



Universidad Central de Venezuela

Facultad de Ciencias

Escuela de Física

OPTIMIZACIÓN DE UN BIOSENSOR BASADO EN RESONANCIA DE PLASMÓN SUPERFICIAL (SPR)

Br. Víctor Enrique Núñez Rivero

Dr. Humberto Rojas, Tutor

Dr. Héctor Gutiérrez, Tutor

Caracas, 7 de mayo del 2015

**Optimización de un Biosensor basado en Resonancia de Plasmón
Superficial (SPR)**

Copyright © 2015

Universidad Central de Venezuela
Víctor Enrique Núñez Rivero

*Trabajo Especial de Grado presentado
ante la ilustre Universidad Central de Venezuela
como requisito para optar al título de:
Licenciado en Física*

Quienes suscriben, miembros del Jurado que examinó el trabajo presentado por el Br. Víctor Enrique Núñez Rivero, titulado: “**Optimización de un Biosensor basado en Resonancia de Plasmón Superficial (SPR)**” para optar al título de Licenciado en Física, consideramos que dicho trabajo cumple con los requisitos exigidos por los reglamentos respectivos y por lo tanto lo declaramos APROBADO en nombre de la Universidad Central de Venezuela.

Dr. Humberto Rojas, Tutor

Fecha

Dr. Héctor Gutiérrez, Tutor

Fecha

Prof. Levi García, Jurado Principal

Fecha

Prof. Daniel Macero, Jurado Principal

Fecha

Caracas, 7 de mayo del 2015

*No hay palabra que pueda describir mi profundo agradecimiento
a mis padres y hermana por su gran apoyo incondicional.
A ellos y a mis abuelos, que en paz descansen, les dedico esta tesis.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Central de Venezuela, a la Facultad de Ciencia, por abrirme sus puertas del conocimiento y brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente.

A mis padres, hermana, abuelos, tíos, primos y cuñado que en todo momento me apoyan y de una u otra manera me ayudan día a día.

A mis tutores el Prof. Humberto Rojas y el Prof. Héctor Gutiérrez que me ayudaron en la realización de este trabajo especial de grado.

Al Centro de Microscopia Electrónica de la Facultad de Ciencias y en especial al Prof. Luis Errico por ayudarme en la fabricación de las películas metálicas. A los profesores Mauro Martínez, Jimmy Castillo y Nelson Acevedo por su disposición a colaborar cuando se le necesita.

A Albani Gonzalez mi mejor amiga, mi consejera, mi apoyo y mi luz, por sus consejos y constante apoyo para seguir adelante en mi vida profesional y no bajar los brazos en los momentos difíciles.

A todos mis amigos, sin excluir a ninguno, pero en especial a Enrique Rodriguez, Sanber Vizcaya, Fabian Ruiz, Eliezer Peñaloza, Julio Torres, Daniel Bachour, Manuel Gutiérrez, por todos los momentos compartidos.

RESUMEN

En este proyecto se describen algunos aspectos teóricos relacionados con: el fenómeno de resonancia plasmónica de superficies, la preparación de las películas metálicas delgadas y la medición de su espesor.

Se plantea como objetivo principal la construcción de un arreglo experimental para SPR (del inglés Surface Plasmon Resonance) bajo la configuración Kretschmann y su optimización mediante la manipulación de las variables que influyen en el comportamiento analítico del sensor SPR.

Como transductor plasmónico se utilizaron películas metálicas delgadas de plata, se prepararon mediante la técnica de evaporación al vacío y su espesor se determinó mediante microscopía de fuerza atómica.

El arreglo experimental con el que se obtuvo los mejores resultados está formado por un láser He-Ne como fuente de radiación, un prisma de vidrio de ángulo recto, una película de plata de alrededor de 50 nm de espesor y un contenedor para retener los vapores de diferentes sustancias químicas. La configuración Kretschmann se fija sobre una base giratoria. La radiación reflejada en la interfaz metal-dieléctrico es

proyectada sobre una superficie blanca, desde la cual es capturada su imagen con una cámara CCD.

Las imágenes capturadas fueron procesadas con el software MATLAB R2013a y Gwyddion 2.40.

Se evaluó la influencia del espesor de la película metálica en la señal SPR. Se utilizan sustancias apolares para evaluar el cambio de índice de refracción. El sistema SPR construido es lo suficientemente sensible para determinar sutiles cambios en el índice de refracción del aire.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--------------------------------------|------------|
| Dedicatoria | vi |
| Agradecimientos | vii |
| Resumen | ix |
| Índice General | xi |
| Lista de Figuras | xv |
| Planteamiento del problema | 1 |
| Justificación del proyecto | 1 |
| Objetivo General | 2 |
| Objetivos Específicos | 2 |
| Esquema de la memoria | 3 |

| | |
|---|-----------|
| 1. BASAMENTOS TEÓRICOS | 4 |
| 1.1. Resonancia de plasmón superficial | 4 |
| 1.2. Función dieléctrica de electrones y oscilaciones de carga. | 5 |
| 1.3. Descripción matemática. | 9 |
| 1.3.1. Resonancia plasmónica superficial en una sola interfaz. . . | 14 |
| 1.4. Vector de ondas del plasmón superficial. | 18 |
| 1.5. Reflexión total interna | 21 |
| 1.6. Métodos de excitación de plasmones superficiales. | 22 |
| 1.6.1. Excitación mediante reflexión total atenuada. | 23 |
| 1.7. Efectos del prisma y del espesor de la película metálica. | 25 |
| 1.8. Reflectividad en resonancia plasmónica de superficies. | 26 |
| 1.9. Medición de espesor de películas metálicas. Microscopía de Fuerza Atómica | 27 |
| | |
| 2. BIOSENSORES SPR | 29 |
| 2.0.1. Principio de Funcionamiento | 30 |
| 2.0.2. Ángulo y longitud de onda de excitación | 30 |
| 2.0.3. Cambio en la condición de excitación | 32 |
| 2.1. Biosensores bajo SPR | 33 |
| 2.1.1. Transductor del biosensor SPR | 33 |
| 2.1.2. Receptor biológico del biosensor SPR | 35 |
| 2.1.3. Biosensor SPR-angular | 35 |
| 2.1.4. Espesor óptimo de la película metálica | 36 |
| 2.2. Fabricación de películas metálicas para SPR. | 37 |
| 2.3. Aplicaciones con biosensores SPR | 39 |

| | |
|--|-----------|
| 3. CONSTRUCCIÓN E IMPLEMENTACIÓN DEL MONTAJE EXPERIMENTAL | 41 |
| 3.1. Materiales, equipos y reactivos. | 41 |
| 3.2. Preparación de películas metálicas. | 45 |
| 3.3. Determinación del espesor a partir de microscopía de fuerza atómica. | 46 |
| 3.4. Fórmula experimental de incidencia en la interfaz prisma-aceite de inmersión-metal. | 47 |
| 3.5. Obtención de la respuesta de resonancia plasmónica en Aire. | 49 |
| 3.6. Obtención de la respuesta de resonancia plasmónica en vapores con diferentes índices de refracción. | 50 |
| 3.7. Obtención de la respuesta de resonancia plasmónica en Aire para una película de Cr/Ag | 50 |
| 3.8. Procesamiento de la señal. | 51 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES | 53 |
| 4.1. Preparación de películas metálicas y medidas de espesor | 53 |
| 4.2. Montaje experimental SPR inicial | 57 |
| 4.3. Señal de reflectividad SPR en Aire | 57 |
| 4.4. Señal de reflectividad SPR en Agua | 58 |
| 4.5. Optimización del arreglo SPR inicial | 60 |
| 4.6. Señal de reflectividad SPR para películas Cr/Ag | 61 |
| 4.7. Señal de reflectividad SPR para medios con diferentes índices de refracción | 62 |
| 4.8. Caracterización de sustancias químicas para el sensor SPR construido | 68 |
| 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 69 |
| 5.1. Conclusiones | 69 |
| 5.2. Recomendaciones | 70 |

Bibliografia

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| 1.1. | Geometría utilizada para la propagación del SPP en $z = 0$ | 11 |
| 1.2. | Interfaz simple formada por un medio metálico en contacto con un medio dieléctrico. | 14 |
| 1.3. | Dependencia espectral del valor de la parte real (a) e imaginaria (b) del vector de ondas del SPP en una interfaz Au/dieléctrico con $n_d = 1, 1,2$ y $1,4$ | 21 |
| 1.4. | Reflexión total interna en una interfaz entre dos dieléctricos. | 21 |
| 1.5. | Esquema de las configuraciones de acoplamiento: configuración de Otto (izquierda)y Kretschmann (derecha). | 24 |
| 1.6. | Curva de reflectividad para un arreglo prisma (SF10) / Oro/ Aire utilizando un láser He-Ne(633nm). | 26 |
| 1.7. | Esquema básico de un AFM. 1. Láser, 2. Espejo, 3. Fotodetector, 4. Etapa de Retroalimentación, 5. Amplificador, 6. Registro, 7. Muestra, 8. Punta (sonda de barrido), 9. Cantilever. | 28 |
| 2.1. | Configuración Kretschmann. | 31 |
| 2.2. | Curvas representativas de: (a) Resonancia angular y (b) espectral producidas en la configuración de Kretschmann. | 32 |

| | | |
|-------------|--|----|
| 2.3. | Relación entre la longitud de onda y el ángulo de excitación del SPP en la geometría Kretschmann para una interfaz Au/Agua y dos espesores distintos de la capa de Au. | 32 |
| 2.4. | Biosensor SPR-angular. | 35 |
| 2.5. | Curva del mínimo de reflectividad como función del espesor de la película de plata en una configuración SF11-Ag-Agua con longitud de onda de 750nm. | 37 |
| 2.6. | Esquema de un sistema para Evaporación al vacío. | 38 |
| 2.7. | Geometría del proceso de evaporación para una fuente puntual ubicada a una distancia “r” del sustrato. | 39 |
| 3.1. | Equipo utilizado para evaporación de películas. | 42 |
| 3.2. | Microscopio AFM modelo Dimension EDGE, de la compañía Bruker, utilizado. | 43 |
| 3.3. | Fotografía del montaje SPR utilizado. 1. Fuente de iluminación, 2. Polarizadores, 3. Espejos, 4. Diafragma, 5. Filtro óptico de densidad, 6. Objetivo de microscopio. 7 Configuración Kretschmann, 8. Lente convergente, 9. Pantalla blanca, 10. Cámara CCD. | 44 |
| 3.4. | Esquema de la configuración Kretschmann unido a la celda de flujo. | 45 |
| 3.5. | Rotación experimental. La figura 3.5 a) muestra el rayo en la configuración Kretschmann y la figura 3.5 b) muestra la configuración Kretschmann rotada. | 48 |
| 3.6. | Ley de Snell en la interfaz Aceite de inmersión-película de plata. | 49 |
| 3.7. | Imágenes SPR sin procesar a) usando aire como medio dieléctrico b) usando alcohol propílico como medio dieléctrico. | 52 |
| 3.8. | Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando alcohol propílico como medio dieléctrico. | 52 |
| 4.1. | Estimación del espesor de la película de Cr. (a) Imagen de AFM de las vecindades del borde de la película. (b) Espesor de la película estimado a partir de la imagen. | 54 |
| 4.2. | Imágenes de AFM y perfiles obtenidos a partir de las imágenes para películas de espesor nominal a) y b) 20 nm. c) y d) 50 nm. | 55 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.3. | Imágenes de AFM y perfiles obtenidos a partir de las imágenes para películas de espesor nominal a) y b) 40 nm. c) y d) 80 nm. | 56 |
| 4.4. | Señal de reflectividad SPR en Aire. a) sin ajustar a la condición TM. b) ajustado a la condición TM. | 58 |
| 4.5. | Señal de reflectividad SPR a) Aire. b) Agua. | 59 |
| 4.6. | Imágenes de reflectividad para películas de Cr/Ag con diferentes espesores de la película de plata. (a) 24 nm de espesor. (b) 48 nm de espesor. (c) 70 nm de espesor. | 61 |
| 4.7. | Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando alcohol propílico como medio dieléctrico. c) Perfil de reflectividad SPR obtenido a partir de las imágenes. | 63 |
| 4.8. | Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando acetato de etilo como medio dieléctrico. c) Perfil de reflectividad SPR obtenido a partir de las imágenes. | 64 |
| 4.9. | Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando acetonitrilo como medio dieléctrico. c) Perfil de reflectividad SPR obtenido a partir de las imágenes. | 65 |
| 4.10. | Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando etanol como medio dieléctrico. c) Perfil de reflectividad SPR obtenido a partir de las imágenes. | 66 |
| 4.11. | Imágenes de reflectividad SPR obtenidas de arreglo experimental a) y b) Aire - Alcohol propílico. c) y d) Aire - Acetato de etilo. e) y f) Aire - Acetonitrilo. g) y h) Aire - Etanol. | 67 |
| 4.12. | Caracterización de las sustancias químicas en estado gaseoso estudiadas | 68 |

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los biosensores ópticos basados en el principio de campo evanescente, entre ellos los biosensores de resonancia plasmónica superficial (llamados biosensores SPR), se han convertido en herramientas útiles para el análisis en tiempo real y de manera directa de algunas sustancias químicas y biológicas [1]. Su sensibilidad, selectividad, simplicidad y bajo costo ha permitido el desarrollo y comercialización de diferentes tipos de biosensores SPR por diferentes compañías. Sin embargo, en muchos casos estos dispositivos no tienen la suficiente sensibilidad o la señal que proporcionan no es lo suficientemente óptima para apreciar cambios muy pequeños en el índice de refracción. Por esta razón, aumentar la sensibilidad del sensor SPR a partir de la manipulación de las diferentes variables que influyen en su comportamiento analítico, manteniendo a la vez todas sus ventajas, constituye un enorme y atractivo reto.

Justificación del proyecto

La SPR es una técnica de análisis versátil, por sus múltiples aplicaciones en el estudio de la cinética, afinidad o para la cuantificación de biomoléculas [2]. Sin

embargo, su uso ha sido limitado, debido a los altos costos de los equipos existentes en el mercado [3], cuyo precio oscila alrededor de los 250.000US\$.

Se plantea la posibilidad de construir y optimizar un sistema de resonancia plasmónica, a partir del conocimiento que sobre este fenómeno se tiene y de componentes de uso común en el laboratorio, de bajo costo y de fácil adquisición, con miras a obtener una herramienta de análisis que permita el desarrollo de aplicaciones de interés general áreas como medicina, tecnología de alimentos, estudios ambientales, etc.

Objetivo General

Construir y optimizar un biosensor óptico basado en la resonancia de plasmón superficial (SPR) bajo la configuración Kretschmann y evaluar su aplicación en la detección selectiva y cuantitativa de sustancias químicas y bioquímicas.

Objetivos Específicos

- Preparación de la película metálica para la SPR.
- Construcción del biosensor SPR utilizando la configuración Kretschmann.
- Determinación de la señal de resonancia plasmónica de superficie en medios con diferentes índices de refracción.
- Determinar que señales influyen en la sensibilidad del sensor.
- Procesamiento de imágenes mediante el software MATLAB
- Determinar las figuras de mérito del biosensor para el analito considerado.
- Cuantificar el analito de interés.

Esquema de la memoria

Este manuscrito esta dividido en cinco capítulos, cuyo contenido se resume a continuación:

- **Capítulo 1** - En este capítulo se exponen los basamentos teóricos necesarios para entender en profundidad el fenómeno electromagnético de la resonancia plasmónica superficial. Se definen, describen y analizan los plasmónes superficiales generados en una única interfaz metal/dieléctrico. Se exponen las principales técnicas de excitación de plasmónes superficiales empleadas en los sensores plasmónicos. También se presenta la técnica de evaporación al vacío y los fundamentos de la microscopía de fuerza atómica.
- **Capítulo 2** - En este capítulo se explica el principio de funcionamiento y los aspectos fundamentales del biosensor SPR.
- **Capítulo 3** - Se describe la construcción del biosensor SPR a partir de los materiales disponibles en el laboratorio. Se describe como fueron fabricadas las películas metálicas empleadas como transductores plasmónicos y como se determinó su espesor mediante microscopía de fuerza atómica. Se describe también la metodología empleada para la obtención de la respuesta de resonancia plasmónica en los diferentes medios dieléctricos.
- **Capítulo 4** - En este capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos con el sensor SPR.
- **Capítulo 5** - En el capítulo final, se presentan las conclusiones y recomendaciones más importantes alcanzadas durante el desarrollo de este trabajo.

1

BASAMENTOS TEÓRICOS

1.1. Resonancia de plasmón superficial

El fenómeno de Plasmón superficial fue observado inicialmente por Wood en 1902 [4] al analizar la luz policromática reflejada por un espejo que poseía una red de difracción en su superficie. Dicha luz reflejada presentaba un patrón de franjas que Wood no era capaz de interpretar. La interpretación física del fenómeno fue iniciada por Rayleigh [5] y posteriormente refinada, en 1941, por Fano [6]. Fue este último el que introdujo el concepto de polaritón: quasipartícula resultante de la oscilación colectiva de los electrones como resultado de la interacción de la luz, es decir fotones, con la materia. Sin embargo, la primera descripción teórica de la resonancia de plasmón superficial la proporcionó Ritchie en 1957 [7]. Aún hubo que esperar 11 años más (1968) hasta que el propio Ritchie [8] relacionara el plasmón superficial con las ondas superficiales de Sommerfeld y el fenómeno observado por Wood 66 años antes. Ese mismo año, Otto [9] y Kretschmann-Raether [10] presentaron dos sencillos métodos de excitación de plasmónes superficiales en capas de metales nobles, estableciéndose así las bases de lo que hoy se conoce como Plasmónica.

La resonancia de plasmón superficial ó plasmones superficiales polaritones son ondas electromagnéticas propagándose en la interfaz entre un dieléctrico y un conductor pero decayendo exponencialmente a ambos lados de la interfaz, es decir, son ondas electromagnéticas confinadas en la frontera metal-dieléctrico, con un comportamiento evanescente. Estas ondas surgen por el acoplamiento de campos electromagnéticos a las oscilaciones de electrones libres en el conductor [11].

Existen dos tipos distintos de plasmónes superficiales, los propagantes, denotados como SPP (del ingles Surface Plasmon Polaritons), y los localizados. Los de tipo propagantes se producen en la frontera plana entre un metal y un dieléctrico como consecuencia de la oscilación colectiva de los electrones libres del metal próximos a su superficie [12]. El otro tipo de plasmónes superficiales, los localizados, se generan en nanoestructuras metálicas aisladas (por ejemplo nanopartículas de oro) [11, 13, 14]. Como su propio nombre indica, en este caso los plasmónes superficiales localizados no se propagan si no que se localiza en la región de la nanoestructura. En esta tesis solo se trabaja con los de tipo propagantes, los plasmónes superficiales localizados no son analizados debido a su diferente naturaleza.

Para un mejor entendimiento de la resonancia plasmónica superficial, a continuación se presenta en detalle la teoría detrás de este fenómeno.

1.2. Función dieléctrica de electrones y oscilaciones de carga.

El modelo más simple para estudiar ciertas propiedades de los metales es modelo del gas de electrones introducido por Drude [15]. Este puede ser utilizado para describir propiedades físicas de los metales tales como conductividad térmica y eléctrica [16]. Dicho modelo básicamente supone que la carga positiva se encuentra uniformemente distribuida y que está ligada a partículas más pesadas, que se encuentran inmóviles (iones), mientras que los electrones de valencia se mueven libremente dentro del metal y por lo tanto pueden ser modelados como gas clásico, llamado gas de electrones.

No obstante se desprecia la interacción electrón-electrón (aproximación de electrones independientes) y de igual forma se supone que las colisiones entre iones y electrones cambia abruptamente la velocidad de los últimos. Este modelo tan simple predice la existencia de los plasmones [15].

Una oscilación de carga puede explicarse si se toma un electrón en el mar de plasma, él cual estará sujeto a un campo eléctrico, con una ecuación de movimiento:

$$\vec{F} = m\vec{a} \rightarrow \vec{F}_{ele} + \vec{F}_{am} = m\vec{a} \rightarrow -e\vec{E} - m\gamma\vec{v} = m\vec{a}, \quad (1.1)$$

$$m\vec{\ddot{x}} + m\gamma\vec{\dot{x}} = -e\vec{E}, \quad (1.2)$$

F_{ele} representa la fuerza debido al campo eléctrico y F_{am} es la fuerza de amortiguamiento. $\gamma = 1/\tau$, siendo τ el tiempo de relajación de los electrones en el mar de plasma, es decir, el tiempo medio entre colisiones y es experimentalmente del orden de 10^{-14}_S [15]. Este puede ser interpretado como la amortiguación del movimiento del electrón por las colisiones. Sí se asume un campo armónico: $\vec{E}_{(\vec{r},t)} = E_0 e^{-i\omega t}$, entonces una solución particular es:

$$\vec{x}(t) = \vec{x}_0 e^{-i\omega t}, \quad (1.3)$$

introduciendo esta solución en la ecuación diferencial (1.2):

$$m\omega^2 \vec{x}_0 e^{-i\omega t} + im\omega\gamma \vec{x}_0 e^{-i\omega t} = eE_0 e^{-i\omega t} \rightarrow \vec{x}_0 = \frac{eE_0}{m(\omega^2 + i\gamma\omega)}, \quad (1.4)$$

por lo cual los electrones se mueven según:

$$\vec{x}(t) = \frac{e}{m(\omega^2 + i\gamma\omega)} \vec{E}(t), \quad (1.5)$$

se observa entonces que existe un desfase entre \vec{x} y \vec{E} . Este movimiento de electrones genera una polarización macroscópica:

$$\vec{P} = -Ne\vec{x} = \frac{-Ne^2}{m(\omega^2 + i\gamma\omega)} \vec{E}(t) \quad (1.6)$$

Donde N es la densidad electrónica, que para la mayoría de los metales es aproximadamente $N \approx 10^{22} \text{ cm}^{-3}$ [16]. Reemplazando \vec{P} en el vector de desplazamiento eléctrico $\vec{D} = \varepsilon_0 \vec{E} + \vec{P}$ se obtiene que:

$$\vec{D} = \varepsilon_0 \left(1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma\omega} \right) \vec{E}. \quad (1.7)$$

Donde $\omega_p^2 = Ne^2/m\varepsilon_0$ es conocida como la frecuencia de plasma o de oscilación para el modelo de gas de electrones libres y posee un valor del orden de 10^{16} rad/s , lo que es equivalente a una frecuencia del rango del UV cercano. A partir de esta relación se puede encontrar la función dieléctrica para los metales en función de la frecuencia:

$$\vec{D} = \varepsilon_0 \varepsilon(\omega) \vec{E}, \quad (1.8)$$

$$\varepsilon(\omega) = \left(1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma\omega} \right), \quad (1.9)$$

que descompuesta en su parte real e imaginaria ($\varepsilon(\omega) = \varepsilon_1(\omega) + i\varepsilon_2(\omega)$) es:

$$\varepsilon_1(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2 \tau^2}{1 + \omega^2 \tau^2}, \quad (1.10)$$

$$\varepsilon_2(\omega) = \frac{\omega_p^2 \tau}{\omega(1 + \omega^2 \tau^2)}. \quad (1.11)$$

La presencia de una frecuencia característica de oscilación w_p generalizada para el mar de electrones puede interpretarse, si se piensa que en el mar de plasma existe una zona de mayor densidad que la media (por ende una zona de menor densidad) en donde existe una mayor cantidad de electrones, los cuales tienden a ir a zonas de menor concentración de electrones. Pero los electrones en este proceso son acelerados por el campo eléctrico resultante y adquieren una cierta cantidad de energía cinética. Por lo tanto, al llegar a las zonas menos pobladas siguen de largo y generan un desequilibrio de carga. En este sentido se generan oscilaciones autosostenidas que tenderán a equiparar a la carga total siempre. Es por esto que se puede hablar de modos de oscilaciones de carga sin presencia de ninguna carga externa [17]. Estas oscilaciones de densidad de carga son conocidas como oscilaciones de plasma o plasmónes.

La función dieléctrica de los electrones consta de una parte real ($\Re(\epsilon)$) y una parte imaginaria ($\Im(\epsilon)$). Esta última puede verse como la atenuación en el metal; es decir, la energía disipada (convertida en calor) por el medio, la cual en el rango igual o superior al ultravioleta ($w\tau \gg 1$) desaparece, obteniéndose un comportamiento transparente del metal y en el régimen de frecuencias bajas ($w\tau \ll 1$)(infrarrojo y microondas) el metal absorbe rápidamente la onda [17]. Por lo tanto se busca que la onda se propague dentro del metal y sea absorbida lentamente, es decir que en el régimen visible debe buscarse una estructura para la cual se cumpla que $|\Re(\epsilon)| \gg |\Im(\epsilon)|$. Lo anterior se satisface en los metales nobles como el oro, la plata o el aluminio [16]; aunque debe aclararse que en general para los metales nobles las transiciones electrónicas de banda(d), generan un término adicional en la función dieléctrica de los electrones $\left(\frac{A_i}{w^2_i - w^2 - i\gamma_i w}\right)$ [11], sin embargo se mantiene el carácter de oscilación de carga y todo el contenido descrito anteriormente.

1.3. Descripción matemática.

Los plasmones superficiales están caracterizados por su vector de ondas, el cual va a definir las condiciones necesarias para que los SPP puedan ser excitados. Para obtener el vector de ondas del SPP se plantean las ecuaciones de maxwell para una geometría dieléctrico-metal. Mediante las condiciones de frontera y del comportamiento confinado de los campos \vec{E} y \vec{B} , se establece la ecuación de dispersión que define los vectores de onda que permiten el acoplamiento de las ondas evanescentes en la interfaz, en función de la frecuencia. Dado que los campos electromagnéticos poseen carácter vectorial podemos recurrir al método modal, el cual separa las ondas en modos de propagación transversal eléctrico (TE) y transversal magnético (TM). De esta manera se demuestra que la excitación de plasmones superficiales puede obtenerse únicamente con el modo TM (también llamado polarización p) y se encuentran los vectores de onda permitidos en función de la frecuencia [11].

Partiendo de las ecuaciones de maxwell en ausencia de cargas y corrientes libres y magnetizables en la frontera se tiene:

$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t}, \quad (1.12)$$

$$\nabla \times \vec{H} = \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \rightarrow \nabla \times \vec{B} = \mu_0 \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \rightarrow \nabla \times \vec{B} = \mu_0 \varepsilon_0 \varepsilon \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} \quad (1.13)$$

Siendo las identidades $\nabla \times \nabla \times \vec{E} = \nabla(\nabla \cdot \vec{E}) - \nabla^2 \vec{E}$ así como $\nabla \cdot (\varepsilon \vec{E}) = \vec{E} \cdot (\nabla \varepsilon) + \varepsilon(\nabla \cdot \vec{E})$, tenemos:

$$\nabla \times (\nabla \times \vec{E}) = -\nabla \times \frac{\partial \vec{B}}{\partial t}, \quad (1.14)$$

$$\nabla(\nabla \cdot \vec{E}) - \nabla^2 \vec{E} = -\frac{\partial}{\partial t}(\nabla \times \vec{B}), \quad (1.15)$$

$$\nabla(\nabla \cdot \vec{E}) - \nabla^2 \vec{E} = -\mu_0 \varepsilon_0 \varepsilon \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2}, \quad (1.16)$$

recordando que ausencia de cargas externa $\nabla \cdot \vec{D} = 0$, podemos escribir la ecuación(1.16) como:

$$\nabla \left(-\frac{1}{\varepsilon} \vec{E} \cdot \nabla \varepsilon \right) - \nabla^2 \vec{E} = -\mu_0 \varepsilon_0 \varepsilon \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2}. \quad (1.17)$$

Utilizando el hecho de que $\varepsilon = \varepsilon(\mathbf{r})$ es constante para distancias comparables a la longitud de onda óptica [11], se tendrá que $\nabla \varepsilon = 0$, y obtendremos:

$$\nabla^2 \vec{E} - \frac{\varepsilon}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} = 0. \quad (1.18)$$

Si asumimos un campo eléctrico armónico dependiente del tiempo:

$$\vec{E}(\mathbf{r}, t) = E(\mathbf{r})e^{-i\omega t}, \quad (1.19)$$

introduciendo este campo en la ecuación (1.18) se obtiene:

$$\nabla^2 \vec{E} + k_0^2 \varepsilon \vec{E} = 0, \quad (1.20)$$

donde $k_0 = \frac{\omega}{c}$ es el vector de ondas en el vacío. La ecuación (1.20) es conocida como la ecuación de Helmholtz.

La figura 1.1. muestra la geometría de guía onda plana empleada para la propagación del plasmón superficial en $z = 0$. Consideramos \hat{x} como la dirección de propagación de la onda, \hat{z} como la dirección de confinamiento y asumiendo que los campos se mantienen constantes en el eje \hat{y} , se tiene $\vec{E}(\mathbf{r}) = E(z)e^{i\beta x}$. $\beta = k_x$ es la

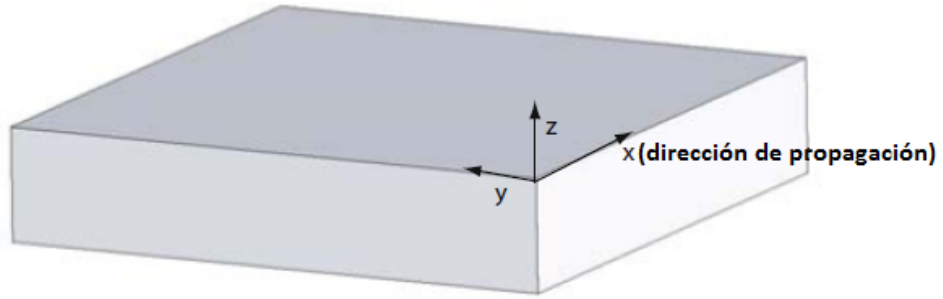


Figura 1.1: Geometría utilizada para la propagación del SPP en $z = 0$ [11].

constante de propagación de la onda viajando en dirección \hat{x} . Insertando esta expresión en la ecuación de Helmholtz se tiene:

$$\frac{\partial^2 \vec{E}(z)}{\partial z^2} + (k_0^2 \varepsilon - \beta^2) \vec{E}(z) = 0. \quad (1.21)$$

Naturalmente, existe una ecuación similar para el campo magnético:

$$\frac{\partial^2 \vec{H}(z)}{\partial z^2} + (k_0^2 \varepsilon - \beta^2) \vec{H}(z) = 0. \quad (1.22)$$

Utilizando la ley de Faraday y el modelo de onda empleado, se tiene:

$$\nabla \times \vec{E}(\mathbf{r}, t) = -\frac{\partial \vec{B}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = -\mu_0 \frac{\partial \vec{H}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = i\mu_0 \omega \vec{H}(\mathbf{r}) e^{-i\omega t} \quad (1.23)$$

llegamos entonces al siguiente conjunto de ecuaciones acopladas:

$$\frac{\partial E_z}{\partial y} - \frac{\partial E_y}{\partial z} = i\mu_0 \omega H_x \quad (1.24)$$

$$\frac{\partial E_x}{\partial z} - \frac{\partial E_z}{\partial x} = i\mu_0 \omega H_y \quad (1.25)$$

$$\frac{\partial E_y}{\partial x} - \frac{\partial E_x}{\partial y} = i\mu_0\omega H_z. \quad (1.26)$$

Debido a la propagación a lo largo de la dirección \hat{x} ($\frac{\partial}{\partial x} = i\beta$) y por homogeneidad del campo en la dirección \hat{y} ($\frac{\partial}{\partial y} = 0$) el sistema de ecuaciones se simplifica a:

$$-\frac{\partial E_y}{\partial z} = i\mu_0\omega H_x \quad (1.27)$$

$$\frac{\partial E_x}{\partial z} - i\beta E_z = i\mu_0\omega H_y \quad (1.28)$$

$$\beta E_y = \mu_0\omega H_z. \quad (1.29)$$

Realizando el mismo procedimiento para el campo \vec{H} , se encuentran las ecuaciones:

$$\frac{\partial H_y}{\partial z} = i\omega\varepsilon_0\varepsilon E_x \quad (1.30)$$

$$\frac{\partial H_x}{\partial z} - i\beta H_z = -i\omega\varepsilon_0\varepsilon E_y \quad (1.31)$$

$$i\beta H_y = -i\omega\varepsilon_0\varepsilon E_z. \quad (1.32)$$

Las ecuaciones anteriores pueden ser resueltas empleando dos tipos de soluciones que dependen del plano de incidencia $y = 0$ de la figura 1.1.

1. Polarización Transversal Magnética (TM).

$$\vec{E}(z) = \begin{cases} E_x \neq 0 \\ E_y = 0 \\ E_z \neq 0 \end{cases} \quad \vec{H}(z) = \begin{cases} H_x = 0 \\ H_y \neq 0 \\ H_z = 0 \end{cases} \quad (1.33)$$

En este caso el sistema de ecuaciones se reduce a:

$$E_x = -i \frac{1}{\omega \varepsilon_0 \varepsilon} \frac{\partial H_y}{\partial z} \quad (1.34)$$

$$E_z = -\frac{\beta}{\omega \varepsilon_0 \varepsilon} H_y, \quad (1.35)$$

y la ecuación de onda para el modo TM es:

$$\frac{\partial^2 H_y}{\partial z^2} + (k_0^2 \varepsilon - \beta^2) H_y = 0. \quad (1.36)$$

2. Polarización Transversal Eléctrica (TE).

$$\vec{E}(z) = \begin{cases} E_x = 0 \\ E_y \neq 0 \\ E_z = 0 \end{cases} \quad \vec{H}(z) = \begin{cases} H_x \neq 0 \\ H_y = 0 \\ H_z \neq 0 \end{cases} \quad (1.37)$$

Análogo a lo anterior, el sistema de ecuaciones se transforma en:

$$H_x = i \frac{1}{\omega \mu_0} \frac{\partial E_y}{\partial z} \quad (1.38)$$

$$H_z = \frac{\beta}{\omega \mu_0} E_y, \quad (1.39)$$

con la ecuación de onda TE:

$$\frac{\partial^2 E_y}{\partial z^2} + (k_0^2 \varepsilon - \beta^2) E_y = 0. \quad (1.40)$$

1.3.1. Resonancia plasmónica superficial en una sola interfaz.

La geometría más sencilla para propagar un plasmón superficial es la de una sola interfaz. En la figura 1.2 se muestra la geometría utilizada para propagar el plasmón superficial. Un medio metálico seminfinito ($z < 0$) con función dieléctrica $\varepsilon_1(\omega)$, se encuentra adyacente a un medio dieléctrico seminfinito ($z > 0$) con constante dieléctrica ε_2 .

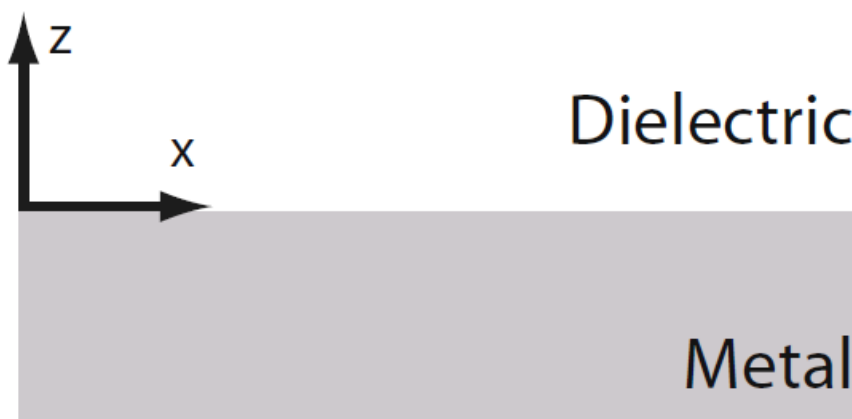


Figura 1.2: Interfaz simple formada por un medio metálico en contacto con un medio dieléctrico [11].

El objetivo es propagar una onda en la interfaz $Z = 0$ con un comportamiento evanescente, es decir, decayendo exponencialmente a ambos lados de la interfaz. De acuerdo a la función dieléctrica de los metales obtenida del modelo de Drude, el carácter metálico se obtiene cuando $\Re(\varepsilon_1) < 0$. Ahora se analizará la situación para los dos modos descritos por las ecuaciones (1.36) y (1.40):

1. Polarización TM.

Según las ecuaciones (1.34) y (1.35), las componentes del campo \vec{E} en el dieléctrico serán:

- Para $Z > 0$

$$H_y = A_2 e^{i\beta_x} e^{-k_2 z} \rightarrow \begin{cases} E_x = i \frac{A_2 k_2}{\omega \varepsilon_0 \varepsilon_2} e^{i\beta_x} e^{-k_2 z} \\ E_z = -\frac{A_2 \beta}{\omega \varepsilon_0 \varepsilon_2} e^{i\beta_x} e^{-k_2 z} \end{cases} \quad (1.41)$$

En el metal las componentes del \vec{E} serán:

- Para $Z < 0$

$$H_y = A_1 e^{i\beta_x} e^{k_1 z} \rightarrow \begin{cases} E_x = -i \frac{A_1 k_1}{\omega \varepsilon_0 \varepsilon_1} e^{i\beta_x} e^{k_1 z} \\ E_z = -\frac{A_1 \beta}{\omega \varepsilon_0 \varepsilon_1} e^{i\beta_x} e^{k_1 z} \end{cases} \quad (1.42)$$

en ambos casos k_i es la componente del vector de ondas perpendicular a la interfaz. Las condiciones de continuidad para las componentes normales y tangenciales de los campos \vec{E} y \vec{H} en la interfaz entre el dieléctrico y el metal, con ausencia de cargas libres y corrientes libres son:

$$\varepsilon_2 E_2^\perp - \varepsilon_1 E_1^\perp = 0 \quad (1.43)$$

$$H_2^\parallel - H_1^\parallel = 0 \quad (1.44)$$

$$H_2^\perp - H_1^\perp = 0 \quad (1.45)$$

$$E_2^\parallel - E_1^\parallel = 0 \quad (1.46)$$

Utilizando estas condiciones primero para las componentes perpendiculares del campo eléctrico, se tiene:

$$\varepsilon_2 E_2 = \varepsilon_1 E_1 \rightarrow -\frac{A_2 \beta}{w \varepsilon_0 \varepsilon_2} e^{i\beta x} e^{-k_2 z} \Big|_{z=0} = -\frac{A_1 \beta}{w \varepsilon_0 \varepsilon_1} e^{i\beta x} e^{k_1 z} \Big|_{z=0}, \quad (1.47)$$

$$A_2 = A_1 \quad (1.48)$$

la continuidad de las componentes tangenciales del campo \vec{E} imponen:

$$E_{2x} = E_{1x} \rightarrow i \frac{A_2 k_2}{w \varepsilon_0 \varepsilon_2} e^{i\beta x} e^{k_2 z} \Big|_{xy} = -i \frac{A_1 k_1}{w \varepsilon_0 \varepsilon_2} e^{i\beta x} e^{k_1 z} \Big|_{xy}, \quad (1.49)$$

$$\frac{k_2}{\varepsilon_2} = -\frac{k_1}{\varepsilon_1} \quad (1.50)$$

Según las ecuaciones (1.41) y (1.42) la onda permanece confinada en z si $k_1 > 0$ y $k_2 > 0$, luego ($\frac{k_2}{k_1} > 0$), es decir, permanece confinada en la interfaz siempre que la parte real de la constante dieléctrica del metal sea negativa y la constante dieléctrica del medio dieléctrico sea positiva, es decir, $\Re(\varepsilon_1) < 0$ y $\varepsilon_2 > 0$. Por otro lado utilizando estas mismas ecuaciones ((1.41) y (1.42)) en la ecuación (1.36) se tendrá:

$$z > 0 \rightarrow k_2^2 + (k_0^2 \varepsilon_2 - \beta^2) = 0, \quad (1.51)$$

$$z < 0 \rightarrow k_1^2 + (k_0^2 \varepsilon_1 - \beta^2) = 0. \quad (1.52)$$

De acuerdo a las ecuaciones (1.50), (1.51) y (1.52) se obtiene la constante de propagación o vector de ondas del plasmón superficial, la cual se denota como k_{spp} :

$$k_2^2 = k_{spp}^2 - k_0^2 \varepsilon_2 \rightarrow \left(\frac{\varepsilon_2}{\varepsilon_1}\right)^2 k_1^2 = k_{spp}^2 - k_0^2 \varepsilon_2, \quad (1.53)$$

$$k_{spp} = k_0 \sqrt{\frac{\varepsilon_2 \varepsilon_1}{\varepsilon_2 + \varepsilon_1}}. \quad (1.54)$$

Esta ecuación es válida tanto para ε_1 real como compleja. Dado que ε_1 depende de la frecuencia, entonces la ecuación (1.54) define la relación de dispersión de un plasmón superficial.

2. Polarización TE.

Análogo a los procedimientos seguidos anteriormente, se obtiene para:

- Para $Z > 0$

$$E_y = A_2 e^{i\beta_x} e^{-k_2 z} \rightarrow \begin{cases} H_x = -i \frac{A_2 k_2}{w\mu} e^{i\beta_x} e^{-k_2 z} \\ H_z = \frac{A_2 \beta}{w\mu} e^{i\beta_x} e^{-k_2 z} \end{cases} \quad (1.55)$$

- Para $Z < 0$

$$E_y = A_1 e^{i\beta_x} e^{k_1 z} \rightarrow \begin{cases} H_x = i \frac{A_1 k_1}{w\mu} e^{i\beta_x} e^{k_1 z} \\ H_z = \frac{A_1 \beta}{w\mu} e^{i\beta_x} e^{k_1 z} \end{cases} \quad (1.56)$$

Aplicando nuevamente las condiciones de contorno, se obtiene que:

$$E_{2y} = E_{1y} \rightarrow A_2 e^{i\beta_x} e^{-k_2 z} \Big|_{z=0} = A_1 e^{i\beta_x} e^{k_1 z} \Big|_{z=0}, \quad (1.57)$$

$$A_1 = A_2, \quad (1.58)$$

además

$$H_{2x} = H_{1x} \rightarrow -i \frac{A_2 k_2}{w\mu} e^{i\beta_x} e^{-k_2 z} \Big|_{xy} = i \frac{A_1 k_1}{w\mu} e^{i\beta_x} e^{k_1 z} \Big|_{xy}, \quad (1.59)$$

$$A_1 k_1 + A_2 k_2 = 0 \rightarrow A_2(k_1 + k_2) = 0, \quad (1.60)$$

Dado que se busca que $k_1 \neq k_2$ entonces $A_1 = A_2 = 0$. Esto indica que para el modo TE no es posible excitar una onda de plasmón superficial.

Entonces queda demostrado que la excitación de plasmones superficiales puede lograrse únicamente para el modo TM, es decir, únicamente es posible guiar la luz en una interfaz metal-dieléctrico haciendo incidir una onda con polarización p siempre y cuando la constante dieléctrica del metal sea negativa, lo cual ocurre para frecuencias inferiores a la frecuencia de plasma w_p en el modelo de Drude.

1.4. Vector de ondas del plasmón superficial.

Como toda onda electromagnética, el SPP queda caracterizado a través de su vector de ondas, el cual va a definir las condiciones necesarias para que el SPP pueda ser excitado.

La ecuación (1.54) representa el vector de onda del plasmón superficial:

$$k_{spp} = k_0 \sqrt{\frac{\varepsilon_d \varepsilon_m}{\varepsilon_d + \varepsilon_m}}. \quad (1.61)$$

Siendo $\varepsilon_m = \varepsilon_1$ y $\varepsilon_d = \varepsilon_2$ las constantes dieléctricas del metal y del medio dieléctrico respectivamente, y $k_0 = w/c = w\sqrt{\varepsilon_0\mu_0}$.

Esta ecuación es válida tanto para medios con $\varepsilon_m(w)$ real como compleja, es decir, para medios conductores con o sin absorción. Como se demostró en el modelo

de Drude, tanto la constante del metal como la del dieléctrico son cantidades complejas y se definen de la forma:

$$\varepsilon_m = \varepsilon'_m + \varepsilon''_m. \quad (1.62)$$

$$\varepsilon_d = \varepsilon'_d + \varepsilon''_d. \quad (1.63)$$

Donde ε'_m y ε'_d representan, respectivamente, la parte real de la constante dieléctrica del metal y del medio dieléctrico, mientras que ε''_m y ε''_d representan sus partes imaginarias. A frecuencias correspondientes a la región visible del espectro electromagnético, la constante dieléctrica de los metales puede definirse a través del modelo de Drude como:

$$\varepsilon_m(\omega) = \left(1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma\omega} \right) \quad (1.64)$$

En este punto se distinguen dos situaciones:

- “Cuando el medio dieléctrico y conductor no posean absorción (o esta pueda ser despreciable), es decir $\varepsilon''_d = \varepsilon''_m = 0$, las constantes dieléctricas de los medios vendrán dadas por: $\varepsilon_d = \varepsilon'_d$ y $\varepsilon_m(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2}$. De esta manera cuando $\omega < \omega_p$ la constante dieléctrica del metal será negativa y será posible guiar la luz en la interfaz metal/dieléctrico. Sin embargo para que esto pueda darse no sólo ha de cumplirse que ε'_m y ε'_d sean de signos opuestos, también debe cumplirse que $|\varepsilon'_m| > \varepsilon'_d$ de modo que $k_{spp} \in \mathbb{R}$ ” [12].
- “Para los medios dieléctricos la absorción generalmente puede ser despreciada $\varepsilon_d = \varepsilon'_d$ pero en el caso de los metales nobles no se puede hacer esta aproximación, la absorción siempre esta presente. Para estos últimos la absorción en la región del espectro visible, en donde $\varepsilon'_m < 0$, es muy importante. El hecho de que

exista absorción en el metal permite la existencia de los modos plasmónicos, es decir que la luz puede ser guiada en la interfaz metal/dieléctrico, incluso cuando $|\varepsilon'_m| < \varepsilon_d$ [18]. A pesar de ello, la existencia de una componente imaginaria no nula de k_{spp} lleva asociada la presencia de modos evanescentes. Aun así existirán regiones del espectro electromagnético en los que a pesar de que la absorción del metal no puede ser despreciada, sí que se cumplirá que $|\varepsilon''_m| \gg |\varepsilon''_d|$ y por lo tanto, la parte real podrá compensar en parte la absorción del metal generada por la parte imaginaria” [12]. En este caso k_{spp} puede ser expresado como:

$$k_{spp} = k'_{spp} + ik''_{spp} \quad (1.65)$$

$$\approx k_0 \sqrt{\frac{\varepsilon'_m \varepsilon_d}{\varepsilon'_m + \varepsilon_d}} + ik_0 \frac{\varepsilon''_m}{2(\varepsilon'_m)^2} \left(\frac{\varepsilon'_m \varepsilon_d}{\varepsilon'_m + \varepsilon_d} \right)^{3/2} \quad (1.66)$$

En la ecuación (1.66) se evidencia cómo el término ε''_m es el que genera una componente imaginaria k''_{spp} en el vector de ondas del SPP. “Esta componente imaginaria esta asociada a una atenuación del vector de ondas en la dirección de propagación. Esa componente es proporcional a $\varepsilon''_m/(\varepsilon'_m)^2$, de tal forma que efectivamente, la parte real de la constante dieléctrica podrá compensar a la parte imaginaria y disminuir así el valor de k''_{spp} ” [12]. La figura 1.3 muestra la dependencia de la parte real e imaginaria del vector de ondas del SPP con la longitud de onda para una interfaz oro/ n_d para tres valores distintos del índice de refracción del medio dieléctrico $n_d = 1, 1,2$ y $1,4$. “La gran variación de las componentes real e imaginaria del vector de ondas del SPP con la longitud de onda es causada por la gran dispersión exhibida por los metales” [12]. En el caso de usar oro como metal, la figura 1.3 muestra que ambos parámetros disminuyen de valor al aumentar la longitud de onda, fruto de la dependencia espectral exhibida por la constante óptica del oro. Se muestra que ambos parámetros, k'_{spp} y k''_{spp} aumentan de valor cuando se aumenta el índice de refracción del dieléctrico. Esta dependencia del vector de ondas con el índice de refracción permite a los SPP ser usados como sensor de cambios en el índice de refracción.

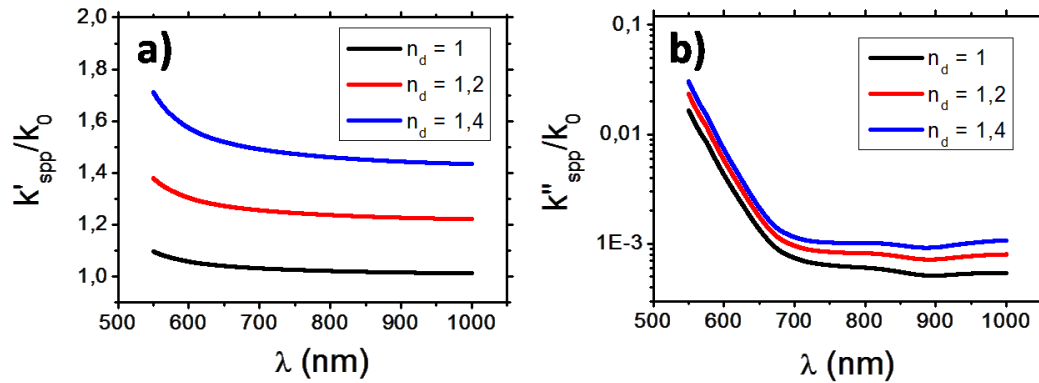


Figura 1.3: Dependencia espectral del valor de la parte real (a) e imaginaria (b) del vector de ondas del SPP en una interfaz Au/dieléctrico con $n_d = 1, 1,2$ y $1,4$ [12].

1.5. Reflexión total interna

Cuando un haz de luz incide en la interfaz entre dos medios con diferentes índices de refracción, una fracción de la luz es reflejada y el resto se propaga al segundo medio, pero cuando el ángulo de incidencia del haz de luz es igual o mayor a un ángulo crítico específico (θ_c), decimos que existe una reflexión total interna (TIR, del inglés Total internal reflection), pues nada se transmite al otro medio (figura 1,4). Por ello, para todos los ángulos de incidencia superiores a (θ_c) ocurrirá reflexión total interna.

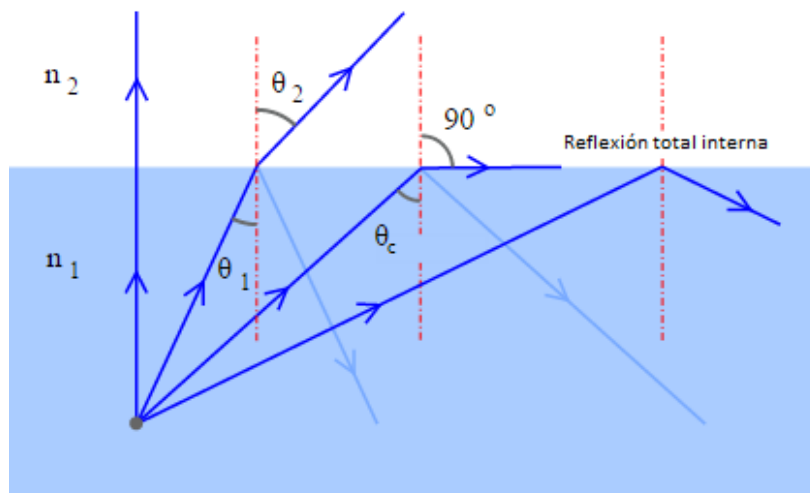


Figura 1.4: Reflexión total interna en una interfaz entre dos dieléctricos.

En condiciones de reflexión total interna, la interfaz se comporta como un espejo. Si se analiza el fenómeno en términos de propagación de ondas, existe un campo electromagnético muy débil en el medio de menor índice de refracción y que decae exponencialmente desde la interfaz. Este campo se denomina campo evanescente.

1.6. Métodos de excitación de plasmones superficiales.

Luego de comprobar que bajo ciertas condiciones es posible guiar la luz en la interfaz entre dos medios, es necesario analizar de que forma las ondas de plasmones superficiales podrían ser excitadas. En física el término resonancia hace referencia al estado de un sistema en el cual se produce una “vibración” máxima en respuesta a un estímulo externo, producido cuando la frecuencia del estímulo es igual (o casi igual) a la frecuencia propia o natural del sistema. En caso de la excitación de los SPP mediante la luz, la resonancia se consigue cuando se igualan la parte real del vector de ondas del plasmón superficial con la componente paralela a la interfaz del vector de ondas de la luz incidente, ya que en estas condiciones la energía y momento del fotón incidente se igualan a las de la onda de densidad de carga a lo largo de la interfaz, transfiriéndose la energía del fotón a la densidad de carga del metal [19]. Según el sistema de coordenadas empleado en la figura 1.1, la condición de excitación del SPP es:

$$|k_x^{Luz}| = |K_{spp}| \quad (1.67)$$

La condición de polarización TM resulta ser una condición necesaria pero no suficiente para excitar una onda de plasmón superficial en una película metálica. Se puede demostrar que no es posible excitar una onda de plasmón superficial incidiendo directamente una onda con polarización TM sobre la interfaz metal-dieléctrico. En esta situación, la componente paralela del vector de ondas de la luz vendrá dada por:

$$k_x^{Luz} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\varepsilon_p} \text{sen}(\theta_i) \quad (1.68)$$

Donde θ es el ángulo de incidencia en prisma y λ es la longitud de onda de la luz [11, 12]. Sustituyendo los valores típicos de ε_m y ε_d (por ejemplo, usando oro o plata como metal y, agua o aire como dieléctrico) en las ecuaciones (1.54) y (1.68), se obtiene que para esta configuración:

$$|k_x^{Luz}| < |K_{spp}| \quad (1.69)$$

Con independencia del valor del ángulo de incidencia y de la longitud de onda de la luz empleada (dentro del rango de frecuencias en que $\Re(\varepsilon_m) < 0$), por lo tanto queda descartada la posibilidad de excitar el SPP incidiendo directamente sobre la interfaz con una onda plana a través del medio dieléctrico que forma dicha interfaz.

Existen diferentes métodos que permiten aumentar el k_x^{Luz} y por lo tanto, acoplar la luz incidente al plasmón superficial. Las más utilizadas para aplicaciones biosensoras son el método de reflexión total interna atenuada [20] y el acoplamiento mediante red de difracción [21]. Otros métodos menos empleados son: el acoplamiento de luz desde una guía de ondas, el acoplamiento mediante intensa focalización de un haz o mediante el empleo de técnicas de microscopia de campo cercano [22].

1.6.1. Excitación mediante reflexión total atenuada.

La forma más común de excitar un plasmón superficial es mediante el acoplamiento por prisma y la reflexión total atenuada (ATR, del inglés attenuated total reflection). El método ATR admite dos configuraciones: la configuración Otto [23] y la configuración Kretschmann [24]. Este método se caracteriza por emplear un prisma con constante dieléctrica $\varepsilon_p > \varepsilon_d$ para incrementar el vector de ondas de la luz incidente respecto al aire e incidir a un ángulo crítico θ , con respecto a la normal en la

frontera entre los dos medios. Dicho aumento a un ángulo específico mayor al ángulo crítico [17] es suficiente para excitar el SPP en la interfaz entre el metal y el segundo dieléctrico. Ambas configuraciones están basadas en el mismo principio pero existen diferencias entre ellas.

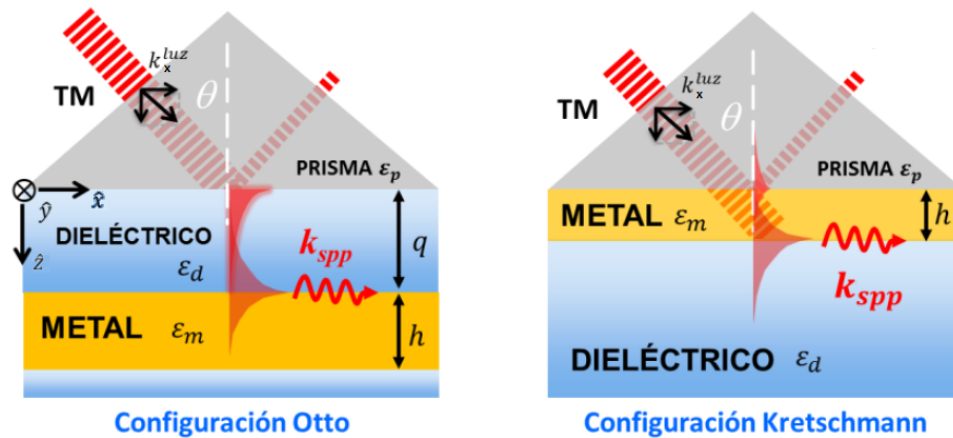


Figura 1.5: Esquema de las configuraciones de acoplamiento: configuración de Otto (izquierda) y Kretschmann (derecha) [12].

- **Configuración Otto.**

En esta configuración el prisma está separado de la película metálica por el dieléctrico. La reflexión total interna tiene lugar en la interfaz prisma-dieléctrico. Por efecto túnel se genera un campo evanescente perpendicular a la interfaz. Si el espesor del dieléctrico es el adecuado, este campo se acopla al plasmón superficial generando un SPP. Esta configuración es adecuada cuando no se quiere un contacto directo con la superficie metálica, lo que la hace útil para el estudio de la calidad de superficies metálicas [11].

- **Configuración Kretschmann.**

En esta configuración, la utilizada durante esta tesis, una película metálica delgada se une a un prisma. Un haz de luz P-polarizada se hace incidir a través del prisma a un determinado ángulo mayor al ángulo crítico, por efecto túnel se genera un campo evanescente dentro de metal, si el espesor de la película metálica es lo suficientemente delgado la onda podrá propagarse hasta la interfaz metal-dieléctrico y excitar una onda de plasmón superficial.

1.7. Efectos del prisma y del espesor de la película metálica.

Hasta ahora se ha analizado la resonancia de plasmón superficial en una interfaz dieléctrico-metal y se ha determinado el vector de ondas del SPP. Sin embargo, en la configuración de Kretschmann o la configuración de Otto se tiene un sistema multicapas donde el espesor de la película metálica es finito. En este nuevo sistema el prisma de excitación y el espesor finito de la película metálica producen un desplazamiento de la posición resonante [17]. Por esta razón el k_{spp} de este tipo de sistemas será de la forma:

$$k_{spp} = k_{spp}^0 + \Delta\beta = k_0 \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} + \Delta\beta \quad (1.70)$$

Donde k_{spp}^0 es el vector de ondas de un plasmón superficial en una interfaz metal-dieléctrico formada por medios semi-infinito (ecuación (1.54)) y el término $\Delta\beta$ representa el corrimiento en la posición resonante.

Es obvio que $\Delta\beta$ depende del espesor h para que así, cuando $h \rightarrow \infty$ (caso en el que el medio metálico puede ser considerado semi-infinito) $\Delta\beta$ se anule y $k_{spp} \rightarrow k_{spp}^0$.

“En una primera aproximación el término $\Delta\beta$ podrá ser despreciado a la hora de determinar la condición de excitación en configuración la Kretschmann” [12].

1.8. Reflectividad en resonancia plasmónica de superficies.

La reflectividad es la variable óptica elegida para evidenciar el acoplamiento de ondas que generan al SPP. Se puede obtener a través de los coeficientes de Fresnel:

$$F_{ik}^P = \frac{n_k \cos \theta_1 - n_i \cos \theta_k}{n_k \cos \theta_1 + n_i \cos \theta_k} \quad (1.71)$$

La reflexión total para un sistema formado por tres medios (prisma-metal-dieléctrico), se obtiene de:

$$R = |F_{Pr1}^P|^2 = \left| \frac{F_{Pr1}^P + F_{12}^P e^{2ik_{z1}d_1}}{1 + F_{Pr1}^P F_{12}^P e^{2ik_{z1}d_1}} \right|^2 \quad (1.72)$$

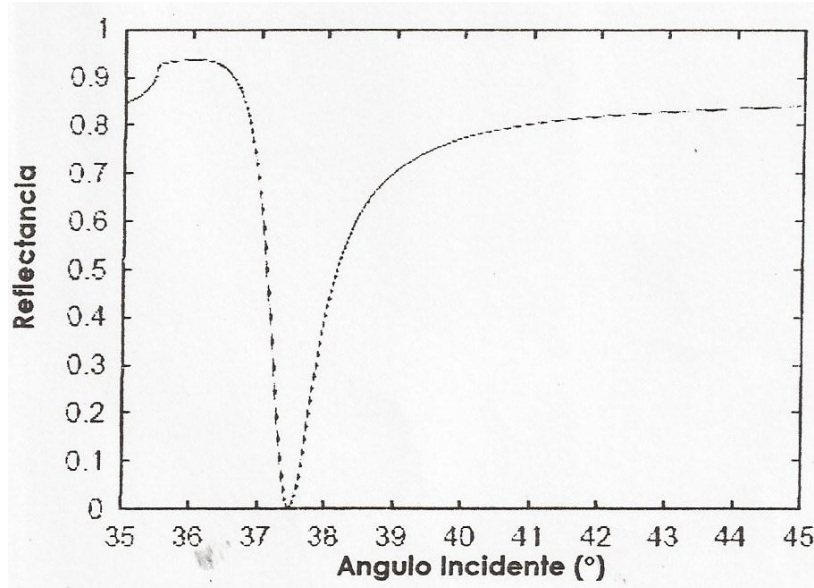


Figura 1.6: Curva de reflectividad para un arreglo prisma (SF10) / Oro / Aire utilizando un láser He-Ne(633nm) [26].

En la figura 1.6 se muestra el perfil de reflectividad de un arreglo SPR a diferentes ángulos de incidencia del haz de radiación. El registro del haz reflejado en función del ángulo presenta un mínimo de intensidad al ángulo al cual se produce la excitación del

plasmón superficial, es decir, al ángulo al que ocurre la unión óptima entre el plasmón de superficie y la radiación incidente [25].

1.9. Medición de espesor de películas metálicas. Microscopía de Fuerza Atómica

En el caso de esta tesis las mediciones del espesor de las películas metálicas se hacen mediante Microscopía de Fuerza Atómica.

El Microscopio de Fuerza Atómica (AFM, de sus siglas en inglés Atomic Force Microscope) monitorea la superficie de la muestra con una punta de dimensiones nanométricas que se localiza al final de una palanca o cantilever. Las fuerzas entre la punta y la muestra provocan la deflexión de la palanca, esta deflexión es registrada mediante un sistema óptico a medida que la punta se desplaza sobre la muestra. Un sistema de retroalimentación busca mantener la deflexión de la palanca constante y la corrección necesaria es registrada como función de la posición de la punta sobre la muestra. De esta manera se puede obtener una micrografía de la superficie con resolución de fracciones de manómetros tanto en x,y como en z. La fuerzas de interacción entre la punta y la muestra va a depender de la distancia entre ellas. entre las fuerzas de interaccion podemos tener fuerzas de coulomb, de intercambio y de Van der Waals, entre otras [27].

El principio básico de funcionamiento de un AFM es muy sencillo. Una punta muy fina se barre de manera automática sobre una superficie y un láser de diodo se focaliza sobre la parte trasera de la palanca reflectante. A medida que la punta barre la superficie de la muestra, moviéndose hacia arriba o hacia abajo según el contorno superficial, el haz láser se refleja con un determinado ángulo en función de la deflexión sufrida por la palanca e incide en una posición concreta de un fotodiodo de dos o cuatro elementos. El fotodiodo mide la diferencia en intensidad de luz entre los fotodetectores superiores y los inferiores así como entre los fotodetectores de la derecha

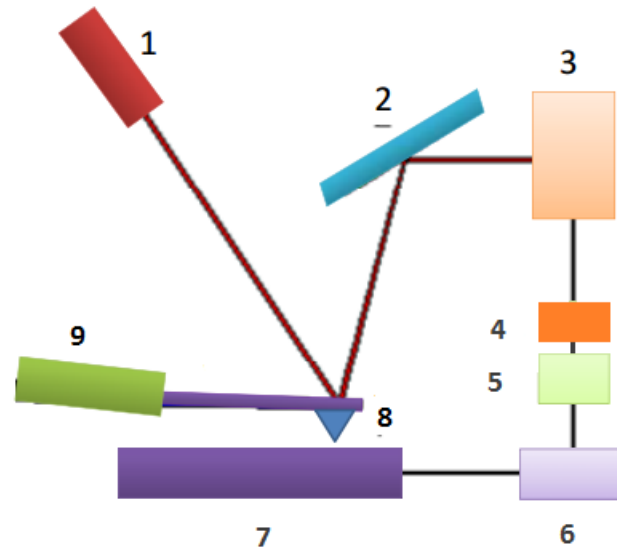


Figura 1.7: Esquema básico de un AFM. 1. Láser, 2. Espejo, 3. Fotodetector, 4. Etapa de Retroalimentación, 5. Amplificador, 6. Registro, 7. Muestra, 8. Punta (sonda de barrido), 9. Cantilever.

y los de la izquierda. Una retroalimentación a partir de la señal diferencial relativa del fotodiodo a través del control mediante un programa de ordenador, permite que la punta se mantenga a fuerza constante (de esta manera se obtiene información de alturas, topografía) o a altura constante sobre la muestra (para obtener información de fuerza).

El primer propósito de este instrumento es medir cuantitativamente la rugosidad superficial de un material. Dependiendo del diseño del AFM, los scanners se utilizan para trasladar tanto la muestra bajo el cantilever como en cantilever sobre la muestra. Barriendo de cualquiera de las dos maneras, se mide la altura local de la muestra.

2

BIOSENSORES SPR

Una de las cualidades de los SPP que con mejores resultados se ha explotado hasta ahora es la fuerte dependencia que posee su vector de ondas k_{spp} con el índice de refracción del medio dieléctrico.

$$|k_x^{Luz}| = |K_{spp}| \quad (2.1)$$

dada las ecuaciones (1.68) y (1.61):

$$\frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\varepsilon_p} \text{sen}(\theta_i) = k_0 \sqrt{\frac{\varepsilon_d \varepsilon_m}{\varepsilon_d + \varepsilon_m}}. \quad (2.2)$$

donde $\frac{2\pi}{\lambda} = \frac{\omega}{c} = k_0$. Obtenemos:

$$n_p \text{sen}(\theta_i) = \sqrt{\frac{\varepsilon_m \varepsilon_d}{\varepsilon_m + \varepsilon_d}}. \quad (2.3)$$

Donde n_p es el índice de refracción del prisma, θ_i es el ángulo de incidencia del haz de luz en la interfaz formada por el prisma y la película metálica. Esta dependencia ha permitido la creación de un tipo de biosensores ópticos, denominados biosensores de Resonancia de Plasmón Superficial [18].

2.0.1. Principio de Funcionamiento

“Los sensores SPR se basan en la dependencia de k_{spp} con el índice de refracción del medio dieléctrico que forma la interfaz por la que se propaga el SPP, y en la posibilidad que brinda el receptor biológico de generar un cambio local en el índice de refracción en las proximidades de dicha interfaz como consecuencia de la reacción de reconocimiento molecular. Esta dependencia permite utilizar a los SPP como sondas para determinar pequeñas variaciones de índice de refracción del medio dieléctrico producidas en las proximidades de la superficie metálica” [12]

La configuración de Kretschmann para la excitación de los SPP resulta ser idónea para detectar los cambios producido en el medio dieléctrico. En esta configuración, el haz incidente (la onda evanescente que excita el SPP) no atraviesa el medio dieléctrico y por lo tanto, no se verá afectada por este medio.

2.0.2. Ángulo y longitud de onda de excitación

En la resonancia plasmónica superficial la energía del fotón incidente es transferida a la onda de densidad de carga. Como se vio anteriormente, dicha transferencia de energía se produce cuando la componente paralela a la interfaz del vector de ondas de la luz incidente se igualan al vector de ondas del SPP (condición de excitación del SPP).

En el caso de la configuración de Kretschmann , la condición de excitación aproximada (despreciando el término $\Delta\beta$) viene dada por la ecuación (1.67) de la cual deduce que, seleccionando adecuadamente el índice de refracción del prisma, existirán pares de valores (θ, λ) para los cuales se satisface la condición de excitación del SPP, y la luz reflejada sufrirá una fuerte atenuación como consecuencia de la transferencia de energía.

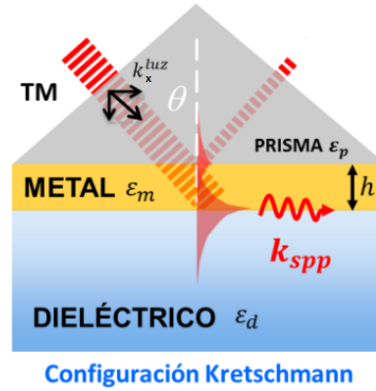


Figura 2.1: Configuración Kretschmann [12].

Como se observa en la figura 2.2, para un haz incidente de luz monocromática y p-polarizado ($\lambda = ctte$), existirá solamente un ángulo para el cual se cumplirá la igualdad indicada en la ecuación (2.3). Dicho ángulo se denomina ángulo de excitación del SPP o ángulo resonante y se denota como θ_{spp} . De igual forma, en caso de incidir a un ángulo fijo con luz policromática p-polarizada, existirá una única longitud de onda λ_{spp} para la cual se excitará el SPP, observándose una fuerte atenuación en la luz reflejada a esa longitud de onda.

De la ecuación (1.67) y (2.3) se puede determinar el ángulo o la longitud de onda de excitación aproximada del método de excitación basado en acoplamiento por prisma. En los casos en los que el término $\Delta\beta$ no pueda ser despreciado, y λ permanece constante, $\Delta\beta$ producirá un pequeño desplazamiento en el ángulo de excitación θ_{spp} , mientras que en el caso en el que θ permanece constante, lo que se produce es un desplazamiento similar en λ_{spp} [12, 17].

La ecuación (1.67) permite calcular la relación entre la longitud de onda y el ángulo de excitación; es decir la longitud de onda a la que se produce la excitación del SPP para un ángulo de incidencia concreto y viceversa. La figura 2.3 muestra que “dicha relación no es lineal y existe un ángulo y una longitud de onda límites a las que se puede excitar el SPP. El límite angular es debido a la pérdida de la condición

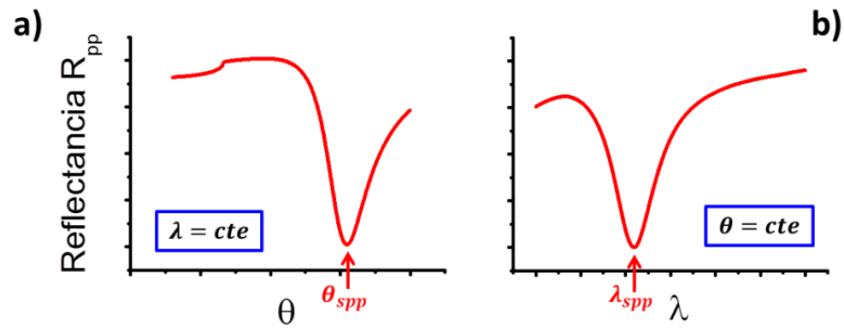


Figura 2.2: Curvas representativas de: (a) Resonancia angular y (b) espectral producidas en la configuración de Kretschmann [12].

de reflexión total interna, el limite espectral se debe a la aparición de transiciones interbandas, lo cual conlleva un gran aumento de la absorción del metal” [12].

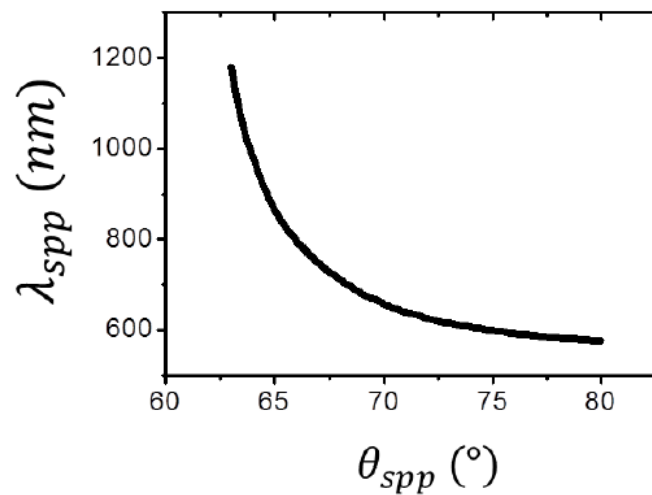


Figura 2.3: Relación entre la longitud de onda y en ángulo de excitación del SPP en la geometría Kretschmann para una interfaz Au/Agua y dos espesores distintos de la capa de Au. Se desprecia el corrimiento $\delta\beta$ [12].

2.0.3. Cambio en la condición de excitación

Cualquier variación en el vector de ondas del SPP (δk_{spp}) como consecuencia de un cambio en el índice de refracción de la constante dieléctrica va a provocar un cambio

$(\theta_{spp}, \lambda_{spp}) \rightarrow (\delta\theta_{spp}, \delta\lambda_{spp})$ en los valores a los cuales se produce la transferencia de energía entre los fotones y el SPP. Cualquier variación en el índice de refracción del medio dieléctrico en contacto con la película metálica podrá ser determinada a través de la variación que esta produce en la condición de excitación [12].

2.1. Biosensores bajo SPR

Resulta evidente que la aplicación directa de los sensores SPR es la de actuar como refractómetro. El hecho de que la zona sensor de estos dispositivos se localice justo en las proximidades de la superficie del metal, convierte a este tipo de sensores en candidatos ideales para ser empleados como biosensores.

Los biosensores SPR, pertenecen al grupo de los inmunosensores porque emplean un material biológico para detectar el analito [28]. Este material biológico o elemento de reconocimiento biomolecular, como también es llamado, puede ser un antígeno o un anticuerpo, el cual es inmovilizado en la superficie del metal de los sistemas SPR, donde detecta el enlace con la especie complementaria (antígeno o anticuerpo), produciendo una variación en el índice de refracción sobre la superficie [29, 30], el cual puede ser observado como un cambio en el ángulo de absorción [30, 31].

Los elementos más importantes de un biosensor SPR son: el transductor plasmónico (por ser el que define las propiedades del plasmón superficial) y el elemento de reconocimiento biológico (por ser el encargado de que el cambio de índice de refracción se produzca en las proximidades de la interfaz).

2.1.1. Transductor del biosensor SPR

En los biosensores SPR el transductor (la lámina metálica sobre la cual se inmovilizan la moléculas bioreceptoras) es el encargado de convertir la reacción de reconocimiento molecular analito-bioreceptor en una señal cuantificable. La lámina metálica

no debe reaccionar con otras moléculas al ser expuesto a un medio líquido o a la atmósfera, es decir, debe ser lo más resistente posible ante la exposición a soluciones que puedan llegar a ser corrosivas (ácidas o básicas). Dentro de los metales, los metales nobles (Au, Pt, etc.) son ideales para ser utilizados como transductores en bioensayos SPR debido a su estabilidad intrínseca a la corrosión. De los diferentes metales nobles existentes, el Au es el que mejores propiedades plasmónicas posee. También existe otro grupo de metales, denominados metales seminobles (Ag, Cu, Hg, etc.) cuya reactividad es baja, pero mayor que la de los metales nobles. El oro y la plata son los elementos ideales para la película metálica en la región del visible. El oro es el más empleado en las aplicaciones biosensoras debido a su mayor resistencia; mientras que la plata es el candidato ideal para la fabricación de dispositivos plasmónicos ya que posee una muy baja absorción óptica [12]. Sin embargo, también se han empleado otros metales, combinaciones de metales o incluso aleaciones de estos [32, 33].

El espesor de la película metálica es un factor muy importante a tener en cuenta a la hora de optimizar un biosensor SPR, sin embargo, existen otros dos aspectos destacables de su morfología que también deben tomarse en cuenta: su rugosidad y su estabilidad (es decir, la adhesión entre la capa metálica y el sustrato sobre el que se deposita). “Ambos parámetros tienen una notable influencia en las propiedades físicas del SPP y por lo tanto, en su capacidad para detectar los cambios producidos en el medio dieléctrico. Resulta obvio que si las propiedades plasmónicas de un transductor no son estables este carecerá de toda utilidad. Respecto a su rugosidad, si la interfaz entre el metal y el dieléctrico es rugosa, se producirá cierta dispersión en el SPP, la cual generará una componente de radiación de luz desde el SPP al medio dieléctrico. Como consecuencia de esta radiación, se producirá una disminución y un ensanchamiento de las curvas de reflectancia que afectarán significativamente a la capacidad de detección del biosensor SPR” [12]

2.1.2. Receptor biológico del biosensor SPR

El transductor, además de ser resistente, ha de permitir que sobre él se inmovilicen biomoléculas receptoras. El proceso de inmovilización del elemento de reconocimiento biológico sobre la superficie del transductor es uno de los aspectos fundamentales en estos dispositivos. “La inmovilización ha de realizarse de manera que permita la obtención de una densidad superficial óptima de bioreceptores, evite la unión inespecífica de otras sustancias a la superficie y no afecte la actividad biológica del elemento inmovilizado ni a las propiedades del transductor empleado. Es un proceso que depende de forma directa del tipo de material con que esté fabricado el transductor y de los grupos funcionales reactivos presentes en la biomolécula, a través de los cuales se puede llevar a cabo la reacción química de inmovilización” [12]

2.1.3. Biosensor SPR-angular

Los Sistemas SPR se pueden clasificar, en base a la variable del proceso que se mide, en sistemas basados en la modulación del ángulo, la longitud de onda, la intensidad, la fase o la polarización [34, 35].

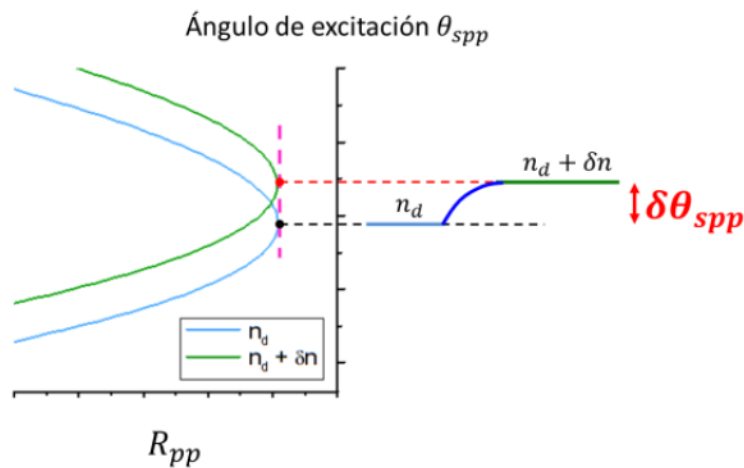


Figura 2.4: Biosensor SPR-angular [12].

En este trabajo de tesis el biosensor esta basado en modulación angular. El biosensor SPR-angular emplea una fuente de luz monocromática con polarización TM y un fotodetector o una cámara CCD como mecanismo de detección de la luz. En esta configuración se monitorean las variaciones del ángulo al que se produce la excitación del SPP; es decir, el ángulo de incidencia al que se obtiene el mínimo de intensidad reflejada (ver figura 2.4). En esta configuración se puede escanear el ángulo de reflexión de un haz de luz colimado permitiendo hacer una detección en tiempo real al obtener el mínimo de reflectancia de la curva angular. En esta configuración también es posible hacer incidir un cono de luz cuyo vértice se encuentre situado en el punto de reflexión. De esta forma se estará incidiendo simultáneamente con varios ángulos.

2.1.4. Espesor óptimo de la película metálica

El espesor de la película metálica es especialmente crítico para la optimización del arreglo SPR. Para pequeños o grandes espesores de la película metálica (con pequeños nos referimos a espesores de menos de 20 nm y con grandes a espesores de más de 100 nm) el sistema SPR actuará como un espejo impidiendo la observación de la señal SPR [36]. Por lo tanto, entre estos valores extremos existe un espesor óptimo para el cual se logra un acoplamiento más eficiente, es decir, únicamente cuando el espesor de la lámina metálica sea el óptimo se conseguirá una transferencia de energía total y por lo tanto, la intensidad de la luz reflejada a ese ángulo y para esa longitud de onda será nula ($R = 0$).

En la figura 2.5 se muestra la curva de reflectividad en función del espesor de la película metálica cuando la longitud de onda es de 750nm y a determinados ángulos de incidencia en una configuración SF11-película de Ag-Agua. En ella se muestra que para un ángulo de incidencia optimizado, aparece un mínimo a un espesor de 47 nm, representando el acoplamiento más eficiente.

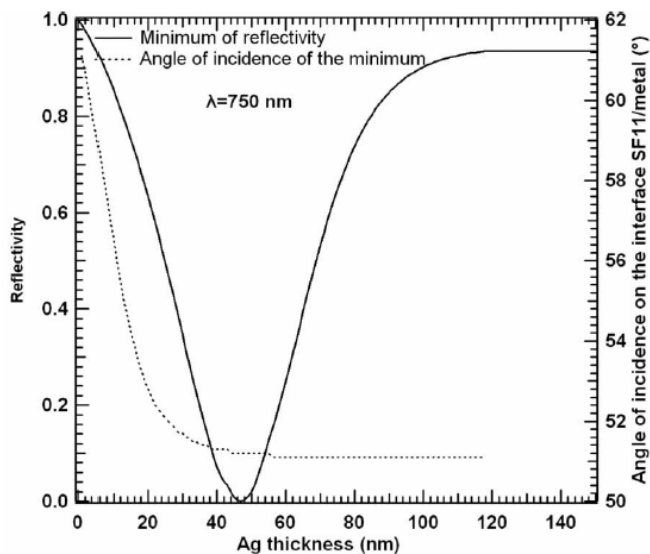


Figura 2.5: Curva del mínimo de reflectividad como función del espesor de la película de plata en una configuración SF11-película de Ag-Agua con longitud de onda de 750 nm [36].

2.2. Fabricación de películas metálicas para SPR.

Las películas metálicas delgadas para SPR son preparadas generalmente por evaporación electrotérmica al vacío o por Sputtering [37].

La evaporación térmica es un procedimiento en el cual el material que se quiere evaporar se calienta dentro de una cámara sellada a alto vacío hasta alcanzar una presión de vapor suficientemente alta, de forma que los átomos del material pasan al estado de vapor y se condensan en forma de capas delgadas en un sustrato colocado frente a la fuente.

Normalmente la evaporación se hace a presiones muy reducidas con objeto de evitar la interacción entre las partículas evaporadas con la atmósfera ambiente. A estas presiones tan bajas el recorrido libre medio de los átomos de vapor es del orden

de las dimensiones de la cámara de vacío por lo que estas partículas viajan en línea recta desde la fuente de evaporación hasta el sustrato.

En el caso de la evaporación electrotérmica al vacío el material se calienta hasta la fusión mediante el paso de corriente eléctrica a través de un filamento o placa metálica sobre el cual se deposita el material (efecto Joule). El material en forma de vapor se condensa entonces sobre el sustrato. Es una técnica bastante simple y muy apropiada para depositar metales y algunos compuestos de bajo punto de fusión (Al, Ag, Au, etc). Los metales típicos usados como resistencia de calentamiento son el Tántalo (Ta), Molibdeno(Mo), Wolframio o Tungsteno (W) los cuales presentan una presión de vapor prácticamente nula a la temperatura de evaporación.

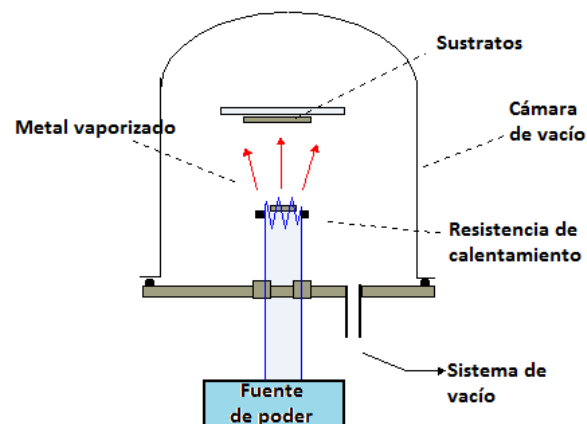


Figura 2.6: Esquema de un sistema para Evaporación al vacío.

En la figura 2.6 se observa el esquema de un sistema de evaporación al vacío en su forma mas simple. En la parte superior de la figura se ubica el sustrato, en la parte inferior esta una resistencia, con el material a depositar, conectada a los electrodos. Al iniciar el proceso de evaporación el material se dispersa de forma radial a partir de la fuente.

En el caso de tener una fuente puntual el espesor de la película depositada en un punto específico del sustrato a una distancia r se obtiene de la siguiente manera:

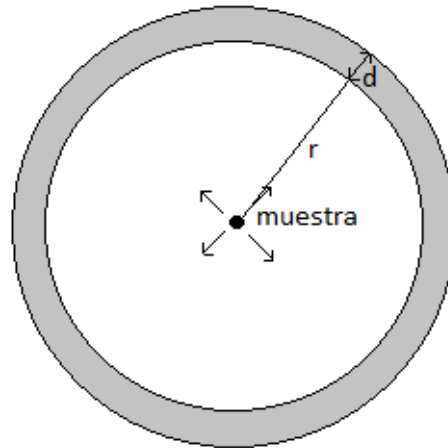


Figura 2.7: Geometría del proceso de evaporación para una fuente puntual ubicada a una distancia “r” del sustrato.

Considerando que el material se evapora de forma radial formando una esfera de volumen $V = 4\pi r^2 d$ donde d representa el espesor de la esfera o espesor de la capa depositada. Si tenemos en cuenta la densidad del material $\varphi = m/V$, entonces el espesor de la película depositada a una distancia r de la fuente viene dada por:

$$d = \frac{m}{4\pi r^2 \varphi} \quad (2.4)$$

Donde m representa la cantidad de masa evaporada. Si se quiere tener un espesor específico en un punto específico, basta con calcular la masa necesaria M para la formación de la película. Cabe destacar que la formación de películas metálicas sobre sustratos planos no será uniforme, presentará pequeñas variaciones de espesor debido a la forma en la que el material se evapora.

2.3. Aplicaciones con biosensores SPR

El uso de biosensores puede extenderse a multitud de campos ya que, con el receptor biológico adecuado, esta tecnología permite la determinación de casi cualquier

sustancia química o biológica existente. Numerosas sustancias como fármacos, toxinas, moléculas orgánicas (urea, glucosa, colesterol, antibióticos, etc.), agentes patógenos de la guerra química y bacteriológica, células vivas, hormonas, péptidos, pesticidas, disruptores endocrinos, proteínas (albúmina, insulina, inmunoglobulinas, antígenos, etc.), son susceptibles de ser detectadas mediante el uso de un biosensor [38, 39]. Además, hoy en día, los espectaculares progresos que ha experimentado la biotecnología en los últimos años permiten obtener biomoléculas específicas (anticuerpos y aptámeros) frente a prácticamente cualquier sustancia química o biológica cuyo peso molecular sea superior a 200 unidades de masa atómica [12].

La SPR también es empleada para el estudio de las propiedades superficiales de los metales [40], para el estudio de las constantes ópticas de capas orgánicas [41] y para la detección de gases [42, 43].

Se han realizado bioensayos con SPR en áreas tan diversas como protección ambiental, biotecnología, diagnóstico médico, descubrimiento de drogas y seguridad alimentaria [44].

3

CONSTRUCCIÓN E IMPLEMENTACIÓN DEL MONTAJE EXPERIMENTAL

La presencia de un mínimo en el coeficiente de reflexión, manifiesta la presencia del SPP por acoplamiento de la onda electromagnética y las oscilaciones superficiales de carga en el metal. El objetivo de este capítulo consiste en describir los aspectos relacionados con la construcción e implementación de un sistema experimental que permita observar de manera global el fenómeno de resonancia de plasmón superficial.

3.1. Materiales, equipos y reactivos.

A la hora de fabricar un transductor para un biosensor plasmónico con acoplamiento por prisma (modulado o no), existirán dos opciones: evaporar el metal o metales directamente sobre la cara plana del prisma o hacerlo sobre un sustrato plano del mismo material que el prisma. Este último procedimiento es el más versátil y económico, ya que los sustratos son más económicos y fáciles de metalizar que un prisma, además de preservar su integridad. Como desventaja, en el caso de depositar

el metal o metales sobre un sustrato plano, será necesario utilizar un aceite de acoplamiento óptico entre el sustrato y el prisma para garantizar que la luz llegue hasta la interfaz metal/sustrato.

En este trabajo las películas fueron preparadas en placas portaobjetos de vidrio de uso común en microscopía óptica (3,6 cm x 2,5 cm). La limpieza previa de las placas portaobjetos se realizó con una solución de ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno (solución piraña) y posteriormente con acetona pura (Riedel-de Haen 99% de pureza). La deposición de las películas se llevo a cabo mediante en un equipo para evaporación al vacío marca JEOL, modelo JEE-420 el cual se muestra en la figura 3.1, este cuenta con un medidor de presión. El sistema de vacío esta compuesto por una bomba mecánica y una bomba iónica. En este equipo se realizaron numerosas deposiciones de películas de Ag y Cr/Ag sobre las placas portaobjetos.



Figura 3.1: Equipo utilizado para evaporación de películas.

Se determinó el espesor de las películas depositadas en un microscopio de fuerza atómica Dimension Edge Bruker el cual es mostrado en la figura 3.2

Con el fin de evaluar el comportamiento del sistema construido mediante el cambio

en en el índice se utilizaron los vapores de diferentes sustancias apolares como etanol, acetonitrilo, propílico y acetato de etilo.



Figura 3.2: Microscopio AFM modelo Dimension EDGE, de la compañía Bruker, utilizado.

La figura 3.3 muestra el arreglo basado en la configuración de Kretschmann utilizado para la observación global del fenómeno SPR. El montaje utiliza un prisma de ángulo recto (4 cm x 4 cm, $n = 1,52$) al cual se une, mediante aceite de inmersión comercial (aceite Melody, $n = 1,4681$) a una pequeña cámara contenedora formada por placas portaobjetos, la cara de unión contiene la película metálica. El contenedor tiene una pequeña abertura para asegurar la entrada de vapores. Todo el sistema formado por el prisma esta sujeto dentro de una Cápsula de Petri la cual a su vez ésta sujeto a una base rotatoria.

Para el sistema de iluminación se utilizó un láser de Helio-Ne con una longitud de onda de 656 nm. El láser pasa a través de dos polarizadores cruzados con el fin de reducir la intensidad y para que la radiación que llegue a la superficie metálica sea p-polarizada. Un sistema de espejos orienta la radiación y un diafragma se encarga de disminuir cualquier radiación parásita diferente al haz de iluminación y mejora el perfil del láser. Luego se colocó un filtro de densidad para reducir la intensidad de la

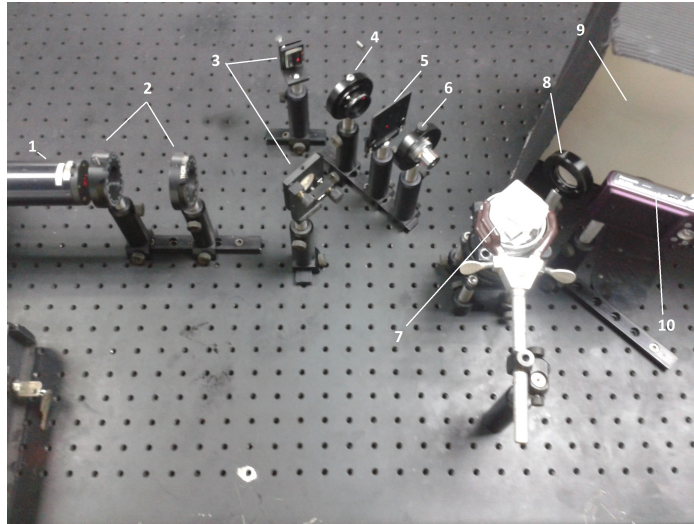


Figura 3.3: Fotografía del montaje SPR utilizado. 1. Fuente de iluminación, 2. Polarizadores, 3. Espejos, 4. Diafragma, 5. Filtro óptico de densidad, 6. Objetivo de microscopio. 7 Configuración Kretschmann, 8. Lente convergente, 9. Pantalla blanca, 10. Cámara CCD.

luz y un objetivo que amplía el cono proyección del haz de luz de manera de aumentar el área de iluminación sobre un vidrio esmerilado, unido a una de las caras del prisma, que se encarga de introducir una gran dispersión con el fin de que la radiación incida simultáneamente con varios ángulos. La radiación reflejada del prisma pasa a través de una lente convergente y se hace incidir sobre una pantalla blanca colocada a distancia focal de la lente (15 cm) y es capturada por un detector, una cámara CCD (Marca Panasonic, modelo DMC-FH25 con una resolución máxima de 16 mega píxeles) sujeta con pinzas para evitar su movimiento. La imagen adquirida con la cámara es procesada mediante el software MATLAB. El experimento se lleva a cabo en condiciones de poca luz para evitar que la luz externa interfieran en las mediciones.

Para evaluar la respuesta del sensor SPR en medios líquidos el prisma ya unido al sustrato mediante aceite de inmersión se coloca dentro de una pieza a la que posteriormente se inserta una celda de flujo y finalmente se procede a ajustar cuidadosamente todo el sistema con un tornillo que hace presión sobre la celda de flujo y esta última

presiona a su vez el sustrato de vidrio a la base del prisma. En la figura 3.4 se muestra el esquema de la configuración Kretschmann unido a la celda de flujo.

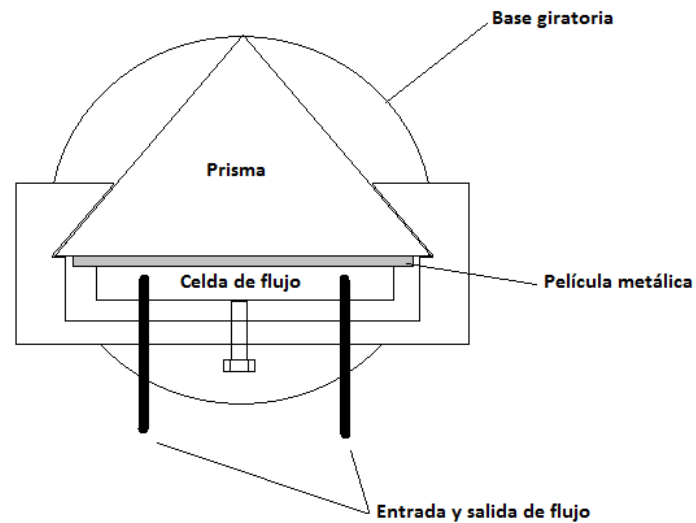


Figura 3.4: Esquema de la configuración Kretschmann unido a la celda de flujo.

3.2. Preparación de películas metálicas.

El vidrio es un sustrato que presenta propiedades favorables para la deposición de las películas metálicas para SPR, ya que es químicamente inerte y transparente. Por ello, ha sido el sustrato utilizado para la deposición de las películas metálicas

Se realizaron numerosas películas metálicas empleando diferentes estrategias para asegurar la adhesión de la plata al sustrato de vidrio. Una de las estrategias consistió en limpiar las placas portaobjetos con una solución de ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno a una relación 5:1 mejor conocida como solución piraña y posteriormente fueron sumergidas en acetona pura asegurar una mejor limpieza. Este método de limpieza, además de eliminar las impurezas, corroe la superficie del sustrato de manera tal que aumenta el área de contacto permitiendo una mayor adhesión de la película

metálica . La segunda estrategia consistió en depositar primero sobre el vidrio una película de Cr de alrededor de 7 nm de espesor. Debido al fuerte poder de adhesión del Cr al vidrio esto mejora la adhesión de la plata al sustrato.

Previo al recubrimiento, cada placa se sitúa bajo la cesta (filamento de tungsteno) que contiene el material a ser evaporado. Se cierra la cámara teniendo cuidado de no mover el sustrato y de evitar que se pierda el material dentro de la cesta. Con todo en su lugar, se enciende la bomba de vacío. Después de 1 hora, el sistema llega a una presión de alrededor de los $2 \times 10^{-4} Pa$ (Alto vacío) y poco a poco se incrementa la corriente a través del filamento hasta observar que todo el material dentro de la cesta ya se ha evaporado.

3.3. Determinación del espesor a partir de microscopía de fuerza atómica.

En cada deposición se colocó un placa opaca de silicio con el fin de tener una muestra de la capa depositada en el sustrato de vidrio para su análisis de espesor y rugosidad en el AFM. La placa de silicio se sujeta con cinta pegante doble cara a un plato metálico que se coloca dentro del AFM. Con la muestra dentro del sistema, se procede a ubicar la punta sobre el escalón de la película metálica. Para obtener las imágenes primero se ajusta la posición de incidencia del rayo láser sobre el cantilever hasta obtener la máxima sensibilidad en las tres direcciones del espacio. Posteriormente se acerca la punta a la muestra hasta obtener el valor prefijado previamente, en la fuerza de interacción, o sea, una determinada flexión del cantilever que se toma como referencia. Para medir el espesor de la película trabajamos el AFM en modo tapping, el cual es un modo dinámico en donde el cantilever se hace vibrar a una frecuencia cercana a su frecuencia de resonancia. La amplitud de la oscilación disminuye linealmente al acercarse la superficie y es el parámetro medido para obtener las imágenes. Una vez decidido el modo de operación se inicia el barrido de la superficie,

el sistema de retroalimentación mide la fuerza en cada punto y aplica un potencial al sistema piezoeléctrico para que esa fuerza se mantenga constante.

Las imágenes obtenidas se procesaron con el software Gwyddion 2.40 [45] una herramienta para la visualización y análisis de datos de microscopía de proximidad SPM.

3.4. Fórmula experimental de incidencia en la interfaz prisma-aceite de inmersión-metal.

En un sistema SPR angular la condición de resonancia se da cuando la luz incide a un ángulo específico sobre la película metálica. Para poder conocer el ángulo de incidencia que experimentalmente se introduce sobre la superficie metálica en el sistema prisma-aceite de inmersión-metal es necesario encontrar una ecuación que relacione el ángulo de entrada a la configuración Kretschmann con el ángulo de incidencia sobre la superficie metálica.

Sea γ el ángulo del haz con la normal de la interfaz prisma-aceite de inmersión. Como el prisma se ubica en un sistema de rotación, es necesario encontrar el ángulo del haz transmitido respecto a la normal (α) en función de la variación $\Delta\theta$ introducida, con respecto a la posición de referencia, ver figura 3.4. La figura 3.5 a) muestra la posición angular inicial de un haz que entra al prisma, se refleja en la cara inclinada (hipotenusa del triángulo) o cara reflectora donde se ha colocado la capa de aceite de inmersión, y sale del prisma perpendicular al rayo incidente. Ahora rotando en dirección horaria, para satisfacer la condición de reflexión total interna como se aprecia en la figura 3.5 b), entonces la normal respecto de donde entra el haz girará un ángulo $\Delta\theta$, que es el mismo que ahora formará el haz con la normal del sistema rotado. Por otro lado, el rayo transmitido se propaga dentro del prisma, incidiendo y reflejándose en la cara reflectora del mismo, formado con respecto a las normales de la cara de la cual se transmite y la cara reflectora, los ángulos γ y α respectivamente; recordando que este

último ángulo es igual tanto para incidencia como para reflexión. Finalmente el rayo que se refleja en la cara reflectora sale del prisma a un ángulo ϕ .

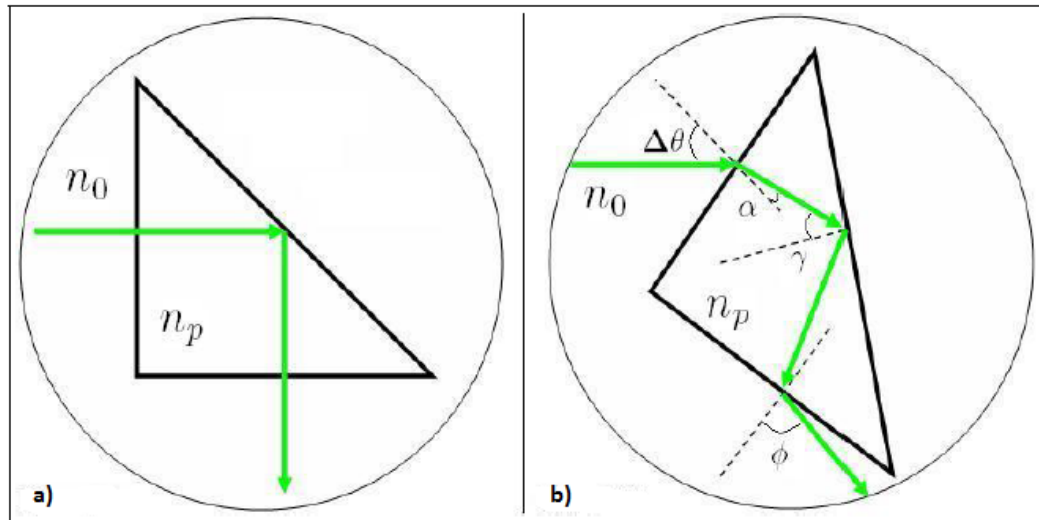


Figura 3.5: Rotación experimental. La figura 3.5 a) muestra el rayo en la configuración Krestchmann y la figura 3.5 b) muestra la configuración Krestchmann rotada.

De acuerdo al trazado de rayos se tiene:

$$45^\circ + (90^\circ - \gamma) + (90^\circ - \alpha) = 180^\circ \rightarrow \gamma = 45^\circ - \alpha \quad (3.1)$$

Utilizando la ley de Snell:

$$n_0 = \text{Sin}(\Delta\theta) = n_p \text{Sin}(\alpha), \quad (3.2)$$

despejando α obtenemos:

$$\gamma = 45^\circ - \text{Sin}^{-1} \left(\frac{n_0}{n_p} \text{Sin}(\Delta\theta) \right) \quad (3.3)$$

El ángulo γ encontrado representa el ángulo con el cual el rayo incide sobre la primera interfaz prisma-aceite de inmersión. Es necesario aplicar nuevamente la ley de Snell para conocer el ángulo con el cual el rayo incide sobre la película metálica.

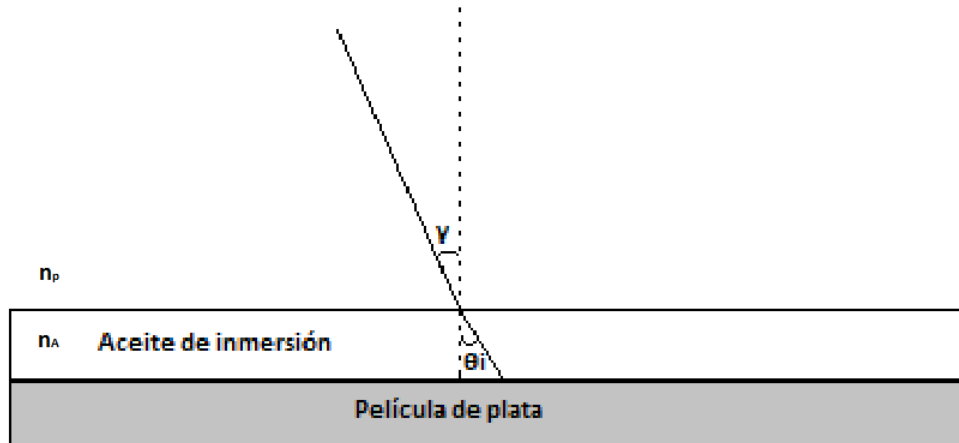


Figura 3.6: Ley de Snell en la interfaz Aceite de inmersión-película de plata.

Utilizando la ley de Snell:

$$n_p \sin(\gamma) = n_A \sin(\theta_i) \quad (3.4)$$

despejando el ángulo de incidencia sobre la superficie metálica θ_i :

$$\theta_i = \sin^{-1} \left(\frac{n_p}{n_A} \sin(\gamma) \right) \quad (3.5)$$

3.5. Obtención de la respuesta de resonancia plasmónica en Aire.

Para iniciar las mediciones de resonancia plasmónica superficial, a través de la medida de la reflectividad del haz reflejado, se deben unir todos los componentes

que forman el sistema. El procedimiento se inicia colocando en el lado de la placa portaobjetos, que no fue recubierta con Ag y la cual forma parte del contenedor, una gota de aceite de inmersión para unirla al prisma. Se debe tener especial cuidado de no dejar burbujas de aire en la interfaz formada por el prisma y la placa portaobjetos para evitar que la señal de reflectividad se vea afectada. La configuración Krestchman se coloca dentro de una Cápsula de Petri la cual a su vez se sujeta con cinta pegante doble cara a una base giratoria. Se enciende el láser y se procede a su alineación. Se rota la base gradualmente hasta apreciar el mínimo de intensidad producto de la excitación del SPP para el medio aire el cual sera nuestra referencia. La posición de la cámara se ajusta de tal manera que al capturar la imagen proyectada, esta se ubique en el centro del área de captura.

3.6. Obtención de la respuesta de resonancia plasmónica en vapores con diferentes índices de refracción.

Una vez ajustados cada uno de los componentes del sistema y ubicado el mínimo de intensidad para el aire se sujeta muy bien el prisma con pinzas para evitar que se mueva. Se captura la imagen que servirá como referencia. Una vez capturada la imagen y con el prisma bien sujeto, se procede a colocar dentro de la Cápsula de Petri la sustancia cuyo vapor satura el contenedor y cambia ligeramente el índice de refracción lo que provoca un corrimiento en el mínimo de intensidad. Se procede entonces a capturar la imagen reflejada con el mínimo en su nueva posición. Este procedimiento se repite para diferentes sustancias.

3.7. Obtención de la respuesta de resonancia plasmónica en Aire para una película de Cr/Ag

En este experimento se procede de igual manera que en los experimentos anteriores, es decir, se unen todos los componentes del sistema para observar el mínimo de

intensidad en un medio dieléctrico aire con la única diferencia de que en lugar de usar una película de Ag se usa una película formada por dos metales, una capa de Cr de alrededor de 7 nm de espesor y sobre esta una capa de Ag de determinado espesor. Se obtienen las imágenes de reflectividad en aire para diferentes espesores de la película de Ag con el fin de evaluar la dependencia de la respuesta plasmónica con el espesor de la película.

3.8. Procesamiento de la señal.

Las imágenes SPR capturadas por la cámara CCD son procesadas con el software MATLAB R2013a y Gwyddion 2,40.

Los procesamientos empleados son, mediante Matlab se trabajan en el plano R (rojos) de la imagen, se hace un recorte de la imagen seleccionando el área de interés, las imágenes son exportadas a Gwyddion donde se procedió a extraer el perfil promediado a lo largo de toda la imagen, se realizó un ajuste de los datos y luego se exportaron a una hoja de cálculo Exel para su graficación.

La gráfica obtenida en Exel representa la reflectividad en cada pixel a lo largo de la imagen. Para obtener la gráfica Reflectividad vs Ángulo de incidencia se determinó la relación píxel/milímetros a partir de la separación en milímetros entre el mínimo de resonancia para el aire y el mínimo de resonancia para alguno de los elementos utilizados. Posteriormente los milímetros son convertidos a ángulos teniendo en cuenta la distancia entre la pantalla donde se captura la imagen y la lente convergente. Finalmente y considerando el ángulo resonante para el aire, se obtuvo la gráfica Reflectividad vs Ángulo de incidencia para los vapores de las sustancias utilizadas.

La figura 3.7 muestra algunas de las imágenes SPR obtenidas. En la figura 3.8 se muestran las mismas imágenes pero procesadas con Matlab.

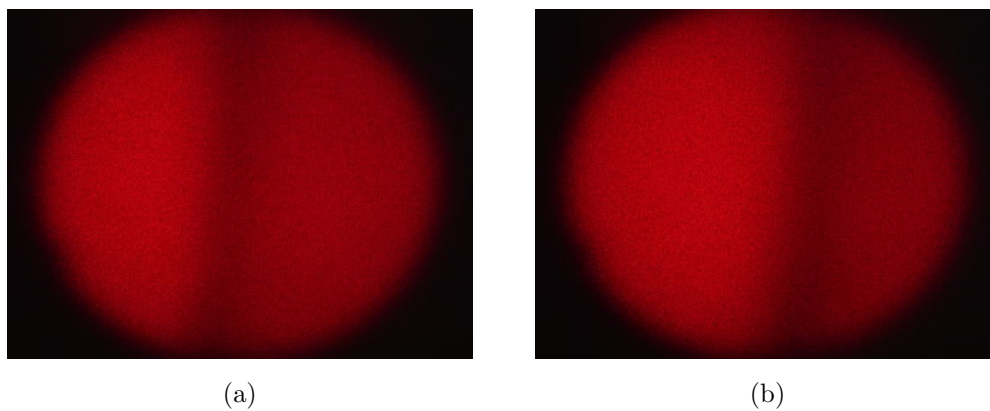


Figura 3.7: Imágenes SPR sin procesar a) usando aire como medio dieléctrico b) usando alcohol propílico como medio dieléctrico.

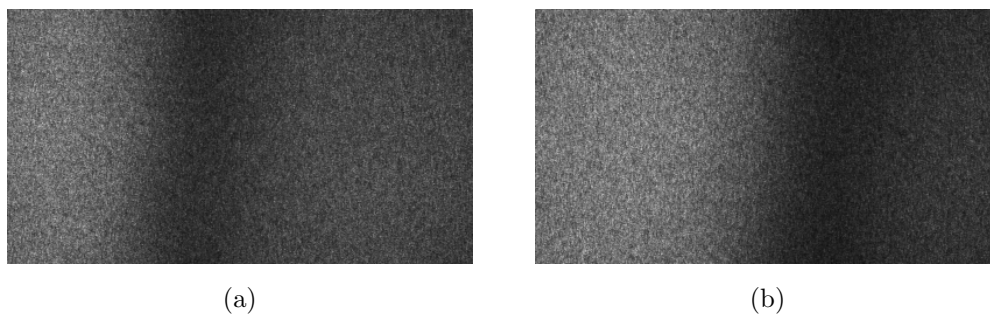


Figura 3.8: Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando alcohol propílico como medio dieléctrico.

4

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Preparación de películas metálicas y medidas de espesor

El espesor de la película metálica que se usa como transductor plasmónico es un factor muy importante en los sistemas SPR ya que influye en la sensibilidad del sistema. Para películas de plata, el mejor acople entre la onda incidente y la onda de plasmón superficial se consigue a un espesor de aproximadamente 47 nm a una longitud de onda de 750 nm [36]. Para evaluar la señal SPR en una película de plata con espesor aproximado a los 47 nm y a la longitud de onda empleada (656 nm), se fabricó la película en el equipo de evaporación al vacío empleado en esta tesis, haciendo uso de la ecuación (2.4) para conocer la masa de Ag que debe evaporarse a una distancia $r = 10$ cm del sustrato para formar la película.

Se prepararon películas de Ag con diferentes espesores (24 nm, 48 nm, 70 nm) y agregando una fina capa de Cr de 7 nm aproximadamente entre el sustrato de vidrio y la capa de plata para mejorar la adhesión. También se prepararon películas de plata directamente sobre el sustrato de vidrio sin la capa intermedia de Cr. En estas últimas

los sustratos de vidrio se limpiaron cuidadosamente con una solución de ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno en una relación 5:1, conocida también como solución piraña.

El espesor de las películas metálicas fabricadas se obtuvo mediante microscopía de fuerza atómica. Las imágenes fueron procesadas mediante el programa Gwyddion 2.40.

Los procesamientos empleados fueron una corrección de inclinación, aplanamiento de la imagen para compensar la curvatura del barrido, corrección de líneas huérfanas y aplanamiento de área a través de 3 puntos. A la imagen procesada se procedió a extraer el perfil promediado sobre 10 píxeles en la dirección perpendicular a la dirección de la línea indicada. En la figura 4.1 se muestran las imágenes ya procesadas obtenidas en el AFM para una película de Cr.

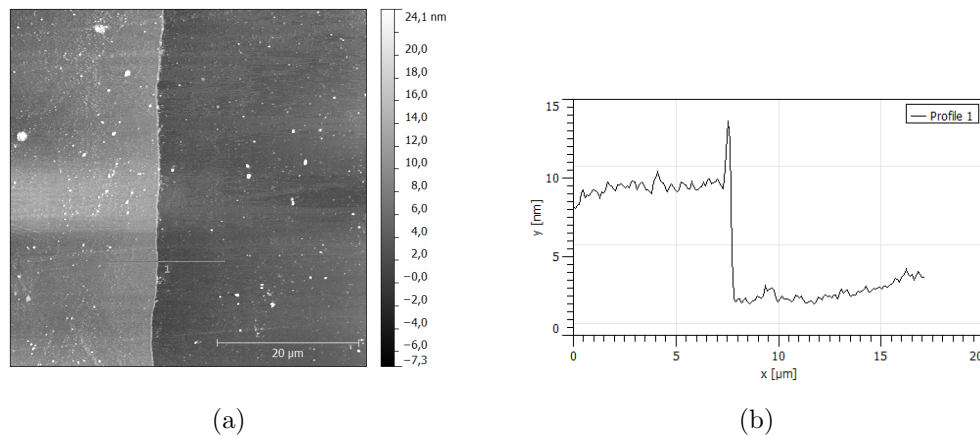


Figura 4.1: Estimación del espesor de la película de Cr. (a) Imagen de AFM de las vecindades del borde de la película. (b) Espesor de la película estimado a partir de la imagen.

El resto de perfiles de los escalones que permitieron estimar el espesor de las películas con el software se muestran en las figuras 4.2 y 4.3. Los espesores obtenidos presentan una ligera desviación respecto a los espesores que en teoría, según la ecuación (2.4), debieron obtenerse. Esta desviación se puede explicar teniendo en cuenta que

el material a depositar se evapora de forma radial de manera tal que las películas depositadas sobre el sustrato plano no son totalmente uniformes.

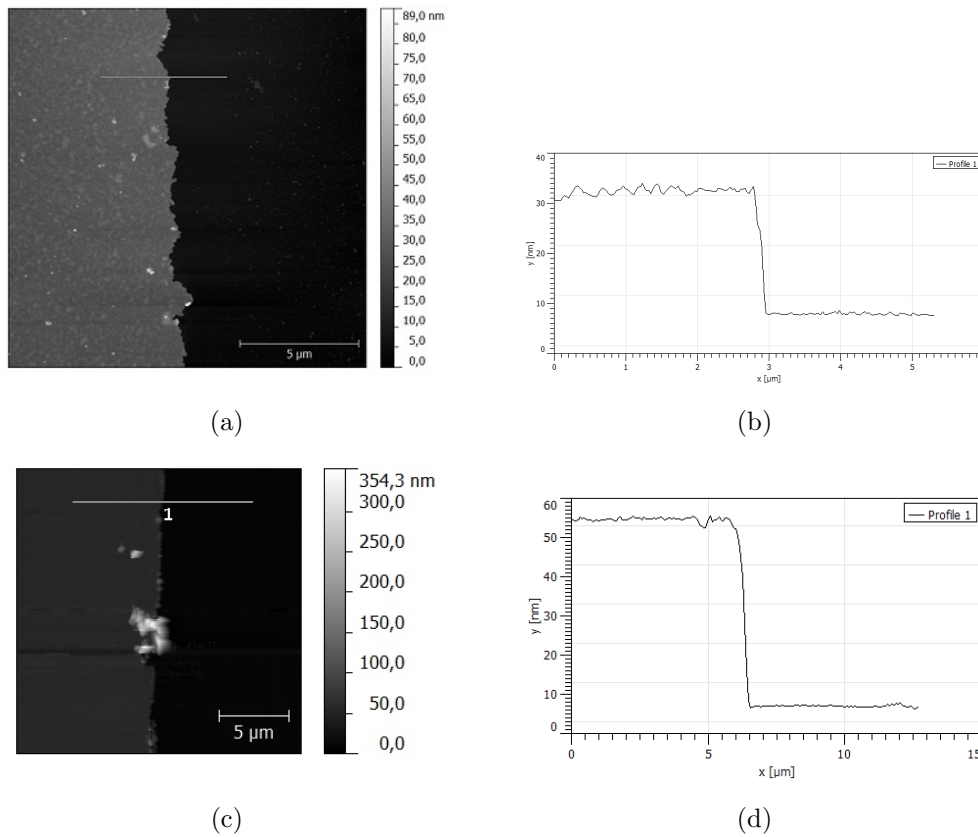


Figura 4.2: Imágenes de AFM y perfiles obtenidos a partir de las imágenes para películas de espesor nominal a) y b) 20 nm. c) y d) 50 nm.

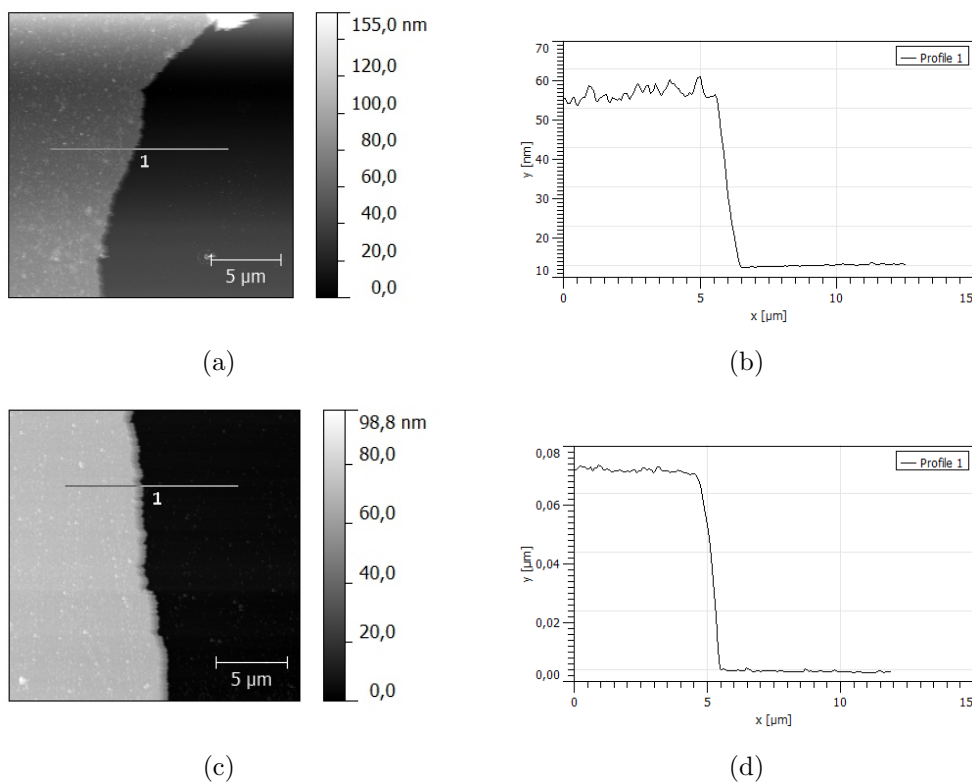


Figura 4.3: Imágenes de AFM y perfiles obtenidos a partir de las imágenes para películas de espesor nominal a) y b) 40 nm. c) y d) 80 nm.

En la siguiente tabla se muestra los espesores obtenidos del proceso de evaporación y determinados mediante AFM. El sustrato se ubicó a una distancia de 10 cm de la fuente.

| Elemento utilizado | Masa | Espesor esperado | Espesor obtenido |
|--------------------|-----------|------------------|------------------|
| Cr | 2,2 mg | 2,45 nm | 7 nm |
| Ag | 26,40 mg | 20 nm | 24 nm |
| Ag | 52,80 mg | 40 nm | 44 nm |
| Ag | 66 mg | 50 nm | 48 nm |
| Ag | 105,42 mg | 80 nm | 70 nm |

Tabla 1 Espesores obtenidos en el proceso de evaporación a vacío y determinados mediante AFM.

4.2. Montaje experimental SPR inicial

Para establecer un sistema SPR bajo la configuración Kretschmann se necesita una fuente de radiación, un prisma, una película metálica con espesor aproximado a los 47 nm (en caso de usar plata como metal y una longitud de onda de 750 nm) un polarizador para que la radiación que llegue a la película a través del prisma sea p-polarizada y un dispositivo que permita detectar el mínimo de intensidad característico de la resonancia de plasmón superficial. Se procedió a disponer todos estos componentes bajo la configuración Kretschmann para conseguir un sistema que de una respuesta a la resonancia plasmónica superficial. Se empleó un láser como fuente de radiación y una cámara ccd para la detección de la señal SPR, esta permitirá modular variaciones en la intensidad del haz reflejado, producidas por el fenómeno de resonancia. El prisma unido a la placa portaobjetos mediante aceite de inmersión se colocó dentro de una pieza a la que posteriormente se inserta la celda de flujo y se ajusta el sistema con un tornillo. El sistema Prisma-Película-Celda de flujo se coloca sobre una base giratoria, de esta manera los cambios de ángulo de incidencia del haz se obtenían al rotar la base del prisma. También se puede variar la posición de la cámara, haciendo que la imagen del haz reflejado en una pantalla blanca incida sobre el área de captura de la misma.

4.3. Señal de reflectividad SPR en Aire

En la figura 4.4 se muestran las imágenes de reflectividad que se obtienen para diferentes polarizaciones de la radiación incidente. La figura 4.4 (a) muestra el perfil de reflectividad sin estar ajustado a la condición de incidencia transversal magnética respecto a los ejes elegidos y la figura 4.4 (b) muestra el perfil ajustado a la condición transversal magnética. La divergencia introducida por el vidrio esmerilado al haz de He-Ne, luego de que este último ha atravesado el polarizador, causa para el caso de la exigencia TM que ciertos rayos cumplan con la excitación del SPP, es decir, incidencia a un ángulo crítico resonante; y otros rayos no. De manera que se obtendrá

una franja oscura para los rayos que satisfagan la condición de excitación del SPP, y los lóbulos laterales para los rayos que no cumplen la condición de excitación, tal como se aprecia en la figura 4.4 b).

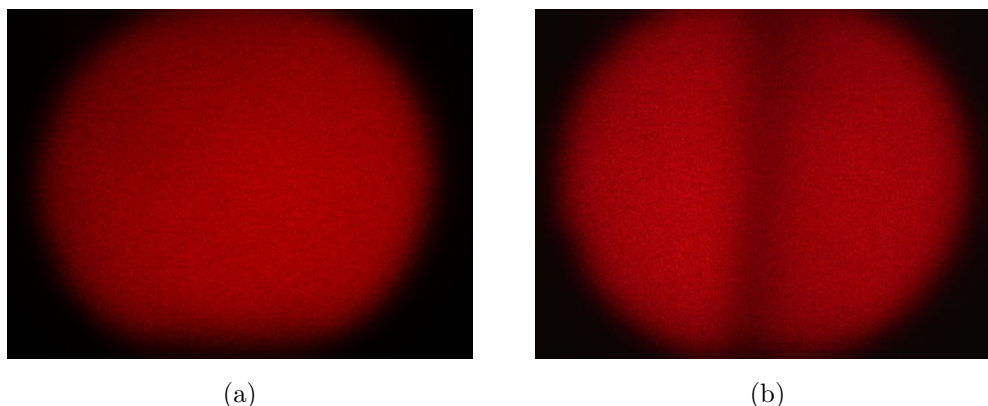


Figura 4.4: Señal de reflectividad SPR en Aire. a) sin ajustar a la condición TM. b) ajustado a la condición TM.

A partir de las imágenes mostradas en la figura 4.4 y de los datos obtenidos hasta ahora, se infiere que el comportamiento mostrado por el arreglo experimental, coincide con los resultados teóricos del fenómeno de resonancia plasmónica.

4.4. Señal de reflectividad SPR en Agua

La figura 4.5 muestra las imágenes de reflectividad SPR para dos medios diferentes, aire y agua. En el caso del aire el mínimo característico de la SPR se observa claramente, en caso de emplear agua el mínimo de la SPR no es evidente.

El índice de refracción de la sustancia que se utiliza para acoplar el sustrato de vidrio al prisma es una variable muy importante que se debe tomar en cuenta a la hora de optimizar el biosensor. En este proyecto, al no disponer de aceite de inmersión de buena calidad, se utilizó un aceite comercial (Melody) para realizar el acople. El inconveniente de utilizar este tipo de aceite comercial es que no se logra un óptimo acoplamiento entre el sustrato y el prisma.

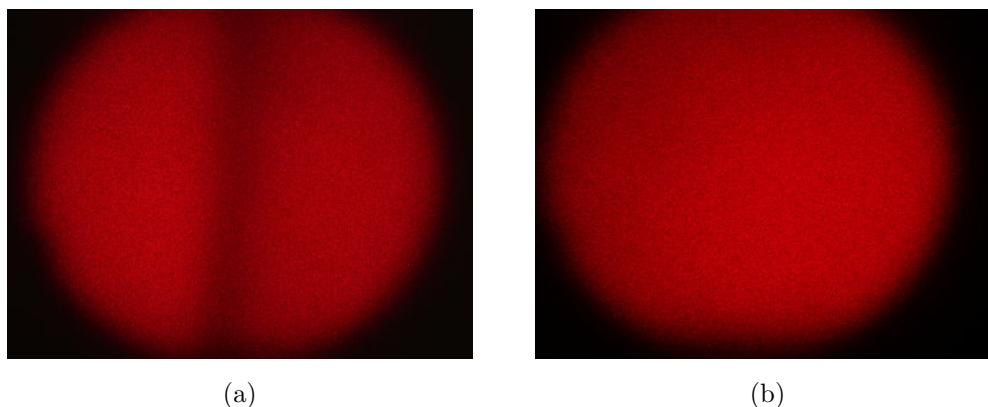


Figura 4.5: Señal de reflectividad SPR a) Aire. b) Agua.

En la interfaz formada por el prisma y el aceite de inmersión una parte de la luz es reflejada y otra parte es transmitida. La luz transmitida lograra excitar la onda de plasmón superficial cuando cumpla las condiciones de excitación. En caso de usar agua como medio dieléctrico, según la ecuación 2.3 con n_p el índice de refracción del aceite de inmersión, la resonancia se produce a un ángulo $\theta_i = 73,49^\circ$

Si ahora calculamos el ángulo crítico para la luz que pasa del medio prisma a medio aceite de inmersión:

$$\theta_c = \text{Sin}^{-1}\left(\frac{n_p}{n_A}\right) \quad (4.1)$$

$$\theta_c = 74,98^\circ \quad (4.2)$$

Esto demuestra que el ángulo de resonancia para el medio agua esta muy cerca del ángulo crítico de la luz atravesando la interfaz Prisma-Aceite de inmersión. A medida que aumenta el ángulo de incidencia, aumenta también la intensidad del rayo reflejado y el rayo transmitido se va debilitando. Cuando se alcanza el ángulo de resonancia para el agua la mayor parte de la luz se estará reflejando en la interfaz Prisma-Aceite de inmersión, ocultando el mínimo de intensidad de la SPR.

4.5. Optimización del arreglo SPR inicial

Una vez puesto en funcionamiento el montaje experimental, se encontraron algunas limitaciones que impedían obtener un óptimo funcionamiento del mismo, a continuación se presentan algunas de estas limitaciones y las medidas que se adoptaron para resolverlas.

Tras las dificultades para observar la señal de resonancia plasmónica en medios líquidos, se decidió sustituir la celda de flujo por una celda capaz de retener los vapores de diferentes sustancias químicas. Se utilizaron sustancias apolares para evitar la pronta oxidación de la plata. Los vapores utilizados generan pequeños cambios en el índice de refracción dando como resultado un ligero corrimiento del mínimo de reflectancia observado con medio aire. El nuevo sistema prisma-celda se colocó sobre una Cápsula de Petri dentro de la cual se colocaba la sustancia química que desprendía los vapores que saturaban la celda.

Para no tener que hacer variaciones en el ángulo de incidencia hasta encontrar el mínimo que genera la resonancia plasmónica se colocó un elemento óptico que se encarga de introducir una pequeña dispersión en el haz de luz de manera de aumentar el área de iluminación sobre un vidrio esmerilado, unido a una de las caras del prisma, que se encarga de introducir una dispersión aún mayor con el fin de que la radiación incida simultáneamente con varios ángulos. Se decidió también agregar un filtro para evitar la saturación de luz, un diafragma que se encarga de disminuir la luz parásita diferente al haz de iluminación y un sistema de espejos para orientar el haz y reducir el área de trabajo.

4.6. Señal de reflectividad SPR para películas Cr/Ag

Se evaluó la sensibilidad del sistema SPR para películas de plata con diferentes espesores adheridas al sustrato de vidrio por una capa de Cr de aproximadamente 7 nm de espesor.

La figura 4.6 muestra los perfiles de reflectividad obtenidos. Claramente se puede observar el cambio en la intensidad de la luz reflejada cuando se utilizan películas de plata con diferentes espesores. Para la película de 70 nm ya no se puede apreciar a simple vista el mínimo de intensidad ya que el espesor es mucho mayor al espesor óptimo de manera que la película actúa como un espejo reflejando la mayor parte de la radiación incidente. Cuando se está más cerca del espesor óptimo, como sucede con la película de 48 nm, el fenómeno de resonancia se hace más evidente.

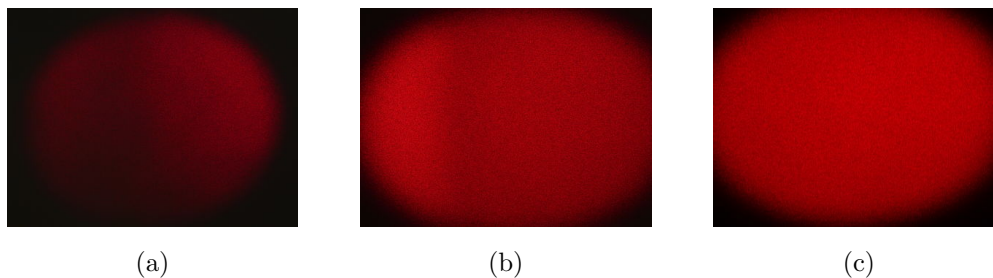


Figura 4.6: Imágenes de reflectividad para películas de Cr/Ag con diferentes espesores de la película de plata. (a) 24 nm de espesor. (b) 48 nm de espesor. (c) 70 nm de espesor.

Por otro lado, los resultados muestran que la presencia de la capa intermedia de Cr afecta negativamente la sensibilidad del sistema SPR ya que refleja gran parte de la radiación incidente.

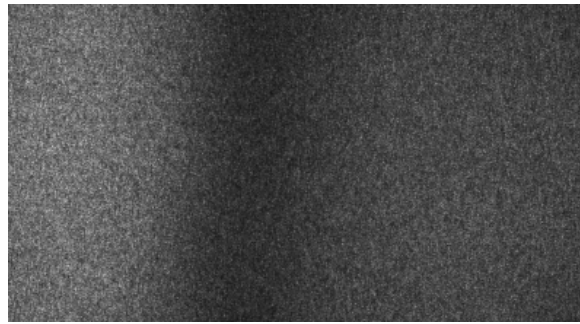
Posterior a estas mediciones, las películas de plata se prepararon directamente sobre sustratos de vidrio limpiados cuidadosamente con solución piraña, debido a que la señal SPR es más intensa sin la presencia de la capa de Cr.

4.7. Señal de reflectividad SPR para medios con diferentes índices de refracción

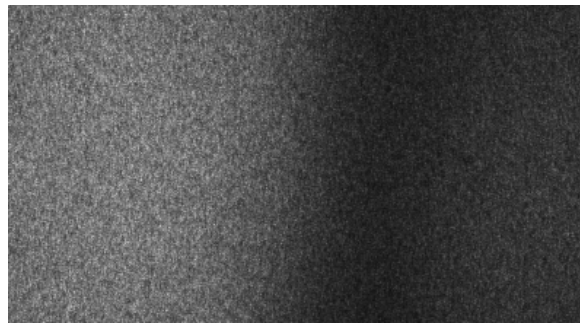
Se evaluó el sistema SPR ante pequeños cambios en el índice de refracción generados por sustancias apolares en estado gaseoso como Etanol, Acetato de Etilo, Acetonitrilo y Alcohol Propílico. Las figura 4.7-4.10 muestran las imágenes de reflectividad procesadas con Matlab que se obtienen del sistema SPR, así como también los perfiles de reflectividad obtenidos a partir de las imágenes. En las imágenes y en los perfiles de reflectividad se puede apreciar claramente el corrimiento respecto al mínimo de intensidad que se genera para el Aire, que ocurre cuando se produce un cambio en el índice de refracción del medio dieléctrico.

Los resultados demuestran la propiedad de decaimiento abrupto que experimentan los plasmones al ser excitados y como variaciones de apenas milésimas en el índice de refracción de los medios presentes en la excitación, introducen fuertes cambios en la constante de propagación del SPP, lo cual implica que la constante de propagación de los SPP es sensible a sutiles variaciones del índice de refracción del aire.

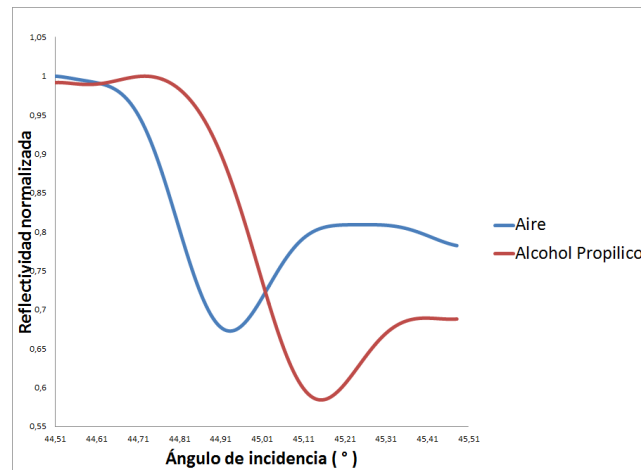
A partir de los datos obtenidos es posible determinar el índice de refracción de los medios que generan los cambios. El sistema rotatorio que permite determinar el ángulo de entrada a la configuración Kretschmann tiene apreciación de 1° lo que supone un error muy grande. Esto impide obtener de forma precisa el ángulo resonante para el aire, el cuál utilizamos para obtener el ángulo resonante de las otras sustancia. A pesar de ser cambios muy pequeños en el índice de refracción, el sistema SPR construido es tan sensible que es capaz de detectar estos pequeños cambios en el índice de refracción.



(a)



(b)



(c)

Figura 4.7: Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando alcohol propílico como medio dieléctrico. c) Perfil de reflectividad SPR obtenido a partir de las imágenes.

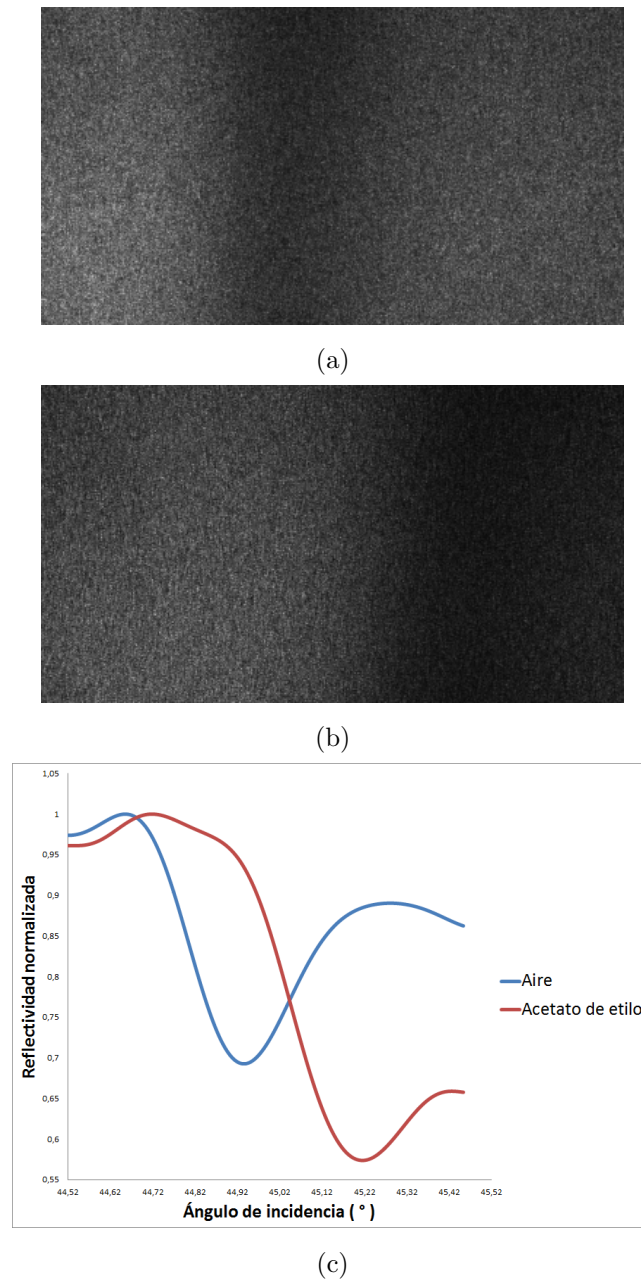
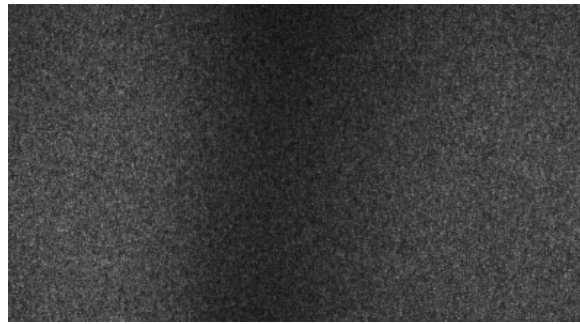
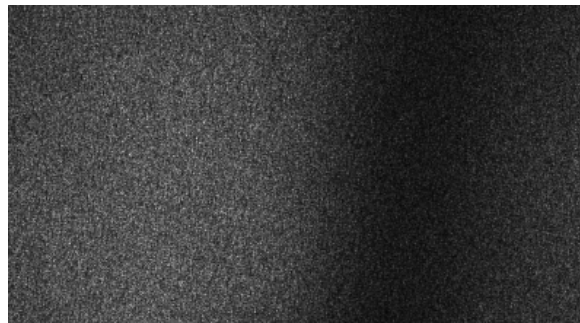


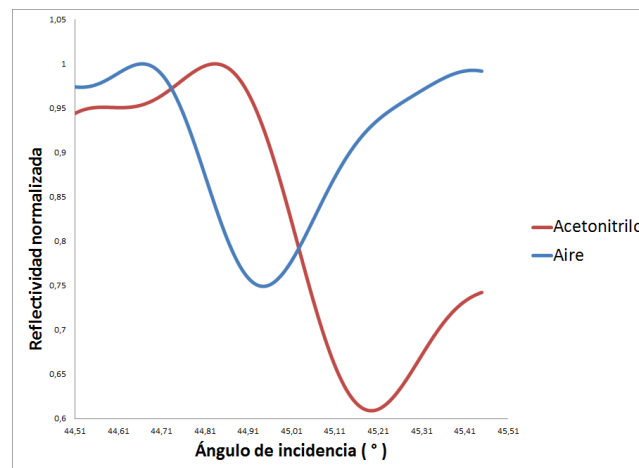
Figura 4.8: Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando acetato de etilo como medio dieléctrico. c) Perfil de reflectividad SPR obtenido a partir de las imágenes.



(a)

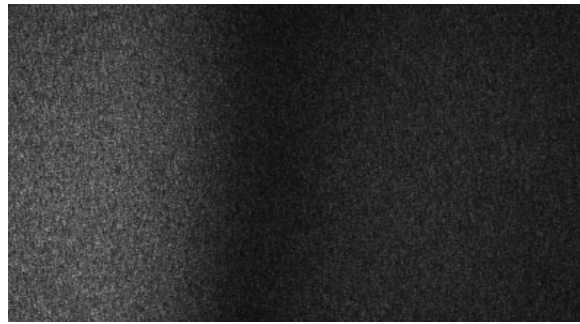


(b)

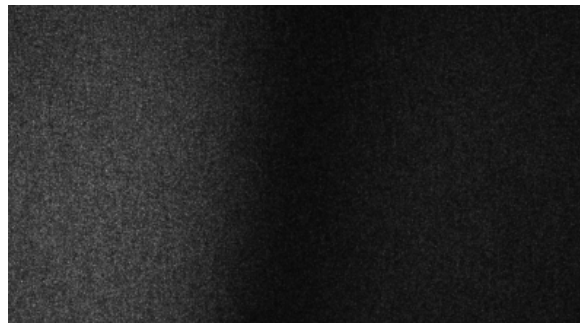


(c)

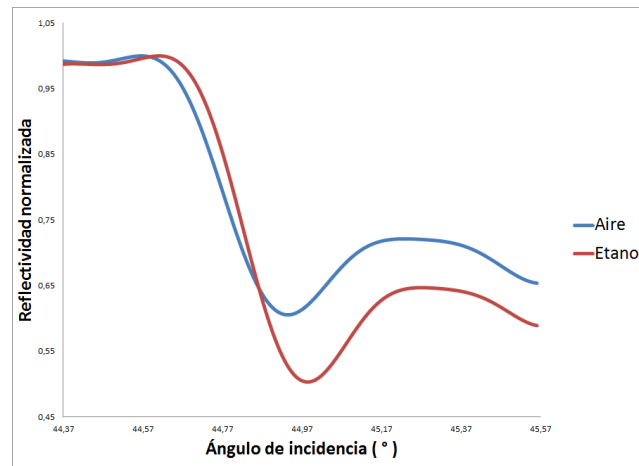
Figura 4.9: Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando acetonitrilo como medio dieléctrico. c) Perfil de reflectividad SPR obtenido a partir de las imágenes.



(a)



(b)



(c)

Figura 4.10: Imágenes SPR procesadas con Matlab a) usando aire como medio dieléctrico b) usando etanol como medio dieléctrico. c) Perfil de reflectividad SPR obtenido a partir de las imágenes.

La figura 4.11 muestran las imágenes originales de reflectividad SPR obtenidas con el arreglo experimental.

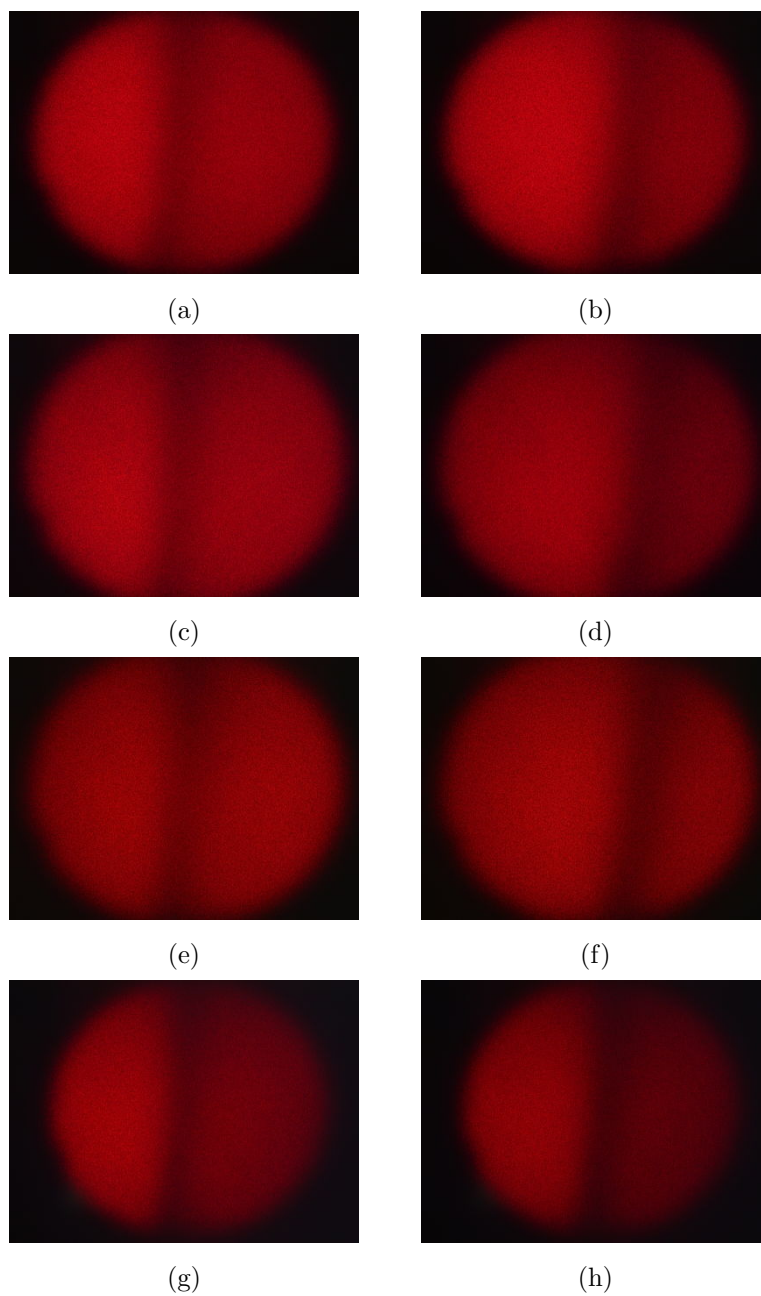


Figura 4.11: Imágenes de reflectividad SPR obtenidas de arreglo experimental a) y b) Aire - Alcohol propílico. c) y d) Aire - Acetato de etilo. e) y f) Aire - Acetonitrilo. g) y h) Aire - Eanol.

4.8. Caracterización de sustancias químicas para el sensor SPR construido

Para el sistema SPR construido el ángulo resonante para cada una de las sustancias estudiadas es único. En base a esto, podemos caracterizar cada una de estas sustancias en un gráfico que permita luego identificarlas.

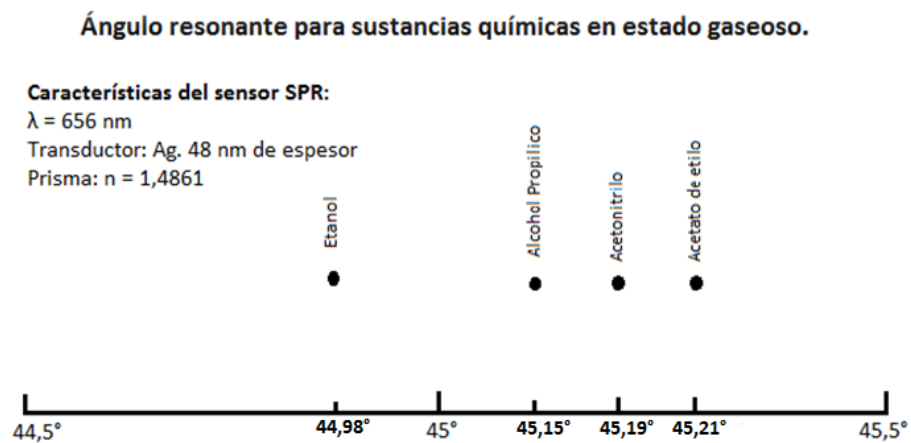


Figura 4.12: Caracterización de las sustancias químicas en estado gaseoso estudiadas.

5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El sistema SPR construido empleando una película de plata como transductor plasmónico responde a resonancia plasmónica.
- Se puede construir un sistema de detección SPR bajo configuración Kretschmann que permita la observación global del fenómeno SPR utilizando la intensidad de la luz reflejada como variable para evidenciar el acoplamiento de ondas que generan al SPP.
- La sensibilidad del sensor se ve afectada por el espesor de la estructura plasmónica empleada como transductor. Los mejores resultados se obtuvieron para espesores de la película de plata en torno a los 48 nm para una longitud de onda de 656nm.
- El sistema SPR construido es sensible a leves cambios en el índice de refracción del medio dieléctrico en contacto con la película metálica. Esto lo hace útil para identificar sustancias en estado gaseoso.

- Se elaboraron películas de espesor nanométrico mediante la técnica de evaporación al vacío. Se obtuvieron espesores en el rango de 7 a 70 nanómetros.

5.2. Recomendaciones

- Para mejorar la sensibilidad SPR se recomienda utilizar un aceite de inmersión cuyo índice de refracción se aproxime al índice de refracción del prisma utilizado en la configuración Kretschmann.
- Se recomienda construir una celda de flujo para gases que permita realizar mediciones rápidas y reproducibles de la intensidad del haz reflejado.
- Para determinar con buena precisión el índice de refracción de los medios dieléctricos en contacto con la película metálica es necesario contar con un sistema que permita medir ángulos muy pequeños, del orden de miligrados o menos, para determinar con buena precisión la posición del mínimo de reflectancia.
- El espesor de la película metálica debe ser aquel que corresponda al espesor óptimo, es decir, aquel en el que se maximiza la transferencia de energía entre la luz incidente y el plasmón superficial. En caso de emplear plata como metal, según [36] se recomienda un espesor en torno a los 47 nm para una longitud de onda de 750 nm .

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Fan X, White I. M, Shopova S. I, Zhu H, Suter J. D, Sun Y, (2008) Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: A review, *Analytica Chimica Acta* 620, 8-26.
- [2] Mullet W, Lai E. P. C, Yeung J. M, (1998) *Analytical Biochemistry* 258: 161-167.
- [3] Suzuki M, Ozawa F, Sugimoto W, Aso S, (2002) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 372:301-304.
- [4] Wood R. W,(1902) On a Remarkable Case of Uneven Distribution of Light in a Diffraction Grating Spectrum, *Proc. Phys. Soc. London* 18, 269-275.
- [5] Rayleigh L, (1907) On the Dynamical Theory of Gratings”, *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 79, 399-416.
- [6] Fano U, (1941) The Theory of Anomalous Diffraction Gratings and of Quasi-Stationary Waves on Metallic Surfaces (Sommerfelds Waves), *J. Opt. Soc. Am.* 31, 213-222.
- [7] Ritchie R. H,(1957) Plasmon Losses by Fast Electrons in Thin Films, *Phys, Rev.* 106, 874.

- [8] Ritchie R. H, Arakawa E. T, Cowan J. J, Hamm R. N, (1968) Surface-Plasmon Resonance Effect in Grating Diffraction, *Phys. Rev. Lett.* 21, 1530.
- [9] Otto A, (1968) Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection, *Z. Physik* 216, 318-410.
- [10] Kretschmann E, (1968) Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light, *Z. Naturforsch* 23A. 2135-2136.
- [11] Maier S. A, (2007) *Plasmonics: Fundamentals and applications*, Springer, New York.
- [12] Regatos Gómez, David. (2012) *BIOSENSORES ÓPTICOS DE ALTA SENSIBILIDAD BASADOS EN TÉCNICAS DE MODULACIÓN PLASMÓNICA*, Universidad de Santiago de Compostela.
URL: dspace.usc.es/bitstream/10347/5134/1/REP_219.pdf
- [13] Novotny L, and Hecht B, (2006) *Principles of nano-optics*, Cambridge University Press.
- [14] Sagale L. B, Ruvuna L. B, Ruemmele J. A, Van Duyne R. P, (2011) Advances in localized surface plasmon resonance spectroscopy biosensing, *Nanomedicine* **6**(8), 1477-1462 .
- [15] Ashcroft N, Mermin D, (1976) *Solid state physics*, 2nd ed., Saunders College Publishing, Orlando.
- [16] Cheng D, (1983) *Field and wave electromagnetics*, 2nd ed, Addison-Wesley Publishing Company, California.
- [17] Acevedo Cáceres, Cristian Hernando. (2009) *ANÁLISIS TEÓRICO-EXPERIMENTAL DE UN PLASMON SUPERFICIAL*, Universidad Industrial de Santander.
URL: repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/303/2/132266.pdf.

- [18] Homola J. (2006) Surface Plasmon Resonance Based Sensors, Springer, Berlin.
- [19] Leidberg B, Nylander C, Lundström I, (1995) Biosensor and Bioelectronic, 10:i-ix.
- [20] Sambles J. R, Brandbery G. W, and Yang F, (1991) Optical excitation of surface plasmons: An introduction, Contemporary physics 32, 173-183.
- [21] Park S, Lee G, Song S. H, oh C. H, and Kim P. S, (2003) Resonant coupling of surface plasmons to radiation modes by use of dielectric gratings, Opt Lett. 28, 1870-1872.
- [22] Bielefeldt H, Novotny L, Inouye Y, Pohl D, and Hecht, (1996) Local Excitation, Scattering, Interference of Surface Plasmons, Physical Review Letters 77, 1889-1892.
- [23] Otto A, (1968) Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection, Z. Physik 216. 398-410.
- [24] Kretschmann E, (1968) Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light, Z. Naturforsch 23A, 2135-2136.
- [25] Blonder B, (2005) Sensing Applications of Surface Plasmon Resonance.
URL: http://www.eduprograms.deas.harvard.edu/reu05_papers/Blonder_Benjamin.pdf.
- [26] Yamamoto M, (2005) Surface Plasmon Resonance (SPR) theory: Tutorial. Web site: www.scl.kyoto-u.ac.jp/~masahiro/sprtheory.pdf.
- [27] Reséndiz González M. C, Castellón-Uribe J. (2005) Microscopio de Fuerza Atómica, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- [28] Spangler B.D., Wilkinson E. A, Murphy J. T, Tyler B. J, (2001) Analytica Chimica Acta 444: 149-161.
- [29] Homola J, Dostálek J, Chen S, Rasooly A, Jiang S, Yee Sinclair S, (2002) International Journal of Food Microbiology 75:61-69.
- [30] Mullett W. M, Lai E.P.C, Yeung J. M, (2000) Methods 22: 77-9.

- [31] Cooper M. A, (2003) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 377:834-842.
- [32] Kao L. C, (2005) Improving the sensitivity of biosensor by use of the Ag and SiO₂, 60370W-60370W-8, SPIE[doi:10.1117/12.637735]
- [33] Wang L, Sun Y, Wang J, Zhu X, Jia F, Cao Y, Wang X, Zhang H, and Song D, (2009) Sensitivity enhancement of SPR biosensor with silver mirror reaction on the Ag/Au film, *Talanta* 78, 265-269.
- [34] Homola J, (2003) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 377:528-539.
- [35] Chien F. C, Chen S. J, (2004) *Biosensors and Bioelectronics* 20:633-642.
- [36] Lecaruyer P, Canva M, and Rolland J, (2007) Metallic film optimization in a surface plasmon resonance biosensor by the extended Rouard method, Vol. 46, No. 12, 2361-2369.
- [37] Homola J, Yee S. S, Gauglitz G. (1999) *Sensors Actuators B*, 54:3-15.
- [38] Gorton L, (2005) *Biosensors and modern biospecific analytical techniques*, Elsevier.
- [39] Cooper M. A, (2009) *Label-Free Biosensors: Techniques and Applications*, 1st ed., Cambridge University Press.
- [40] Weber W.H, (1977) Modulated Surface-Plasmon Resonance In Situ Metal-Film Surface Studies, *Phys. Rev. Lett.* 39, 153.
- [41] Gordon II J. G, Ernst S, (1980) Surface Plasmons as a probe of the electrochemical interface, *Surface Science* 101, 499-506.
- [42] Liedberg B, Nylander C, Lunström I, (1983) Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing, *Sensors and Actuators* 4, 299-304.
- [43] Nylander C, Liedberg B, Lind T, (1982) Gas detection by means of surface plasmon resonance, *Sensors and Actuators* 3, 79-88.

- [44] Yu Q, Chen S, Taylor A. D, Homola J, Hack B, Jiang S, (2005) Sensors and Actuators B: 107:193-201.
- [45] Necas D, Klapetek P, Gwyddion 2.40 [Software], <http://gwyddion.net/>