



Desarrollo de nanoestructuras de oro como sensores ópticos para la detección de contaminantes en baja concentración en agua

Cristhian Alfredo Visbal Contreras

Universidad del Valle

Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Física

Santiago de Cali, Colombia

2024

Desarrollo de nanoestructuras de oro como sensores ópticos para la detección de contaminantes en baja concentración en agua

Cristhian Alfredo Visbal Contreras
202025029 - 3146

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:
Físico

Directora:

Ph.D. Lorena Marín Mercado

Codirectores:

Ph.D. Wilkendry Ramos Cervantes

Ph.D. Luis Alfredo Rodríguez

Grupo de Investigación:

Grupo de Películas Delgadas

Universidad del Valle

Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Física

Santiago de Cali, Colombia

2024

A mi madre...

Dedico este trabajo al ser que me trajo a la vida y ha hecho que valga la pena vivirla. Mi madre, la persona que más merece este logro, mucho más que yo, por todos los desafíos y momentos difíciles que ha enfrentado a lo largo de su vida. A pesar de soportar malos tratos, siempre fuiste la más fuerte, todo para que yo pudiera llegar a donde estoy hoy. Por todo esto, y por el amor incondicional que siempre me has brindado, este trabajo te pertenece, madre. Te amo profundamente, y ningún texto podría hacer justicia a la madre increíble que eres.

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi madre académica, la profesora Lorena Marín, por su excelente dirección y constante apoyo tanto en lo profesional como en lo personal. A mis codirectores, los profesores Wilkendry Ramos y Luis Alfredo, por guiarme desde la amabilidad durante el desarrollo del trabajo. También agradezco a los profesores del grupo de películas delgadas y al personal del CENM, cuyos valiosos aportes enriquecieron el trabajo siempre hablando desde el respeto. Además, agradezco al proyecto del Sistema General de Regalías de “Fortalecimiento de la Alianza CENM-INCIMAR BPIN 2021000100424” por haber financiado este trabajo.

A mis compañeros de GPD, quienes compartieron el proceso y crearon un ambiente de trabajo agradable, en especial a Luisa, Camila, Juan Pablo, Sebastián, Felipe, Carlos Piñeiro y mis compañeros de carrera: Brayan, Luis, Andrés y Carlos que han estado ahí desde el principio. A todos los demás compañeros que no puedo mencionar por temas del espacio, gracias.

Un agradecimiento especial a mi madre, Cristina Contreras Tobar, quien fue mi principal motor para seguir adelante, brindándome su amor y apoyo incondicional, incluso cuando ella no lo tuvo. Te amo, madre.

Finalmente, quiero agradecerme a mí mismo por haber continuado cuando muchas veces sentí que no podía más, por tener la valentía de seguir creciendo personal y profesionalmente a pesar de los obstáculos. Este trabajo, por todo lo que ha significado, lo considero mi redención.

Resumen

En este estudio se presenta un método de fabricación de nanoestructuras de oro (AuNEs) con el propósito de diseñar sustratos para espectroscopía Raman mejorada en superficie (SERS, por sus siglas en inglés). Estas AuNEs fueron producidas mediante el método de “Solid-State Dewetting” a partir de películas delgadas. El proceso de fragmentación se estudió a 300 °C, considerando la duración del tratamiento térmico durante 1, 3, 6 y 12 horas. Posteriormente, estos sustratos SERS se emplearon para detectar Rodamina B (RhB) como analito modelo, simulando un contaminante en agua a una concentración de 5 ppm. La morfología de las AuNEs fue examinada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), revelando una forma esferoidal, la cual evoluciona por el fenómeno de coalescencia promovido por el tiempo del tratamiento térmico. Se estimó que el tamaño de las AuNEs oscilaba entre 22 ± 7 y 24 ± 6 nm. La resonancia plasmónica de superficie localizada (LSPR, por sus siglas en inglés) de las AuNEs se determinó utilizando espectroscopía de absorción, mostrando un desplazamiento conforme aumentaba el tiempo de tratamiento. Para analizar las señales SERS de RhB adsorbida en los sustratos de AuNEs se realizaron mapas barriendo un área de $10 \times 10 \mu\text{m}$ sobre la superficie de cada muestra (1, 3, 6 y 12 h), y un análisis comparativo no mostró diferencias significativas en las posiciones de las bandas; sin embargo, se observaron variaciones en la intensidad de la señal Raman en función del tiempo de tratamiento térmico. En términos generales, todas las plataformas SERS detectaron la RhB. Las mejores condiciones de funcionamiento se observaron en la muestra tratada durante 1 hora a 300 °C, mostrando un incremento de 123 veces respecto al espectro de la RhB sobre vidrio, y con una dispersión relativa menor al 20 %.

Palabras clave: Nanoestructuras de oro, Resonancia de Plasmón Superficial Localizado, Rodamina B, SERS, Fragmentación térmica.

Abstract

This study presents a method for fabricating gold nanostructures (AuNSs) aimed at designing substrates for surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS). These AuNSs were produced using the "Solid-State Dewetting" method from thin films. The fragmentation process was studied at 300 °C, considering annealing times of 1, 3, 6, and 12 hours. Subsequently, these SERS substrates were employed to detect Rhodamine B (RhB) as a model analyte, simulating a water pollutant at a concentration of 5 ppm. The morphology of the AuNSs was examined using scanning electron microscopy (SEM), revealing a spheroidal shape that evolves due to coalescence phenomena promoted by the thermal treatment time. The size of the AuNSs was estimated to range between 22 ± 7 and 24 ± 6 nm. The localized surface plasmon resonance (LSPR) of the AuNSs was determined using absorption spectroscopy, showing a shift as the annealing time increased. To analyze the SERS signals of RhB adsorbed on the AuNSs substrates, maps were generated by scanning a $10 \times 10 \mu\text{m}$ area over the surface of each sample (1, 3, 6, and 12 hours), and a comparative analysis showed no significant differences in band positions; however, variations in Raman signal intensity were observed as a function of thermal treatment time. Overall, all SERS platforms detected RhB. The best performance conditions were observed in the sample treated for 1 hour at 300 °C, showing a 123-fold increase compared to the RhB spectrum on glass, with a relative dispersion of less than 20 %.

Keywords: Gold nanostructures, Surface Plasmon Resonance, Rhodamine B, SERS, Solid-State Dewetting.

Contenido

	Pág.
Resumen.....	V
Abstract	VI
Lista de figuras.....	IX
Lista de tablas.....	XI
Lista de Símbolos y abreviaturas	XII
1. Introducción.....	1
2. Detalles experimentales	4
2.1 Preparación de las muestras	4
2.1.1 Crecimiento de las películas delgadas	5
2.1.2 Fabricación de las nanoestructuras.....	6
2.2 Microscopía Electrónica de Barrido	7
2.3 Espectroscopía Ultravioleta-Visible.....	8
2.4 Espectroscopía Raman.....	10
3. Resultados y discusión	13
3.1 Caracterización de las películas delgadas sin tratamiento térmico.....	13
3.1.1 Caracterización morfológica	13
3.1.2 Caracterización óptica.....	14
3.2 Caracterización de las películas nanoestructuradas de oro	16
3.2.1 Caracterización morfológica	16
3.2.2 Caracterización óptica.....	18
4. Evaluación de la actividad SERS.....	20
4.1 Espectro Raman para RhB en polvo.....	20
4.2 Comparación entre espectros Raman de distintas zonas de la película nanoestructurada de oro.....	22
4.3 Espectros Raman para la solución de RhB depositada sobre las nanoestructuras de oro	23
5. Conclusiones y perspectivas.....	31

5.1	Conclusiones.....	31
5.2	Perspectivas	32
Bibliografía		33

Lista de figuras

	Pág.
Figura 2-1. Limpiador ultrasónico Branson M1800H.....	5
Figura 2-2. a) Esquema del funcionamiento de un evaporador térmico convencional. b) Evaporador térmico utilizado para el crecimiento de las películas de oro.	6
Figura 2-3. Horno utilizado para realizar el tratamiento térmico de las películas de oro. ...	7
Figura 2-4. a) Esquema ilustrativo del funcionamiento del SEM. Adaptado de [45]. b) SEM Tescan Clara utilizado para la caracterización de las películas nanoestructuradas de oro.	8
Figura 2-5. a) Esquema del funcionamiento de un espectrómetro UV-Vis para la medida de sólidos usando una esfera integradora. Adaptado de [52]. b) Espectrofotómetro Jasco V-770 UV-Visible utilizado para la caracterización óptica. Adaptado de [53].	9
Figura 2-6. a) Esquema del sistema de microscopio para la espectroscopía Raman. Adaptado de [55]. b) Espectrómetro Raman utilizado para la evaluación de la actividad SERS.	10
Figura 3-1. Imagen SEM de la película delgada de oro sin tratamiento térmico.	14
Figura 3-2. Espectro de absorción de la película delgada de oro sin tratamiento térmico.	15
Figura 3-3. Imágenes SEM de las películas delgadas nanoestructuradas de oro a diferentes tiempos de tratamiento térmico: (a) 1 h, (b) 3 h, (c) 6 h y (d) 12 h.	17
Figura 3-4. Histogramas de distribución de tamaños de las nanoestructuras: (a) 1 h, (b) 3 h, (c) 6 h y (d) 12 h.	18
Figura 3-5. Espectros de absorción de AuNEs sobre sustratos de vidrio tratados a 300 °C. (a) 1 h, (b) 3 h, (c) 6 h, y (d) 12 h.	19
Figura 4-1. Espectro Raman de la RhB en polvo con sus modos vibracionales característicos señalados.	21
Figura 4-2. Espectros Raman tomados sobre una zona con y sin depósito de solución de RhB para las muestras de a) 1 h, b) 3 h, c) 6 h, d) 12 h.	22
Figura 4-3. Espectro SERS promedio de la RhB adsorbida sobre AuNEs barridos desplazándose a lo largo de 10 µm sobre las muestras de (a) 1 h, (b) 3 h, (c) 6 h y (d) 12 h.	24

Figura 4-4. Intensidad del pico principal a lo largo del eje 'x' (Puntos) respecto al promedio de intensidad de este (Línea punteada) para las muestras de (a) 1 h, (b) 3 h y (c) 6 h.	28
Figura 4-5. Desviación estándar relativa y factor de aumento analítico como función del tiempo de tratamiento térmico.	30

Lista de tablas

Pág.

Tabla 4-1. Asignaciones de los modos vibracionales (ν , cm^{-1}) en los espectros Raman de la RhB en polvo.....	21
Tabla 4-2. SNR promedio calculados para las muestras tratadas a distinto tiempo de tratamiento térmico.	25
Tabla 4-3. Asignaciones de los modos vibracionales (ν , cm^{-1}) en los espectros SERS del RhB.....	26

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término
ng	Nanogramo
μg	Microgramo
L	Litro
h	Hora
mm	Milímetro
mg	Miligramo
A	Amperios
mBar	Milibares
°C	Grados centígrados
nm	Nanometros
eV	Electronvoltio
mW	Milivatios
M	Molaridad
u.a	Unidades arbitrarias
cm ⁻¹	Centímetros inversos

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término
σ	Desviación estándar

Abreviaturas

Abreviatura	Término
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
SERS	Señal Raman aumentada por superficie
Au	Oro
Ag	Plata
Cu	Cobre
LSPR	Resonancia de plasmón superficial localizado
UV	Ultravioleta
RhB	Rodamina B
FE-SEM	Microscopio electrónico de barrido con emisión de campo
SEM	Microscopio electrónico de barrido
EDS	Espectroscopía de rayos X por energía dispersiva
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
AuNEs	Nanoestructuras de oro
mf	Muy fuerte
f	Fuerte
m	Medio
d	Débil
md	Muy débil
h	Hombro
est	Estiramiento
flex	Flexión
arom	Anillo aromático
RSD	Desviación estándar relativa
SNR	Relación señal-ruido

Abreviatura	Término
-------------	---------

AEF	Factor de aumento analítico
-----	-----------------------------

1.Introducción

El aumento significativo de las actividades mineras, farmacéuticas, industriales y agrícolas ha elevado la preocupación por la introducción generalizada de contaminantes emergentes en los ecosistemas acuáticos [1-4]. Estos contaminantes emergentes se definen como aquellos derivados del uso de una amplia variedad de productos empleados diariamente tanto en humanos como animales. Se caracterizan por encontrarse en concentraciones muy bajas (del orden de los ng/L y µg/L), por lo que no están regulados a pesar de que se ha observado su potencial peligro para los ecosistemas y la salud humana [3, 4, 5-8]. La creciente presencia de estos contaminantes en el agua ha sido vinculada a problemas graves como la resistencia bacteriana y el riesgo de cáncer [6, 7]. Por lo tanto, resulta crucial la detección precisa y oportuna de estos contaminantes para mitigar los riesgos asociados y salvaguardar la calidad del agua para las generaciones presentes y futuras.

Para detectar los contaminantes emergentes se han utilizado métodos sofisticados como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la espectrometría de masas [2, 4, 9, 10, 11]. A pesar de su eficacia, presentan importantes inconvenientes, tales como su elevado costo debido al carácter de los equipos y reactivos, además de que requieren personal altamente cualificado. Así mismo, estos métodos demandan mucha mano de obra y tiempo, lo que limita su uso en situaciones que requieren una monitorización en tiempo real.

Ante estos retos, la búsqueda de alternativas más accesibles y eficientes es una prioridad en el campo de la detección de contaminantes. La espectroscopía Raman mejorada en superficie (SERS, por sus siglas en inglés) se ha revelado como una técnica muy prometedora debido a su selectividad, sensibilidad y capacidad no destructiva, cruciales en diversas aplicaciones,

desde la monitorización medioambiental al diagnóstico médico [12-17]. En esta técnica, la señal Raman mejorada se produce por la interacción de la luz con nanoestructuras metálicas (por ejemplo, Au, Ag y Cu), generando la excitación de plasmones superficiales localizados (LSPR, por sus siglas en inglés) [14, 15, 18]. Estas excitaciones, conocidas como resonancias plasmónicas superficiales, aumentan el campo electromagnético en la superficie de nanopartículas aisladas o en los espacios Inter particulares ("Hot spots") [14, 15, 19]. Este fenómeno permite aumentar en varios órdenes de magnitud la señal Raman de diversos analitos situados en las proximidades de estos puntos calientes [14, 15, 19, 20].

En este contexto, en la literatura se han descrito diferentes tipos de materiales SERS, entre los que destacan las nanopartículas coloidales de oro por su importante y fiable señal SERS [21-24]. Estas nanopartículas de diferentes formas usualmente se sintetizan mediante la reducción de sales metálicas, utilizando métodos como los propuestos por Turkevich y Brust [25-27]. Sin embargo, estas reacciones requieren condiciones de laboratorio muy controladas y generan residuos tóxicos, cuya mitigación resulta costosa. Además, muchas aplicaciones requieren conjuntos de nanopartículas de oro sobre un sustrato sólido [28, 29]. Aunque se han implementado diversas estrategias para inmovilizar las nanopartículas, como las técnicas de deposición y los métodos químicos [30-32], conseguir matrices ordenadas y precisas sigue siendo un reto importante. Adicionalmente, es muy difícil cubrir grandes áreas con estas estrategias [33, 34].

Para superar estos desafíos, varios autores han empleado técnicas de fabricación top-down para obtener nanopartículas de oro en distintos sustratos. Normalmente, estos sustratos se producen mediante técnicas avanzadas de nanofabricación, como la litografía por haz de electrones, el haz de iones focalizado y la fotolitografía UV [15, 19, 35]. Estos métodos ofrecen una gran reproducibilidad y sensibilidad, permitiendo un control preciso del tamaño, la forma y la distancia de separación entre nanoestructuras metálicas [15, 19, 35-37]. Sin embargo, los procedimientos asociados a estas técnicas suelen ser largos, costosos y difíciles de escalar.

Como consecuencia, ha aumentado el interés en desarrollar métodos más económicos y menos complejos para fabricar sustratos SERS. En este contexto, el método de "Solid-State Dewetting" emerge como una alternativa prometedora, además de ser un método físico rentable, sencillo, rápido, y de baja complejidad experimental que no genera residuos tóxicos, a diferencia de los métodos químicos previamente mencionados. Este método consiste en el calentamiento controlado de una película delgada metálica sobre un sustrato sólido, con el objetivo de reducir la energía libre superficial de la película y del sustrato [38, 39], así como la energía libre de la interfaz película-sustrato, el material por medio de difusión atómica transforma la película en un conjunto de nanopartículas [39-42]. Este proceso se desarrolla en tres etapas principales: Formación de agujeros en la superficie de la película, crecimiento de los agujeros y formación de islas [39]. Además, el "Solid-State Dewetting" presenta una fuerte dependencia de factores como el tiempo y la temperatura del tratamiento térmico, el grosor de la película y la naturaleza del sustrato [38, 39, 42] por lo que las condiciones de síntesis son un punto de control fundamental para las propiedades de las películas nanoestructuradas obtenidas.

En este contexto, este trabajo de investigación se centra en la fabricación de películas de nanoestructuras de oro como sustratos SERS mediante el tratamiento térmico de películas delgadas de oro depositadas sobre sustratos de vidrio. Estos sustratos SERS, obtenidos bajo diversas condiciones de síntesis, se caracterizaron por sus propiedades morfológicas y ópticas. Posteriormente, evaluamos la detección directa de rodamina B (RhB) como compuesto modelo utilizando las nanoestructuras de oro como sustratos SERS y comprobamos que estos potencian la señal Raman, logrando un aumento de intensidad promedio en un rango de 5 a 123 veces para las muestras tratadas a 6 h y 1 h, respectivamente.

2. Detalles experimentales

En este capítulo se describen los métodos y técnicas experimentales utilizados para el estudio de las nanoestructuras de oro. Se hace énfasis en la preparación de los sustratos antes del depósito de las películas, las condiciones experimentales para el crecimiento de estas, y una breve descripción de las técnicas empleadas para la caracterización morfológica y óptica, así como de la espectroscopía Raman utilizada para evaluar el desempeño de las plataformas SERS.

2.1 Preparación de las muestras

Todos los reactivos fueron adquiridos de empresas químicas y se utilizaron sin purificación adicional. Los sustratos de vidrio, comprados en GLASS LAB (Syl-gard 184) en Bogotá DC, Colombia, se redimensionaron inicialmente con un cortador de punta de diamante, obteniendo sustratos de 10 x 10 mm. Luego, se sometieron a un proceso de limpieza en dos etapas. Primero, se preparó una solución de acetona e isopropanol, ambos con una pureza del 99.9 %, y se colocaron junto con los sustratos en un limpiador ultrasónico Branson M1800H (ver Figura 2-1) durante 15 minutos. Posteriormente, los sustratos se transfirieron a una solución de isopropanol y se sometieron a un segundo ciclo de limpieza ultrasónica de 15 minutos. Este procedimiento tenía como objetivo eliminar cualquier impureza residual que pudiera afectar la calidad de la muestra.



Figura 2-1. Limpiador ultrasónico Branson M1800H.

2.1.1 Crecimiento de las películas delgadas

Para el crecimiento de las películas se utilizó oro sólido de 99.9 % de pureza obtenido de DIEGO JIMENEZ BARONA C.I. S.A.S, Cali, Colombia. Se evaporaron 5 mg de oro sobre sustratos de vidrio utilizando el método de evaporación térmica para producir películas delgadas de oro. En la Figura 2-2 se muestra un (a) esquema y la (b) fotografía del equipo utilizado, el cual consta de una cámara de vacío, medidores de vacío, un evaporador de tungsteno, la fuente de corriente y un soporte para los sustratos. El proceso utilizó una corriente de 70 Amperios a una presión de $\sim 10^{-4}$ mBar para obtener un conjunto de 6 muestras *in-situ*. Entre las principales ventajas de la evaporación térmica, se encuentran las altas tasas de deposición, la simplicidad de la técnica y el bajo costo del equipo. Este equipo fue construido en la Universidad del Valle.

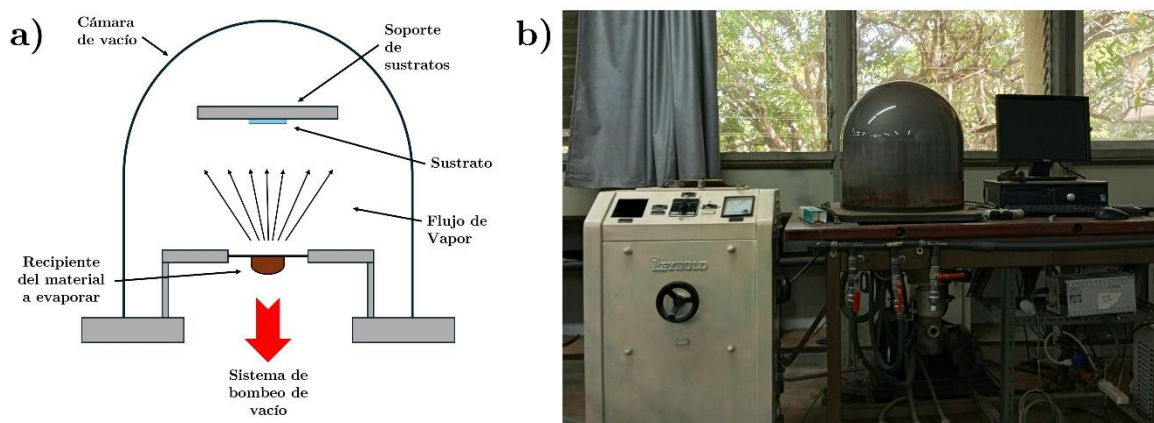


Figura 2-2. a) Esquema del funcionamiento de un evaporador térmico convencional. b) Evaporador térmico utilizado para el crecimiento de las películas de oro.

2.1.2 Fabricación de las nanoestructuras

Posteriormente, las películas preparadas se sometieron a un tratamiento térmico tomando como temperatura $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ya que, según la literatura, para la fabricación de sustratos SERS mediante “dewetting” es óptimo usar temperaturas bajas [43]. Ahora, para estudiar el efecto del tiempo, las películas fueron tratadas durante 1, 3, 6 y 12 h en una atmósfera de aire para estudiar el efecto del tiempo de tratamiento térmico en la señal SERS. En la Figura 2-3 se muestra el equipo del horno Fischer Scientific serie 550 utilizado para el tratamiento térmico.

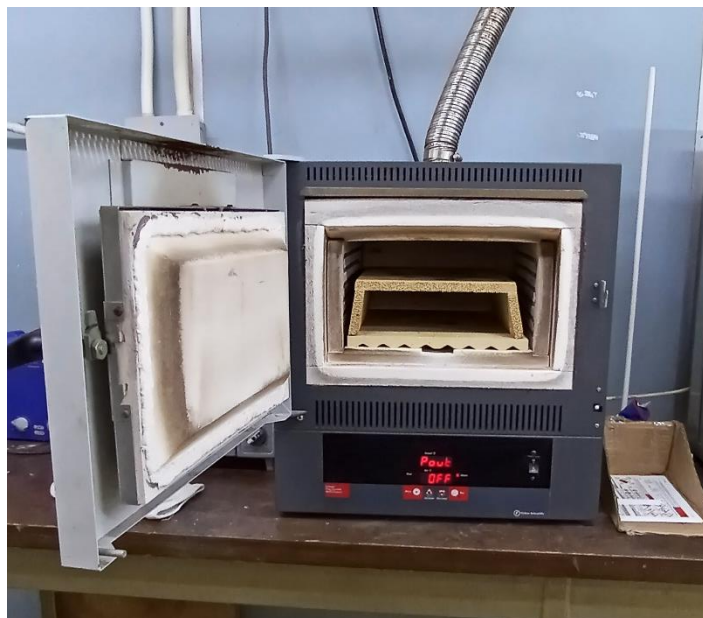


Figura 2-3. Horno utilizado para realizar el tratamiento térmico de las películas de oro.

2.2 Microscopía Electrónica de Barrido

La caracterización morfológica de las nanoestructuras de oro se llevó a cabo utilizando un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FE-SEM, por sus siglas en inglés) de la compañía Tescan (Ver Figura 2-4(a)). La microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) es una técnica ampliamente utilizada para estudiar la superficie de las muestras, analizando su morfología y composición [44, 45]. Ofrece imágenes de resolución nanométrica gracias a la corta longitud de onda de los electrones. El SEM funciona mediante la producción de electrones acelerados, ya sea por emisión termoiónica o de campo, que son enfocados por una lente electromagnética para impactar la muestra y generar radiación [45]. Principalmente, se producen electrones secundarios para formar la imagen y rayos X para

analizar la composición superficial que se conoce como Espectroscopía de Rayos X por Energía Dispersiva (EDS, por sus siglas en inglés) [44, 45].

La diferencia principal entre SEM y FE-SEM es el método de producción de electrones. El SEM utiliza emisión termoiónica, mientras que el FE-SEM usa un cañón de emisión de campo, que genera un campo eléctrico intenso para extraer electrones de una punta de tungsteno, evitando el problema de calentamiento y logrando imágenes de mayor resolución. En la Figura 2-4 se muestra el esquema de funcionamiento y una fotografía del equipo para describir la fuente de electrones y las lentes electromagnéticas características, así como los detectores.

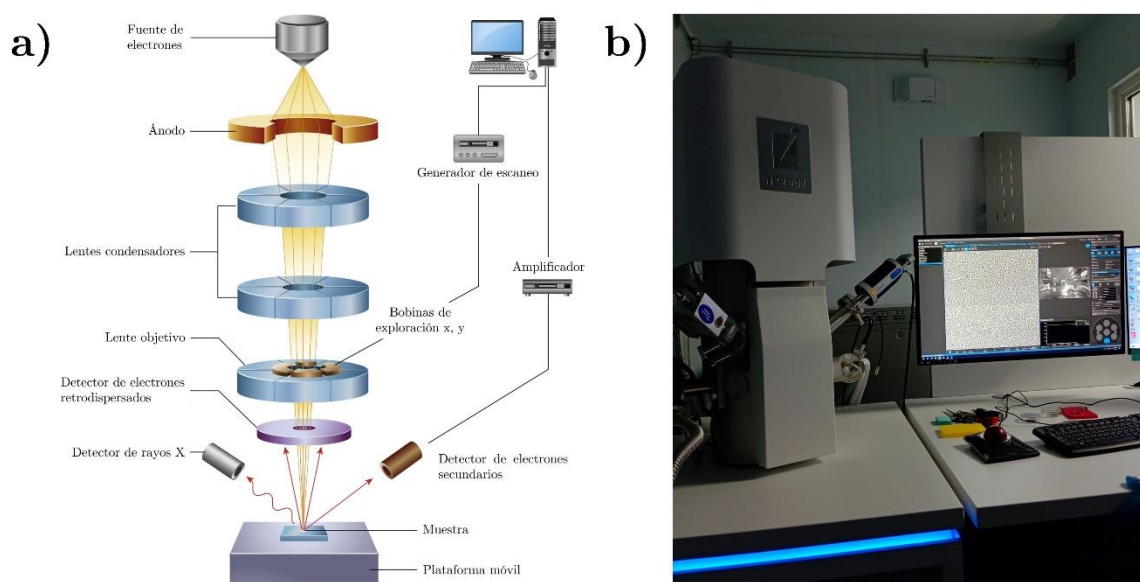


Figura 2-4. a) Esquema ilustrativo del funcionamiento del SEM. Adaptado de [46]. b) SEM Tescan Clara utilizado para la caracterización de las películas nanoestructuradas de oro.

2.3 Espectroscopía Ultravioleta-Visible

Las propiedades ópticas de las películas nanoestructuradas se caracterizaron utilizando un espectrómetro Jasco V-770 UV-Visible (UV-Vis), ver Figura 2-5, en modo de reflectancia difusa, con el objetivo de identificar la banda plasmónica del oro, la cual se encuentra entre 500 y 600 nm según la literatura, dependiendo del tamaño de las nanopartículas [47-49].

La espectroscopía UV-Vis es una técnica de análisis cuantitativo que se basa en los tres principales fenómenos de la interacción radiación-materia: absorción, reflexión y transmisión. Esta técnica mide la atenuación de un haz de radiación (ultravioleta, visible o infrarroja) después de interactuar con la muestra [45, 50]. Para estudiar materiales sólidos en modo de reflectancia, se utiliza una esfera integradora. Este dispositivo óptico está diseñado para medir con precisión la reflectancia y transmitancia de materiales. Sus paredes internas son altamente reflectantes, lo que asegura una dispersión uniforme de la luz [51, 52]. La esfera integradora tiene varias aberturas, que pueden variar según el equipo, pero en general incluye una apertura por la cual ingresa el haz de luz y otras destinadas a colocar el detector. Para mejorar la precisión de la medición, se colocan barreras del mismo material de las paredes de la esfera, evitando que la luz reflejada llegue directamente al detector, lo que se conoce como reflectancia difusa [51, 52]. A partir de la luz reflejada, se obtiene información sobre las propiedades plasmónicas de la muestra, así como sobre el "gap" de energía del material entre otras propiedades ópticas [45, 50].

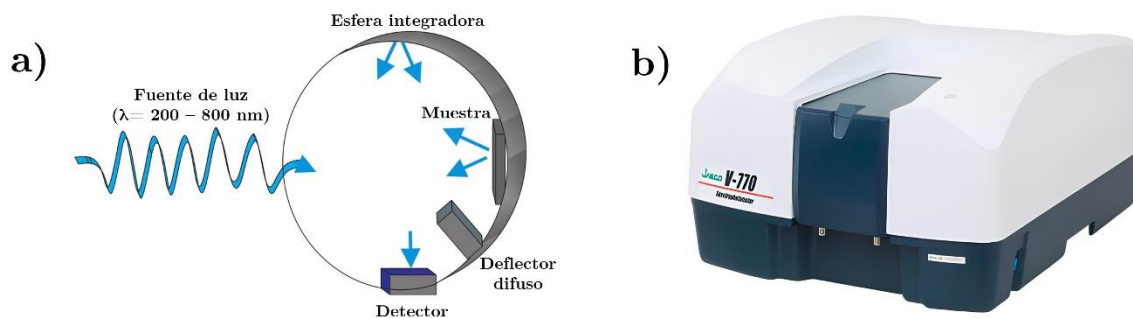


Figura 2-5. a) Esquema del funcionamiento de un espectrómetro UV-Vis para la medida de sólidos usando una esfera integradora. Adaptado de [53]. b) Espectrofotómetro Jasco V-770 UV-Visible utilizado para la caracterización óptica. Adaptado de [54].

2.4 Espectroscopía Raman

La espectroscopía Raman es una técnica fotónica de alta resolución que permite identificar enlaces químicos y la composición molecular mediante el análisis de la luz dispersada por la muestra [44, 45]. Esta dispersión ocurre cuando un haz de luz monocromática incide sobre la muestra, y los fotones dispersados experimentan un cambio en su longitud de onda debido a las rotaciones y vibraciones moleculares, fenómeno conocido como dispersión inelástica o dispersión Raman [44, 45, 55]. Aunque la dispersión inelástica ocurre varios órdenes de magnitud menos que la dispersión Rayleigh, su capacidad para proporcionar información detallada sobre la estructura molecular de los materiales la convierte en una técnica versátil y no destructiva [44, 45, 55].

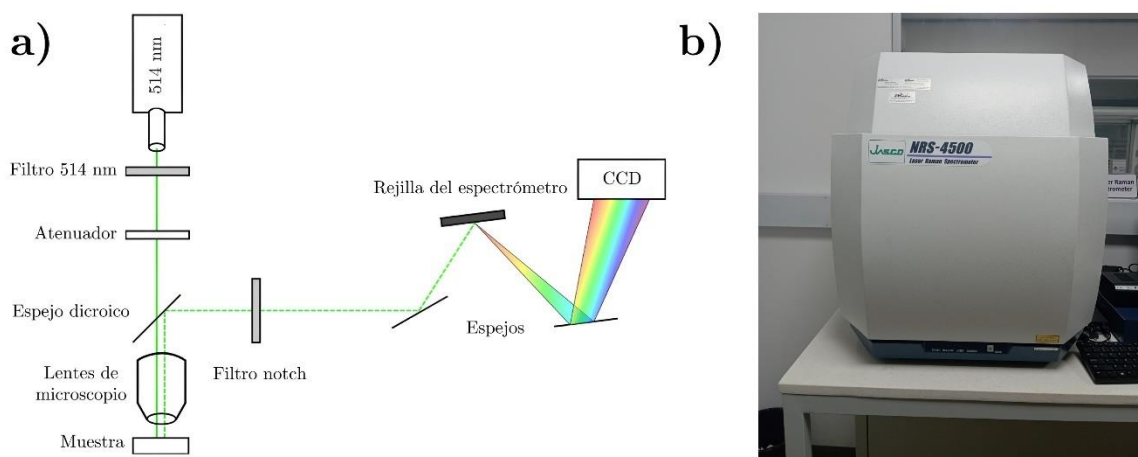


Figura 2-6. a) Esquema del sistema de microscopio para la espectroscopía Raman. Adaptado de [56]. b) Espectrómetro Raman utilizado para la evaluación de la actividad SERS.

Un espectrómetro Raman típico (ver Figura 2-6(a)) consta de una fuente láser, un sistema óptico, una rejilla de difracción para seleccionar longitudes de onda específicas y un detector. Cuando el láser incide en la muestra, los fotones interactúan inelásticamente con los fonones,

generando fotones dispersados con energías distintas. Esta diferencia energética, única para cada material, permite su identificación. La interacción de la luz láser con la nube electrónica de la muestra excita el sistema a un estado virtual, donde puede ocurrir la dispersión Stokes o la dispersión anti-Stokes [44, 45, 55]. Durante este proceso, se registra una intensa señal de dispersión Rayleigh, que debe filtrarse para evitar interferencias con las señales más relevantes de la dispersión inelástica [44, 55, 57].

Sin embargo, es necesario preparar la plataforma SERS antes de la toma del espectro Raman. Teniendo esto en cuenta, se preparó una solución de RhB, obtenida de Merck (97 % $\geq$ de pureza), en agua desionizada con una concentración de 5 ppm (1.04×10^{-5} M), dado que esta concentración, aunque superior a la de los contaminantes emergentes en aguas residuales, permite evaluar el funcionamiento de la plataforma SERS a bajas concentraciones, así mismo, como perspectiva futura, se plantea estudiar el límite de detección de dichas plataformas. Posteriormente, se depositó una gota de 5 μ L de la solución de RhB sobre las películas de oro nanoestructuradas. Para facilitar la adsorción del RhB en la superficie de la película, la gota de solución se dejó en contacto con la película durante 24 h para que se secase al aire antes de la adquisición de los espectros. La elección de la RhB se debió a su amplio uso en la evaluación de la actividad SERS [58-61].

Las mediciones SERS se realizaron utilizando un espectrómetro Raman Jasco RMS 4500 (ver Figura 2-6(b)). Se irradiaron las muestras con un láser azul de longitud de onda de 457.10 nm (2.72 eV) y una potencia de 3.5 mW. Todos los espectros Raman se registraron con un tiempo de exposición de 5 segundos y 30 acumulaciones, facilitando así la visualización de los modos vibracionales característicos de la RhB ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$).

Adicionalmente, estudiar la estabilidad de la señal de la RhB en las mediciones Raman, se realizó un barrido de mapa de 10 x 10 puntos sobre cada superficie de muestra bajo las condiciones previamente definidas. Cada punto del escaneo del mapa correspondió a un espectro Raman individual. Utilizando el software Jasco Spectra-Manager 2.5, fue posible

obtener una media de las mediciones Raman y analizar el cambio espectral en la superficie del sustrato a lo largo de una dirección X o Y específica en el mapa.

3.Resultados y discusión

En este capítulo se presentan los resultados de la caracterización morfológica y óptica de la película de oro sin tratamiento térmico y de las películas con nanoestructuras de oro (AuNEs). Inicialmente, se caracteriza la película sin tratamiento para establecer un punto de comparación que permita evaluar si el tratamiento térmico modifica la estructura de la película y sus propiedades ópticas, específicamente la manifestación de la banda LSPR, utilizando espectroscopía UV-Vis. A partir de esta comparación, se discuten parámetros de la película nanoestructurada, como el tamaño y la distribución de las AuNEs presentes, mediante el uso de SEM. Además, se analizan los cambios en la banda LSPR observados en las muestras tratadas a diferentes tiempos en comparación con la película sin tratamiento.

3.1 Caracterización de las películas delgadas sin tratamiento térmico

3.1.1 Caracterización morfológica

La Figura 3-1 muestra la imagen SEM de la película delgada de oro sin tratamiento térmico, donde se observa una superficie rugosa con algunas imperfecciones, lo cual es esperado debido al método de crecimiento empleado. Esta imagen muestra un crecimiento tipos isla característicos de este tipo de sistemas.

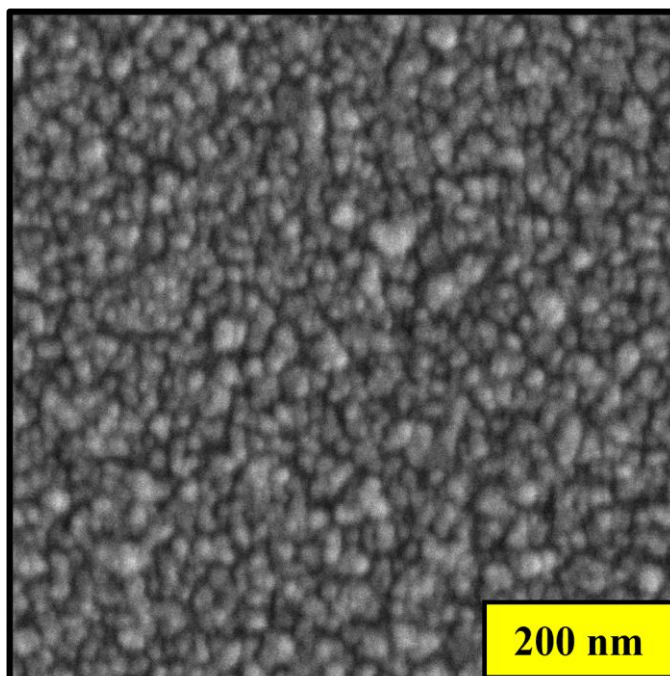


Figura 3-1. Imagen SEM de la película delgada de oro sin tratamiento térmico.

3.1.2 Caracterización óptica

La Figura 3-2 muestra el espectro de absorción correspondiente a la película de oro sin tratamiento de la cual se observa una presencia de la banda LSPR débil, la cual según la literatura se encuentra generalmente en la región entre 500-600 nm dependiendo de la morfología y tamaño de las distintas nanoestructuras [47-49, 62].

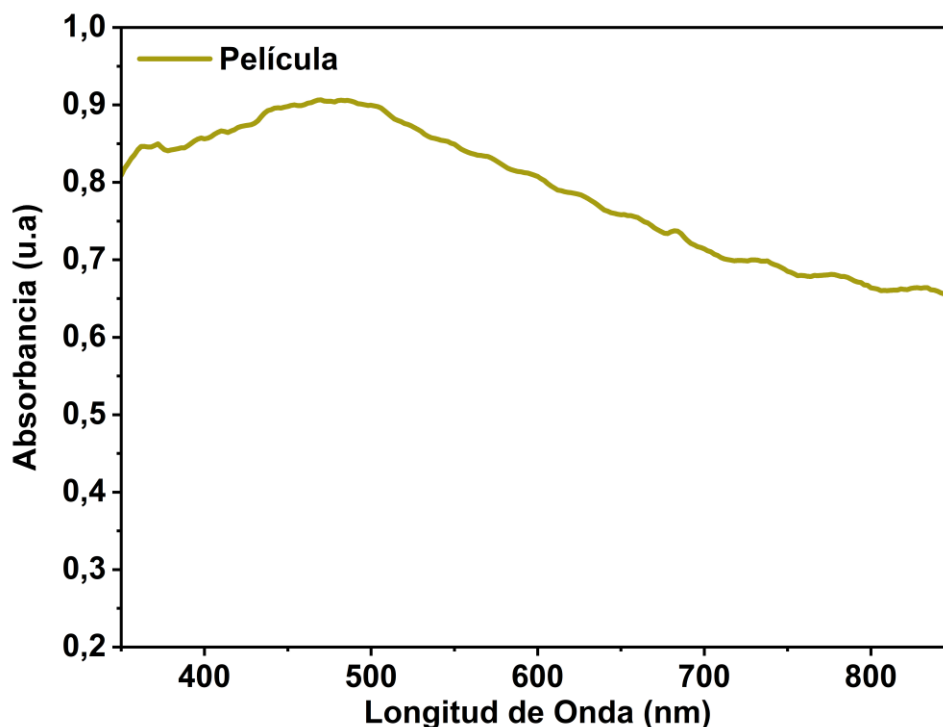


Figura 3-2. Espectro de absorción de la película delgada de oro sin tratamiento térmico.

La respuesta de la película de oro se atribuye a una contribución débil de la banda plasmónica del oro ya que el fenómeno LSPR ocurre bajo condiciones de confinamiento espacial y en esta película tenemos una superficie granular (ver Figura 3-1) que no permite un confinamiento adecuado para observar la banda LSPR adecuadamente. En el caso de las AuNEs estudiadas en este trabajo, el plasmón está confinado, lo que permite un aumento significativo del campo eléctrico a unos pocos nanómetros de la superficie de la nanoestructura manifestando la banda LSPR (ver Figura 3-5). Por esta razón, este fenómeno no se manifiesta de manera tan significativa en superficies granulares, como en esta película delgada, donde los plasmones pueden llegar a desplazarse libremente a lo largo de la superficie sin generar el confinamiento necesario para la LSPR [63-66].

3.2 Caracterización de las películas nanoestructuradas de oro

3.2.1 Caracterización morfológica

La Figura 3-3 presenta imágenes de SEM de las AuNEs fabricadas mediante el tratamiento térmico de las películas de oro crecidas por evaporación térmica (ver Figura 3-1) a una temperatura de 300 °C. Las imágenes de la Figura 3-3 corresponden a un área representativa de la muestra respectiva de un área de 1000 x 1000 nm². En estas, se observan nanoestructuras con morfología esferoidal, como se muestra en las Figura 3-3(a)-3(c). Sin embargo, a medida que aumenta el tiempo de tratamiento, algunas AuNEs tienden a coalescer, como se aprecia en la Figura 3-3(d). A pesar de esta coalescencia, no se observan diferencias significativas en el tamaño y la forma de las AuNEs tratadas a esta temperatura, lo que sugiere una consistencia en el proceso de tratamiento en cuanto a la morfología de las nanoestructuras.

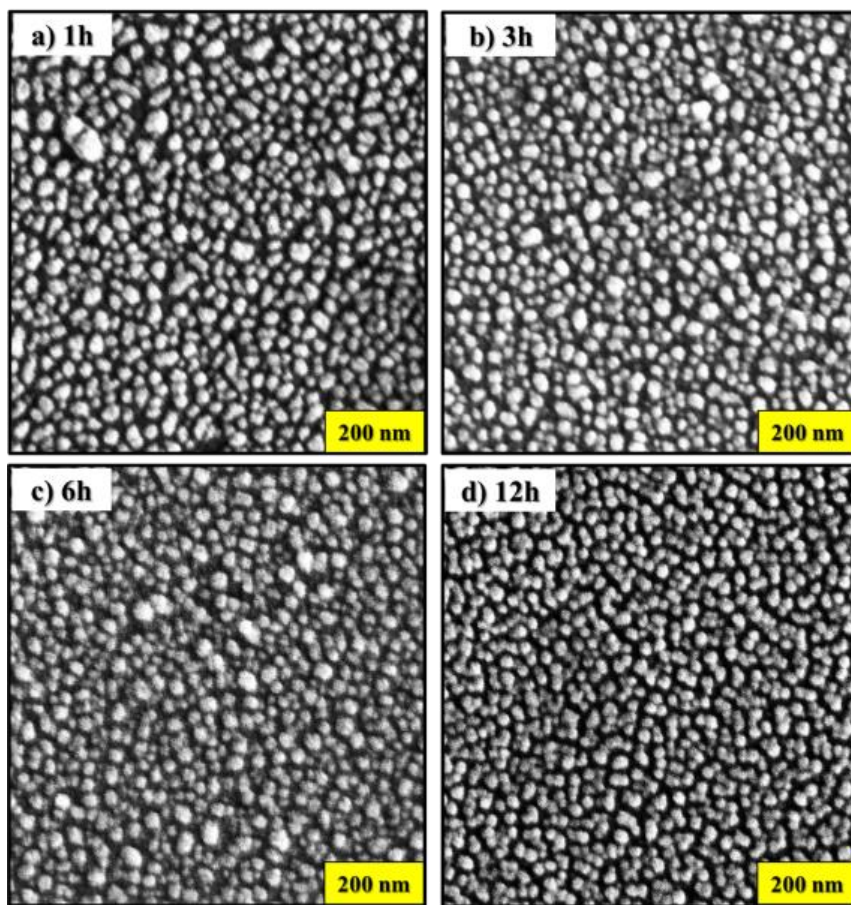


Figura 3-3. Imágenes SEM de las películas delgadas nanoestructuradas de oro a diferentes tiempos de tratamiento térmico: (a) 1 h, (b) 3 h, (c) 6 h y (d) 12 h.

Para estimar el tamaño medio de las partículas se utilizó el software ImageJ®. Mediante el establecimiento de un “Threshold” en cada imagen, el programa midió el área de cada partícula individualmente. Asumiendo que cada partícula era esférica, se pudo estimar el diámetro de las nanopartículas. Se elaboraron histogramas de distribución de tamaño para cada muestra, como se muestra en las Figura 3-4(a)-4(d). En estos histogramas, se estimó un tamaño medio de las partículas (los valores están consignados en el margen superior derecho de cada histograma) entre 22 ± 7 nm y 24 ± 6 nm.

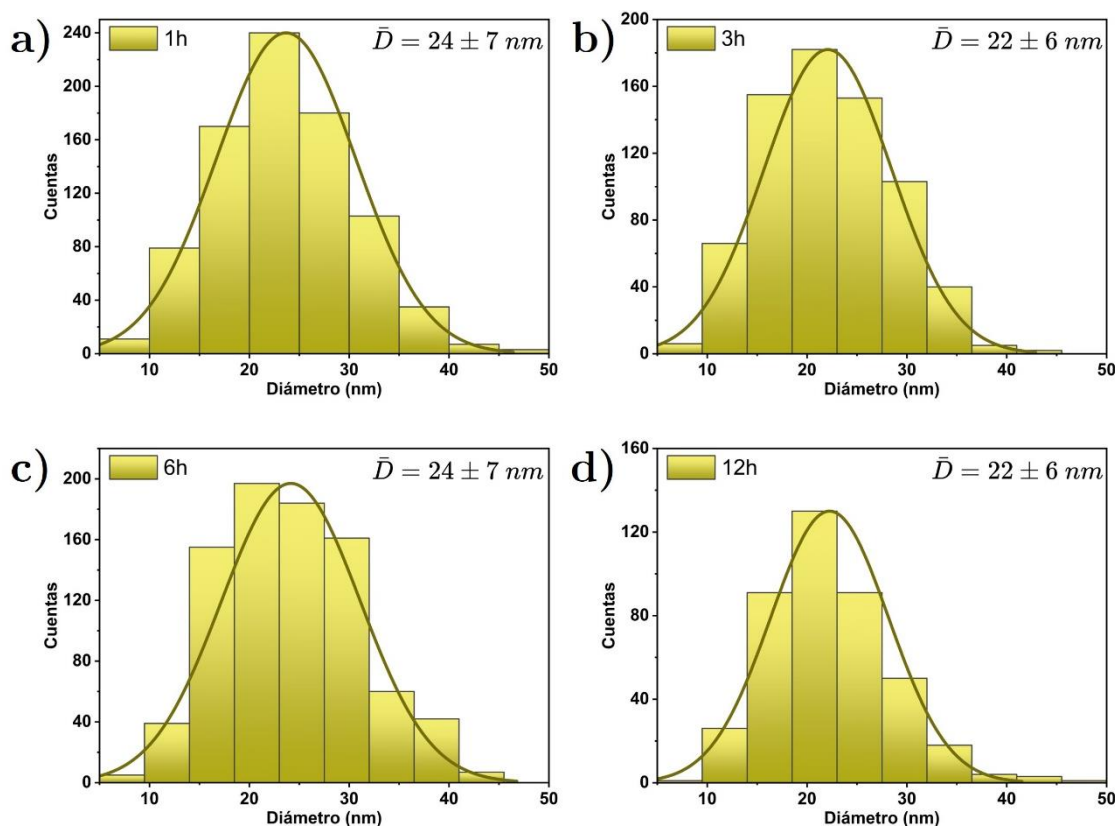


Figura 3-4. Histogramas de distribución de tamaños de las nanoestructuras: (a) 1 h, (b) 3 h, (c) 6 h y (d) 12 h.

3.2.2 Caracterización óptica

Se utilizó la espectroscopía de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis) para estudiar la respuesta óptica de las AuNEs, específicamente, la resonancia de plasmón superficial localizado. Se sabe que el fenómeno LSPR exhibido por las AuNEs está influenciado por su tamaño y forma. En consecuencia, los espectros de absorción de la película recocida durante 1 hora muestran una banda LSPR alrededor de 600 nm (2.07 eV), atribuida a las AuNEs (ver Figura 3-5(a)). Sin embargo, en el caso de las AuNEs recocidas durante 3 horas, 6 horas y 12 horas, las bandas LSPR observadas se situaban en torno a 588 nm (2.11 eV), 590 nm (2.10 eV) y 575 nm (2.16 eV) respectivamente, tal como se muestra en las Figura 3-5(b)-

5(d). Se observa que la forma y la posición en el eje de las longitudes de onda de la banda LSPR son bastante similares entre el conjunto de muestras. Sin embargo, según la posición de la banda LSPR, se observan pequeños corrimientos con el aumento del tiempo de tratamiento.

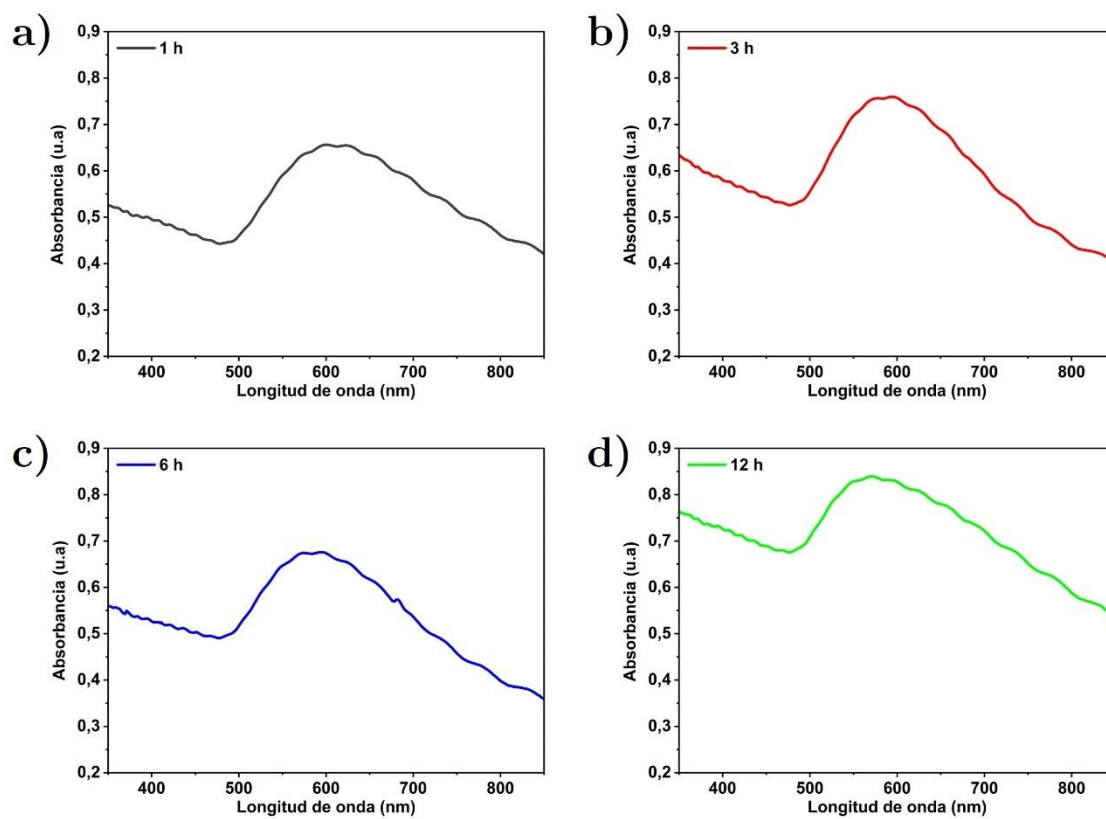


Figura 3-5. Espectros de absorción de AuNEs sobre sustratos de vidrio tratados a 300 °C. (a) 1 h, (b) 3 h, (c) 6 h, y (d) 12 h.

4. Evaluación de la actividad SERS

En este capítulo se caracteriza la actividad SERS de las muestras tratadas durante distintos tiempos mediante espectroscopía Raman. Se identificaron los principales modos vibracionales de la RhB, utilizada como compuesto modelo, presentes en las muestras. Se muestra también una comparación entre espectros tomados en zonas con y sin depósito de solución de RhB. Además, se profundiza en el estudio de parámetros cruciales para la caracterización de una plataforma SERS, como la estabilidad y reproducibilidad, mediante un mapeo de un área de $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ y la estimación de la desviación estándar relativa (RSD, por sus siglas en inglés) para asegurar la estabilidad de la plataforma. También se calculó el factor de incremento de la señal Raman respecto a una muestra de RhB de referencia.

4.1 Espectro Raman para RhB en polvo

La Figura 4-1 muestra el espectro de dispersión Raman de RhB en polvo, realizado con el objetivo de identificar los principales modos vibracionales de la RhB. Esto permite determinar, mediante comparación con los espectros SERS de la sección 4.3, si los espectros obtenidos en la siguiente sección corresponden a la RhB.

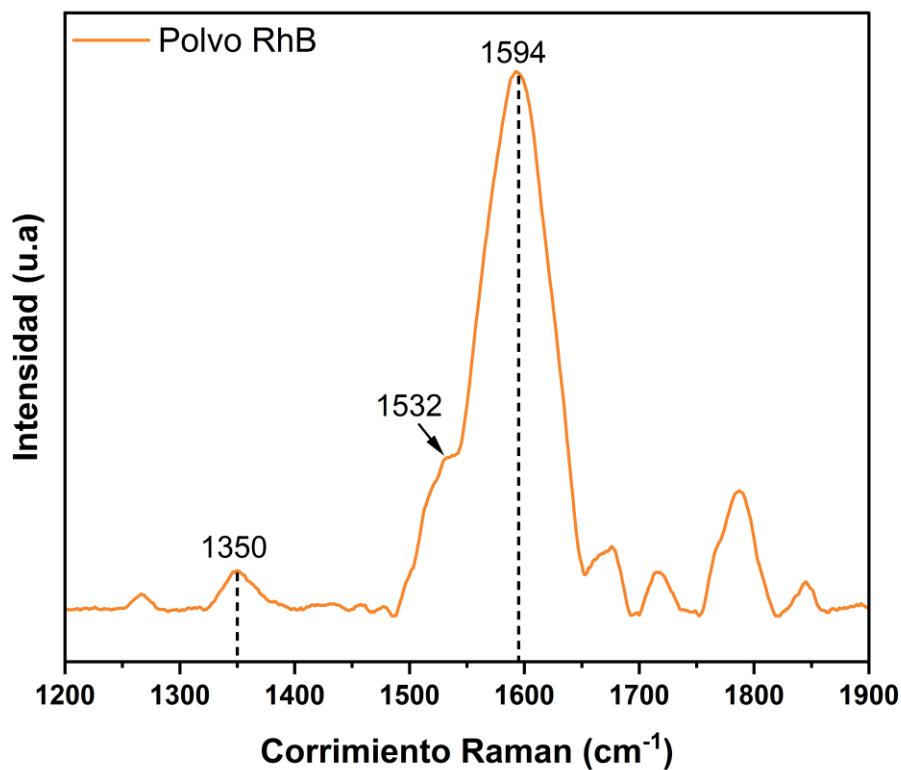


Figura 4-1. Espectro Raman de la RhB en polvo con sus modos vibracionales característicos señalados.

Las asignaciones de las bandas señaladas en la Figura 4-1 con los modos vibracionales de la molécula de RhB se muestran en la Tabla 4-1.

Corrimientos Raman observados			
Otros modos de la RhB reportados	RhB polvo	Asignación	Referencias
1355, 1361, 1362	1350 d	Est arom C–C	[58, 60, 67-69]
1526, 1532, 1533	1532 h	C–H est	[60, 67, 68]
1594, 1599	1594 mf	Est arom C–C	[58, 60, 67]

mf-Muy fuerte, f-fuerte, m-medio, d-débil, md-Muy débil, h-Hombro, est-Estiramiento, flex-Flexión, arom-Anillo aromático

Tabla 4-1. Asignaciones de los modos vibracionales (ν , cm^{-1}) en los espectros Raman de la RhB en polvo.

4.2 Comparación entre espectros Raman de distintas zonas de la película nanoestructurada de oro

Ahora, a manera de realizar la comparación entre los espectros Raman obtenidos en una zona con y sin RhB se muestran en la Figura 4-2 los promedios de los espectros Raman medidos a lo largo de un área de $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ de cada una de las muestras tratadas a distintos tiempos de tratamiento térmico.

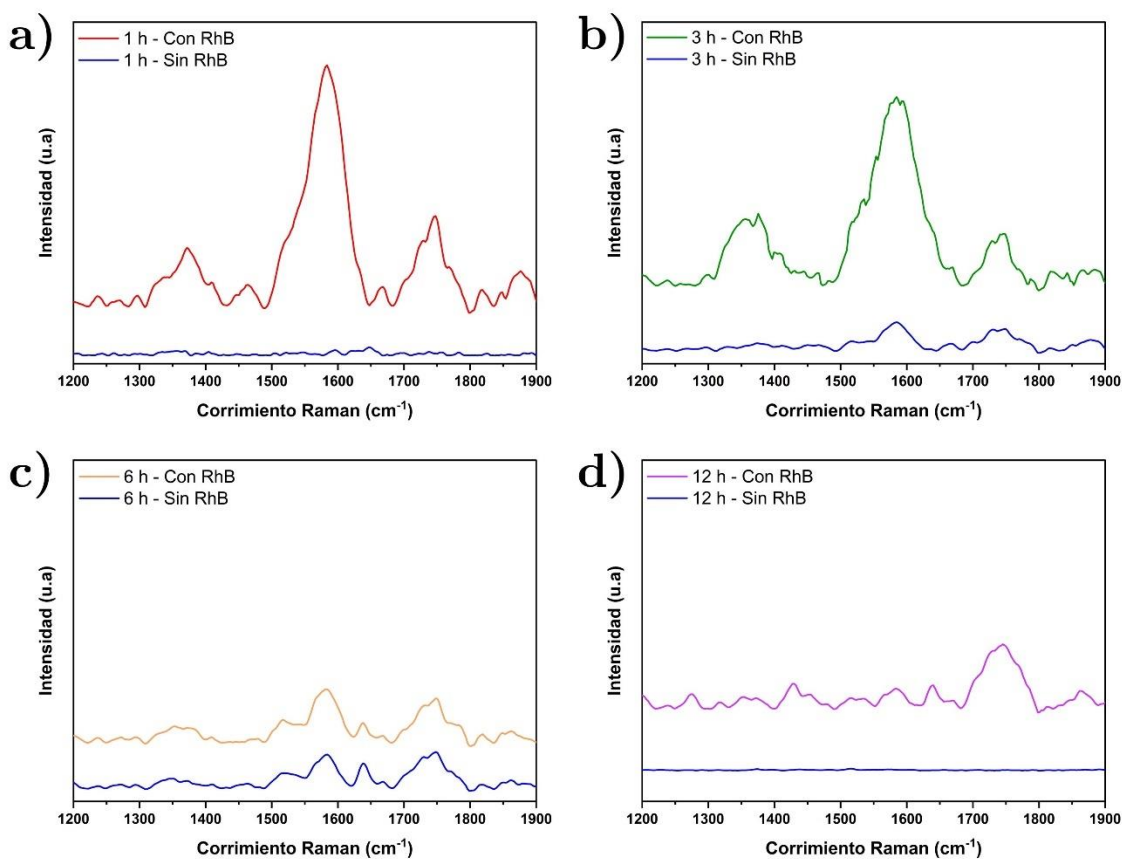


Figura 4-2. Espectros Raman tomados sobre una zona con y sin depósito de solución de RhB para las muestras de a) 1 h, b) 3 h, c) 6 h, d) 12 h.

En las Figura 4-2(a), 2(b) y 2(d) se observa una clara diferencia entre las bandas del espectro medido en la zona con RhB y el espectro tomado en la zona sin RhB. Además, se observa que para la muestra tratada durante 1 y 12 h no presenta ninguna señal Raman como es de esperarse. Sin embargo, para las muestras tratadas durante 3 y 6 h la zona sin RhB muestra una señal, lo cual se atribuye a que no se localizó correctamente el punto de medida siendo posible que todavía exista RhB en esa zona dada la distribución de la gota sobre la superficie. Estos resultados sugieren que las AuNEs responden a la RhB aumentando la señal en tiempos de tratamiento específicos, lo cual se puede evidenciar en la variación de la intensidad del pico ubicado alrededor de los 1580 cm^{-1} .

4.3 Espectros Raman para la solución de RhB depositada sobre las nanoestructuras de oro

Para estudiar de manera más detallada la actividad SERS de las AuNEs, en las Figura 4-3(a)-3(d) muestra los espectros de dispersión Raman integradas en un punto del eje "x", a través de todo el espectro del eje "y" de las AuNSs recocidas a $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1, 3, 6 y 12 h, respectivamente.

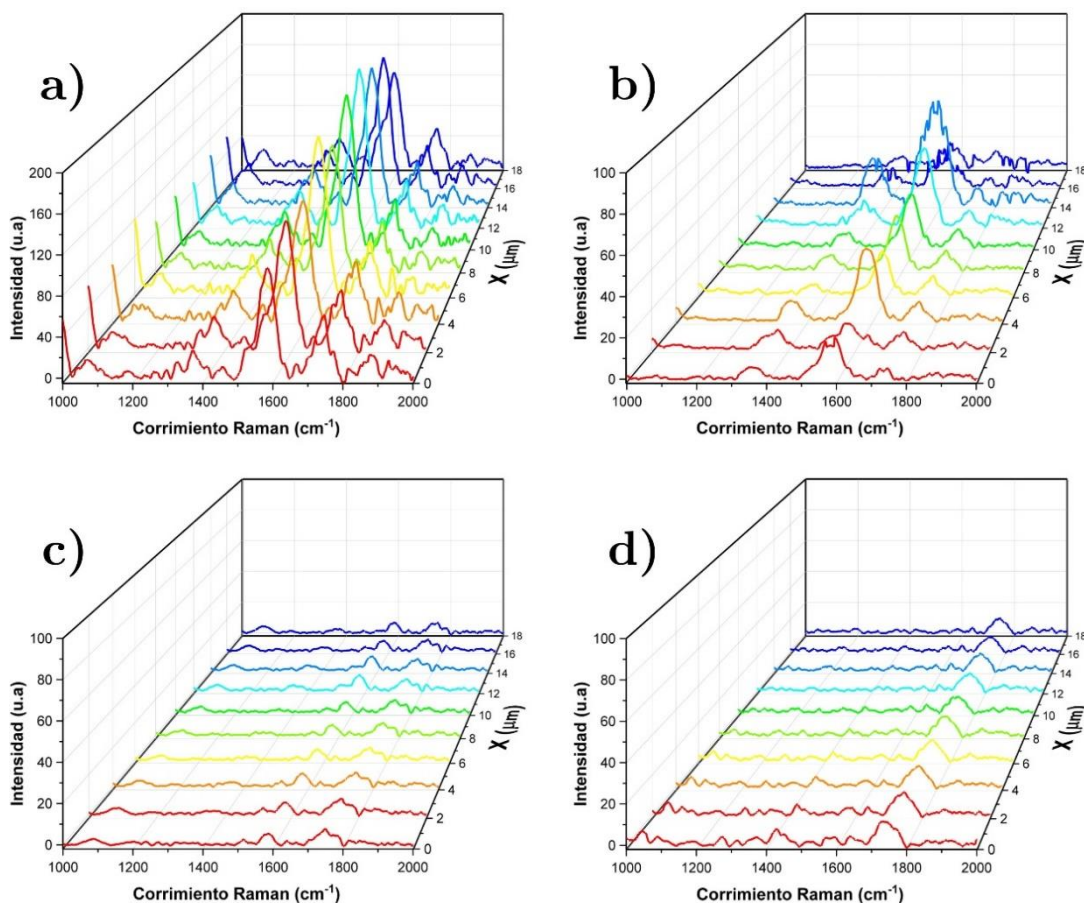


Figura 4-3. Espectro SERS promedio de la RhB adsorbida sobre AuNEs barridos desplazándose a lo largo de 10 μm sobre las muestras de (a) 1 h, (b) 3 h, (c) 6 h y (d) 12 h.

Los espectros SERS exhiben similitudes, aunque ciertos modos vibracionales aparecen con diferentes intensidades. Esta variación en la intensidad puede atribuirse a la orientación espacial de la molécula de RhB en relación con las AuNEs, lo que influye en la señal Raman. Las Figura 4-3(a)-3(b) presentan un pico alrededor de los 1580 cm^{-1} que es más intensa que las demás, considerándose así el pico principal de la RhB.

Por otro lado, se observa que en las muestras tratadas durante 6 y 12 h (ver Figura 4-3(c)-3(d)) la intensidad del pico principal de la RhB está muy reducida en comparación a las muestras tratadas durante 1 y 3 h (ver Figura 4-3(a)-3(b)) que considerando que la señal ruido presente es apreciable, es necesario establecer un criterio para poder afirmar si se

detecta una banda de la RhB o se trata de ruido. Para esto, se define la relación señal-ruido (SNR, por sus siglas en inglés) mediante su expresión estándar como se muestra en [70-72]:

$$\text{SNR} = \frac{I_{\text{banda}}}{\sigma_{\text{ruido}}} \quad (4.1)$$

Donde I_{banda} es la intensidad de la banda principal de la RhB y σ_{ruido} es la desviación estándar de las intensidades de la señal ruido medidas en una zona donde no se espera tener presencia de ninguna banda de la RhB. Tomando como referencia espectros Raman teóricos y experimentales de la RhB, se seleccionó el rango de corrimiento Raman desde 850 hasta 950 cm^{-1} , donde se observa que la RhB no tiene actividad y, por tanto, la señal presente es solo ruido [23, 58-61, 67].

Es comúnmente aceptado que si la $\text{SNR} > 3$ se puede afirmar que se detecta la señal de un pico de la molécula estudiada. En la Tabla 4-2 se muestra la SNR promedio calculado para las muestras de 1, 3, 6 y 12 h.

Muestra	SNR promedio
1 h	46
3 h	51
6 h	20
12 h	1

Tabla 4-2. SNR promedio calculados para las muestras tratadas a distinto tiempo de tratamiento térmico.

En la Tabla 4-2 se observa que para la muestra tratada durante 12 h el SNR promedio no es mayor que 3, dado el criterio mencionado anteriormente, no se puede afirmar que para esta muestra se detecta señal de la RhB mientras que, para las demás muestras, bajo este mismo criterio, sí se puede hacer esta afirmación. Por lo tanto, al analizar el tiempo de tratamiento de cada sustrato SERS en relación con la señal Raman obtenida de RhB, se

infiere que 1 o 3 horas de tratamiento son suficientes para detectar la señal Raman de la molécula.

De este modo, se identificaron los modos vibracionales de la RhB de los espectros SERS, los cuales muestran corrimientos respecto a los modos encontrados en la RhB en polvo (ver Figura 4-1). Sin embargo, estos modos se encuentran respaldados por la literatura. Los modos de la RhB observados para la RhB en condiciones SERS se muestran en la Tabla 4-3.

Corrimientos Raman observados						
Otros modos de la RhB reportados	SERS (RhB/AuNEs)				Asignación	Referencias
	1 h	3 h	6 h	12 h		
1355, 1361, 1362	1370 d	1364 d	--	--	Est arom C–C	[58, 60, 67, 68, 69]
1426, 1430	--	--	--	--	Est arom C–C + flex C–H	[60, 67]
1503, 1504, 1510, 1512	1514 h	--	--	--	Est arom C–C	[58, 60, 67-69]
1526, 1532, 1533	1522 h	--	--	--	C–H est	[60, 67, 68]
1560, 1572, 1575, 1580, 1585	1583 mf	1582 mf	1584 md	--	arom C–C est	[60, 67,69]
mf-Muy fuerte, f-fuerte, m-medio, d-débil, md-Muy débil, h-Hombro, est-Estiramiento, flex-Flexión, arom-Anillo aromático. Los corrimientos Raman reportados para los sustratos SERS se obtienen al promediar el pico principal a lo largo de la superficie						

Tabla 4-3. Asignaciones de los modos vibracionales (ν , cm^{-1}) en los espectros SERS del RhB.

Las bandas observadas en los espectros SERS coinciden estrechamente con las reportadas en la Tabla 4-3 y las reportadas en estudios anteriores de Raman [58, 60, 67-69]; sin embargo, algunas bandas muestran un ligero desplazamiento y ensanchamiento, atribuidos a la interacción entre las moléculas de analito y las AuNEs. Por tanto, los modos vibracionales característicos y su asignación se muestran en la Tabla 4-3. De este modo, teniendo en cuenta la naturaleza de los sustratos fabricados, es razonable observar

fluctuaciones en las formas espectrales de los distintos experimentos. No obstante, estas variaciones espectrales pueden dar lugar a características únicas en función de las condiciones de análisis empleadas.

Ahora, para estudiar la estabilidad de la plataforma SERS se calculó la desviación estándar relativa (RSD, por sus siglas en inglés) de la intensidad del pico principal de cada muestra. Para esto se define la RSD de manera estándar como:

$$\text{RSD} = \frac{\sigma}{\bar{x}} \quad (4.2)$$

Donde σ es la desviación estándar de las intensidades del pico principal de la RhB, calculada para cada muestra tomando una intensidad para cada posición en el eje X. En la Figura 4-4, se muestran las intensidades del pico principal en cada posición en el eje X respecto al promedio de estas, además de la RSD respectiva para cada muestra.

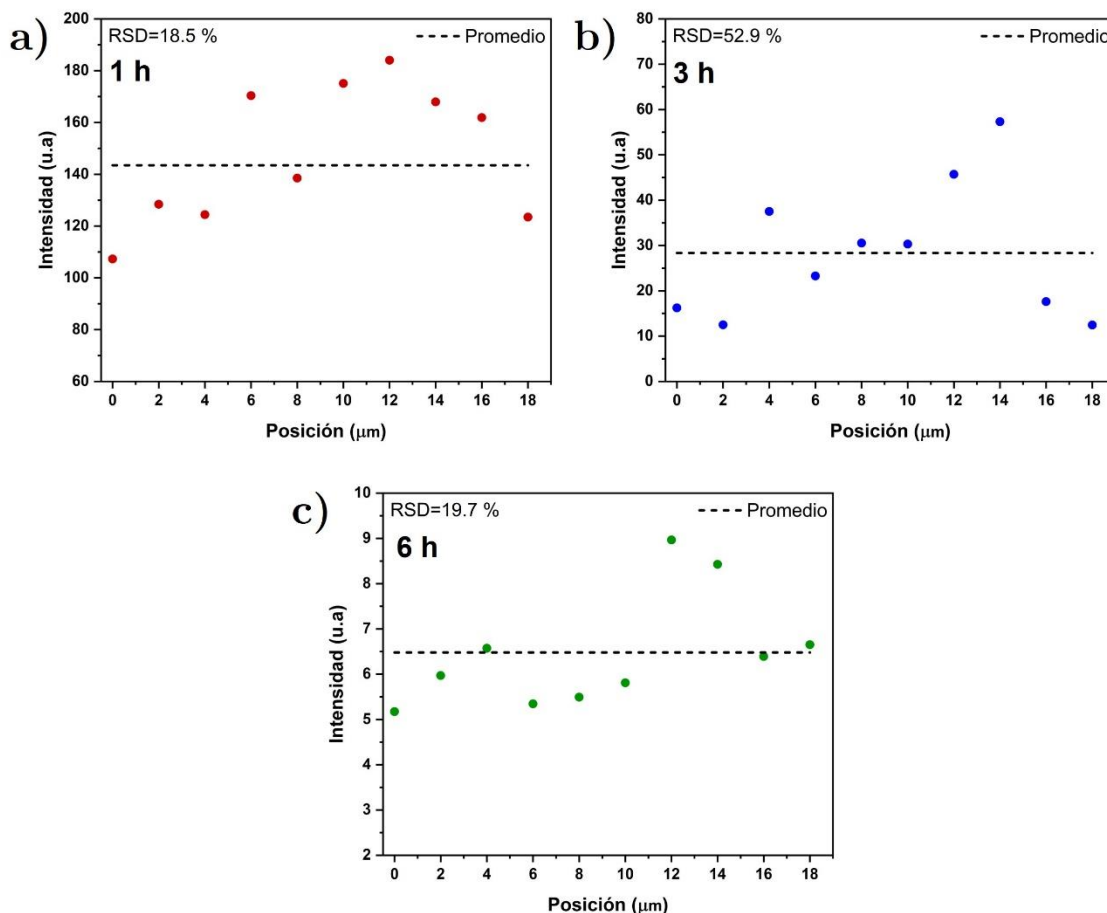


Figura 4-4. Intensidad del pico principal a lo largo del eje 'x' (Puntos) respecto al promedio de intensidad de este (Línea punteada) para las muestras de (a) 1 h, (b) 3 h y (c) 6 h.

Es importante señalar que no se calculó la RSD para la muestra tratada durante 12 h, ya que, según el criterio del SNR, la señal es comparable al ruido de la medida. En la Figura 4-4, se observa que la muestra con la mayor RSD es la tratada durante 3 h. Aunque esta muestra exhibe una señal considerable de RhB, su baja estabilidad impide una reproducibilidad adecuada en la detección de RhB. En contraste, la muestra tratada durante 6 h presenta una RSD inferior al 20 %, lo cual indica una concordancia en las mediciones realizadas sobre su superficie. Finalmente, la muestra tratada durante 1 h muestra una RSD ligeramente menor que la de la muestra tratada durante 6 h, pero con la diferencia de que su intensidad promedio es varias veces superior a la de la muestra de 6 h.

Es así, que para terminar de caracterizar la plataforma SERS otro parámetro de vital importancia es el factor de aumento, que se define como el número de veces que se incrementa la señal Raman de la molécula medida en condiciones SERS en comparación con la misma molécula medida sin condiciones SERS. Por lo que, teniendo en cuenta esto el factor de aumento de la señal Raman se calculó usando el Factor de Aumento Analítico (AEF, por sus siglas en inglés) el cual es un método estándar para determinar el aumento en la señal para la clase de sistemas trabajados [23, 24, 73-75] y se define como:

$$\text{AEF} = \frac{I_{\text{SERS}}/c_{\text{SERS}}}{I_{\text{Raman}}/c_{\text{Raman}}} \quad (4.3)$$

Aquí, I_{SERS} e I_{Raman} representan las intensidades de las señales SERS y Raman, respectivamente, mientras que c_{SERS} y c_{Raman} denotan las concentraciones del analito en condiciones con SERS y sin SERS. Dado que las condiciones experimentales para las mediciones en condiciones con SERS y sin SERS son idénticas, las concentraciones de RhB c_{SERS} y c_{Raman} son iguales, y el cálculo del AEF consiste simplemente en tomar la relación entre las intensidades de las mediciones en condiciones con SERS y sin SERS.

Nuestros resultados indican factores de aumento promedio de 123, 26 y 5 para los tiempos de tratamiento térmico de 1, 3 y 6 h, respectivamente. En el caso de la muestra de 12 h, la intensidad de la señal SERS era comparable al nivel de ruido, por lo que resulta imposible estimar la presencia de modos vibracionales de RhB y, en consecuencia, los factores de mejora para esta muestra. En la Figura 4-5 se muestra cómo varía la RSD y el AEF en función del tiempo para 1, 3 y 6 h.

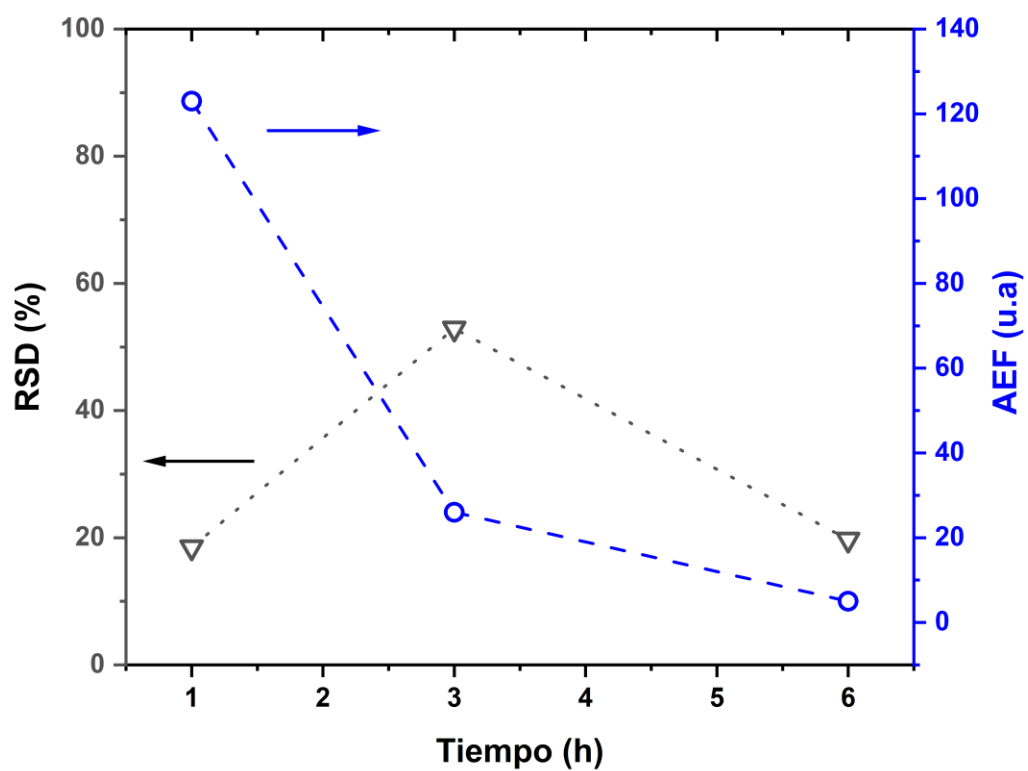


Figura 4-5. Desviación estándar relativa y factor de aumento analítico como función del tiempo de tratamiento térmico.

5. Conclusiones y perspectivas

5.1 Conclusiones

En este trabajo, se estudió el potencial de las películas delgadas nanoestructuradas de oro como plataformas para la Espectroscopía Raman Aumentada por Superficie (SERS) destinada a detectar contaminantes emergentes en el agua, usando RhB como compuesto modelo. Se demostró que las nanoestructuras de oro tienen una capacidad significativa para mejorar las señales SERS, pero sin presentar los problemas asociados con los métodos usuales de fabricación de nanopartículas de oro.

El análisis morfológico reveló diversas morfologías de nanoestructuras, predominando las formas esferoidales, aunque también se observaron estructuras alargadas o semicirculares debido a la coalescencia de nanoestructuras. No se encontraron diferencias significativas en el tamaño de las nanoestructuras con el aumento del tiempo de tratamiento térmico. Sin embargo, el fenómeno de coalescencia promovido por el aumento del tiempo del tratamiento térmico disminuye los “hot-spots” en los sustratos.

Por otro lado, la caracterización óptica mostró la presencia de la banda plasmónica del oro en todos los tiempos de tratamiento térmico, con ligeros corrimientos en la longitud de onda asociados a cambios morfológicos.

La muestra tratada durante 1 hora presentó el mayor factor de aumento (123 veces) y la menor desviación estándar relativa (18.5 %), indicando mediciones más reproducibles y

condiciones más adecuadas para el desarrollo de sensores basados en SERS. Las variaciones en el factor de aumento y la desviación estándar relativa destacan la estrecha relación entre la mejora de la señal SERS y el acoplamiento de las partículas a escala nanométrica. Las alteraciones observadas en el espectro SERS tras el secado de la solución de RhB se atribuyen a cambios en la adsorción molecular y la distribución superficial, influyendo en el aumento del campo eléctrico localizado, así como el efecto de la coalescencia promovido por el incremento del tiempo de tratamiento térmico.

En conclusión, las películas delgadas de AuNEs son plataformas prometedoras para la detección de contaminantes emergentes en el agua mediante SERS. El método de fabricación empleado es eficaz y rentable, permitiendo la detección de RhB a muy bajas concentraciones sin necesidad de tiempos prolongados de tratamiento térmico, lo que subraya su potencial para aplicaciones prácticas en el monitoreo ambiental.

5.2 Perspectivas

Dado que la muestra tratada durante 1 hora mostró los mejores resultados entre los tiempos de tratamiento estudiados, se propone como estudio futuro explorar diferentes tiempos de tratamiento térmico cercanos a 1 hora para determinar si existen condiciones que ofrezcan mejores respuestas SERS que las obtenidas en este trabajo. Además, considerando que el incremento de la señal Raman en este estudio es modesto en comparación con otros, se sugiere optimizar este aumento variando parámetros experimentales en la medición Raman, como la potencia y longitud de onda del láser, el tiempo de exposición y el número de acumulaciones, con el objetivo de maximizar la señal obtenida con el conjunto de muestras utilizado.

Adicionalmente, se plantea realizar una curva de calibración de las plataformas para determinar su límite de detección, variando las concentraciones de la solución de RhB depositadas sobre las AuNEs. Esto permitirá una mejor comprensión del potencial de estas nanoestructuras.

Bibliografía

- [1] A. H. A. Khan and R. Barros, “Pharmaceuticals in Water: Risks to Aquatic Life and Remediation Strategies,” *Hydrobiology*, vol. 2, no. 2, pp. 395–409, Jun. 2023, doi: 10.3390/hydrobiology2020026.
- [2] World Health Organization, “Pharmaceuticals in drinking-water,” 2012. [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241502085>
- [3] S. Sharma and A. Bhattacharya, “Drinking water contamination and treatment techniques,” *Appl Water Sci*, vol. 7, no. 3, pp. 1043–1067, Jun. 2017, doi: 10.1007/s13201-016-0455-7.
- [4] M. Patel, R. Kumar, K. Kishor, T. Mlsna, C. U. Pittman, and D. Mohan, “Pharmaceuticals of Emerging Concern in Aquatic Systems: Chemistry, Occurrence, Effects, and Removal Methods,” *Chem Rev*, vol. 119, no. 6, pp. 3510–3673, Mar. 2019, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00299.
- [5] E. Marcela and J. Bambague, “Technological coupling of advanced oxidation processes and high rate algal pond for removal of pharmaceutical compounds in urban wastewater,” Universidad del Valle, Santiago de Cali, 2023.
- [6] M. Fernando, M. Sandoval, and H. Reyes Pineda, “Remoción de compuestos farmacéuticos activos en aguas residuales industriales, mediante un reactor electroquímico de compartimentos separados,” Master’s thesis, Universidad de Manizales, Manizales, 2021. [Online]. Available: <https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/handle/20.500.12746/5488>
- [7] V. Cesar Moreno-Ortiz *et al.*, “Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente,” *Revista Mexicana de ciencias farmaceuticas*, 2013.
- [8] E. M. Jiménez-Bambague, C. A. Madera-Parra, and F. Machuca-Martinez, “The occurrence of emerging compounds in real urban wastewater before and after the

- COVID-19 pandemic in Cali, Colombia,” *Curr Opin Environ Sci Health*, vol. 33, p. 100457, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.coesh.2023.100457.
- [9] S. N. Zulkifli, H. A. Rahim, and W.-J. Lau, “Detection of contaminants in water supply: A review on state-of-the-art monitoring technologies and their applications,” *Sens Actuators B Chem*, vol. 255, pp. 2657–2689, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.snb.2017.09.078.
- [10] D. Kadadou, L. Tizani, H. Alsafar, and S. W. Hasan, “Analytical methods for determining environmental contaminants of concern in water and wastewater,” *MethodsX*, vol. 12, p. 102582, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.mex.2024.102582.
- [11] D. Fatta, A. Achilleos, A. Nikolaou, and S. Meriç, “Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater,” *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 26, no. 6, pp. 515–533, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.trac.2007.02.001.
- [12] L. Dykman and N. Khlebtsov, “Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, no. 6, pp. 2256–2282, Feb. 2012, doi: 10.1039/C1CS15166E.
- [13] Z. Huang, A. Zhang, Q. Zhang, and D. Cui, “Nanomaterial-based SERS sensing technology for biomedical application,” *J Mater Chem B*, vol. 7, no. 24, pp. 3755–3774, 2019, doi: 10.1039/C9TB00666D.
- [14] K. Kneipp, “Surface-enhanced Raman scattering,” *Phys Today*, vol. 60, no. 11, pp. 40–46, Nov. 2007, doi: 10.1063/1.2812122.
- [15] C. L. Haynes, A. D. McFarland, and R. P. Van Duyne, “Surface-Enhanced Raman Spectroscopy,” *Anal Chem*, vol. 77, no. 17, pp. 338 A–346 A, Sep. 2005, doi: 10.1021/ac053456d.
- [16] C. Liu, D. Xu, X. Dong, and Q. Huang, “A review: Research progress of SERS-based sensors for agricultural applications,” Oct. 01, 2022, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.tifs.2022.07.012.
- [17] G. Barbillon and H. Cheap-Charpentier, “Advances in Surface-Enhanced Raman Scattering Sensors of Pollutants in Water Treatment,” Sep. 01, 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/nano13172417.
- [18] P. A. Mosier-Boss, “Review of SERS substrates for chemical sensing,” Jun. 08, 2017, *MDPI AG*. doi: 10.3390/nano7060142.

-
- [19] R. C. Maher, "SERS Hot Spots," in *Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization*, vol. 9783642206207, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012, pp. 215–260. doi: 10.1007/978-3-642-20620-7_10.
- [20] A. M. Michaels, M. Nirmal, and L. E. Brus, "Surface Enhanced Raman Spectroscopy of Individual Rhodamine 6G Molecules on Large Ag Nanocrystals," *J Am Chem Soc*, vol. 121, no. 43, pp. 9932–9939, Nov. 1999, doi: 10.1021/ja992128q.
- [21] P. A. Mercadal, J. C. Fraire, and E. A. Coronado, "Simple Approach to Assess the Maximum Hot Spot SERS Enhancement Factors in Colloidal Dispersions of Gold Nanoparticle Aggregates," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 126, no. 25, pp. 10524–10533, Jun. 2022, doi: 10.1021/acs.jpcc.2c02299.
- [22] N. John and A. T.M, "New trends in gold nanostructure-based SERS substrate: From fundamental to biomedical applications," *Vib Spectrosc*, vol. 124, p. 103477, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.vibspec.2022.103477.
- [23] S. Mao *et al.*, "Detection of trace Rhodamine B using stable, uniformity, and reusable SERS substrate based on Ag@SiO₂-Au nanoparticles," *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 657, p. 130595, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.colsurfa.2022.130595.
- [24] F. Liang *et al.*, "Rapid Determination of Rhodamine B in Chili Powder by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy," *Anal Lett*, vol. 48, no. 12, pp. 1918–1929, Aug. 2015, doi: 10.1080/00032719.2014.1003428.
- [25] X.-M. Lin, Y. Cui, Y.-H. Xu, B. Ren, and Z.-Q. Tian, "Surface-enhanced Raman spectroscopy: substrate-related issues," *Anal Bioanal Chem*, vol. 394, no. 7, pp. 1729–1745, Aug. 2009, doi: 10.1007/s00216-009-2761-5.
- [26] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, and R. Whyman, "Synthesis of Thiol-derivatised Gold Nanoparticles in a Two-phase Liquid-Liquid System," 1994.
- [27] G. Frens, "Particle size and sol stability in metal colloids," *Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere*, vol. 250, no. 7, pp. 736–741, Jul. 1972, doi: 10.1007/BF01498565.
- [28] M. I. Broens and O. E. Linarez Pérez, "Highly ordered TiO₂ nanotube films photo-decorated with Ag nanoparticles as SERS platforms: Relationship between morphology and enhancement," *Ceram Int*, vol. 50, no. 5, pp. 7627–7635, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.ceramint.2023.12.079.

-
- [29] V. Petrikaitė, I. Ignatjev, A. Selskis, G. Niaura, and E. Stankevičius, “Hybrid gold-silver nanoparticles synthesis on a glass substrate using a nanosecond laser-induced dewetting of thin bimetallic films and their application in SERS,” *Opt Laser Technol*, vol. 168, p. 109956, Jan. 2024, doi: 10.1016/j.optlastec.2023.109956.
- [30] K. Grochowska *et al.*, “Nanostructuring of thin Au films deposited on ordered Ti templates for applications in SERS,” *Appl Surf Sci*, vol. 418, pp. 472–480, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.apsusc.2016.12.163.
- [31] D. Lupa, M. Oćwieja, N. Piergies, A. Baliś, C. Paluszkiewicz, and Z. Adamczyk, “Gold nanoparticles deposited on silica microparticles - Electrokinetic characteristics and application in SERS,” *Colloid Interface Sci Commun*, vol. 33, p. 100219, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.colcom.2019.100219.
- [32] T. Okamoto, I. Yamaguchi, and T. Kobayashi, “Local plasmon sensor with gold colloid monolayers deposited upon glass substrates,” *Opt Lett*, vol. 25, no. 6, p. 372, Mar. 2000, doi: 10.1364/OL.25.000372.
- [33] J. Xie *et al.*, “Planting gold nanoflower for harvesting reproducible SERS substrate,” *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, vol. 308, p. 123793, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.saa.2023.123793.
- [34] N. Singh, A. M. Shrivastav, N. Vashistha, and I. Abdulhalim, “3D plasmonic hot spots network via gold decorated deep micro-porous silicon exhibiting ultrahigh-SERS enhancement with application to explosives detection,” *Sens Actuators B Chem*, vol. 374, p. 132813, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.snb.2022.132813.
- [35] J. S. Hwang and M. Yang, “Sensitive and Reproducible Gold SERS Sensor Based on Interference Lithography and Electrophoretic Deposition,” *Sensors (Basel)*, vol. 18, no. 11, p. 4076, Nov. 2018, doi: 10.3390/s18114076.
- [36] K. Wang, Q. Ma, C.-X. Qu, H.-T. Zhou, M. Cao, and S.-D. Wang, “Review on 3D Fabrication at Nanoscale,” *AUTEX Research Journal*, vol. 23, no. 3, pp. 350–369, Sep. 2023, doi: 10.2478/aut-2022-0014.
- [37] M. Liu, Z. Ji, and L. Shang, “Top-Down Fabrication of Nanostructures,” in *Nanotechnology*, Wiley, 2010, pp. 1–47. doi: 10.1002/9783527628155.nanotech094.
- [38] P. D. Nsimama, A. Herz, D. Wang, and P. Schaaf, “Influence of the substrate on the morphological evolution of gold thin films during solid-state dewetting,” *Appl Surf Sci*, vol. 388, pp. 475–482, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.apsusc.2015.11.185.

-
- [39] C. V. Thompson, “Solid-State Dewetting of Thin Films,” *Annu Rev Mater Res*, vol. 42, no. 1, pp. 399–434, Aug. 2012, doi: 10.1146/annurev-matsci-070511-155048.
- [40] W. Jiang, Y. Wang, D. J. Srolovitz, and W. Bao, “Solid-state dewetting on curved substrates,” *Phys Rev Mater*, vol. 2, no. 11, p. 113401, Nov. 2018, doi: 10.1103/PhysRevMaterials.2.113401.
- [41] H. A. El-Sayed, C. A. Horwood, E. Owusu-Ansah, Y. J. Shi, and V. I. Birss, “Gold nanoparticle array formation on dimpled Ta templates using pulsed laser-induced thin film dewetting,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 17, no. 16, pp. 11062–11069, Apr. 2015, doi: 10.1039/C5CP00924C.
- [42] Sudheer, P. Mondal, V. N. Rai, and A. K. Srivastava, “A study of growth and thermal dewetting behavior of ultra-thin gold films using transmission electron microscopy,” *AIP Adv*, vol. 7, no. 7, Jul. 2017, doi: 10.1063/1.4989823.
- [43] F. Tenopala Carmona, “Microestructuración de Películas Delgadas para Sensores Fotónicos,” Master’s thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 2014. [Online]. Available: <https://hdl.handle.net/20.500.14330/TES01000715128>
- [44] C. Ni, “Scanning Electron Microscopy (SEM),” in *Encyclopedia of Tribology*, Boston, MA: Springer US, 2013, pp. 2977–2982. doi: 10.1007/978-0-387-92897-5_1217.
- [45] K. Akhtar, S. A. Khan, S. B. Khan, and A. M. Asiri, *Handbook of Materials Characterization*. Cham: Springer International Publishing, 2018. doi: 10.1007/978-3-319-92955-2.
- [46] B. J. Inkson, “Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization,” in *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*, Elsevier, 2016, pp. 17–43. doi: 10.1016/B978-0-08-100040-3.00002-X.
- [47] W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, and D. G. Fernig, “Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra,” *Anal Chem*, vol. 79, no. 11, pp. 4215–4221, Jun. 2007, doi: 10.1021/ac0702084.
- [48] N. N. Long *et al.*, “Synthesis and optical properties of colloidal gold nanoparticles,” *J Phys Conf Ser*, vol. 187, 2009, doi: 10.1088/1742-6596/187/1/012026.

-
- [49] M. A. Ibrahim, B. G. Rasheed, R. I. Mahdi, T. M. Khazal, M. M. Omar, and M. O'Neill, "Plasmonic-enhanced photocatalysis reactions using gold nanostructured films," *RSC Adv*, vol. 10, no. 38, pp. 22324–22330, Jun. 2020, doi: 10.1039/d0ra03858j.
- [50] A. Lateef, E. Bosco, G.-K. Nandita, D. Shivendu, and R. Editors, *Microbial Nanobiotechnology*. in Materials Horizons: From Nature to Nanomaterials. Singapore: Springer Singapore, 2021. doi: 10.1007/978-981-33-4777-9.
- [51] I. Lindseth, A. Bardal, and R. Spooren, "Reflectance measurements of aluminium surfaces using integrating spheres," *Opt Lasers Eng*, vol. 32, no. 5, pp. 419–435, Nov. 1999, doi: 10.1016/S0143-8166(00)00010-5.
- [52] H.-H. Perkampus, *UV-VIS Spectroscopy and Its Applications*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1992. doi: 10.1007/978-3-642-77477-5.
- [53] E. F. Cordero, B. Ploss, and V. Sivakov, "Hydrogen Generation on Silicon Nanostructures," Master thesis, Ernst Abbe University of Applied Science, Jena, 2016. doi: 10.13140/RG.2.2.14474.57284.
- [54] D. Universidad del Valle, "Espectroscopía UV VIS NIR." Accessed: Jul. 16, 2024. [Online]. Available: <https://sigelab.net/servicio/1VShuucH92>
- [55] D. Kumar, S. Manik, P. Arnulf, and M. Editors, *Modern Techniques of Spectroscopy*, vol. 13. in Progress in Optical Science and Photonics, vol. 13. Singapore: Springer Singapore, 2021. doi: 10.1007/978-981-33-6084-6.
- [56] N. Roisin, M.-S. Colla, J.-P. Raskin, and D. Flandre, "Raman strain–shift measurements and prediction from first-principles in highly strained silicon," *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 34, no. 5, p. 373, Feb. 2023, doi: 10.1007/s10854-022-09769-3.
- [57] F. Sabatini, "Tunable photonic crystals from porous tantalum doped titanium dioxide," Tesis de Maestría, Politecnico di Milano, Milán, 2021. Accessed: Jul. 16, 2024. [Online]. Available: <https://hdl.handle.net/10589/190601>
- [58] Y. Ma, W. Hu, X. Song, and C. Wang, "Density Functional Theory Study on Raman Spectra of Rhodamine Molecules in Different Forms," *Chinese Journal of Chemical Physics*, vol. 27, no. 3, pp. 291–296, Jun. 2014, doi: 10.1063/1674-0068/27/03/291-296.
- [59] H. Wang, X. Guo, S. Fu, T. Yang, Y. Wen, and H. Yang, "Optimized core-shell Au@Ag nanoparticles for label-free Raman determination of trace Rhodamine B

- with cancer risk in food product.,” *Food Chem*, vol. 188, pp. 137–42, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.04.122.
- [60] C. H. Sun, M. L. Wang, Q. Feng, W. Liu, and C. X. Xu, “Surface-enhanced Raman scattering (SERS) study on Rhodamine B adsorbed on different substrates,” *Russian Journal of Physical Chemistry A*, vol. 89, no. 2, pp. 291–296, Feb. 2015, doi: 10.1134/S0036024415020338.
- [61] M. Liu *et al.*, “Fabrication, characterization, and high temperature surface enhanced Raman spectroscopic performance of SiO₂ coated silver particles,” *Nanoscale*, vol. 10, no. 12, pp. 5449–5456, Mar. 2018, doi: 10.1039/C7NR08631H.
- [62] V. Amendola and M. Meneghetti, “Size evaluation of gold nanoparticles by UV-vis spectroscopy,” *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 113, no. 11, pp. 4277–4285, Mar. 2009, doi: 10.1021/jp8082425.
- [63] A. Trügler, *Optical Properties of Metallic Nanoparticles*, vol. 232. in Springer Series in Materials Science, vol. 232. Cham: Springer International Publishing, 2016. doi: 10.1007/978-3-319-25074-8.
- [64] S. A. Maier, *Plasmonics: Fundamentals and Applications*. New York, NY: Springer US, 2007. doi: 10.1007/0-387-37825-1.
- [65] A. Trügler, *Optical Properties of Metallic Nanoparticles*, vol. 232. in Springer Series in Materials Science, vol. 232. Cham: Springer International Publishing, 2016. doi: 10.1007/978-3-319-25074-8.
- [66] T. W. Hänsch *et al.*, *Surface Plasmon Nanophotonics*, vol. 131. in Springer Series in Optical Sciences, vol. 131. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. doi: 10.1007/978-1-4020-4333-8.
- [67] D. Li, D.-W. Li, Y. Li, J. S. Fossey, and Y.-T. Long, “Cyclic electroplating and stripping of silver on Au@SiO₂ core/shell nanoparticles for sensitive and recyclable substrate of surface-enhanced Raman scattering,” *J Mater Chem*, vol. 20, no. 18, p. 3688, 2010, doi: 10.1039/b924865j.
- [68] S. Lin *et al.*, “Rapid and sensitive SERS method for determination of Rhodamine B in chili powder with paper-based substrates,” *Analytical Methods*, vol. 7, no. 12, pp. 5289–5294, Jun. 2015, doi: 10.1039/C5AY00028A.

-
- [69] C. Fang *et al.*, “DNA detection using nanostructured SERS substrates with Rhodamine B as Raman label,” *Biosens Bioelectron*, vol. 24, no. 2, pp. 216–21, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.bios.2008.03.032.
- [70] X. Fan, Y. Zeng, Y. Zhi, T. Nie, Y. Xu, and X. Wang, “Signal-to-noise ratio enhancement for Raman spectra based on optimized Raman spectrometer and convolutional denoising autoencoder,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 52, no. 4, pp. 890–900, Apr. 2021, doi: 10.1002/jrs.6065.
- [71] B. Dietzek, D. Cialla, M. Schmitt, and J. Popp, “Introduction to the Fundamentals of Raman Spectroscopy,” in *Springer Series in Surface Sciences*, vol. 66, 2018, pp. 47–68. doi: 10.1007/978-3-319-75380-5_3.
- [72] T. Zhou, “Signal-to-Noise Ratio,” in *Encyclopedia of Systems Biology*, New York, NY: Springer New York, 2013, pp. 1939–1940. doi: 10.1007/978-1-4419-9863-7_514.
- [73] E. C. Le Ru, E. Blackie, M. Meyer, and P. G. Etchegoin, “Surface Enhanced Raman Scattering Enhancement Factors: A Comprehensive Study,” *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 111, no. 37, pp. 13794–13803, Sep. 2007, doi: 10.1021/jp0687908.
- [74] P. A. Mercadal, J. C. Fraire, and E. A. Coronado, “Simple Approach to Assess the Maximum Hot Spot SERS Enhancement Factors in Colloidal Dispersions of Gold Nanoparticle Aggregates,” *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 126, no. 25, pp. 10524–10533, Jun. 2022, doi: 10.1021/acs.jpcc.2c02299.
- [75] J. Zhang, S. Qu, L. Zhang, A. Tang, and Z. Wang, “Quantitative surface enhanced Raman scattering detection based on the ‘sandwich’ structure substrate,” *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, vol. 79, no. 3, pp. 625–630, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.saa.2011.03.045.