

Tesis Doctoral  
Carrera del Doctorado en Física

**Nanoestructuras metálicas para  
espectroscopía SERS de sistemas  
biomiméticos y de sensado**

**MSc. Nicolás G. Tognalli**

Director: **Dr. Alejandro Fainstein**

Jurados:

Dr. José Lolich

Dr. Víctor H. Ponce

Dr. Oscar Grizzi

Dr. César Barbero

Dr. Daniel Murgida

Dr. Pablo Etchegoin

Dr. Alejandro Fainstein

Instituto Balseiro  
Universidad Nacional de Cuyo  
Laboratorio de Propiedades Ópticas – Centro Atómico Bariloche  
Comisión Nacional de Energía Atómica  
Argentina

S.C. de Bariloche, 21 de Agosto de 2008



*dedicado a mis amores,  
Julia y Juana*



# Resumen

En esta tesis doctoral realizamos dos tipos de contribuciones científicas. Por un lado estudiamos la respuesta plasmónica y de scattering Raman amplificado por superficies (SERS) de cuatro grupos de substratos nanoestructurados: láminas de Au rugosadas electroquímicamente, nanopartículas de Au autoensambladas, nanopartículas de Ag infiltradas en matrices de óxidos metálicos con poros ordenados tridimensionalmente, y arreglos de nanocavidades metálicas ordenadas bidimensionalmente. Por otra parte investigamos las propiedades estructurales y funcionales de diferentes sistemas biomiméticos y de reconocimiento molecular: en primer lugar, autoensamblados de Azul de Metileno y Flavinas sobre monocapas de azufre, tioles o membranas fosfolípicas con permeabilidad selectiva; y en segundo lugar, multicapas con complejos de Os autoensambladas que actúan como “cables moleculares” en nanosensores para reconocimiento de glucosa.

A lo largo de esta tesis estudiamos nanoestructuras metálicas que crecen en complejidad, tanto desde el punto de vista de la fabricación como desde aquel relacionado a la respuesta plasmónica y SERS. Comenzamos presentando estudios con substratos de Au rugosos donde logramos amplificaciones cercanas a  $10^3$  y una respuesta plasmónica ancha y poco sensible a cambios en los parámetros de fabricación. Luego investigamos sistemas con nanopartículas de Au autoensambladas. Estos presentan i) una estructura de doble resonancia relacionada con plasmones de nanopartículas aisladas e interactuantes, ii) amplificaciones espacialmente muy inhomogénea, y iii) zonas muy localizadas cuyas amplificaciones llegan a valores cercanos a  $10^5$ , los denominados hot-spots. Continuamos luego con matrices de óxidos metálicos con nanoporos ordenados tridimensionalmente e infiltrados con nanopartículas de Ag. En estos sistemas vemos que la sintonización de los plasmones se puede flexibilizar en cierta medida según parámetros de fabricación, como ser: la elección del óxido metálico de la matriz, el tamaño de los poros y el tiempo de infiltración con Ag. Además observamos que presentan amplificaciones importantes, superiores a las encontradas en Au rugosado, y sobre todo muy homogéneas en cuanto a distribución espacial se refiere. Por último, implementamos la fabricación de arreglos de nanocavidades metálicas esféricas ordenadas bidimensionalmente. Mostramos que es posible controlar el comportamiento plasmónico de estas nanoestructuras durante la etapa de diseño haciendo uso de los parámetro de fabricación: diámetro de las esferas molde, elección del metal (Au o Ag) y grado de truncamiento de las cavidades. Esta respuesta plasmónica resulta ser muy sensible y sintonizable según las condiciones de medición: lon-

gitud de onda de excitación, ángulo de incidencia y polarización de la luz. Obtenemos una respuesta SERS muy homogénea espacialmente con una dispersión inferior al 10%. Logramos además acoplarnos simultáneamente con resonancias electrónicas de las sondas moleculares y resonancias plasmónicas de los sustratos, obteniendo fenómenos SERRS (SERS resonante). Por último, demostramos que las amplificaciones son importantes y que nos permiten observar señales Raman de moléculas individuales.

Respecto al estudio de las propiedades estructurales y funcionales de sistemas orgánicos biomiméticos y de reconocimiento molecular, comenzamos estudiando sistemas con Azul de Metileno (MB) y Flavina Adenina Dinucleótida (FAD) inmovilizados sobre monocapas de azufre (S), tioles metálicos (PT y DT) y carboxílicos (MPA y MUA), y bicapas fosfolípidas (DMPC).<sup>1</sup> Analizamos los cubrimientos de MB en cada caso utilizando datos de intensidad Raman resonante con transiciones electrónicas de la molécula, obteniendo una relación aproximada de MB sobre S/tioles carboxílicos/metálicos cercana a 1/0.4/0.3. Determinamos la posición tridimensional de las moléculas de MB inmovilizadas en los diferentes espaciadores (*i.e.* la distancia al sustrato metálico) valiéndonos de la dependencia funcional que guarda la intensidad SERS de una molécula con la distancia al sustrato metálico. Encontramos que el MB está más cerca del metal cuando el espaciador es S, seguido por PT y DT y más alejado para MPA y MUA. Además, de los espectros Raman obtenemos información acerca de los diferentes mecanismos para la inmovilización del MB en los espaciadores. Estos resultados indican que el MB probablemente se une al S a través de una interacción dimetilamino-sulfuro. Además, observamos algunas diferencias en los espectros Raman medidos para tioles terminados en grupos metálicos y carboxílicos, sugiriendo alguna diferencia en la orientación de la molécula de MB entre estos casos. Vemos que el MB puede difundir a través de las cadenas carbonadas, mostrando propiedades lipofílicas, pero también observamos que existen interacciones electrostáticas entre el MB y las terminaciones carboxílicas de algunos tioles que mantienen a la molécula por fuera del espaciador. Utilizando espectroscopía SERS y electroquímica *in-situ* vemos que el MB está mejor conectado para realizar procesos de intercambios de carga con el sustrato cuanto más cerca esté del mismo. Analizando variaciones en la intensidad SERS medidas cuando las muestras están secas o mojadas en diferentes soluciones, demostramos que los diferentes espaciadores presentan distintos grados de pérdida de MB hacia la solución. Este proceso está causado principalmente por dos mecanismos: i) la difusión molecular inducida por gradientes de concentración y ii) el desplazamiento iónico, actuando sólo en soluciones de NaOH sobre los tioles carboxílicos. Presentamos evidencias a favor de una migración de la molécula de MB dentro de las cadenas carbonadas más largas con terminaciones carboxílicas (MUA) debido a un proceso de bloqueo iónico que se produce cuando utilizamos soluciones de NaOH. Además estudiamos membranas fosfolípidas biomiméticas de DMPC que albergan moléculas de MB y FAD. Encontramos que, gobernadas por

<sup>1</sup>Donde las siglas introducidas se corresponden con los siguientes compuestos orgánicos: propanotiol (PT), dodecanotiol (DT), ácido 3-mercaptopropiónico (MPA), ácido 11-mercaptoundecanoico (MUA) y dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC).

fuerzas lipofílicas-lipofóbicas, las moléculas de MB pueden penetrar la membrana y todas aquellas que se encuentran a distancias menores a los  $\sim 2nm$  del sustrato de Au son electroquímicamente activas. Por otra parte, las moléculas de FAD están incapacitadas de penetrar la membrana en su totalidad debido a la región lipofóbica que poseen. Finalmente, demostramos que estas membranas son capaces de separar moléculas lipofílicas de las lipofóbicas en una solución que contenga a ambas, permitiendo su detección tanto por métodos electroquímicos como ópticos.

Los siguientes sistemas orgánicos que investigamos están relacionados con autoensamblados electrostáticos de PAH-Os. En este polímero redox los complejos de Os están formados por un centro de este metal rodeado por piridinas y bipyridinas. Hemos estudiado multicapas que intercalan films de PAH-Os con otros polímeros, nanopartículas metálicas o enzimas. Comenzamos realizando un estudio de las propiedades ópticas de multicapas autoensambladas (PAH-Os/PVS)<sub>n</sub> donde observamos una absorción óptica alrededor de  $510nm$  relacionada con una transición de transferencia de carga metal-ligando (MLCT). Esta transición electrónica permite determinar el estado de oxidación del polímero PAH-Os al efectuar experimentos Raman en resonancia con dicha absorción óptica, convirtiendo a la PAH-Os en un “cable molecular” interrogable ópticamente. Basado en esta propiedad del complejo de Os y aprovechando la respuesta plasmónica de las nanopartículas de Au diseñamos un opto-nanobiosensor para medir concentraciones de glucosa a través de la respuesta óptica Raman. Para ello se autoensamblan multicapas (PAH-Os/GOx)<sub>n</sub> sobre una nanopartícula de Au de  $20nm$  de diámetro donde la capa de enzimas está “cableada” hasta la nanopartícula metálica SERS activa debido a la presencia de la PAH-Os. La interrogación del sensor es a través de la recuperación de la señal Raman resonante con la transición MLCT del estado reducido (PAH-Os<sup>II</sup>), cuando el sensor, inicialmente en el estado oxidado (PAH-Os<sup>III</sup>), es expuesto a la presencia de glucosa.

Los trabajos desarrollados en su conjunto dentro de esta tesis contribuyen al estudio fundamental de fenómenos moleculares y de la plasmónica. Así mismo, las estrategias SERS que desarrollamos abren la posibilidad de explorar aplicaciones relacionadas con análisis cuantitativos y detección ultrasensible de moléculas.



# Abstract

In this doctoral thesis we accomplish two kind of scientific contributions. Firstly we study the plasmonic response and the surface enhanced Raman scattering (SERS) of four groups of nanostructured substrates: electrochemically roughened Au foils, self-assembled Au nanoparticles, Ag nanoparticles infiltrated inside matrices of metal oxide with three-dimensional pore arrays, and metallic nanovoid arrays with two-dimensional order. In addition, we investigate the structural and functional properties of different biomimetic and molecular recognition systems: first, Methylene Blue and Flavine self-assembled on monolayers of sulfur, thiol or selective permeability phospholipid membranes; and second, self-assembled multilayers of an Os complex acting as a “molecular wire” for glucose recognition nanosensors.

Regarding the first topic, we study metallic nanostructures that evolve in complexity, both in fabrication and plasmonic-SERS aspects. We start presenting studies on roughened Au foils where we achieve Raman amplifications close to  $10^3$  and a plasmonic response which is wide and independent of fabrication parameters. After that we investigate systems with self-assembled Au nanoparticles. These systems present i) a double peak resonance structure related to plasmons belonging to isolated and interacting nanoparticles, ii) spatially inhomogeneous amplifications, and iii) very localized areas with amplification factors up to  $10^5$ , the so called hot-spots. We continue with the matrices of metal oxide with three-dimensional pore arrays infiltrated with Ag nanoparticles. In these samples we observe that plasmon resonances can be partially tuned varying the fabrication parameters, *i.e.* the choice of the metal oxide for the pore array matrix, the size of the pores and the infiltration time for Ag. We also note that these substrates present important amplification factors, greater than those found in roughened Au, and a very homogeneous spatial distribution of amplifications. Finally, we implement the fabrication of highly ordered arrays of spherical metallic nanocavities. We show that it is possible to control the plasmonic behavior of these nanostructures during the design process by changing fabrication parameters such as: the pattern sphere diameters, the electrochemically deposited metal (Au or Ag) and the truncation degree of the cavities. This plasmonic response results very sensible and tunable depending on the measurement conditions: excitation wavelength, incidence angle and polarization of light. We obtain a spatially homogeneous SERS response with an intensity dispersion lower than 10%. We can also simultaneously tune both the molecular probe electronic resonance and the substrate plasmonic resonance, obtaining SERRS pro-

cesses (resonant SERS). Finally, we demonstrate that the achieved amplification factors allow us to get Raman signal from individual molecules.

In a second stage we study of the structural and functional properties of biomimetic and molecular recognition systems. Firstly, we analyze Methylene Blue (MB) and Flavine Adenine Dinucleotide (FAD) immobilized on monolayers of sulfur (S), thiols with methylic (PT and DT) and carboxylic (MPA and MUA) endings, and phospholipid bilayers (DMPC).<sup>2</sup> We analyze the MB coverage in each case using the electronic resonance Raman intensity, obtaining an approximate MB coverage ratio for S/carboxylate/methyl-terminated thiols close to 1/0.4/0.3. We determine the three-dimensional position of MB molecules immobilized in the different spacers (*i.e.* the distance to the metallic substrate) using the functional dependence of SERS intensity with respect to the molecule-substrate distance. We find that the MB to surface distance is smallest for the S spacer, followed by PT and DT, and is largest for MPA and MUA. In addition, the consideration of the changes in the Raman spectra of MB on the different spacers gives information on the different binding and orientation of the molecules. These results indicate that MB on S probably binds through the dimethylamino groups. Additionally, some differences can be observed from Raman spectra recorded for immobilized MB on methyl- and carboxylate-terminated thiols, suggesting that the orientation of the MB molecules may be different in the two cases. We see that significant amount of MB is able to diffuse into the hydrocarbon chain environment, showing some lipophilic properties, but we also observe electrostatic interactions between the MB and the carboxylic end groups of some thiols, keeping the MB molecule outside the spacer. Using SERS spectroscopy with *in-situ* electrochemistry we note that when the MB is closer to the substrate it is better connected to the substrate for electron-transfer processes. Furthermore, from the variation of the SERS-measured intensities under dry and wet conditions with different solutions, and for the diverse molecular spacers, we have demonstrated that the latter exhibit dissimilar degrees of MB loss into the solution. This process is caused by two mechanisms: i) the concentration-gradient-induced molecular diffusion, and ii) the ion displacement, acting only for the carboxylate-terminated thiols in NaOH solution. We present SERS evidence that there is a MB migration into the longer hydrocarbon chains with carboxylic ending groups (MUA) due to an ion blockade mechanism when the sample is in NaOH solution. We also study biomimetic phospholipid membranes of DMPC which adsorb MB and FAD molecules. We find that, due to lipophilic-lipophobic forces, the MB can penetrate the membrane causing that those molecules which are closer than  $\sim 2nm$  to the Au substrate are electrochemically active. In addition, the FAD molecules are unable to fully penetrate the membrane due to their lipophobic group. Taking this into account, we demonstrate that these membranes are capable to separate lipophilic from lipophobic molecules when the are in the same solution, allowing their detection by both electrochemical and optical

<sup>2</sup>The acronyms are related to the following organic compounds: propanethiol (PT), dodecanethiol (DT), 3-mercaptopropionic acid (MPA), 11-mercaptoundecanoic acid (MUA), and dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC).

methods.

The other organic systems we investigate are related to electrostatic self-assembly of PAH-Os. In this redox polymer the Os complexes are conformed by an Os center surrounded by pyridines and bipyridines. We study multilayers that alternate films of PAH-Os with others polymers, metallic nanoparticles or enzymes. We begin performing a study of the optical properties of the self-assembled multilayers (PAH-Os/PVS)<sub>n</sub> where we observe an optical absorption around 510nm related to a metal to ligand charge transfer (MLCT) transition. This electronic transition allows to determine the oxidation state of the PAH-Os polymer by resonant Raman experiments, converting the PAH-Os in an optically interrogable “molecular wire”. Based on this property of the Os complex and taking advantage of the plasmon response of the Au nanoparticles, we design an opto-nanobiosensor to measure glucose concentrations through the optical Raman response. For this purpose, we self-assemble (PAH-Os/GOx)<sub>n</sub> multilayers on a 20nm diameter Au nanoparticle where the enzyme layers are “wired” to the SERS active nanoparticle through the presence of the PAH-Os. The sensor interrogation is accomplished by the restitution of the Raman signal in resonance with the MLCT transition of the reduced state (PAH-Os<sup>II</sup>) when the initially oxidized (PAH-Os<sup>III</sup>) sensor is exposed to the presence of glucose.

The works develop as a whole contribute to the fundamental studies of molecular and plasmonic phenomena. In addition, the SERS strategies we develop open the possibility to explore applications related to the quantitative analysis and the ultrasensitive molecular detection.



# Índice general

<b>Resumen</b>	<b>I</b>
<b>Abstract</b>	<b>V</b>
<b>Índice general</b>	<b>XII</b>
<b>Motivación</b>	<b>1</b>
<b>1 Plasmones superficiales</b>	<b>5</b>
1.1 Propiedades ópticas de metales nobles . . . . .	5
1.1.1 Modelo de Drude para la respuesta óptica . . . . .	6
1.1.2 Resonancias de plasmones superficiales y plasmónica . . . . .	7
1.1.3 ¿Qué metales son buenos para plasmónica? . . . . .	8
1.2 ¿Qué son los plasmones? . . . . .	9
1.2.1 Modos longitudinales y transversales . . . . .	10
1.2.2 Modos electromagnéticos en medios tridimensionalmente infinitos . . . . .	10
1.2.3 Modos electromagnéticos en medios finitos . . . . .	11
1.3 Polaritones plasmónicos de superficies en interfaces planas metal/dieléctrico . . . . .	12
1.4 Polaritones plasmónicos superficiales propagantes (PSPP) . . . . .	14
1.4.1 Acoplando PSPP con luz . . . . .	14
1.5 Polaritones plasmónicos superficiales localizados (LSPP) . . . . .	17
1.5.1 LSPP en superficies planas . . . . .	17
1.5.2 LSPP en nanopartículas . . . . .	17
1.5.3 LSPP en nanocavidades . . . . .	19
<b>2 Autoensamblados orgánicos y física de moléculas</b>	<b>21</b>
2.1 Introducción a los autoensamblados . . . . .	21
2.1.1 Autoensamblados moleculares . . . . .	21
2.1.2 Inmovilización de moléculas en autoensamblados moleculares . . . . .	23
2.1.3 Autoensamblados capa por capa . . . . .	23
2.2 Presentación de los sistemas moleculares . . . . .	25
2.2.1 Flavina Adenina Dinucleótida, Flavina y Azul de Metileno . . . . .	25
2.2.2 Poli(alilamina) con complejos de Os, PAH-Os . . . . .	26

2.2.3	Glucosa oxidasa, GOx . . . . .	26
2.3	Física de moléculas . . . . .	27
2.3.1	Estructura vibrónica . . . . .	27
2.3.2	Transiciones electrónicas . . . . .	29
2.3.3	Transiciones vibrónicas . . . . .	30
2.3.4	Transiciones de transferencia de carga . . . . .	30
<b>3</b>	<b>Interacción de la luz con moléculas y espectroscopías ópticas</b>	<b>33</b>
3.1	Elipsometría . . . . .	34
3.1.1	Fundamentos de la elipsometría . . . . .	35
3.1.2	Esquema experimental para elipsometría . . . . .	37
3.2	Procesos de interacción radiación-moléculas . . . . .	37
3.3	Absorciones ópticas en moléculas . . . . .	39
3.3.1	Esquema experimental para espectroscopía de absorción UV-vis . . . . .	40
3.4	Dispersión de luz en moléculas . . . . .	41
3.4.1	Espectroscopía Raman . . . . .	42
3.4.2	Efecto Raman no resonante . . . . .	42
3.4.3	Efecto Raman resonante . . . . .	43
3.4.4	Espectroscopía SERS: introducción a la teoría y fenomenología . . . . .	44
3.4.5	Amplificación “química” . . . . .	46
3.4.6	Amplificación de “campo electromagnético” . . . . .	48
3.4.7	Esquema experimental para espectroscopía Raman . . . . .	51
<b>4</b>	<b>Técnicas electroquímicas</b>	<b>53</b>
4.1	Introducción a la electroquímica . . . . .	53
4.1.1	Reacciones y celdas electroquímicas . . . . .	53
4.1.2	Métodos voltamperométricos . . . . .	56
4.1.3	Voltamperometría y nanoestructuración de sustratos . . . . .	57
4.2	Dispositivos experimentales . . . . .	58
<b>5</b>	<b>SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno</b>	<b>61</b>
5.1	Alternativas para obtener sustratos de Au rugosos . . . . .	61
5.1.1	Muestras . . . . .	61
5.1.2	Resultados y discusión . . . . .	62
5.2	Explorando la estructura tridimensional de autoensamblados de MB sobre monocapas de azufre y tioles . . . . .	65
5.2.1	Muestras . . . . .	66
5.2.2	Resultados y discusión . . . . .	67
5.3	Influencia de la estructura 3D en la respuesta electroquímica de autoensamblados de MB sobre monocapas de azufre y tioles . . . . .	78
5.3.1	Resultados y discusión . . . . .	78

5.4	Estudiando sistemas biomiméticos: Moléculas en membranas fosfolípidas ensambladas . . . . .	87
5.4.1	Muestras . . . . .	88
5.4.2	Resultados y discusión . . . . .	89
5.5	Conclusiones . . . . .	99
<b>6</b>	<b>SERS con nanopartículas de Au: autoensamblados moleculares y nanosensores de glucosa con PAH-Os</b>	<b>101</b>
6.1	Cables moleculares y SERS: Multicapas con PAH-Os y nanopartículas de Au	102
6.1.1	Multicapas (PAH-Os/PVS) <sub>n</sub> . . . . .	102
6.1.2	Multicapas (PAH-Os/nanopartículas de Au) <sub>n</sub> . . . . .	110
6.2	Nanosensores de glucosa: Nanopartículas de Au con multicapas de (PAH-Os/GOx) <sub>n</sub> . . . . .	124
6.2.1	Muestras . . . . .	124
6.2.2	Resultados y discusión . . . . .	125
6.3	Conclusiones . . . . .	130
<b>7</b>	<b>SERS con nanopartículas de Ag ordenadas: buscando señales homogéneas</b>	<b>133</b>
7.1	Caracterización estructural de las matrices porosas de óxido metálico con nanopartículas de Ag . . . . .	134
7.2	Plasmones y comportamiento SERS . . . . .	136
7.3	Conclusiones . . . . .	139
<b>8</b>	<b>SERS en nanocavidades metálicas: controlando a los plasmones</b>	<b>141</b>
8.1	Fabricación y caracterización estructural de las nanocavidades . . . . .	142
8.1.1	Depósito controlado de monocapas ordenadas de nanoesferas de látex .	142
8.1.2	Electrodeposición metálica . . . . .	145
8.1.3	Limpieza de las cavidades metálicas . . . . .	150
8.2	Introducción a la física de plasmones en nanocavidades . . . . .	150
8.3	Estudio de la respuesta óptica de plasmones de nanocavidades y su relación con SERS . . . . .	155
8.3.1	Reflectividad 1: Plasmones vs. diámetro de la nanocavidad . . . . .	155
8.3.2	Reflectividad 2: Plasmones vs. ángulo de incidencia . . . . .	159
8.3.3	Forma de los plasmones: microscopía SNOM . . . . .	161
8.3.4	SERS 1: plasmones vs. diámetro de la nanocavidad . . . . .	165
8.3.5	SERS 2: Plasmones vs. ángulo de incidencia . . . . .	167
8.4	Aplicaciones de las nanocavidades para el estudio de sistemas biomiméticos y de sensado . . . . .	171
8.4.1	Homogeneidad en la señal: 4-mercaptopiridina autoensamblada . . .	172
8.4.2	Amplificación SERS: Flavinas autoensambladas . . . . .	173
8.4.3	Electroquímica y SERS 1: Flavinas autoensambladas . . . . .	174

---

8.4.4	Electroquímica y SERRS 2: Complejos de Os autoensamblados . . .	176
8.4.5	Aumento en la sensibilidad 1: Nanosensores de glucosa . . . . .	178
8.4.6	Aumento en la sensibilidad 2: ¿Moléculas individuales? . . . . .	179
8.5	Conclusiones . . . . .	180
<b>9</b>	<b>Conclusiones Generales</b>	<b>183</b>
<b>A</b>	<b>Modelo de Lorentz para la polarización atómica o molecular</b>	<b>189</b>
A.1	El oscilador de Lorentz . . . . .	189
A.1.1	Fundamentos . . . . .	189
A.1.2	Transiciones múltiples . . . . .	190
A.2	Relación con propiedades macroscópicas . . . . .	190
A.2.1	Función dieléctrica en un medio diluido . . . . .	190
A.2.2	Función dieléctrica en sólidos . . . . .	191
A.2.3	Función dieléctrica en metales . . . . .	191
A.2.4	Funciones dieléctricas de plata y oro . . . . .	192
<b>B</b>	<b>Principio y Factores de Franck-Condon</b>	<b>195</b>
	<b>Publicaciones asociadas a esta Tesis</b>	<b>197</b>
	<b>Bibliografía</b>	<b>209</b>
	<b>Agradecimientos</b>	<b>211</b>

# Motivación

Este trabajo de tesis doctoral está principalmente motivado por nuestro interés en comprender, controlar y manipular la respuesta plasmónica de nanoestructuras metálicas artificiales para implementarlas como substratos en espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS) y en utilizar esta amplificación electromagnética para el estudio de nuevos sistemas orgánicos biomiméticos y nanosensores.

La espectroscopía Raman es una técnica óptica que permite reconocer a una molécula a través de su espectro vibracional.[1] Lamentablemente las señales que usualmente se obtienen en estos procesos son débiles, llegando a ser incluso no detectables en algunos casos, por lo que necesitan ser amplificadas para que la técnica sea de utilidad en el ámbito de las nanoestructuras o del estudio de moléculas en dosis ultra bajas. Uno de los mecanismos utilizados para lograr este cometido es el que se conoce como *dispersión Raman amplificada por plasmones superficiales*, *SERS* (del inglés **S**urfaced **E**nhanced **R**aman **S**cattering), descubierto accidentalmente por Martin Fleischmann en 1974 en la Universidad de Southampton.[2] Desde entonces este mecanismo ha sido estudiado con diferentes niveles de empeño. Durante la década de 1970 hubo una gran expectativa depositada en este nuevo fenómeno pero la irreproducibilidad de los resultados y la comprensión parcial de los mecanismos responsables de su funcionamiento hicieron que el interés científico en este tópico fuera decayendo lentamente.[3] En 1997, luego de dos publicaciones independientes de K. Kneipp *et al.*[4] y S. Nie *et al.*[5] donde reportaron las primeras evidencias de dispersión Raman a partir de moléculas individuales, el interés por SERS sufrió un renovado despertar. Desde entonces, y gracias a las nuevas microscopías de barrido por sondas con resoluciones nanométricas, varios grupos de investigación han tratado de entender los mecanismos involucrados en la amplificación Raman nanoestructurando artificialmente superficies metálicas para SERS. Entre los sistemas más destacados podemos mencionar la utilización de coloides de nanopartículas de Ag,[6] autoensamblados de nanopartículas metálicas,[7] arreglos ordenados bidimensionales de nanopartículas de Au por autoensamblado químico[8] o litografía electrónica,[9] nanopartículas tipo *core-shell*,[10] nanopartículas con formas arbitrarias,[11] films metálicos sobre nanoesferas[12] y nanocavidades metálicas ordenadas,[13] entre otros.

Todas las estrategias para la fabricación de substratos mencionadas anteriormente persiguen el mismo fin: lograr una gran amplificación SERS. Este objetivo es conseguido con diferentes grados de éxito y muchas veces está acompañado de respuestas plasmónicas

muy inhomogéneas y poco controlables. Por estas razones decidimos estudiar diversos substratos SERS obtenidos a partir de diferentes técnicas de nanofabricación con la meta puesta en encontrar nuevos sistemas que nos permitan controlar el comportamiento de los plasmones y obtener señales SERS espacialmente homogéneas. Algunas fueron desarrolladas a lo largo de esta tesis dentro del Laboratorio de Propiedades Ópticas mientras que otras fueron llevadas a cabo en colaboración con grupos de investigación en química que desarrollan su labor dentro del país. Por otra parte, para analizar las características que un substrato determinado posee para amplificar la señal Raman, necesitamos de un sistema sonda, una molécula. Por ello, hemos utilizado las distintas nanoestructuras artificiales para soportar diferentes sistemas moleculares de interés en química orgánica y bioquímica. Tanto la fabricación de las nanoestructuras como la modificación de las mismas con sistemas moleculares necesitan del *expertise* propio adquirido durante la formación en ciencias químicas, lo cual ha dado a este trabajo de investigación un fuerte carácter interdisciplinario.

Los sistemas moleculares con los que generalmente trabajamos son biomiméticos (representan simplificadaamente a uno biológico) o persiguen una aplicación en sensado. Usualmente están constituidos por dos componentes diferenciables. Uno de ellos presenta como característica principal la capacidad de poder intercambiar carga eléctrica (redox), mientras que el segundo provee de un entorno con propiedades químicas sintonizables para albergar al primero, o por el contrario, es una molécula, polímero o enzima encargada de realizar un determinado reconocimiento molecular. Para crecer este tipo de estructuras utilizamos técnicas de autoensamblado molecular que consisten en sumergir sucesivamente a nuestros substratos metálicos en soluciones que poseen a las moléculas que estamos interesados en incorporar a nuestros sistemas dejando que las diferentes fuerzas intermoleculares actúen para generar la estructura final.[14–17] Esta técnica nos permite crecer de manera controlada estructuras orgánicas con espesores nanométricos y obtener sistemas con diversas moléculas interconectadas electrónicamente entre sí o con el soporte metálico sobre el cual están ensambladas, brindándonos los elementos necesarios para desarrollar nuevos sensores para reconocimiento molecular.

Habiendo mencionado los dos ingredientes principales para nuestro trabajo de investigación, nanoestructuras metálicas y sistemas moleculares, pasamos a describir la organización de esta tesis doctoral.

Comenzamos con el Capítulo I donde introducimos el concepto de plasmón superficial y una descripción de su interacción con la luz.

A lo largo del Capítulo II abordamos la físico-química de los autoensamblados orgánicos, las estrategias para su fabricación y la física de los estados moleculares.

Dedicamos el Capítulo III a enumerar los diferentes mecanismos de interacción de la luz y moléculas, y hablamos sobre las distintas técnicas espectroscópicas que utilizamos: elipsometría, absorción UV-Vis, absorción IR, dispersión Raman y SERS.

En el Capítulo IV tratamos sobre electroquímica: los procesos involucrados, su imple-

mentación y sus aplicaciones. Discutimos su utilización tanto para modificar la estructura electrónica de moléculas mediante voltamperometría cíclica y potenciales fijos, como para nanoestructurar metales por procesos de óxido-reducción y electrodeposición.

En el Capítulo V abordamos el estudio del primer sustrato SERS que presentamos, las láminas de Au rugosadas electroquímicamente. El sistema químico con el que tratamos en esta sección es una molécula redox, el azul de metileno (MB), ensamblada sobre diversas capas moleculares que lo inmovilizan y definen su interacción con el sustrato metálico. Relacionamos la ubicación del MB dentro del film con las interacciones moleculares MB-entorno y la capacidad del MB para realizar intercambios de carga con el sustrato.

En el Capítulo VI presentamos los estudios realizados en autoensamblados electrostáticos conformados por nanopartículas de oro y un polímero redox, la PAH-Os. Comenzamos comparando la estructura y la respuesta óptica de autoensamblados con y sin nanopartículas de oro. Luego presentamos los resultados que obtuvimos luego de implementar un programa de cálculo basado en la *Aproximación de Dipolos Discretos (DDA)* que nos permite reproducir cualitativamente resultados experimentales y comprender los fenómenos plasmónicos. Finalmente, exponemos micromapas Raman que evidencian problemas de inhomogeneidad en la respuesta SERS de estas muestras, pero que al mismo tiempo introducen a los denominados *hot-spots*.

El Capítulo VII trata sobre la implementación de nanopartículas de plata ordenadas tridimensionalmente dentro de matrices porosas de óxidos metálicos como sustratos SERS. Aquí exponemos y relacionamos los resultados de caracterizaciones estructurales y ópticas en función de parámetros de fabricación como el tipo de óxido de la matriz y el tiempo de infiltración con plata. Finalmente, mostramos la amplificación y la homogeneidad en la señal Raman conseguidas en este tipo de muestras cuando modificamos la superficie de las nanopartículas de plata con una molécula sonda, la 4-mercaptopiridina.

A lo largo del Capítulo VIII estudiamos los arreglos ordenados de nanocavidades metálicas. Comenzamos describiendo el proceso de fabricación de estos sustratos, exponemos los resultados de un estudio sistemático donde logramos obtener las condiciones que optimizan el proceso y mostramos las nanoestructuras resultantes por microscopía electrónica de barrido (SEM). Luego realizamos un estudio de la compleja respuesta plasmónica que tienen estos sustratos a través de mediciones de reflectividad óptica espectroscópica de ángulo variable, microscopía óptica de campo cercano, y respuesta Raman en función de longitud de onda de excitación y ángulo de incidencia. Posteriormente incursionamos en varias aplicaciones de estos sustratos, exaltando la gran homogeneidad espacial de sus señales, la potencialidad para realizar espectroscopía SERS resonante y electroquímica *in-situ*, y la enorme capacidad de amplificación de la señal Raman.

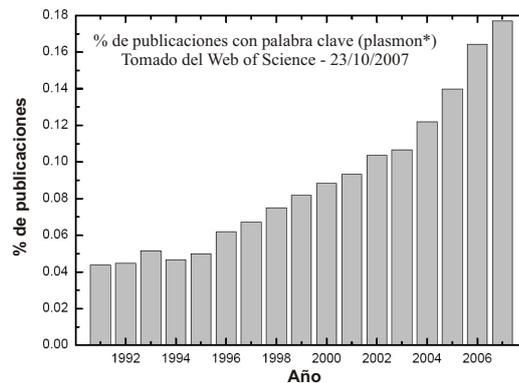
Para finalizar el trabajo presentamos en el Capítulo IX las conclusiones más importantes alcanzadas durante esta tesis doctoral.



# Capítulo 1

## Plasmones superficiales

La idea de este primer capítulo es introducir los conceptos básicos relacionados con la física de plasmones superficiales en nanoestructuras.<sup>1</sup> Este área, denominada plasmónica, no es más que el estudio de las propiedades ópticas de metales nobles, Au y Ag típicamente, pero en la nanoescala. El gran incremento sufrido en los últimos años en este área (ver Fig. 1.1) puede entenderse a partir de los avances en nanotecnología y nanociencia, especialmente nuevos métodos de fabricación y caracterización en la escala nanométrica.



**Figura 1.1:** Evolución del porcentaje de publicaciones relacionadas con plasmónica, de la Web of Science al 23 de Noviembre de 2007, de la Ref. [18].

### 1.1 Propiedades ópticas de metales nobles

Metales tales como oro (Au), plata (Ag) y cobre (Cu) son bien conocidos por poseer propiedades ópticas diferentes que la de los dieléctricos típicos. Por ejemplo, reflejan luz muy eficientemente en la región espectral del visible. Esta y otras propiedades como las conductividades térmicas y eléctricas tienen el mismo origen: *la presencia de electrones*

<sup>1</sup>Para ello nos basaremos en la presentación realizada por *E. C. Le Ru & P. G. Etchegoin* en **Principles of SERS**[18]

*libres de conducción.* Los electrones libres de un metal se mueven en un entorno de iones positivos fijos que aseguran la neutralidad global del material. Estos forman, por definición, un *plasma*, o plasma de electrones libre. La respuesta óptica de éste gobierna todas las propiedades ópticas del metal, al menos en la región espectral del visible que es donde residen las energías de resonancia.

Para modelar la respuesta de un plasma de electrones libres, necesitamos determinar las ecuaciones constitutivas que relacionan corrientes y cargas en el plasma con los campos electromagnéticos. Esta es una tarea difícil debido a muchas complicaciones posibles, incluyendo: interacciones entre electrones y núcleos, electrones con electrones, electrones con impurezas, fonones, posible presencia de superficies, etc. En nuestro caso presentamos una reseña del modelo más simple: *el modelo de Drude*.

### 1.1.1 Modelo de Drude para la respuesta óptica

El modelo de Drude está descrito en detalle en varios libros de texto,[\[19\]](#) por lo que nosotros introduciremos los ingredientes principales.

Una manera económica de introducir al modelo de Drude es hacerlo a través del modelo de Lorentz para la polarización de un átomo o molécula, presentado en el Apéndice A. Este modelo describe la respuesta óptica de un electrón de un átomo o molécula unido a través de una fuerza restitutiva de frecuencia propia  $\omega_0$ . Los electrones de conducción en un metal no están “unidos” a los carozos iónicos por lo que, en primera aproximación, pueden ser descritos por el modelo de Lorentz pero *sin* fuerza restitutiva ( $\omega_0 = 0$ ). Además, como los electrones están distribuidos aleatoria y uniformemente en el metal, sus contribuciones a la susceptibilidad óptica pueden ser simplemente sumadas, sin ninguna corrección por campo local. Por todo esto la función dieléctrica de un metal puede obtenerse a través del uso del modelo de Drude (ver Apéndice A para más detalles) como:

$$\epsilon(\omega) = \epsilon_\infty \left( 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma_0\omega} \right), \quad (1.1)$$

donde  $\omega_p = \sqrt{\frac{ne^2}{m\epsilon_0\epsilon_\infty}}$  se define como la frecuencia de plasma,  $n$  es el número de electrones libres por unidad de volumen,  $m$  es su masa,  $\epsilon_0$  es la constante dieléctrica del vacío,  $\epsilon_\infty$  es la contribución a la constante dieléctrica debido a la respuesta de los iones positivos del cristal,  $e$  es la carga del electrón y  $\gamma_0$  es un término de relajación debido a las colisiones de los electrones con las impurezas del cristal.

Tomando las partes real e imaginaria de la expresión [1.1](#), obtenemos:

$$Re[\epsilon(\omega)] = \epsilon_\infty \left( 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + \gamma_0^2} \right) \quad (1.2)$$

e

$$Im[\epsilon(\omega)] = \frac{\epsilon_\infty \omega_p^2 \gamma_0}{\omega(\omega^2 + \gamma_0^2)}. \quad (1.3)$$

Teniendo en mente que  $\gamma_0$  es pequeño comparado con  $\omega$ , vemos que para un plasma descrito por el modelo de Drude, podemos obtener el valor de la frecuencia de plasma del metal masivo,  $\omega_p$ , a través de la condición  $Re[\epsilon(\omega)] = 0$ . Además, vemos que en la región donde  $\omega < \omega_p$  tenemos  $Re[\epsilon(\omega)] < 0$  y si  $\omega$  no es tan chica, también logramos que  $Im[\epsilon(\omega)]$  sea pequeña. Como veremos a continuación, estas dos condiciones son las responsables de las resonancias de plasmones superficiales.<sup>2</sup>

### 1.1.2 Resonancias de plasmones superficiales y plasmónica

Hay dos clases importantes de plasmones superficiales, que discutiremos en detalle en el resto de este capítulo: *polaritones plasmónicos superficiales localizados* (LSPP) y *polaritones plasmónicos superficiales propagantes* (PSPP). Aquí tenemos que anticipar algunos de los resultados para introducir la discusión general de las propiedades ópticas de los metales. Como veremos, la parte real de  $\epsilon(\omega)$  cuando es negativa está relacionada con la existencia de plasmones y resonancias plasmónicas.

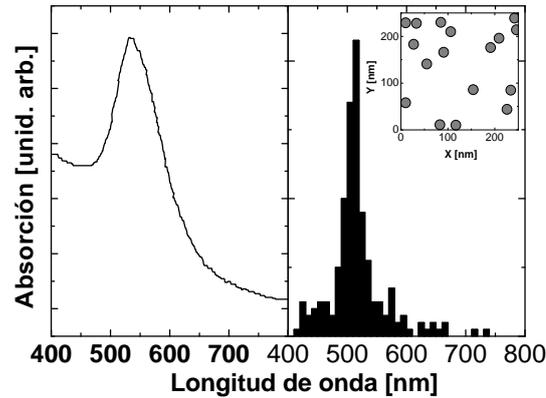
Para entender esto en términos sencillos, consideremos el problema de una esfera metálica pequeña interactuando con un campo electromagnético (en el camino óptico de un láser). El tratamiento más simple para este problema es considerar a la esfera mucho más pequeña que la longitud de onda de la luz incidente, inmersa en un medio de constante dieléctrica relativa  $\epsilon_M$  y resolver el problema dentro de la aproximación electrostática (a ser tratado en la Sec. 6.1.2). El campo eléctrico (complejo) dentro de la esfera ( $E_{In}$ ) toma entonces un valor constante y proporcional al campo incidente ( $E_0$ ):[19]

$$E_{In} = \frac{3\epsilon_M}{\epsilon(\omega) + 2\epsilon_M} E_0. \quad (1.4)$$

La parte importante en esta expresión es el denominador, cuyo valor puede ser igual a cero (si  $\epsilon(\omega) \approx -2\epsilon_M$ ) y por lo tanto el valor del campo dentro de la esfera puede idealmente diverger. En el caso de los metales esta condición puede alcanzarse aproximadamente si la absorción es pequeña ( $Im[\epsilon(\omega)] \approx 0$ ) a una longitud de onda donde  $Re[\epsilon(\omega)] \approx -2\epsilon_M$ . Esto se traduce en una respuesta óptica (absorción y scattering) muy grande a esta frecuencia (o longitud de onda), siendo esto una señal de la resonancia. Esto puede verse en la Fig. 1.2 donde mostramos a la izquierda el espectro de absorción de un coloide de nanopartículas de Au de  $20nm$  y a la derecha los resultados del cálculo dentro de esta aproximación utilizando el método de Dipolos Discretos (a ser tratado en la Sec. 6.1.2). Existe una clara resonancia alrededor de los  $530nm$ , que corresponde a la condición  $Re[\epsilon(\omega)] = -2$  ( $\epsilon_M \approx 1$ ). Es interesante notar que mientras la parte real de  $\epsilon(\omega)$  determina la posición de la resonancia, la parte imaginaria limita cuán grande y ancha será la misma.

Esto es un ejemplo sencillo de una resonancia de plasmón de superficie localizado (LSP). Efectos similares existen en otras configuraciones y geometrías, pero con diferentes denominadores y por consiguiente diferentes condiciones de resonancia. Este es un concepto interesante que queremos destacar: *Las condiciones de resonancia óptica en objetos*

<sup>2</sup>Notar que estas condiciones nunca son alcanzadas por dieléctricos estándares cuyas  $Re[\epsilon(\omega)]$  típicamente rondan entre 1 y 10.



**Figura 1.2:** Izquierda: Espectro de absorción de un coloide de nanopartículas de Au de  $20nm$  medido en el Laboratorio de Propiedades Ópticas del CAB. Derecha: Cálculo de la absorción óptica realizado para el arreglo de nanopartículas de Au de  $20nm$  esquematizado en el inset.

*metálicos nanométricos no son puramente intrínsecos a las características del material sino que están fuertemente ligados a la geometría. Un mismo metal nanoestructurado de diferentes manera poseerá respuestas ópticas diferentes.*

### 1.1.3 ¿Qué metales son buenos para plasmónica?

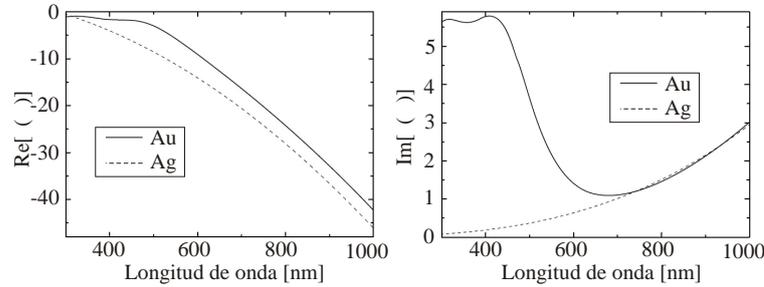
De lo expuesto anteriormente podemos decir que un buen metal para plasmónica debe cumplir con dos requisitos:

- $Re[\epsilon] < 0$  en la región espectral de interés.
- $Im[\epsilon]$  pequeña en la misma región.

Los metales más utilizados en este campo son Ag y Au por cumplir ampliamente con los puntos anteriores como podemos ver en la Fig. 1.3. Allí podemos ver que el valor para  $Re[\epsilon]$  es siempre menor para Ag que para Au a una misma longitud de onda, haciendo que la frecuencia del plasmón superficial de Ag siempre sea mayor que la de Au para una misma nanoestructura,  $\omega_p^{Ag} > \omega_p^{Au}$  ( $\lambda_p^{Ag} < \lambda_p^{Au}$ ). Por otra parte y a diferencia de lo que ocurre con la Ag, la constante dieléctrica del Au tiene contribuciones debido a transiciones electrónicas interbandas que generan el máximo para  $Im[\epsilon]$  por debajo de  $600nm$ , apartándola del comportamiento ideal del modelo de Drude.<sup>3</sup> Esta contribución extra que tiene el Au para  $Im[\epsilon]$  hace que la Ag presente una resonancia más intensa que la del Au para plasmones de nanoestructuras que se encuentren en la región de  $\lambda < 600nm$ , mientras que para  $\lambda > 650nm$  las intensidades no difieren en gran medida. Esto se debe justamente a los valores de las componentes imaginarias de las constantes dieléctricas de ambos metales. Sin

<sup>3</sup>Ver el Apéndice A para más detalles.

embargo, en muchas aplicaciones químicas y biológicas de estas nanoestructuras estamos interesados en la estabilidad de la superficie metálica, requerimiento que cumple más efectivamente el Au que la Ag debido a los problemas de oxidación de este último metal.



**Figura 1.3:** Comparación de las funciones dieléctricas, parte real (izquierda) e imaginaria (derecha), de Ag y Au en el rango visible extendido (tomada de la Ref. [18]).

## 1.2 ¿Qué son los plasmones?

Un plasmón es una cuasi-partícula<sup>4</sup> cuántica que representa una excitación o modo elemental de las oscilaciones colectivas de la densidad de carga en un plasma.[18] Es decir, un plasmón es simplemente a la densidad de carga de un plasma lo que un fotón es al campo electromagnético. Por esto, toda información relacionada con los plasmones y resonancias plasmónicas de una nanoestructura metálica estará contenida dentro de la función dieléctrica y de la geometría específica del material.

La dinámica de un plasma de electrones libres está dominada por las interacciones dentro del gas de electrones pero también por el ambiente. Cargas, estáticas o en movimiento, son fuentes de campo electromagnético, y una onda de densidad de carga no puede existir sin una onda electromagnética (o al menos eléctrica) asociada. Recíprocamente, la respuesta óptica de los electrones libres está determinada por sus propiedades dinámicas. *La dinámica del plasma está, entonces, íntimamente concatenada con sus propiedades ópticas y ambas pueden ser enteramente descritas usando la función dieléctrica del metal. De esta manera lo único que necesitaremos para realizar estudios de plasmónica y SERS con un dado metal es conocer su respuesta óptica contenida en su función dieléctrica  $\epsilon(\omega)$  (y posiblemente  $\epsilon(\vec{k}, \omega)$  si consideramos efectos no locales).*

Otra excitación, relacionada con los plasmones, es aquella producida por una onda electromagnética propagándose en un medio. Entendemos por medio, a un medio con respuesta óptica ( $\epsilon \neq 1$  o  $\mu \neq 1$ ). Del electromagnetismo clásico sabemos que tal situación descrita por las ecuaciones de Maxwell en medios introduce la noción de polarización,  $\vec{P}$ , o magnetización,  $\vec{M}$ . Esto hace notar que la onda electromagnética está excitando grados de libertad internos del medio (típicamente electrones) por lo que la energía de dicha onda

<sup>4</sup>Se denomina cuasi-partícula porque no puede existir por siempre por sí misma, por ejemplo, como sí lo hace un fotón.

estará compartida entre las oscilaciones del campo ( $\vec{E}$  y  $\vec{B}$ ) y las excitaciones del medio ( $\vec{P}$  y  $\vec{M}$ ). Esto hace que la partícula cuántica deje de ser un fotón para pasar a ser un fotón acoplado con los grados de libertad del medio, un *polaritón*. Como veremos más adelante, en plasmónica y SERS, el interés está más centrado en *polaritones plasmónicos* (mezcla de plasmones y fotones), que en modos puramente plasmónicos. Finalmente introducimos los *polaritones plasmónicos superficiales* que son ondas de densidad de carga longitudinales que se propagan en interfaces metal/dieléctrico y que están acopladas con ondas electromagnéticas transversales (fotones).

### 1.2.1 Modos longitudinales y transversales

Un concepto importante en plasmónica es el de modos longitudinales y transversales. Un modo está primeramente descrito por su frecuencia  $\omega$  y su vector de onda  $\vec{k}$ , unidos por la relación de dispersión  $\omega(\vec{k})$ . Si la magnitud oscilante es un vector, como el campo eléctrico  $\vec{E}$ , podemos distinguir entre dos situaciones:

- $\vec{E} \parallel \vec{k}$  se denomina *modo longitudinal*.
- $\vec{E} \perp \vec{k}$  se denomina *modo transversal*.

### 1.2.2 Modos electromagnéticos en medios tridimensionalmente infinitos

#### Fotones

Para el campo electromagnético en el vacío ( $\nabla \cdot \vec{E} = 0$  y  $\nabla \cdot \vec{B} = 0$ ) los modos son *fotones, ondas planas transversales propagantes*, caracterizados por un vector de onda  $\vec{k}$  y frecuencia  $\omega$ , relacionados por la relación de dispersión  $\omega = c|\vec{k}|$ , donde  $c$  es la velocidad de la luz.

#### Polaritones

En un medio dieléctrico ( $\epsilon(\omega)$ ) también infinito ocurre una situación similar donde viven ondas electromagnéticas transversales cuya relación de dispersión está dada por  $\epsilon(\omega)\omega^2 = c^2\vec{k} \cdot \vec{k}$ . [18] Tal onda electromagnética crea en el medio una onda de polarización interna:  $\vec{P} = \epsilon_0(\epsilon(\omega) - 1)\vec{E}$ . Estos modos se denominan *polaritones* por acoplar fotones con la polarización interna  $\vec{P}$ . En metales, en la región óptica del plasma de electrones libres, son usualmente llamados *polaritones plasmónicos de volumen*.

#### Plasmones

Finalmente, en un medio infinito, existe otra familia de modos electromagnéticos que no existen en el vacío. La condición  $\nabla \cdot \vec{D} = 0$  puede ser cumplida si  $\epsilon(\omega) = 0$ , sobre todo en metales, entonces  $\vec{P} = -\epsilon_0\vec{E}$ . Además se puede ver que  $\vec{H} = 0$ , [18] por lo que la solución corresponde a una *onda eléctrica longitudinal* asociada a una onda de densidad de carga

real. Debido a su naturaleza longitudinal *no puede acoplarse con los fotones* (transversales). Para metales, estos modos son los modos “puramente” plasmónicos, usualmente llamados *plasmones de volumen*.

### 1.2.3 Modos electromagnéticos en medios finitos

Hasta aquí hemos discutido los conceptos de las excitaciones elementales focalizándonos sólo en sistemas infinitos con invariancia translacional. Para entender los varios tipos de plasmones y plasmones polaritónicos, es ahora útil considerar en más detalle el problema general de los modos electromagnéticos en sistemas finitos, *i.e.* en presencia de interfaces. Por ello, estas consideraciones las podremos aplicar a nanoestructuras metálicas.

#### Modos radiativos y no radiativos

Un polaritón plasmónico de superficie puede asociarse a una onda electromagnética dispersada. Si ésta es propagante, corresponderá a un modo 3D estándar cuando esté lejos de la interface, un fotón, y por ello se llamará *radiativo*. Si una onda incidente excita resonantemente un modo polaritónico de este tipo, la respuesta óptica se traducirá en una gran radiación en el campo lejano. Notar que el decaimiento del modo no sólo se debe a radiación, sino que también está acompañado por una absorción del material. Por ello, los modos radiativos pueden ser llamados más o menos absorbente dependiendo de la proporción entre potencias radiadas y absorbidas. El caso límite de un modo muy absorbente es, en realidad, un modo *no radiativo*.

#### Modos propagantes y localizados

Dado el vector de onda  $\vec{k}$  asociado a un modo polaritón plasmónico decimos que éste es propagante si  $\vec{k}$  es real en alguna de las direcciones de invariancia translacional, mientras que será localizado si en todas estas direcciones es imaginario (onda evanescente). Este es el caso de las partículas metálicas con tamaños inferiores o comparables al de la longitud de onda de la luz, donde todos los modos superficiales son necesariamente localizados.

#### Excitación de modos electromagnéticos

La descripción de un sistema en términos de modos electromagnéticos puede parecer, a primera vista, puramente de naturaleza académica, pero en realidad nos brinda un marco propicio para entender la respuesta de un sistema complejo a través de las interacciones entre diferentes subsistemas. Así, cuando las interacciones son débiles, los modos de los subsistemas esencialmente no cambian, mientras que interacciones fuertes pueden dar origen a una nueva familia de modos, por ejemplo los polaritones plasmónicos son una nueva excitación que resulta de la interacción entre fotones y plasmones. Por otra parte, para que dos modos se acoplen necesitan tener la misma frecuencia  $\omega$  (conservación de energía) y, en el caso de invariancia traslacional, el mismo vector de onda  $\vec{k}$  (conservación del impulso). Además, existen configuraciones específicas donde un modo

electromagnético puede ser excitado, por ejemplo a un cierto ángulo, polarización o longitud de onda incidente. Cuando estos modos son polaritones-plasmónicos se denomina *resonancia plasmónica*. Este término puede tener diferentes significados dependiendo del contexto. Por ejemplo, puede corresponder a una disminución en la reflectividad para algún ángulo de incidencia particular sobre una superficie, o a un incremento en la intensidad del campo en una superficie (brindando señales SERS) a una longitud de onda o ángulo de incidencia específicas.

## Resumen y discusión

Los conceptos introducidos a lo largo de este capítulo tienen como finalidad ayudar a entender las discusiones sobre los sistemas estudiados en los próximos capítulos.

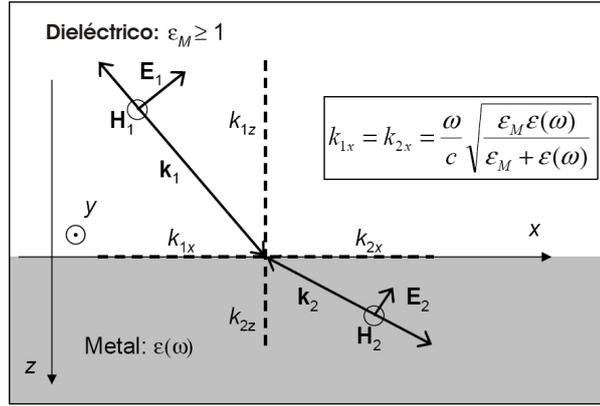
De las varias excitaciones plasmónicas introducidas debe quedar claro que los *plasmones “puros”* no son directamente relevantes a la plasmónica y al SERS debido a que no interactúan con la luz por ser excitaciones longitudinales. Aquellos que sí interactúan con la luz son los denominados *polaritones plasmónicos*.<sup>5</sup> Dentro de esta clase, los *polaritones plasmónicos de volumen* tampoco tienen relevancia directa en SERS y plasmónica porque se los puede ver como fotones que se propagan en el metal. Por otra parte, los *polaritones plasmónicos de superficie*, típicamente en interface metal/dieléctrico, sí son relevantes para plasmónica y SERS. Estos modos tienen carácter transversal y longitudinal al mismo tiempo, y se necesita de una descripción no local de  $\epsilon$  para poder entender completamente la naturaleza de estas cuasi-partículas. Al igual que para los modos electromagnéticos en general, éstos pueden venir con diferentes propiedades: propagantes, localizados, radiativos o no, evanescentes, etc. Estos pueden dar lugar a varios efectos resonantes que serán descritos a continuación.

## 1.3 Polaritones plasmónicos de superficies en interfaces planas metal/dieléctrico

La discusión previa fue para introducir a los plasmones y notar la íntima relación entre propiedades ópticas y dinámica de plasma de electrones libres. Resaltamos que los polaritones plasmónicos de superficie pueden ser tratados simplemente como modos electromagnéticos de superficie donde lo único importante son la función dieléctrica que describe al metal y su geometría en la escala de la longitud de onda de la luz.

En esta sección tratamos de hacer una clasificación de estos modos de superficies. Por ello nos centramos en los modos conocidos como *ligados* o de *superficie*, que corresponden a la solución donde no hay onda incidente pero sí una onda dispersada además del plasma de electrones libres, como podemos ver en la Fig.1.4. En este tipo de geometría se puede

<sup>5</sup>Lamentablemente las deformaciones del lenguaje y tal vez la confusión en el asunto hacen que en plasmónica y SERS hablemos de plasmones cuando en realidad nos referimos a polaritones plasmónicos de superficie, cuasipartículas que se acoplan con la luz pero que tienen componentes electromagnéticas tanto transversales como longitudinales.



**Figura 1.4:** Esquema del problema electromagnético de dos ondas TM a ambos lados de una interface metal (región 2)/dieléctrico (región 1), tomado de la Ref. [18]. La relación de dispersión en cada medio, junto con la condición de borde lleva a la relación de dispersión para los polaritones plasmónicos de superficie (ecuación recuadrada).

demostrar que los modos superficiales pueden tener solamente polarización *transversal magnética* (TM ó P). Además la condición para la existencia de dichos modos debe ser:[18]

$$k_{1x} = k_{2x} = k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_M \epsilon(\omega)}{\epsilon_M + \epsilon(\omega)}}. \quad (1.5)$$

Nosotros consideramos el caso de metales reales, es decir, cuyas funciones dieléctricas  $\epsilon(\omega)$  cumplen  $Im[\epsilon(\omega)] > 0$ , por lo que siempre obtenemos un  $k_x$  complejo ( $Re[k_x] \geq 0$  e  $Im[k_x] > 0$ ). Además se puede ver que la expresión para  $k_{2z}$  es siempre compleja y tiene generalmente el valor:<sup>6</sup>

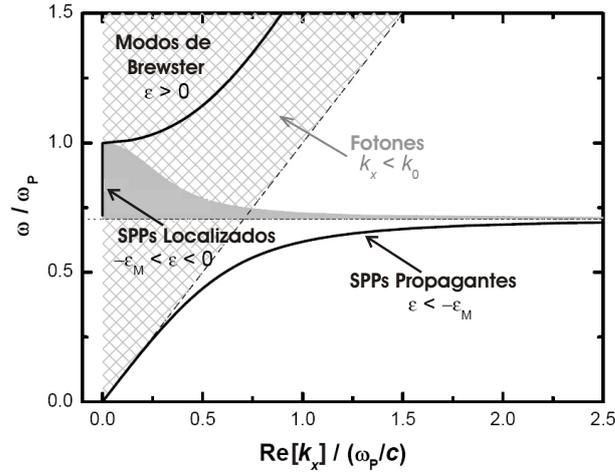
$$k_{2z} = \frac{\omega}{c} \epsilon(\omega) \sqrt{\frac{1}{\epsilon_M + \epsilon(\omega)}}. \quad (1.6)$$

La relación de dispersión para los modos superficiales dada en la Ec. 1.5 nos permite relacionar la frecuencia  $\omega$  del modo con su vector de onda en la dirección de propagación  $k_x$ , si conocemos la función dieléctrica del metal  $\epsilon(\omega)$ . Mostramos la relación de dispersión para modos de superficie en una interface metal/dieléctrico en la Fig. 1.5 donde graficamos  $\omega/\omega_p$  vs.  $Re[k_x]/(\frac{\omega_p}{c})$  para un metal de Drude ideal con frecuencia de plasma  $\omega_p$ . Tres tipos de modos pueden distinguirse del dibujo:<sup>7</sup>

- Los modos de Brewster para  $\omega/\omega_p > 1$  o  $\epsilon > 0$ , arriba de la frecuencia de plasma.
- Los polaritones plasmónicos superficiales localizados (LSPP) para  $1/\sqrt{2} < \omega/\omega_p < 1$  o  $-1 < \epsilon/\epsilon_M < 0$ , con  $Re[k_x] = 0$  y decaimientos anchos ( $Im[k_x] > 0$ ).
- Los polaritones plasmónicos superficiales propagantes (PSPP) para  $\omega/\omega_p < 1/\sqrt{2}$  o  $\epsilon/\epsilon_M < -1$ . Estos modos son los más útiles para un gran número de aplicaciones en

<sup>6</sup>Ver el Apéndice F del libro de la Ref. [18] de P. G. Etchegoin y E. C. Le Ru para más detalles.

<sup>7</sup>Para una explicación detallada consultar la Ref. [18].



**Figura 1.5:** Relación de dispersión para una interface entre un dieléctrico (aire,  $\epsilon_M = 1$ ) y un metal ideal siguiendo el modelo de Drude con  $\epsilon_\infty = 1$ , frecuencia de plasma  $\omega_p$  y sin absorciones (tomada de la Ref. [18]). El gráfico está realizado en función de cantidades adimensionales  $\omega/\omega_p$  y  $Re[k_x]/(\omega_p/c)$ . El área rayada representa la región donde pueden acceder fotones en el medio con cualquier ángulo de incidencia desde el exterior ( $k_x \leq k_{luz}$ ). La condición  $\epsilon(\omega) = -1$  ó  $\omega = \omega_{SP} = \omega_p/\sqrt{2}$ , que delimita la región de los polaritones plasmónicos de superficie (SPP) también está representada por una línea cortada horizontal. Finalmente, el ancho de los modos ( $Im[k_x]$ ) está indicado en un área de sombreado gris que corresponde a la región entre  $-1 \leq \epsilon(\omega) \leq 0$ . Solamente los modos SPP localizados presentan un ensanchamiento en un metal ideal.

plasmónica y SERS. El problema de estos modos es que sin un ingrediente adicional no se pueden acoplar utilizando luz incidente debido a que no se cruzan con la dispersión fotónica.

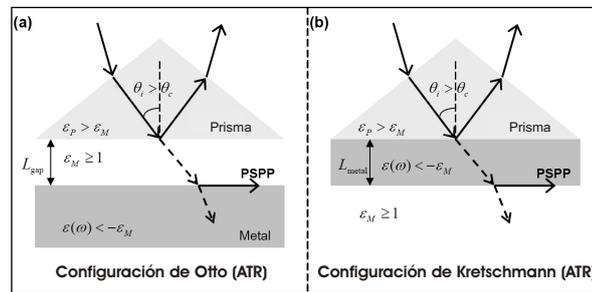
## 1.4 Polaritones plasmónicos superficiales propagantes (PSPP)

### 1.4.1 Acoplando PSPP con luz

Para que exista un acoplamiento entre un PSPP y la luz se debe cumplir conservación de energía y momento simultáneamente. El problema que surge de la relación de dispersión mostrada en la Fig. 1.5 es que para una dada energía, el impulso de la luz es siempre menor que el del PSPP en la dirección de propagación,  $k_{luz} \sqrt{\epsilon_M} \sin(\theta_{luz}) < k_x$ , no importa el ángulo de incidencia de la luz (zona rayada en la Fig. 1.5). Por este motivo se han desarrollado varias técnicas para impartir el momento necesario para excitar a los PSPP con luz, de las cuales mencionaremos algunas.

### Acoplamiento a través de reflexión interna atenuada (ATR)

La primer técnica se basa en la utilización del fenómeno de reflexión total interna en una interface entre dieléctricos. Esto ocurre cuando una onda electromagnética incide a través un medio con índice de refracción  $n_1$  sobre la interface con otro medio con índice de refracción  $n_2 < n_1$  con un ángulo de incidencia  $\theta_{inc} > \theta_c = \text{sen}^{-1}(n_2/n_1)$  por lo que no existe una onda transmitida en el medio 2, sino que es una onda evanescente. Esta onda, que debe conservar el momento en la dirección  $\hat{x}$ , tendrá el mismo momento que en el medio 1,  $\hbar k_x = \hbar k_0 n_1 \text{sen}(\theta_{inc})$ , el cual será siempre más grande que el momento de los fotones que se propaguen en el medio 2 para  $\theta_{inc} > \theta_c$ , permitiendo de esta manera un acople con los PSPP existentes en una nueva interface entre el medio 2 y un metal.



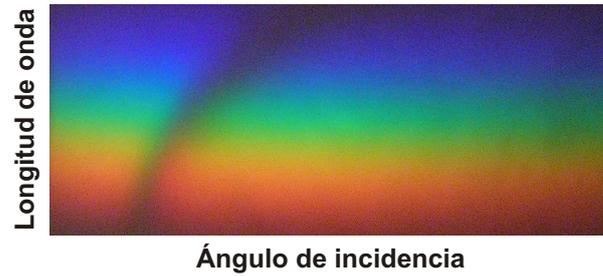
**Figura 1.6:** Ilustración esquemática de las dos configuraciones típicas basadas en reflexión interna atenuada para acoplarse con los PSPP utilizando fotones (tomada de la Ref. [18]): configuraciones de Otto (izquierda) y de Kretschmann (derecha). Las flechas llenas indican fotones y PSPP, mientras que las cortadas representan ondas evanescentes.

Este método se puede llevar a cabo por dos configuraciones alternativas, la de *Otto*[20] o la de *Kretschmann*,[21] esquematizadas en la Fig. 1.6. En la primera, la distancia entre el prisma y el film metálico debe ser comparable a la longitud de penetración de la onda evanescente en el medio dieléctrico, mientras que en la segunda el espesor del film metálico es el que tiene que cumplir esa condición.

En la Fig. 1.7 observamos una fotografía de la reflexión para un film de Ag de 50nm depositado sobre un prisma (configuración de Kretschmann) en función de la longitud de onda (color, eje vertical) y del ángulo de incidencia (eje horizontal). En esta imagen, tomada en el curso de Física Experimental II del Instituto Balseiro por los alumnos P. Scuracchio y D. Blasi, se puede observar la dispersión del plasmón a través de la absorción (zona oscura) en función del ángulo de incidencia.

### Superficies rugosas, redes de difracción y defectos puntuales

Otra forma diferente de encarar el problema de acoplarse con luz a los PSPP es relajando la condición de conservación de momento, es decir, rompiendo la invariancia traslacional. Esto se puede hacer de varias maneras, por ejemplo nanoestructurando la superficie metálica periódicamente en la dirección de propagación, i.e. una red de difracción

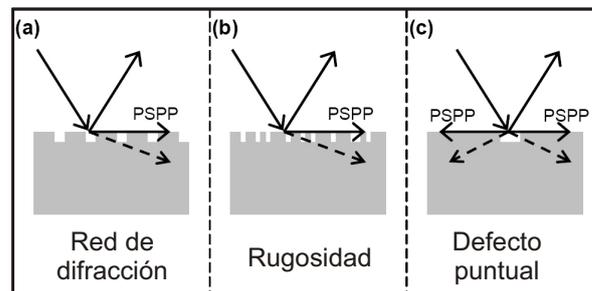


**Figura 1.7:** Fotografía de la reflectividad espectroscópica (eje vertical) de un film de Ag de  $50nm$  sobre un prisma (configuración de Kretschmann) en función del ángulo de incidencia (eje horizontal). La zona oscura es la absorción característica de la dispersión del PSPP.

con período  $\lambda_g$  (Fig. 1.8 a). Aquí no rompemos completamente la invariancia traslacional para  $k_x$  pero permitimos la adición o sustracción de momento con múltiplos enteros de  $k_g = 2\pi/\lambda_g$  posibilitando el acople entre fotones y PSPP.

Si en cambio, rugosamos aleatoriamente la superficie, logramos una situación equivalente a la combinación de infinitas redes de difracción con  $\lambda_g$  y  $k_g$  arbitrarios por lo que la conservación de  $k_x$  es siempre posible y por lo tanto los fotones pueden acoplarse siempre con los PSPP (Fig. 1.8 b).

Por último, mencionamos la posibilidad de generar un defecto puntual, como una montaña o depresión nanométrica (Fig. 1.8 c). Tal defecto rompe localmente la ley de conservación de momento y permite acoplar luz y PSPP que luego se propagarán lejos de este punto.



**Figura 1.8:** Esquema de otras técnicas para excitar modos PSPP con fotones (tomado de la Ref. [18]). Todas están basadas en la rotura de la invariancia traslacional ya sea utilizando una red de difracción (a), una superficie rugosa (b), o un defecto puntual (c).

## 1.5 Polaritones plasmónicos superficiales localizados (LSPP)

### 1.5.1 LSPP en superficies planas

Un caso particular de *polaritones plasmónicos superficiales localizados* (LSPP) ya ha sido presentado en la discusión de polaritones plasmónicos superficiales de la Sec. 1.3, los modos localizados de superficie en interfaces planas. Estos modos aparecen cuando  $-1 < \epsilon/\epsilon_M < 0$  y están caracterizados por un  $k_x$  cuya componente imaginaria cumple  $Im[k_x] > 0$  por lo que son *no propagantes*. Además en metales reales con  $Im[\epsilon] > 0$  los vectores de onda  $k_z$  en los medios dieléctrico y metálico se vuelven imaginarios por lo que las ondas son evanescentes y por consiguiente son no radiativas. Por estos motivos estos tipos particulares de LSPP no tienen demasiada relevancia en aplicaciones así que pasaremos a un caso más importante relacionado con nanopartículas metálicas.

### 1.5.2 LSPP en nanopartículas

La aproximación planar deja de tener validez para objetos metálicos suficientemente pequeños, y en particular para nano-partículas, donde el tamaño se vuelve comparable e incluso más pequeño que la longitud de onda de la luz. La naturaleza electromagnética de los modos del sistema se modifica completamente. En particular la descripción en términos del vector de onda  $\vec{k}$  se vuelve irrelevante ya que la invariancia traslacional se ha perdido y por ende, los modos existen para valores discretos de  $\omega$ . Estos modos son los denominados *polaritones plasmónicos superficiales localizados* (LSPP).

Notamos que los LSPP cumplen con los dos criterios introducidos previamente: no existirían sin la presencia de la interface y sus propiedades dependen de las propiedades ópticas del metal y del medio que lo rodea.

Para entender mejor la naturaleza de los LSPP es útil considerar el ejemplo canónico de la nanoesfera metálica. El tratamiento analítico completo es posible a través de la teoría de Mie scattering[22] abordado de manera completa en el libro de *E. C. Le Ru & P. G. Etchegoin*. [18] Nosotros describimos sólo cualitativamente los resultados en términos de los modos electromagnéticos de una esfera. Debido a la simetría esférica, es conveniente indexar a los modos con la letra  $l \geq 1$  correspondiente al momento angular total.

Los modos longitudinales, como en el caso de metales volumétricos deben satisfacer  $Re[\epsilon(\omega_{BP})] = 0$  y por lo tanto aparecen todos a la misma frecuencia  $\omega_{BP}$  correspondiente al plasmón volumétrico. Para el modelo de Drude, esta es simplemente la frecuencia de plasma. Estos modos plasmónicos esféricos “puros” se comportan exactamente como un plasmón de volumen. Se corresponden con ondas eléctricas esféricas longitudinales dentro del metal, asociadas con oscilaciones colectivas de carga. El campo producido por estos modos afuera de la esfera es nulo en todas partes por lo que no tienen relevancia en las propiedades ópticas.

Todos los demás modos transversales, dentro y fuera de la esfera, tiene un carácter

longitudinal en la interface (por las condiciones de contorno). Se puede ver que los modos *localizados* (soluciones para los cuales no hay onda incidente pero sí dispersada, además de la oscilación de carga) deben ser virtuales, *i.e.*  $\omega_l = \omega'_l + i\omega''_l$  complejo, debido a la absorción intrínseca del metal. Esto conlleva a que estos modos tengan un ancho  $2\omega''_l$  debido a este último punto, que su naturaleza tenga parte radiativa y parte absorbente y que el acoplamiento con estos modos ocurra cada vez que la frecuencia incidente cumpla  $\omega_{inc} = \omega'_l$ .

En la mayoría de los casos el modo más importante es el correspondiente a  $l = 1$ , cuyo campo dispersado tiene una forma dipolar y por lo tanto es un modo radiativo. A este modo se lo conoce como el LSPP *dipolar*. La frecuencia de este modo depende de varios parámetros:

- Las propiedades ópticas del metal ( $\epsilon(\omega)$ ).
- El ambiente que rodea a la nanoesfera ( $\epsilon_M(\omega)$ ).
- El tamaño de la esfera (su radio  $a$ ).

Para las nanoesferas más pequeñas,  $a < 20nm$ , la expresión que da la frecuencia del modo LSPP dipolar vale aproximadamente (ver Ec. 1.4):

$$Re[\epsilon(\omega_{LSPP_{dip}})] = -2\epsilon_M, \quad (1.7)$$

y por lo tanto  $\omega_{LSPP_{dip}}$  cae en una longitud de onda mayor que la del polaritón plasmónico longitudinal  $Re[\epsilon(\omega_{BP})] = 0$  y que la del LSPP de una interface plana  $-\epsilon_M < Re[\epsilon(\omega_{SP})] < 0$  (suponiendo  $\epsilon(\omega)$  monótonamente creciente con  $\omega$  en esta región de interés, como las mostradas en la Fig. 1.3). Además, al incrementar el tamaño de las nanoesferas la frecuencia del LSPP dipolar disminuye, corriéndose hacia el rojo.<sup>8</sup>

Se puede ver que análogamente a lo expuesto para el caso dipolar, las resonancias para los LSPP de mayor orden multipolar se obtienen cuando el denominador de la polarizabilidad tiende a cero, que para multipolos de orden  $l$  corresponde a la condición:

$$Re[\epsilon(\omega_{LSPP_l})] = -\frac{l+1}{l}\epsilon_M. \quad (1.8)$$

Para metales típicos, las resonancias LSPP multipolares están corridas hacia el azul respecto a la LSPP dipolar, y cuando  $l$  aumenta se acercan rápidamente a la energía del plasmón 2D correspondiente a una interface plana metal/dieléctrico, *i.e.*  $Re[\epsilon(\omega_{SP})] = -\epsilon_M$ . Notamos que los modos cuadrupolares son generalmente invisibles para las nanopartículas más pequeñas y que comienzan a aparecer cuando el radio aumenta.<sup>9</sup>

<sup>8</sup>Esta afirmación sale de resolver el problema exactamente utilizando la teoría de Mie y no de la aproximación electrostática en la cual se basa la Ec. 1.7.

<sup>9</sup>Al igual que en el caso dipolar, la dependencia con el radio sale de resolver exactamente el problema utilizando la teoría de Mie y no de la aproximación electrostática como usada para obtener la Ec 1.8.

### 1.5.3 LSPP en nanocavidades

Por último y para finalizar con este capítulo, queremos introducir los LSPP en otro tipo de nanoestructuras metálicas, las nanocavidades esféricas. Estos sistemas pueden ser pensados como anti-nanoesferas metálicas y utilizando otra vez la teoría de Mie scattering podemos obtener resultados que guardan cierta analogía con los analizados para el caso de las nanoesferas metálicas.

La solución electromagnética para una cavidad esférica dentro de un metal se corresponde a los modos de Mie para scattering por una esfera. Estos se calculan a partir de las ecuaciones de Maxwell expandidas en coordenadas esféricas, pegando las condiciones de contorno sobre la superficie de la esfera, e involucrando a las funciones de Bessel,  $J_l$ , y de Hankel,  $H_l$ , de la siguiente forma:

$$\epsilon_d H_l(k_m a) [k_d a J_l(k_d a)]' = \epsilon_m(E) J_l(k_d a) [k_m a H_l(k_m a)]'. \quad (1.9)$$

Aquí,  $a$  es el radio de la cavidad,  $l$  indica el valor del momento angular,  $k_m = \sqrt{\epsilon_m} k_0$  y  $k_d = \sqrt{\epsilon_d} k_0$  son los vectores de onda en el metal y en la cavidad dieléctrica, respectivamente, y la comilla simple indica la diferenciación respecto al argumento  $ka$ . Para esferas pequeñas ( $ka < 1$ ), la solución cuasiestática permite encontrar las frecuencias de resonancia de los diferentes LSPP según su momento angular:

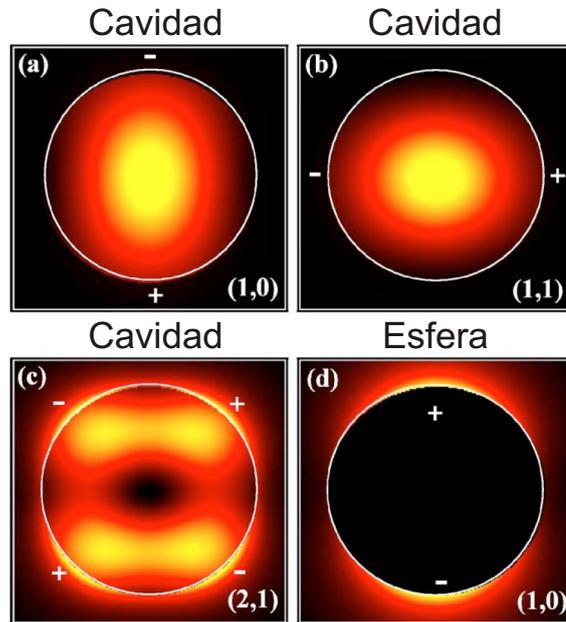
$$\omega_l = \omega_{SP} \sqrt{(l+1)/(2l+1)}. \quad (1.10)$$

Los modos para los dos valores más chicos de  $l$  están presentados en la Fig. 1.9<sup>10</sup> (a-c) para las diferentes proyecciones azimutales,  $m$ . Estos modos toman la forma de una oscilación de carga dipolar ( $l = 1$ ) y cuadrupolar ( $l = 2$ ) dentro del metal. Un punto interesante tiene que ver con que la distribución de campo dentro de la cavidad para el modo  $l = 1$  posee un único lóbulo de intensidad con simetría  $s$  (sin nodos) en lugar de la típica simetría  $p$  (un nodo). Esto es bastante diferente de lo que ocurre para  $l = 1$  en una esfera metálica, donde la distribución de campo tiene la tradicional distribución tipo  $p$  de dos lóbulos (Fig. 1.9 d)). En general, la distribución de campo para un plasmón localizado en una cavidad esférica de momento angular  $l$  tiene la simetría del armónico esférico  $Y_{(l-1,m)}$ . Al igual que en nanopartículas, en nanocavidades esféricas no existe el estado  $s$  correspondiente a  $l = 0$ . Además, los modos plasmónicos en cavidades están cada vez más confinados a la superficie metálica a medida que el valor de  $l$  aumenta.

Si incrementamos el radio de la cavidad haciendo que éste sea comparable a la longitud de onda de excitación ( $ka \sim 1$ ), aparecen efectos de retardo que modifican las energías de los modos presentados en la Ec. 1.10, mezclando a los LSPP con modos de cavidad tipo Fabry-Perot. Esto produce un nuevo tipo de plasmón dentro de la cavidad que, especialmente para valores grandes de  $l$ , se aproximan a plasmones que se propagan alrededor de la superficie metálica curvada, pareciéndose a los modos que se encuentran en la “galería de los susurros” (*whispering gallery modes*).<sup>11</sup>

<sup>10</sup>Tomada de la Ref. [23].

<sup>11</sup>En la cúpula de la catedral de *Saint Paul*, en Londres, Ing., las personas pueden acercarse a la pared interior y escuchar lo que susurra otra persona en una posición diametralmente opuesta dentro del domo.



**Figura 1.9:** Distribuciones de campo eléctrico calculadas por T. A. Kelf *et al.* (tomadas de la Ref. [23]) para los modos LSP en cavidades esféricas de aire dentro de Au para: a)  $l = 1, m = 0$ ; b)  $l = 1, m = 1$  y c)  $l = 2, m = 1$ . El panel d) muestra la distribución de campo para el modo LSP<sub>dip</sub> ( $l = 1, m = 0$ ) para una nanopartícula de Au en aire.

Finalmente notamos que para el límite de radios grandes,  $ka > 1$ , donde la superficie interna de la cavidad es aproximadamente “plana” para la escala de longitudes de onda de plasmones, la relación de dispersión  $\omega$  vs.  $k$  está por encima de la que presenta un polaritón plasmónico de superficie como el que mostramos en la Fig. 1.5 (curva SPPs Propagantes). Esto se debe a la curvatura negativa que posee la superficie metálica causando que las energías aumenten respecto a la de superficies realmente planas. Esto contrasta con la curvatura positiva que presentan las nanopartículas metálicas,<sup>12</sup> donde el corrimiento en energía es en la dirección opuesta. El corrimiento hacia energías superiores que presenta la relación de dispersión de SPP en cavidades respecto al mostrado por superficies planas hace que pueda existir un cruce con la relación de dispersión de la luz en el dieléctrico (línea recta punteada de la Fig. 1.5) y por lo tanto hace que estos plasmones se puedan acoplar con ondas electromagnéticas incidentes, aún para grandes diámetros.[24]

<sup>12</sup>Siempre dentro de la aproximación de radios grandes, donde tiene sentido definir un  $k$  para plasmones en esferas metálicas y vale la relación  $ka > 1$ .

## Capítulo 2

# Autoensamblados orgánicos y física de moléculas

En este capítulo describimos los sistemas moleculares que utilizamos como sondas para estudiar la respuesta plasmónica de las diferentes nanoestructuras metálicas que analizamos. Comenzamos exponiendo algunos métodos para la preparación y modificación de las superficies metálicas con sistemas orgánicos, los sistemas moleculares que utilizamos y el interés que ellos suscitan, y por último, algunas de las propiedades físico-químicas más importantes de estos sistemas que nos ayudarán a generar el marco apropiado para comprender los resultados y discusiones de los capítulos venideros.

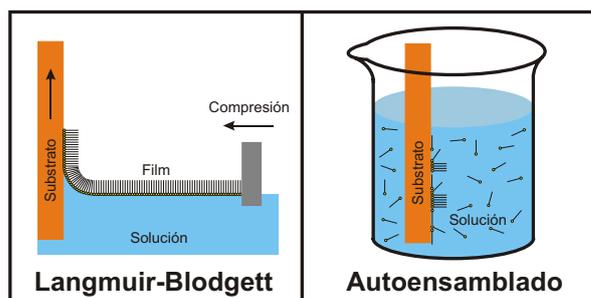
### 2.1 Introducción a los autoensamblados

En las últimas tres décadas la ciencia de materiales ha evolucionado hacia campos interdisciplinarios que mezclan componentes orgánicos, poliméricos y hasta biológicos con los tradicionales metales e inorgánicos. Esta clase de multicompuestos permiten combinar dos o más propiedades deseadas, dar estabilidad a alguno de los componentes o mejorar la funcionalidad de biomoléculas. Nuevos dispositivos que aprovechan procesos químicos y físicos (como transporte de carga o energía) han sido diseñados y estudiados. Dichos dispositivos requieren del control sobre la orientación molecular y organización en escala nanométrica debido a que su funcionalidad depende fuertemente del entorno químico local y al mismo tiempo deben guardar una relación fija entre el orden nanoscópico y la orientación macroscópica. Los electrodos químicamente modificados han evolucionado hacia sistemas químicos integrados para satisfacer estas demandas, mostrando propiedades útiles y aplicaciones en biosensores, diodos, llaves moleculares, guías de ondas orgánicas, etc.

#### 2.1.1 Autoensamblados moleculares

El estudio de films orgánicos con control de monocapas se ha focalizado en dos métodos alternativos para su preparación: la técnica de Langmuir-Blodgett,[\[25, 26\]](#) que consiste

en transferir un film previamente ensamblado en una interface aire/líquido a un substrato sólido, y el autoensamblado molecular (SAM),[27] basado en la adsorción espontánea de los componentes del film presentes en una solución directamente sobre un substrato sólido (ver Fig. 2.1). El interés en monocapas autoensambladas se ha centrado en una cantidad de sistemas, incluyendo clorosilanos en silicio, ácidos carboxílicos en óxidos metálicos y compuestos de organosulfuros en oro (Au) y plata (Ag).



**Figura 2.1:** Métodos alternativos para generar un film molecular: la técnica de Langmuir-Blodgett, a la izquierda, que consiste en transferir un film previamente ensamblado en una interface aire/líquido a un substrato sólido, y el autoensamblado molecular (SAM), basado en la adsorción espontánea de los componentes del film presentes en una solución directamente sobre un substrato sólido.

En esta tesis trabajamos en gran parte con este último caso, los organosulfuros o *tioles*,  $\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{X}$  (H=hidrógeno, S=azufre, C=carbono, X=grupo funcional y  $n$  es el número de repetición de la celda entre paréntesis), sobre Au y Ag. Estas monocapas ofrecen una muy buena combinación de orden estructural, flexibilidad para la incorporación de distintos grupos funcionales, moléculas y enzimas, y una relativamente fácil preparación. En este tipo de monocapas podemos controlar la química, estructura y propiedades de la superficie a través del grupo funcional, X. Los tioles se adsorben a la superficie del Au (o Ag) formando una monocapa, que para alcanotioles de cadenas largas ( $n > 10$ ) será ordenada y orientada mientras que para los de cadenas cortas ( $n < 10$ ) tendrá cierto grado de defectos. Esto se debe a interacciones de van der Waals entre cadenas carbonadas que son más efectivas cuanto mayor es el largo. Por el mismo motivo las propiedades de las interfaces entre el film y líquidos resultan bastante independientes del largo de la cadena para  $n > 10$ . La interacción específica del oro con el azufre y otros nucleofílicos “suaves” y su baja reactividad ante ácidos y bases más “fuertes” hacen posible variar ampliamente la estructura del grupo terminal, X, logrando que los tioles siempre se adhieran al Au a través del S, generando superficies que exponen una gran diversidad de grupos funcionales. Por el momento se cree que las especies que se forman sobre Au son tiolatos (Au-SR, con R=radical), y por ello las monocapas de tioles en Au son muy estables a temperatura ambiente, aunque el mecanismo por el cual el tiol inicialmente fisisorbido es convertido en un tiolato quimisorbido continúa siendo debatido actualmente.[28, 29]

### 2.1.2 Inmovilización de moléculas en autoensamblados moleculares

La estabilidad, uniformidad superficial de la estructura y su relativamente fácil cambio de funcionalidad hacen que los autoensamblados moleculares sean particularmente útiles para desarrollar aplicaciones en el área de los biosensores. Las monocapas autoensambladas de alcanotioles sobre oro son probablemente una de las mejores opciones debido a la posibilidad de funcionalizarlas para realizar procesos de copiado de superficies, necesario en la fabricación de muchos biosensores, además de otras ventajas como la flexibilidad y estabilidad. Una forma convencional de modificar superficies a nivel molecular es la inclusión de alguna molécula receptora en la monocapa para usarla como soporte para reconocimiento molecular en la superficie a través de interacciones receptor-huésped.

Varios tipos de procedimientos de inmovilización están disponibles para unir moléculas o biomoléculas a una superficie:

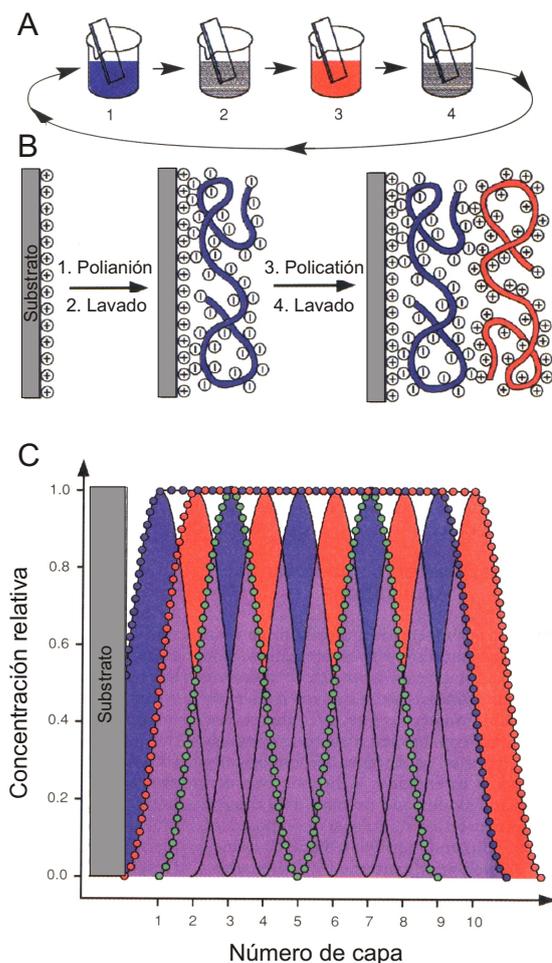
- Uniones no covalentes entre monocapas y enzimas vía fuerzas electrostáticas, hidrofóbicas o hidrofílicas (a ser tratado en la Sec. 5).
- Unión covalente de enzimas a una superficie a través de monocapas que contienen grupos terminales libres como aminas que se pegan a través de uniones amidas (veremos un ejemplo en la Sec. 8.4.)
- A través de reconocimiento molecular: interacciones enzima-proteína o anticuerpo-antígeno (traremos un ejemplo en la Sec. 6.2).

### 2.1.3 Autoensamblados capa por capa

A principios de 1990 Gero Decher[17] y colaboradores desarrollaron una técnica para la construcción de films de multicompuestos que poseen carga electrostática (polielectrolitos o cualquier otro material cargado) a través de adsorción capa por capa en soluciones acuosas. El proceso, extremadamente sencillo, está esquematizado en la Fig. 2.2 para el caso de deposición polianión-policación sobre una superficie cargada positivamente. Una atracción electrostática fuerte aparece entre la superficie cargada y la molécula de carga opuesta en solución. En principio, la adsorción de moléculas que poseen muchas cargas iguales distribuidas en grupos funcionales proporcionan una rápida inversión de carga en la superficie, que tiene dos implicancias importantes:

- repulsión de moléculas con igual carga y la consiguiente auto-regulación de la adsorción y restricción a una sola capa,
- la posibilidad de adsorber moléculas con cargas opuestas en el segundo paso sobre la superficie lograda en el primero. La repetición cíclica de ambos pasos de adsorción llevan a la formación de estructuras de multicapas.

La utilización de polielectrolitos en lugar de pequeñas moléculas es ventajoso debido a que una buena adhesión de cada capa sobre el substrato o capas anteriores requiere cierto



**Figura 2.2:** A) Esquema del proceso de deposición. Los pasos 1 y 3 representan la adsorción del polianión y policación respectivamente, los pasos 2 y 4 son enjuagues. B) Esquema molecular simplificado de los primeros dos pasos de deposición sobre un sustrato cargado positivamente. C) Esquema de una multicapa polielectrolítica de 10 capas, cada una representada por un perfil de concentración arbitrario sinusoidal. La dispersión y separación de las capas fueron escogidos para que haya una superposición a una concentración relativa del 50%. Las líneas de puntos azules (aniones) y rojas (cationes) representan la suma de las concentraciones de todas las capas del film. Esta interdifusión favorece fenómenos de transporte a través del autoensamblado. Tomados de la Ref. [17].

número de enlaces iónicos. La sobrecompensación de carga superficial por la deposición de la nueva capa es más una propiedad del polímero que de la superficie. Esto es así porque los polímeros pueden saltar defectos; su conformación sobre la superficie es más dependiente del polielectrolito y las condiciones de adsorción elegidas que del sustrato o la densidad de carga del mismo. En casos donde la densidad de carga del sustrato es muy pequeña, la primera capa se pega a la superficie con muy pocos grupos y expone un número mayor de grupos cargados opuestamente. Esta efectiva multiplicación en la funcionalidad

de la superficie suele continuar unas pocas capas hasta que se alcanza un régimen lineal de deposición.

A diferencia de las técnicas de crecimientos en semiconductores (por ejemplo MBE: *Molecular Beam Epitaxy*) donde las interfaces están bien definidas a niveles atómicos, en esta técnica de autoensamblado existe cierta interdifusión entre capas (Fig. 2.2 C). Esta interpenetración entre polímeros de capas moleculares adyacentes permite un eficiente cableado molecular de biomoléculas a través del secuenciamiento de poli-iones redox activos en la estructura autoensamblada.

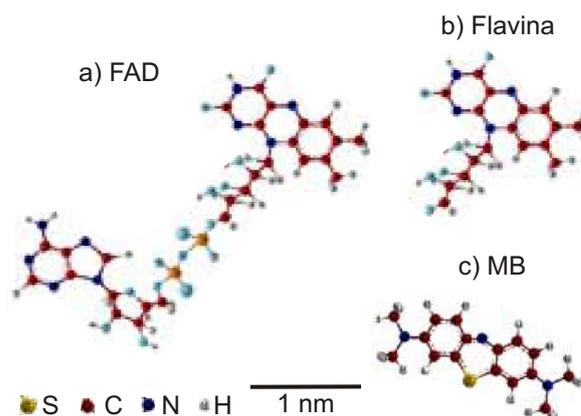
En el Capítulo 6 estudiamos diferentes estructuras de multicapas orgánicas autoensambladas. Las mismas son estructuras formadas por capas de polianiones poli(vinilsulfonato), *PVS*, enzimas glucosa oxidasa, *GOx*, o incluso nanopartículas de Au, alternadas por un mediador redox, poli(alilamina) modificado con  $\text{Os}(\text{bpy})_2\text{ClPyCHO}$ , PAH-Os.[30–33]

## 2.2 Presentación de los sistemas moleculares

### 2.2.1 Flavina Adenina Dinucleótida, Flavina y Azul de Metileno

Existe una familia de moléculas redox que se encuentra comunmente en organismos vivos y cuya función principal es la de transportar electrones en diferentes procesos biológicos, como por ejemplo activar proteínas.[34] Esta capacidad redox las convierte en buenas candidatas para conformar “cables moleculares” para desarrollar diferentes nano-bio-sensores y por ello hay un gran interés en estudiarlas y conocer su funcionamiento. Ejemplos de estas moléculas son la *nicotinamida adenina dinucleótida* (NAD) o la *flavina adenina dinucleótida* (FAD). Esta última está esquematizada en la Fig. 2.3 a) donde podemos ver dos zonas con anillos aromáticos en los extremos de la molécula unidas por una cadena carbonada. Cada una de estas zonas aromáticas tiene una respuesta diferente ante interacciones intermoleculares: mientras que un extremo es lipofílico, el otro es hidrofílico. Este tipo de respuestas son importantes al momento de planificar el autoensamblado de estas moléculas dentro de estructuras orgánicas más complejas.

Como ocurre generalmente, la investigación científica comienza con sistemas parecidos, tanto en morfología como en funcionalidad, pero que poseen un nivel de complejidad algo inferior. En el caso particular que estamos tratando, la *flavina* y el *azul de metileno*, MB, son exponentes de moléculas similares a las FAD y NAD. La flavina es, en realidad, la parte lipofílica de la FAD responsable del intercambio de electrones, por lo que es una molécula redox por sí misma (ver Fig. 2.3 b). El MB (ver Fig. 2.3 c), por otra parte, no es un bloque molecular de la FAD pero es muy parecido a la flavina y también es una molécula redox. Además, esta molécula posee una fuerte absorción óptica alrededor de los  $580\text{nm}$  que la hacen importante para posibles aplicaciones en terapia fotodinámica (PDT) para matar selectivamente a bacterias, hongos, virus y células cancerígenas.[35, 36]



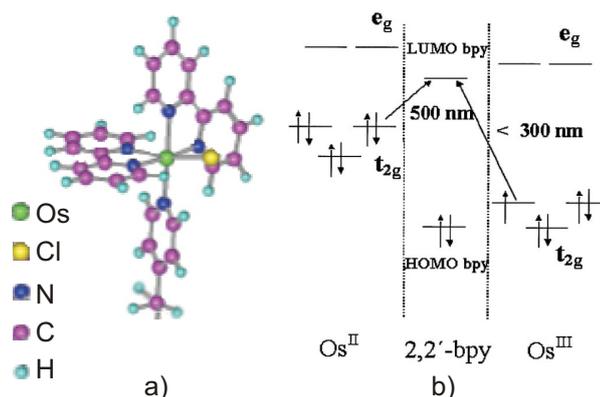
**Figura 2.3:** Esquemas de tres moléculas redox: a) Favina adenina dinucleótida (FAD), b) Flavina y c) Azul de metileno, MB.

### 2.2.2 Poli(alilamina) con complejos de Os, PAH-Os

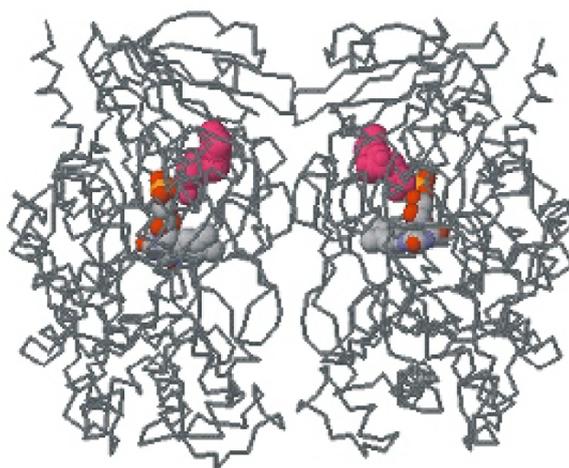
La PAH-Os es un polímero con complejos de osmio (Os) pegados. Estos complejos están formados por un centro metálico de  $\text{Os}^{2+}$  unido a un ion  $\text{Cl}^-$ , una piridina ( $\text{C}_5\text{NH}_5$ ) y dos bipyridinas ( $\text{C}_{10}\text{N}_2\text{H}_8$ ) manteniendo una estructura octaédrica, como mostramos en la Fig. 2.4 a). En macromoléculas y polímeros las propiedades físicas y químicas pueden variar según la posición de partes específicas, como ser el centro metálico, dentro del sistema y muchas veces se las pueden estudiar por separado. Así tenemos que la estructura electrónica de la PAH-Os puede dividirse entre la perteneciente al complejo de Os y la que describe al resto del polímero. Es justamente el complejo de Os el que le da propiedades interesantes a la PAH-Os, convirtiéndola en un mediador redox con utilidad para realizar cableado molecular. Esto quiere decir que es muy fácil cambiar su estado de oxidación, por ejemplo, sometiénolo a diferencias de tensión. En la Fig. 2.4 b) mostramos esquemáticamente los niveles electrónicos del centro de Os en dos estado de oxidación. Mostramos también dos niveles moleculares de los ligandos bipyridinas, el HOMO (último ocupado) y el LUMO (primero desocupado).

### 2.2.3 Glucosa oxidasa, GOx

La *glucosa oxidasa*, GOx, es una enzima encargada de oxidar glucosa y está presente en una gran cantidad de organismos vivos. Por estos motivos es muy importante entender su funcionamiento para desarrollar nanobiosensores específicos. La Fig. 2.5 muestra la estructura de la GOx obtenida a partir de mediciones de rayos X, donde se puede observar la forma globular de esta macromolécula que tiene un diámetro de unos  $6\text{nm}$  y dos centros coloreados en el interior de la misma. Estos centros son la parte activa de la enzima, sus cofactores, y en este caso son dos moléculas previamente descritas, la FAD (presentada en la Sec. 2.2.1).



**Figura 2.4:** a) Representación esquemática de la PAH-Os. b) Diagrama simplificado de los orbitales moleculares para  $\text{Os}^{2+}$ ,  $\text{Os}^{3+}$  y ligandos de bipyridina en el complejo  $[\text{Os}(\text{bpy})_2\text{PyCl}]^{+/2+}$ . Las correspondientes transiciones de transferencia de carga metal-ligando, MLCT, en cada estado de oxidación del Os están representadas por flechas.



**Figura 2.5:** Estructura de la GOx obtenida a partir de mediciones de rayos X. Se puede observar la forma globular de esta macromolécula que tiene un diámetro de unos  $6\text{ nm}$  y dos centros coloreados que corresponden a sus cofactores, dos moléculas de FAD.

## 2.3 Física de moléculas

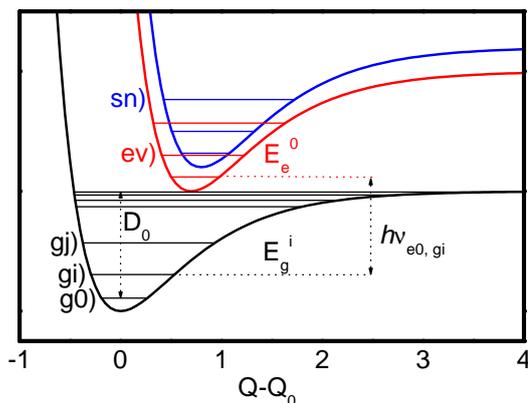
### 2.3.1 Estructura vibrónica

Para comenzar debemos decir que en moléculas, y a diferencia de lo que sucede en sólidos, los estados electrónicos y vibracionales están fuertemente correlacionados. A estos estados acoplados se los llama *vibrónicos*. Para simplificar el problema y desacoplar estos estados, la mayoría de las teorías de estructura molecular usualmente realizan la suposición de que los núcleos son mucho más masivos que los electrones y se mueven más despacio por lo que se los puede considerar estacionarios mientras que los electrones se mueven relativos

a ellos. Esta aproximación se conoce con el nombre de *Born-Oppenheimer* y nos permite separar la función de onda molecular o *vibrónica* en dos partes: una electrónica y otra vibracional:

$$\psi_m = \theta_g(\xi, Q) \phi_j^g(Q), \quad (2.1)$$

donde la función de onda  $\psi_m$  es lo que se denomina el estado vibrónico  $m$ ,  $\theta_g(\xi, Q)$  el estado electrónico  $g$  y  $\phi_j^g(Q)$  el  $j$ -ésimo nivel vibracional del estado electrónico  $g$ . Los símbolos  $\xi$  y  $Q$  representan un conjunto completo de coordenadas internas que pertenecen a los electrones y a los núcleos respectivamente.



**Figura 2.6:** Curvas de los potenciales de Morse para el estado fundamental,  $g$ , y los dos primeros excitados,  $e$  y  $s$ , respectivamente. Mostramos algunos niveles vibracionales y energías para cada potencial de Morse, e.g.,  $g_i$  es el estado vibracional  $i$  del nivel electrónico  $g$  y tiene energía  $E_g^i$ . La energía  $D_0$  es la energía de disociación de la molécula y  $Q_0$  es el conjunto de coordenadas de equilibrio del estado fundamental.

Si fijamos la separación entre núcleos,  $Q$ , resolvemos la ecuación de Schrödinger para electrones y graficamos la energía del sistema en función de  $Q$  obtenemos lo que se denomina una *curva de energía potencial molecular* (Fig. 2.6). Esta puede modelarse mediante el potencial de Morse[37]:

$$V = C [1 - e^{-a(Q-Q_0)}]^2. \quad (2.2)$$

Este potencial se aproxima mucho a una parábola cerca de la posición de equilibrio,  $Q_0$ , por lo que no es de extrañar que la solución a la ecuación de Schrödinger sea parecida a un oscilador armónico tanto en sus funciones de onda como en las autoenergías. Una de las ventajas de la utilización de este tipo de potencial respecto a uno parabólico es que permite modelar la disociación de la molécula cuando los desplazamientos son muy grandes y tienen una energía mayor a  $D_0$ . La dependencia funcional de los niveles energéticos está dada por:

$$E(\nu) = hc(\nu + 1/2)v - hc(\nu + 1/2)^2 x_e v, \quad (2.3)$$

$$\text{con } x_e = \frac{hc\nu}{4(D_0 + E_g^0)}, \quad (2.4)$$

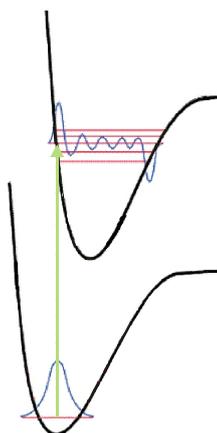
donde el primer término de la Ec. 2.3 corresponde a los niveles energéticos de un oscilador armónico y el segundo es una corrección propia del potencial de Morse,  $\nu$  es el número cuántico de excitación del modo vibracional (una variable entera),  $h$  es la constante de Planck,  $c$  es la velocidad de la luz en el vacío,  $\nu$  es la frecuencia asociada al modo vibracional,  $E_g^0$  es la energía del estado vibrónico fundamental y  $D_0$  es la energía de disociación de la molécula.

### 2.3.2 Transiciones electrónicas

En moléculas las absorciones y emisiones de fotones relacionadas con transiciones electrónicas están moduladas por la presencia de la estructura vibracional. Esto se explica con el principio de *Franck-Condon*:<sup>[37]</sup>

*Debido a que el núcleo es mucho más masivo que los electrones, una transición electrónica se lleva a cabo mucho más rápido que la respuesta del núcleo*

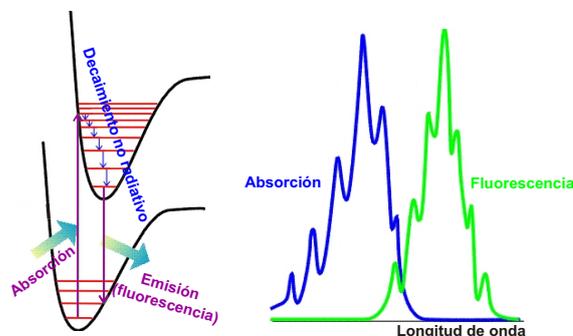
Entonces, decimos que las transiciones son verticales en el espacio  $Q$  (ver Fig. 2.7) como resultado de la rápida reacomodación de la densidad electrónica. Por ello el núcleo inicialmente estacionario experimenta un nuevo campo de fuerzas. La respuesta a las nuevas fuerzas son vibraciones desde y hasta su posición original, que se mantuvo durante la rápida excitación electrónica. Por lo tanto, la separación de equilibrio del núcleo en el estado electrónico inicial se vuelve el punto de regreso estacionario en el estado electrónico final.<sup>1</sup>



**Figura 2.7:** Esquema de las transiciones electrónicas en moléculas y las respuestas vibracionales explicadas con el principio de *Franck-Condon*. Las líneas horizontales representan niveles vibracionales. Las funciones de onda esquematizadas pertenecen a los estados vibracionales involucrados en la transición electrónica. Tomado de la Ref. [37].

<sup>1</sup>Ver apéndice B para una explicación cuántica del principio de Franck-Condon.

En la Fig. 2.8 presentamos esquemáticamente procesos de absorción y emisión óptica junto sus correspondientes espectros típicos. Allí podemos ver que durante el proceso de absorción la molécula pasa del estado electrónico fundamental a uno excitado, pudiendo además excitar una gran variedad de estados vibracionales que dan lugar a la rica estructura de picos montada en el espectro azul de absorción. Luego la molécula excitada decae no radiativamente relajando sus estados vibracionales y disminuyendo su energía. Finalmente, ocurre un decaimiento radiativo, una emisión óptica o fluorescencia, que hará que la molécula regrese a su estado electrónico fundamental, pudiendo otra vez poblar un gran abanico de estados vibracionales. Estas dos condiciones hacen por un lado, que el espectro de fluorescencia esté corrido hacia menores energías (mayores longitudes de onda) que su par de absorción, y por otra parte, que también cuente con una estructura de picos debido a los estados vibrónicos.



**Figura 2.8:** Esquema de los procesos de absorción y fluorescencia en moléculas acompañados por sus respectivos espectros típicos. Tomado de la Ref. [37].

### 2.3.3 Transiciones vibrónicas

En complejos con simetría octaédrica, como la PAH-Os, las transiciones  $d \rightarrow d$  están prohibidas por la regla de selección de *Laporte* para complejos centrosimétricos:[37]

*Las únicas transiciones permitidas son aquellas acompañadas por un cambio de paridad*

Pero una transición  $d \rightarrow d$  prohibida puede convertirse en permitida si el centro de simetría es eliminado por una vibración antisimétrica, por lo tanto transiciones del tipo  $t_{2g} \rightarrow e_g$  pueden tornarse débilmente permitidas.

### 2.3.4 Transiciones de transferencia de carga

Un complejo puede absorber radiación como resultado de una transferencia de carga desde ligandos a los orbitales  $d$  del átomo central, o viceversa. En tales *transiciones de transferencia de carga* el electrón se mueve a través de distancias considerables, lo que significa que el momento de transición dipolar es grande y la absorción es correspondientemente

intensa. Estos modos de actividad cromófora están presentes en muchas de las moléculas que estudiamos como la flavina, el MB y el PAH-Os, y se evidencian mediante los colores intensos que presentan estas moléculas en solución. En particular, para el caso de la PAH-Os, los electrones migran de los niveles  $t_{2g}$  del Os a los orbitales  $\pi$  *antibonding* de los ligandos aromáticos,  $LUMO_{bpy}$  (ver Fig. 2.4). Esto es un ejemplo de *transiciones de transferencia de carga metal-ligando (MLCT)*. El estado excitado resultante puede tener una vida media muy larga si los electrones están deslocalizados en varios anillos aromáticos, y dicho compuesto puede participar en reacciones redox inducidas fotoquímicamente[37] y de disociación inducida por procesos de dos fotones. Por el contrario si la migración de electrones es desde los ligandos al metal estamos en presencia de una *transiciones de transferencia de carga ligando-metal (LMCT)*.



## Capítulo 3

# Interacción de la luz con moléculas y espectroscopías ópticas

La idea de este capítulo es introducir los fenómenos de interacción entre luz y moléculas que utilizaremos en los próximos capítulos. Así mismo aprovechamos para realizar la descripción de los equipos experimentales que necesitamos para analizar cada uno de estos procesos.

Cuando un haz de luz incide sobre la superficie de un material es en parte reflejado debido al contraste entre los índices de refracción de los distintos medios. La medición de la proporción de luz reflejada respecto a la incidente se conoce con el nombre de *reflectometría*. Por otra parte, la porción restante de luz incidente es transmitida al interior del material siguiendo las relaciones de Fresnel.[19] Ambas fracciones pueden sufrir cambios en su estado de polarización y el estudio de estos cambios da origen a una de las técnicas que describiremos, la *elipsometría*.

Así mismo, la luz transmitida puede ser absorbida, y su medición se realiza a través de técnicas de *absorción de luz ultravioleta-visible* (UV-Vis) e *infra-roja* (IR), o bien puede ser dispersada por el material. La energía de las ondas electromagnéticas absorbidas por el medio es finalmente disipada, y puede en parte ser reemitida como luz con una frecuencia diferente. En moléculas, al mecanismo de reemisión de luz se lo conoce como fluorescencia o fosforescencia, según la naturaleza del decaimiento electrónico que la produjo.[37] Pero generalmente, al proceso de absorción y reemisión se lo conoce como *fotoluminiscencia*.

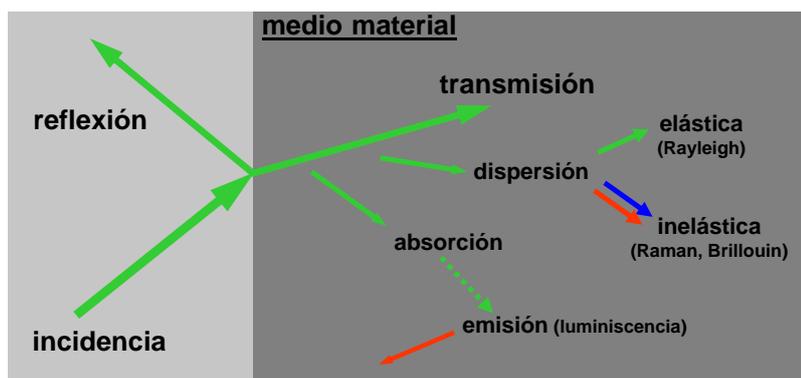
Por otra parte, la dispersión<sup>1</sup> de la luz en el medio se debe a la interacción con “inhomogeneidades” del material. Estos procesos se clasifican según la naturaleza de estas inhomogeneidades y según el tipo de interacción involucrada. La dispersión *Rayleigh*, es un proceso de dispersión elástica con imperfecciones del material (defectos como por ej. dislocaciones, vacancias, etc) en donde la onda dispersada conserva la misma energía que la onda incidente. Si la dispersión es inelástica hay dos tipos de interacciones posibles: con excitaciones acústicas (por ejemplo fonones acústicos o, más en general, ramas acústicas

---

<sup>1</sup>Utilizaremos asimismo el termino en inglés “scattering” para referirnos a dispersión.

de excitaciones elementales) y se la denomina *Brillouin scattering*, o con otro tipo de excitaciones elementales (vibraciones moleculares, fonones ópticos, etc.) y se la conoce por el nombre de *Raman scattering*.

En la Fig. 3.1 mostramos esquemáticamente todos estos procesos que se producen cuando la luz interactúa con la materia. En lo que sigue realizaremos una descripción más detallada de la teoría de interacción de la luz con moléculas y nanoestructuras moleculares.



**Figura 3.1:** Representación esquemática de los principales procesos de interacción de la luz con la materia.

### 3.1 Elipsometría

Las mediciones elipsométricas determinan las constantes óptica lineales de, en principio, cualquier clase de material. Los dos principales parámetros que se obtienen son el índice de refracción y el coeficiente de extinción,  $n$  y  $k$ , respectivamente (o equivalentemente las partes real e imaginaria de la función dieléctrica  $\epsilon$ ). El primero está relacionado con cómo las ondas de luz se propagan y reflejan en un medio, mientras que el segundo describe la absorción de tal material. Si tenemos una capa delgada, por ejemplo un film molecular ensamblado, su espesor  $d$  también puede obtenerse mediante elipsometría. Esta técnica está basada en los cambios en el estado de polarización de la luz cuando un haz es reflejado en el (o transmitido a través del) medio bajo estudio. El experimento proporciona dos ángulos independientes,  $\psi$  y  $\Delta$ , los denominados *ángulos elipsométricos*, que están relacionados con la polarización elíptica del rayo saliente, y a través de ésta, con las constantes ópticas. No hay una transformación directa desde  $\psi$  y  $\Delta$  hacia  $n$  y  $k$ , por ello la elipsometría no es una técnica directa y necesita de la construcción de un modelo matemático para extraer las propiedades ópticas de cada material en particular. Más aún, las ecuaciones que relacionan estos cuatro parámetros son altamente no lineales, llevando a fuertes correlaciones entre las constantes.

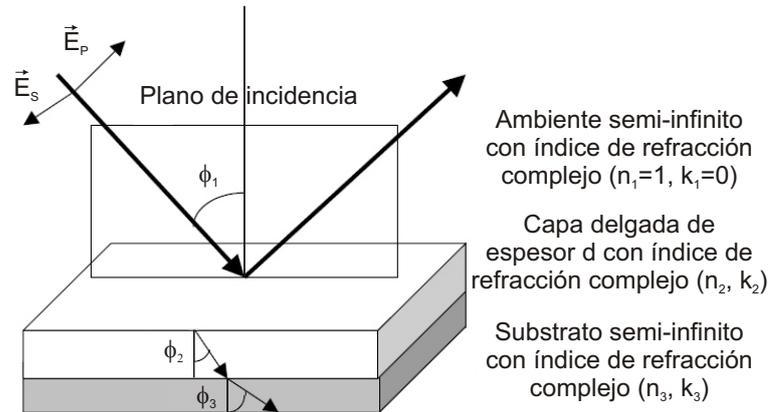
Existen algunas ventajas que debemos mencionar. Primero, la elipsometría es una técnica absoluta, es decir, no se requiere de un haz de referencia y permite determinar espesores de hasta un angstrom ( $1\text{\AA}$ ) si  $n$  y  $k$  son conocidos. Además, la dependencia

de  $n$  y  $k$  con múltiples longitudes de onda puede medirse utilizando una fuente de luz no coherente como una lámpara de Xe.

El experimento usual de elipsometría consiste en medir  $\psi$  y  $\Delta$  para un conjunto de ángulos de incidencia y longitudes de onda. Después se construye un modelo físico y matemático donde una cierta cantidad de parámetros se modifica para ajustar los datos experimentales en un proceso iterativo. Al finalizar el ajuste, se obtienen el índice de refracción, el coeficiente de extinción y, en el caso de capas delgadas, el espesor.

### 3.1.1 Fundamentos de la elipsometría

Comencemos hablando de las ondas electromagnéticas. Éstas se describen completamente por los vectores  $\vec{E}$ ,  $\vec{D}$ ,  $\vec{H}$  y  $\vec{B}$ , que están interrelacionados por las ecuaciones de Maxwell y las relaciones constitutivas del material. En esta subsección nos focalizaremos en el vector de campo eléctrico,  $\vec{E}(\vec{r}_0, t)$ . La luz es una onda transversal, es decir, se propaga en una dirección, digamos  $\hat{z}$ , y vibra en el plano perpendicular, el  $\hat{x}$ - $\hat{y}$ . La luz elípticamente polarizada es el caso más general para ondas monocromáticas, lo cual significa que  $\vec{E}(\vec{r}_0, t)$  describe una elipse en el tiempo para una posición particular,  $\vec{r}_0$ .



**Figura 3.2:** Sistema de referencia convencional para elipsometría compuesto por tres capas: ambiente semi-infinito con índice de refracción complejo  $\vec{n}_1$  (en el caso del aire  $\vec{n}_1 = (1, 0)$ ), una capa delgada de índice de refracción  $\vec{n}_2$  y espesor  $d$  y un substrato semi-infinito con índice de refracción  $\vec{n}_3$ . Indicamos la definición de las polarizaciones  $P$  y  $S$  y los ángulos relevantes de la geometría.

La elipsometría usualmente se lleva a cabo en una muestra depositada sobre un substrato. Por ello, de ahora en adelante nos concentraremos en sistemas de tres capas formados por el ambiente (semi-infinito), una capa delgada de espesor  $d$  y un substrato semi-infinito. Mostramos el sistema de referencia convencional en la Fig. 3.2. El campo eléctrico,  $\vec{E}(\vec{r}_0, t)$ , puede descomponerse en dos vectores independientes. El primero, llamado  $\vec{E}_P(\vec{r}_0, t)$  o paralelo, está comprendido en el plano de incidencia, el cual es normal a la superficie de la muestra. Normal a dicho plano encontramos al otro vector,  $\vec{E}_S(\vec{r}_0, t)$ ,

el cual es paralelo a las interfaces.<sup>2</sup> Una onda plana que incide con un ángulo  $\phi_1$  en este sistema dará como resultado una onda reflejada en el ambiente con un ángulo  $-\phi_1$  y una onda transmitida en el *film* con un ángulo  $\phi_2$ . La onda transmitida acumulará al atravesar la capa delgada una fase  $\beta$ :

$$\beta = 2\pi \frac{d}{\lambda} [\vec{n}_2 \cos(\phi_2)], \quad (3.1)$$

donde  $\vec{n}_2$  es el índice de refracción complejo (supuesto isotrópico) del film. La onda transmitida sufrirá reflexiones múltiples en las dos interfaces que resultarán en la interferencia de ondas múltiples. Es posible relacionar la amplitud de la onda plana incidente con la transmitida y reflejada resultantes. Esto se logra mediante la suma de las contribuciones de las reflexiones múltiples a través de dos series geométricas infinitas. La amplitud total reflejada para las polarizaciones  $P$  y  $S$ ,  $R_P$  y  $R_S$  respectivamente, están dadas por:

$$R_P = \frac{r_{12P} + r_{23P} e^{-i2\beta}}{1 + r_{12P} r_{23P} e^{-i2\beta}}, \quad R_S = \frac{r_{12S} + r_{23S} e^{-i2\beta}}{1 + r_{12S} r_{23S} e^{-i2\beta}}, \quad (3.2)$$

donde  $\beta$  es el mismo para las dos polarizaciones y  $r_{12P}$ ,  $r_{23P}$ ,  $r_{12S}$  y  $r_{23S}$  son los coeficientes de reflexión de Fresnel involucrados en un sistema ambiente-film-substrato:

$$r_{12P} = \frac{\vec{n}_2 \cos \phi_1 - \vec{n}_1 \cos \phi_2}{\vec{n}_2 \cos \phi_1 + \vec{n}_1 \cos \phi_2}, \quad r_{12S} = \frac{\vec{n}_1 \cos \phi_1 - \vec{n}_2 \cos \phi_2}{\vec{n}_1 \cos \phi_1 + \vec{n}_2 \cos \phi_2}, \quad (3.3)$$

$$r_{23P} = \frac{\vec{n}_3 \cos \phi_2 - \vec{n}_2 \cos \phi_3}{\vec{n}_3 \cos \phi_2 + \vec{n}_2 \cos \phi_3}, \quad r_{23S} = \frac{\vec{n}_2 \cos \phi_2 - \vec{n}_3 \cos \phi_3}{\vec{n}_2 \cos \phi_2 + \vec{n}_3 \cos \phi_3}. \quad (3.4)$$

Los coeficientes de reflexión total pueden escribirse en términos de sus valores y ángulos absolutos:

$$R_P = |R_P| e^{i\Delta_{rP}}, \quad R_S = |R_S| e^{i\Delta_{rS}}, \quad (3.5)$$

$|R_P|$  y  $\Delta_{rP}$  representan la atenuación de amplitud y el corrimiento de fase, respectivamente, de la luz  $P$ -polarizada que es reflejada por la capa delgada sobre el substrato. Análogos significados tienen  $|R_S|$  y  $\Delta_{rS}$  en el caso de polarización  $S$ .

La elipsometría se basa en el hecho de que ambas polarizaciones,  $S$  y  $P$ , son reflejadas de maneras diferentes, como se puede ver al reemplazar 3.3 y 3.4 en 3.2. De las mediciones de las polarizaciones incidentes y reflejadas, determinamos el cociente:

$$\rho = \frac{R_P}{R_S}, \quad (3.6)$$

entre los coeficientes de amplitud de reflexión complejos para las polarizaciones  $P$  y  $S$  del sistema ambiente-film-substrato. Entonces las dos cantidades medidas en elipsometría de reflexión, los ángulos  $\psi$  y  $\Delta$ , pueden definirse en términos de estos coeficientes:

$$\tan(\psi) = \frac{|R_P|}{|R_S|}, \quad \Delta = \Delta_{rP} - \Delta_{rS}. \quad (3.7)$$

<sup>2</sup>Las letras  $P$  y  $S$  son las iniciales de las palabras en alemán *parallel* y *senkrecht* que significan paralelo y perpendicular, respectivamente.

Básicamente, la elipsometría de reflexión mide la función:<sup>3</sup>

$$\tan(\psi) e^{i\Delta} = \frac{r_{12P} + r_{23P} e^{-i2\beta}}{1 + r_{12P} r_{23P} e^{-i2\beta}} \frac{1 + r_{12S} r_{23S} e^{-i2\beta}}{r_{12S} + r_{23S} e^{-i2\beta}} = \rho(\vec{n}_1, \vec{n}_2, \vec{n}_3, d, \phi_1, \lambda). \quad (3.8)$$

A pesar de que la función  $\rho$  pueda parecer simple en la ecuación 3.8, debemos recordar que es una ecuación no lineal con múltiples soluciones y no tiene una inversión única general para obtener el índice de refracción complejo del film,  $\vec{n}_2$ , y su espesor,  $d$ . Entonces, en el caso general,  $\rho$  depende explícitamente de nueve variables reales: los índices de refracción y los coeficientes de extinción del ambiente ( $n_1, k_1$ ), del film ( $n_2, k_2$ ) y del sustrato ( $n_3, k_3$ ), el espesor del film ( $d$ ), el ángulo de incidencia ( $\phi_1$ ) y la longitud de onda ( $\lambda$ ). Entonces, con la función  $\rho$ , conociendo  $\vec{n}_1$  y  $\vec{n}_3$  y mediante la implementación de modelos físicos y matemáticos podemos obtener, en principio, el valor del índice de refracción complejo del film,  $\vec{n}_2$ , y su espesor,  $d$ .

Para finalizar, una vez obtenido  $\vec{n}_2$  y  $d$ , podemos calcular el espectro de absorción del film, es decir, tenemos la posibilidad de conocer la función dieléctrica y la absorción de una película delgada depositada sobre un sustrato opaco, lo cual es imposible con experimentos de absorción UV-Vis.

### 3.1.2 Esquema experimental para elipsometría

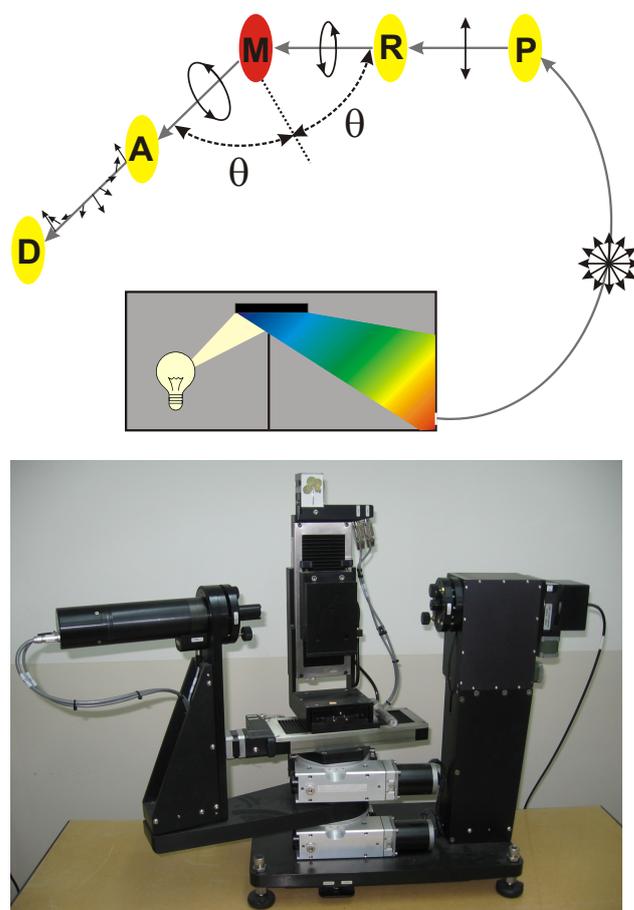
Mostramos en la Fig. 3.3 el esquema (arriba) y la fotografía (abajo) del elipsómetro espectroscópico de ángulo variable Woollam WVASE32 con el que trabajamos.

La luz proviene de una fuente de luz blanca, lámpara de Xe, es monocromatizada en un espectómetro doble que permite seleccionar un ancho de banda típicamente de  $0.5nm$ . Luego es introducida en una fibra óptica y polarizada linealmente al atravesar un polarizador,  $P$ , para luego ser polarizada elípticamente dentro de un retardador,  $R$ . La luz resultante incide con un ángulo  $\theta$  sobre la muestra que ensayamos focalizada en un *spot* de  $1mm$  de diámetro que puede reducirse a  $100\mu m$  si utilizamos las lentes de focalización. La diferente dependencia funcional que poseen los coeficientes de Fresnel para las reflexiones en polarizaciones S y P hacen que la luz reflejada en un ángulo  $2\theta$  cambie su estado de elipticidad. Luego, la luz pasa a través de un analizador rotante,  $A$ , que polariza linealmente la luz a diferentes ángulos en función del tiempo. Posteriormente, la luz llega a un detector,  $D$ , que convierte la intensidad de luz en una señal eléctrica que es procesada por una computadora para extraer los ángulos elipsométricos  $\psi$  y  $\Delta$ .

## 3.2 Procesos de interacción radiación-moléculas

Queremos modelar los procesos que sufren las moléculas, en particular los electrones y átomos que la conforman, cuando interactúan con la luz. Para ello vamos a considerar un

<sup>3</sup>Para una descripción detallada de cómo obtener los ángulos elipsométricos a partir de las mediciones y demás detalles teóricos consultar **Spectroscopic ellipsometry and reflectometry** de *H. G. Tompkins & W. A. McGahan*. [38]



**Figura 3.3:** Arriba: esquema del elipsómetro espectroscópico de ángulo variable *Woolam WVASE32*. La luz proviene de una fuente de luz blanca, lámpara de Xe, es monocromatizada en un espectómetro y polarizada linealmente con un polarizador, *P*, para luego ser polarizada elípticamente en un retardador, *R*. La luz resultante incide con un ángulo  $\theta$  sobre la muestra que ensayamos y la diferente dependencia funcional de los coeficientes de Fresnel para las reflexiones en polarizaciones S y P hacen que la luz reflejada en un ángulo  $2\theta$  cambie su estado de elipticidad. Luego, la luz pasa a través de un analizador rotante, *A*, que polariza linealmente la luz pero para diferentes ángulos en función del tiempo. Finalmente la luz llega a un detector, *D*, que proporciona una señal eléctrica que procesa una computadora. Abajo: fotografía del elipsómetro espectroscópico de ángulo variable *Woollam WVASE32*

Hamiltoniano constituido por tres términos:

$$H = H_R + H_M + H_{R-M}, \quad (3.9)$$

donde  $H_R$  representa el hamiltoniano debido a la *radiación* (fotones),  $H_M$  es el de la *molécula* (vibrones) y  $H_{R-M}$  es el correspondiente a la *interacción* entre ambos sistemas. Suponemos que este último es una perturbación pequeña y que por ello no modifica los autoestados de los sistemas por separado (fotones y vibrones), por lo que las funciones de

onda de los estados resultantes son el producto de ambos.

### 3.3 Absorciones ópticas en moléculas

Los procesos de absorción involucran la destrucción de fotones, con la consecuente promoción de un estado vibrónico a un estado excitado. Si el campo electromagnético es chico podemos hacer un tratamiento perturbativo a primer orden del último término del hamiltoniano 3.9, por lo que los autoestados del sistema serán producto directo de los estados de  $H_R$  y  $H_M$ . La probabilidad de transición por unidad de tiempo de un estado vibrónico inicial  $|I\rangle$  a otro  $|F\rangle$  puede ser calculada mediante perturbaciones dependientes del tiempo a primer orden (regla de oro de Fermi) [39–41] como:

$$P_{I \rightarrow F} = \frac{2\pi}{\hbar} |\langle F | H_{R-M} | I \rangle|^2 \rho(E_F) \delta(E_F - E_I), \quad (3.10)$$

donde  $\rho$  es la densidad de estados y  $E_F$  y  $E_I$  son las energías de los estados finales e iniciales, respectivamente. De aquí se deduce que la intensidad de absorción es proporcional a:

$$\mathbf{I}_{abs} \propto \mathbf{I}_0 (M_\sigma)_{IF}^2 \rho(E_{\psi_F}) \delta(E_{\psi_F} - E_{\psi_I} - E_0), \quad (3.11)$$

donde  $\mathbf{I}_0$  es la intensidad de luz incidente,  $E_0$  su energía y  $(M_\sigma)_{IF}$  se refiere a la amplitud del momento de transición entre los estados vibrónicos inicial y final que están caracterizados por funciones de onda  $\psi_I$  y  $\psi_F$  y energías  $E_{\psi_I}$  y  $E_{\psi_F}$ , respectivamente. Aquí  $\sigma$  es un índice que puede tomar los valores  $x, y$  y  $z$  correspondientes a un sistema de coordenadas fijo en la molécula. Esta amplitud de momento de transición se puede calcular de la siguiente forma:

$$(M_\sigma)_{IF} = \int \psi_F^* m_\sigma \psi_I d\tau, \quad (3.12)$$

donde  $m_\sigma$  es la  $\sigma$ -ésima componente del operador de momento eléctrico.<sup>4</sup>

Si utilizamos la aproximación de *Born-Oppenheimer* (Ec. 2.1), dado un estado vibrónico ahora necesitamos dos subíndices para identificarlo. Tomemos  $I = gi$  (estado electrónico  $g$  (fundamental) y vibracional  $i$ ) y  $F = ek$ . La Ec. 3.12 cambia a:

$$(M_\sigma)_{gi,ek} = \int (\theta_e \phi_k^e)^* m_\sigma (\theta_g \phi_i^g) d\xi dQ. \quad (3.13)$$

Integrando sobre las coordenadas electrónicas obtenemos:

$$(M_\sigma)_{gi,ek} = \int (\phi_k^e)^* (\mathcal{M}_\sigma(Q))_{g,e} (\phi_i^g) dQ, \quad (3.14)$$

donde:

$$(\mathcal{M}_\sigma(Q))_{g,e} = \int \theta_e^* m_\sigma \theta_g d\xi, \quad (3.15)$$

<sup>4</sup>Ver Apéndice B para obtener la expresión de  $m_\sigma$ .

es la expresión para el momento de transición electrónica para una configuración nuclear  $Q$ .

Finalmente, la probabilidad de absorción, Ec. 3.11, resultará en:

$$\mathbf{I}_{abs} \propto \mathbf{I}_0 (M_\sigma)_{gi,ek} \delta(E_{ek} - E_{gi} - E_0), \quad (3.16)$$

donde  $E_{ek}$  y  $E_{gi}$  son las energías de los estados vibrónicos  $ek$  y  $gi$ , respectivamente. Debemos observar que la restricción  $\delta(E_{ek} - E_{gi} - E_0)$  nos dice que dependiendo de la energía de nuestro fotón incidente podemos excitar transiciones puramente electrónicas ( $e \neq g$  y  $k = i$ ), netamente vibraciones ( $e = g$  y  $k \neq i$ ) o combinaciones de ellas ( $e \neq g$  y  $k \neq i$ ). Debido a que las energías de las transiciones vibracionales en moléculas ronda las decenas e incluso centenas de milielectronVolts ( $meV$ ), estas se verán con fotones con longitudes de onda que rondan la decena de micrones, dando lugar a la *absorción infra-roja* (IR). Por otra parte las transiciones electrónicas en moléculas ronda los electronVolts ( $eV$ ) por lo que se estudiarán con fotones con longitudes de onda en el rango de las centenas de nanometros, introduciendo la *absorción ultra-violeta visible* (UV-Vis). Notamos que estas absorciones pueden estar moduladas por subestructuras vibracionales como mostramos y discutimos en la Fig. 2.8. De aquí se deduce que las absorciones UV-Vis e IR dan información complementaria y dependen fuertemente del rango espectral de emisión de la fuente de luz para su implementación.

Definimos la transmitancia,  $\mathbf{T}$ , para una dada longitud de onda,  $\lambda$ , como

$$\mathbf{T}(\lambda) = \frac{\mathbf{I}_{tr}(\lambda)}{\mathbf{I}_0(\lambda)}, \quad (3.17)$$

donde  $\mathbf{I}_0$  es la intensidad de luz incidente e  $\mathbf{I}_{tr}$  es la intensidad de luz transmitida. Similarmente, la absorbancia,  $\mathbf{A}$ , para una dada longitud de onda se obtiene utilizando la ecuación de *Beer-Lambert*:[\[37\]](#)

$$\mathbf{A}(\lambda) = -\ln \left( \frac{\mathbf{I}_{tr}(\lambda)}{\mathbf{I}_0(\lambda)} \right) = \alpha d, \quad (3.18)$$

donde  $\alpha$  es el coeficiente de absorción y  $d$  es el espesor de la muestra. Finalmente, un gráfico de absorbancia en función de la longitud de onda incidente arroja un espectro de absorción.

### 3.3.1 Esquema experimental para espectroscopía de absorción UV-vis

Los experimentos de absorción los realizamos utilizando el elipsómetro espectroscópico de ángulo variable que describimos en detalle en la Sec. 3.1.2. Básicamente es una fuente de luz (lámpara de Xe) colimada que hace incidir luz monocromática y polarizada sobre una muestra para luego detectar con un fotodiodo la intensidad de luz transmitida. Finalmente, utilizando la Ec. 3.18 podemos despejar el coeficiente de absorción.

### 3.4 Dispersión de luz en moléculas

Supongamos que una molécula, inicialmente en el estado vibrónico  $I$ , es perturbada por una onda plana polarizada de luz incidente de frecuencia  $\nu_0$  e intensidad  $\mathbf{I}_0$ , causando que pase al estado vibrónico  $F$  mientras que la luz dispersada tiene frecuencia  $\nu_0 + \nu_{IF}$  ( $\nu_{IF} = \nu_I \pm \nu_F$ <sup>5</sup>). Este tipo de procesos necesita dos instancias de *interacción fotón-vibrón*<sup>6</sup> descrita por el hamiltoniano  $H_{R-M}$  propuesto en la Sec. 3.2, por lo que estaremos trabajando con una teoría a segundo orden en perturbaciones. Por lo tanto, la amplitud de probabilidad para la transición  $I \rightarrow F$  estará representada por el elemento de matriz  $\rho\sigma$  del tensor de polarizabilidad,  $(\alpha_{\rho\sigma})_{IF}$ , dado por:[42]

$$(\alpha_{\rho\sigma})_{IF} = \frac{1}{h} \sum_R \left( \frac{(M_\rho)_{RF} (M_\sigma)_{IR}}{\nu_{RI} - \nu_0} + \frac{(M_\rho)_{IR} (M_\sigma)_{RF}}{\nu_{RF} + \nu_0} \right), \quad (3.19)$$

donde  $h$  es la constante de Planck y la suma recorre estados vibrónicos intermedios de la molécula. Aquí  $(M_\rho)_{RF}$ ,  $(M_\sigma)_{IR}$ , etc., se refieren a las amplitudes escalares de los correspondientes momentos de transición introducidos en la sección anterior.

La intensidad total de luz dispersada en un ángulo sólido de  $4\pi$ , después de promediar sobre todas las orientaciones de la molécula, es:

$$\mathbf{I}_{IF} = \frac{2^7 \pi^5}{3^2 c^4} \mathbf{I}_0 (\nu_0 + \nu_{IF})^4 \sum_{\rho,\sigma} |(\alpha_{\rho\sigma})_{IF}|^2, \quad (3.20)$$

donde  $c$  es la velocidad de la luz y la suma se realiza sobre  $\rho = x, y, z$  y  $\sigma = x, y, z$  las cuales se refieren independientemente a los sistemas de coordenadas fijos a la molécula.

Si utilizamos la aproximación de *Born-Oppenheimer* (ecuación 2.1) haciendo  $I = gi$  (estado electrónico  $g$  y estado vibracional  $i$ ),  $R = ek$  y  $F = gj$ , donde  $g$  siempre representa al estado electrónico fundamental, la ecuación 3.19 se lee:

$$(\alpha_{\rho\sigma})_{gi,gj} = \frac{1}{h} \sum_{ek} \left( \frac{(M_\rho)_{ek,gj} (M_\sigma)_{gi,ek}}{\nu_{ek,gi} - \nu_0} + \frac{(M_\rho)_{gi,ek} (M_\sigma)_{ek,gj}}{\nu_{ek,gj} + \nu_0} \right), \quad (3.21)$$

con:

$$(M_\rho)_{gi,ek} = \int (\theta_e \phi_k^e)^* m_\rho (\theta_g \phi_i^g) d\xi dQ = \int (\phi_k^e)^* (\mathcal{M}_\rho(Q))_{g,e} (\phi_i^g) dQ, \quad (3.22)$$

donde:

$$(\mathcal{M}_\rho(Q))_{g,e} = \int \theta_e^* m_\rho \theta_g d\xi. \quad (3.23)$$

A esta altura de la teoría de dispersión es usual expandir  $(\mathcal{M}_\rho(Q))_{g,e}$  en serie de Taylor en el desplazamiento nuclear  $Q$ . Por lo tanto:

$$\mathcal{M}_{g,e} = \mathcal{M}_{g,e}^0 + \sum_s \lambda_{es}(Q) \mathcal{M}_{g,s}^0, \quad (3.24)$$

<sup>5</sup>El signo + corresponde a procesos de dispersión denominados Anti-Stokes, mientras que el - se refiere a procesos tipo Stokes.

<sup>6</sup>Una para la absorción del fotón incidente y otra para la emisión del fotón dispersado.

donde a primer orden en  $Q$ :

$$\lambda_{es}(Q) = \left( \sum_a h_{es}^a Q_a \right) (\Delta E_{es}^0)^{-1}, \quad (3.25)$$

a partir de la teoría de perturbaciones a primer orden. La suma en la ecuación 3.24 se extiende sobre todos los estados electrónicos excitados (excepto  $e$ ) y  $\mathcal{M}_{g,s}^0$  es el momento de transición electrónica hacia el estado  $s$  evaluado para la configuración de equilibrio del estado fundamental  $g$ . Si  $\mathcal{H}$  es el Hamiltoniano electrónico entonces sus energías y el operador de perturbación son respectivamente:

$$\Delta E_{es}^0 = E_e^0 - E_s^0, \quad h_{es}^a = \left\langle e \left| \left( \frac{\partial \mathcal{H}}{\partial Q_a} \right)_0 \right| s \right\rangle, \quad (3.26)$$

y la suma de la ecuación 3.25 recorre los modos normales  $a$  de la molécula.

### 3.4.1 Espectroscopía Raman

### 3.4.2 Efecto Raman no resonante

Si la energía de la luz incidente es mucho menor que la energía entre niveles vibrónicos, es decir  $\nu_{ek,gi} \gg \nu_0$ , decimos que estamos fuera de resonancia y es posible reemplazar sin serios errores  $\nu_{ek,gi}$  por:

$$\nu_{ek,gi} \sim \nu_{e,g} = \frac{1}{h} (E_e^0 - E_g^0) \equiv \nu_e. \quad (3.27)$$

Con esta aproximación y utilizando todo el desarrollo anterior podemos llevar la expresión 3.21 a la siguiente forma:<sup>7</sup>

$$(\alpha_{\rho,\sigma})_{gi,gj} = A + B, \quad (3.28)$$

$$A = \frac{1}{h} \sum_e \left( \frac{2\nu_e}{\nu_e^2 - \nu^2} \right) (\mathcal{M}_\rho)_{g,e}^0 (\mathcal{M}_\sigma)_{g,e}^0 (gi|gj), \quad (3.29)$$

$$B = \frac{-2}{h^2} \sum_{s>e} \sum_a \left( \frac{(\nu_e \nu_s + \nu_0^2) h_{es}^a}{(\nu_e^2 - \nu_0^2)(\nu_s^2 - \nu_0^2)} \right) ((\mathcal{M}_\rho)_{g,e}^0 (\mathcal{M}_\sigma)_{g,s}^0 + (\mathcal{M}_\rho)_{g,s}^0 (\mathcal{M}_\sigma)_{g,e}^0) (gi|Q_a|gj), \quad (3.30)$$

conocida como los términos  $A$  y  $B$  de Albrecht, donde  $|gi\rangle = \phi_i^g$  es la  $i$ -ésima función de onda vibracional del estado electrónico  $g$  y se cumple que:

$$(gi|Q_a|gj) = \begin{cases} 0 & \text{si } v_a^j \neq v_a^i \pm 1, \\ [(v_a^i + 1)/8 \pi^2 \nu_a]^{1/2} & \text{si } v_a^j = v_a^i + 1, \\ [v_a^i/8 \pi^2 \nu_a]^{1/2} & \text{si } v_a^j = v_a^i - 1, \end{cases} \quad (3.31)$$

con  $v_a^i$  igual a la excitación vibracional  $i$  del modo  $a$ .

De acuerdo a la ecuación 3.29 vemos que  $A$  se anula por ortogonalidad de los estados vibracionales cuando  $i \neq j$  y por ello es responsable de la dispersión sin excitación vibracional o dispersión Rayleigh. Al mismo tiempo la expresión para  $B$  (ecuación 3.30) es la única responsable por la dispersión de luz por vibraciones fuera de resonancia, ya

<sup>7</sup>Ver Ref. [42] o [43] para más detalles en el desarrollo de la teoría de dispersión de luz.

que se anula siempre que  $v_a^j \neq v_a^i \pm 1$ . Esta condición es necesaria pero no suficiente para que  $B$  no se anule, también se requiere que  $h_{es}^a$  ni tampoco las componentes apropiadas de  $\mathcal{M}_{g,e}^0$  y  $\mathcal{M}_{g,s}^0$  sean cero. Estas condiciones adicionales son la base de las reglas de selección Raman. Notamos que en la expresión para la intensidad Raman, Eq. 3.21, la amplitud del momento de transición aparece dos veces  $((M_\rho)_{ek,gj}(M_\sigma)_{gi,ek})$ , mientras que en la expresión correspondiente a la intensidad de absorción, Ec. 3.16, lo hace sólo una vez  $((M_\sigma)_{gi,ek})$ . Esto hace que los requerimientos para las relaciones de paridad (si esto es una simetría de la molécula) entre los estados iniciales y finales en cada uno de estos procesos sean distintos, dando lugar a reglas de selección complementarias para espectroscopías de absorción IR y de dispersión Raman.

### 3.4.3 Efecto Raman resonante

Cuando la energía de la luz incidente se acerca a la de las transiciones vibrónicas, es decir  $\nu_0 \sim \nu_{ek,gi}$ , la ecuación 3.21 deja de ser estrictamente válida al igual que la aproximación 3.27. En este caso, hacemos una corrección por amortiguamiento o *damping* agregando un término adicional a los denominadores de frecuencia. Sin hacer desarrollos vamos a adoptar la forma modificada para la ecuación 3.21 dada por Behringer:[44]

$$(\alpha_{\rho\sigma})_{gi,gj} = \frac{1}{\hbar} \sum_{ek} \left( \frac{(M_\rho)_{ek,gj}(M_\sigma)_{gi,ek}}{\nu_{ek,gi} - \nu_0 + i\gamma'_e} + \frac{(M_\rho)_{gi,ek}(M_\sigma)_{ek,gj}}{\nu_{ek,gj} + \nu_0 + i\gamma'_e} \right), \quad (3.32)$$

donde  $\gamma'_e$  es la constante de *damping* del estado electrónico  $e$ . Es decir, es una medida de la vida media de  $e$  debido a los términos no incluidos en este nivel de perturbaciones. Vemos que en la ecuación 3.32 sólo el primer término es resonante cuando  $\nu_0 \sim \nu_{ek,gi}$ . Por ello la segunda parte de esta ecuación puede ser ignorada y sólo el estado excitado  $e$  resonante que se quiere estudiar necesita ser considerado en la suma. Luego de introducir las expresiones para las amplitudes de transición como hicimos anteriormente, obtenemos a primer orden en el desplazamiento nuclear  $Q$  que:

$$(\alpha_{\rho,\sigma})_{gi,gj} = A' + B', \quad (3.33)$$

$$A' = \frac{1}{\hbar} \sum_k \left( \frac{(M_\rho)_{g,e}^0 (M_\sigma)_{g,e}^0 (gi|ek)(ek|gj)}{\nu_{ek,gi} - \nu_0 + i\gamma'_e} \right), \quad (3.34)$$

$$B' = \frac{-1}{\hbar^2} \sum_k \sum_s \sum_a h_{es}^a \left( \frac{(M_\rho)_{g,e}^0 (M_\sigma)_{g,s}^0 (gj|ek)(ek|Q_a|gi) + (M_\rho)_{g,s}^0 (M_\sigma)_{g,e}^0 (gi|ek)(ek|Q_a|gj)}{(\nu_{ek,gi} - \nu_0 + i\gamma'_e)(\nu_s - \nu_e)} \right), \quad (3.35)$$

donde  $e$  se refiere al estado electrónico en resonancia o cercano a ésta.

Consideraciones cualitativas de las ecuaciones 3.33-3.35 revelan diferencias interesantes respecto a las ecuaciones 3.28-3.30. Primero vemos que como las funciones de onda vibracionales de los estados electrónicos  $e$  y  $g$  no son soluciones de la misma ecuación de Schrödinger, entonces el término “Rayleigh”  $A'$  puede ser responsable de la dispersión Raman[45] (si  $i \neq j$ ,  $(gi|ek)(ek|gj)$  no necesariamente se anula). Similarmente la dispersión Rayleigh puede deberse en parte al término  $B'$  porque ni  $(gi|Q_a|ek)(ek|gj)$  y tampoco  $(gi|ek)(ek|Q_a|gj)$  son necesariamente cero si  $i = j$ . Notar que en la ecuación 3.35 aparece un nuevo denominador,  $(\nu_s - \nu_e)$ , que favorece explícitamente la interacción entre los

estados excitados  $s$  y  $e$  más cercanos.

Existen al menos dos alternativas para simplificar las ecuaciones 3.33-3.35, para así poder modelar y obtener información de datos experimentales. Una de ellas es la conocida como *aproximación de Herzberg-Teller*, [46] mientras que la segunda es la denominada *separación armónica multidimensional*. [42] Para ilustrar los procesos involucrados nosotros nos limitaremos a describir sólo la primera de ellas.

### Aproximación de Herzberg-Teller

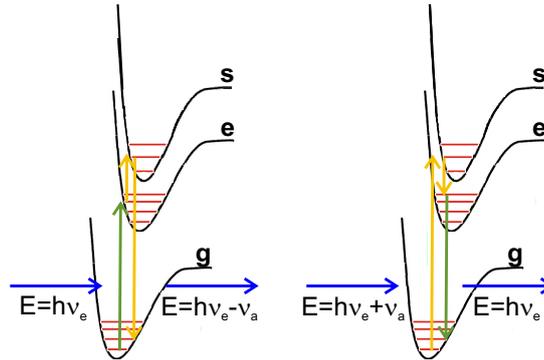
Podemos realizar una hipótesis extrema para física de moléculas pero muy usual en física del estado sólido que consiste en suponer *iguales ecuaciones de Schrödinger para los estados electrónicos  $e$  y  $g$* . [46] De esta manera la ecuación 3.34 no contribuye al Raman y en la ecuación 3.35 la suma sobre  $v$  arroja sólo dos términos distintos de cero, que son  $k = j$  y  $k = i$  (porque en este caso  $(gi|ek) = \delta_{ik}$  y  $(gj|ek) = \delta_{jk}$ ). Utilizando la ecuación 3.31 y el elemento de matriz diagonal del tensor de polarizabilidad ( $\sigma = \rho$ ) obtenemos:

$$(\alpha_{\rho,\rho})_{gi,gj} = \frac{-1}{\hbar^2} \sum_s \sum_a \frac{h_{es}^a (\mathcal{M}_\rho)_{g,e}^0 (\mathcal{M}_\rho)_{g,s}^0}{\nu_s - \nu_e} \left( \frac{1}{\nu_e - \nu_0 + \nu_a + i\gamma'_e} + \frac{1}{\nu_e - \nu_0 + i\gamma'_e} \right), \quad (3.36)$$

que es la ecuación de *Herzberg-Teller* para la componente diagonal de polarizabilidad en resonancia Raman. Esta ecuación permite identificar dos tipos de resonancias que involucran transiciones reales y virtuales. El primer término representa a la resonancia *outgoing* ( $k = j$ ), es decir, el fotón saliente tiene la misma energía que la de la transición electrónica ( $\nu_0 - \nu_a = \nu_e$ ), mientras que el segundo término es el relacionado con la resonancia *incoming* ( $k = i$ ), o sea, ahora el fotón incidente es el que se sintoniza con la transición electrónica ( $\nu_0 = \nu_e$ ). En la Fig. 3.4 mostramos un esquema de las resonancias *incoming* y *outgoing* e identificamos las transiciones reales y virtuales involucradas en cada caso.

#### 3.4.4 Espectroscopía SERS: introducción a la teoría y fenomenología

En 1974 Fleischman, Hendra y McQuillan observaron un inesperado aumento de la intensidad Raman en la señal proveniente de piridina depositada sobre un electrodo de plata rugoso. [2] El efecto fue denominado *Surface Enhanced Raman Scattering*, *SERS*. En 1979 Creighton, Blatchford y Albrecht midieron scattering Raman amplificado a partir de piridina en una solución acuosa de coloides de oro y plata. [47] Estos experimentos dieron la primer demostración experimental contundente del importante rol que tienen las resonancias de plasmones en el SERS. Por otra parte, desde los comienzos del SERS era bastante claro que no había un solo mecanismo responsable de la amplificación y que más de un efecto diferente debía contribuir al incremento observado en la señal Raman en experimentos donde las moléculas medidas estaban adsorbidas en diferentes sustratos llamados *SERS activos*. Los tipos más comunes de sustratos SERS activos y que exhiben

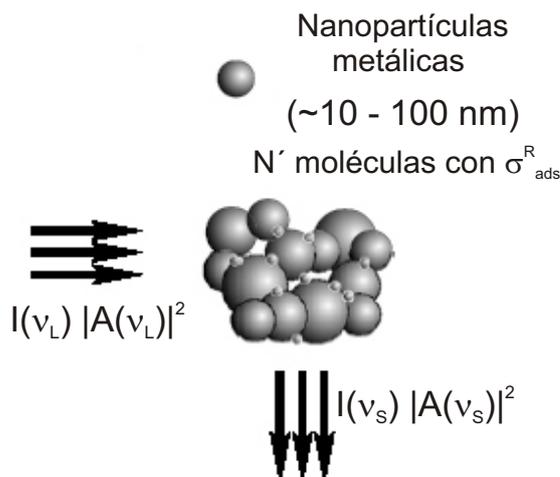


**Figura 3.4:** Esquema de las resonancias *incomming* ( $k = i$ ) a la izquierda y *outgoing* ( $k = j$ ) a la derecha. Los estados electrónicos  $g$ ,  $e$  y  $s$  son el fundamental y los dos primeros excitados, respectivamente. Cada uno de ellos tiene representados algunos niveles vibracionales con líneas rojas. Las flechas azules indican los fotones incidentes y dispersados (o Raman). Las flechas amarillas representan procesos virtuales, mientras que las verdes hacen lo propio con las transiciones reales, las responsables de las resonancias.

las mayores amplificaciones son los coloides de partículas de plata y oro con tamaños entre los 10 y 100nm.[6] Pronto los investigadores comenzaron a depositar estos coloides en superficies a través de autoensamblados realizados por métodos de deposición capa por capa,[7] y empezaron a manipularlos logrando por ejemplo arreglos ordenados bidimensionales de nanopartículas de Au por autoensamblados químicos[8] o a través de litografías electrónicas.[9] Además fueron exitosos en manipular su entorno, creciendo nanopartículas tipo *core-shell*,[10] y también en cambiar su forma arbitrariamente.[11] Así mismo, existen otros substratos que se fueron desarrollando tanto para profundizar en el entendimiento del efecto SERS como para tratar de encontrar parámetros de control. Los films metálicos sobre nanoesferas[12] y las nanocavidades metálicas ordenadas[13] son algunos de estos exponentes.

En la Fig. 3.5 mostramos el esquema de un experimento SERS. Las moléculas están adsorbidas en la superficie de la nanoestructura metálica (en el esquema un coloide de partículas metálicas esféricas).

En scattering Raman, la señal Raman total  $P(\nu_s)$  es proporcional a la sección eficaz Raman,  $\sigma_{libres}^R$ , la intensidad de la excitación láser,  $I(\nu_L)$ , y el número de moléculas en el volumen de análisis,  $N$ . En SERS, es generalmente aceptado que más de un efecto contribuye a la amplificación total observada en la señal Raman. Los mecanismos de amplificación están diferenciados en los llamados efectos “de amplificación por campo electromagnético” y “químico” o “electrónico de la primera capa”. [3, 48] En la fórmula para estimar la potencia SERS de la Fig. 3.5, estas dos contribuciones están expresadas por los factores de amplificación de campo  $A(\nu_L)$  para el láser y  $A(\nu_s)$  para el campo Raman dispersado, y por la sección eficaz Raman  $\sigma_{ads}^R$  de las moléculas adsorbidas, incrementada



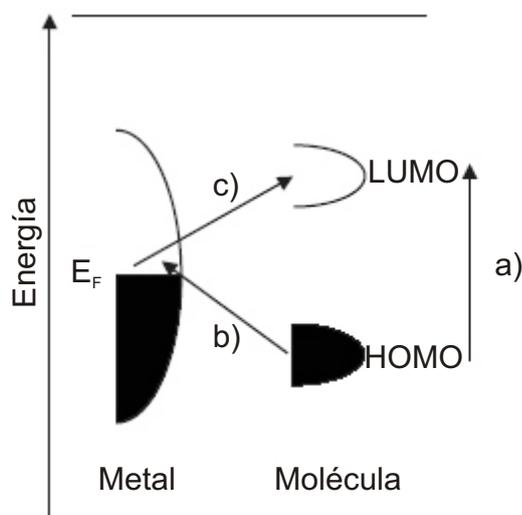
**Figura 3.5:** Esquema básico para *Surface Enhanced Raman Scattering* utilizando coloides de nanopartículas metálicas, tomado de la Ref. [4]. Ver texto para la explicación.

comparada con la sección eficaz en experimentos de Raman “normal”,  $\sigma_{libres}^R$ .  $N'$  es el número de moléculas involucradas en el proceso SERS y puede ser mucho menor que el número de moléculas en el volumen analizado,  $N$ . En experimentos SERS, como en experimentos Raman “normales”, la potencia dispersada es proporcional a la potencia cuarta de la frecuencia de la luz dispersada. A pesar de esto, la fuerte dependencia de los factores de amplificación de campo  $A(\nu_L)$  y  $A(\nu_S)$  y las resonancias en  $\sigma_{ads}^R$  dominan y determinan la dependencia general en frecuencia de la señal SERS. Discutimos algunas ideas del origen de estos dos mecanismos de amplificación en las siguientes subsecciones.

### 3.4.5 Amplificación “química”

El efecto SERS “químico” o “electrónico” incluye mecanismos de amplificación de la señal Raman que están relacionados a interacciones específicas como por ejemplo, el acoplamiento electrónico entre la molécula y el metal, resultando en un aumento de la sección eficaz Raman  $\sigma_{ads}^R$  de las moléculas adsorbidas respecto de las que están libres,  $\sigma_{libres}^R$ . Como esta interacción electrónica requiere un contacto cercano entre la molécula y el metal, el efecto está restringido a las moléculas que se encuentran en la primera capa sobre el metal. Posiblemente los mecanismos electrónicos del SERS involucren un efecto de resonancia Raman, el cual se torna operativo debido a los corrimientos o ensanchamientos de los niveles electrónicos de las moléculas adsorbidas respecto de las que están libres o también debido a una nueva transición electrónica de transferencia de carga en el sistema metal-molécula. [48, 49] La Fig. 3.6 muestra un típico diagrama de niveles de energía para un sistema metal-molécula, donde las energías de los estados HOMO y LUMO están aproximadamente simétricos relativos al nivel de Fermi del metal. La Fig. 3.6 además muestra posibles procesos de resonancia Raman que involucran a los estados moleculares solamente

(camino *a*), o a los estados moleculares y metálicos (camino *b*). Otto sugiere una ampli-



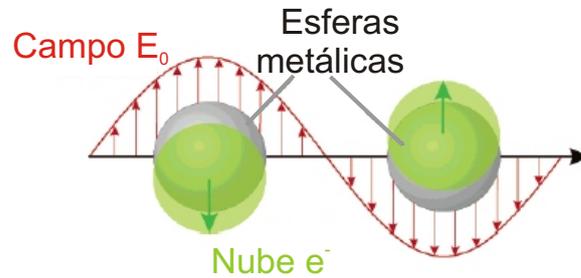
**Figura 3.6:** Diagrama de niveles de energía típico para una molécula adsorbida en una superficie metálica, tomado de la Ref. [50]. Mostramos las posibles excitaciones de transferencia de carga.

ficación SERS química basada en la transferencia de carga entre el metal y la molécula, el cual puede describirse con los siguientes cuatro pasos:[48] *i*) aniquilación de un fotón y excitación de un electrón a un estado electrónico *caliente*, *ii*) transferencia del electrón *caliente* dentro del estado molecular LUMO, *iii*) Cambio de las coordenadas normales de alguna vibración interna molecular y transferencia del electrón *caliente* desde el estado LUMO volviendo al metal, *iv*) regreso del electrón a su estado inicial y la creación de un fotón Raman. La existencia de rugosidad a escala atómica, creando los llamados centros SERS-activos, parece jugar un importante rol proveyendo los caminos para el intercambio de electrones entre el metal y la molécula. En algunos experimentos, el agregado de sales parece incrementar la amplificación química a partir de que los iones pueden proveer los denominados sitios activos.[51] La magnitud de la amplificación química ha sido estimada en factores que llegan a 10 o 100 como máximo, y es obvio que con sólo este efecto no se puede alcanzar los máximos valores experimentales para la amplificación SERS que rondan  $10^8$ - $10^{14}$ .<sup>8</sup>[4, 50, 52] Por otra parte, observaciones experimentales como amplificación SERS en superficies metálicas lisas, dependencia del factor de amplificación con el potencial del electrodo, y corrimientos en el nivel de Fermi, son indicadores de que una amplificación “química” debe también ser operativa.[3, 48]

<sup>8</sup>Existen discrepancias para el valor de amplificación SERS necesario para observar moléculas individuales. Aunque el trabajo de P. G. Etchegoin *et al.* de la Ref. [52] aborda este aspecto detalladamente, nosotros citamos los valores reportados por diferentes autores.

### 3.4.6 Amplificación de “campo electromagnético”

Cuando una nanopartícula metálica esférica pequeña es irradiada con luz, el campo eléctrico oscilante genera sobre los electrones de conducción una oscilación coherente, un *polaritón plasmónico superficial localizado* LSP. Esto está esquemáticamente representado en la Fig. 3.7. Cuando la nube de electrones es desplazada relativa al núcleo, una fuerza de restitución aparece por la atracción Coulombiana entre electrones y núcleos y resulta en una nube de electrones oscilante relativa al marco nuclear. La frecuencia de oscilación está determinada por cuatro factores: la densidad de electrones, la masa efectiva de los electrones, y la forma y tamaño de la distribución de carga. Como siempre, no es difícil relacionar la frecuencia del plasmón con la constante dieléctrica del metal, la cual es una propiedad que se puede medir como función de la longitud de onda en metales *bulk*.<sup>9</sup>



**Figura 3.7:** Esquema de la oscilación de plasmones para una esfera metálica en un campo eléctrico oscilante, tomado de la Ref. [11]. Mostramos el desplazamiento relativo al núcleo de la nube de carga formada por los electrones de conducción.

Para llevar adelante esta relación, consideramos la interacción de la luz con una partícula esférica que es mucho más chica que la longitud de onda de la luz. Bajo estas circunstancias, el campo eléctrico puede tomarse constante, y la interacción es gobernada por la electrostática en vez de la electrodinámica. Este es el caso de la aproximación conocida como cuasiestática, al tiempo que usamos la dependencia con la longitud de onda de la constante dieléctrica del metal *bulk*,  $\epsilon_i$ , para la partícula metálica y la del medio que la rodea,  $\epsilon_0$ .

Denotemos al campo eléctrico de la onda electromagnética incidente con el vector  $\vec{E}_0$ . Tomaremos este vector constante en la dirección  $x$ , así que  $\vec{E}_0 = E_0 \hat{x}$ , donde  $\hat{x}$  es el vector unidad. Para determinar el campo electromagnético que rodea a la partícula, resolvemos la ecuación de Laplace,  $\nabla^2 \varphi = 0$ , donde  $\varphi$  es el potencial eléctrico y está relacionado con el campo eléctrico por  $E = -\nabla \varphi$ . Para encontrar la solución, imponemos dos condiciones de contorno: *i)*  $\varphi$  es continua en la superficie de la esfera y *ii)* la componente normal del desplazamiento eléctrico  $\vec{D}$  es también continuo, donde  $\vec{D} = \epsilon \vec{E}$ .

No es difícil demostrar que la solución general de la ecuación de Laplace en esta geometría tiene soluciones angulares que son sólo los armónicos esféricos. Además, las solu-

<sup>9</sup>Ver Apéndice A

ciones radiales son de la forma  $r^l$  y  $r^{-(l+1)}$ , donde  $l$  es el familiar nombre para los momentos angulares de los orbitales moleculares ( $l = 0, 1, 2$ ). Si nos restringimos sólo a la solución con  $l = 1$  (aproximación dipolar) y utilizamos las condiciones de bordes antes mencionadas para  $\varphi$  obtenemos la siguiente expresión para el campo eléctrico,  $E(\nu)$ , en función de la frecuencia  $\nu$  fuera de la esfera:

$$\vec{E}(\nu) = E_0(\nu)\hat{x} - \alpha(\nu)E_0(\nu) \left[ \frac{\hat{x}}{r^3} - \frac{3x(x\hat{x} + y\hat{y} + z\hat{z})}{r^5} \right], \quad (3.37)$$

donde  $\alpha$  es la polarizabilidad de la esfera y  $\hat{x}$ ,  $\hat{y}$  y  $\hat{z}$  son los vectores unidad usuales. Notamos que el primer término de la Ec. 3.37 es el campo aplicado y el segundo es el campo dipolar inducido (con momento dipolar  $\alpha E_0$ ) que resulta de la polarización de la densidad de electrones de conducción.<sup>10</sup>

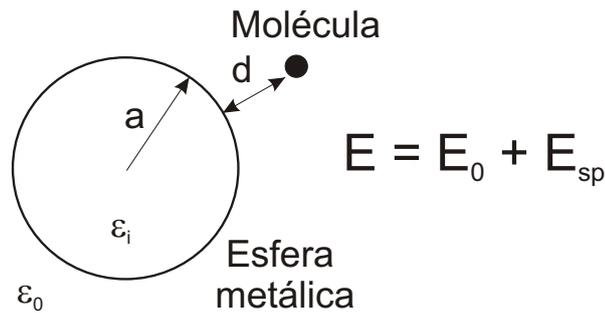
Para la esfera con constante dieléctrica indicada arriba, la solución a la ecuación de Laplace muestra que la polarizabilidad es:

$$\alpha(\nu) = g_d(\nu) a^3, \quad (3.38)$$

con:

$$g_d(\nu) = \frac{\epsilon_i(\nu) - \epsilon_0}{\epsilon_i(\nu) + 2\epsilon_0}. \quad (3.39)$$

Vemos que el factor  $g_d(\nu)$  juega un papel importante para determinar la dependencia en intensidad del campo dipolar eléctrico con la frecuencia  $\nu$  de la onda incidente debido a que la constante dieléctrica del metal,  $\epsilon_i(\nu)$ , depende fuertemente de la frecuencia de la luz incidente.<sup>11</sup>



**Figura 3.8:** Esquema de los conceptos y campos involucrados de la amplificación SERS electromagnética para un sistema compuesto por una nanopartícula metálica de radio  $a$  y una molécula situada a una distancia  $d$  (tomado de la Ref. [50]).

<sup>10</sup>En la expresión 3.37 el campo dipolar es para un dipolo estático, la solución más completa a la ecuación de Maxwell muestra que este es un dipolo radiante. Para más información ver el trabajo de L. Kelly *et al*[11]

<sup>11</sup>Esta aproximación sobre la nanopartícula donde extendemos el valor de la constante dieléctrica del metal *bulk* es válida siempre que el tamaño característico de la nanopartícula sea superior a los  $\sim 10$  nm.[3]

Entonces, si acercamos una molécula a una distancia  $d$  de la nanopartícula metálica (Fig. 3.8), esta se encontrará sometida a un campo electromagnético que puede aproximarse por:

$$E(\nu) = E_0(\nu) + E_{sp}(\nu) = E_0(\nu) + a^3 \frac{\epsilon_i(\nu) - \epsilon_0}{\epsilon_i(\nu) + 2\epsilon_0} E_0(\nu) \frac{1}{(a+d)^3}, \quad (3.40)$$

donde  $E_{sp}(\nu)$  es el campo eléctrico producido por el dipolo puntual centrado en la nanopartícula que ve la molécula. Este campo es particularmente fuerte cuando  $\epsilon_i(\nu) = -2\epsilon_0$ . Esta condición corresponde a la frecuencia de resonancia del plasmón dipolar de la partícula metálica esférica,  $\nu_p$ . Adicionalmente, para una fuerte amplificación electromagnética, la parte imaginaria del índice de refracción debe ser lo más chica posible. De manera análoga a lo hecho para el campo láser (incidente), el campo dispersado puede sufrir una amplificación si está en resonancia con los plasmones superficiales de la esfera metálica.

Se definen los factores de amplificación electromagnética como el cociente entre el campo total  $E = E_0 + E_{sp}$  y el incidente  $E_0$ :

$$A(\nu) = \frac{E(\nu)}{E_0(\nu)}. \quad (3.41)$$

Si las frecuencias del láser y la del haz dispersado están en resonancia con las de los plasmones dipolares, es decir si estudiamos vibraciones poco energéticas, obtenemos como factor de amplificación electromagnética,  $G_{em}(\nu_s)$ , la siguiente expresión:

$$G_{em}(\nu_s) = |A(\nu_L)|^2 |A(\nu_s)|^2 \sim \left| \frac{\epsilon_i(\nu_L) - \epsilon_0}{\epsilon_i(\nu_L) + 2\epsilon_0} \right|^2 \left| \frac{\epsilon_i(\nu_s) - \epsilon_0}{\epsilon_i(\nu_s) + 2\epsilon_0} \right|^2 \left| \frac{a}{a+d} \right|^{12}. \quad (3.42)$$

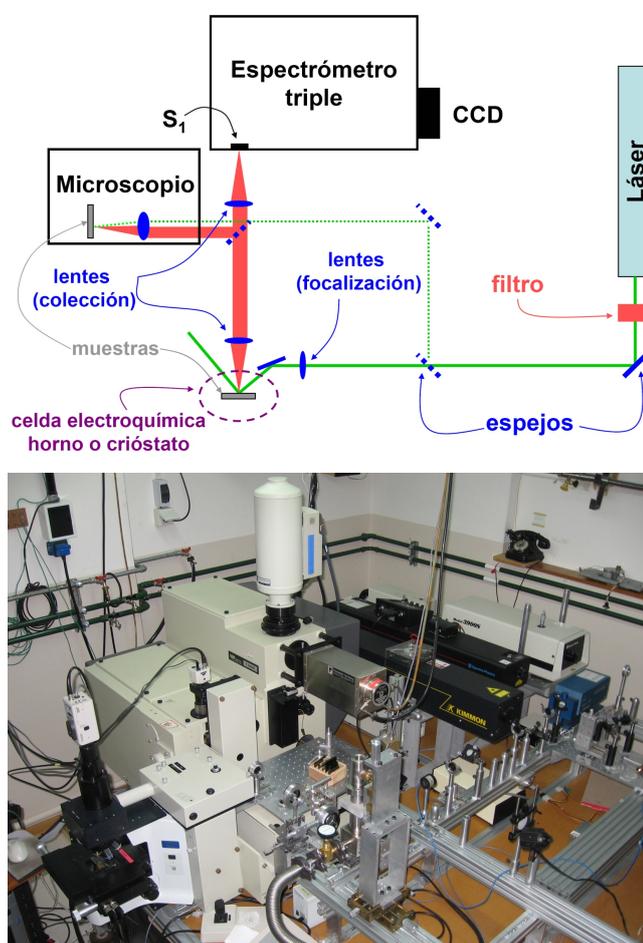
Esta fórmula basada en un modelo muy simple describe las más importantes propiedades y peculiaridades de la amplificación electromagnética SERS. Mostramos que la amplificación escala con la cuarta potencia del campo local de la nanopartícula metálica y que es particularmente fuerte cuando la excitación y el campo dispersado están en resonancia con la resonancia de plasmones. La amplificación SERS electromagnética no requiere de contacto directo entre la molécula y el metal y la Ec. 3.42 describe la dependencia en distancia de la amplificación electromagnética, la cual decae como la inversa de la distancia entre el dipolo y la molécula a la potencia doceava.

En general, la frecuencia de resonancia de plasmones dipolares en partículas y también los factores de amplificación de campo electromagnético dependen del tamaño, forma, y por supuesto, del material de las nanopartículas metálicas y su ambiente. La teoría predice fuertes amplificaciones de campo en estructuras agudas, y regiones de grandes curvaturas, por ejemplo en esferoides y nanopartículas triangulares.[11] Además, partículas interactuantes poco espaciadas pueden proveer una amplificación extra de campo, particularmente cerca de la separación entre las dos nanopartículas, lo que se denomina un *hot spot*. Cálculos computacionales utilizando el método de *Aproximación Dipolar Discreta*, DDA, muestran que las resonancias de plasmones dipolares interactuantes se corren al rojo en

energía y simultáneamente son las que participan en las mayores concentraciones de campo electromagnético.[53]<sup>12</sup>

### 3.4.7 Esquema experimental para espectroscopía Raman

Para realizar las mediciones Raman que mostramos a lo largo de este trabajo utilizamos el equipo experimental que mostramos en la Fig. 3.9. Las fuentes de excitación pueden ser seleccionadas para cubrir diferentes regiones espectrales, un láser de Ti-Zafiro que permite sintonizar la longitud de onda  $\lambda$  de manera continua entre 690 y 1000nm (NIR), otro de Ar-Kr con 16 líneas discretas ajustables,  $\lambda$  entre 450 y 676nm (Vis) y un tercero de He-Cd con una única línea a  $\lambda = 325\text{nm}$  (NUV).



**Figura 3.9:** Esquema (arriba) y fotografía (abajo) del dispositivo experimental conformado por el espectrómetro triple *Jobin-Yvon T64000* equipado con microscopio confocal, los láseres de Ti-Zafiro, Ar-Kr y He-Cd utilizados para las mediciones de dispersión Raman.

En la configuración denominada “macro” conducimos el haz láser mediante espejos y

<sup>12</sup>Lo discutiremos en la Sec. 49

lentes hacia una lente de focalización que genera un *spot* de entre  $\sim 10$  y  $100\mu m$  sobre la muestra que estamos estudiando. Otra lente, llamada de colección, toma la luz emitida o dispersada, para conducirla y focalizarla dentro del espectrómetro. De igual manera se procede en la configuración “micro”, con la salvedad de que las lentes de focalización y de colección son el mismo objetivo del microscopio. Este microscopio permite realizar *spots* de entre  $0.5\mu m$  y  $10\mu m$  de diámetro y controlar con motores paso a paso la posición  $x-y-z$  de la muestra con una sensibilidad de  $0.1\mu m$ . Las excitaciones estudiadas por medio de espectroscopía Raman pueden ir desde un par de décimas de  $meV$  hasta algunos cientos  $meV$ , por ello el pico Raman puede estar muy próximo a la energía de la fuente. Por otra parte el pico de dispersión elástica puede ser 7 órdenes de magnitud mayor en intensidad que el pico Raman. Estas dos condiciones imponen la necesidad de usar un espectrómetro capaz de resolver espectralmente con buena precisión y además tener la capacidad de “filtrar” la luz espúrea (eliminar la dispersión elástica). Para ello contamos con un espectrómetro *Jobin-Yvon T64000*, que posee tres etapas de dispersión de luz y se lo puede usar de dos maneras. En modo *aditivo*, donde cada etapa en serie resuelve espectralmente y mejora la resolución, o en modo *sustractivo*, aquí funciona como un monocromador simple pero donde las dos primeras etapas actúan como un filtro para el láser regulable en longitud de onda. Luego de que la luz es resuelta espectralmente, la colectamos con una CCD (*charge couple device*) de alta resolución y bajo ruido electrónico (un electrón por hora), enfriada por  $N_2$  líquido.

## Capítulo 4

# Técnicas electroquímicas

En este capítulo introducimos una técnica que relaciona fenómenos químicos y eléctricos, la electroquímica. Esta nos permite realizar dos tipos de procesos diferentes: por un lado podemos modificar la estructura electrónica de nuestros sistemas moleculares cambiando su estado de oxidación y haciéndolos funcionar como “cables moleculares”, y por otra parte, nos proporciona la capacidad de nanoestructurar superficies, ya sea por oxidación de la misma o por electrodeposición de un metal.

### 4.1 Introducción a la electroquímica

La electroquímica es una rama de la química dedicada al estudio de la interrelación entre fenómenos químicos y eléctricos. Una gran parte de este campo estudia los cambios químicos causados por el paso de una corriente y la producción de energía eléctrica a partir de reacciones químicas. En esta sección describiremos los principios básicos de la técnica, la aplicación de algunos métodos electroquímicos para el estudio de diferentes sistemas, en particular autoensamblados con moléculas redox, y la utilización de esta herramienta para la nanoestructuración de superficies metálicas.

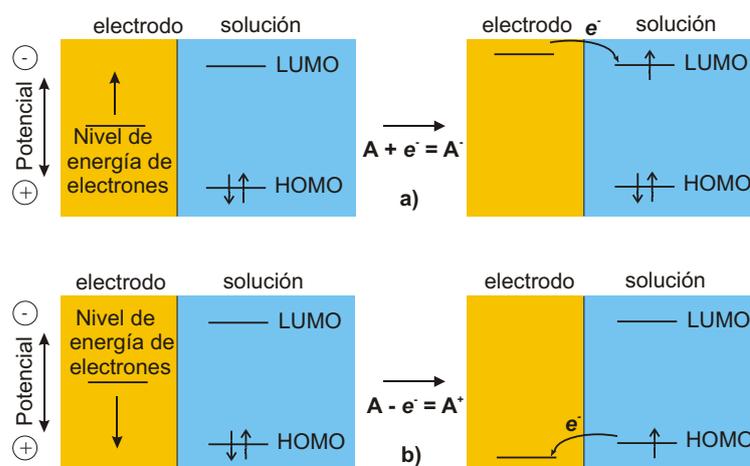
#### 4.1.1 Reacciones y celdas electroquímicas

Cuando hablamos de sistemas electroquímicos nos ocupamos de los procesos y factores que afectan al transporte de cargas a través de interfases químicas, por ejemplo, entre un conductor electrónico (electrodo) y un conductor iónico (electrolito). En nuestro caso nos ocupamos de los procesos que ocurren en un electrodo autoensamblado con moléculas redox y en su interfase con el electrolito, al tiempo que aplicamos un potencial eléctrico y circula corriente.

Es natural pensar primero en eventos sobre una sola interface, pero en realidad no contamos con sistemas aislados. Por ello, estudiamos propiedades de una colección de interfaces llamadas *celda electroquímica*. Este sistema se define generalmente como dos electrodos separados por una fase electrolítica con suficientemente baja resistencia para permitir el pasaje de cargas.



Entonces, como el electrodo de referencia tiene una composición constante, el potencial queda fijado. De esta manera cualquier cambio en la celda es atribuido al electrodo de trabajo. Dijimos que observar o controlar el potencial del electrodo de trabajo *con respecto al de* referencia es equivalente a observar o controlar la energía de los electrones del electrodo de trabajo. Llevando al electrodo a un potencial más negativo (conectándolo a una fuente de tensión) aumentamos la energía de los electrones y estos pueden alcanzar un nivel suficientemente alto para transferirse a vacancias en los estados electrónicos de las especies en el electrolito. El proceso inverso se logra con una conexión a un potencial positivo (Fig. 4.2).



**Figura 4.2:** Representación de procesos de a) reducción y b) oxidación de la especie  $A$  en solución. Los orbitales moleculares de la especie  $A$  que mostramos representan al último ocupado, HOMO, y al primero desocupado, LUMO.

Consideremos un experimento típico de electroquímica donde el electrodo de trabajo y el de referencia están sumergidos en una solución, y la diferencia de potencial entre ellos puede ser variada a través de una fuente externa (Fig. 4.1). La variación de potencial,  $E$ , puede producir una corriente eléctrica,  $I$ , en el circuito externo, porque hay electrones que cruzan la interfase *electrodo/solución* cuando ocurre la reacción<sup>1</sup>. El número de electrones que cruza la interfase está relacionado estequiométricamente con la reacción química (reactivos consumidos y productos generados) y es medido en términos de la carga total,  $Q$ , que pasa por el circuito. La relación entre carga y cantidad de producto formado está dado por la *ley de Faraday*, y dice que el pasaje de  $96485,4 C$  causan 1 equivalente de reacción (*e.g.*, el consumo de 1 mol de reactivo o la generación de 1 mol de producto en una reacción de un electrón). La corriente,  $I$ , es la tasa de flujo de carga y podemos graficarla en función del potencial aplicado. Estas curvas corriente-potencial ( $I$  vs.  $E$ ) junto con la ley de Faraday brindan mucha información sobre la naturaleza de la solución

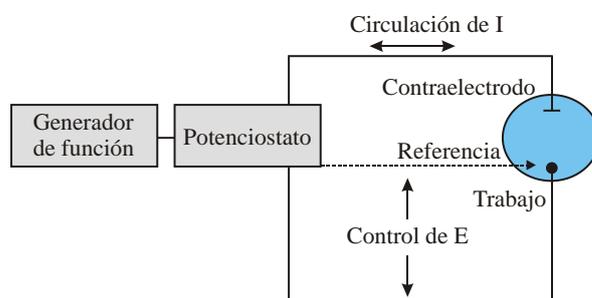
<sup>1</sup>Si la corriente de electrones es suficientemente alta la composición del electrodo de referencia puede cambiar, para evitarlo se utiliza un tercer electrodo, el *contraelectrodo*, que posee menor impedancia y es por donde pasan las cargas.

y del electrodo y sobre las reacciones que ocurren en las interfaces.

Las reacciones como las que acabamos de describir, donde sólo hay transferencia de carga a través de la interface metal-solución y ocurren reacciones de oxidación-reducción, se denominan *faradaicas* por estar gobernadas principalmente por la ley de Faraday.

#### 4.1.2 Métodos voltamperométricos

En la Fig. 4.3 mostramos un esquema básico del dispositivo para realizar mediciones voltamperométricas, es decir, medir curvas  $I$  vs.  $E$ . Un instrumento llamado potenciostato controla la tensión entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo de manera de ajustar la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y el de referencia hasta alcanzar el valor requerido por el generador de función. Esto lo logra a través de un circuito realimentado de alta impedancia. Podemos entender al potenciostato como un elemento activo que fuerza al electrodo de trabajo a alcanzar el potencial deseado respecto al de referencia sin importar la corriente necesaria que deba proveer. Como el potencial y la corriente están relacionados funcionalmente, la corriente es única. Químicamente, es el flujo de electrones necesario para mantener electroquímicamente activo al proceso con una evolución consistente con el potencial. Por esto, la respuesta del potenciostato, la corriente, es el observable experimental. En la siguiente sección mostraremos el diseño de un potenciostato y profundizaremos en la descripción de su funcionamiento.



**Figura 4.3:** Arreglo experimental para experiencias electroquímicas con potenciales controlados.

La primer perturbación que se nos ocurre realizarle al sistema es utilizar un escalón de potencial y observar la evolución de la corriente. Este tipo de voltamperometría se conoce como *cronoamperometría* porque registra la evolución de la corriente en función del tiempo y brinda sobre todo información sobre los tiempos característicos de las reacciones y fenómenos de transporte.

Otra manera de perturbar al sistema es mediante un potencial que varía linealmente con el tiempo utilizando una rampa de tensión. Usualmente se utilizan velocidades de barrido que van desde algunos  $mV/s$  hasta los  $V/s$ . Aquí se registra la corriente en función del potencial aplicado (o tiempo) y se la conoce por el nombre de *voltamperometría lineal*.

Por último, hablaremos de la *voltamperometría cíclica*, que es una técnica reversible en el barrido de potencial (una doble voltamperometría lineal). Esta voltamperometría se ha

vuelto muy popular para estudios preliminares en sistemas nuevos y provee información sobre reacciones complejas que ocurren en los electrodos.

### 4.1.3 Voltamperometría y nanoestructuración de sustratos

Otra manera de explotar las potencialidades de la voltamperometría está relacionada con la nanoestructuración de superficies metálicas mediante dos procesos alternativos: la oxidoreducción violenta de una superficie metálica o el electrodeposición metálica.

#### Rugosado electroquímico

El primero de los procesos consiste en rugosar una superficie metálica. Para lograr este cometido aplicamos, para el caso del Au, un potencial de oxidación relativamente alto ( $2.4V$  vs. Ag/AgCl) en una solución de  $H_2SO_4$   $0.5M$  durante unos 10 minutos. Este procedimiento genera una gruesa capa de óxido de Au hidratado que luego se electro-reduce lentamente llevándolo a un potencial negativo de  $-0.6V$  utilizando una velocidad de barrido de  $0.02V/s$ .<sup>[54]</sup> La superficie que resulta de este procedimiento consiste en un fractal de nanopartículas de Au que rondan los  $20-200nm$  y el incremento que generalmente se alcanza en el área del electrodo oscila entre 20 y 100 veces.<sup>2</sup>

#### Electrodeposición metálica

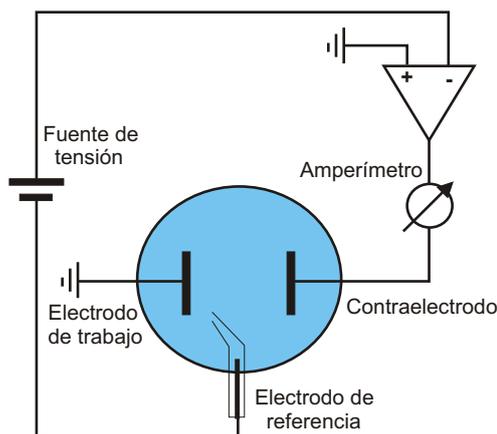
Una técnica electroquímica alternativa para nanoestructurar superficies metálicas consiste en electrodepositar metales. En nuestro caso particular realizamos electrodeposiciones de Au y Ag en superficies de Au que cuentan con un molde de esferas de latex ensamblado sobre ellas, por lo que la estructura resultante es un negativo del molde ensamblado, i.e. cavidades metálicas esféricas (el metal depositado llena los intersticios que deja el molde de látex). Este procedimiento requiere de un electrolito que tenga disuelto una sal del metal que queremos depositar, así por ejemplo una sal de  $HAuCl_4$  nos permite tener iones  $Au^{+4}$  que podremos depositar como Au metálico. El proceso por el cual el metal se deposita consiste en que al polarizar con una tensión  $V$  al electrodo de trabajo (negativamente para el Au) los iones metálicos de carga opuesta se acercan a este para finalmente recibir la cantidad de electrones necesarias para pasar al estado metálico (generando una corriente  $I$ ) y adherirse al metal de la superficie del electrodo de trabajo. Notar que no es necesario que este electrodo sea del mismo metal que pretendemos depositar, así podemos nanoestructurar, por ejemplo, una superficie de Au tanto con Au como con Ag.

---

<sup>2</sup>El incremento en el área se mide comparando la carga comprendida dentro del pico de electro-reducción del AuO que resulta de realizar voltamperometrías cíclicas para la superficie de Au antes y después del proceso de rugosado entre  $0V$  y  $1.6V$  vs. Ag/AgCl a  $0.1V/s$  en una solución de  $H_2SO_4$   $0.5M$ .

## 4.2 Dispositivos experimentales

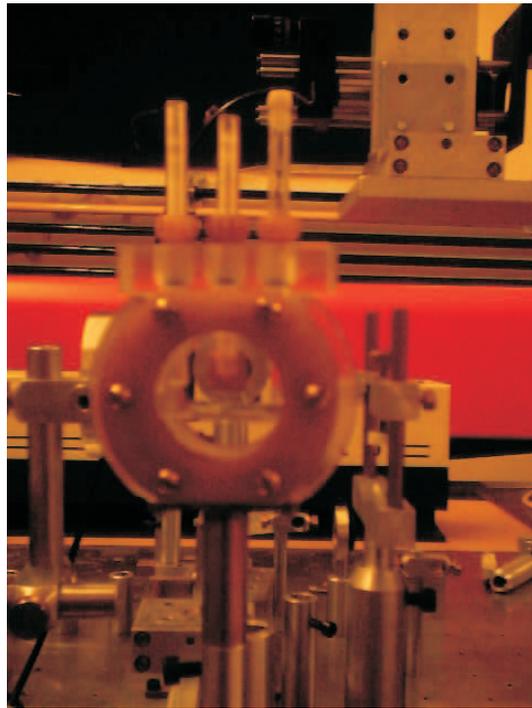
Para realizar los experimentos electroquímicos con espectroscopía Raman *in-situ* que presentaremos en los próximos capítulos utilizamos el arreglo experimental de la Sec. 3.4.7 donde además agregamos una celda electroquímica con un potenciostato y un generador de onda. En la Fig. 4.4 mostramos el esquema electrónico básico de un potenciostato.



**Figura 4.4:** Esquema de un potenciostato y celda electroquímica. El electrodo de trabajo está conectado a masa, mientras que el electrodo de referencia (de alta impedancia) está conectado a través de una fuente de tensión a la entrada negativa de un operacional. Este último tiene la entrada positiva conectada a masa (generando una tierra virtual en la entrada negativa) y la salida está unida al contraelectrodo. Esta configuración permite fijar la tensión entre los electrodos de trabajo y referencia haciendo circular corriente por el contraelectrodo.

Podemos entender el funcionamiento del potenciostato diciendo que el electrodo de trabajo está conectado a masa, el electrodo de referencia está conectado a través de una fuente de tensión a la entrada negativa de un operacional. Este último tiene la entrada positiva conectada a masa (generando una tierra virtual en la entrada negativa) y la salida está unida al contraelectrodo. La tensión que aplica la fuente sobre el electrodo de referencia (que tiene gran impedancia de entrada) hace que aparezca una corriente eléctrica entre los electrodos de trabajo y contraelectrodo. De esta manera, permite fijar el valor de potencial entre los electrodos de trabajo y referencia.

En la Fig. 4.5 mostramos una foto de la celda electroquímica que construimos para realizar los experimentos. Esta tiene en cuenta algunos aspectos importantes para nuestras experiencias. Posee dos ventanas ópticas que permiten realizar tanto experiencias Raman como de transmisión óptica. La distancia entre los electrodos de trabajo y referencia es pequeña para minimizar caídas de tensión resistivas en el electrolito. El contraelectrodo es una red de platino de  $1 \text{ cm}^2$ , que se corresponde con un tamaño comparable al de las muestras autoensambladas, permitiendo que la velocidad de las reacciones sólo tengan una dependencia intrínseca. El electrodo de referencia es un electrodo de Ag/AgCl/KCl



**Figura 4.5:** Fotografía de la celda electroquímica que construimos para realizar experimentos ópticos *in-situ*.

saturado en agua dentro de una ampolla de vidrio. Esta tiene una punta porosa de alta impedancia que permite sólo el intercambio de iones necesario para modificar los potenciales.



## Capítulo 5

# SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

En este capítulo estudiamos la respuesta plasmónica de sustratos de Au rugosados electroquímicamente. Para ello usamos como sonda al azul de metileno (MB) ensamblado en diferentes entornos o espaciadores químicos: monocapas autoensambladas de azufre, tioles metálicos, tioles carboxílicos y finalmente membranas de fosfolípidos. Estos sistemas nos motivaron a analizar la interacción del MB con su entorno. En este sentido utilizamos la dependencia que tiene la amplificación SERS con la distancia para determinar la posición aproximada en la que el MB se ensambla en los diferentes espaciadores químicos y estudiamos cómo cambia la respuesta electroquímica de la molécula según este entorno. Estos últimos son puntos centrales para entender los procesos de transferencia de carga en sistemas biomiméticos y para el posterior desarrollo de biosensores y elementos electrónicos eficientes basados en moléculas orgánicas.

### 5.1 Alternativas para obtener sustratos de Au rugosos

En esta sección estudiamos la respuesta SERS de nanoestructuras metálicas crecidas por un método desarrollado por el grupo del Dr. R. C. Salvarezza del INIFTA - UNLP<sup>1</sup> por el cual logran “congelar”, utilizando ensamblados moleculares, la superficie de sustratos de Au rugosados electroquímicamente en diferentes estadios de rugosidad que alcanzan durante su normal proceso de decaimiento y relajación.

#### 5.1.1 Muestras

Trabajamos sobre dos tipos de sustratos rugosos que se diferencian solamente por el proceso de relajación posterior al rugosado. Comenzamos rugosando los sustratos de Au

---

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas de la Universidad Nacional de La Plata

## 62 SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

con el método expuesto en la Sec. 4.1.3, logrando una estructuración con nanopartículas de  $\sim 20 - 200nm$  de diámetro. Luego realizamos dos procedimientos alternativos. El primero de ellos consiste en dejar relajar la nanoestructura durante  $24h$  inmersa en un baño de  $H_2O$  y luego sumergirla en una solución acuosa de  $Na_2S$   $3mM$  durante  $30min$  para que se forme una monocapa de azufre (S) sobre la superficie de Au. La segunda opción es análoga a la primera omitiendo el paso por el baño de  $H_2O$  durante las  $24h$ . Estos caminos alternativos logran, en el primero de los casos, que la rugosidad del sustrato de Au relaje lentamente y disminuya cuando está inmerso en  $H_2O$  hasta que se lo sumerge en la solución de  $Na_2S$ . En esta instancia, y al igual de lo que le ocurre al segundo de los sustratos, la estructura ordenada de S que se forma sobre las superficies de Au hace que los procesos de relajación por reacomodamiento de átomos de Au no se puedan llevar a cabo, por lo que la rugosidad de las superficies de Au queda “congelada” en el estadio en el cual se encuentra en ese momento. De esta manera existe una diferencia en la rugosidad de los sustratos que puede variar entre 2 y 50 veces dependiendo de la geometría del mismo y la rugosidad inicial.[55]

La posterior inmovilización de moléculas de MB en las superficies de Au modificadas se lleva a cabo por inmersión durante  $30min$  en una solución acuosa  $0.1mM$  de MB +  $0.1M$  de NaOH.[56, 57] Luego las muestras son enjuagadas con agua y secadas con un flujo de nitrógeno gaseoso.

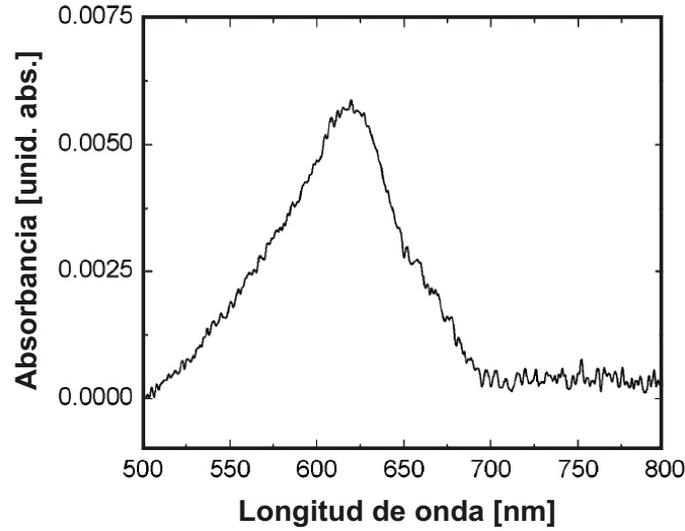
### 5.1.2 Resultados y discusión

Para caracterizar la respuesta plasmónica y SERS de los sustratos rugosos utilizando una molécula sonda debemos ser capaces de descomponer, a partir de nuestros resultados, las contribuciones originadas por los plasmones, de aquellas producidas por las resonancias electrónicas de las moléculas. Las secciones eficaces Raman del complejo S-Au, al igual que la de los tioles, son por lo general mucho más chicas que la de los colorantes o *dyes* cuando la excitación láser se encuentra en la región visible sintonizando procesos de resonancia o pre-resonancia electrónica (ver Sec. 3.4.3). Por ello nuestra sonda tendrá una contribución casi excluyente en la señal Raman. En la Fig. 5.1 presentamos el espectro de absorción del MB. Observamos un máximo centrado en  $\sim 600nm$  que muestra la región espectral donde podrán aparecer procesos de amplificación Raman debido a resonancias electrónicas.

Realizamos experimentos Raman con MB inmovilizado sobre sustratos de oro liso, Au(111), oro rugoso decaído,  $Au_{rug}$ , y oro rugoso no decaído,  $Au_{rug}^{ND}$ , todos modificados con S. En la Fig. 5.2 mostramos los espectros típicos tomados con la línea láser de  $647.1nm$ . Los espectros A, B y C corresponden a MB ensamblado en S sobre superficies de Au(111) ( $R = 1$ ),  $Au_{rug}$  ( $R = 4.5$ ) y  $Au_{rug}^{ND}$  ( $R = 20$ ), donde  $R$  es el factor de rugosidad del sustrato.<sup>2</sup> Para la escala que utilizamos en la Fig. 5.2 los picos Raman del MB sobre Au(111) son vagamente visibles. Observamos para el sustrato  $Au_{rug}$  respecto al Au(111)

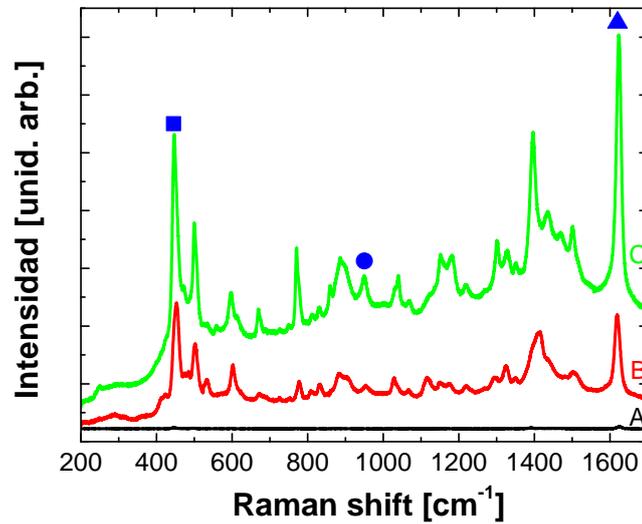
---

<sup>2</sup>El factor de rugosidad se obtiene de realizar el cociente entre la carga electroquímica que presenta el pico de reducción del óxido de Au en voltagramas medidos en la superficie de Au posterior/previo al rugosado electroquímico (Ver Sec. 4.1.3).



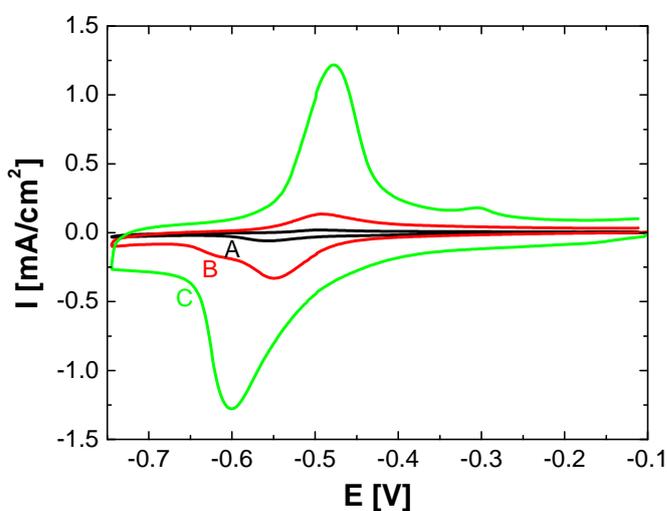
**Figura 5.1:** Resultado de la absorción óptica de una solución acuosa  $\sim 6 \cdot 10^{-7} M$  de MB en  $0.1 M$  de NaOH.[57]

un factor de amplificación  $\sim 10^3$ , y un factor  $\sim 3$  extra para el sustrato  $Au_{rug}^{ND}$ .



**Figura 5.2:** Espectros Raman típicos tomados con la línea láser de  $647.1 nm$ . Los espectros A, B y C corresponden a MB ensamblado en S sobre superficies de Au(111) ( $R = 1$ , en negro),  $Au_{rug}$  ( $R = 4.5$ , en rojo) y  $Au_{rug}^{ND}$  ( $R = 20$ , en verde). Los símbolos indican modos tipo: *bending* de los átomos de C-N-C del anillo ( $445 cm^{-1}$ , cuadrado), *bending* en el plano de átomos C-H ( $950 cm^{-1}$ , círculo) y *stretching* entre átomos C-C del anillo ( $1620 cm^{-1}$ , triángulo). Los espectros se midieron con la línea láser de  $568.1 nm$ ,  $20 mW$  de potencia y  $30 s$  de adquisición.

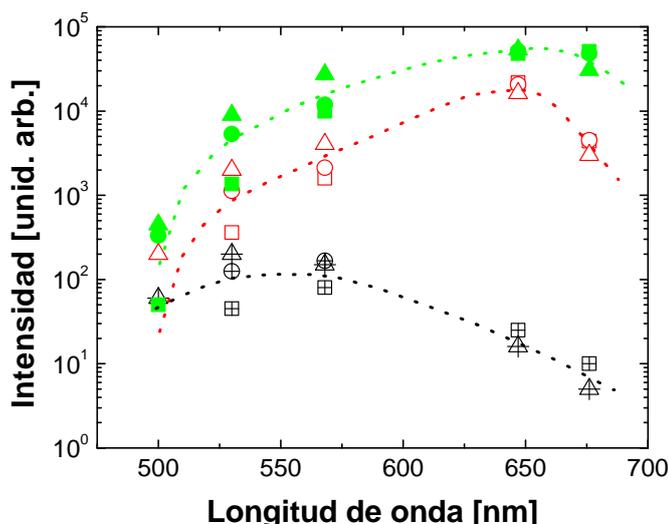
Mostramos en la Fig. 5.3 los ciclos voltamperométricos para estas mismas muestras realizados en una solución NaOH 0.1M a una velocidad de barrido de 0.1V/s. Del análisis de las densidades de carga de los picos de la cupla redox del MB encontramos que la cantidad de moléculas de MB inmovilizadas sobre Au<sub>rug</sub> es  $\sim 8$  veces mayor que sobre el Au(111), mientras que el Au<sub>rug</sub><sup>ND</sup> inmoviliza 3 veces más que el primero. Estos números demuestran que la amplificación Raman en los substratos rugosos respecto al liso (Au(111)) se debe principalmente al proceso de amplificación por plasmones superficiales, y no al número de moléculas adsorbidas o al cambio de área específica, mientras que el incremento de la señal Raman entre los substratos rugosos es causado exclusivamente por el incremento en la cantidad de moléculas de MB debido al incremento en el área.



**Figura 5.3:** Respuesta voltamétrica de la cupla redox del MB inmovilizado en S sobre los substratos de Au: Au(111) (A, línea negra), Au<sub>rug</sub> (B, línea roja) y Au<sub>rug</sub><sup>ND</sup> (C, línea verde). El electrolyto es una solución acuosa de NaOH 0.1M y la velocidad de barrido es de 0.1V/s. La corriente está referida al área geométrica de los substratos de Au.

Para profundizar en el proceso Raman, realizamos perfiles de resonancia Raman en las muestras que presentamos analizando los modos indicados en la Fig. 5.2 ( $445$ ,  $950$  y  $1620\text{cm}^{-1}$ ). Exponemos en la Fig. 5.4 la intensidad de los modos de  $445\text{cm}^{-1}$  (cuadrado),  $950\text{cm}^{-1}$  (círculo) y  $1620\text{cm}^{-1}$  (triángulo) como función de la energía del láser para substratos de Au(111) (símbolos cruzados negros), Au<sub>rug</sub> (símbolos abiertos rojos) y Au<sub>rug</sub><sup>ND</sup> (símbolos llenos verdes). Debemos resaltar dos puntos importantes de esta figura. Primero, el máximo del perfil de resonancia Raman, que para el Au(111) cae en la línea láser de  $568.1\text{nm}$ , se corre hacia longitudes de onda mayores ( $\sim 647.1\text{nm}$ ) cuando los substratos son rugosos.[58] Este corrimiento al rojo del máximo de la resonancia indica un cambio en el mecanismo de amplificación que evoluciona desde una resonancia con las transiciones electrónicas del MB en el caso del Au(111), *resonancia Raman electrónica*, hacia una resonancia con los plasmones del metal para los substratos rugosos, *SERS*. [59] Segundo, la

forma del perfil de resonancia es similar para los sustratos rugosos, estando la señal de la muestra  $Au_{rug}^{ND}$  amplificada por un factor  $\sim 3$  respecto de la  $Au_{rug}$  a lo largo de todo el rango espectral que estudiamos. Esto otra vez es consistente con la idea de que el proceso de “congelamiento” de la nanoestructura solamente actúa aumentando el área expuesta del metal para adsorber moléculas pero no modifica la forma en que la luz se acopla con los plasmones del metal y éstos amplifican la señal Raman.



**Figura 5.4:** Intensidad de los modos de  $445cm^{-1}$  (cuadrado),  $950cm^{-1}$  (círculo) y  $1620cm^{-1}$  (triángulo) como función de la energía del láser para sustratos de Au(111) (símbolos cruzados negros),  $Au_{rug}$  (símbolos abiertos rojos) y  $Au_{rug}^{ND}$  (símbolos llenos verdes). Las líneas punteadas son guías al ojo para cada grupo de puntos correspondientes a un sustrato diferente.

## 5.2 Explorando la estructura tridimensional de autoensamblados de MB sobre monocapas de azufre y tioles

Hemos utilizado espectroscopías Raman resonante y SERS, complementadas con microscopías de barrido con efecto túnel (STM) y técnicas electroquímicas, para obtener no sólo la cantidad sino la distribución espacial de moléculas de MB inmovilizadas sobre diferentes espaciadores moleculares autoensamblados sobre electrodos de oro plano (Au(111)) y oro rugoso electroquímicamente. La intensidad de la señal Raman nos permite estimar la cantidad relativa de MB adsorbido sobre los diferentes espaciadores cuando están ensamblados sobre Au(111). Complementariamente, cuando realizamos las experiencias sobre los sustratos de Au rugoso, la atenuación de la señal SERS con la distancia al electrodo nos permite localizar la posición media del MB en los autoensamblados. Cambios en los

espectros Raman, por otra parte, nos permiten analizar las posibles interacciones y configuraciones con las cuales el MB se une a los espaciadores. Los datos electroquímicos junto con la información estructural nos permiten realizar un primer modelo para los procesos de transferencia de carga entre la molécula redox y el sustrato.

### 5.2.1 Muestras

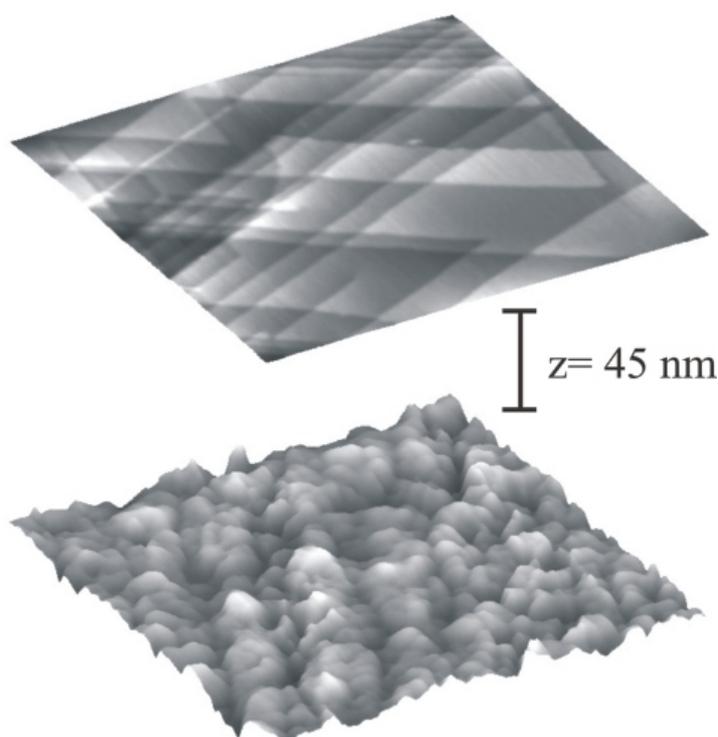
Realizamos experimentos inmovilizando MB sobre sustratos de oro tanto atómicamente planos, Au(111), como rugosados electroquímicamente, ambos modificados químicamente por diferentes autoensamblados moleculares (SAMs): azufre (S), tioles metílicos como propanotiol (PT) y dodecanotiol (DT), y tioles carboxílicos como ácido 3-mercaptopropiónico (MPA) y ácido 11-mercaptoundecanoico (MUA). Los pares PT/MPA y DT/MUA tienen básicamente una estructura y longitud de cadena carbonada similares (3 átomos de C en el primer caso y 12/11 en el segundo) pero difieren en el grupo funcional, no polar en el caso de los metílicos y polar en el de los carboxílicos. Los sustratos de Au plano están constituidos por un film de  $200\text{nm}$  de Au evaporado sobre  $5\text{nm}$  de Ti también evaporado sobre vidrio (AF 45 Berliner Glass KG, Alemania) y los expusimos a una llama de butano-propano durante 5 minutos hasta alcanzar un color rojo oscuro para relajar tensiones y lograr que el Au se arregle presentando en la superficie la cara (111). Fabricamos los sustratos de Au rugoso con el método expuesto en las Sec. 4.1.3 y 5.1.1 dejando relajar la nanoestructura, logrando una morfología con nanopartículas de  $\sim 20 - 200\text{nm}$  de diámetro. En la Fig. 5.5 podemos observar las características de estas superficies a través de imágenes de microscopía STM.<sup>3</sup> Arriba presentamos una superficie de Au(111) donde se pueden observar las terrazas monoatómicas características de estas superficies, mientras que abajo presentamos la estructura de una superficie de Au rugosada electroquímicamente con variaciones en la altura que rondan las decenas de nanómetros.

En lo que respecta al autoensamblado de las SAMs, preparamos las soluciones utilizando químicos de calidad analítica y agua Milli-Q de  $18.3\text{M}\Omega$  de resistividad. Primero, sumergimos los sustratos de Au en soluciones etanólicas  $0.1\text{mM}$  de PT, DT, MPA o MUA durante  $24\text{h}$  para formar SAMs con estructuras lo más ordenadas posibles (empaquetamiento denso).[28, 60] En el caso del S, sumergimos los sustratos de Au en una solución acuosa  $3\text{mM}$  de  $\text{Na}_2\text{S}$  saturada con nitrógeno por unos  $15\text{min}$ . Bajo estas condiciones, la estructura  $\text{S}_8$  del azufre se forma espontáneamente sobre el Au.[61]

Enjuagamos a las superficies cubiertas por tioles con etanol y luego con agua, mientras que utilizamos sólo agua con las que poseen S. Para confirmar la densidad de los espaciadores en ambas superficies, estimamos la carga de electrodesorción para S y tioles tanto para Au liso como rugoso, encontrando los mismos valores para las densidades de cargas:  $0.15\text{mC}/\text{cm}^2$  para el S y  $0.08\text{mC}/\text{cm}^2$  para los tioles. Estas densidades de cargas son las esperadas para monocapas completas de  $\text{S}_8$  y tioles, respectivamente.[61, 62]

---

<sup>3</sup>Tomadas por la Dra. M. E. Vela en el INIFTA-UNLP.



**Figura 5.5:** Imágenes de microscopía STM de  $230 \times 230 \text{nm}^2$  de superficies de Au(111) arriba y Au rugoso abajo. Para ambas imágenes la escala en vertical ( $z$ ) es de  $45 \text{nm}$ .

Llevamos a cabo la posterior inmovilización de moléculas de MB en las superficies de Au modificadas por inmersión durante  $30 \text{min}$  en una solución acuosa  $0.1 \text{mM}$  de MB +  $0.1 \text{M}$  de NaOH.[56, 57] Luego las muestras son enjuagadas con agua y secadas con un flujo de gas de nitrógeno.

### 5.2.2 Resultados y discusión

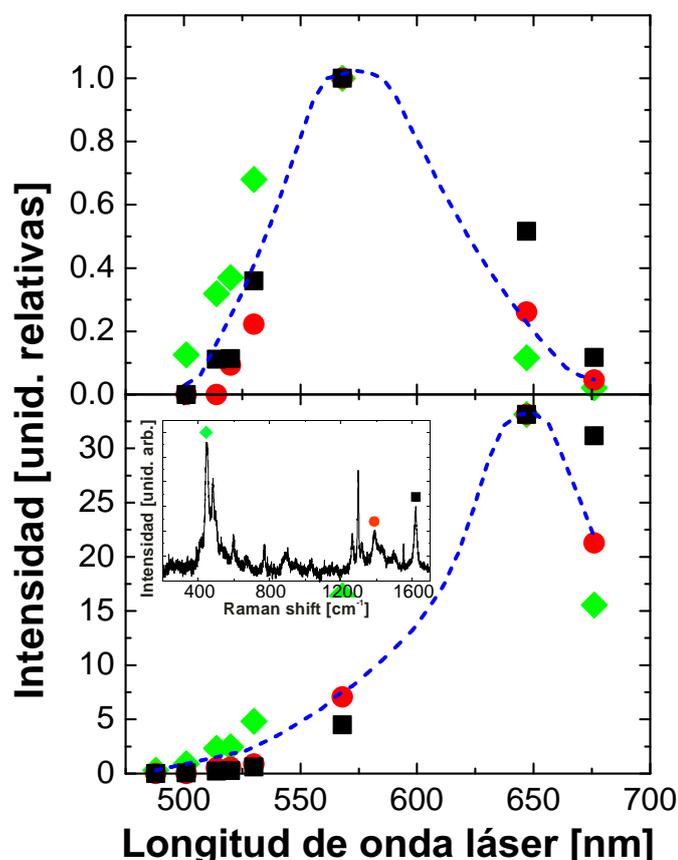
Para caracterizar la resonancia Raman de las estructuras con MB inmovilizado, realizamos mediciones Raman en cada uno de los espaciadores, tanto sobre oro liso como rugoso, utilizando diferentes líneas en el rango visible del láser de Ar-Kr y analizamos las intensidades de los picos Raman obtenidos en cada caso en función de la longitud de onda de excitación, *i.e.* generamos perfiles de resonancia Raman. Básicamente la misma respuesta fue obtenida para espaciadores conformados por S como por los diferentes tioles. En la Fig. 5.6 ilustramos este comportamiento en el caso del ensamblado de MB sobre Au modificado con S (MB/S/Au). En el *inset* podemos observar un espectro Raman típico que se corresponde con las vibraciones moleculares del MB. Este espectro fue adquirido sobre el substrato rugoso con  $3 \text{s}$  de adquisición,  $10 \text{mW}$  de potencia,  $647.1 \text{nm}$  de excitación láser y un *spot* lineal de  $7 \text{mm} \times 100 \mu\text{m}$  para evitar fenómenos de degradación o *bleaching*. [18, 43] Estas condiciones experimentales, variando el color de la excitación, fueron las utilizadas a lo largo de este capítulo, salvo que mencionemos lo contrario. El espectro Raman posee una

## 68 SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

gran relación señal/ruido ilustrando la capacidad que esta espectroscopía tiene para observar cubrimientos moleculares por debajo de una monocapa. Algunos modos específicos que utilizamos para realizar los perfiles de resonancia están indicados en el espectro del *inset*. Estos modos han sido asignados a *bending* de la región molecular C-N-C ( $443\text{cm}^{-1}$ , indicado con un rombo), *stretching* simétrico de los átomos C-N ( $1387\text{cm}^{-1}$ , círculo) y *stretching* de los átomos C-C de los anillos ( $1620\text{cm}^{-1}$ , cuadrado), respectivamente.[63, 64] En la Fig. 5.6 mostramos las intensidades de estos modos como función de la energía del láser de excitación para un substrato de Au liso (arriba) y rugoso (abajo). El máximo de la intensidad Raman de los diferentes modos está normalizado a 1 para el caso de Au liso, mientras que para el Au rugoso usamos los mismos factores de normalización obtenidos en el caso del Au liso.

Dos aspectos importantes deben ser remarcados en la Fig. 5.6: (i) El máximo del perfil de la resonancia Raman cae a diferentes energías en los dos substratos  $\sim 568\text{nm}$  para Au(111) y  $\sim 650\text{nm}$  para Au rugoso. Al igual que lo discutido en la Fig. 5.4, esto corresponde a resonancias electrónica del MB y plasmónica del Au rugosado, respectivamente. El último indica la presencia de resonancia SERS. (ii) La intensidad máxima que observamos en el substrato de Au rugoso es  $\sim 30$  veces mayor que la amplificación debido a los mecanismos de resonancia electrónica, aunque considerando que a  $650\text{nm}$  la intensidad Raman normalizada en Au(111) es de  $\sim 0.2$ , obtenemos una amplificación SERS debido a la resonancia con plasmones del Au rugosado que ronda las  $\sim 150$  veces. Como discutiremos más adelante, la variación de esta amplificación SERS para los diferentes espaciadores estudiados puede ser usada para estimar la distancia promedio de las moléculas de MB respecto al substrato, y consecuentemente, la posición del MB cuando está inmovilizado.

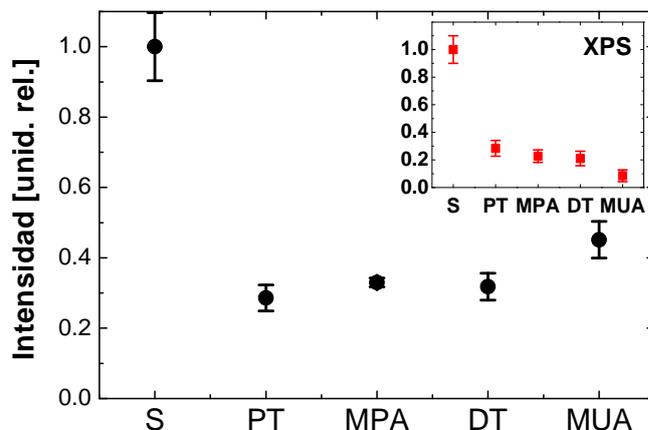
Estudios previos para determinar la masa inmovilizada de MB en diferentes SAMs han utilizado técnicas electroquímicas o espectroscopía de electrones Auger (AES).[56, 57] Los ciclos voltamperométricos proveen una medición algo indirecta de esta cantidad, debido a que las moléculas de MB adsorbidas pueden no estar eléctricamente conectadas al substrato y por lo tanto no contabilizadas por esta técnica. Por otra parte, AES está limitada por dos elementos importantes, el daño causado por los electrones que inciden sobre las estructuras moleculares y por la pequeña (y difícil de cuantificar) profundidad de penetración de los electrones. Contrastando lo expuesto, en scattering Raman, la luz penetra a través de la estructura, puede ser focalizada microscópicamente (típicamente limitada por la difracción  $\lambda \sim 1\mu\text{m}$ ) y el daño que genera es reducido y puede ser cuantificado con la misma técnica. Por estas razones hemos evaluado la cantidad de MB inmovilizado en los diferentes espaciadores realizando mediciones Raman resonantes con la estructura electrónica de la molécula utilizando los substratos de Au(111) y la línea de  $568.1\text{nm}$  del láser de Ar-Kr. Para estos estudios, elegimos los substratos de Au(111), y no los rugosos, porque i) nos desacoplamos de procesos SERS y ii) esperamos una menor densidad de defectos en las monocapas de tioles ensambladas. Igualmente notamos que básicamente el mismo comportamiento fue obtenido con los substratos de Au rugoso, pero excitando con una



**Figura 5.6:** La figura presenta perfiles de resonancia Raman en función de la energía del láser incidente, tomados para el caso MB/S/Au sobre Au liso (arriba) y rugoso (abajo). Los diferentes símbolos indican las intensidades extraídas de los picos Raman correspondientes presentados en el *inset*. Notamos el corrimiento en la resonancia desde  $\sim 568.1nm$  para Au(111) hasta  $\sim 650nm$  para el electrodo de Au rugoso, evidenciando una evolución desde una resonancia electrónica hacia una amplificación SERS en el proceso Raman. *Inset*: espectro Raman típico correspondiente a las vibraciones moleculares del MB. Algunos modos específicos que utilizamos para la caracterización y que presentamos en esta figura y en otras siguientes están indicados (ver texto para detalles).

línea de  $514.5nm$ , es decir, fuera de la condición de resonancia SERS. Como discutiremos más adelante, cuando el fenómeno SERS está presente, la intensidad depende no sólo del cubrimiento molecular sino también de la distribución espacial específica de las moléculas. Por todo esto mostramos en la Fig. 5.7 la intensidad del pico de  $1620cm^{-1}$ , correspondiente a vibraciones tipo *stretching* de los átomos C-C de los anillos aromáticos, indicado con un cuadrado en el *inset* de la Fig. 5.6, para moléculas de MB ensambladas en los cinco espaciadores diferentes.

La Fig. 5.7 resume el resultado de cuatro series completas de mediciones. Cada una de

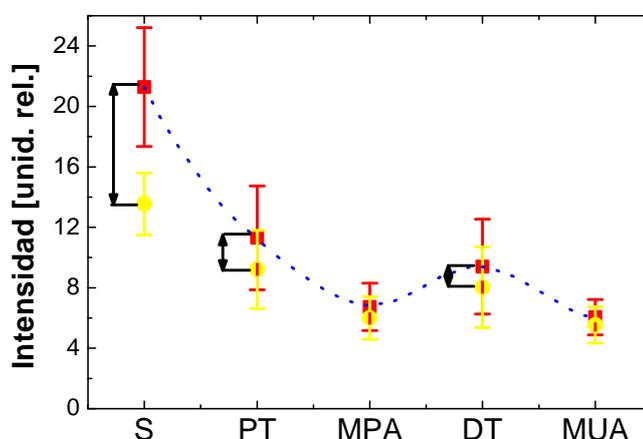


**Figura 5.7:** Intensidad Raman, correspondiente al pico de  $1620\text{cm}^{-1}$ , vibraciones tipo compresión-estiramiento de los átomos C-C de los anillos aromáticos indicadas con un cuadrado en el *inset* de la Fig. 5.6, para moléculas de MB ensamblada en cinco espaciadores diferentes (S, PT, MPA, DT y MUA). Las mediciones Raman fueron tomadas sobre sustratos planos de Au(111) bajo condiciones de resonancia electrónica utilizando la línea amarilla del láser de Ar-Kr ( $\lambda = 568.1\text{nm}$ ). Las intensidades Raman mostradas son el promedio de cuatro series completas de mediciones, cada una de las cuales consiste en medir en 20 regiones diferentes de una misma muestra para cada una de las cinco SAMs. Las barras de error indican la dispersión de los puntos. El *inset* de la figura muestra mediciones complementarias de concentración superficial de MB realizadas por espectroscopía de fotoemisión de rayos X (XPS) sobre una única serie de muestras (ver texto para los detalles).

éstas consiste típicamente en la adquisición de 20 espectros en posiciones diferentes sobre cada una de los 5 espaciadores. La intensidad Raman que presentamos para cada uno de los films es entonces el promedio pesado de los datos colectados durante las cuatro series de mediciones. Estas intensidades pueden tomarse como una medida directa de la cantidad relativa de MB presente entre las muestras debido a que la intensidad Raman del MB sobre Au(111) depende solamente, en principio, de la cantidad de moléculas adsorbidas.[65] Las conclusiones principales pueden resumirse de la siguiente manera: (i) El S es la SAM más eficiente para atrapar moléculas de MB con una concentración superficial de esta molécula que es entre 2 y 3 veces más grande que la medida para las superficies modificadas con tioles. Observamos esencialmente el mismo comportamiento en mediciones complementarias de concentración superficial de MB realizadas por espectroscopía de fotoemisión de rayos X (XPS) sobre una única serie de muestras y que presentamos en el *inset* de la Fig. 5.7.<sup>4</sup> (ii) Todos los espaciadores de tioles presentan básicamente la misma cantidad

<sup>4</sup>La concentración es relativa entre las muestras y fue estimada a partir del cociente entre la medición de las señales de átomos de N (presentes en el MB) y S (presentes en las SAMs y en el MB) realizadas por

de MB. A pesar de esta tendencia general, hemos observado sistemáticamente una señal Raman del MB superior para los tioles carboxilados (MPA y MUA) que para su contraparte metílica (PT y DT). Hay una disminución en la eficiencia para adsorber MB cuando pasamos de S a tioles carboxílicos y, finalmente, a los tioles metílicos. Esto confirma observaciones previas realizadas a través del estudio de interacciones electrostáticas por el grupo del Dr. Salvarezza.[56] Las barras de error en los promedios pesados luego de una recolección de datos tan amplia (ver Fig. 5.7), reflejan cierto grado de irreproducibilidad que encontramos sistemáticamente en estos sistemas.



**Figura 5.8:** Intensidad Raman del pico de  $1620\text{cm}^{-1}$  para las muestras crecidas con los 5 espaciadores sobre Au rugoso, medida tanto con la línea láser amarilla SERS-pre-resonante ( $568.1\text{nm}$ , indicado con círculos amarillos) como con la roja SERS-resonante ( $647.1\text{nm}$ , indicado con cuadrados rojos). Para hacer a las mediciones independientes de la masa de MB presente en las muestras, las señales Raman medidas con los láseres amarillo y rojo fueron divididas por la intensidad Raman determinada usando la línea verde, SERS no resonante, ( $514.5\text{nm}$ ). Las flechas resaltan la diferencias entre la condición resonante (rojo) y pre-resonante (amarillo) para la interacción láser-plasmón.

Además de proveer información sobre la masa de MB adsorbida en los diferentes films, si realizamos mediciones de espectroscopía Raman sobre sustratos de Au rugoso SERS-activos podemos obtener datos acerca de la estructura SAM/MB. La fuerte dependencia de la amplificación SERS con la distancia entre la molécula y el sustrato metálico activo puede utilizarse para localizar a la molécula en el espacio.[66, 67] En la Fig. 5.8 presentamos la intensidad Raman del pico de  $1620\text{cm}^{-1}$  para las muestras crecidas con los 5 espaciadores sobre Au rugoso, medida tanto con la línea láser amarilla ( $568.1\text{nm}$ , indicado con círculos amarillos) como con la roja ( $647.1\text{nm}$ , indicado con cuadrados rojos). Estas dos líneas láseres corresponden a condiciones SERS pre-resonantes y resonantes, respecti-

## 72 SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

vamente como se puede observar del panel inferior de la Fig. 5.6. La intensidad Raman es determinada tanto por la concentración de moléculas como por su cercanía al substrato SERS. Para hacer las mediciones de distancia independiente de la masa, dividimos las señales medidas con los láseres amarillo y rojo por la intensidad determinada con la línea láser verde (514.5nm) que está fuera de la resonancia SERS (ver panel inferior de la Fig. 5.6). Como comentamos anteriormente la concentración de masa que determinamos en estos electrodos rugosos reproduce básicamente el comportamiento que obtuvimos en las muestras sobre Au(111) de la Fig. 5.7.

Los resultados presentados en la Fig. 5.8 claramente establecen que la amplificación SERS es mayor para S, seguido por PT y DT y más pequeño para los tioles carboxílicos, MPA y MUA. De hecho, la diferencia cada vez más pequeña a lo largo de esta secuencia entre las señales SERS resonantes (rojo) y pre-resonantes (amarillo), indicado con flechas en la Fig. 5.8, es una prueba consistente con la conclusión anterior. Debido a que para MPA y MUA las intensidades Raman medidas a 647.1nm y 568.1nm son prácticamente iguales, deducimos que la contribución SERS tiene que ser más débil en estos casos. Por otra parte, a pesar de que las diferencias son muy pequeñas y que son iguales dentro del error experimental, hemos observado sistemáticamente que la amplificación SERS es levemente superior para el PT que para el DT, como observamos de la Fig. 5.8. Teniendo en cuenta que la amplificación SERS decae con la separación entre la molécula Raman activa y el substrato metálico, concluimos a partir de estos estudios que la distancia promedio entre el MB y la superficie de Au es mínima para el espaciador de S, seguido por PT y DT, y es máxima para MPA y MUA. Existen trabajos teórico-experimentales que estudian el decaimiento de la intensidad SERS con la distancia al substrato midiendo la señal Raman de moléculas covalentemente pegadas a monocapas de tioles de diferentes largo de cadena en substratos similares al Au rugoso.[66, 67] En particular B. J. Kennedy *et al.* proponen una dependencia para la intensidad SERS,  $I$ , con la distancia al substrato,  $a$ , de la forma:<sup>5</sup>[67]

$$I = \left( \frac{r + a}{r} \right)^{-10}, \quad (5.1)$$

donde  $r$  es el radio del grano de la superficie rugosa. Basándonos en este modelo (con un valor de  $r = 20nm$ ) y en comparaciones con los resultados experimentales publicados por Q. Ye *et al.*,[66] estimamos la separación promedio entre moléculas de MB y el substrato de Au. Estos valores están indicados en la tercera columna de la Tabla 5.1 con sus respectivos errores. Estos últimos son elevados (del 50%) porque están muy ligados a incertezas propias del modelo, como el tamaño del grano ( $10 < r < 40nm$ , en nuestros substratos rugosos), y a la indeterminación que tenemos al asignar la distancia entre el MB y el substrato para el espaciador de S<sup>6</sup> que necesitamos para ajustar nuestro perfil de intensidades con curvas

<sup>5</sup>Similar a la que introducimos en la Sec. 3.4.6.

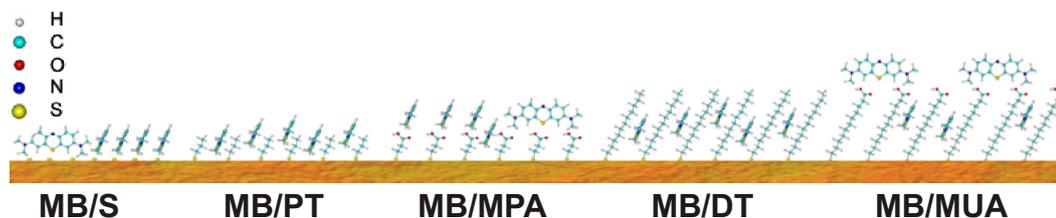
<sup>6</sup>Las dimensiones del MB,  $\sim 2 \times 1nm$ , son comparables a las distancias que queremos determinar y la molécula puede adoptar diferentes configuraciones: acostada ( $a < 0.5nm$ ), parada horizontalmente ( $a \sim 1nm$ ) o parada verticalmente ( $a \sim 2nm$ ).

experimentales y teóricas. Aún cuando estas distancias son estimativas, nos es posible concluir que el MB penetra notablemente dentro de la SAM de DT, queda excluido en la región exterior de la SAM de MPA, mientras que una difusión parcial dentro de las cadenas de MUA no puede ser descartada. Toda esta evidencia cualitativa y cuantitativa nos proporcionan una imagen de la estructura en la cual el MB es inmovilizado por los diferentes espaciadores sobre Au. Tal representación está esquematizada en la Fig. 5.9 y es descrita a continuación.

SAM	Espesor del SAM <sup>a</sup> [Å]	Distancia MB-Au promedio [Å]	Cantidad de MB [ <i>monocapa</i> ]	$q_{MB}$ [ $\mu C/cm^{-2}$ ]
S	2	$\sim 2\pm 1$	1	50
PT	5.2	$\sim 7\pm 3$	$\leq 0.3$	2-4
DT	15	$\sim 8\pm 4$	$\sim 0.3$	2-4
MPA	5.4	$\sim 10\pm 5$	$\sim 0.3$	2-4
MUA	14.1	$\sim 12\pm 6$	$\sim 0.45$	2-4

**Tabla 5.1:** Espesores nominales de los SAMs, distancia promedio MB-Au, y cantidad de MB extraído de mediciones Raman y de densidad de carga ( $q_{MB}$ ) medidas por voltamperometría para los cinco espaciadores estudiados.

<sup>a</sup>Estimado a partir del largo molecular y una inclinación de  $30^\circ$  respecto a la normal al sustrato.

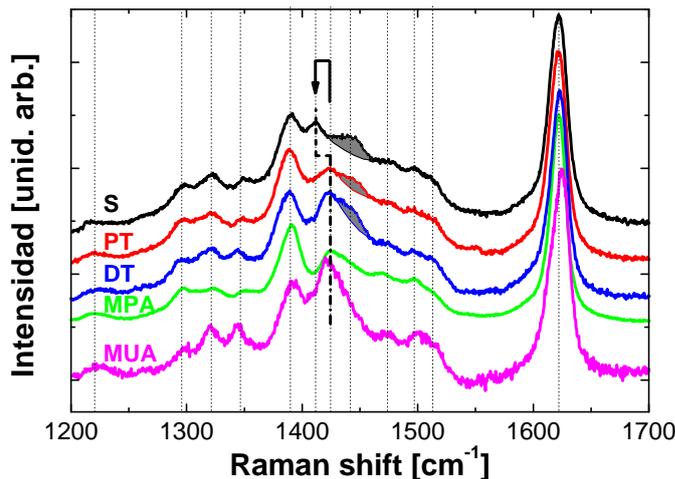


**Figura 5.9:** Esquema mostrando las posiciones *promedio* de las moléculas de MB en los diferentes espaciadores sobre Au, tal como concluimos de los resultados Raman reportados en el texto. Las moléculas en contacto con el sustrato son átomos de S o tioles, mientras que las demás moléculas “flotadas” son los azules de metileno dibujados frontal y transversalmente. Los tioles PT y DT terminan con grupos funcionales metílicos ( $CH_3$ ) mientras que MPA y MUA terminan con grupos metílicos ( $COOH$ ).

Todos los resultados que reportamos son consistentes con un modelo en el cual (a) el MB forma un monocapa densa sobre el S muy cerca de la superficie de Au; (b) para los casos PT y DT, el MB se une a través de fuerzas hidrofóbicas y de van del Waals y la penetración entre las cadenas de tioles está ayudada por los defectos existentes en las SAMs; (c) en MPA y MUA, el MB se queda un poco más lejos de la superficie de Au que en el caso de los tioles metílicos debido a interacciones electrostáticas entre los grupos

## 74 SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

carboxílicos (carga negativa) y la región que rodea al átomo de S del MB (carga positiva). Estos resultados nos permiten introducir el carácter anfifílico moderado que presenta el MB, es decir, responde a la interacción lipofílica con las cadenas carbonadas (en tioles metílicos, PT y DT, y carboxílicos de cadena larga, MUA) pero también a interacciones electrostáticas principalmente con los grupos carboxílicos (MPA y MUA).

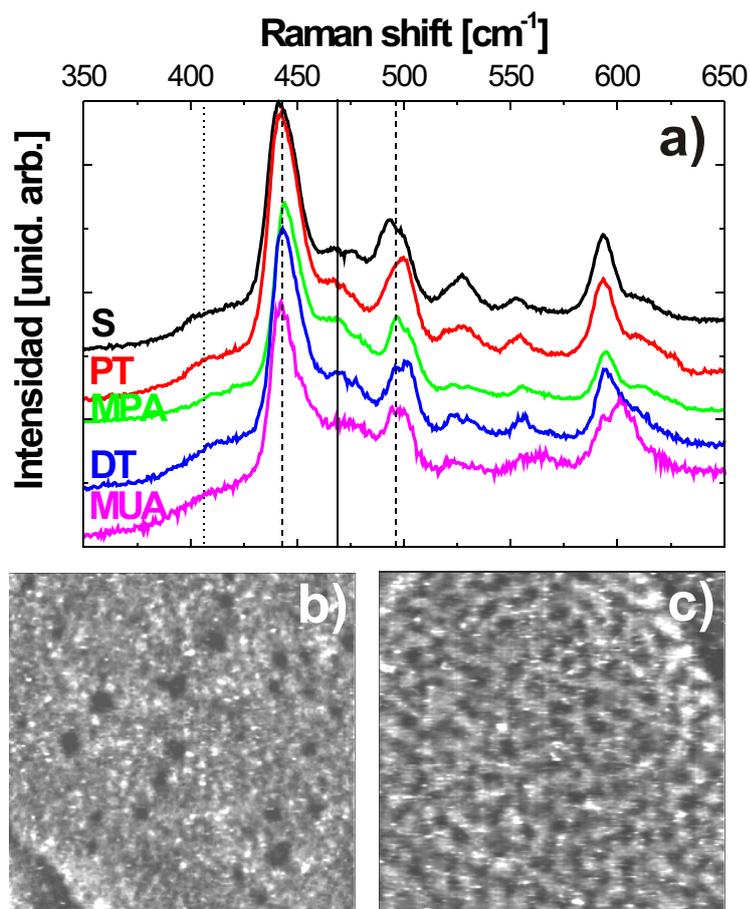


**Figura 5.10:** Espectros Raman del MB inmovilizado por los diferentes espaciadores sobre Au rugoso. Los espectros fueron adquiridos con la línea de  $568.1nm$  del láser de Ar-Kr. Notamos el claro corrimiento del modo correspondiente a la vibración asimétrica de los átomos C-N del MB, que se encuentra en  $1424cm^{-1}$  para el MB adsorbido en los cuatro espaciadores de tioles y en  $1412cm^{-1}$  cuando está pegado sobre el S. Un pico que observamos a  $1442cm^{-1}$  para el MB sobre S, PT y DT (y no para MPA y MUA) está sombreado. Las líneas verticales son guías al ojo para indicar las posiciones de los picos Raman.

Vamos a profundizar en los mecanismos que posibilitan la unión entre el MB y los SAMs analizando los espectros Raman de esta molécula obtenidos de los diferentes entornos químicos (Fig. 5.10). Variaciones en las intensidades relativas y corrimientos en los picos de los espectros Raman son indicativos de interacciones adicionales y cambios en la orientación molecular o entorno. No hemos observado ninguna diferencia clara en los espectros Raman del MB por debajo de  $1200cm^{-1}$ , donde esperamos que aparezcan los modos que involucran al S. En particular, el pico Raman que aparece a  $405cm^{-1}$ , asignado a modos de *bending* entre los átomos C-S-C,[68] permanece inalterado para los cinco espaciadores. Lo mismo ocurre para varios otros picos que se encuentran entre  $1100$  y  $1200cm^{-1}$  y alrededor de  $550cm^{-1}$ , los cuales, según nuestros cálculos semiempíricos para la molécula de MB libre utilizando el modelo AM1 de Hyperchem,[64, 69] involucran vibraciones de *stretching* entre átomos de C-S. Por otra parte, como mostramos en la Fig. 5.10 para espectros tomados utilizando la línea láser de  $568.1nm$ , ocurren claros cambios

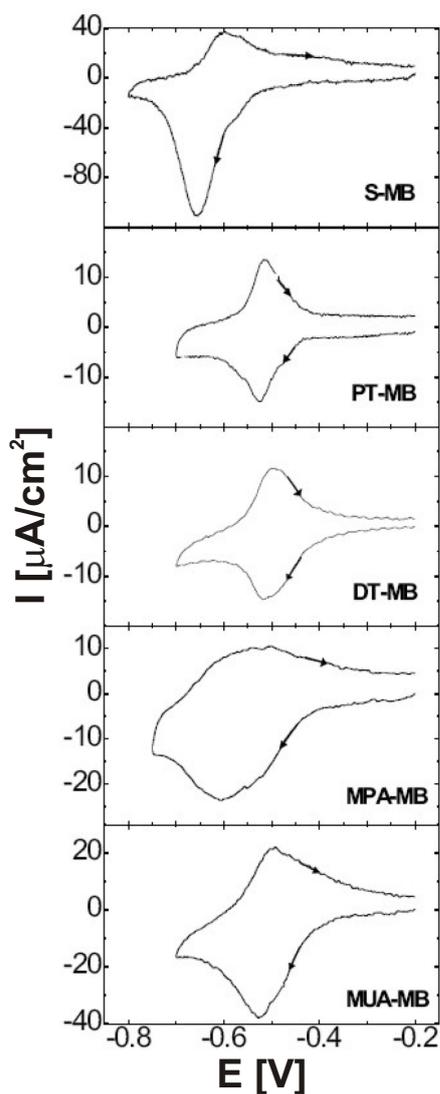
que involucran desplazamientos de los átomos de C-N. Hemos observado sistemáticamente que la vibración asimétrica C-N, medida en  $1424\text{cm}^{-1}$  para los espaciadores PT, DT, MPA y MUA, se corre hasta  $1412\text{cm}^{-1}$  cuando el MB está inmovilizado sobre S. Estos resultados proporcionan una fuerte evidencia de que el MB se une a las superficies de Au modificadas con S a través de uno o los dos grupos dimetilamino, como sugirieron Campbell *et al.*, [70] y no a través de interacciones sulfuro-sulfuro. [71] Notamos, además, que en la misma región espectral existe otro pico (sombreado en la Fig. 5.10) que está claramente presente para el MB adsorbido en S, PT y DT, pero no aparece, o lo hace a lo sumo como un hombro tenue, para los tioles carboxilados, MPA y MUA. Estos resultados pueden estar reflejando variaciones de intensidad inducidos por reglas de selección, [72] indicando que la orientación de las moléculas de MB es similar en SAMs de S, PT y DT, pero diferente cuando están ensambladas sobre MPA y MUA. Hasta donde pudimos averiguar, estos picos no están asignados sin ambigüedades en la literatura. El uso de todos estos datos valiosos es relativamente complicado debido a estas ambigüedades en la asignación de los modos vibracionales y la falta de conocimiento respecto al tensor Raman. La evaluación teórica de este último requiere de cálculos teóricos detallados respecto de las propiedades electrónicas y vibracionales, un enfoque típicamente no accesible en la literatura.

Podemos obtener más información acerca de la naturaleza en la cual se inmoviliza el MB sobre los espaciadores mirando los espectros Raman de baja energía de la Fig. 5.11(a) y las imágenes de STM de la Fig. 5.11(b-c). En el caso del MB adsorbido sobre Ag rugosa, [73] la señal a  $470\text{cm}^{-1}$  ha sido asignada al *bending* en el plano del anillo de tiacina del MB adsorbido como monómero. De acuerdo a la Ref. [73], la intensidad relativa de este pico respecto a las señales de  $440$  y  $495\text{cm}^{-1}$  puede ser utilizada para cuantificar la concentración de MB como monómeros respecto a dímeros o agregados adsorbidos en Ag. En nuestro caso, la señal de  $470\text{cm}^{-1}$  es bastante pequeña, sugiriéndonos que sólo una pequeña fracción del MB está unido bajo la forma de monómeros. Este agregado de moléculas de MB es consistente con las imágenes de STM tomadas en algunas de las muestras. Mostramos imágenes STM tomadas en ensamblados MB/MPA/Au(111) y MB/S/Au(111) en las Fig. 5.11 (b) y (c), respectivamente. En el caso del MB sobre MPA, la superficie está cubierta aleatoriamente por puntos brillantes de unos  $\sim 2\text{-}3\text{nm}$  que son estrictamente más grandes que el tamaño de una única molécula de MB acostada sobre la superficie ( $\sim 1\text{nm}$ ). También observamos que la densidad y el tamaño de los puntos brillantes para la muestra de MB sobre S es mayor que para la de MB sobre MPA. Esto nos sugiere la presencia de agregados más grandes, consistente con la mayor cantidad de moléculas de MB observadas por espectroscopía Raman (Fig. 5.7 y Tab. 5.1). Notamos que la solución de MB utilizada para preparar las muestras en este trabajo contiene especies de MB tanto en la forma de monómeros como dímeros. [74] Además, si la asignación realizada en la Ref. [73] es correcta, es evidente que debemos modificar el esquema presentado en la Fig. 5.9 por uno donde presentemos al MB como dímero y no sólo como monómero. En todo caso, las interacciones con el sustrato no deberían cambiar demasiado.



**Figura 5.11:** (a) Región de baja energía de los espectros Raman de MB adsorbido sobre los cinco diferentes espaciadores tomados con la línea de  $568.1\text{nm}$  del láser de Ar-Kr. El pico de  $470\text{cm}^{-1}$  (línea llena) es bastante pequeño cuando lo comparamos con aquellos centrados en  $440$  y  $495\text{cm}^{-1}$  (líneas rayadas), sugiriendo que sólo una pequeña fracción de MB está bajo la forma de monómeros.[73] El pequeño pico a  $405\text{cm}^{-1}$  (líneas punteadas) asignado a vibraciones tipo *bending* de los átomos C-S-C del anillo no muestra diferencias entre los espaciadores. Imágenes STM ( $70 \times 70\text{nm}^2$ ) de (b) MB/MPA/Au(111) ( $E_{bias} = 600\text{mV}$ ,  $I_{tunnel} = 800\text{pA}$ ) y (c) MB/S/Au(111) ( $E_{bias} = 500\text{mV}$ ,  $I_{tunnel} = 605\text{pA}$ ) tomadas por la Dra. M. E. Vela en el INIFTA-UNLP. La escala de grises representa cambios en la altura que van desde  $0\text{nm}$  (negro) hasta  $1\text{nm}$  (blanco). Los puntos brillantes reflejan la presencia de azul de metileno, principalmente como dímeros y agregados.

En lo que sigue, correlacionamos el modelo presentado en la Fig. 5.9 con datos acerca de los procesos de transferencia de carga en estos sistemas. En la Fig. 5.12 mostramos voltagramas típicos adquiridos a  $0.5\text{V/s}$  para la cupla redox MB adsorbida en los distintos espaciadores. Los voltagramas presentan picos anchos, siendo aquellos correspondientes a MB en PT y DT los más reversibles (las posiciones de los picos de reducción (abajo) y oxidación (arriba) son muy similares), seguido por el MB en MPA y MUA. Por el contrario, el MB ensamblados sobre S exhibe un mayor grado de irreversibilidad. Notamos también que la densidad de carga ( $q_{MB}$ ) catódica (abajo) para el MB sobre S es más grande que la



**Figura 5.12:** Voltagramas para electrodos de MB inmovilizado en diferentes SAMs sobre Au (111). Solución electrolítica: NaOH acuosa 0.1M. Velocidad de barrido: 0.5V/s.

del barrido anódico (arriba), indicando que la especie MB reducida se va a la solución.[70] Por otra parte, el hecho de que la densidad de carga permanece prácticamente inalterada para el MB en PT y DT es un claro indicador de que las moléculas de MB están atrapadas entre las cadenas carbonadas dentro de estas SAMs. Podemos observar un comportamiento intermedio para los voltagramas correspondientes a MB adsorbido en MPA y MUA, respaldando resultados anteriores donde indicábamos que el MB puede adsorberse tanto por fuera como en el interior de estos SAMs con terminaciones carboxílicas. Los valores de  $q_{MB}$  involucrados en los picos catódicos de los voltagramas son mediciones directas de la cantidad de moléculas de MB involucradas en los procesos de transferencia de carga con el sustrato de Au. En la Tab. 5.1 presentamos los espesores nominales de los SAMs, las distancias promedio entre MB-Au obtenidas de las mediciones SERS, la

cantidad de MB (referido a una monocapa completa de MB/S) derivado a partir de las mediciones Raman en Au (111), y las densidades de carga ( $q_{MB}$ ) medidas por voltamperometrías en estos sistemas (extraído de la Ref. [56]). Notamos que esta densidad de carga electroquímica que medimos para el MB,  $q_{MB}$ , es 10 veces más grande cuando la molécula está inmovilizada sobre S que para MB en los diferentes espaciadores formados por tioles. Este factor es más grande que el factor 2-3 observado por espectroscopía Raman, confirmando que una gran cantidad de moléculas redox no son electroquímicamente activas en los SAMs de tioles.

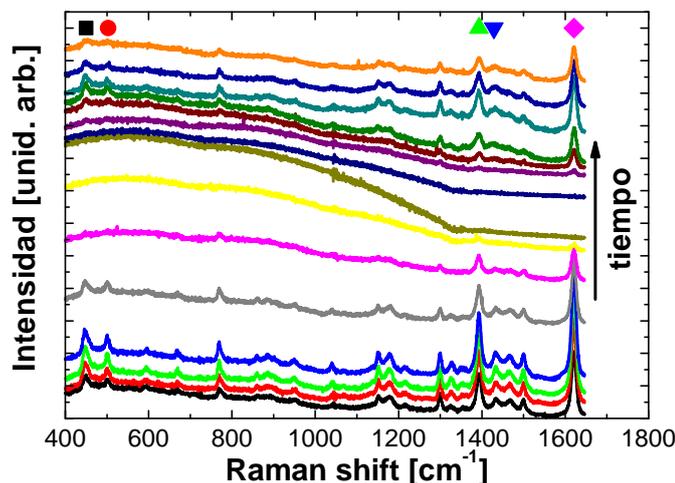
### 5.3 Influencia de la estructura 3D en la respuesta electroquímica de autoensamblados de MB sobre monocapas de azufre y tioles

En el final de la sección anterior llegamos a la conclusión de que no todas las moléculas de MB ensambladas en los diferentes espaciadores son electroquímicamente activas a través de resultados aparentemente contradictorios de espectroscopía Raman y voltamperometría cíclica. Debemos notar que la comparación entre experimentos Raman y electroquímicos no es para nada directa. Primero, porque mientras los experimentos Raman los realizamos con muestras secas inmediatamente después de fabricarlas, a la contraparte electroquímica la realizamos en condiciones de inmersión. Segundo, y como dijimos anteriormente, mientras que la espectroscopía Raman detecta todas las moléculas de MB, la electroquímica es sensible sólo a aquellas moléculas que son electroquímicamente activas (*i.e.* que pueden intercambiar carga con el sustrato). El entendimiento de este tipo de cuestiones y el control de interfaces orgánicas-inorgánicas es fundamental para el desarrollo de nuevos sistemas con potenciales aplicaciones en sensado y biocatálisis. Por ello, en esta sección, trataremos de clarificar estos puntos abocándonos a estudiar los procesos de transferencia de carga entre MB y Au y cómo se encuentran influenciados por el entorno que proporcionan los diferentes espaciadores implementando mediciones electroquímicas con espectroscopía Raman *in-situ*.

#### 5.3.1 Resultados y discusión

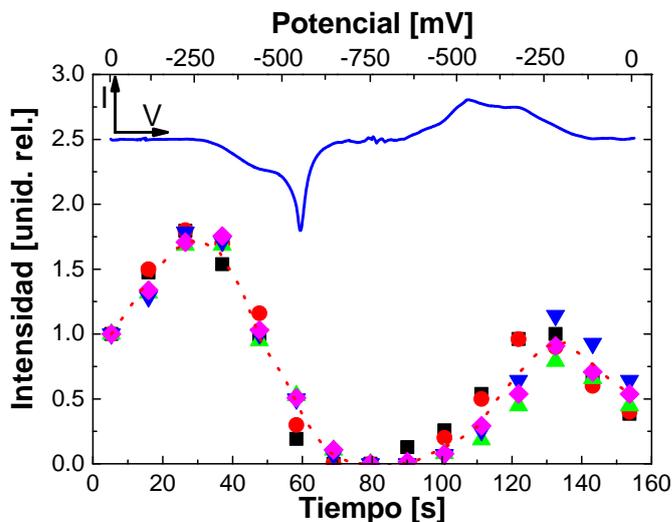
Como una ilustración de los experimentos típicos que realizamos en estas investigaciones, presentamos en la Fig. 5.13 los espectros SERS tomados con una excitación de 647.1nm para MB inmovilizado sobre una monocapa de S sobre un sustrato de Au rugoso. Adquirimos los espectros en función del potencial aplicado durante un ciclo voltamperométrico en una solución acuosa 0.1M de NaOH tomado a 0.01V/s en el ciclo  $0 \rightarrow -0.75 \rightarrow 0V$  vs. un electrodo de referencia de Ag/AgCl. Realizamos el experimento Raman durante el primer ciclo electroquímico para evitar la migración del MB a la solución. El tiempo de adquisición de cada espectro Raman es de 10s por lo que cada uno de ellos representa la respuesta promedio del MB dentro de un rango de potencial de 0.1V. Esta elección

de tasa de cambio en el potencial y tiempo de adquisición Raman fue la mejor condición que encontramos como compromiso entre evitar la migración del MB a la solución y el *photobleaching*, obteniendo espectros Raman con buenas relaciones señal-ruido. También tomamos espectros a potenciales fijos con mayores tiempos de integración, verificando que este promedio durante el proceso de medición no acarrea efectos no deseados o pérdida de significado en la información. De estos espectros podemos resaltar dos aspectos. Primero, la intensidad de los picos atraviesan cambios importantes como función del potencial aplicado. Segundo, a pesar de que la forma general del espectro Raman se conserva a través del experimento electroquímico, ocurren algunos cambios menores (que no son evidente de la Fig. 5.13), sugiriendo la formación de diferentes especies de MB dependientes del potencial electroquímico. En lo que sigue discutiremos estos cambios espectrales, tanto en intensidad como en posición de los picos.



**Figura 5.13:** Espectros SERS de MB adsorbidos en S sobre Au como función del tiempo (el cual es proporcional al potencial electroquímico aplicado) medido usando  $20mW$  de potencia de la línea láser de  $647.1nm$  con tiempos de adquisición de  $10s$ . El potencial electroquímico recorrió el rango  $0 \rightarrow -0.75 \rightarrow 0V$  vs. un electrodo de referencia de Ag/AgCl a una velocidad de  $0.01V/s$ .

Mostramos la intensidad de los cinco picos más intensos, normalizado a sus valores iniciales, en la Fig. 5.14 como función del potencial electroquímico. Estos modos, indicados con los símbolos correspondientes de la Fig. 5.13, son un modo de *bending* C-N-C ( $448cm^{-1}$ , identificado con un cuadrado), otro modo de *bending* C-N-C ( $495cm^{-1}$ , círculo), un modo tipo *stretching* simétrico C-N ( $1395cm^{-1}$ , triángulo hacia arriba), un modo tipo *stretching* antisimétrico C-N ( $1433cm^{-1}$ , triángulo hacia abajo) y un modo de *stretching* aromático ( $1620cm^{-1}$ , rombo), respectivamente.[63, 64] En la Fig. 5.14 también incluimos la respuesta electroquímica (curva llena) de las moléculas de MB adsorbidas en la mono-



**Figura 5.14:** La curva llena indica la voltametría cíclica de la interface Au/S/MB tomada a una velocidad de  $0.01V/s$ . Los puntos indican la evolución de la intensidad normalizada de los cinco picos más intensos como función del potencial electroquímico identificados en la Fig. 5.13, estos son: un modo de *bending* C-N-C ( $448cm^{-1}$ , identificado con un cuadrado), otro modo de *bending* C-N-C ( $495cm^{-1}$ , círculo), un modo tipo *stretching* simétrico C-N ( $1395cm^{-1}$ , triángulo hacia arriba), un modo tipo *stretching* antisimétrico C-N ( $1433cm^{-1}$ , triángulo hacia abajo) y un modo de *stretching* aromático ( $1620cm^{-1}$ , rombo), respectivamente. La curva punteada es una guía al ojo.

capa de S sobre Au como función del tiempo (o potencial aplicado, a una velocidad de  $0.01V/s$ ). Es claro de la Fig. 5.14 que todos los picos siguen el mismo comportamiento como función del potencial aplicado. Primero vemos un incremento en la intensidad SERS con un máximo alrededor de los  $-250mV$  ( $25s$ ). Este comportamiento puede ser causado por la modificación de la resonancia electrónica Raman cuando la molécula de MB es reducida a su estado de oxidación intermedio HMB<sup>•</sup>. Como mencionamos en la sección anterior, la débil señal de  $470cm^{-1}$  comparada con los picos de  $448cm^{-1}$  y  $495cm^{-1}$  en la Fig. 5.13 son fuerte evidencia de que las moléculas de MB se adsorben principalmente como dímeros y no tanto como monómeros.[58, 73, 75] Esto implica que la absorción óptica de las moléculas de MB debido a la transición HOMO-LUMO debería estar centrada en  $610nm$  en el estado inicial totalmente oxidado (MB<sup>+</sup>).<sup>7</sup> Cuando las moléculas son reducidas, en una primera instancia este borde de absorción óptica se corre hacia el rojo llegando a  $880nm$  para el estado de oxidación intermedio HMB<sup>•</sup>. [73, 75] Cuando la energía del láser está por arriba de esta última transición óptica, una fuerte condición de Raman resonante

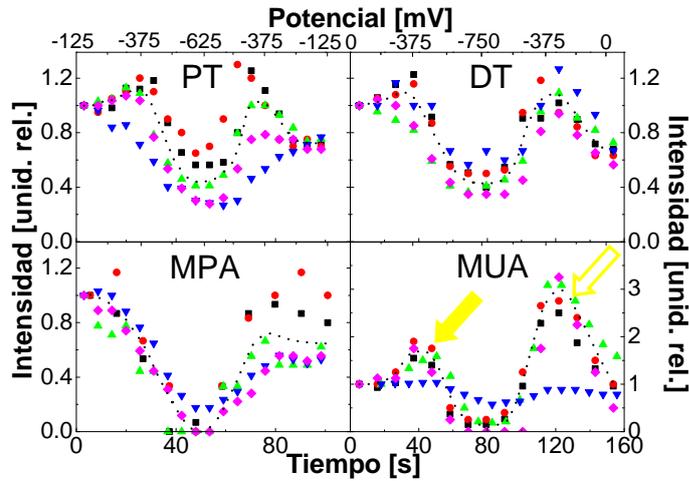
<sup>7</sup>Esto es importante para la discusión que sigue porque la absorción de las moléculas de MB en monómeros son menos energéticas (centradas en  $670nm$ ) que en dímeros y esta diferencia significa estar respectivamente por debajo o por encima de la energía del láser de  $647.1nm$  que utilizamos en estos experimentos.

puede existir, dando lugar a un mecanismo de amplificación adicional en la señal, lo que se denomina *SERRS* (del inglés **S**urface **E**nhanced **R**esonant **R**aman **S**cattering).[42, 45, 65] Notamos que la contribución de la resonancia Raman electrónica depende de si la energía del láser se encuentra por arriba o por debajo de la absorción óptica. En el primero de los casos, ocurren procesos de resonancia con diferentes estados vibrónicos (Albrecht “A-term”) llevando a obtener perfiles de intensidad Raman con máximos corridos por arriba del borde de absorción óptica en múltiplos de la energía de la vibración. Por debajo del borde de absorción, por el contrario, las eficiencias Raman son típicamente más pequeñas.[42, 43, 45, 65]<sup>8</sup> A medida que disminuimos el potencial aplicado, la molécula es totalmente reducida al estado LMB a los  $-750mV$  (75s), y la intensidad Raman decae a cero, implicando que dentro de nuestra capacidad de detección todas las moléculas de MB están electrónicamente conectadas al sustrato. Para esta especie reducida del MB, la absorción óptica sufre un fuerte incremento en su energía corriéndose a la región espectral del UV.[75] Bajo estas circunstancias la línea láser de  $647.1nm$  está tan fuera de las resonancias electrónicas que aún utilizando un sustrato SERS como el Au rugoso la señal se vuelve muy débil. Siguiendo el voltagrama de la Fig. 5.14, observamos otra vez un incremento en la intensidad cuando retornamos a potenciales del estado HMB,  $-250mV$  (125s), lo cual es consistente con el mecanismo SERRS descrito anteriormente. Notamos, al mismo tiempo, que este segundo máximo muestra sólo la mitad de la intensidad observada en la región de reducción del ciclo voltamperométrico. Podemos entender este resultado debido a la pérdida de moléculas hacia el electrolito durante los potenciales del estado LMB causado por una disminución en la interacción MB-S, cómo lo describen Campbell *et al.*[70] Esto está en acuerdo con la intensidad Raman que observamos al final del ciclo voltamperométrico en el estado oxidado del MB,  $0V$  (150s), donde recuperamos sólo la mitad de la intensidad inicial.

En la Fig. 5.15 presentamos la intensidad SERS vs. potenciales electroquímicos, similares al mostrado en la Fig. 5.14 para MB sobre S, pero ahora para MB adsorbido en los cuatro espaciadores de alcanotioles. Analizamos en principio los mismos picos que en el caso del S, a excepción del pico de  $1433cm^{-1}$  el cual, en el caso de los SAMs de alcanotioles, se encuentra corrido a  $1425cm^{-1}$ . Las características principales de estas curvas son las que siguen: Primero, muestran un incremento en la intensidad seguido por una disminución cuando las moléculas de MB pasan por los estados de oxidación HMB y LMB, respectivamente, al igual que lo que ocurría en el caso del film de S de la Fig. 5.14. Segundo, existe una dispersión relativamente mayor para los valores de las intensidades Raman normalizadas del MB en los diferentes espaciadores de alcanotioles que para el caso del S. Esto puede estar implicando una mayor distribución de orientaciones moleculares (y por consiguiente, reglas de selección Raman) que están afectando los resultados cuando la inmovilización del MB es a través de espaciadores moleculares más grandes.

---

<sup>8</sup>No descartamos un mecanismo de amplificación “químico”, similar al descrito en la Sec. 3.4.5, que relacione los cambios de potencial electroquímico introducidos con cambios en los niveles electrónicos del MB, permitiendo entonces procesos de resonancia Raman electrónica con el láser de  $647.1nm$ .



**Figura 5.15:** Intensidad normalizada de los cinco picos más intensos del espectro SERS del MB ensamblado en los cuatro espaciadores de alcanotioles: PT, DT, MPA y MUA. Las mediciones fueron tomadas con la línea láser de  $647.1\text{nm}$  y los picos de la señal del MB están identificados como en la Fig. 5.13: un modo de *bending* C-N-C ( $448\text{cm}^{-1}$ , identificado con un cuadrado), otro modo de *bending* C-N-C ( $495\text{cm}^{-1}$ , círculo), un modo tipo *stretching* simétrico C-N ( $1395\text{cm}^{-1}$ , triángulo hacia arriba), un modo tipo *stretching* antisimétrico C-N ( $1425\text{cm}^{-1}$ , triángulo hacia abajo) y un modo de *stretching* aromático ( $1620\text{cm}^{-1}$ , rombo), respectivamente. Las curvas punteadas son guías al ojo.

Tercero, las intensidades de las señales Raman para los espaciadores de tioles son menores que las obtenidas en el caso del S, haciendo que las relaciones señal-ruido se vean reducidas. Cuarto, existen algunas diferencias importantes entre los paneles de la Fig. 5.15. La más notoria es que la señal Raman del MB prácticamente desaparece en el estado de completa reducción (LMB) para los tioles terminados con grupos carboxílicos (MPA y MUA), mientras que *no lo hace* para aquellos terminados con grupos metílicos (PT y DT). El comportamiento para los casos PT y DT es prácticamente el mismo, mostrando un pequeño pico relacionado con la sintonización de la resonancia electrónica del estado de oxidación intermedio HMB, seguido por una depresión característica del estado reducido LMB. En este punto, el valor más bajo alcanzado por ambas curvas ronda 0.45. Esto significa que una cantidad significativa de moléculas de MB, presentes en las SAMs, no está electroquímicamente conectada con el sustrato de Au, y consecuentemente su resonancia electrónica no está anulada por el proceso de reducción electroquímica. Esto es, cerca de un 45% de las moléculas permanece en su estado oxidado (*i.e.*, absorbiendo ópticamente a  $610\text{nm}$ ) aún para los potenciales más negativos, por lo tanto contribuyendo significativamente a la señal colectada cuando utilizamos el láser de  $647.1\text{nm}$ . Esta observación es consistente con la pequeña carga electroquímica observada para estos espaciadores en relación con la del S (cerca al 10%) cuando comparamos con la presencia de MB deducida de las intensidades Raman (alrededor del 30%) (discutido en la Sec. 5.2.2 y en las

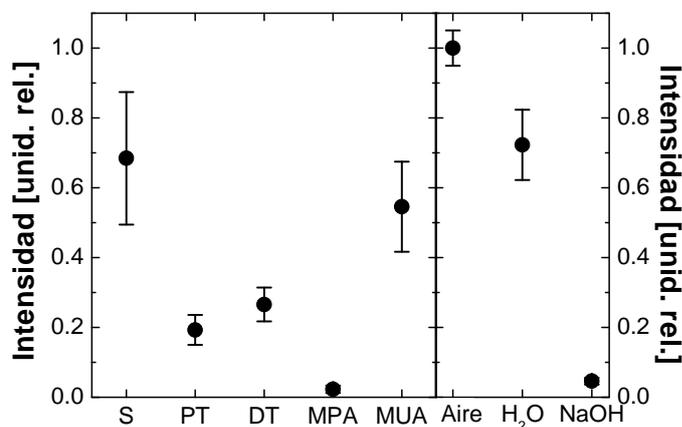
Ref. [56, 58]). Siguiendo con los ciclos electroquímicos, las curvas de intensidad Raman para PT y DT muestran un segundo máximo otra vez relacionado con el estado de oxidación HMB', adquiriendo finalmente en el estado oxidado MB<sup>+</sup> una intensidad 0.7 del valor inicial. Esto último nos sugiere que algunas moléculas de MB se están desorbiendo a la solución durante el proceso de reducción al estado LMB, pero con una probabilidad menor que la que encontramos en el caso del film de S. La causa de esta diferencia posiblemente son las interacciones de van der Waals entre los tioles y el MB, y también la mayor solubilidad de las moléculas de LMB en las cadenas carbonadas, disminuyendo la exposición del MB a la solución de NaOH.[63]

Ahora pasamos a analizar el caso de los tioles terminados en grupos carboxílicos que presentamos en la Fig. 5.15. En el caso del espaciador MPA el gráfico presenta una forma similar a la de los tioles metálicos expuestos anteriormente pero con una notable diferencia en la región del LMB (reducción) donde la intensidad Raman cae a cero. Esto implica que para MPA, como para S, casi todas las moléculas detectadas por Raman están electroquímicamente conectadas al sustrato metálico. Podemos decir lo mismo para el tiol carboxílico de cadena carbonada larga, el MUA. Notamos, además, que en este último caso existen dos puntos adicionales. Primero, el modo de *stretching* asimétrico de  $1425\text{cm}^{-1}$  muestra un comportamiento distintivo. No hemos encontrado una explicación para la dependencia casi insensible de este modo en función del potencial aplicado. Segundo, hay un incremento muy marcado en la intensidad Raman cuando la molécula se encuentra en la región de oxidación intermedia, HMB', que es cercano a 2 durante la parte reductiva del ciclo electroquímico (indicado con flecha llena), pero que alcanza un valor comparativamente mayor, cercano a 3.5, cuando la molécula es oxidada nuevamente (flecha vacía). Nos referiremos a este punto notorio en la discusión que sigue.

Hemos discutido en los párrafos anteriores cómo la intensidad Raman, a través de su dependencia con la estructura electrónica molecular, puede ser utilizada para monitorear la presencia del MB en los diferentes estados de oxidación a lo largo de un ciclo voltamperométrico. Basándonos en estas conclusiones, presentamos la intensidad Raman residual a potenciales correspondientes a estados de oxidación totalmente reducidos como evidencia de la existencia de moléculas que no están electroquímicamente conectadas al sustrato (en particular, para PT y DT). Esto es consistente con los resultados expuestos tanto en la sección anterior (Sec. 5.2.2) como en investigaciones previas (Ref. [56, 58]) donde aparece una aparente contradicción en las concentraciones de MB cuando comparamos resultados voltamperométricos y Raman. Así tenemos que cuando medimos cargas para la cupla redox del MB, encontramos valores entre 10 y 20 veces mayores cuando esta molécula está adsorbida sobre S que cuando se encuentra ensamblada sobre las SAMs de tioles, mientras que los estudios Raman y SERS sobre sustratos secos presentan relaciones de intensidades sólo 2 o 3 veces mayores para moléculas de MB adsorbidas sobre S que sobre los tioles. Esta contradicción aparente se puede dilucidar notando que los distintos experimentos están midiendo cantidades diferentes. Por otra parte, mientras realizamos los experimentos presentados en esta sección notamos que la intensidad inicial que medimos

## 84 SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

cuando sumergimos las muestras para realizar los ciclos electroquímicos es diferente de aquella medida en condiciones del sustrato seco. Esto quiere decir que la menor cantidad de carga en la cupla redox del MB detectada para los espaciadores de tioles comparada con la del film de S, puede estar causada no sólo por una conexión incompleta entre las moléculas de MB y el sustrato en el primero de los casos, sino también debido a una diferente tasa de desorción de MB cuando las muestras son sumergidas en el electrolito. Para comprobar esta hipótesis realizamos una nueva serie de experimentos comparando la intensidad SERS medida para los sustratos en aire inmediatamente luego de crecer la estructura orgánica, con aquella medida una vez que la muestra está sumergida en la solución electroquímica a potencial de celda abierta (cercano a  $-0.2V$  en la región de oxidación,  $MB^+$ ).



**Figura 5.16:** Panel izquierdo: Cociente de la intensidad SERS de la señal de  $1620cm^{-1}$  del MB para las muestras con los distintos espaciadores (S, PT, DT, MPA y MUA) medido en una solución acuosa de NaOH  $0.1M$  y en aire, utilizando la línea láser de  $647.1nm$ . Panel derecho: Intensidad SERS de la señal de  $1620cm^{-1}$  del MB ensamblado sobre una monocapa de MPA en Au medido en Aire,  $H_2O$  y NaOH, utilizando la línea láser de  $647.1nm$ . Cada dato es el promedio de cinco mediciones en posiciones diferentes sobre cada una de tres muestras construidas de la misma manera, y está presentado con sus desviaciones estándares.

En el panel izquierdo de la Fig. 5.16 presentamos el cociente de intensidad SERS correspondiente a la señal de  $1620cm^{-1}$  del MB calculado a partir de mediciones realizadas con muestras colocadas en una solución acuosa  $0.1M$  de NaOH y en aire. Cada punto experimental es el promedio de mediciones realizadas sobre cinco diferentes posiciones sobre cada una de tres muestras preparadas al mismo tiempo y bajo las mismas condiciones. La desviación estándar de estas mediciones está presentada como barras de error. Los resultados claramente demuestran desorción de moléculas de  $MB^+$  a la solución en proporciones disímiles dependiendo del espaciador. La señal SERS decae a alrededor de

un 70% de su valor inicial para el caso del S, hasta alrededor de un 20-30% para el caso del PT y el DT, a un 50% en el caso del MUA y estrictamente por debajo del 5% del valor inicial para el MPA. Presentamos en el panel derecho de la Fig. 5.16 una prueba adicional que realizamos para clarificar este asunto. Esta consiste en medir la intensidad SERS del pico de  $1620\text{cm}^{-1}$  del MB ensamblado en el particularmente anómalo espaciador de MPA cuando la muestra está sumergida en aire,  $\text{H}_2\text{O}$  y en una solución acuosa  $0.1\text{M}$  de NaOH. Observamos que las moléculas de  $\text{MB}^+$  se desorben al  $\text{H}_2\text{O}$  a través de fuerzas de difusión que son importantes porque inicialmente no existe una concentración de  $\text{MB}^+$  en la solución. De cualquier manera, la cantidad de  $\text{MB}^+$  transferida por difusión al  $\text{H}_2\text{O}$  es menor al 30% del valor inicial. Por otra parte, el decaimiento en la intensidad Raman del  $\text{MB}^+$  alcanza más del 95% de su valor inicial cuando la muestra es sumergida en una solución de NaOH. Interpretamos que esta pérdida drástica de moléculas de  $\text{MB}^+$  está causada por dos contribuciones, una primera relacionada con fuerzas difusivas que actúan al igual que en el caso del  $\text{H}_2\text{O}$ , y otra más importante relacionada con desplazamientos causados por iones. En otras palabras, los iones  $\text{Na}^+$  en solución podrían estar apantallando la carga expuesta por los grupos carboxílicos terminales ( $\text{COO}^-$ ) del MPA por lo que aquellas moléculas  $\text{MB}^+$  que estaban adsorbidas electrostáticamente al MPA quedarían libres de abandonar la SAM. Este último mecanismo explica el por qué sólo una pequeña fracción de moléculas de  $\text{MB}^+$  quedan adsorbidas en la SAM de MPA, muy posiblemente dentro de defectos del autoensamblado o entre las cortas cadenas carbonadas del tiol. Dentro de este modelo, podemos explicar otros de los puntos notables expuestos en la Fig. 5.15.

#### **Interacciones MB-S en solución de NaOH**

Primero, el  $\text{MB}^+$  adsorbido sobre S se desorbe hacia la solución de NaOH por mecanismos de difusión inducida por gradientes de concentración, dejando el 70% de la cantidad inicial de las moléculas en la SAM. Esta desorción es pequeña comparada con la que presentan los tioles y puede explicarse por un mecanismo más eficiente del S para atrapar al MB, debido posiblemente a la contribución de las interacciones dimetilamino-azufre expuesta en la Sec. 5.2.2.[58, 70]

#### **Interacciones MB-PT y MB-DT en solución de NaOH**

El mismo mecanismo difusivo parece ser más efectivo para SAMs de tioles con terminaciones metílicas, PT y DT, donde sólo el 20-30% de las moléculas iniciales permanece ensamblado.

#### **Interacciones MB-MPA y MB-MUA en solución de NaOH**

En lo que respecta a los tioles carboxílicos, MPA y MUA, estos atrapan más eficientemente a las moléculas de  $\text{MB}^+$  que sus contrapartes metílicas (PT y DT) debido a las interacciones electrostáticas entre los grupos funcionales de carácter polar. Así mismo y como

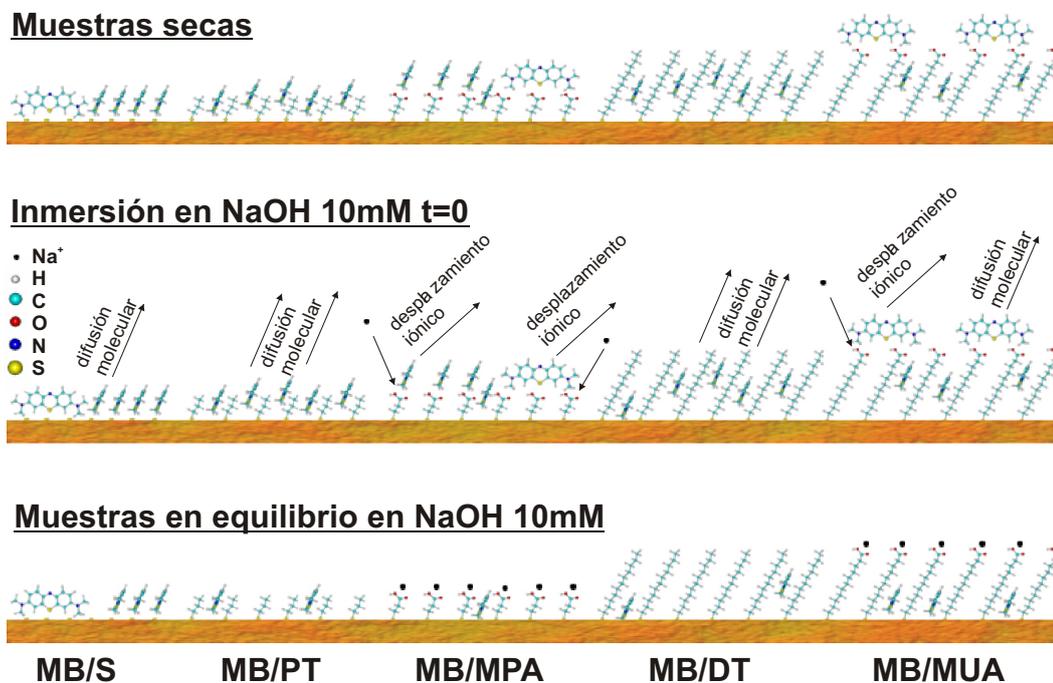
discutimos anteriormente, esta atracción es apantallada y las moléculas son fácilmente reemplazadas por una alta concentración de iones  $\text{Na}^+$  presentes en la solución acuosa  $0.1M$  de  $\text{NaOH}$ , arrojando una gran pérdida de masa adsorbida de  $\text{MB}^+$  hacia el electrolito. Como resultado, menos del 5% de la cantidad inicial de  $\text{MB}^+$  permanece ensamblado en el MPA.

### Bloqueo iónico

El caso del espaciador MUA, por otra parte, no parece concordar con esta imagen general. Siendo un tiol carboxílico, este film debería mostrar otra vez el efecto difusional y el correspondiente al desplazamiento por los iones. A pesar de esto, las mediciones Raman realizadas en la solución de  $\text{NaOH}$  indican más del 50% de la intensidad medida en aire. Para aclarar este punto, nos referimos a las conclusiones de las mediciones SERS presentadas en la Sec. 5.2.2 para determinar la distancia promedio entre las moléculas de  $\text{MB}^+$  y el substrato. Primero encontramos que esta distancia es significativamente inferior al espesor del film de MUA, confirmando que el  $\text{MB}^+$  está inmovilizado no sólo en la parte exterior del SAM a través de interacciones electrostáticas entre el grupo carboxilo ( $\text{COO}^-$ ) y el  $\text{MB}^+$ , sino que también existe una cantidad significativa de moléculas de  $\text{MB}^+$  que penetraron entre las cadenas carbonadas del MUA.[58] Con estos elementos en mente, podemos entender que la diferencia observada con el caso del MPA en la Fig. 5.15 proviene del hecho que al mismo tiempo que los iones  $\text{Na}^+$  apantallan la carga de los grupos terminales  $\text{COO}^-$  del MUA están repeliendo contra el substrato a las moléculas de  $\text{MB}^+$  restantes que se encuentran entre las largas cadenas hidrocarbonadas. Este proceso puede ser interpretado como un bloqueo iónico para las moléculas de  $\text{MB}^+$  (que inicialmente están entre las cadenas carbonadas) producido por los iones de  $\text{Na}^+$ , quienes inhiben su difusión hacia el electrolito y los empujan hacia el substrato metálico, causando una amplificación de la señal Raman debido a la fuerte dependencia en la amplificación SERS con la distancia entre la molécula de MB y el substrato metálico. Notamos que, contribuyendo a este último mecanismo, las moléculas de MB en su estado reducido (LMB) son más solubles entre las cadenas carbonadas.[76] Este hecho puede explicar en una manera natural el estrictamente mayor y asimétrico máximo que observamos para el caso del MUA en la Fig. 5.15 como debido a dos procesos que se suman, por un lado la resonancia Raman electrónica que discutimos anteriormente, y por otro, el incremento en la amplificación SERS debido a movimientos de las moléculas hacia el substrato durante la fase reducida, LMB.

Toda la discusión que acabamos de realizar puede resumirse en un esquema como el que presentamos en la Fig. 5.17. En el panel superior podemos ver las posiciones promedio del MB en los cinco espaciadores cuando las muestras están secas, tal como lo dedujimos en Sec. 5.2.2. El panel del medio introduce esquemáticamente las fuerzas intermoleculares que sienten las moléculas de MB al momento en el que son sumergidas en la solución acuosa de  $\text{NaOH}$   $10mM$ . Finalmente, en el panel inferior mostramos la condición de equilibrio alcanzada por las diferentes muestras luego de permanecer en la solución de  $\text{NaOH}$  donde

se evidencia tanto la pérdida de las moléculas de MB por difusión y desplazamiento iónico como el reacomodamiento de las moléculas restante causado por el bloqueo iónico (MPA y MUA).



**Figura 5.17:** Arriba: esquema de los autoensamblados de azufre y tioles mostrando las posiciones promedio de las moléculas de MB cuando las muestras están en aire. Medio: fuerzas difusivas y de desplazamiento causado por iones que aparecen en el momento en que las muestras son sumergidas en una solución acuosa de NaOH 10mM. Abajo: Representación de la situación de equilibrio alcanzada por las muestras sumergidas en la solución de NaOH donde mostramos la pérdida de las moléculas de MB y el reacomodamiento de las restantes.

## 5.4 Estudiando sistemas biomiméticos: Moléculas en membranas fosfolípidas ensambladas

En las secciones previas de este capítulo hemos estudiado tanto la estructura como la funcionalidad de una molécula redox, el azul de metileno, adsorbida sobre monocapas autoensambladas de tioles y azufre utilizando la amplificación SERS en sustratos rugosos. El entendimiento de estos sistemas es importante para desarrollar potenciales aplicaciones en sensado, detección e identificación de moléculas. Un grado superior en la complejidad del problema está relacionado con el estudio de sistemas biomiméticos, por ejemplo, membranas fosfolípidas. En este contexto el estudio de capas fosfolípidas artificialmente reconstruidas sobre sustratos sólidos viene siendo investigado debido a que se pueden utilizar para estudiar, en una manera controlada, aspectos básicos de interac-

ciones de iones, moléculas y biomoléculas con material biológico y su transporte a través de membranas.[77, 78] Las capas fosfolípidas pueden ser utilizadas también para explorar la interacción y el transporte de nanopartículas, nanotubos de carbono y otros nanomateriales novedosos con membranas,[79] siendo este un tema muy importante para usos e incumbencias en nanociencia y nanotecnología.

Los sustratos de alta relación área/volumen han sido utilizados como plataformas para soportar bicapas fosfolípidas porque proveen de amplificación a las diferentes señales utilizadas para detectar la presencia y seguir el transporte de especies en estos ambientes nanoscópicos.[80] En particular, sustratos con porosidad nanoestructurada están surgiendo como buenos candidatos para soportar bicapas fosfolípidas debido a que éstas pueden retener su fluidez y por ello ofrecer mayor espacio intersticial libre en los poros para la incorporación de proteínas de membranas o para el estudio de la funcionalidad de la misma membrana. La incorporación de moléculas con resonancias ópticas como sondas en sistemas de alta área cubiertos por membranas nos proveen de una manera sencilla para seguir cambios estructurales de la membrana bajo distintas perturbaciones que se pueden transducir a cambios en las señales ópticas.[81]

Metales nanoestructurados como Au o Ag son particularmente interesantes como plataformas para soportar a las bicapas fosfolípidas porque permiten combinar el uso de técnicas electroquímicas y ópticas (SERS) permitiendo realizar estudios estructurales y funcionales como los que presentamos anteriormente en este capítulo.[82, 83]

En esta sección, entonces, exponemos estudios en los cuales utilizamos una superficie de Au electroquímicamente rugosa cubierta por una monocapa de ditiotreitól (DTT) como plataforma para crecer una bicapa fosfolípida de dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC). Luego utilizamos espectroscopía SERS con electroquímica *in-situ* para seguir en tiempo real el comportamiento de una molécula lipofílica, azul de metileno (MB), y otra lipofóbica, flavina adenina dinucleótica (FAD), inmovilizadas en estas bicapas para obtener a través de ellas información sobre la funcionalidad de la membrana biomimética.

### **5.4.1 Muestras**

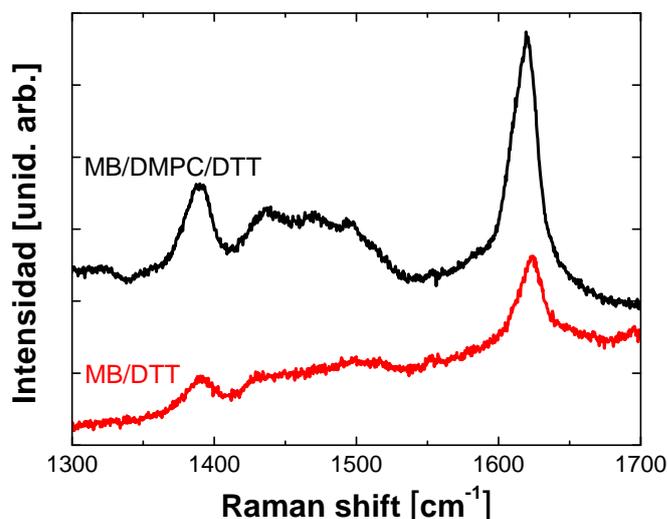
Las muestras que estudiamos en esta sección fueron preparadas por la Lic. M. A. Daza Millone, integrante del grupo del Dr. Roberto Salvarezza del INIFTA-UNLP. Rugosamos electroquímicamente los sustratos de Au en primer lugar para luego ensamblar la bicapa de fosfolípidos. Este proceso se lleva a cabo adsorbiendo vesículas de fosfolípidos en una superficie de Au modificada con un tiol.[28] La monocapa de tioles terminada con grupos funcionales hidrofílicos, como alcoholes, promueven la adsorción y ruptura de las vesículas para generar parches de la bicapa fosfolípida soportadas sobre la capa inferior de tioles. Por otra parte, tioles hidrofóbicos, como los metílicos, promueven la formación de bicapas híbridas formadas por una monocapa de tioles y otra de fosfolípidos. En este trabajo se utilizó ditiotreitól (DTT), un ditiol con grupos funcionales alcohólicos, para cubrir la nanoestructura de Au y así obtener una plataforma sólida para la formación de la bicapa fosfolípida.[84] Se autoensambló el DTT luego de sumergir al sustrato de Au

en una solución  $50\mu M$  de DTT a  $60^{\circ}C$  durante  $24h$  logrando una monocapa del ditiol con empaquetamiento denso donde las moléculas están acostadas y exponen sus grupos alcoholes para propiciar la formación de la bicapa fosfolípida de dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) por fusión de liposomas.[85] Esto se logra primero formando vesículas de DMPC por evaporación del solvente de una solución fosfolípida ( $10mg/mL$ ) preparada en cloroformo. Luego se obtienen las vesículas multilaminares agregando una solución buffer conteniendo HEPES  $10mM$  + NaCl  $0.9\%$  y agitando. Luego la solución es extruida a través de un filtro de policarbonatos con poros de  $400nm$  de Nuclepore para obtener las vesículas unilaminares.[86] Finalmente, se obtiene la bicapa de DMPC por fusión de vesículas sobre la superficie de DTT/Au por inmersión del substrato en la suspensión de liposomas de DMPC  $10mg/mL$  durante  $90min$  a  $30^{\circ}C$  (por arriba de la temperatura de transición de fase del DMPC). Posteriormente modificamos las membranas autoensambladas con una de dos moléculas, una lipofílica, el azul de metileno (MB), y otra lipofóbica, la flavina adenina dinucleótida (FAD), de manera similar a lo hecho con las SAMs de tioles en la sección anterior.

#### 5.4.2 Resultados y discusión

En la Fig. 5.18 mostramos los espectros Raman tomados en aire con la línea láser de  $568.1nm$  para dos muestras con MB ensamblado sobre substratos de oro liso (Au(111)) modificados únicamente por DTT la primera y por DMPC sobre DTT la segunda. En ambos casos observamos el espectro Raman típico del MB.[58, 83] A pesar de ello, la diferencia en intensidad de las señales Raman indican que la cantidad de MB inmovilizada en la membrana de DMPC es tres veces mayor que en la SAM de DTT, *i.e.* la bicapa actúa como reservorio para las moléculas de MB. En contraste con esto, no observamos ninguna señal para las muestras de DTT y DMPC sobre DTT, ambas sobre Au(111), modificadas con FAD. Este hecho lejos de probar que no se inmoviliza FAD sobre estas estructuras orgánicas nos dice que el mecanismo de resonancia electrónica Raman cuando excitamos con el láser de  $568.1nm$  es más eficiente para MB que para FAD debido a que las absorciones ópticas para estos complejos caen en  $610nm$  y  $450nm$ , respectivamente.

Presentamos en la Fig. 5.19 el comportamiento electroquímico para substratos de Au(111) con DTT (curvas rayadas) y DMPC sobre DTT (curvas llenas), tanto con MB (arriba) como con FAD (abajo) inmovilizadas en estos films orgánicos. Los voltagramas rayados indican que la monocapa de DTT permite la transferencia de cargas entre la superficie de Au y ambas moléculas, MB y FAD. De hecho, los pares de picos que observamos alrededor de  $-0.25V$  para el MB sobre DTT es altamente reversible (la separación entre los picos de reducción y oxidación es mínima) e involucra una densidad de carga  $q = 1.5 \pm 0.5\mu C/cm^2$ . Por otra parte, la cupla redox que medimos para el MB inmovilizado en DMPC sobre DTT muestra un valor similar para  $q$  aunque los picos de corriente son más anchos e irreversibles indicando que el proceso de transferencia de carga es más dificultoso para el MB dentro del ambiente que le proporciona el DMPC. Entonces, teniendo en cuenta la diferencia en las intensidades de las señales Raman (Fig.

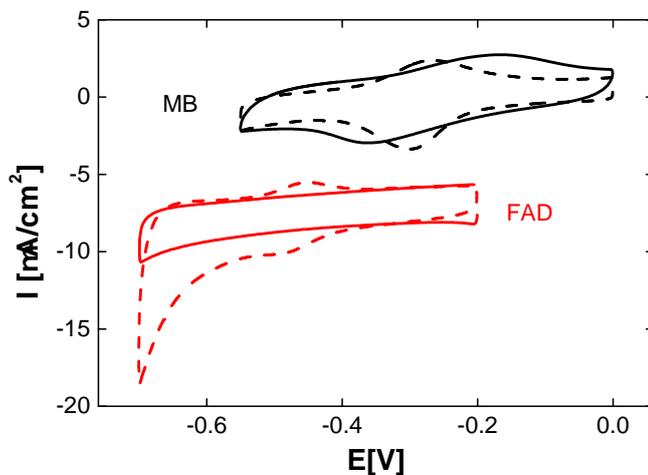


**Figura 5.18:** Espectros Raman en condiciones de resonancia electrónica (línea láser de  $568.1\text{nm}$ ) tomados en aire para los sistemas MB/DMPC/DTT/Au(111) y MB/DTT/Au(111). En ambos casos observamos las señales Raman típicas para MB analizadas anteriormente en este capítulo.

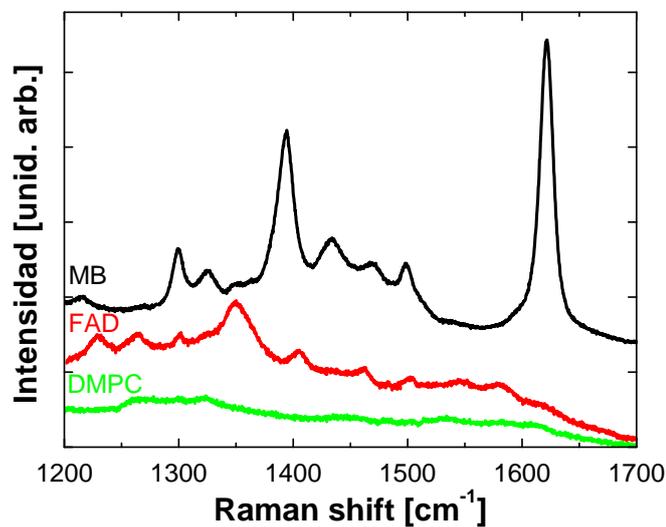
5.18) y la densidades de cargas similares que encontramos para el MB en ambos sistemas (DMPC/DTT/Au(111) y DTT/Au(111)) (Fig. 5.19 arriba) podemos concluir que una gran cantidad ( $\sim 2/3$ ) de moléculas de MB que se encuentran en las bicapas de DMPC secas son electroquímicamente inactivas cuando las sumergimos en el electrolito. Este comportamiento es similar a lo que observamos en la Sec. 5.3.1 para el MB en las monocapas de alcanotioles.[83]

Por otra parte, las moléculas de FAD sobre Au(111) modificado con DTT exhibe su cupla redox (referida a las especies FAD y FADH<sub>2</sub>) alrededor de  $-0.48\text{V}$  (Fig. 5.19 abajo).[87] En contraste con esto, no se detecta actividad electroquímica para las moléculas de FAD inmovilizadas sobre estructuras DMPC/DTT/Au(111). Por lo tanto, los datos electroquímicos sugieren que no existe una cantidad significativa de moléculas de FAD que sean capaces de alcanzar una distancia respecto al sustrato tal que el proceso de intercambio electrónico se vuelva operativo. Por lo tanto, se puede concluir de estos estudios electroquímicos que la membrana permite la penetración de las moléculas lipofílicas de MB pero no el de las FAD que son moléculas negativamente cargadas (lipofóbicas).

Como los experimentos sobre Au(111) no permitían hacer un seguimiento de las moléculas de FAD, para su comparación con las de MB, hemos extendido las mediciones Raman de bicapas de DMPC utilizando sustratos de Au rugosos (SERS activos) modificados con DTT. Tomamos los espectros SERS en aire (muestras secas) utilizando la línea láser de  $647.1\text{nm}$  para maximizar la intensidad Raman. Mostramos los resultados



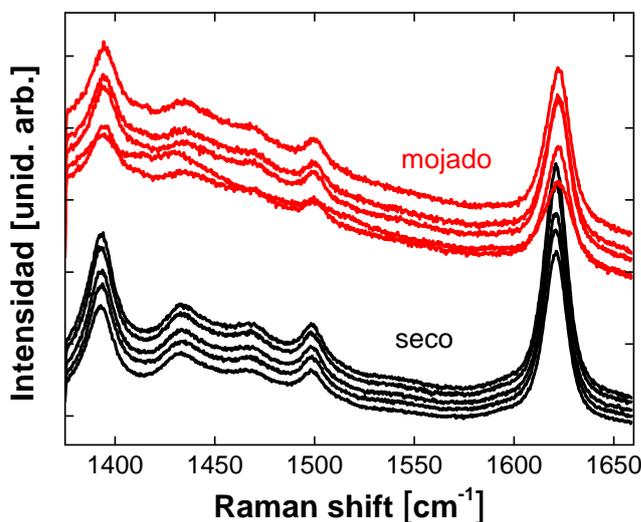
**Figura 5.19:** Voltametrías cíclicas tomadas por la Lic. A. Daza Millone realizadas en un buffer fosfato  $0.1M$  con  $pH = 7.4$  para MB (arriba) y FAD (abajo, desplazadas  $-7.5 \mu A/cm^2$ ) inmovilizados en DTT/Au(111) (líneas rayadas) o en DMPC/DTT/Au(111) (líneas llenas).



**Figura 5.20:** Espectros SERS medidos para MB (arriba) y FAD (centro) inmovilizados en DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub>. Las muestras fueron medidas con la línea de  $647.1nm$  en aire. La intensidad del MB está dividida por 20 para que se visualice mejor el gráfico. También medimos el sustrato blanco DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> (abajo).

## 92 SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

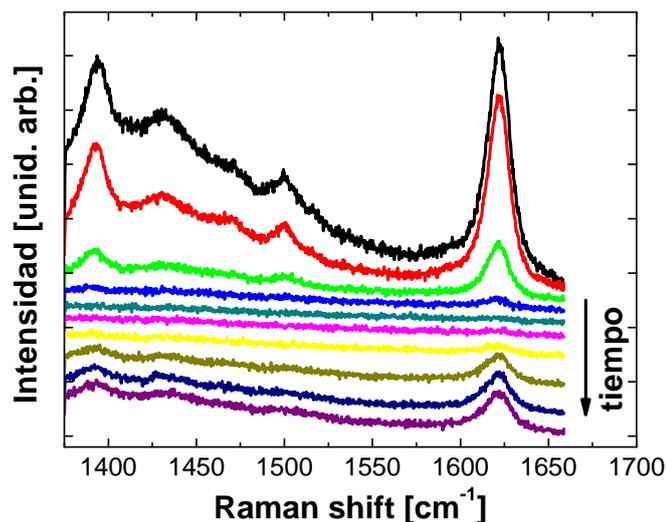
SERS en la Fig. 5.20 para la inmovilización de MB (dividido por 20, arriba en negro) y FAD (en el medio en rojo) en estructuras DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub>. El espectro inferior (en verde) corresponde a la señal proveniente de un “blanco” de DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub>. Los datos SERS son extremadamente sensibles y confirman la incorporación de moléculas de MB a la membrana, pero también indican que existe una cierta cantidad de FAD inmovilizada en la membrana y que no fue detectada por las mediciones Raman sin amplificación por plasmones tomadas sobre Au(111). Otra vez remarcamos que la diferencia entre la intensidades Raman del MB y FAD no pueden tomarse como una medida directa de la concentración relativa adsorbida en las membranas debido a las diferentes secciones eficaces para la resonancia Raman con los láseres que utilizamos. La conclusión importante que debemos destacar es que a pesar de que el FAD no es electroquímicamente activo, está claramente presente en las membranas de DMPC sobre Au nanoestructurado.



**Figura 5.21:** Espectros SERS medidos para MB/DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> en aire (abajo, en negro) y en un buffer fosfato a potencial abierto (arriba, en rojo) utilizando la línea láser de 568.1nm. Cada espectro está tomado en posiciones diferentes de la muestra para mostrar el comportamiento homogéneo de la señal proveniente de este sistema.

En la Fig. 5.21 presentamos espectros SERS medidos para MB en membranas de DMPC sobre DTT/Au<sub>rug</sub> tomados en aire, abajo en negro, y en un buffer fosfato, arriba en rojo, a potencial de circuito abierto (OCP), *i.e.* sin polarización del electrodo de Au. Cada uno de los cinco espectros presentados para cada condición fue adquirido en una posición diferente para mostrar el comportamiento homogéneo de la señal. El potencial espontáneo que alcanza el sistema (el OCP) es de  $-0.2V$  por lo que las moléculas de MB están en su estado oxidado MB<sup>+</sup> (ver Fig. 5.19). Notamos de estos espectros que la simple inmersión de los sistemas MB/DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> en la solución electrolítica

resultan en un decaimiento del 25% en la intensidad de la señal sugiriendo que las especies  $MB^+$  pueden difundir parcialmente desde la membrana al electrolito. Por ello, decimos que hay una cantidad de especies MB “libres” en la membrana de DMPC.

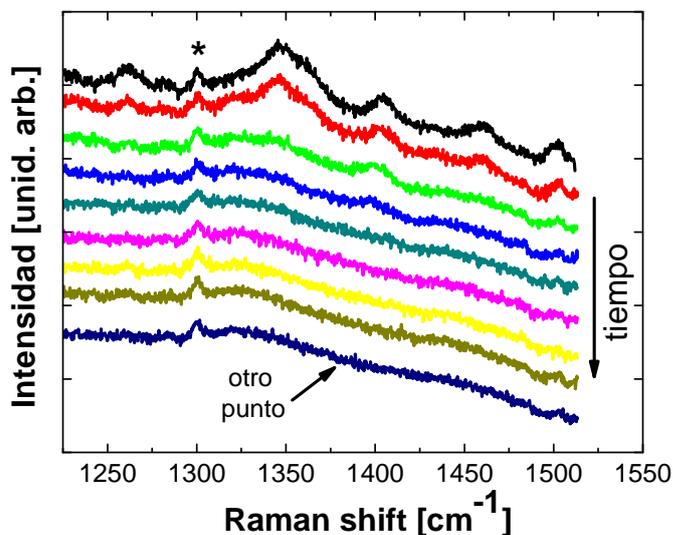


**Figura 5.22:** Espectros SERS medidos para MB/DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> en un buffer fosfato 0.1M a  $pH = 7.4$  como función del potencial aplicado durante el primer ciclo electroquímico. Los espectros fueron tomados con la línea láser de 568.1nm y los potenciales recorren el rango  $0 \rightarrow -0.5 \rightarrow -0.1V$  a  $0.01V/s$  vs. un electrodo de Ag/AgCl.

También adquirimos espectros SERS como función del potencial aplicado durante el primer ciclo voltamperométrico en un buffer fosfato 0.1M a  $pH = 7.4$  para las moléculas de MB “atrapadas”, *i.e.* aquellas moléculas de MB que se mantienen ensambladas dentro de la membrana de DMPC luego de la inmersión (Fig. 5.22). Barrimos el potencial en el rango  $0 \rightarrow -0.5 \rightarrow -0.1V$ , así las moléculas de MB evolucionan desde su estado natural oxidado, hacia el totalmente reducido y finalmente otra vez hacia la forma oxidada. La velocidad de barrido es de  $0.01V/s$ , el tiempo de adquisición Raman es de 1s y los espectros están tomados cada 2s. Entonces, cada espectro Raman es la respuesta del MB en el potencial especificado dentro del 10%. La elección de velocidad de barrido y tiempo de adquisición Raman es la mejor condición que encontramos para evitar la migración del MB a la solución, el *photobleaching* y obtener espectros con buenas relaciones señal/ruido. Observamos que la intensidad de los picos sufre importantes cambios como función del potencial aplicado mientras que la forma general del espectro Raman se conserva a lo largo del ciclo electroquímico. El punto más importante en la evolución del espectro es la disminución marcada en la intensidad que se vuelve prácticamente nula cuando el potencial alcanza los  $-0.5V$ . Esto implica que, a este potencial y dentro de nuestro rango de detección, todas las moléculas de  $MB^+$  que están dentro de la membrana son

## 94 SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

transformadas a la especie LMB (reducida) las cuales no son electrónicamente resonantes con la excitación láser de  $568.1\text{nm}$ . No obstante, cuando el potencial retorna a los  $-0.1\text{V}$  la intensidad SERS no recobra su valor inicial. De hecho, sólo un 20% de la señal original del  $\text{MB}^+$  es recuperada al finalizar el primer ciclo electroquímico. Notamos que no observamos procesos de *photobleaching* substanciales a OCP ni tampoco durante las mediciones Raman realizadas *in-situ* durante los ciclos electroquímicos en las muestras de MB inmovilizado en los diferentes tioles o azufre (Sec. 5.3.1).[83] Esto indica que un gran número de moléculas inmovilizadas en las membranas de DMPC pueden difundir hacia la solución durante el ciclo de potenciales. Contrariamente a la difusión espontánea de las moléculas “libres” de  $\text{MB}^+$  que observamos a OCP, este proceso difusivo está inducido por el potencial aplicado debido a que las interacciones entre las cadenas hidrocarbonadas y la molécula de MB se debilitan cuando cambiamos el estado de oxidación hacia el estado reducido (LMB).[75] Luego del decaimiento rápido que observamos en el primer ciclo electroquímico la intensidad de la señal Raman decae sólo al 75% en los siguiente ciclos de potencial. Esto explica el decaimiento en las señales Raman y también electroquímicas durante los ciclos de potencial.



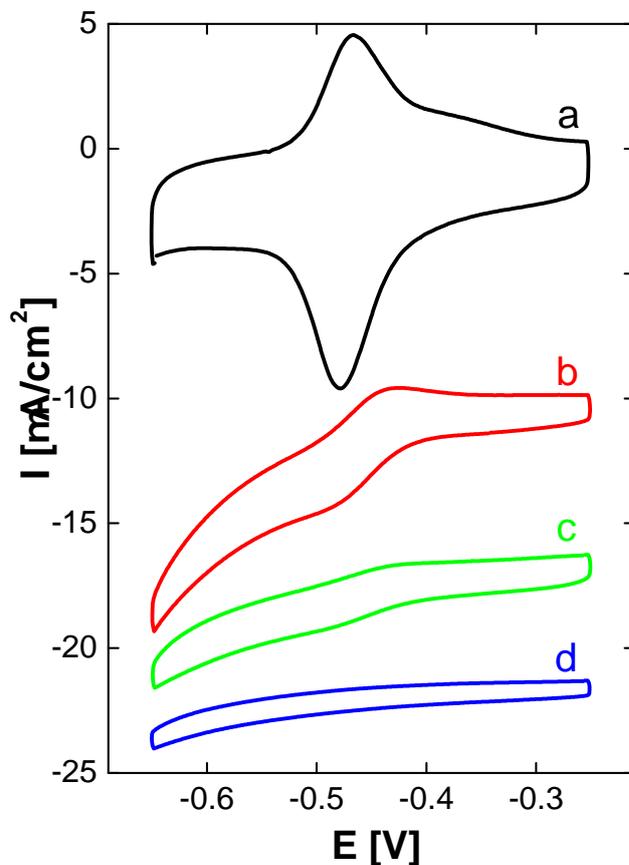
**Figura 5.23:** Espectros SERS medidos para FAD/DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> en un buffer fosfato  $0.1\text{M}$  a  $\text{pH} = 7.4$  como función del potencial aplicado durante el primer ciclo electroquímico. Los espectros fueron tomados con la línea láser de  $647.1\text{nm}$ . El primer espectro de arriba está tomado en condiciones de celda abierta (OCP), del segundo al séptimo están tomados con potenciales que recorren el rango  $-0.2 \rightarrow -0.7\text{V}$  a  $0.01\text{V/s}$  y los últimos dos espectros están tomados a  $-0.2\text{V}$  vs. un electrodo de Ag/AgCl. El asterisco marca un pico Raman proveniente del sustrato de Au.

Ahora nos referiremos al comportamiento de las moléculas de FAD inmovilizadas en

las membranas DMPC. Tomamos espectros SERS para la muestra inmersa en un buffer fosfato a OCP y a diferentes potenciales aplicados (Fig. 5.23). El espectro medido a OCP demuestra claramente que las moléculas de FAD oxidadas están presentes en la bicapa en solución. Otra vez observamos una pequeña disminución en la intensidad SERS respecto a la intensidad medida cuando la muestra está seca. Los resultados también indican que cuando el potencial aplicado se vuelve más negativo que  $-0.3V$  la señal SERS disminuye y finalmente desaparece por completo a  $-0.5V$ . Es interesante notar que, al contrario de lo que ocurre con MB, la especie reducida del FAD, el  $FADH_2$ , presenta una resonancia electrónica en  $647.1nm$  que debería traducirse en una amplificación de la señal Raman (como veremos en la Sec. 8.4), la cual no observamos en nuestros experimentos. Además, al revertir el potencial hasta  $-0.2V$  no recuperamos ninguna fracción de la intensidad inicial. Por lo tanto, todos estos datos nos indican que las moléculas de FAD han abandonado a la membrana por completo. Una razón plausible para este hecho es que a potenciales más negativos que  $-0.3V$  (el potencial cero de Au cubierto por tioles cortos[88]) la superficie de Au se torna negativa y repele a aquellas especies cargadas negativamente y que se encuentran débilmente unidas, como la FAD en la membrana de DMPC. Notamos que hemos observado un comportamiento idéntico para moléculas de FAD directamente inmovilizadas sobre Au, *i.e.* sin membrana. De hecho, es bien conocido que la desorción de aniones desde una superficie de Au ocurre cuando el potencial es más negativo que aquel correspondiente a carga cero del Au limpio ( $-0.2V$ ).[89]

Pasamos a discutir la ubicación de las moléculas de FAD dentro de la membrana de DMPC. En la Fig. 5.24 mostramos las cuplas redox para la FAD inmovilizada sobre Au limpio y Au cubierto por SAMs de alcanotioles con diferente largos de cadenas (C3, C6 y C9) medidas por M. A. Daza Millone del INIFTA - UNLP. Tal como lo esperábamos cuando el número de carbonos de la cadena carbonada de los tioles aumenta la señal de la cupla redox decae marcadamente. En particular, es importante notar que la cupla redox está bien definida sobre Au limpio y no aparece para FAD/C9/Au ni tampoco para FAD/DMPC/DTT/Au (Fig. 5.19). Por lo tanto, nuestros resultados pueden interpretarse considerando que al incrementar el espesor del espaciador y al formarse films más compactos y mejor empaquetados entonces las moléculas de FAD se localizan a mayores distancias de la superficie de Au, porque no logran penetrar dentro de los films, tornando cada vez más dificultoso el proceso de intercambio de carga.

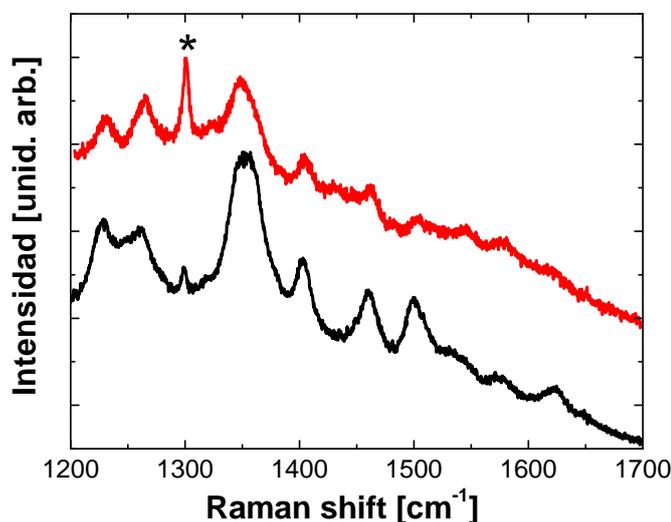
En la Fig. 5.25 mostramos los espectros SERS tomados en aire para los sistemas FAD/ $Au_{rug}$  (abajo en negro) y FAD/DMPC/DTT/ $Au_{rug}$  (arriba en rojo). Todos los picos que aparecen en la Fig. 5.25 salvo aquel identificado con un asterisco, \* (originado en el sustrato de Au nanoestructurado), corresponden a vibraciones de la FAD. Nuevamente remarcamos que es entonces claro que la FAD está inmovilizada sobre ambos sustratos. Usando la señal del sustrato como medio para calibrar las intensidades relativas, deducimos que las señales provenientes de la FAD sobre  $Au_{rug}$  son aproximadamente un factor  $\sim 6$  veces mayores que aquellas provenientes de la FAD inmovilizada sobre DMPC/DTT/ $Au_{rug}$ . Hemos mostrado en la Sec. 5.2.2 cómo la dependencia de la



**Figura 5.24:** Voltametrías cíclicas tomadas en un buffer fosfato  $0.1M$  a  $pH = 7.4$  y con velocidad de barrido de  $0.05V/s$  para (a) FAD sobre Au(111), (b) propanotiol/Au(111), (c) hexanotiol/Au(111), (d) nonanotiol/Au(111). Las densidades de corriente para las SAMs de tioles están multiplicadas por 5 para hacerlas comparables con la obtenida para Au(111).

amplificación SERS con la distancia puede ser utilizada para estimar separaciones entre moléculas y substratos.[58] La diferencia en intensidad que observamos es compatible con moléculas de FAD ubicadas dentro de la membrana de DMPC a unos  $\sim 2nm$  del substrato de Au. Este valor es un poco más pequeño que los  $\sim 3.5nm$  del espesor estimado para el espaciador DMPC/DTT en aire.[90] Por lo tanto, puede implicar tanto que una mayor cantidad de moléculas de FAD estén presentes en el caso de la membrana comparado con el Au limpio, o que existe una cierta penetración de las moléculas que se encuentran por fuera de la membrana. En cualquier caso, de los datos SERS de la Fig. 5.25 podemos concluir que las moléculas de FAD están inmovilizadas sobre DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> al menos tan eficientemente como sobre Au<sub>rug</sub>. Tomando en cuenta que el espesor de la membrana DMPC/DTT en solución aumenta hasta alcanzar del orden de  $5nm$ , [84] la ausencia de actividad electroquímica es consistente con moléculas de FAD lejos de la in-

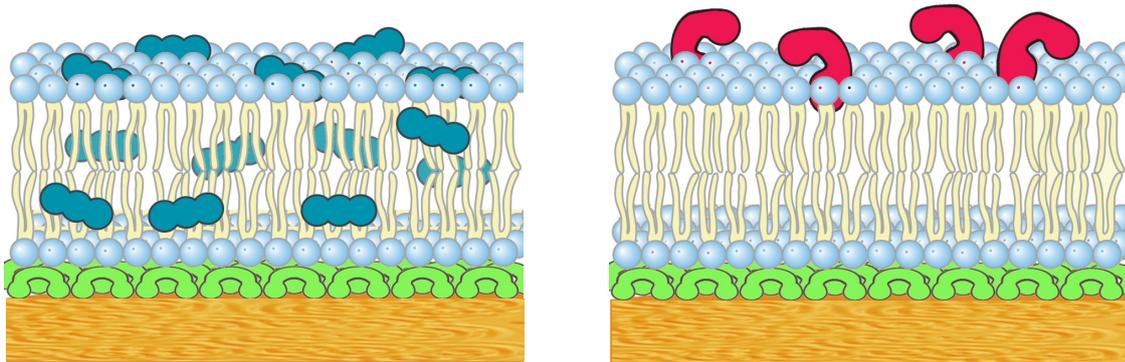
terface DTT/Au, *i.e.* mayoritariamente unidas en la parte externa de la membrana donde la transferencia de carga está bloqueada por la distancia. Podemos entonces especular



**Figura 5.25:** Espectros SERS medidos para FAD/DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> (arriba) y FAD/Au<sub>rug</sub>. Los espectros fueron tomados en aire con el láser de 647.1nm. El asterisco marca un pico Raman proveniente del substrato de Au.

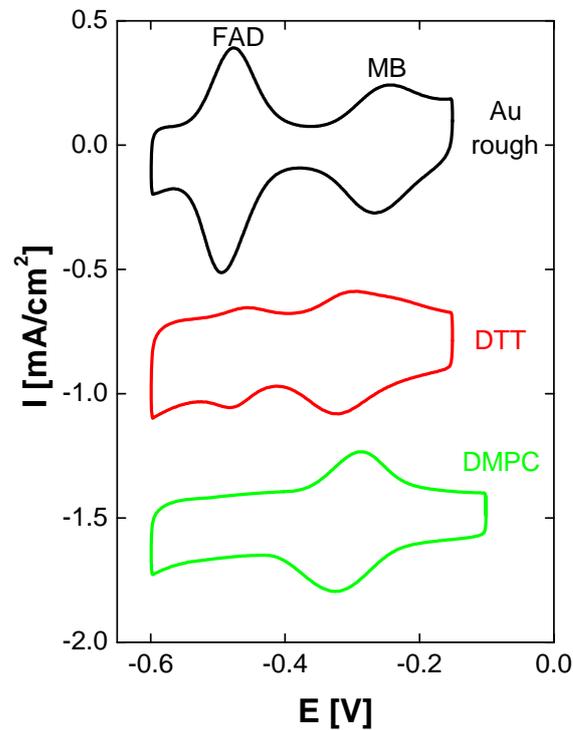
que la cola de isoaloxacina de la molécula de FAD puede estar parcialmente incorporada en la capa exterior de fosfolípidos (como pasa con la molécula de MB) mientras que la parte hidrofílica de la molécula, cargada negativamente, permanece en contacto con el electrolito (Fig. 5.26 derecha). Por otra parte, las moléculas de MB están incorporadas en toda la membrana de DMPC pero sólo aquellas que se encuentran cerca de la superficie de Au son electroquímicamente activas, mientras que las restantes son más fácilmente removidas primero durante la inmersión y luego con la formación de la especie LMB durante el ciclado electroquímico (Fig. 5.26 izquierda).

Los resultados anteriores muestran que estas membranas pueden servir para una detección selectiva de moléculas lipofílicas y exclusión de moléculas hidrofílicas. Como prueba de concepto se ha estudiado las propiedades de barrera del sistema DMPC/DTT/Au para la penetración de moléculas de MB y FAD utilizando una solución mezcla de MB + FAD con un buffer fosfato como electrolito soporte. Para este propósito sumergimos tres electrodos, Au<sub>rug</sub>, DTT/Au<sub>rug</sub> y DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> en una solución 5μM de MB + 10μM de FAD en un buffer fosfato 0.1M a pH = 7.4, y se realizaron experimentos de voltamperometría cíclica (Fig. 5.27, realizado por M. A. Daza Millone del INIFTA - UNLP). Para el caso de Au<sub>rug</sub> y DTT/Au<sub>rug</sub> observamos las cuplas redox tanto de la FAD como del MB, mientras que para la muestra de DMPC/DTT/Au<sub>rug</sub> sólo la cupla redox del MB es detectada. Estos resultados demuestran claramente que la



**Figura 5.26:** Esquema propuesto para la ubicación de las moléculas de MB (izquierda, en azul) y FAD (derecha, en rojo). en el sistema DMPC/DTT/Au. Las moléculas del plano externo de la membrana se pierden luego de la inmersión y al realizar el ciclo electroquímico.

bicapa de DMPC funciona como una membrana selectiva que deja pasar hasta la interface DTT/Au a moléculas lipofílicas como el MB mientras que retiene en el exterior a especies con regiones lipofóbicas como la FAD.



**Figura 5.27:** Voltamperometría cíclica realizada a  $0.1V/s$  en una solución  $5\mu M$  de MB +  $10\mu M$  de FAD en buffer fosfato  $0.1M$  a  $pH = 7.4$  para  $Au_{rug}$  (arriba en negro),  $DTT/Au_{rug}$  (en el medio en rojo) y  $DMPC/DTT/Au_{rug}$  (abajo en verde). Las palabras FAD y MB indican la posición de las cuplas redox correspondientes a esas moléculas.

## 5.5 Conclusiones

Hemos realizado estudios SERS en sistemas con azul de metileno adsorbido sobre films de azufre, tioles y membranas fosfolípidas autoensambladas sobre sustratos de oro rugosado electroquímicamente.

Primero exploramos la posibilidad de manipular la respuesta plasmónica de estos sustratos metálicos a través del congelamiento del proceso natural de relajación de las nanoestructuras de Au. Encontramos que los sustratos de Au rugosos presentan factores de amplificación cercanos a  $10^3$ . También vimos que la amplificación SERS tiene un carácter muy local cerca del sustrato permitiendo descartar señales provenientes del electrolito. Además encontramos que el proceso de fabricación permite congelar la rugosidad en diferentes estadios de la relajación posibilitándonos obtener sustratos rugosos con diferentes valores de áreas específicas pero con una respuesta plasmónica similar. Por otra parte, siguiendo con las características de este tipo de sustratos para SERS, utilizamos la dependencia con la distancia que tiene la amplificación para ubicar tridimensionalmente a las moléculas de MB y FAD en los diversos entornos orgánicos donde los estudiamos (azufre, tioles metálicos y carboxílicos y membranas fosfolípidas), también durante procesos electroquímicos. Para finalizar notamos que la homogeneidad de las señales y, sobre todo, la repetibilidad en la fabricación son temas muy delicado en este tipo de muestras, causando que la comparación de los resultados sea muchas veces difícil de llevar a cabo con uno o pocos sets de datos.

En cuanto al estudio del sistema orgánico debemos mencionar que hemos logrado observar cubrimientos de MB con sensibilidades menores a una monocapa tanto con espectroscopía Raman amplificada por resonancias electrónicas con la molécula, como con SERS. Estos experimentos nos han permitido determinar comparativamente el cubrimiento de MB en espaciadores de azufre y de tioles, independientemente de la actividad electroquímica del MB. Los datos Raman nos muestran que la eficiencia para inmovilizar MB sobre S es mayor que en tioles carboxilados y ésta es a su vez mayor que en tioles metálicos con una relación aproximada S/carboxílicos/metálicos cercana a 1/0.4/0.3. Además, a través del análisis de la dependencia de la señal Raman con la distancia al metal, los datos SERS nos dieron importante información acerca de la ubicación espacial promedio de las moléculas de MB en los diferentes ambientes orgánicos. Del análisis semicuantitativo que presentamos podemos decir que el MB está más cerca del Au cuando el espaciador es S, seguido por PT y DT y está más alejado para MPA y MUA. Sumado a esto, vimos que los cambios en los espectros Raman nos brindan información estructural acerca de los mecanismos de pegado y orientaciones de la molécula de MB. Así, encontramos que el MB se une al S probablemente a través de interacciones con los grupos dimetilaminas y no a través de interacciones sulfuro-sulfuro. Adicionalmente, observamos algunas diferencias en los espectros Raman para el MB inmovilizado sobre tioles metálicos y carboxílicos, sugiriendo que pueden existir orientaciones diferentes para el MB ensamblado en estos dos casos. Otras conclusiones que extrajimos de este capítulo tienen que ver con las interac-

## 10 SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

ciones del MB con los films orgánicos. Vimos que una buena cantidad de especies MB pueden difundir a través de las cadenas carbonadas, mostrando propiedades lipofílicas, pero también existen interacciones electrostáticas entre el MB y las terminaciones carboxílicas de algunos tioles que mantienen a la molécula por fuera del espaciador. Este tipo de afirmaciones están relacionadas con el comportamiento electroquímico del MB en los diferentes ambientes. Así vemos que el MB está mejor conectado para realizar procesos de intercambios de carga con el sustrato cuanto más cerca esté del mismo. Observamos estos comportamientos con espectroscopía SERS y electroquímica *in-situ*. En estos experimentos las señales Raman cambian a lo largo del ciclo electroquímico según el estado de oxidación del MB, y los residuos de estas señales en potenciales determinados nos dan información sobre el grado de conectividad alcanzados por el MB dependiendo del espaciador. Además, utilizando las variaciones en la intensidad SERS que medimos cuando las muestras están secas o mojadas en diferentes soluciones, demostramos que los diferentes espaciadores presentan distintos grados de pérdida de MB hacia la solución causado principalmente por dos mecanismos: i) la difusión molecular inducida por gradientes de concentración y ii) el desplazamiento iónico, actuando sólo en soluciones de NaOH sobre los tioles carboxílicos. Además encontramos evidencia de una migración de la molécula de MB dentro de las cadenas carbonadas del MUA debido a un proceso de bloqueo iónico que se produce cuando utilizamos la solución de NaOH.

Por último, hemos estudiado membranas biomiméticas de DMPC para albergar moléculas de MB y FAD. Encontramos que, gobernadas por fuerzas lipofílicas-lipofóbicas, las moléculas de MB pueden penetrar la membrana y todas aquellas que se encuentran a distancias menores a los  $\sim 2nm$  del sustrato de Au son electroquímicamente activas. Por otra parte, las moléculas de FAD están incapacitadas de penetrar a la membrana en su totalidad debido a la región lipofóbica que poseen. Finalmente, demostramos que estas membranas son capaces de separar moléculas lipofílicas de las lipofóbicas en una solución que contenga a ambas, permitiendo su detección tanto por métodos electroquímicos como ópticos.

## Capítulo 6

# SERS con nanopartículas de Au: autoensamblados moleculares y nanosensores de glucosa con PAH-Os

En este capítulo presentamos el segundo tipo de nanoestructura metálica que utilizamos para obtener SERS, las nanopartículas de oro. Nuestro sistema sonda es un polímero catiónico redox, la polialilamina con complejos de osmio (PAH-Os). Este polímero es interesante porque sus propiedades ópticas cambian según su estado de oxidación, convirtiéndolo en un cable molecular que se puede sentir ópticamente. Además, tiene gran utilidad en aplicaciones debido a su capacidad para “cablear” regiones funcionales dentro de macromoléculas, que serían inaccesibles de otra manera, posibilitando la implementación de estas últimas en aplicaciones relacionadas con el reconocimiento molecular o sentido. Por ello los sistemas que estudiamos son multicapas autoensambladas electrostáticamente que intercalan capas de PAH-Os tanto con un polímero aniónico, el polivinilsulfonato (PVS), con nanopartículas de Au, o con una enzima, la glucosa oxidasa (GOx).

Nuestro interés, entonces, pasa en primer lugar por comprender la respuesta plasmónica y SERS de las nanopartículas de Au, tanto en soluciones, autoensambladas sobre superficies, como cubiertas por multicapas orgánicas. Para ello realizamos experimentos de absorción óptica, elipsometría y Raman; caracterizaciones estructurales con imágenes de microscopías AFM y TEM; y cálculos computacionales dentro de la aproximación de dipolos discretos.

Por otra parte, estudiamos las propiedades que posee la PAH-Os como cable molecular. Analizamos la estructura en la cual se autoensambla con experimentos elipsométricos y Raman y estudiamos su respuesta óptica ante cambios en sus propiedades redox con mediciones electroquímicas y Raman simultáneas.

Por último, desarrollamos y analizamos el funcionamiento de un nanosensor de glucosa

basado en la amplificación SERS de las nanopartículas de oro y en la respuesta óptica de la PAH-Os ante cambios en su estados de oxidación.

## 6.1 Cables moleculares y SERS: Multicapas con PAH-Os y nanopartículas de Au

En esta sección estudiamos las características estructurales y funcionales de multicapas autoensambladas electrostáticamente sobre sustratos de Au plano, que contienen bicapas (PAH-Os/PVS) $_n$  y (PAH-Os/nano-Au) $_m$ .<sup>1</sup> Analizamos la respuesta óptica de ambos sistemas, concentrándonos además en el comportamiento electroquímico del primero y en la actividad SERS y plasmónico del segundo. Además, para este último cotejamos los resultados experimentales con cálculos computacionales basados en la aproximación de dipolos discretos.

### 6.1.1 Multicapas (PAH-Os/PVS) $_n$

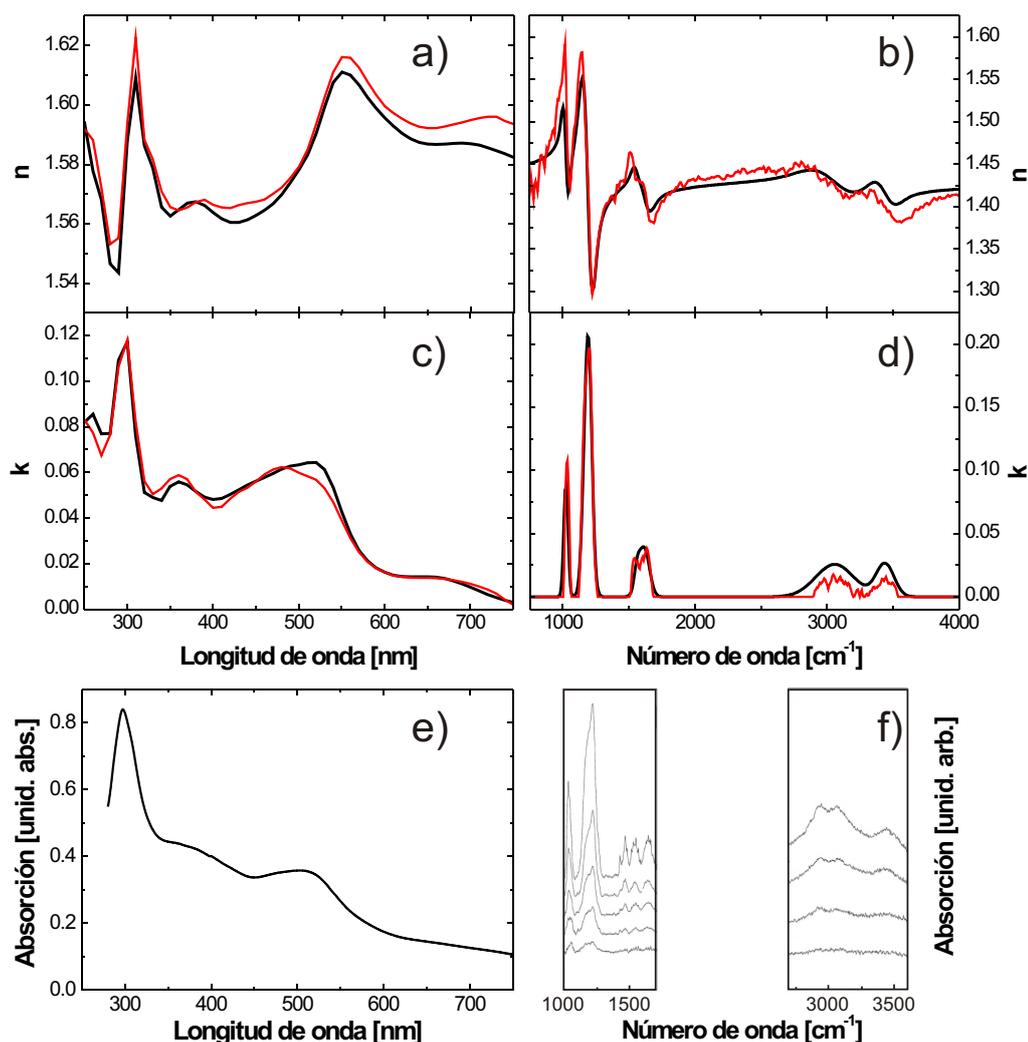
Estudiamos cinco autoensamblados (PAH-Os/PVS) $_n$  con  $n=1, 3, 5, 10$  y  $15$ . Las muestras fueron crecidas según el método descrito en la Sec. 2.1.3 por la Dra. C. Bonazzola y el Lic. M. Tagliazucchi del grupo de Electroquímica Molecular del Dr. E. J. Calvo del INQUIMAE, FCEyN - UBA.

#### Elipsometría

En la Fig. 6.1 (a-d) mostramos los resultados de una caracterización elipsométrica que le realizamos a estos autoensamblados. Este tipo de estudios es generalmente complicado cuando, al igual que en nuestro caso, se desconocen las constantes ópticas ( $n$  y  $k$ ) y los espesores ( $d$ ) de films muy delgados ( $d < 20nm$ ) debido a problemas de fuerte correlación (ver Sec. 3.1). Es entonces muy importante contar con una gran cantidad de datos espectroscópicos complementarios para facilitar el análisis, modelado y decorrelación de los resultados. Por ello, realizamos las mediciones utilizando dos equipos elipsométricos. En primer lugar, a los resultados de la región UV-Vis (250-750nm), que mostramos en los paneles a) y c) de la Fig. 6.1, los obtuvimos en el Laboratorio de Propiedades Ópticas del CAB - CNEA utilizando un elipsómetro espectroscópico de ángulo variable (VASE) Woollam WVASE32. Por otra parte, a los resultados correspondientes a la región IR (2500-12500nm ó equivalentemente 4000-800cm<sup>-1</sup>), paneles b) y d), los obtuvimos a través de mediciones realizadas con el Dr. J. Menéndez de la Universidad de Arizona (EE.UU.) utilizando un elipsómetro Woollam IR-VASE con fuente de luz y detectores optimizados para este rango espectral. Realizamos el procesamiento de los datos elipsométricos ( $\psi$  y  $\Delta$ , ver Sec. 3.1) a través de un análisis de múltiples muestras (MSA) dentro del cual trabajamos simultáneamente con todos los datos obtenidos, realizando implícitamente la suposición de que las constantes ópticas de las multicapas son independientes del número de bicapas.

---

<sup>1</sup>Utilizaremos la expresión *nano-Au* para referirnos a *nanopartículas de Au*.



**Figura 6.1:** Mediciones de elipsometría espectroscópicas de ángulo variable para multicapas  $(\text{PAH-Os/PVS})_n$  con  $n=1, 3, 5, 10$  y  $15$  analizadas simultáneamente con algoritmos de múltiples muestras. El panel a) muestra los resultados para la parte real del índice de refracción,  $n$ , en la región UV-Vis obtenidos a partir de un ajuste experimental punto a punto (curva fina roja) y de un modelo de múltiples osciladores (curva gruesa negra). En el panel b) presentamos resultados análogos pero en el rango IR. Los paneles c) y d) muestran la parte imaginaria del índice de refracción,  $k$ , obtenidas de la misma manera que en a) y b). El panel e) muestra el espectro de absorción que medimos para una solución de PAH-Os en muy buena concordancia con los resultados mostrados en el panel c). El panel f) muestra espectros de absorción FTIR de multicapas  $(\text{PAH-Os/PVS})_n$  con  $n=1, 3, 7, 11$  y  $15$  (correspondiente a las curvas desde abajo hacia arriba) tomados de la Ref. [33], también en muy buena correlación con lo que observamos en elipsometría IR en el panel d).

Esta hipótesis, que debe ser analizada críticamente en cada caso, es imprescindible para obtener información confiable a partir de films con constantes ópticas ( $n$  y  $k$ ) desconocidas y cuyos espesores ( $d$ ), también desconocidos, son inferiores a los  $10\text{-}20\text{nm}$ . [38] De lo con-

trario la fuerte correlación que existe entre  $n$ ,  $k$  y  $d$  hace imposible resolver el problema. El análisis de datos consiste entonces en realizar un proceso iterativo: i) Proponemos un modelo que en nuestro caso consistió en utilizar para la región UV-Vis 5 osciladores de Gauss,<sup>2</sup>  $A_n B_n E_n / (E_n^2 - E^2 - i B_n E)$  ( $A_n$  es la amplitud,  $B_n$  el ancho,  $E_n$  la posición central y  $E$  es la energía de la luz de excitación), y otros 7 para la región IR. ii) Luego ajustamos los parámetros de los osciladores  $A_n$ ,  $B_n$ ,  $E_n$  y el espesor  $d$ . iii) A posteriori generamos resultados de mediciones ( $\psi$  y  $\Delta$ ) utilizando el modelo con los parámetros ajustados y iv) cotejamos estos resultados con los datos medidos a través de una función de mérito. Luego, repetimos iterativamente los pasos i)-iv) hasta que el acuerdo entre los resultados experimentales y los calculados es aceptable.

	$E_n$	$A_n$	$B_n$
UV-Vis <sub>1</sub>	4.210	0.3278	0.490
UV-Vis <sub>2</sub>	3.566	0.2918	1.054
UV-Vis <sub>3</sub>	2.805	0.1769	0.694
UV-Vis <sub>4</sub>	2.652	0.0446	0.252
UV-Vis <sub>5</sub>	2.347	0.1963	0.388
IR <sub>1</sub>	0.427	0.0606	0.0227
IR <sub>2</sub>	0.376	0.0743	0.0695
IR <sub>3</sub>	0.200	0.0935	0.0147
IR <sub>4</sub>	0.193	0.0410	0.0212
IR <sub>5</sub>	0.148	0.3481	0.0097
IR <sub>6</sub>	0.146	0.2837	0.0085
IR <sub>7</sub>	0.126	0.1900	0.0069

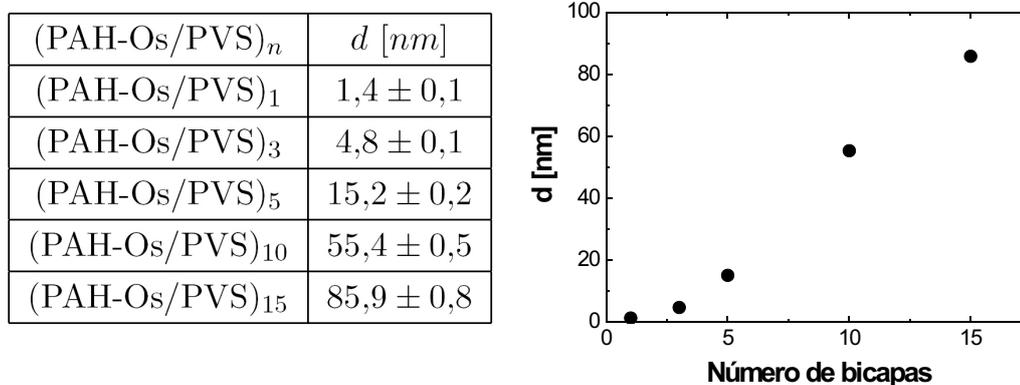
**Tabla 6.1:** Valores para los coeficientes de los osciladores de Gauss que utilizamos en los modelos elipsométricos.  $E_n$  y  $B_n$  están expresados en electronVolts,  $eV$ , mientras que  $A_n$  es adimensional.

En la Tab. 6.1 presentamos los parámetros que encontramos para cada oscilador de Gauss. En los paneles a) y b) de la Fig. 6.1 presentamos los resultados para la parte real de la constantes ópticas para bicapas (PAH-Os/PVS) tanto en la región UV-Vis (a) como en la IR (b). Las curvas negras con trazos gruesos representan los valores modelados para  $n$ , mientras que las curvas rojas de trazos finos son los valores para  $n$  calculados a partir de los datos experimentales de todas las muestras y la utilización de los valores calculados para  $d$  (ver panel izquierdo de la Fig. 6.2). En la Fig. 6.1 podemos ver un buen acuerdo entre las curvas experimentales y las calculadas con el modelo. Además observamos que los valores para  $n$  oscilan alrededor de 1.58, en el UV-Vis, y de 1.43, en el IR, siendo valores comparables con otros observados para sistemas orgánicos similares.[32, 91] Por otra parte, la posición espectral del centro de cada una de estas oscilaciones determina la ubicación de

<sup>2</sup>Ver en el Apéndice A la descripción de funciones dieléctricas en término de osciladores.

transiciones electrónicas o vibracionales, ya sea que estemos analizando la región UV-Vis o la IR, respectivamente.<sup>3</sup> En los paneles c) y d) de la misma figura exponemos la parte imaginaria de la constante óptica para las regiones UV-Vis e IR, respectivamente. Allí, al igual que en a) y en b) las curvas negras con trazos gruesos representan los valores modelados para  $k$ , mientras que las curvas rojas de trazos finos son los valores calculados para  $k$  según consideraciones análogas a las expuestas anteriormente para  $n$ . Aquí también vemos un buen acuerdo entre ambas curvas y además podemos identificar en forma directa a través de los máximos las absorciones debido a transiciones electrónicas y vibracionales de las bicapas PAH-Os/PVS. Como el PVS posee transiciones electrónicas únicamente en la región del UV lejano, podemos decir que la absorción que presentamos en el panel c) corresponde principalmente a la PAH-Os. Esto se verifica cuando la comparamos con la absorción medida para una solución de PAH-Os (panel e). Por otra parte la absorción en la región IR corresponde a las transiciones vibracionales de la bicapa PAH-Os/PVS y por ello también logramos un muy buen acuerdo con los espectros FTIR de multicapas formadas por estas mismas bicapas y que presentamos en el panel f).<sup>4</sup>

En la Fig. 6.2 mostramos los espesores que encontramos para cada multicapa (PAH-Os/PVS) $_n$  a través de una tabla (izquierda) y de un gráfico (derecha). Podemos ver que los valores no siguen un comportamiento lineal para  $n < 5$ , y sí lo hacen para  $n$  mayores. Este resultado está de acuerdo con mediciones de deposición de masa realizadas en el mismo sistema utilizando microbalanzas de cristal de cuarzo.<sup>[32]</sup>



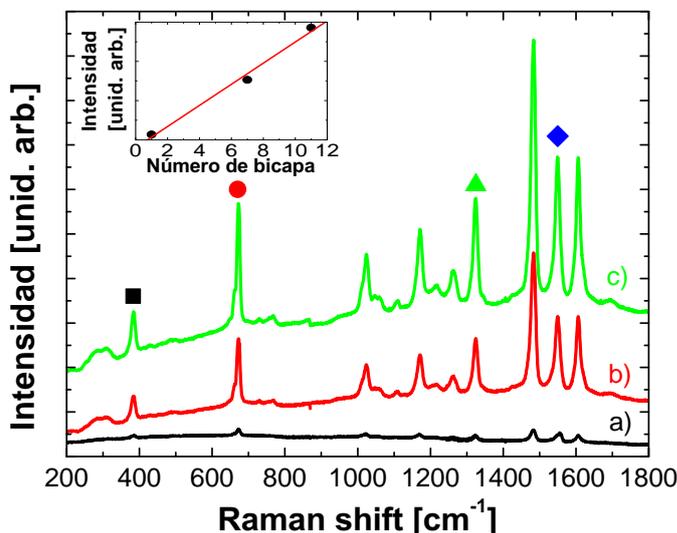
**Figura 6.2:** Espesores para las multicapas (PAH-Os/PVS) $_n$  calculados a partir de mediciones VASE en la región UV-Vis presentados en una tabla con sus errores (izquierda) y en un gráfico (derecha).

<sup>3</sup>Ver en el Apéndice A la relación entre la forma de  $n$  y las absorciones modeladas con osciladores de Lorentz.

<sup>4</sup>Tomados de la Ref. [33].

### Espectroscopía Raman

En la Fig. 6.3 presentamos espectros Raman para multicapas (PAH-Os/PVS)<sub>n</sub> con  $n=1, 7, 11$  medidos con la línea láser de  $514.5\text{nm}$  en resonancia electrónica con la transición MLCT de la PAH-Os. Debido a esto, los modos que se observan tienen que ver con vibraciones que involucran al átomo central de Os y sus ligandos. Así por ejemplo vemos en  $383\text{cm}^{-1}$  un modo de *stretching* Os-N, en  $670\text{cm}^{-1}$  un modo de *bending* de las piridinas, y entre  $1325$  y  $1606\text{cm}^{-1}$  modos de *stretching* de piridinas y bipyridinas. Notamos que incluso para una única bicapa autoensamblada observamos la señal del complejo de Os con muy buena relación señal/ruido. En el *inset* podemos observar la evolución cuasi-lineal que sufre la intensidad Raman con el número de bicapas, la cual es proporcional a la cantidad de masa de PAH-Os depositado en cada film.[65]



**Figura 6.3:** Espectros Raman para multicapas (PAH-Os/PVS)<sub>n</sub> con  $n=1, 7, 11$  (a, b y c, respectivamente) tomados con una excitación de  $514.5\text{nm}$  del láser de Ar-Kr. El *inset* muestra la intensidad Raman como función del número de bicapas. Los símbolos indican 4 picos característicos: un modo de *stretching* Os-N ( $383\text{cm}^{-1}$ , indicado con un cuadrado), uno tipo *bending* de las piridinas ( $670\text{cm}^{-1}$ , círculo), y dos modos de *stretching* de piridinas y bipyridinas ( $1325$  y  $1606\text{cm}^{-1}$  con un triángulo y un rombo, respectivamente).

### Resonancia Raman

En el panel superior de la Fig. 6.4 presentamos los perfiles de resonancia Raman que realizamos para la multicapa (PAH-Os/PVS)<sub>1</sub> variando la longitud de onda incidente entre  $457$  y  $647\text{nm}$  usando las 14 líneas del láser de Ar-Kr. Los símbolos se refieren al comportamiento de algunos de los picos más intensos indicados en la Fig. 6.3:  $1550\text{cm}^{-1}$

primero arriba con rombos azules,  $1325\text{cm}^{-1}$  segundo con triángulos verdes,  $670\text{cm}^{-1}$  tercero con círculos rojos y  $383\text{cm}^{-1}$  último con cuadrados negros. Aquí podemos observar que todos los picos están fuertemente amplificados alrededor de  $515\text{nm}$ , se vuelven casi inobservables hacia el rojo, pero tienen comportamientos dispares en la región azul-violeta ( $488\text{-}457\text{nm}$ ). Allí mientras los modos más energéticos ( $1550$  y  $1325\text{cm}^{-1}$ ) presentan un segundo máximo en  $476$  y  $482\text{nm}$  respectivamente, aquellos con menos energía ( $670$  y  $383\text{cm}^{-1}$ ) prácticamente desaparecen. Este comportamiento se puede entender en función de lo expuesto en la Sec. 3.4.3 utilizando la expresión 3.36 allí introducida pero con una leve modificación introducida por Herzberg y Teller:[46]<sup>5</sup>

$$(\alpha_{\rho,\rho})_{gi,gj} = \frac{-1}{h^2} \sum_s \sum_a \frac{h_{es}^a (\mathcal{M}_{\rho})_{g,\epsilon}^0 (\mathcal{M}_{\rho})_{g,s}^0}{\nu_s - \nu_e} \left( \frac{1}{\nu_e - \nu_0 + i\gamma_e} + \frac{1}{\nu_e - \nu_0 + \nu_a + i\gamma'_e} \right). \quad (6.1)$$

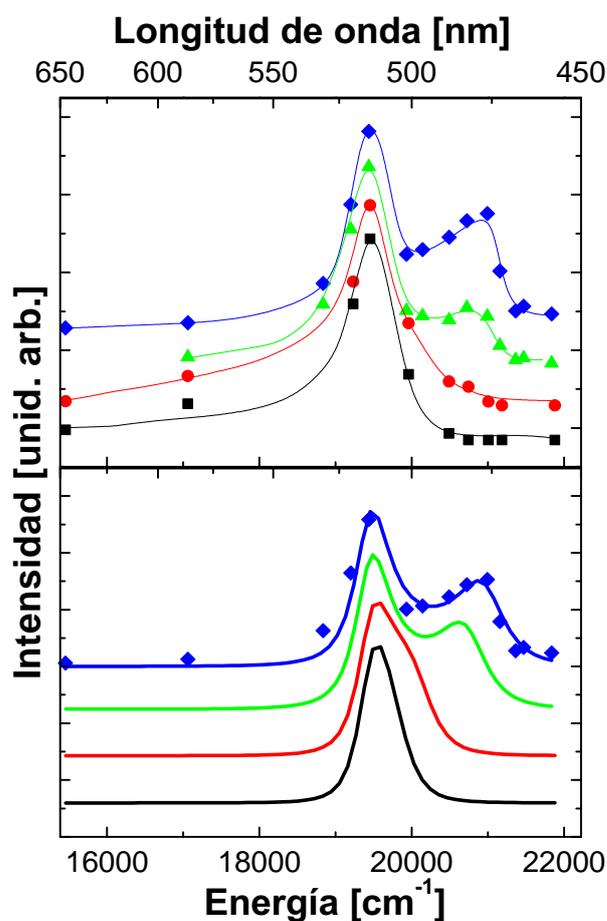
Esta expresión presenta las resonancias *outgoing* e *incoming* según la frecuencia del fotón incidente ( $\nu_0$ ) o la del dispersado ( $\nu_0 - \nu_a$ ) sintonicen la frecuencia relacionada a la transición electrónica del PAH-Os ( $\nu_e$ ). Además, asigna vidas medias diferentes a los canales incidente ( $\gamma_e$ ) y dispersado ( $\gamma'_e$ ). Basándonos en estas consideraciones podemos entender que los modos más energéticos ( $1550$  y  $1325\text{cm}^{-1}$ ) presenten estructuras con dos picos. Aquellos que están centrados alrededor de  $515\text{nm}$  corresponden a la resonancia *incoming* y los segundos se encuentran corridos hacia el azul en una cantidad igual a su energía vibracional, correspondiendo a las resonancias *outgoing*. Notamos que la diferencia en intensidad dentro de cada pareja de picos se explica por poseer  $\gamma_e \neq \gamma'_e$ . Finalmente en los modos menos energéticos ( $670$  y  $383\text{cm}^{-1}$ ) observamos sólo un pico correspondiente a la resonancia *incoming* presumiblemente porque los picos de ambas resonancia poseen ensanchamientos mayores que la separación entre ellos. En el panel inferior de la Fig. 6.4 presentamos cálculos basados en la Ec. 6.1 para la eficiencia Raman en función de la energía láser para cada una de las vibraciones presentadas en el panel superior. Obtenemos una muy buena descripción de toda la serie de perfiles de intensidad Raman utilizando parámetros escogidos para ajustar de la mejor manera la estructura de doble pico del modo de  $1550\text{cm}^{-1}$ .<sup>6</sup>

### Raman y electroquímica *in-situ*

De la discusión previa, nos resulta claro que los datos de espectroscopía Raman resonante nos proveen no sólo información estructural a través de las frecuencias vibracionales, sino también acerca de la estructura electrónica relacionada con el centro de Os relevante a la funcionalidad del polímero. Realizamos experimentos Raman con electroquímica *in-situ* para estudiar cambios en la estructura electrónica de la PAH-Os. En la Fig. 6.5

<sup>5</sup>La modificación proviene de asignar vidas medias diferentes a los canales incidente ( $\gamma_e$ ) y dispersado ( $\gamma'_e$ ). Esta modificación es requerida cuando las vidas medias de las vibraciones son comparables o menores que la del estado electrónico.

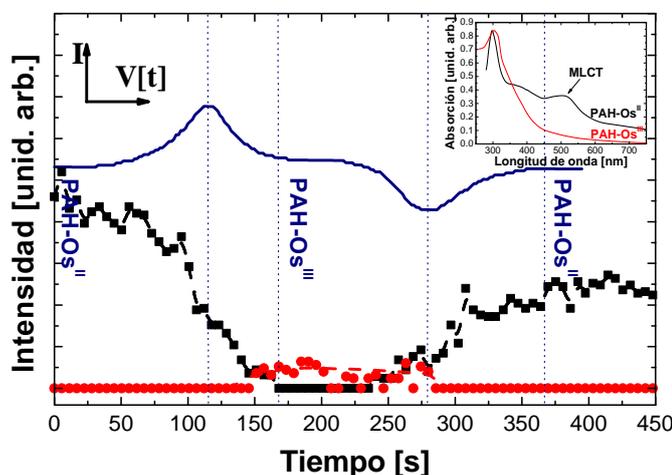
<sup>6</sup>Notamos que la Ec. 6.1 deriva de una teoría usualmente utilizada en semiconductores, y que generalmente no es válida en moléculas con efectos vibrónicos fuertes. Un tratamiento apropiado para este último caso se puede encontrar en el clásico trabajo de A. Albrecht.[42]



**Figura 6.4:** Arriba: Intensidad Raman como función de la energía láser para algunos de los picos más intensos indicados en la Fig. 6.3:  $1550\text{cm}^{-1}$  primero arriba con rombos azules,  $1325\text{cm}^{-1}$  segundo con triángulos verdes,  $670\text{cm}^{-1}$  tercero con círculos rojos y  $383\text{cm}^{-1}$  último con cuadrados negros. Las líneas llenas son guías al ojo. Abajo: Cálculos teóricos según la aproximación de Herzberg-Teller (Sec. 3.4.3) para la eficiencia Raman en función de la energía láser para las mismas vibraciones que presentamos en el panel superior.

presentamos la intensidad del modo de  $1483\text{cm}^{-1}$  (cuadrados negros) en función del potencial aplicado en la celda electroquímica. Los datos están medidos en la multicapa  $(\text{PAH-Os/PVS})_{11}$  utilizando la línea láser de  $514.5\text{nm}$  con  $10\text{mW}$  de potencia y  $5\text{s}$  de integración a lo largo del ciclo voltamperométrico  $100 \rightarrow 510 \rightarrow 100\text{mV}$  a  $2\text{mV/s}$ . En la figura también mostramos la respuesta voltamperométrica,  $I$  vs.  $E$ , con la curva llena azul. Es evidente que la señal Raman de  $1483\text{cm}^{-1}$  desaparece cuando la muestra está totalmente oxidada ( $\text{Os}^{III}$ ), y que reaparece cuando el proceso de reducción se lleva a cabo y se recupera la situación original ( $\text{Os}^{II}$ ) de la PAH-Os. Lo asignamos, por lo tanto, a la molécula en su estado reducido  $\text{Os}^{II}$ . Más aún, observamos la aparición de un modo más débil corrido en  $10\text{cm}^{-1}$  y centrado en  $1493\text{cm}^{-1}$  (círculos rojos) y que es comple-

mentario al anterior, *i.e.* aparece en la región de potenciales de oxidación, asegurando que pertenece al estado oxidado ( $\text{Os}^{III}$ ) de la PAH-Os. Por otra parte y para reforzar las conclusiones anteriores, en el *inset* de la Fig. 6.5 presentamos los espectros de absorción óptica de la PAH-Os en solución para sus especies reducida, ( $\text{Os}^{II}$ ) en negro, y oxidada con iones de cerio,<sup>7</sup> ( $\text{Os}^{III}$ ) en rojo. Debemos llamar la atención sobre dos aspectos del *inset*. Primero, observamos una absorción intensa alrededor de  $510\text{nm}$  en el estado reducido la cual es responsable de la resonancia Raman y que podemos asignar a una transición MLCT. Segundo, mientras que las transiciones electrónicas en el UV lejano permanecen en ambos estados de oxidación, el pico de  $510\text{nm}$  desaparece para el estado oxidado, explicando la desaparición de la resonancia Raman electrónica en este estado. Concluimos que la espectroscopía Raman resonante puede utilizarse para identificar especies en diferentes estados de oxidación a través de dos características distintas: i) la intensidad, directamente relacionada con la estructura electrónica, y ii) el espectro vibracional, directamente relacionado con la estructura molecular. Finalmente notamos que la recuperación parcial de la señal del estado reducido ( $\sim 50\%$ ) luego del ciclo electroquímico no se debe a una pérdida de masa hacia el electrolito, como vimos en el caso del Azul de Metileno en el capítulo anterior, sino a un proceso de electro-foto-degradación química del polímero discutido ampliamente en otros trabajos donde realizamos una gran cantidad de ciclos electroquímicos en presencia y en ausencia de luz.[43, 65]



**Figura 6.5:** Evolución de la intensidad Raman de los picos de  $1483\text{cm}^{-1}$  (cuadrados negros) del estado reducido ( $\text{PAH-Os}^{II}$ ) y de  $1493\text{cm}^{-1}$  (círculos rojos) del estado oxidado ( $\text{PAH-Os}^{III}$ ) en función del potencial electroquímico aplicado (curva llena azul). El *inset* muestra los espectros de absorción óptica del  $\text{PAH-Os}^{II}$  (a) y  $\text{PAH-Os}^{III}$  (b). Se indica la absorción debido a la transición de carga metal-ligando, MLCT, existente en el estado reducido y ausente en el oxidado.

<sup>7</sup>Espectro tomado por la Dra. C. Bonazzola del INQUIMAE, FCEyN - UBA

### 6.1.2 Multicapas (PAH-Os/nanopartículas de Au)<sub>n</sub>

En esta sección estudiamos los efectos que aparecen por introducir nanopartículas de Au en las multicapas autoensambladas de PAH-Os. La idea es aumentar la capacidad de análisis a través de la implementación de la espectroscopía SERS debido a estas nanoestructuras. Por ello describimos cuatro muestras diferentes crecidas con el método de autoensamblados capa por capa (Sec. 2.1.3) por la Dra. C. Bonazzola del grupo de Electroquímica Molecular del INQUIMAE, FCEyN - UBA: con M1 y M2 nos referimos a multicapas PAH-Os+(nano-Au/PAH-Os)<sub>n</sub> con  $n=1$  y 5, respectivamente, ambas crecidas con nanopartículas de Au de  $\sim 20nm$  de diámetro. Denominamos M3 a una multicapa PAH-Os+(nano-Au/PAH-Os)<sub>1</sub> ensamblada con nanopartículas de Au más grandes ( $\sim 50nm$ ) y que evidenciaron un mayor grado de agregación durante el proceso de fabricación. El coloide de Au fue preparado siguiendo el procedimiento descrito por Griffith Freeman *et al.*[92] de reducción de HAuCl<sub>4</sub> con citrato de sodio. Finalmente, con M4 nos referimos a un film de PAH-Os+(PVS/PAH-Os)<sub>5</sub>, sin nanopartículas de Au, y al cual nos referiremos por razones de comparación.

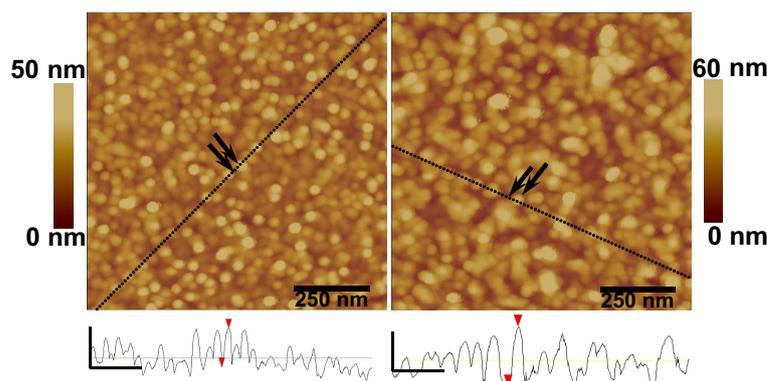
#### Caracterización estructural

Realizamos la caracterización de las muestras a través del análisis de tres cantidades diferentes obtenidas por mediciones de microscopía de fuerza atómica (AFM)<sup>8</sup> y elipsometría VASE:<sup>9</sup> i) *rugosidad*, derivada de los perfiles de altura de AFM, ii) *longitud característica*, una cantidad derivada también de las mediciones AFM, la cual promedia el diámetro tanto de nanopartículas aisladas como de agregados, y iii) el *espesor del film*, calculado a partir de las mediciones VASE.

En la Fig. 6.6 comparamos las imágenes AFM de las multicapas M1 y M2. Identificamos a los puntos brillantes cuasi-esféricos con nanopartículas de Au mientras que el fondo, en una escala de anaranjados más oscura, corresponde a los granos del film de Au evaporado sobre el sustrato de Si. Abajo de ambas imágenes de AFM mostramos perfiles de altura típicos medidos en las regiones lineales indicadas con líneas punteadas dentro de las imágenes. Analizamos 20 perfiles aleatoriamente elegidos dentro de cada imagen con el objetivo de conseguir valores confiables para la rugosidad y la longitud característica. Analizando cuidadosamente las imágenes nos es posible identificar una mayoría de nanopartículas aisladas en la muestra M1 (imagen izquierda) y distinguimos entre nanopartículas aisladas y agregados de dos o tres partículas en la muestra M2 (imagen derecha). En M1 encontramos que la rugosidad media del fondo (sustrato) es de  $7.7 \pm 0.9nm$  y su longitud característica es de  $33.8 \pm 4.1nm$ . Las nanopartículas de Au de  $20nm$  están homogéneamente distribuidas sobre el sustrato cubriéndolo parcialmente. La rugosidad de la muestra como un todo es de  $16.4 \pm 3.7nm$ , un valor que nos resulta más chico que el diámetro de las nanopartículas debido a que el cálculo se realiza

<sup>8</sup>Realizadas por la Dra. Lía Pietrasanta en el Laboratorio de Microscopías Avanzadas de la UBA.

<sup>9</sup>Medidas con un elipsómetro SOPRA de polarizador rotante en colaboración con los Drs. M. Campoy-Quiles y P. G. Etchegoin en el Laboratorio Blackett del Imperial College de Londres, Inglaterra.



**Figura 6.6:** Imágenes AFM de  $1 \times 1 \mu\text{m}^2$  para multicapas PAH-Os+(nano-Au/PAH-Os)<sub>1</sub> y PAH-Os+(nano-Au/PAH-Os)<sub>5</sub> a la izquierda y derecha, respectivamente. Las líneas punteadas indican las regiones lineales donde mostramos el análisis de perfil al pie de las imágenes. Las flechas indican el perfil de nanopartículas particulares. En las curvas de abajo los ejes verticales indican escalas de  $20\text{nm}$  mientras que las horizontales representan  $250\text{nm}$ .

promediando regiones del sustrato con y sin nanopartículas. Además encontramos que existe un número reducido de agregados formados por no más de dos nanopartículas, aproximadamente unos  $15 \text{ agregados}/\mu\text{m}^2$ . Esto se refleja en la longitud característica que medimos para las nanopartículas,  $26.2 \pm 2.6\text{nm}$ , la cual al estar tomada teniendo en cuenta nanopartículas tanto aisladas como agregadas, alcanza un valor un poco superior que el diámetro de una única nanopartícula. Usando la técnica VASE<sup>10</sup> obtenemos para la muestra M1 un espesor del film de  $15.2 \pm 0.5\text{nm}$  en concordancia con la rugosidad medida y un cubrimiento parcial.<sup>11</sup> Podemos concluir que la adsorción del coloide de Au durante el proceso de fabricación de la muestra es eficiente para lograr un cubrimiento homogéneo de nanopartículas de Au de  $20\text{nm}$  pero no llega a realizar un cubrimiento completo.

Como puede deducirse de la imagen de AFM para la M2 (panel derecho en la Fig. 6.6), la morfología de la multicapa ha cambiado en comparación con M1. Podemos distinguir una menor densidad de nanopartículas aisladas cuasi-esféricas mientras que los agregados de dos y más nanopartículas aparecen más frecuentemente como regiones brillantes de forma irregular. Esto se torna evidente también a través del incremento en la longitud característica,  $41.6 \pm 9\text{nm}$ , un valor que es cercano al tamaño característico de un agregado de dos nanopartículas. La rugosidad promedio, por otra parte, aumentó sólo hasta  $18.2 \pm 4\text{nm}$ , un valor cercano al diámetro característico de una nanopartícula,  $20\text{nm}$ . Mientras tanto, el espesor del film que obtuvimos por elipsometría,  $29.8 \pm 0.5\text{nm}$ , casi duplica al medido para M1. Considerando que esta última técnica sondea todo el film en profundidad, la rugosidad de M2 (PAH-Os+(nano-Au/PAH-Os)<sub>5</sub>) se puede entender sin contradicciones debido a que la punta del AFM mide sólo una segunda capa de

<sup>10</sup>Variable Angle Spectroscopic Ellipsometry.

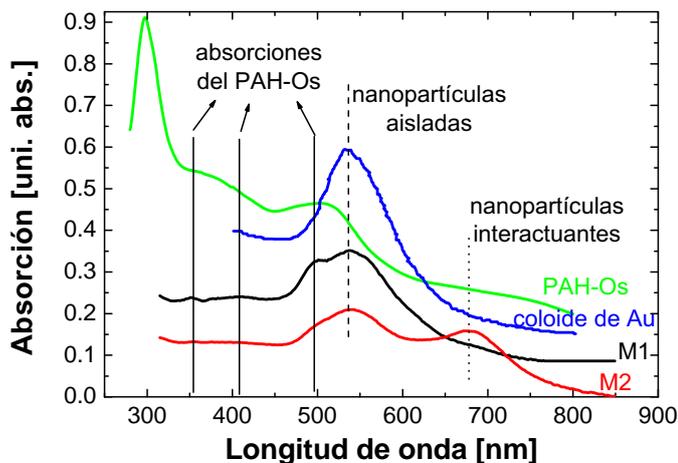
<sup>11</sup>Este valor de espesor fue obtenido ajustando los datos de la región entre  $650\text{-}850\text{nm}$  con un modelo de Cauchy.

nanopartículas que está crecida sobre un fondo compacto conformado por una monocapa de nanopartículas. Dentro de este escenario, el crecimiento evoluciona con nanopartículas que van llenando los espacios vacíos hasta que una capa se completa, y por ello se forman sólo  $\sim 2$  capas luego de cinco pasos de inmersión de la muestra en el coloide de Au durante la fabricación.

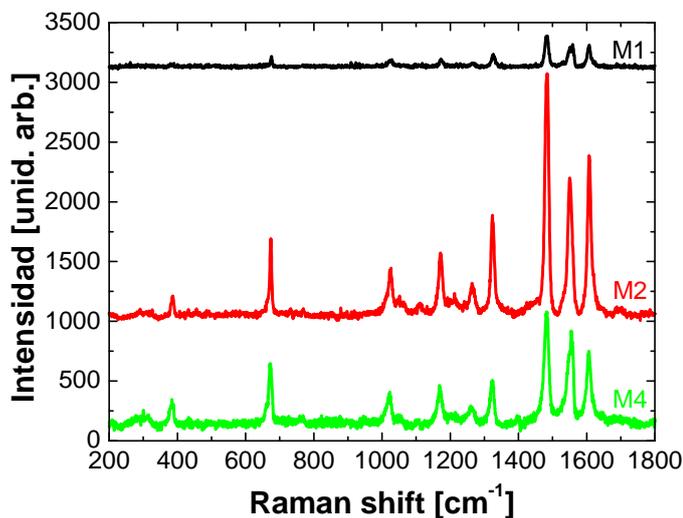
También caracterizamos a las multicapas a través de sus respuestas ópticas. En la Fig. 6.7 mostramos la absorción óptica de la PAH-Os (curva verde) y del coloide de Au de  $20nm$  (curva azul), ambos en solución acuosa, y los comparamos con la absorción óptica medida por VASE en las muestras M1 (curva negra) y M2 (curva roja). En el espectro de absorción de la PAH-Os identificamos, al igual que en la Fig. 6.1, tres absorciones principales: i) una alrededor de  $300nm$  relacionada con transiciones electrónicas profundas, ii) otra débil alrededor de  $375nm$  y iii) la transición MLCT alrededor de  $\sim 500nm$ . El espectro del coloide de Au, por otra parte, presenta una absorción ancha e intensa centrada en  $530nm$  asociada con la resonancia del modo plasmónico dipolar (ver Sec. 1.5.2). El espectro de absorción de la muestra M1 expone la presencia tanto de la PAH-Os como de las nanopartículas de Au en este film de una única bicapa a través de sus respectivos picos característicos. El pico más intenso pertenece a la resonancia del plasmón de las nanopartículas y está centrado en  $530nm$ . Montado sobre este aparece la transición MLCT de la PAH-Os alrededor de  $\sim 500nm$ . Los espectros de absorción para la PAH-Os y las nanopartículas de Au son similares en las soluciones acuosas y en esta multicapa autoensamblada. Notamos, sin embargo, que el débil y ancho pico en  $375nm$  de la PAH-Os en solución parece desdoblarse en dos picos distinguibles para la estructura autoensamblada. Finalmente, el espectro de absorción para M2 presenta todos los mismos picos que aparecen para M1 con el adicional de una absorción extra corrida hacia el rojo, centrada en  $\sim 670nm$ . [93] Basándonos en trabajos previos, a este último pico lo podemos asignar a la interacción de plasmones entre nanopartículas de Au. [53] Esta presencia es compatible con el incremento en los agregados de nanopartículas de Au y la estructura más compacta observada en M2 y discutida en las imágenes AFM presentadas anteriormente. Estos resultados muestran la gran sensibilidad de la técnica VASE en films ultradelgados.

### Dispersión Raman resonante

De la caracterización estructural y óptica concluimos que i) M1 es homogénea y está uniformemente cubierta por nanopartículas aisladas, mientras que M2 presenta dos capas de nanopartículas agregadas, y ii) tres absorciones ópticas principales caracterizan a las muestras, una relacionada con la transición MLCT de la PAH-Os en  $\sim 500nm$ , otra vinculada a la resonancia de plasmones de las nanopartículas aisladas de Au en  $\sim 530nm$  y una última en  $\sim 680nm$  asociada a modos de plasmones interactuantes. En esta sección discutimos cómo estas estructuras afectan las resonancias Raman en las multicapas. Comenzamos introduciendo en la Fig. 6.8 los espectros Raman de las muestras M1, M2 y M4 medidos utilizando la línea de  $514.5nm$  del láser de Ar-Kr focalizado en una línea de  $7mm \times 100\mu m$ . Este gran área promedia la señal Raman proveniente de diferentes ambientes locales del



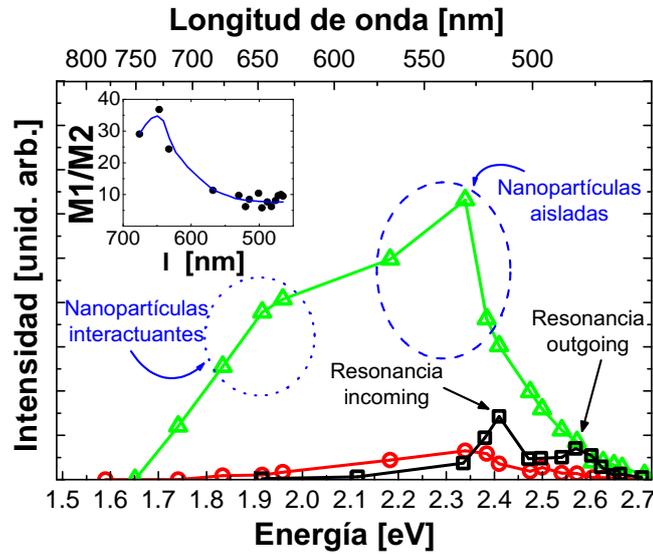
**Figura 6.7:** Espectros de absorción óptica para PAH-Os y coloides de Au de  $20\text{nm}$ , ambos medidos a través de transmisión óptica en soluciones acuosas, y espectros de absorción óptica para las multicapas  $M1=\text{PAH-Os}+(\text{nano-Au}/\text{PAH-Os})_1$  y  $M2=\text{PAH-Os}+(\text{nano-Au}/\text{PAH-Os})_5$ , ambos medidos utilizando elipsometría VASE. Indicamos las absorciones características del PAH-Os con líneas llenas, mientras que para las relacionadas con plasmones de nanopartículas aisladas e interactuantes utilizamos líneas rayadas y punteadas, respectivamente.



**Figura 6.8:** Espectros Raman medidos en las muestras M1, M2 y M4 utilizando la línea de  $514.5\text{nm}$  del láser de Ar-Kr. Los picos que aparecen están todos en resonancia con la transición MLCT de la PAH-Os.

polímero y de las nanopartículas, por lo que los tres espectros presentan básicamente la misma apariencia pero difieren en intensidad. Los picos más intensos pertenecen a los modos tipo *stretching* de las piridinas y bupiridinas ( $1325\text{-}1606\text{cm}^{-1}$ ), *bending* de piridinas ( $670\text{cm}^{-1}$ ) y vibraciones Os-N ( $383\text{cm}^{-1}$ ), todos relacionados con los niveles electrónicos involucrados en la transición MLCT de la PAH-Os. Encontramos que en estas mediciones no podemos distinguir vibraciones provenientes de las cadenas carbonadas del polímero. En la sección anterior mostramos que la intensidad Raman de multicapas de (PAH-Os/PVS)<sub>n</sub> crece linealmente con el número de bicapas, *n*. [65] Esta relación no se conserva más cuando las nanopartículas están presentes en el autoensamblado. De hecho, notamos que la intensidad de M2 (PAH-Os+/(nano-Au/PAH-Os)<sub>5</sub>) es cinco veces mayor que la de M1 (PAH-Os+/(nano-Au/PAH-Os)<sub>1</sub>), cuando en principio tiene tres veces más ciclos de deposición de polímero (6 vs. 2). Además, M2 tiene una intensidad más de dos veces superior que la de M4 (PAH-Os+/(PVS/PAH-Os)<sub>5</sub>) aún cuando tienen la misma cantidad de ciclos de deposición de la PAH-Os. Las conclusiones principales derivadas de la Fig. 6.8 son que i) los espectros Raman muestran que la estructura molecular de la PAH-Os se conserva en las multicapas PAH-Os+(nano-Au/PAH-Os)<sub>n</sub> y que ii) utilizando la excitación láser de  $514.5\text{nm}$  la amplificación selectiva de la resonancia electrónica con la transición MLCT de la PAH-Os prevalece por sobre la resonancia plasmónica de las nanopartículas. Asumiendo una misma deposición de masa de PAH-Os en las muestras M2 y M4, concluimos que a  $514.5\text{nm}$  las nanopartículas de Au autoensambladas arrojan una amplificación promedio adicional de un factor  $\sim 2$  en la señal Raman.

Para profundizar en el análisis de la respuesta resonante de las diferentes multicapas, presentamos en la Fig. 6.9 la intensidad Raman del pico de  $1483\text{cm}^{-1}$  como función de la energía láser para las muestras M1 (círculos rojos), M2 (triángulos verdes) y M4 (cuadros negros). Comenzamos analizando la multicapa sin nanopartículas de Au, M4. Identificamos los dos máximos en la intensidad relacionados con las resonancias electrónicas *incoming* ( $514.5\text{nm}$ ) y *outgoing* ( $482\text{nm}$ ) tratadas en la sección anterior. [65] Si miramos los perfiles de resonancia de las muestras con nanopartículas de Au, M1 y M2, observamos por el contrario un pico centrado en  $530\text{nm}$ , exactamente a la energía del plasmón. Esto significa que la resonancia electrónica está tapada por el efecto SERS. Notamos, sin embargo, que las resonancias *incoming* y *outgoing* con el modo plasmónico podrían en principio existir, pero en nuestro caso no pueden ser separadas debido a que la absorción correspondiente es relativamente ancha (ver Fig. 6.7). Particularmente notorio es el resultado para M2, para la cual el máximo de la resonancia (a  $530\text{nm}$ ) es sólo 12 veces mayor que la intensidad Raman de M4 a la misma longitud de onda, la cual posee nominalmente la misma cantidad de masa de PAH-Os adsorbida pero ninguna nanopartícula de Au. Esto significa que en esta muestra la presencia de nanopartículas produce un pequeño incremento en la intensidad Raman en la energía del plasmón cuando lo comparamos con comportamientos SERS típicos. [4, 5, 94] Este pobre factor de amplificación está posiblemente ligado al promedio de la señal proveniente de sitios SERS activos altamente diluidos dentro del área de  $0.7\text{mm}^2$  donde focalizamos al láser.



**Figura 6.9:** Perfiles de resonancia Raman para multicapas  $M_4 = \text{PAH-Os} + (\text{PVS}/\text{PAH-Os})_5$  (cuadrados negros),  $M_1 = \text{PAH-Os} + (\text{nano-Au}/\text{PAH-Os})_1$  (círculos rojos) y  $M_2 = \text{PAH-Os} + (\text{nano-Au}/\text{PAH-Os})_5$  (triángulos verdes). Indicamos con flechas negras las resonancias Raman electrónicas *incoming* y *outgoing* para la multicapa sin nanopartículas de Au. Los elipsoides de líneas azules rayadas y punteadas indican resonancias de plasmones de nanopartículas aisladas e interactuantes, respectivamente. El *inset* indica el cociente para la intensidad Raman entre las muestras M2 y M1 a diferentes longitudes de onda incidente.

Notamos en la Fig. 6.9 que para M2, además de que el máximo del perfil Raman se corre desde la resonancia electrónica con la transición MLCT de la PAH-Os hacia la resonancia con los plasmones de las nanopartículas de Au, aparece un hombro alrededor de  $\sim 650\text{nm}$ . En vista de la estructura más compacta que dedujimos para la muestra M2 a partir de las mediciones AFM y VASE, y de que este hombro es espectroscópicamente coincidente con el pico de absorción óptica de  $\sim 670\text{nm}$  de la Fig. 6.7, asociamos en forma directa el aumento en la señal SERS con un mecanismo creado por la interacción entre los plasmones de las nanopartículas de Au.[53] Para ilustrar en mayor medida este punto mostramos en el *inset* de la Fig. 6.9 el cociente de las intensidades Raman entre las muestras M2 y M1. Queremos hacer notar dos puntos importantes. Primero, la amplificación SERS debida a nanopartículas aisladas (alrededor de  $\sim 530\text{nm}$ ) es más eficiente en la muestra M2 porque la señal es unas 10 veces mayor cuando la deposición de masa de la PAH-Os es nominalmente 3 veces mayor. Esto se debe a un incremento en la eficiencia SERS debido a las subsiguientes absorciones de PAH-Os y nanopartículas de Au (recordar que 5 ciclos de inmersión resultan en un film de  $\sim 2$  capas de nanopartículas de Au autoensambladas). Segundo, la amplificación SERS debido a nanopartículas interactuantes (alrededor de  $650\text{nm}$ ) es 40 veces mayor en la muestra M2 por la estructura

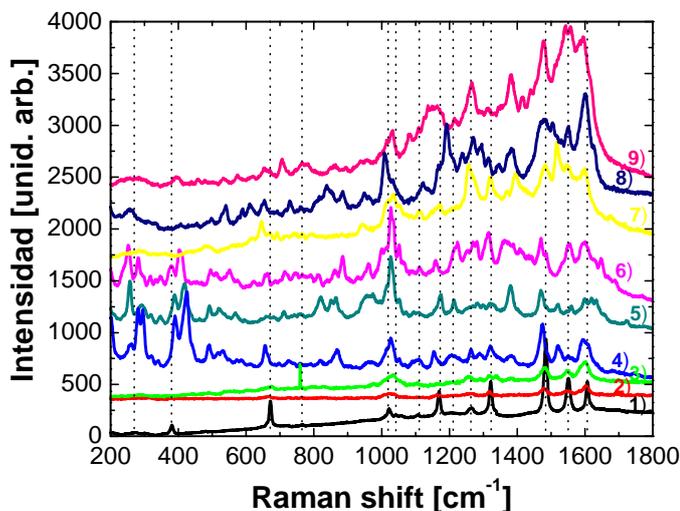
compacta formada dentro de las dos capas de nanopartículas y la presencia de un mayor número de agregados de nanopartículas. Cabe destacar que este mecanismo se cree es el responsable de los denominados “hot-spots”, zonas de amplificación SERS muy intensas, con factores de ganancia que van, dependiendo de la referencia, desde  $\sim 10^8$  a  $10^{14}$  y que posibilitan espectroscopía Raman de moléculas únicas.[4, 5, 52, 94] Las conclusiones principales derivadas del análisis previo pueden entonces sintetizarse como: i) las múltiples adsorciones de la PAH-Os y las nanopartículas de Au necesarias para completar cada capa aumentan la eficiencia SERS y ii) la estructura más compacta presenta una mayor interacción entre plasmones de nanopartículas que se refleja en la región de  $\sim 650nm$  a través de la aparición de una nueva absorción óptica, un hombro en el perfil de resonancia Raman, y un máximo en el cociente de la amplificación Raman entre las muestras M2 y M1.

### Micromapas Raman

Para ganar en claridad respecto al efecto SERS en estas multicapas autoensambladas realizamos micromapas Raman<sup>12</sup> de las muestras M1, M2 y M3, esta última optimizada con una mayor cantidad de agregados de nanopartículas de  $50nm$  de diámetro homogéneamente distribuidos (alrededor de 40 agregados/ $\mu m^2$ ). Los resultados son cualitativamente similares en las tres muestras, pero la característica principal que queremos resaltar resulta más clara en M3. Por ello concentramos nuestro análisis en esta última muestra.

En la Fig. 6.10 comparamos algunos de los 120 espectros SERS secuencialmente medidos cada  $1\mu m$  dentro de una región de  $11 \times 11\mu m^2$  en la muestra M3 (espectros 2-9) usando la línea de  $632.8nm$  del láser de He-Ne y un spot de  $1\mu m^2$ , con un espectro Raman resonante electrónicamente (espectro 1) medido en la muestra M4 con el spot lineal de  $0.7mm^2$  del láser de Ar-Kr de  $514.5nm$ . Las líneas punteadas verticales indican las posiciones de los picos característicos de la PAH-Os que observamos en el espectro 1). Estos picos corresponden, tal como mencionamos anteriormente, a modos vibracionales que involucran al centro de Os y sus ligandos y su amplificación selectiva está causada por la resonancia Raman electrónica sintonizada con la transición MLCT de la PAH-Os.[65, 95–99] Los espectros 2-9 son cualitativamente diferentes del anterior. Primero, las líneas relacionadas con el Os y sus ligandos aparecen pero con intensidades relativas diferentes, especialmente en la región de *stretching* de las piridinas y bipyridinas ( $1325-1606cm^{-1}$ ). Además, algunas líneas están un poco corridas, alrededor de  $3cm^{-1}$ . Segundo, los espectros presentan una serie de picos nuevos y bien definidos. Asignamos estos nuevos modos por comparación con señales Raman de compuestos similares tales como  $Os(bpy)_3^{2+}$  o  $Os(bpy)_2(P^2)^{2+}$  (Ref. [97]) y otros grupos funcionales similares a aquellos presentes en la PAH-Os, *e.g.*, piridinas, bipyridinas, poliestirenos, bencenos disustituídos y polietenos.[100] Encontramos que algunas de las nuevas señales que aparecen en los espectros 2, 3, 7, 8 y 9 ( $\sim 710$ ,  $\sim 1080$ ,  $\sim 1295$  y  $\sim 1410cm^{-1}$ ) pueden identificarse con vibraciones provenientes del esqueleto

<sup>12</sup>Medidos con el Dr. P. G. Etchegoin utilizando un microscopio Raman Renishaw del Laboratorio Blackett del Imperial College de Londres, Inglaterra.

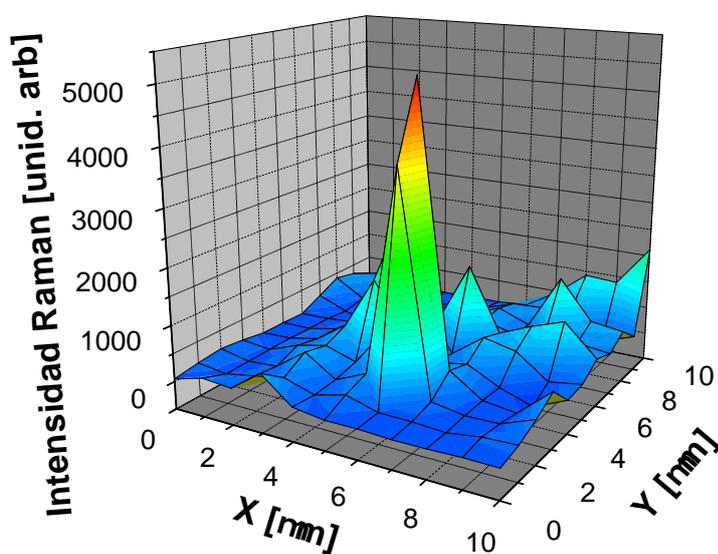


**Figura 6.10:** Espectros Raman para (1) la multicapa PAH-Os+(PVS/PAH-Os)<sub>5</sub>, tomado a 514.5nm en resonancia con la transición MLCT de la PAH-Os, y para (2-9) el film de PAH-Os+(nano-Au/PAH-Os)<sub>5</sub> con *clustering* (M3) medido con la línea de 632.8nm del láser de He-Ne. Estos últimos fueron adquiridos con un spot de 1 $\mu$ m<sup>2</sup> dentro de una región de 100 $\mu$ m<sup>2</sup>. Las líneas verticales punteadas indican las posiciones de los modos relacionados con el centro de Os y sus ligandos. La mayoría de los picos nuevos que aparecen en los espectros 2, 3, 7, 8 y 9 están relacionados con vibraciones de las cadenas carbonadas del polímero, mientras que los picos más intensos en la región comprendida entre 200-500 $cm^{-1}$  corresponden a una amplificación selectiva de modos relacionados con la piridina.

del polímero. Los espectros 4, 5 y 6 merecen una consideración especial por su comportamiento similar. En contraste con los otros espectros, observamos una amplificación selectiva de varios picos centrados en  $\sim 250$ ,  $\sim 290$ ,  $\sim 390$ ,  $\sim 420$ ,  $\sim 1020$  y  $\sim 1040cm^{-1}$ . Estas señales vienen de las piridinas, implicando que esta amplificación selectiva refleja la proximidad existente entre este grupo funcional y un “hot-spot”.

Para ilustrar la distribución espacial del efecto SERS mostramos en la Fig. 6.11 un micromapa de intensidad Raman correspondiente a espectros tomados en la muestra M3 con la línea láser de 632.8nm cada 1 $\mu$ m utilizando un spot con tamaño submicrométrico. La forma de todos los espectros reflejan la existencia de amplificación SERS tal como mostramos en la Fig. 6.10. La señal que mostramos la obtenemos al integrar la señal Raman entre 1483 y 1606 $cm^{-1}$  (región de piridinas y bipyridinas) luego de restar el fondo. Podemos observar una región muy localizada con un pico de más de 5000 unidades con un ancho máximo a media altura que corresponde a la resolución del microscopio Raman. Esta señal es dos órdenes de magnitud más grande que la intensidad Raman promedio que se obtiene de este micromapa. Este promedio corresponde a lo que detectaríamos con un arreglo experimental con óptica macroscópica, como el utilizado para las mediciones

de la Fig. 6.8. Además del pico más intenso, podemos identificar alrededor de  $\sim 16$  otros máximos relativos, entre los 120 puntos del mapa, con intensidades que son al menos 10 veces mayores que la señal SERS promedio. Interesantemente, un experimento similar pero que realizamos con la excitación láser de  $514.5nm$ , *i.e.* en resonancia parcial con los plasmones de nanopartículas *aisladas*, nos muestra un mapa de intensidad uniforme, sin regiones de amplificación localizada. Esto nos indica fuertemente que las resonancias de plasmones acoplados (*i.e.* nanopartículas acopladas) están íntimamente relacionadas con la inhomogeneidad espacial de la amplificación Raman. Traemos a consideración que las imágenes AFM de esta muestra en particular (no presentada) presentan unos 40 agregados de 2-5 nanopartículas de Au por  $\mu m^2$ . Por lo tanto, esperamos unos  $\sim 5000$  agregados de nanopartículas dentro de la región de  $11 \times 11 \mu m^2$  que sondeamos con el micromapa que mostramos en la Fig. 6.11. Consecuentemente, la inhomogeneidad que observamos en la escala micrométrica, está originada por hot-spots causados por agregados de nanopartículas en la nanoescala, implicando que sólo una pequeña cantidad de estos agregados provocan regiones de elevada amplificación.



**Figura 6.11:** Micromapa Raman donde el eje  $z$  representa el valor del área integrada en la región comprendida entre los picos de  $1483$  y  $1606cm^{-1}$  (bipiridinas) sin la contribución del fondo. Los espectros están tomados cada  $1\mu m$  utilizando un spot de  $\sim 1\mu m^2$  dentro de un área de  $121\mu m^2$ . Podemos observar una región muy localizada bajo el efecto de una amplificación muy grande. La intensidad es  $10^3$  veces mayor que las regiones menos amplificadas y dos órdenes de magnitud mayor que el promedio de las señales.

### Cálculos dentro de la aproximación de dipolos discretos (DDA)

Podemos obtener una descripción cualitativa de la respuesta dieléctrica de las capas de nanopartículas de Au autoensambladas utilizando un modelo en la aproximación de dipolos discretos (DDA) para plasmones de nanopartículas interactuantes. Para lograr este cometido seguimos las Ref. [11, 53, 101] y consideramos un arreglo coloidal 2-dimensional de  $N$  nanopartículas esféricas de Au aleatoriamente distribuidas dentro de un área de dimensiones  $L \times L$ . Cada nanopartícula tiene su propia resonancia debido a plasmones superficiales e interactúa con el resto de las partículas a través de interacciones electromagnéticas dipolo-dipolo. Como consecuencia de esta interacción, el dipolo inducido en cada nanopartícula tiene una dirección y magnitud que puede ser resuelta autoconsistentemente como:[53]

$$\vec{p}_i = \alpha(\nu)\vec{E}_i = \alpha(\nu)(\vec{E}_0 + \vec{E}_i^{dip}), \quad (6.2)$$

con

$$\vec{E}_i^{dip} = \sum_{j \neq i} \frac{e^{ikr}}{r^3} [k^2(\vec{r}_{ij} \times \vec{p}_j) \times \vec{r}_{ij} + (1 - ikr)(3\hat{r}_{ij}(\vec{p}_j \cdot \hat{r}_{ij}) - \vec{p}_j)], \quad (6.3)$$

y

$$\alpha(\nu) = R^3 \frac{\epsilon_i(\nu) - \epsilon_0}{\epsilon_i(\nu) + 2\epsilon_0}. \quad (6.4)$$

Aquí  $\vec{p}_i$  es el momento dipolar inducido asociado con la nanopartícula  $i$ ,  $\alpha$  es la polarizabilidad de una nanopartícula de Au,  $\vec{E}_0$  es el campo eléctrico externo aplicado cuyo vector de onda es  $\vec{k}$ ,  $\vec{E}_i^{dip}$  es el campo eléctrico en la nanopartícula  $i$  generado por todos los otros dipolos,  $\vec{r}_{ij}$  es el vector posición entre las nanopartículas  $i$  y  $j$ ,  $r = |\vec{r}_{ij}|$ ,  $\hat{r}_{ij} = \vec{r}_{ij}/r$ , y  $\epsilon_i$  y  $\epsilon_0$  son las funciones dieléctricas de las nanopartículas metálicas (de Au en este caso) y del medio que las rodea, respectivamente. Notamos que la Ec. 6.3 tiene en cuenta tanto la contribución denominada cuasi-estática ( $2^{do}$  término) como la de retardo ( $1^{er}$  término).[53, 101] Para las funciones dieléctricas de oro usamos los valores tomados de la Ref. [102] (oro *bulk*). Considerando un medio ambiente con constante dieléctrica  $\epsilon_0 = 1.35$ , un valor que se encuentra entre el vacío y el agua,  $\alpha(\nu)$  registra una resonancia a  $\lambda_p = 511.8nm$ , para la cual  $\epsilon_i(\lambda_p) = -2.7059 + i0.7264$ . Esta resonancia corresponde a la excitación de plasmones de nanopartículas aisladas, la cual coincide relativamente bien con el valor determinado experimentalmente de  $\lambda_p = 530nm$  (ver Fig. 6.7).

Para implementar la solución numérica de este problema definimos una simple red cuadrada con parámetro de red  $d_0 = 1nm$  dentro del área  $L \times L$ , con  $L = 1000nm$ , donde colocamos aleatoriamente  $N$  nanopartículas esféricas de radio  $R = 10nm$ , prohibiendo superposición espacial y asignando a cada una de las nanopartículas un dipolo efectivo total. Esta última consideración está justificada porque el tamaño de las nanopartículas es típicamente una fracción de la longitud de onda de la luz. El número de nanopartículas  $N$  depende de la muestra que queremos modelar. Al campo  $\vec{E}_0$  lo definimos a lo largo de la dirección  $\hat{x}$  con vector de onda  $\vec{k} = k\hat{z}$  (aquí  $\hat{z}$  es normal a las multicapas autoensambladas).

Fijamos la longitud de onda incidente a  $\lambda_0 = 511.8nm$ , esto es, acoplado a la resonancia de nanopartículas aisladas. Para determinar la magnitud y orientación de todos los dipolos generamos una configuración de dipolos unitarios aleatorios,  $\vec{p}_i$ , y se los asignamos uno a uno a cada nanopartícula, y luego iteramos según el siguiente procedimiento: i) evaluamos el campo eléctrico en cada nanopartícula producido por todas las demás usando la Ec. 6.3 y ii) definimos un nuevo dipolo en la posición  $\vec{r}_i$  a través de la siguiente modificación a la Eq. 6.2:

$$\vec{p}_i^{l+1} = \eta\alpha(\nu)\vec{E}_i^{l+1} + (1 - \eta)\vec{p}_i^l. \quad (6.5)$$

Aquí  $l$  indica el paso de iteración y  $\eta$  es un parámetro *ad hoc* que utilizamos para mejorar la convergencia y cuyo valor usualmente está entre 0.5 y 0.1.[101] Finalmente, repetimos estos dos pasos hasta que alcanzamos una configuración estable.

Con la configuración de campos autoconsistente que obtuvimos podemos calcular la distribución espacial de intensidades utilizando la relación  $I = 0.5 Re[\vec{E} \cdot \vec{E}^*]$ . [103] Por otra parte, podemos obtener los autovalores y autovectores para el problema de los plasmones interactuantes a través de la matriz:[53]

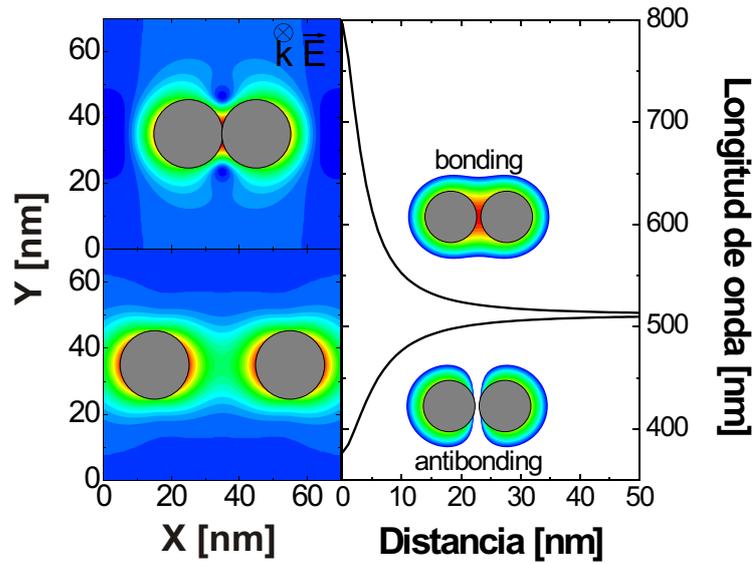
$$U_{ij} = \delta_{ij}\omega_p - (1 - \delta_{ij})\vec{p}_i \cdot \frac{e^{ikr}}{r^3} [k^2(\vec{r}_{ij} \times \vec{p}_j) \times \vec{r}_{ij} + (1 - ikr)(3\hat{r}_{ij}(\vec{p}_j \cdot \hat{r}_{ij}) - \vec{p}_j)]. \quad (6.6)$$

Aquí  $\omega_p = 2\pi c/\lambda_p$  es la frecuencia angular del plasmón superficial para nanopartículas aisladas. Siguiendo la Ref. [53], para caracterizar los autovectores asociados a cada autovalor le asociamos a la  $i$ -ésima nanopartícula con coordenada  $\vec{r}_i$  una distribución Gaussiana con desviación estándar  $\sigma$  igual al radio de las nanopartículas,  $R$ . Por ello, la representación espacial de la participación de las diferentes nanopartículas en un autovalor específico está dado por la función:

$$F^j(\vec{r}) = \left| \sum_i a_i(j) e^{-\frac{|\vec{r}-\vec{r}_i|^2}{2R^2}} \right|^2, \quad (6.7)$$

donde  $a_i(j)$  es el  $i$ -ésimo coeficiente (asociado a la nanopartícula  $i$ ) del autovector  $j$  correspondiente al autovalor  $\omega_j$ .

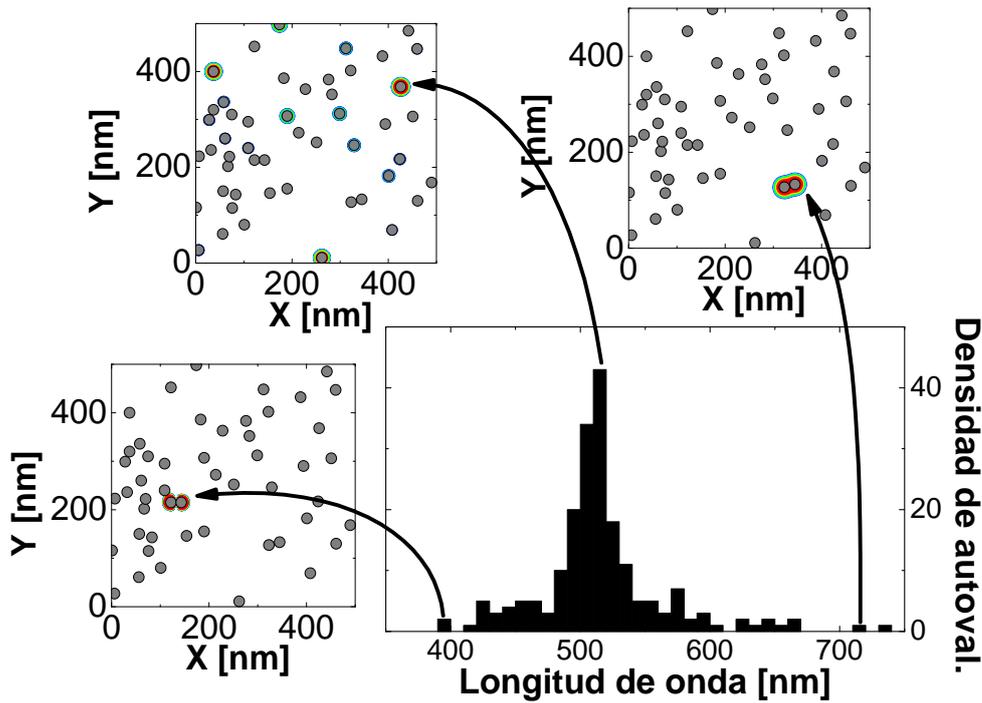
Para ilustrar la física detrás del problema de las nanopartículas interactuantes, mostramos en primer lugar en la Fig. 6.12 la distribución de campo y las energías de plasmones acoplados y autovectores para el caso simple de dos nanopartículas (dipolos) interactuantes. El campo electromagnético del láser está aplicado a lo largo de la línea que conecta las dos nanopartículas. En los paneles izquierdos mostramos las distribuciones de campo para dos nanopartículas separadas por  $0nm$  (arriba) y  $20nm$  (abajo). Dos autovectores existen para este simple problema, equivalentes a estados *bonding* y *antibonding*. En el panel derecho de la Fig. 6.12 exponemos tanto la representación espacial de los autovectores (*insets*) como sus correspondientes energías en función de la separación que existe entre el par de nanopartículas. Dentro de este esquema, un “hot-spot” corresponde a la mayor intensidad entre las nanopartículas en el estado *bonding*. La energía de este último es más pequeña que la correspondiente a nanopartículas no interactuantes, mientras que el



**Figura 6.12:** Distribución de campo para nanopartículas separadas por  $0nm$  (izquierda-arriba) y  $20nm$  (izquierda-abajo). El campo electromagnético está aplicado a lo largo de la línea que conecta a las dos nanopartículas y el vector de onda es perpendicular al plano de las nanopartículas. En el panel derecho mostramos los autovalores correspondientes a los estados *bonding* (línea superior) y *antibonding* (línea inferior) como función de la separación entre las nanopartículas. En este último panel también esquematizamos las autofunciones de los estados *bonding* y *antibonding* correspondientes a dos nanopartículas separadas por  $2nm$ .

estado *antibonding* está corrido hacia el azul respecto al plasmón independiente. Notamos, además, que la polarización inducida es par (impar) para el estado *bonding* (*antibonding*), implicando que se acopla (no se acopla) con el campo electromagnético exterior de un láser que posee una longitud de onda mucho mayor que la dimensión que define el par de nanopartículas. Debemos destacar que la energía de los estados plasmónicos que exponemos en la Fig. 6.12 son arbitrarios en el sentido de que depende de la magnitud del campo electromagnético del láser, el cual define en gran medida la magnitud de la polarización y por lo tanto la del campo local. De hecho, escogimos el valor de  $E_0$  de manera tal que el rango de energías de los plasmones acoplados cubra aquél que observamos experimentalmente (ver Fig. 6.7).

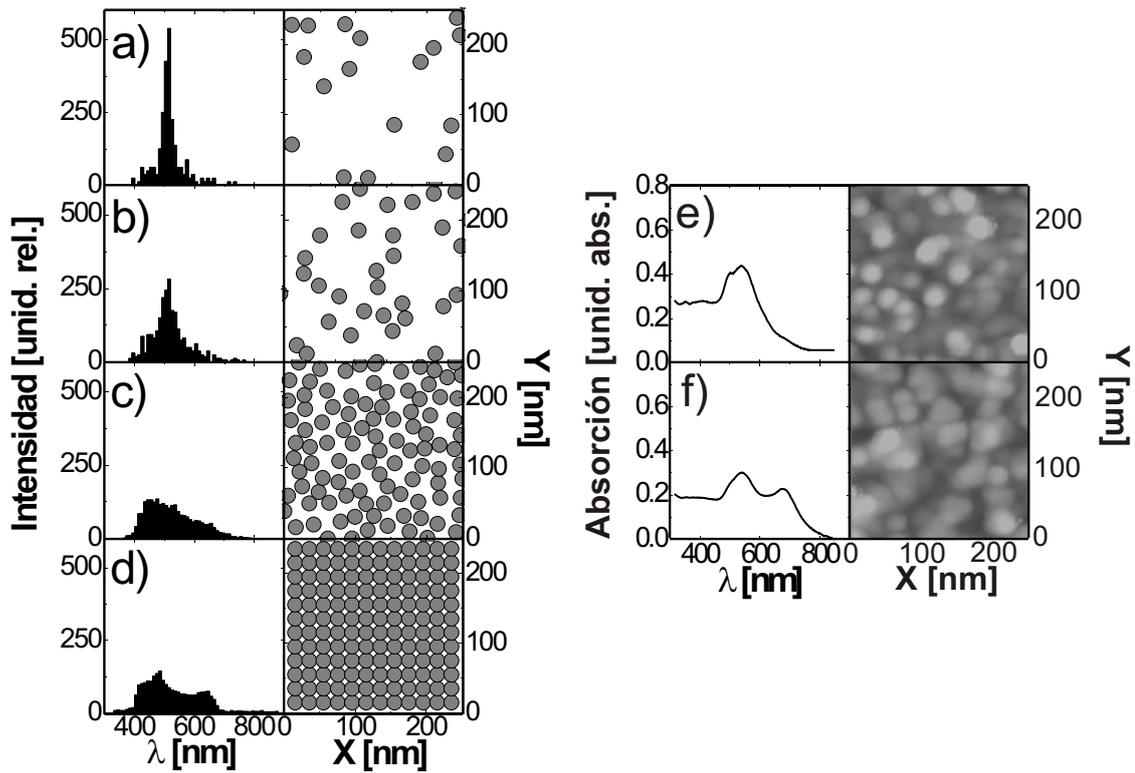
Cuando consideramos una distribución aleatoria de nanopartículas, como la presentada en la Fig. 6.13, las energías de nanopartículas interactuantes cubren un amplio rango. En la Fig. 6.13 mostramos un histograma de autovalores para una distribución aleatoria de 200 nanopartículas dentro de un área cuadrada de  $1\mu m^2$ , junto con la representación espacial para algunos autovectores correspondientes a energías específicas localizadas en la región espectral de los estados *bonding*, *antibonding* e independiente. Resulta claro que todas estas situaciones coexisten en una misma muestra, donde entonces tenemos estados que involucran pares acoplados similares a los hot-spots, estados con simetría impar que



**Figura 6.13:** Histograma de los autovalores para una distribución de 200 nanopartículas de  $20\text{nm}$  de diámetro distribuidas al azar en un área cuadrada de  $1\mu\text{m}^2$  (abajo a la derecha), junto con la representación de los autovectores para algunas energías específicas localizadas en las regiones de los estados *bonding* (arriba a la derecha), independientes (arriba a la izquierda) y *antibonding* (abajo a la izquierda).

no interactúan con la luz y resonancias de nanopartículas aisladas.

En la Fig. 6.14 mostramos a la izquierda los histogramas para diferentes cubrimientos, 200, 400 y 1600 nanopartículas aleatoriamente distribuida en un área cuadrada de  $1\mu\text{m}^2$  (paneles a, b y c), y para un empaquetamiento compacto con una distribución de 2500 nanopartículas dentro del mismo área (panel d). Normalizamos la intensidad de los histogramas respecto al número total de nanopartículas. De acuerdo con los resultados de AFM, nuestra muestra M1 (panel e) se corresponde a un cubrimiento cercano al presentado en el panel b) mientras que M2 (panel f) tiene un cubrimiento más parecido al presentado en el panel c). Para el cubrimiento más bajo (panel a), el espectro está básicamente caracterizado por un pico aislado correspondiente a la resonancia de plasmones aislados,  $\omega_p$ . Cuando el cubrimiento aumenta hasta niveles como el presentado en el panel b), podemos observar el pico centrado en  $\omega_p$ , pero claramente aparecen un ensanchamiento y una cola hacia bajas energías. Esto concuerda cualitativamente con el espectro de extinción de M1 que mostramos en el panel e). Cuando seguimos aumentando el cubrimiento hasta llegar a la condición presentada en el panel c), además del ensanchamiento descrito, una estructura tipo pico aparece en longitudes de onda mayores, el cual es característico de resonancias de plasmones acoplados. Otra vez, esto conlleva a un acuerdo cualitativamente bueno con



**Figura 6.14:** Paneles a-d: Histogramas de energías (a la izquierda) y sus respectivos mapas de nanopartículas (a la derecha) con cubrimientos de (a) 200, (b) 400 y (c) 1600 nanopartículas aleatoriamente distribuidas en  $1\mu m^2$  y un panel extra (d) con 2500 nanopartículas ordenadas en un arreglo compacto también dentro de  $1\mu m^2$ . Los histogramas están normalizados con respecto al número total de nanopartículas. Para el cubrimiento menor (a), el espectro está básicamente caracterizado por un pico correspondiente a la resonancia de plasmones aislados  $\omega_p$ . Cuando el cubrimiento aumenta a (b), todavía observamos el pico centrado en  $\omega_p$  pero un poco más ancho y con una incipiente cola hacia el lado de menores energías. Si aumentamos aún más el cubrimiento hasta (c), además del ensanchamiento, una estructura tipo pico aparece a longitudes de onda mayores lo cual es característico de resonancias de plasmones interactuantes. Cuando consideramos una estructura ordenada de nanopartículas como en (d), el histograma evoluciona hacia una distribución tipo banda, más parecida a lo que ocurre con las bandas de electrones en sólidos cristalinos. Paneles e-f: Espectros de absorción (a la izquierda) e imágenes de AFM (a la derecha) correspondientes a las muestras M1 (e) y M2 (f). Notamos la correspondencia entre los pares de paneles b)-e) y c)-f).

lo que observamos para M2 en el panel f), donde además de la resonancia del plasmón de nanopartículas independientes a  $\sim 530nm$ , un segundo pico aparece a  $\sim 680nm$ . De acuerdo con este simple modelo, podemos asignar claramente esta segunda absorción a estados de plasmones acoplados tipo *bonding*. Esto último da lugar a la aparición de hot-spot resonantes, los cuales explican el hombro que mostramos alrededor de  $650nm$  en el perfil de resonancia Raman de la Fig. 6.9. Finalmente, cuando consideramos una

estructura ordenada de nanopartículas como en el panel d) de la Fig. 6.14, el histograma de energías evoluciona hacia una distribución tipo banda parecida a lo que ocurre con la estructura de bandas en un sólido cristalino.

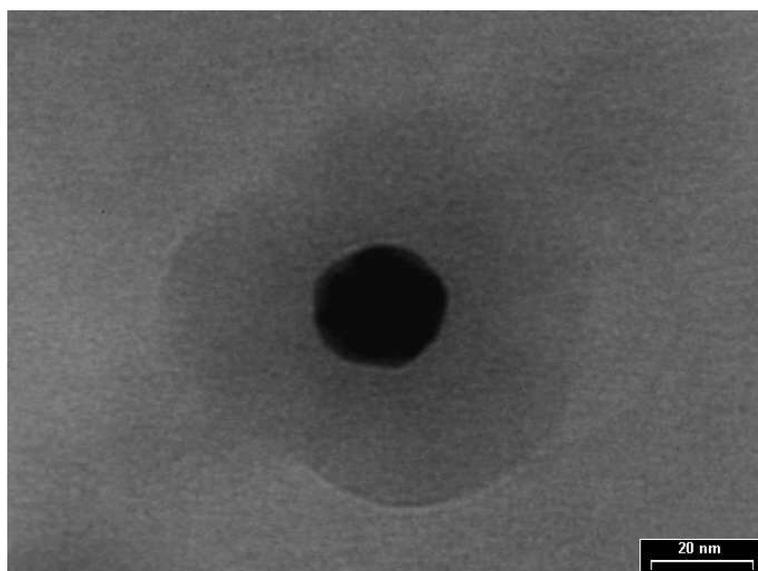
## 6.2 Nanosensores de glucosa: Nanopartículas de Au con multicapas de (PAH-Os/GOx)<sub>n</sub>

En esta sección presentamos un nuevo opto-nanosenor de glucosa que resulta de la integración de las dos componentes que estudiamos anteriormente, el cable molecular de PAH-Os, y un núcleo conformado por la nanopartícula de Au SERS activa. La estructura del sensor consiste entonces en autoensamblar sobre la superficie de la nanopartícula de Au de 20nm multicapas de PAH-Os y glucosa oxidasa (GOx). Lo denominamos *opto-nanosenor* debido a que la respuesta de sensar glucosa se transduce en un cambio de la señal Raman.

### 6.2.1 Muestras

Las muestras que utilizamos en esta sección fueron preparadas por el Ing. P. Scodeller del grupo de Electroquímica Molecular del Dr. E. J. Calvo del INQUIMAE, FCEyN - UBA. El proceso de fabricación puede resumirse de la siguiente manera:[104] i) Se preparan las nanopartículas de Au de 20nm por reducción de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> con una solución de citrato de sodio y mercaptopropanosulfonato (MPS). ii) Las nanopartículas son filtradas y separadas del exceso de MPS a través de un centrifugado y redispersión en H<sub>2</sub>O. iii) Se realiza el procedimiento de autoensamblado de la multicapa de (PAH-Os/GOx)<sub>n</sub> que consiste en mezclar a las nanopartículas con el polímero para que se autoensamble una capa, se centrifuga, se extraer el exceso de polímero y se redispersa. iv) Se realiza otra vez el paso iii) pero utilizando a la enzima en lugar del polímero. v) Se repiten los pasos iii) y iv) según el número de bicapas, *n*, que se pretenda ensamblar.

En la Fig. 6.15 presentamos una imagen del nanosenor de glucosa tomada por el Dr. H. Troiani utilizando un microscopio electrónico de transmisión (TEM) en el CAB - CNEA. Aquí podemos observar el film de GOx y PAH-Os alrededor del núcleo constituido por la nanopartícula de Au a través del cambio en el contraste entre la materia orgánica y el Au. De las imágenes tomadas sobre este y otros nanosensores de glucosa podemos decir que la dimensión de la nanopartícula es de  $\sim 20nm$  de diámetro y que el film de polímero y enzima tiene un espesor entre 10 y 20nm según sea *n*. En el caso particular presentado en esta figura, nano-Au+PAH-Os+(GOx/PAH-Os)<sub>3</sub>, el espesor del film que se encuentra ronda los 19nm y está en buen acuerdo con estudios elipsométricos previos para films PAH-Os+(GOx/PAH-Os)<sub>3</sub> ensamblados sobre substratos de Au liso.[105]



**Figura 6.15:** Imagen de una nanopartícula de oro ensamblada con una multicapa de PAH-Os+(GOx/PAH-Os)<sub>3</sub> tomada en el microscopio de transmisión de electrones (TEM) del CAB - CNEA por el Dr. H. Troiani.

### 6.2.2 Resultados y discusión

En lo que sigue demostramos el funcionamiento de este nanosensor de glucosa cuando lo interrogamos con luz. Para esto usamos espectroscopías SERS y Raman resonante para detectar el estado redox del complejo de Os de la multicapa autoensamblada sobre las nanopartículas de Au, el cual nos reportará la concentración de glucosa dentro de la solución en la cual están inmersas las nanopartículas.

#### Respuesta óptica

El nanosensor tipo *core-shell* que describimos está basado en un complejo de Os con las propiedades Raman descritas anteriormente pero, además, está construido sobre una nanopartícula de Au con una respuesta plasmónica también presentada previamente en la Fig. 6.7. Por lo tanto, esperamos una señal Raman amplificada por la presencia del plasmón superficial, la cual sumada a la resonancia electrónica de la PAH-Os proveerá de una sonda Raman particularmente sensible. Para evidenciar la presencia de la amplificación SERS mostramos en la Fig. 6.16 una comparación de la respuesta espectral Raman resonante del polímero PAH-Os crecido capa por capa en una estructura supramolecular (PAH-Os/PVS)<sub>7</sub> sobre un sustrato plano (*i.e.* sin efecto SERS), respecto a la mostrada por un nanosensor nano-Au+PAH-Os+(GOx/PAH-Os)<sub>7</sub>. Las intensidades han sido ajustadas para poder compararse. Lo que es relevante en lo que sigue es el comportamiento espectral de la resonancia Raman.

El panel superior de la Fig. 6.16 muestra la intensidad Raman del pico de  $1550\text{cm}^{-1}$  relacionado al *stretching* de bipyridinas de la PAH-Os como función de la energía de la

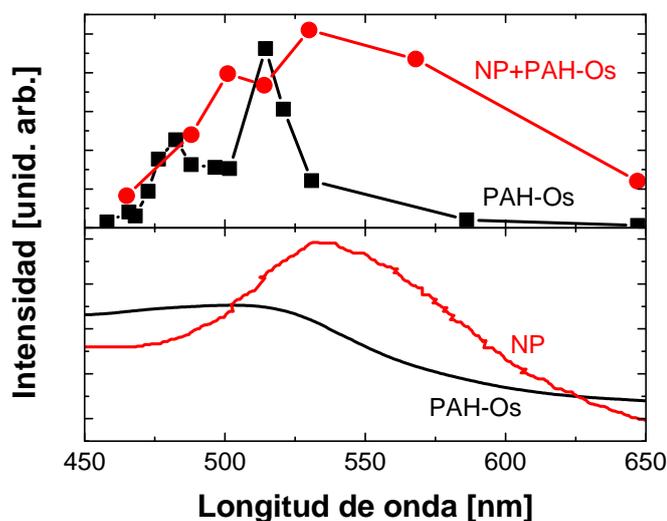
excitación láser. Para la resonancia electrónica pura de la PAH-Os (cuadrados negros) identificamos los dos máximos relacionados con las resonancias Raman electrónicas *incoming* a  $514.5\text{nm}$  y *outgoing* a  $482\text{nm}$ .<sup>[65]</sup> Por lo tanto, la señal Raman tiene sus máximos en energías alrededor del pico de absorción óptica de la PAH-Os (curva negra en el panel inferior de la Fig. 6.16) y decae para excitaciones con longitudes de onda por encima de  $550\text{nm}$  cuando nos alejamos de la absorción MLCT del polímero.

La dispersión Raman para la misma señal del complejo de Os de la multicapa autoensamblada sobre las nanopartículas de Au tipo *core-shell*, muestra un perfil de resonancia bastante diferente en función de la excitación láser (círculos rojos en el panel superior de la Fig. 6.16). El máximo en la resonancia se corre a longitudes de onda mayores ( $\sim 530\text{nm}$ ) y observamos una respuesta mucho más ancha y sin distinción de picos. De hecho, cuando la comparamos con la absorción del coloide de nanopartículas de Au (curva roja en el panel inferior de la Fig. 6.16) resulta claro que el máximo en la absorción debido a la resonancia plasmónica centrado en  $530\text{nm}$  da origen al máximo en el perfil de resonancia Raman debido al efecto SERS que introducen las nanopartículas metálicas. Además notamos que, a diferencia de lo que ocurre cuando consideramos solamente la resonancia Raman de la PAH-Os, en las estructuras con nanopartículas de Au *core-shell*, hemos observado la intensidad de la señal Raman proveniente de las bipyridinas en la región de  $550$  a  $650\text{nm}$ . El comportamiento para estos y todos los picos observados sigue la absorción plasmónica de las nanopartículas de Au en forma similar a lo que presentamos en la Fig. 6.9 para la multicapa PAH-Os/nano-Au/PAH-Os sobre un substrato plano.

## Funcionamiento

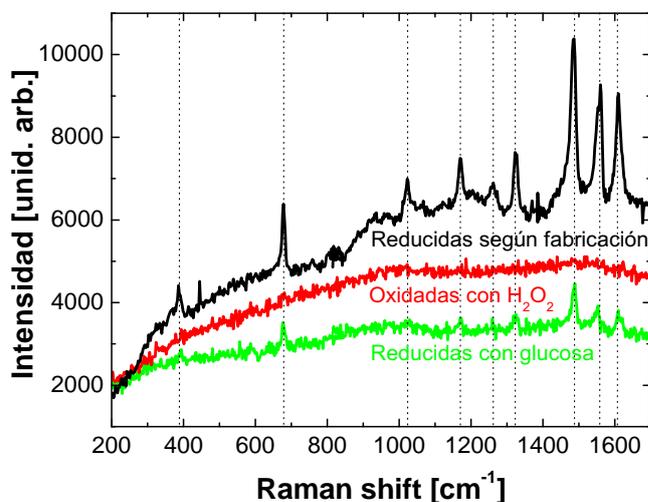
Respecto al funcionamiento del nanosensor de glucosa traemos a consideración que, tal como vimos en la Sec. 6.1, la PAH-Os en su estado reducido ( $\text{Os}^{II}$ ) presenta una resonancia Raman electrónica con la transición MLCT que amplifica todos los modos vibracionales relacionados al centro de Os y sus ligandos cuando el láser incidente sintoniza dicha transición alrededor de  $\sim 510\text{nm}$ . Por otra parte, también vimos que en el estado oxidado ( $\text{Os}^{III}$ ) esta resonancia desaparece y con ella la amplificación en las señales Raman.<sup>[65]</sup> Es justamente esta dependencia de la intensidad Raman con el estado de oxidación del complejo de Os la que utilizamos como sonda óptica para detectar la concentración de glucosa en una solución.

Nuestra estrategia para sensar glucosa, entonces, consiste en preparar a nuestras nanopartículas de Au *core-shell* en un estado inicial  $\text{Os}^{III}$  que es “Raman silencioso”, realizando un tratamiento de oxidación químico con  $\text{H}_2\text{O}_2$  y peroxidasa de soja.<sup>[104]</sup> Luego, al ponerlas en contacto con una solución con glucosa, la catálisis enzimática llevada a cabo por la glucosa oxidasa (GOx) presente en la multicapa del sensor provee de electrones a nuestro cable molecular y cambia su estado de oxidación hacia la especie reducida  $\text{Os}^{II}$  que posee señal Raman debido a la fuerte resonancia electrónica con la transición MLCT. Por lo tanto, la recuperación de la señal Raman de la PAH-Os será sensible a la concentración de glucosa en una solución.



**Figura 6.16:** Arriba: Intensidad Raman del pico de  $1550\text{cm}^{-1}$  de la PAH-Os como función de la longitud de onda de la excitación láser para el complejo molecular ensamblado en una estructura supramolecular (PAH-Os/PVS)<sub>7</sub> sobre un sustrato de oro liso sin amplificación SERS (PAH-Os) y sobre las nanopartículas de Au formando una estructura *core-shell* (NP+PAH-Os). Abajo: Detalle de los espectros de absorción de la PAH-Os en la región de la transición MLCT (PAH-Os), y el de las nanopartículas de Au utilizadas (NP). Notamos que existe una correlación muy estrecha entre los máximos de absorción que presentan el complejos de Os y las nanopartículas de Au, con los máximos de la resonancia Raman para el complejo de Os sólo y el sensor *core-shell*, respectivamente. Esto demuestra el rol de la amplificación SERS en este último.

En esta instancia mencionamos que existen otras alternativas con las que se han desarrollado optosensores de glucosa basados en espectroscopía Raman. Recientemente, R. P. Van Duyne y colaboradores han implementado sensores que responden a la presencia de glucosa y lactato[106, 107] modificando con tioles un sustrato SERS fabricado por deposición de films metálicos sobre nanoesferas de látex,[12] logrando incluso implementarlos *in-vivo*. [106] Así mismo debemos notar que existen diferencias entre ambas estrategias. El sistema que proponen R. P. Van Duyne *et al.* consiste en un sustrato SERS macroscópico para realizar sensado de moléculas sin demasiada especificidad hasta el momento. En nuestro caso proponemos un optosensor con especificidad a la glucosa totalmente integrado en dimensiones nanométricas. Aquí la amplificación SERS es intrínseca debido a la utilización de las nanopartículas de Au, tal como hemos demostrado anteriormente, por lo que no necesita de un sustrato SERS para su funcionamiento, aunque este último mejora su sensibilidad (como discutiremos más adelante), y debido a su tamaño puede utilizarse para monitorear señales dentro de células y fluidos. Además el nanosensor que presentamos cuenta con una alta especificidad a la presencia de glucosa por utilizar enzimas



**Figura 6.17:** Espectros Raman resonantes de nanopartículas de núcleo de Au recubiertas por una multicapa de PAH-Os+(GOx/PAH-Os)<sub>3</sub> depositadas sobre un substrato atómicamente liso de Au para: nanopartículas con el complejo de Os reducido (tal como fueron fabricadas), nombradas como **Reducidas según fabricación** en negro; con el complejo de Os oxidado, denominadas como **Oxidadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** en rojo; y luego de la adición de una solución de glucosa 200mM, llamadas **Reducidas con glucosa** en verde. La excitación Raman está hecha con 10mW de la línea láser de 514.5nm con un tiempo de adquisición de 10s.

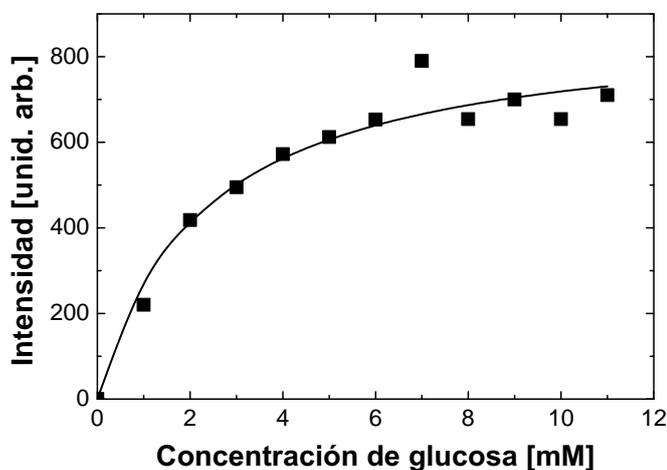
glucosa oxidasas y estar basado en la detección indirecta del azúcar a través de la recuperación de la señal Raman resonante de la PAH-Os, la cual es muy específica y fácilmente monitoreable. Esta amplificación electrónica de la PAH-Os se suma al SERS dado por la nanopartícula de Au obteniendo en un sensor totalmente integrado, especificidad y lectura óptica amplificada vía SERRS.

En la Fig. 6.17 mostramos los espectros Raman que adquirimos con la excitación láser de 514.5nm para gotas de nanopartículas *core-shell* que dejamos evaporar sobre un substrato de Au liso i) reducidas según fabricación (Os<sup>II</sup>, arriba en negro), ii) luego de oxidarlas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y peroxidasa de soja (Os<sup>III</sup>, en el medio en rojo) y iii) después de volver a reducir las con glucosa (Os<sup>II</sup>, abajo en verde). En el estado oxidado la señal Raman desaparece por completo. Sin embargo, cuando le agregamos 5μL de una solución de glucosa 1M a 25μL de la solución de nanopartículas oxidadas, y luego removemos la glucosa con ciclos de enjuague y centrifugado, recuperamos un 20% del espectro Raman resonante inicial correspondiente a la especie reducida de la PAH-Os. Por lo tanto, la recuperación de la intensidad Raman resonante del Os<sup>II</sup> demuestra la posibilidad de realizar un nanobiosensor óptico que responde a la presencia de glucosa usando nanopartículas metálicas con autoensamblados orgánicos tipo *core-shell* basándonos simultáneamente en

la utilización de resonancias Raman tanto electrónicas como plasmónicas.

### Dependencia con la concentración de glucosa

Investigamos la dependencia de la señal Raman con la concentración de glucosa y obtuvimos una típica curva de calibración para nuestro nanobiosensor, como mostramos en la Fig. 6.18,<sup>13</sup> donde cada punto fue medido utilizando una nueva solución de nanopartículas y glucosa manteniendo constante la concentración de sensores (60.5pM) mientras variamos la concentración de glucosa. Colocamos en cada medición experimental una gota de 1μL de solución conteniendo nanosensores y glucosa sobre un substrato de Ag nanoestructurado<sup>14</sup> y la señal Raman está medida con la línea láser de 514.5nm. Después de substrar la señal de fondo de los nanosensores en el estado oxidado (Os<sup>III</sup>) en ausencia de glucosa, graficamos la intensidad Raman resonante del modo de 1483cm<sup>-1</sup> en función de la concentración de glucosa. Podemos observar que la intensidad Raman aumenta con la concentración de glucosa hasta saturar a una concentración 7-8mM. Los resultados que presentamos en la Fig. 6.18 indican que la intensidad Raman crece con la concentración de glucosa siguiendo su oxidación enzimática y por lo tanto la tasa de formación de Os<sup>II</sup>. Los resultados expuestos nos permiten monitorear un rango de concentraciones comparable al ensayado por R. P. Van Duyne *et al.* utilizando una estrategia SERS alternativa para el sensado de glucosa.[106]

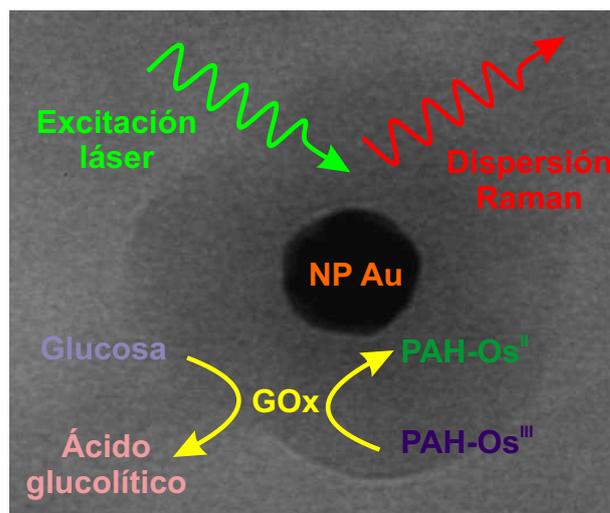


**Figura 6.18:** Intensidad Raman resonante vs. concentración de glucosa en solución para una suspensión de nanosensores conformados por núcleos de nanopartículas de Au de 20nm rodeadas por un autoensamblado de PAH-Os+(GOx/PAH-Os)<sub>3</sub>.

Por último, presentamos en la Fig. 6.19 un esquema que sintetiza el funcionamiento

<sup>13</sup>Mediciones realizadas en colaboración con el Ing. P. Scodeller y el Dr. R. Szamocki, ambos del grupo de Electroquímica Molecular del Dr. E. J. Calvo del INQUIMAE, FCEyN - UBA

<sup>14</sup>Los substrato de Ag nanoestructurados corresponden a los que presentaremos en el Capítulo 8.



**Figura 6.19:** Esquema del funcionamiento del nanosensor de glucosa y su monitoreo a través del scattering Raman.

del nanosensor de glucosa. La PAH-Os se encuentra inicialmente en el estado oxidado, PAH-Os<sup>III</sup>, y la señal Raman es nula. Luego al poner en contacto al sensor con moléculas de glucosa, la enzima glucosa oxidasa, GOx, oxida a las moléculas convirtiéndolas en ácido glucolítico y provee de un electrón a la PAH-Os haciendo que se reduzca al estado PAH-Os<sup>I</sup>. Este cambio puede ser detectado a través de la aparición de la señal Raman.

### 6.3 Conclusiones

Realizamos un estudio de las propiedades ópticas de multicapas autoensambladas (PAH-Os/PVS)<sub>n</sub> donde observamos una absorción óptica alrededor de 510nm relacionada con una transición de transferencia de carga metal-ligando (MLCT). Esta transición electrónica nos permite determinar el estado de oxidación del polímero PAH-Os cuando efectuamos experimentos Raman resonantes con dicha absorción óptica, convirtiendo al PAH-Os en un “cable molecular” interrogable ópticamente.

También presentamos una investigación detallada sobre la estructura y respuesta óptica de multicapas autoensambladas (PAH-Os/nano-Au)<sub>n</sub>. Imágenes AFM y mediciones VASE indican que utilizando nanopartículas de 20nm la primera capa crece homogéneamente, cubriendo parcialmente al sustrato sin presentar una gran cantidad de agregados de nanopartículas. El proceso de crecimiento evoluciona llenando los espacios existentes entre las nanopartículas y luego de cinco ciclos de inmersión en el coloide durante la fabricación sólo dos capas compactas de nanopartículas son ensambladas. La primera capa adsorbida de estas nanopartículas alcanza para correr el máximo del perfil Raman debido a la resonancia electrónica del polímero hacia menores energías, evidenciando además un aumento en la señal Raman de la PAH-Os causados por la resonancia electromagnética con los plasmones de las nanopartículas de Au a 530nm. La multicapa con cinco ciclos

de inmersión posee una estructura más compacta, presentando una interacción efectiva entre plasmones que proporciona una nueva absorción óptica alrededor de  $650nm$ . Esta absorción debida a plasmones acoplados lleva a un nuevo máximo en la amplificación SERS. Micromapas Raman realizados sobre una muestra especial con un mayor número de agregados de nanopartículas muestran la alta dilución de los hot-spots y su gran amplificación sumamente localizada espacialmente. Utilizando un modelo numérico dentro de la aproximación de dipolos discretos con distribuciones de nanopartículas comparables a las estudiadas en las multicapas autoensambladas reproducimos cualitativamente las absorciones debido a los plasmones, tanto independientes como acoplados, e incluso modelamos la existencia de hot-spots.

Finalmente, diseñamos e implementamos un opto-nanobiosensor para medir concentraciones de glucosa a través de la respuesta óptica Raman basado en la implementación de una capa de enzimas cableadas por la PAH-Os hasta un núcleo SERS activo conformado por una nanopartícula de Au. La interrogación del sensor es a través de la recuperación de la señal Raman resonante del estado PAH-Os<sup>II</sup> cuando el sensor, inicialmente en el estado PAH-Os<sup>III</sup> es colocado en presencia de glucosa.



## Capítulo 7

# SERS con nanopartículas de Ag ordenadas: buscando señales homogéneas

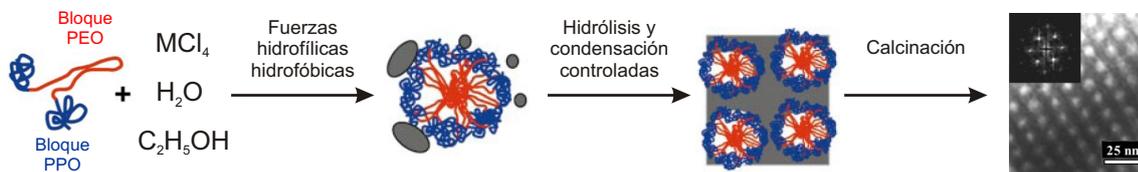
En los dos capítulos anteriores analizamos las características SERS que presentan las láminas de Au rugosadas electroquímicamente y las nanopartículas de Au autoensambladas. Encontramos que estos sistemas presentan 4 características principales: i) Muestran amplificaciones SERS  $\sim 10^3$ - $10^5$ , relevantes para el estudio de nanoestructuras moleculares, ii) tienen buena compatibilidad con sistemas biomiméticos y de sensado, iii) las señales SERS son muy inhomogéneas espacialmente y vi) la respuesta plasmónica es generalmente ancha y poco flexible ante cambios en las condiciones de fabricación. En este capítulo trabajamos sobre un nuevo tipo de sustrato SERS, las matrices de óxidos metálicos con nanoporos ordenados tridimensionalmente infiltradas con nanopartículas de plata (Ag@MONO-3D), con las que pretendemos encontrar una alternativa para mejorar la homogeneidad espacial de las señales Raman y flexibilizar por diseño las propiedades plasmónicas.

Se sabe que las nanopartículas de Ag, en particular los coloides, son sistemas que presentan una respuesta SERS muy intensa, permitiendo llegar a detectar moléculas únicas.[6] Por otra parte, es también conocido que estos sistemas tienen grandes deficiencias relacionadas con la inhomogeneidad en las señales, tanto espaciales como temporales. Por ello, el contar con una estructura que actúe como soporte para estas nanopartículas imprimiéndole cierto orden puede ayudarnos a mejorar estos problemas, al mismo tiempo que nos permitiría controlar las interacciones entre nanopartículas.

Un sistema capaz de cumplir con los anteriores requisitos es el conformado por matrices de óxidos metálicos con nanoporos ordenados tridimensionalmente que se pueden infiltrar con nanopartículas metálicas.[108] Estos sistemas permiten controlar durante el proceso de fabricación por técnicas Sol-Gel tanto el tamaño, orden, separación y funcionalización de los poros, como su posterior llenado con nanopartículas metálicas, pudiendo en principio cambiar el metal, proporción de llenado, tamaño e interconectividad de las nanopartículas.

## 7.1 Caracterización estructural de las matrices porosas de óxido metálico con nanopartículas de Ag

Para fabricar las matrices de óxidos metálicos con nanoporos ordenados tridimensionalmente, MONO-3D, se utiliza el método conocido como Sol-Gel complementado con autoensamblado inducido por evaporación (EISA).<sup>[108]</sup><sup>1</sup> Este método consiste básicamente en mezclar con proporciones determinadas una solución de H<sub>2</sub>O, etanol, cloruros metálicos, MCl<sub>4</sub>, con M=Zr o Ti y un copolímero anfifílico de tres bloques, (PEO)<sub>n</sub>(PPO)<sub>m</sub>(PEO)<sub>n</sub>, donde PEO<sub>n</sub> y PPO<sub>m</sub> significan poli-óxido etilénico de *n* monómeros y poli-óxido propilénico de *m* monómeros, respectivamente.<sup>2</sup>[109–113] Las concentraciones adecuadas hacen que las fuerzas intermoleculares actúen sobre el carácter hidrofílico/hidrofóbico de los copolímeros formando miscelas. Luego, por un proceso de evaporación controlada y auto-organización se conforma una estructura tridimensional ordenada de miscelas rodeadas por un entorno inorgánico rico en átomos M. Finalmente, se realizan procesos térmicos y de calcinación que eliminan al copolímero y posibilitan la formación del óxido metálico que constituye el esqueleto de la matriz nanoporosa resultante. En la Fig. 7.1 mostramos un esquema que resume el proceso descrito anteriormente y mostramos a la derecha una imagen de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de una matriz nanoporosa de ZrO<sub>2</sub> con poros de entre 10-12nm como las que utilizamos en este trabajo.<sup>3</sup>



**Figura 7.1:** Esquema del proceso Sol-Gel para la fabricación de las matrices de óxidos metálicos con nanoporos ordenados tridimensionalmente, MONO-3D. Primero se mezcla en proporciones determinadas un copolímero anfifílico de tres bloques, (PEO)<sub>n</sub>(PPO)<sub>m</sub>(PEO)<sub>n</sub>, con una solución de H<sub>2</sub>O, etanol y cloruros metálicos, MCl<sub>4</sub>, con M=Zr o Ti.<sup>[108–113]</sup> Las concentraciones adecuadas hacen que las fuerzas intermoleculares actúen sobre el carácter hidrofílico/hidrofóbico de los copolímeros formando miscelas. Luego, por un proceso de evaporación controlada y auto-organización se conforma una estructura tridimensional ordenada de miscelas rodeadas por un entorno inorgánico rico en átomos M. Finalmente, se realizan procesos térmicos y de calcinación que eliminan al copolímero y posibilitan la formación del óxido metálico que constituye el esqueleto de la matriz nanoporosa resultante.

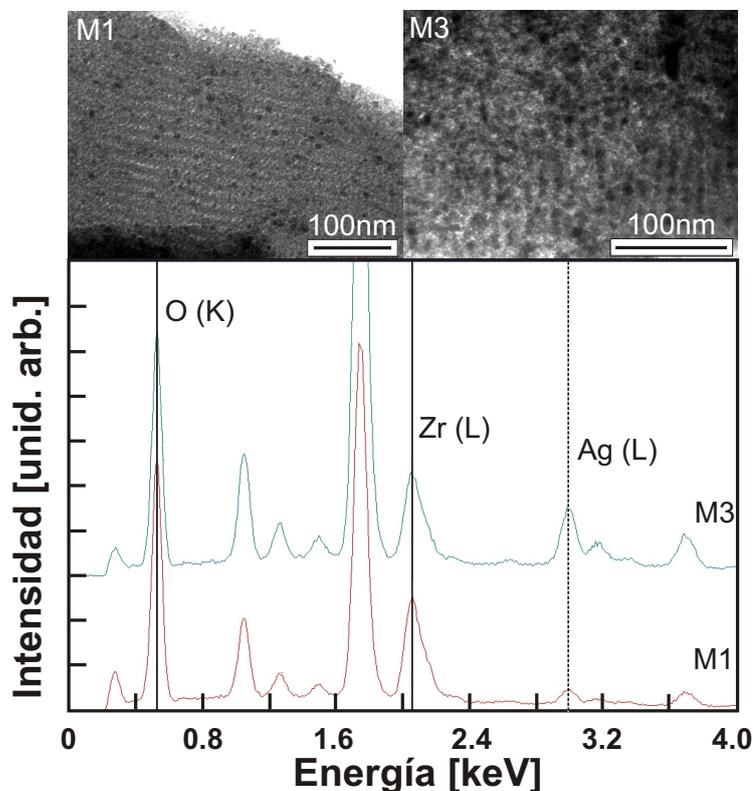
Para infiltrar con plata a las matrices nanoporosas (Ag@MONO-3D) se las sumerge

<sup>1</sup>Las muestras fueron fabricadas por el Dr. A. Wolosiuk del grupo del Dr. G. J. de A. A. Soler Illia, en el CAC - CNEA, Buenos Aires.

<sup>2</sup>En nuestro caso se utilizó el polímero F127 de Pluronic® cuya fórmula es HO(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>106</sub>(CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O)<sub>70</sub>(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>O)<sub>106</sub>OH

<sup>3</sup>Tomada de la Ref. [112]

en una solución de  $\text{AgNO}_3$  y se realiza una reducción por reacción de formaldehído. Este es un proceso rápido pero controlable y que permite obtener nanopartículas de Ag dentro de los poros.[114]



**Figura 7.2:** Paneles superiores: Imágenes de las matrices mesoporosas de  $\text{ZrO}_2$  infiltradas con Ag tomadas por el Dr. H. Troiani en el microscopio electrónico de transmisión (TEM) del CAB - CNEA. La fotografía de la izquierda pertenece a la muestra M1 (menor tiempo de infiltración con Ag) y podemos identificar nanopartículas de Ag aisladas dentro de una red de poros de la matriz de óxido mayormente vacía. La imagen de la derecha fue adquirida para la muestra M3 (mayor tiempo de llenado con Ag) y podemos ver una mayor densidad de poros llenos con nanopartículas metálicas. Incluso podemos apreciar estructuras tipo collares, donde nanopartículas aledañas parecen estar unidas. Abajo: Espectros de dispersión de energía por electrones (EDS) para las mismas muestras M1 y M3. Las líneas llenas verticales indican las señales correspondientes a los niveles K del oxígeno, O(K) y L del zirconio, Zr(L), que provienen de la matriz nanoporosa del óxido metálico y nos sirven para normalizar los espectros. La línea punteada vertical corresponde a la emisión del nivel L de la plata, Ag(L), que es distinto según el llenado de la muestra y cuya intensidad nos permite comparar los porcentajes de infiltración con el metal.

En este capítulo expondremos mediciones realizadas en muestras Ag@MONO-3D cuyas matrices son de  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$  y  $\text{SiO}_2$  con diferentes tiempos de infiltración con Ag. En adelante llamamos M1, M2 y M3 a las Ag@MONO-3D de  $\text{ZrO}_2$  correspondientes al menor, intermedio y mayor tiempo de infiltración con Ag, respectivamente. En el panel superior de

## 136SERS con nanopartículas de Ag ordenadas: buscando señales homogéneas

la Fig. 7.2 presentamos las imágenes TEM tomadas por el Dr. H. Troiani correspondientes a las muestras M1 (izquierda) y M3 (derecha). En la muestra M1 podemos identificar nanopartículas de Ag aisladas, *i.e.* cuyos poros vecinos están vacíos, mientras que para M3 observamos una mayor densidad de nanopartículas de Ag, incluso vemos que aquellas que son vecinas parecen estar formando estructuras tipo collares, evidenciando un alto grado de conectividad. En el panel inferior de la Fig. 7.2 mostramos los espectros de dispersión de energía por electrones (EDS) medidos en las muestras M1 (abajo) y M3 (arriba). Las líneas llenas verticales indican los picos característicos correspondientes a los niveles K del oxígeno, O(K) y L del zirconio, Zr(L), que provienen de la matriz nanoporosa del óxido metálico y nos sirven para normalizar los espectros. La línea punteada vertical corresponde a la emisión del nivel L de la plata, Ag(L), que es distinto según el llenado de la muestra y cuya intensidad nos permite comparar los porcentajes de infiltración con el metal. En la Tab. 7.1 presentamos los porcentajes de llenado de las muestras M1, M2 y M3 relativos al llenado de esta última. Podemos ver que las muestras M1/M2/M3 siguen una relación de infiltración cercanos a  $\sim 0.3/\sim 0.6/1$ .

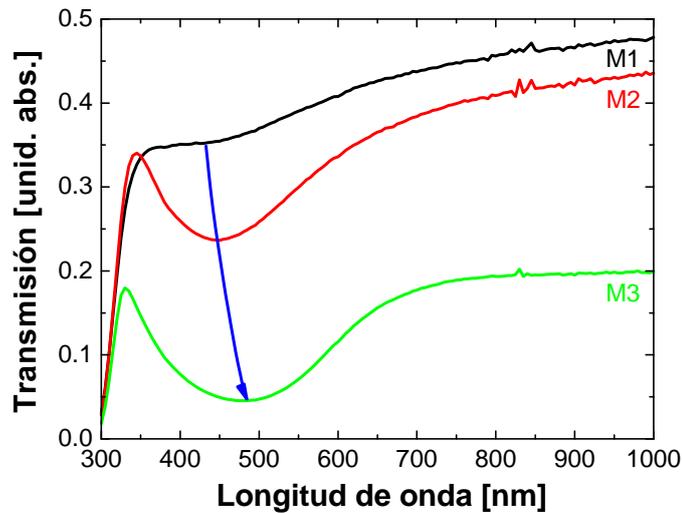
Matrices de ZrO <sub>2</sub>	M1	M2	M3
Llenado con NP de Ag	28%	58%	100%

**Tabla 7.1:** Porcentajes de llenado con nanopartículas de Ag dentro de las matrices mesoporosas de ZrO<sub>2</sub> obtenidos a partir de mediciones EDS como las presentadas en la Fig. 7.2. Los valores corresponden a las muestras M1 (menor tiempo de infiltración), M2 (tiempo intermedio) y M3 (mayor tiempo) y están normalizados respecto al de esta última.

## 7.2 Plasmones y comportamiento SERS

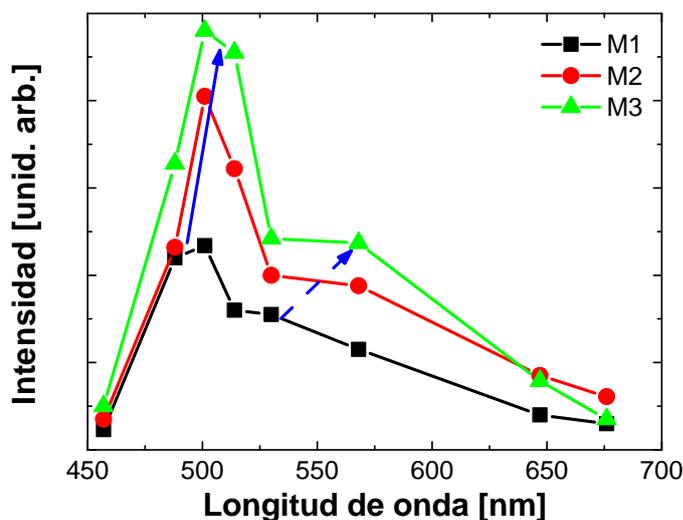
En la Fig. 7.3 presentamos los espectros de transmisión óptica de las muestras M1, M2 y M3. Identificamos un mínimo en la transmisión que cambia en intensidad y posición según la dosis de infiltración con Ag (flecha azul), y que asignamos a los plasmones de las nanopartículas metálicas. Para M1 vemos que el mínimo está poco pronunciado y se encuentra centrado en  $\sim 450nm$ . Al aumentar el llenado con Ag se vuelve intenso y se desplaza hacia mayores longitudes de onda, llegando a ubicarse alrededor de  $\sim 500nm$  en el caso de M3. Creemos que este corrimiento se debe a cambios en las condiciones de resonancia para los plasmones de nanopartículas de Ag que ocurren a medida que el proceso de infiltración con Ag avanza. Esto puede estar ligado al incremento en tamaño de las nanopartículas de Ag, a variaciones en la constante dieléctrica ( $\epsilon_M$ ) que rodea a las nanopartículas, o a ambos efectos (ver Sec. 1.5.2). Notar que este fenómeno es diferente del que se esperaría por la interacción entre nanopartículas, el cual produciría un nuevo pico en la absorción tal como vimos en los experimentos y cálculos DDA del Capítulo 6.

También realizamos estudios de resonancia Raman con el fin de analizar la respuesta



**Figura 7.3:** Espectros de transmisión para las matrices mesoporosas de ZrO<sub>2</sub> para tres tiempos de infiltración con Ag distintos: M1 (menor tiempo, en negro), M2 (tiempo intermedio, en rojo) y M3 (mayor tiempo, en verde). La flecha azul indica la evolución de la absorción característica del plasmón de las nanopartículas de Ag en función del incremento en la interacción entre nanopartículas.

SERS en estos sistemas. En la Fig. 7.4 mostramos los perfiles de resonancia para las muestras M1 (cuadrados negros), M2 (círculos rojos) y M3 (triángulos verdes). Podemos ver que las tres curvas presentan un máximo en la región de  $\sim 500\text{nm}$  que se corre a menores energías con el llenado. Esto está de acuerdo con el comportamiento que tienen las posiciones de los mínimos en las transmisiones que presentamos en la Fig. 7.3. Dentro de la resolución que nos ofrece la discretización de las líneas del láser Ar-Kr, nos resulta evidente que existe un corrimiento en dicho máximo según el llenado con Ag dentro de las distintas muestras (flecha azul de trazo lleno). Así vemos que para M1 el máximo se encuentra para longitudes de onda estrictamente menores que  $500\text{nm}$ ,  $\lambda_{max} < 500\text{nm}$ , mientras que para M3 vemos que  $\lambda_{max} > 500\text{nm}$ , pasando por una situación intermedia para M2. Por otro lado, observamos además una cola de intensidad Raman hacia longitudes de onda mayores. Además, vemos que esta se vuelve más importante cuanto mayor es el llenado con Ag, llegando a parecerse a un hombro en la región de  $550\text{nm}$  para la muestra M3 (flecha azul de trazo rayado). Es decir, en los perfiles de resonancia Raman podemos identificar dos tipos de comportamientos distintos: Por un lado existe un corrimiento del máximo de intensidad que es compatible a lo observado en los experimentos de transmisión y que asignamos a corrimientos en la frecuencia de resonancia de las nanopartículas aisladas de Ag debido a cambios en la constante dieléctrica del medio que las rodea, a un incremento en sus tamaños, o a ambos efectos. Por otra parte, encontramos que la cola de intensidades para bajas energías se hace más importante con el incremento en el llenado de los poros, lo

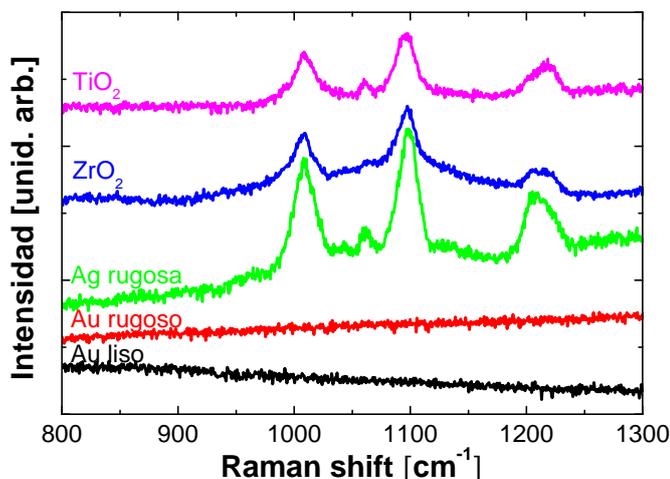


**Figura 7.4:** Perfil de resonancia Raman en función de la excitación láser para las matrices mesoporosas de  $ZrO_2$  infiltradas con Ag y modificadas con 4-mercaptopiridina presentadas anteriormente: M1 (cuadrados negros), M2 (círculos rojos) y M3 (triángulos verdes). Las flechas azules llenas y rayadas indican la evolución de los plasmones independientes y acoplados, respectivamente.

cual es consistente con mayores interacciones entre las nanopartículas metálicas, tal como lo discutimos en el Capítulo 6 a través de resultados experimentales y de cálculos DDA computacionales.[59]

En la Fig. 7.5 presentamos espectros Raman de una molécula sonda, la 4-mercaptopiridina, medidos sobre diferentes substratos: Ag@MONO-3D construidas con óxidos de Ti y Zr, films de Ag rugosada mecánicamente, Au rugosado electroquímicamente y Au liso. A los tres últimos substratos los expusimos con fines comparativos. Las mediciones están realizadas utilizando un láser de  $568.1\text{nm}$ ,  $10\text{mW}$  de potencia,  $30\text{s}$  de adquisición, un spot lineal de focalización de  $7 \times 0.1\text{mm}^2$  y las muestras fueron sumergidas durante  $2\text{h}$  en una solución etanólica  $250\mu\text{M}$  de 4-mercaptopiridina. Notamos que no observamos la señal Raman del tiol cuando utilizamos los substratos de Au, incluso con aquel de Au rugoso equivalente a los utilizados durante los experimentos SERS que presentamos en el Capítulo 5. Por otra parte tanto las matrices de óxidos nanoporosas infiltradas con Ag como el film de Ag rugoso muestran intensidades Raman del mismo orden. Estas comparaciones resaltan el buen desempeño en cuanto a la amplificación SERS que presentan los substratos Ag@MONO-3D construidos tanto con  $ZrO_2$  como  $TiO_2$ .

Finalmente, presentamos en la Fig. 7.6 mapas de intensidad Raman que tomamos para analizar la homogeneidad espacial de la respuesta SERS correspondientes a las muestras: Ag@MONO-3D de  $ZrO_2$  (M3), arriba a la izquierda; Ag@MONO-3D de  $TiO_2$ , arriba

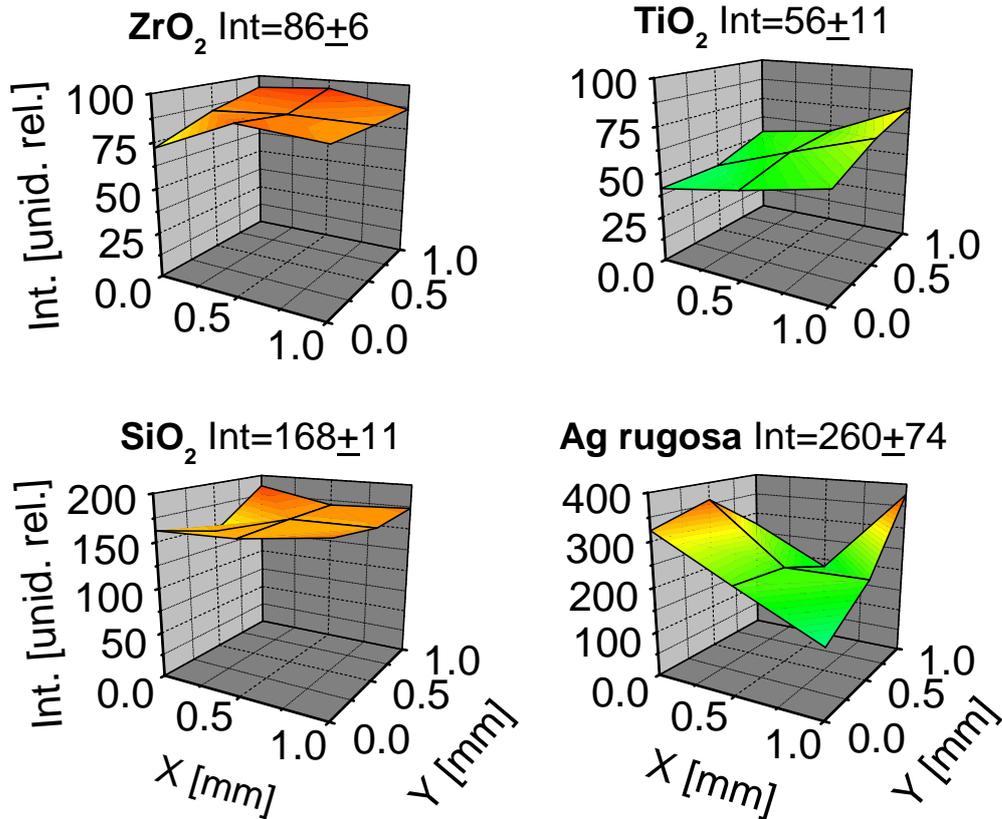


**Figura 7.5:** Espectros Raman medidos en los diferentes sustratos indicados en la figura luego de modificarlos por inmersión durante  $2h$  en una solución etanólica  $250\mu M$  de 4-mercaptopiridina. Realizamos las mediciones utilizando una excitación láser de  $568.1nm$ ,  $10mW$  de potencia,  $30s$  de adquisición y un spot lineal de focalización de  $7 \times 0.1mm^2$ .

a la derecha; Ag@MONO-3D de  $SiO_2$ , abajo a la izquierda; y Ag rugosa, abajo a la derecha. Cada mapa está constituido por nueve mediciones cada  $1mm$  dentro de un área de  $2 \times 2mm^2$  y los presentamos junto con el valor promedio de la intensidad Raman y su desviación estándar. Las mediciones las realizamos utilizando  $10mW$  de potencia del láser de  $514.5nm$  focalizado en un spot circular de  $100\mu m$  de diámetro y con tiempos de adquisición de  $10s$ . Podemos ver que las Ag@MONO-3D dan señales SERS espacialmente homogéneas, principalmente aquellas construidas con  $ZrO_2$  y  $SiO_2$ , cuyas desviaciones estándares no superan el 8%. Además, vemos que la respuesta SERS de este tipo de sustratos es mucho más uniforme que la que encontramos en el film de Ag rugoso, cuya desviación estándar ronda el 30%.

### 7.3 Conclusiones

Estudiamos la respuesta plasmónica y SERS de matrices de óxido metálico con nanoporos ordenados tridimensionalmente infiltradas con nanopartículas de Ag, Ag@MONO-3D. Encontramos que estos sistemas nos brindan cierto grado de control sobre las interacciones entre nanopartículas de Ag, permitiéndonos modificar levemente la posición de las resonancias plasmónica. Observamos que su respuesta en cuanto a amplificación SERS es muy superior al presentado por un film de Au rugoso y comparable con aquel ligado a uno de Ag rugosa. Notamos que las Ag@MONO-3D presentan una homogeneidad espacial para la señal SERS que no habíamos encontrado hasta este capítulo en los demás sistemas



**Figura 7.6:** Mapas de intensidad Raman para diferentes sustratos modificados con 4-mercaptopiridina. La región estudiada es de  $2 \times 2 \text{ mm}^2$  y los diferentes puntos están medidos cada  $1 \text{ mm}$ . Las mediciones se realizaron con  $10 \text{ mW}$  de potencia del láser de  $514.5 \text{ nm}$  focalizado en un spot circular de  $100 \mu\text{m}$  de diámetro y con tiempos de adquisición de  $10 \text{ s}$ . Arriba a la izquierda presentamos el mapa correspondiente a la matriz mesoporosa de  $\text{ZrO}_2$  infiltrada con Ag (M3), arriba a la derecha exponemos los resultados para una matriz mesoporosa de  $\text{TiO}_2$  rellena con Ag, abajo a la izquierda mostramos los datos medidos en una matriz mesoporosa de  $\text{SiO}_2$  infiltrada con Ag, y abajo a la derecha presentamos un último mapa medido en una superficie de Ag rugosa mecánicamente. Sobre cada mapa presentamos el valor de la intensidad Raman promedio, *Int*, con su respectiva desviación estándar.

que estudiamos, demostrando las potencialidades que posee esta estrategia de diseño para nuevos sustratos SERS.

## Capítulo 8

# SERS en nanocavidades metálicas: controlando a los plasmones

En los capítulos precedentes estudiamos tres sustratos SERS: láminas de Au rugosadas, nanopartículas de Au ensambladas y nanopartículas de Ag infiltradas en nanoporos ordenados dentro de matrices óxidas (Ag@MONO-3D). En los tres sistemas vimos que la amplificación rondaba factores entre  $10^3$  y  $10^5$ , pero la reproducibilidad y homogeneidad de las señales siempre fue un problema que sólo algunos sistemas dentro de la familia Ag@MONO-3D pudieron solucionar (matrices de  $ZrO_2$  y  $SiO_2$ ). Además, notamos que la capacidad de sintonizar la posición espectral de los plasmones responsables de la amplificación SERS es muy limitada para estos tres tipos de sustratos. Este último punto es esencial si nos planteamos como objetivo incrementar nuestro límite de detección con especificidad molecular. Esto es, lograr un sustrato que nos permita acoplar nuestra excitación láser tanto con la resonancia plasmónica del mismo como con la resonancia electrónica de la molécula que pretendemos analizar, aprovechando al máximo nuestra capacidad de análisis para cada caso. Además, la posibilidad de hacer ingeniería con plasmones tiene por lo menos dos intereses adicionales: i) generar sustratos con resonancias plasmónicas en la región del IR, donde por lo general los procesos de luminiscencia son más inusuales en moléculas, y ii) sintonizar plasmones para longitudes de onda por encima de  $\lambda = 600nm$  utilizando sustratos de Au, pudiendo lograr sobre una superficie muy estable amplificaciones como las que usualmente se alcanzan con nanoestructuras de Ag.<sup>1</sup>

En este capítulo estudiamos un nuevo sustrato SERS, los arreglos de nanocavidades metálicas ordenadas, desarrollado en 2000 por el grupo del Dr. P. N. Bartlett de la Universidad de Southampton,[115] la misma casa de estudios donde hace 35 años fue reportado por primera vez el efecto SERS por M. Fleischmann.[2] Esta novedosa plataforma SERS permite combinar varios aspectos potencialmente interesantes: 1) utilizar para su fabricación metales típicos en SERS como lo son Au y Ag, 2) obtener geometrías bien definidas y espacialmente ordenadas, creando, en principio, sitios con propiedades plasmónicas equi-

---

<sup>1</sup>Notar en la Fig. 1.3 que la componente imaginaria de la función dieléctrica del Au es mucho grande que la de Ag para  $\lambda < 600nm$  pero se hacen comparables para  $\lambda > 600nm$ .

valentes que están homogéneamente distribuidos sobre el sustrato, 3) nanoestructurar superficies metálicas de manera controlada pero con una gran flexibilidad para cambiar sensiblemente las formas que se alcanzan a través de una amplia variedad de parámetros de control que se utilizan durante la fabricación (metal, tamaño de las nanopartículas molde, período, espesor del sustrato o grado de truncamiento de las cavidades). Este último punto es central a este capítulo porque implica que podemos cambiar por diseño la respuesta plasmónica de los sustratos metálicos, un tema dejado pendiente por las demás plataformas SERS.

En lo que sigue presentamos una descripción del método de fabricación, y la caracterización por microscopía de barrido de electrones (SEM) de las muestras que crecimos. Luego introducimos los aspectos básicos sobre la física de plasmones en estas nanoestructuras que nos posibilitarán entender las discusiones siguientes. Posteriormente nos abocamos a presentar y analizar los resultados experimentales de la caracterización óptica que realizamos para entender los comportamientos plasmónicos y SERS de estos sistemas. Comenzamos mostrando estudios de reflectividad óptica espectroscópica en función i) del diámetro de la cavidad, ii) de su grado de truncamiento o altura de la cavidad y iii) del ángulo de incidencia de la excitación incidente. Estas mediciones nos permiten identificar los diferentes tipos de plasmones y obtener sus dispersiones. Posteriormente se realizaron estudios de microscopía de campo cercano (SNOM) que nos permiten observar la distribución espacial de campo asociada a los diferentes modos plasmónicos. Para terminar con esta caracterización óptica comparamos los resultados que obtuvimos por espectroscopía SERS, donde también variamos diámetro de las cavidades, grado de truncamiento y ángulo de incidencia, con los anteriores obtenidos por reflectividad y SNOM. Finalmente, mostramos diferentes aplicaciones que realizamos con estos sustratos: SERS y electroquímica, micromapas de intensidad, SERS resonante con transiciones electrónicas de moléculas (SERRS), y estudios para incrementar sensibilidad en nanosensores.

## 8.1 Fabricación y caracterización estructural de las nanocavidades

En esta sección describimos brevemente el método de fabricación de las nanocavidades metálicas ordenadas y presentamos una amplia caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM) de la morfología que presentan las muestras que utilizamos más adelante en los estudios referentes a la respuesta óptica de estos sistemas.

### 8.1.1 Depósito controlado de monocapas ordenadas de nanoesferas de látex

El primer paso para fabricar las nanocavidades metálicas consiste en lograr depositar por evaporación controlada de solvente *una monocapa ordenada de esferas de poliestireno (típicamente de entre 300 y 900nm de diámetro) sobre una superficie de Au plana en una región de  $\sim 1\text{cm}^2$* . Como la diferencia de tamaños entre el diámetro de las esferas y el área donde se pretende realizar el depósito ordenado es muy grande (del orden de 4 órdenes

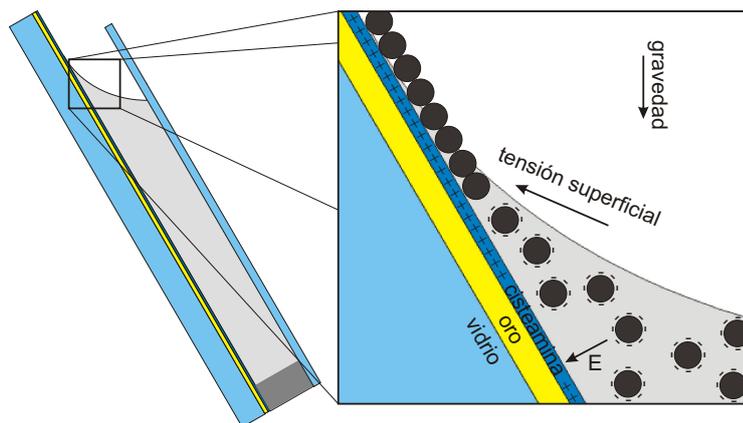
de magnitud) debemos realizar el proceso bajo condiciones controladas de humedad y temperatura para que las fuerzas involucradas sean lo más parecidas posibles a lo largo de *toda* la evolución del proceso. El procedimiento comienza con la modificación de la superficie de oro con una monocapa autoensamblada de cisteamina ( $\text{HSC}_2\text{H}_6\text{NH}_2$ ). El autoensamblado se lleva a cabo espontáneamente cuando el sustrato (un vidrio evaporado con Au) se sumerge en una solución  $10\text{mM}$  de cisteamina en etanol. El H unido al S del tiol pasa a la solución y el tiolato resultante se une fuertemente al Au (energía de unión  $\sim 200\text{-}300\text{kJ/mol}$ ) que es un metal noble sin capa de óxido. La interacción que posibilita que los tioles ensamblados se arreglen cuasi verticalmente formando una capa compacta es la fuerza de Van der Waals existente entre las cadenas carbonadas.[116] Esta es más intensa cuanto mayor cantidad de átomos de carbono tenga la cadena carbonada (el sistema gana  $5\text{kJ/mol}$  por átomo de carbono de la cadena). Por este motivo y sabiendo que la cisteamina tiene solamente 2 átomos de C es de esperar que no se formen capas totalmente ordenadas y compactas dando lugar a diferentes tipos de defectos.[117] La cisteamina es un tiol que está funcionalizada en el otro extremo con un grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) que le confiere a la superficie carga electrostática positiva. Esta sirve para otorgarle a la superficie un carácter polar que mejora el posterior mojado con la solución coloidal y da lugar a una atracción electrostática que sentirán las nanopartículas de látex cargadas negativamente.

Luego de modificar la superficie del sustrato con el tiol fabricamos con este una celda delgada agregando parafilm y un cubreobjetos. En esta celda introducimos unos  $\sim 10\mu\text{l}$  de una solución coloidal de esferas de poliestireno monodispersas de 350, 500, 600, 700, 800 o  $900\text{nm}$  de diámetro 1% en  $\text{H}_2\text{O}$  (Duke Scientific Corporation). Luego colocamos la muestra en posición oblicua dentro de una cámara de cría con temperatura y humedad controlada. El rango de temperatura se encuentra entre 15 y  $50^\circ\text{C}$  y el de humedad entre 20 y 60% dependiendo del tamaño de esfera utilizada. Estos parámetros son críticos para que el crecimiento sea ordenado en una región macroscópica ( $\sim 1\text{cm}^2$ ).<sup>2</sup> En la Fig. 8.1 mostramos un esquema de cómo es el proceso de evaporación controlada e introducimos las fuerzas involucradas.

Las nanopartículas de poliestireno son comerciales y poseen un estabilizante (carga superficial negativa) que les permite estar en suspensión sin agregarse. Sin embargo una vez que están en la celda y dentro de la cámara de cría por varias horas pueden sedimentar por efecto de la gravedad. Por otra parte, una vez que el solvente comienza a evaporarse ocurren dos fenómenos más que debemos compatibilizar entre sí y con el anterior para que el ensamblado de esferas ocurra de la manera en que deseamos. Por un lado, la concentración de esferas aumenta por la evaporación del solvente haciendo que la repulsión entre esferas aumente dado que la separación disminuye hasta el límite en el que colapsan y se agregan. Por otra parte se forma un menisco en la solución donde la fuerza de tensión superficial es tan grande que a medida que avanza (debido a la evaporación) hace que las esferas en las cercanías queden adheridas al sustrato de oro. Como queremos que la estructura

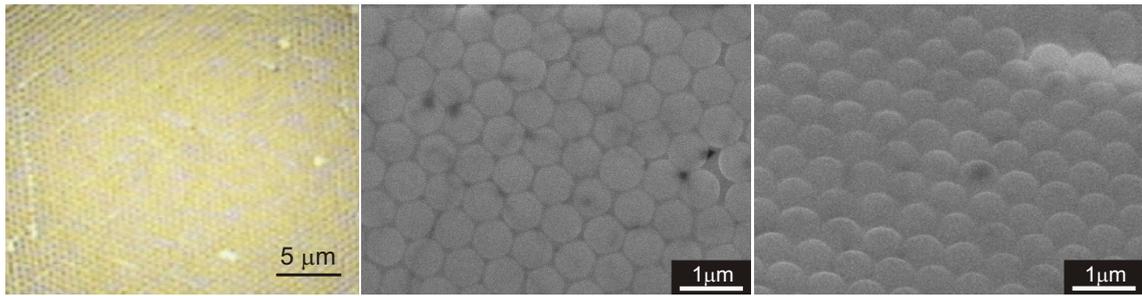
---

<sup>2</sup>Crecimos más de 1000 muestras para encontrar los parámetros adecuados para autoensamblar cada tamaño de esfera de látex dentro del 10% de error.



**Figura 8.1:** Esquema del proceso de ensamblado de esferas de poliestireno de entre 300 y 900nm de diámetro por evaporación controlada del solvente. Las tres fuerzas involucradas durante el depósito de las esferas de látex están presentadas en la figura: *gravidad*, *tensión superficial* y atracción electrostática entre la superficie de Au modificada con cisteamina y las esferas de poliestireno, *E*.

ensamblada sea compacta pero que no supere la monocapa, necesitamos que este avance del menisco evolucione lentamente. La solución de compromiso para que las esferas de poliestireno de diferentes diámetros se ordenen surge entonces encontrando condiciones de temperatura y humedad en las cuales i) el menisco avanza suficientemente lento como para permitir un ordenamiento de nanopartículas dándole tiempo a estas para que encuentren la posición ideal dentro de la estructura compacta, y ii) la evaporación no es tan lenta como para evitar que las nanopartículas sedimenten por gravedad o por simple interacción con el sustrato. De los resultados experimentales observamos que las nanoesferas de mayor tamaño necesitan mayores temperaturas y menores humedades relativas (mayores velocidades de evaporación) mientras que las más pequeñas necesitan menores temperaturas y mayores humedades (menores velocidades de evaporación). Las nanoesferas más grandes necesitan mayor velocidad de evaporación que las más pequeñas por tener una relación área/volumen menor, haciendo por lo tanto que la repulsión electrostática entre esferas sea menos efectiva para contrarrestar los mismos efectos gravitatorios y su consecuente sedimentación. Además, al ser más voluminosas necesitan encontrar menor cantidad de sitios específicos por unidad de área a medida que avanza el menisco para lograr el ensamblado de la estructura compacta. En total oposición las nanopartículas más pequeñas necesitan más tiempo para encontrar su sitio específico de adsorción a medida que el menisco avanza, pero al mismo tiempo pueden disponer de él porque sobreviven coloidalmente por más tiempo debido a la mayor repulsión electrostática por su relación área/volumen más grande. En la Fig. 8.2 mostramos un ensamblado de nanopartículas de latex de 600nm de diámetro observado por microscopía óptica (izquierda) y SEM en vistas frontal (centro) y oblicua (derecha).



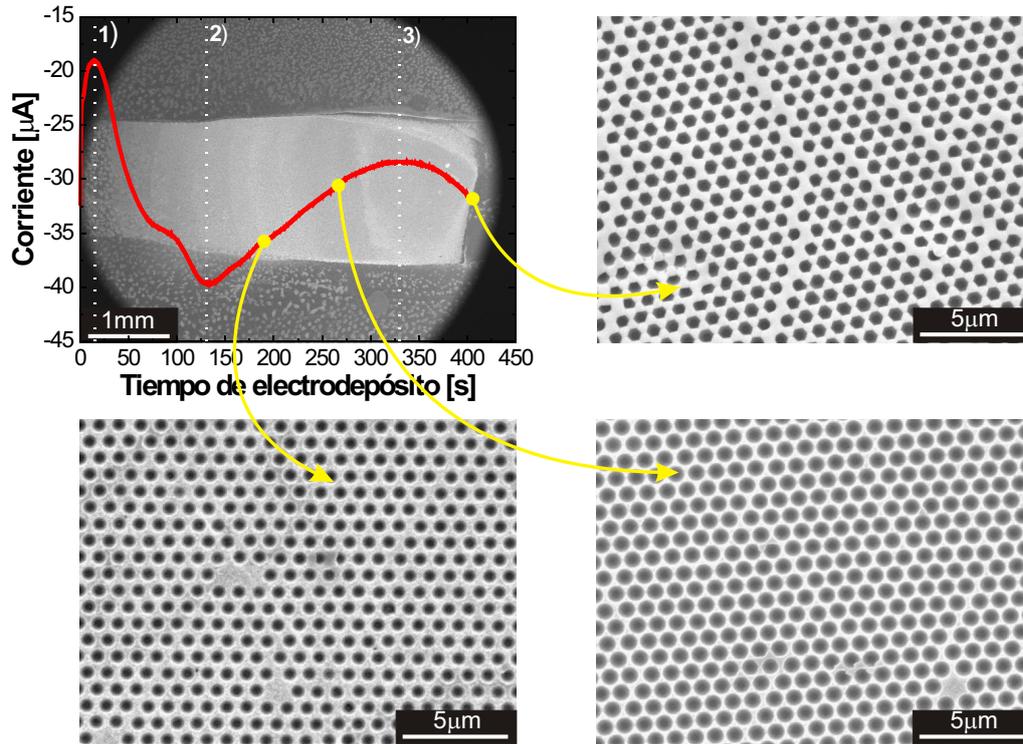
**Figura 8.2:** Imágenes de un ensamblado de esferas de latex de  $600\text{nm}$  de diámetro. Fotografía óptica (izquierda) e imágenes SEM según vistas superior (centro) y a  $45^\circ$  de incidencia (derecha).

### 8.1.2 Electrodeposición metálica

La siguiente etapa de fabricación consiste en el proceso de electrodeposición metálica controlado de Au o Ag llenando los intersticios entre esferas de poliestireno hasta la fracción de diámetro deseada entre 0 y 1, (altura  $h = e/d$ , con  $e$  = espesor del film y  $d$  = diámetro de la esfera de látex). En la Fig. 8.3 presentamos un ejemplo de electrodeposición escalonado (diferentes valores de  $h$  dentro de un mismo sustrato que conseguimos retrayendo al sustrato fuera de la solución a través de unos  $\sim 10$  pasos sucesivos de  $500\mu\text{m}$  cada uno) que realizamos en una muestra con un molde de esferas de látex de  $600\text{nm}$  de diámetro. Arriba a la izquierda mostramos la curva  $I$  vs.  $t$  (corriente vs. tiempo) para este sistema. Podemos identificar diferentes regiones a lo largo del electrodeposito. Desde el inicio del proceso hasta la línea 1) se polariza el electrodo y se forma una doble capa electroquímica. Desde 1) hasta 2) se comienzan a nuclear los sitios del electrodeposito. A partir de 2) el metal depositado adquiere la forma del molde llenando los intersticios que dejan las esferas de látex. La línea 3) indica que se ha alcanzado la mitad del diámetro ( $d/2$ ) de las esferas (mínimo en el valor absoluto de la corriente). A partir de 3) el electrodeposito sigue por encima de  $d/2$ . El fondo que mostramos en este panel corresponde a la imagen SEM<sup>3</sup> de la muestra escalonada (escala  $1\text{mm}$ ) donde se aprecian cambios en el brillo debido a las diferentes alturas de las cavidades ( $h$ ). En los otros tres paneles de la Fig. 8.3 presentamos imágenes SEM con mayor resolución para regiones con diferentes alturas dentro de las cavidades:  $h < d/2$  (abajo a la izquierda),  $h \sim d/2$  (abajo a la derecha) y  $h > d/2$  (arriba a la derecha).

El electrodeposito catódico de metales es una temática realmente muy amplia y no es la intención de este trabajo realizar una revisión sobre el tema, sino mostrar los fenómenos y problemas involucrados como marco para comprender la experiencia propia recogida durante la fabricación de las muestras. Hay dos tipos distinguibles dentro de los procesos de electrodeposito metálico catódico: el que deposita sobre un sustrato metálico al mismo metal y otro en la cual se deposita un metal diferente. En el segundo caso un número

<sup>3</sup>Las imágenes SEM las tomamos en el microscopio del Laboratorio de Bajas Temperaturas del CAB - CNEA.



**Figura 8.3:** Arriba a la izquierda: Curva electroquímica para el electrodeposito de Au en un autoensamblado de látex de  $600\text{nm}$ . Las líneas punteadas identifican regiones características del electrodeposito. Ver texto para más detalles. El fondo que mostramos en este panel es una imagen SEM tomada en una muestra escalonada donde se aprecian cambios en el brillo debido a las diferentes alturas de las cavidades ( $h$ ). Los otros tres paneles son imágenes SEM tomadas en la misma muestra con mayor resolución para diferentes alturas de las cavidades:  $h < d/2$  (abajo a la izquierda),  $h \sim d/2$  (abajo a la derecha) y  $h > d/2$  (arriba a la derecha).

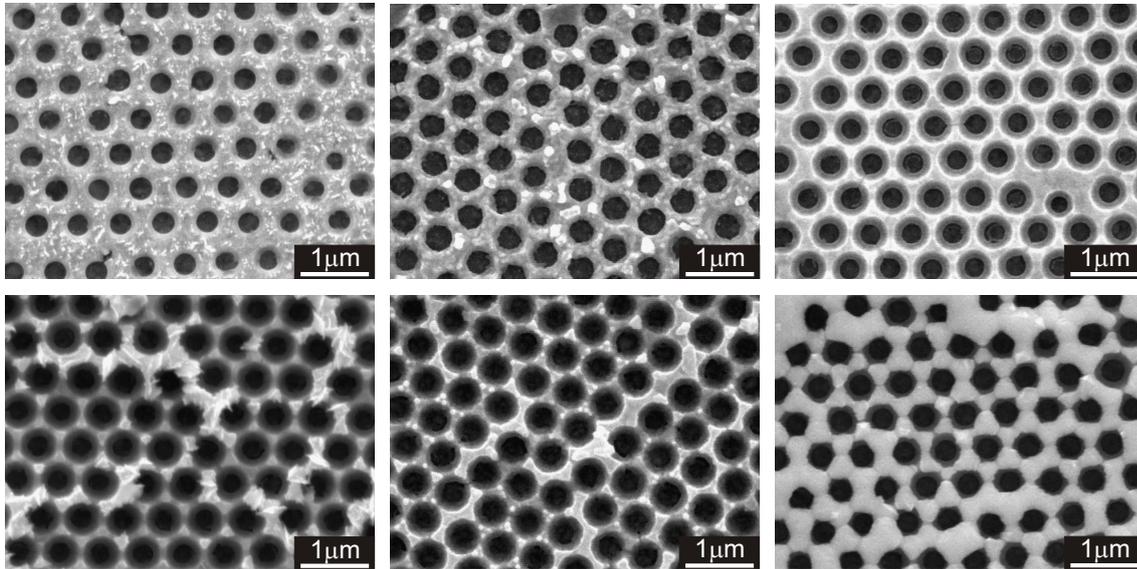
de diferentes procesos especiales pueden aparecer, como lo son: i) depósito por debajo del potencial (UPD), ii) incorporación de metal y iii) epitaxia.[118] En el caso de las nanocavidades metálicas ordenadas depositamos tanto Au como Ag sobre Au, es decir exploramos los dos casos posibles para procesos de electrodeposito metálico.

Dentro del área de electroplateado generalmente se trata de controlar propiedades como la dureza mecánica, porosidad del depósito, stress del metal depositado, propiedades ópticas, etc. La estructura de los depósitos metálicos está determinada principalmente por el tamaño, forma, tipo de arreglo y orientación mutua entre cristales y puede estar influenciada por un gran número de factores como la composición de la solución, las impurezas presentes, la densidad de corriente, pretratamiento de superficie, etc. Dos factores extras pueden modificar la orientación y alineación espacial de los microcristales durante el electrodeposito: la dirección del campo y la naturaleza del sustrato. Se dice que el depósito tiene textura si los cristales siguen una orientación preferencial y que creció epi-

taxialmente si sigue los parámetros de red del sustrato. Se puede formular una regla muy general para procesos de electrodeposición: depósitos con tamaños de granos grandes se obtienen utilizando soluciones poco polarizables basadas en sales simples de metales; por otra parte, depósitos compactos con tamaños de granos pequeños se obtienen utilizando soluciones metálicas altamente polarizables. Una manera de incrementar la polarizabilidad de la solución de metales es agregar agentes complejantes o surfactantes. Este fenómeno se explica fácilmente. Si la formación de la primera nucleación es demorada, entonces la polarización en el electrodo aumentará y con ella la energía almacenada, permitiendo que la nucleación comience luego simultáneamente en muchos más centros. De esta manera los cristales no tendrán espacio para crecer mucho y se logrará un electrodeposito compacto y con tamaño de grano pequeño. Altas densidades de corrientes también favorecerán los depósitos compactos, pero en el límite de densidades de corrientes limitadas por corrientes de difusión ocurre lo opuesto porque la falta de iones metálicos hace que se deposite sólo en algunas zonas determinadas no lográndose un cubrimiento total del área deseada. Los surfactantes cumplen efectos diversos en los electrodepositos. Pueden aumentar la polarizabilidad para que el depósito sea más compacto, para que ocurra en caras cristalinas de crecimiento más lento y favorecer crecimiento direccional o dendrítico, o contribuir a mejorar el perfil de rugosidad eliminando rugosidades macroscópicas (*brighteners*). Como consecuencia de lo expuesto anteriormente para obtener películas metálicas de gran calidad se deben usar las soluciones electrolíticas con composiciones complejas. Como regla general, estas soluciones contienen los siguientes componentes: i) la sal del metal que se quiere depositar, ii) un agente complejante, iii) un electrolito base para incrementar la conductividad, iv) un buffer que mantenga los valores óptimos de pH, v) aditivos para reducir la pasivación anódica y vi) surfactantes, entre otros.[118]

En nuestro caso particular utilizamos soluciones de plateado de Au y Ag comerciales (TG-25 RTU (Au) y SILVER CYLESS RTU (Ag), ambas de Technic Inc.), por lo que desconocemos en detalle la composición pero sabemos que es suficientemente compleja como para poseer todos los condimentos mencionados en el párrafo anterior. Por otra parte, durante nuestro desempeño en este área hemos experimentado muchos de los aspectos descritos anteriormente. Para los depósitos de oro utilizamos una celda electroquímica estándar de tres electrodos: el sustrato como electrodo de trabajo, un electrodo de referencia de Ag/AgCl y una lámina de Pt como contraelectrodo. Los cuidados que fuimos recolectando a lo largo de los diferentes intentos tiene que ver con: i) la utilización de una lámina de Pt como contraelectrodo y no una redcilla de Pt, ii) una disposición geométrica enfrentada entre electrodo de trabajo y contraelectrodo, iii) ambos con áreas casi iguales y iv) utilización de un potencial bien determinado para el depósito. Los tres primeros puntos tienen que ver con lograr depósitos parejos sobre toda el área deseada debido a distribuciones de campo bien homogéneas, mientras que el último punto está relacionado con la estructura del depósito. Si el potencial aplicado no es suficientemente grande el proceso es muy lento y los granos crecen mucho predominando la estructura cristalina del Au sobre la forma del patrón de latex (Fig. 8.4 izquierda). Por otra parte si el potencial

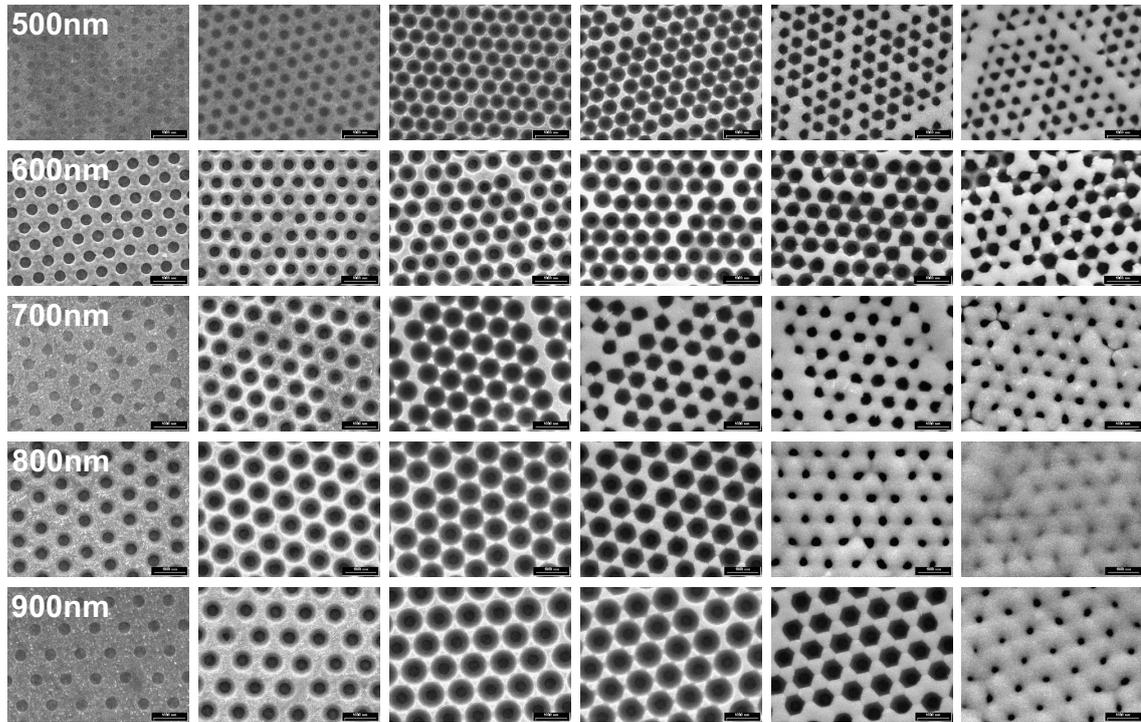
aplicado es extremadamente grande el depósito parece estar controlado por corrientes de difusión porque se depositan algunas zonas en detrimento de otras vecinas (Fig. 8.4 centro). Finalmente en las condiciones óptimas se pueden lograr muestras homogéneas (Fig. 8.4 derecha).



**Figura 8.4:** Imágenes SEM tomadas para tres pares de muestras según la velocidad de electrodeposición. Los pares de imágenes superior e inferior corresponden a una misma condición de electrodeposición pero que alcanzaron diferentes alturas ( $h$ ): arriba  $h < d/2$ , abajo  $h > d/2$ . Para una tasa de electrodeposición baja (izquierda) observamos que el metal crece siguiendo preferentemente los planos cristalinos del metal haciendo que para  $h > d/2$  el electrodeposición no copie al molde. Para una velocidad de electrodeposición alta (centro) vemos que para  $h > d/2$  el electrodeposición tampoco copia al molde porque las diferencias en altura dentro del electrodeposición hacen que las zonas más altas sigan creciendo en detrimento de las más bajas por problemas de difusión de los iones metálicos. A la derecha mostramos dos imágenes obtenidas para una velocidad intermedia, óptima para el electrodeposición, y podemos ver que el metal depositado copia mejor la forma del molde de látex.

Por lo expuesto decimos que podemos obtener una importante flexibilidad para crecer diferente tipo de muestras controlando el metal del electrodeposición (Au o Ag), escogiendo diámetros distintos para el molde a través de las nanoesferas de látex, y realizando electrodeposiciones escalonados sobre un mismo sustrato. Esto, como mencionamos anteriormente, lo logramos al retirar a la muestra del baño electroquímico en pasos de  $500\mu\text{m}$  durante la evolución del electrodeposición. En la Fig. 8.5 presentamos imágenes SEM de cinco muestras crecidas con esferas de látex de distintos diámetros, 500, 600, 700, 800 y  $900\text{nm}$  (de arriba hacia abajo), en función de la altura de las cavidades de Au, cuyos valores están en el rango  $\sim 0.1 < h < \sim 0.9$  (de izquierda a derecha). De la figura podemos observar que los defectos en los electrodeposiciones son más evidentes para condiciones donde  $\sim 0.5 < h$  (mitad derecha), seguramente debido a problemas causados por un crecimiento

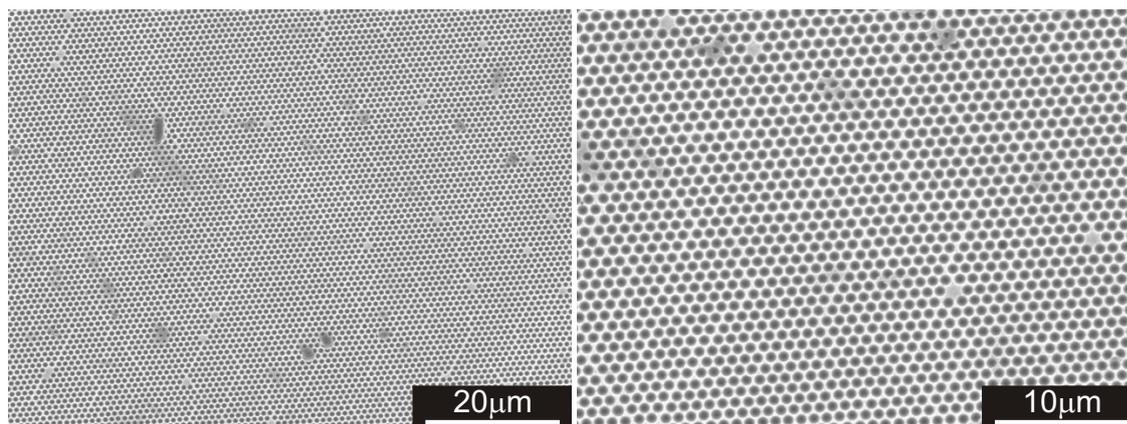
poco parejo de las puntas de las estructuras tipo corona que se forman alrededor de cada nanoesfera de latex para  $\sim 0.4 < h < \sim 0.6$ . Por otra parte, observamos que a medida que el diámetro de las nanocavidades aumenta (hacia abajo), obtenemos estructuras más parejas debido también a un mejor ordenamiento en el molde dado por las nanoesferas de látex.



**Figura 8.5:** Imágenes SEM tomadas en cinco muestras de nanocavidades metálicas escalonadas con diámetros correspondientes a moldes entre 500 y 900nm (indicados en la primer imagen de cada fila). La altura de las cavidades va en aumento de izquierda a derecha dentro de cada fila, comenzando con alturas  $h \sim 0.1$  y finalizando con  $h \sim 0.9$  veces el diámetro del molde.

Mostramos en la Fig. 8.6 dos imágenes SEM tomadas para una muestra de nanocavidades de Au de 900nm de diámetro donde podemos observar la homogeneidad espacial en dos escalas diferentes, notando que se alcanzan excelentes ordenamientos dentro de regiones de  $\sim 100 \times 100 \mu m^2$ . En estas muestras en particular observamos que los defectos son principalmente unas  $\sim 5$  vacancias y otras  $\sim 5$  esferas con tamaños muy diferentes por cada  $\sim 2500 \mu m^2$ . Notamos que en ensamblados de nanoesferas con diámetros  $d \leq 700nm$  también aparecen filas desplazadas e incluso para las más pequeñas,  $d \leq 500nm$ , observamos la formación de dominios con orientaciones rotadas entre si.

Para el electrodeposición de Ag, además de las consideraciones recogidas durante la experiencia del Au, tuvimos que agregar al electrodo de referencia una vaina que evitara el transpaso de iones  $Cl^-$  a la solución de Ag porque de lo contrario los electrodepositos no se llevaban a cabo porque los iones  $Cl^-$  oxidaban a los iones  $Ag^+$  de la solución modificando



**Figura 8.6:** Imágenes SEM tomadas en una muestra de nanocavidades de Au de  $900\text{nm}$  de diámetro. Las fotografías corresponden a diferentes aumentos que muestran la homogeneidad espacial dentro de regiones de  $\sim 100 \times 100\mu\text{m}^2$ .

las condiciones del experimento.

Finalmente, hacemos notar que en ambos casos realizamos los electrodepósitos en un sistema Au/cisteamina/esferas de poliestireno, por lo que creemos que la nucleación tanto del Au como de la Ag se realiza en los defectos que tiene el ensamblado de cisteamina por ser un tiol corto, tal como comentamos anteriormente. De lo contrario la monocapa de tiol actuaría como aislante y no permitiría que el proceso se lleve a cabo.

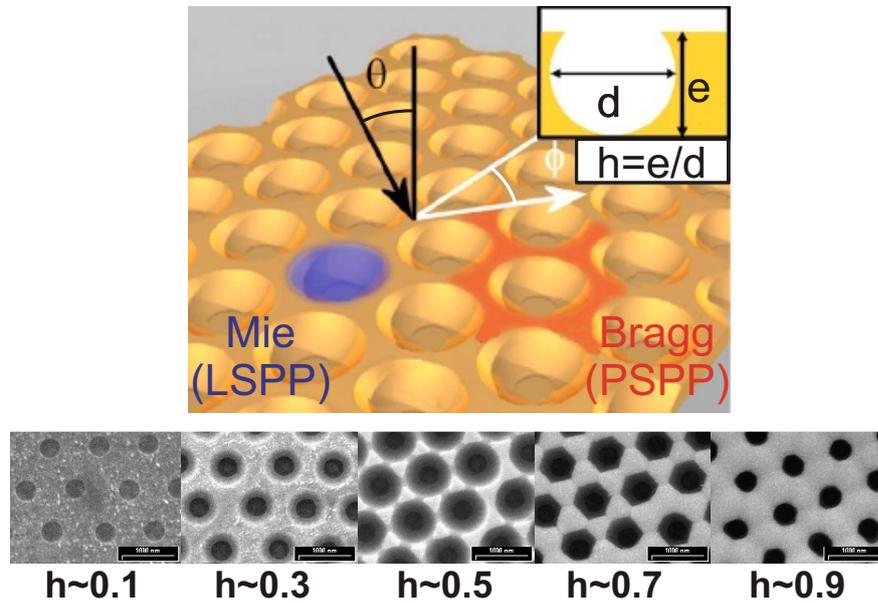
### 8.1.3 Limpieza de las cavidades metálicas

El método de fabricación de las cavidades metálicas ordenadas finaliza con una remoción de las esferas de poliestireno. Primero se ponen en contacto con un solvente orgánico muy polar, la dimetil formamida (DMF), que disuelve por completo al poliestireno. Luego, se realiza una limpieza electroquímica que depende del metal electrodepositado. Para el Au se realizan 200 ciclos electroquímicos de óxido-reducción en una solución  $0.5\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  entre  $0.2$  y  $2.6\text{V}$  vs. Ag/AgCl a  $1\text{V/s}$ . Este mecanismo hace que las sustancias que puedan estar adheridas al metal migren a la solución dejando la superficie limpia ya sea porque el potencial aplicado es suficiente como para vencer la energía de ligadura entre el adsorbato y el metal o porque una pequeñísima capa superficial de Au se disuelve y con ella los adsorbatos. Para la Ag la limpieza electroquímica es menos efectiva porque no se puede oxidar y reducir fácilmente sin dañar al depósito. Entonces, lo que se lleva a cabo es la reducción de hidrógeno en el electrodo de trabajo, proceso que colabora con la limpieza del metal.

## 8.2 Introducción a la física de plasmones en nanocavidades

En esta sección describiremos los plasmones presentes en nanocavidades metálicas ordenadas y las propiedades básicas con las que debemos familiarizarnos para poder discutir

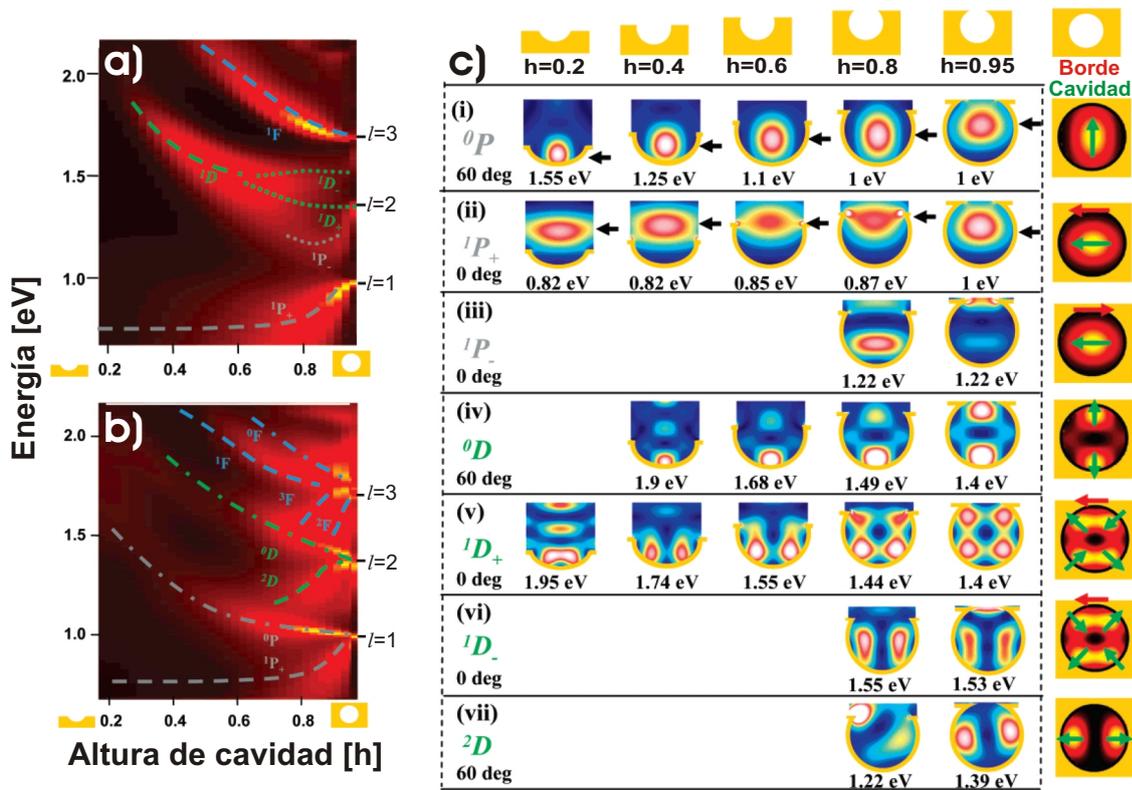
en profundidad los resultados experimentales que presentaremos a continuación.



**Figura 8.7:** Arriba: Esquema que muestra un arreglo de nanocavidades metálicas junto con una representación para los polaritones plasmónicos de superficie propagante (Bragg PSPP) y localizado (Mie LSPP) (Tomado de la Ref. [23]). Mostramos además la definición de los ángulos polar ( $\theta$ ) y azimutal ( $\phi$ ). En el inset indicamos la definición de altura de cavidad,  $h = e/d$ , donde  $e$  es el espesor del film y  $d$  es el diámetro de la nanocavidad. Abajo: Imágenes SEM medidas en una muestra de cavidades de Au escalonadas de diámetro  $d = 900\text{nm}$  para cinco valores de tuncamiento,  $\sim 0.1 < h < \sim 0.9$ , que presentan las morfologías características de cada etapa siempre arregladas hexagonalmente: estructuras tipo platos ( $h \sim 0.1$ ), pequeñas cavidades ( $h \sim 0.3$ ), estructuras tipo coronas ( $h \sim 0.5$ ), coronas que se cerraron ( $h \sim 0.7$ ) y cavidades casi completamente cerradas ( $h \sim 0.9$ ).

En la parte superior de la Fig. 8.7 presentamos un esquema donde podemos observar un típico arreglo de nanocavidades metálicas e indicamos los dos plasmones característicos de estas estructuras. Indicamos con azul dentro de una cavidad la región donde “vive” el polaritón plasmónico de superficie localizado, en adelante *plasmón tipo Mie*. Con rojo y sobre la superficie plana entre las cavidades de la nanoestructura indicamos al polaritón plasmónico de superficie propagante, en adelante *plasmón tipo Bragg*. Las letras griegas  $\theta$  y  $\phi$  indican respectivamente los ángulos de incidencia polar y azimutal. En el *inset* indicamos las letras que denotan al diámetro,  $d$ , espesor,  $e$ , y altura de la cavidad,  $h = e/d$ . Resaltamos que los plasmones de Mie y de Bragg tienen propiedades diferentes que describimos más adelante y además aparecen para rangos de  $h$  determinados, que no necesariamente permiten la coexistencia de ambos. Así, cuando  $h < \sim 0.2$ , la nanoestructura tipo arreglo de platos (ver  $h \sim 0.1$  en la Fig. 8.7), actúa como un potencial de *scattering* para los plasmones superficiales permitiendo que la luz se pueda acoplar con modos propagantes tipo Bragg, al mismo tiempo que las cavidades no están suficientemente definidas para

dar origen a los modos localizados tipo Mie. Por otra parte, cuando  $\sim 0.2 < h < \sim 0.4$  ambos modos pueden coexistir porque las cavidades crecieron lo suficiente como para que los modos de Mie aparezcan y al mismo tiempo hay una región plana por donde los modos de Bragg se pueden propagar (ver  $h \sim 0.3$  en la Fig. 8.7). Cuando  $\sim 0.4 < h < \sim 0.6$  las zonas planas de la cara exterior de la nanoestructura se separan formando islas pseudo-trianguulares con tamaños inferiores a los de la longitud de onda de la luz y ordenadas en una red hexagonal (ver  $h \sim 0.5$  en la Fig. 8.7), haciendo que no puedan existir plasmones propagantes tipo Bragg. Cuando  $\sim 0.6 < h$  y las regiones planas triangulares vuelven a unirse, los plasmones tipo Bragg reaparecen y coexisten nuevamente con aquellos localizados tipo Mie (ver  $h \sim 0.7$  y  $h \sim 0.9$  en la Fig. 8.7).

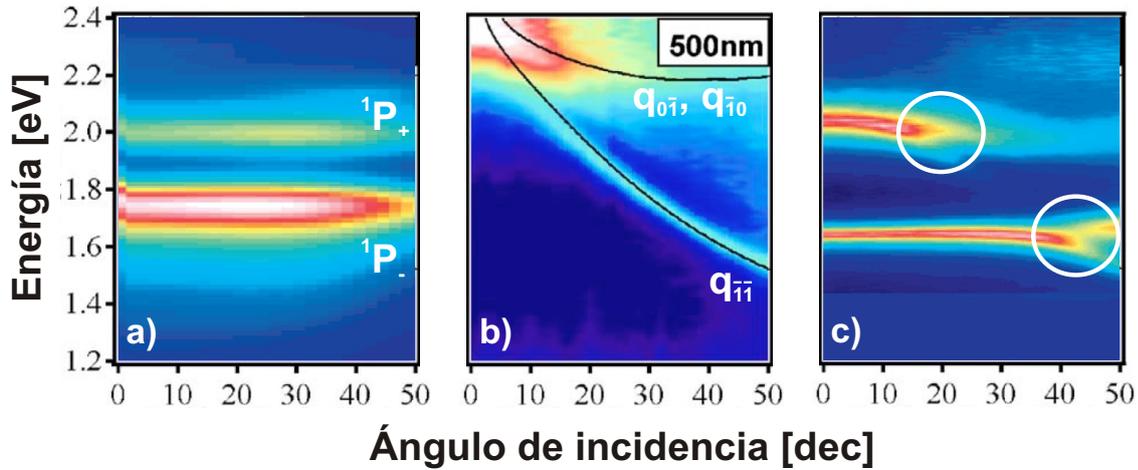


**Figura 8.8:** Paneles a y b: Cálculos de absorción ( $\theta = 0$  y  $60^\circ$ , respectivamente) realizados por R. M. Cole *et al.*[119] para un arreglo de cavidades de Au de diámetro  $d = 1000\text{nm}$  en función de la altura de la cavidad,  $h$ , considerando únicamente la contribución de los plasmones tipo Mie. Las absorciones están indicadas con rojos y las líneas punteadas son guías al ojo correspondientes a los diferentes modos plasmónicos. En el panel c mostramos cálculos realizados por los mismos autores para el campo electromagnético que presentan los diferentes plasmones de Mie según su momento y proyección angular y el grado de truncamiento de las cavidades ( $h$ ). Las flechas rojas y verdes indican la orientación de los modos correspondientes a las contribuciones provenientes del borde de la cavidad y la cavidad propiamente dicha, respectivamente.

Introducimos a los plasmones tipo Mie en la Sec. 1.5.3 a partir de estructuras

tipo antinanoestructuras. Hasta aquí vimos que en realidad podemos truncar estas antinanoestructuras en cavidades con valores para  $h < 1$  y todavía seguir hablando de los mismos plasmones tipo Mie. Esta modificación de la nanoestructura hace que los modos de Mie estén algo cambiados en su distribución de campo. Esta nueva condición de contorno que aparece, el truncamiento, podemos entenderla como una especie de potencial que actúa sobre las excitaciones plasmónicas. A mayor grado de truncamiento, mayor la deformación que sufre la estructura metálica ideal (cavidad completa) que da origen a los modos de Mie y por lo tanto es mayor la deformación que sufren las distribuciones de campo de estos modos. Esto hace que los valores de energía para los plasmones de Mie aumenten en general, pero como también se rompen las degeneraciones de modos con igual momento angular  $l$  pero distinta proyección  $m$ , apareciendo energías asociadas a los desdoblamientos, puede ocurrir que algunos modos tengan menor energía para truncamientos mayores ( $h$  más chicos). En la Fig. 8.8 presentamos cálculos teóricos para la reflectividad óptica (energías entre 0.7 y 2.2eV) realizados por R. M. Cole *et al.*[119] para un arreglo de nanocavidades de Au con  $d = 1000nm$  y  $0.2 < h < 1$ , teniendo en cuenta únicamente la contribución de los plasmones tipo Mie. En los paneles a) y b) podemos observar la dispersión que tienen las energías de los diferentes modos de Mie, nombrados de la misma manera que los orbitales moleculares según su momento angular ( $l$ ) y proyección en  $\hat{z}$  ( $m$ ), para ángulos de incidencia  $\theta = 0$  y  $\theta = 60^\circ$ , respectivamente. Como es de esperar los modos que aparecen en ambos paneles tienen la misma energía para  $h = 1$  según su valor para  $l$ . Cuando el truncamiento aumenta se observa que: i) la mayoría de los modos se corren al azul en energía, ii) se desdoblan según las proyecciones del momento angular ( $m$ ) pudiendo algunos modos disminuir en energía para mayor truncamiento, iii) las diferentes proyecciones de momento angular aparecen dependiendo del acoplamiento de ese plasmón con la condición de incidencia, y iv) aparece una nueva excitación dipolar proveniente del anillo que genera el borde de la cavidad, (*rim*), y que se acopla a los modos “puros” de la cavidad, (*void*), dando lugar a un nuevo desdoblamiento. En el panel c) de la Fig. 8.8 presentamos cálculos para la distribución espacial de campo correspondiente a cada uno de estos modos junto con esquemas que indican la orientación de los modos (derecha), incluso discriminado entre las contribuciones del *void* (flechas verdes) y aquella del *rim* (flechas rojas). Un modo que refleja todos los puntos importantes que notamos anteriormente es el correspondiente a  $l = 2$ , el  $D$ . Vemos que para  $\theta = 0^\circ$  sólo se excita el modo  $^1D$ , con distribución de carga en la dirección del ecuador de la cavidad por lo que se puede acoplar con el campo de la luz. Este modo además se desdobla debido a su interacción con el *rim* en los modos  $^1D_-$  (de carácter *antibonding*) y  $^1D_+$  (de carácter *bonding*). Por otra parte, cuando  $\theta = 60^\circ$  las proyecciones angulares que se excitan son aquellas con  $m = 0$  y  $m = 2$ ,  $^0D$  y  $^2D$ , cuyas oscilaciones en el campo tienen una contribución vertical. Notamos que estos modos de Mie no sufren corrimientos de energía (dispersión) en función del ángulo de incidencia, pero la excitación de las diferentes proyecciones angulares sí es dependiente del ángulo y polarización de la luz incidente.

Una de las características que diferencia a los plasmones tipo Mie de aquellos tipo Bragg



**Figura 8.9:** Cálculos de reflectividades para estudiar la relación de dispersión de plasmones en un arreglo de nanocavidades de Au de  $500\text{nm}$  de diámetro en función del ángulo de incidencia de la luz, ( $\theta$ ), para: (a)  $h = 0.99$  sólo calculando la contribución de plasmones de Mie (realizado por R. M. Cole *et al.*[119]), y (b)  $h = 0.1$  calculando únicamente la contribución de plasmones de Bragg (realizado por T. A. Kelf *et al.*[23]). En c) mostramos la medición experimental de la absorción óptica para una muestra de nanocavidades de Au de  $500\text{nm}$  de diámetro y  $h = 0.99$  donde se puede observar la aparición de los dos tipos de plasmones, Mie y Bragg, y el anticruce debido a la interacción entre ellos.[119]

es su respuesta en función del ángulo de incidencia de la excitación, o más precisamente, la relación de dispersión para las energías de los plasmones en función de la componente paralela a la superficie del vector de onda de la luz incidente,  $k_{\parallel}$ . En la Fig. 8.9 presentamos cálculos teóricos realizados por R. M. Cole *et al.*[119] y T. A. Kelf *et al.*[23] donde podemos observar en el panel a) la relación de dispersión independiente con el ángulo de incidencia que presentan los plasmones tipo Mie para una cavidad de Au con  $d = 500\text{nm}$  y  $h = 0.99$ .<sup>4</sup> Esto se debe a la localización de estos modos y a la simetría cuasi-esférica de la cavidad. Por otra parte, la presencia de la superficie metal/aire y el truncamiento hacen que se rompa esta simetría y con ella la degeneración de las diferentes proyecciones angulares de los plasmones. Esto hace que éstos aparezcan preferentemente para algunas regiones angulares en las cuales se puedan acoplar convenientemente con las componentes paralela o perpendicular de la polarización del campo electromagnético incidente según corresponda. Así, por ejemplo, los plasmones  $^1P_+$  y  $^1P_-$  aparecen sólo para  $\theta < \sim 50^\circ$ . En el panel b) vemos cómo los plasmones tipo Bragg correspondientes a una cavidad de Au con  $d = 500\text{nm}$  y  $h = 0.1$  presentan una fuerte dispersión en función del ángulo de incidencia.<sup>5</sup> Este comportamiento es análogo al que presentan los electrones en un sólido cristalino con estructura hexagonal. Hacemos notar que los modos de Bragg, en principio en una imagen independiente de los modos confinados tipo Mie, no tienen por qué presentar una

<sup>4</sup>Sólo presentan la contribución de los plasmones de Mie.

<sup>5</sup>Sólo presentan la contribución de los plasmones de Bragg.

variación significativa con  $h$ , como sí vimos que lo hacen los modos de Mie, ya que el efecto principal de la nueva periodicidad dada por la estructura de cavidades es el replegamiento de las bandas fotónicas. El hecho de cambiar  $h$  juega el rol del potencial de perturbación y por consiguiente actúa principalmente en los *gaps* que se abren en el centro y borde de zona. Por último, en el panel c) se presentan mediciones experimentales realizadas por el grupo de P. N. Bartlett[119] para la reflectividad óptica de una muestra conformadas por cavidades de Au con  $d = 500nm$  y  $h = 0.99$ . Se puede observar la contribución de los dos tipos de plasmones, Bragg y Mie, y además, la presencia de los anticruces señalados con círculos blancos evidencia la interacción existente entre ambos.

## 8.3 Estudio de la respuesta óptica de plasmones de nanocavidades y su relación con SERS

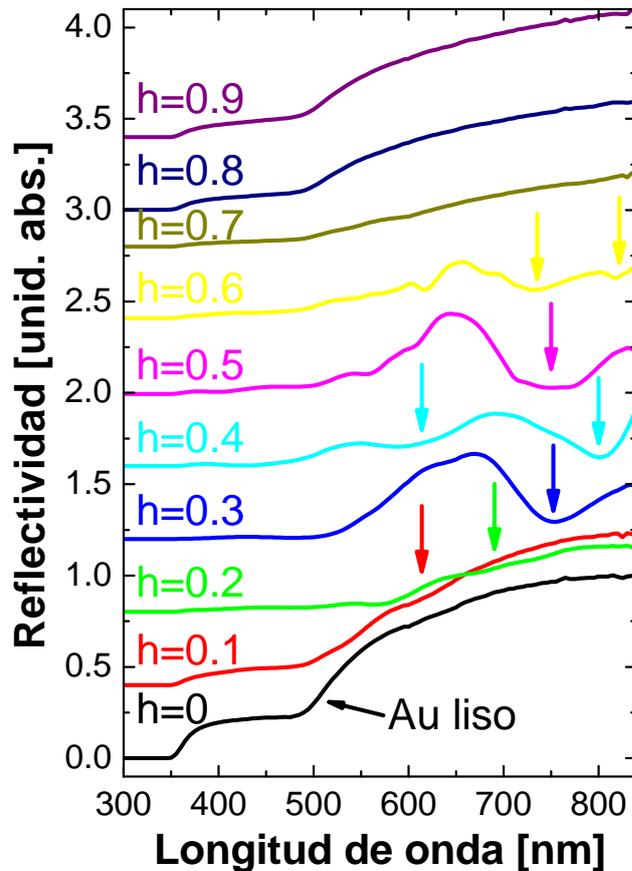
En esta sección presentamos los estudios que realizamos sobre un conjunto de cuatro muestras de Au escalonadas (o *graded*) con  $\sim 0 < h < \sim 1$  y diámetros en las cavidades de 500, 600, 700 y 800nm, en adelante: *Au500g*, *Au600g*, *Au700g* y *Au800g*, respectivamente. Comenzamos con el análisis de la respuesta óptica de plasmones en nanocavidades mostrando las reflectividades de estos sistemas en función de  $h$ . Aquí identificamos los diferentes plasmones presentes en cada muestra y correlacionamos corrimientos en los mismos con cambios en el diámetro de la cavidad,  $d$ . Para *Au500g* realizamos además un estudio de reflectividad en función del ángulo de incidencia, para analizar tanto la dispersión angular como la excitación selectiva de los diferentes modos plasmónicos. Luego presentamos estudios realizados con microscopía SNOM que nos posibilitan observar en forma directa la distribución espacial de campo perteneciente a los diferentes plasmones.<sup>6</sup> Posteriormente investigamos la relación que guardan los plasmones de estas nanocavidades con la respuesta SERS. Para ello comparamos las reflectividades ópticas con mapas de la intensidad SERS que se alcanza en función de la excitación láser y de  $h$  para cada muestra. Finalmente analizamos también la relación entre reflectividad óptica e intensidad SERS para *Au500g* en función de la longitud de onda de excitación,  $\lambda$ , la altura de la cavidad,  $h$ , y el ángulo de incidencia,  $\theta$ .

### 8.3.1 Reflectividad 1: Plasmones vs. diámetro de la nanocavidad

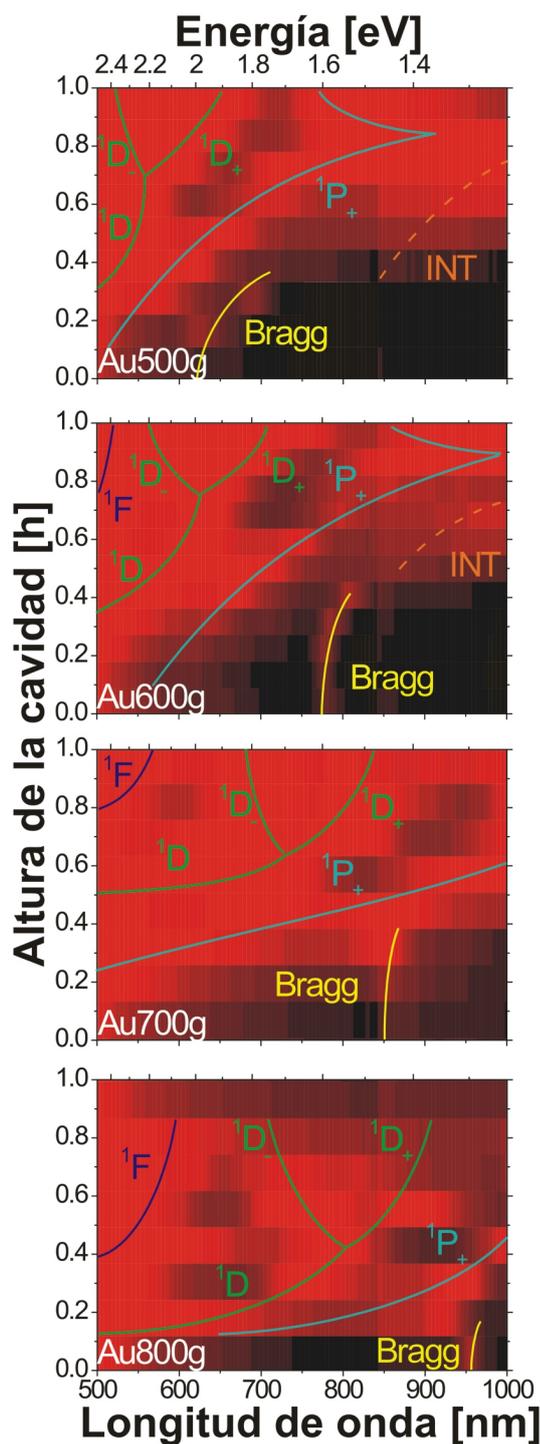
En la Fig. 8.10 presentamos curvas de reflectividades ópticas medidas para la muestra *Au800g* a diferentes alturas de cavidad (indicadas con los valores de  $h$  y desplazadas verticalmente por claridad). Este experimento se realizó utilizando luz con polarización P (TM) entre 300 y 850nm cada 5nm y a 25° de incidencia. La curva  $h = 0$  corresponde a la reflectividad del Au liso. Allí vemos que el metal absorbe luz para  $\lambda < 650nm$  en buen acuerdo con la forma de la parte imaginaria de la constante dieléctrica que presentamos

<sup>6</sup>Las mediciones de SNOM fueron realizadas por P. D. Lacharmoise, M. I. Alonso y A. R. Goñi, del ICMAB, Barcelona, Esp.

en la Fig. 1.3. Para las curvas con  $0.1 < h < 0.6$  vemos que aparecen depresiones en la reflectividad (indicadas con flechas del color de la curva correspondiente) causadas por las absorciones de los plasmones presentes en las cavidades. Para  $0.7 \leq h$  la forma de la reflectividad se asemeja más a la mostrada por el Au liso dentro del rango espectral presentado por la figura. Esta presentación ilustra la manifestación de los plasmones en las mediciones de reflectividad. Para analizar las propiedades de dispersión de los mismos en adelante presentaremos mapas de intensidad de reflexión.



**Figura 8.10:** Mediciones de reflectividad óptica realizadas en Au800g para distintas alturas de cavidad (indicadas con los valores de  $h$  y desplazadas verticalmente por claridad) utilizando luz con polarización P (TM) entre 300 y 850nm cada 5nm y a  $25^\circ$  de incidencia. La curva  $h = 0$  corresponde a la reflectividad del Au liso donde vemos que el metal absorbe luz para  $\lambda < 650nm$ . Para las curvas con  $0.1 < h < 0.6$  vemos que aparecen depresiones en la reflectividad (indicadas con flechas del color de la curva correspondiente) causadas por las absorciones de los plasmones presentes en las cavidades. Para  $0.7 \leq h$  la reflectividad se asemeja más a la mostrada por el Au liso en este rango espectral.



**Figura 8.11:** Mapas de reflectividad óptica que realizamos con polarización P (TM) entre 500 y 1000nm cada 5nm y a 25° de incidencia para 4 muestras conformadas por cavidades de Au escalonadas con 500, 600, 700 y 800nm de diámetro (indicado en el rincón inferior izquierdo de cada figura). La escala de colores se corresponde logarítmicamente con la reflectividad,  $R$ , relacionando valores mínimos ( $R = 0$ ) con rojos (máximo en absorción) y máximos ( $R = 1$ ) con negros (mínimo en absorción). Las líneas son guías al ojo que junto con los nombres identifican a los diferentes modos, sus proyecciones angulares y sus dispersiones. Las líneas amarillas indican modos de Bragg, las celestes a los modos de Mie tipo P, las verdes tipo D, las azules tipo F, mientras que las anaranjadas rayadas indican un modo de interacción entre cavidades debido a la interconexión entre las mismas.

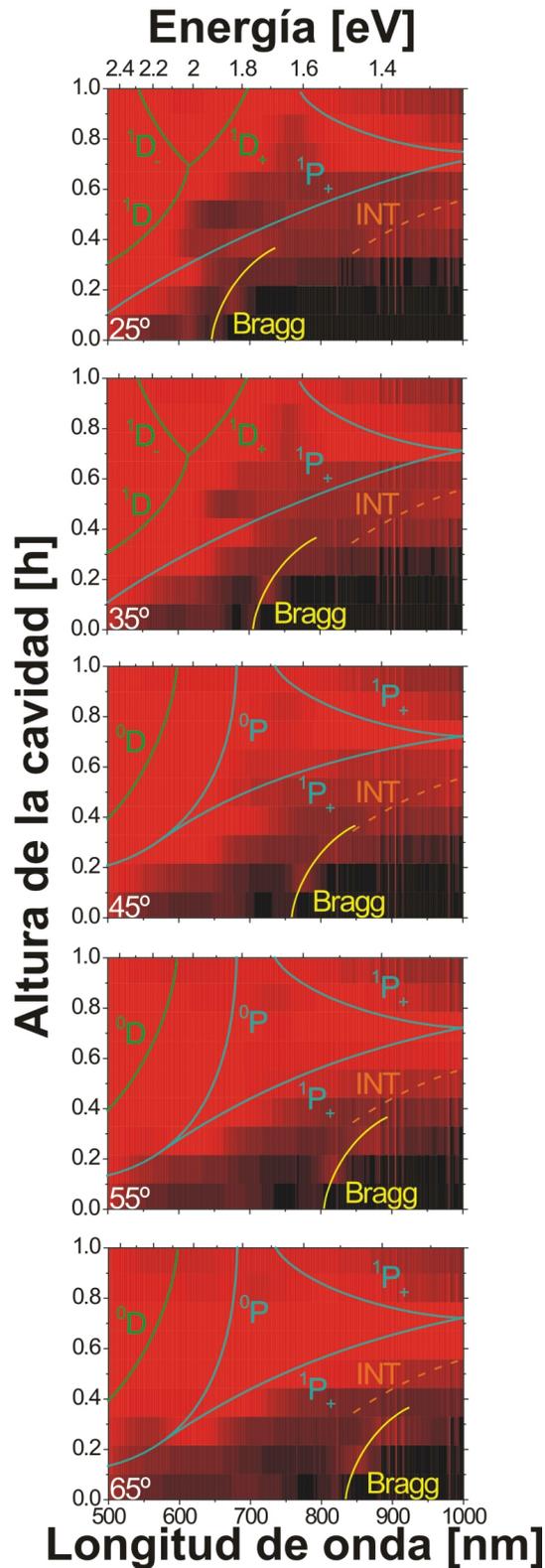
En la Fig. 8.11 presentamos las reflectividades ópticas que medimos a  $25^\circ$  de incidencia en función de la longitud de onda,  $\lambda$ , en el rango  $500 < \lambda < 1000nm$  (eje horizontal) y para los diferentes valores de alturas de las cavidades  $\sim 0 < h < \sim 1$  (eje vertical) en las muestras Au500g, Au600g, Au700g y Au800g (paneles de arriba hacia abajo). La escala de colores se corresponde logarítmicamente con la reflectividad,  $R$ , relacionando valores mínimos ( $R = 0$ ) con rojos (máximo en absorción) y máximos ( $R = 1$ ) con negros (mínimo en absorción). Basándonos en los cálculos teóricos realizados por R. M. Cole *et al.*[119] y T. A. Kelf *et al.*[23, 120] podemos realizar una asignación a las diferentes absorciones, que resaltamos con guías al ojo y sus respectivos rótulos. Así tenemos que: i) las líneas amarillas corresponden a plasmones tipo *Bragg*; ii) las líneas celestes rotuladas como  $^1P_+$  se corresponden a la proyección angular  $m = 1$  de modos de Mie dipolares ( $l = 1$ ) acoplados de manera enlazante con el modo dipolar del borde de la cavidad (*rim*); iii) aquellas de color verde indicadas con  $^1D$ ,  $^1D_+$  y  $^1D_-$  se corresponden a modos de Mie con momento angular  $l = 2$  cuyas proyecciones angulares tienen siempre valor  $m = 1$  y en los últimos dos casos están acoplados con el modo dipolar del *rim* de manera enlazante y antienlazante, respectivamente; iv) las curvas azules indicadas con  $^1F$  se refieren a modos de Mie con momento angular  $l = 3$  y proyección angular  $m = 1$ . Notamos además que en la región de bajas energías ( $< 1.4eV$ ) en las muestras Au500g y Au600g aparece un modo adicional que indicamos como *INT* y líneas rayadas anaranjadas, y que según lo discutido en la Ref. [119] pertenece a un modo debido a interacciones entre cavidades vecinas debido a la interconexión real que existe en los electrodepósitos de cavidades aledañas (efecto no tenido en cuenta en los cálculos presentados anteriormente correspondientes a una única cavidad aislada).

Existen varios puntos para resaltar. Primero, los modos de Bragg aparecen sólo para  $h < \sim 0.4$  y poseen una leve dispersión hacia bajas energías para  $\sim 0.3 < h < \sim 0.4$  debido a la interacción (anticruce) con el modo de Mie que aparece en la misma energía que el de Bragg para  $h$  más grandes. En nuestro caso en particular este último es siempre el modo  $^1P_+$  de Mie. Segundo, la energía de los plasmones de Bragg disminuye al aumentar el diámetro de la cavidad. Esto es causado porque al aumentar  $d$  se incrementa el parámetro de red, el tamaño de la red recíproca disminuye y con él la dimensión de la primera zona de Brillouin. El modo de Bragg que mostramos en las curvas de reflectividad para las cuatro muestras (correspondiente al mismo vector de onda recíproco  $k_{\parallel 1}$ ) está replegado aproximadamente al centro de la  $1^{er}$  zona, y por esto disminuye en energía a medida que  $d$  aumenta. Tercero, los modos de Mie  $^1P_+$ ,  $^1D$ ,  $^1D_+$  y  $^1F$  sufren una dispersión hacia altas energías a medida que el valor para  $h$  disminuye debido a los efectos del truncamiento de las cavidades y el confinamiento de los plasmones dentro de las cavidades. Por otra parte, el modo  $^1D_-$  sufre una dispersión opuesta. Esta es causada porque los modos  $^1D_+$  y  $^1D_-$  son estados resultantes del acoplamiento ligante y antiligante respectivamente entre los modos  $^1D$  y dipolar del *rim*. Por lo tanto la energía de desdoblamiento de estos modos es la responsable de esta dispersión anómala para un modo de Mie en función del truncamiento. En cuarto lugar vemos que, los modos de Mie también se desplazan hacia

menores energías a medida que aumentamos el valor del diámetro de las cavidades (sentido descendente en la Fig. 8.11). Este comportamiento está causado por dos contribuciones diferentes y a su vez distintas de las que originan el corrimiento para el modo de Bragg descrito anteriormente. Una de las contribuciones, la más intuitiva, viene dada por los fenómenos de confinamiento del campo electromagnético, *i.e.* a medida que la cavidad aumenta su diámetro, los estados confinados corresponden a longitudes de onda mayores y por lo tanto a energías menores. La segunda de las contribuciones viene dada porque, como discutimos en la Sec. 1.5.3, la relación de dispersión en función de  $k_{||}$  de estos plasmones localizados cae por encima de la correspondiente a la de un plasmón en una superficie plana (SP) debido a la curvatura negativa que presentan las cavidades de Au (comparable o más grande que la longitud de onda de excitación). Por lo tanto, al aumentar el diámetro de la cavidad disminuimos la curvatura y los plasmones bajan su energía, acercándose más a aquella correspondiente al plasmón 2D (ver Fig. 1.5).

### 8.3.2 Reflectividad 2: Plasmones vs. ángulo de incidencia

En la Fig. 8.12 presentamos mapas de reflectividad óptica que medimos en la muestra Au500g utilizando polarización P (TM) entre 500 y 1000nm cada 5nm y en función del ángulo de incidencia entre 25 y 65° cada 10°. La escala de colores es igual a la utilizada en la Fig. 8.11. Basándonos otra vez en los cálculos teóricos realizados por R. M. Cole *et al.*[119] y T. A. Kelf *et al.*[23, 120] realizamos una asignación a las diferentes absorciones donde las líneas son guías al ojo que junto con los nombres ayudan a identificar a los diferentes modos, sus proyecciones angulares y sus dispersiones. i) Las líneas amarillas indican modos de Bragg; ii) las celestes modos de Mie con momento angular  $l = 1$  y proyecciones  $m = 0$  ( ${}^0P$ ) y  $m = 1$  ( ${}^1P_+$ ); iii) las líneas verdes representan modos de Mie con momento angular  $l = 2$  y proyecciones  $m = 0$  ( ${}^0D$ ) y  $m = 1$  ( ${}^1D_+$  y  ${}^1D_-$ ); iv) mientras que las anaranjadas rayadas indican el modo de interacción entre cavidades debido a la interconexión entre las mismas. Existen dos puntos importantes a notar en esta figura. Primero, el modo de *Bragg* sufre una fuerte dispersión en función del ángulo de incidencia y las energías a las cuales aparece para  $h \sim 0.1$  están en buen acuerdo con aquellas calculadas y medidas por T. A. Kelf *et al.*[23] y que presentamos en la Fig. 8.9. En segundo lugar vemos que al variar el ángulo de incidencia los modos de Mie no sufren dispersión alguna, pero sí entra en juego una excitación selectiva de las diferentes proyecciones del momento angular ( $m$ ). Así vemos como a 45° aparecen las componentes  ${}^0P$  y  ${}^0D$  de los modos de Mie correspondientes a  $l = 1$  y  $l = 2$  respectivamente, al mismo tiempo que la componente  ${}^1D$  y sus desdoblamientos  ${}^1D_+$  y  ${}^1D_-$  desaparecen. Estos comportamientos se deben, tal como explicamos en la sección anterior, a los diferentes grado de solapamiento que se alcanzan entre la distribución espacial del campo dado por las proyecciones angulares de los plasmones de Mie y la orientación de la polarización del campo electromagnético según el ángulo de incidencia. Entonces como los modos con proyección de momento angular  $m = 1$  tienen una distribución de campo preferentemente orientada en el ecuador de las cavidades, aparecen en los mapas de reflectividad para



**Figura 8.12:** Mapas de reflectividad óptica que medimos en la muestra Au500g utilizando polarización P (TM) entre 500 y 1000nm cada 5nm y en función del ángulo de incidencia entre 25 y 65° cada 10° (indicado en el rincón inferior izquierdo de cada figura). La escala de colores es igual a la utilizada en la Fig. 8.11. Las líneas son guías al ojo que junto con los nombres identifican a los diferentes modos, sus proyecciones angulares y sus dispersiones. Las líneas amarillas indican modos de Bragg, las celestes modos de Mie tipo P, las verdes tipo D, mientras que las anaranjadas rayadas indican un modo de interacción entre cavidades debido a la interconexión entre las mismas.

ángulos menores, mientras que aquellos con  $m = 0$  o  $m = 2$  lo hacen para ángulos mayores debido a que en su distribución de campo tiene mayor preponderancia la componente vertical.

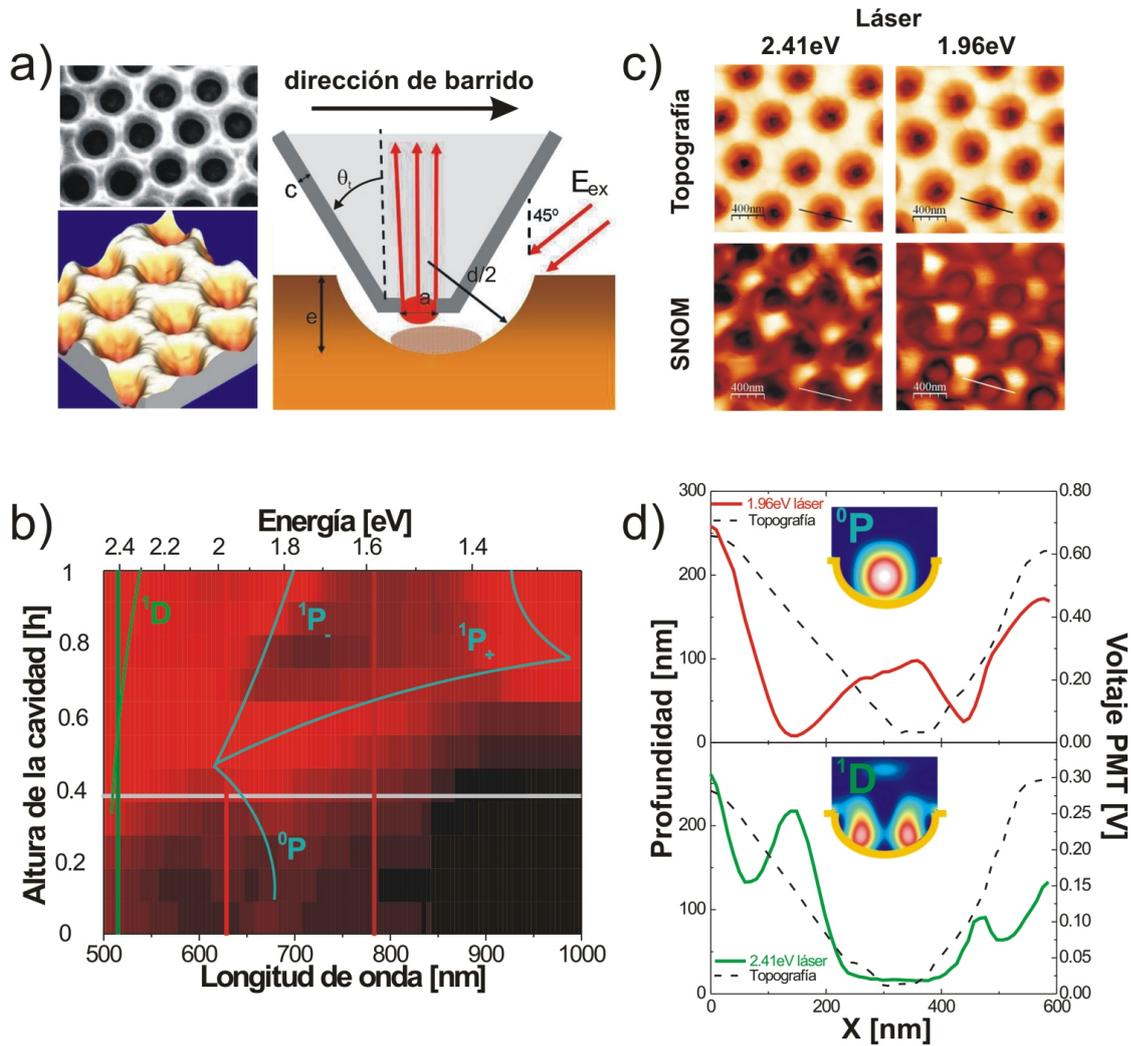
### 8.3.3 Forma de los plasmones: microscopía SNOM

Tomar imágenes del campo electromagnético para los polaritones plasmónicos de superficie, SPP, en el régimen de campo cercano puede darnos una descripción directa de la distribución espacial del SPP dentro de la nanoestructura metálica. La microscopía óptica de barrido de campo cercano, SNOM, es una técnica única que nos permite alcanzar este punto debido a que sensa el campo electromagnético que proviene de la superficie con una resolución espacial por debajo de la longitud de onda de la luz.[121, 122]

Para entender el comportamiento de los SPP en nanocavidades metálicas presentamos dos series de experimentos que realizamos en colaboración con P. D. Lacharmoise, M. I. Alonso y A. Goñi, todos del ICMA B, Barcelona, Esp., quienes estuvieron encargados de realizar los experimentos de SNOM. La idea de estos estudios consiste en relacionar a los SPP que asignamos en las mediciones de reflectividad óptica con sus respectivas distribuciones de campo obtenidas por SNOM. En primer lugar, estudiamos esta dependencia de la distribución de campo con la energía de excitación al utilizar diferentes líneas láser, dos en el visible (514.5 y 632.8nm) y una en el NIR (780nm), para obtener imágenes SNOM sobre la muestra Au600g para  $h \sim 0.4$ . En segundo lugar, seguimos la evolución del campo cercano inducido por los SPP cuando el valor para  $h$  aumenta progresivamente desde  $\sim 0.3$  hasta  $\sim 0.5$  en la muestra Au800g.

#### SNOM vs. excitación

En el panel a) de la Fig. 8.13 presentamos arriba a la izquierda una imagen SEM de la cavidad Au600g y abajo una imagen topográfica para la misma muestra tomada con el microscopio SNOM. A la derecha presentamos un esquema donde mostramos la punta de la sonda del microscopio SNOM dibujado en escala respecto a la imagen que mostramos correspondiente a la cavidad Au600g de 600nm de diámetro. Además indicamos la dirección de barrido del microscopio, el ángulo de incidencia del láser incidente,  $E_{ex}$ , el espesor del film de aluminio (no plasmónico) que recubre a la punta SNOM,  $c \sim 20nm$ , y el tamaño de la apertura de la punta,  $a \sim 80nm$ . En el panel b) presentamos la reflectividad de la muestra Au600g en función de la longitud de onda y de la altura de la cavidad, medida a  $45^\circ$  y en polarización S (TE). La escala de colores es igual a la presentada en la Fig. 8.11. En estas condiciones los modos que aparecen en el rango espectral estudiado son todos tipo Mie y los asignamos comparándolos con aquellos presentados en los trabajos teóricos-experimentales de R. M. Cole *et al.*[119] y T. A. Kelf *et al.*[23] para sistemas similares. Los modos principales son: el  $^0P$  ( $l = 1$ ), que a partir de  $h \sim 0.5$  se convierte en  $^1P$  ( $l = 1$ ), el cual a su vez, se desdobra en los modos  $^1P_+$  y  $^1P_-$  debido a la interacción entre el  $^1P$  y el modo dipolar asociado al borde de la cavidad (indicado con una flecha

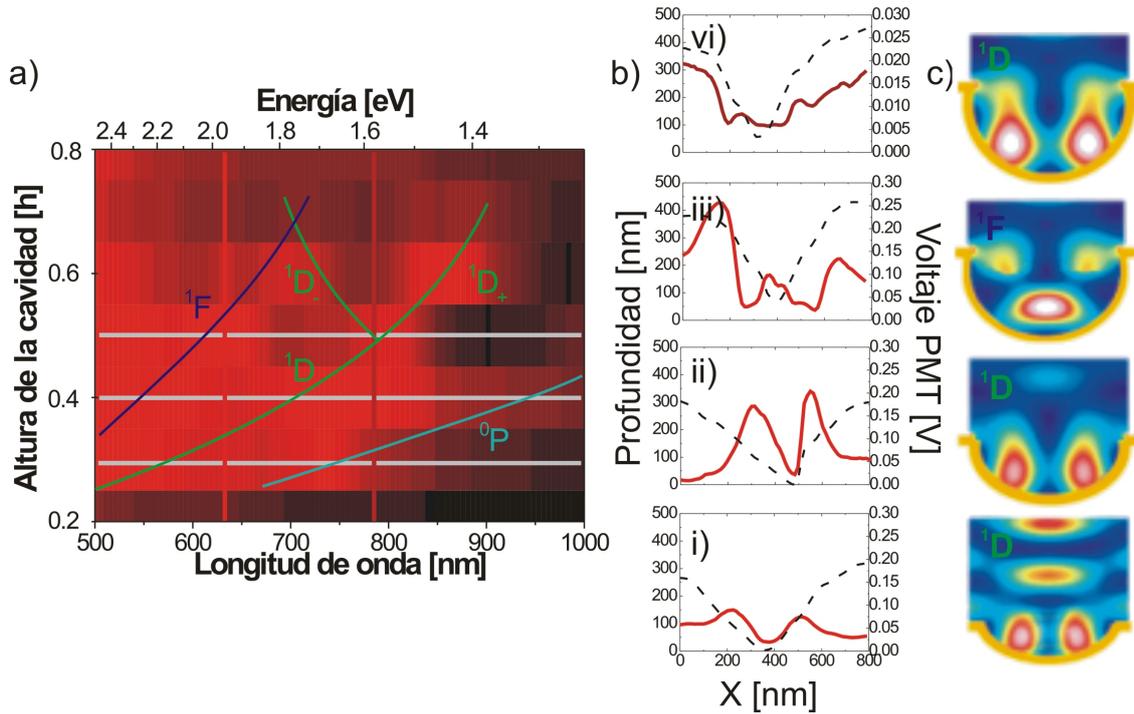


**Figura 8.13:** a) Imagen SEM (arriba) y SNOM de topografía (abajo) de un arreglo de cavidades de Au de  $600\text{nm}$  de diámetro y  $h \sim 0.4$ . A la derecha presentamos un esquema de la configuración experimental para microscopía SNOM a escala con la nanocavidad descrita en la oración anterior. El láser incide con polarización S (TE) a  $45^\circ$  respecto a la normal, la punta del SNOM está recubierta por un film de aluminio de espesor  $c \sim 20\text{nm}$  (no plasmónico) y la apertura tiene un diámetro  $a \sim 80\text{nm}$ . b) Reflectividad para una muestra de cavidades de Au escalonada de  $600\text{nm}$  de diámetro medida con polarización S y  $\theta = 45^\circ$  entre  $500$  y  $1000\text{nm}$  cada  $5\text{nm}$ . c) Las imágenes de arriba corresponden a la topografía mientras que las de abajo a la intensidad del campo cercano, ambas medidas con un microscopio SNOM por P. D. Lacharmoise (ICMAB, Barcelona, Esp.). La columna izquierda fue medida con un láser de  $514.5\text{nm}$  mientras que la derecha con uno de  $632.8\text{nm}$ . d) Perfiles topográficos (líneas rayadas) y de intensidad de campo cercano (líneas llenas) medidos con el láser de  $514.5\text{nm}$  (abajo) y de  $632.8\text{nm}$  (arriba) en las regiones lineales marcadas en las columnas izquierda y derecha del panel c), respectivamente. En el *inset* mostramos los cálculos de los perfiles de campo realizados para esta muestra en particular por R. M. Cole, J. J. Baumberg (ambos de la Univ. de Cambridge, Ing.) y J. García de Abajo (CSIC, Madrid, España).

roja en la Fig. 8.8),[119] y un último modo  $^1D$  ( $l = 2$ ). La línea gris horizontal indica el valor de  $h$  aproximado para el cual se realizaron las mediciones de SNOM, mientras que las líneas verticales de diferentes colores indican la posición espectral de los láseres utilizados por SNOM: la verde se corresponde con  $514.5nm$ , la roja con  $632.8nm$  y la roja oscura con  $780nm$ . En la fila de arriba del panel c) presentamos las imágenes topográficas para las regiones medidas durante las experiencias SNOM utilizando excitaciones de  $514.5nm$  ( $2.41eV$ , a la izquierda) y  $632.8nm$  ( $1.96eV$ , a la derecha). Podemos ver que la morfología que presenta la muestra es similar en ambas mediciones. En la fila de abajo presentamos los mapas SNOM de distribución de campo electromagnético y ahora vemos que las imágenes son claramente diferentes dependiendo de la excitación láser utilizada. En particular queremos remarcar que mientras que para la excitación a  $514.5nm$  no parece haber contribución a la señal dentro de las cavidades, un comportamiento opuesto aparece cuando excitamos con  $632.8nm$ . En el panel d) de la misma figura presentamos perfiles de intensidad SNOM (líneas llenas) y de topografía (líneas rayadas) extraídos de los mapas del panel c) de las posiciones indicadas con líneas rectas oblicuas. Aquí podemos ver que cuando iluminamos con  $514.5nm$  (abajo) el perfil de intensidad de campo (Voltaje PMT) muestra una señal que es máxima en los bordes de la cavidad, mínima y prácticamente nula en el centro, y presenta una estructura de máximos relativos en regiones cercanas al punto medio de la altura de la cavidad (anillos de  $\sim 320nm$  de diámetro). Por otra parte, cuando excitamos con  $632.8nm$  (arriba) vemos un perfil de intensidad de campo que es diametralmente opuesto al anterior debido a la presencia de un máximo justo en el centro de la cavidad, y a la ausencia de estructuras en la región intermedia, aunque se mantiene otra vez el máximo en la región del borde de la cavidad. Si nos remontamos al panel b) y observamos las diferentes condiciones de medición podemos atribuir este cambio en la respuesta a la excitación de modos plasmónicos distintos. Así, cuando medimos en  $h \sim 0.4$  utilizando  $\lambda_{ex} = 514.5nm$ , estamos excitando al modo  $^1D$ , mientras que cuando lo hacemos con  $\lambda_{ex} = 632.8nm$  nos acoplamos con el modo  $^0P$ . En los *insets* dentro de cada figura mostramos los cálculos teóricos realizados especialmente para estos experimentos por R. M. Cole, J. J. Baumberg (ambos de la Univ. de Cambridge, Ing.) y J. García de Abajo (CSIC, Madrid, España), correspondientes a los modos  $^1D$  y  $^0P$ , respectivamente, y notamos el buen acuerdo alcanzado entre los datos experimentales y los cálculos teóricos.

### **SNOM vs. altura de la cavidad**

En la Fig. 8.14 presentamos los estudios de microscopía SNOM en función de la altura de la cavidad para la muestra Au800g. En el panel a) presentamos la reflectividad a  $45^\circ$  de incidencia en polarización S en función de la longitud de onda y la altura de la cavidad. La escala de colores es igual a la presentada en la Fig. 8.11. Aquí otra vez asignamos los modos plasmónicos basándonos en los trabajos teórico-experimentales de R. M. Cole *et al.*[119] y T. A. Kelf *et al.*[23] en sistemas similares. Los plasmones que aparecen en el rango espectral que estudiamos tienen que ver con el  $^0P$ , el  $^1D$  que se desdobra para  $h > 0.5$  en los modos  $^1D_+$  y  $^1D_-$  debido a la interacción con el modo dipolar del anillo



**Figura 8.14:** a) Mapa de reflectividad para una muestra de cavidades de Au escalonada de  $800\text{nm}$  de diámetro medida con polarización S y  $\theta = 45^\circ$  entre  $500$  y  $1000\text{nm}$  cada  $5\text{nm}$ . Las líneas horizontales indican los valores para  $h$  donde se realizaron mediciones de SNOM, las verticales indican las energías de los láseres utilizados en estas mediciones, mientras que las demás líneas son guías al ojo para los diferentes modos plasmónicos que asignamos. b) Perfiles topográficos (líneas rayadas) y de intensidad de campo cercano (líneas llenas) medidos por SNOM por P. D. Lacharmoise (ICMAB, Barcelona, Esp.). Se utilizó un láser de  $632.8\text{nm}$  para (i)  $h \sim 0.3$ , (ii)  $h \sim 0.4$  y (iii)  $h \sim 0.5$ , y (iv) otro láser de  $780\text{nm}$  también para  $h \sim 0.5$ . c) Cálculos teóricos de la intensidad de campo plasmónico para los diferentes modos de Mie que se corresponden con nuestras condiciones de medición (tomados de la Ref. [119]).

superior del borde de la cavidad,[23] y el  $^1F$ . Las líneas grises horizontales indican los tres valores de  $h$  para los cuales se realizaron las experiencias de SNOM, mientras que las líneas verticales indican las longitudes de onda de excitación,  $632.8\text{nm}$  (roja) y  $780\text{nm}$  (roja oscura). En el panel b) presentamos los perfiles topográficos junto con aquellos de campo electromagnético para i)  $h \sim 0.3$ , ii)  $h \sim 0.4$  y iii)  $h \sim 0.5$  utilizando  $\lambda_{ex} = 632.8\text{nm}$ , mientras que iv) corresponde también a este último valor de  $h \sim 0.5$  pero usando  $\lambda_{ex} = 780\text{nm}$ . Notamos que para esta última medición se tomó la precaución de no mover la punta del SNOM durante el cambio del láser para la excitación, por lo cual se barrió exactamente la misma región en los paneles iii) y iv). Lo primero que notamos es que la profundidad del perfil de topografía crece a medida que  $h$  aumenta. Respecto a los perfiles de campo vemos que para i) y ii) aparece la estructura de doble pico del modo  $^1D$  (ver panel a), aunque con una diferencia de intensidades. Por otra parte,

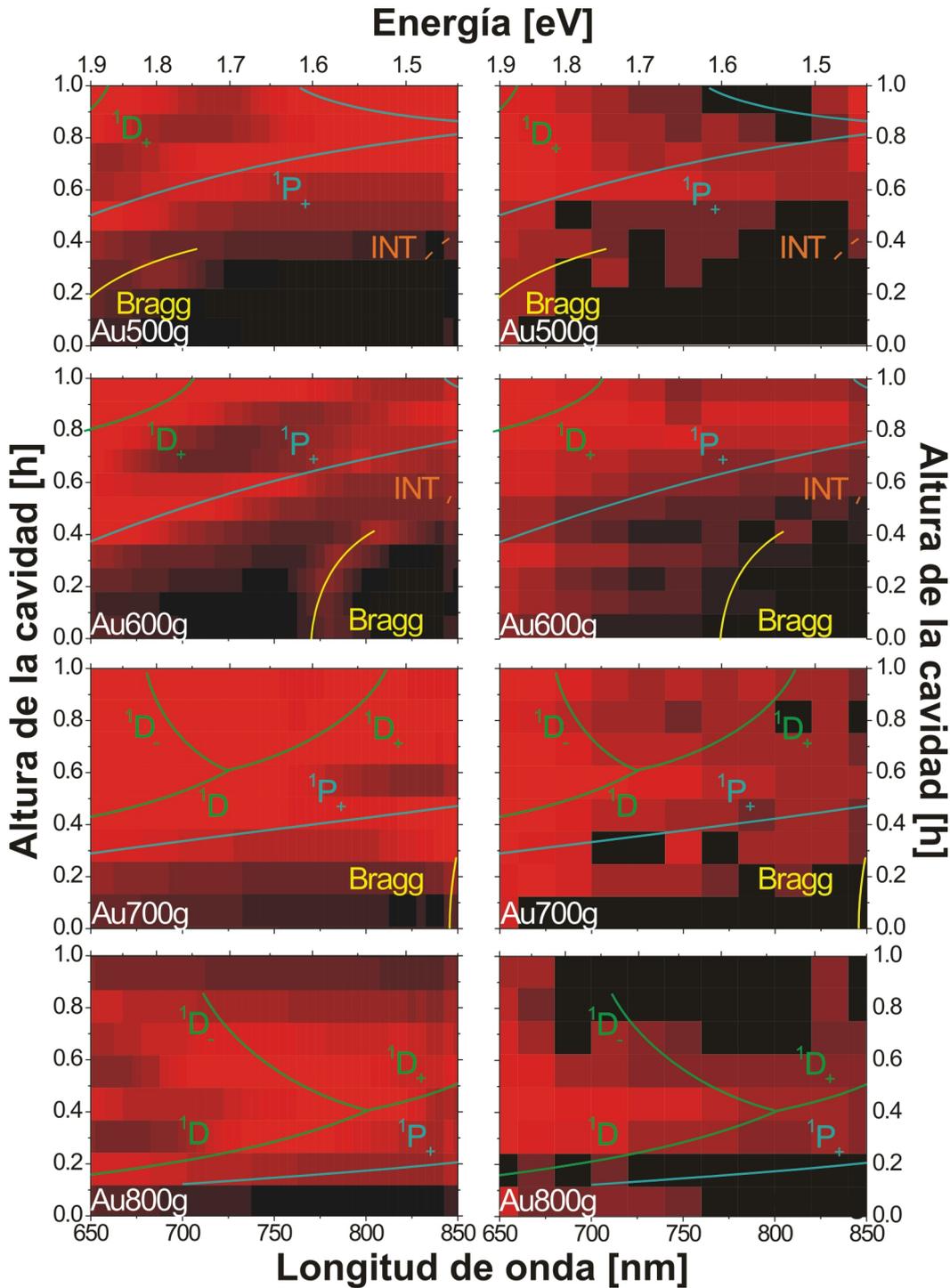
en iii) encontramos una estructura formada por un nodo central con una subestructura de tres picos y está acompañada por dos máximos más en la región del borde de la cavidad, posiblemente estos últimos estén ligados al modo dipolar del anillo del borde de la cavidad. Si nos remitimos al panel a), notamos que las condiciones de medición para este caso ( $h \sim 0.5$  y  $\lambda_{ex} = 632.8nm$ ) corresponden a un modo plasmónico diferente, el  $^1F$ . Por último, vemos que en la medición presentada en iv), cuyas condiciones son  $h \sim 0.5$ ,  $\lambda_{ex} = 780nm$  y exactamente el mismo lugar de barrido sobre la muestra que en iii), reaparece la estructura de doble pico en una región correspondiente a la mitad de la altura de la cavidad. Comparando otra vez las mediciones de reflectividad y las condiciones de medición SNOM para este último caso vemos que coinciden otra vez con el modo  $^1D$ . A este último punto se debe la recuperación de la estructura de dos picos en el perfil de campos. Por último mostramos, para los modos que asignamos en las reflectividades, los cálculos teóricos para la distribución de campos obtenidos para cavidades de Au sensiblemente más grandes que las utilizadas en este experimento ( $d = 1000nm$ ) y para cada valor de  $h$  usado en los respectivos experimentos de microscopía SNOM (panel c).<sup>7</sup> Notamos otra vez el muy buen acuerdo alcanzado entre los datos experimentales y los cálculos teóricos.

### 8.3.4 SERS 1: plasmones vs. diámetro de la nanocavidad

Para realizar los estudios relacionados con la respuesta SERS de estos substratos en función del diámetro y grado de truncamiento de las cavidades, utilizamos una molécula sonda. Como no queremos modificar la respuesta plasmónica debido a la presencia de la sonda escogimos una molécula sin absorciones en la región Vis-NIR, la 4-mercaptopiridina. Esta se autoensambla en las cavidades luego de sumergir a los substratos en una solución etanólica de 4-mercaptopiridina  $10mM$  durante  $30min$ . Luego las muestras se lavan con etanol y se secan con un flujo de nitrógeno gaseoso quedando en condiciones para ser medida una monocapa del tiol adsorbida.

En la Fig. 8.15 presentamos en la columna izquierda una ampliación de la zona  $650 < \lambda < 850nm$  correspondiente a las reflectividades de las cuatro muestras que expusimos y discutimos en la Fig. 8.11, mientras que en la columna de derecha presentamos para las mismas muestras los resultados de mediciones de intensidad Raman en función de la excitación láser incidente (eje horizontal) y del valor de  $h$  (eje vertical) cuando incidimos con un ángulo  $\theta = 15^\circ$ , muy similar al utilizado en las reflectividades. Cada punto dentro del mapa corresponde a la intensidad Raman del pico de  $1100cm^{-1}$  de la 4-mercaptopiridina medida utilizando un spot circular de unos  $\sim 30\mu m$  de diámetro,  $20mW$  de potencia y 2 adquisiciones de  $10s$ . Cada mapa entonces presenta los resultados de unas  $\sim 100$  mediciones Raman en condiciones diferentes. Primero para cada longitud de onda de excitación cambiamos la posición sobre la muestra ( $h$ ) en pasos  $\Delta h \sim 0.1$  moviendo verticalmente la posición del spot láser sobre el substrato. Para esto utilizamos un micrómetro y variamos la posición en pasos de  $500\mu m$ , *i.e.* longitudes iguales a los tamaños de los escalones dentro de las muestras. En segundo lugar fuimos variando la

<sup>7</sup>Extraídos del trabajo de R. M. Cole *et al.*[119]

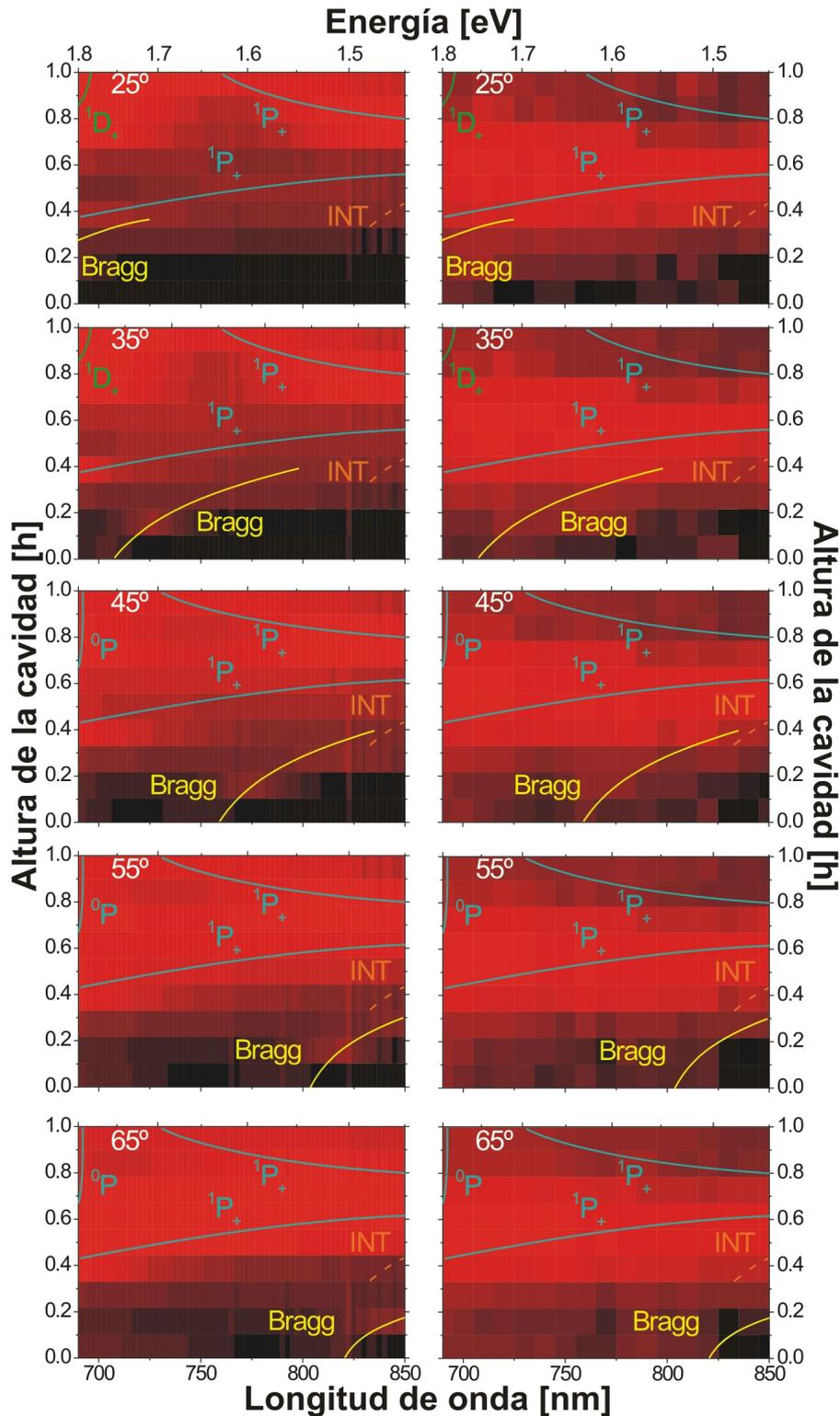


**Figura 8.15:** Columna izquierda: Mediciones de reflectividad óptica entre 650 y 850nm cada 5nm en polarización P y a  $\theta = 25^\circ$  para 4 muestras conformadas por cavidades de Au escalonadas con 500, 600, 700 y 800nm de diámetro (indicado en el rincón inferior izquierdo de cada figura). La escala de colores es igual a la presentada en la Fig. 8.11. Columna derecha: Mapas de la intensidad Raman del pico de  $1100\text{cm}^{-1}$  de la 4-mercaptopiridina en función de la longitud de onda del láser incidente entre 650 y 850nm cada 20nm medidos con polarización P y a  $\theta = 15^\circ$ . La escala de colores en los mapas Raman relaciona máximos de intensidad con rojos y mínimos con negros a través de una escala logarítmica cuyo rango abarca entre 2 y 3 órdenes de magnitud según la muestra. Las guías al ojo que presentamos en estos mapas Raman están extraídas de las medidas de reflectividad correspondientes sin ninguna modificación.

longitud de onda de excitación,  $\lambda_{ex}$ , cada  $\sim 20nm$  siempre dentro del mismo rango que el presentado en la ampliación de las reflectividades ( $650 < \lambda < 850nm$ ). Para esto utilizamos las líneas de 647.1 y 676nm del láser de Ar-Kr y sintonizamos el láser de Ti-Zafiro entre 690 y 850nm cada 20nm. En estos mapas Raman la escala de colores relaciona máximos de intensidad SERS con rojos y mínimos con negros a través de una escala logarítmica cuyo rango abarca entre 2 y 3 órdenes de magnitud según la muestra. Las guías al ojo que presentamos en estos mapas Raman están extraídas de las medidas de reflectividad correspondientes sin ninguna modificación. Existe una cierta correlación entre ambas columnas que se hace más evidente luego de utilizar los guías al ojo que introducimos. En el panel de reflectividades (izquierda) los modos están bien definidos y se corren hacia menores energías (y por lo tanto hacia menores alturas ( $h$ ) dentro del mismo rango espectral) a medida que aumentamos el diámetro de la cavidad ( $d$ ), según lo discutimos previamente en la Fig. 8.11. Así mismo, en el panel de intensidades SERS (derecha) vemos que aunque las zonas rojas que definen a los modos son más difusas, igualmente mantienen en líneas generales los corrimientos mencionados en función de  $d$ . Por otra parte, notamos que para cada muestra la región más intensa para la señal Raman es más cercana al modo con mayor momento angular (mayor  $l$ ) que a los demás. De esta manera, podemos relacionar dicho comportamiento con el hecho de que la amplificación del campo electromagnético para los modos con mayor  $l$  están más cerca de la superficie de la cavidad y por lo tanto amplifica más la señal proveniente de la 4-mercaptopiridina (tamaño  $< 1nm$ ). Por otra parte atribuimos cierta falta de definición en los comportamientos de intensidad Raman a la discretización de los puntos experimentales, tanto vertical ( $\sim 10$  valores para  $h$ ) como horizontalmente (11 valores para  $\lambda_{ex}$ ), y a procesos de resonancia Raman *incoming* y *outgoing* que discutimos en la siguiente sección.

### 8.3.5 SERS 2: Plasmones vs. ángulo de incidencia

En la Fig. 8.16 presentamos, al igual que en la Fig. 8.15, mediciones de reflectividad óptica (columna izquierda) y mapas de intensidad Raman del pico de  $1100cm^{-1}$  de la 4-mercaptopiridina (columna derecha), pero esta vez lo hacemos sólo para la muestra Au500g en función del ángulo de incidencia entre  $\theta = 25$  (arriba) y  $\theta = 65^\circ$  (abajo) cada  $10^\circ$ . Los gráficos de ambas columnas están expresados en función del valor de la altura de la cavidad,  $0 < h < 1$  siendo  $\Delta h \sim 0.1$  (eje vertical) y longitud de onda de excitación,  $690 < \lambda_{ex} < 850nm$  (eje horizontal) con  $\Delta\lambda_{ex} = 2,5nm$  en reflectividades y  $\Delta\lambda_{ex} = 10nm$  en Raman. Las guías al ojo fueron extraídas de las mediciones de reflectividad para rangos más amplios de longitud de onda que presentamos y discutimos en la Fig. 8.12 y las superpusimos en estos mapas sin ninguna modificación. En esta figura, vemos otra vez una cierta correlación entre las regiones de mayor absorción óptica y aquellas con mayores señales Raman. Resaltamos tres puntos importantes del análisis de esta figura: i) Existe un corrimiento del modo de Bragg hacia bajas energías en función del ángulo de incidencia que es evidente en ambas columnas y que además mapea las energías predichas teóricamente por R. M. Cole *et al.*[119] presentadas en el panel b) de la Fig. 8.11.

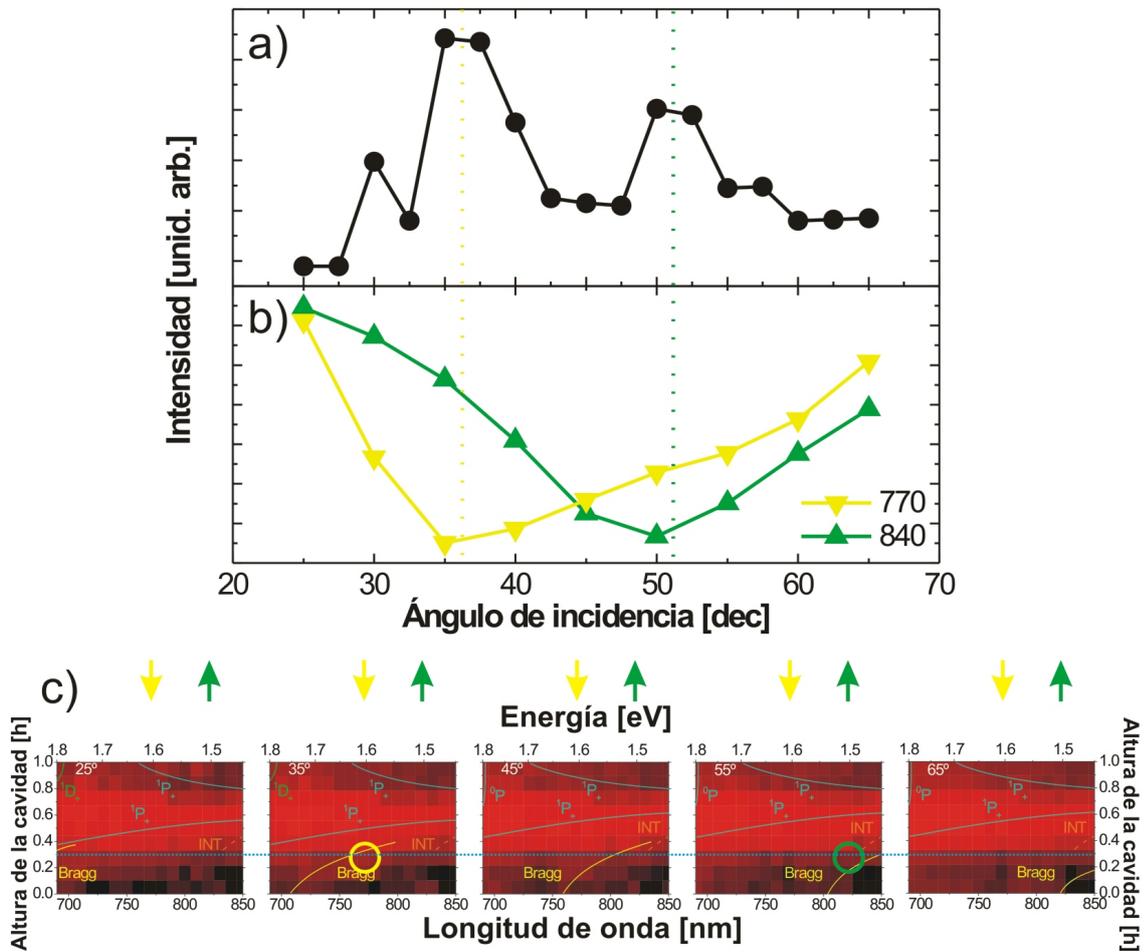


**Figura 8.16:** Columna izquierda: Mediciones de reflectividad óptica entre 690 y 850nm cada 2.5nm en polarización P para una muestra de cavidades de Au escalonada de 500nm de diámetro en función del ángulo de incidencia entre  $\theta = 25$  y  $\theta = 65^\circ$  cada  $10^\circ$  (indicado en el rincón superior izquierdo de cada figura). Columna derecha: Mapas de la intensidad Raman del pico de  $1100\text{cm}^{-1}$  de la 4-mercaptopiridina en función de la longitud de onda del láser incidente entre 690 y 850nm cada 10nm medidos con polarización P y cambiando el ángulo de incidencia entre  $\theta = 25$  y  $\theta = 65^\circ$  cada  $10^\circ$ . Las escalas de colores de ambas columnas son iguales a las presentadas en la Fig. 8.15. Las guías al ojo que presentamos en todos los mapas están extraídas para cada ángulo en particular de las medidas de reflectividad de la Fig. 8.12 sin ninguna modificación.

ii) Notamos que para la región de  $h < \sim 0.3$  sólo aparece el modo de Bragg dentro de esta región espectral. No obstante, la comprensión de la evolución de las intensidades de los mapas Raman se torna un poco confusa, dentro de nuestro esquema relacionado a la deriva de este modo, cuando el ángulo de incidencia sobrepasa los  $45^\circ$ . Esto se debe a la reaparición de una zona de intensidades crecientes para  $\lambda_{ex} < 760nm$ . iii) Además, observamos cierta independencia para la intensidad Raman en función de la longitud de onda de excitación dentro de la región  $\sim 0.4 < h < \sim 0.6$ , resultando bastante insensible a la dispersión del modo  $^1P_+$  que medimos en las reflectividades ópticas.

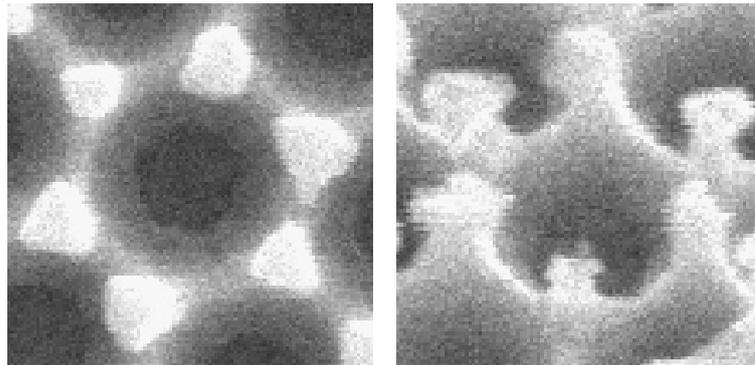
Para aclarar los dos últimos puntos decidimos graficar en el panel a) de la Fig. 8.17 la intensidad Raman del pico de  $1100cm^{-1}$  de la 4-mercaptopiridina medido sobre la posición  $h = 0.3$  de Au500g con  $\lambda_{ex} = 770nm$  en función del ángulo de incidencia entre  $\theta = 25^\circ$  y  $\theta = 65^\circ$  en intervalos de  $2.5^\circ$ . Este perfil de intensidades arroja una estructura con dos máximos bien definidos y centrados en  $35^\circ$  y  $50^\circ$ . Afirmamos que la aparición de estos máximos se debe a la excitación del modo de Bragg por parte del fotón incidente a  $\theta = 35^\circ$  (resonancia *incoming*) y del dispersado a  $\theta = 50^\circ$  (resonancia *outgoing*). Respaldamos esta aseveración además mostrando los perfiles para la reflectividad en función del ángulo de incidencia (panel b) de la Fig. 8.17) medidos para la posición  $h = 0.3$  utilizando luz de  $770nm$  (triángulos invertidos amarillos) y  $840nm$  (triángulos verdes), correspondientes a la longitud de onda de los fotones incidente y dispersado en el experimento Raman, respectivamente. Allí vemos que la reflectividad del fotón incidente presenta un mínimo centrado en  $\theta = 35^\circ$  (absorción del plasmón de Bragg) mientras que la reflectividad del fotón dispersado presenta un mínimo centrado en  $\theta = 50^\circ$  (debido al mismo plasmón de Bragg), ambos en muy buen acuerdo con las posiciones de los máximos Raman presentados en el panel a). Por otra parte en el panel c) de la misma figura mostramos los mapas Raman en función del ángulo de incidencia, ya presentados anteriormente en la Fig. 8.16, indicando con una línea punteada horizontal la posición  $h = 0.3$ , con flechas amarillas hacia abajo la posición espectral del fotón incidente, con flechas verdes hacia arriba aquella correspondiente al fotón dispersado y con círculos amarillos y verdes las intersecciones del plasmón de Bragg con dichos fotones, respectivamente. Estos datos, entonces, nos permiten introducir en estos arreglos de nanocavidades metálicas los procesos de resonancias SERS *incoming* y *outgoing*. Dichos mecanismos aparecen entonces como una posible explicación para los comportamientos que notamos como ii) y iii) en el párrafo anterior, referidos a la reaparición de zonas de intensidad Raman una vez que el modo de Bragg se corre de ellas hacia menores energías, y la relativa insensibilidad para la dispersión espectral presentada por el modo  $^1P_+$  de Mie. Además, este mecanismo también puede ser el responsable de la menor definición de los plasmones a través de los mapas SERS en función del diámetro de las cavidades que presentamos y discutimos en la Fig. 8.15.

A pesar de esta evidencia que presentamos respecto a la existencia de las resonancias SERS *incoming* y *outgoing*, creemos que existe otro mecanismo capaz de explicar el comportamiento en la intensidad Raman que observamos para el modo  $^1P_+$  dentro de la región  $\sim 0.4 < h < \sim 0.6$  en la Fig. 8.16. Este podría ser atribuible a la existencia de estruc-



**Figura 8.17:** a) Perfil de intensidades Raman para la señal de  $1100\text{cm}^{-1}$  de la 4-mercaptopiridina medidos sobre la muestra de cavidades de Au escalonada de  $500\text{nm}$  de diámetro en una posición correspondiente a  $h \sim 0.3$  con el láser de  $770\text{nm}$  polarización P y variando el ángulo de incidencia entre  $25$  y  $65^\circ$  cada  $2.5^\circ$ . La curva presenta dos máximos centrados en  $35^\circ$  y  $52.5^\circ$  correspondientes a las resonancias *incoming* y *outgoing* con el plasmón de Bragg para estas estructuras. b) Perfil de reflectividad en función del ángulo de incidencia para la misma muestra que en a) y en la misma posición. Presentamos dos longitudes de onda:  $770\text{nm}$  (triángulos amarillos invertidos) correspondiente a la energía del fotón incidente del experimento Raman del panel a), y  $840\text{nm}$  (triángulos verdes) correspondiente a la energía del fotón Raman dispersado del mismo experimento Raman. Vemos que los mínimos para las reflectividades (máximos en absorción) caen en  $35^\circ$  y  $52.5^\circ$  para los fotones de  $770\text{nm}$  y  $840\text{nm}$  respectivamente. En el panel c) mostramos la evolución de los mapas de intensidad Raman para esta muestra, indicamos con una línea horizontal punteada la posición  $h \sim 0.3$ , con flechas amarillas hacia abajo la posición de los fotones incidentes y con flechas verdes hacia arriba la de los fotones Raman dispersados. Remarcamos con un círculo amarillo la intersección de la energía del fotón incidente de  $770\text{nm}$  con el plasmón de Bragg para  $35^\circ$  y con un círculo verde la intersección de la energía del fotón Raman dispersado con el mismo plasmón pero a  $55^\circ$  para  $h \sim 0.3$ .

turas tipo coronas donde las puntas son islas pseudo-triangulares que se forman durante el electrodeposito cuando rondamos estos valores de  $h$  (ver Fig. 8.18). Estas islas pueden pensarse como nanopartículas de unos  $\sim 130nm$  con forma de prisma pseudo-triangular que, según cálculos de K. L. Kelly *et al.*[11] tienen resonancias de LSPP alrededor de  $\sim 800nm$ , pero cuyas contribuciones no fueron tenidas en cuenta en ninguno de los modelos y resultados teóricos introducidos hasta esta parte. Además por tener dimensiones menores que la longitud de onda de excitación estos LSPP brindan una amplificación relativamente independiente del ángulo de incidencia.

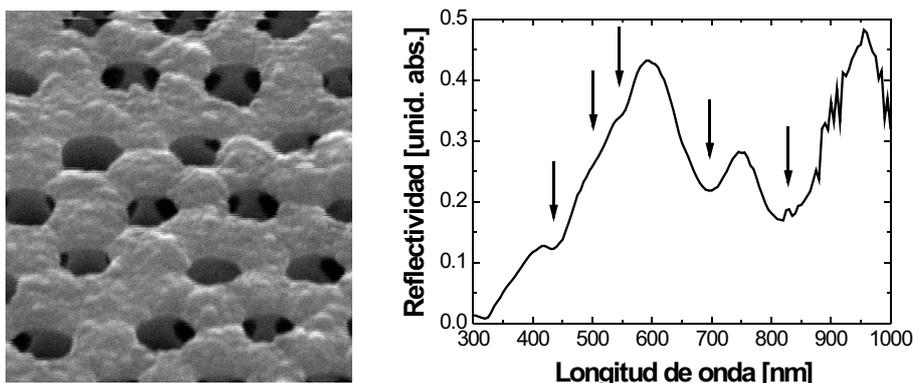


**Figura 8.18:** Imágenes SEM de una cavidad de Au de  $600nm$  de diámetro y  $h \sim 0.6$  tomadas en vistas frontal (izquierda) y a  $45^\circ$  respecto a la normal (derecha). Las nanopartículas pseudo-triangulares que se forman en una estructura tipo corona se manifiestan como regiones más brillantes en la imagen de la izquierda y como puntas en los bordes de las cavidades en la imagen de la derecha.

## 8.4 Aplicaciones de las nanocavidades para el estudio de sistemas biomiméticos y de sensado

En esta sección mostramos seis ejemplos en los cuales aplicamos las ventajas de los substratos construidos con nanocavidades metálicas ordenadas para profundizar en el estudio de sistemas moleculares biomiméticos y de sensado. En particular, utilizamos en la mayoría de los casos nanocavidades de Ag, en vez de Au, porque las primeras poseen una mayor capacidad para la amplificación de señales Raman en regiones donde  $\lambda_{ex} < 650nm$ . En el panel izquierdo de la Fig. 8.19 presentamos una imagen SEM que tomamos a  $45^\circ$  respecto a la normal para un arreglo de cavidades de Ag de  $700nm$  de diámetro con un valor para la altura de la cavidad cercano a  $h \sim 0.7$ . En esta imagen podemos observar con claridad la interconectividad que poseen cavidades aledañas, hecho que discutimos en las mediciones de reflectividad de la Sec. 8.3.1 al introducir el modo plasmónico que denominamos *INT* debido a este tipo de estructuras. En el panel derecho de la misma figura presentamos el espectro de reflectividad medido en polarización P a  $25^\circ$  de incidencia para esta cavidad. Las flechas indican la presencia de cinco modos plasmónicos diferentes que

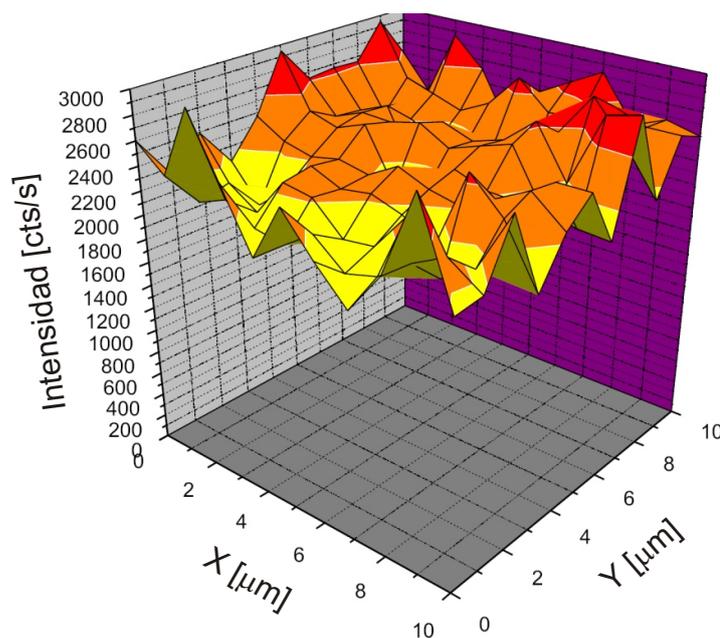
se distribuyen abarcando un amplio rango espectral, entre 450 y 850nm, que coincide con la región donde contamos con las líneas láseres para los experimentos Raman y donde, además, las moléculas coloreadas tienen generalmente resonancias electrónicas. Por estos motivos utilizaremos cavidades de estas características para realizar la mayoría de los experimentos dentro de esta sección.



**Figura 8.19:** Izquierda: Imagen SEM medida a  $45^\circ$  de incidencia respecto a la normal para un arreglo de cavidades de Ag de 700nm de diámetro y altura de cavidad cercana a  $h \sim 0.7$ . Derecha: Espectro de reflectividad medido entre 300 y 1000nm cada 5nm a  $25^\circ$  de incidencia respecto a la normal y utilizando polarización P. Las flechas indican la presencia de diferentes modos plasmónicos.

#### 8.4.1 Homogeneidad en la señal: 4-mercaptopiridina autoensamblada

En primer lugar analizamos la respuesta espacial que posee este tipo de substratos. Para ello modificamos la superficie de una cavidad de Ag con una monocapa de 4-mercaptopiridina. El autoensamblado de esta molécula consiste en sumergir al substrato en una solución etanólica 10mM de 4-mercaptopiridina durante 30min, luego enjuagar con etanol y finalmente secar con un flujo de nitrógeno gaseoso. Posteriormente realizamos un micromapa de intensidades Raman que consistió en medir un espectro Raman de la 4-mercaptopiridina cada  $1\mu\text{m}$  dentro de un área de  $10 \times 10\mu\text{m}^2$ . Las mediciones se realizaron utilizando la línea de 514.5nm del láser de Ar-Kr con 3mW de potencia y 10s de adquisición. En la Fig. 8.20 presentamos el mapa correspondiente a la intensidad del pico de  $1100\text{cm}^{-1}$  de la 4-mercaptopiridina en función de la posición donde fue medido dentro del área de  $10 \times 10\mu\text{m}^2$ . Podemos ver que las señales tienen un comportamiento muy homogéneo con una dispersión menor al 10% del valor medio. Esto indica que las nanocavidades metálicas son excelentes candidatas para realizar análisis comparativos de muestras moleculares debido a su amplificación espacialmente homogénea.

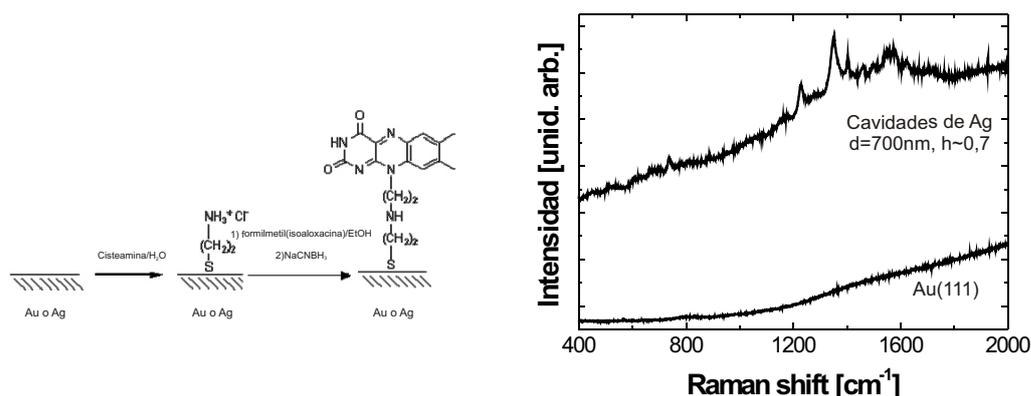


**Figura 8.20:** Micromapa de intensidad Raman del pico de  $1100\text{cm}^{-1}$  de la 4-mercaptopiridina en función de la posición donde el espectro fue adquirido (cada  $1\mu\text{m}$  dentro de un área de  $10 \times 10\mu\text{m}^2$ ). Las mediciones fueron realizadas utilizando la línea de  $514.5\text{nm}$  del láser de Ar-Kr con  $3\text{mW}$  de potencia y  $10\text{s}$  de adquisición.

#### 8.4.2 Amplificación SERS: Flavinas autoensambladas

La segunda aplicación de estos sustratos nanoestructurados consiste en utilizar sus propiedades plasmónicas para la amplificación de la señal Raman de moléculas adsorbidas en muy bajas cantidades. En el panel izquierdo de la Fig. 8.21 mostramos el proceso por el cual ensamblamos flavinas sobre las nanoestructuras, a través de una unión tipo base de Schiff (amino-aldehído), directamente sobre moléculas de cisteamina previamente autoensambladas sobre las cavidades.<sup>8</sup> Este proceso de adsorción de moléculas de flavinas no forma un ensamblado de monocapa compacta, por lo que la densidad de moléculas es considerablemente bajo e inferior al valor de una monocapa completa. En el panel derecho de la Fig. 8.21 mostramos los espectros Raman de la flavinas adsorbidas sobre un sustrato de Au liso y sobre un arreglo de cavidades de Ag de  $700\text{nm}$  de diámetro y  $h \sim 0.7$  como la presentada anteriormente. Los experimentos Raman fueron realizados utilizando  $5\text{mW}$  de potencia de un láser de  $632.8\text{nm}$  de He-Ne y  $10\text{s}$  de adquisición sobre un spot de  $1\mu\text{m}^2$ . Resulta evidente que en el primero de los casos la señal no aparece mientras que en el segundo sí, mostrando la gran capacidad de amplificación de este tipo de sustratos. Esta nos permitiría realizar experimentos electroquímicos monitoreados con espectroscopía Raman *in-situ* de moléculas adsorbidas en muy bajas dosis.

<sup>8</sup>La inmovilización de esta molécula fue realizada por A. Ricci, del grupo de Electroquímica Molecular del Dr. E. J. Calvo, INQUIMAE, FCEyN - UBA.

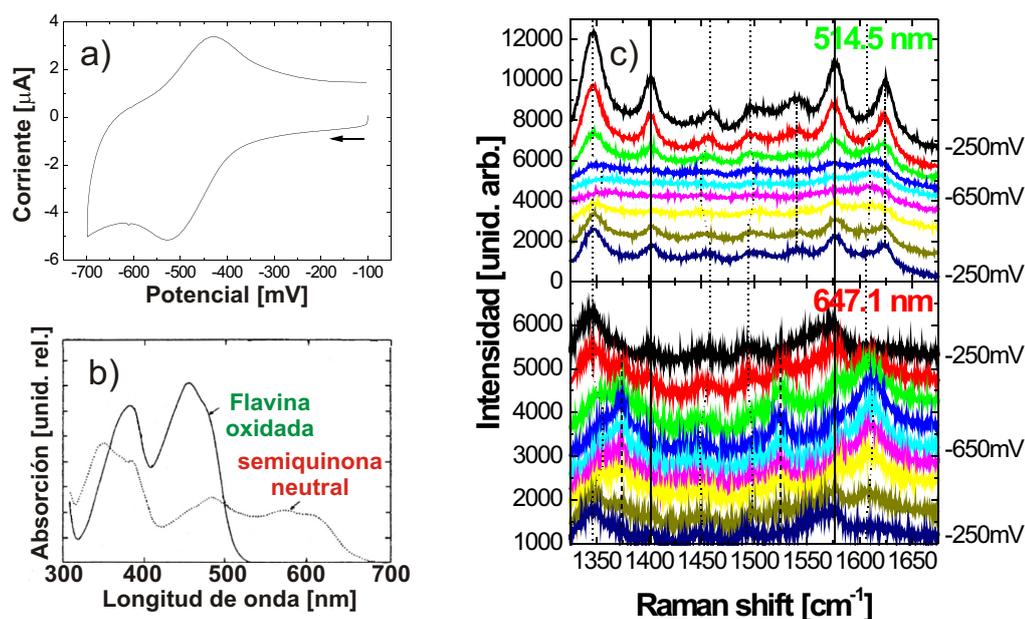


**Figura 8.21:** Izquierda: Esquema del proceso de inmovilización de Flavinas sobre superficies de Au y Ag a través de uniones tipo bases de Schiff (gentileza de A. Ricci, INQUIMAE, FCEyN - UBA). Derecha: Espectros Raman medidos para Flavinas ensambladas por uniones tipo base de Schiff sobre un sustrato de Au(111) y una nanocavidad de Ag de  $700\text{nm}$  de diámetro y  $h \sim 0.7$  utilizando  $5\text{mW}$  de potencia de un láser de  $632.8\text{nm}$  y  $10\text{s}$  de adquisición sobre un spot de  $1\mu\text{m}^2$ .

### 8.4.3 Electroquímica y SERRS 1: Flavinas autoensambladas

La Flavina es una molécula redox comúnmente presente en sistemas biológicos como proteínas y macromoléculas y su función es la de realizar intercambios de carga con el medio. Por ello existe un gran interés en estudiar este tipo de moléculas redox y su respuesta ante diferentes condiciones de contorno. En el Capítulo 5 estudiamos el comportamiento redox de la Flavina cuando estaba ensamblada en una membrana fosfolípida biomimética o fisisorbida sobre Au rugoso. Ahora la estudiaremos con experimentos electroquímicos con espectroscopía Raman *in-situ* cuando está autoensamblada sobre el metal a través de una base de Schiff en concentraciones inferiores a la de una monocapa completa gracias a la amplificación dada por las cavidades ordenadas de Ag.

En el panel a) de la Fig. 8.22 presentamos el ciclo electroquímico correspondiente a las flavinas ensambladas en la nanoestructura de Ag inmersa en un buffer Tris a  $\text{pH}=8$  y medido entre  $-100 \rightarrow -700 \rightarrow -100\text{mV}$  vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  a  $50\text{mV}/\text{s}$ . Si seguimos el ciclo electroquímico a partir de la flecha vemos un pico negativo de corrientes debido a la reducción de la flavina (pasando primero por un estado intermedio denominado semiquinona neutral[124]), luego cuando seguimos en el ciclo, regresando hacia potenciales positivos, observamos un segundo pico de corrientes, ahora positivo, correspondientes a la oxidación de las Flavinas. En el panel b) presentamos los espectros de absorción óptica para soluciones de Flavinas en estados oxidado y semiquinona neutral, extraídos de la Ref. [123]. Estos espectros muestran que para el estado oxidado (inicial en el ciclo electroquímico) la molécula tiene una absorción óptica alrededor de  $470\text{nm}$  con un ancho a media altura de  $\sim 100\text{nm}$ , mientras que para el estado semiquinona neutral (en la región de potenciales intermedios,  $\sim 450\text{mV}$ , dentro del ciclo electroquímico) la absorción óptica se corre al rojo



**Figura 8.22:** a) Voltograma cíclico para la Flavina sobre la nanocavidad de Ag en un buffer Tris a  $\text{pH}=8$  entre  $-100 \rightarrow -700 \rightarrow -100\text{mV}$  vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  a  $50\text{mV}/\text{s}$ . b) Espectros de absorción para la Flavina en sus diferentes estados de oxidación (tomado de la Ref. [123]). c) Espectros Raman para la Flavina sobre la nanocavidad de Ag de  $700\text{nm}$  de diámetro y  $h \sim 0.7$  en función del potencial electroquímico aplicado. Arriba: utilizando el láser de  $514.5\text{nm}$ , sintonizando la resonancia electrónica de la *Flavina oxidada*. Abajo: usando el láser de  $647.1\text{nm}$ , sintonizando la resonancia electrónica de la *semiquinona neutral*. Las líneas verticales indican la posición de los picos principales. Las líneas de trazos llenos indican picos que no se corren durante los experimentos electroquímicos, las punteada muestran aquellos que sí se corren y las raya-doble punto y rayadas indican picos que aparecen sólo en los paneles superior o inferior, respectivamente.

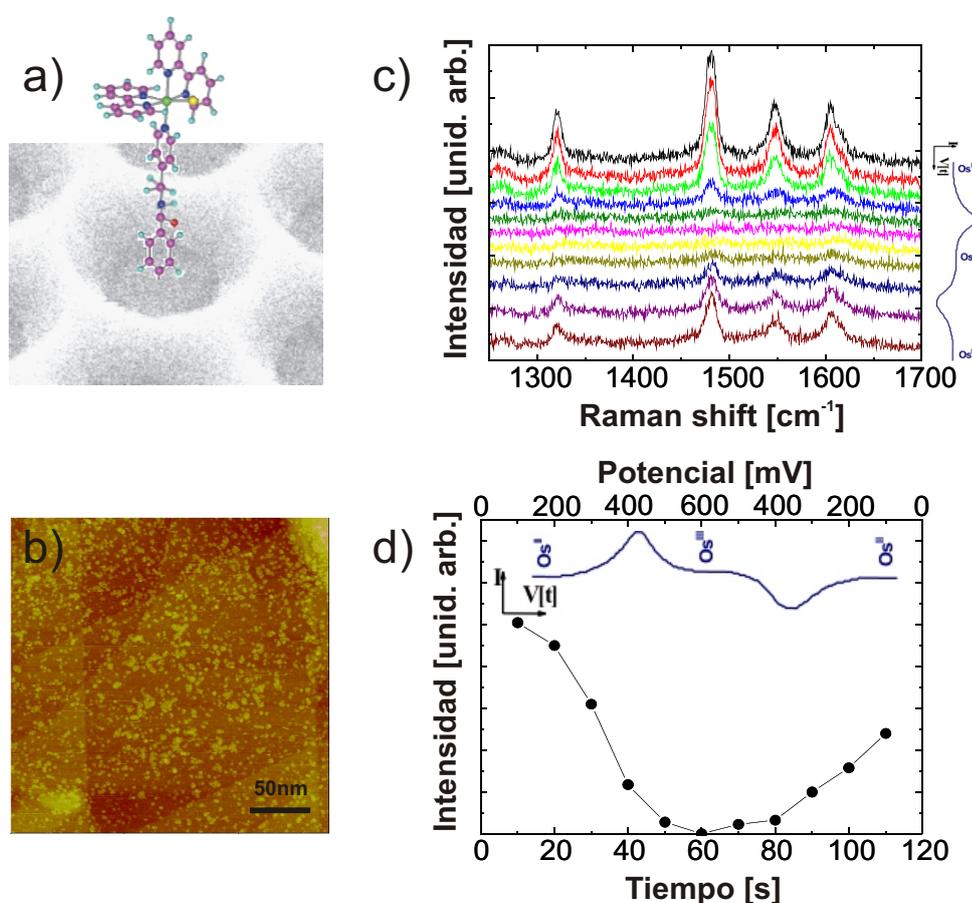
centrándose en  $\sim 600\text{nm}$  y presentando un ancho a media altura superior a los  $100\text{nm}$ . Estas dos absorciones nos brindan la posibilidad de acoplar nuestros láseres con diferentes plasmones de la cavidad de Ag de  $700\text{nm}$  y  $h \sim 0.7$  (ver Fig. 8.19) al mismo tiempo que sintonizamos dos resonancias electrónicas correspondientes a estados de oxidación diferentes para la Flavina. En el panel c) presentamos los espectros Raman medidos *in-situ* durante los ciclos electroquímicos utilizando excitaciones láser de  $514.5\text{nm}$  (arriba) y de  $647.1\text{nm}$  (abajo), es decir, sintonizando las colas de absorción de las especies oxidada y semiquinona neutral, respectivamente. Notamos que en ambos casos las señales Raman sufren cambios a lo largo del ciclo electroquímico que principalmente modifican su intensidad, aunque hemos encontrado corrimientos significativos en algunos picos. Las líneas de trazos llenos indican picos que no se corren durante los experimentos electroquímicos, las punteada muestran aquellos que sí se corren y las raya-doble punto y rayadas indican picos que aparecen sólo en los paneles superior o inferior, respectivamente. Mas allá de este rico comportamiento, lo más importante que queremos resaltar aquí de estos experi-

mentos es la diferencia en la respuesta de las intensidades entre ambos paneles. Cuando utilizamos el láser de  $514.5nm$  la señal Raman decae al reducir la Flavina ( $-650mV$ ) para luego aumentar cuando volvemos a oxidarla ( $-250mV$ ). Por otra parte, cuando usamos el láser de  $647.1nm$  el comportamiento es opuesto, las intensidades aumentan cuando vamos hacia potenciales de reducción y vuelven a decaer cuando regresamos a potenciales de oxidación. Esto indica fuertemente que somos capaces de acoplarnos selectivamente con las absorciones de las especies oxidadas o semiquinona neutral de la Flavina según la longitud de onda de excitación y su relación con las absorciones de las especies moleculares. Así en el panel superior las condiciones de medición son más sensibles a detectar el estado oxidado de la molécula, mientras que las condiciones del panel inferior facilitan la observación de la especie semiquinona neutral de la Flavina. El éxito de estos experimentos está íntimamente ligado al amplio rango espectral que cubren los plasmones de la cavidad de Ag. Recordamos que no fuimos capaces de detectar el estado intermedio de la Flavina cuando utilizamos como substrato los films de Au rugoso (Sec. 5.4). Estos resultados son fuertes indicaciones de que estas nanoestructuras además de brindar una amplificación electromagnética nos permiten acoplar con resonancias electrónicas de la molécula y así obtener lo que se conoce como **SERRS** (Surface Enhanced Resonant Raman Scattering).

#### 8.4.4 Electroquímica y SERRS 2: Complejos de Os autoensamblados

Otro sistema con el cual utilizamos las nanocavidades metálicas ordenadas corresponde al complejo de Os autoensamblado que introdujimos en el Capítulo 6. Este sistema es muy importante para desarrollar componentes que transfieran carga dentro de nuevos desarrollos para reconocimiento o electrónica molecular. Por ello es importante analizar sus propiedades cuando se lo inmoviliza a través de diferentes estrategias de pegado. En el panel a) de la Fig. 8.23 presentamos un esquema para el complejo de Os ensamblado a través de una molécula aromática a una nanocavidad metálica.<sup>9</sup> Este tipo de inmovilización por uniones covalentes es muy importante para darle mayor estabilidad a la interacción complejo de Os-substrato metálico. Además la presencia de un anillo aromático con carga deslocalizada funcionando como intermediario entre el complejo de Os propiamente dicho y el substrato metálico puede mejorar considerablemente las propiedades de transferencia de carga entre las partes. Por otro lado, al igual que con las flavinas del apartado anterior, el método de inmovilización no logra generar un cubrimiento de monocapa completa de Os sobre la superficie como podemos observar a través de los puntos brillantes (complejos de Os) en la imagen STM presentada en el panel b) cuya densidad se corresponde con  $\sim 8 \cdot 10^4$  complejos de Os/ $\mu m^2$ . Por todos estos motivos necesitamos caracterizar y monitorear con muy alta sensibilidad la respuesta electroquímica de estos sistemas conformados por dosis tan bajas de moléculas. Para ello, nada mejor que realizar experimentos de electroquímica con espectroscopía Raman *in-situ* utilizando como substrato una cavidad metálica. En este experimento utilizamos una cavidad de Au de  $600nm$  de diámetro y  $h \sim 0.5$  que posee el plasmón  $^1D$  en  $\sim 520nm$  (ver Fig. 8.11), es decir,

<sup>9</sup>La inmovilización de esta molécula fue realizada por A. Ricci, INQUIMAE, FCEyN - UBA.



**Figura 8.23:** a) Esquema del complejo de Os autoensamblado sobre una nanocavidad de Au de  $600\text{nm}$  de diámetro y  $h \sim 0.5$  a través de una molécula aromática. b) Imagen STM del ensamblado de complejos de Os (puntos brillantes) sobre una superficie plana de Au (gentileza de A. Ricci). c) Espectros Raman medidos con la línea láser de  $514.5\text{nm}$ ,  $10\text{mW}$  de potencia y  $10\text{s}$  de adquisición en función del potencial electroquímico entre  $100 \rightarrow 600 \rightarrow 100\text{mV}$  vs. Ag/AgCl a  $10\text{mV/s}$ . d) Intensidad del pico de  $1483\text{cm}^{-1}$  en función del potencial aplicado. Vemos como la señal del complejo de Os desaparece en el estado oxidado,  $\text{Os}^{\text{III}}$ , debido a la ausencia de la resonancia electrónica MLCT a  $514.5\text{nm}$  y como luego reaparece al volver nuevamente al estado reducido,  $\text{Os}^{\text{II}}$ .

donde el complejo de Os tiene además la resonancia electrónica MLCT ( $\sim 510\text{nm}$ ). En el panel c) de la Fig. 8.23 presentamos los espectros resultantes de estudios Raman realizados con el láser de  $514.5\text{nm}$  en función del potencial electroquímico (este último presentado a la derecha en función del tiempo). Podemos ver cómo la intensidad de las señales del Os desaparece por completo cuando nos vamos a potenciales de oxidación ( $\text{Os}^{\text{III}}$ ) debido a la pérdida de la resonancia electrónica con la absorción MLCT de la especie reducida ( $\text{Os}^{\text{II}}$ ),<sup>10</sup> mostrando que todas las moléculas del complejo de Os ensambladas son capaces de cambiar su estado de oxidación una vez que se aplican los potenciales adecuados, *i.e.* la

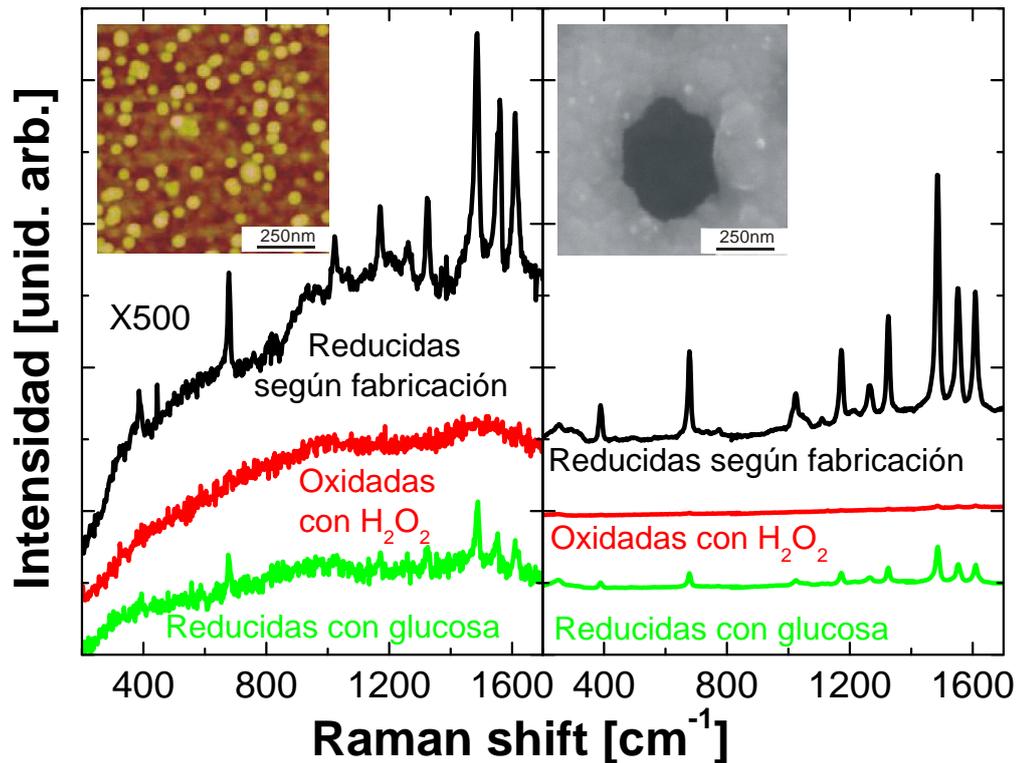
<sup>10</sup>Ver Capítulo 6 para más detalles.

unión a través del anillo aromático permite que todos los complejos de Os estén “conectados” electrónicamente al sustrato. Por otra parte, observamos que las señales reaparecen cuando reducimos la muestra al estado inicial ( $\text{Os}^{II}$ ) y vuelve la transición electrónica MLCT del complejo de Os, es decir, nos acoplamos tanto a la resonancia electrónica de la molécula como a la plasmónica del sustrato, dando lugar a procesos **SERRS**. En el panel d) presentamos la evolución de la intensidad de la señal más intensa ( $1483\text{cm}^{-1}$ ) en función del tiempo, o equivalentemente del potencial electroquímico, siendo más notoria la afirmación anterior. Este comportamiento es similar al estudio de multicapas de PAH-Os realizado en sustratos de Au(111) y descrito en el Capítulo 6, pero en este caso sólo utilizamos una fracción de monocapa.

#### 8.4.5 Aumento en la sensibilidad 1: Nanosensores de glucosa

Otro punto importante que queremos analizar en estos sustratos SERS es el referido al aumento en la sensibilidad que confieren estos sistemas para realizar experimentos analíticos. Por ello comparamos la respuesta dada por el funcionamiento del nanosensor de glucosa que introdujimos en el Capítulo 6 cuando utilizamos como sustratos primero una superficie de Au lisa y luego un arreglo de nanocavidades de Ag. En el panel izquierdo de la Fig. 8.24 presentamos otra vez los espectros Raman medidos sobre una placa de Au(111) para determinar el funcionamiento del nanosensor de glucosa que discutimos en la Sec. 6.2.2. Estas mediciones las realizamos utilizando  $10\text{mW}$  de potencia de la línea láser de  $514.5\text{nm}$  con  $120\text{s}$  de adquisición. Allí notamos que la señal Raman del complejo de Os aparecía según el estado de oxidación. Así vimos los picos característicos del complejo de Os inmediatamente después de fabricarlas (*Reducidas según fabricación* en el estado  $\text{Os}^{II}$ ), luego estas señales desaparecen cuando las oxidamos (*Oxidadas con  $\text{H}_2\text{O}_2$*  al estado  $\text{Os}^{III}$ ) y reaparecen cuando ponemos a los nanosensores en contacto con una solución de glucosa (*Reducidas con glucosa* al estado  $\text{Os}^{II}$ ). La imagen AFM del *inset* muestra unos  $\sim 100$  nanosensores/ $\mu\text{m}^2$  (puntos brillantes).<sup>11</sup> En el panel derecho presentamos los mismos experimentos pero realizados sobre un sustrato conformado por nanocavidades de Ag de  $700\text{nm}$  de diámetro y  $h \sim 0.7$  bajo las mismas condiciones de medición pero utilizando solamente  $1\text{s}$  de adquisición (intensidades normalizadas entre ambos paneles). Para este caso mostramos en el *inset* una imagen SEM de la muestra donde también se pueden ver unos  $\sim 80$  nanosensores/ $\mu\text{m}^2$  (puntos más brillantes). Vemos además que las señales se incrementaron unas 500 veces mejorando notablemente la relación señal ruido. La respuesta general del sensor, mientras tanto, se mantiene inalterada. La gran amplificación que brindaron estas nanocavidades nos permitió realizar la curva de calibración del nanosensor en función de la concentración de glucosa que mostramos y discutimos a partir de la Fig. 6.18 en la Sec. 6.2.2. Todos estos resultados confirman las potencialidades de estos sustratos en aplicaciones analíticas.

<sup>11</sup>Imagen tomada por L. Pietrasanta y P. Scodeller, FCEyN - UBA.

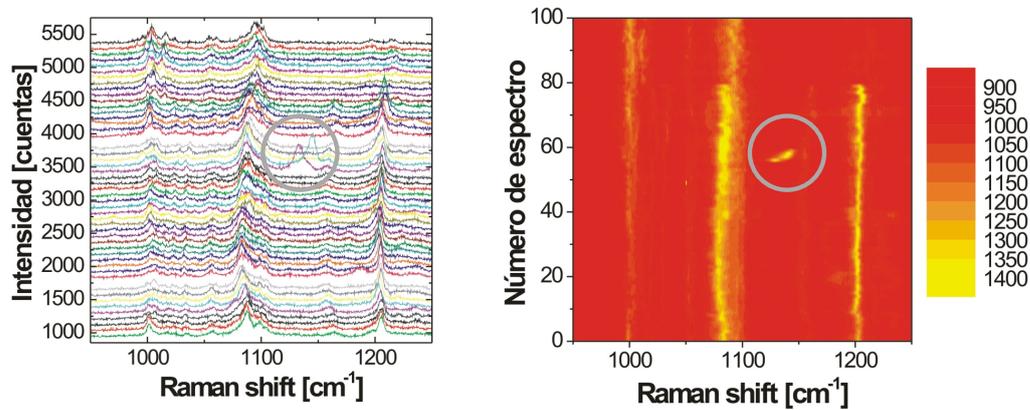


**Figura 8.24:** Comparación entre las señales correspondientes a la prueba de funcionamiento del nanosensor de glucosa, presentado en la Sec. 6.2.2, cuando lo depositamos sobre un sustrato de Au(111) (panel izquierdo) y cuando lo hacemos sobre una nanocavidad de Ag de 700nm de diámetro y  $h \sim 0.7$  (Panel derecho). Las mediciones Raman se realizaron utilizando la línea láser de 514.5nm, 10mW de potencia, y según el sustrato 120s (Au(111)) o 1s (cavidades de Ag) de adquisición. Cuando utilizamos el sustrato con las nanocavidades observamos el mismo comportamiento pero con señales 500 veces más intensas, por lo tanto amplificando en esa cantidad la sensibilidad del nanosensor. Los *inset* muestran imágenes AFM y SEM donde observamos a los nanosensores (puntos brillantes), cuya concentración se mantiene alrededor de  $\sim 80\text{-}100/\mu\text{m}^2$  para ambos casos.

#### 8.4.6 Aumento en la sensibilidad 2: ¿Moléculas individuales?

El último ejemplo que presentamos tiene que ver con el límite máximo que se espera cuando se desarrolla un nuevo sustrato SERS: la observación de moléculas discretas, idealmente únicas. El experimento que realizamos consiste primero en modificar una nanocavidad de Ag ( $d = 700\text{nm}$  y  $h \sim 0.7$ ) con un autoensamblado de 4-mercaptopiridina de manera análoga a la descrita en la Sec. 8.4.1. Luego utilizamos como excitación Raman la línea láser de 514.5nm con 3mW de potencia focalizados en un spot circular de  $\sim 1\mu\text{m}$  de diámetro. En esta configuración realizamos 100 mediciones Raman de 1s de adquisición siempre en la misma posición sobre la muestra. En la Fig. 8.25 presentamos los resultados de este experimento mostrando todos los espectros como curvas desplazadas dentro de la misma figura (panel izquierdo) y como un mapa de intensidades en función del

número de espectro (panel derecho). En ambos paneles podemos ver que todos los picos de la 4-mercaptopiridina sufren corrimientos en función del tiempo, incluso llegando hasta los  $\sim 15\text{cm}^{-1}$ , principalmente aquel centrado en  $\sim 1100\text{cm}^{-1}$ . Además, hay cambios entre las intensidades relativas que guardan estas señales Raman, ver por ejemplo el cambio en relación de intensidades entre los picos de  $\sim 1000$  y  $\sim 1200\text{cm}^{-1}$  entre los primeros y últimos 20 espectros. Notamos también que en algunos espectros aparecen picos bien definidos en regiones donde antes no existían, posiblemente debido a procesos fotoquímicos[125] (ver región indicada con círculos grises). Todos estos comportamientos son indicativos de la detección de unas pocas moléculas,[5, 126] donde variaciones en las respuestas de moléculas individuales, ya sean cambios configuracionales o estructurales, repercuten en la señal total. Esto está en oposición a lo que ocurre cuando detectamos una gran cantidad de moléculas, donde la estadística proveniente de una población mayor elimina las fluctuaciones de las señales.



**Figura 8.25:** Espectros Raman de 4-mercaptopiridina ensamblada sobre un arreglo de nanocavidades de Ag ( $d = 700\text{nm}$  y  $h \sim 0.7$ ) utilizando la línea láser de  $514.5\text{nm}$  con  $3\text{mW}$  de potencia focalizados en un spot circular de  $\sim 1\mu\text{m}$  de diámetro y medidos con  $1\text{s}$  de adquisición siempre en la misma posición sobre la muestra hasta alcanzar los 100 espectros. Presentamos en el panel izquierdo todos los espectros desplazados verticalmente y en el derecho un mapa de intensidad Raman en función del número de espectro.

## 8.5 Conclusiones

Implementamos y optimizamos el método de fabricación de nanocavidades metálicas de Au y Ag. Controlamos tanto el ensamblado de moldes de nanopartículas de látex con diámetros entre  $500$  y  $900\text{nm}$  ordenadas dentro de monocapas extendidas en áreas de  $\sim 1\text{cm}^2$  como el electrodeposito escalonado de los metales dentro de una misma muestra, permitiéndonos obtener substratos con gradientes para la altura de la cavidad,  $h$ . Estudiamos en detalle las propiedades plasmónicas que presentan las nanocavidades de Au ordenadas con tamaños característicos entre  $500$  y  $800\text{nm}$ . Determinamos la presencia

de dos tipos de plasmones, propagante o de Bragg y localizados o de Mie. Vimos que los primeros presentan una relación de dispersión en función del ángulo de incidencia de la excitación incidente y que aparecen principalmente para valores de alturas de cavidades  $h < \sim 0.4$ . Por otra parte, los plasmones de Mie aparecen para  $\sim 0.2 < h$ , no sufren dispersiones en función del ángulo de incidencia, pero sí en función del valor de  $h$  o truncamiento de la cavidad debido a cambios en las condiciones de confinamiento del campo electromagnético del plasmón. Observamos por primera vez la distribución de campo plasmónico de este tipo de nanoestructuras a través de microscopía SNOM. Encontramos muy buen acuerdo entre los datos experimentales para la distribución de campo de los plasmones y los modos observados por reflectividad óptica, y resultados simulados a través de cálculos teóricos.

Hemos correlacionado la presencia de los plasmones en las reflectividades ópticas con la presencia de máximos en la intensidad Raman de moléculas, tanto en función del diámetro de las cavidades, su grado de truncamiento, como en función del ángulo de incidencia de excitación. Encontramos que existen procesos de resonancias *incoming* y *outgoing* responsables de nuevos máximos en la intensidad Raman que están corridos respecto de la energía del plasmón en un valor igual a la energía de la vibración que miramos del sistema molecular. No obstante, no podemos descartar fenómenos de amplificación debido a plasmones localizados originados en regiones de la nanoestructura similares a las puntas de una corona, donde aparecen prismas pseudo-trianguulares de unos  $\sim 100nm$ , que actúan como nanopartículas cuya dispersión es poco sensible a cambios en el ángulo de excitación. Todos los resultados experimentales de este capítulo muestran claramente que somos capaces de excitar selectivamente a los diferentes modos plasmónicos a través de la variación de diferentes parámetros de medición y/o fabricación: longitudes de onda y/o ángulos de excitación, diámetro y/o truncamiento de la cavidad metálica, y elección del metal electrodepositado.

Por último, aplicamos estos novedosos substratos al estudio de sistemas moleculares constituidos por 4-mercaptopiridina, Flavinas o complejos de Os autoensamblados. Encontramos que las nanoestructuras presentan señales homogéneas dentro del 10% en regiones espaciales que rondan la centena de  $\mu m^2$ . También vimos que, debido a su capacidad de amplificación y sintonización de modos plasmónicos, son útiles para experimentos con electroquímica *in-situ* de sistemas cuyos cubrimientos moleculares son inferiores al de monocapa. Esto es posible gracias a la facilidad para realizar acoplamientos entre láseres y resonancias Raman electrónicas de las moléculas y plasmónicas del substrato, dando lugar al SERRS. Finalmente, vimos que sus propiedades de amplificación son muy importantes para aplicaciones analíticas. Primero mejorando las señales y posibilitando obtener una curva de calibración para el nanosensor de glucosa que estudiamos y contribuimos a desarrollar en esta tesis. En segundo lugar, y a través de fluctuaciones en la señal Raman, presentando evidencia de la detección de moléculas individuales.



## Capítulo 9

# Conclusiones Generales

Las conclusiones de esta tesis doctoral pueden separarse en dos grandes líneas. En primer lugar están aquellas relacionadas con las respuesta plasmónica y SERS de los distintos substratos nanoestructurados que estudiamos: láminas de Au rugosadas electroquímicamente, nanopartículas de Au autoensambladas, nanopartículas de Ag infiltradas en matrices de óxidos metálicos con poros ordenados tridimensionalmente, y arreglos de nanocavidades metálicas ordenadas bidimensionalmente. En segundo lugar podemos agrupar las conclusiones referidas a las propiedades estructurales y funcionales de los diferentes sistemas moleculares biomiméticos y de reconocimiento molecular que analizamos: autoensamblados de Azul de Metileno o Flavinas sobre monocapas de azufre, tioladas y membranas fosfolípidas biomiméticas con permeabilidad selectiva, y diferentes superficies de Au autoensambladas con multicapas de complejos de Os que actúan como cables moleculares en nanosensores para reconocimiento de glucosa.

Comenzamos entonces con las conclusiones referidas a las propiedades plasmónicas y la respuesta SERS que encontramos en las distintas nanoestructuras metálicas.

Primero exploramos la posibilidad de manipular la respuesta plasmónica de films de Au rugosados electroquímicamente a través del congelamiento del proceso natural de relajación de las nanoestructuras de Au en diferentes estadios según los baños de inmersión utilizados luego del proceso electroquímico. Esto nos permitió obtener substratos rugosos con diferentes valores de áreas específicas pero con una respuesta plasmónica similar, centrada en  $\sim 650nm$  con ancho a media altura de  $\sim 100nm$ , y factores de amplificación cercanos a  $10^3$ . También vimos que la amplificación SERS tiene un carácter muy local cerca del substrato permitiendo descartar señales provenientes del electrolito en experimentos realizados en fase líquida. Por otra parte, siguiendo con las características de este tipo de substratos para SERS, utilizamos la dependencia con la distancia que tiene la amplificación electromagnética para ubicar tridimensionalmente a moléculas de Azul de Metileno (MB) y Flavina Adenina Dinucleótida (FAD) en los diversos entornos orgánicos donde los estudiamos (azufre, tioles metálicos y carboxílicos y membranas fosfolípidas), incluso durante procesos electroquímicos. Notamos que la homogeneidad de las señales y, sobre todo, la repetibilidad en la fabricación de muestras que se obtienen con este tipo de

substratos son temas muy delicados, causando que la comparación de los resultados sea muchas veces difícil de llevar a cabo con uno o pocos sets de datos.

Para analizar la respuesta óptica de autoensamblados con nanopartículas de Au estudiamos sistemas autoensamblados capa por capa donde intercalamos las nanopartículas de Au con un polímero redox formado por un complejo constituido por un centro de Os rodeado por piridinas y bipyridinas (PAH-Os) y cuya absorción óptica más importante, la correspondiente a la transferencia de carga entre el metal y los ligando, cae alrededor de  $515\text{nm}$ . Aquí presentamos una investigación detallada sobre la estructura y respuesta óptica de este tipo de multicapas autoensambladas (PAH-Os/nano-Au). Imágenes AFM y mediciones VASE indican que utilizando nanopartículas de  $20\text{nm}$  la primera capa crece homogéneamente, cubriendo parcialmente al sustrato sin presentar una gran cantidad de agregados de nanopartículas. El proceso de crecimiento evoluciona llenando los espacios existentes entre las nanopartículas y luego de cinco ciclos de inmersión en el coloide durante la fabricación sólo dos capas compactas de nanopartículas son ensambladas. La primera capa adsorbida de estas nanopartículas corre el máximo del perfil Raman desde la resonancia electrónica de la transición MLCT del polímero hacia menores energías, evidenciando además un aumento en la señal Raman de la PAH-Os. Este corrimiento y amplificación con causados por la resonancia electromagnética con los plasmones de las nanopartículas de Au a  $530\text{nm}$ . La multicapa con cinco ciclos de inmersión posee una estructura más compacta, presentando una interacción efectiva entre plasmones que proporciona una nueva absorción óptica alrededor de  $650\text{nm}$ . Esta absorción debida a plasmones acoplados lleva a un nuevo máximo en la amplificación SERS. Micromapas Raman realizados sobre una muestra especial con un mayor número de agregados de nanopartículas muestran la alta dilución de los hot-spots y su gran amplificación sumamente localizada espacialmente. Utilizando un modelo numérico, dentro de la aproximación de dipolos discretos con distribuciones de nanopartículas comparables a las estudiadas en las multicapas, autoensambladas reproducimos cualitativamente las absorciones debido a los plasmones, tanto independientes como acoplados, e incluso modelamos la existencia de hot-spots.

En tercer lugar estudiamos la respuesta plasmónica y SERS de matrices de óxidos metálicos con nanoporos ordenados tridimensionalmente infiltradas con nanopartículas de Ag, Ag@MONO-3D. Encontramos que estos sistemas nos brindan cierto grado de control sobre las interacciones entre nanopartículas de Ag, permitiéndonos modificar levemente la posición de las resonancias plasmónica. Observamos que la respuesta en cuanto a amplificación SERS es muy superior a la presentada por un film de Au rugoso y comparable con aquella de Ag rugosa. Notamos que las Ag@MONO-3D presentan una homogeneidad espacial para la señal SERS que no encontramos en ninguna de las dos nanoestructuras anteriores, demostrando las potencialidades que posee esta estrategia de diseño para nuevos substratos SERS.

Para el cuarto y último sustrato SERS que estudiamos primero tuvimos que lograr implementar y optimizar el método de fabricación de nanocavidades metálicas de Au y Ag con éxito. Finalizamos este proceso controlando tanto el ensamblado de moldes de

nanopartículas de látex con diámetros entre 500 y 900nm ordenadas dentro de monocapas extendidas en áreas de  $\sim 1\text{cm}^2$  como el electrodepósito escalonado de los metales dentro de una misma muestra, permitiéndonos obtener sustratos con gradientes para la altura de la cavidad,  $h$ . Luego realizamos el estudio en detalle de las propiedades plasmónicas que presentan las nanocavidades de Au ordenadas con tamaños característicos entre 500 y 800nm. Determinamos la presencia de dos tipos de plasmones, propagante o de Bragg y localizados o de Mie. Vimos que los primeros presentan una relación de dispersión en función del ángulo de incidencia de la excitación incidente y que aparecen principalmente para valores de alturas de cavidades  $h < \sim 0.4$ . Por otra parte, los plasmones de Mie aparecen para  $\sim 0.2 < h$ , no sufren dispersiones en función del ángulo de incidencia, pero sí en función del valor de  $h$  o truncamiento de la cavidad debido a cambios en las condiciones de confinamiento del campo electromagnético del plasmón. Observamos por primera vez la distribución de campo plasmónico de este tipo de nanoestructuras a través de microscopía SNOM. Encontramos muy buen acuerdo entre los datos experimentales para la distribución de campo de los plasmones y los modos observados por reflectividad óptica, y resultados simulados a través de cálculos teóricos preexistentes.

Hemos correlacionado la presencia de los plasmones en las reflectividades ópticas con la presencia de máximos en la intensidad Raman de moléculas, tanto en función del diámetro de las cavidades, su grado de truncamiento, como en función del ángulo de incidencia de excitación. Encontramos que existen procesos de resonancias *incoming* y *outgoing* responsables de nuevos máximos en la intensidad Raman que están corridos respecto de la energía del plasmón en un valor igual a la energía de la vibración que miramos del sistema molecular. No obstante, no podemos descartar fenómenos de amplificación debido a plasmones localizados originados en regiones de la nanoestructura similares a las puntas de una corona, donde aparecen prismas pseudo-trianguulares de unos  $\sim 100\text{nm}$ , que actúan como nanopartículas cuya dispersión es poco sensible a cambios en el ángulo de excitación. Todos los resultados experimentales de este capítulo muestran claramente que somos capaces de excitar selectivamente a los diferentes modos plasmónicos a través de la variación de diferentes parámetros de medición y/o fabricación: longitudes de onda y/o ángulos de excitación, diámetro y/o truncamiento de la cavidad metálica, y elección del metal electrodepositado.

Por último, aplicamos estos novedosos sustratos al estudio de sistemas moleculares constituidos por 4-mercaptopiridina, Flavinas o complejos de Os autoensamblados. Encontramos que las nanoestructuras presentan señales homogéneas dentro del 10% en regiones espaciales que rondan la centena de  $\mu\text{m}^2$ . También vimos que, debido a su capacidad de amplificación y sintonización de modos plasmónicos, son útiles para experimentos con electroquímica *in-situ* de sistemas cuyos cubrimientos moleculares son inferiores al de monocapa. Esto es posible gracias a la facilidad para realizar acoplamientos entre láseres y resonancias Raman electrónicas de las moléculas y plasmónicas del sustrato, dando lugar al SERRS. Finalmente, vimos que sus propiedades de amplificación son muy importantes para aplicaciones analíticas. Primero mejorando las señales y posibilitando obtener

una curva de calibración para el nanosensor de glucosa que estudiamos y contribuimos a desarrollar en esta tesis. En segundo lugar, y a través de fluctuaciones en la señal Raman, presentando evidencias de la detección de moléculas individuales.

Por lo expuesto, en el transcurso de la tesis estudiamos nanoestructuras metálicas que fueron creciendo en complejidad, tanto desde el punto de vista de la fabricación como de aquél relacionado a la respuesta plasmónica y SERS. Recorrimos un camino que comenzó con sustratos de Au rugosos con amplificaciones cercanas a  $10^3$  y una respuesta plasmónica ancha y poco sensible a cambios en los parámetros de fabricación. Luego pasamos por nanopartículas de Au autoensambladas que presentaron una estructura de doble resonancia relacionada con plasmones de nanopartículas aisladas e interactuantes, con una amplificación espacialmente muy inhomogénea y con zonas, denominadas hot-spots, cuyas amplificaciones llegaban a valores cercanos a  $10^5$ . Continuamos luego con las matrices de óxidos metálicos con nanoporos ordenados tridimensionalmente e infiltrados con nanopartículas de Ag. En estos sistemas vimos que la sintonización de los plasmones se podía flexibilizar de cierta manera según parámetros de fabricación. Además observamos que presentaban amplificaciones importantes, superiores a las del Au rugosado, y sobre todo muy homogéneas en cuanto a distribución espacial se refiere. Por último, implementamos la fabricación de nanoestructuras metálicas ordenadas bidimensionalmente. Durante el diseño de estos sistemas y haciendo uso de los parámetro de fabricación fuimos capaces de controlar la respuesta plasmónica de estas nanoestructuras. Obtuvimos una respuesta SERS muy homogénea espacialmente y amplificaciones importantes que nos permitieron observar señales Raman de moléculas individuales.

En lo referido al estudio de las propiedades estructurales y funcionales de los sistemas orgánicos biomiméticos y de reconocimiento molecular obtuvimos las siguientes conclusiones.

Hemos logrado observar cubrimientos de MB con sensibilidades menores a una monocapa tanto con espectroscopía Raman amplificada por resonancias electrónicas de la molécula, como con SERS. Estos experimentos nos han permitido determinar comparativamente el cubrimiento de MB en espaciadores de azufre y de tioles, independientemente de la actividad electroquímica del MB. Los datos Raman nos muestran que la eficiencia para inmovilizar MB sobre S es mayor que en tioles carboxilados y ésta es a su vez mayor que en tioles metílicos con una relación aproximada S/carboxílicos/metílicos cercana a 1/0.4/0.3. Además, a través del análisis de la dependencia de la señal Raman con la distancia al metal, los datos SERS nos dieron importante información acerca de la ubicación espacial promedio de las moléculas de MB en los diferentes ambientes orgánicos. Del análisis semicuantitativo que presentamos podemos decir que el MB está más cerca del Au cuando el espaciador es S, seguido por PT y DT y está más alejado para MPA y MUA. Sumado a esto, vimos que los cambios en los espectros Raman nos brindan información estructural acerca de los mecanismos de pegado y orientaciones de la molécula de MB. Así, encontramos que el MB se une al S probablemente a través de interacciones con los grupos dimetilaminas y no a través de interacciones sulfuro-sulfuro. Adicionalmente,

observamos algunas diferencias en los espectros Raman para el MB inmovilizado sobre tioles metílicos y carboxílicos, sugiriendo que pueden existir orientaciones diferentes para el MB ensamblado en estos dos casos.

Otras conclusiones que extrajimos de este sistema tienen que ver con las interacciones del MB con los films orgánicos. Vimos que una buena cantidad de especies MB pueden difundir a través de las cadenas carbonadas, mostrando propiedades lipofílicas, pero también existen interacciones electrostáticas entre el MB y las terminaciones carboxílicas de algunos tioles que mantienen a la molécula por fuera del espaciador. Este tipo de afirmaciones están relacionadas con el comportamiento electroquímico del MB en los diferentes ambientes. Así vemos que el MB está mejor conectado para realizar procesos de intercambios de carga con el sustrato cuanto más cerca esté del mismo. Observamos estos comportamientos con espectroscopía SERS y electroquímica *in-situ*. En estos experimentos las señales Raman cambian a lo largo del ciclo electroquímico según el estado de oxidación del MB, y los residuos de estas señales en potenciales determinados nos dan información sobre el grado de conectividad alcanzado por el MB dependiendo del espaciador. Además, utilizando las variaciones en la intensidad SERS que medimos cuando las muestras están secas o mojadas en diferentes soluciones, demostramos que los diferentes espaciadores presentan distintos grados de pérdida de MB hacia la solución causado principalmente por dos mecanismos: i) la difusión molecular inducida por gradientes de concentración y ii) el desplazamiento iónico, actuando sólo en soluciones de NaOH sobre los tioles carboxílicos. Además encontramos evidencia de una migración de la molécula de MB dentro de las cadenas carbonadas del MUA debido a un proceso de bloqueo iónico que se produce cuando utilizamos la solución de NaOH.

Por último, en lo que refiere al sistema de MB, hemos estudiado membranas fosfolípidas biomiméticas de DMPC para albergar moléculas de MB y FAD. Encontramos que, gobernadas por fuerzas lipofílicas-lipofóbicas, las moléculas de MB pueden penetrar la membrana y todas aquellas que se encuentran a distancias menores a los  $\sim 2nm$  del sustrato de Au son electroquímicamente activas. Por otra parte, las moléculas de FAD están incapacitadas de penetrar a la membrana en su totalidad debido a la región lipofóbica que poseen. Finalmente, vimos que estas membranas son capaces de separar moléculas lipofílicas de las lipofóbicas en una solución que contenga a ambas, permitiendo su detección tanto por métodos electroquímicos como ópticos.

Respecto a los autoensamblados con el complejo de Os comenzamos realizando un estudio de las propiedades ópticas de multicapas autoensambladas (PAH-Os/PVS)<sub>n</sub> donde observamos una absorción óptica alrededor de  $510nm$  relacionada con una transición de transferencia de carga metal-ligando (MLCT). Esta transición electrónica nos permite determinar el estado de oxidación del polímero PAH-Os cuando efectuamos experimentos Raman resonantes con dicha absorción óptica, convirtiendo al PAH-Os en un “cable molecular” interrogable ópticamente. Basado en esta importante propiedad del complejo de Os y aprovechando la respuesta plasmónica de las nanopartículas de Au diseñamos un opto-nanobiosensor para medir concentraciones de glucosa a través de la respuesta óptica

Raman. Para ello se autoensamblaron multicapas (PAH-Os/GOx)<sub>n</sub> sobre nanopartículas de Au de 20nm de diámetro donde las capas de enzimas están cableadas hasta el núcleo SERS activo dado por la nanopartícula metálica debido a la presencia de la PAH-Os. La interrogación del sensor es a través de la recuperación de la señal Raman resonante con la transición MLCT del estado reducido, PAH-Os<sup>II</sup>, cuando el sensor, inicialmente en el estado oxidado, PAH-Os<sup>III</sup>, es colocado en presencia de glucosa.

Los trabajos desarrollados en su conjunto han contribuido al estudio fundamental de fenómenos moleculares y de la plasmónica. Así mismo, las estrategias SERS desarrolladas abren la posibilidad de explorar aplicaciones analíticas cuantitativas y la detección ultrasensible de moléculas.

## Apéndice A

# Modelo de Lorentz para la polarización atómica o molecular

Plasmones en nanoestructuras metálicas, estructura electrónica y vibracional de moléculas, espectroscopías Raman, de absorción UV-Vis, IR y elipsometría son tópicos esenciales a esta tesis y todos están relacionados con el concepto de polarización óptica. Por ello decidimos escribir este apéndice relacionado con uno de los modelos más sencillos para entender la respuesta óptica de moléculas y materia condensada: el modelo del oscilador de Lorentz.

### A.1 El oscilador de Lorentz

#### A.1.1 Fundamentos

La polarización óptica lineal de una molécula está enteramente determinada por su estructura electrónica. En el siglo pasado H. A. Lorentz propuso un modelo que consiste en tratar la interacción entre una onda electromagnética y un estado electrónico particular como un oscilador armónico amortiguado clásico de frecuencia natural  $\omega_0$ . Esta aproximación está justificada debido a que la acción del campo es una pequeña perturbación a las interacciones reales que sienten los electrones. La ecuación de movimiento para la coordenada  $\vec{r}$  representando una pequeña perturbación de los electrones respecto al estado fundamental a partir de la presencia de un campo eléctrico externo  $\vec{E}$  viene dada por:

$$m \left( \frac{d^2 \vec{r}}{dt^2} + \omega_0^2 \vec{r} + \gamma \frac{d\vec{r}}{dt} \right) = -e \vec{E}, \quad (\text{A.1})$$

donde  $\gamma$  es el “coeficiente de disipación” que modela fenomenológicamente todas las interacciones internas y externas de la nube de electrones con todas aquellas cosas que no sean el campo eléctrico y la fuerza restitutiva de los iones. Tanto  $-e$  como  $m$  pueden ser tomadas como cargas y masas efectivas cuando sea relevante. La ecuación A.1 puede ser fácilmente resuelta usando notación compleja para campos armónicos. Tomando  $\vec{E} = \text{Re}[\vec{E}_0 e^{-i\omega t}]$ ,

encontramos una solución de la forma  $\vec{r} = \text{Re}[\vec{r}_0 e^{-i\omega t}]$  y obtenemos:

$$\vec{r}_0 = \frac{-e/m}{(\omega_0^2 - \omega^2 - i\gamma\omega)} \vec{E}_0. \quad (\text{A.2})$$

El momento dipolar eléctrico inducido (complejo) está dado por  $\vec{p}_0 = -e\vec{r}_0$ . Además, como por definición la polarización óptica lineal está dada por  $\vec{p}_0 = \alpha_L(\omega) \vec{E}_0$ , deducimos:

$$\alpha_L(\omega) = \frac{e^2/m}{(\omega_0^2 - \omega^2 - i\gamma\omega)}, \quad (\text{A.3})$$

que es la *polarización óptica lineal clásica*. Notamos que  $\alpha_L(\omega)$  es usualmente compleja, por lo tanto introduce un corrimiento de fase entre el campo incidente y el dipolo inducido. En mecánica cuántica, el numerador de esta expresión es proporcional al elemento de matriz de transición dipolar; [127] siendo una medida de la fuerza del oscilador. Además,  $\omega_0$  es la diferencia en energía entre dos estados electrónicos que están conectados por una transición dipolar permitida por reglas de simetría, mientras que  $\gamma$  representa todas las contribuciones disipativas provenientes de interacciones de órdenes superior con el ambiente y decaimientos radiativos.

### A.1.2 Transiciones múltiples

Una molécula puede tener más de una resonancia electrónica en cuyo caso la polarización óptica lineal puede ser generalizada con una suma de la forma:

$$\alpha_L(\omega) = \frac{e^2}{m} \sum_i \frac{f_i}{(\omega_i^2 - \omega^2 - i\gamma_i\omega)}, \quad (\text{A.4})$$

donde  $f_i$  es la fuerza del oscilador de la transición centrada en  $\omega_i$  con constante de amortiguamiento  $\gamma_i$ . Las fuerzas de los osciladores deben cumplir la siguiente regla de suma  $\sum_i f_i = Z$ , donde  $Z$  es el número de electrones de la molécula. [19]

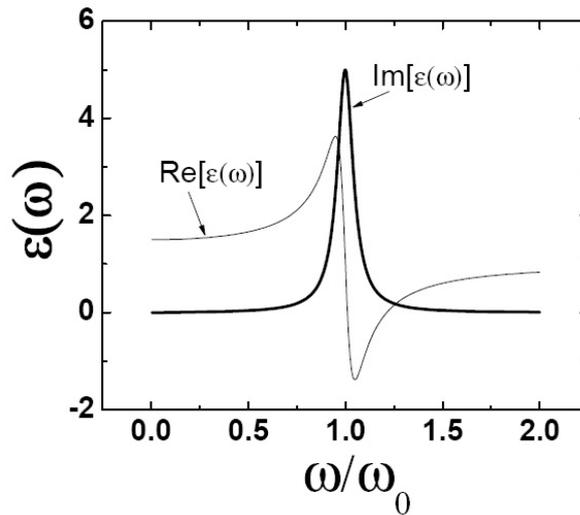
## A.2 Relación con propiedades macroscópicas

### A.2.1 Función dieléctrica en un medio diluido

En un medio diluido, las interacciones mutuas entre átomos o moléculas puede ser despreciadas y, por consiguiente, podemos ignorar las correcciones por campo cercano. [19] Esto es equivalente a asumir que la función dieléctrica (y el índice de refracción) es cercana a 1,  $\epsilon(\omega) \approx 1$  (i.e. el medio no es fuertemente activo ópticamente). En este caso, las contribuciones individuales de cada molécula simplemente se suman. Si hay  $n$  moléculas por unidad de volumen, la polarización inducida total es  $\vec{P} = n\alpha_L \vec{E}$ , y simplemente obtenemos:

$$\epsilon(\omega) = 1 + \frac{n\alpha_L(\omega)}{\epsilon_0} = 1 + \frac{\frac{ne^2}{m\epsilon_0}}{(\omega_0^2 - \omega^2 - i\gamma\omega)}. \quad (\text{A.5})$$

En la figura A.1 mostramos gráfico correspondientes a  $\text{Re}[\epsilon(\omega)]$  e  $\text{Im}[\epsilon(\omega)]$  como función de la frecuencia reducida  $\omega/\omega_0$ .



**Figura A.1:** Partes real e imaginaria de  $\epsilon(\omega)$  alrededor de la región de la frecuencia de resonancia  $\omega_0$  (tomadas de la Ref. [18]). El dibujo fue generado para las cantidades adimensionales  $(n e^2/m \epsilon_0 \omega_0^2) = 0.5$  y  $(\gamma^2/\omega_0^2) = 0.01$ . La parte real sufre un incremento a medida que nos aproximamos a la resonancia por el lado de las energías menores,  $(\omega/\omega_0) < 1$ , y puede alcanzar valores negativos cuando  $(\omega/\omega_0) > 1$  dependiendo de la fuerza del oscilador. La región alrededor de  $\omega_0$  donde  $Re[\epsilon(\omega)]$  tiene una derivada negativa es conocida en óptica como región de dispersión anómala.[19]

### A.2.2 Función dieléctrica en sólidos

La ecuación A.5 representa la contribución de una o algunas pocas transiciones a la función dieléctrica  $\epsilon(\omega)$  y esto es típico en moléculas. En sólidos, por cierto, los niveles electrónicos pueden formar un continuo de transiciones y, por consiguiente, la contribución debe ser integrada (en vez de sumada) con una función de peso proporcional a la densidad de estados electrónicos. El resultado final es una función dieléctrica que no luce como una mera suma de Lorentzianas, sino que tienen una dependencia en frecuencia mucho más complicada que refleja la integración sobre las densidades de estados. Sin entrar en más detalles mencionamos que ésto lleva a la teoría de puntos críticos en funciones dieléctricas ampliamente utilizada en semiconductores.[128]

### A.2.3 Función dieléctrica en metales

Nos queda por estudiar un último caso relacionado con electrones en un metal. Allí los electrones pueden moverse por la acción de un campo eléctrico externo sin tener una fuerza restitutiva (dentro del mismo esquema del oscilador), siendo la máxima velocidad accesible por los electrones limitada por procesos de *scattering*. De acuerdo con esto, si una cierta fracción de los electrones (con densidad  $n_c$ ) puede moverse libremente, como puede ocurrir con los electrones de conducción de los metales, podemos considerar que esos electrones

poseen una frecuencia de resonancia  $\omega_0 = 0$  por lo que la ecuación A.5 se reduce a:

$$\epsilon(\omega) = \epsilon_b(\omega) + \frac{n_c e^2}{m \epsilon_0 (\omega^2 + i \gamma \omega)}, \quad (\text{A.6})$$

donde  $\epsilon_b(\omega)$  es la contribución de fondo debido a todas las otras transiciones, las denominadas *transiciones inter-bandas*. La Ec. A.6 es lo que comunmente se conoce como *modelo de Drude* para la función dieléctrica de metales.

#### A.2.4 Funciones dieléctricas de plata y oro

Plata (Ag) y oro (Au) son por lejos los metales más utilizados en SERS. Por ello dedicamos un par de líneas para describir las expresiones analíticas basadas en el modelo descrito anteriormente que mejor ajustan a tres series de datos experimentales independientes obtenidas por Johnson and Christy, Palik y Sambles *et al.*[18]

##### Modelo para la función dieléctrica de Ag

Una buena parametrización del modelo de Drude para las propiedades ópticas de la plata en las regiones de UV cercano, visible e IR cercano está dada por:

$$\epsilon_{Ag}(\lambda) = \epsilon_\infty \left( 1 + \frac{1}{\lambda_p^2 \left( \frac{1}{\lambda^2} + \frac{i}{\mu_p \lambda} \right)} \right),$$

$$\text{donde :} \quad \epsilon_\infty = 4, \quad \lambda_p = 282nm, \quad \mu_p = 17000nm, \quad (\text{A.7})$$

y  $\lambda$  es la longitud de onda en  $nm$ .

Notar que es la misma expresión de Drude (ec. A.6), pero expresada en términos de la longitud de onda en lugar de la frecuencia:  $\lambda = 2\pi c/\omega$ .

##### Modelo para la función dieléctrica de Au

Las propiedades ópticas del Au son un poco más difíciles de representar con un modelo analítico debido a la presencia de al menos dos transiciones inter-banda centradas en  $\lambda \sim 470$  y  $325nm$  que tienen que ser incluidas en la constante dieléctrica  $\epsilon(\omega)$ . La forma de estas transiciones no se corresponden muy bien con un oscilador de Lorentz debido a los efectos de banda mencionados en la Sec. A.2.2 pero se puede modelar apropiadamente introduciendo otra familia de osciladores que no mencionaremos en este apéndice y que deben cumplir con requerimientos mínimos como la consistencia de Kramers-Krönig.[18] De esta manera las propiedades ópticas de Au pueden representarse relativamente bien,

como función de  $\lambda = 2\pi c/\omega$ , de la siguiente manera:

$$\epsilon_{Au}(\lambda) = \epsilon_{\infty} \left( 1 - \frac{1}{\lambda_p^2 \left( \frac{1}{\lambda^2} + \frac{i}{\mu_p \lambda} \right)} \right) + \sum_{n=1,2} \frac{A_n}{\lambda_n} \left( \frac{e^{i\phi_n}}{\frac{i}{\lambda_n} - \frac{1}{\lambda} - \frac{i}{\mu_n}} + \frac{e^{-i\phi_n}}{\frac{i}{\lambda_n} + \frac{1}{\lambda} + \frac{i}{\mu_n}} \right),$$

$$\begin{aligned} \text{donde :} \quad \epsilon_{\infty} &= 1.54, & \lambda_p &= 177.5nm, & \mu_p &= 14500nm, \\ A_1 &= 1.27, & \phi_1 &= -\pi/4, & \lambda_1 &= 470nm, & \mu_1 &= 1900nm, \\ A_2 &= 1.10, & \phi_2 &= -\pi/4, & \lambda_2 &= 325nm, & \mu_2 &= 1060nm. \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

Notar que en este caso, la frecuencia de plasma  $\lambda_p$  no tiene un significado físico directo, ya que las oscilaciones del plasma están afectadas por la presencia de transiciones interbanda y no se cumple que  $\epsilon(\lambda_p) = 0$  como para el modelo de Drude.



## Apéndice B

# Principio y Factores de Franck-Condon

En la primera parte de este apéndice explicaremos el principio de Franck-Condon de una manera cuántica e introduciremos los llamados factores de Franck-Condon. En la segunda parte mostraremos cómo se pueden calcular alguno de estos factores.

La forma cuantitativa del principio de Franck-Condon se deriva de la expresión para el momento de transición dipolar,  $\mu_{FI} = \langle ek | \mu | gi \rangle$ , con  $|gi \rangle$  y  $|ek \rangle$  funciones vibrónicas para los estados inicial y final, respectivamente. El operador de momento dipolar es una suma sobre todos los núcleos y electrones en la molécula:

$$\mu = -\mathbf{e} \sum_j \vec{r}_j + \mathbf{e} \sum_J Z_J \vec{R}_J, \quad (\text{B.1})$$

donde  $\mathbf{e}$  es la carga del electrón,  $Z_J$  es la cantidad de protones del núcleo  $J$  y  $\vec{r}_j$  y  $\vec{R}_J$  son las distancias vectoriales del electrón  $j$  y el núcleo  $J$ , respectivamente, medida desde el centro de carga de la molécula.

Entonces, utilizando la aproximación de *Born-Oppenheimer* (descomponiendo las funciones vibrónicas,  $|gi \rangle$ , en sus partes electrónicas,  $|g \rangle$ , y vibracionales,  $|gi \rangle$ ) factorizamos la expresión para el momento de transición dipolar de esta manera:

$$\mu_{ek,gi} = -\mathbf{e} \sum_j \langle e | \vec{r}_j | g \rangle \langle ek | gi \rangle + \mathbf{e} \sum_J Z_J \langle e | g \rangle \langle ek | \vec{R}_J | gi \rangle. \quad (\text{B.2})$$

El segundo término es cero porque  $\langle e | g \rangle = 0$  para estados electrónicos diferentes (ortogonales), mientras que en el primero  $\langle ek | gi \rangle \neq 0$  porque los estados vibracionales pertenecen a diferentes estados electrónicos, es decir, no son ortogonales por estar en espacios distintos. Entonces, la ecuación B.2 se reduce a:

$$\mu_{ek,gi} = -\mathbf{e} \sum_j \langle e | \vec{r}_j | g \rangle \langle ek | gi \rangle = \mu_{e,g} S(ek, gi), \quad (\text{B.3})$$

donde el elemento de matriz  $\mu_{e,g}$  es el momento de transición dipolar que surge a partir de la redistribución de electrones y  $S(ek, gi)$  es la integral de *overlap* entre los estados

vibracionales  $|gi\rangle$  del estado electrónico inicial de la molécula y  $|ek\rangle$  del estado excitado final.

Debido a que la intensidad de una transición es proporcional al cuadrado de la magnitud del momento de transición dipolar, la intensidad de una absorción es proporcional a  $|S(ek, gi)|^2$ , que se conoce como el *factor de Franck-Condon*. A esto le sigue que cuanto mayor es el *overlap* entre las funciones de onda vibracionales de los estados electrónicos excitado y fundamental, más grande es la intensidad de absorción para una transición electrónica y vibracional simultánea particular.

Manneback [129] ha derivado relaciones de recursión para los factores de Franck-Condon unidimensionales en el caso armónico general. Específicamente para el caso de iguales frecuencias obtiene:

$$(e0|g0) = \exp\left(\frac{-\Delta^2}{4}\right), \quad (\text{B.4})$$

$$(e(k+1)|gi) = \left(\frac{i}{k+1}\right)^{1/2} (ek|g(i-1)) - \Delta[2(k+1)]^{-1/2}(ek|gi), \quad (\text{B.5})$$

$$(ek|g(i+1)) = \left(\frac{k}{i+1}\right)^{1/2} (e(k-1)|gi) + \Delta[2(i+1)]^{-1/2}(ek|gi), \quad (\text{B.6})$$

donde  $\Delta$  es la diferencia entre las posiciones de equilibrio pertenecientes a cada estado electrónico expresado en coordenadas normales adimensionales. Si el estado inicial es el nivel vibracional fundamental, las ecuaciones B.4-B.6 pueden ser manipuladas para dar las siguientes funciones de  $\Delta$ , que son muy útiles para calcular los *overlaps* unidimensionales necesarios para calcular absorciones y espectros Raman:[130]

$$(g0|ek)(ek|g0) = |(ek|g0)|^2 = \left(\frac{s^k}{k!}\right) e^{-s}, \quad (\text{B.7})$$

$$(g1|ek)(ek|g0) = \frac{\Delta}{2^{1/2}} [|(ek|g0)|^2 - |(e(k-1)|g0)|^2], \quad (\text{B.8})$$

$$(g2|ek)(ek|g0) = 2^{-1/2} [s - 2k + \frac{k^2}{s}] |(ek|g0)|^2 - |(e(k-1)|g0)|^2, \quad (\text{B.9})$$

donde  $s = \frac{\Delta^2}{2}$ . De esta manera, el problema de evaluar la absorción y la sección eficaz Raman en la aproximación de separación armónica multidimensional[42, 43] se reduce a trabajar con funciones que dependen de tantos parámetros  $\Delta$  como vibraciones se quieran modelar.

# Publicaciones asociadas a esta Tesis

A continuación, enumeramos las publicaciones que realizamos asociadas a los diferentes capítulos de esta Tesis.

## Capítulo 5: SERS en Au rugoso: autoensamblados biomiméticos con Azul de Metileno

1. “*Exploring three-dimensional nanosystems with Raman spectroscopy: Methylene Blue adsorbed on thiols and sulfur monolayers on gold*”  
N. G. Tognalli, A. Fainstein, C. Vericat, M. E. Vela and R. Salvarezza  
*Journal of Physical Chemistry B* **110**, 354-360 (2006)
2. “*Immobilization of Methylene Blue on self-assembled iodine monolayers on gold*”  
M. E. Vela, C. Vericat, M. A. Daza Millone, M. Fonticelli, G. Benítez, R. C. Salvarezza, N. G. Tognalli and A. Fainstein  
*Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **6**, 2362-2367 (2006)
3. “*Restricted surface mobility of thiolate-covered metal surfaces: A simple strategy to produce high-area functionalized surfaces*”  
C. Vericat, G. A. Benitez, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, N. G. Tognalli and A. Fainstein  
*Langmuir* **23**, 1152-1159 (2007)
4. “*In situ Raman spectroscopy of redox species confined in self-assembled molecular films*”  
N. G. Tognalli, A. Fainstein, C. Vericat, M. E. Vela and R. C. Salvarezza  
*Journal of Physical Chemistry C* **112**, 3741-3746 (2008)
5. “*Spontaneously formed sulfur adlayers on gold in electrolyte solutions: Adsorbed sulfur or gold sulfide?*”  
P. G. Lustemberg, C. Vericat, G. A. Benitez, M. E. Vela, N. G. Tognalli, A. Fainstein, M. L. Martiarena and R. C. Salvarezza  
*Journal of Physical Chemistry C* ASAP Article; DOI: 10.1021/jp8029055 (2008)

6. “*In-situ Raman spectroscopy and electrochemistry of redox species confined in phospholipid bilayers*”  
M. A. Daza Millone, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, T. B. Creczynski-Pasa, N. G. Tognalli and A. Fainstein  
Enviado a *Chemistry - A European Journal* (2008)

## Capítulo 6: SERS con nanopartículas de Au: autoensamblados moleculares y nanosensores de glucosa con PAH-Os

1. “*Resonant Raman spectroscopy of PAH-Os self assembled multilayers*”  
N. G. Tognalli, A. Fainstein, C. Bonazzola and E. Calvo  
*Journal of Chemical Physics* **120**, 1905-1912 (2004)
2. “*SERS in PAH-Os and gold nanoparticle self assembled multilayers*”  
N. G. Tognalli, A. Fainstein, E. Calvo, C. Bonazzola, L. Pietrasanta, M. Campoy-Quiles and P. Etchegoin  
*Journal of Chemical Physics* **123**, 044707-1/9 (2005)
3. “*Electron transfer at Au surfaces modified by tethered osmium bipyridine-pyridine complexes*”  
A. Ricci, C. Rolli, S. Rothacher, L. Baraldo, C. Bonazzola, E. J. Calvo, N. G. Tognalli and A. Fainstein  
*Journal of Solid State Electrochemistry* **11**, 1511-1520 (2007)
4. “*Wired-enzyme core-shell Au nanoparticle biosensor*”  
P. Scodeller, V. Flexer, R. Szamocki, E. J. Calvo, N. G. Tognalli, H. Troiani and A. Fainstein  
Aceptado en *Journal of the American Chemical Society* (2008)
5. “*IR-Vis-UV variable angle spectroscopic ellipsometry of (PAH-Os/PVS)<sub>n</sub> self assembled multilayers*”  
N. G. Tognalli, A. Fainstein, M. Tagliazuchi, E. J. Calvo, V. R. D’Costa and J. Menéndez  
En preparación (2008)

## Capítulo 7: SERS con nanopartículas de Ag ordenadas: buscando señales homogéneas

1. “*Spatially homogeneous SERS-active thin films from highly ordered self-assembled nanocomposites*”  
N. G. Tognalli, A. Wolosiuk, M. Granada, M. C. Fuertes, M. Marchena, H. Troiani, S. A. Bilmes, A. Fainstein and G. J. A. A. Soler-Illia  
En preparación (2008)

---

**Capítulo 8: SERS en nanocavidades metálicas: controlando a los plasmones**

1. “*Quantitative electrochemical SERS of Flavin at a structured silver surface*”  
M. Abdelsalam, P. N. Bartlett, A. E. Russell, J. J. Baumberg, E. J. Calvo, N. G. Tognalli and A. Fainstein  
*Langmuir* **24**, 7018-7023 (2008)
2. “*Imaging optical near fields at metallic nanoscale voids*”  
P. D. Lacharmoise, N. G. Tognalli, A. R. Goñi, M. I. Alonso, A. Fainstein, R. M. Cole, J. J. Baumberg, J. Garcia de Abajo and P. N. Bartlett  
Aceptado en *Physical Review B* (2008)



# Bibliografía

- [1] C. V. Raman. *Ind. J. Phys.*, **2**, 387, (1928). A new radiation.
- [2] M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan. *Chem. Phys. Lett.*, **26**, 163, (1974). Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode.
- [3] M. Moskovits. *Rev. Mod. Phys.*, **57**, 783, (1985). Surface-enhanced spectroscopy.
- [4] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L. T. Perelman, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld. *Phys. Rev. Lett.*, **78**, 1169, (1997). Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS).
- [5] S. Nie and S. R. Emory. *Science*, **275**, 1102, (1997). Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering.
- [6] P. Etchegoin, R. C. Maher, L. F. Cohen, H. Hartigan, R. J. C. Brown, M. J. T. Milton, and J. C. Gallop. *Chem. Phys. Lett.*, **375**, 84, (2003). New limits in ultrasensitive trace detection by surface enhanced Raman scattering (SERS).
- [7] R. G. Freeman, K. C. Grabar, K. J. Allison, R. M. Bright, J. A. Davis, A. P. Guthrie, M. B. Hommer, M. A. Jackson, P. C. Smith, D. G. Walter, and M. J. Natan. *Science*, **267**, 1629, (1995). Self-assembled metal colloid monolayers: An approach to SERS substrates.
- [8] C. J. Kiely, J. Fink, M. Brust, D. Bethell, and D. J. Schiffrin. *Nature*, **396**, 444, (1998). Spontaneous ordering of bimodal ensembles of nanoscopic gold clusters.
- [9] N. Félidj, J. Aubard, G. Lévi, J. R. Krenn, M. Salerno, G. Schider, B. Lamprecht, A. Leitner, and F. R. Aussenegg. *Phys. Rev. B*, **65**, 075419, (2002). Controlling the optical response of regular arrays of gold particles for surface-enhanced Raman scattering.
- [10] J. B. Jackson, S. L. Westcott, L. R. Hirsch, J. L. West, and N. J. Halas. *Appl. Phys. Lett.*, **82**, 257, (2003). Controlling the surface enhanced Raman effect via the nanoshell geometry.
- [11] K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, and G. C. Schatz. *J. Phys. Chem. B*, **107**, 668, (2003). The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape and dielectric environment.
- [12] L. A. Dick, A. D. McFarland, C. L. Haynes, and R. P. Van Duyne. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 853, (2002). Metal film over nanosphere (MFON) electrodes for surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): Improvements in surface nanostructure stability and suppression of irreversible loss.

- [13] S. H. Cintra, M. E. Abdelsalam, P. N. Bartlett, J. J. Baumberg, T. A. Kelf, Y. Sugawara, and A. E. Russell. *Faraday Discuss.*, **132**, 191, (2005). Sculpted substrates for SERS.
- [14] A. Ulman. *An introduction to ultrathin organic films: From Langmuir-Blodgett to self-assembly*. Academic, Boston, 1991.
- [15] J. B. Schlenoff. *Multilayer thin films: Sequential assembly of nanocomposite materials*. Wiley, New York, 2003.
- [16] Y. Lvov, K. Ariaga, I. Ichinose, and T. Kunitake. *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 6117, (1995). Assembly of multicomponent protein films by means of electrostatic layer-by-layer adsorption.
- [17] G. Decher. *Science*, **277**, 1232, (1997). Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites.
- [18] E. C. Le Ru and P. G. Etchegoin. *Principles of surface enhanced Raman spectroscopy and related plasmonics effects*. Elsevier, Amsterdam, 2008.
- [19] J. D. Jackson. *Classical electrodynamics*, 2<sup>o</sup> Ed. Wiley, New York, 1998.
- [20] A. Otto. *Z. Phys.*, **216(4)**, 398, (1968). Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by method of frustrated total reflection.
- [21] E. Kretschmann and H. Raether. *Z. Naturf. A*, **23(12)**, 2135, (1968). Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light.
- [22] G. Mie. *Ann. Phys.*, **25(3)**, 377, (1908). Articles on the optical characteristics of turbid tubes, especially colloidal metal solutions.
- [23] T. A. Kelf, Y. Sugawara, R. M. Cole, J. J. Baumberg, M. E. Abdelsalam, S. Cintra, S. Mahajan, A. E. Russell, and P. N. Bartlett. *Phys. Rev. B*, **74**, 245415, (2006). Localized and delocalized plasmons in metallic nanovoids.
- [24] S. Coyle, M. C. Netti, J. J. Baumberg, M. A. Ghanem, P. R. Birkin, P. N. Bartlett, and D. M. Whittaker. *Phys. Rev. Lett.*, **87**, 176801, (2001). Confined plasmons in metallic nanocavities.
- [25] I. Langmuir. *J. Am. Chem. Soc.*, **39**, 1848, (1917). The constitution and fundamental properties of solids and liquids. II. Liquids.
- [26] B. K. Blodgett. *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 1007, (1935). Films built by depositing successive monomolecular layers on a solid surface.
- [27] W. C. Bigelow, D. L. Pickett, and W. A. Zisman. *J. Colloid Sci.*, **1**, 513, (1946). Oleophobic Monolayers. I. Films adsorbed from solution in non-polar liquids.
- [28] J. C. Love, L. A. Stroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, and G. M. Whitesides. *Chem. Rev.*, **105**, 1103, (2005). Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology.
- [29] P. G. Lustemberg, M. L. Martiarena, A. E. Martínez, and H. F. Busnengo. *Langmuir*, **24**, 3274, (2008). The reaction pathway  $HSC_3$  adsorption on Au(111): A density functional theory study.

- [30] J. Hodak, R. Etchenique, E. J. Calvo, K. Singhal, and P. N. Barlett. *Langmuir*, **13**, 2708, (1997). Layer-by-layer self-assembly of glucose oxidase with poly(allylamine)ferrocene redox mediator.
- [31] E. J. Calvo, F. Battaglini, C. Danilowicz, A. Wolosiuk, and M. Otero. *Faraday Discuss.*, **116**, 47, (2000). Layer-by-layer electrostatic deposition of biomolecules on surfaces for molecular recognition, redox mediation and signal generation.
- [32] E. S. Forzani, M. Otero, M. A. Pérez, M. López Teijelo, and E. J. Calvo. *Langmuir*, **18**, 4020, (2002). The Structure of Layer-by-Layer Self-Assembled Glucose Oxidase and Os(Bpy)<sub>2</sub>ClPyCH<sub>2</sub>NH-Poly(allylamine) Multilayers: Ellipsometric and Quartz Crystal Microbalance Studies.
- [33] C. Bonazzola, E. J. Calvo, and F. C. Nart. *Langmuir*, **19**, 5279, (2003). Characterization of Layer-by-Layer Polyelectrolyte Films by Fourier Transform Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy (FTIR-RAS).
- [34] D. L. Nelson and M. M. Cox. *Lehninger Principles of Biochemistry, 3<sup>er</sup> Ed.*. W. H. Freeman & Co., New York, 2000.
- [35] W. Tang, H. Xu, R. Kopelman, and M. A. Philbert. *Photochem. Photobiol.*, **81**, 242, (2005). Photodynamic characterization and in-vitro application of methylene blue-containing nanoparticle platforms.
- [36] D. Palit and S. P. Moulik. *Colloid J.*, **65**, 350, (2003). Adsorption of the dyes (Methylene Blue and Acridine Orange and their mixtures) from aqueous solutions on cholesterol surface.
- [37] Peter Atkins. *Physical Chemistry*. Freeman, New York, 1999.
- [38] H. G. Tompkins and W. A. McGahan. *Spectroscopic ellipsometry and reflectometry*. John Wiley & sons, Inc., Toronto, 1999.
- [39] A. Messiah. *Quantum Mechanics - Vols. 1 y 2*. North Holland, Amsterdam, 1962.
- [40] C. Cohen-Tannoudji, J. Dupont-Roc, and G. Grynberg. *Atom-Photon Interactions: Basic Processes and Applications*. John Wiley and Sons, New York, Chichester, 1998.
- [41] A. Galindo and P. Pascual. *Mecánica Cuántica - Tomo 2*. EUEDEMA, Madrid, 1989.
- [42] Andreas C. Albrecht. *J. Chem. Phys.*, **34**, 1476, (1961). On the Theory of Raman Intensities.
- [43] N. G. Tognalli. *Propiedades ópticas y electroquímicas de multicapas orgánicas autoensambladas*. Instituto Balseiro, Bariloche, Arg., 2003.
- [44] J. Behringer and J. Brandmüller. *Z. Elektrochem.*, **60**, 643, (1956). Der resonanz-Raman effekt.
- [45] Anne B. Myers and Richard A. Mathies. Vol.2: Resonance raman spectra of polyenes and aromatics. In Thomas G. Spiro, editor, *Biological Application of Raman Spectroscopy*. John Wiley & Sons, New York, 1987.
- [46] Peter Y. Yu and Manuel Cardona. *Fundamentals of Semiconductors: Physics and Material Properties*. Springer, Berlín, 1996.

- [47] J. A. Creighton, C. G. Blatchford, and M. G. Albrecht. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **275**, 790, (1979). Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength.
- [48] A. Otto. Surface-enhanced raman scattering: “classical” and “chemical” origins. In M. Cardona and G. Güntherodt, editors, *Light Scattering in Solids IV*. Springer-Verlag, Berlin, 1984.
- [49] A. Otto, I. Mrozek, and H. Grabhorn and W. Akemann. *J. Phys. Chem. Condens. Matter*, **4**, 1143, (1992). Surface-enhanced Raman scattering.
- [50] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld. Surface-enhanced raman scattering (sers)- a tool for single molecule detection in solution. In Ch. Zander, J. Enderlein, and R. A. Kellar, editors, *Single Molecule Detection in Solution*. Wiley-Velt, 2002.
- [51] P. Hildebrandt and M. Stockburger. *J. Phys. Chem.*, **88**, 5935, (1984). Surface-enhanced resonant Raman spectroscopy of Rhodamine 6G adsorbed on colloidal silver.
- [52] E. C. Le Ru, E. Blackie, M. Meyer, and P. G. Etchegoin. *J. Phys. Chem. C*, **111**, 13794, (2007). Surface enhanced Raman scattering enhancement factors: A comprehensive study.
- [53] P. Etchegoin, L. F. Cohen, H. Hartigan, R. J. C. Brown, M. J. T. Milton, and J. C. Gallop. *J. Chem. Phys.*, **119**, 5281, (2003). Electromagnetic Contribution to Surface Enhanced Raman Scattering Revisited.
- [54] C. Alonso, R. C. Salvarezza, J. M. Vara, A. J. Arvía, L. Vázquez, A. Bartolomé, and A. M. Baró. *J. Electrochem. Soc.*, **137**, 2161, (1990). The evaluation of surface diffusion coefficients of gold and palladium atoms at electrochemical interfaces from combined STM-SEM imaging and electrochemical techniques.
- [55] C. Vericat, G. A. Benítez, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, N. G. Tognalli, and A. Fainstein. *Langmuir*, **23**, 1152, (2007). Restricted surface mobility of thiolate-covered metal surfaces: A simple strategy to produce high-area functionalized surfaces.
- [56] G. Benitez, C. Vericat, S. Tanco, F. Remes Lenicov, M. F. Castez, M. E. Vela, and R. C. Salvarezza. *Langmuir*, **20**, 5030, (2004). Role of surface heterogeneity and molecular interactions in the charge-transfer process through self-assembled thiolate monolayers on Au(111).
- [57] C. Vericat, F. Remes Lenicov, S. Tanco, G. Andreasen, M. E. Vela, and R. C. Salvarezza. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 9114, (2002). Building complex two-dimensional structures: Methylene blue on self-assembled monolayer-covered Au(111).
- [58] N. G. Tognalli, A. Fainstein, C. Vericat, M. E. Vela, and R. C. Salvarezza. *J. Phys. Chem. B*, **110**, 354, (2006). Exploring three-dimensional nanosystem with Raman spectroscopy: Methylene blue adsorbed on thiol and sulfur monolayers on gold.
- [59] N. G. Tognalli, A. Fainstein, L. Pietrasanta, E. J. Calvo, M. Capoy Quiles, and P. Etchegoin. *J. Chem. Phys.*, **123**, 425, (2005). SERS in PAH-Os and gold nanoparticle self-assembled multilayers.
- [60] D. G. Castner and B. D. Ratner. Frontiers in surface and interface science. In C. B. Duke and E. W. Plummer, editors, *Biomedical surface science: foundations to frontiers*. North-Holland, Amsterdam, 2002.

- [61] C. Vericat, G. Andreasen, M. E. Vela, and R. C. Salvarezza. *J. Phys. Chem. B*, **104**, 302, (2000). Dynamics of potential-dependent transformations in sulfur adlayers on Au(111) electrodes.
- [62] M. E. Vela, H. Martin, C. Vericat, G. Andreasen, A. Hernández Creus, and R. C. Salvarezza. *J. Phys. Chem. B*, **104**, 11878, (2000). Electrodesorption kinetics and molecular interaction in well-ordered thiol adlayers on Au(111).
- [63] R. R. Naujok, R. V. Duevel, and R. M. Corn. *Langmuir*, **9**, 1771, (1993). Fluorescence and Fourier transform surface-enhanced Raman scattering measurements of methylene blue adsorbed onto a sulfur-modified gold electrode.
- [64] K. Hutchinson, R. E. Hester, W. J. Albery, and A. R. Hillman. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **80**, 2053, (1984). Raman spectroscopic studies of a thionine-modified electrode.
- [65] N. Tognalli, A. Fainstein, C. Bonazzola, and E. Calvo. *J. Chem. Phys.*, **120**, 1905, (2004). Resonant Raman spectroscopy of PAH-Os self-assembled monolayers.
- [66] Q. Ye, J. Fang, and L. Sun. *J. Phys. Chem. B*, **101**, 8221, (1997). Surface-enhanced Raman scattering from functionalized self-assembled monolayers. 2. Distance dependence of enhanced Raman scattering from an azobencen terminal group.
- [67] B. J. Kennedy, S. Spaeth, M. Dickey, and K. T. Carron. *J. Phys. Chem. B*, **103**, 3640, (1999). Determination of the distance dependence and experimental effects for modified SERS substrates based on self-assembled monolayers formed using alkanethiols.
- [68] M. J. S. Dewar, E. Zorbisch, E. F. Healy, and J. J. P. Stewart. *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 3902, (1985). Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model.
- [69] *Hyperchem. Computational Chemistry. Parts I-II*. Hypercube Inc., Canada, 1994.
- [70] D. J. Campbell, D. A. Higgins, and R. M. Corn. *J. Phys. Chem.*, **94**, 3681, (1990). Molecular second harmonic generation studies of methylene blue chemisorbed onto a sulfur-modified polycrystalline platinum electrode.
- [71] V. Svetlicic, V. Zutic, J. Clavilier, and J. Chevalet. *J. Electroanal. Chem.*, **233**, 199, (1987). Organic monolayer formation at a sulphur modified gold electrode: The methylene blue/leucomethylene blue redox couple.
- [72] L. A. Dick, A. J. Haes, and R. P. Van Duyne. *J. Phys. Chem. B*, **104**, 11752, (2000). Distance and orientation dependence of heterogeneous electron transfer: A surface-enhanced resonance Raman scattering study of cytochrome c bound to carboxylic acid terminated alkanethiols adsorbed on silver electrodes.
- [73] S. H. A. Nicolai and J. C. Rubim. *Langmuir*, **19**, 4291, (2003). Surface-enhanced resonance Raman (SERR) spectra of methylene blue adsorbed on a silver electrode.
- [74] K. Patil, R. Pawar, and P. Talap. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2**, 4313, (2000). Self-aggregation of Methylene Blue in aqueous medium and aqueous solutions of Bu<sub>4</sub>NBr and urea.

- [75] S. H. de Araujo Nicolai, P. R. P. Rodrigues, S. M. L. Agostinho, and J. C. Rubim. *J. Electroanal. Chem.*, **527**, 103, (2002). Electrochemical and spectroelectrochemical (SERS) studies of the reduction of methylene blue on a silver electrode.
- [76] B. J. Barner and R. M. Corn. *Langmuir*, **6**, 1023, (1990). Molecular second harmonic generation studies of methylene blue chemisorbed onto a sulfur-modified polycrystalline platinum electrode.
- [77] E. Sackmann. *Science*, **271**, 43, (1996). Supported membranes: Scientific and practical applications.
- [78] K. Tawa and K. Morigaki. *Biophys. J.*, **89**, 2750, (2005). Substrate-supported phospholipid membranes studied by surface plasmon resonance and surface plasmon fluorescence spectroscopy.
- [79] S. K. Banerji and M. A. Hayes. *Langmuir*, **23**, 3305, (2007). Examination of nonendocytotic bulk transport of nanoparticles across phospholipid membranes.
- [80] F. Cunin, P. E. Milhiet, E. Anglin, M. J. Sailor, C. Espenel, S. Le Grimellec, D. Brunel, and J. M. Devoisselle. *Ultramicroscopy*, **107**, 1048, (2007). Continuous planar phospholipid bilayer supported on porous silicon thin film reflector.
- [81] M. Park, A. Tepikin, and O. Petersen. *Pflügers Archiv European J. of Physiology*, **444**, 305, (2002). What can we learn about cell signalling by combining optical imaging and patch clamp techniques?
- [82] M. Moskovits. *J. Raman Spec.*, **36**, 485, (2005). Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective.
- [83] N. G. Tognalli, A. Fainstein, C. Vericat, M. E. Vela, and R. C. Salvarezza. *J. Phys. Chem. C*, **112**, 3741, (2008). In situ Raman spectroscopy of redox species confined in self-assembled molecular films.
- [84] T. B. Creczynski-Pasa, M. A. Daza Millone, M. L. Munford, V. R. de Lima, T. O. Vieira, G. A. Benitez, A. A. Pasa, R. C. Salvarezza, and M. E. Vela. *Enviado a Langmuir*, (2008). Self-assembled dithiothreitol on Au surfaces for biological applications: Phospholipids bilayers formation.
- [85] W. Caetano, P. S. Haddad, R. Itri, D. Severino, V. C. Vieira, M. S. Baptista, A. P. Schroder, and C. M. Marques. *Langmuir*, **23**, 1307, (2007). Photo-induced destruction of giant vesicles in methylene blue solutions.
- [86] L. D. Mayer, M. J. Hope, and P. R. Cullis. *Biochim. Biophys. Acta*, **858**, 161, (1986). Vesicles of variable sizes produced by a rapid extrusion procedure.
- [87] K. C. Lin and S. M. Chen. *J. Electroanal. Chem.*, **589**, 52, (2006). Reversible cyclic voltammetry of the NADH/NAD<sup>+</sup> redox system on hybrid poly(luminol)/FAD film modified electrodes.
- [88] Y. Iwami, D. Hobara, M. Yamamoto, and T. Kakiuchi. *J. Electroanal. Chem.*, **564**, 77, (2004). Determination of the potential of zero charge of Au(111) electrodes modified with thiol self-assembled monolayers using a potential-controlled sessile drop method.

- [89] A. Hamelin. Modern aspects of electrochemistry. Plenum press, New York, 1985.
- [90] F. Tokamasu, A. J. Jin, and J. A. Dvorak. *J. Electron. Microsc. (Tokyo)*, **51**, 1, (2002). Lipid membrane phase behaviour elucidated in real time by controlled environment atomic force microscopy.
- [91] M. Campoy Quiles. *Ellipsometry applied to Organic Materials for Optoelectronic and Photonic Applications. Transfer Report Essay*. Imperial College London, 2003.
- [92] R. Griffith Freeman, K. C. Grabar, K. J. Allison, R. M. Bright, J. A. Davis, A. P. Guthrie, M. B. Hommer, M. A. Jackson, P. C. Smith, D. G. Walter, and M. J. Natan. *Science*, **267**, 1629, (1995). Self-Assembled Metal Colloid Monolayer: An Approach to SERS Substrates.
- [93] M. G. Bellino, E. J. Calvo, and G. Gordillo. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, 424, (2004). Adsorption kinetics of charged thiols on gold nanoparticles.
- [94] R. C. Maher, L. F. Cohen, and P. Etchegoin. *Chem. Phys. Lett.*, **352**, 378, (2002). Single molecule photo-bleaching observed by surface enhanced resonant Raman scattering (SERRS).
- [95] A. P. Taylor, J. A. Crayston, and T. J. Dines. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **93**, 1803, (1997). Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy of Ru and Os polyvinylpyridine adsorbed on silver electrodes.
- [96] D. A. Walsh, T. E. Keyes, C. F. Hogan, and R. J. Forster. *J. Phys. Chem.*, **B 15**, 2792, (2001). Protonation Effects on Superexchange across Gold/Osmium Bis(bipyridyl) Tetrazine Chloride Monolayer Interfaces.
- [97] J. V. Caspar, T. D. Westmoreland, G. H. Allen, P. G. Bradley, T. J. Meyer, and W. H. Woodruff. *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 3492, (1984). Molecular and Electronic Structure in the Metal-to-Ligand Charge-Transfer Excited States of  $d^6$  Transition-Metal Complexes in Solution.
- [98] J. G. Gaudiello, P. G. Bradley, K. A. Norton, W. H. Woodruff, and A. J. Bard. *Inorg. Chem.*, **23**, 3, (1984). Electrochemistry in Liquid Sulfur Dioxide. 5. Oxidation of Bipyridine and Phenanthroline Complexes of Osmium, Ruthenium, and Iron.
- [99] D. P. Strommen, P. K. Mallick, G. D. Danzer, R. S. Lumpkin, and J. R. Kincaid. *J. Phys. Chem.*, **94**, 1357, (1990). Normal-coordinate analyses of the ground and 3MLCT excited states of tris(bipyridine)ruthenium(II).
- [100] D. Lin-Vien, N. B. Colthup, W. G. Fateley, and J. G. Grasselli. *The handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules*. Academic, San Diego, 1991.
- [101] E. M. Purcell and C. R. Pennypacker. *Astrophys. J.*, **186**, 705, (1973). Scattering and absorption of light by nonspherical dielectric grains.
- [102] D. R. Lide. *Handbook of chemistry and physics, 73<sup>rd</sup> edition*. CRC Press, 1992.
- [103] A. Yariv. *Optical electronics, 4<sup>th</sup> edition*. Saunders College Publishing, New York, 1971.
- [104] P. Scodeller, V. Flexer, V. Ielmini, R. Szamocki, E. J. Calvo, N. G. Tognalli, H. Troiani, and A. Fainstein. *aceptado en J. Am. Chem. Soc.* Wired-enzyme core-shell Au nanoparticle biosensor.

- [105] V. Flexer, E. S. Forzani, E. J. Calvo, S. J. Ludueña, and L. I. Pietrasanta. *Anal. Chem.*, **78**, 399, (2006). Structure and thickness dependence of “molecular wiring” in nanostructured enzyme multilayers.
- [106] D. A. Stuart, J. M. Yuen, N. Shah, O. Lyandres, C. R. Yonzon, M. R. Glucksberg, J. T. Walsh, and R. P. Van Duyne. *Anal. Chem.*, **78**, 7211, (2006). In vivo glucose measurement by surface-enhanced Raman spectroscopy.
- [107] N. C. Shah, O. Lyandres, J. T. Walsh Jr., M. R. Glucksberg, and R. P. Van Duyne. *Anal. Chem.*, **79**, 6927, (2007). Lactate and sequential lactate-glucose sensing using surface-enhanced Raman spectroscopy.
- [108] G. J. de A. A. Soler Illia, C. Sanchez, B. Lebeau, and L. Patarin. *J. Chem. Rev.*, **102**, 4093, (2002). Chemical strategies to design textured materials: From microporous and mesoporous oxides to nanonetworks and hierarchical structures.
- [109] G. J. de A. A. Soler Illia, C. Sanchez, B. Lebeau, and L. Patarin. *J. Am. Chem.*, **125**, 9770, (2003). Controlled formation of highly organized mesoporous titania thin films: From mesostructured hybrids to mesoporous nanoanatase TiO<sub>2</sub>.
- [110] D. Grosso, G. J. de A. A. Soler Illia, F. Babonneau, C. Sanchez, P. A. Albouy, A. Brunet-Bruneau, and A. R. Balkenende. *Adv. Mat.*, **13**, 1085, (2001). Highly organized mesoporous titania thin films showing mono-oriented 2D hexagonal channels.
- [111] G. J. de A. A. Soler Illia and C. Sanchez. *New J. Chem.*, **24**, 493, (2000). Interactions between poly(ethylene oxide)-based surfactants and transition metal alkoxides: Their role in the templated construction of mesostructured hybrid organic inorganic composites.
- [112] E. L. Crepaldi, G. J. de A. A. Soler Illia, D. Grosso, and C. Sanchez. *New J. Chem.*, **27**, 9, (2003). Nanocrystallised titania and zirconia mesoporous thin films exhibiting enhanced thermal stability.
- [113] G. J. de A. A. Soler Illia, E. Scolan, A. Louis, P. A. Albouy, and C. Sanchez. *New J. Chem.*, **25**, 156, (2001). Design of meso-structured titanium oxo based hybrid organic inorganic networks.
- [114] A. Wolosiuk, N. G. Tognalli, M. Granada, M. C. Fuertes, M. Marchena, H. Troiani, S. A. Bilmes, A. Fainstein, and G. J. A. A. Soler-Illia. *enviado a J. Am. Chem. Soc.* Spatially homogeneous SERS-active thin films from highly ordered self-assembled nanocomposites.
- [115] P. N. Bartlett, P. R. Birkin, and M. A. Ghanem. *Chem. Comm*, 1671, (2000). Electrochemical deposition of macroporous platinum, palladium and cobalt films using polystyrene latex sphere templates.
- [116] F. Schreiber. *Prog. Surf. Sci.*, **65**, 151, (2000). Structure and growth of self-assembling monolayers.
- [117] C. Vericat, M. E. Vela, and R. C. Salvarezza. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **7**, 3258, (2005). Self-assembled monolayers of alkanethiols on Au(111): surface structures, defects and dynamics.
- [118] Bagotsky. *Fundamental of Electrochemistry*. John Wiley & Sons, New York, 2006.

- [119] R. M. Cole, J. J. Baumberg, F. J. García de Abajo, S. Mahajan, M. Abdelsalam, and P. N. Bartlett. *Nano Lett.*, **7**, 2094, (2007). Understanding plasmons in nanoscale voids.
- [120] T. A. Kelf, Y. Sugawara, J. J. Baumberg, M. Abdelsalam, and P. N. Bartlett. *Phys. Rev. Lett.*, **95**, 116802, (2005). Plasmonic band gaps and trapped plasmons on nanostructured metal surfaces.
- [121] B. Hecht, B. Sick, P. Wild, V. Deckert, R. Zenobi, O. J. F. Martin, and D. U. Pohl. *J. Chem. Phys.*, **112**, 7761, (2000). Scanning near-field optical microscopy with aperture probes: Fundamentals and applications.
- [122] L. Novotny, D. U. Pohl, and B. Hecht. *Ultramicroscopy*, **61**, 1, (1995). Light confinement in scanning near-field optical microscopy.
- [123] C. Walsh. *Acc. Chem. Res.*, **13**, 148, (1980). Flavin coenzymes: At the crossroads of biological redox chemistry.
- [124] J. Xu, R. L. Birke, and J. R. Lombardi. *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5646, (1987). Surface-enhanced Raman spectroscopy from Flavins adsorbed on a silver electrode: Observation of the unstable Semiquinone intermediate.
- [125] E. J. Bjerneld, F. Svedberg, P. Johansson, and M. Käll. *J. Phys. Chem. A*, **108**, 4187, (2004). Direct observation of heterogeneous photochemistry on aggregated Ag nanocrystals using Raman spectroscopy: The case of photoinduced degradation of aromatic amino acids.
- [126] X. M. Qian and S. M. Nie. *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 912, (2008). Single-molecule and single-nanoparticle SERS: from fundamental mechanisms to biomedical applications.
- [127] L. D. Landau and E. N. Lifshitz. *Quantum mechanics*, 3<sup>o</sup> Ed. Elsevier, Amsterdam, 2003.
- [128] M. Cardona. volume 50 of top. appl. phys. In *Light Scattering in Solids II*. Springer-Verlag, New York, 1982.
- [129] C. Manneback. *Physica*, **17**, 1001, (1951). Computation of the intensities of vibrational spectra of electronic bands in diatomic molecules.
- [130] L. Chinsky, A. Laigel, W. L. Peticolas, and P. Y. Turpin. *J. Chem. Phys.*, **76**, 1, (1982). Excited state geometry of uracil from the resonant Raman overtone spectrum using a Kramers-Kronig technique.



# Agradecimientos

Finalmente llegué a la Sección más linda, a la que seguro ustedes llegaron primero, incluso antes que al título: a los Agradecimientos. Realmente siento que todas las personas que están aquí cumplieron roles muy importantes para que este trabajo fuera posible y por ello no me quedan más que palabras de inmensa gratitud hacia todos ellos.

No tengo dudas al decir que Alex fue el mejor director que pude haber tenido. Me supo guiar y hacer crecer como investigador, fue siempre muy generoso a la hora de delegar participaciones, responsabilidades y trabajo (sobre todo esto último :). Me dio la oportunidad de desarrollar una nueva línea de investigación en el laboratorio, permitiéndome relacionar y colaborar con una decena de grupos científicos de primer nivel. Consiguió montar un Laboratorio de Propiedades Ópticas que es un verdadero lujo, proporcionando inmejorables condiciones de trabajo. Se movió como pocos para mejorar nuestro ámbito de trabajo, y no sólo el Laboratorio de Propiedades Ópticas. Esta fue una faceta de la cual también aprendí mucho y que no todos pueden ensañar. Quiero agradecerle a Alex el tiempo dedicado a la tesis, sobre todo aquél referido a la corrección detallada del trabajo, y hacerlo extensivo a su familia por bancarle estas horas extras.

Les agradezco a Ernesto Calvo y a su grupo de INQUIMAE (los que están y aquellos que pasaron): Cecilia Bonazzola, Doris Grumelli, Mario Tagliazuchi, Victoria Flexer, Silvina Rothacher, Alejandra Ricci, Pablo Scodeller, Rafael Szamocki y Verónica Ielmini (espero no olvidarme de nadie). Cada vez que fui a Buenos Aires me brindaron toda su predisposición y fueron los responsables de mi primer ablande químico, una tarea no menor. Ernesto tiene gran parte de la responsabilidad sobre todas las colaboraciones que dieron origen a esta tesis por haber organizado la reunión de Quilmes en 2003, allí se sembró la semilla de la interdisciplinariedad nano que hoy está dando sus frutos.

Roberto Salvarezza, María Elena Vela, Carolina Vericat y Antonieta Daza Millone del INIFTA, La Plata, con quienes realizamos una gran cantidad de mediciones y discusiones. Gracias por la calidez con la que siempre me trataron y la seriedad que le impartieron a cada trabajo.

Les agradezco a Galo Soler-Illia, Alejandro Wolosiuk, Cecilia Fuertes y Paula Angelomé del CAC, y Sara Bilmes de la UBA, por proveerme de un nuevo sistema para esta tesis, y colaborar con discusiones y buenas ideas.

Le quiero agradecer a Pablo Etchegoin por habernos aconsejado desinteresadamente más de una vez durante este doctorado, y por haber financiado mi participación a una

de las reuniones científica más importantes de las que asistí: La Faraday Discussion sobre SERS, en el Imperial College de Londres en 2005.

Phil Bartlett y Mamdouh Abdelsalam fueron excelentes anfitriones en Southampton en 2005. Me enseñaron cómo fabricar las nanocavidades y lo importante que son las condiciones de seguridad en un laboratorio de química. A ellos mi reconocimiento.

José Menéndez me recibió en Arizona en 2006 asegurándose de que mi estadía fuera super productiva y placentera. También se encargó de hacerme debutar con mi primer seminario en inglés. José, Vijay D'Acosta, y el equipo de Woollam contribuyeron de manera importante a mis conocimientos sobre elipsometría.

Alejandro Goñi, Paul Lacharmoise e Isabel Alonso, por su colaboración a la tesis.

Hernán Pastoriza siempre colaboró con mis pedidos cotidianos y me enseñó a utilizar el SEM, facilitándome una herramienta importantísima para la caracterización de muestras.

Quiero agradecer a todos los microscopistas que colaboraron con este trabajo: Lía Pietrasanta (AFM, UBA), María Elena Vela (STM, INIFTA, UNLP), Horacio Troiani y Mara Granada (TEM, CAB), y Ernesto Scervo (SEM, CAB).

Al grupo de Bajas Temperaturas que siempre nos socorre en los problemas cotidianos.

Les agradezco a Claudia Osuna y a la gente del departamento de química de INVAP que siempre nos ayudaron con la mejor onda a resolver nuestros requerimientos químicos.

Al Instituto Balseiro, la CNEA y el CONICET, mi agradecimiento por haberme dado la posibilidad de formarme rodeado de semejante calidad profesional y humana.

Axel, Flor, Dani y Guille, mis compañeros de laboratorio y oficina, quiero agradecerles por haberme bancado a lo largo de estos años. Es muy gratificante laburar con ustedes. Mil gracias!

Gracias Leo por la ayuda técnica que posibilitan los experimentos.

Quiero agradecer especialmente a Victor Hugo Ponce, un sunchalense como yo, por permitirme compartir momentos con su familia, por aconsejarme más de una vez a lo largo de estos años y por haberse tomado el tiempo para corregir este trabajo.

En esta última parte quiero agradecer a las familias Giordano y Pavone por haber compartido con la mía una innumerable cantidad de buenos momentos en Bariloche.

También quiero agradecer a mis abuelos y tíos por estar desde la distancia.

Un párrafo aparte merecen mis viejos y hermanos, que como siempre, estuvieron, están y estarán para acompañarme en todas las decisiones de mi vida. Quiero que sepan que siempre los siento presentes y cerca. No hubiera llegado aquí sin ustedes. Los quiero mucho.

Para el final mis amores: Julia y Juana. Las palabras no alcanzan para agradecerles todo su aguante, comprensión y cariño. Juani: llegaste y me cambiaste la vida. Flaqui: estuviste siempre a mi lado, te bancaste todas mis euforias y mis malos humores, dejaste más de una vez tus prioridades de lado para que yo realizara las mías. Le das color a mi vida. Las amo.