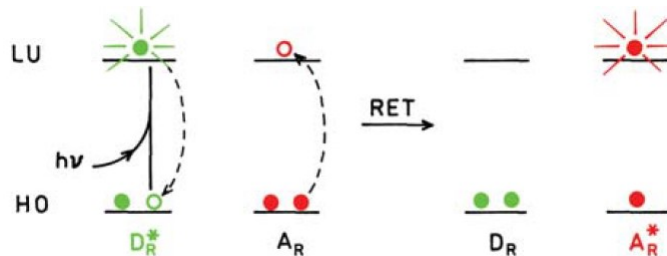


Figura 2.5: Esquema del fenómeno, Energía de transferencia por Resonancia. Los puntos verdes representan los electrones del donador, mientras que los rojos son del aceptor. El * sirve para puntualizar cuando el aceptor o donador se encuentran en un estado excitado [21].

Este mecanismo también llamado energía de transferencia por resonancia (RET, en inglés) implica un fluoróforo en un estado excitado, el cual transfiere su energía de excitación a un aceptor, que puede o no ser una sustancia que emita fluorescencia, a partir de una interacción dipolo-dipolo de largo alcance.

En la figura 2.5 se muestra un diagrama del proceso RET. En un principio el fluoróforo donador tiene dos electrones en el orbital molecular más alto ocupado (HOMO, por sus siglas en inglés). Cuando la luz interactúa con el donador siendo absorbida, uno de los electrones sube al estado excitado más bajo (LUMO, por sus siglas en inglés). Cuando esta transferencia de energía se lleva a cabo, el electrón del donador en el estado excitado (D^*) regresa a su estado base. A la vez, un electrón (en el HOMO) del aceptor es excitado al estado más próximo (al LUMO). Si el aceptor presenta propiedades de fluorescencia puede emitirla, de lo contrario, la energía será disipada en forma de calor [21].

Este fenómeno de resonancia puede ser visualizado de la siguiente manera. El fluoróforo excitado actúa como un dipolo oscilante el cual intercambia energía con un

segundo dipolo, en este caso la molécula aceptora. Si ambos tienen la misma frecuencia de resonancia ocurre un intercambio de energía, algo muy parecido al acoplamiento de dos diapasones a la misma frecuencia o a resortes acoplados [26].

Como se explicó, el fenómeno de resonancia es debido a una interacción dipolo-dipolo por lo que existe una dependencia con la distancia, tal que, el fenómeno empieza a perder efecto de la forma R^{-6} , sin embargo se ha demostrado y observado experimentalmente que este fenómeno puede decaer hasta R^{-4} . Esta transferencia se presenta a menos de 10 nm de la superficie metálica [27].

Por otro lado, hay que puntualizar que debido a la naturaleza de la interacción y que no se necesita de la emisión de un fotón para transmitir la energía a un respectivo aceptor, este proceso es conocido como no radiativo.

2.4.2. Transferencia de electrón fotoinducida (metal-molécula complejo)

Este tipo de transferencia se produce gracias a la interacción de una molécula y un metal o semiconductor. La descripción está basada en los niveles electrónicos propios de cada molécula (un estado base y su próximo excitado) que interactúan con los estados electrónicos propios de un metal o semiconductor [28].

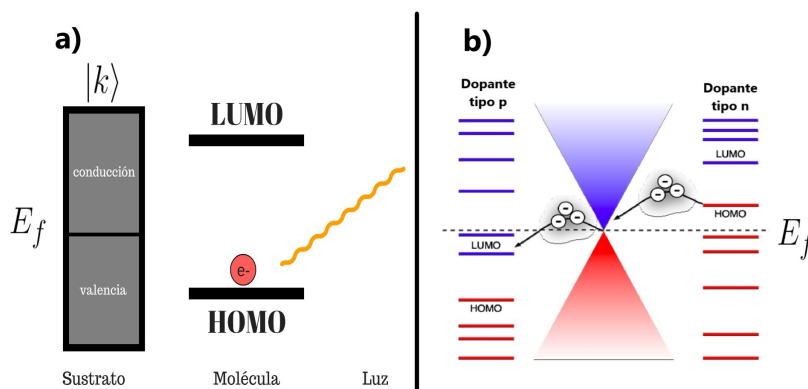


Figura 2.6: a) Esquema de la interacción entre la luz, los estados HOMO y LUMO de una molécula y las bandas continuas de un sustrato de metal ($|k\rangle$). E_f denota la energía de Fermi. b) Esquema de las posiciones relativas de los estados base y el próximo excitado de una molécula que interactúa con el grafeno. Dependiendo de los estados moleculares, y su posición respecto al nivel de Fermi del grafeno, este último puede interactuar como aceptor (tipo n) o donador (tipo p) de electrones, tomada de referencia [29].

El proceso inicia cuando un fotón interactúa con un electrón en el estado HOMO de una molécula, como resultado, este electrón es dispersado a un estado LUMO, el electrón excitado es después dispersado al sustrato (gracias a interacción molécula metal o semiconductor) dando lugar a la formación de un complejo excitado llamado

de transferencia de carga. La relajación de este complejo convierte parte de la energía electrónica en vibracional, o sea, se crea un fonón. En el siguiente paso, el electrón es dispersado de vuelta a su estado inicial emitiendo un fotón. Por otro lado, este mecanismo también puede ocurrir de manera inversa, tal forma que el fotón inicialmente interactúe con los estados del metal o semiconductor y después con los estados de la molécula, el tratamiento es análogo al ya expuesto [30, 31].

La dirección de la transferencia de los electrones entre sustrato y molécula está determinada por los potenciales de oxidación o reducción de las partes interaccionantes, los cuáles dadas por la posición del nivel de Fermi del metal o semiconductor y el nivel HOMO y LUMO de la molécula interaccionante. En particular, en la figura 2.6 b) se puede observar un caso representativo del grafeno [30].

El entendimiento de este tipo de supresión de fluorescencia es de suma importancia para entender el mecanismo químico bajo el cuál actúa el fenómeno de GERS que será explicado detalladamente en su momento. Hay que recalcar que para que este fenómeno pueda ocurrir, un contacto directo entre molécula y sustrato es requerido, además de una alineación adecuada entre los estados electrónicos (en este caso grafeno) y los de la molécula [21, 29].

En conclusión, la rodamina 6G presenta una sección transversal de fluorescencia mucho mayor que de dispersión, por lo tanto los fotones que interactúan con el compuesto tienen una mayor probabilidad de producir el primer fenómeno. Además, el uso del láser de onda continua en Raman, no permite separar el tiempo de vida correspondiente a la fluorescencia (del orden de nanosegundos) respecto a las vibraciones (del orden de picosegundos), dando como resultado el enmarañamiento del espectro. Sin embargo, existen mecanismos que suprimen la fluorescencia, uno de ellos es resultado de la interacción entre una molécula y un metal o semiconductor. Existe un semiconductor bidimensional conocido como grafeno que puede ayudar a esta supresión, en el siguiente capítulo hablaremos acerca de su estructura y propiedades.

Capítulo 3

Estructura y propiedades del grafeno

3.1. Estructura del grafeno

El carbono es uno de los elementos más versátiles de la tabla periódica debido a la facilidad de formar distintos tipos de arreglos con propiedades físico-químicas muy diferentes.

Este elemento en su estado base está descrito por la siguiente configuración electrónica: $1s^2 2s^2 2p^2$. Debido a esta configuración, los dos electrones del orbital $1s$ no están disponibles para un posible enlace químico, mientras que los orbitales $2s$ y $2p$ disponen de cuatro electrones de valencia pueden dar lugar a la formación de un enlace [32].

Sin embargo, a medida que el carbón maximiza el número de enlaces formados, minimiza la energía de su sistema. Para lograrlo, el carbono se re-ordena, de tal forma que un electrón del orbital $2s$ se promueve al orbital $2p$, como resultado se forman los orbitales s , p_x , p_y , p_z , los cuáles pertenecen al estado excitado. Este proceso de re-ordenamiento es conocido como hibridación [33].

Existen distintos tipos de hibridación del carbono como: sp^3 , sp^2 y sp . Sin embargo, la segunda configuración será explicada con mayor detalle, debido a la relevancia que tiene en este trabajo.

El re-ordenamiento sp^2 es posible a la combinación de tres de cuatro orbitales atómicos, un orbital $2s$, uno p_x y un p_y , cada uno con su electrón correspondiente.

Este tipo de arreglo conduce a una geometría trigonal en dos dimensiones, con ángulos de 120° entre los tres nuevos orbitales hibridados sp^2 que dan lugar a la formación de enlaces tipo σ que da una dureza, estabilidad energética y propiedades elásticas característica a los materiales que forma, por ejemplo, el grafeno. El orbital restante p_z se distribuye perpendicularmente al arreglo planar, dando lugar a la formación de enlaces π que producen las bandas de conducción y de valencia [33].

El arreglo de átomos de carbono en grafeno están localizados en los vértices de una red hexagonal. Este arreglo puede ser descrito como una red triangular de Bravais con dos átomos por celda unidad (A y B), de hecho, el hexágono puede ser visto como

dos subredes triangulares de átomos A y B. En la figura 3.1 a), se muestran las dos subredes, los círculos rellenos corresponden a la subred A y los círculos vacíos a la subred B. A continuación, se describen los vectores base correspondientes a esta celda unidad, los vectores están en un sistema coordenado ortogonal, el término $a^* = \sqrt{3}a$ donde a indica la distancia entre carbono-carbono en grafeno.

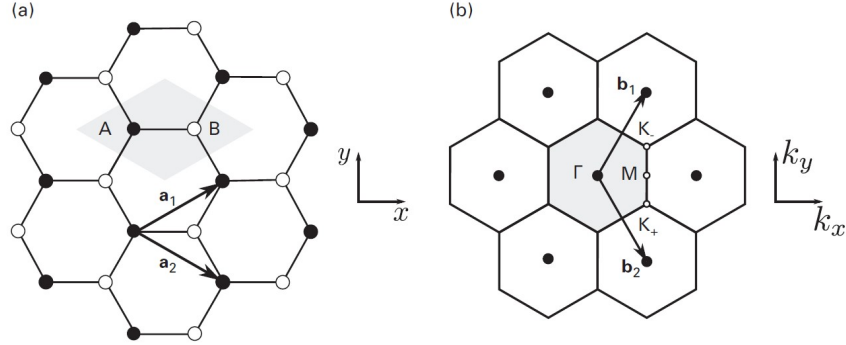


Figura 3.1: a) Red hexagonal cristalina de grafeno. Los puntos negros son átomos A, mientras que los blancos corresponden a átomos B, esto tiene como fin crear dos tipos de subredes triangulares que permiten un fácil desarrollo algebraico para el cálculo de las bandas de dispersión del grafeno. El área gris es una celda unidad de Bravais, la cuál contiene los átomos A y B, además es la celda unidad con menor área. Los vectores bases \vec{a}_1 y \vec{a}_2 describen esta celda unidad. b) Red hexagonal recíproca para grafeno. Los vectores \vec{b}_1 y \vec{b}_2 son los vectores recíprocos correspondientes a los vectores bases reales. La celda gris es la celda unidad en el espacio recíproco. Los puntos K_- y K_+ representan los puntos de Dirac, estos puntos juntos con M son puntos con características simétricas en el grafeno. Imagen tomada de [32].

$$\vec{a}_1 = a^* \left(\frac{\sqrt{3}}{2}, \frac{1}{2} \right) \quad \vec{a}_2 = a^* \left(\frac{\sqrt{3}}{2}, -\frac{1}{2} \right) \quad (3.1)$$

Los vectores en la red cristalina puede ser mapeados a una red recíproca matemática, la cual ayudará a encontrar la relación de dispersión en el material que se está estudiando. Entonces, los vectores recíprocos cumplen con la propiedad $\vec{a}_i \cdot \vec{b}_j = 2\pi\delta_{ij}$. El término $b^* = \frac{4\pi}{3a}$. Estos arreglos se realizan para observar mejor el comportamiento entre la red en un espacio y otro.

$$\vec{b}_1 = b^* \left(\frac{1}{2}, \frac{\sqrt{3}}{2} \right) \quad \vec{b}_2 = b^* \left(\frac{1}{2}, -\frac{\sqrt{3}}{2} \right) \quad (3.2)$$

Para tener una relación de dispersión en grafeno se utiliza un modelo denominado de amarre fuerte, donde se supone que los electrones están muy vinculados a los núcleos de carbono. De este modelo, se obtiene una constante γ_0 que es una integral de transferencia entre la interacción electrónica de los primeros vecinos de orbitales π . La constante de interacción usualmente tiene valores de 2.9-3.1 eV.

$$E_{\pm}(k_x, k_y) = \pm\gamma_0 \sqrt{1 + 4\cos\left(\frac{\sqrt{3}k_x a^*}{2}\right) \cos\left(\frac{k_y a^*}{2}\right) + 4\cos^2\left(\frac{k_y a^*}{2}\right)} \quad (3.3)$$

Si se expande la ecuación (3.3) para una vecindad cercana a los puntos de Dirac (K_+ y K_-) entonces se tiene una dispersión lineal de las bandas π y π^* (banda de conducción y banda de valencia) cercana a las 6 esquinas del hexágono que vive en la zona de Brillouin, como se muestra en la figura 3.2. A continuación, la vecindad q está dada por la siguiente expresión : $q = K_+ + \delta q$ ó $q = K_- + \delta q$. v_F es la velocidad de Fermi.

$$E_{\pm}(\delta q) = \pm \hbar v_F |\delta q| \tag{3.4}$$

La ecuación que se ha escrito implica que el grafeno tiene una dispersión lineal en las zonas cercanas a los puntos de Dirac. La dispersión es atribuida a partículas sin masa como los fotones [33].

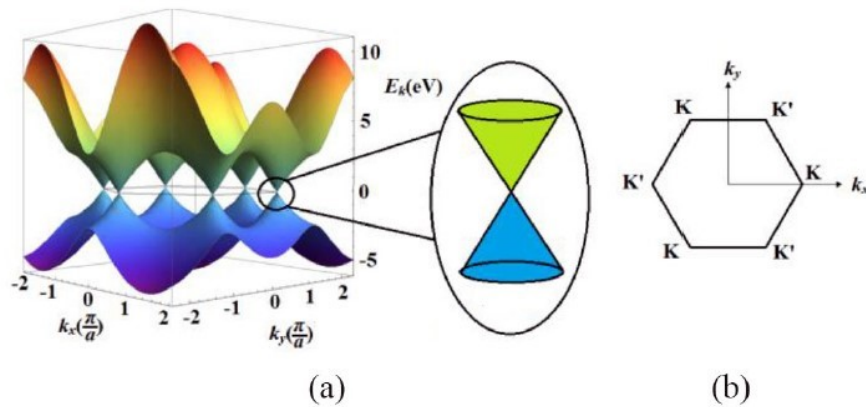
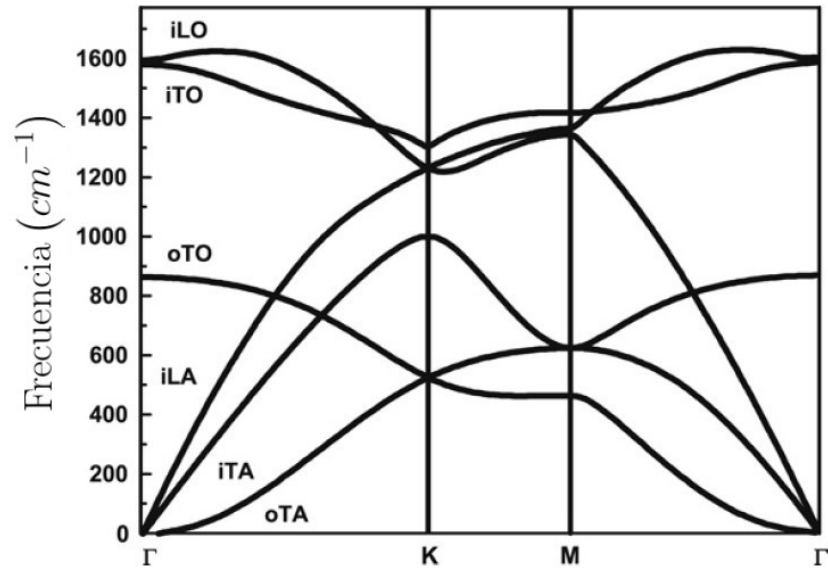


Figura 3.2: a) Bandas de conducción (arriba, verde) y valencia (abajo, azul) del grafeno bajo el modelo de amarre fuerte. Los electrones de conducción están relacionados a los enlaces π , mientras que los de valencia a π^* . El grafeno se caracteriza por ser un semiconductor con una brecha de energía igual a cero. b) En el espacio recíproco hay dos tipos de vértices bien definidos K y K' los cuáles son puntos de alta simetría y donde se tocan los conos, también se conocen como puntos de Dirac. Imagen tomada de [33].

3.2. Modos normales de vibración del grafeno. (Raman)

La espectroscopía Raman ha sido considerada una de las mejores técnicas para estudiar el grafeno debido a que es una técnica no destructiva y que permite entender la estructura electrónica de este material bidimensional, gracias a esto permite obtener una caracterización muy precisa, que incluye: conocer si el grafeno con el que se trabaja es mono, bi o multi-capa, también, el cambio de algunas bandas significa un dopamiento, o si se posee un grafeno pristino (mono-capa y libre de defectos) o con posibles defectos [34].



(a) Banda de dispersión fonónica para el grafeno.

	Longitudinal	Transversal en plano	Transversal fuera del plano
Acústica			
Óptica			

(b) Modos normales de vibración de grafeno monocapa.

Figura 3.3: a) Banda de dispersión para el grafeno donde los puntos Γ , K y M son puntos de alta simetría en la red recíproca. Se pueden observar las bandas acústicas (A) y ópticas (O), el subíndice *i* indica vibraciones en el plano (in-plane), mientras que el subíndice *o* vibraciones fuera del plano (out-of-plane). Las letras L y T se refieren a modo longitudinal y transversal, respectivamente [35]. b) Representación gráfica de las seis bandas fonónicas del grafeno, adaptada de [36].

Como se había estudiado en el capítulo 1, el proceso Raman es básicamente un proceso de dispersión donde interactúa : un fotón, un electrón y la creación de un fonón y fotón debido a este proceso. La dispersión de fonones en una red de grafeno es muy bien conocida y a partir de allí podemos conocer un poco más de las vibraciones propias de este material. Para empezar, hay que tener en cuenta que la celda unidad del grafeno incluye dos átomos de carbono (A y B) que pertenecen a subredes distintas y por lo tanto no son equivalentes. Por cada átomo existen 3 bandas de dispersión de los fonones de esta red, sin embargo, al ser dos átomos, se tendrá en total seis bandas de dispersión de las cuáles tres corresponden a la banda acústica (A) y tres a la banda óptica (O)¹. Para una banda acústica y óptica, las vibraciones de los átomos serán perpendiculares al plano del grafeno llamada como vibraciones fuera del plano. Para dos bandas acústicas y ópticas, la vibración será sobre el plano [35].

En la figura 3.3 se puede observar que las bandas iTO e iLO se tocan en un punto cercano a Γ y corresponden a un modo vibracional, por lo tanto se puede decir que este modo en particular es degenerado en este punto. Bajo la teoría de grupos este modo vibracional se conoce como E_{2g} . Este modo vibracional está asociado a una banda muy importante en el espectro Raman del grafeno llamada banda G que proviene de una dispersión Raman a primer orden y aparece en el espectro a 1582 cm^{-1} . Para ilustrarlo mejor, se puede observar la figura 3.4, donde se puede observar que la vibración entre dos átomos de la red es en direcciones opuestas correspondiente a un fonón óptico, además se ve que los átomos se mueven en ambas direcciones. Este movimiento en ambas direcciones hace que no sea necesario un defecto para generar una diferencia de carga que interactúe con un campo electromagnético produciendo una banda en el espectro Raman.

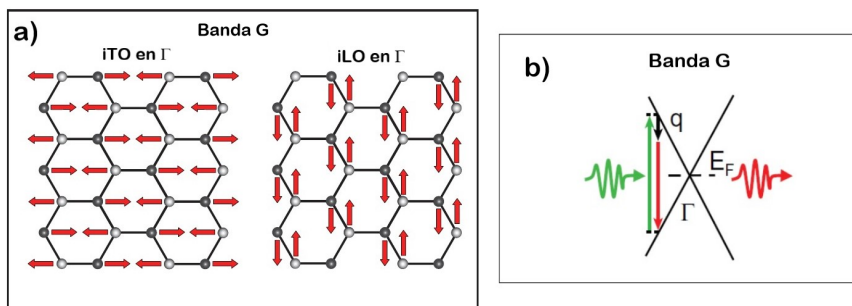


Figura 3.4: a) Esbozo de las vibraciones fonónicas para una red de grafeno en el punto Γ , se puede notar que ambas están sobre el plano y la única diferencia es el movimiento transversal o longitudinal. b) Proceso de dispersión para la banda G el cual es a primer orden debido a que se crea un fonón con un momento $q \approx 0$ además que no se necesita un defecto para poder ser activado. La línea verde indica el fotón incidente, mientras que la roja, el fotón final. Las imágenes fueron adaptadas de referencia [37].

¹Los fonones en las banda acústicas son producidos por una vibración entre dos átomos de la red cristalina en la misma dirección con la misma fase y frecuencia, por lo tanto no suelen tener interacción con un campo electromagnético y no producen radiación Raman. Los fonones en las bandas ópticas se forman por dos átomos en la red cristalina que se muevan en direcciones opuestas produciendo una diferencia de carga que puede interactuar con un campo electromagnético y por lo tanto puede producir radiación Raman.

Por otro lado, en Raman existen procesos de doble resonancia que consisten en la creación de dos fonones para la dispersión un electrón o la creación de un fonón más un defecto dispersor de un electrón más un defecto, esto con el fin de conservar el momento y la energía en el sistema.

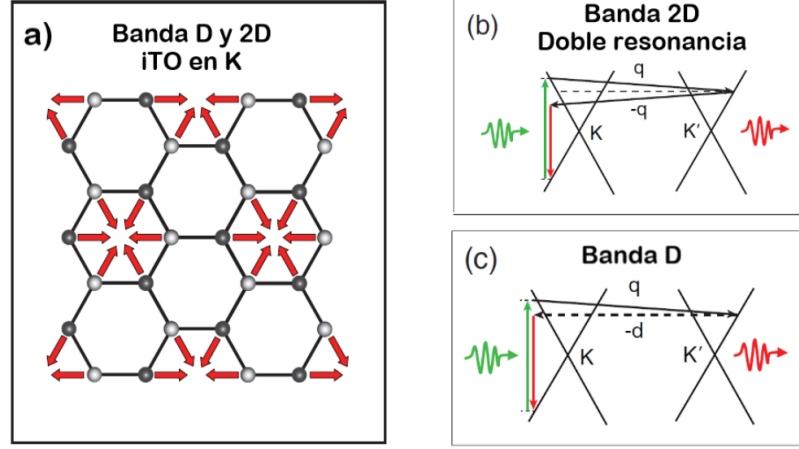


Figura 3.5: a) Vibración de la red de grafeno para la banda b) 2D y c) D. b,c) Procesos de segundo orden para la creación de la banda 2D y D. Las líneas verdes señalan el fotón incidente, mientras que las rojas el fotón dispersado, las líneas negras señalan la dispersión del electrón, y la línea negra punteada para el caso c) es el defecto que se requiere para la conservación del momento en la creación de la banda D. Imagen adaptada de [37]

La banda D es resultado de una doble dispersión de un fonón dispersor y un defecto, por lo que es un buen indicador de la calidad del grafeno. Mientras más pequeño sea el máximo de esta banda, mejor es el grafeno que se está utilizando.

En el caso del grafeno aparece una banda 2D (G')² resultado de un fenómeno de doble resonancia. En este proceso, un electrón es dispersado de un cono K a un cono K' (vecino), para la conservación del momento, el mismo electrón es dispersado de regreso (cono K'-K) dando como resultado la creación de dos fonones (observar figura 3.5 b)). La intensidad y posición de la banda 2D depende de la longitud de onda que se está utilizando, a mayor longitud de onda del láser mayor intensidad de la banda, pero un desplazamiento hacia números de onda más bajos, se puede corroborar en figura 3.6. Este fenómeno es resultado de un proceso de doble resonancia [36]. Las bandas 2D y D que se acaban de mencionar tiene una vibración en el plano mediante la contracción y el estiramiento de los anillos (ver figura 3.5).

G^* es una banda de segundo orden en el espectro Raman del grafeno. Los fonones que contribuye a la aparición de la banda G^* son una combinación de los modos iTO y LA (ver figura 3.3). Experimentalmente se ha encontrado que la posición de esta banda es sensible a la energía del láser. La posición de la banda G^* tiende a posiciones de número de onda más altos en el espectro Raman cuando se incrementa la energía del láser, observar figura 3.6 [36].

²Generalmente esta banda es llamada 2D porque es del doble de frecuencia de la banda D ($\omega_{G'} \approx 2\omega_D$). En algunos textos la podemos encontrar bajo el nombre de G' ([36, 38]).

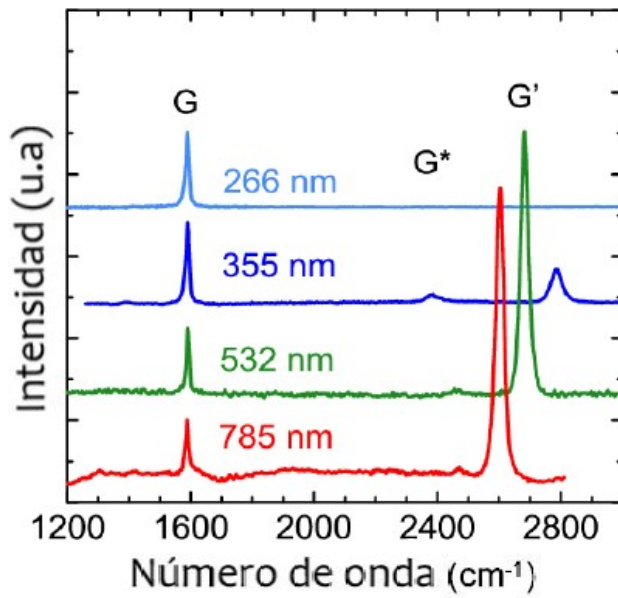


Figura 3.6: Espectro Raman de un grafeno monocapa sobre sustrato de zafiro excitado con longitudes de onda láser de 266, 355, 532 y 785 nm. Se observa el desplazamiento de la banda G'(2D) y G* debido al láser ocupado [39].

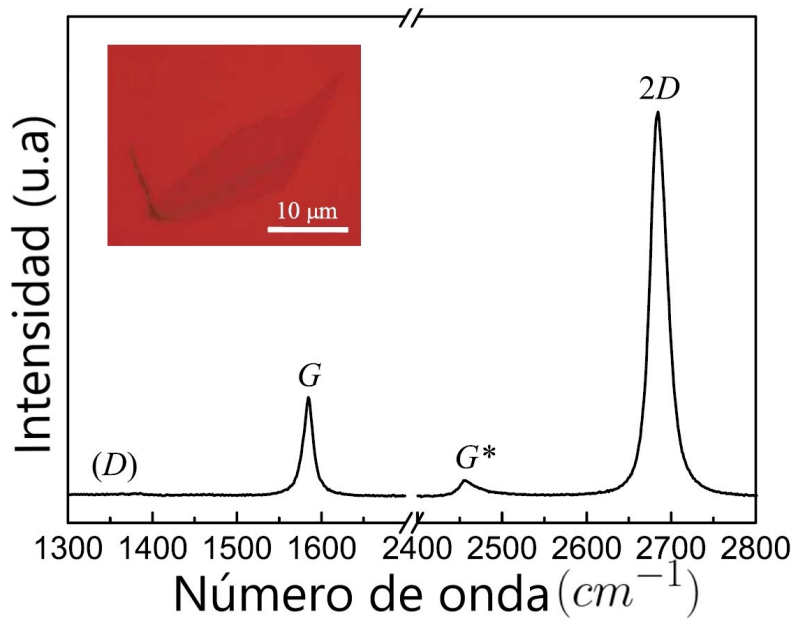


Figura 3.7: a) Espectro Raman de una monocapa de grafeno, que contiene las bandas características D, G, G* y 2D. El espectro fue tomado con un láser a 514.5 nm. En el lado superior izquierdo se observa una imagen tomada bajo microscopio óptico de un grafeno monocapa sobre 350 nm de Si/SiO₂ [40].

3.3. Grafeno monocapa y multicapa

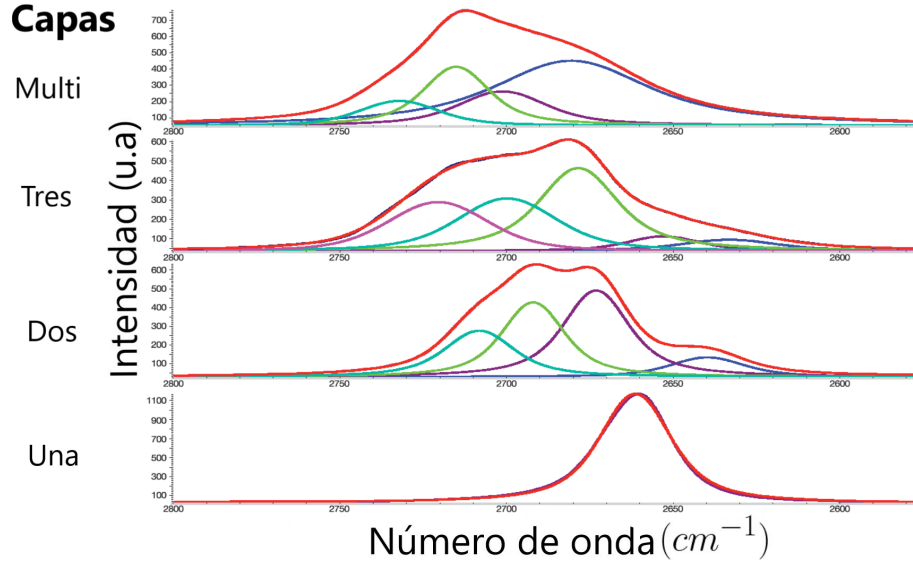


Figura 3.8: Evolución de la banda 2D a medida que crece el número de capas de grafeno. Se puede observar a primera vista que existe un cambio de forma y un ligero desplazamiento de la banda. La imagen fue tomada de la referencia [41].

A medida de que existe un apilamiento de las capas de grafeno existe un cambio tanto en las bandas y las relaciones de dispersión entre los electrones y fonones de este material. Estos cambios repercuten en el espectro Raman del grafeno y en particular afectan el tamaño y forma de la banda 2D, el cuál determinará si el grafeno con el que se trabaja es mono, bi- o multi- capa, como se muestra en la figura 3.8.

La forma de la banda 2D y su tamaño pueden ser ajustados por una o varias lorentzianas, dependiendo del número de capas de grafeno. Para una monocapa de este material, es necesario únicamente una lorentziana con una anchura a media altura (FWHM, en inglés) de $\approx 24cm^{-1}$ [35] (para un láser a 514 nm) ó $\approx 30cm^{-1}$ (láser a 532 nm) [41]. Sin embargo, para el caso de un grafeno multicapa se necesitarán 4 lorentzianas para poder ajustar la banda 2D, para el caso de tricapa serán necesarias de 4 a 6 funciones de Lorentz, un caso muy análogo será considerado para multicapas. [35]. Es importante recalcar que al ajustar cada función de Lorentz, estas deben conservar la FWHM de la monocapa.

La explicación de porque existen 4 lorentzianas para la bicapa es debido a que la interacción de los planos ocasiona un desdoblamiento de las bandas electrónicas del grafeno en 4 componentes. Cuando la luz incidente interacciona con este material, únicamente se puede acoplar a dos pares de bandas a la vez, produciendo así la doble resonancia característica de la banda 2D [42]. Esto se puede observar de mejor manera en la figura 3.9.

Existen otros criterios para identificar el número de capas de grafeno que incluye la proporción entre la intensidad de la banda 2D y el G, ($I(G)/I(2D)$), como lo indican las

referencias [43, 41], sin embargo, esta relación es afectada por una serie de condiciones experimentales de la muestra o la longitud de onda del láser con la cual se trabaja. La preparación de la muestra puede sufrir un dopamiento ya sea voluntario o involuntario, un ejemplo, cuando se hace una transferencia de grafeno con ayuda de FeCl_3 existe un cierto dopamiento P y por lo tanto un cierto cambio en la intensidad de $2G$. La relación entre dopamiento y la banda $2D$ se puede observar en figura 3.10, además, se aconseja revisar referencias [44, 45]. Por otro lado, la intensidad de $2D$ es sensible a la longitud de láser que se utilice, como ya se había discutido en la sección anterior. En conclusión, la forma más confiable de determinar el número de capas en grafeno es a través de la forma de la banda $2D$ y el ajuste de su respectiva(s) funciones de Lorentz.

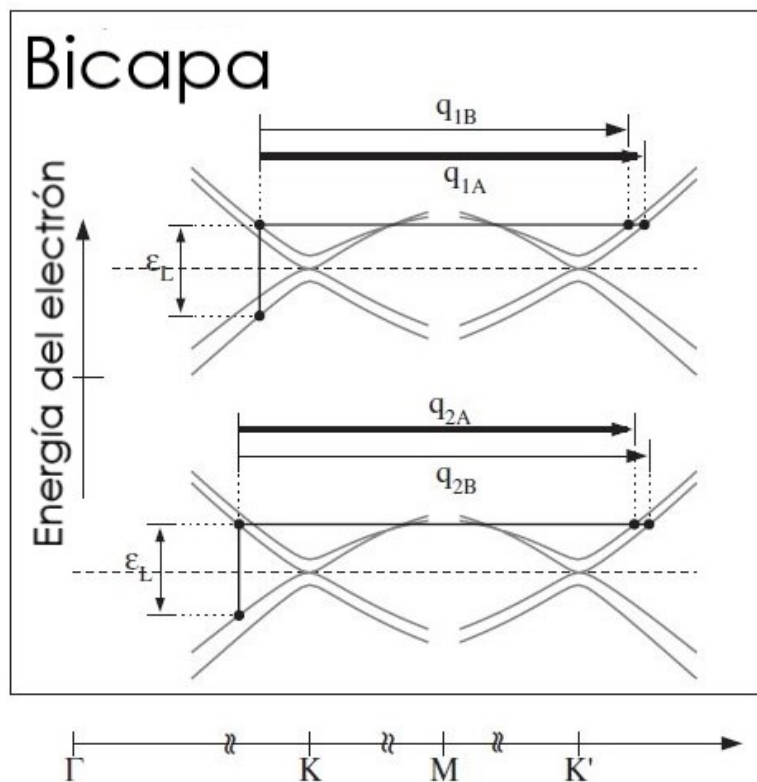


Figura 3.9: Proceso de doble resonancia para una bicapa de grafeno. q indica el momento que se compartió entre el electrón dispersado y el fonón, ϵ_L es la energía del láser y la línea punteada señala el nivel de energía de Fermi. Se puede observar que en el proceso están involucrados 4 fonones con momento q_{1B} , q_{1A} , q_{2A} , q_{2B} como se muestra en la figura. Imagen adaptada de [38].

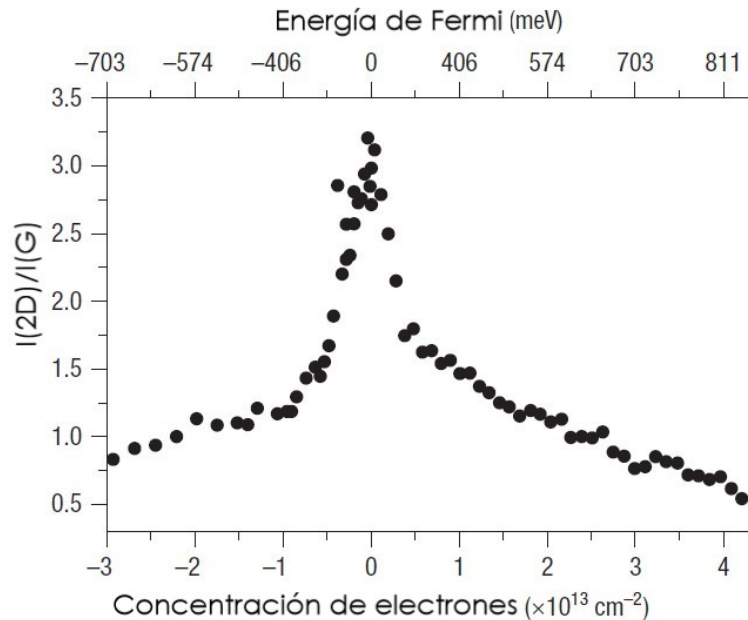


Figura 3.10: Influencia de la concentración de electrones y huecos en la proporción $I(2D)/I(G)$. Se puede observar que esta proporción es dependiente del dopamiento (que puede ser más huecos o electrones) y por lo tanto no es un parámetro confiable para determinar el número de capas del grafeno.

3.4. Dopamiento

Como se ha visto, la modificación en la posición y forma de las bandas G y 2D indican un posible dopamiento debido a la absorción o funcionalización de una cierta sustancia en grafeno. En el caso de la banda G existe un desplazamiento y además una modificación en el ancho de banda espectral (FWHM), en tanto, la banda 2D muestra una variación en su intensidad.

Existen dos tipos de dopamientos, uno llamado de tipo p donde existe un mayor número de huecos respecto electrones en el material y el tipo n donde el número de electrones es mayor al de huecos. El tipo de dopamiento está relacionado con la interacción del nivel de Fermi del grafeno y el HOMO y LUMO de la molécula interaccionante. Regresando a los cambios en las bandas significativas del grafeno, la banda G presenta un desplazamiento hacia frecuencias un poco más altas, además este comportamiento es independiente si el dopamiento es n o p. Para el caso de la banda 2D, si existe un dopamiento p, la intensidad de la banda aumenta, si el dopamiento es n, la banda disminuye. Todo esto es representado en la figura 3.11.

Con esto terminamos el análisis del espectro Raman del grafeno y las razones para cada unas de las bandas que se muestran en su espectro. En el siguiente capítulo abordamos como interacciona el grafeno con una capa delgada de un material y bajo que condiciones se observa un aumento de la señal Raman de la capa delgada.

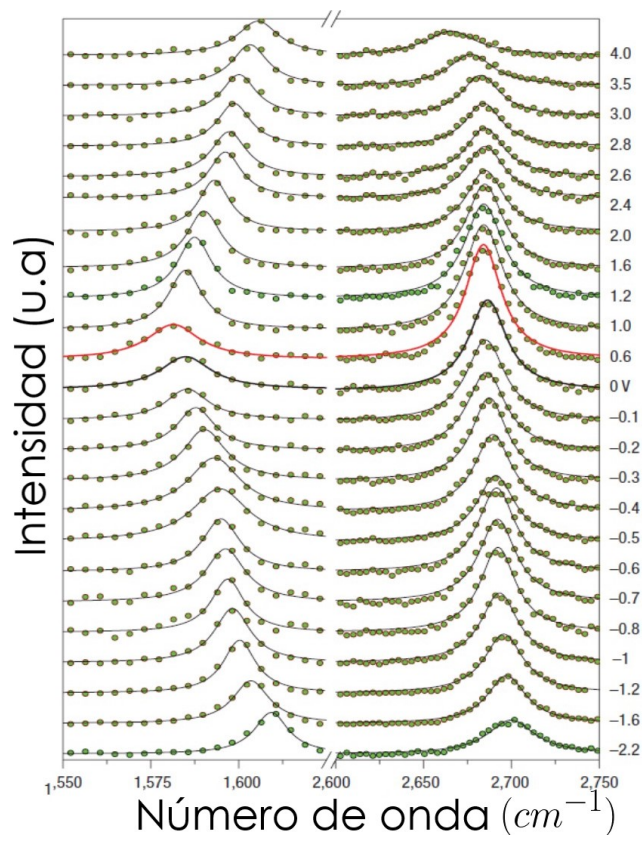


Figura 3.11: Se modela el dopaje tipo p y n usando un cambio de voltaje en el sustrato de grafeno, se utilizan valores de -2.2 V y +4.0 V. El punto G se encuentra a la izquierda de la imagen, mientras que el 2D se ubica a la derecha. Imagen tomada de referencia [44].

Capítulo 4

Tipos de amplificación de señal Raman

La intensidad promedio de la señal Raman de una molécula es directamente proporcional a la potencia del láser y también del modo vibracional que se está estudiando, sin embargo, debido a la naturaleza débil del fenómeno resultado del esparcimiento, a veces es necesario una amplificación de la señal que permita observar de una manera más clara el espectro. Actualmente, existen mecanismos que amplifican la señal Raman de una muestra, en varios órdenes de magnitud, esto con la ayuda de sustratos de dos dimensiones ó con nano-estructuras metálicas.

La forma de conocer la amplificación de la señal es a través de los coeficientes de mejoramiento (EF, en inglés) la cuál es una magnitud que indica en que porción la señal Raman fue amplificada con ayuda de las estructuras mencionadas arriba. Bajo condiciones experimentales similares, el cociente toma en cuenta la intensidad Raman (I) y concentración de la muestra (C) antes y después de ser sometida al uso de sustratos especiales, esta relación está dada por la ecuación 4.1. En este caso el subíndice RN describe valores bajo condiciones normales de Raman, mientras que SR las nuevas condiciones [2].

$$EF = \frac{I_{SR}/C_{SR}}{I_{RN}/C_{RN}} \quad (4.1)$$

Este coeficiente de amplificación es comúnmente descrito como el resultado de la interacción entre el sustrato y la muestra a estudiar, la cual puede ser causada por fenómenos electromagnéticos ó químicos. El primero será llamado mejoramiento electromagnético (EM, por sus siglas en inglés), mientras que el segundo es mejoramiento químico (CM, en inglés). Experimentalmente hablando, bajos ciertas condiciones es muy difícil distinguir entre ambos fenómenos y saber cuál tiene mayor contribución, aunque usualmente es el electromagnético. A continuación, se da una breve descripción de cada uno de ellos.

- EM: El campo electromagnético del láser y una estructura nano-metálica, en contacto con una molécula, interaccionan de tal forma que el campo inciden-

te amplificado por la estructura afecta la dispersión Raman de la molécula, en consecuencia, el EF es aumentado en un orden de 10^4 . Este efecto es el más dominante bajo ciertas condiciones que están relacionadas al tipo de sustrato o nano-estructura que se pueda utilizar.

- CM: La absorción de la molécula por un determinado sustrato produce una interacción química, la cuál da como resultado, una redistribución de la nube electrónica de la molécula, que es traducido a un cambio en la polarizabilidad molecular. Las investigaciones han mostrado que el EF debido a este efecto es del orden de 10^2 . Cabe mencionar que este mecanismo a veces es muy discutido, pero es muy bien descrito por el fenómeno de transferencia de carga (CT).

4.1. SERS

Existe un tipo de técnica llamada SERS (Amplificación de Señal Raman por medio de un sustrato) que incluye estos dos tipos de EF: electromagnético y químico, alcanzado un EF total del orden de 10^6 resultado del producto de la contribución antes mencionadas. Este factor puede aumentar en un orden de hasta más de 10^9 . Descubierta a inicios de 1970, se encontró que un electrodo de plata podría mejorar la señal Raman de una molécula de Piridina. Desde aquél momento, este campo ha crecido de una manera asombrosa por ser una técnica analítica muy sensible y de una selectividad impresionante para la detección de moléculas absorbidas en nano-estructuras de metales nobles o alcalinos.

Como se discutió arriba, SERS presenta dos mecanismos de aumento de la señal, pero el electromagnético es el principal, es por eso que se dará una breve introducción a la descripción fenomenológica de éste.

4.1.1. Amplificación mediante mecanismo Electromagnético

El plasmón es una cuasi-partícula que representa la oscilación colectiva y coherente de un sistema de electrones de conducción de una nano-estructura metálica [2]. Para que la oscilación se lleve a cabo, se necesita que los electrones sean excitados por radiación electromagnética. En otras palabras, la interacción de la radiación y estos electrones dan como resultado un proceso físico conocido como resonancia de plasmón [46]. Si se está trabajando con una superficie el proceso toma el nombre de resonancia de plasmón superficial, sin embargo, si se quiere una resonancia mucho más localizada se puede hacer el uso de nano-partículas, este fenómeno es conocido como resonancia de plasmón localizado [47]. Actualmente, debido al gran avance en la fabricación y control de nano-partículas, aunado a las aplicaciones y ventajas se ha optado por el uso de estas nano-estructura sobre las superficies. A continuación, se dará una breve introducción fenomenológica del fenómeno de resonancia de plasmón localizado [47].

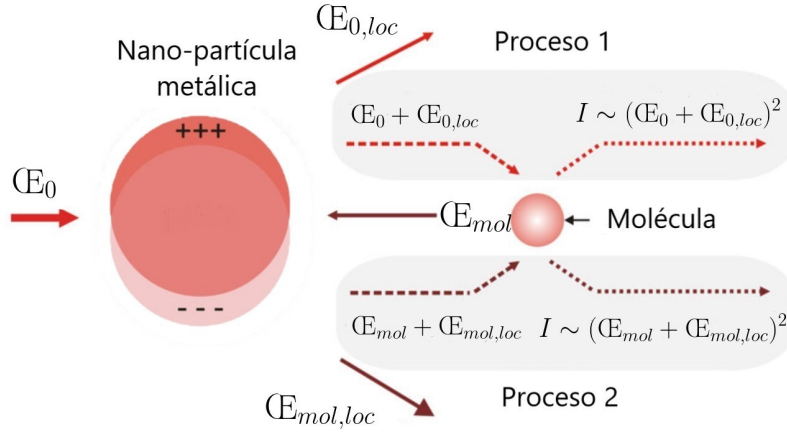


Figura 4.1: En esta imagen se puede observar de una manera didáctica y básica el proceso de resonancia de plasmón debido a una nanopartícula metálica.

Cuando la radiación electromagnética está en contacto con una nano-partícula metálica, esta interacción produce un momento dipolar en la nano-partícula. Como consecuencia de este momento dipolar, se genera un campo electromagnético con una intensidad mayor respecto al incidente: $E_0 + E_{0,nano}$ el cuál va a interactuar con una molécula dando una intensidad Raman: $I \sim (E_0 + E_{0,nano})^2$. Sin embargo, también puede ocurrir que el campo electromagnético de la molécula produzca un dipolo en la nano-partícula, dando como resultado una nueva intensidad de campo: $E_{mol} + E_{mol,nano}$ y teniendo una intensidad Raman: $I \sim (E_{mol} + E_{mol,nano})^2$. Cabe notar que la intensidad Raman es proporcional al campo eléctrico de forma cuadrática en ambos casos, en consecuencia, la intensidad de SERS (I_{SERS}) total será proporcional a la cuarta potencia de la intensidad del campo eléctrico incidente local producido por la nano-partícula, por la intensidad del campo incidente (I_0) [48, 49].

$$I_{SERS} \propto |E_{0,nano}|^4 I_0 \quad (4.2)$$

Retomando la ecuación 4.1, se puede definir el EF de SERS, como el cociente de la intensidad Raman en presencia de la nano-partícula metálica entre la intensidad en la ausencia de ella. α_{nano} representa la polarizabilidad lograda por la nano-partícula, mientras que α_{R_0} es la polarizabilidad de la molécula antes del contacto con el sustrato. La ecuación toma la siguiente forma:

$$EF = \left| \frac{\alpha_{nano}}{\alpha_{R_0}} \right| E_{0,nano}^4 \quad (4.3)$$

4.1.2. Desventajas de SERS

Como se acaba de demostrar en principio se puede tener un mejoramiento de 10^4 , sin embargo, a veces este factor puede ser demasiado pequeño, esto es imposible debido a una serie de factores, como [2]:

- Características del láser con el que se trabaja.
- Naturaleza química del sustrato, usualmente son partículas de oro o plata con una cierta orientación y geometría.
- La dimensionalidad del sustrato, estructuras planas en 2D o partículas 3D en solución.
- Que tan eficiente fue la absorción entre la muestra y el sustrato, puede ser afectado por la concentración de la muestra, la distancia al sustrato o la orientación en la que se absorben las moléculas por la superficie o partículas.

Si a la lista de factores que afectan SERS, se añade que la técnica cuenta con la dificultad de la creación de superficies rugosas, entonces la reproducibilidad se vuelve algo muy complicado de conseguir [50]. En principio, se podría proponer el uso de superficies lisas (de dos dimensiones), pero uno de los principales problemas es que se produce un muy bajo rendimiento de SERS (prácticamente despreciable), porque esta técnica está basada en la curvatura de las superficies o nanopartículas que permite una mejor interacción con la luz incidente [31]. Sin embargo, los materiales en 2D presentan otro tipo de mecanismo para el mejoramiento de Raman, este es más conocido como amplificación por mecanismo químico, gracias a ellos se logrará explorar este nuevo mecanismo.

4.2. GERS

Uno de los materiales 2D por excelencia es el grafeno. Este material cuenta con una superficie relativamente lisa con ligeras fluctuaciones. Además, presenta una transmisión óptica es de alrededor de 95 % en el rango visible. Por otra parte, la formación de plasmones superficiales se da en la región de terahertz y no en la UV-visible. Por todas estas características, el uso de grafeno como sustrato, no presenta un mejoramiento a partir del mecanismo electromagnético, pero, presenta un mejoramiento por mecanismo químico [8]. Actualmente, el uso de este sustrato es conocido como amplificación de señal Raman mediante grafeno (GERS, por sus siglas en inglés).

Por lo dicho anteriormente, se hablará del mecanismo químico siempre haciendo referencia a GERS, o viceversa. Esto con el fin de entender de una manera más adecuada el funcionamiento del mecanismo. Debe quedar claro que el modelo que se usará de aquí en adelante es llamado transferencia de carga (CT, por sus siglas en inglés).

Experimentalmente se ha descubierto que el coeficiente de amplificación asociado al mecanismo químico, mejora la señal Raman hasta un orden de 10^2 . GERS dominado por CM presenta una menor amplificación si se compara con SERS (dominante EM). Aunque exista esta diferencia tan grande en los mejoramientos de ambos mecanismos, GERS tiene la ventaja de lograr una homogeneidad en el aumento de la señal Raman, mientras tanto, en SERS la amplificación es mayor para las moléculas cercanas a las nano-estructuras, lo que genera una inhomogeneidad en la señal Raman final.

En el caso del mecanismo químico, para llegar a obtener un mayor incremento en la señal, existen tres principales factores que son determinantes : la energía de excitación del láser, el nivel de Fermi del grafeno y las propiedades de la molécula prueba.

Por lo tanto, se utilizarán estos tres puntos como eje para desarrollar el concepto y el entendimiento de dicho mecanismo.

4.2.1. Láser (energía de excitación)

Debido a que el fenómeno de dispersión Raman es muy débil, un modelo para describirlo es el acercamiento de la teoría de perturbaciones a tercer orden. Se considera el diagrama de la figura 4.2, que ya ha sido anteriormente expuesto. Cada interacción, representada como un círculo para el caso de radiación-electrón y un cuadrado para electrón-fonón, puede ser descrito por un Hamiltoniano y contribuye a la intensidad Raman, como vimos en la sección 1.3. La magnitud de la intensidad Raman está ligada a la magnitud de la polarizabilidad, que es descrita por la regla de Fermi [51].

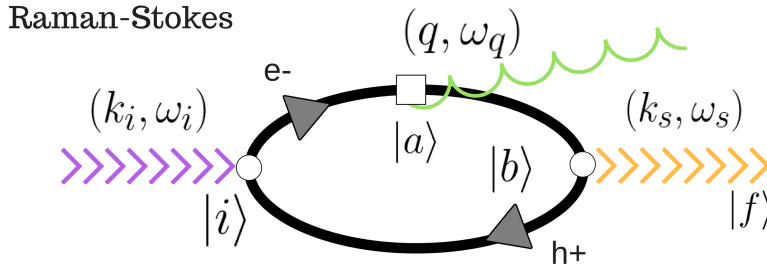


Figura 4.2: Proceso de dispersión Raman (Stokes) representado en un diagrama de Feynman. La interacción de un fotón con un electrón (interacción electrón-radiación) provoca que el electrón suba hasta un nivel (no necesariamente existente, como podría ser electrónico o vibracional) "virtual", este electrón interactúa con un fonón (vibración) que será liberado, después el electrón decae para recombinarse con el hueco creado al inicio del proceso, finalmente el fotón inicial sale dispersado con una frecuencia menor a la incidente. Durante este proceso existe conservación de energía y momento.

$$\alpha \propto \left| \frac{\langle i | H_{luz} | a \rangle \langle i | H_{el-ph} | b \rangle \langle b | H_{luz} | f \rangle}{(E_\lambda - E_{H/L})(E_\lambda - E_{H/L} - E_q)} \right|^2 \quad (4.4)$$

donde $|i\rangle$ es el estado inicial, $|a\rangle$ y $|b\rangle$ son estados excitados intermedios, $|f\rangle$ es el estado final, H_{el-ph} es el Hamiltoniano asociado al acoplamiento electrón-fonón, E_λ es la energía de excitación del láser y finalmente, $E_{H/L}$ es la energía que necesita el electrón para pasar de un estado a otro (del HOMO al LUMO). Se puede notar que la ecuación 4.4 entra en resonancia para dos valores, cuando la energía de excitación coincide con esa energía de transición del electrón, también esta misma separación es válida si se aumenta en una constante que está relacionada con los diferentes modos vibracionales de la molécula (diferentes E_q).

Esto es un buen comienzo, para entender como funciona el proceso de transferencia de carga (CT) para la eliminación de la fluorescencia y el mejoramiento de los modos normales de vibración de una molécula. De hecho, la teoría propuesta por Barros et al. [31] a partir de la regla de Fermi y tomando en cuenta la interacción electrón-radiación y electrón-fonón en materiales 2D y en particular grafeno, encontró una serie de condiciones adicionales que mejoran la señal Raman.

4.2.2. Nivel de Fermi del grafeno

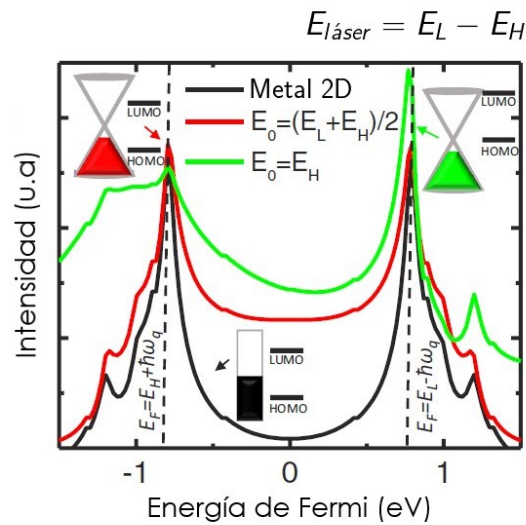
El grafeno como un material 2D permite un mejoramiento superior respecto a otras superficies debido a una serie de aspectos como; la densidad de estados que presenta el grafeno (que crece linealmente respecto a la energía), la brecha de energía igual a cero que da un interesante nivel de Fermi. A continuación, se explican que aspectos son de gran importancia para la explicación de la interacción molécula-grafeno.

Como se ha visto, la energía de excitación del láser es un factor que determina el mejoramiento de la señal Raman, sin embargo, existen otra serie de condiciones relacionadas al nivel de Fermi del grafeno y el alineamiento de los niveles energéticos de la molécula prueba que pueden dar un mejor rendimiento en el mejoramiento de la señal. Teóricamente, se han dado una serie de condiciones por Barros [31] y también se han realizado experimentos, por ejemplo Hua et al. [52], que permiten visualizar estos aspectos.

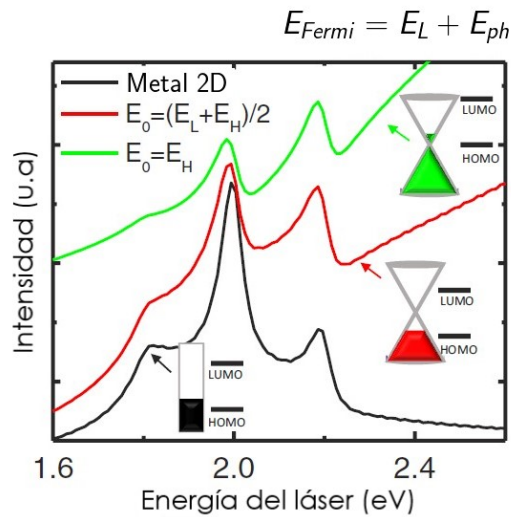
Pero antes de adentrarse al tema, se necesita definir unos términos que ayudarán a entender la interacción entre molécula y el grafeno, este proceso puede o no alterar los niveles electrónicos de ambos. Las moléculas cuentan con dos niveles llamados : HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital, por sus siglas en inglés), asociado hasta que nivel energético se encuentra el último electrón de la molécula, mientras que el LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital, en inglés) está relacionado con el primer nivel energético excitado en caso de que un electrón de la molécula sea promovido. En el caso de la superficie, se tiene un parámetro conocido como Energía de Fermi (E_F) dominado como el estado electrónico más alto que puede ocupar un electrón, siempre y cuando tomes en cuenta $T = 0$ K. Si existe una alteración entre los niveles de la molécula-grafeno se presentará un fenómeno conocido como transferencia de carga (CT, en inglés), si no existe dicha alteración simplemente no hay CT.

$$\begin{aligned}
 \text{(i)} \quad E_{Laser} &= E_L - E_H \quad \text{o} \quad E_{Laser} = E_L - E_H + \hbar\omega_q, \\
 \text{(ii)} \quad E_F &= E_H \pm \hbar\omega_q \quad \text{o} \quad E_F = E_L \pm \hbar\omega_q, \\
 \text{(iii)} \quad E_{Laser} &= E_F - E_H \quad \text{o} \quad E_{Laser} = E_F - E_H + \hbar\omega_q, \\
 \text{(iv)} \quad E_{Laser} &= E_L - E_F \quad \text{o} \quad E_{Laser} = E_L - E_F - \hbar\omega_q,
 \end{aligned} \tag{4.5}$$

en donde E_H es igual a la energía del HUMO, mientras que E_L es la energía del LUMO y $\hbar\omega_q$ es la energía del fonón. Esta serie de ecuaciones 4.5 dan un amplio panorama de las condiciones que mejoraran la señal Raman por la interacción molécula-sustrato. La primera es una condición de resonancia que es posible cuando la energía del láser concuerda con la diferencia de los estados electrónicos de la molécula (o más la energía del fonón). La condición (ii) relacionada con el nivel de Fermi del grafeno, dicta que si este nivel está por debajo o encima una cantidad correspondiente del fonón entonces habrá una respuesta óptima y por lo tanto se observará un mejoramiento en la señal, esta aseveración es importante debido a que el nivel de Fermi no tiene necesariamente que coincidir con los estados electrónicos de la molécula (HOMO/LUMO). La condición (iii, iv) corresponde al acoplamiento de energía del láser y la diferencia entre el nivel de Fermi y el HOMO (LUMO) con un posible aumento (disminución) respecto a la energía del fonón que conlleva a un aumento de la señal Raman de la molécula [31].



(a) Intensidad Raman como función de la energía de Fermi para $E_{\text{láser}} = E_L - E_H$



(b) Intensidad Raman como función de la energía de excitación del láser para $E_F = E_H + E_{\text{fonon}}$

Figura 4.3: Las imágenes tomadas de la referencia [31] ilustran las condiciones de 4.5 para el mejoramiento de la señal Raman. a) Se muestra la relación que existe entre un láser con la diferencia de energía entre HOMO/LUMO y el nivel de Fermi para las siguientes configuraciones: superficie metálica en 2D (negro) y grafeno (rojo) para alineamiento simétrico respecto al nivel de Fermi, y alineamiento tal que el HOMO de la molécula coincide con el nivel de Fermi del grafeno (verde). b) Se muestra la dependencia de la energía de láser respecto a la energía de Fermi ($E_F = E_H + E_{\text{fonon}}$), para las configuraciones ya citadas, y como esto afecta la intensidad de la señal. Los autores utilizaron como parámetros: $E_H = -1$ eV, $E_L = 1$ eV, $\hbar\omega_q = 0.2$ eV.

En la figura 4.3 a) se puede notar que los mayores mejoramientos están presentes para el grafeno respecto al metal en 2D, en especial, cuando el nivel de Fermi está dictado por la condición (ii) de la ecuación 4.5. Un caso interesante presente en el grafeno (para las dos configuraciones de HOMO/LUMO), cuando el nivel de Fermi se ubica en medio de las dos bandas (valencia y conducción), aún así se puede observar el mejoramiento de la señal, lo cuál es muy distinto para el material 2D. Esto no es coincidencia, y la explicación recae en que la densidad de estados del grafeno aumenta de manera lineal respecto a la energía, lo que le da esta características tan especial. Por otro lado, para la figura b) muestra un grafeno o metal 2D con una energía de Fermi desplazada una cantidad correspondiente a la energía del fotón con la cual interactúa la superficie plana. Se observa que el mayor mejoramiento proviene del hecho de que la energía del láser concuerda con la separación de los niveles electrónicos de la molécula que está interactuando con el sustrato (a $E_L - E_H = 2 \text{ eV}$), otro pico interesante que se puede observar es debido a la condición (i) (en $E_{\text{laser}} = E_L - E_H + h\omega_q = 2.2 \text{ eV}$).

4.2.3. Molécula prueba

Una parte esencial durante el tratamiento de GERS es la interacción entre dipolos que pueda tener la nube electrónica de una molécula prueba con los electrones π del grafeno, la interacción se ve directamente afectada por la orientación molecular respecto a la red cristalina de grafeno, lo que mejora el efecto GERS. Algo muy interesante es que moléculas con simetría similar a la del grafeno presenta un mayor factor en la amplificación de la señal Raman, por eso no es coincidencia que los grupos aromáticos se acoplen también a este tipo especial de sustrato bidimensional debido a un tipo de interacción molecular conocido como $\pi - \pi$. Por último, el experimento tiene un límite en la detección de la molécula con la que se trabaja, este límite en parte está dictado, porque se quieren capas homogéneas y delgadas y además porque ciertas moléculas tienden a formar cierto tipo de conglomeraciones a concentraciones pequeñas que modifican la interacción que puedan tener con el grafeno.

Concentración de la molécula

En principio GERS puede detectar señales Raman para concentraciones incluso debajo del orden de 10^{-10} M , que es comparable con las usadas en SERS [8]. Un análisis más profundo entre la relación concentración de la molécula y amplificación de la señal Raman es llevada a cabo por Ling et al. [8], donde se encontró que la señal Raman empieza a saturarse conforme la concentración empieza a aumentar, sin embargo, concentraciones muy bajas, debajo de $8 \times 10^{-7} \text{ M}$ [8] para el caso muy particular de la rodamina 6G, la señal Raman de la molécula puede ser inexistente debido a la presencia de monómeros. Los monómeros son moléculas aisladas que no interactúan con otras, con características particulares como una sección transversal de fluorescencia grande debido a una alta eficiencia cuántica, lo que evita la eliminación de la fluorescencia y en consecuencia el grafeno no amplifica la señal Raman. Sin embargo, a concentraciones de 10^5 M a 10^9 M en agua destilada, los monómeros tienden a interactuar para formar un conjunto de dos moléculas conocido como dímero, una de las principales propiedades es que presenta una muy baja eficiencia cuántica y una sección transversal

de fluorescencia más pequeña respecto al monómero, por lo tanto hay mayor probabilidad de que el grafeno amplifique los picos de la sustancia. La formación de estos monómeros y dímeros en el caso particular de la rodamina 6G, pueden ser observados a través de la técnica de espectroscopía UV-visible.

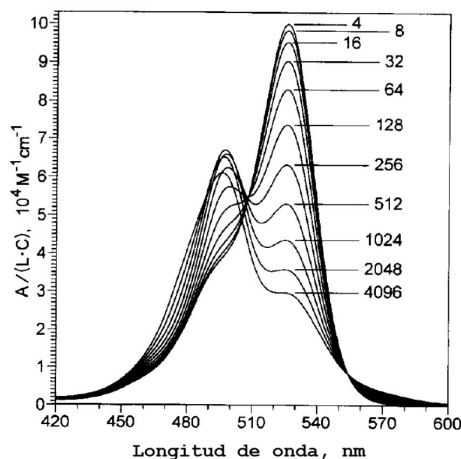


Figura 4.4: Se muestra la relación que existe entre diversas concentraciones (dadas en μM) de rodamina 6G en agua destilada y el coeficiente molar de absorción, gracias a la espectroscopía UV-visible. Se puede notar que a medida que la concentración aumenta aparecen dos picos lo que supondría que hay dos especies que modifican el espectro, el primero aproximadamente a 530 nm es referido como monómero, mientras que el segundo aproximadamente a 500 nm es el dímero. Para concentraciones muy pequeñas, el monómero alcanza un grado muy alto en el coeficiente molar de absorción lo que explica porqué es tan complicado eliminar la fluorescencia, por otro lado, para concentraciones más altas, la presencia del dímero cuenta con un coeficiente de absorción más bajo por lo que es más probable eliminar la fluorescencia. Cabe señalar que existe un punto conocido como punto isobéptico (a 508 nm) para el cuál el coeficiente se mantiene en el mismo sin importar la concentración de la disolución. La gráfica ha sido tomada de la siguiente referencia, [53].

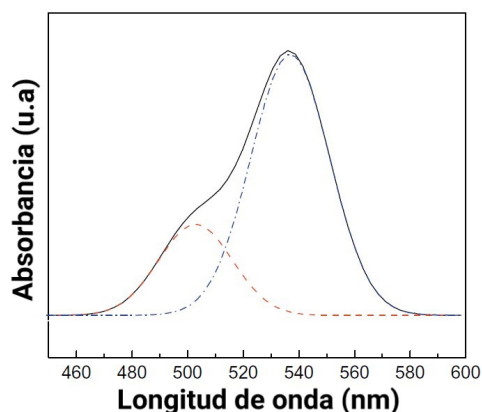


Figura 4.5: Espectro de absorción de rodamina 6G disuelta en metanol (concentración de $2 \times 10^{-2} \text{ M}$). Se ha aplicado una deconvolución al espectro y se pueden observar dos gaussianas bien definidas, la roja corresponde al dímero mientras que la azul corresponde al monómero. Tomada de [54].

En la figura 4.5 se presenta una forma común de detectar de manera más acertada la presencia de estas dos especies (monómero y dímero) la cual consiste en aplicar una deconvolución en el espectro asumiendo una forma gaussiana de las bandas de absorción.

La creación del dímero y del monómero también depende del tipo de solvente donde de esta inmersa la rodamina 6G, en el caso de disoluciones con algún tipo de alcohol (etanol, metanol o acetona) la presencia del dímero se puede dar a disoluciones del orden de 10^{-2} M. En este punto, el tipo de solvente tiene una gran importancia.

Orientación de la molécula

La interacción entre el grafeno y una molécula prueba (con ciertas características, que se analizarán después) se da a través de una interacción no covalente, es decir, no existen electrones compartidos de por medio. La interacción conocida como apilamiento $\pi - \pi$ se da debido a dos factores: fuerza de dispersión tipo London e interacciones electrostáticas, la primera causa es debido a que los electrones π del grafeno modifican la nube electrónica de la molécula prueba y con esto se genera un momento dipolar eléctrico en esta molécula, después esta nube electrónica distorsionada interactúa electrostáticamente con el grafeno, esta interacción está dictada por la orientación que puede tener la molécula respecto al grafeno [55].

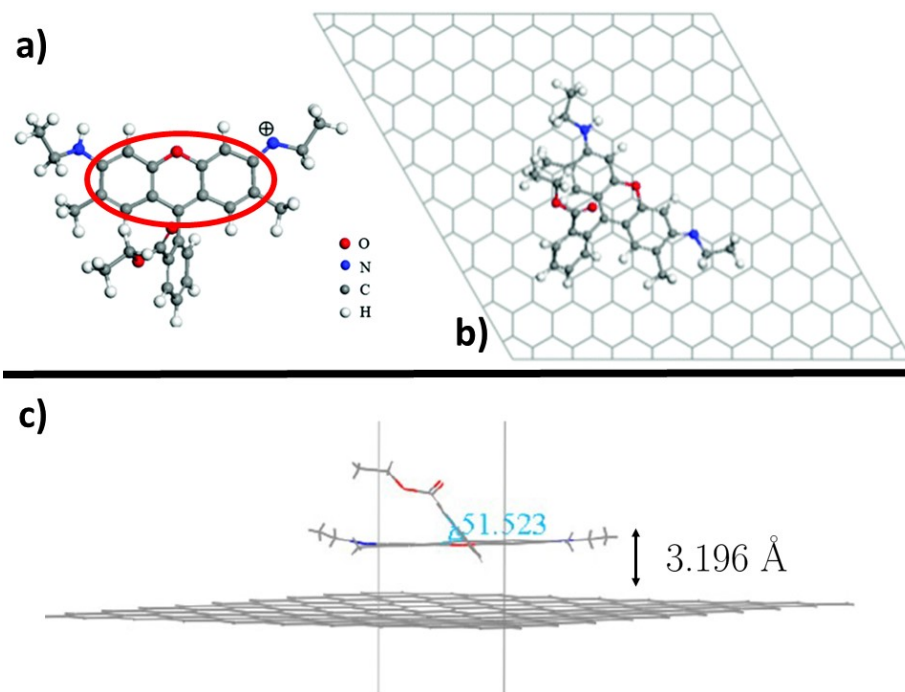


Figura 4.6: a) Estructura tridimensional de la molécula de R6G, en el círculo rojo se enmarcan los anillos aromáticos planos que yacen sobre el sustrato de grafeno y permiten la interacción $\pi - \pi$ como se muestra en b) vista superior y c) vista lateral. Se muestra la distancia equilibrio entre la R6G y el sustrato de grafeno. La imagen fue modificada de [56].

Diferentes orientaciones de la molécula prueba y el grafeno definen que tanto la molécula puede ser polarizada a través de la interacción $\pi - \pi$. En otras palabras, si la polarizabilidad molecular aumenta es debido a que la interacción con el grafeno es mucho más fuerte, que se podría traducir como un mejor acoplamiento electrón - fonón, lo que aumenta la sección transversal Raman y por lo tanto hay un aumento en la intensidad de la señal Raman. Vamos a estudiar un caso muy particular, el de la interacción R6G y el grafeno.

Cuando una molécula de R6G esta cerca de una capa de grafeno existe una interacción entre ambas, dando un proceso de absorción por parte del grafeno, gracias a que los anillos planos (pertenecientes al anillo xanteno de la molécula de R6G) yacen paralelos sobre el grafeno dando lugar a una interacción $\pi - \pi$, esto se muestra en la figura 4.6. Zhang et al. [56] encontraron usando DFT las condiciones idóneas para esta interacción, encontrando que la distancia de equilibrio es 3.2 Å, con una energía de interacción del sistema de -2.07 eV [56].

Efecto de primera capa en GERS

Una de las características más importantes del mecanismo químico es el efecto de corta distancia, en el cual el factor de mejoramiento decae de manera d^{10} . Por lo tanto, para que el efecto químico exista, se necesita que la molécula prueba y la superficie de grafeno estén lo más cerca posible. Este mecanismo es conocido como de primera capa.

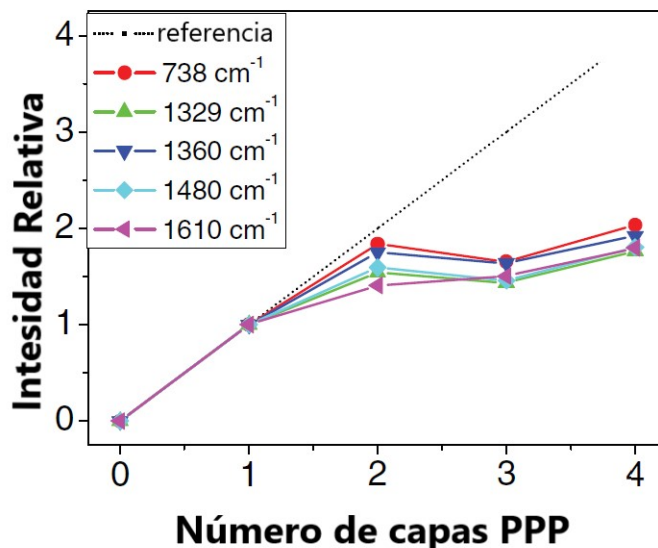
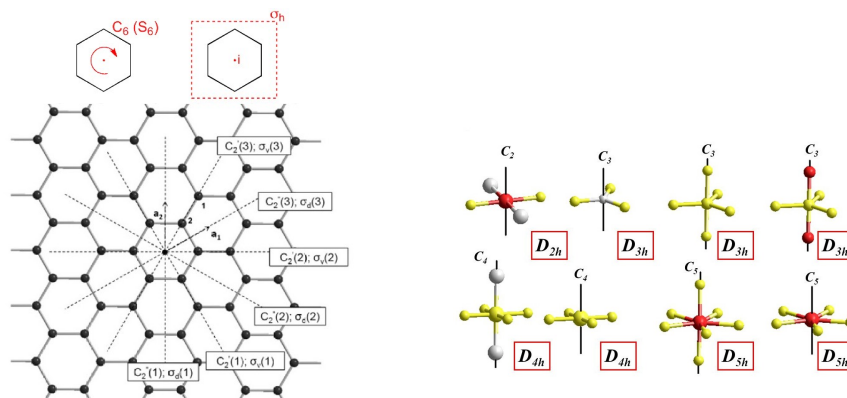


Figura 4.7: Intensidades relativas de algunas bandas de referencia de PPP como función del número de capas de la molécula. La contribución a la intensidad de las bandas de la primera capa fue puesta en 1. Se puede observar que la intensidad relativa no varía de manera lineal (recta punteada) respecto al número de capas, de hecho, la intensidad Raman incrementa en menor medida respecto al número de capas. Lo anterior indica que la primera capa es la que más contribuye en la amplificación de la señal Raman [57].

La investigación experimental de este fenómeno fue realizada por Ling y Zhang en [57], ellos construyen capas homogéneas del compuesto PPP (Protoporfirina IX) en grafeno y concluyen que la señal Raman no aumenta linealmente con el número de capas de PPP, y que la primera capa de PPP tiene la mayor contribución en el mejoramiento de la señal Raman comparado con las capas subsecuentes (observar figura 4.7). El resultado anterior es contrastante con el efecto electromagnético de SERS, en el cuál existe una interacción entre el sustrato (metal) y las moléculas, incluso varios nanómetros lejos de la superficie [57].

En nuestro caso en particular, nosotros estamos interesados en que se suprima la fluorescencia de una muestra de R6G usando grafeno, por lo que el mecanismo de primera capa sugiere que la supresión de la fluorescencia será posible únicamente para las primeras capas sobre el sustrato. Este resultado es muy importante, porque se necesita de una preparación de muestra que asegure una capa homogénea sobre la superficie de grafeno, uno de los métodos que se recomienda en la literatura es el sumergir el grafeno en una disolución de R6G.

Selectividad molecular en grafeno



(a) Elementos de simetría en la red cristalina de grafeno. Adaptada de [58].

(b) Ejemplos de simetría D_{nh} .

Figura 4.8: a) Se muestra una red cristalina de grafeno y se pueden observar los planos verticales de reflexión, en adición, se muestra el eje propio principal que corresponde a un C_6 y el plano de reflexión horizontal, con estos elementos se puede concluir que esta red debido a los hexágonos que la componen es una característica del grupo puntual D_{6h} . Mientras tanto en b) se pueden observar algunos arreglos de moléculas que pertenecen al grupo puntual D_{nh} , como se podrá notar, el número n de este grupo viene dado por el eje principal de rotación y al ser así se puede observar la formación de polígonos si se unieran los puntos (que en este caso representan a las moléculas), este tipo de simetría es muy típico del grupo de moléculas aromáticos.

Una de las ventajas que permite el apilamiento tipo π entre la molécula y el grafeno es una distancia muy pequeña entre ambos, además de un buen acoplamiento entre el HOMO y LUMO de ambas partes y como consecuencia un buen rendimiento en el mejoramiento de la señal Raman. En principio, se podría esperar que los grupos aromáticos interactuaran muy bien al grafeno debido a una estructura similar, sin em-

bargo, existe toda una condición de simetría citada por las moléculas D_{nh} las cuales presentan una excelente compatibilidad estructural con el grafeno (D_{6h}).

Para la explicación de la simetría de una molécula se hace el uso de una importante teoría matemática conocida como teoría de grupos, no se verá con profundidad esta teoría, sin embargo, se describirán, en el apéndice A, los elementos básicos de simetría.

El grupo puntal D_{nh} , tiene la D como representante debido a que consiste en una simetría diedral, lo que quiere decir, que presenta reflexiones o simetrías de espejo, desde el punto de la teoría de grupo podemos ver esto como rotaciones propias de tipo 2 (C_2 o de 180 grados) o una serie de planos de reflexión que pueden ser verticales (σ_v , σ_d) y al menos contiene un plano horizontal (σ_h), gracias a este último plano se escribe un subíndice h en el grupo puntal para caracterizarlo y diferenciarlo de otros grupos. El subíndice n proviene del hecho que la molécula contiene un eje de rotación propio y además el de orden más alto (observar la figura 4.8).

Grafeno monocapa o multicapas

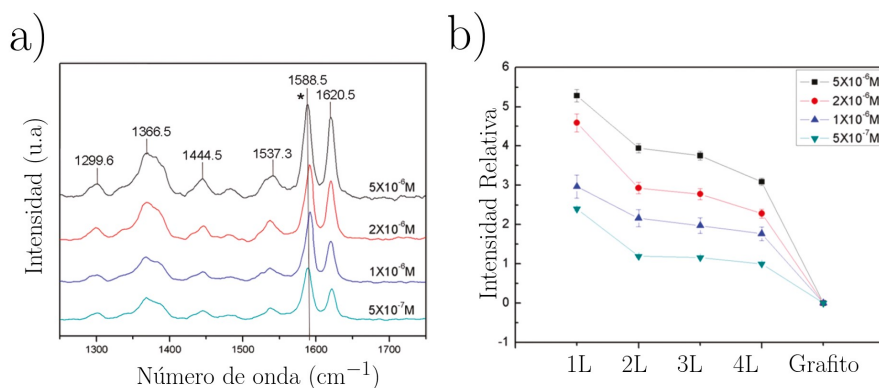


Figura 4.9: a) Espectro Raman de violeta de genciana (concentración de $5 \times 10^{-7} M$) bajo distintos sustratos: grafeno monocapa (negro), bicapa (rojo), tricapa (azul marino) y multicapa (azul claro). b) Intensidad relativa de un pico del espectro Raman (1620 cm^{-1}) usando diferente número de capas y concentraciones, se puede observar que la mayor intensidad está dada por la monocapa, y la menor por el grafito. Cabe recalcar que en todos los casos se sumergió la muestra en una disolución del compuesto a estudiar. Imágenes tomadas del artículo [59].

Se ha observado que la intensidad de la señal Raman es dependiente del número de capas de grafeno. Una de las explicaciones más comunes es debido al número de partículas absorbidas en la superficie de grafeno y su directa dependencia respecto al número de capas. Cuando se sumerge una muestra a una disolución del compuesto a estudiar, existe un cierto equilibrio para la absorción de las moléculas que es alcanzada después de un cierto tiempo, pero esto no significa que todas las moléculas se depositen en la misma cantidad para una capa u otra. Las moléculas usualmente tienden a depositarse en sustratos donde el número de capas es menor, esto debido a que tienen una interacción más fuerte con la superficie y como resultado presentan un mejor ángulo de contacto sustrato-molécula, este hecho se puede observar con ayuda del pico G [59].

Como ya se había planteado, cuando una sustancia es absorbida en grafeno existe un cierto dopamiento en este sustrato, una forma de saberlo es observando el desplazamiento del pico G. En el caso de las capas de grafeno y la absorción del compuesto, Qiu et. al [59] observaron que el pico G presentaba un mayor desplazamiento entre menos fueran las capas de grafeno, en particular, para el caso de la monocapa es donde se registró la mayor absorción, por lo que en una capa de grafeno se observará la mayor amplificación de la señal.

Con este tratamiento teórico del mecanismo químico presente en GERS, nosotros decidimos utilizar la molécula R6G, la cual cumple con uno de los criterios de resonancia propuesto por Barros: la diferencia entre sus niveles HOMO-LUMO es igual a la energía de excitación del láser (532 nm) que ocuparemos (energía de 2.3 eV), además los anillos aromáticos de la R6G presentan una simetría similar a la red hexagonal del grafeno. Con las características electrónicas y de simetría entre la molécula que utilizaremos y el grafeno, esperamos observar el efecto de amplificación de la señal Raman (GERS) en la rodamina 6G. En el siguiente capítulo se estudiará el efecto de amplificación de rodamina 6G sobre sustrato de grafeno, desde un punto de vista totalmente experimental.

Capítulo 5

Experimento: GERS en rodamina 6G

Las moléculas orgánicas en muchos casos exhiben fluorescencia que opaca la información relevante que puede ser descubierta por el espectro Raman. La rodamina 6G (R6G) ha sido estudiada por este método desde el 2009 debido a que la fluorescencia que presentó fue suprimida con ayuda de un sustrato de grafeno [60]. En esta sección, se estudian las condiciones experimentales bajo las cuales se puede observar la amplificación de señal de una molécula de R6G usando grafeno, así como factores experimentales que influyeron en el desarrollo de la actividad.

5.1. Preparación del grafeno.

La descripción teórica del grafeno permitió visualizar sus propiedades eléctricas y ópticas. En un principio se dudó de la sintetización de un material 2D, y en especial de una capa de átomos de carbono, debido a la inestabilidad que podría presentar en comparación con los nanotubos de carbono o fullerenos, [61]. Sin embargo, en 2004 gracias a Novoselov y Geim, fue posible la obtención de grafeno mediante la exfoliación mecánica de grafito pirolítico, que consistió en el uso de una cinta Scotch, con el fin de remover las capas de HOPG ("Highly oriented pyrolytic graphite", grafito pirolítico altamente orientado) hasta obtener únicamente una capa que es conocida como grafeno [61].

Hoy en día existen muchos métodos de síntesis para la obtención del grafeno, uno de los más conocidos es la deposición química por vapor (CVD, por sus siglas en inglés) [62]. La deposición química se realiza sobre sustratos de níquel o cobre. El sustrato de cobre es uno de los preferidos debido a que presenta una mayor área de grafeno monocapa. El crecimiento de grafeno sobre una superficie de cobre se da gracias a que el cobre actúa como un catalizador que involucra la descomposición de un hidrocarburo, por ejemplo, el metano se puede descomponer a temperaturas altas (arriba de 1200°C) gracias a este sustrato. El cobre utilizado para CVD no es un monocristal, existen defectos cristalinos puntuales o fronteras de grano en la superficie del sustrato.

Estos sitios que presentan defectos, usualmente tienen una alta energía química de activación respecto a zonas planas del cobre. En consecuencia, el metano (CH_4) preferirá descomponerse en estos sitios con una alta energía de activación (como las fronteras de grano) para formar centros de nucleación donde se formará el grafeno. Finalmente, bajo la técnica de CVD se obtiene un grafeno policristalino sobre el sustrato [63].

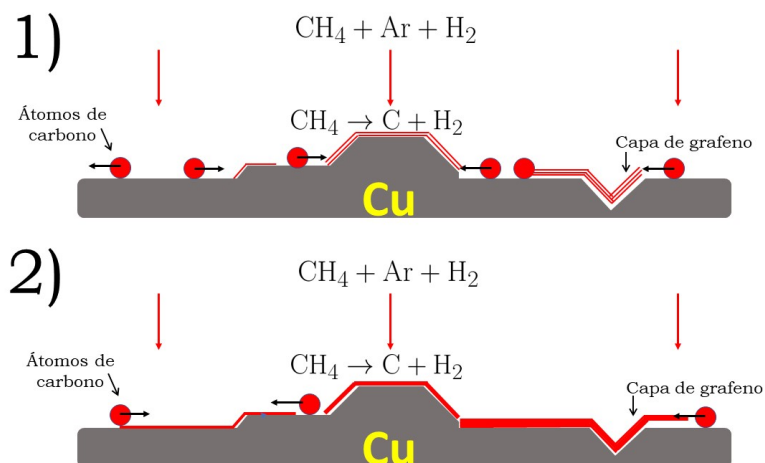


Figura 5.1: Diagrama del proceso de síntesis del grafeno bajo deposición química de vapor. En 1) Los centros de nucleación empiezan en los defectos del sustrato de cobre (fronteras de grano), 2) Formación de la capa de grafeno después de la nucleación. Reproducida de [63].

El grafeno utilizado en este trabajo fue sintetizado con la técnica de CVD sobre sustrato de cobre, por la Dra. Laura Serkovic Loli del Instituto de Física de la UNAM (IF-UNAM) o comprado a la compañía Graphenemex. En ambos casos, la pureza del cobre es de 99.8 % con un grosor de $25 \mu\text{m}$. Además, a lo largo del trabajo, se especifica con que tipo de muestra de grafeno se está trabajando.

5.1.1. Procedimientos experimentales para la transferencia de grafeno.

Una de las principales desventajas de utilizar grafeno sobre cobre es un ruido de fondo que presenta el sustrato, en particular se observa una curvatura de la línea base, para evitarla, se utilizan otros sustratos que puedan visibilizar el grafeno, una de las alternativas es el uso de silicio con una capa de óxido de silicio (Si/SiO_2), el cual tiene bandas bien definidas que no se traslapan con los del grafeno o posteriormente con los de la molécula R6G. Para esto, es necesario realizar una transferencia del sustrato de cobre al de (Si/SiO_2). A continuación se presentan dos métodos de transferencias utilizados durante el desarrollo de este trabajo:

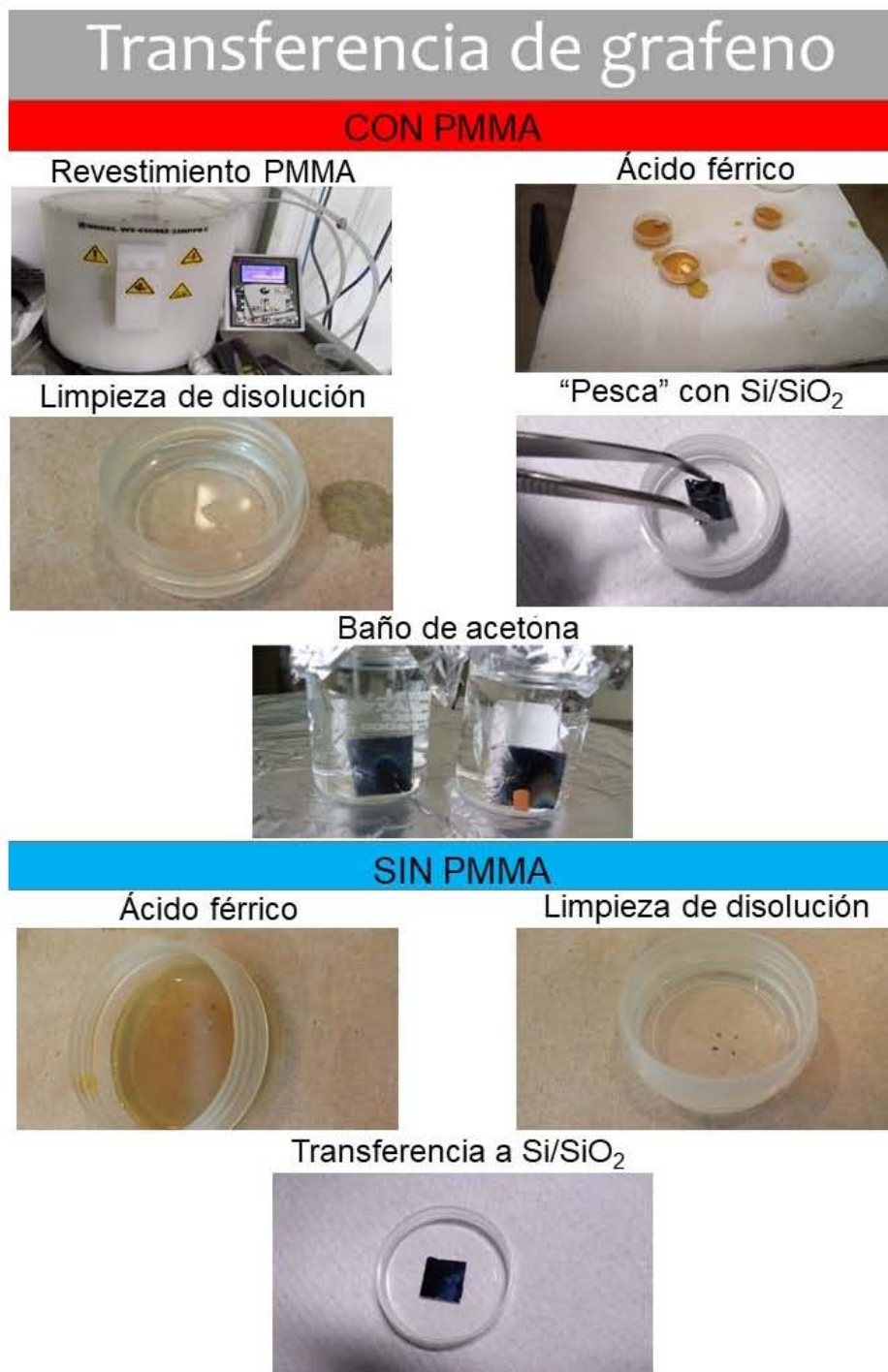


Figura 5.2: Se muestra de una manera muy breve los pasos más significativos para la transferencia de grafeno con PMMA y sin éste.

Transferencia con PMMA

Para el revestimiento de PMMA (Polimetilmetacrilato) de una muestra de grafeno sobre cobre fue necesario el uso de un revestidor por centrifugado (spin coater, en inglés) con el cual se forma una capa homogénea del polímero sobre la muestra. Con este fin, el sustrato de cobre se fijó en la base del centrifugador, se prendió el vacío y después se vertieron de 2 a 3 gotas de PMMA (2 g/1000 ml) sobre el cobre, se cerró el aparato. La muestra fue centrifugada durante un minuto a $500 \text{ rpm}^2 \times 1 \text{ min}$. Posteriormente, la muestra revestida fue colocada en una parrilla eléctrica a 150°C durante un minuto y medio.

Después de realizar el recubrimiento de la muestra de grafeno-cobre-PMMA se colocó en una disolución de FeCl_3 (0.2 g/ml) y se dejó reposar durante dos horas, hasta que se pudo observar únicamente una capa transparente, ver imagen 5.2. Después, se procedió a limpiar la disolución con ayuda de agua destilada hasta obtener una sustancia lo más limpia posible, en la cual se introdujo un sustrato de Si/SiO_2 y sin tocar el grafeno se "pescó", ver figura 5.2.

Las muestras de grafeno transferidas contienen PMMA el cual fue retirado mediante un baño de acetona. El baño consistió en colocar las muestras en vasos de precipitados con acetona, se procedieron a calentar durante tres horas a (50°C). Por último, los sustratos se limpiaron con etanol, agua destilada y se secaron con argón.

Transferencia sin PMMA

Una muestra de grafeno-cobre sin PMMA fue marcada en las esquinas con ayuda de un marcador de tinta permanente y punta fina (con el fin de distinguir el grafeno flotando en agua después de retirar el cobre.). Posteriormente, la muestra se colocó en una disolución de ácido férrico y se dejó aproximadamente durante 1 hora. Cuando el cobre se deshizo, solo se observan los cuatro puntos que se han colocado al principio (imagen 5.2), con el cual se determinó la posición de la capa de grafeno. La disolución se limpió cuidadosamente con agua destilada. Para la transferencia, se introdujo un sustrato de silicio lo más lejos del grafeno y se acercó lentamente a la capa transparente, inmediatamente, se subió el sustrato lo más lento posible hasta que la capa se pegó al sustrato. El sustrato con grafeno se dejó secar toda la noche.

Contrastando los dos métodos de transferencias (con/sin PMMA), una de las ventajas de utilizar el PMMA es que brinda una mayor estabilidad y manipulación de la capa de grafeno, pero las principales desventajas presentadas fueron los residuos sobre la muestra, a pesar de que recibió un baño de acetona por 3 horas. Mientras tanto, la transferencia sin PMMA presentó la ventaja de una mejor interacción entre grafeno y la molécula a estudiar, sin embargo, el proceso de transferencia la capa de grafeno fue muy tediosa debido a que la capa corría el riesgo de romperse bajo cualquier movimiento no deseado.

5.2. Espectros Raman preliminares

Se presentan algunos espectros de sustratos utilizados en la realización de este trabajo, por ejemplo cobre o silicio. Adicionalmente, se muestran las diferencias entre

transferir grafeno sin PMMA y con PMMA. Por otro lado, se analizan los espectros de R6G disuelta y una prueba sobre el cristal de este material. Las fotografías de las muestras que se presentaran a continuación, fueron tomadas con un objetivo de microscopio de 100× con una apertura numérica (AN) de 0.90. El láser ocupado fue de 532 nm, con estos datos se puede obtener la medida del punto láser (spot, en inglés) obtenida por la siguiente ecuación [64]:

$$\text{spot} = \frac{1.22\lambda}{AN} = 721 \text{ nm} \quad (5.1)$$

5.2.1. Silicio con óxido de silicio

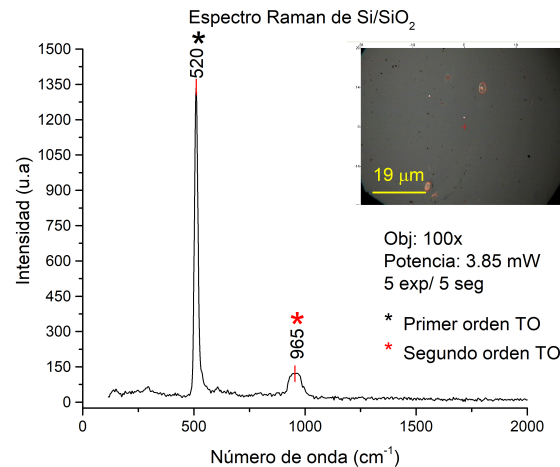


Figura 5.3: Espectro Raman de silicio con capa de óxido de silicio. Se utilizó láser de 532 nm. Se pueden observar dos bandas principales para este compuesto, que están asociadas a la banda transversal óptica del silicio.

Se utilizó un sustrato de silicio monocristalino tipo *p* con una dirección cristalográfica (100) el cual contaba con una capa de 300 nm de óxido de silicio. Este tipo de sustrato es una alternativa para observar el grafeno en el espectro Raman debido a que no presenta fluorescencia ni algún ruido de fondo que pueda afectar la línea base del espectro, además presenta una buena transmitancia que provee una excelente sensibilidad a los cambios ópticos que puedan presentar películas delgadas o grafeno.

Las bandas del silicio aparecen en 520 cm^{-1} y 960 cm^{-1} . La banda en 520 cm^{-1} es muy puntiaguda y es propia de un silicio cristalino debido a que los enlaces de los átomos, tanto en ángulo y fuerza, son constantes durante toda la estructura, además el proceso de dispersión está asociado a un evento de primer orden en la rama transversal óptica [65]. Mientras tanto, la banda en 960 cm^{-1} es un proceso de segundo orden de los fonones de la rama transversal óptica del silicio, su forma y el ensanchamiento de la banda espectral está determinado por la excitación de energía del láser que se utiliza [66]. Se debe tener en cuenta que estas bandas aparecerán con mucha frecuencia en los espectros que se irán mostrando a lo largo de los siguientes espectros.

5.2.2. Grafeno sobre cobre

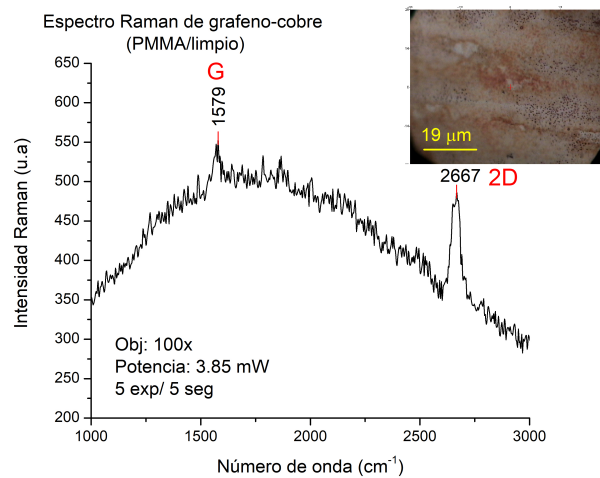


Figura 5.4: Espectro Raman de grafeno (IF-UNAM) sobre sustrato de cobre con PMMA.

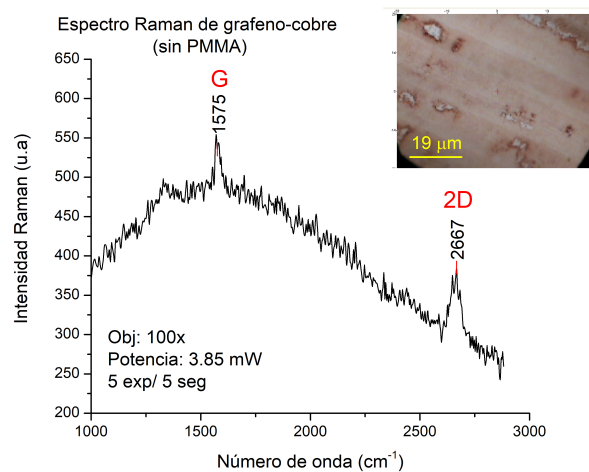


Figura 5.5: Espectro Raman de grafeno (IF-UNAM) sobre sustrato de cobre sin PMMA.

Como se discutió en un principio, el mecanismo de deposición de vapor para la formación de grafeno, utiliza un sustrato de cobre. El cobre no presenta ninguna banda en el espectro Raman porque no existe un cambio en la polarizabilidad del sustrato necesario para que ocurra el fenómeno Raman-Stokes, pero presenta un ruido de fondo que se puede observar como una curvatura en los espectros Raman de las figuras 5.4 y 5.5. Sin embargo, a pesar de esta línea base del cobre, las bandas Raman del grafeno se

podieron observar (G y 2D), lo que presenta una ventaja porque en un primer análisis se puede determinar si existe grafeno en la zona y además si existe algún desorden en la red cristalina del grafeno.

Si se comparan los dos espectros de grafeno sobre cobre obtenidos en laboratorio, se observa que no existe ninguna banda D lo que indica tenemos grafeno sin desordenes en la red y por lo tanto de buena calidad. Por otro lado, se observa ligeramente una mayor intensidad de la banda 2D en la muestra con PMMA respecto a la que no lo contiene, lo que posiblemente sea un dopamiento del PMMA sobre el grafeno. En general existen cambios muy ligeros respecto a la intensidad de las bandas G y 2D en ambos tipos muestras, este resultado difiere totalmente con las muestras de grafeno transferidos a sustratos de Si/SiO₂. Sin embargo, como veremos en un momento más, el hecho de que el grafeno sobre cobre tuviera o no este polímero hizo una gran diferencia en la última prueba que se realizó de grafeno-cobre y R6G.

5.2.3. Espectro de grafeno en sustrato de Si/SiO₂

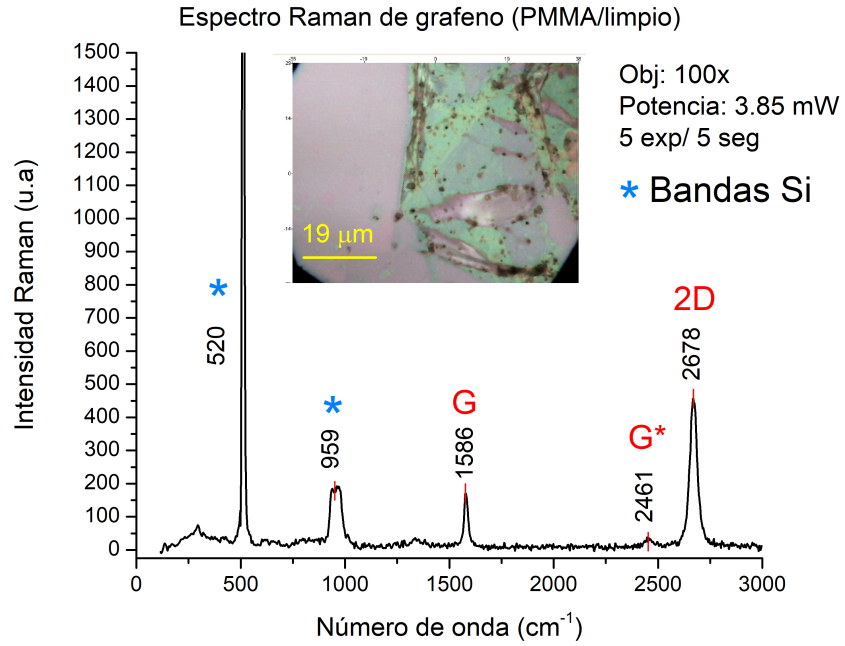
Se tomaron los espectros Raman de grafeno transferido al silicio con la ayuda del PMMA o sin éste. Se utilizan las mismas condiciones experimentales del equipo Raman mencionadas al inicio de la sección, para la comparación de los espectros (objetivo de microscopio, potencia del láser y número de exposiciones y tiempo). Las dos primeras muestras corresponden a un grafeno fabricado comercialmente y las últimas dos fueron obtenidas del Instituto de Física de la UNAM (IF-UNAM), cabe mencionar que las últimas provienen de la misma muestra de grafeno, mientras que las primeras no.

Por otro lado, la banda 2D del grafeno fue ajustada con una lorentziana con el fin de conocer si el grafeno utilizado era monocapa o multicapa. Se puede observar el apéndice C para conocer más información sobre los respectivos ajustes realizados en el software OriginPro 8.

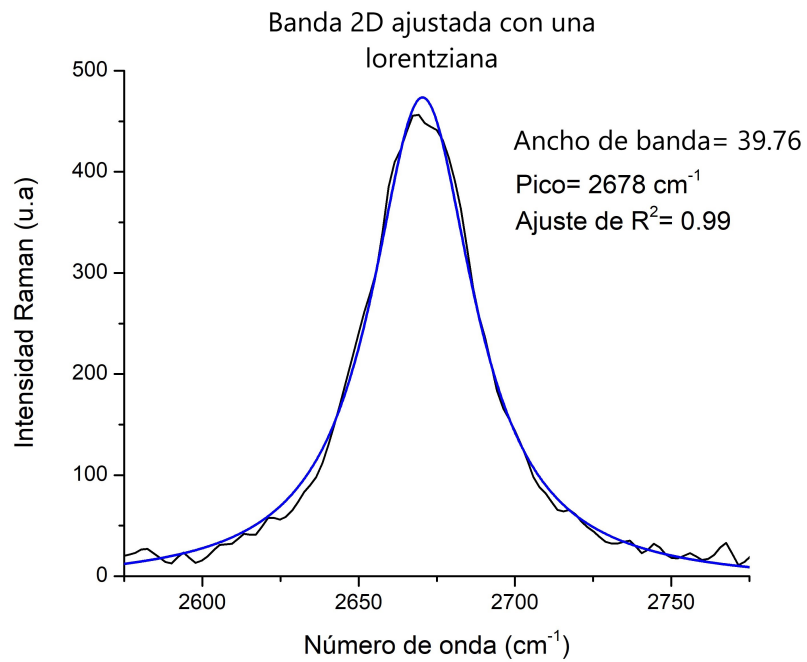
Espectro de grafeno con PMMA

La utilización de PMMA ayuda a una transferencia más eficaz y homogénea de grafeno porque brinda una mayor estabilidad mecánica a la capa de grafeno dando como resultado una capa homogénea sobre el sustrato de silicio, lo cual es confirmado debido a que fue posible ajustar una lorentziana a las bandas 2D de grafeno transferido con PMMA, tanto para la muestra del IF-UNAM como la comercial, ver b) de las figuras 5.6 y 5.7. Otra cosa que es importante recalcar, es la ausencia de la banda D asociada a la desordenes en la red del grafeno. Como resultado de esta transferencia con PMMA se obtiene un grafeno pristino.

Para el caso de la muestra comercial figura 5.7 a), se puede notar que la imagen en la parte superior suele ser borrosa, posiblemente por restos de PMMA en la muestra, la intensidad de la muestra es de aproximadamente 200 cuentas para el caso de la banda 2D y de apenas 100 para la banda G. Por otro lado, la muestra del IF-UNAM (figura 5.6) tiene bandas ligeramente más visibles respecto a los de la muestra comercial, la intensidad de 2D es de 500 cuentas mientras que la banda G es de 200 cuentas, nótese que en este espectro se observa la presencia de un banda muy débil llamado G* (2461 cm⁻¹), ver sección 3.2.

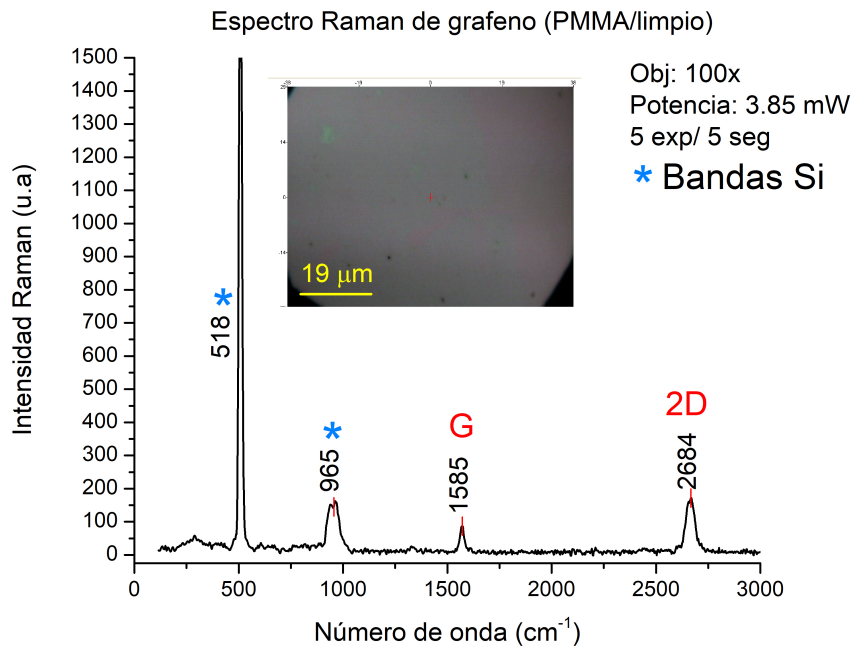


(a) Espectro Raman de grafeno IF-UNAM transferido con PMMA

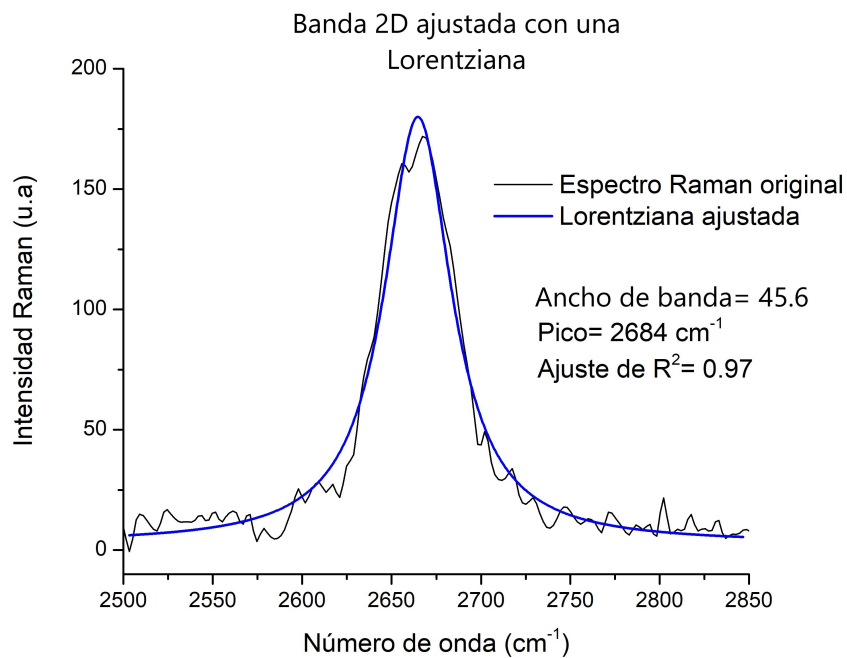


(b) Ajuste de función de Lorentz en banda 2D

Figura 5.6: a) Muestra de grafeno (del IF-UNAM) transferido con PMMA y con su respectiva imagen de aumento 100 \times . b) Se observa el ajuste que se realizó a la banda 2D, y se puede observar que solo basta una lorentziana con un ancho de banda espectral de aproximadamente 40 cm^{-1} , esto se comprueba con la R^2 .



(a) Espectro Raman de grafeno comercial transferido con PMMA



(b) Ajuste de función de Lorentz en banda 2D

Figura 5.7: a) Muestra de grafeno comercial transferido con PMMA, y la respectiva imagen (objetivo de 100 \times) donde se tomó el espectro. Se puede observar una imagen borrosa debido a restos de PMMA afectando la intensidad de las bandas del grafeno cayendo por debajo de las 200 cuentas. b) La banda 2D es ajustada con una lorentziana y aunque el ancho de banda es mayor que 40 cm^{-1} , se puede observar un ajuste aceptable, por lo que se puede hablar de una monocapa pero con restos de PMMA.

Espectro de grafeno sin PMMA

Una de las primeras características observadas en las muestras transferidas sin PMMA fue la amplitud de las bandas del grafeno, las cuales son por mucho mayores a las observadas bajo PMMA. La muestra proveniente del IF-UNAM (ver figura 5.8 a)), presentó una intensidad de la banda 2D de aproximadamente 900 cuentas el doble respecto a la muestra con PMMA, mientras que la banda G presentó 600 cuentas que es el triple de intensidad respecto a las muestras transferidas con PMMA (IF-UNAM). Además hay una presencia de la banda D relacionada a desordenes en el grafeno y la banda G* (2456 cm^{-1}). Por otro lado, el grafeno sin PMMA tendió a arrugarse o plegarse en ciertas zonas y esto fue confirmado por la presencia de grafeno bi-capa gracias al ajuste de la banda 2D, que se observa en la figura 5.8 b).

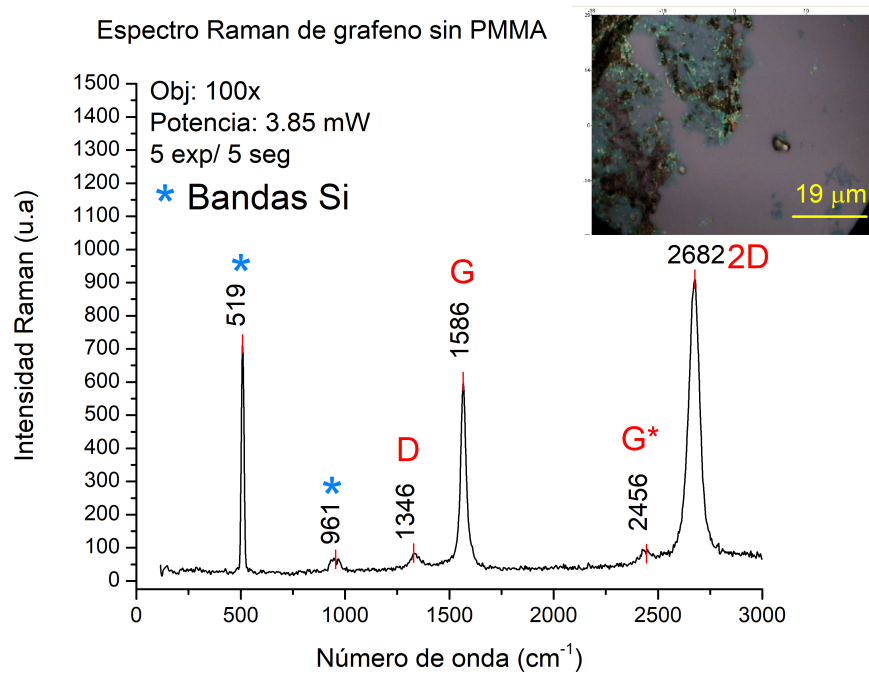
Para el caso de la muestra de grafeno comercial sin PMMA (ver figura 5.9 a)), registró una banda 2D con una intensidad de ≈ 1100 que es el quíntuple respecto a la muestra con PMMA, mientras que la banda G obtuvo ≈ 400 cuentas que es el doble en la intensidad respecto a los procedimientos donde se utilizó PMMA. En el grafeno comercial sin PMMA, se observa un grafeno pristino debido a la ausencia de la banda D y al buen ajuste de su banda 2D que se observa en la figura 5.9 b). Cabe mencionar que se observa la presencia de la banda G* en 2463 cm^{-1} .

Por otra parte, las transferencias sin PMMA fueron complicadas de llevar a cabo debido a la fragilidad del grafeno. Uno de los principales problemas, fue que el grafeno se arrugó o plegó en ciertas zonas, tal es el caso de una de las muestras (figura. 5.8). Además, la limpieza de la disolución donde se encontraba el grafeno fue tediosa y por lo tanto, en algunos casos, las muestras quedaron con residuos provenientes del ácido o del mismo cobre que no se deshizo. Sin embargo, el no utilizar el acrílico evitó el opacamiento de las bandas más características del grafeno y para el caso de una buena transferencia, se pudo constatar un grafeno pristino.

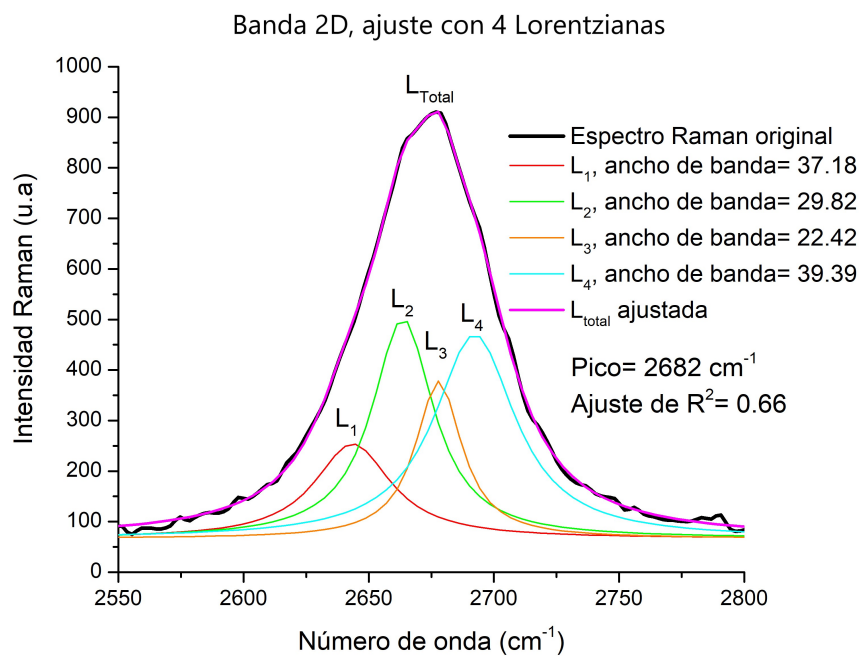
Mientras tanto la transferencia de PMMA presenta ventajas y desventajas. Este método permite tener un grafeno monocapa y sin defectos debido a que no hay corrosión o rompimientos durante el proceso de pesca, sin embargo, el PMMA no puede ser retirado en su totalidad aunque la muestra haya sido sometida a un baño de acetona durante 3 horas. Lo que sucede, es que la superficie del grafeno absorbe el PMMA porque se forma una fuerte interacción dipolar (de una energía -1.72 eV para la distancia equilibrio de 2.83 \AA entre PMMA-grafeno) entre el PMMA y los orbitales p_z del grafeno, por lo cual es imposible remover por completo todo el polímero usando solventes orgánicos como la acetona o cloroformo [67]. Este hecho ya ha sido mostrado experimentalmente por Liang et. al [68] donde usando un microscopio de barrido electrónico, se observan residuos provenientes del polímero.

Como consecuencia el PMMA no permitió una buena visualización del espectro Raman del grafeno, en particular se observó que la intensidad de las bandas de grafeno decaen de manera considerable respecto a las muestras transferidas sin PMMA, con lo que se intuyó que el PMMA es una capa que impidió la libre vibración de las moléculas de grafeno lo cual se ve reflejado en las intensidades de sus respectivos espectros.

Debido a la diferencia tan notable entre la intensidades de las bandas 2D y G bajo ambos métodos, se decidió trabajar con grafeno sin PMMA. Mas adelante, se observará que la muestra sin PMMA permite la supresión de la fluorescencia en la R6G.

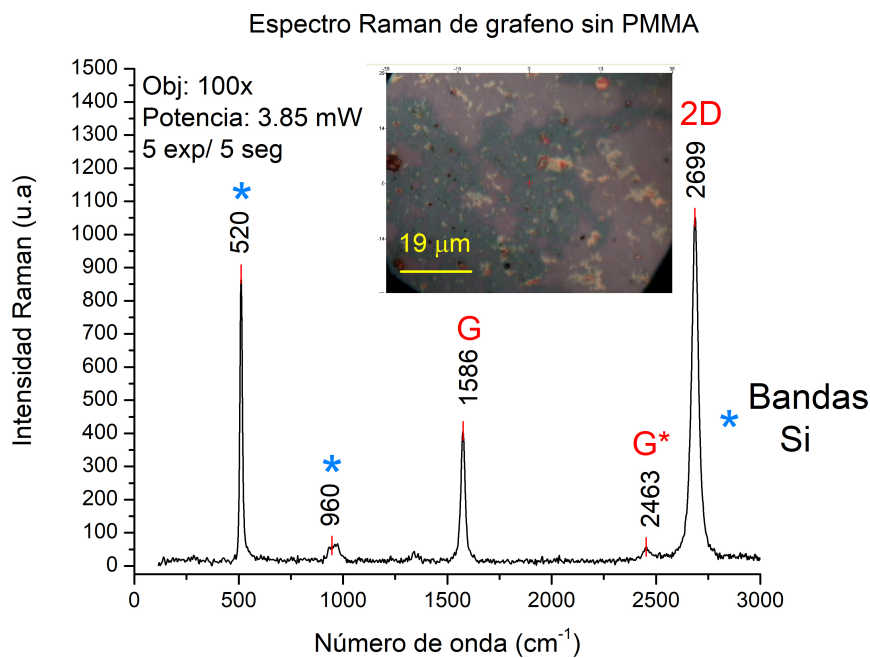


(a) Espectro Raman de grafeno IF-UNAM transferido con PMMA

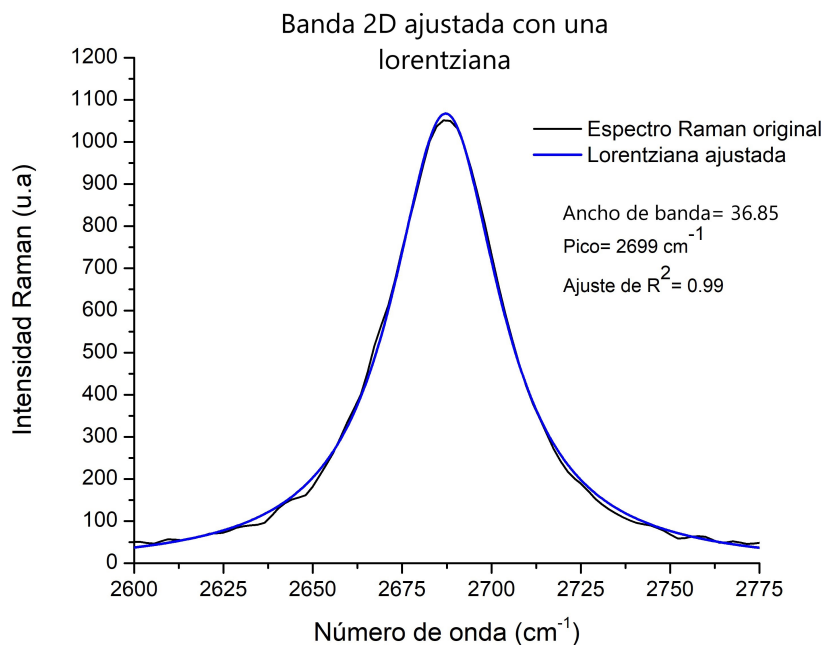


(b) Ajuste de función de Lorentz en banda 2D

Figura 5.8: a) Muestra de grafeno (obtenido del IF-UNAM) transferido sin PMMA y con imagen de aumento 100 \times . En particular esta muestra quedó con restos de cobre que afecta el espectro, además, se puede observar una muy pequeña banda D de defectos posiblemente generados durante la transferencia. b) La banda 2D tuvo un posible ajuste bajo 4 funciones de Lorentz y aunque el ajuste no es tan bueno, observando el espectro se puede afirmar que esta zona contiene grafeno bicapa.



(a) Espectro Raman de grafeno comercial transferido sin PMMA



(b) Ajuste de función de Lorentz en banda 2D

Figura 5.9: a) Muestra de grafeno comercial transferido sin PMMA, también se puede observar una imagen tomada al microscopio con un objetivo de 100 \times . b) Ajuste de una función de Lorentz a la banda 2D, con el fin de caracterizar a nuestro grafeno pristino (monocapa). El ajuste es bastante bueno debido a que presenta un R^2 muy próximo a 1, además de una lorentziana con un ancho de banda $\approx 37 \text{ cm}^{-1}$.

5.2.4. Cristal de rodamina 6G

Se trató de tomar el espectro Raman de un cristal de rodamina 6G (marca Exciton) con el fin de observar algunas de sus bandas, sin embargo la muestra se quemó para diversas condiciones experimentales en las cuales se varió el tiempo de exposición entre 1 s y 15 s, el número de exposiciones entre 1 y 5, el objetivo del microscopio 5×, 20×, 50× y 100× y la intensidad del láser entre 0.312 mW y 1.67 mW, en todos esos casos se observó que se quemaba el cristal de Rodamina 6G, como se observa en la figura 5.10.

Como no se pudo tomar un espectro de un cristal de R6G, se decidió preparar una disolución de R6G en etanol o metanol y observar los espectros correspondientes. Se supuso que este método funcionaría ya que sería más fácil encontrar una zona relativamente plana en la gota y porque parte de la intensidad del láser sería absorbida por el solvente evitando así quemar las moléculas de R6G.

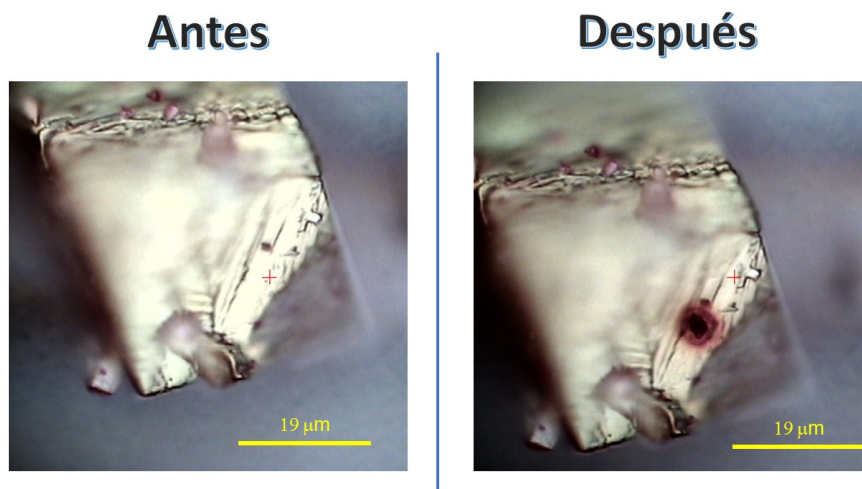


Figura 5.10: Fotografía de una muestra de cristal de rodamina 6G, en la cual incidió un láser de 532 nm con una potencia de 0.312 mW. Se tomaron 3 muestras cada una de 10 segundos, lo que es suficiente para crear un orificio en el cristal. La imagen fue tomada con un objetivo de 100×.

5.2.5. Rodamina 6G diluida

Se preparó una disolución de R6G (marca Exciton) en etanol y metanol a 2.92×10^{-3} M y se tomó una cantidad menor a 0.5 ml que fue colocada sobre un sustrato de silicio limpio. Antes de que la muestra se evaporara se buscaron zonas con presencia de pequeñas gotas de R6G y sobre estos puntos se tomó un espectro Raman único.

Para la toma de espectros de R6G-etanol, se utilizó un objetivo de 10× para potencias de 0.312 mW y 1.67 mW para cada espectro, el número de exposiciones fue de 3 cada una de 10 segundos. Se tomaron 7 espectros únicos variando únicamente la potencia del láser y se escogieron dos espectros representativos como se observa en la

figura 5.11. En los espectros se puede notar que para la potencia de 0.800 mW se observa una menor fluorescencia, aunque el espectro se observa ligeramente ruidoso con respecto al de 1.67 mW, sin embargo, en ambos espectros se pueden notar 4 bandas representativas, que son comparados con el trabajo de G.S.S Saini et. al [54].

En cuanto a los espectros de R6G en metanol se intentó con objetivos de 10× y 100× y 3 exposiciones cada una de 10 ó 5 segundos. La potencia de láser ocupada fue de 0.312 mW y 0.521 mW. Sin embargo, después de 12 intentos no se encontró una condición experimental en la que no se quemara la muestra como se muestra en la figura 5.12. Como consecuencia hubo pérdida de información y espectros con información no concluyente para el análisis de bandas de la R6G.

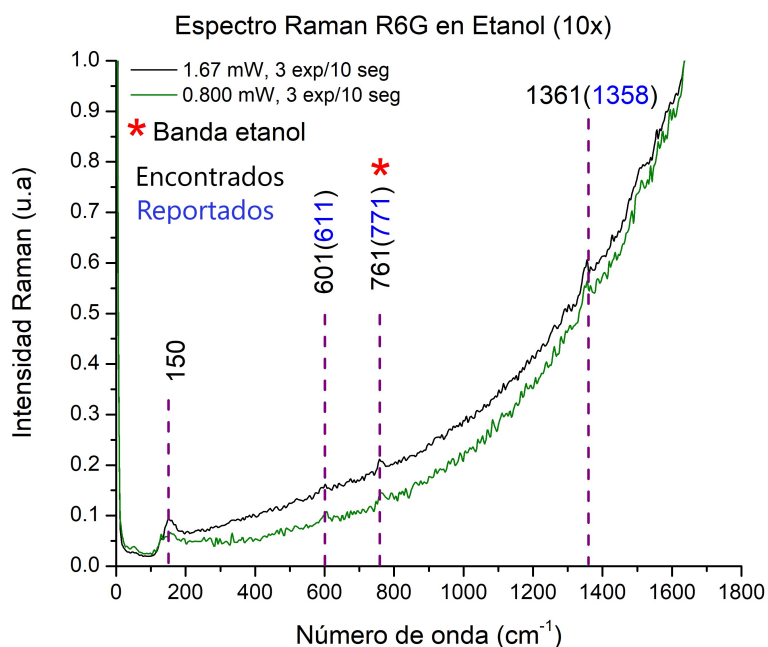


Figura 5.11: La concentración molar de la disolución de R6G en etanol fue de 2.92×10^{-3} M, se indica la potencia que se utilizó, así como el número de espectros que se tomó y el tiempo de exposición de cada uno. Los espectros fueron tomados con un objetivo de 10×. Las bandas reportadas se encuentran en color azul y son parte del trabajo de G.S.S Saini et. al [54], ellos utilizaron un láser de 488 nm y una lente de 10× para potencias de 10 a 3 mW.

En este experimento, únicamente fue posible detectar dos bandas de R6G en 601 cm^{-1} y 1358 cm^{-1} en el espectro de R6G-etanol para las potencias 1.67 mW y 0.800 mW, caso contrario para R6G-metanol donde para varias condiciones de potencia la muestra se quemaba. Dados los resultados en R6G-etanol y mostrando que para la potencia de 0.800 mW se presentaba una menor fluorescencia (respecto a 1.67 mW), se decidió estudiar la R6G en un intervalo de 0.312 mW (menor potencia que otorga el equipo) a 0.800 mW (potencia máxima) donde se pudo asegurar que la muestra no se dañaba y además hay presencia de bandas de R6G. Respecto a los tiempos de

exposición se optó por trabajar con tiempos de exposición iguales o menores a 10 segundos.

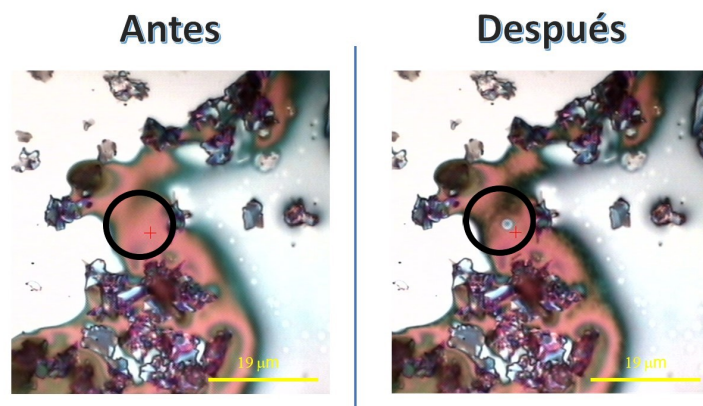


Figura 5.12: Muestra R6G disuelta en metanol antes y después de la toma de espectro. Las condiciones experimentales fueron: potencia láser de 0.312 mW con 3 exposiciones de 10 segundos.

5.3. Deposición de rodamina 6G en grafeno

Para que pueda existir una interacción directa entre la rodamina y el grafeno, la primera debe ser absorbida sobre esta superficie bidimensional. Existen diversos métodos por los cuáles se pueden crear estas capas, en algunos existen más control del número de moléculas que se depositan en el grafeno (película de Langmuir-Blodgett), otros donde el grafeno se sumerge en disolución de R6G, quedando una película uniforme sobre el grafeno y finalmente métodos más sencillos como colocar una gota sobre el grafeno y dejar que esta se evapore lo que permite en teoría realizar análisis *in situ* [8].

En este trabajo, se realizó el sumergimiento de la muestra en disolución y el de una gota en la superficie, aunque en ambas no existió un control sobre el número de moléculas que puedan interactuar con el grafeno, ambas son técnicas sencillas de llevar a cabo. La muestra sumergida en disolución es la preferida en la literatura científica debido a que forma capas homogéneas de rodamina sobre la superficie de grafeno.

La preparación de estas capas homogéneas consistió en dos pasos principales: el primero fue sumergir el grafeno un cierto tiempo en la rodamina 6G de tal forma que hubiera una interacción directa entre ambos y se formara una capa delgada sobre la superficie, la segunda parte fue darle un baño de agua destilada a la muestra previamente sumergida en rodamina con el fin de evitar aglomeraciones o suciedad no deseada. Uno de los principales retos experimentales, fue encontrar un balance entre el tiempo en que la muestra debía estar en rodamina así como el tiempo que se debía dejar en agua destilada, por último pero no menos importante, la concentración molar de la disolución de R6G jugó un papel importante sobre todo para evitar que los espectros Raman se saturaran de la fluorescencia proveniente del colorante.

Se consultaron tres artículos científicos que especifican las condiciones experimen-

tales con las cuales se pueden obtener capas uniformes de R6G sobre la superficie de grafeno y además concentraciones que evitan el posible opacamiento de bandas de R6G debido a la fluorescencia propia de la molécula, observar tabla 5.1.

Parámetros	Artículos		
	[7]	[69]	[8]
Concentración R6G (M)	1×10^{-5}	1×10^{-7}	$8 \times (10^{-6} - 10^{-11})$
Tiempo remojo (min)	30	2	60
Tiempo limpieza (min)	15	30	N/E

Tabla 5.1: Parámetros experimentales GERS en rodamina-6G disuelta en agua destilada. * N/E = No específica.

Cuando se analizaron y se entendieron las condiciones iniciales para preparar las muestras de grafeno, se procedió a colocar una muestra de Si/SiO₂-grafeno en un vaso de precipitados de 5 mL que contenía una disolución a cierta concentración molar (citada por la tabla 5.1), se dejó reposar distintos tiempos (que serán discutidos) y posteriormente la muestra se colocó en un vaso con agua destilada durante 30 minutos. Finalmente la muestra se tapó y se dejó secar toda la noche.

La primera vez que se decidió alcanzar estas concentraciones tan bajas de concentración molar se optó por un mecanismo donde se toma una gota de 0.5 ml de R6G con ayuda de una pipeta graduada, con capacidad de hasta dos mililitros y resolución de 5 ml, la cuál se colocó en un frasco y se mezcló con 3.5 mililitros de agua destilada. Posteriormente, se tomó 0.5 mililitros de la primera disolución y se vertió a otro frasco con 3.5 mililitros de agua destilada, se disolvió nuevamente con ayuda de la pipeta graduada. Se repitió este proceso hasta obtener una disolución de 2.04×10^{-7} M. El procedimiento completo se puede observar en tabla 5.2. Básicamente, cada vez que se tomaba una gota más diluida se quitaban gramos de rodamina 6G, y de esta forma fue más fácil obtener una disolución con una molaridad más pequeña.

Dis. (Agua+R6G)	R6G en disolución (g)	Concentración (g/L)	Molaridad (M)
Primera disolución	1.6×10^{-3}	4×10^{-1}	8.36×10^{-4}
Segunda disolución	2.0×10^{-4}	5×10^{-2}	1.04×10^{-4}
Tercera disolución	2.5×10^{-5}	6.2×10^{-3}	1.31×10^{-5}
Cuarta disolución	3.13×10^{-6}	7.81×10^{-4}	1.63×10^{-6}
Quinta disolución	3.91×10^{-7}	9.77×10^{-5}	2.04×10^{-7}

Tabla 5.2: Concentraciones y molaridad para la disoluciones preparadas. Recordar que la rodamina 6G tiene un peso molecular de 478 g/mol.

Sin embargo, este mecanismo tuvo un gran margen de error debido a la graduación de la pipeta graduada (hasta 0.5 ml) y de los vasitos utilizados (4 ml de capacidad) por lo que se optó por un método más preciso utilizando un matraz aforado (5 ml) y una jeringa con escala de microlitros. Primero se preparó una solución madre con 1 mg de R6G (en polvo) en una matraz de 5 ml con el cuál se alcanzó una concentración de 4.17×10^{-4} M, de la cual se extrajeron aproximadamente 12 μ L y se vertieron en otro matraz de 5 ml, posteriormente se aforó. Con este procedimiento se pudo obtener una

concentración de 1×10^{-6} M. Es importante señalar, que de aquí en adelante hablaremos del uso de rodamina 6G de la marca Exciton, en caso de trabajar con otra marca se hará explícita la referencia.

5.3.1. Diferentes concentraciones de rodamina 6G

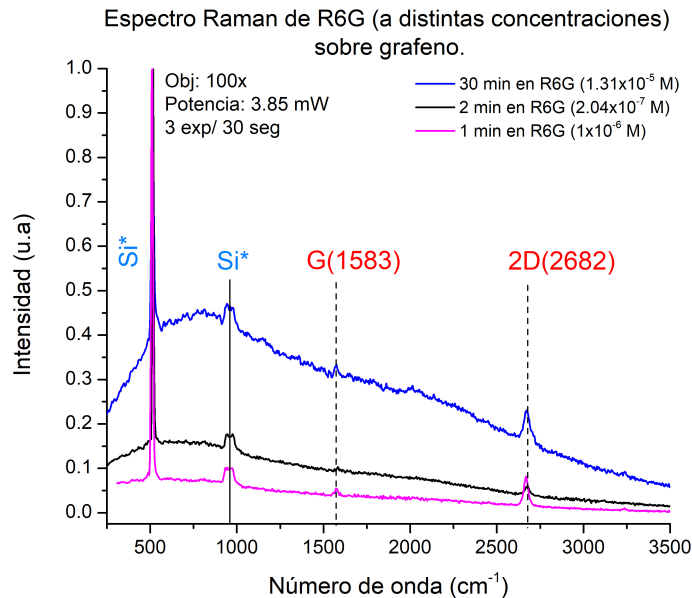


Figura 5.13: Espectro Raman de R6G sobre grafeno transferido con PMMA, tomado bajo las mismas condiciones experimentales del equipo Raman y las muestras fueron lavadas con agua destilada durante treinta minutos. En este caso, no se observan en ninguno de los casos las bandas propias de la rodamina, sin embargo, los espectros son un buen indicador de cómo varía la fluorescencia con respecto a la concentración de R6G. Lo interesante de estos espectros, es que para concentraciones de orden 10^{-5} ó 10^{-6} M, se puede observar de manera clara las bandas G y 2D del grafeno.

Uno de los grandes retos fue encontrar una concentración donde se pudiera observar la presencia de R6G pero sin que llegara a opacar el espectro a través de la fluorescencia y además que está fuera apagada por el grafeno. Entonces, si uno analiza con detalle la Tabla. 5.1 en la parte de concentraciones, se puede notar que existe un máximo de concentración a 10^{-5} M y un mínimo hasta de 10^{-11} M, gracias a esto se obtuvo un panorama muy bien acotado en el cual se trabajó y aseguró la amplificación de la señal de la molécula de R6G. Sin embargo, Valeš et al. [70] discuten que para concentraciones debajo de 8×10^{-7} M la rodamina forma monómeros, que presentan una alta eficiencia cuántica ya que no presentan desactivación fluorescente (self-quenching, en inglés) como en el caso de los dímeros, este aumento en la señal fluorescente difícilmente puede ser opacada satisfactoriamente con el sustrato de grafeno.

Teniendo en mente las condiciones antes mencionadas, se utilizaron cuatro concentraciones de R6G (1.31×10^{-5} , 1.63×10^{-6} , 1×10^{-6} y 2.04×10^{-7}) M, en las cuales se sumergió el grafeno. En la imagen. 5.13 se observa que a una concentración

tan alta del orden 10^{-5} M la señal Raman fue saturada debido a una alta presencia de fluorescencia, en cambio para una concentración del orden 10^{-6} M la fluorescencia decae de manera considerable y además es ligeramente menor respecto a la disolución 10^{-7} M. Por lo tanto, la fluorescencia y la concentración de R6G aumentan de forma proporcional, sin embargo para disoluciones debajo de 10^{-7} M se nota una presencia importante de esta debido a la presencia del monómero que ya se había comentado el párrafo anterior.

Recapitulando, hay una dependencia entre la concentración de rodamina 6G y la cantidad de fluorescencia que esta molécula emitirá, lo cuál será un forma determinante en la amplificación de señal mediante grafeno. Por lo descrito y observado en el espectro anterior, se decidió trabajar con una concentración de 1×10^{-6} M que es un punto intermedio para obtener una disminución de la señal fluorescente asegurando que la molécula siga formando dímeros. Sin embargo, todavía falta explorar cuánto tiempo es necesario sumergir el grafeno en la disolución de R6G.

5.3.2. Tiempo en disolución

El sumergir el grafeno en una disolución de R6G, permite que las moléculas a estudiar sean absorbidas por el grafeno y por la tanto exista una interacción directa entre ambos, lo cuál dará lugar a la amplificación de señal. Sin embargo, se necesita un tiempo necesario en el cual se pueda dar este equilibrio entre las moléculas absorbidas por el grafeno, pero también un tiempo límite para que no existan moléculas demás que puedan interferir en la señal Raman a partir de la fluorescencia que producen. Se puede notar en la tabla. 5.1 tiempos de sumergimiento de hasta sesenta minutos. La primera prueba que se llevó a cabo fue sumergiendo el grafeno treinta minutos en R6G (1.31×10^{-5} M) y se le dio un lavado en agua destilada durante 30 minutos, obviamente, al realizar el análisis Raman una gran fluorescencia estuvo presente, por lo que se decidió disminuir drásticamente el tiempo de treinta minutos a 4 minutos y el lavado permaneció en treinta minutos para evitar la formación de agregados de rodamina. En la figura 5.14 se muestra como varía el espectro Raman conforme se disminuye el tiempo en el que el grafeno interacciona con la rodamina.

Adicionalmente, se realizó otro espectro para una concentración de 1.63×10^{-6} M (ver figura 5.15) para grafeno sumergido uno y dos minutos, sin embargo, no se observa un cambio en la fluorescencia para ambos tiempos, de hecho, no se observan las bandas de grafeno, por lo cuál no se puede asegurar la presencia de esta capa bidimensional y el espectro no es tan representativo como el anterior para fines de determinar el tiempo en que el grafeno será sumergido.

En resumen, es necesario una buena absorción de la R6G por parte del grafeno, para eso es necesario que la muestra sea sumergida un cierto tiempo en rodamina. Tiempos grandes de sumergimiento del grafeno en R6G indicaron demasiada fluorescencia, sin embargo, tiempos cortos de cuatro a un minuto indican una menor fluorescencia, en este caso, no se observa una interacción entre grafeno y rodamina debido a que el primero fue transferido con PMMA, esto será discutido más adelante, sin embargo, marcaron las bases experimentales de la preparación del grafeno. Finalmente, las muestras fueron preparadas a una concentración de 1×10^{-6} M, sumergidas durante un minuto y posteriormente lavadas en agua destilada durante treinta minutos.

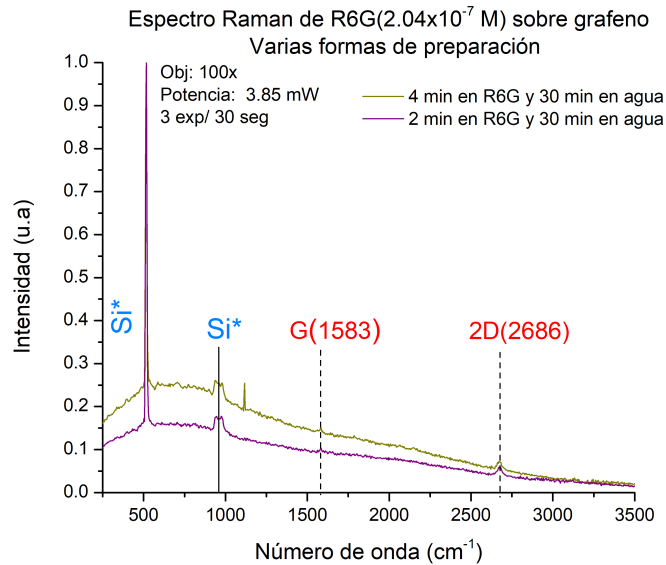


Figura 5.14: Tiempos en que el grafeno (transferido con PMMA) fue sumergido en una disolución de R6G (2.04×10^{-7} M), bajo las mismas condiciones experimentales del equipo Raman y a treinta minutos en baño de agua destilada. A primera vista, se puede observar que a menores tiempos disminuye la fluorescencia propia de la rodamina.

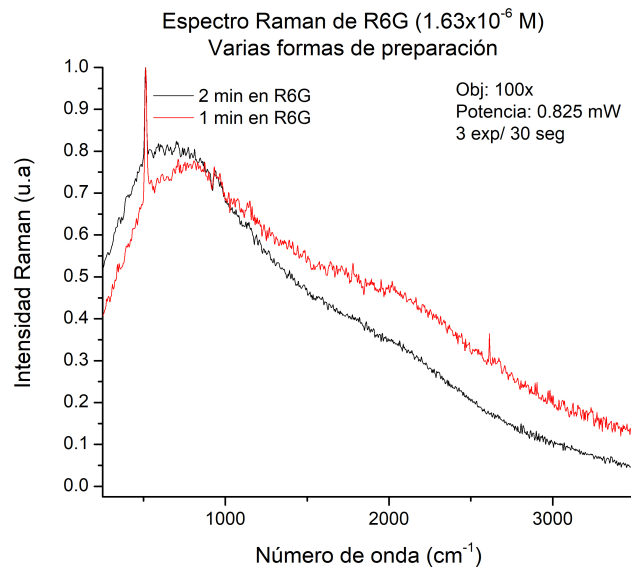


Figura 5.15: Tiempos en que el grafeno (transferido con PMMA) fue sumergido en una disolución de R6G (1.63×10^{-6} M), bajo las mismas condiciones experimentales del equipo Raman y a treinta minutos en baño de agua destilada. En este caso, a diferencia del espectro anterior no se observa un cambio significativo de la fluorescencia conforme el tiempo de sumergimiento del grafeno en la disolución.

5.4. Amplificación de señal Raman a partir de grafeno.

5.4.1. Gota de R6G sobre grafeno

Colocar una gota de R6G (en este caso se utilizó la marca Hycel) sobre grafeno fue una de las primeras pruebas que se llevó a cabo para observar la interacción molécula-sustrato, por ello se preparó una disolución de rodamina 6G en acetona, de concentración molar $4.55 \times 10^{-3} \text{M}$, se tomó una gota y se colocó sobre el grafeno, se esperaron algunos minutos hasta que la gota se evaporará y finalmente se estudia en el equipo Raman. Como resultado, se obtuvo una capa de R6G muy inhomogénea sobre la superficie la cual se puede observar en la imagen 5.16. Cuando se observa el espectro Raman, se puede notar que existe una gran fluorescencia proveniente de la rodamina debido a que fue una concentración bastante grande para que el grafeno la pudiera suprimir y además porque quedaron zonas de acumulación que afectaron la toma del espectro. Debido a esto, se optó por sumergir el grafeno en disolución de R6G y después proceder a un lavado, con el cual se lograron capas homogéneas.

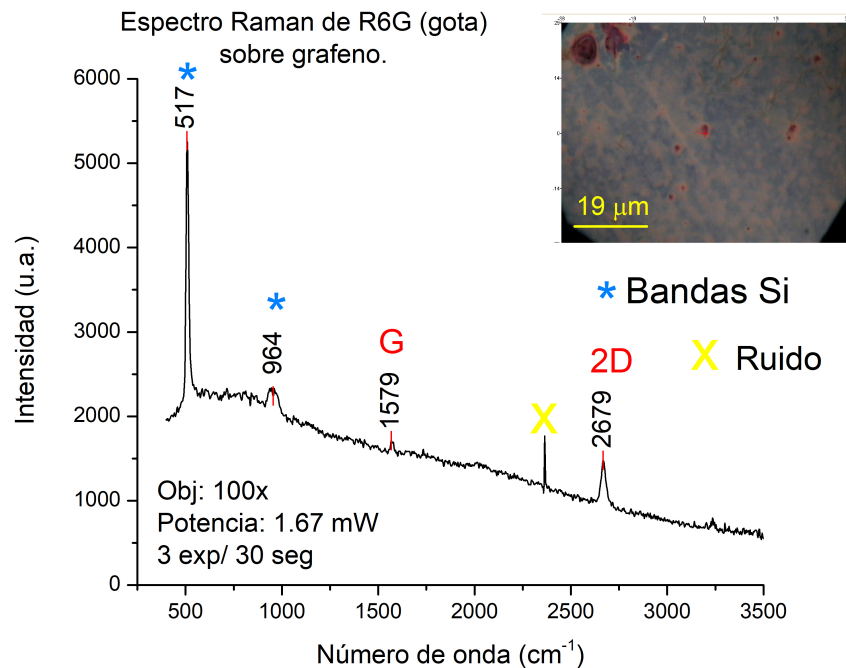


Figura 5.16: En el espectro se observa la curva tan notable fluorescencia proveniente de la R6G lo que imposibilita la observación de bandas propias de esta molécula, además, existen zonas de aglomeraciones o la presencia nula de R6G, por lo que con este método no se tiene control sobre el número de partículas que interaccionan con el grafeno ni se puede asegurar una capa homogénea sobre el sustrato, por lo que se procede a buscar métodos que al menos permitan capas más uniformes sobre la superficie. También se puede apreciar un pico, que es ruido proveniente de partículas ionizadas exteriores de alta energía (rayos cósmicos) que interaccionan con la CCD. La imagen fue tomada con un microscopio con objetivo 100x.

5.4.2. Sumergimiento con PMMA y sin PMMA

Las condiciones experimentales bajo las cuales se prepararon las muestras y se estudiaron en el equipo Raman provienen de los intentos fallidos expuestos en párrafos anteriores y de lo ya analizado en los artículos de la tabla 5.1. Como ya se había discutido sumergir el grafeno un minuto en R6G y dar un lavado de treinta minutos en agua destilada da una capa homogénea sobre esta superficie, adicionalmente tenemos que una potencia máxima de 800 mW no quema la muestra y presenta bandas muy débiles de R6G. Respecto a los tiempos de exposición, la cota fue de 10 segundos.

Por otro lado, el espectro Raman de grafeno se ve modificado por la ausencia o uso del PMMA, en el primer caso se observaron las bandas G y 2D con un intensidad del doble o el triple respecto al segundo caso (uso de PMMA). A partir de este hecho, ambas muestras de grafeno, una con PMMA y otra sin PMMA, fueron sumergidas en R6G y después se estudiaron en el equipo Raman para ver cual de ellas presentaba la amplificación de la señal Raman de la R6G.

Sumergimiento de grafeno sin PMMA

En esta sección se trabajó con una muestra de grafeno transferida sin PMMA debido a que se obtienen bandas 2D y G más definidos y de mayor intensidad respecto a las muestras transferidas con PMMA. Gracias a esto fue posible por primera vez observar el espectro de amplificación de R6G bajo las condiciones experimentales ya mencionadas y además se encontró la última condición referente al número de exposiciones para la toma de espectro. El primer espectro Raman donde se observaron bandas de R6G fue tomado con diez exposiciones y se puede observar en la imagen 5.17.

Con el primer espectro y la observación de algunas bandas importantes de la R6G se procedió a mejorar las condiciones del equipo Raman y se encontró que para quince exposiciones de tres segundos cada una, a una potencia de 0.825 mW para un grafeno transferido sin PMMA, se tiene claramente la amplificación de la señal Raman de R6G, mostrado en la figura 5.18. Con este hecho, finalmente se encontraron las condiciones experimentales bajo las cuáles el grafeno puede suprimir la fluorescencia de la R6G dando paso a las bandas características del colorante, las cuales están reportadas en las referencias [7], [8] y [70]. Estas condiciones fueron clave en los demás espectros que se mostrarán de ahora en adelante, porque permitieron comparar el efecto que tuvo el PMMA en la interacción del grafeno y la rodamina.

Con el fin de corroborar las condiciones ya mencionadas, se utilizó otra muestra de grafeno (del IF-UNAM, figura 5.19) transferida sin PMMA en la cuál quedaron restos de cobre, sin embargo, se pudo observar una amplificación de la señal al igual que el grafeno comercial (ver figura 5.18). Lo interesante es que se nota una interacción entre la rodamina y el grafeno, pues se muestran de manera clara algunas bandas de R6G. Lo que sucede es que los residuos de cobre tienden a dejar sucia la muestra y por lo tanto el efecto GERS se ve mermado, por lo que bandas muy pequeñas como 610, 770 o 1185 cm^{-1} tienden a ocultarse debajo de este ruido, no obstante, bandas como 1513 o 1650 cm^{-1} se notan de una manera clara.

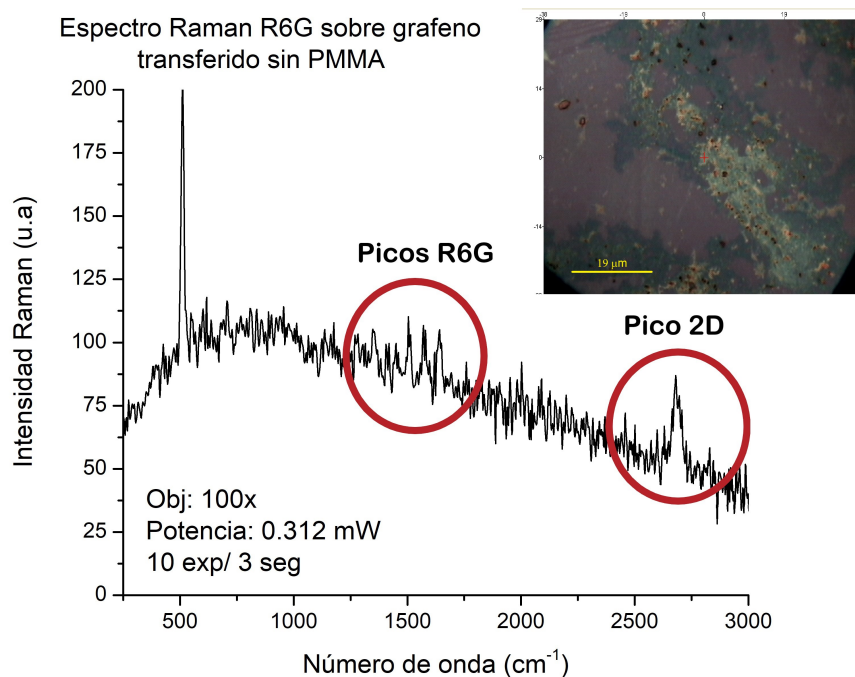


Figura 5.17: Espectro Raman de R6G sobre grafeno el cuál fue sumergido un minuto en una disolución de R6G (1×10^{-6}) y después lavado durante treinta minutos en agua destilada. El láser verde (532 nm) para la toma del espectro tuvo una potencia de 0.312 mW, se toman diez exposiciones, cada una de tres segundos. Se puede notar la formación de unas bandas que corresponden a la R6G, sin embargo estas condiciones deben ser mejoradas para observar bien estos bandas y algunas adicionales.

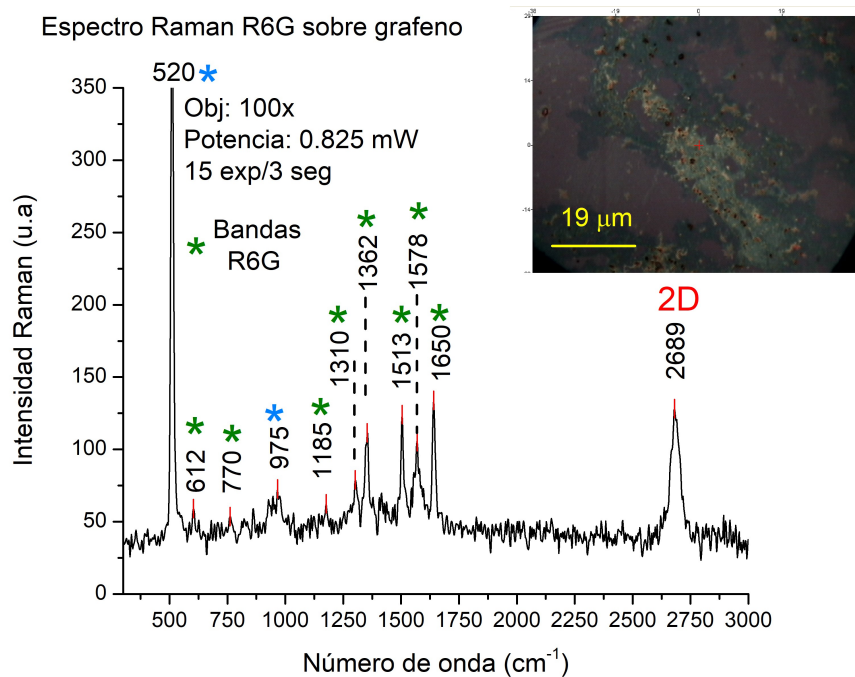


Figura 5.18: Espectro Raman de R6G sobre grafeno producido comercialmente y transferido sin PMMA. Se observa la supresión de la fluorescencia por parte del grafeno, por lo tanto las bandas representativas de la R6G. Las bandas con asterisco azul pertenecen al Si.

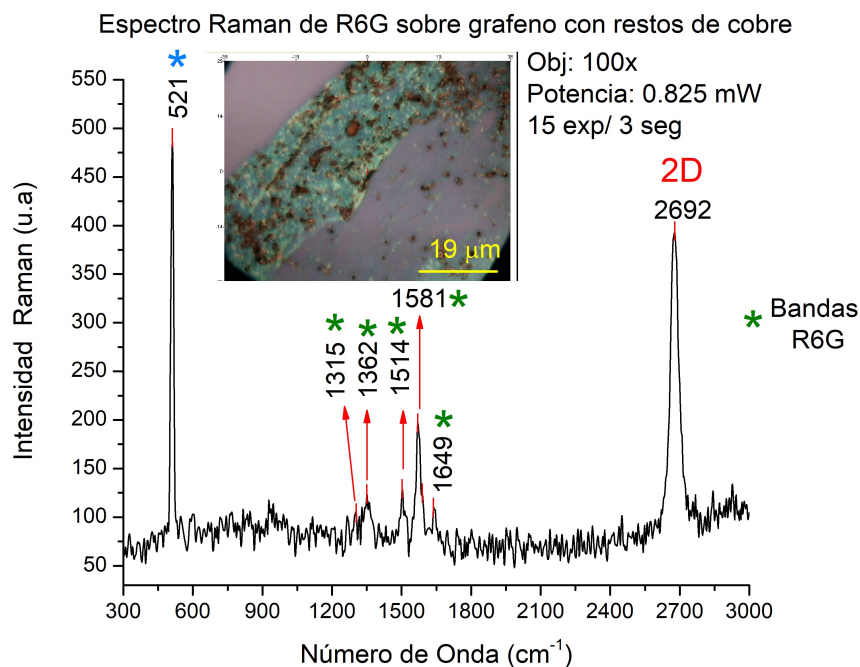


Figura 5.19: Espectro Raman de R6G sobre grafeno producido en el IF-UNAM y transferido sin PMMA. La muestra cuenta con algunos residuos de cobre que imposibilitaron observar todas las bandas de R6G.

Lo interesante es notar que existen bandas que son más visibles que otras en este tipo de amplificación y en especial la 1650 cm^{-1} . La banda en 1650 tiende a ser el de mayor intensidad en el espectro debido a que la R6G tiende a alinearse de tal forma que los anillos aromáticos de la estructura xanteno de la molécula quedan paralela a la superficie de grafeno (observar figura 4.6), esto produce un apilamiento tipo $\pi - \pi$ lo que induce la transferencia de carga, eliminando la fluorescencia y haciendo visible esta banda que será la más predominante en esta amplificación de señal usando grafeno pristino. A continuación, se muestran otras bandas presentes en el espectro y a que tipo de modo vibracional están asociadas las bandas.

Reportados (cm^{-1})	Encontrados (cm^{-1})	Modo vibracional
610	612	Plegamiento de átomos C-C-C del anillo xanteno, en plano.
780	770	Plegamiento de átomos C-H del anillo xanteno, fuera del plano.
1180	1185	Plegamiento de átomos C-H del anillo xanteno, en plano.
1310	1310	Expansión y contracción de anillos aromáticos y C-N.
1350	1362	Expansión y contracción de anillos aromáticos y C-N.
1505	1513	Expansión y contracción de anillos aromáticos C-C.
1575	1578	Expansión y contracción de anillos aromáticos C-C.
1650	1650	Expansión y contracción de anillos aromáticos C-C.

Tabla 5.3: Modos vibracionales de R6G asociado a cada banda encontrada durante la amplificación de señal Raman por grafeno. La asignación fue tomada de las siguientes referencias: [71], [72], [73] y [74].

Si bien transferir muestras de grafeno sin la asistencia del PMMA puede volverse algo muy tedioso y complicado, este hecho permitió encontrar las condiciones experimentales necesarias con las cuáles existe GERS. Las bandas más predominantes en el espectro R6G provienen del hecho que la interacción entre los grupos aromáticos de la R6G y el la red hexagonal en el grafeno son más fuertes. Por otro lado, el trabajar sin PMMA permitió preguntarse, si bajo estas mismas condiciones se observará el mismo efecto GERS en grafeno transferido con PMMA.

Sumergimiento de grafeno transferido con PMMA

En el momento en que se conocieron las condiciones experimentales bajo las cuales se observa la amplificación de R6G, se realizaron las mismas pruebas pero ahora con grafeno transferido con PMMA, uno de los ejemplares proviene de grafeno comercial mientras que otro se tomo del mismo grafeno que se utilizó para la transferencia sin PMMA esto con fines de corroborar si el PMMA era el problema en la amplificación. Los resultados pueden observarse en las figuras 5.20 y 5.21, en los cuáles se observa que tanto para grafeno comercial como para aquél producido por el IF-UNAM la amplificación es nula.

En ambos espectros se pudo asegurar la presencia de grafeno debido a las bandas representativas de esta superficie bidimensional, sin embargo se observó una gran fluorescencia de la R6G y no se notó su supresión como en el caso de grafeno transferido sin PMMA, de hecho, este mismo tipo de efecto ocurre en el sustrato de Si/SiO₂ pero con una mayor fluorescencia.

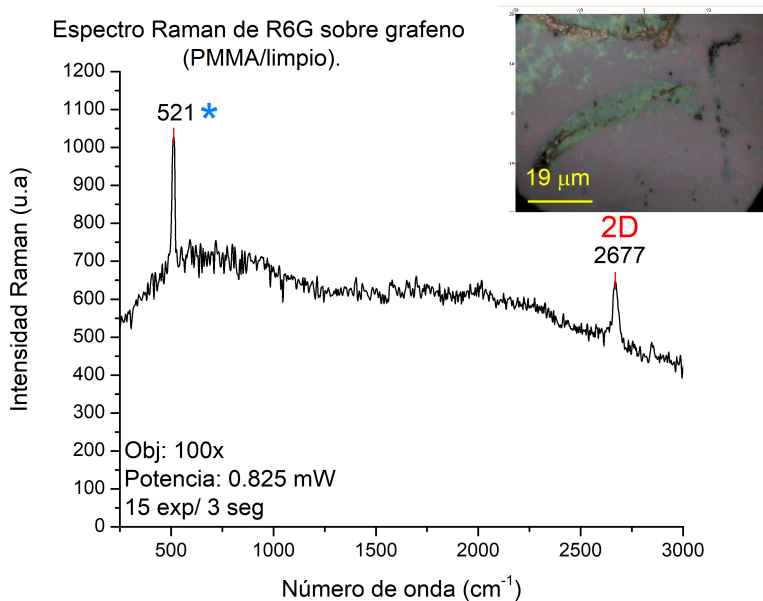


Figura 5.20: En ambos casos se observa una gran fluorescencia de la R6G y además las bandas representativas del grafeno obtenido en el IF-UNAM.

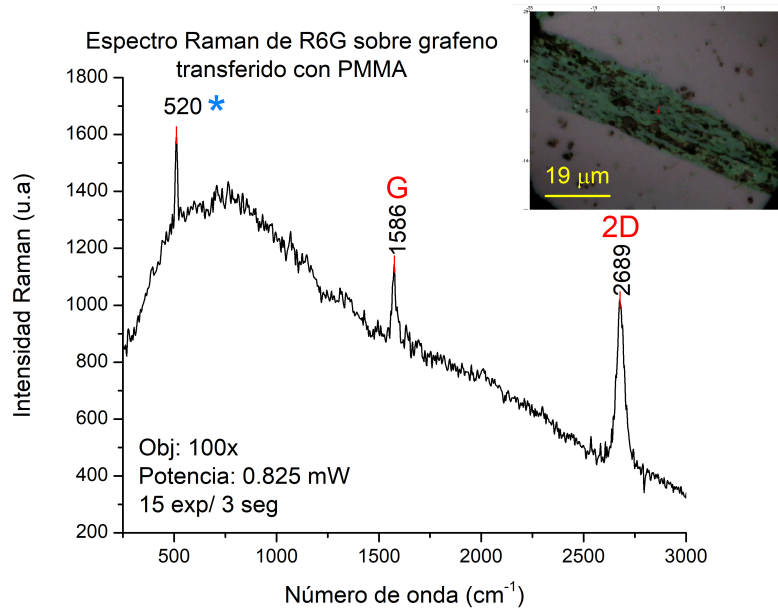


Figura 5.21: En ambos casos se observa una gran fluorescencia de la R6G y además las bandas representativas del grafeno comercial.

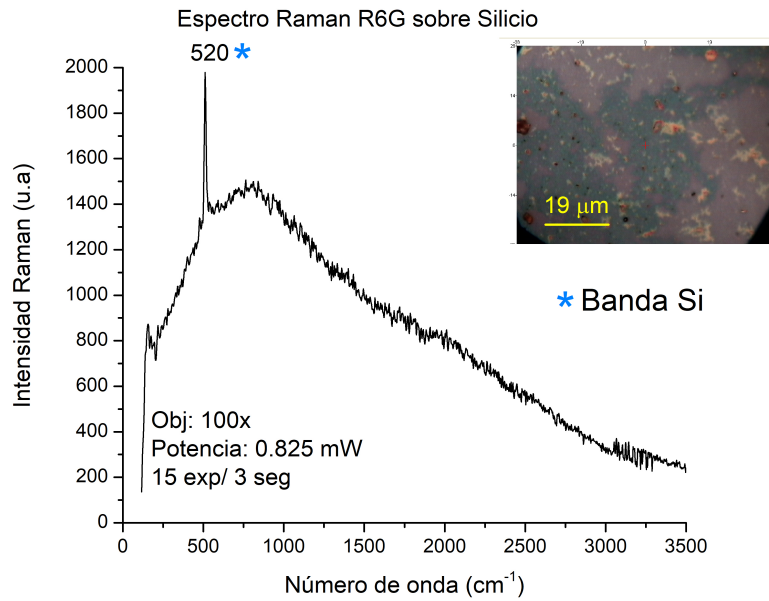


Figura 5.22: Espectros Raman de R6G sobre sustrato de Si/SiO₂. Se nota una ausencia de amplificación de la señal y una gran fluorescencia proveniente del sustrato.

Como habíamos discutido en la subsección 5.2.3, tanto teóricamente como experimentalmente se ha observado que el PMMA no puede ser eliminado del todo en la muestra de grafeno usando el baño de acetona, provocando una capa del polímero sobre el grafeno. Como resultado, se tendría una capa de grafeno, encima una de PMMA y arriba de esta, la película de R6G como se muestra en la figura 5.23. Esto genera que la primera capa con la que interacciona el grafeno es el PMMA y no la R6G. Como consecuencia, la distancia R6G-grafeno se modifica de tal forma que la interacción entre ambas se vuelve débil afectando directamente el mecanismo químico del grafeno y por lo tanto no se observa el fenómeno de amplificación en las bandas de la R6G. Este resultado ya ha sido estudiado por Ling y Zhang [57] usando grafeno, PMMA y protoporfirina IX.

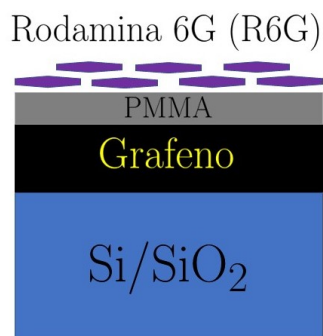


Figura 5.23: Diagrama simplificado de las capas que quedan sobre la muestra de grafeno. La imagen esta basada en el artículo [57].

Resumiendo, debido al efecto de primera capa del fenómeno GERS, la transferencia de grafeno sin la utilización de PMMA logró una interacción directa entre grafeno-R6G, la cual se ve mermada por el uso del PMMA y en general por residuos provenientes del proceso de transferencia, por lo que es importante tener un sustrato de grafeno limpio para la observación del efecto de amplificación de señal Raman. Por otro lado, el efecto de amplificación tampoco fue visible sobre el sustrato de silicio, por lo que en realidad se comprueba que utilizar grafeno realmente mejora la señal de R6G debido a las condiciones discutidas en la sección experimental de GERS. Para afirmar lo ya expuesto se realizó un mapeo Raman preliminar sobre una región con grafeno, Si/SiO₂ y residuos de cobre, para observar como se modifican las bandas de R6G en cada punto de la zona.

5.4.3. Mapeo Raman

Se realizó un estudio de mapeo Raman preliminar sobre la muestra de grafeno comercial transferida sin PMMA. El análisis fue llevado a cabo en un equipo Raman Witec el cual mapeó una zona de la muestra para obtener varios espectros en la zona, donde cada espectro corresponde a un pixel del mapeo. Si se observa la imagen 5.24 de la muestra se podrá notar un cuadro rojo, en esta zona se tomaron 50 puntos para 50

líneas en la imagen en un área de $25\mu\text{m} \times 25\mu\text{m}$ con un láser de 532 nm a una potencia de 26.4 mW con un tiempo de exposición de 0.3 s por punto.

El fin de este estudio fue analizar en que zonas se presentaba la amplificación y en cuales este fenómeno era nulo. Como se ha discutido desde un principio, el grafeno es un buen sustrato para eliminar la fluorescencia de la R6G y entonces se observan sus bandas, este efecto no ocurre en un sustrato de Si/SiO₂, adicionalmente, si el grafeno cuenta con restos de cobre entonces tampoco se observará el efecto GERS debido a que se necesita una superficie totalmente limpia para la interacción molécula-sustrato.

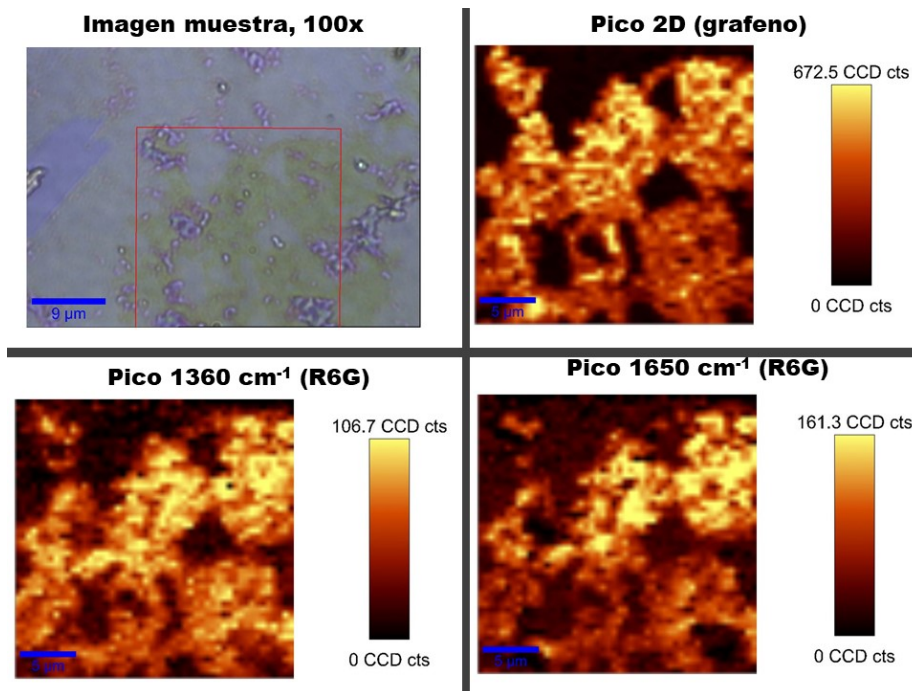


Figura 5.24: Del lado superior izquierdo se observa la muestra estudiada (tomada con objetivo 100×, el cuadrado rojo indica la zona donde se realizó el mapeo Raman. Las tres figuras posteriores indican el mapeo de cada uno de las bandas correspondientes al grafeno (2D) y dos bandas de la R6G con sus respectivo número de cuentas registrado, las zonas más amarillas indican una alta intensidad de la banda, mientras que zonas más oscuras indican una baja intensidad de la banda estudiada.

El hecho anterior fue comprobado gracias al mapeo Raman sobre la zona que se muestra en la figura 5.24. Las zonas con tonos verdes-azulados tienen una mayor área de Si/SiO₂, la zona superior en el espectro tiende más a un color azulado, de hecho si se observa el mapeo de la banda 2D del grafeno la zona carece de grafeno (zona más oscura), en cambio, la zona con tonos verdes más fuertes indican una mayor presencia de grafeno, que se observan en las zonas más amarillas del mapeo de la banda 2D, las zonas negras son lo opuesto pues hablan de la inexistencia de grafeno, estas zonas tienen una mayor presencia de silicio o restos de cobre. Finalmente, se puede notar que las zonas donde la presencia de grafeno es mayor, se observa una mayor presencia del efecto de amplificación en la molécula de R6G (zonas más amarillas) debido a una alta

presencia de las bandas 1650 cm^{-1} y 1360 cm^{-1} mientras que zonas que contienen silicio o grafeno con restos de cobre esta amplificación se ve mermada. Otro punto importante de mencionar es que el número de cuentas para grafeno son altas respecto a la de R6G.

En resumen, a pesar de que tenemos una capa de rodamina 6G sobre todo la muestra (enmarcada por el recuadro rojo), únicamente se observan las bandas de la R6G (1360 cm^{-1} y 1650 cm^{-1}) donde existe grafeno.

5.4.4. Amplificación de señal Raman en grafeno sobre cobre

La transferencia de grafeno sobre silicio sin PMMA además de la dificultad que presentó, tendió a dejar residuos de cobre o ácido sobre la superficie la cual afecta la amplificación de la molécula colorante, como alternativa se realizó la amplificación de señal de R6G sobre grafeno en sustrato de cobre. La muestra de grafeno se bañó en una disolución de R6G ($1 \times 10^{-6}\text{ M}$) durante un minuto y diez minutos en agua destilada, este tiempo en agua es suficiente para evitar la oxidación del sustrato. En una de las muestra de grafeno sobre cobre se le agregó PMMA y se limpió normalmente con baño de acetona y después se introdujo en R6G y se lavó en agua destilada, para la otra muestra únicamente bastó el sumergimiento de R6G y después su respectivo lavado de agua destilada, esta fue libre de PMMA. Los resultados se observan en figuras 5.25 y 5.26. Se volvió a observar que la muestra sin PMMA brindó la amplificación de la señal Raman mientras la otra no.

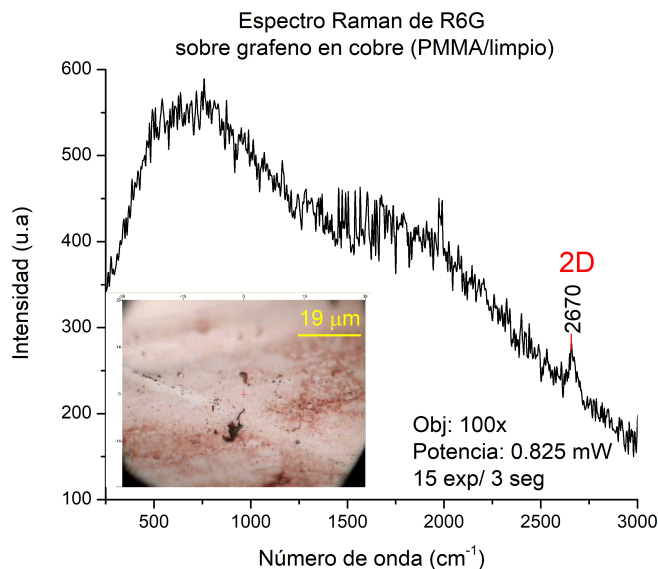


Figura 5.25: Espectro Raman de grafeno sobre cobre (IF-UNAM) con PMMA y posteriormente lavado en un baño de acetona, con R6G. Se puede notar que estamos en una zona con grafeno sin embargo no existe un efecto de amplificación de la señal Raman de R6G, solo se observa fluorescencia.

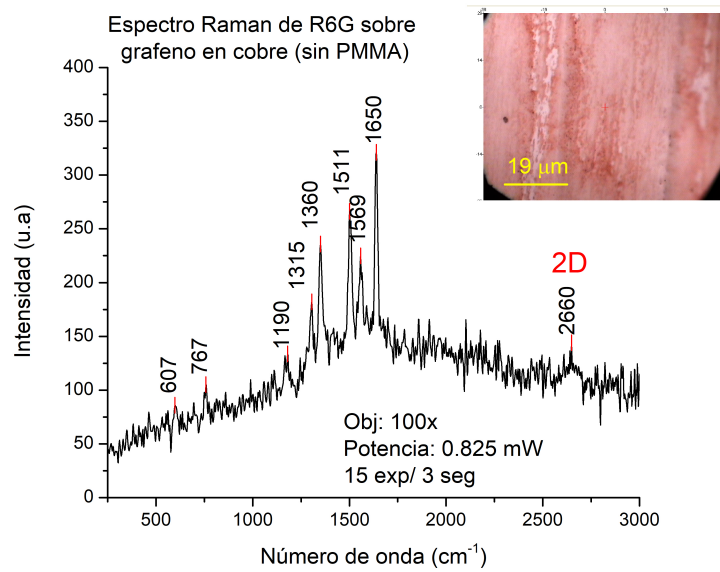


Figura 5.26: Espectro Raman de grafeno sobre cobre (IF-UNAM) sin PMMA con R6G. En esta muestra existe un efecto de amplificación de la señal Raman de R6G de una manera bastante clara.

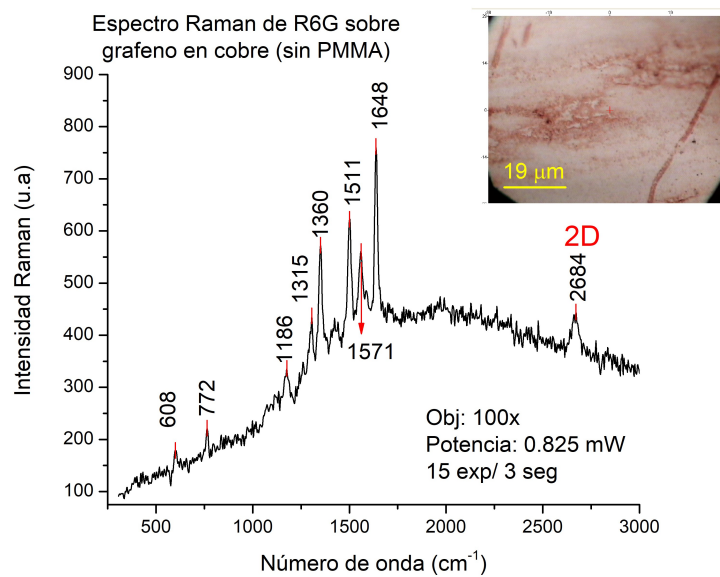


Figura 5.27: Espectro Raman de grafeno sobre cobre (IF-UNAM) sin PMMA con R6G de otra marca comercial distinta a la ocupada para la observación de los espectros anteriores. Se puede notar la interacción de grafeno-rodamina y la intensidad en las bandas de esta molécula sin que llegue a ser opacada por el ruido de fondo propio del cobre.

Como última prueba, se preparó otra muestra de grafeno en cobre con R6G bajo los procedimientos ya mencionados, el único cambio realizado fue la utilización de otra marca comercial de R6G distinta (marca Hycel) a la utilizada en un principio, lo que permitió corroborar que existía una amplificación por parte del grafeno en la molécula colorante, en otras palabras este experimento no depende de la marca o pureza de la rodamina 6G.

Por último se tomó un espectro de cobre limpio con R6G y se analizó su respectivo espectro Raman con las condiciones que ya conocemos. Como se muestra en la figura 5.28, se observa únicamente el ruido de fondo del cobre más una ligera curva de la fluorescencia de la rodamina por lo que se concluye que las bandas que se han observado en esta sección son debido y únicamente a la interacción entre grafeno y R6G.

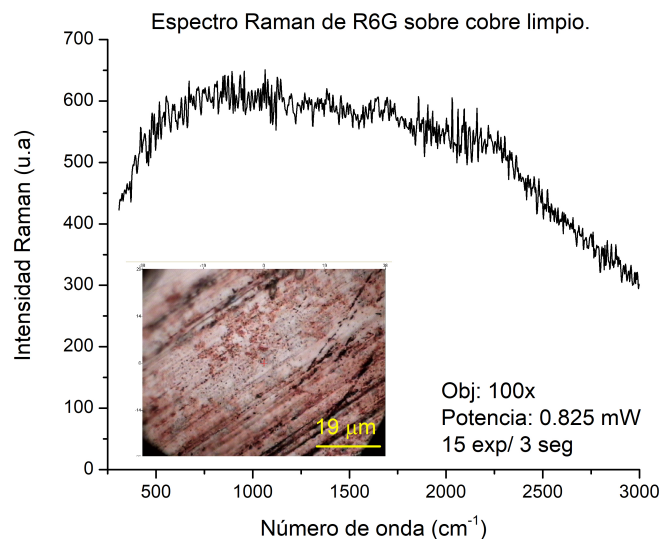


Figura 5.28: Espectro Raman de cobre limpio con R6G. La interacción cobre-rodamina no presenta un efecto de amplificación de señal Raman y no presenta bandas adicionales en el espectro Raman.

Finalmente, la utilización de grafeno sobre cobre, sin PMMA, permite la visualización de las bandas de R6G sin que esta queda opacada por el ruido de fondo propio del sustrato de cobre. Esta técnica es una primera opción para estudiar algunas otras moléculas que puedan presentar GERS y empezar el estudio de las condiciones de la preparación de la muestra y el equipo Raman para ya después ser observadas pero en un sustrato de grafeno-Si/SiO₂ sin PMMA. Por otro lado, el efecto de amplificación se observa para dos ejemplares de R6G, provenientes de distintas compañías, lo que permite la fácil reproducibilidad del experimento.

Conclusiones

En este trabajo se realizaron las pruebas preliminares para estudiar por el método espectroscópico GERS, moléculas fluorescentes que no hayan sido estudiadas anteriormente. En particular se encontraron las condiciones bajo las cuales se observa la amplificación de la señal Raman usando grafeno. Se encontró que la amplificación se observa en grafeno pristino sobre óxido de silicio y sobre cobre, aunque la señal es un poco menos nítida en el cobre. Esto es relevante porque pruebas iniciales con moléculas desconocidas, se pueden realizar directamente sobre el grafeno sintetizado en cobre sin necesidad de realizar la transferencia, asegurando una mejor limpieza que al transferir el grafeno. Cabe notar que la transferencia del grafeno del cobre a un sustrato de Si con con óxido de silicio puede dejar trazas de otros compuestos que afecten la interacción entre el grafeno y la molécula fluorescente. En este trabajo se encontró que la concentración idónea para la observación de GERS en R6G (en agua destilada) fue de 1×10^{-6} M. La muestra de grafeno se sumergió durante 1 minuto en R6G y después se le dio un baño de 30 minutos en agua destilada, dejando una capa homogénea de rodamina sobre el sustrato de silicio. Las condiciones idóneas de equipo Raman fueron para este caso 15 exposiciones cada una de 3 segundos, para una potencia de 0.825 mW ($\lambda_{\text{laser}} = 532$ nm). Bajo estas condiciones experimentales también se observó que el grafeno suprime la fluorescencia de la rodamina, lo cual se corroboró al observar que la fluorescencia seguía presente en el sustrato de Si/SiO₂.

Adicionalmente, se notó una disminución de la intensidad de los picos del grafeno transferido a un sustrato de Si/SiO₂ usando una capa delgada de polimetacrilato (PMMA) para facilitar la transferencia, respecto a las muestras en las cuales no se ocupó el compuesto. Posteriormente se corroboró que en las muestras en las cuales se había utilizado PMMA no se observaba la amplificación de la señal Raman, mientras que en las muestras en las cuales no se utilizó dicho compuesto sí presentaron GERS, hecho que ya ha sido demostrado en 2010 por Ling y Zhang [57]. Finalmente, se decidió trabajar con muestras libres de PMMA.

Como trabajo futuro queda estudiar compuestos fluorescentes sintetizados en el laboratorio de Nanopelículas del Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM, los cuales contienen anillos aromáticos que podrían hacer una buena interacción con el grafeno y que no han sido estudiados por este método. Además sería conveniente buscar otros métodos de transferencias de grafeno a Si/SiO₂ sustituyendo el PMMA por otros com-

puestos como nitrocelulosa, con el fin de reducir la cantidad de residuos que afecta la interacción entre grafeno y molécula a estudiar. Otro método libre de uso de polímeros, propone el uso de dos líquidos (hexano y persulfato de amonio) creando dos fases, en medio de ambas yace el grafeno evitando que se rompa y después se realiza la pesca con Si/SiO₂ [75].

Apéndice A

Símetria en moléculas

Una operación de simetría es aquella que deja a un objeto, o en este caso a una molécula, en una posición indistinguible respecto a su orientación inicial. Estas operaciones incluyen rotaciones, reflexiones e inversiones. Cada simetría de operación se aplica bajo un elemento geométrico que puede ser un punto, una línea o un plano, este grupo se conoce como elementos de simetría [76].

A continuación se presentan las operaciones de simetría y sus respectivos elementos.

1. La identidad

La operación consiste en básicamente hacer nada, con su correspondiente elemento de simetría que es todo el espacio o el objeto en si mismo. Cada molécula es indistinguible de si misma, si no se hace nada, por lo cuál todos las moléculas presentan al menos esta simetría de operación.

2. Rotación propia

La operación de rotación propia se lleva a cabo bajo un eje de rotación propia, que es una línea. Esta operación se representa por C_n , donde n indica que fracción de un círculo debe ser rotada, dicho de otra forma, $360^\circ/n$, recordar que n debe ser entero. Por ejemplo, para una molécula de benceno, si se aplica una C_6 ($360^\circ/6 = 60^\circ$), la molécula queda en una configuración equivalente, o sea, indistinguible de la inicial.

3. Inversión Es una operación de simetría que es aplicada a través de un punto conocido como el centro de inversión (i). Este punto está localizado en el centro de la molécula, y si se toma un punto de la molécula (x, y, z) y se aplica esta operación, entonces este punto se convierte en $(-x, -y, -z)$. La molécula de benceno, por ejemplo, cuenta con un centro de inversión.

4. Rotación impropia Esta operación es representada bajo S_n y es llevada a cabo bajo un eje de rotación impropia (línea). La operación es la composición de otras dos, la primera consiste en rotar una C_n ($360^\circ/n$) y la segunda es una reflexión a través de un plano perpendicular al eje de rotación. La operación S_2 y la inversión son equivalentes. En la figura A.1, se puede observar de manera ilustrativa estos pasos.

5. Reflexión La operación es llevada a cabo gracias a un elemento conocido como plano de espejo (σ), que contiene al eje principal de la molécula o puede ser perpendicular a él. Para el primer caso, si el eje es paralelo al eje principal entonces se conoce

como un plano de espejo vertical (σ_v) que puede ser visto en una molécula de H_2O , en cambio, si el plano que contiene al eje principal bisecta los enlaces de la molécula se conoce como plano de espejo diedral (σ_d). En el segundo caso, cuando el plano de simetría es perpendicular al eje, entonces se conoce como plano de espejo horizontal (σ_h), uno de los ejemplos típicos es la molécula C_6H_6 .

Gracias a estos elementos propios de las operaciones, se puede clasificar a las moléculas en grupos de acuerdo a elementos de simetría que presenten en común. Los grupos son conocidos como puntuales, debido a que todos los elementos de simetría se tocan en un mismo punto.

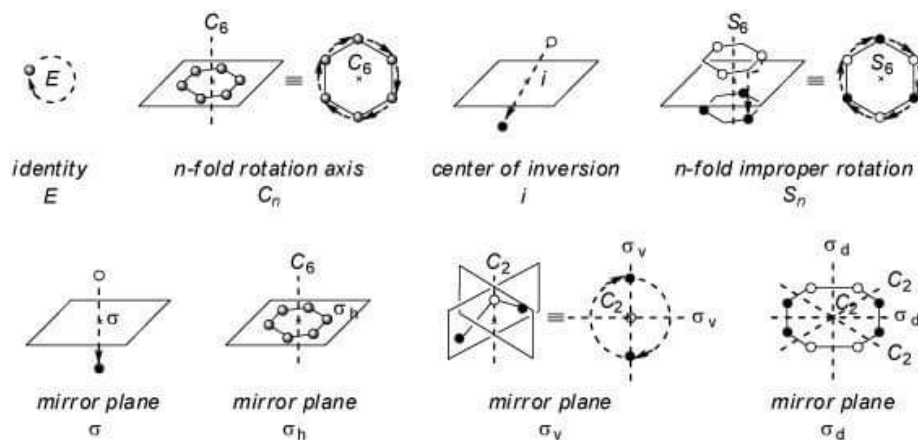


Figura A.1: Visualización de las operaciones de simetría y sus respectivos elementos.

Apéndice B

Ajuste de pico 2D de grafeno

Una forma de calibrar los resultados obtenidos experimentalmente respecto a los reportados, es comparando la posición de los picos en ambos espectros. En consecuencia, se tomaron los picos representativos del silicio y el pico G del grafeno y se analizaron con la referencia [70]. Se propone un modelo lineal con estos tres puntos para encontrar una relación y entonces tener un ajuste de los demás picos encontrados en los espectros mostrados en la sección experimental.

El ajuste de los tres puntos se realiza con el software Origin Pro 8.6 con el método de mínimos cuadrados, se obtiene la pendiente y la ordenada al origen, la ecuación se puede observar en la imagen B.1, en este caso se introduce el pico encontrado en la entrada λ_{obt} y se calcula su nuevo valor.

El gráfico aquí expuesto ajusta un modelo lineal con un coeficiente de determinación (R^2) muy cercano 1 por lo que se considera un buen ajuste. Si se observan cuidadosamente las coordenadas se puede observar que los datos varían en un orden de 9 puntos, de hecho, este número es un desfase muy común en los espectros tomados. De igual forma, este parámetro es muy importante para poder detectar posibles picos de Rodamina 6G.

Una observación importante durante la calibración de los espectros es que para diferentes días el pico más representativo de silicio tomaba valores de 507 cm^{-1} hasta 512 cm^{-1} donde 509 cm^{-1} fue uno de los valores más recurrentes. Por este hecho, también se propone otra forma de ajustar los picos obtenidos, en base al cero de Rayleigh y el desplazamiento que representa en nuestros espectros. Recordar que el cero de Rayleigh es dispersión elástica la cual marca un punto de referencia entre la dispersión Stokes y anti-Stokes y como consecuencia se toma como el cero de los espectros. En este caso, los picos obtenidos experimentalmente se le suma una constante que es el desplazamiento que tuvo el pico Rayleigh respecto al cero del espectro.

Ambas formas de calibrar los espectros son correctas, sin embargo, debido a la naturaleza de este trabajo se decidió implementar la calibración por la comparación de los datos experimentales reportados y obtenidos con el fin de relacionar los picos de R6G obtenidos por GERS.

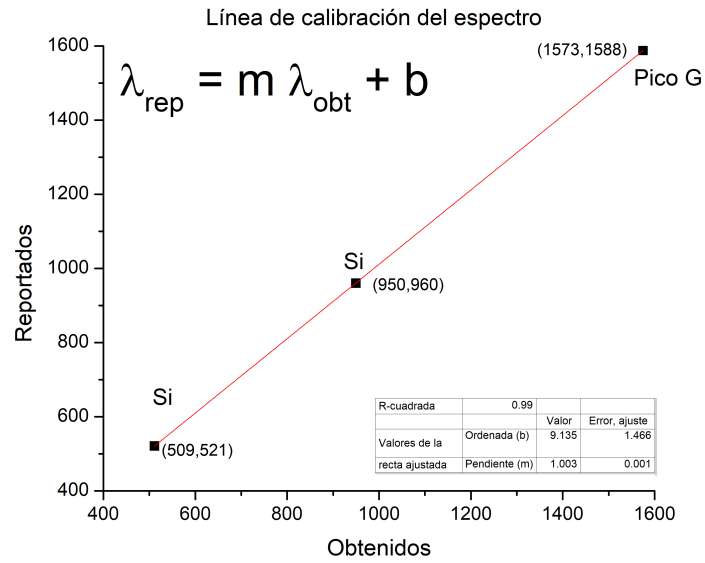


Figura B.1: Ajuste lineal para 3 picos, dos de ellos corresponden al óxido de silicio mediante que el otro corresponde al pico G del grafeno. Gracias a estos puntos se obtiene una recta, además es buen ajuste debido al valor cercano a 1 que presenta la r-cuadrada.

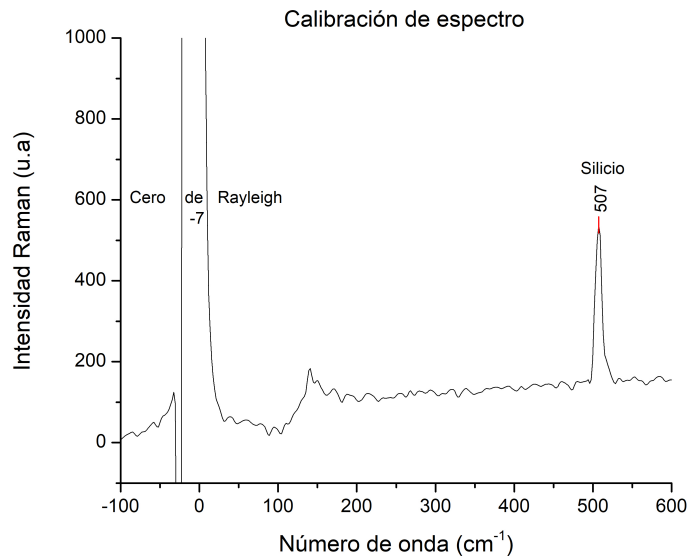


Figura B.2: En este espectro se muestra parcialmente el cero de Rayleigh, que tiene una intensidad bastante alta de 50000 cuentas, y el pico del silicio con una posición de 507 cm^{-1} .

Apéndice C

Calibración de los espectros

Los respectivos ajustes del pico 2D son gracias a una lorentziana, la cuál es puntiaguda en el centro y decae de manera rápida, además, presenta un mayor ensanchamiento respecto a la gaussiana. La anchura de la lorentziana es la mitad de la altura de la función (w), la cuál se toma desde una línea base hasta el pico de ella misma. La razón por la que se escoge este tipo de función es debido a que el tiempo en que se dan las transiciones vibracionales es mucho menor al tiempo de decoherencia que es el desfase en las oscilaciones de los átomos de una molécula y si esto sucede la señal deja de ser detectada por el espectrometro [77]. La función de Lorentz cuenta con cuatro parámetros importantes: y_0 que es un desplazamiento sobre el eje y , x_c que es el centro del pico, A es el área y w es la anchura a media altura (FWHM, en inglés).

$$y = y_0 + \frac{2A}{\pi} \frac{w}{4(x - x_c)^2 + w^2}$$

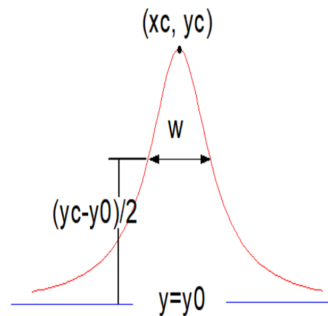


Figura C.1: Función lorentziana. Parámetros representativos usados para ajustar los picos de grafeno, en orden de ver si se trata de un pristino o multicapas.

Para ajustar una función de Lorentz es necesario hallar los picos del espectro los cuales fueron encontrados utilizando el software OriginPro 8.6, bajo el criterio de la primera derivada, gracias al cual se observaron los puntos críticos en todo el espectro y posteriormente se eligieron los que más visibles y ya establecidos en la literatura. Para realizar el ajuste a los puntos obtenidos experimentalmente, se puede hacer uso de un mecanismo de ajuste de funciones no lineales definiendo una función conocida como chi-cuadrada [78], donde y es el modelo a ajustar, en este caso una lorentziana (imagen C.1), p son los parámetros que se calcularán y σ es la desviación estándar de los datos:

$$\chi^2(p) = \sum_i^N \left[\frac{y_i - y(x_i; p)}{\sigma_i} \right]^2 \quad (\text{C.1})$$

En particular, Origin provee el ajuste por medio de un método recursivo conocido como de Levenberg-Marquardt. Si la función que en este caso no es lineal, se utiliza un algoritmo que minimiza la ecuación C.1 con respecto a los parámetros a ajustar (p). El fin de la iteración es encontrar una pequeña perturbación (δa) a los respectivos parámetros (p) tal que reduzca χ^2 por debajo de un valor de tolerancia [78].

$$\chi^2(p + \delta a) < \chi^2(p) \quad (\text{C.2})$$

Una forma de determinar si el ajuste de una función no lineal es la correcta es observando el coeficiente de determinación (R^2), cuando más cerca este el ajuste de los datos experimentales, entonces el coeficiente tenderá a 1, en otras palabras, todos los puntos caen sobre la función ajustada. R^2 es calculada de la sumas cuadradas de las distancias de los puntos experimentales a la curva mejor ajustada determinada por la regresión no lineal. Esta suma es conocida como la suma cuadrada de los residuos [79].

$$RSS(x, p) = \sum_i^N [y_i - f(x_i, p)]^2 \quad (\text{C.3})$$

La R^2 es normalizada si se divide por la suma cuadrada de las distancias de los puntos experimentales a una lineal horizontal sobre la cual cae el promedio de los puntos experimentales, este valor es conocido como la suma total de cuadrados.

$$TSS(x, p) = \sum_i^N [y_i - \bar{y}]^2 \quad (\text{C.4})$$

Si la curva y los datos se corresponden de una buena forma, el residuo sera mucho menor que la suma total, en este caso el valor tenderá a 1 [79].

$$R^2 = \frac{TSS - RSS}{TSS} = 1 - \frac{RSS}{TSS} \quad (\text{C.5})$$

Para los espectros presentados en la sección experimental, R^2 tiene valores muy próximos a 1, por lo que se puede afirmar que se tiene un ajuste adecuado a los puntos experimentales, aunque a veces se puede observar de la curva sobre el centro del pico o a los lados del pico, la cual pudo haber sido influenciada por el enfoque del microscopio sobre la muestra.

Bibliografía

- [1] H. W. Safford. Instrumental methods of analysis (Willard, Hobart H.; Merritt, Lynne L., Jr.; Dean, John A.). *Journal of Chemical Education*, 43(9):506, 1966.
- [2] Eric C. Le Ru y Pablo G. Etchegoin. *Principles of surface-enhanced Raman spectroscopy: and related plasmonic effects*. Elsevier, Amsterdam ; Boston, Primera edición, 2009.
- [3] W. Kiefer. Recent advances in linear and nonlinear Raman spectroscopy II. *Journal of Raman Spectroscopy*, 39(12):1710–1725, 2008.
- [4] Ruchita S. Das y Y.K. Agrawal. Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications. *Vibrational Spectroscopy*, 57(2):163–176, 2011.
- [5] Alberto Requena y José Zúñiga Román. *Espectroscopía*. Pearson Educación, Madrid; España, 2004.
- [6] Matthew D. Sonntag, Eric A. Pozzi, Nan Jiang, Mark C. Hersam, y Richard P. Van Duyne. Recent advances in tip-enhanced raman spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 5(18):3125–3130, 2014. PMID: 26276323.
- [7] Liming Xie, Xi Ling, Yuan Fang, Jin Zhang, y Zhongfan Liu. Graphene as a Substrate To Suppress Fluorescence in Resonance Raman Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 131(29):9890–9891, 2009.
- [8] Xi Ling, Liming Xie, Yuan Fang, Hua Xu, Haoli Zhang, Jing Kong, Mildred S. Dresselhaus, Jin Zhang, y Zhongfan Liu. Can graphene be used as a substrate for Raman enhancement? *Nano letters*, 10(2):553–561, 2009.
- [9] John R. Ferraro, Kazuo Nakamoto, y Chris W. Brown. *Introductory Raman spectroscopy*. Academic Press, Amsterdam ; Boston, 2003.
- [10] D. A. Long. *The Raman effect: a unified treatment of the theory of Raman scattering by molecules*. Wiley, Chichester ; New York, 2002.
- [11] Bernhard Schrader y D. Bougeard, editors. *Infrared and Raman spectroscopy: methods and applications*. VCH, Weinheim ; New York, 1995.
- [12] R. Stuart Tobias. Raman spectroscopy in inorganic chemistry. I. Theory. *Journal of Chemical Education*, 44(1):2, 1967.

- [13] Min-Liang Wong. Polarizability and tensor ellipsoid in the Raman effect. *Vibrational Spectroscopy*, 7(2):197–199, 1994.
- [14] Zhiyun Li, M. Deen, Shiva Kumar, y P. Selvaganapathy. Raman Spectroscopy for In-Line Water Quality Monitoring—Instrumentation and Potential. *Sensors*, 14(9):17275–17303, Septiembre 2014.
- [15] Nicolet, Thermo, Madison, USA. *Introduction to Raman spectroscopy*, 2008.
- [16] Michael W. Davidson Thomas J. Fellers. Confocal Microscopy - Introduction.
- [17] Mårten Pålsson. Raman spectroscopy and confocal raman imaging. *Lund Reports in Atomic Physics*, 2003.
- [18] James R. Janesick. *Scientific charge-coupled devices*. SPIE Press, Bellingham, Wash, 2001.
- [19] Fran Adar, Salvatore Atzeni, John R Gilchrist, Lisa Goldstone, y Jon Noonan. Detector choice is vital to spectroscopy. *Laser focus world*, 38(4):S9–S14, 2002.
- [20] Omar Ormachea y Alex Villazón. Desarrollo de un microscopio de epifluorescencia de bajo costo. *Investigación & Desarrollo*, 17(1):5–14, 2017.
- [21] Joseph R. Lakowicz. *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer, New York, Tercera edición, 2006.
- [22] Santosh Terdale y Aafaq Tantray. Spectroscopic study of the dimerization of rhodamine 6G in water and different organic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 225:662–671, 2017.
- [23] L Cusato, M Estevez, G Santiago, y M González. Caracterización de Líquidos por Técnica Fotoacústica: Estudio de Sensores Piezoeléctricos de Banda Ancha. *Revista elektron*, 1:8–15, 2017.
- [24] Jennifer C. Waters. Accuracy and precision in quantitative fluorescence microscopy. *The Journal of Cell Biology*, 185(7):1135–1148, 2009.
- [25] Dong Wei, Shuo Chen, y Quan Liu. Review of Fluorescence Suppression Techniques in Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*, 50(5):387–406, 2015.
- [26] Syed Arshad Hussain. An introduction to fluorescence resonance energy transfer (FRET). *arXiv preprint arXiv:0908.1815*, 2009.
- [27] Amal Kasry, Ali A. Ardakani, George S. Tulevski, Bernhard Menges, Matthew Copel, y Libor Vyklicky. Highly Efficient Fluorescence Quenching with Graphene. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(4):2858–2862, 2012.
- [28] C. D. Lindstrom y X.-Y. Zhu. Photoinduced Electron Transfer at molecule metal Interfaces. *Chemical Reviews*, 106(10):4281–4300, 2006.

- [29] Hugo Pinto y Alexander Markevich. Electronic and electrochemical doping of graphene by surface adsorbates. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 5:1842–1848, 2014.
- [30] Franz Aussenegg, A Leitner, M. E Lippitsch, European Physical Society, y Quantum Electronics Division. *Surface studies with lasers: proceedings of the international conference, Mauterndorf, Austria, March 9-11, 1983*. Springer-Verlag, Berlin; New York, 1983.
- [31] E. B. Barros y M. S. Dresselhaus. Theory of Raman enhancement by two-dimensional materials: Applications for graphene-enhanced Raman spectroscopy. *Physical Review B*, 90(3), 2014.
- [32] Luis EF Foa Torres, Stephan Roche, y Jean-Christophe Charlier. *Introduction to graphene-based nanomaterials: from electronic structure to quantum transport*. Cambridge University Press, 2014.
- [33] G. N. Dash, Satya R. Pattanaik, y Sriyanka Behera. Graphene for Electron Devices: The Panorama of a Decade. *IEEE Journal of the Electron Devices Society*, 2(5):77–104, 2014.
- [34] Wan-Ing Lin. *Enhanced Raman scattering of molecular monolayers*. PhD thesis, Humboldt-Universität zu Berlin, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, Marzo 2017.
- [35] L.M. Malard, M.A. Pimenta, G. Dresselhaus, y M.S. Dresselhaus. Raman spectroscopy in graphene. *Physics Reports*, 473(5-6):51–87, 2009.
- [36] Syahril Siregar. Double resonance raman spectra of G' and G* bands of graphene. Master's thesis, Graduate School of Science Tohoku University, Sendai; Japan, Septiembre 2015.
- [37] Ryan Beams, Luiz Gustavo Cançado, y Lukas Novotny. Raman characterization of defects and dopants in graphene. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 27(8):083002, 2015.
- [38] A. C. Ferrari, J. C. Meyer, V. Scardaci, C. Casiraghi, M. Lazzeri, F. Mauri, S. Piscanec, D. Jiang, K. S. Novoselov, S. Roth, y A. K. Geim. Raman Spectrum of Graphene and Graphene Layers. *Physical Review Letters*, 97(18), 2006.
- [39] Hsiang-Lin Liu, Syahril Siregar, Eddwi H. Hasdeo, Yasuaki Kumamoto, Chih-Chiang Shen, Chia-Chin Cheng, Lain-Jong Li, Riichiro Saito, y Satoshi Kawata. Deep-ultraviolet Raman scattering studies of monolayer graphene thin films. *Carbon*, 81:807–813, 2015.
- [40] Duhee Yoon, Hyerim Moon, Young-Woo Son, Jin Sik Choi, Bae Ho Park, Young Hun Cha, Young Dong Kim, y Hyeonsik Cheong. Interference effect on Raman spectrum of graphene on SiO₂ / Si. *Physical Review B*, 80(12), 2009.

- [41] Mark Wall. Raman spectroscopy optimizes graphene characterization. *Advanced Materials and Processes*, 170:35–38, 2012.
- [42] Andrea C. Ferrari y Denis M. Basko. Raman spectroscopy as a versatile tool for studying the properties of graphene. *Nature Nanotechnology*, 8(4):235–246, 2013.
- [43] Anindya Das, Biswanath Chakraborty, y A. K. Sood. Raman spectroscopy of graphene on different substrates and influence of defects. *Bulletin of Materials Science*, 31(3):579–584, 2008.
- [44] A. Das, S. Pisana, B. Chakraborty, S. Piscanec, S. K. Saha, U. V. Waghmare, K. S. Novoselov, H. R. Krishnamurthy, A. K. Geim, A. C. Ferrari, y A. K. Sood. Monitoring dopants by Raman scattering in an electrochemically top-gated graphene transistor. *Nature Nanotechnology*, 3(4):210–215, 2008.
- [45] Anindya Das, Biswanath Chakraborty, y A. K. Sood. Raman spectroscopy of graphene on different substrates and influence of defects. *arXiv:0710.4160 [cond-mat]*, 2007. arXiv: 0710.4160.
- [46] Lasse Jensen, Christine M. Aikens, y George C. Schatz. Electronic structure methods for studying surface-enhanced Raman scattering. *Chemical Society Reviews*, 37(5):1061, 2008.
- [47] Katherine A. Willets y Richard P. Van Duyne. Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Sensing. *Annual Review of Physical Chemistry*, 58(1):267–297, 2007.
- [48] Martin Moskovits. Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. *Journal of Raman Spectroscopy*, 36(6-7):485–496, 2005.
- [49] Paul L. Stiles, Jon A. Dieringer, Nilam C. Shah, y Richard P. Van Duyne. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 1(1):601–626, 2008.
- [50] Xiu-Mei Lin, Yan Cui, Yan-Hui Xu, Bin Ren, y Zhong-Qun Tian. Surface-enhanced Raman spectroscopy: substrate-related issues. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394(7):1729–1745, 2009.
- [51] Peter Y. Yu y Manuel Cardona. *Fundamentals of semiconductors: physics and materials properties*. Graduate texts in physics. Springer, Berlin ; New York, Cuarta edición, 2010.
- [52] Hua Xu, Liming Xie, Haoli Zhang, y Jin Zhang. Effect of Graphene Fermi Level on the Raman Scattering Intensity of Molecules on Graphene. *ACS Nano*, 5(7):5338–5344, 2011.
- [53] Dmitri Toptygin, Beverly Z. Packard, y Ludwig Brand. Resolution of absorption spectra of rhodamine 6g aggregates in aqueous solution using the law of mass action. *Chemical Physics Letters*, 277(5-6):430–435, 1997.

- [54] G.S.S. Saini, Amit Sharma, Sarvpreet Kaur, K.S. Bindra, Vasant Sathe, S.K. Tripathi, y C.G. Mhahajan. Rhodamine 6g interaction with solvents studied by vibrational spectroscopy and density functional theory. *Journal of Molecular Structure*, 931(1-3):10–19, 2009.
- [55] Xi Ling, Juanxia Wu, Weigao Xu, y Jin Zhang. Probing the Effect of Molecular Orientation on the Intensity of Chemical Enhancement Using Graphene-Enhanced Raman Spectroscopy. *Small*, 8(9):1365–1372, 2012.
- [56] Kan Zhang, Shansheng Yu, Baoming Jv, y Weitao Zheng. Interaction of Rhodamine 6g molecules with graphene: a combined computational–experimental study. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(41):28418–28427, 2016.
- [57] Xi Ling y Jin Zhang. First-Layer Effect in Graphene-Enhanced Raman Scattering. *Small*, 6(18):2020–2025, 2010.
- [58] V Damljanić, R Kostić, y R Gajić. M-point phonon eigenvectors of graphene obtained by group projectors. *Romanian Reports in Physics*, 2013.
- [59] Caiyu Qiu, Haiqing Zhou, Huaichao Yang, Minjiang Chen, Yanjun Guo, y Lianfeng Sun. Investigation of n -Layer Graphenes as Substrates for Raman Enhancement of Crystal Violet. *The Journal of Physical Chemistry C*, 115(20):10019–10025, 2011.
- [60] Jingjing Lin, Na Zhang, Lianming Tong, y Jin Zhang. Enhanced Raman Scattering on Graphene and Beyond. In Yukihiro Ozaki, George C. Schatz, Duncan Graham, y Tamitake Itoh, editors, *ACS Symposium Series*, volume 1246, p. 97–119. American Chemical Society, Washington, DC, 2016. DOI: 10.1021/bk-2016-1246.ch005.
- [61] K. S. Novoselov. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. *Science*, 306(5696):666–669, 2004.
- [62] Md. Sajibul Alam Bhuyan, Md. Nizam Uddin, Md. Maksudul Islam, Ferdoushi Alam Bipasha, y Sayed Shafayat Hossain. Synthesis of graphene. *International Nano Letters*, 6(2):65–83, 2016.
- [63] Wei Liu, Hong Li, Chuan Xu, Yasin Khatami, y Kaustav Banerjee. Synthesis of high-quality monolayer and bilayer graphene on copper using chemical vapor deposition. *Carbon*, 49(13):4122–4130, 2011.
- [64] Sultan Ben-Jaber, William J. Peveler, Raul Quesada-Cabrera, Christian W. O. Sol, Ioannis Papakonstantinou, y Ivan P. Parkin. Sensitive and specific detection of explosives in solution and vapour by surface-enhanced Raman spectroscopy on silver nanocubes. *Nanoscale*, 9(42):16459–16466, 2017.
- [65] Sevak Khachadorian. *Vibrational properties of silicon nanowires*. PhD thesis, Technischen Universität Berlin, Berlín, Abril 2011.

- [66] J. B. Renucci, R. N. Tyte, y M. Cardona. Resonant Raman scattering in silicon. *Physical Review B*, 11(10):3885–3895, Mayo 1975.
- [67] V. Skakalova y A.B. Kaiser. *Graphene: Properties, Preparation, Characterisation and Devices*. Woodhead Publishing Series in Electronic and Optical Materials. Elsevier Science, 2014.
- [68] Xuelei Liang, Brent A. Sperling, Irene Calizo, Guangjun Cheng, Christina Ann Hacker, Qin Zhang, Yaw Obeng, Kai Yan, Hailin Peng, Qiliang Li, Xiaoxiao Zhu, Hui Yuan, Angela R. Hight Walker, Zhongfan Liu, Lian-mao Peng, y Curt A. Richter. Toward Clean and Crackless Transfer of Graphene. *ACS Nano*, 5(11):9144–9153, 2011.
- [69] Václav Valeš, Petr Kovaříček, Xiang Ji, Xi Ling, Jing Kong, Mildred S. Dresselhaus, y Martin Kalbáč. Quenching of photoluminescence of Rhodamine 6g molecules on functionalized graphene: Quenching of PL of Rhodamine 6g molecules on functionalized graphene. *physica status solidi (b)*, 253(12):2347–2350, 2016.
- [70] Václav Valeš, Petr Kovaříček, Michaela Fridrichová, Xiang Ji, Xi Ling, Jing Kong, Mildred S Dresselhaus, y Martin Kalbáč. Enhanced Raman scattering on functionalized graphene substrates. *2D Materials*, 4(2):025087, 2017.
- [71] Huanping Yang, Hailong Hu, Zhenhua Ni, Chee Kok Poh, Chunxiao Cong, Jianyi Lin, y Ting Yu. Comparison of surface-enhanced Raman scattering on graphene oxide, reduced graphene oxide and graphene surfaces. *Carbon*, 62:422–429, 2013.
- [72] Peter Hildebrandt y Manfred Stockburger. Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy of Rhodamine 6g adsorbed on colloidal silver. *The Journal of Physical Chemistry*, 88(24):5935–5944, 1984.
- [73] Hiroyuki Watanabe, Norihiko Hayazawa, Yasushi Inouye, y Satoshi Kawata. DFT Vibrational Calculations of Rhodamine 6g Adsorbed on Silver: Analysis of Tip-Enhanced Raman Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(11):5012–5020, 2005.
- [74] C. Kavitha, K. Bramhaiah, Neena S. John, y Shantanu Aggarwal. Improved surface-enhanced Raman and catalytic activities of reduced graphene oxide–osmium hybrid nano thin films. *Royal Society Open Science*, 4(9):170353, 2017.
- [75] Guohui Zhang, Aleix G. Güell, Paul M. Kirkman, Robert A. Lazenby, Thomas S. Miller, y Patrick R. Unwin. Versatile Polymer-Free Graphene Transfer Method and Applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(12):8008–8016, 2016.
- [76] P.W. Atkins y J. De Paula. *Atkins' Physical Chemistry*. W.H. Freeman, 2006.
- [77] Michael S. Bradley. Lineshapes in IR and Raman Spectroscopy: A primer. *Spectroscopy*, 30(11):42–46, 2015.

- [78] Joab R Winkler. Numerical recipes in C: The art of scientific computing, second edition. *Endeavour*, 17(4):201, 1993.
- [79] H. Motulsky y A. Christopoulos. *Fitting Models to Biological Data Using Linear and Nonlinear Regression: A Practical Guide to Curve Fitting*. Oxford University Press, 2004.