



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Trabajo de Tesis Doctoral

Construcción y propiedades de sistemas moleculares
ensamblados sobre superficies lisas, nanoestructuradas y
nanopartículas.

Emiliano Cortés

María Elena Vela
Alejandro Fainstein, Roberto C. Salvarezza

2013

El presente trabajo de Tesis se realizó bajo la dirección de la Dra. María Elena Vela y la co-dirección del Dr. Alejandro Fainstein y el Dr. Roberto C. Salvarezza en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), perteneciente a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). El mismo se presenta a consideración de las autoridades de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP para acceder al título de Doctor.

La Plata, Febrero de 2013

Lic. Emiliano Cortés
e-mail: emilianocll@gmail.com

*A mis padres,
a Fede y a Eva*

Resumen

El presente trabajo de Tesis abarca la construcción y estudio de propiedades fisicoquímicas de distintas plataformas con potenciales aplicaciones a sistemas de sensado. Sustratos metálicos de distinta dimensionalidad (3D, 2D, 0D) en conjunto con sistemas moleculares (quimisorbidos o fisisorbidos) acoplados a métodos de detección (ópticos y/o eléctricos) constituyen la base estructural de este trabajo.

A lo largo de numerosos ejemplos, que van desde autoensamblados moleculares hasta moléculas individuales, estudiaremos la interacción molécula-superficie para cada uno de los casos con la intención de comprender, desde un punto de vista microscópico, distintos fenómenos que ocurren en dichas interfaces. En todos estos casos demostramos como el estudio en la nanoescala de distintas problemáticas interfaciales permite optimizar y potenciar distintas plataformas y/o mecanismos de sensado.

Los resultados presentados en este trabajo de Tesis Doctoral contribuyen a la comprensión de fenómenos moleculares, plasmónicos y electroquímicos para el desarrollo de nuevos métodos de detección ultrasensible de moléculas.

Abstract

This Ph.D. thesis is aimed to study the construction and physicochemical properties of different platforms that can be potentially used as sensing systems. Metal substrates of different dimensionality (3D, 2D, 0D) together with molecular systems (chemisorbed or physisorbed) coupled to detection methods (optical and/or electrical) are the structural basis of this work.

Through numerous examples - ranging from molecular self-assembled to individual molecules - we are going to study the molecule-surface interaction in an attempt to understand, from a microscopic point of view, different phenomena occurring at these interfaces. In all these cases, we demonstrated how the nanoscale approaches to different interfacial problems can optimize and enhance multiple platforms and/or sensing mechanisms.

The results presented in the present work contributes to a better understanding of molecular, plasmonic and electrochemical phenomena in order to develop new methods for ultrasensitive detection of molecules.

Índice General

Resumen	I
Abstract	III
Índice General	V
1. Introducción	1
2. Caracterización de Superficies y Ensamblados Moleculares	5
2.1. Microscopía de efecto túnel (STM)	5
2.2. Arreglo experimental utilizado en las medidas de STM	8
2.3. Espectroscopía de fotoelectrones por rayos X (XPS)	9
2.4. Arreglo experimental utilizado en las medidas de XPS	11
2.5. Teoría del funcional de densidad (DFT)	12
2.6. Detalles del cálculo computacional	13
2.7. Materiales	14
2.8. Referencias	14
3. Detección Ultrasensible de Moléculas: Espectroscopías Ópticas y Electroquímica	17
3.1. Procesos de interacción de la luz con moléculas	17
3.2. Dispersión inelástica de la luz al interactuar con moléculas: efecto Raman	18
3.3. Efecto Raman resonante	20
3.4. Resonancia de plasmones superficiales	21
3.5. Polaritones plasmónicos superficiales propagantes (PPSP) o localizados (PPSL)	21
3.6. Espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS)	24
3.7. Arreglos experimentales utilizados en las medidas SERS	26
3.8. Introducción a los procesos electroquímicos	27
3.9. Celda electroquímica y procesos redox	28
3.10. Voltamperometría cíclica	30
3.11. Arreglos experimentales utilizados en las medidas electroquímicas	32
3.12. Referencias	33

4. Monocapas autoensambladas de tioles sobre Au: estabilidad y naturaleza de la interfaz Au-S	35
4.1. SAMs de alcanotioles sobre Au: ¿Qué sabemos sobre su formación, estabilidad y mecanismos de degradación?	35
4.2. SAMs en sustratos planos y nanoestructurados	38
4.3. Estabilidad de SAMs en función del tiempo	40
4.4. Cálculos teóricos sobre la estabilidad de SAMs en superficies ordenadas y desordenadas	43
4.5. Química de superficie en SAMs de tioles aromáticos: tiolatos, disulfuros y sulfuros	45
4.6. SAMs de 4-mercaptopiridina en Au(111). ¿Cuál es el rol del solvente en la formación de las SAMs y que especies están presentes en la interfaz de este sistema?	47
4.7. Posibles mecanismos de degradación: en superficie y en solución	55
4.8. Conclusiones	62
4.9. Referencias	64
5. Monocapas autoensambladas de tioles sobre Au: fuerzas de Van der Waals y grupo terminal	71
5.1. Agregados J y H de cianinas en solución. Propiedades fisicoquímicas y aplicaciones del sistema	71
5.2. Autoensamblado de la nueva CNN tiolada sobre superficies de Au(111)	75
5.3. Autoensamblado de CNNs tioladas en nanopartículas de Au (AuNPs)	82
5.4. Formación de SAMs mixtas sobre Au(111): HT y CNN	84
5.5. El rol del grupo terminal de las SAMs: anclaje y liberación de cationes metálicos en SAMs de tioles aromáticos y alifáticos sobre Au	86
5.6. Inmovilización de complejos binucleares de Cu(II) mediante grupos terminales donores (N y O) de SAMs de tioles aromáticos y alifáticos sobre Au	88
5.7. Influencia de la SAM (aromática o alifática) y el grupo donador (N o O) en los procesos de transferencia de carga e inmovilización del complejo AcCu	96
5.8. Orientación espacial de las especies de AcCu inmovilizadas sobre las SAMs: construcción de estructuras supramoleculares	97
5.9. SAMs de tioles sobre Au nanoestructurado: adsorción específica de AcCu	100
5.10. Localización espacial mediante espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS) de AcCu sobre SAMs mixtas en Au nanoestructurado	102
5.11. Liberación controlada electroquímicamente de especies de Cu	104
5.12. Conclusiones	105
5.14. Referencias	107
6. Plataformas Plasmónicas Bimetálicas	115
6.1. Sustratos plasmónicos ordenados: nanocavidades metálicas	115
6.2. Fabricación de nanocavidades de Au y posterior electrodeposición ultradelgado de Ag	120
6.3. Respuesta plasmónica de los sustratos bimetalicos	125
6.4. Ensamblado de SAMs de PyS sobre sustratos bimetalicos	128
6.5. Respuesta SERS de los sustratos bimetalicos	129
6.6. Desacoplamiento de los efectos electromagnético y “químico” en SERS	132
6.7. Efecto “químico” en SERS: ¿Qué sucede a nivel microscópico?	134

6.8.	Cálculos teóricos de la respuesta SERS: evaluación de los parámetros del modelo de Persson para el efecto “químico”	137
6.9.	Conclusiones	144
6.10.	Referencias	145

Parte II – Moléculas Fisisorbidas

7.	Modulación electroquímica en SERS	151
7.1.	Electroquímica y SERS: antecedentes	151
7.2.	Electroquímica y respuesta SERS en función del estado de oxidación de las especies utilizadas. Preparación de las muestras	153
7.3.	Análisis de componentes principales (PCA) y transformada de Fourier (FFT)	158
7.4.	Modulación electroquímica en SERS. Caso a) NB y RH6G	159
7.5.	Modulación electroquímica en SERS. Caso b) NB y CV	163
7.6.	Conclusiones	166
7.7.	Referencias	166
8.	Moléculas Individuales: SERS y electroquímica	171
8.1.	Moléculas únicas	171
8.2.	Detección de moléculas individuales por SERS	172
8.3.	Combinación de electroquímica y SERS a nivel de moléculas individuales	175
8.4.	Conformación molécula-sustrato y su relación con el potencial redox	182
8.5.	Conclusiones	189
8.6.	Referencias	191
9.	Conclusiones Generales	195
	Publicaciones asociadas a esta Tesis	199
A.	Funciones dieléctricas de Au y Ag	201
B.	Análisis de componentes principales (PCA) y sus modificaciones	203
	Agradecimientos	209

Capítulo 1

Introducción

Desde una visión simplificada podríamos pensar la composición de un sensor químico como una plataforma sobre la que se soporta un elemento de reconocimiento que genera una señal medible (eléctrica, óptica, mecánica, térmica, etc.) sensible al analito que se desea detectar. En muchos casos el elemento básico del sensor es un sustrato metálico al cual se une el elemento de reconocimiento que consiste en capas moleculares de diverso grado de complejidad química y estructural. La construcción de la plataforma puede abordarse desde la química supramolecular dejando que las moléculas se “autoensamblen” lo que permite construir sistemas moleculares de alta complejidad en forma relativamente sencilla (estrategia bottom-up). Por lo tanto para la preparación de estas estructuras es necesario un conocimiento detallado de las distintas fuerzas intermoleculares (van der Waals, puente de hidrógeno, π - π , etc.) que gobiernan el autoensamblado y estabilizan la capa de reconocimiento y de aquellas que operan entre las moléculas y el sustrato que dan estabilidad a toda la estructura (quimisorción, fisisorción). Entre las capas moleculares podemos distinguir entre multicapas (polímeros, hidrogeles) y monocapas. Mientras que las primeras son más robustas y más resistentes a la degradación, las monocapas permiten el control espacial del dispositivo de reconocimiento con precisión de unos pocos átomos lo cual las hacen más atractivas desde el punto de vista de la nanotecnología.

En la presente Tesis Doctoral abordamos la preparación de plataformas de sensado óptico y electroquímico de moléculas utilizando capas moleculares quimisorbidas o fisisorbidas sobre distintos tipos de sustratos metálicos nanoestructurados: 2D (planos), 3D (irregulares, ordenados), 0D (nanopartículas), cuya preparación o síntesis hemos desarrollado en este trabajo. Estudiaremos

así distintas problemáticas relacionadas a la interfaz metal-molécula para cada uno de estos sistemas.

Comenzaremos describiendo en el *Capítulo 2* los métodos de caracterización de superficies y ensamblados moleculares. El *Capítulo 3* abarca específicamente los métodos de detección de señales ópticas y eléctricas utilizados en esta Tesis. En particular, los procesos de interacción de la luz con moléculas y espectroscopias ópticas y los métodos electroquímicos.

Los capítulos siguientes constituyen la presentación y discusión de los resultados experimentales, divididos en dos grandes partes.

La primera parte (*Capítulos 4, 5 y 6*) aborda la problemática de moléculas quimisorbidas (monocapas autoensambladas - SAMs) sobre sustratos metálicos lisos, nanoestructurados y nanopartículas. Las SAMs de tioles en superficies metálicas constituyen los sistemas más estudiados ya que se preparan en forma sencilla ya sea desde fase líquida o gaseosa. Estas monocapas presentan un alto grado de orden y cubrimiento del sustrato, además de espesor y propiedades químicas fácilmente controlables. Las moléculas de tiol se unen covalentemente al sustrato metálico mediante el átomo de azufre generando una unión tiolato que permite anclar firmemente la molécula al sustrato. La cadena hidrocarbonada de longitud variable permite controlar el espesor con precisión de unos pocos átomos y confiere una estructura rígida estabilizada por fuerzas de van der Waals entre las cadenas adyacentes. El grupo terminal de la cadena puede ser fácilmente modificado otorgando así distintas propiedades químicas a la superficie o bien ser utilizado para unir otras moléculas o biomoléculas mediante uniones covalentes o fuerzas de van der Waals, puentes de hidrógeno, etc. De esta forma, las SAMs constituyen un sistema modelo para la construcción de los sistemas de reconocimiento de distintos tipos de sensores. El enlace tiolato es además el camino habitual para enlazar firmemente las moléculas a una gran variedad de sustratos metálicos. Sin embargo, sus aplicaciones deben contemplar un estudio detallado de la estabilidad química, electroquímica y/o térmica que presentan estos sistemas.

El *Capítulo 4* de esta Tesis aborda aspectos relacionados al mecanismo de autoensamblado y degradación de las SAMs: naturaleza química y estabilidad de la interfaz metal-molécula. Varios aspectos fueron estudiados con el fin de buscar nuevas estrategias que permitan lograr la aplicación del enlace tiolato como anclaje de los elementos de reconocimiento de sensores y biosensores. Específicamente, se estudió la estabilidad de la plataforma tiol-metal (para tioles alifáticos y aromáticos y metales 0D, 2D y 3D) en función de la curvatura de la superficie metálica y el tipo de solvente en el cuál se encuentra inmersa la misma. Se encontró que la generación de especies disulfuros resulta el principal camino de degradación el cuál puede bloquearse mediante la nanoestructuración de la superficie y/o la elección de un buen solvente donde fabricar y conservar las SAMs.

Otros aspectos relevantes en la generación de sistemas moleculares autoensamblados son estudiados en el *Capítulo 5*. La influencia de las fuerzas de Van der Waals entre las cadenas hidrocarbonadas vecinas en las SAMs son un paso fundamental para determinar el tipo de estructuras formadas sobre la superficie. Adicionalmente, la modificación del grupo terminal de la molécula ensamblada le otorga a la plataforma metálica distintas propiedades de acuerdo a la necesidad de cada sensor. En particular, estudiamos el autoensamblado bidimensional de agregados fluorescentes cuyas propiedades ópticas dependen del tipo de estructuras formadas durante la quimisorción y donde las fuerzas de Van der Waals predominan sobre la formación del enlace tiolato. En el segundo caso, estudiamos la habilidad de distintos grupos funcionales para coordinar cationes metálicos y generar estructuras complejas en tres dimensiones sobre la plataforma metálica acoplando la detección electroquímica de los mismos.

El *Capítulo 6* está orientado a la búsqueda de nuevas plataformas de detección basadas en la generación de señales ópticas (específicamente Raman) de analitos problema y que posibiliten una mayor sensibilidad y especificidad para sensores y biosensores. Para esto se desarrollaron nuevos sistemas nanoestructurados ordenados tridimensionales (nanocavidades bimetalicas) utilizando técnicas de autoensamblado y generando sustratos con mejores propiedades plasmónicas. Además de mejorar notablemente los niveles de detección alcanzados por dichas plataformas mediante la incorporación de un segundo metal, hemos logrado interpretar nuestros resultados a nivel molecular mediante el uso de cálculos teóricos.

La segunda parte de la presentación y discusión de los resultados experimentales de esta Tesis (*Capítulos 7 y 8*) está centrada en el estudio de moléculas fisisorbidas sobre nanopartículas metálicas. Como principal diferencia con la primera parte podría establecerse que estos sistemas carecen del elemento de reconocimiento que son quienes le otorgan especificidad al sensor. Sin embargo, existen técnicas como la espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS) que es intrínsecamente específica y que es capaz de alcanzar niveles de detección de moléculas individuales fisisorbidas; el límite máximo de detección analíticamente posible. Es así como esta segunda parte aborda la detección de moléculas desde otro punto de vista: especificidad con bajos niveles de detección sin necesidad de elementos de reconocimiento. En particular mediante combinación de señales ópticas y eléctricas: SERS y electroquímica.

El *Capítulo 7* introduce la generación de un nuevo método de detección basado en la modulación electroquímica de la señal Raman, lo que permite desacoplar señales de matrices complejas mediante fluctuaciones controladas del espectro. La combinación de ambas técnicas logra resolver así uno de los mayores problemas de los métodos espectroscópicos: la congestión espectral. Mediante esta nueva técnica es posible discriminar y separar las señales (Raman, en este caso) de los distintos analitos de la muestra sin necesidad de procesos de derivatización, elementos de reconocimiento, etc.

Por último, el *Capítulo 8* presenta la combinación de electroquímica y SERS a nivel de moléculas individuales. La principal ventaja y fin último del estudio de moléculas únicas reside en desacoplar la respuesta de un ensamble de moléculas de lo que ocurre con cada una de ellas, en forma individual, de manera tal de acceder a información sobre su entorno, conformación, interacciones, respuesta a estímulos, etc. Por primera vez fue posible combinar la detección de moléculas individuales por SERS con otra técnica experimental: la electroquímica; lo que permitió monitorear la transferencia de carga de una única molécula en conjunto con su espectro Raman. A partir del análisis de los resultados es posible demostrar la naturaleza estocástica del potencial redox al nivel de moléculas individuales y de qué manera la contribución de un gran número de eventos confluye en el carácter determinístico del potencial de un ensamble de moléculas. Además fue posible observar distintas conformaciones molécula-sustrato y vincular dichos resultados con el potencial redox individual.

Finalmente se presentan las Conclusiones Generales (*Capítulo 9*), los Apéndices y los agradecimientos.

Los estudios realizados en el presente trabajo de Tesis Doctoral contribuyen a la comprensión de fenómenos moleculares, plasmónicos y electroquímicos para el desarrollo de nuevos métodos de detección ultrasensible de moléculas.

Capítulo 2

Caracterización de superficies y ensamblados moleculares

Tal como hemos descrito en el Capítulo 1, a lo largo de este trabajo de Tesis utilizaremos distintos sistemas (superficies y moléculas) con potenciales aplicaciones en sensores para estudiar diversos fenómenos interfaciales. Para facilitar la lectura y comprensión de cada sistema en particular, en los Capítulos de resultados se describe la preparación de cada uno de ellos y en estos primeros dos Capítulos se detallan los métodos y técnicas de caracterización, detección y análisis utilizados en esta Tesis que son comunes a todos ellos.

Brindaremos a continuación brevemente los fundamentos de los métodos de caracterización utilizados como así también los arreglos experimentales de los mismos.

2.1 Microscopía de efecto túnel (STM).

Las microscopías por barrido de sondas comprenden una gran familia de técnicas que permiten, entre otras cosas, generar una imagen topográfica (3D, x-y-z) con resolución atómica de la superficie a través del control preciso de la posición de una punta delgada que interacciona con la superficie. Una de estas técnicas es la microscopía de efecto túnel (STM, scanning tunneling microscopy), la cual hemos utilizado para caracterizar algunos de los sistemas estudiados.¹⁻⁴

Si se aproxima una punta metálica aguda a una distancia de unos pocos Ångstroms de una superficie conductora o semiconductor se produce un solapamiento de sus funciones de onda (Figura 2.1a y b). Desde un abordaje clásico, si las mismas están separadas por un medio aislante (vacío, aire, etc.) la conducción entre ellas está prohibida. El efecto túnel, en el que se basa el

funcionamiento del STM, es un fenómeno nanoscópico que sólo se puede explicar a través de la mecánica cuántica. De esta forma, al describir a los electrones como una nube de probabilidad (y no como una partícula con posición precisa) es posible lograr que la nube se desplace de modo de superar la barrera de potencial permitiendo el pasaje del electrón entre dos zonas permitidas a través una zona “prohibida”, generando así una intensidad eléctrica.

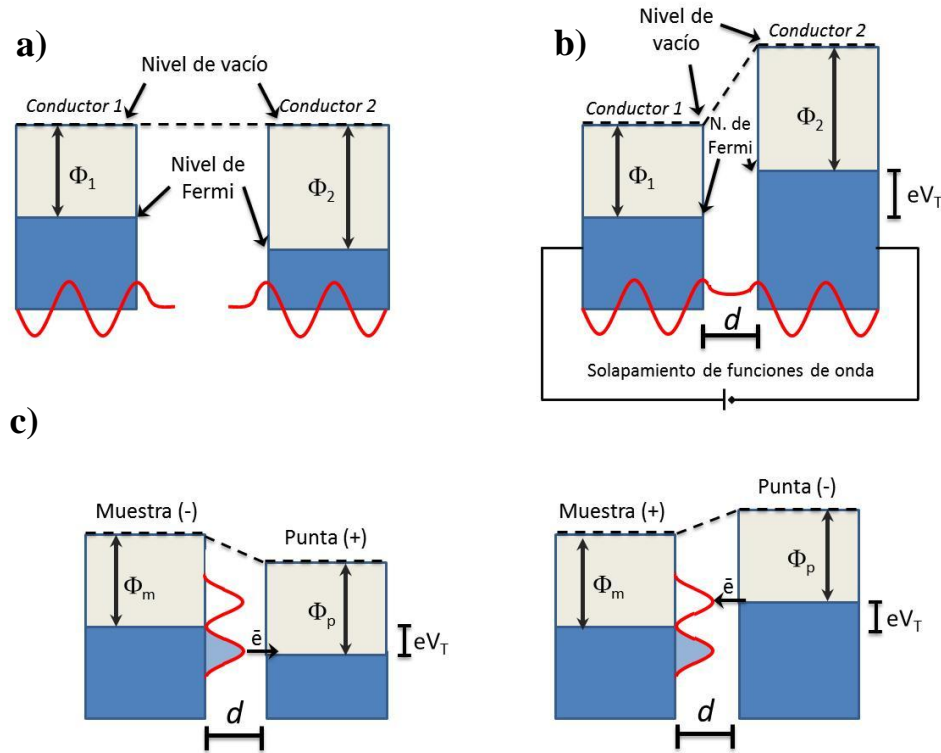


Figura 2.1. Esquema de dos conductores a) separados por una barrera de vacío y b) a una distancia d que permite el solapamiento de funciones de onda. c) Diagrama de energías (simplificado) del mecanismo túnel entre una punta metálica y una muestra aplicando distintos potenciales V_T .⁵

Si aplicamos un potencial entre ambos conductores fluye una corriente túnel desde los estados electrónicos cercanos al nivel de Fermi de un conductor hacia los estados desocupados del otro conductor. Esta corriente decae exponencialmente con la distancia de separación entre ambos conductores de acuerdo a:

$$I_T \propto \frac{V_T}{d} e^{-\beta d \sqrt{\Phi}} \quad (1)$$

donde I_T es la corriente túnel, d la separación entre la punta y la muestra, V_T el potencial aplicado entre ambas, Φ representa la barrera local de potencial y β es una constante.² Este decaimiento exponencial con la distancia da origen a la gran resolución de la técnica: si d disminuye en 1\AA , para $\Phi \approx 4\text{eV}$ la corriente túnel aumenta en un orden de magnitud.

Según el signo de potencial V_T aplicado, la corriente puede ir de la punta a la muestra o viceversa (Figura 2.1c). Como la punta en general está conectada a tierra, cuando V_T es positivo los electrones van desde los estados ocupados de la punta (cargada negativamente) a los estados desocupados de la muestra (positiva). Por el contrario, si V_T es negativo los electrones circulan desde los estados ocupados de la muestra (negativa) a los estados desocupados de la punta (positiva). En el caso de una muestra metálica, como las estudiadas en este trabajo, la polaridad (signo de V_T) y sentido del flujo de electrones no afecta a la corriente túnel y por ende tampoco a las imágenes obtenidas. En el caso de semiconductores o en presencia de adsorbatos, los niveles son distintos y las imágenes muestran mayor dependencia con la polaridad y magnitud de V_T . Es así como un error común es el de relacionar directamente la imagen de STM con las propiedades de la superficie cuando lo que se mide en realidad es la convolución de la densidad de estados entre la muestra y la punta.

De acuerdo a lo que hemos descripto hasta aquí, hay dos factores que resultan esenciales en las medidas de STM: por un lado un control preciso de la distancia entre la punta y la muestra y por otro lado la geometría y naturaleza química de la punta. En el caso de las puntas, en general se preparan a partir de alambres de de Au, Pt, Pt/Ir o Rh/Ir por métodos electroquímicos o por corte mecánico. La sección de la punta que participa del “efecto túnel” está formada por los últimos átomos que componen la misma (Figura 2.2).

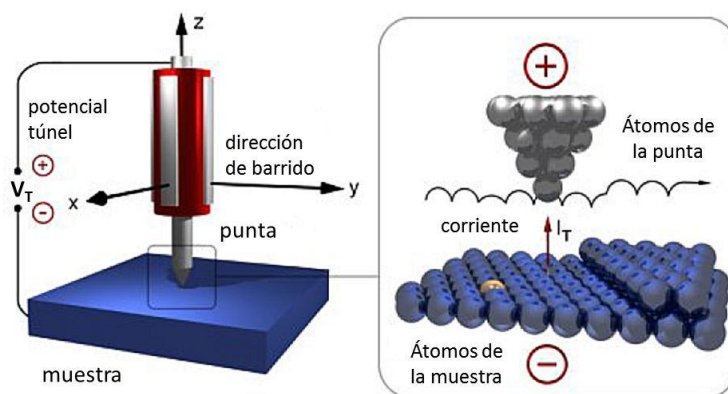


Figura 2.2. Interacción entre los átomos de la punta y de la muestra.

Estas puntas son colocadas luego sobre un soporte (portapuntas) solidario al scanner. Este último está construido con material piezoeléctrico el cual se deforma por la aplicación de una diferencia de potencial debido a un desbalance de carga en la red cristalina del material que genera un estrés mecánico. De esta forma, los potenciales aplicados son regidos por la unidad de control del microscopio y las posiciones vertical (z) y lateral (x - y) de la punta relativas a la muestra están controladas por dichos transductores piezoeléctricos.

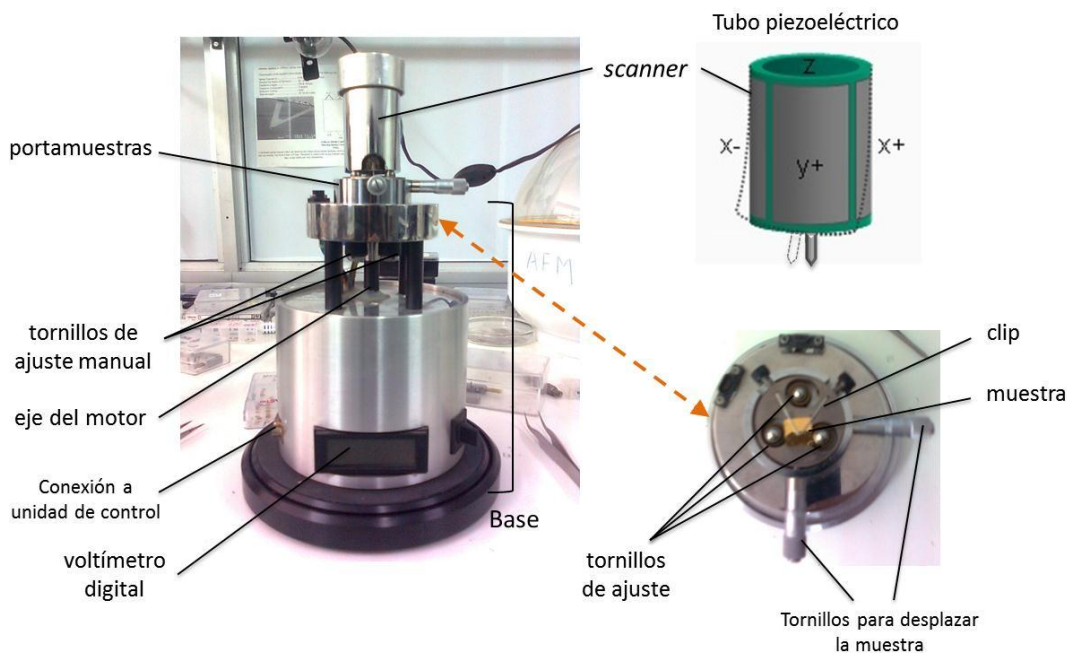


Figura 2.3. Vista lateral del STM modelo Nanoscope IIIa de Digital Instruments Inc. Se muestra un esquema del tubo piezoeléctrico del *scanner* y una vista superior del portamuestras.

En la operación del STM, las dos variables más influyentes son el potencial (V_T) y la corriente (I_T) túnel, las cuales se ajustan según los estados y niveles electrónicos de la muestra. Los valores de V_T típicamente varían entre 0,001 y 5 V mientras que los valores de I_T se fijan entre 0,05 y 40 nA. El STM puede ser operado en dos modalidades: corriente constante o altura constante. En nuestro caso utilizamos en todos los casos el modo de corriente constante en el cual mientras la punta barre la superficie un sistema de retroalimentación modifica la elongación del piezoeléctrico a través de la señal eléctrica aplicada manteniendo la corriente túnel constante.

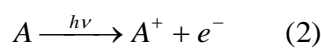
2.2 Arreglo experimental utilizado en las medidas de STM.

En las medidas que se presentan a lo largo de este trabajo de Tesis se empleó un microscopio Nanoscope IIIa de Digital Instruments Inc. (Santa Barbara, California) en el modo corriente constante. En general se utilizó el *scanner* D, que permite barrer en campos de hasta 12 μm y el *scanner* A, cuyo tamaño máximo de campo es de 929 nm, para medidas de resolución atómica y molecular. En todos los casos se emplearon puntas de Pt/Ir también de Digital Instruments, recién cortadas o re-utilizadas luego de limpiarlas bajo una corriente de N_2 . Las muestras analizadas mediante esta técnica consistieron en sustratos de oro modificados y las condiciones de medida fueron: I_T entre 500-900 pA y V_T entre 300-500 mV. Todas las imágenes se tomaron ex situ y se analizaron y procesaron mediante el programa proporcionado por los fabricantes del microscopio (versión 5.30).

2.3 Espectroscopía de fotoelectrones por rayos X (XPS).

El proceso básico de interés en la espectroscopía de fotoelectrones por rayos X es la absorción de un cuanto de energía ($h\nu$) con la consecuente eyección de un electrón, conocido como fotoelectrón, cuya energía cinética (referida a un cero de energía apropiado) está relacionada a la energía de ligadura del electrón al átomo blanco (efecto fotoeléctrico). En este proceso, el fotón incidente transfiere su energía por completo al electrón unido y se logra la identificación del elemento por la medida de la energía de los electrones que se desprenden de la muestra. Básicamente, en la región de rayos X (de 0.1 KeV a 0.1 MeV) los fotones tienen energía suficiente para interactuar con los electrones de la estructura interna de los átomos y detectar así con mucha sensibilidad distintos estados químicos de los elementos, a excepción del hidrógeno y el helio. No ocurre lo mismo con, por ejemplo, los fotones con energías en el rango del espectro UV-visible los cuales interactúan con los electrones más externos que están involucrados en las uniones químicas y no en la estructura electrónica interna de cada átomo en particular. Por este motivo estos últimos carecen de utilidad para la identificación elemental.⁶⁻⁹

Cuando un fotón de suficiente energía colisiona contra un electrón de un nivel electrónico interno produce un electrón libre que es eyectado en un proceso conocido como fotoemisión:



De acuerdo al principio de conservación de la energía:

$$E(A) + h\nu = E(A^+) + E(e^-) \quad (3)$$

como la energía del electrón eyectado es únicamente cinética, la ecuación 3 se puede reescribir de acuerdo a:

$$E_C(e^-) = h\nu - [E(A^+) - E(A)] \quad (4)$$

El término entre corchetes representa la diferencia de energía entre el átomo ionizado y neutro y se denomina energía de ligadura del electrón, E_B , que conduce a la ecuación de Einstein para el efecto fotoeléctrico:

$$E_C = h\nu - E_B \quad (5)$$

De acuerdo a la ecuación 5, conociendo la energía de la fuente de rayos X, es posible determinar la E_B a partir de E_C de los electrones. Para ello, es necesario contar con una fuente de radiación (en lo posible monocromática), un detector de electrones y una cámara de ultra alto vacío (Figura 2.4). La energía de los fotoelectrones se determina por la deflexión en un campo electrostático o magnético. El sistema de detección se basa en la ganancia provista por los

multiplicadores electrónicos (*channeltron*). Este tipo de amplificador consiste en un tubo de alta resistividad con una abertura cónica, donde los electrones incidentes golpean las paredes del tubo creando una lluvia de electrones secundarios los cuales generan una ganancia de $\sim 10^8$.

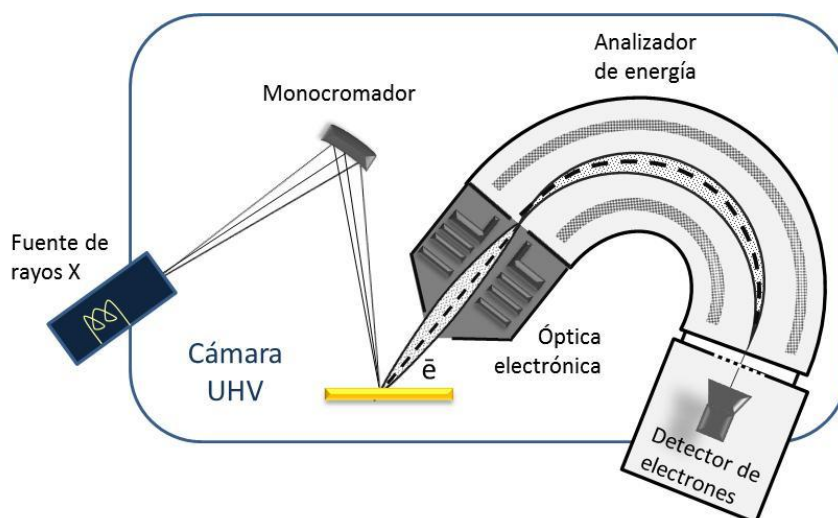


Figura 2.4. Esquema de funcionamiento del XPS.

Por lo general, es conveniente que la muestra esté en contacto eléctrico con el espectrómetro y por ende que sea conductora, de manera de evitar que la muestra se cargue (por la emisión de electrones) respecto del espectrómetro y genere en la superficie de la muestra un campo eléctrico retardador. La profundidad de análisis (penetración de los rayos X) en materiales sólidos depende de su naturaleza y es del orden de $\sim 10\text{-}20$ nm, y el tamaño mínimo de área examinada de unos $30\mu\text{m}\times 30\mu\text{m}$. Las medidas comienzan adquiriendo un espectro en una amplia región de energías (*survey*) en el cual se observan una serie de picos de fotoelectrones que reflejan las E_B discretas de los electrones presentes en el sólido (todos los fotoelectrones emitidos por los elementos presentes en la muestra cuya E_B sea menor a la energía de la fuente de rayos X). Estos picos pueden dividirse en tres grupos: los picos de fotoemisión de niveles internos (descritos anteriormente y de interés en las medidas de XPS), los correspondientes a niveles de valencia y aquellos debidos a emisión de tipo Auger. Los picos de valencia aparecen a bajas energías de unión ($0 - 20$ eV) formando una estructura de banda. Por otro lado, después de la emisión de un electrón interno, como por ejemplo los 1s de la capa K, queda un hueco en la estructura. El hueco puede ser llenado por un electrón de la capa L, por ejemplo, el cual genera (al ocupar el hueco) la emisión de un segundo fotoelectrón. Este proceso denominado Auger constituye la desexcitación dominante en elementos livianos ($Z < 35$). Los picos Auger se pueden identificar fácilmente ya que no dependen de la fuente de radiación empleada.

Para la cuantificación de elementos a través de los espectros de XPS es necesario tener en cuenta una serie de factores.¹⁰ En primer lugar, las intensidades de los picos de los diferentes

niveles energéticos (para un mismo átomo) no son iguales, debido a que la probabilidad de fotoeyección desde cada orbital (llamada sección transversal de fotoionización, σ) es diferente. Por ejemplo, para un átomo de P, utilizando una fuente de rayos X de Mg K α , la sección transversal para el nivel 2s ($\sigma_{P_{2s}}$) es mayor que $\sigma_{P_{2p}}$, por lo que el pico de XPS del P 2s es mayor que el P 2p. Por otro lado, y a excepción de los subniveles s, los otros subniveles aparecen como dobletes como consecuencia del acoplamiento spin-orbital ($j-j$) y la diferencia de energía entre los dos estados.⁶⁻⁷ Cuando existe interferencia por distintas contribuciones de picos en una misma señal, se debe hacer un ajuste adecuado mediante un modelo típicamente creado por medio de curvas Gaussianas/Lorentzianas (deconvolución).

En función de lo descrito hasta aquí podemos resumir que: el número de picos en el espectro corresponde al número de niveles de energía ocupados en los átomos cuyas E_B son menores que la energía de los rayos X; la posición de los picos mide directamente las E_B de los electrones en los orbitales e identifica los átomos en cuestión; las intensidades de los picos dependen básicamente del número de átomos presentes y del valor de σ para el orbital considerado. Todos estos puntos dependen de la consideración de que los electrones se comportan como partículas independientes, es decir, los niveles de energía de uno de ellos no es afectado por los otros electrones internos “pasivos” (no foto-eyectados).

Por último, es importante mencionar que la energía de ligadura exacta para un electrón en un elemento depende del entorno químico en el que se encuentra dicho elemento, lo que se denomina generalmente “corrimiento químico” (por analogía a la técnica de resonancia magnética nuclear, RMN). En los niveles internos, la energía del electrón que será eyectado está determinada por las interacciones coulómbicas con otros electrones y por el potencial de atracción del núcleo. Cualquier cambio en el entorno químico involucra una redistribución espacial en los electrones de valencia produciendo una variación en la carga del átomo y la creación de un potencial diferente, que será percibido por los electrones internos, lo cual resulta en un cambio en sus E_B . Este hecho es quizás el más relevante en las aplicaciones de XPS como técnica analítica, ya que de este modo se pueden detectar distintos estados de oxidación.⁶⁻⁷

2.4 Arreglo experimental utilizado en las medidas de XPS.

En las medidas correspondientes a este trabajo de Tesis, se utiliza una cámara de ultra alto vacío (UHV) con presiones del orden de 10^{-10} torr para disminuir la cantidad de contaminantes superficiales y asegurar a los electrones eyectados un camino libre medio lo suficientemente grande como para que lleguen al analizador sin chocar con otras moléculas. Dichos valores de presión se alcanzan con una serie de bombas de prevacío (rotatorias de aceite) y de vacío (difusoras y turbomoleculares). Además, se calienta la cámara para evacuar los gases adsorbidos

en un proceso conocido como horneado. Las muestras se colocan en un portamuestras de material inerte y se introducen en la cámara a través de un manipulador.

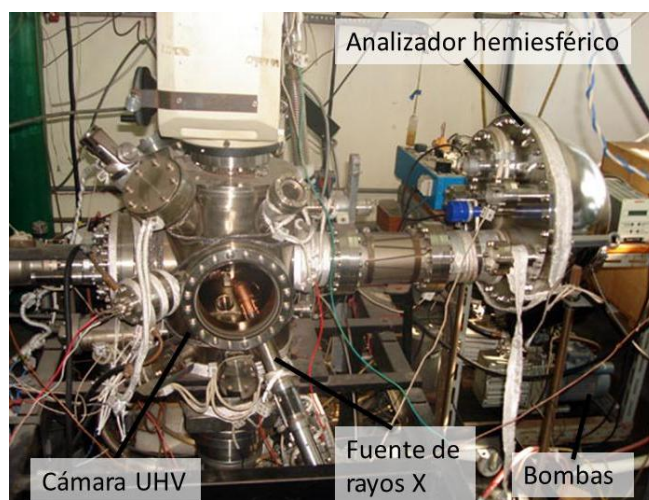


Figura 2.5. Componentes del equipo de XPS utilizado en este trabajo de Tesis.⁵

La fuente de rayos X proviene del bombardeo con electrones a blancos de Mg o Al (XR50, SpecsGmbH). La energía de los rayos X (blandos) emitidos es del orden de 1 keV (para Mg $K\alpha$ es 1253,6 eV con un ancho de banda de 0,7 eV y para Al $K\alpha$ es 1486,6 eV con un ancho de banda de 0,85 eV). La medida de la energía de los electrones eyectados se realizó mediante el análisis de su deflexión en un campo electrostático. El analizador hemiesférico (PHOIBOS 100, SpecsGmbH) aplica un potencial a través de dos sectores concéntricos y los electrones pasan sin cambio de energía a lo largo de líneas equipotenciales. Como sistema de detección se empleó un multiplicador de electrones *channeltron*. La calibración de la escala de energía se realizó a dos puntos utilizando oro evaporado (E_B Au $4f_{7/2}$ = 84,00eV) y cobre (E_B de Cu $2p_{3/2}$ = 933,67eV) como patrones de referencia. Las medidas de XPS se llevaron a cabo en el INIFTA (Figura 2.5) y estuvieron a cargo del Dr. G. Benitez y el Dr. A. Rubert.

2.5 Teoría del funcional de densidad (DFT).

La teoría de los funcionales de la densidad electrónica (DFT) tiene como objetivo calcular de estructura electrónica de átomos y moléculas a partir de una aproximación (teorema de Hohenberg-Khon) que implica conocer la densidad electrónica del estado fundamental [$\rho(r)$]. A partir de aquí es posible calcular la energía total del sistema como así también todas sus propiedades moleculares.¹⁰

Un funcional es una regla que asocia un número a una función, así por ejemplo, el funcional de energía en DFT está dado por:

$$E[\rho(r)] = \int v(r) \rho(r) dr + F[\rho(r)] \quad (6)$$

donde $v(r)$ $\rho(r)$ hace referencia a la interacción de los electrones con un campo externo (como por ejemplo el que generan los núcleos de los átomos) y $F[\rho(r)]$ es la suma de la energía cinética de los electrones y las interacciones electrónicas. Este último término, según la aproximación de Kohn-Sham, puede ser expresado como la suma de tres términos:

$$F[\rho(r)] = E_K[\rho(r)] + E_H[\rho(r)] + E_{xc}[\rho(r)] \quad (7)$$

donde $E_K[\rho(r)]$ es un funcional de la energía cinética de los electrones que no interactúan, $E_H[\rho(r)]$ es el funcional de energía de interacción electrónica y $E_{xc}[\rho(r)]$ es el funcional que da cuenta de la energía de correlación e intercambio. A partir de aquí es posible obtener una expresión para el funcional de la energía total para un sistema de n electrones, adicionando además la interacción electrón-núcleo:

$$E[\rho(r)] = -\sum_I Z_I \int \frac{\rho(r)}{|r_1 - R_I|} dr_1 - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \langle \psi_i | \nabla^2 | \psi_i \rangle + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1) - \rho(r_2)}{|r_1 - r_2|} dr_1 dr_2 + E_{xc}[\rho(r)] \quad (8)$$

A partir de aquí es posible determinar $E[\rho(r)]$ mediante el teorema variacional de Hohenberg-Khon, que permite obtener la energía del estado fundamental variando $\rho(r)$, y mediante la minimización de la energía de los orbitales ψ_i de Khon-Sham. Un análisis detallado de este procedimiento puede encontrarse en la bibliografía.¹¹

2.6 Detalles del cálculo computacional.

Los cálculos DFT de adsorción de tioles sobre Au fueron realizados con el código VASP.¹²⁻¹⁴ En todos los casos las superficies fueron modeladas como superceldas periódicas bidimensionales con 5 capas atómicas de Au (separadas por 0.1 nm de vacío), permitiendo la relajación de las 3 más externas, como así también de las coordenadas atómicas de las moléculas adsorbidas. Tanto la energía total como la geometría optimizada para cada caso fue obtenida utilizando la implementación de Perdew-Wang (PW91)¹⁵ de la aproximación de gradiente generalizado (GGA) para el potencial de correlación de intercambio. El efecto de los electrones internos sobre la densidad electrónica de valencia fue descripto utilizando el método de ondas planas PAW.¹⁶ Las funciones de onda de un electrón fueron expandidas en un conjunto de base con un corte de 420

eV para la energía cinética. El muestreo de la zona de Brillouin fue realizado de acuerdo al esquema de Monkhorst-Pack¹⁴ con una grilla de puntos k de (3 x 3 x 1), (3 x 9 x 1) y (9 x 9 x 1), dependiendo de la celda unidad utilizada. La minimización de energía (relajación de la densidad electrónica) para una configuración nuclear dada fue realizada utilizando un esquema de iteración de Davinson-Bloch. La tolerancia utilizada para definir la autoconsistencia fue de 1×10^{-5} eV para la energía total y 1×10^{-4} eV para la optimización de la energía. Las correcciones de dispersión a largo alcance fueron abordadas mediante la aproximación de Grimme (DFT-D2)¹⁷ implementadas al código VASP. Los cálculos realizados a lo largo de este trabajo de Tesis fueron realizados por la Dra. Pilar Carro, de la Universidad de La Laguna, Tenerife, España. En el caso particular del Capítulo 6 participaron además los Dres. Alexander Hernández-Nieves, Gonzalo Usaj y Carlos Balseiro del Instituto Balseiro, Centro Atómico Bariloche, Bariloche, Argentina. En este último caso se utilizó el código Quantum Espresso para el cálculo de fonones fijos.¹⁸

2.7 Materiales.

Tal como describimos al comenzar este Capítulo, a lo largo de este trabajo de Tesis hemos utilizado varios sistemas (superficies y moléculas) en el estudio de distintos fenómenos de interfases con potenciales aplicaciones a sistemas de sensado. Por este motivo, para facilitar la lectura y comprensión, los detalles experimentales sobre la construcción de los mismos será abordada en cada Capítulo en particular.

En líneas generales, todos los tioles y colorantes se utilizaron tal como fueron recibidos (Sigma-Aldrich), sin tratamientos posteriores, a excepción de la cianina tiolada del Capítulo 5 que fue sintetizada por G. Menéndez, Facultad de Cs. Exactas, UBA. Los solventes en todos los casos fueron de grado analítico. Los sustratos planos de Au con orientación preferencial (111) fueron adquiridos comercialmente (Arrandees, Alemania). Las láminas de Au fueron adquiridas comercialmente en Johnson-Matthey. El acetato de cobre utilizado fue adquirido en Merck Co. La solución de esferas de látex para la fabricación de las nanocavidades fue adquirida comercialmente a Duke Scientific Corporation y el posterior electrodeposición de Au se realizó a partir de un baño comercial TG-25 RTU de Technic Inc. Los electrodeposiciones de Ag fueron realizados a partir de una solución de Ag_2SO_4 (Sigma-Aldrich).

2.8 Referencias.

- [1] Adamson, A. W., *Physical chemistry of surfaces* fifth ed.; John Wiley & Sons: New York, 1990.
- [2] Wiesendanger, R.; Gütherodt, H.-J., *Scanning Tunneling Microscopy I*. 2nd ed.; Springer-Verlag: Berlin, 1994.

- [3] Magonov, S. N.; Whangbo, M.-H., *Surface Analysis with STM and AFM: Experimental and Theoretical Aspects of Image Analysis*. VCH Publisers Inc.: Weinheim 1996.
- [4] Bonnell, D., *Probe Microscopy and Spectroscopy: Theory, Techniques and Applications*. JohnWiley&Sons: NewYork, 2000.
- [5] Daza Millone, M. A. Monocapas Autoensambladas de Alcanotioles y α,ω -alcanoditioles sobre Oro: Adsorción no específica de Moléculas Bioactivas, Biomoléculas y Vesículas. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, 2011.
- [6] Feldman, L. C.; Mayer, J. W., *Fundamentals of surface and thin film analysis*. Nort Holland: New York, 1986.
- [7] Briggs, D.; Seah, M. P., *Practical Surface Analysis: Auger and X-ray photoelectron spectroscopy*. Wiley: New York, 1990.
- [8] Fadley, C. S., *Basic concepts of X-ray photoelectron spectroscopy*. In: *Electron spectroscopy : theory, techniques and applications, vol 2*. Academic Press: London, 1978.
- [9] Hufner, S., *Photoelectron Spectroscopy: Principles and Applications*. Springer: Berlin, 1996.
- [10] Corthey, G. Estudio de interfases metal-tiol en superficies planas y nanopartículas. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, 2012.
- [11] Levine, I. N., *Química Cuántica*. Pearson Educación: Madrid, 2001.
- [12] Kresse, G.; Furthmüller, J., Efficiency of ab-initio total energy calculations for metals and semiconductors using a plane-wave basis set. *Computational Materials Science* **1996**, 6 (1), 15-50.
- [13] Kresse, G.; Furthmüller, J., Efficient iterative schemes for ab initio total-energy calculations using a plane-wave basis set. *Phys. Rev. B* **1996**, 54 (16), 11169-11186.
- [14] Kresse, G.; Hafner, J., Ab initio molecular dynamics for liquid metals. *Phys. Rev. B* **1993**, 47 (1), 558-561.
- [15] Perdew, J. P.; Wang, Y., Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy. *Phys. Rev. B* **1992**, 45 (23), 13244-13249.
- [16] Blöchl, P. E., Projector augmented-wave method. *Phys. Rev. B* **1994**, 50 (24), 17953-17979.
- [17] Grimme, S., Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction. *J. Comput. Chem.* **2006**, 27 (15), 1787-1799.
- [18] Giannozzi, P.; Baroni, S.; Bonini, N.; Calandra, M.; Car, R.; Cavazzoni, C.; Ceresoli, D.; Chiarotti, G. L.; Cococcioni, M.; Dabo, I.; Corso, A.; de Gironcoli, S.; Fabris, S.; Fratesi, G.; Gebauer, R.; Gerstmann, U.; Gougoussis, C.; Kokalj, A.; Lazzeri, M.; Martin-Samos, L.; Marzari, N.; Mauri, F.; Mazzarello, R.; Paolini, S.; Pasquarello, A.; Paulatto, L.; Sbraccia, C.; Scandolo, S.; Sclauzero, G.; Seitsonen, A. P.; Smogunov, A.; Umari, P.; Wentzcovitch, R. M., QUANTUM ESPRESSO: a modular and open-source software project for quantum simulations of materials. *J. Phys.: Condens. Matter* **2009**, 21 (39), 395502.

Capítulo 3

Detección ultrasensible de moléculas: espectroscopías ópticas y electroquímica

El objetivo del presente Capítulo es presentar de forma sencilla y acotada las bases teóricas de los métodos de detección (ópticos y eléctricos) utilizados a lo largo del presente trabajo de Tesis así como también el arreglo experimental utilizado en cada caso.

3.1 Procesos de interacción de la luz con moléculas.

Cuando un haz de luz incide sobre un material la radiación puede ser reflejada, transmitida, absorbida (y quizás luego emitida) o dispersada. Cada uno de estos procesos da cuenta de una interacción particular de la luz con el material o molécula.

En particular, para el caso de moléculas interactuando con luz, desde un punto de vista descriptivo, dicha interacción puede representarse por el siguiente Hamiltoniano,

$$H = H_R + H_M + H_{R-M} \quad (1)$$

donde H_R representa al Hamiltoniano de la radiación incidente (fotones), H_M a la molécula (vibrones) y H_{R-M} al de la interacción entre ambos.¹ Suponemos que en este último caso la perturbación es pequeña de manera que no se modifican los autoestados de los sistemas por separado y por ende las funciones de onda de los estados resultantes pueden representarse mediante el producto de ambos.

De todos los procesos que pueden acontecer (y ser representados por este Hamiltoniano) nos centraremos en los de dispersión, que son los relacionados a las técnicas de detección utilizadas. De acuerdo al tipo de interacción involucrada la dispersión puede ser dividida entre: elástica o

Rayleigh (en estos procesos la radiación dispersada conserva la misma energía que la incidente) ó inelástica o Raman (donde ocurren procesos de excitaciones elementales, vibraciones moleculares por ejemplo, y por ende la onda dispersada difiere en energía respecto de la incidente).

A continuación profundizaremos el concepto de dispersión inelástica que resulta de particular interés y constituye la base de la espectroscopía Raman, utilizada en este trabajo de Tesis como método de detección de moléculas.

3.2 Dispersión inelástica de la luz al interactuar con moléculas: efecto Raman.

Dentro de las posibles interacciones que pueden dar origen a un proceso de dispersión inelástica (excitaciones acústicas, vibracionales, etc) consideremos el caso de una molécula, que inicialmente se encuentra en un estado vibracional A y que interactúa con una onda plana polarizada de luz incidente (de frecuencia ν_0 e intensidad I) provocando un excitación elemental que genera que la molécula se encuentre ahora en un estado vibracional B, lo que modifica la frecuencia de la luz dispersada (comparada con la incidente), tomando ahora el valor $\nu_{AB} = \nu_0 \pm \nu_M$. Este proceso de interacción entre el fotón y los estados vibracionales moleculares (H_{R-M}) está compuesto por dos instancias: una primera donde el fotón genera una excitación y una segunda donde el fotón es reemitido. De esta forma, es necesario recurrir a una teoría de segundo orden de perturbaciones para describir mediante el Hamiltoniano H_{R-M} este proceso.¹

El proceso descrito es conocido como efecto Raman, el cual tiene lugar cuando la luz que incide sobre la molécula interactúa y distorsiona (polariza) su nube electrónica. Para ello, justamente el fotón excita a la molécula desde su estado basal hasta un estado de energía excitado (Figura 3.1). Cuando la molécula se relaja emite un fotón y regresa a un estado vibracional diferente. La diferencia de energía entre el estado original y el nuevo estado lleva a un corrimiento de la frecuencia del fotón emitido respecto del incidente. Para que esto ocurra, debe existir un movimiento nuclear ya que si sólo interviene una distorsión en la nube electrónica, la dispersión será elástica. De hecho, la dispersión Rayleigh es la dominante mientras que la dispersión Raman involucra sólo 1 de cada 10^6 - 10^8 fotones. Es necesario que haya un cambio en el potencial de polarización molecular (deformación de la nube electrónica) respecto del estado vibracional para que una molécula exhiba el efecto Raman. Así la magnitud del cambio en la polarizabilidad (α) entre los estados inicial y final determinará la intensidad de la dispersión Raman de acuerdo a:

$$P = \sigma S_{inc} \quad (2a)$$

$$\sigma \propto \frac{\omega^4}{16\pi^2(\epsilon_0)^2 c^4} L_M |\alpha|^2 \quad (2b)$$

donde en la ecuación 2a, P es la intensidad asociada al proceso de dispersión, σ es la sección eficaz Raman y S_{inc} es la densidad de potencia del láser incidente. Como vemos en la ecuación 2b, la sección eficaz Raman depende de la polarizabilidad α , la frecuencia de la vibración ω , la constante dieléctrica del medio (incluida dentro del término L_M , la velocidad de la luz y la permitividad del medio (c y ϵ_0)). Usualmente, son las vibraciones simétricas las que causan los mayores cambios y dan mayor dispersión Raman. El patrón de corrimiento de frecuencias está determinado por los estados rotacionales, vibracionales e incluso electrónicos de la muestra.

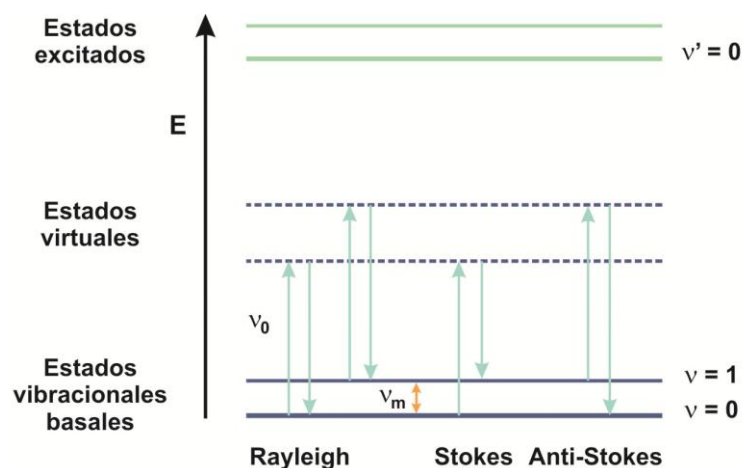


Figura 3.1 Diagramas de Jablonski simplificados ilustrando los procesos de dispersión Rayleigh y Raman (Stokes y Anti-Stokes) para una irradiación con $h\nu_0$.

De acuerdo a la ley de distribución de Maxwell-Boltzmann, a temperatura ambiente, gran parte de la población de moléculas se encuentra en el nivel vibracional de menor energía. Luego de la excitación elemental producto de la interacción con los fotones incidentes, puede ocurrir que el estado vibracional final de la molécula sea más energético que el estado inicial, de esta forma entonces el fotón emitido tendrá una frecuencia menor respecto al incidente, $\nu_{AB} = \nu_0 - \nu_M$ y la energía total del sistema permanecerá así balanceada. Esta situación es conocida como un proceso de tipo Stokes (Figura 3.1). Contrariamente, si el estado vibracional final es de menor energía que el estado inicial, entonces el fotón emitido tendrá una frecuencia mayor respecto del incidente ($\nu_{AB} = \nu_0 + \nu_M$) y el proceso será Anti-Stokes. Debido a que la población de moléculas es mayor en el estado vibracional fundamental ($v = 0$) respecto de los excitados, las líneas Stokes son mucho más intensas que las Anti-Stokes. La dispersión se expresa como corrimiento de energía respecto del laser de excitación y, aunque debería referirse como Δcm^{-1} , se expresa comúnmente como cm^{-1} . De esta forma, la espectroscopía Raman provee información de la estructura química de materiales o moléculas mediante el espectro vibracional de los mismos. Al tratarse de un proceso de dispersión de luz, la muestra se irradia con un laser intenso en la región UV-visible y la luz dispersada se detecta perpendicular (90°) o paralelamente (180°) al haz incidente (detección polarizada).

3.3 Efecto Raman resonante.

Si la energía del estado virtual transitorio coincide con uno de los niveles electrónicos (vibrónicos) verdaderos de la molécula, entonces el fenómeno de dispersión (excitación o posterior emisión) puede ocurrir en resonancia entre dos estados electrónicos de la molécula y el proceso se conoce como Raman *resonante* (Figura 3.2). De acuerdo a la ecuación de Herzberg-Teller para el tensor de polarizabilidad en un proceso resonante el fotón incidente o el emitido pueden tener la misma energía que la transición electrónica y de esta forma ambas posibilidades (resonancia *incoming* o *outgoing*, Figura 3.2a y b respectivamente) pueden contribuir a este tipo de procesos.^{1,2} Este efecto es particularmente intenso en moléculas cuyas energías electrónicas son cercanas a la energía del laser de excitación (por lo general, en la región UV-visible del espectro electromagnético). De esta forma, por ejemplo, los colorantes (rodamina, cristal violeta, azul del Nilo, etc.) pueden exhibir intensidades Raman 10^6 veces mayores respecto de las intensidades normalmente registradas para otras sustancias.

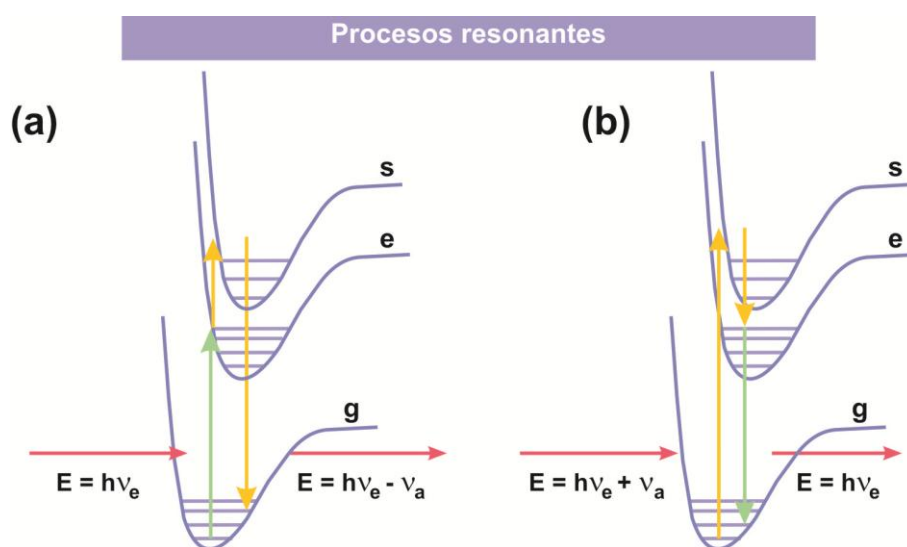


Figura 3.2. Esquema de efecto Raman resonante mostrando a) resonancia incoming y b) resonancia outgoing. Los estados electrónicos g, e y s son el fundamental y los dos primeros excitados, respectivamente. Cada uno de ellos tiene representados algunos niveles vibracionales con líneas azules. Las flechas rojas indican los fotones incidentes y dispersados (o Raman). Las flechas amarillas representan procesos virtuales, mientras que las verdes hacen lo propio con las transiciones reales, las responsables de las resonancias.

De esta forma la espectroscopía Raman es una técnica capaz de explorar fenómenos estructurales y dinámicos (mediante el espectro vibracional) además de electrónicos (resonancias) en moléculas y materiales. Sin embargo, al tratarse de un proceso de dispersión de luz, su eficiencia es relativamente baja respecto de, por ejemplo, la espectroscopía infrarroja (IR). De hecho, en los procesos no resonantes, típicamente 1 de cada $\sim 10^7$ fotones es dispersado por la

muestra. Sin embargo, la “ineficiencia” del proceso de dispersión y por ende la baja intensidad de los espectros Raman encontró una forma de ser mejorada gracias al descubrimiento de la amplificación de las señales Raman mediante plasmones superficiales generados en nanoestructuras metálicas, dando origen a la espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS). Para comprender los fundamentos de dicha técnica es necesario primero incorporar los conceptos de resonancia de plasmones superficiales y polaritones plasmónicos superficiales propagantes y localizados (PPSP y PPSL). Estos conceptos se abordarán en las próximas dos secciones para luego introducir la técnica de SERS.

3.4 Resonancia de plasmones superficiales.

Un plasmón puede ser considerado como una excitación o modo elemental de las oscilaciones colectivas de la densidad de carga de un plasma.² Así, en un metal (con electrones libres superficiales), la respuesta óptica de dichos electrones está determinada por sus propiedades dinámicas. Por otro lado, la dinámica de un plasma de electrones libres está dominada por las interacciones dentro del gas de electrones pero también por el ambiente. Ambas propiedades (dinámica de electrones libres y respuesta óptica del material) están contenidas en la función dieléctrica del metal $\epsilon(\omega)$ que junto con la función dieléctrica del medio y la geometría del objeto contienen toda la información necesaria para describir el comportamiento plasmónico del sistema. En el Apéndice A se presenta un ejemplo sencillo de una esfera metálica interactuando con un haz de luz y puede verse como la función $\epsilon(\omega)$ es quien determina la forma y posición de la resonancia plasmónica de dicho objeto. Precisamente, en el caso de espectroscopías ópticas (así como el ejemplo antes mencionado) la excitación del plasma de electrones es producida por una onda electromagnética propagante (luz). La energía de dicha onda será utilizada entonces para excitar los electrones libres del metal (oscilación de campo eléctrico y magnético del plasma de electrones), además de las excitaciones propias del medio (polarización y magnetización). Esto hace que el fotón incidente se encuentre ahora acoplado a los electrones y las condiciones del medio, transformándose en un polaritón. De hecho, en los métodos de sensado basados en resonancia de plasmones son más importantes los polaritones plasmónicos (mezcla de fotones y plasmones) que los modos puramente plasmónicos. La propagación de los polaritones plasmónicos a lo largo de la interfase metal-dieléctrico da origen a los polaritones plasmónicos superficiales. Estos últimos, como veremos a continuación, son por ejemplo los responsables de la amplificación de la señal Raman en SERS.

3.5 Polaritones plasmónicos superficiales propagantes (PPSP) o localizados (PPSL).

La diferencia entre modos propagantes o localizados está relacionada al vector de onda k asociado al polaritón plasmónico. Un valor real de k en alguna de las direcciones de invariancia traslacional está asociado a un modo propagante (PPSP), es decir que el polaritón plasmónico puede “moverse” a lo largo de la superficie en una dada dirección. Por otro lado, un valor imaginario de k en todas las direcciones implica un polaritón plasmónico localizado (PPSL).¹

Para que exista un acoplamiento entre los PPSP con la luz se debe cumplir la condición de conservación simultánea de energía y momento.² Generalmente el impulso de la luz es menor que el del PPSP en la dirección de propagación (independientemente del ángulo de incidencia) y por lo tanto es necesario desarrollar alguna estrategia que permita acoplar al sistema los momentos de los fotones incidentes. Esto puede lograrse utilizando fenómenos como la reflexión total interna (ATR) lo que permite generar una onda evanescente a lo largo de un film metálico plano de espesor nanométrico.³⁻⁴ Otra forma de hacerlo es relajando la condición de conservación de momento (rompiendo la condición de invariancia traslacional) mediante la nanoestructuración de la superficie sobre la que impactan los fotones incidentes. Es decir, generar superficies rugosas, defectos puntuales o redes de difracción. En el Capítulo 6 de este trabajo brindaremos un ejemplo de este tipo de PPSP para la superficie plana que separa un arreglo hexagonal de nanocavidades metálicas de Au y Ag (PPSP tipo-Bragg). Otro ejemplo de PPSP presentes en superficies rugosas es mostrado en el Capítulo 5.

Un ejemplo de PPSL es lo que sucede con nanopartículas metálicas de un diámetro comparable o menor a la longitud de onda incidente. En este caso, todos los polaritones plasmónicos generados en la interfase entre el metal y el medio externo son localizados y sus propiedades dependen fuertemente de la función dieléctrica del metal, el medio que lo rodea y la geometría del objeto (ver Apéndice A). Al resolver analíticamente el problema de la esfera pequeña,² mediante la teoría de Mie, es posible determinar la existencia de plasmones de volumen (ondas eléctricas esféricas dentro del metal, asociadas con oscilaciones colectivas de carga, que producen un campo nulo por fuera de la esfera y por lo tanto son irrelevantes en las propiedades ópticas) y plasmones localizados en la interfaz, siendo el más importante el PPSL dipolar. Este tipo de polaritones plasmónicos (localizados) también están presentes en las estructuras de nanocavidades hexagonales del Capítulo 6 (PPSL tipo-Mie). En el caso de nanocavidades cuyos diámetros son comparables o menores a la longitud de onda del haz incidente, la solución analítica a los polaritones plasmónicos de este sistema puede abordarse tratando a las nanocavidades como anti-nanopartículas. A partir de la teoría de Mie, la solución cuasi-estática de este problema arroja las frecuencias de resonancia de los modos de PPSL en las cavidades esféricas, en función del momento angular (l):

$$\omega_l = \omega_{SP} \sqrt{\frac{l+1}{2l+1}} \quad (3)$$

En la Figura 3.3 se muestran los modos para los dos valores más chicos de l para las diferentes proyecciones azimutales, m . Estos modos toman la forma de una oscilación de carga dipolar ($l = 1$) y cuadrupolar ($l = 2$) dentro del metal.¹ A diferencia de lo que ocurre para el caso de la esfera pequeña, cuando $l = 1$ en el caso de la cavidad (Figura 3.3a) la distribución de campo tiene una simetría s (sin nodos), mientras que la esfera presenta una distribución tipo p con dos lóbulos (Figura 3.3d). De esta forma, la distribución de campo para un PPSL en una cavidad esférica de momento angular l tiene una simetría del tipo armónico esférico $Y_{(l-1,m)}$.¹

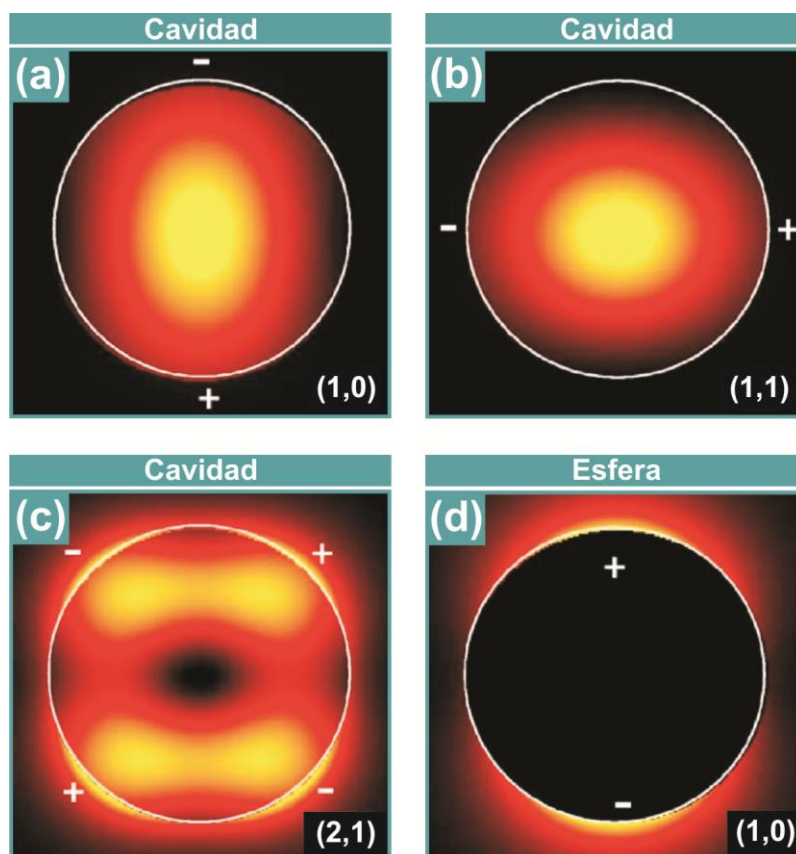


Figura 3.3. Distribuciones de campo eléctrico para cavidades de Au (en aire) para a) $l = 0$, $m = 1$; b) $l = 1$, $m = 1$; c) $l = 2$, $m = 1$. Los cálculos de dichas distribuciones fueron realizados por K. A. Kelf et al.⁵ d) Distribución de campo para el modo dipolar PPSL de una nanopartícula de Au al aire. Imagen extraída de la Tesis doctoral de N. Tognalli.¹

Otro tipo de PPSL es el que se genera cuando dos (o más) nanoestructuras (dos nanopartículas por ejemplo) son colocadas a unos pocos nm de distancia. En este caso, los PPSL de cada estructura se ven modificados por la presencia cercana de la distribución de campo de la estructura vecina. A partir de esta interacción se generan regiones de gran intensidad (concentración de campo eléctrico) conocidas como *hot-spots*.² En el Capítulo 8 de este trabajo se brinda una explicación más detallada sobre este caso particular de PPLS y se utilizan dichos *hot-spots* para la detección de moléculas únicas por SERS.

Existen diversos métodos para determinar experimentalmente la frecuencia (o longitud de onda) de resonancia de una estructura plasmónica. En general, se realiza un barrido recorriendo todo el espectro electromagnético (usualmente la región UV-visible del mismo) buscando para que longitud de onda hay un proceso de absorción. Esa región del espectro absorbida es utilizada para generar la oscilación colectiva de los electrones superficiales y como ya hemos señalado, depende fuertemente de la geometría y material de la nanoestructura y el medio que la rodea. Así por ejemplo en el Capítulo 5 mostraremos como un espectro de absorción UV-visible de una solución de nanopartículas arroja una absorción asociada al PPSL de las mismas. En el Capítulo 6, donde utilizamos un arreglo de nanocavidades metálicas como estructura plasmónica, la posición de los PPSL es detectada mediante medidas de reflectividad. De esta forma, se ilumina con luz blanca las nanocavidades y la luz reflejada por las mismas es analizada espectralmente detectando que longitudes de onda han sido absorbidas. En este trabajo utilizamos un elipsómetro espectrométrico automatizado WVASE32 de ángulo variable, el cual permite iluminar la muestra con un spot de 100 micrones y con una apertura numérica de 0.02. La muestra a su vez es colocada sobre una plataforma automatizada que permite moverla en dirección x-y con una precisión de 0.5 micrones para ser explorada.

3.6 Espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS).

En 1974 Fleischman, Hendra y McQuillan midieron el espectro Raman de piridina adsorbida sobre un electrodo de plata rugosa y observaron valores de intensidad anormalmente altos.⁶ A pesar de no haber podido explicar el origen de este comportamiento, el efecto fue denominado como dispersión Raman amplificada por superficies (SERS). Años más tarde, Creighton, Blatchford y Albrecht midieron también la dispersión Raman amplificada de piridina pero en este caso fue a partir de una solución acuosa conteniendo coloides de oro y plata.⁷ Con estas evidencias experimentales el fenómeno de amplificación fue atribuido principalmente a la presencia de polaritones plasmónicos superficiales.²

La amplificación por “campo electromagnético” de la señal Raman puede ser cualitativamente explicada considerando un ejemplo sencillo. Consideremos una nanopartícula metálica de radio a con una molécula situada a una distancia d (Figura 3.4).

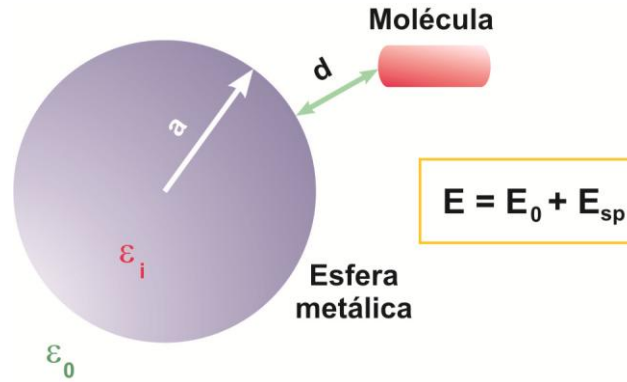


Figura 3.4. Esquema de una nanopartícula metálica de radio a y constante dieléctrica ϵ_i rodeada por un medio de constante dieléctrica ϵ_0 . A una distancia d de la misma se ubica una molécula. Esquema extraído de K. Kneipp et al.⁸

Consideremos una onda electromagnética (la cual tiene asociado un campo eléctrico E_0) que incide sobre la nanopartícula. Tal como describimos en la sección anterior, bajo determinadas condiciones, el haz incidente genera un PPSL sobre la nanopartícula con una distribución del campo eléctrico (E_{sp}) como el mostrado en la Figura 3.3d. Al acercarse una molécula a una distancia d de la nanopartícula, la misma estará sometida a la resultante de ambos campos eléctricos (E), el del láser y el generado sobre la nanopartícula: $E = E_0 + E_{sp}$.

La solución exacta del campo eléctrico efectivo sobre la molécula incluye parámetros que, como describimos anteriormente, son los que definen la resonancia de los PPSL: el radio de la nanopartícula, la constante dieléctrica del metal (ϵ_i) y del medio (ϵ_0) y además incluye la distancia entre la nanopartícula y la molécula.¹

$$E = E_0 + E_{sp} = E_0 + a^3 \frac{\epsilon_i - \epsilon_0}{\epsilon_i + 2\epsilon_0} E_0 \frac{1}{(a + d)^3} \quad (4)$$

El factor de amplificación electromagnética (A) se define entonces en función del cociente entre el campo total y el incidente.

$$A = \frac{E}{E_0} \quad (5)$$

De manera análoga a lo descrito para el campo incidente, el campo dispersado puede sufrir la misma amplificación si se encuentra en resonancia con los PPSL. De esta forma, si la frecuencia del haz incidente y del haz dispersado están en resonancia con los PPSL de la nanopartícula el factor de amplificación total (G) para este ejemplo sencillo es:

$$G = (A_{\text{incidente}})^2 (A_{\text{dispersado}})^2 \approx \left| \frac{\varepsilon_i - \varepsilon_0}{\varepsilon_i + 2\varepsilon_0} \right|_{\text{incidente}}^2 \left| \frac{\varepsilon_i - \varepsilon_0}{\varepsilon_i + 2\varepsilon_0} \right|_{\text{dispersado}}^2 \left(\frac{a}{a+d} \right)^{12} \quad (6)$$

De este modelo sencillo es posible deducir que la amplificación de campo electromagnético en SERS escala con la cuarta potencia del campo local (E^4) de la nanopartícula metálica, mientras que decae fuertemente a medida que aumenta la distancia entre la nanopartícula y la molécula. Como veremos en el Capítulo 8, las amplificaciones de la señal Raman pueden ser tan intensas que es posible detectar incluso una molécula única.

A pesar de que este tipo de amplificación es la más importante, existe otro tipo de amplificación de la señal SERS, denominada “efecto químico”. Dentro de esta categoría se han incluido distintos efectos y fenómenos observados que no corresponden a la amplificación por campo electromagnético. Varias teorías han sido propuestas para explicar este efecto y no existe aún un acuerdo sobre lo que ocurre en este mecanismo de amplificación para cada situación en particular.^{9-10 11} En general, todas las teorías concuerdan en que este fenómeno está presente cuando existe un acoplamiento entre la estructura electrónica del metal y de la molécula, por lo que muchos autores refieren a este efecto cuando la molécula está en contacto con la superficie metálica. También se ha postulado que el “efecto químico” aparece debido a una nueva resonancia electrónica de transferencia de carga entre la molécula y el metal. En el Capítulo 6 de este trabajo, volveremos sobre este punto tratando de dilucidar el origen del de este tipo de amplificación.

3.7 Arreglos experimentales utilizados en las medidas SERS.

Las medidas de SERS de este trabajo de Tesis fueron realizadas en dos espectrómetros Jobin-Yvon: T64000 (Capítulos 5 y 6) y LabRam acoplado a un microscopio BX41 Olympus (Capítulos 7 y 8). Los detalles experimentales concretos de cada medida se encuentran en los respectivos Capítulos.

Brevemente, en el primero de los equipos (T64000) se utilizaron dos fuentes de excitación: un láser Ti-Zafiro que permite sintonizar de manera continua la longitud de onda entre 690 y 1000 nm (infrarrojo cercano) y otro de Ar-Kr con 16 líneas discretas ajustables entre 450 y 676 nm (visible). En este equipo se utilizaron dos configuraciones: macro y micro. En la primera de ellas (macro) el láser se conduce mediante lentes y espejos a una lente de focalización que genera un spot de entre 10 y 100 micrones sobre la muestra y luego otra lente (de colección) toma la luz dispersada y la focaliza dentro del espectrómetro. En la configuración micro las lentes de focalización y colección son el objetivo del microscopio. En este caso el spot circular tiene entre 0.5 y 10 micrones mientras que la posición x-y-z de la muestra puede controlarse con un motor

paso a paso con una precisión de 0.1 micrones. Finalmente, el espectrómetro debe tener una buena resolución espectral y además tener la capacidad de “filtrar” la luz espúrea (eliminar la dispersión elástica). Para ello, el espectrómetro Jobin-Yvon T64000, posee tres etapas de dispersión de luz y se lo puede usar de dos maneras. En modo aditivo, donde cada etapa en serie resuelve espectralmente y mejora la resolución, o en modo sustractivo, funcionando como un monocromador simple, pero donde las dos primeras etapas actúan como un filtro para el laser regulable en longitud de onda. Luego de que la luz es resuelta espectralmente, se colecta con una CCD (*charge coupled device*) de alta resolución y bajo ruido electrónico (un electrón por hora), enfriada con N₂ líquido. Las medidas realizadas bajo esta configuración fueron realizadas en el Laboratorio de fotónica y propiedades optoelectrónicas del Instituto Balseiro – Centro Atómico Bariloche.

En el caso del espectrómetro LabRam, el mismo fue utilizado (en todos los casos) acoplado con un microscopio BX41 Olympus. Como fuente de excitación se utilizó la línea de 633 nm de un láser He-Ne con ~ 3 mW de potencia sobre la muestra. La misma fue colocada en todos los casos sobre una plataforma motorizada (x-y) para poder explorarla. Los objetivos del microscopio (de inmersión) fueron elegidos de acuerdo al tipo de muestra y fenómeno estudiado. En los casos donde se buscaban señales promedio de la muestra se eligió un objetivo x10 con un tamaño de spot de 10 micrones. En otros casos (como detección de moléculas individuales) se utilizaron objetivos x50 y x100. En este caso el detector es también una CCD enfriada con N₂ líquido. Las medidas con este equipo fueron realizadas en el Laboratorio Raman de la Universidad de Victoria, Wellington, Nueva Zelanda.

3.8 Introducción a los procesos electroquímicos.

Otras de las técnicas de detección utilizadas en este trabajo de Tesis es la electroquímica, en la que se combinan fenómenos eléctricos y químicos a nivel de la interfaz metal-molécula. En general, el estudio de este tipo de procesos está centrado en el transporte de carga a través de la interfaz entre, por ejemplo, un conductor electrónico (un *electrodo*) y un conductor iónico (un *electrolito*). La carga es transportada a través del electrodo por el movimiento de electrones (y huecos) mientras que en la fase del electrolito, la carga es llevada por el movimiento de los iones.¹²⁻¹⁴ Varios procesos ocurren en la interfaz metal-solución cuando se aplica un potencial eléctrico y circulan cargas a través de la misma (Figura 3.5). Estos procesos pueden ser divididos en dos grandes grupos: faradaicos y no faradaicos. El primero de ellos involucra una transferencia de carga neta entre el metal y la solución (o moléculas presentes en la misma), la cual tiene asociada un proceso redox (reducción-oxidación). Este tipo de reacciones donde la cantidad de especies reducidas/oxidadas por el flujo de corriente son proporcionales a la cantidad de electricidad que ha circulado por la interfaz constituyen los procesos de tipo faradaico. Estas

reacciones ocurren en un determinado rango de potenciales donde intervienen factores termodinámicos y cinéticos.

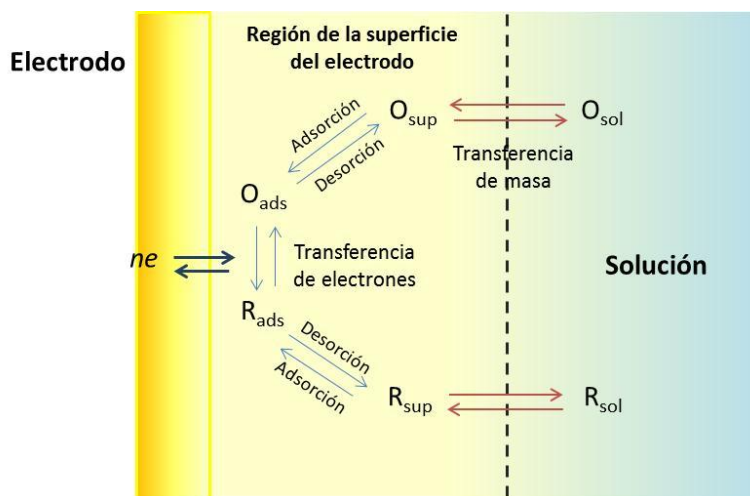


Figura 3.5. Esquema general de los fenómenos en la superficie de un electrodo. Imagen extraída de la Tesis doctoral de M. A. Daza Millone.¹⁵

Otro tipo de procesos que pueden ocurrir en la interfaz metal-solución son la adsorción o desorción de especies en la superficie del electrodo lo que origina cambios en la estructura y composición de la interfaz (Figura 3.5). Estos procesos dependen del potencial eléctrico y/o de la composición de la solución. Como consecuencia, estos procesos no faradaicos (donde no hay un proceso neto de transferencia de carga) dan origen a la denominada “corriente de doble capa” que se manifiesta en los experimentos electroquímicos. De esta forma, las interfaces electrodo-solución exhiben una capacidad cuya magnitud refleja la distribución de iones en el lado de la solución de la interfaz. La doble capa de electrolito está compuesta por la capa de Helmholtz, una capa de iones y solvente en contacto físico con el electrodo, y la capa difusa, una capa de iones cercana al electrodo cuya concentración es diferente de la concentración en el seno de la solución.

3.9 Celda electroquímica y procesos redox.

Debido a que no es posible experimentalmente tener una interfaz aislada, los estudios electroquímicos se realizan sobre una colección de interfaces, conocida como *celda electroquímica*. Estos sistemas están definidos por al menos dos electrodos separados por una solución electrolítica entre los que circula corriente. La diferencia de potencial entre los electrodos puede ser modificada por medio de una fuente externa que produce una corriente que circula a través de las interfaces electrodo-solución en donde pueden ocurrir diversas reacciones químicas. La reacción química neta que ocurre en la celda está comprendida por al menos dos hemirreacciones independientes que describen los cambios químicos que ocurren en cada

electrodo. En general, solo la hemirreacción que tiene lugar en el *electrodo de trabajo* (ET) es de interés y para enfocarse en ella, se estandariza la otra hemirreacción empleando un *electrodo de referencia* (ER) cuya composición de fases es esencialmente constante y su potencial de equilibrio no se modifica con el pasaje de corriente, es decir, es idealmente no polarizable. Como el electrodo de referencia tiene un potencial fijo y no circula corriente a través de este durante las medidas, cualquier cambio en el potencial aplicado a la celda modifica la polarización del electrodo de trabajo.

El cambio de potencial en el electrodo de trabajo genera que se modifique la energía de los electrones del metal. De manera sencilla, al aumentar el nivel de energía de los electrones (llevando el electrodo a potenciales más negativos) es posible alcanzar un determinado valor de potencial (nivel de energía) donde se transfieren electrones desde el metal hacia los estados electrónicos desocupados de las moléculas que se encuentran en solución (Figura 3.6a). En ese caso, aparece un flujo de electrones desde el electrodo a la solución (*corriente de reducción*). De manera similar, la energía de los electrones en el metal puede disminuirse aplicando un potencial en sentido inverso y en este caso (para un cierto potencial aplicado) los electrones de los últimos estados electrónicos ocupados de las moléculas en solución pueden ser transferidos hacia el electrodo (proceso de *oxidación*). Los potenciales críticos en los cuales estos procesos ocurren están relacionados a los *potenciales standard*, E° , para las moléculas presentes en la solución.¹³⁻¹⁴

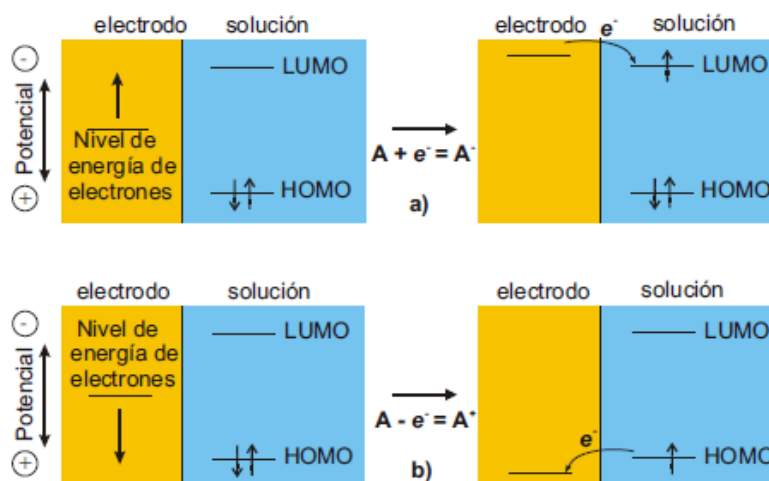


Figura 3.6. Representación de los procesos de a) reducción y b) oxidación de una especie A en solución. Para la especie A se muestran los orbitales moleculares HOMO y LUMO que representan al último ocupado y primero desocupado respectivamente.¹

Con el fin de estudiar los cambios en el electrodo de trabajo de manera reproducible, uno de los arreglos experimentales más empleados es la celda de tres electrodos. En esta configuración, la corriente pasa del electrodo de trabajo al electrodo auxiliar o *contraelectrodo* (CE), que en general se fabrica de un material, como por ejemplo Pt, de manera que no produzca sustancias

interferentes por electrólisis. Bajo esta configuración, un potenciostato controla la tensión entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo de manera de ajustar la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y el de referencia hasta alcanzar el valor predeterminado de potencial. Esto lo logra a través de un circuito retro-alimentado de alta impedancia. De esta forma, el potenciostato es un elemento activo que fuerza al electrodo de trabajo a alcanzar el potencial deseado respecto al de referencia sin importar la corriente necesaria que deba proveer. Es así como la corriente es el observable experimental de las medidas potenciométricas. Todas las determinaciones electroquímicas de esta Tesis fueron realizadas bajo esta configuración.

Existen diversas técnicas electroquímicas basadas en el control de las distintas variables: potencial, corriente, tiempo. Por ejemplo, se puede medir la corriente en función del tiempo o del potencial, manteniendo el potencial constante o variándolo de forma predeterminada con el tiempo. En este trabajo de Tesis se empleó la técnica de voltamperometría cíclica que será descrita a continuación.

3.10 Voltamperometría cíclica.

Esta técnica permite estudiar las propiedades redox de moléculas y estructuras presentes en la interfaz metal-solución. Es una herramienta importante para determinar los potenciales redox formales, la detección de especies presentes en la interfaz, el estudio de reacciones de transferencia de carga y la evaluación de la cinética de transferencia de carga, entre otras. Aunque los cálculos termodinámicos de este tipo de procesos utilizan generalmente los potenciales normales,¹⁴ en la práctica suelen utilizarse los *potenciales formales*. Los potenciales formales difieren de los potenciales normales ya que los coeficientes de actividad (γ_i) se alejan de la unidad debido a la presencia de reacciones paralelas, que modifican las concentraciones de las especies reactivas.

Cuando se grafica la corriente en función del potencial, se obtienen curvas (i vs. E) que brindan información acerca de la naturaleza de la solución, los electrodos y las reacciones que ocurren en las interfaces. El número de electrones que cruza la interfaz está relacionado estequiométricamente con la reacción química (cantidad de especies que participan de las reacciones redox) y se mide en términos de la carga total, Q , que pasa por el circuito. La corriente, i , es la velocidad del flujo de la carga (o electrones).

En voltamperometría cíclica, el potencial aplicado varía con el tiempo, a determinada una velocidad ($v = \Delta E/\Delta t$), regulada con el potenciostato. Para las medidas que se llevaron a cabo en este trabajo se utilizaron variaciones lineales como las que se muestran en la Figura 3.7a, de modo tal que la curva de barrido es triangular: se comienza a un dado potencial (E_i), se llega a un potencial final (E_f) y luego se retorna al mismo potencial inicial. Durante el barrido de potencial,

el potenciostato mide la corriente resultante debida al potencial aplicado. Como la corriente y el potencial están relacionados funcionalmente ($V = iR$), esa corriente es única.

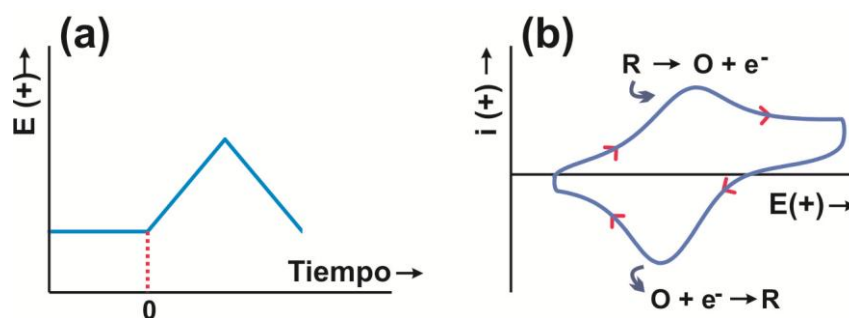


Figura 3.7. (a) Barrido cíclico de potencial. (b) Voltamperograma cíclico resultante.

Si se grafica la corriente registrada en función del potencial aplicado, se obtiene un voltamperograma cíclico (Figura 3.7b), que depende no sólo de un gran número de parámetros físicoquímicos sino, además, del tiempo. La Figura 3.7b ilustra la respuesta esperada para una cupla redox reversible durante un ciclo de barrido. En la misma, se supone que sólo la forma oxidada O está presente inicialmente. De esta manera, se elige un potencial que barre hacia el sentido negativo para el primer medio ciclo, empezando desde un valor en el que no hay procesos de transferencia de carga involucrados. A medida que el potencial aplicado se aproxima al E° (característico del proceso redox) la corriente catódica comienza a aumentar, hasta que alcanza un máximo (i_p). Después de atravesar la región de potencial en donde tiene lugar el proceso de reducción, la dirección del barrido de potencial se revierte. Durante el barrido inverso, las moléculas R (generadas en el primer medio ciclo, y acumuladas cerca de la superficie) son reoxidadas a O y aparece un pico anódico. Como resultado se obtiene información acerca del potencial redox, las velocidades de la reacción electroquímica de los compuestos y la concentración de especies electroactivas. Además es posible distinguir entre los procesos relacionados con especies adsorbidas sobre el ET y los debidos a especies en solución, siendo posible analizar la reversibilidad o irreversibilidad de los procesos de transferencia de carga, el número de electrones transferidos, los coeficientes de difusión y las constantes de velocidad, entre otros parámetros.

La densidad de carga eléctrica, q , registrada durante la oxidación o reducción es uno de los parámetros cuantitativos que puede extraerse de las curvas i vs E . A partir de la carga pueden obtenerse datos estructurales como la fracción de la superficie ocupada en procesos de adsorción-desorción o el número de electrones intercambiados por sitio de adsorción. El cálculo de la carga implica la integración de la siguiente expresión:

$$q = \int_{t_1}^{t_2} j(t) dt \quad (7)$$

donde t es el tiempo y j la densidad de corriente (corriente expresada por unidad de área). Teniendo en cuenta la velocidad de barrido v ($\Delta E/\Delta t$), podemos reescribir la ecuación 7 como:

$$q = \frac{1}{v} \int_{E_1}^{E_2} j(E) dE \quad (8)$$

de este modo a partir de la integración de las curvas j vs. E (voltamperogramas) entre dos potenciales seleccionados, a una dada v , se obtiene la carga expresada en microcoulombs.

3.11 Arreglos experimentales utilizados en las medidas electroquímicas.

A lo largo de este trabajo se ha utilizado siempre la configuración de celda electroquímica de tres electrodos conectado a un potenciostato (TeQ 03 ó TeQ 04). En todos los casos el contraelectrodo (CT) empleado fue una chapa de Pt de alta área, mientras que los electrodos de referencia (ER) fueron el de calomel saturado ($\text{Hg} | \text{Hg}_2\text{Cl}_2 | \text{KCl}(\text{sat})$) o el de plata-cloruro de plata ($\text{Ag} | \text{AgCl} | \text{KCl}(\text{sat})$). En cada Capítulo se especifica frente a cuál de ellos están expresados los valores de potencial obtenidos. Del mismo modo, dependiendo de los fenómenos a estudiar, el electrodo de trabajo (ET) es detallado en cada Capítulo. En algunos casos el ET consistió en un metal con una SAM adsorbida, en otros en nanopartículas depositadas sobre una película metálica, etc.

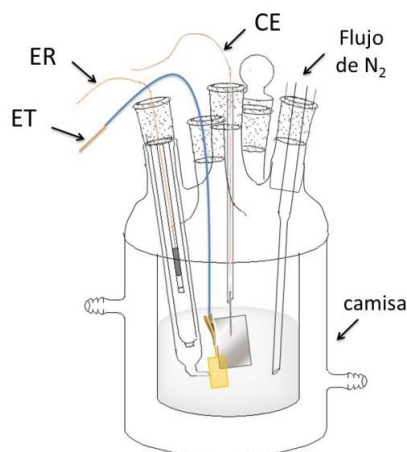


Figura 3.8. Esquema de la celda de vidrio utilizada en una parte de las medidas electroquímicas de este trabajo. Extraída del trabajo de Tesis Doctoral de M. A. Daza Millone.¹⁵

Los experimentos se realizaron en dos tipos de celdas de vidrio. La primera de ellas (utilizada en los Capítulos 4, 5 y 6) se muestra en la Figura 3.8. Además de los 3 electrodos descriptos, estas celdas cuentan con un capilar de Luggin-Haber para disminuir la caída óhmica de potencial debido a la resistencia de la solución y con un burbujeador con una llave de tres vías, el

cual permite purgar la solución y mantener una atmósfera saturada en N₂, ya que el O₂ es una especie electroactiva que puede interferir en las medidas.

Para las medidas electroquímicas de los Capítulos 7 y 8 se diseñó otra celda de vidrio que permitiera adquirir espectros Raman en forma simultánea con los cambios de potencial aplicados al ET. En este caso se utilizó una celda circular (diámetro ~ 10 cm y ~ 2 cm de altura) con una chapa de Pt (CE) rodeando al ET (ubicado debajo del objetivo del microscopio) y un ER comercial ultradelgado (Dri-Ref).

A partir de aquí los Capítulos siguientes constituyen la presentación de resultados experimentales y discusión de los mismos sobre los distintos sistemas estudiados.

3.12 Referencias.

[1] Tognalli, N. Nanoestructuras metálicas para espectroscopia SERS de sistemas biomiméticos y de sensado. Tesis Doctoral, Instituto Balseiro, Bariloche, 2008.

[2] Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*. Elsevier: 2008.

[3] Otto, A., Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection. *Z. Physik* **1968**, 216 (4), 398-410.

[4] Kretschmann, E.; Raether, H., Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light. *Z. Naturforsch. A* **1968**, 23, 2135.

[5] Kelf, T. A.; Sugawara, Y.; Cole, R. M.; Baumberg, J. J.; Abdelsalam, M. E.; Cintra, S.; Mahajan, S.; Russell, A. E.; Bartlett, P. N., Localized and delocalized plasmons in metallic nanovoids.

[6] Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J., Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chemical Physics Letters* **1974**, 26 (2), 163-166.

[7] Creighton, J. A.; Blatchford, C. G.; Albrecht, M. G., Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics* **1979**, 75 (0), 790-798.

[8] Kneipp, K.; Kneipp, H.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S., Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) – A Tool for Single Molecule Detection in Solution. In *Single Molecule Detection in Solution*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 2003; pp 121-144.

[9] Otto, A., Surface-enhanced Raman scattering: “Classical” and “Chemical” origins. In *Light Scattering in Solids IV*, Cardona, M.; Güntherodt, G., Eds. Springer Berlin Heidelberg: 1984; Vol. 54, pp 289-418.

[10] Otto, A.; Mrozek, I.; Grabhorn, H.; Akemann, W., Surface-enhanced Raman scattering. *Journal of Physics: Condensed Matter* **1992**, 4 (5), 1143.

[11] Moskovits, M., Surface-enhanced spectroscopy. *Reviews of Modern Physics* **1985**, 57 (3), 783-826.

[12] Adamson, A. W., *Physical chemistry of surfaces* fifth ed.; John Wiley & Sons: New York, 1990.

[13] Bockris, J. O. M.; Reddy, A. K. N., *Modern Electrochemistry* 2^o ed.; Plenum Press: New York, 1998; Vol. 1 & 2.

[14] Bard, A. J.; Faulkner, L. R., *Electrochemical methods: Fundamentals and Applications*. 2nd ed.; John Wiley & Sons: New York, 2001

[15] Daza Millone, M. A. Monocapas Autoensambladas de Alcanotioles y α,ω -alcanoditioles sobre Oro: Adsorción no específica de Moléculas Bioactivas, Biomoléculas y Vesículas. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, 2011.

Capítulo 4

Monocapas autoensambladas (SAMs) de tioles sobre Au: estabilidad de la interfaz Au-S

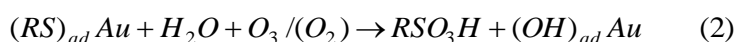
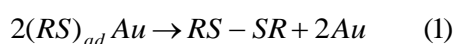
4.1 SAMs de alcanotioles sobre Au: ¿Qué sabemos sobre su formación, estabilidad y mecanismos de degradación?

Las monocapas autoensambladas (SAMs) sobre superficies sólidas se han constituido en los últimos años en elementos claves en variadas aplicaciones en el campo de la nanotecnología.¹ Las SAMs de tioles sobre superficies de Au resultan particularmente atractivas ya que son fáciles de preparar tanto desde fase gaseosa como líquida y representan un camino sencillo para unir materiales inorgánicos, orgánicos y biológicos a una superficie químicamente inerte y biocompatible, ideal para múltiples aplicaciones.² Desde un punto de vista simplificado, en las SAMs de tioles se genera una capa compacta de alta calidad donde la cabeza de azufre genera una unión tiolato con la superficie metálica y así es posible anclar al sustrato mediante un enlace covalente la cadena hidrocarbonada de longitud variable de acuerdo al número de átomos de carbono (n). Las fuerzas de van der Waals entre moléculas vecinas estabilizan la estructura. La elección del grupo terminal de la cadena permite conferirle a la superficie modificada las propiedades químicas y físicas deseadas. Funcionalidad y espesor son entonces parámetros sencillos de modificar que permiten diseñar superficies de Au con propiedades altamente controladas.³⁻⁵

Los tioles sobre superficies de Au han sido propuestos como elementos de construcción “bottom up” para una amplia variedad de sistemas y dispositivos en el campo de la nanotecnología: electrónica molecular, sensado y bio-reconocimiento, motores moleculares, membranas biomiméticas, entre otros.² En estos casos los tioles actúan como “ladrillos”

moleculares de construcción de los dispositivos (elementos pasivos) o bien como elementos activos de los mismos ya sea en la como captura y liberación de iones, el anclaje de moléculas o biomoléculas, brindando centros reactivos para la construcción de estructuras moleculares complejas, etc.

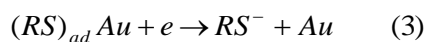
Sin embargo existen limitaciones para trasladar estos sistemas moleculares del laboratorio al campo de las aplicaciones tecnológicas. Una de las más importantes es la degradación del enlace Au-S cuando son expuestos al ambiente o medios líquidos.⁶⁻⁷ Existen diferentes reacciones de oxidación que pueden explicar la ruptura del enlace tiolato-metal y en particular el del Au-S. Las siguientes ecuaciones describen las reacciones que han sido mencionadas en la literatura⁸⁻¹⁰ como las vías más probables de degradación de SAMs de tioles sobre superficies de Au:



donde $(RS)_{ad}Au$ representa una especie tiolato unida covalentemente a la superficie de Au, RS-RS es una especie disulfuro y RSO_3H es un sulfonato generado a partir de la oxidación del tiolato correspondiente.

Las especies de S resultantes de las ecuaciones 1 y 2 ya no se encuentran quimisorbidas a través del fuerte enlace tiolato a la superficie metálica sino simplemente fisisorbidas de manera tal que pueden ser fácilmente removidas, generando la degradación de la SAM y por consiguiente de los dispositivos o sistemas basados en ellas.⁹⁻¹¹

Otra posible vía de degradación de las SAMs en presencia de electrolitos es la desorción del tiol mediante reacciones electroquímicas.⁴ Se sabe que las SAMs son desorbidas de las superficies metálicas cuando el potencial (E) de la interfaz SAM-Au adquiere un valor característico (E_r) de acuerdo a la reacción:



Este potencial puede alcanzarse ya sea mediante algún reductor presente en el medio o bien mediante un potenciostato (en el caso de sistemas de detección o fabricación basados en métodos electroquímicos). Si se alcanza dicho valor E_r las SAMs se desorben de la superficie metálica existiendo entonces sólo una ventana de potenciales en las cuales se puede operar con las mismas sin dañarlas irreversiblemente. Por lo tanto, ampliar esta ventana de potenciales de estabilidad de los tioles sobre los distintos metales y en particular sobre Au constituye un punto de interés dado las aplicaciones de las SAMs en sensado por vía electroquímica.

Varios factores han sido estudiados a fin de comprender su influencia en los procesos fisicoquímicos que dan origen a los productos de degradación de SAMs de tioles de las

ecuaciones 1 y 2; en particular el rol del oxígeno,¹⁰ el ozono y la radiación ultravioleta,^{8, 12} la longitud de la cadena hidrocarbonada y el tipo de grupo funcional terminal,¹³⁻¹⁵ la morfología del sustrato,¹⁶ y el medio de reacción (aire, agua, etanol, etc).^{7, 9, 11} Los estudios realizados muestran que la velocidad de degradación disminuye cuando se incrementa el largo de la cadena hidrocarbonada y aumenta a medida que disminuye el tamaño de grano en el sustrato de Au. Existen evidencias de oxidación en ausencia de luz y se ha determinado que el etanol es el solvente más agresivo para el grupo tiolato. Las especies disulfuro (ecuación 1) han sido propuestas como la principal vía de degradación en medios líquidos y mediante experiencias de desorción térmica¹⁷⁻²⁰ mientras que las especies sulfonato (ecuación 2) han sido halladas tanto en medios líquidos como en aire.⁶⁻⁷ Por lo tanto, la velocidad de desorción de especies tiolato de estas SAMs se ve incrementada en medios líquidos, donde ambos caminos de degradación son posibles (ecuaciones 1 y 2). Por el contrario, no se han observado cambios en la química superficial de la cabeza de S en SAMs de octanotiol sobre Au luego de ser conservadas varios días en ultra-alto vacío (UHV) y en ausencia de luz.²¹

En cuanto a la desorción electroquímica, para un mismo metal como el caso del Au, se ha observado que la ventana de potenciales en los cuales la SAM es estable aumenta con el largo de la cadena hidrocarbonada y depende de una manera más compleja con la naturaleza del grupo funcional. Por ejemplo, si el grupo terminal es otro SH la formación de puentes S-S estabiliza la SAM, lo mismo ocurre con los que puentes de hidrógeno que se generan entre grupos carboxilos terminales. Por otra parte para estos mismos grupos en medio alcalino las interacciones repulsivas parcialmente apantalladas por contraiones resultan en una pérdida de estabilidad de la SAM.⁴

En vista de los importantes avances tecnológicos basados en métodos de fabricación “bottom-up” y dada la gran versatilidad y utilidad de sistemas basados en SAMs de tioles sobre superficies de Au, la búsqueda de nuevas estrategias o materiales capaces de reducir o eliminar la degradación de monocapas autoensambladas Au-tiol se constituyen en un punto central en el campo de la nanotecnología.

En la primera parte de este Capítulo demostramos que las superficies nanoestructuradas de Au presentan un aumento en la resistencia a la degradación de SAMs de tioles y mayor estabilidad frente a la electrodesorción reductiva que los sustratos policristalinos con orientación preferencial (111), Au(111), utilizados convencionalmente. En particular demostramos que las SAMs de alcanotioles sobre los sustratos nanoestructurados (Figura 4.1a), formados por estructuras de tipo columnar (10-20 nm de diámetro, 400-500 nm de espesor), resisten más de 6 semanas sin degradación significativa utilizando como medio de reacción etanol, uno de los solventes más agresivos para la preservación de las SAMs. Por otro lado, los sustratos Au(111) (Figura 4.1b) tienen una degradación del 40% de la SAM de alcanotioles (generando especies disulfuro) en tan solo 2 semanas. El aumento en la estabilidad puede estar relacionado a la mayor

energía de enlace de las especies tiolato a átomos de Au de baja coordinación presentes en superficies nanoestructuradas con gran cantidad de defectos.

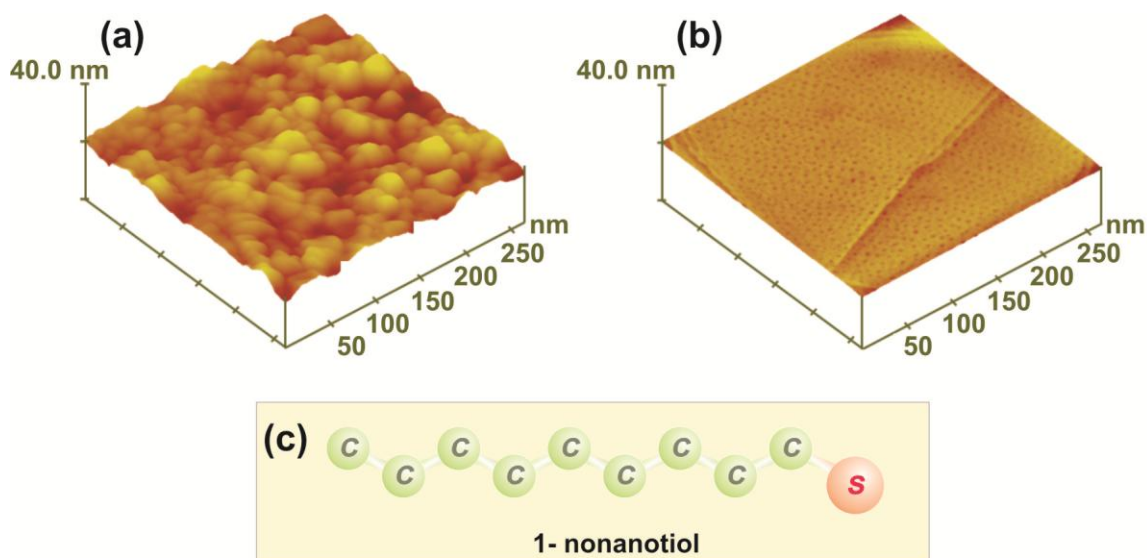


Figura 4.1. Imágenes de STM, $260 \times 260 \text{ nm}^2$. (a) Superficie de Au nanoestructurado. (b) Superficie de Au(111), ambas modificadas con nonanotiol. (c) Representación de la molécula de 1-nonanotiol (NT) utilizada (no se muestran los hidrógenos correspondientes).

4.2 SAMs en sustratos planos y nanoestructurados

Los sustratos Au(111) fueron adquiridos comercialmente. Luego de flamarlos con llama de butano-propano por 5 minutos, estas superficies presentan terrazas planas con orientación (111) separadas por escalones monoatómicos.²² Los sustratos nanoestructurados de Au fueron preparados electroquímicamente sobre láminas o alambres de Au policristalino en una celda electroquímica de 3 electrodos utilizando un electrodo de calomel (ECS) como referencia y una lámina de Pt de alta área como contra electrodo. Los sustratos policristalinos son anodizados en una solución $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ durante 10 minutos a 2.40 V (vs ECS) de manera de lograr una capa gruesa del óxido de Au(III) hidratado.²³ Posteriormente se aplica una rampa de potencial de 2.40 a -0.6 V a $0.025 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ de manera de reducir el óxido a Au metálico y finalmente se mantiene por 4 minutos a -0.6 V de manera de asegurar la completa electroreducción.²⁴ El área real de Au es monitoreada luego del procedimiento de anodización/reducción en el mismo electrolito mediante una rampa triangular de potencial, de -0.25 a 1.6 V a $0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ siguiendo el procedimiento descrito por Michri et al.²⁵ Imágenes de SEM de un corte transversal de la superficie resultante demuestran que la misma tiene una estructura columnar conteniendo una alta densidad de poros.²⁶

Los alcanotioles fueron ensamblados sobre ambas superficies desde soluciones etanólicas $50 \mu\text{M}$ de nonanotiol (NT) con un tiempo de incubación de 24 horas. Luego de realizar varios lavados con agua Milli-Q™ y etanol, las muestras fueron guardadas en la oscuridad en pesafiltros individuales conteniendo etanol absoluto. Antes de su caracterización (STM, XPS,

electroquímica), las muestras fueron retiradas, lavadas con agua Milli-Q™ y etanol y secadas con nitrógeno.

Una forma de estimar la cantidad de especies tiolato quimisorbidas a una superficie metálica (cubrimiento, θ) es mediante el cálculo de la densidad de carga (q) en las curvas de electrodesorción reductiva de tioles. Asumiendo un proceso de transferencia de un electrón en la desorción reductiva (ecuación 3) y para un cubrimiento máximo de tioles en la superficie de $\theta = 1/3$, para una estructura $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30^\circ$, la densidad de carga proveniente de la integración de los picos catódicos del voltamperograma arroja un valor de $q \approx 75\text{-}80 \mu\text{C cm}^{-2}$.³

En la Figura 4.2a se presentan las curvas de electrodesorción reductiva de nonanotiol (NT) adsorbido sobre los sustratos de Au(111) y los sustratos de Au nanoestructurado. Las mismas fueron adquiridas utilizando una celda de tres electrodos y solución 0.1M NaOH mediante un barrido de -0.4 a -1.4 V a $0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.²² En primer lugar, existe una diferencia notable entre las posiciones de los picos (E_p) de electrodesorción de NT sobre ambos sustratos. Para las superficies de Au nanoestructuradas el proceso de electrodesorción es más difícil. En efecto, la posición del pico se desplaza 0.4 V en la dirección negativa (catódica), lo que implica un aumento de $\approx 0.4\text{eV}$ en la energía considerando un proceso de transferencia de carga de un electrón (ecuación 3). Este efecto ocurre de manera sistemática (Figura 4.2b) para distintos alcanotioles estudiados, variando el número de carbonos (n). La elección de NT en este estudio se debe a que representa una situación intermedia en cuanto al largo de su cadena hidrocarbonada. Volveremos sobre este punto más adelante. Las curvas correspondientes a las muestras recién preparadas demuestran la formación de una monocapa compacta para ambos sustratos. En la sección siguiente evaluaremos la evolución del cubrimiento en función del tiempo en ambos sustratos.

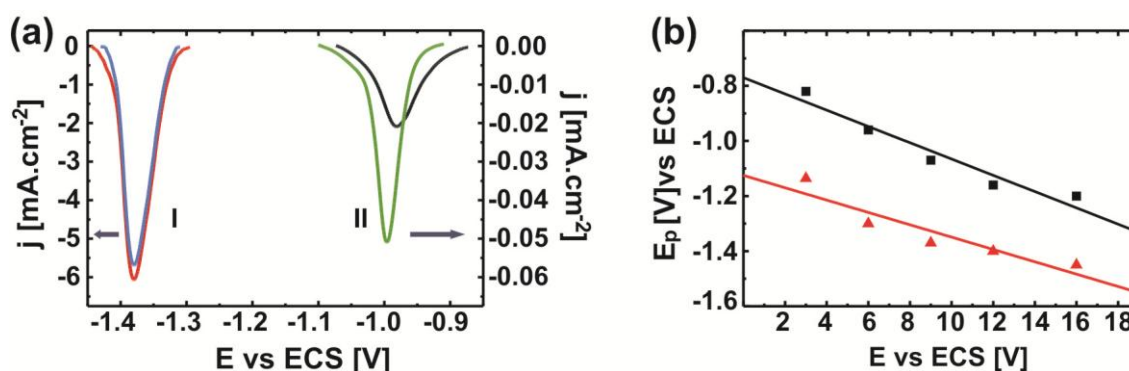


Figura 4.2. (a) Curvas de electrodesorción reductiva de NT sobre ambas superficies de Au. Densidad de corriente (j) versus potencial (E) a $v = 0.1 \text{ V s}^{-1}$ en 0.1 M NaOH. I) Au nanoestructurado, electrodesorción de NT, muestra recién preparada (línea punteada roja) y luego de 45 días de inmersión en etanol (línea llena azul). II) Au(111), electrodesorción de NT, muestra recién preparada (línea llena verde) y luego de 15 días de inmersión en etanol (línea llena negra). (b) Valores de E_p en función del número de átomos de C (n) para ambos sustratos: (▲) Au nanoestructurado y (■) Au(111).

4.3 Estabilidad de SAMs en función del tiempo

En la Figura 4.3 se presentan los datos correspondientes al monitoreo del cubrimiento (θ) de especies tiolato (NT), sobre ambos sustratos, en función del tiempo de inmersión en etanol absoluto. Dichos valores fueron calculados mediante la densidad de carga involucrada en las curvas de electrodesorción reductiva a distintos tiempos (Figura 4.2a). Se observa un rápido decaimiento para el cubrimiento de especies tiolato sobre los sustratos Au(111), que pierden aproximadamente un 40% de estas especies en tan solo dos semanas. Por otro lado, el cubrimiento permaneció invariable para los sustratos de Au nanoestructurados luego de 45 días de inmersión en etanol (uno de los solventes más agresivos para conservar SAMs de tioles). Es importante destacar que en las medidas electroquímicas la desorción de la SAM es un proceso irreversible, por lo que cada punto (medida) implica utilizar una nueva muestra (incubada previamente por un tiempo determinado).

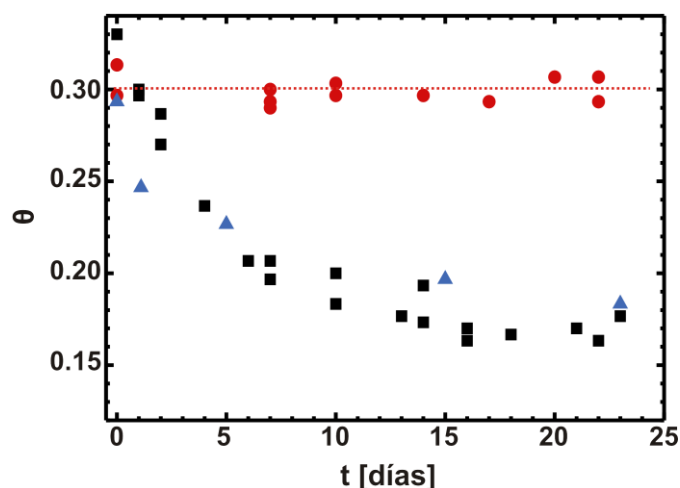


Figura 4.3. Cubrimiento de especies tiolato (θ) en función del tiempo de inmersión (t , en días) en etanol absoluto para SAMs de NT sobre, (●) Au nanoestructurado (■) Au(111). Dichos datos fueron calculados a partir de la integración de las curvas de electrodesorción reductiva correspondientes para cada caso. (▲) Datos de cubrimientos calculados por XPS a partir de la señal a 162 eV de S 2p para SAMs de NT en Au(111).

Otra forma de estimar el cubrimiento superficial de especies tiolato sobre superficies metálicas es mediante la técnica de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS). A diferencia de la electroquímica, donde solo las especies quimisorbidas al sustrato metálico son capaces de generar una respuesta faradaica en las curvas de corriente/potencial, en XPS tanto las especies quimisorbidas como fisorbidas pueden ser monitoreadas. De esta forma, el análisis de los datos provenientes de esta técnica no solo permite evaluar el cubrimiento total de especies de S en función del tiempo, sino también la posible interconversión de especies si es que estas permanecen fisorbidas en la interfaz sustrato/SAM. De esta forma, una correcta asignación de las componentes vinculadas al S 2p es indispensable para este tipo de análisis.

Esencialmente la señal correspondiente a S $2p_{3/2}$ para SAMs de alcanotioles sobre superficies metálicas puede descomponerse en tres componentes centradas en: ~161, ~162, 163-164 eV. La primera de ellas (161 eV), corresponde a S atómico diluido, producto de la degradación de la SAMs o de la adsorción de impurezas (S) de las soluciones de tioles.²⁷ La señal centrada en 162 eV, es por lo general la más intensa y corresponde S quimisorbido a la superficie metálica mediante un enlace tiolato.⁴ Especies poliméricas de S también han sido asignadas a esta energía de ligadura.²³ Por último la señal centrada a 163.5 eV puede ser asignada a especies de tiol “libre” no ligado a la superficie metálica o a especies disulfuro.²⁸ Otras especies oxidadas de S (sulfonatos por ejemplo) generan señales a energías de 166 eV o superiores.^{7, 29}

En la Figura 4.4 se muestran los resultados obtenidos por XPS para el monitoreo de las señales correspondientes a S 2p en función del tiempo de inmersión en etanol para SAMs de NT sobre los sustratos de Au(111) y de Au nanoestructurado.

Para los sustratos Au(111) se puede observar (Figura 4.4a, izquierda: I-muestra recién preparada, II- muestra luego de 23 días) al pasar de I a II un aumento en la señal a 163.5 eV y una consecuente disminución de la señal a 162 eV para SAMs de NT luego de 23 días de inmersión en etanol absoluto. Es posible inferir entonces que la disminución del cubrimiento de tiolatos en la SAM sobre Au(111) está asociada a la formación de especies disulfuro (ecuación 1) que permanecen fisorbidos por interacción con la cadenas carbonadas de las especies de NT que aún se encuentran quimisorbidas al sustrato metálico.

Por otro lado, para los sustratos de Au nanoestructurado (Figura 4.4a, derecha: I-muestra recién preparada, II-muestra luego de 45 días) no se observan cambios en la región correspondiente a S 2p, aún luego de 45 días de inmersión en etanol. Una leve cantidad de la componente a 163.5 eV se encuentra presente en las muestras frescas para ambos sustratos; la misma se debe a cantidades pequeñas remanentes de tiol “libre”.

En la Figura 4.4b se puede observar la evolución de las distintas especies de S en ambos sustratos a lo largo del tiempo seguidas mediante la deconvolución de las señales de XPS. Para el caso de los sustratos Au(111) se puede observar que las especies son las mismas a lo largo del tiempo pero una fracción de tiolatos quimisorbidos (162 eV) generan especies disulfuro (163.5 eV) y sulfuros (161 eV) durante la incubación en etanol. Cabe destacar que la cantidad total de especies de S se mantiene constante, lo cual confirma la interconversión de especies de S. Los datos indican que cerca del 40% de las especies tiolato desaparece dando origen a especies disulfuro y sulfuro a medida que se incrementa el tiempo de inmersión. Por otro lado, en los sustratos de Au nanoestructurado no hay un cambio apreciable en la cantidad de especies tiolato en función del tiempo. Es importante aclarar que a $t = 0$ existe una leve diferencia en la relación S(162 eV)/Au entre ambos sustratos. Esto se debe posiblemente al volumen de material alcanzado por los fotoelectrones (XPS), que es mayor en el caso de la estructura porosa del Au nanoestructurado (debido a su curvatura).

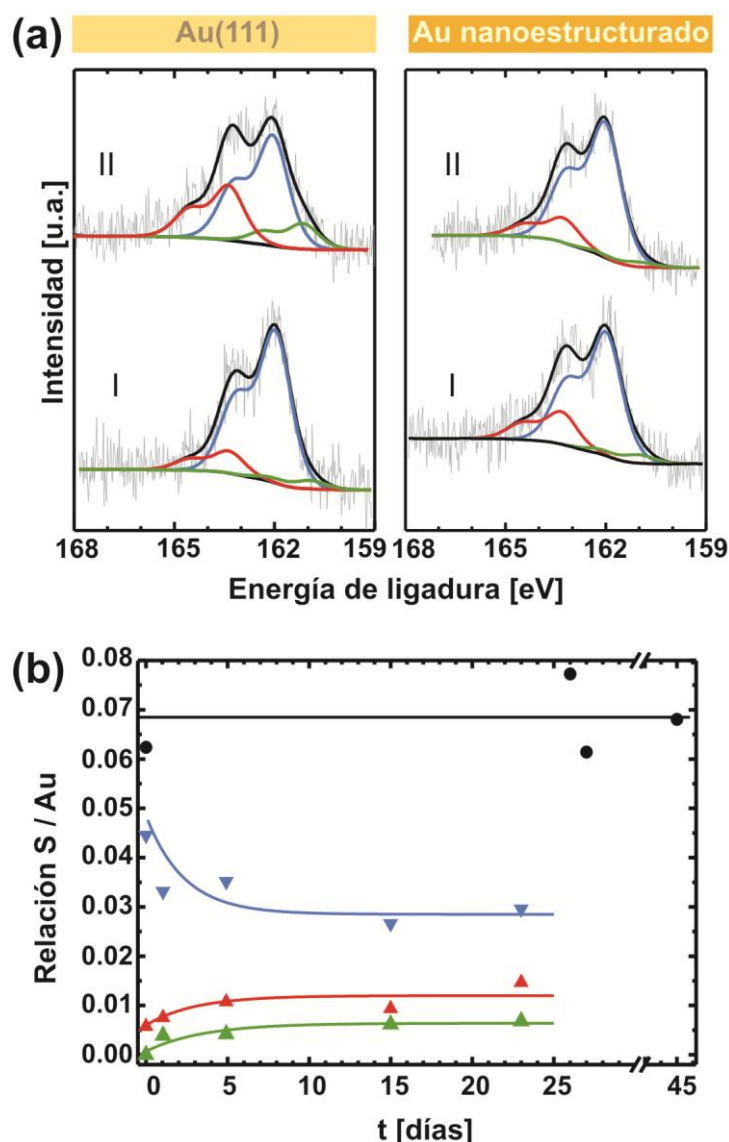


Figura 4.4. (a) Espectros de XPS (region S 2p) correspondientes a SAMs de NT. Izquierda: Au(111), I) muestra recién preparada, II) luego de 23 días de inmersión en etanol. Derecha: Au nanoestructurado, I) muestra recién preparada, II) luego de 45 días de inmersión en etanol. Azul: tiolatos, Rojo: disulfuros / tiol 'libre', Verde: S monomérico. (b) Evolución temporal (seguida mediante XPS) de la relación S2p/Au4f en SAMs de NT para ambos sustratos. En el caso de Au(111): ▼ S (tiolato, 162 eV)/Au, ▲ S (disulfuro, 163-164 eV)/Au, ▲ S (sulfuro, 161 eV)/Au. Para Au nanoestructurado: ● S(tiolato, 162 eV)/Au. Las líneas sólidas son curvas de tendencia.

La excelente concordancia entre ambas técnicas (electroquímica y XPS) puede observarse en la Figura 4.3 donde se grafican datos de cubrimiento de especies quimisorbidas para el sustrato Au(111) en función del tiempo de inmersión en etanol calculados por ambas técnicas. Para los sustratos de Au nanoestructurado ambas técnicas muestran un cubrimiento constante aún luego de 45 días de inmersión en etanol. Por otro lado, el cubrimiento calculado mediante voltamperometría (detección de especies capaces de transferir carga al sustrato) coincide con el calculado a partir de la relación de intensidades S2p(162 eV)/Au4f de XPS. Este hecho permite

confirmar que en estas SAMs la totalidad de la señal a 162 eV puede ser asignada a especies tiolato, es decir, no hay polisulfuros presentes en la muestra ya que estos no son capaces de transferir carga ³⁰ (si existieran estas especies en la interfaz el cubrimiento calculado por XPS debería ser mayor al de electroquímica).

Llegado este punto podemos concluir que tanto a partir de los resultados de XPS como de electroquímica, demostramos que los sustratos de Au nanoestructurado no presentan degradación significativa de las SAMs de tioles, aún luego de largos tiempos de inmersión en solventes agresivos. Por otro lado, la reacción de degradación que da origen a especies disulfuros (ecuación 1) parece ser la principal vía de descomposición de las SAMs en los sustratos Au(111). Es importante destacar que la formación de las SAMs se puede realizar tanto a partir de soluciones de alcanotioles como de alquildisulfuros, ya que estos últimos se rompen originando también especies tiolatos sobre el metal.¹⁻⁵ Esto lleva a una pregunta: ¿Por qué razón las especies disulfuro que se generan durante la degradación de la SAM no vuelven a romperse regenerando la monocapa?. Para entender este hecho es necesario recordar que en estas experiencias se utilizó etanol puro como medio para estudiar la evolución de las SAMs una vez formadas (en ausencia de alcanotioles y de alquildisulfuros en solución); de esta forma se genera un gradiente de concentración que impulsaría a las especies disulfuro generadas en la interfaz SAM-Au a migrar al seno de la solución. Sin embargo, debido a la interacción cadena-cadena con los tiolatos remanentes (favorecidas por el largo de la cadena del NT)³¹ dichas especies RS-SR permanecen fisisorbidas en la interfaz y no tienden a romperse para generar especies RSAu nuevamente.¹⁸ Esta interpretación permite explicar por qué la cantidad de S total detectada por XPS para Au(111) es constante en el tiempo (tiolatos + disulfuros), mientras que la cantidad de tiolato detectada, tanto por XPS como por electroquímica, disminuye en el tiempo.

4.4 Cálculos teóricos sobre la estabilidad de SAMs en superficies ordenadas y desordenadas

Finalmente, trataremos de relacionar la mayor estabilidad frente a los procesos de degradación y de electrodesorción reductiva que presentan las SAMs de tioles en las superficies de Au nanoestructurado en comparación con los sustratos Au(111) analizando la estructura superficial de ambos sustratos.

Un primer punto que es necesario retomar en esta instancia es el vinculado a la Figura 4.2b. A partir de la relación existente entre el potencial de electrodesorción (E_p) de la SAM en función del número de átomos de carbono (n) de la cadena hidrocarbonada puede verse que, independientemente del largo de cadena, es necesario entregar un exceso de energía para desorber la SAM de tioles de los sustratos de Au nanoestructurado respecto de los Au(111). En efecto puede observarse que los valores de E_p son siempre más negativos para los sustratos

nanoestructurados. Por lo tanto, podría concluirse que las especies tiolato se encuentran más fuertemente ligadas en la superficies de Au nanoestructurado que en las superficies de Au(111).

En principio, las superficies de Au altamente desordenadas contienen un gran número de defectos: adátomos (átomos individuales de menor coordinación respecto de los átomos superficiales), escalones, vacancias, donde el enlace de las especies tiolato podría estar reforzado. Estudios recientes han demostrado que en nanopartículas de Au protegidas por tiolatos existe un gran desorden superficial con moléculas de tioles enlazadas a adátomos de Au y presencia de vacancias.³²

Para analizar esta posibilidad hemos realizado entonces cálculos DFT de manera de estimar la energía de enlace (E_b) de una estructura $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$ R30° de metanotiol (MT) sobre distintos modelos superficiales (Figura 4.5). En todos los casos el cubrimiento de la SAM es $\theta = 1/3$. En la Figura 4.5 se muestran los casos estudiados: superficie de Au (111) (5a), superficie conteniendo islas de vacancias + escalones (5b), superficie con un arreglo ordenado de adátomos (5c), y por último una superficie con filas de adátomos (5d). Estos últimos tres casos representan distintas situaciones que pueden presentarse en la superficie de Au nanoestructurado, la cual contiene gran cantidad de átomos de Au poco coordinados.³³

La energía de enlace (E_b) por especie adsorbida puede ser definida como:

$$E_b = \frac{1}{N_{ads}} [E^{ads/Au} - E^{Au} - N_{ads} E^{ads}] \quad (4)$$

donde N_{ads} es el número de especies adsorbidas en la superficie por celda unidad y $E^{ads/Au}$, E^{Au} y E^{ads} dan cuenta de la energía total del sistema, la energía de la superficie limpia y la energía del radical MT respectivamente. Este último se forma cuando el CH_3SH pierde el átomo de H del grupo S-H en el proceso de adsorción. Un valor negativo de E_b implica un proceso de adsorción exotérmico con respecto a la superficie limpia y a las especies radicalarias involucradas.

A partir de los resultados presentados en la Figura 4.5 es posible determinar que las superficies con gran cantidad de defectos, conteniendo átomos de Au de baja coordinación, presentan mayor energía de enlace a los tiolatos que la que poseen estas especies en una superficie de Au(111) formada por terrazas planas. Esto está de acuerdo con datos reportados para sistemas de similares características.³⁴⁻³⁷

De los datos electroquímicos (Figura 4.2b) y de DFT (Figura 4.5) es posible inferir que las especies tiolato se encuentran más fuertemente ligadas a las superficies de Au nanoestructurado ya que las mismas poseen un gran número de defectos y átomos de Au poco coordinados.³³ Un análisis comparativo nos muestra que el aumento en la estabilidad electroquímica de las SAMs sobre estos sustratos es de ~ 0.4 eV (Figura 4.2b) cercano a los ~ 0.3 eV de diferencia que resultan de los cálculos de DFT para el enlace de los tiolatos sobre las superficies desordenadas y la del

Au(111) (Figura 4.5). Es entonces razonable suponer que la energía involucrada en la ruptura del enlace tiolato-Au es más alta en las superficies de Au nanoestructurado lo cual disminuiría marcadamente la degradación de las SAMs de tioles sobre estos sustratos.

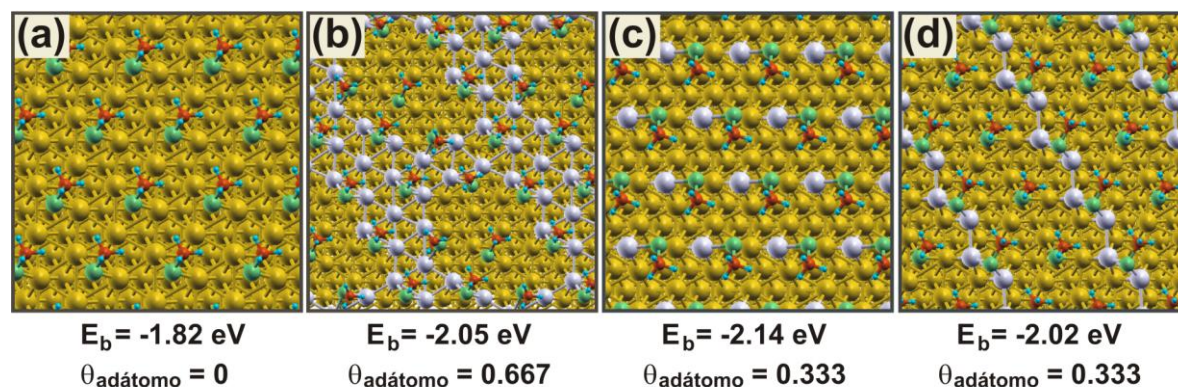


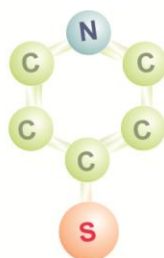
Figura 4.5. Estructuras optimizadas para MT sobre Au (111) para diferentes modelos superficiales. (a) Au(111); (b) vacancias + terrazas; (c) adátomos; (d) filas de adátomos. (blanco) adátomos de Au, (amarillo) átomos de Au, (verde) átomos de S, (rojo) átomos de C, (azul) átomos de H.

4.5 Química de superficie en SAMs de tioles aromáticos: tiolatos, disulfuros y sulfuros

Como hemos demostrado en la sección anterior la principal vía de degradación de SAMs de alcanotioles con largo de cadena intermedio o largo sobre Au(111) en contacto con un medio agresivo (como etanol) y en ausencia de luz consiste en la generación de alquildisulfuros a través de la reacción (1). Sin embargo, también existen otras posibles vías de degradación. En efecto, cuando las mismas SAMs están al aire y en presencia de luz, los alquilsulfonatos son el principal producto de degradación como ya ha sido descrito en la literatura.⁷ Sin embargo los mecanismos de degradación de SAMs de alcanotioles de cadena más corta y tioles aromáticos relativamente pequeños parecen ser más complejos, involucrando en algunos casos la ruptura del enlace C-S. En efecto, un estudio reciente reveló que SAMs de metanotiol preparadas a partir de dimetil disulfuro ó SAMs de cisteamina presentan una significativa cantidad de azufre elemental (S) co-adsorbido.³⁸⁻³⁹ La presencia de S ha sido atribuida a pequeñas contaminaciones en las soluciones de incubación²⁷ como así también a la ruptura del enlace S-C una vez formada la SAM sobre la superficie de Au(111).³⁹

A continuación estudiaremos la degradación de SAMs de 4-mercaptopiridina (PyS) sobre sustratos de Au(111). Dichas SAMs presentan múltiples aplicaciones en áreas tales como electrónica, materiales, física, química y biología. En particular, estas SAMs han sido propuestas como anclaje de diferentes cationes metálicos en el nitrógeno externo para metalizar las SAMs posteriormente mediante electroreducción del catión,⁴⁰⁻⁴¹ en sensado de cationes de metales

pesados,⁴²⁻⁴³ en electrónica molecular,⁴⁴ para conjugar biomoléculas y estudiar reacciones de transferencia de carga heterogénea,⁴⁵ como sondas en espectroscopía Raman amplificada de superficies (SERS),⁴⁶ entre otras.



**4- mercaptopiridina
(PySH)**

Esquema 4.1. Estructura de la molécula de 4-mercaptopyridina (PySH). Los hidrógenos no se muestran. Utilizaremos el acrónimo PyS para referirnos a moléculas de 4-mercaptopyridina adsorbida y PySH para las moléculas en solución.

El análisis de la PyS permitirá tener un panorama más completo sobre la influencia del medio, sustrato y naturaleza del tiol en los procesos de degradación de SAMs de tioles sobre Au y de esta forma facilitar la búsqueda de mecanismos que permitan aumentar y controlar su estabilidad en pos de las múltiples aplicaciones tecnológicas de estos sistemas.

Como hemos mencionado anteriormente la adsorción de alcanotioles sobre una superficie de Au(111), luego de 12-24 hs en una solución conteniendo el tiol en cuestión, da origen a una monocapa estable y densa con un cubrimiento de $\theta = 0.33$ con una distancia promedio entre tiolatos vecinos de $d \approx 0.5$ nm.⁴ Las redes formadas en estos casos son usualmente $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30^\circ$ y su superred $c(4 \times 2)$, aunque también para MT y ET (etanotiol) se ha informado la existencia de una red (3×4) .⁴⁷ Los tioles aromáticos presentan en general el mismo tipo de cubrimiento y ordenamiento superficial.⁴⁸⁻⁴⁹ Sin embargo, para SAMs de tioles aromáticos pequeños se han encontrado otras redes más diluidas ($\theta < 0.33$).⁵⁰⁻⁵² De hecho, en el caso de SAMs de PyS-Au(111) los estudios de STM en medios líquidos (usando distintos electrolitos) han revelado la existencia de redes diluidas tales como $(7 \times \sqrt{3})$ ó $(5 \times \sqrt{3})$ con cubrimientos de $\theta \approx 0.2$. Los cálculos de DFT de estas dos estructuras han confirmado que la red termodinámicamente más estable es la $(7 \times \sqrt{3})$, mientras que la red $(5 \times \sqrt{3})$, también observada experimentalmente, no parece ser una estructura estable.⁵³ Dichos cálculos también predicen que a potenciales químicos relativamente altos la estructura $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ es la más estable, a pesar de que dicha red aún no ha sido observada experimentalmente bajo ninguna condición de trabajo. Otra red incluso más diluida $(12 \times \sqrt{3})$ ha sido observada experimentalmente por STM en medio alcalino aunque durante la observación se corroboró que parte de la PyS se desorbía del sustrato.⁵⁴ Por otro lado, se ha inferido mediante la observación de esta SAM por STM en medio ácido, que las especies PyS

adsorbidas se encuentran dimerizadas en la posición del S formando una especie disulfuro adsorbida.⁵⁴⁻⁵⁵

Además de la complejidad relacionada a las estructuras superficiales encontradas existen también paralelamente reacciones de descomposición de 4-mercaptopiridina en solución (PySH), que generan especies sulfuro y disulfuro lo que introduce más incertidumbre aún sobre la composición química y estabilidad de las SAMs.⁵⁶ Existen evidencias electroquímicas y espectroscópicas que indican que tanto PySH como el 4-4'dipiridil disulfuro (Py-S-S'-Py) se descomponen espontáneamente en solución originando especies de S atómico y polimérico.²⁸ El rol del solvente utilizado para generar las SAMs también parece ser importante, ya que cuando se utiliza etanol como solvente para formar las monocapas de PyS, el sustrato de Au presenta una gran corrosión (agujeros monoatómicos en la superficie de Au).⁵⁷ Un mecanismo propuesto para explicar el proceso de corrosión involucra la formación de especies solubles del tipo PyS-Au(I)-SPy sin que se formen enlaces tiolato-Au.⁵⁸ Por todo lo expuesto resulta sumamente relevante estudiar no solo los procesos de degradación de las SAMs de PyS sobre Au(111) sino también la química superficial de este sistema y la naturaleza de las especies presentes durante el ensamblado de manera que los mismos puedan ser utilizados en la construcción de sensores, biosensores, dispositivos basados en electrónica molecular, etc.

En las siguientes secciones de este capítulo abordaremos desde un punto de vista experimental y teórico la adsorción de PySH en sustratos de Au(111) con la intención de clarificar y unificar los resultados hasta aquí informados sobre la compleja química superficial de este sistema: la observación de especies sulfuro, disulfuro y tiolato dependiendo del pH del electrolito o del solvente utilizado, el mecanismo de sulfidización de la superficie, la dependencia en la topografía superficial de acuerdo al solvente utilizado en la incubación y la degradación de estas SAMs sobre Au(111).

4.6 SAMs de 4-mercaptopiridina en Au(111). ¿Cuál es el rol del solvente en la formación de las SAMs y que especies están presentes en la interfaz de este sistema?

El autoensamblado de las SAMs de PyS sobre el Au(111), su caracterización y la búsqueda de mecanismos de degradación de las monocapas se realizaron de manera similar al esquema descrito para SAMs de NT. Sin embargo, como se describió en la sección anterior, el estudio de estabilidad de estas SAMs implica primeramente conocer las especies presentes en la interfaz PyS-Au(111) durante el autoensamblado para posteriormente elegir las mejores condiciones para la formación de la SAM y continuar luego con el estudio de su degradación.

Las SAMs de PyS se prepararon utilizando PySH adquirida de fuentes comerciales (Aldrich, 95%). Los sustratos de Au(111) se sumergieron en soluciones 1 mM de PySH en distintos solventes (0.1 M NaOH acuoso, etanol) por distintos períodos de incubación (10 minutos ó 24

horas). El objetivo de modificar variables como solvente y tiempo de incubación era encontrar las mejores condiciones de autoensamblado para formar una SAM de tiolatos (PyS) sobre Au(111) reduciendo al máximo la posible presencia de otras especies de S tales como S atómico o disulfuros. Las SAMs preparadas bajo cada una de las condiciones experimentales fueron secadas bajo corriente de nitrógeno y analizadas mediante: 1) voltamperometría cíclica en una celda electroquímica convencional, 2) STM en aire, 3) XPS en una cámara de ultra-alto vacío.

Comenzaremos discutiendo los resultados de XPS para este sistema. Las Figuras 6a y 6b muestran las señales de S 2p y N 1s respectivamente para una SAM de PyS sobre Au(111) incubada en una solución acuosa alcalina (0.1 M NaOH) con un tiempo de inmersión $t = 10$ minutos.

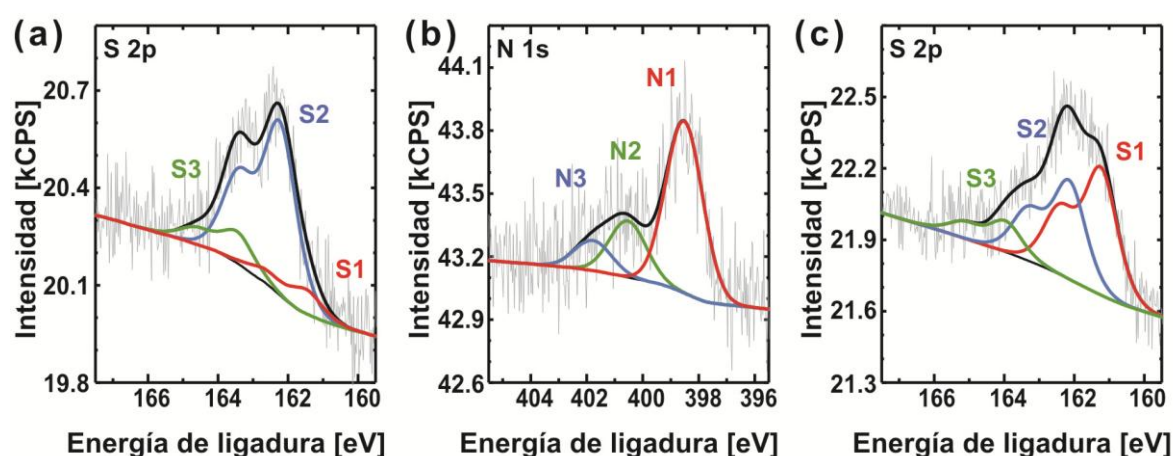


Figura 4.6. XPS de alta resolución para las regiones (a) S 2p y (b) N 1s de SAMs de PyS-Au(111) obtenidas a partir de soluciones 1 mM PySH utilizando solvente acuoso 0.1 M NaOH y $t = 10$ minutos. (c) Espectro S 2p de SAMs de PyS-Au(111) obtenidas a partir de soluciones 1 mM PySH utilizando solvente etanol y $t = 10$ minutos.

En la Figura 4.6a, la señal S1 (161.4 eV, S atómico) representa el 8,9%, S3 (163.4 eV, PySH libre, dipiridil-disulfuro y/o dipiridil-sulfuro)⁵⁹ el 14,3% y S2 (162.3 eV, tiolato PyS y/o polisulfuros) el 76,8%; siendo esta última la especie dominante. Por otra parte, podemos ajustar la la región 4f del Au con una única componente centrada en 84 eV, correspondiente a Au metálico, sin contribuciones de especies oxidadas. La Figura 4.6b muestra la región correspondiente al N 1s para la misma muestra. Dicho espectro puede ser deconvolucionado en tres componentes: N1 (398.5 eV, 68%), N2 (400.5 eV, 20%) y N3 (401.8 eV, 12%). Dichas señales han sido asignadas a la protonación del átomo de N piridínico en distinto grado de extensión: desprotonado (N1) ó protonado (N2 y N3).^{50, 60} La compleja emisión del N 1s ha sido interpretada teniendo en cuenta distintos grados de aceptación de H^+ por parte del grupo piridinico en SAMs generadas a partir soluciones acuosas.⁶¹

Además del análisis cualitativo y cuantitativo realizado sobre los espectros de XPS es posible también establecer relaciones entre los elementos para conocer la contribución de las distintas especies al cubrimiento superficial del sustrato. De esta forma, la relación entre S_{total}/Au , siendo ($S_{total} = S1+S2+S3$), arroja un valor de $\theta \approx 0.40$; un cubrimiento mayor al encontrado en general para SAMs de alcanotioles como el NT ($\theta \approx 0.33$). Este exceso resulta en parte de la contribución de otras especies además del tiolato (S2) como son el azufre atómico (S1) y el tiol libre y/o dipiridil-disulfuro y/o dipiridil-sulfuro (S3). Cuando realizamos el cociente solamente utilizando la señal de 162.3 eV, $S2/Au$, el cubrimiento superficial es de $\theta \approx 0.33$. Sin embargo, no es posible asegurar que el total de la señal S2 corresponda únicamente a especies tiolato. Como se mencionó anteriormente para el NT, la señal S1 de azufre atómico en general está acompañada por una pequeña cantidad de azufre polimérico, cuya señal en XPS aparece al mismo valor de energías que la de las especies tiolato (S2, 162.3 eV). De esta forma, el cubrimiento real de la SAM de PyS sobre Au(111) podría ser menor al estimado por el cociente $S2(\text{tiolato})/Au$ ($\theta < 0.33$). Una forma de resolver este problema es recurrir a medidas de electroquímica, tal como hicimos en el caso del NT. Como las especies de polisulfuro no transfieren carga al sustrato,³⁰ mientras que si lo hacen las especies tiolato; es posible determinar el cubrimiento real mediante electrodesorción reductiva y de esa forma saber cómo está compuesta realmente la señal S2 del XPS (que cantidad de tiolatos y polisulfuros contribuyen a la misma). Sobre este punto volveremos luego. Otra relación que se obtiene a partir de las medidas de XPS es $S_{total}/N \approx 1$, la cual está en concordancia con la fórmula molecular de PySH. Sin embargo, un 8.9% del S total corresponde a S atómico (S1). Por lo tanto para poder explicar que dicho cociente sea ≈ 1 es necesario admitir la presencia de especies ricas en N, como el dipiridil-disulfuro ó dipiridil-sulfuro que compensan la cantidad de S atómico y de esa forma se pueda justificar relación $S_{total}/N \approx 1$. Estas especies están presentes como se deduce de la señal S3 (14,3%), tal como mencionamos anteriormente.

Los resultados de XPS nos permiten concluir que para SAMs de PyS sobre Au(111) incubada en medio acuoso alcalino (0.1 M NaOH) con un tiempo de inmersión $t = 10$ minutos la mayor parte de las moléculas de PyS se encuentran adsorbidas a la superficie de Au(111) mediante un enlace tiolato (76,8%), incluyendo este porcentaje quizás una pequeña cantidad de polisulfuros. La interfaz de esta SAM contiene además 14,3% de especies dipiridil-disulfuro, dipiridil-sulfuro y posiblemente tiol libre (PySH) y un pequeño porcentaje de S atómico adsorbido (8,9%).

Por otro lado, en la Figura 4.6c, es posible observar la señal S 2p para una SAM de PyS en Au(111) pero incubada en medio etanólico con un tiempo de inmersión $t = 10$ minutos. En dichas condiciones la especie predominante en la interfaz es la correspondiente a S atómico (S1, 53,5%), mientras que S2 representa el 33,5% y S3 el 13%. La relación de cubrimiento superficial $(S1+S2)/Au$ representa un $\theta \approx 0.5$. Este espectro de S 2p es típico de una monocapa de S ($\theta \approx$

0.66) adsorbido sobre Au(111).⁴ La presencia dominante de S atómico es también concordante con la relación $S_{\text{total}}/N \approx 3$; lo que demuestra que las moléculas de PySH no permanecen intactas luego de adsorberse. Por lo tanto es posible inferir que en este caso, gran parte de la señal S2 podría corresponder a especies polisulfuros (en lugar de tiolatos). Por otra parte, para monocapas de S sobre Au(111) la señal S3 ha sido asignada a S elemental presente en la interfaz.⁶² Volveremos sobre este punto más adelante comparando estas asignaciones con los resultados obtenidos a partir de la electrodesorción reductiva de la SAM en estas condiciones.

Como hemos mencionado las curvas de electrodesorción reductiva (RDC) permiten determinar el cubrimiento y composición de las SAMs de PyS sobre Au(111) pero recordando que solo se detectan especies que transfieren carga al sustrato, es decir especies quimisorbidas. Sabemos a partir de trabajos previos^{4, 23} que las especies de S atómico adsorbidas sobre Au(111) originan en la RDC picos centrados en $E_p = -0.95$ V (S desorbido desde las terrazas del sustrato) y $E_p = -1.15$ V (S desorbido desde bordes de escalón del sustrato)³⁰ mientras que la desorción de especies tiolato en las SAMs de PyS tienen un pico centrado en $E_p \approx -0.6$ V.⁶³

En la Figura 4.7 se muestran las curvas típicas de RDC adquiridas con una velocidad de barrido $v = 0.05$ V.s⁻¹ utilizando 0.1 M NaOH como electrolito soporte. La curva roja corresponde a la SAM de PyS sobre Au incubada en solución alcalina por 10 minutos. Dicha muestra es la misma que ha sido medida por XPS en las Figuras 6a y 6b. El pico agudo de desorción a $E_p = -0.58 \pm 0.01$ V (vs ECS) ha sido interpretado (por analogía con la ecuación 3) como la desorción de tiolatos en base a la reacción:^{45, 63}

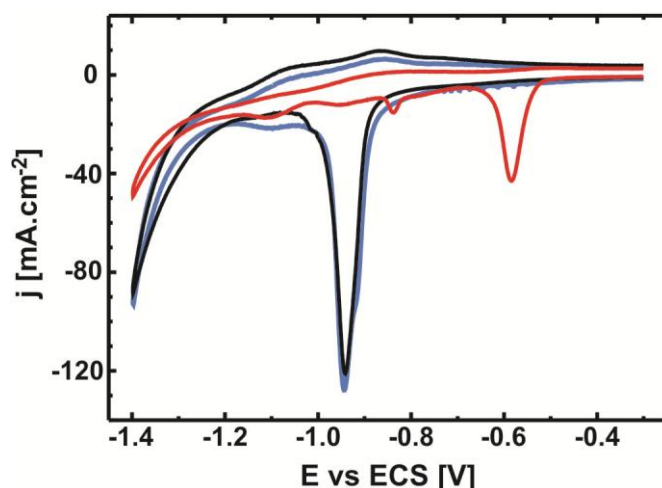
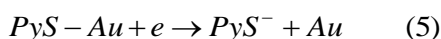


Figura 4.7. Curvas de electrodesorción reductiva de SAMs de PyS sobre Au(111) preparadas a partir de distintas condiciones de incubación. Roja: 10 minutos en solución acuosa 0.1 M NaOH. Negra: 24 horas en solución acuosa 0.1 M NaOH. Azul: 10 minutos en etanol. Las curvas azul y negra se encuentran superpuestas. Velocidad de barrido $v = 0.05$ V.s⁻¹. Electrolito soporte: 0.1 M NaOH.

Teniendo en cuenta que para una SAM compacta de alcanotioles en $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ de cubrimiento $\theta = 0.33$ la densidad de carga (q) involucrada en del pico de electrodesorción es de $75 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ es posible estimar el cubrimiento de la SAM de PyS mediante la integración de la carga del pico voltamperométrico centrado en -0.58 V en la RDC (Figura 4.7, curva roja, $E_p = -0.58 \pm 0.01 \text{ V}$). En este caso, la densidad de carga es de $q = 45 \pm 4 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ que corresponde a un cubrimiento superficial de $\theta \approx 0.20$. Este valor de cubrimiento es consistente con las redes $(7 \times \sqrt{3})$ ó $(5 \times \sqrt{3})$ observadas experimentalmente por STM en medio ácido con PySH en solución.⁵⁰

Además del pico central en -0.58 V (asignado a la desorción PyS) existen otros tres pequeños picos en -0.88 V , -0.95 V y -1.15 V . Como se dijo anteriormente estos picos coinciden con los descritos para la desorción de S desde terrazas y escalones del sustrato de Au(111) de acuerdo a la siguiente reacción:



La densidad de carga involucrada en estos pequeños picos es de $q = 10 \pm 4 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, lo que corresponde a un cubrimiento de S de $\theta \approx 0.02$ (considerando en este caso que la desorción de una monocapa de S (ecuación 6) en $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$, $\theta = 0.33$, tiene asociada una densidad de carga de $150 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, ya que este proceso involucra 2 electrones por cada S). A partir de las medidas electroquímicas (de las cargas de cada pico) podemos establecer que para estas condiciones de ensamblado la relación S atómico/tiolato es ≈ 0.1 (10%); un valor cercano al obtenido para dicho cociente mediante la integración de las señales de XPS (8.9%) en la Figura 4.6a.

El incremento en el tiempo de incubación de $t = 10$ minutos a $t = 24$ horas en solución acuosa alcalina (0.1 M NaOH) de 1 mM PySH genera un cambio dramático en la respuesta electroquímica de la SAM, Figura 4.7, curva negra. En primer lugar el pico centrado a -0.58 V (curva roja) desaparece completamente y los pequeños picos centrados en -0.88 V y -0.95 V (curva roja) se fusionan en un solo pico ancho centrado a -0.95 V involucrando ahora una densidad de carga de $q = 140 \pm 4 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ (curva negra). La densidad de carga y posición de este pico es típico de una SAM de S adsorbido sobre Au(111). Estos resultados pueden ser interpretados como la completa desaparición de la SAM de PyS que ha sido reemplazada o transformada en una monocapa de S adsorbido sobre el sustrato. Así mismo, si la incubación se realiza por tan solo $t = 10$ minutos pero utilizando etanol como solvente de la solución 1 mM de PySH, se observa el mismo resultado (curva azul): la voltamperometría sería consistente con la que presenta una monocapa de S lo cual hemos confirmado por XPS para esta muestra (Figura 4.6c).

Hasta aquí, los resultados de XPS y electroquímica permiten afirmar que la adsorción de PySH sobre Au(111) genera una monocapa diluída del tiol que es reemplazada/transformada a una SAM de S adsorbido a mayores tiempos de incubación. Dicho proceso es lento cuando se

utiliza una solución acuosa alcalina de 1 mM PySH en la incubación mientras que es sumamente rápido cuando dicho solvente es etanol.

Trataremos ahora de vincular los resultados obtenidos con la topografía superficial de estas SAMs, un punto sobre el cual existe marcada controversia, tal como se describió previamente. Para esto tomamos imágenes de STM al aire de las SAMs generadas a partir de las dos condiciones de incubación a $t = 10$ minutos: NaOH 0.1 M acuoso y etanol como solventes, Figuras 4.8a y 4.8b respectivamente.

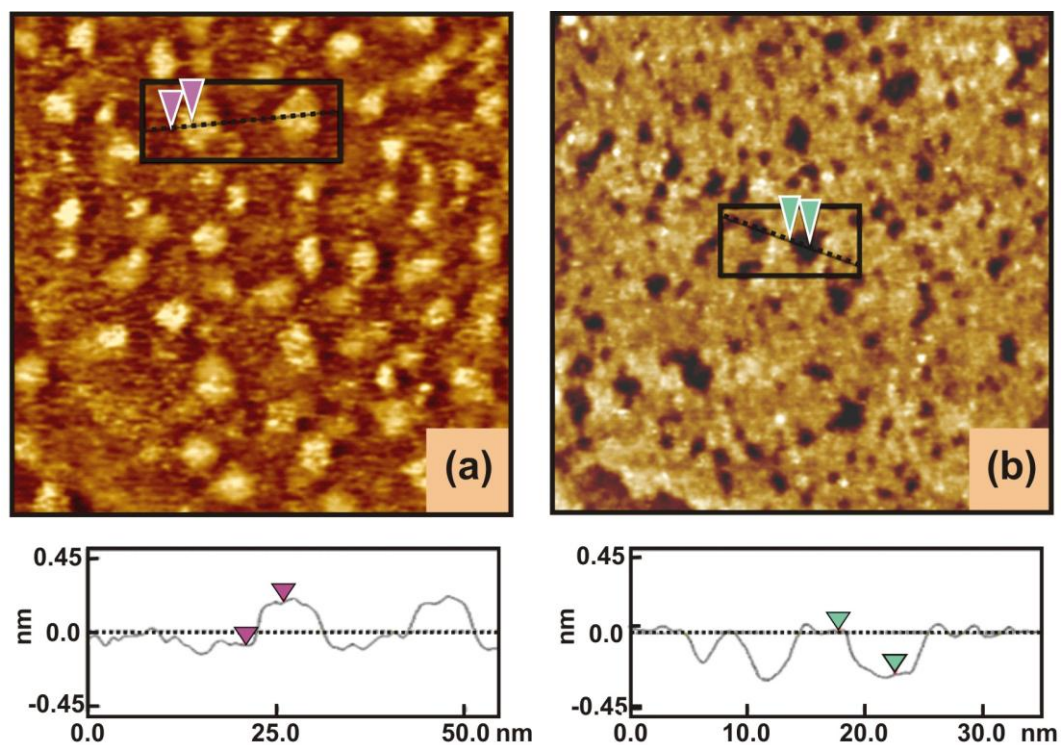


Figura 4.8. Imágenes de STM al aire ($100 \times 100 \text{ nm}^2$) de los sustratos de Au luego de haber estado en contacto durante $t = 10$ minutos con: (a) 1 mM PySH disuelta en solución acuosa 0.1 M NaOH, (b) 1 mM PySH disuelta en etanol. Los paneles inferiores indican la sección transversal de ambas imágenes y las alturas de (a) islas y (b) agujeros.

En la Figura 4.8a (cuando el solvente es solución acuosa 0.1 M NaOH) puede observarse un gran número de islas (zonas brillantes en la imagen) de tamaño nanométrico y altura igual a la distancia interplanar del Au(111) $\approx 0.246 \text{ nm}$. Por ende, pueden ser asignadas a islas de Au. Por otro lado, en la Figura 4.8b (cuando el solvente es etanol) la imagen es notablemente distinta y exhibe un gran número de agujeros (zonas oscuras en la imagen) también de profundidad $\approx 0.246 \text{ nm}$. Estas diferencias en la topografía pueden ser racionalizadas ahora en función de la química superficial de estos sistemas: SAMs de PyS sobre Au(111) en el caso (a) y SAMs de S sobre Au(111) en el caso (b). De hecho, la formación de islas ha sido reportada para SAMs de PyS así como para otros tioles aromáticos ensamblados desde solución acuosa⁶⁴⁻⁶⁵ mientras que los agujeros han sido hallados en SAMs de alcanotioles y S sobre Au(111).⁴ La presencia de agujeros

y corrosión progresiva en imágenes de STM de SAMs de PyS sobre Au(111) ha sido asignada a la formación de complejos solubles del tipo RS-Au(I)-SR⁵⁸ mientras que la presencia de islas de Au ha sido explicada debido a las importantes fuerzas intermoleculares entre los anillos aromáticos de la PySH.⁶⁴

De esta forma, la interacción molécula-sustrato y molécula-molécula son los factores principales involucrados en la formación y estabilidad de las SAMs de tioles/azufre sobre Au(111) mientras que la química superficial es la responsable de determinar la topografía de la superficie: la formación de islas o de agujeros sobre la superficie del Au. Para describir con mayor precisión los factores que determinan las distintas especies químicas presentes en la superficie del sustrato hemos realizado cálculos de DFT de distintas estructuras superficiales de PyS y S sobre Au(111). De manera similar a lo descrito para el NT, se calculó la energía de enlace (ecuación 4) para ambos sistemas: PyS-Au en $(7 \times \sqrt{3})$ y S-Au en $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})$ R30°. Dichas redes concuerdan con los cubrimientos encontrados experimentalmente. El cálculo se realizó con las correcciones de dispersión de largo alcance (fuerzas de van der Waals - vdW) y sin ellas, para evaluar justamente el impacto de la interacción molécula-molécula en estas SAMs. A diferencia de los cálculos mostrados previamente para MT, en estas SAMs de un tiol aromático el uso o no de fuerzas de vdW puede ser determinante. También han sido calculados los parámetros para la hipotética red $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})$ R30° en la SAM de PyS sobre Au(111), aunque esta red no ha sido encontrada experimentalmente aún. Las estructuras optimizadas para los casos descritos se muestran en la Figura 4.9 y en la Tabla 4.1.

La energía de enlace para la red $(7 \times \sqrt{3})$ de la SAM de PyS sin considerar fuerzas de vdW, es de $E_b = -1.64$ eV, un valor coincidente al obtenido para este sistema en estas condiciones.⁵³ Para la red $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})$ R30° la energía de enlace es levemente menor (en valor absoluto) que para la red anterior. Ambas energías de enlace son considerablemente menores que la calculada previamente para MT (-1.82 eV, Figura 4.5) y mucho menores que la estimada para una SAM de S en $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})$ R30° (-3.56 eV, Tabla 4.1) y para especies polisulfuros (-3.5 eV, octómeros de S).²³

Sin embargo, cuando en el cálculo se incluyen las fuerzas de vdW, los valores de energía de enlace para la SAM de PyS se incrementan notablemente, aunque siguen siendo mucho menores que los correspondientes a S adsorbido. En cualquier caso (con o sin vdW) el ángulo α molécula-sustrato (respecto de la normal al sustrato) es de 30° tal como ha sido estimado para otras SAMs de tioles aromáticos y alifáticos en Au(111).⁴

Es interesante el análisis de las cargas de Bader de este sistema (Tabla 4.1, Figura 4.9b). En todos los casos, el átomo de S de la SAM (PyS y S) tiene carga neta negativa. Los átomos de Au presentan un comportamiento más complejo. En el caso de la red $(7 \times \sqrt{3})$ los átomos de Au directamente enlazados a la cabeza de S son positivos (Figura 4.9b, rojo), mientras que el resto tienen carga negativa (Figura 4.9b, azul). La carga promedio por átomos de Au superficial es

prácticamente cero (+0.01 eV). Esto es notablemente distinto a lo que sucede para la hipotética red $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ en la SAM de PyS sobre Au(111), donde la carga superficial promedio de átomos de Au es positiva (+0.04 eV por átomo de Au), un valor cercano al calculado para MT en dicha red (+0.05 eV).⁴ Por otro lado, los átomos de Au superficiales en la red $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ en la SAM de S tienen la mayor carga positiva (+0.1 eV) comparada con todos los casos posibles para la SAM de PyS.

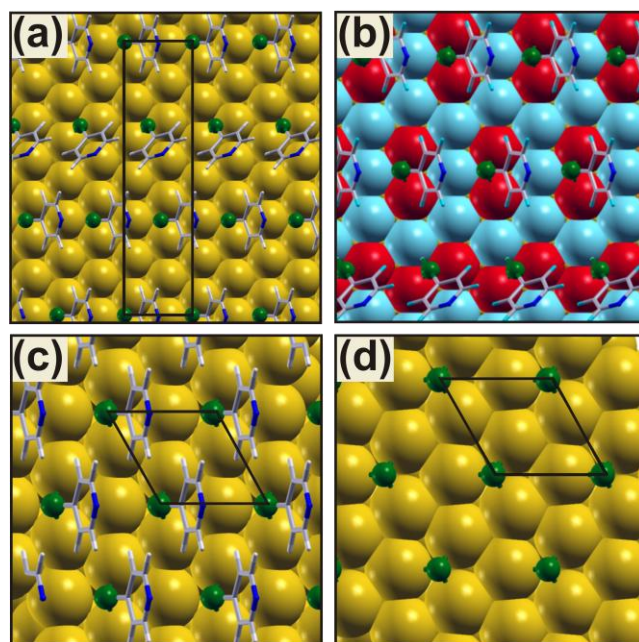


Figura 4.9: Estructuras optimizadas para: (a) $(7 \times \sqrt{3})$ PyS SAM sobre Au(111). La adsorción de PyS ocurre sobre los sitios bridge-face cubic center (b-fcc) y bridge. En esta red existen 3 moléculas por celda unidad y no son equivalentes entre ellas. (b) Cargas de Bader de la capa superficial de átomos de Au en la red $(7 \times \sqrt{3})$ de PyS; rojo: positivos; azul: negativos; (c) $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ PyS. En esta red hay una molécula por celda unidad.; (d) $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ S. En esta red hay un átomo de S por celda unidad. En colores, verde: S, gris: C, blanco: H, azul: N. La celdas unidad de cada red se encuentran marcadas en las figuras correspondientes.

La distribución de carga en la capa superficial de átomos de Au para las SAMs de PyS en $(7 \times \sqrt{3})$ es similar a la encontrada para 6-mercaptapurina, otra molécula heterocíclica que contiene N y que exhibe tanto una red diluida de especies tiolato como una topografía superficial sin presencia de agujeros.⁶⁵

A partir de los cálculos teóricos es posible delinear algunas conclusiones parciales. En primer término, las fuerzas de vdW contribuyen notablemente a estabilizar la SAM de PyS y deben ser incluidas en los cálculos de tioles aromáticos (no pueden ser obviadas tal como ha ocurrido previamente).⁵³ En segundo lugar, la fuerte interacción de los átomos S con la superficie de Au(111) puede explicar el reemplazo progresivo de especies PyS adsorbidas por parte del S atómico (independientemente de la fuente de S, volveremos sobre este punto más adelante). Por

último, es posible inferir que la carga positiva acumulada en la capa superficial del sustrato en las SAMs de S genera una repulsión entre átomos de Au vecinos (todos positivos) generando la eyección de los mismos y por ende la aparición agujeros en la superficie. Dichos agujeros “atómicos” nucleon luego formando agujeros nanométricos como los observados en la Figura 4.8.⁶⁶⁻⁶⁸ Por otro lado, el hecho de no observar agujeros en las SAMs de PyS puede justificarse por la alternancia de carga en los átomos de Au superficiales (negativos y positivos), lo cual reduciría significativamente la repulsión entre átomos de Au vecinos. Finalmente cabe mencionar que aun no tenemos una explicación convincente para explicar el origen de islas observadas en las SAMs de PyS, también presentes en las SAMs de otros tioles aromáticos.⁶⁴

Celda Unidad	Sitio	E_b / eV	$d_{S-Au}/\text{Å}$	$d_{S-C}/\text{Å}$	α/grd	Carga de Bader/e	
						S	Au promedio superficiales
(7x√3) PyS	<i>b-fcc</i>		2.48;2.48;3.25	1.78	37	-0.12	
	<i>b-fcc</i>		2.51;2.51;3.15	1.78	36	-0.07	
	<i>b-fcc</i>		2.50;2.42;3.16	1.78	36	-0.10	
	<i>b-fcc</i>	-2,47	2.51;2.49;3.05	1.78	36	-0.04	+0.01
	<i>b</i>	-1.64	2.47;2.48;3.68	1.79	31	-0.15	+0.02
(√3x3)R30° PyS	<i>b-fcc</i>		2.44;2.48;2.95	1.78	32	-0.15	
	<i>b-fcc</i>	-2.44	2.49;2.49;3.09	1.78	31	-0.15	+0.04
	<i>b-fcc</i>	-1.41	2.49;2.48;3.08	1.78	31	-0.11	+0.04
(√3x3)R30° S	<i>fcc</i>	-3.98	2.41;2.41;2.41	-	-	-0.3	+0.1
	<i>fcc</i>	-3.56	2.41;2.41;2.42	-	-	-0.25	+0.12

Tabla 4.1. Energías de enlace (E_b), datos estructurales de las distancias S-Au (d_{S-C}) de las distintas moléculas de la celda unidad, y cargas de Bader para los átomos de S y Au de las distintas redes de SAMs de PyS ó S. Datos en negro: considerando fuerzas de vdW. Datos en rojo: sin considerar fuerzas de vdW.

4.7 Posibles mecanismos de degradación: en superficie y en solución

Como se describió anteriormente las SAMs de PyS sobre Au(111) presentan un comportamiento distinto al analizado para NT. La interfaz de este sistema es mucho más compleja y las condiciones para lograr una monocapa de PyS (a través de un enlace tiolato a la superficie) depende fuertemente del tiempo y del solvente de incubación. En todos los casos, el principal producto de degradación de estas SAMs es S adsorbido. De la Tabla 4.1 resulta evidente (energías

de enlace) que las especies de S atómico adsorbido son mucho más estables que las especies tiolato, por lo que en presencia de S, la PyS adsorbida sería desplazada rápidamente de la superficie del Au lo cual llevaría a una rápida degradación de la capa (sulfidización de la superficie). Llegado este punto es necesario analizar distintas reacciones o mecanismos que pueden generar S atómico adsorbido, en distintas cantidades, dependiendo de las condiciones de incubación y preservación de las SAMs de PyS sobre Au(111).

Un primer mecanismo (M1) podría involucrar simplemente la ruptura del enlace S-C en la superficie generando especies de S adsorbido y piridina (Py).⁶⁹ La ruptura S-C ha sido propuesta recientemente en SAMs de alcanotioles cortos o SAMs de tioglucosa.^{39, 70} Una segunda posibilidad (M2) es la adición de una molécula PySH a una molécula de PyS adsorbida (a través del N terminal). Dicha reacción genera una especie S-Py-Py adsorbida y S libre. Esta última especie puede readsorberse desplazando las especies PyS y S-Py-Py adsorbidas.⁵⁶ Otro mecanismo posible (M3) involucra la adsorción de PySH en defectos superficiales (adátomos de Au) originando especies del tipo PyS-Au(0)-SPy y como reacción paralela la formación de especies Py-S-Py y S.⁵⁸ Según este mecanismo, en presencia de oxígeno y etanol las especies PyS-Au(0)-SPy pueden solubilizarse generando complejos del tipo PyS-Au(I)-SPy, lo cual resultaría en la corrosión masiva de la superficie y explicaría desde otro punto de vista la presencia de agujeros en la SAM degradada.⁵⁸ Por último, un cuarto mecanismo (M4) podría ser el reemplazo de las especies PyS adsorbidas por parte de S atómico presente como impureza en la droga madre de PySH.⁴⁵ En las siguientes secciones trataremos de unificar todos los datos experimentales y los mecanismos propuestos de manera de dilucidar como ocurre la degradación de la SAM de PyS sobre Au(111).

Reacciones superficiales de la SAM de PyS sobre Au(111). De manera de testear si especies de S presentes en la droga madre pueden ser las causantes de la sulfidización de la superficie hemos ensamblado la PySH desde una solución alcalina 0.1 M NaOH por 10 minutos. Este procedimiento genera la formación de una SAM de PyS adsorbida mayormente como tiolato sobre el Au(111), tal como se observa a través de la curva de electrodesorción reductiva (Figura 4.10, curva roja). Una vez formada la SAM por este procedimiento, la muestra fue transferida a recipientes conteniendo agua o etanol (sin PySH) por 24 hs.

Las curvas de RDC muestran que cuando se utiliza agua como medio para preservar la SAM, existe una pequeña cantidad de S atómico presente (Figura 4.10, curva azul) y que esa cantidad es similar a la que contiene originalmente la SAM de PyS. También se observa una leve disminución de la cantidad del tiolato presente inicialmente. El hecho de que la cantidad de S atómico no cambie significativamente indica que en agua las SAMs de PyS no son proclives a sulfidizarse a partir de la ruptura del enlace C-S de la PyS adsorbida. La ligera disminución de PyS adsorbida (y

la no aparición de nuevas especies que transfieran carga en el voltamperograma) puede ser entendida en función de la formación de especies disulfuro, al igual que ocurría en el NT. Todo lo contrario sucede cuando la SAM de PyS es conservada durante 24 hs en etanol. En este caso la cantidad de S atómico adsorbido se incrementa notablemente, de $q = 10 \pm 4 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ a $q = 100 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ lo que implica un incremento en el cubrimiento de S atómico de $\theta \approx 0.02$ a $\theta \approx 0.20$. Más importante aún es que el pico de desorción de la SAM de PyS desaparece completamente pasando de un cubrimiento inicial de $\theta \approx 0.20$ a $\theta \approx 0$. Esto implica que las especies PyS previamente adsorbidas se transforman completamente en S atómico luego de preservar por 24 hs las SAMs en etanol. La demostración de este proceso superficial es interesante ya que permite descartar en el mecanismo de sulfidización (degradación) la necesidad de moléculas adicionales de PySH en solución o la presencia de S como impureza y por otro lado demuestra que dicho proceso se encuentra marcadamente acelerado en etanol. De esta forma, los mecanismos M2 y M4, que podrían ocurrir paralelamente, no son estrictamente necesarios para la sulfidización de la superficie de Au(111) a partir de la SAM de PyS.

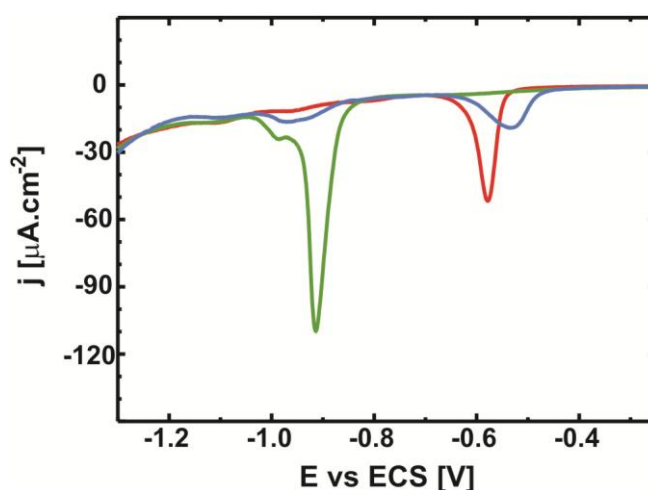
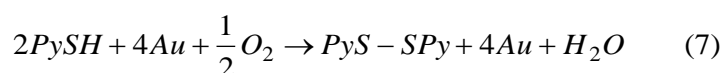


Figura 4.10. RDC para SAMs de PyS sobre Au (111) preparadas a partir de soluciones acuosas alcalinas (0.1 M NaOH) con $t = 10$ minutos (curva roja) luego de la inmersión por 24 hs en: agua (azul) ó etanol (verde). Velocidad de barrido: $0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$. Electrolito soporte: 0.1 M NaOH.

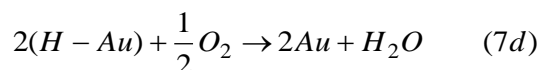
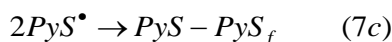
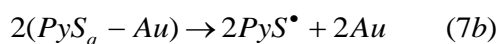
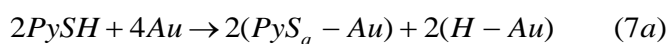
Una forma de comprobar si existen otros mecanismos paralelos a la reacción superficial (que involucre a especies presentes en la solución de incubación) es reducir el tiempo de inmersión en etanol puro de la SAM ya formada (de 24 hs a 10 minutos). Como hemos demostrado (Figura 4.7), cuando la solución de incubación es 1 mM PySH en etanol durante 10 minutos, el resultado es una monocapa de S atómico. Sin embargo si la SAM formada (en medio alcalino 10 minutos) es transferida 10 minutos a etanol puro, no hay una degradación significativa de la SAM de PyS, como si sucede a 24 horas, lo que sugiere que la reacción es relativamente lenta en la superficie. Esto implica que cuando se utiliza etanol como solvente para el autoensamblado deben existir

otros mecanismos que operan paralelamente al de la reacción superficial y que involucra especies de PySH y/o S de la solución, ya que en solo 10 minutos el sistema está completamente recubierto de S atómico. El hecho de que estas reacciones paralelas no ocurran en medio acuoso alcalino (donde si podemos formar una SAM mayormente compuesta de PyS en 10 minutos) puede estar relacionado con la menor solubilidad de las especies conteniendo S en dicho medio respecto de etanol puro.

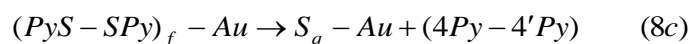
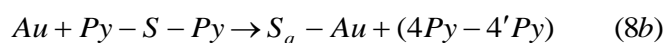
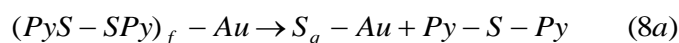
Posible mecanismo de sulfidización de la superficie de Au a partir de reacciones superficiales. Nuestros resultados para la degradación de las SAMs de PyS sobre Au(111) en contacto con agua o etanol puros pueden ser explicados mediante la siguiente reacción:



a través el siguiente mecanismo:



los subíndices q y f en las ecuaciones 7a-c indican especies quimisorbidas y fisorbidas respectivamente. Nosotros proponemos que en etanol la especie fisorbida dipiridil-disulfuro (PyS-SPy) reacciona dando dipiridil-sulfuro (Py-S-Py) y S atómico, el cual se quimisorbe rápidamente sobre la superficies de Au(111) de acuerdo a las siguientes reacciones:



Este mecanismo permite explicar la completa sulfidización que ocurre en la superficie a partir de una SAM de PyS sobre Au(111). La reacción 7 es consistente con las imágenes de STM que muestran la dimerización en la posición del S de la PyS adsorbida formando un dipiridil-

disulfuro.⁵⁴⁻⁵⁵ A su vez las especies Py-S-Py han sido detectadas en la solución de ensamblado de las SAMs de PyS sobre Au (reacción 8a).⁵⁸ Más aún, se ha demostrado que la fotólisis con radiación UV de las especies Py-S-S-Py produce especies de S₈ a través de la formación de especies radicalarias.⁵⁸

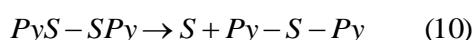
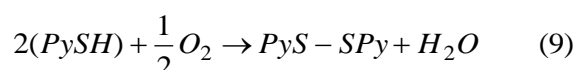
Estos resultados demuestran que el mecanismo de degradación es más complejo que la simple ruptura del enlace S-C (M1). La distancia del enlace S-C para PyS adsorbida tanto en (7 x $\sqrt{3}$) como en ($\sqrt{3}$ x $\sqrt{3}$) R30° es $d_{S-C} = 0.178$ nm (Tabla 4.1). Dicha distancia es menor que para PySH en vacío ($d_{S-C} = 0.183$ nm) e incluso también menor que para alcanotioles quimisorbidos sobre Au(111) ($d_{S-C} = 0.182$ nm); lo que en realidad sugiere un refuerzo del enlace S-C en la PyS adsorbida, descartando así que el mecanismo M1, la ruptura directa del enlace, sea la principal vía de degradación.

Planteados los mecanismos precedentes de degradación aún resta por conocer por qué la sulfidización ocurre más lentamente en solución acuosa 0.1 M NaOH respecto de etanol y por qué este mecanismo de degradación para tioles aromáticos no ocurre en tioles alifáticos, tal como mostramos para el NT. Sobre este último punto, resulta importante señalar que tioles arilo derivados, con grupos donores de electrones en la posición *para* del anillo aromático, presentan mayor facilidad para generar los correspondientes disulfuros que los tioles alifáticos.⁷¹ También se ha demostrado que la reacción 7 (formación de PyS-SPy) se encuentra inhibida en presencia de iones OH⁻, lo que explicaría porque el proceso de sulfidización es más difícil cuando la PySH es ensamblada durante 10 minutos desde soluciones alcalinas acuosas (0.1 M NaOH). Por otro lado, la especie 4-Py-4'-Py (reacción 8c) es más soluble en etanol, favoreciendo el desplazamiento de la reacción hacia estos productos de degradación. Finalmente es interesante señalar que la producción de disulfuros (reacción 7) es catalizada por nanopartículas de Au de 3.5 nm.⁷¹ En nuestro sistema dicho proceso catalítico podría ocurrir en los bordes de las islas de tamaño nanométrico generadas (Figura 4.8a) durante el autoensamblado de la PyS en Au(111). Remarcamos nuevamente que estas especies, así como otros sulfuros orgánicos intermediarios que no se encuentran quimisorbidos en la superficie de Au(111), no pueden ser detectados en la curvas de desorción reductiva ya que no transfieren carga al sustrato.⁷²

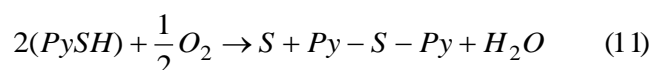
Si los mecanismos descritos anteriormente operan realmente en el proceso de degradación de la SAM de PyS debería ser posible explicar los diversos resultados informados para este sistema en base a imágenes de STM en distintos electrolitos y/o valores de pH. En primer lugar mediante esta técnica se detectaron tanto especies disulfuro adsorbidas ($d_{S-S}=0.2/0.3$ nm) en medio ácido como los tiolatos ($d_{S-S}=0.5$ nm) en medio alcalino.⁵⁴ Además, en este último caso se observó un lento y progresivo desorden superficial de la SAM que no pudo ser explicado. En vistas de los mecanismos propuestos (ecuaciones 7 y 8) es posible unificar dichos resultados: los tiolatos son primeramente oxidados a disulfuros los cuales a través de la formación del sulfuro de dipiridilo forman luego S atómico quien finalmente forma una monocapa en la superficie. Esto

explica la presencia de disulfuros y la lenta desorganización de la SAM durante el proceso de transformación que culmina con especies de S atómico adsorbido. La observación por STM de disulfuros o tiolatos dependerá de la velocidad que adquiere el proceso de degradación en los distintos electrolitos soporte.

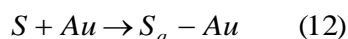
Possible mecanismo de sulfidización de la superficie de Au a partir de soluciones conteniendo PySH. Como vimos anteriormente una SAM de PyS en Au(111) formada a partir de medio acuoso alcalino no sufre una degradación significativa cuando es conservada en etanol puro durante 10 minutos, sin embargo, cuando el proceso de autoensamblado se lleva a cabo desde una solución 1 mM PySH en etanol por 10 minutos, la SAM resultante es únicamente S atómico adsorbido. Este hecho implica que (para etanol 10 minutos) además de la reacción superficial descrita anteriormente existen otros mecanismos que deben operar simultáneamente y que requieren la presencia de PySH en solución. Es interesante destacar que otros autores han demostrado que soluciones de PySH purificadas (libres de S como contaminante) se descomponen a S a lo largo de unos pocos días.⁶³ Es posible entonces proponer el siguiente mecanismo de degradación de PySH en solución (sin participación de la superficie de Au):



siendo la reacción global (9+10):



lo cual resulta finalmente en:



Estas reacciones en solución deberían estar favorecidas en etanol (dada la alta solubilidad del S atómico en este medio) lo cual podría explicar la rápida sulfidización de la superficie durante el proceso de autoensamblado, es decir desde soluciones conteniendo PySH a tiempos de 10 minutos.

Este mecanismo se encuentra soportado además por el análisis de cromatografía gaseosa acoplada con espectrometría de masa (CG-masa) que hemos realizado de PySH 95% (comercial), el cual muestra la presencia de especies PySH, Py-S-Py y Py-S-S-Py (Figura 4.11) a tiempos de retención 5.34, 9.91 y 11.31 minutos respectivamente (National Institute of Standards and Technology).

La formación de especies Py-S-S-Py a partir de PySH (ecuación 9) en distintos solventes se ha confirmado mediante espectroscopía UV-visible.⁷³ Sin embargo dicha reacción es lenta en

soluciones acuosas. Para comprobar este hecho realizamos la siguiente experiencia: colocamos una placa limpia de Au(111) en la celda electroquímica y utilizamos una solución de 1mM PySH en NaOH 0.1 M envejecida por 24 horas para realizar voltamperometría cíclica en este medio. Los voltamperogramas muestran un solo pico anódico y otro catódico característicos de la adsorción/desorción de PyS (presente en la solución) sobre la superficie de Au(111). El pico catódico se encuentra centrado en -0.58 V y la densidad de carga de ambos (catódico y anódico) es de $q = 50 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$. Estos datos son consistentes con la formación de la SAM de PyS sobre Au(111) tal como se demostró en la Figura 4.7, curva roja. Por otro lado, la ausencia del pico a -0.95 V, que se observa para SAMs de PyS en Au(111) incubadas 24 horas en medio alcalino (Figura 4.7, curva negra), permite inferir que en dicha degradación no están involucradas moléculas de PySH en solución ó impurezas de S (que aunque están presentes en pequeña cantidad en la droga madre no serían demasiado solubles en este solvente) sino que el principal mecanismo de degradación es la reacción superficial descrita previamente.

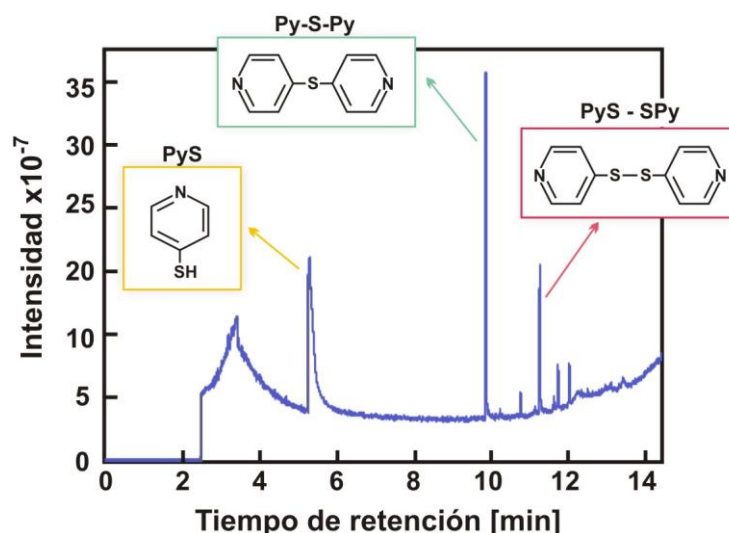
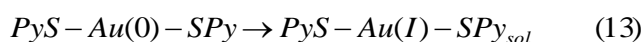


Figura 4.11. CG-masa de PySH 95%. Se observa la presencia de especies PySH, Py-S-Py, Py-S-S-Py con una relación de áreas: 10:3:1 respectivamente.

El hecho de que ambos caminos de sulfidización (superficial o en solución) sean lentos en solventes acuosos alcalinos explica porque es posible obtener para tiempos cortos (10 minutos) una SAM de PyS en Au(111) cuando dicho medio es utilizado como solvente durante el proceso de incubación.

Corrosión superficial de la superficie de Au(111). Las imágenes de STM de la superficie de Au(111) luego del proceso de adsorción en ambos medios (alcalino y etanol) muestran grandes diferencias en su topografía (Figura 4.8). Mientras que la presencia de islas luego del ensamblado

de PyS en medio alcalino (Figura 4.8a) es típica para SAMs de tioles aromáticos⁶⁴ la extensa corrosión observada cuando etanol es utilizado como solvente (Figura 4.8b) ha sido asociada a la formación de complejos solubles del tipo PyS-Au(I)-SPy (M3).⁵⁸ Se ha propuesto que estas especies se generan mediante la oxidación con oxígeno molecular presente en el medio de reacción de manera que:



donde el prefijo sol implica especies solubles en solución.

Sin embargo nosotros hemos demostrado que dicha superficie (utilizando etanol como solvente de incubación) se encuentra completamente cubierta por una monocapa de S adsorbido sobre Au(111). Por otro lado, es bien conocido que la adsorción de S atómico genera una gran corrosión de la superficie de Au (presencia de agujeros).^{23, 30} De esta forma, aunque el mecanismo M3 no puede ser completamente descartado, creemos que la presencia de agujeros superficiales está fuertemente relacionada a la química superficial del sistema y cuyo principal promotor es la adsorción del S atómico.

4.8 Conclusiones

La degradación de SAMs en el tiempo es uno de los principales problemas para la aplicación tecnológica de estos sistemas y por ende un acabado conocimiento de cómo ocurre dicho proceso resulta fundamental para encontrar métodos que permitan preservar las SAMs. En este capítulo hemos abordado el problema de la estabilidad y mecanismos de degradación de SAMs de tioles alifáticos y aromáticos sobre Au. Varios aspectos relacionados a estos sistemas han sido estudiados: nanoestructuración del sustrato, efecto del solvente, especies resultantes de la degradación, naturaleza del tiol ensamblado, etc. A continuación se resumen algunos de los puntos más relevantes:

- Las superficies de Au nanoestructurado presentan mayor resistencia a la degradación de SAMs de alcanotioles como también mayor dificultad en cuanto a la electrodesorción reductiva de los mismos en comparación a superficies Au(111). Dicho aumento de estabilidad puede estar relacionado a la presencia de un gran número de defectos, vacancias y escalones presentes en la superficies de Au nanoestructurado donde la energía de enlace de los tioles es mayor comparada a la de las terrazas planas (111).
- El principal producto en la degradación de estas SAMs de alcanotioles en medio etanólico es la formación de especies disulfuro que permanecen retenidas en la interfaz dada la interacción, mediante fuerzas de vdW, con cadenas vecinas.

- Las superficies de Au nanoestructuradas se transforman en plataformas atractivas para aplicaciones de las SAMs de tioles en nanotecnología. En particular para la fabricación de dispositivos de detección ya que poseen ventajas tales como aumento de la estabilidad electroquímica y frente a los procesos de degradación, gran relación señal/ruido para la detección amperométrica debida a la mayor área de estos sustratos, gran amplificación de la señal Raman (SERS) debido a la nanoestructuración superficial⁷⁴ y por último son superficies fáciles de reproducir y su alta área superficial puede ser controlada de manera sistemática.³³ En el Capítulo siguiente se mostraran algunas de estas ventajas.

- En este Capítulo también hemos estudiado la formación y la estabilidad de SAMs de PyS sobre Au(111). Este estudio permitió dilucidar algunos aspectos que hasta el momento no habían sido explicados: la observación de especies sulfuro, disulfuro y/o tiolato dependiendo el solvente o pH del electrolito, el mecanismo de sulfidización de la superficie y la fuerte dependencia de la topografía con el solvente utilizado. En este sentido, demostramos por primera vez que el proceso de sulfidización no solo ocurre por la descomposición en solución de la PySH, como ha sido sugerido, sino también a través de una reacción superficial. Ambos mecanismos (degradación en solución y en superficie) son lentos en soluciones acuosas alcalinas lo que permite, a tiempos cortos de incubación, la formación de SAMs de PyS sobre Au(111) con un cubrimiento de $\theta = 0.20$.

- Las SAMs de PyS sobre Au(111) son completamente degradadas a S atómico adsorbido mediante la inmersión en etanol puro por 24 horas. Esta reacción superficial permite generar superficies de Au con muy bajos cubrimientos de S adsorbido ($\theta < 0.33$), un cubrimiento que no puede ser obtenido cuando sustratos de Au son incubados directamente en soluciones de S o polisulfuros.

- Las observaciones previas de islas o agujeros en la topografía del sustrato de Au(111) recubierto con las SAMs de PyS, dependiendo de las condiciones de incubación, pueden ser ahora claramente explicadas en función de la química superficial de estos sistemas: islas para una SAM de PyS y agujeros para S adsorbido. Las cargas de Bader obtenidas por DFT de los átomos superficiales de Au (que se encuentran en contacto con la SAM de PyS) indican una acumulación muy pequeña de carga positiva (comparada con la SAM de S) en estos sistemas. Esto permite inferir una muy baja tensión superficial en los sustratos de estas SAMs y como consecuencia la ausencia de agujeros en la topografía. No así en las SAMs de S, donde la repulsión generada entre átomos vecinos de Au sería la causante de su eyección y el motivo por el cual se observa dicha corrosión superficial.

- Los cálculos de DFT de SAMs de PyS sobre Au(111) demuestran la gran estabilidad que adquieren este tipo de sistemas (tioles aromáticos) al considerar fuerzas de vdW entre tiolatos vecinos. Por otro lado, el refuerzo del S-C en PyS luego de la adsorción permite descartar la

ruptura del enlace S-C como responsable de la sulfidización de estos sistemas, lo que refuerza la idea de un mecanismo de degradación vía formación de especies disulfuros, tal como sucede para tioles alifáticos (NT).

- La degradación superficial de la SAM de PyS sobre Au(111) ocurre mediante la formación de especies dipiridil-disulfuro y la misma es catalizada en los bordes de las islas formadas durante el ensamblado de PyS. Posteriormente la especie disulfuro se descompone originando S adsorbido. Este mecanismo soporta la observación previa de especies disulfuro, tiolato y sulfuro sobre la superficie. También permite explicar que una de las redes típicas de SAMs de tioles sobre Au [$(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$] no ha podido ser hallada para este sistema ya que la interferencia de especies de S atómico (que se adsorben más fuertemente que la PyS) bloquea dicho proceso.

4.9 Referencias

- [1] Gates, B. D.; Xu, Q.; Stewart, M.; Ryan, D.; Willson, C. G.; Whitesides, G. M., New Approaches to Nanofabrication: Molding, Printing, and Other Techniques. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (4), 1171-1196.
- [2] Love, C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M., Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103-1169.
- [3] Vericat, C.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., Self-assembled monolayers of alkanethiols on Au(111): Surface structures, defects and dynamics. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7* (18), 3258-3268.
- [4] Vericat, C.; Vela, M. E.; Benitez, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C., Self-assembled monolayers of thiols and dithiols on gold: New challenges for a well-known system. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (5), 1805-1834.
- [5] Ulman, A., Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers. *Chem. Rev.* **1996**, *96* (4), 1533-1554.
- [6] Yang, G.; Amro, N. A.; Starkewolfe, Z. B.; Liu, G., Molecular-Level Approach To Inhibit Degradations of Alkanethiol Self-Assembled Monolayers in Aqueous Media. *Langmuir* **2004**, *20* (10), 3995-4003.
- [7] Vericat, C.; Benitez, G. A.; Grumelli, D. E.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., Thiol-capped gold: From planar to irregular surfaces. *J. Phys.: Condens. Matter* **2008**, *20*, 184004(1-8).
- [8] Lewis, M.; Tarlov, M.; Carron, K., Study of the Photooxidation Process of Self-Assembled Alkanethiol Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (37), 9574-9575.
- [9] Flynn, N. T.; Tran, T. N. T.; Cima, M. J.; Langer, R., Long-Term Stability of Self-Assembled Monolayers in Biological Media. *Langmuir* **2003**, *19* (26), 10909-10915.

- [10] Willey, T. M.; Vance, A. L.; Van Buuren, T.; Bostedt, C.; Terminello, L. J.; Fadley, C. S., Rapid degradation of alkanethiol-based self-assembled monolayers on gold in ambient laboratory conditions. *Surf. Sci.* **2005**, *576* (1-3), 188-196.
- [11] Jans, K.; Bonroy, K.; De Palmas, R.; Reekmans, G.; Jans, H.; Laureyn, W.; Smet, M.; Borghs, G.; Maes, G., Stability of mixed PEO - Thiol SAMs for biosensing applications. *Langmuir* **2008**, *24* (8), 3949-3954.
- [12] Zhang, Y.; Terrill, R. H.; Bohn, P. W., Ultraviolet Photochemistry and ex Situ Ozonolysis of Alkanethiol Self-Assembled Monolayers on Gold. *Chem. Mater.* **1999**, *11* (8), 2191-2198.
- [13] Garg, N.; Carrasquillo-Molina, E.; Lee, T. R., Self-Assembled Monolayers Composed of Aromatic Thiols on Gold: Structural Characterization and Thermal Stability in Solution. *Langmuir* **2002**, *18* (7), 2717-2726.
- [14] Ito, E.; Noh, J.; Hara, M., Steric effects on adsorption and desorption behaviors of alkanethiol self-assembled monolayers on Au(111). *Chem. Phys. Lett.* **2008**, *462* (4-6), 209-212.
- [15] Hutt, D. A.; Leggett, G. J., Influence of Adsorbate Ordering on Rates of UV Photooxidation of Self-Assembled Monolayers. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100* (16), 6657-6662.
- [16] Lee, M. T.; Hsueh, C. C.; Freund, M. S.; Ferguson, G. S., Air Oxidation of Self-Assembled Monolayers on Polycrystalline Gold: The Role of the Gold Substrate. *Langmuir* **1998**, *14* (22), 6419-6423.
- [17] Schlenoff, J. B.; Li, M.; Ly, H., Stability and Self-Exchange in Alkanethiol Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (50), 12528-12536.
- [18] Nuzzo, R. G.; Zegarski, B. R.; Dubois, L. H., *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 733-740.
- [19] Kondoh, H.; Kodama, C.; Sumida, H.; Nozoye, H., Molecular processes of adsorption and desorption of alkanethiol monolayers on Au(111). *J. Chem. Phys.* **1999**, *111* (3), 1175-1184.
- [20] Kondoh, H.; Kodama, C.; Nozoye, H., Structure-Dependent Change of Desorption Species from n-Alkanethiol Monolayers Adsorbed on Au(111): Desorption of Thiolate Radicals from Low-Density Structures. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102* (13), 2310-2312.
- [21] Noh, J.; Kato, H. S.; Kawai, M.; Hara, M., Surface Structure and Interface Dynamics of Alkanethiol Self-Assembled Monolayers on Au(111). *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (6), 2793-2797.
- [22] Vela, M. E.; Martin, H.; Vericat, C.; Andreasen, G.; Hernandez Creus, A.; Salvarezza, R. C., Electrodesorption Kinetics and Molecular Interactions in Well-Ordered Thiol Adlayers On Au(111). *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104* (50), 11878-11882.
- [23] Lustemberg, P. G.; Vericat, C.; Benitez, G. A.; Vela, M. E.; Tognalli, N.; Fainstein, A.; Martiarena, M. L.; Salvarezza, R. C., Spontaneously Formed Sulfur Adlayers on Gold in Electrolyte Solutions: Adsorbed Sulfur or Gold Sulfide? *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (30), 11394-11402.
- [24] Salvarezza, R. C.; Arvia, A. J., In *Modern Aspects of Electrochemistry*, John O'M. Bockris , B. E. C., Ralph E. White Ed. Plenum Press: New York, 1996; Vol. 28, pp 289-367.
- [25] Michri, A. A.; Pshenichnikov, A. G.; Burshtein, R. K., Determining the actual surface area of smooth gold electrodes. *Elektrokhimiya* **1972**, *8*, 351-352.

- [26] Alonso, C.; Salvarezza, R. C.; Vara, J. M.; Arvia, A. J.; Vázquez, L.; Bartolomé, A.; Baro, A. M., *J. Electrochem. Soc.* **1990**, *137*, 2161-2165.
- [27] Zhong, C. J.; Brush, R. C.; Anderegg, J.; Porter, M. D., Organosulfur Monolayers at Gold Surfaces: Reexamination of the Case for Sulfide Adsorption and Implications to the Formation of Monolayers from Thiols and Disulfides. *Langmuir* **1999**, *15* (2), 518-525.
- [28] Castner, D. G.; Hinds, K.; Grainger, D. W., X-ray Photoelectron Spectroscopy Sulfur 2p Study of Organic Thiol and Disulfide Binding Interactions with Gold Surfaces. *Langmuir* **1996**, *12* (21), 5083-5086.
- [29] Schoenfish, M. H.; Pemberton, J. E., Air stability of alkanethiol self-assembled monolayers on silver and gold surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (18), 4502-5413.
- [30] Vericat, C.; Andreasen, G.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., Dynamics of Potential-Dependent Transformations in Sulfur Adlayers on Au(111) Electrodes. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104* (2), 302-307.
- [31] Lavrich, D. J.; Wetterer, S. M.; Bernasek, S. L.; Scoles, G., Physisorption and Chemisorption of Alkanethiols and Alkyl Sulfides on Au(111). *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102* (18), 3456-3465.
- [32] Jadzinsky, P. D.; Calero, G.; Ackerson, C. J.; Bushnell, D. A.; Kornberg, R. D., Structure of a Thiol Monolayer-Protected Gold Nanoparticle at 1.1 Å Resolution. *Science* **2007**, *318* (5849), 430-433.
- [33] Vericat, C.; Benitez, G. A.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C.; Tognalli, N. G.; Fainstein, A., Restricted surface mobility of thiolate-covered metal surfaces: A simple strategy to produce high-area functionalized surfaces. *Langmuir* **2007**, *23* (3), 1152-1159.
- [34] Molina, L. M.; Hammer, B., Theoretical study of thiol-induced reconstructions on the Au(111) surface. *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *360* (3-4), 264-271.
- [35] Gronbeck, H.; Hakkinen, H., Polymerization at the Alkylthiolate–Au(111) Interface. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111* (13), 3325-3327.
- [36] Cossaro, A.; Mazzarello, R.; Rousseau, R.; Casalis, L.; Verdini, A.; Kohlmeyer, A.; Floreano, L.; Scandolo, S.; Morgante, A.; Klein, M. L.; Scoles, G., X-ray Diffraction and Computation Yield the Structure of Alkanethiols on Gold(111). *Science* **2008**, *321* (5891), 943-946.
- [37] Carro, P.; Salvarezza, R.; Torres, D.; Illas, F., On the Thermodynamic Stability of $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30^\circ$ Methanethiolate Lattice on Reconstructed Au(111) Surface Models. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (48), 19121-19124.
- [38] Wirde, M.; Gelius, U.; Nyholm, L., Self-Assembled Monolayers of Cystamine and Cysteamine on Gold Studied by XPS and Voltammetry. *Langmuir* **1999**, *15* (19), 6370-6378.
- [39] Cometto, F. P.; Macagno, V. A.; Paredes-Olivera, P.; Patrito, E. M.; Ascolani, H.; Zampieri, G., Decomposition of Methylthiolate Monolayers on Au(111) Prepared from Dimethyl Disulfide in Solution Phase. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114* (22), 10183-10194.
- [40] Manolova, M.; Ivanova, V.; Kolb, D. M.; Boyen, H. G.; Ziemann, P.; Büttner, M.; Romanyuk, A.; Oelhafen, P., Metal deposition onto thiol-covered gold: Platinum on a 4-mercaptopyridine SAM. *Surf. Sci.* **2005**, *590* (2-3), 146-153.

- [41] Ivanova, V.; Baunach, T.; Kolb, D. M., Metal deposition onto a thiol-covered gold surface: A new approach. *Electrochim. Acta* **2005**, *50* (21), 4283-4288.
- [42] Urcuyo, R.; Cortés, E.; Rubert, A. A.; Benitez, G.; Montero, M. L.; Tognalli, N. G.; Fainstein, A.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., Aromatic and Aliphatic Thiol Self-Assembled Monolayers on Au: Anchoring and Delivering Copper Species. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (50), 24707-24717.
- [43] Nankawa, T.; Suzuki, Y.; Ozaki, T.; Francis, A. J.; Ohnuki, T., Sorption of U(VI) on the 4-Mercaptopyridine Self-Assembled Monolayer. *J. Nucl. Sci. Technol.* **2008**, *45* (3), 251-256.
- [44] Boyen, H.-G.; Ziemann, P.; Wiedwald, U.; Ivanova, V.; Kolb, D. M.; Sakong, S.; Gross, A.; Romanyuk, A.; Buttner, M.; Oelhafen, P., Local density of states effects at the metal-molecule interfaces in a molecular device. *Nat. Mater.* **2006**, *5* (5), 394-399.
- [45] Yoshimoto, S.; Yoshida, M.; Kobayashi, S.-i.; Nozute, S.; Miyawaki, T.; Hashimoto, Y.; Taniguchi, I., Electrochemical study on competitive adsorption of pyridinethiol with sulfide onto Au(111) surfaces. *J. Electroanal. Chem.* **1999**, *473* (1-2), 85-92.
- [46] Tognalli, N. G.; Cortés, E.; Hernández-Nieves, A. D.; Carro, P.; Usaj, G.; Balseiro, C. A.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C.; Fainstein, A., From Single to Multiple Ag-Layer Modification of Au Nanocavity Substrates: A Tunable Probe of the Chemical Surface-Enhanced Raman Scattering Mechanism. *ACS Nano* **2011**, *5* (7), 5433-5443.
- [47] Tang, L.; Li, F.; Zhou, W.; Guo, Q., The structure of methylthiolate and ethylthiolate monolayers on Au(111): Absence of the $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ phase. *Surf. Sci.* **2012**, *606* (5-6), L31-L35.
- [48] Keith, J. A.; Jacob, T., Theoretical studies of Pd metal deposition on the $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$ 4-mercaptopyridine self-assembled monolayer. *Electrochim. Acta* **2010**, *55* (27), 8258-8262.
- [49] Yang, G.; Liu, G.-y., New Insights for Self-Assembled Monolayers of Organothiols on Au(111) Revealed by Scanning Tunneling Microscopy. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107* (34), 8746-8759.
- [50] Zhou, W.; Baunach, T.; Ivanova, V.; Kolb, D. M., Structure and Electrochemistry of 4,4'-Dithiodipyridine Self-Assembled Monolayers in Comparison with 4-Mercaptopyridine Self-Assembled Monolayers on Au(111). *Langmuir* **2004**, *20* (11), 4590-4595.
- [51] Zhang, J.; Bilic, A.; Reimers, J. R.; Hush, N. S.; Ulstrup, J., Coexistence of multiple conformations in cysteamine monolayers on Au(111). *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (32), 15355-15367.
- [52] Zangmeister, C. D.; Bertocci, U.; Beauchamp, C. R.; Stafford, G. R., In situ stress measurements during the electrochemical adsorption/desorption of self-assembled monolayers. *Electrochim. Acta* **2008**, *53* (23), 6778-6786.
- [53] Kučera, J.; Gross, A., Adsorption of 4-Mercaptopyridine on Au(111): A Periodic DFT Study. *Langmuir* **2008**, *24* (24), 13985-13992.
- [54] Wan, L.-J.; Noda, H.; Hara, Y.; Osawa, M., Effect of solution pH on the structure of a 4-mercaptopyridine monolayer self-assembled on Au(111). *J. Electroanal. Chem.* **2000**, *489* (1-2), 68-75.

- [55] Wan, L.-J.; Hara, Y.; Noda, H.; Osawa, M., Dimerization of Sulfur Headgroups in 4-Mercaptopyridine Self-Assembled Monolayers on Au(111) Studied by Scanning Tunneling Microscopy. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102* (31), 5943-5946.
- [56] Gui, J. Y.; Lu, F.; Stern, D. A.; Hubbard, A. T., Surface chemistry of mercaptopyridines at Ag(111) electrodes studied by EELS, LEED, Auger spectroscopy and electrochemistry. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* **1990**, *292* (1-2), 245-262.
- [57] Umemura, K.; Fujita, K.; Ishida, T.; Hara, M.; Sasabe, H.; Knoll, W., Solvent Effect on Domain Formation of 4-Mercaptopyridine Self-Assembled Monolayers on Au(111) Substrate by Scanning Tunneling Microscopy. *Jpn. J. Appl. Phys.* **1998**, *37*, 3620-3625.
- [58] Räsänen, M. T.; Runeberg, N.; Klinga, M.; Nieger, M.; Bolte, M.; Pyykkö, P.; Leskelä, M.; Repo, T., Coordination of Pyridinethiols in Gold(I) Complexes. *Inorg. Chem.* **2007**, *46* (23), 9954-9960.
- [59] Lindberg, B. J.; Hamrin, K.; Johansson, G.; Gelius, U.; Fahlman, A.; Nordling, C.; Siegbahn, K., Molecular Spectroscopy by Means of ESCA II. Sulfur compounds. Correlation of electron binding energy with structure. *Phys. Scr.* **1970**, *1* (5-6), 286.
- [60] Silien, C.; Buck, M.; Goretzki, G.; Lahaye, D. e.; Champness, N. R.; Weidner, T.; Zharnikov, M., Self-Assembly of a Pyridine-Terminated Thiol Monolayer on Au(111). *Langmuir* **2009**, *25* (2), 959-967.
- [61] Zubavichus, Y.; Zharnikov, M.; Yang, Y.; Fuchs, O.; Umbach, E.; Heske, C.; Ulman, A.; Grunze, M., X-ray Photoelectron Spectroscopy and Near-Edge X-ray Absorption Fine Structure Study of Water Adsorption on Pyridine-Terminated Thiolate Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2004**, *20* (25), 11022-11029.
- [62] Vericat, C.; Vela, M. E.; Andreasen, G.; Salvarezza, R. C.; Vazquez, L.; Martin-Gago, J. A., Sulfur-substrate interactions in spontaneously formed sulfur adlayers on Au(111). *Langmuir* **2001**, *17* (16), 4919-4924.
- [63] Taniguchi, I.; Yoshimoto, S.; Yoshida, M.; Kobayashi, S.-i.; Miyawaki, T.; Aono, Y.; Sunatsuki, Y.; Taira, H., Simple methods for preparation of a well-defined 4-pyridinethiol modified surface on Au(111) electrodes for cytochrome c electrochemistry. *Electrochim. Acta* **2000**, *45* (18), 2843-2853.
- [64] Jin, Q.; Rodriguez, J. A.; Li, C. Z.; Darici, Y.; Tao, N. J., Self-assembly of aromatic thiols on Au(111). *Surf. Sci.* **1999**, *425* (1), 101-111.
- [65] Pensa, E.; Carro, P.; Rubert, A. A.; Benítez, G.; Vericat, C.; Salvarezza, R. C., Thiol with an Unusual Adsorption–Desorption Behavior: 6-Mercaptopurine on Au(111). *Langmuir* **2010**, *26* (22), 17068-17074.
- [66] Godin, M.; Tabard-Cossa, V.; Miyahara, Y.; Monga, T.; Williams, P. J.; Beaulieu, L. Y.; Lennox, R. B.; Grutter, P., Cantilever-based sensing: the origin of surface stress and optimization strategies. *Nanotechnology* **2010**, *21* (7), 075501.
- [67] Godin, M. Surface Stress, Kinetics, and Structure of Alkanethiol Self-Assembled Monolayers. PhD Thesis, McGill University, Montréal, 2004.
- [68] Berger, R.; Delamarche, E.; Lang, H. P.; Gerber, C.; Gimzewski, J. K.; Meyer, E.; Güntherodt, H.-J., Surface Stress in the Self-Assembly of Alkanethiols on Gold. *Science* **1997**, *276* (5321), 2021-2024.

- [69] Diógenes, I. C. N.; Nart, F. C.; Temperini, M. L. A.; Moreira, Í. d. S., The [Ru(CN)5(pyS)]4- Complex, an Efficient Self-Assembled Monolayer for the Cytochrome c Heterogeneous Electron Transfer Studies. *Inorg. Chem.* **2001**, *40* (19), 4884-4889.
- [70] Kycia, A. H.; Sek, S.; Su, Z.; Merrill, A. R.; Lipkowski, J., Electrochemical and STM Studies of 1-Thio- β -D-glucose Self-Assembled on a Au(111) Electrode Surface. *Langmuir* **2011**, *27* (21), 13383-13389.
- [71] Corma, A.; Rodenas, T.; Sabater, M. J., Aerobic oxidation of thiols to disulfides by heterogeneous gold catalysts. *Chemical Science* **2012**, *3* (2), 398-404.
- [72] Jung, C.; Dannenberger, O.; Xu, Y.; Buck, M.; Grunze, M., Self-Assembled Monolayers from Organosulfur Compounds: A Comparison between Sulfides, Disulfides, and Thiols. *Langmuir* **1998**, *14* (5), 1103-1107.
- [73] Stoyanov, S.; Petkov, I.; Antonov, L.; Stoyanova, T.; Karagiannidis, P.; Aslanidis, P., Thione-thiol tautomerism and stability of 2- and 4-mercaptopyridines and 2-mercaptopyrimidines. *Can. J. Chem.* **1990**, *68* (9), 1482-1489.
- [74] Tognalli, N. G.; Fainstein, A.; Vericat, C.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., In situ Raman spectroscopy of redox species confined in self-assembled molecular films. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (10), 3741-3746.

Capítulo 5

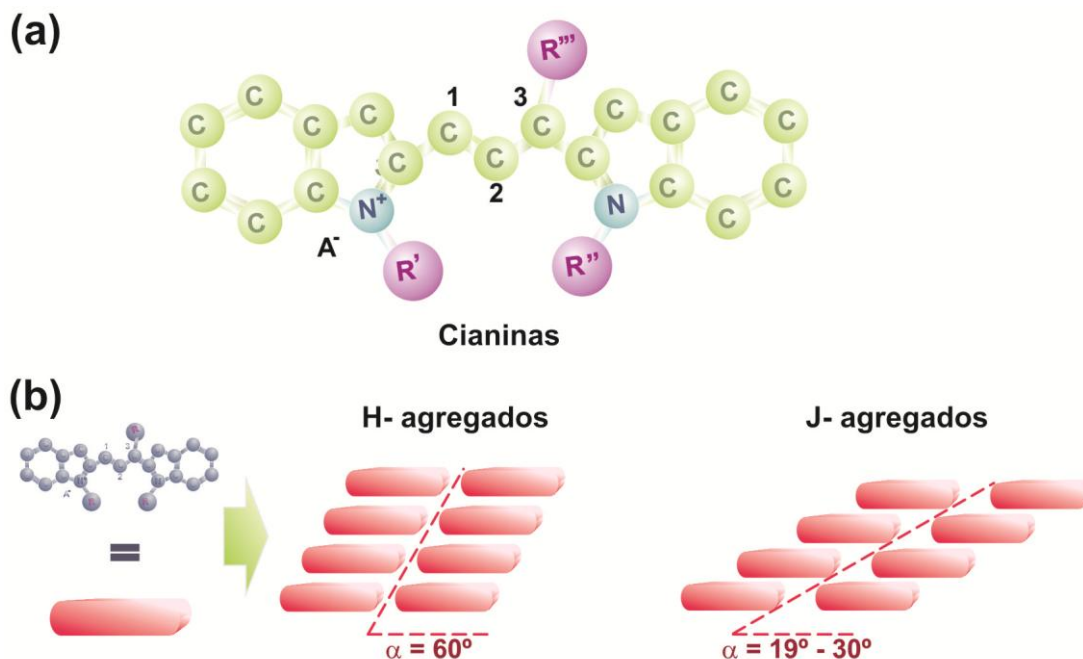
Monocapas autoensambladas (SAMs) de tioles sobre Au: fuerzas de van der Waals y grupo terminal

5.1 Agregados J y H de cianinas en solución. Propiedades fisicoquímicas y aplicaciones del sistema.

En el Capítulo anterior nos centramos en la interacción S-Au en SAMs de tioles alifáticos y aromáticos sobre superficies de Au. El conocimiento de dicha interfaz resulta esencial para comprender el proceso de autoensamblado y los mecanismos de degradación de tioles sobre Au. Sin embargo, a pesar de que la cabeza de S de la molécula del tiol es quien guía el proceso de formación de la SAM a través de la formación del enlace covalente S-Au, las fuerzas de van der Waals entre moléculas adyacentes son también de suma importancia para estabilizar a estos sistemas y comprender qué tipo de estructuras se forman sobre la superficie. Este efecto se ha discutido en el Capítulo anterior en referencia a las SAMs de PyS sobre Au(111). Abordaremos a continuación un ejemplo sobre cómo, en determinados sistemas, las fuerzas de van der Waals pueden ser determinantes para la organización de las SAMs a un nivel equivalente o incluso superior a la interacción S-Au.

Las cianinas (CNNs) son una familia de colorantes catiónicos que consisten en un sistema de heterociclos que contienen nitrógeno y cadenas con dobles enlaces conjugados (Esquema 5.1a). Estos colorantes se emplean en diversas aplicaciones tales como: marcadores fluorescentes de biomoléculas (ya sea enlazados covalentemente o mediante interacciones débiles a proteínas o ácidos nucleicos),¹ fotoiniciadores en procesos de polimerización,² en secuenciación de ADN,³⁻⁴ determinación de ácidos nucleicos y proteínas,⁵ citometría de flujo,⁶⁻⁷ medios ópticos de grabación

y almacenamiento,⁸⁻⁹ y determinaciones ultra sensibles,¹⁰⁻¹¹ solo por mencionar algunas de ellas. Las CNNs se utilizan ampliamente como sondas intracelulares para la determinación de parámetros tales como viscosidad, polaridad ó pH, dado que: 1) su fluorescencia se ve sensiblemente modificada por el ambiente que las rodean; 2) al tratarse de colorantes que absorben en el infrarrojo cercano, dicha radiación (que es débilmente absorbida por biomoléculas) puede penetrar en los tejidos y evitar los procesos de autofluorescencia celular¹² y 3) dado sus altos coeficientes de extinción las CNNs pueden ser detectadas en niveles extremadamente bajos.



Esquema 5.1: a) Esquema de la estructura química de una CNN (no se muestran los hidrógenos). b) Representación de la configuración que adoptan las moléculas de CNN en los *J* y *H* agregados.

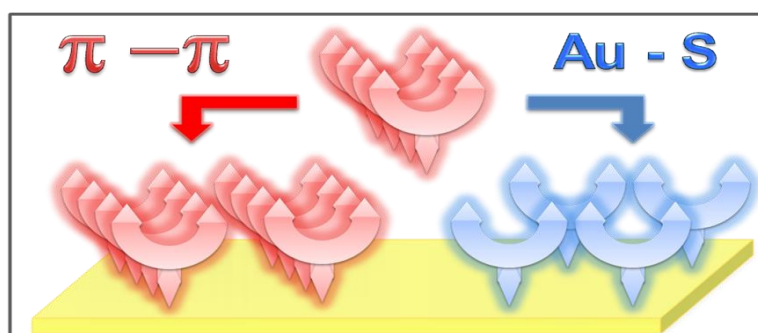
Una propiedad interesante de las cianinas es su habilidad para formar espontáneamente agregados en solución y en interfases líquido/sólido y líquido/aire (Esquema 5.1b).¹³⁻¹⁴ El autoensamblado de estas moléculas anfifílicas para formar agregados en solución está determinado por el balance de las fuerzas intermoleculares presentes en este sistema: fuerzas de dispersión del esqueleto heterocíclico, fuerzas entrópicas de las cadenas hidrocarbonadas, fuerzas electrostáticas y puente hidrógeno entre los grupos iónicos y fuerzas de van der Waals en general.¹⁵ La energía libre de agregación estimada para la formación de un dímero de CNNs es alta, $\sim 20 \text{ Kcal.mol}^{-1}$.¹⁶ Por otra parte las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de las CNN se ven ampliamente influenciadas por la formación de distintos tipos de agregados moleculares. Un ejemplo de ello es el corrimiento del máximo de absorción en el espectro UV-visible hacia menores (*H*-agregados) o mayores (*J*-agregados) longitudes de onda con respecto al monómero. Dichos agregados son un estado cuasi-polimérico en el cual las moléculas planas de CNN se compactan en forma paralela unas con otras estabilizadas por fuerzas π - π entre heterociclos

vecinos. El ángulo (α) que forman respecto de la normal determina qué tipo de agregado : $\alpha = 60^\circ$ para los *H*-agregados y $\alpha = 30^\circ$ ó $\alpha = 19^\circ$ para los denominados *J*-agregados (Esquema 5.1b). Estos últimos poseen una alta emisión de fluorescencia. Las propiedades espectrales de los agregados *J* y *H* son las que convierten a las CNNs en candidatos muy atractivos para el desarrollo de un gran número de aplicaciones, en especial aquellas vinculadas a detección intracelular de biomoléculas.

Las moléculas de CNN se han inmovilizado en distintas superficies sólidas, en particular sobre superficies de Au debido a la estabilidad química y estructural que presenta este sustrato y por sus conocidas y bien definidas propiedades ópticas y electrónicas.¹⁷⁻²⁰ Como elemento de anclaje al sustrato metálico se han utilizado SAMs de distintos tioles. Los estudios realizados revelan que estos colorantes se organizan en forma de *J*-agregados cuando se adsorben sobre SAMs de ácido 11-mercaptoundecanoico y cisteamina.²¹⁻²² Algo similar ocurre cuando las moléculas de CNN se adsorben sobre nanopartículas de Au (AuNPs) que se encuentran recubiertas previamente con especies aniónicas.²³⁻²⁴ Como vemos en todos los casos descriptos la adsorción de CNN conduce a la formación de *J*-agregados cuando las moléculas interactúan con distintas SAMs que se encuentran ensambladas sobre superficies de Au. Desde el punto de vista práctico, estos resultados son muy interesantes sobre todo si pensamos en la fabricación de sistemas ópticos basados en *J*-agregados inmovilizados sobre superficies plasmónicas de Au recubiertas con SAMs debido a que la interacción entre los estados excitados localizados de los agregados y los plasmones superficiales del sustrato dan origen a la formación de nuevos estados mixtos, denominados plexitones que poseen importantes aplicaciones en dispositivos ópticos, metamateriales, sensado, etc.²⁵

Sin embargo, en todos los ejemplos que hemos discutido hasta el momento, las CNNs se encuentran “débilmente” adsorbidas sobre las SAMs mediante fuerzas de van de Waals. En este contexto, la posibilidad de generar una molécula de CNN tiolada no sólo permitiría enlazar directamente la molécula a los distintos sustratos (planos, nanoestructurados, NPs) sino que esta inmovilización resultaría más eficiente a través de la formación del enlace covalente S-Au. En relación a las aplicaciones ópticas de este sistema sería deseable que los *J*-agregados que se forman espontáneamente en las soluciones de CNN sobrevivan al proceso de ensamblado sobre el sustrato de Au y constituyan las especies adsorbidas. Sin embargo existe aquí un problema interesante que será el centro del debate en las próximas secciones. La formación del enlace S-Au, para gran parte de las SAMs conocidas²⁶ implica una distancia óptima entre tioles vecinos $d_{S-Au} = 0.5$ nm (para las redes más compactas) y distancias mayores para redes más diluidas. Por otra parte, la distancia entre moléculas de CNN en los *J*-agregados es de 0.33 nm, la distancia óptima para las interacciones π - π entre moléculas adyacentes.²⁷ Por lo tanto el ensamblado de CNNs tioladas sobre el Au podría implicar la destrucción de *J*-agregados adsorbiéndose el monómero, si predominan las distancias dictadas por el enlace S-Au, o bien podrían ensamblarse como *J*-

agregados si las interacciones π - π son las que prevalecen, generando una $d_{S-Au} < 0.5$ nm (Esquema 5.2).



Esquema 5.2: Posibles caminos para la adsorción de J-agregados de CNN tioladas en superficies de Au. Los agregados en solución podrían adsorberse como tales o como monómeros dependiendo que tipo de fuerzas (π - π entre CNN vecinas ó Au-S) prevalezcan durante el autoensamblado.

Debemos tener en cuenta que el autoensamblado de cromóforos sobre superficies de Au aún no está completamente comprendido. La componente cromófora es por lo general mucho más importante que las cadenas alquílicas y esto evita que exista orden de largo alcance en estas SAMs. También sabemos que el grado de ordenamiento que alcanzan las SAMs de tioles aromáticos es menor que el de tioles alifáticos.²⁸ En muchos casos, redes diluidas (como las encontradas en el Capítulo 4 para SAMs de PyS) coexisten con agregados cuyo origen y estructura se encuentra aún en debate.²⁹⁻³⁰ La complejidad de las SAMs de tioles aromáticos se evidencia en que las mismas pueden formar: agregados desordenados, SAMs ordenadas con distancias compatibles a la interacción π - π o bien estructuras superficiales ($5 \times \sqrt{3}$) dependiendo de la molécula en particular.²⁸

En el presente capítulo estudiaremos el autoensamblado sobre superficies de Au(111) y AuNPs de una nueva CNN tiolada soluble en agua. Dicha molécula (Figura 5.1) fue sintetizada por los Dres. G. Menéndez y E. Jares-Erijman, del Departamento de Química Orgánica de la FCEN, UBA.³¹ Esta nueva molécula posee interesantes propiedades fotofísicas tales como: fluorescencia en el IR cercano, altos coeficientes de absorción, altos rendimientos cuánticos de fluorescencia, estabilidad frente a procesos de fotodegradación y sensibilidad frente a cambios de polaridad, pH y viscosidad del medio. A diferencia de otros trabajos que involucran la inmovilización de CNNs sobre superficies de Au mediante interacciones débiles, nuestra CNN ha sido diseñada para quimisorberse mediante el grupo SH a la superficie de Au formando una unión S-Au. En posición opuesta al grupo tiolato se han colocado dos cadenas hidrocarbonadas que poseen grupos carboxílicos terminales lo que permitiría una posterior conjugación con cationes metálicos, biotina, etc.

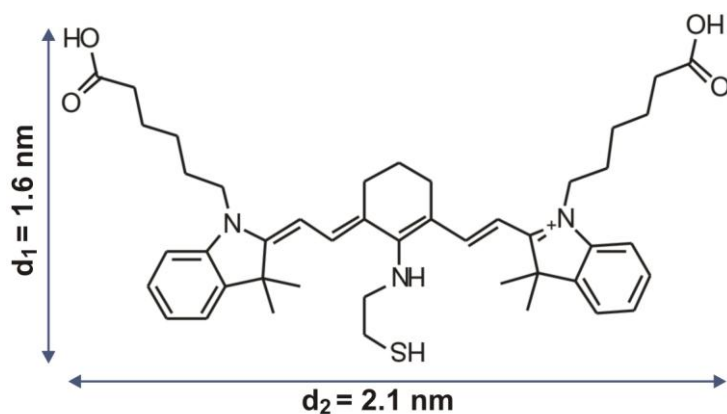


Figura 5.1: Estructura química de la nueva CNN tiolada sintetizada utilizada en este trabajo.

5.2 Autoensamblado de la nueva CNN tiolada sobre superficies de Au(111).

Imágenes de STM de las moléculas de CNN sobre Au(111). Las imágenes de STM obtenidas sobre terrazas de Au(111) luego de la inmersión del sustrato en una solución metanólica 50 μM de CNN tiolada durante 24 horas muestran un gran número de agregados nanométricos (2-3 nm) mayormente distribuidos al azar que aparecen como puntos brillantes en la imagen. En algunos lugares (Figura 5.2a, centro) los agregados parecen formar hileras paralelas, tal como ha sido observado para otros tioles aromáticos sobre Au(111).²⁹

En la Figura 2b podemos observar que en algunas zonas del sustrato los agregados pueden alcanzar un orden de corto alcance sobre la superficie del Au(111) formando arreglos separados una distancia de 3.5 nm entre sí. Sin embargo, como observamos en la Figura 2c la mayoría de estos agregados aparecen distribuidos al azar cubriendo casi la totalidad de la superficie del Au. Los agregados exhiben distinto contraste: algunos son brillantes mientras que otros presentan bordes menos definidos o son más opacos. El espectro de densidad de potencias de las estructuras presentes en la superficie (Figura 2d) muestra una amplia distribución de tamaño con un valor promedio de 2.6 nm. Este valor es levemente mayor al tamaño de la molécula de CNN cuyo eje longitudinal es de 2.1 nm (Figura 5.1). La amplia distribución de tamaños de las estructuras superficiales sugiere que aquellas con tamaños mayores a ≈ 2.6 nm podrían corresponder a agregados de CNN tales como los descritos para CNN en solución (*J* ó *H*). El análisis de las secciones transversales de las estructuras superficiales arroja valores entre 0.2 y 0.37 nm. Estos valores son muy inferiores a la altura de 1.6 nm que tiene la molécula de CNN si la misma se encuentra adsorbida en posición vertical (Figura 5.1). Esto puede explicarse considerando que los agregados se encuentran muy cercanos unos con otros de manera que la sección transversal no implica la altura real de los mismos medidas desde la superficie de Au sino entre agregados vecinos. Los distintos valores observados en las secciones transversales (0.2-0.37 nm) reflejan el

desorden de los agregados que no presentan una orientación preferencial o bien el desorden de las cadenas hidrocarbonadas expuestas en la superficie.

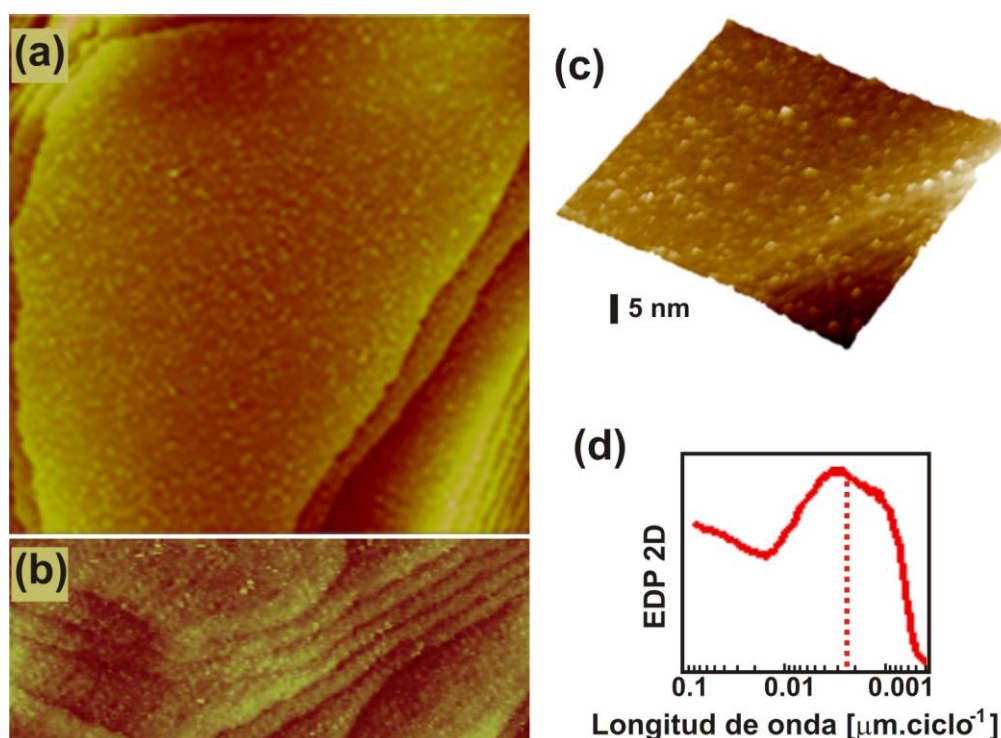


Figura 5.2: (a) Imagen de STM ($200 \times 200 \text{ nm}^2$) del sustrato de Au luego de autoensamblado de la CNN tiolada. Especies de CNN distribuidas al azar (puntos brillantes) pueden ser observadas en la superficie de Au. (b) Imagen de STM ($75 \times 200 \text{ nm}^2$) mostrando dominios ordenados de corto alcance de CNN ensamblada. (c) Imagen 3D de STM ($50 \times 50 \text{ nm}^2$) mostrando especies de CNN adsorbida sin orden evidente. (d) Espectro de densidad de potencias (EDP 2D) mostrando la amplia distribución de tamaño de las especies adsorbidas. La línea punteada roja indica el tamaño promedio de las especies ensambladas de CNN (2.6 nm).

Cabe destacar que los datos de STM no permiten decidir si las estructuras con valor promedio de 2.6 nm corresponden a moléculas individuales de CNN o a agregados de la misma. Debemos tener en cuenta que una molécula aislada de CNN podría rotar libremente generando un punto brillante similar al observado en las imágenes con un valor promedio de $\sim 2.6 \text{ nm}$. Por otra parte un agregado conteniendo ~ 7 moléculas de CNN elongadas (estabilizadas por interacciones π - π) también podría observarse como una estructura de $\sim 2.6 \text{ nm}$. Las estructuras superficiales con tamaños mayores a 2.6 nm pueden ser asignadas a agregados de CNN ensamblados en la superficie del Au(111).

El estudio mediante STM tampoco permite contestar otras preguntas tales como si las moléculas se quimisorben o fisisorben en la superficie, si permanecen intactas luego de la adsorción o cuál es el cubrimiento superficial de mismas. En las próximas secciones trataremos de responder a estas preguntas utilizando técnicas electroquímicas, XPS y espectroscopia Raman.

Resultados de XPS del sistema Au-CNN: La señal del S 2p que se obtiene luego de la adsorción de CNN sobre la superficie del Au(111) (Figura 5.3a) se puede ajustar con dos componentes: uno de ellos correspondiente al tiolato (162 eV) y otro a tiol libre (163.5 eV)³² con una relación entre ambas de $S(162 \text{ eV})/S(163.5 \text{ eV}) \approx 3$. Estos resultados confirman que la mayoría de las moléculas de CNN se encuentran adsorbidas covalentemente en la superficie de Au(111) formando un enlace tiolato y sólo una fracción pequeña permanece fisisorbida. Esta fracción de moléculas podría estar intercalada en la SAM o bien formando una segunda capa que no puede interactuar directamente con la superficie de Au pero que permanece retenida en la interfaz CNN-Au por fuerzas intermoleculares.³³ La presencia de las moléculas de CNNs en la superficie del sustrato también se refleja en el espectro del N 1s (Figura 5.3b). La señal principal que se observa a 399 eV se puede asignar a los átomos de N presentes en los heterociclos³⁴ y a los grupos aminos que forman parte de las CNNs.³⁵ La relación $S(162 \text{ eV})/N(399 \text{ eV}) \approx 3$, el valor esperado para la molécula de CNN tal como se muestra en el Figura 5.1. Por otra parte, a partir del análisis cuantitativo de la señales de XPS se pueden establecer las siguientes relaciones atómicas C:O:N:S(162 eV) = 42:11:3:1, un valor muy cercano al esperado para la molécula de CNN intacta 44:4:3:1 (Figura 5.1), a excepción del O, que siempre se encuentra presente en exceso en SAMs hidrofílicas debido a la fisorción de moléculas de agua en la superficie de la SAM.³⁵

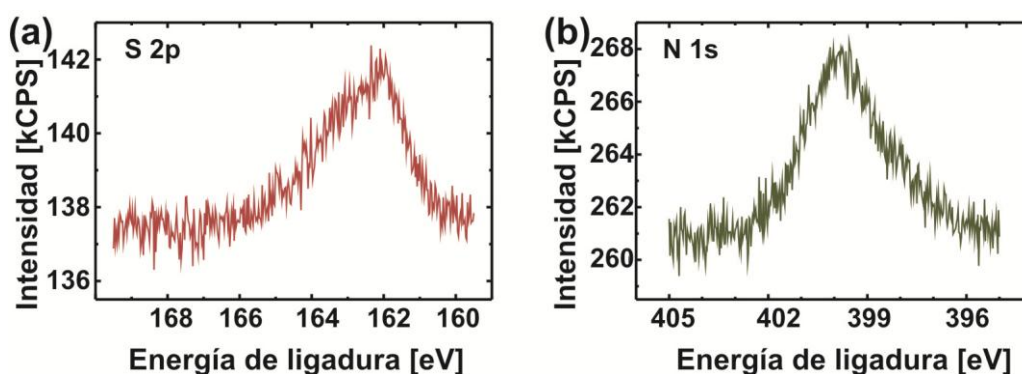


Figura 5.3: Espectros XPS de las SAMs de CNN sobre Au(111). (a) S 2p y (b) N 1s.

Resultados de electroquímica del sistema Au-CNN: Tal como se describió en el Capítulo 4, las curvas de electrodesorción reductiva (RDC) permiten obtener una valiosa información sobre las SAMs de tioles. En efecto, la posición del pico de desorción está relacionada en gran medida con la estabilidad de la SAM (el enlace S-Au y las interacciones moleculares) mientras que la densidad de carga involucrada en dicho pico permite una estimación del cubrimiento superficial de las especies quimisorbidas (tiolatos).

La Figura 5.4 (curva roja) muestra el pico de desorción que se obtiene para una SAM de CNN en relación al que se obtiene para una SAM de hexanotiol (HT) (curva azul), sin duda la SAM más estudiada en la literatura de tioles sobre Au(111), y que utilizaremos como referencia.²⁶

Los picos catódicos de desorción revelan que la SAM de CNN sobre Au se desorbe a un potencial de $E_p = -0.92$ V mientras que las SAMs de HT lo hacen a $E_p = -0.99$ V, en concordancia con resultados previos de este sistema.²⁶ Asumiendo que el proceso de electroreducción del enlace tiolato involucra un electrón, la diferencia entre los E_p de ambas SAMs es de sólo ~ 0.07 eV. Esto demuestra que la estabilidad de ambos sistemas es similar y que el HT podría ser un buen agente para diluir las CNNs en superficie y formar SAMs mixtas. La leve diferencia entre los picos de ambas SAMs puede estar relacionada a la mayor solubilidad de la CNN desorbida en un medio acuoso (0.1 M NaOH) respecto del HT que es insoluble en dicho medio o bien a la distinta magnitud de las interacciones intermoleculares.

La densidad de carga del pico de desorción para HT es de $q = 75 \pm 7 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, lo que arroja un cubrimiento de $\theta = 0.33$. Estos valores están de acuerdo con la estructura superficial $c(4 \times 2)$ que se observa usualmente para estas SAMs mediante STM.²⁶ Por otra parte, las SAMs de CNN presentan una densidad de carga de la electrodesorción $q = 22 \pm 5 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, un valor mucho menor al HT, lo cual es razonable dado el mayor tamaño de las moléculas de CNN. Volveremos sobre este punto más adelante.

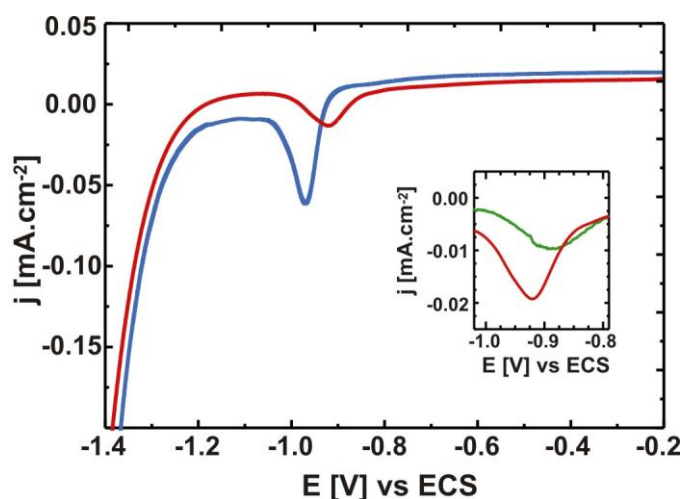


Figura 5.4: Curvas de electrodesorción reductiva de CNN (rojo) y HT (azul). Inset: curvas de electrodesorción reductiva de monómeros de CNN (verde) y J-agregados + monómeros de CNN (roja). Velocidad de barrido: $0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, electrolito soporte: 0.1 M NaOH.

Los datos encontrados hasta aquí no permiten aún dilucidar si las SAMs de CNN sobre Au(111) están formadas por monómeros de CNN o agregados de la misma. Siendo que ambas especies (monómeros y agregados) están presentes en la solución de CNN dos mecanismos podrían operar para contribuir a la formación de agregados (que son las especies deseadas de inmovilizar dadas sus numerosas aplicaciones) sobre la superficie de Au: 1) la formación de agregados en solución seguida de una adsorción preferencial de los mismos en la superficie de Au, 2) la adsorción de monómeros desde la solución seguida por la formación de agregados en la

superficie. Obviamente ambos mecanismos podrían operar simultáneamente. En la próxima sección trabajaremos sobre este punto y sobre las dudas que aún quedan sin responder sobre este sistema mediante su estudio con espectroscopía Raman, una técnica eficiente para dilucidar la presencia de J-agregados y/o monómeros en superficies metálicas.³⁶

Espectroscopia UV-visible de CNNs en solución y espectroscopia Raman de SAMs de CNN en Au(111). El espectro UV-visible de la solución metanólica de 50 μM de CNN tiolada luego de 24 horas de preparación (el mismo tiempo utilizado para formar la SAM) se muestra en la Figura 5.5a, trazo negro. El máximo a 650 nm corresponde a moléculas de CNN individuales solvatadas que no interactúan entre sí (monómeros). El pequeño máximo que se observa a 800 nm (corrimiento hacia el rojo) corresponde a *J*-agregados en la solución, mientras que el hombro presente entre 450-500 nm (corrimiento hacia el azul) corresponde a *H*-agregados.

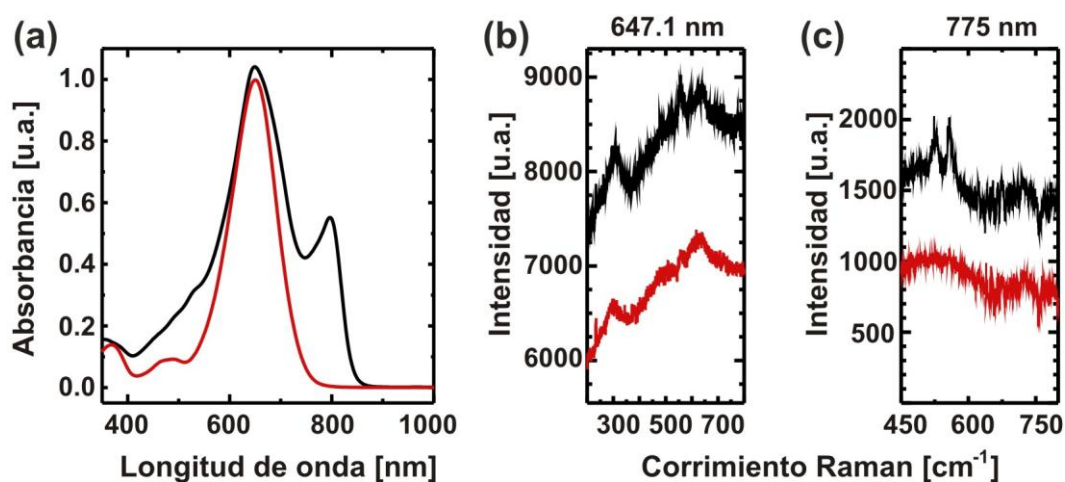


Figura 5.5: (a) Espectro UV-visible de una solución metanólica 50 μM de CNN tiolada. b) Espectros Raman a bajas frecuencias de la SAM formada por la CNN tiolada sobre Au(111) utilizando un laser de excitación de (b) 647.1 nm y (c) 775 nm. En las tres figuras las curvas rojas corresponden a una solución de CNN sin presencia de J-agregados (solo monómeros), mientras que las curvas negras corresponden a solución de CNN con presencia de J-agregados.

Las Figuras 5.5b y 5.5c muestran los espectros Raman de la CNN ensambladas sobre la superficie de Au(111) utilizando dos láseres de excitación: 647.1 nm, donde los monómeros tienen su máximo de absorción en el espectro UV-visible (Figura 5.5b), y 775 nm, donde los *J*-agregados tienen su máximo de absorción en el espectro UV-visible (Figura 5.5c). Los espectros Raman fueron tomados en la región de frecuencias bajas ($\sim 450\text{-}800\text{ cm}^{-1}$), ya que a dichas energías aparecen bandas relacionadas a *J*-agregados sobre superficies metálicas.³⁷ Estos modos, que corresponden a vibraciones fuera del plano,³⁸⁻³⁹ se han detectado experimentalmente y fueron calculados teóricamente para agregados de cianinas.⁴⁰ El espectro Raman de la SAM formada a partir de la solución que contiene monómeros y *J/H* agregados (línea negra) muestra la aparición

de los picos típicos de *J*-agregados. Más aún, el pico a 558 cm^{-1} medido con el láser de 647.1 nm (Figura 5.5b, línea negra) se desdobra en 523 cm^{-1} y 558 cm^{-1} cuando se utiliza el láser a 775 nm (Figura 5.5c, curva negra). El hecho de que los picos a bajas frecuencias sean exaltados cuando el laser incidente es 775 nm puede estar relacionado a un proceso Raman resonante con los estados electrónicos de los *J*-agregados, ya que los mismos tienen el máximo de absorción en el espectro UV-visible a esa misma energía.³⁶ Por lo tanto, la aparición de las bandas a bajas frecuencias y su modificación con la energía incidente permiten afirmar, en base a la literatura existente, la presencia de *J*-agregados en la superficie de Au(111) luego del proceso de autoensamblado de la CNN tiolada.

La espectroscopia Raman también es de utilidad para discernir qué tipo de mecanismo da lugar a la aparición de *J*-agregados en la superficie. Con el objetivo de determinar si el proceso de agregación tiene lugar en la superficie a partir de los monómeros o si existe una adsorción preferencial de *J*-agregados desde la solución, preparamos una nueva solución conteniendo sólo monómeros de CNN. Esto fue posible mediante el calentamiento de la solución, lo que favorece el desagregado de especies poliméricas (*H o J*).²⁷ El espectro UV-visible de la solución de CNN tiolada en forma monomérica se muestra en la Figura 5.5a (curva roja) en el cual puede observarse la desaparición de los picos correspondientes a los agregados.

Los espectros Raman de las SAMs formadas sobre Au(111) desde ambas soluciones (con y sin agregados) muestran un pico centrado a 310 cm^{-1} (Figura 5.5b, curvas negra y roja) que se asigna al enlace S-Au. Esto confirma los datos de XPS indicando que nuestras CNNs se ensamblan a la superficie mediante enlaces tiolato.⁴¹ El análisis del espectro Raman de ambas muestras a bajas frecuencias nos permite concluir que la agregación de las CNNs no tiene lugar cuando la solución de ensamblado sólo contiene monómeros (curva roja en las Figuras 5.5b y c). Por lo tanto, los agregados no se forman en la superficie del Au(111) a partir de los monómeros sino que resultan de la adsorción preferencial de agregados ya existentes en la solución de partida, que como sabemos a partir del espectro UV-vis, contiene tanto monómeros como agregados (Figura 5.5a curva negra).

La integración de la intensidad del pico Raman a 310 cm^{-1} , correspondiente al enlace S-Au, indica que la cantidad de tiolatos adsorbidos es del doble cuando los *J*-agregados están presentes en la superficie. Esta relación también se puede confirmar mediante las curvas de electrodesorción reductiva (inset Figura 5.4), ya que la densidad de carga para la SAM conteniendo solo monómeros (curva verde) es $q = 11 \pm 2\ \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, mientras que en la SAM conteniendo *J*-agregados + monómeros la densidad de carga es de $q = 22 \pm 5\ \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ (curva roja). Por lo tanto, la SAM conteniendo *J*-agregados tiene el doble de enlaces tiolatos que la SAM formada sólo por monómeros. Considerando una hipotética SAM compacta de monómeros de CNN de 2.1 nm de longitud y separados por una distancia entre tiolatos de 0.5 nm (la distancia más corta encontrada

para SAMs de alcanotioles y algunos tioles aromáticos), el valor estimado de densidad de carga sería $q \approx 16 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, un valor cercano al encontrado experimentalmente para la SAM de CNN con monómeros ($11 \pm 2 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$). Esto permite suponer que las SAMs incubadas a partir de soluciones de CNN conteniendo solo monómeros están formadas por unidades individuales de CNN adsorbidas mediante un enlace tiolato y con distancias entre vecinos más próximos del orden de 0.5 nm. Sin embargo, es importante resaltar que la carga de $q \approx 16 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ es la máxima carga posible para una red de tioles de CNN separados por la distancia de 0.5 nm. Esto implica que en las SAMs conteniendo *J*-agregados ($q = 22 \pm 5 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$) la distancia entre primeros vecinos de CNN debería ser menor a 0.5 nm, tal cual ocurre con los *J*-agregados en solución (0.33 nm). Si consideramos una red compacta de CNNs de longitud 2.1 nm con una distancia de 0.33 nm entre primeros vecinos la densidad de carga debería ser $q = 23 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, un valor muy cercano a $q = 22 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ estimado experimentalmente. Cabe destacar que imágenes de STM obtenidas en SAMs de tioles aromáticos conjugados sobre Au(111) muestran distancias entre primeros vecinos compatibles con 0.33 nm.²⁸

El hecho de que las SAMs de CNN que contienen *J*-agregados tengan el doble de enlaces tiolato por unidad de área (comparadas con las SAMs de monómeros) también explica la adsorción preferencial de los agregados cuando ambos están presentes en solución. Esto es razonable ya que unos de los factores más importantes para la estabilización de las SAMs es la cantidad de enlaces tiolatos que se pueden formar por unidad de área.³¹ Sin embargo, podría argumentarse que los enlaces formados por los *J*-agregados no pueden optimizarse eligiendo el sitio más estable de adsorción sobre la superficie (ya que la distancia entre S contiguos es menor a 0.5 nm). A pesar de ello, la distancia de 0.33 nm también es una distancia conmensurada con la superficie de Au y además, las diferencias de energías asociadas a los distintos sitios de adsorción (top, bridge, fcc, etc) es muy pequeña.⁴² Los *J*-agregados cuentan además con la energía extra de estabilización aportada por las interacciones π - π entre moléculas de CNN vecinas. Estas interacciones cumplen un rol importante en la estabilización de los sistemas moleculares. Por ejemplo, se sabe que para eliminar agregados moleculares de moléculas aromáticas tioladas (1-(11-mercaptoundecil)pireno) es necesario calentar el sistema a 343 K.²⁸ Por último, y respecto al mecanismo de adsorción, los *J*-agregados deberían también ser beneficiados en el primer estadio de fisisorción (antes de la ruptura del enlace S-H) dada las mayores interacciones de van der Waals con el sustrato respecto de las que pueden establecer los monómeros. Todos estos factores permiten explicar la adsorción preferencial de *J*-agregados, incluso desde soluciones donde prevalecen los monómeros sobre los agregados de CNN. La adsorción selectiva (sobre superficies de AgBr) de *J*-agregados formados por gran cantidad moléculas respecto de otros agregados más pequeños se ha descrito en términos de un proceso repetitivo de adsorción-desorción.⁴³

Teniendo en cuenta todo lo mencionado anteriormente sería válido preguntarse ¿porque los monómeros entonces no son capaces de organizarse en *J*-agregados en la superficie de Au?. En el caso de la solución que solo contiene monómeros, los mismos llegan a la superficie y forman un enlace tiolato en el sitio más favorable de adsorción, teniendo a su vecino más próximo a una distancia de 0.5 nm. Nosotros proponemos que la barrera energética para mover el monómero una vez adsorbido en el sitio más favorable hacia otro que permita ubicar otra molécula de CNN a 0.33 nm es demasiado alta y por lo tanto este fenómeno no se puede observar a temperatura ambiente y en la escala de tiempos utilizados en nuestras experiencias.

5.3 Autoensamblado de CNNs tioladas en nanopartículas de Au (AuNPs).

Muchas de las aplicaciones antes mencionadas para este tipo de moléculas podrían verse ampliamente potenciadas si fuéramos capaces de realizar el ensamblado en la superficie de nanopartículas metálicas. Es por ello que una vez comprendida la naturaleza de la interfaz Au(111)-CNN y el mecanismo de autoensamblado de estas moléculas, intentaremos repetir este proceso en AuNPs.

Para este estudio utilizamos AuNPs sintetizadas a partir del método inicialmente propuesto por Turkevich⁴⁴⁻⁴⁶ y perfeccionado luego por Frens.⁴⁷ Brevemente, se genera la reducción de una sal de Au (previamente calentada a 100 °C) utilizando como agente reductor al citrato de sodio (que se agrega en segundo término, también previamente calentado). Luego de 15 minutos de reacción se detiene el calentamiento y se enfría la solución. Las AuNPs que resultan de este procedimiento se mantienen en buffer citrato (pH = 7.5) estabilizadas por el anión citrato. Estas AuNPs fueron luego caracterizadas mediante espectroscopía UV-visible (Figura 5.6a, espectro rojo) y microscopía electrónica de barrido, TEM (Figura 5.6b superior). El análisis estadístico de las imágenes TEM permitió determinar un tamaño promedio de $\sim 12 \pm 1$ nm (Figura 5.6c, histograma rojo).

Una vez caracterizadas las AuNPs se procedió a la modificación de la superficie de las mismas con la CNN tiolada. En este proceso se espera que la CNN desplace al citrato que se encuentra adsorbido débilmente a las NPs. Para este fin se utilizó una solución de CNN que contiene *J*-agregados y monómeros (Figura 5.5a, curva negra) disuelta en buffer citrato pH = 7.5. Esta solución fue adicionada a las NPs y la solución resultante se mantuvo durante 24 hs a temperatura ambiente y en la oscuridad (para dar lugar al proceso de autoensamblado). Luego se realizaron una serie de centrifugaciones a 4 °C para purificar las NPs y remover las CNNs “libres” en solución. Este procedimiento se monitoreo mediante espectros UV-visible del sobrenadante (dada la gran absorbancia que presenta la CNN en solución el mismo finalizó cuando no se observó señal de CNN en el sobrenadante). Las AuNPs-CNN ya purificadas fueron caracterizadas

nuevamente por espectroscopía UV-visible (Figura 5.6a, espectro azul) y TEM (Figura 5.6b inferior y Figura 5.6c, histograma azul) cuyos resultados demuestran que no se produjo agregación de las mismas durante el proceso de funcionalización con la CNN y posterior purificación.

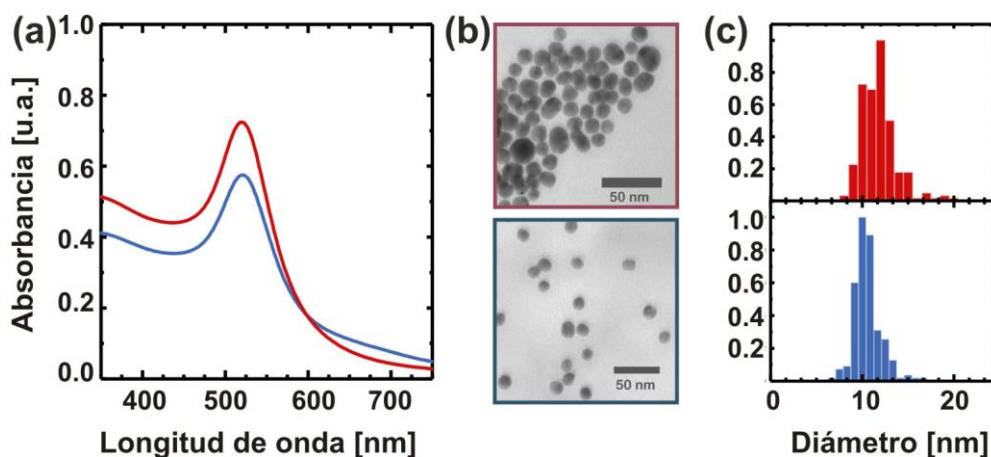


Figura 5.6: Espectro UV-visible de las AuNPs citratadas (rojo) y luego de su modificación con la CNN tiolada (azul). (b) Imágenes de TEM de las AuNPs citratadas (superior) y modificadas con CNN (inferior). (c) Histogramas de distribución de tamaños calculado a partir de las imágenes TEM: en rojo, AuNPs-citrato, 230 partículas individuales; y en azul, AuNPs-CNN, 190 partículas individuales.

Finalmente y de manera de corroborar la presencia de CNN enlazada covalentemente mediante un enlace tiolato a la superficie de las AuNPs, realizamos medidas de espectroscopia Raman amplificada por superficies (SERS) (Figura 5.7). Esto es posible debido a la presencia de plasmones superficiales en las NPs metálicas con lo cual la señal de la CNN se ve ampliamente incrementada respecto de las señales medidas sobre Au(111) (Figuras 5.5b y c). El espectro Raman de este sistema medido con el láser de excitación de 647.1 nm muestra los picos característicos del enlace tiolato (S-Au) a 310 cm^{-1} y de *J*-agregados de CNN en la superficie de las AuNPs a 558 cm^{-1} , tal como fue descripto para las superficies planas (Figuras 5.5b y c, curvas negras).

Hemos logrado por lo tanto modificar la superficie de las AuNPs con *J*-agregados de una CNN tiolada, los cuales se encuentran covalentemente unidos por un enlace tiolato a la superficie de Au. Es importante resaltar, que como ya se describió en el Capítulo 4, la superficie de las AuNPs posee una gran cantidad de defectos, donde el enlace tiolato se ve reforzado (respecto de las superficies planas, sin defectos).⁴⁸⁻⁴⁹ El hecho de que en estos sistemas (AuNPs-CNN) los *J*-agregados sigan estando presentes (al igual que en superficies planas) es otra evidencia de la importancia de las interacciones π - π para estas moléculas, las cuales no pueden ser vencidas

incluso en este caso, donde el enlace tiolato es incluso más fuerte que el caso de superficies planas.

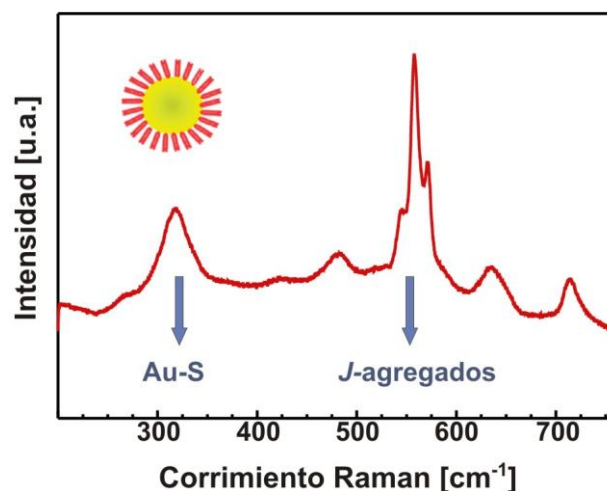


Figura 5.7: Espectro SERS (región de baja frecuencia) de SAMs de CNN tiolada sobre NPs de Au en solución. Láser de excitación 647.1 nm.

5.4 Formación de SAMs mixtas sobre Au(111): HT y CNN.

Con la intención de controlar la cantidad de moléculas de CNN inmovilizadas en la superficie de Au(111) hemos realizado el proceso de autoensamblado en presencia de moléculas de HT, tratando de promover una dilución de la CNN sobre la superficie de Au(111) mediante la adsorción competitiva del HT. Como se describió anteriormente (Figura 5.4) ambas moléculas (HT y CNN) tienen picos de desorción a similares energías y por lo tanto ambas moléculas competirían de igual forma para lograr su adsorción en el sustrato. La Figura 5.8 muestra imágenes de STM para SAMs mixtas preparadas a partir de una relación molar 1:10 CNN:HT. En la Figura 5.8a, las terrazas de Au(111) presentan los agujeros típicos que se producen durante el ensamblado de alcanotioles y algunos pocos puntos brillantes del mismo tamaño a los agregados encontrados en las imágenes de STM para la SAM de CNN sobre Au(111) (Figura 5.2). Los agregados se encuentran embebidos dentro de los dominios de HT. En la Figura 5.8b y c se muestra resolución molecular de las moléculas de HT rodeando los agregados.

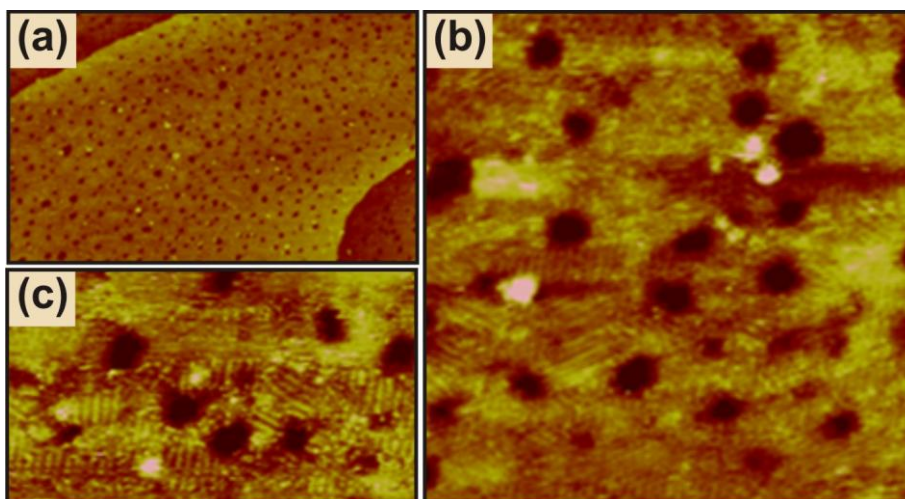


Figura 5.8: Imágenes de STM de SAMs mixtas de HT y CNN, generadas a partir de soluciones conteniendo ambas especies en relación 1:10 (CNN:HT). (a) $200 \times 200 \text{ nm}^2$. Imagen de resolución molecular de $50 \times 50 \text{ nm}^2$ (b) y $30 \times 15 \text{ nm}^2$ (c) de HT y J-agregados embebidos.

Un hecho curioso es que la presencia de las moléculas de HT en la mezcla de ambos tioles (antes de realizar el autoensamblado) aumenta la presencia de agregados de CNN. Esto significa que la presencia de un surfactante como el HT induce el proceso de agregación de las moléculas de CNN monoméricas. Esto se evidencia en los espectros UV-visible antes y después del agregado de HT a soluciones de CNN (Figura 5.9a y b).

Estos resultados permiten afirmar que las moléculas de HT generan un entorno favorable para los J-agregados de CNNs, tanto en superficie, como en solución.

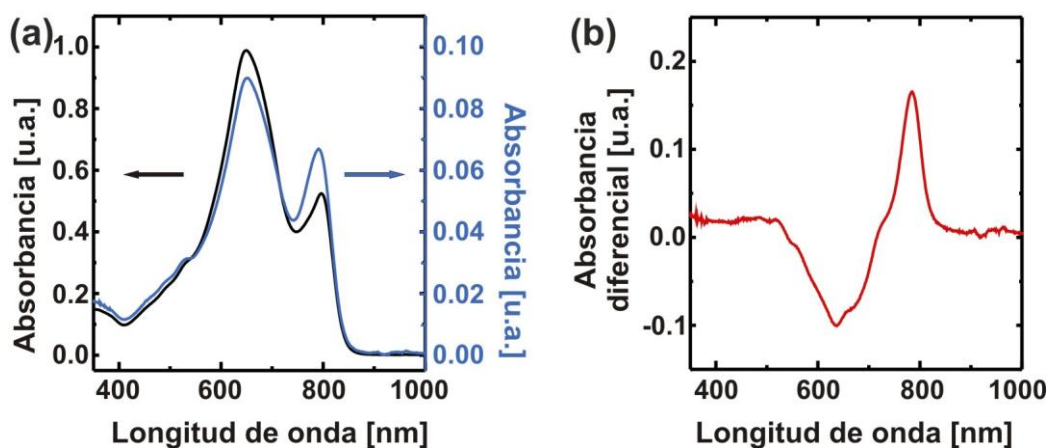


Figura 5.9: (a) Espectro UV-visible de solución metanólica $50 \mu\text{M}$ de CNN tiolada (curva negra) y de solución metanólica 1:10 CNN:HT (curva azul). Notar que en este último caso la cantidad de CNN disuelta es 10 veces menor que en la solución original (por eso la diferencia en la absorbancia de ambas soluciones). (b) Espectro diferencial de CNN en la solución original y en presencia de HT. Para el caso de CNN+HT (curva azul) se multiplicó por 10 la absorbancia de manera de ser comparada con la curva negra. En presencia de HT hay una disminución de especies de CNN monomérica y aumento de J-agregados.

5.5 El rol del grupo terminal de las SAMs: anclaje y liberación de cationes metálicos en SAMs de tioles aromáticos y alifáticos sobre Au.

Hasta aquí entonces hemos discutido el rol de las interacciones entre moléculas vecinas y su influencia en el autoensamblado y las estructuras superficiales formadas. Un último punto a abordar es la importancia del grupo terminal de la SAM. Como explicamos anteriormente, la cabeza de S de la molécula es la responsable de enlazarla covalentemente a la superficie metálica; las fuerzas de van der Waals entre las moléculas vecinas estabilizan la estructura dándole rigidez; y el grupo terminal es el encargado de conferirle las propiedades físicas y químicas deseadas. De esta forma por ejemplo, los grupos terminales $-\text{CH}_3$ o $-\text{CF}_3$ generan SAMs hidrofóbicas y con propiedades altamente antiadherentes mientras que los grupos $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$ o $-\text{OH}$ generan SAMs hidrofílicas con alta afinidad para enlazar cationes metálicos. Estas últimas pueden ser también utilizadas como plataformas para construir estructuras moleculares complejas ya sea a través de interacciones débiles o a través de reacciones químicas mediante uniones covalentes. Los grupos terminales $-\text{SH}$ también han sido utilizados para capturar iones metálicos sobre las SAMs.

Un ejemplo interesante de la utilización de sustratos metálicos modificados con monocapas o multicapas orgánicas como plataformas para la construcción de estructuras moleculares es la inmovilización de complejos de metales de transición. Estas estructuras tienen variadas aplicaciones que involucran los múltiples estados de oxidación del catión metálico y la posibilidad de transferir carga reversiblemente entre el centro metálico y el sustrato a través de la SAM. Algunas de estas aplicaciones comprenden: electrónica molecular, espintrónica, catálisis, biocatálisis y sensado, entre muchas otras. En todos estos casos es necesario que las capas utilizadas como matrices para ligar el complejo a la superficie metálica también sean conductoras, lo que posibilita la transferencia de carga en el dispositivo. Como matrices se utilizan polímeros,⁵⁰ hidrogeles⁵¹ y monocapas autoensambladas.⁵² Sin embargo las SAMs presentan la ventaja de que su espesor puede ser controlado con precisión nanométrica simplemente mediante la elección del tamaño de la molécula (el largo de la cadena hidrocarbonada en el caso de alcanotioles). El control del espesor es un punto central ya que el mismo permite regular la eficiencia del proceso de transferencia de carga. Por otra parte la elección del grupo terminal permite un anclaje selectivo y orientación espacial del complejo metálico respecto de la superficie del sustrato.²⁶

Existen distintas estrategias para inmovilizar los complejos metálicos sobre sustratos conductores utilizando el grupo terminal de las SAMs como elementos de anclaje: adsorción no específica, enlace covalente y adsorción específica. La primera de ellas involucra interacciones hidrofóbicas y electrostáticas. Las ventajas de esta estrategia consisten en la sencillez, rapidez del proceso y reversibilidad de la interacción. Las desventajas son la fácil desorción de las especies mediante cambios en la fuerza iónica o pH del medio y la falta de orientación de las moléculas

adsorbidas con respecto al sustrato. La estrategia que involucra la formación de un enlace covalente entre el grupo terminal de la SAM y el complejo resulta muy atractiva en términos de la gran estabilidad y fortaleza de la unión y por ende de la estructura formada. Sin embargo las reacciones suelen ser cinéticamente lentas, el proceso es irreversible y presenta la dificultad adicional de tener que remover de la interface reactivos y productos secundarios no deseados, un problema no trivial para este tipo de sistemas.⁵³ Por último, la interacción específica hace referencia a un tipo de asociación única entre el par de especies que participa del proceso (grupo terminal y complejo). La selectividad es un paso esencial en este tipo de construcciones. La química de coordinación puede ser incluida en esta última categoría. Sus ventajas son la posibilidad de orientar espacialmente las especies enlazadas mediante una adsorción reversible, controlada y específica. Todas estas estrategias se han utilizados para inmovilizar complejos metálicos sobre SAMs de tioles en superficies de metálicas.⁵²

La química de coordinación del Cu resulta particularmente interesante debido a sus estados de oxidación, la posibilidad de formar complejos multinucleares (más de un centro metálico por complejo) y la geometría definida que presentan los mismos. Los complejos de coordinación de Cu han sido ampliamente utilizados como sistemas modelo para imitar el comportamiento de centros redox de metaloenzimas⁵⁴ tales como azurina,⁵⁵ nitrito reductasa⁵⁶ y lacasa.⁵⁷ También se han empleado en la metalización de SAMs mediante electroreducción de las especies de Cu inmovilizadas en los grupos terminales.⁵⁸ Algunos de estos trabajos ya fueron descritos en el Capítulo 4 para las SAMs de PyS sobre Au(111). Recientemente se ha utilizado la punta de un microscopio de barrido con control electroquímico (SECM) para crear un patrón de moléculas fluorescentes sobre una SAM terminada en grupos azida.⁵⁹ En dicho proceso denominado “click chemistry” se utilizan complejos de Cu inmovilizados sobre los N del grupo terminal donde el Cu iónico actúa como catalizador de la reacción para formar un enlace covalente entre las dos moléculas.⁵⁹ Los complejos binucleares de Cu(II) también se emplean como catalizadores en la reducción de peróxido de hidrogeno y como fuente controlada de Cu(II) en solución para reacciones inorgánicas y como agentes oxidantes de reacciones orgánicas.⁶⁰

Dentro de los complejos binucleares, el complejo de acetato de Cu(II) hidratado (ver Figura 5.10) es uno de los más estudiados. Dicho compuesto es estable y presenta interacciones antiferromagnéticas intramoleculares, con lo cual además de las propiedades redox de las especies de Cu(II) se suman las potenciales aplicaciones de espintrónica.⁶¹ Los complejos de acetato de Cu(II) se pueden inmovilizar en SAMs de ácido mercaptohexadecanoico sobre Au(111) para construir compuestos cristalinos porosos tridimensionales (metal-organic frameworks-MOFs) con aplicaciones en catálisis, sensado, separación y purificación de gases, etc.⁶² De esta forma, la química de coordinación en conjunción con SAMs de tioles resultan una estrategia atractiva y sencilla (un solo paso) para inmovilizar el complejo de acetato de Cu(II) sobre superficies metálicas.⁶³

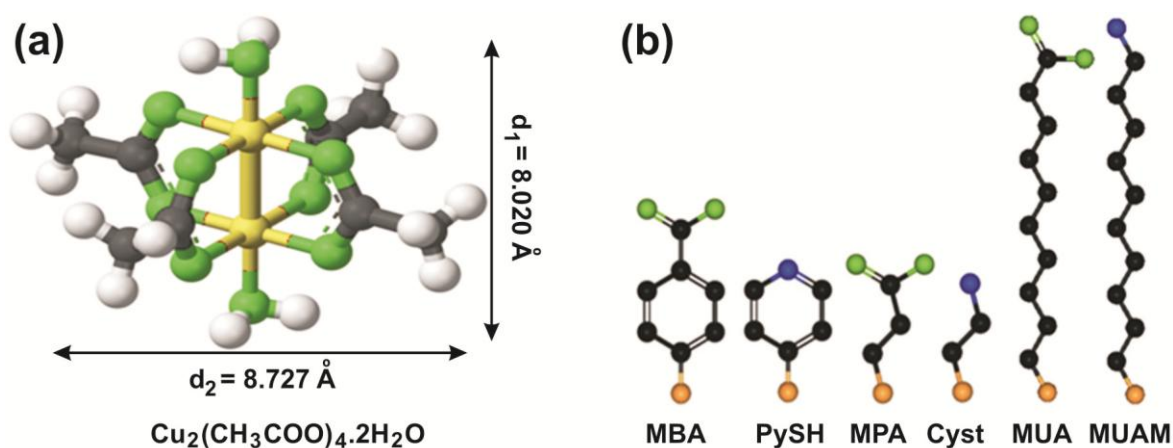


Figura 5.10: (a) Estructura del complejo de acetato de Cu. Amarillo (Cu), verde (O), negro (C), blanco (H). La distancia Cu-Cu es de 2.619 Å. (b) Distintos tioles utilizados en la inmovilización del complejo de Cu sobre la superficie de Au(111). Naranja (S), negro (C), verde (O), azul (N). No se muestran los hidrógenos (H).

En este Capítulo estudiaremos la inmovilización de $\text{Cu}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (AcCu) sobre SAMs de tioles aromáticos y alifáticos con grupos terminales donores (N y O) tratando de responder distintas preguntas importantes en vistas de las posibles aplicaciones que posee este sistema: ¿qué grupos terminales donores (O o N) son más eficientes para inmovilizar AcCu sobre las SAMs?, ¿qué fracción del total de grupos donores de la SAM participan del proceso de inmovilización?, ¿cómo influye el carácter alifático o aromático de la SAM en el proceso de transferencia de carga entre las especies de Cu y el sustrato de Au?, ¿cuál es la influencia del espesor de la SAM en la transferencia de carga?, ¿es posible realizar una reducción parcial de Cu(II) a Cu(I) y posteriormente a Cu(0) preservando la integridad de la SAM?, ¿es posible inmovilizar AcCu en una SAM con grupo terminal metilo?, ¿existe penetración del complejo en la SAM a través de sus defectos?. De esta forma, la interfaz Au-SAM que estudiamos previamente, ahora se extiende hacia estructuras más complejas, adicionando en este caso el estudio de transferencia de carga a través de la misma.

5.6 Inmovilización de complejos binucleares de Cu(II) mediante grupos terminales donores (N y O) de SAMs de tioles aromáticos y alifáticos sobre Au.

Autoensamblado de tioles alifáticos y aromáticos sobre Au e inmovilización de AcCu: condiciones experimentales. Las distintas SAMs se prepararon mediante la inmersión de los sustratos de Au en las soluciones 1mM de los distintos tioles a temperatura ambiente. Para cada uno de los 7 tioles se eligieron las mejores condiciones (solvente y tiempo de incubación) a fin de optimizar el cubrimiento y calidad de cada SAM. A continuación se resumen las condiciones para

cada caso: Cisteamina (Cyst): solución acuosa, 1 hora; 4-mercaptopiridina (PyS): solución acuosa, 10 minutos; 11-mercaptoundecilamina (MUAM): solución etanólica, 24 horas; Ácido mercaptopropanoico (MPA): solución acuosa, 1 hora; Ácido 4-mercaptobenzoico (MBA): solución etanólica, 30 minutos; Ácido 11-mercaptoundecanoico (MUA): solución etanólica, 24 horas; Hexanotiol (HT): solución etanólica, 24 horas.

Los sustratos de Au recubiertos con las moléculas de tioles se lavaron cuidadosamente con el mismo solvente utilizado para el autoensamblado y se secaron bajo corriente de N_2 . Posteriormente las SAMs ya formadas sobre Au se pusieron en contacto con una solución acuosa 1 mM de AcCu durante 1 hora, a temperatura ambiente. Se comprobó que mayores tiempos de inmersión en la solución de AcCu no aumentan la cantidad de complejo anclado sobre la SAM. Finalmente se procedió al lavado cuidadoso y secado bajo N_2 de las diferentes muestras.

Especies electroactivas en la construcción AcCu-SAM-Au. En esta sección realizaremos el análisis de los resultados derivados del empleo de técnicas electroquímicas para este sistema. Como ya lo hemos señalado anteriormente, es importante destacar que mediante esta técnica solo es posible detectar aquellas especies capaces de transferir carga en el sistema.

La Figura 5.11a muestra los voltamperogramas correspondientes a la cupla redox Cu(II)/Cu(I) del AcCu inmovilizado en las SAMs de MPA, MBA, Cyst y PyS en una solución 0.5 M de buffer fosfato (pH = 7.4). En todos los casos se observa un pico catódico (C) relacionado a la electroreducción de Cu(II) a Cu(I) ubicado en la región 0.0/0.1 V (respecto del electrodo de calomel saturado (ECS)) y un pico anódico (A) localizado entre 0.0/0.3 V asociado a la electrooxidación de Cu(I) a Cu(II). La presencia de la cupla redox del Cu es una clara evidencia de que el complejo de AcCu se encuentra inmovilizado sobre las SAMs y que los iones Cu son capaces de transferir carga al sustrato de Au. Sin embargo, en el caso de los tioles de mayor tamaño (más largos) como el MUA o MUAM la cupla redox es apenas detectable en la doble capa eléctrica (ver Figura 5.11b).⁵⁷ Por otra parte cuando se utiliza una SAM de HT (grupo terminal metilo) para intentar anclar el AcCu, no se puede observar la presencia de la cupla redox Cu(II)/Cu(I) (Figura 5.11b). Esto demuestra no sólo la importancia del grupo terminal (O, N) para inmovilizar el complejo de Cu mediante adsorción específica sino también permite asegurar que el complejo de AcCu no es capaz de penetrar a través de los defectos de la SAM, posiblemente debido a su gran tamaño respecto del de los defectos presentes en estas capas.

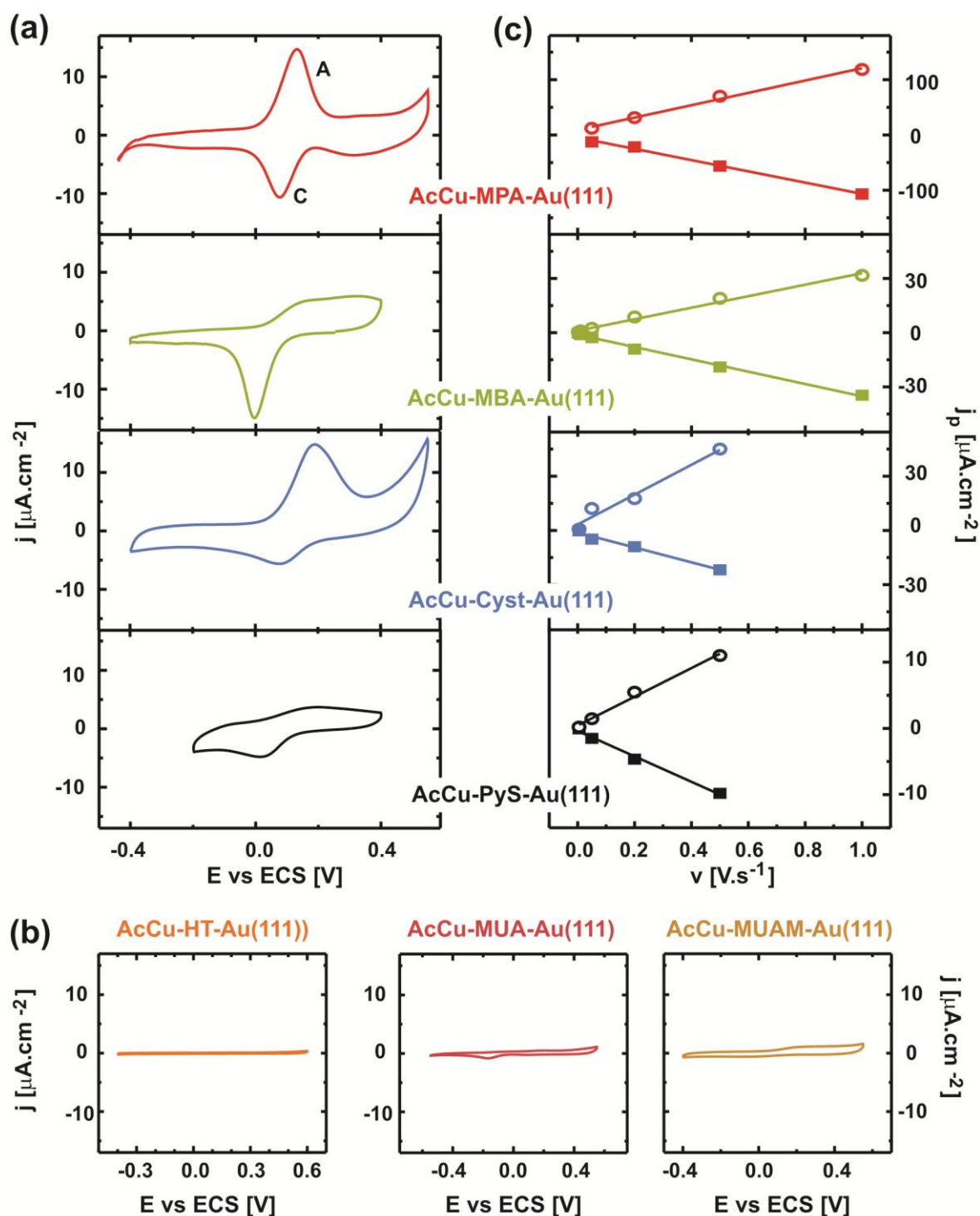


Figura 5.11: (a) y (b) Curvas de j vs E para la cupla Cu(II)/Cu(I) inmovilizada sobre las distintas SAMs sobre Au(111) . Velocidad de barrido $v = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, electrolito: buffer fosfato 0.5 M ($\text{pH} = 7.4$) a temperatura ambiente. (c) Curvas de j_p vs v para la cupla redox Cu(II)/Cu(I) adsorbido sobre distintas SAMs.

Los gráficos de los máximos de densidad de corriente de los picos anódicos y catódicos (j_p) de la cupla redox en función de la velocidad de barrido (v) (Figura 5.11c) muestran para todas las SAMs una dependencia lineal, típica de procesos electroquímicos con control superficial. Otro parámetro importante de este tipo de sistemas es la separación entre el pico anódico y catódico de

la cupla redox (ΔE_p) para cada SAM y su dependencia con la velocidad de barrido; la cual da idea de la reversibilidad del proceso de transferencia de carga. Si el comportamiento es idealmente reversible ΔE_p debería ser nulo, independientemente de v . Sin embargo, la mayoría de los procesos redox reversibles que se observan experimentalmente tienen un valor finito de ΔE_p .⁶⁴ Para nuestros sistemas, ΔE_p es prácticamente independiente de v en el rango de $0.005 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1} < v < 1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$. Sin embargo, el valor de ΔE_p depende fuertemente de la SAM utilizada para inmovilizar el AcCu obteniéndose valores de $\Delta E_p \approx 0.06 \text{ V}$ para MPA y $\Delta E_p \approx 0.10/0.12 \text{ V}$ para MBA y PyS. En el caso de las SAMs de Cyst la cupla redox de Cu presenta un ΔE_p que varía con la v : de 0.07 a 0.20 V para v entre 0.005 a $0.2 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ indicando un comportamiento más irreversible a altos valores de v .⁶⁵ Finalmente, para las SAMs de MUA y MUAM se observa un $\Delta E_p \approx 0.20 \text{ V}$ a $v = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$. Como se mencionó anteriormente la densidad de corriente de la cupla redox en estas SAMs es muy baja y la estimación del ΔE_p debió realizarse a partir de los pequeños hombros que se observan en el voltamperograma (Figura 5.11b). Estos datos, junto a otros que describiremos a continuación, se resumen en la Tabla 5.1.

A partir del análisis del comportamiento electroquímico de la cupla redox del AcCu en las diferentes SAMs podemos identificar dos situaciones extremas. El pequeño valor de ΔE_p y su independencia con v para AcCu inmovilizado en la SAM de MPA sobre Au(111) da cuenta de un proceso redox superficial prácticamente reversible. Por el contrario la mayor irreversibilidad se presenta para la cupla redox inmovilizada en SAMs de tioles largos, tales como MUA y MUAM, un comportamiento que ya ha sido observado para otros procesos redox sobre estas SAMs.⁶⁶

Tiol	$\Delta E/V$ <i>vs ECS</i>	$q_{des}/\mu\text{C cm}^{-2}$	Ep^D (tiol)/V <i>vs ECS</i>	Ep^D (tiol+ AcCu)/V <i>vs ECS</i>
MBA	0.10-0.12	55 ± 5	-0.61	-0.63
MPA	0.06	65 ± 10	-0.57	-0.56
MUA	0.20	(*)	-0.89	-0.94
PyS	0.10-0.12	58 ± 6	-0.76	-0.77
Cyst	0.07-0.20	60 ± 6	-0.61	-0.76
MUAM	0.20	(*)	-0.87	-0.89

Tabla 5.1: Columna 1: Tiol correspondiente a la SAM sobre la cual se inmovilizó en AcCu. Columna 2: Separación entre los picos anódicos y catódicos de la cupla redox Cu(II)/Cu(I) correspondientes a la construcción AcCu-SAM-Au(111). Columna 3: Densidad de carga de los picos de electrodesorción del tiol correspondiente a cada SAM sobre Au(111). Coincide con las cargas encontradas para la electrodesorción de cada tiol en la construcción AcCu-SAM-Au(111). Columna 4: Potencial del pico de electrodesorción de la SAM de cada tiol sobre Au(111). Columna 5: Potencial del pico de electrodesorción de la SAM de cada tiol en la construcción AcCu-SAM-Au(111). (*) No es posible estimar la carga del pico de electrodesorción de estas SAMs debido a que se encuentran parcialmente superpuestos a la reacción de descarga de hidrogeno.

Otro punto interesante es el ancho que presentan los picos voltamperométricos, en especial el pico anódico, de la cupla redox Cu(II)/Cu(I). En general, el potencial y forma de los picos de los procesos redox con control superficial dependen de distintos factores tales como interacciones laterales, el cubrimiento de especies redox-activas, la distribución de potenciales formales redox debido al entorno particular de la interface, etc.⁶⁷ Por ejemplo, en el caso de especies redox inmovilizadas sobre SAMs existe una distribución de constantes de velocidad de transferencia de carga debido al entorno particular de cada especie redox originado por el orden/desorden local de la red de tioles o bien defectos propios de la SAM o del sustrato.⁶⁸ Por lo tanto, la forma de los picos en la Figura 5.11a debería reflejar la presencia de distintos entornos presentes en cada SAM para las especies electroactivas.

Más adelante realizaremos un análisis más detallado de la influencia de las SAMs en la transferencia de carga incorporando a la discusión la cantidad total de especies AcCu inmovilizadas en cada SAM medidas mediante XPS y su relación con la cantidad de AcCu electroactivo.

Otro punto importante a evaluar en estos sistemas es la posibilidad de que la adsorción del AcCu pudiera desplazar una fracción de moléculas de tiol quimisorbidas sobre el sustrato, alterando la integridad de la SAM. Para realizar este análisis comparamos las curvas de electrodesorción reductiva de las SAMs sobre Au(111) antes y después de inmovilizar el AcCu (Figura 5.12). Los resultados indican que el pico de desorción del tiol se encuentra presente luego de la inmovilización del AcCu aunque el potencial de desorción (E_p^D) se desplaza levemente hacia potenciales más negativos. Este resultado sugiere que la desorción del tiol es ligeramente más difícil cuando el complejo se encuentra anclado en la SAM (ver Tabla 5.1). Es importante destacar que los perfiles voltamperométricos obtenidos para aquellas SAMs que tienen AcCu inmovilizado muestran la presencia de la cupla Cu(II)/Cu(I) (Figura 5.12).

Por otra parte, la estimación de las cargas de desorción para las distintas SAMs sobre Au(111) sin AcCu arroja valores de $q \approx 55/60 \pm 10 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, que están de acuerdo con la presencia de redes algo diluidas observadas en tioles cortos tales como: MPA,⁶⁹⁻⁷⁰ MBA,⁷¹ Cyst^{35, 72} y PyS.⁷³⁻⁷⁵ Luego de inmovilizar el AcCu los valores de densidad de carga se mantienen constantes o varían muy ligeramente (<5%) respecto de los encontrados para las SAMs sin el AcCu (ver Tabla 5.1). Estos resultados permiten afirmar que no existe un desplazamiento importante de los tioles por parte del complejo y por lo tanto que se mantiene la integridad de la SAM. Sin embargo en los casos de MUA y MUAM no es posible calcular un valor de q debido a que los picos de desorción de estos tioles están parcialmente solapados a la corriente de la reacción de descarga de hidrogeno a $\text{pH} = 7$. Sin embargo estos tioles presentan redes más densas y estables debido a las interacciones cadena-cadena que los tioles más cortos y por lo tanto es razonable considerar que también en estos casos la inmovilización del AcCu no afecta la integridad de la SAM.

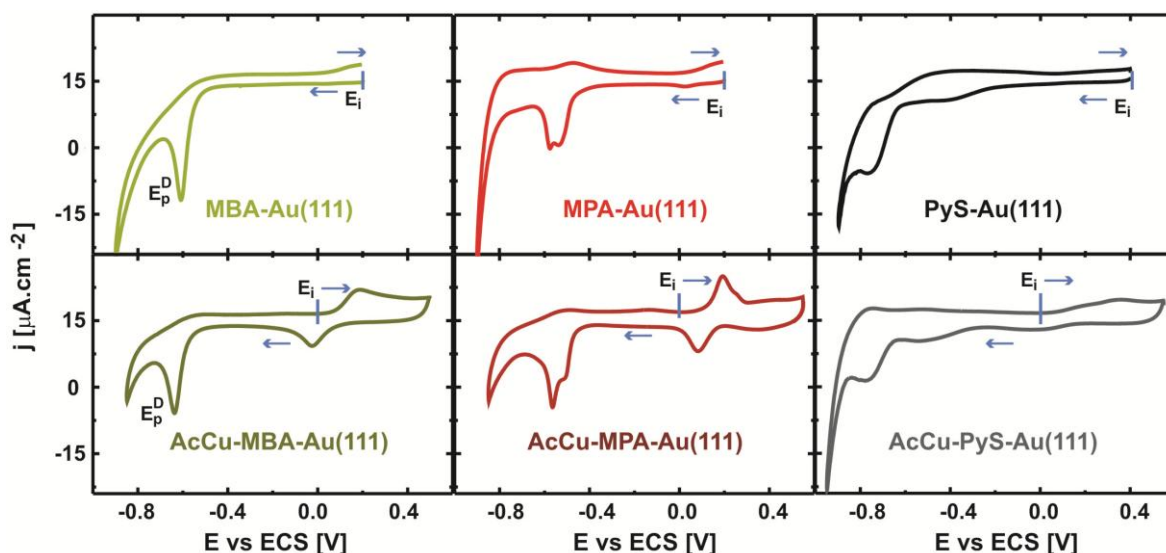


Figura 5.12: Curvas de j vs E para la electrodesorción de tioles de SAMs sobre Au(111) (paneles superiores) y de la cupla Cu(II)/Cu(I) inmovilizada sobre las distintas SAMs sobre Au(111) y la electrodesorción del tiol correspondiente (panel inferior). Velocidad de barrido $v = 0.05 \text{ V.s}^{-1}$, electrolito soporte: buffer fosfato 0.5 M (pH = 7.4) a temperatura ambiente. Se indica el potencial al cuál se inicia el barrido electroquímico (E_i), el pico de electrodesorción reductiva del tiol (E_p^D) y el sentido del barrido electroquímico (flechas).

Como ya hemos mencionado, la desorción reductiva sólo permite detectar aquellas especies capaces de transferir carga al sustrato de Au, es decir aquella fracción de complejo que es electroquímicamente activa. Sin embargo, para poder evaluar la eficiencia de los grupos terminales (N y O donores) para inmovilizar AcCu y la influencia de la SAM en la transferencia de carga, es necesario evaluar la totalidad de las especies de AcCu presentes. Para ello recurriremos a medidas de XPS como técnica complementaria.

Evaluación del cubrimiento de SAMs y AcCu por XPS. La Figura 5.13 muestra los espectros del C 1s (a), S 2p (b) y Cu 2p (c) para el sistema AcCu-MUAM-Au(111). La señal de S 2p se puede ajustar con dos componentes, uno principal a $\sim 162 \text{ eV}$ correspondiente a especies tiolato y uno minoritario a $\sim 163 \text{ eV}$ correspondiente a tiol libre. El espectro de C 1s presenta también varias componentes. La curva verde puede ser asignada a las especies carboxilato provenientes del ligando acetato del complejo mientras que la roja es asignada a C de las SAMs y del acetato.⁷⁶ Por otra parte la región del Cu 2p presenta un pico ancho a 933.4 eV y picos satélites a 942.5 eV , un espectro característico de las especies de Cu(II).⁷⁸ Los resultados de cubrimiento de las SAMs y AcCu obtenidos a partir del análisis de los espectros para cada sistema AcCu-SAM-Au(111) se resumen en la Tabla 5.2.

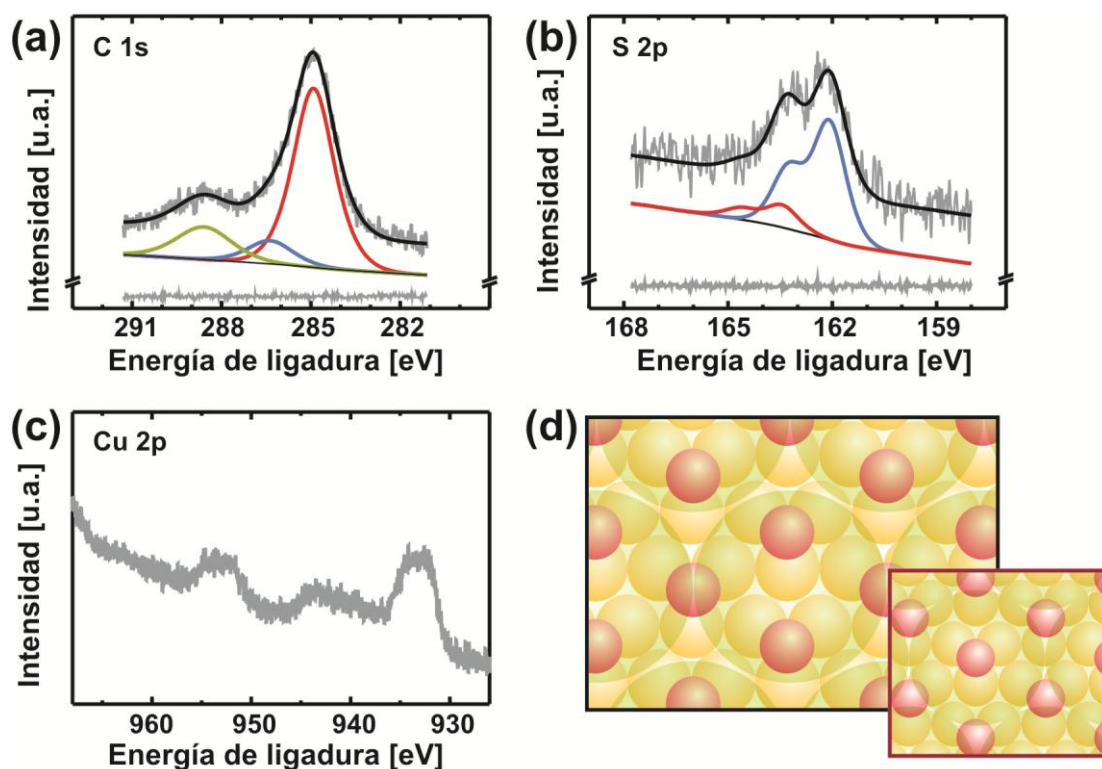


Figura 5.13: Espectros (a) C 1s y (b) S 2p y análisis de residuos para el sistema AcCu-MUAM-Au(111). a) Para los espectros de C 1s de todas las muestras el pico entre 288.9-289.2 eV (curva verde) fue asignado a especies O-C=O. Las curvas rojas y azules fueron asignadas a C y CO, respectivamente. El espectro S 2p tiene dos componentes 162 eV (rojo) correspondiente a especies tiolato y 163 eV (azul) tiol libre. (c) La región Cu 2p con sus correspondientes picos satélites, indicando la presencia de Cu(II). (d) Esquema de un arreglo compacto de AcCu (sombra verde) sobre una red ($\sqrt{3}\times\sqrt{3}$) R30° de tioles (rosa) sobre Au(111) (amarillo). En el esquema más grande se puede ver claramente la relación Cu/S = 2/3 (teniendo en cuenta que cada complejo de AcCu posee 2 iones Cu). En el esquema menor se muestra la situación más probable, donde el complejo inmovilizado se encuentra centrado sobre el grupo terminal de uno de los tioles. En este último caso también cada AcCu bloquea 3 tioles.

Comenzaremos evaluando los datos de cubrimiento (θ) para cada una de las SAMs sobre Au(111), en ausencia de AcCu. Para ello utilizaremos la señal de S 2p a 162 eV (que corresponde al tiolato) respecto a la del Au 4f, de acuerdo a la relación S 2p(162)/Au 4f. Para las SAMs de MUA y MUAM se obtiene $\theta_{\text{SAM}} = 0.28$. Este valor es levemente menor al obtenido para SAMs compactas que forman redes $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$ R30° o c(4x2), $\theta = 0.33$. Esta diferencia ya ha sido observada en otras SAMs de tioles con grupos terminales amino.⁷⁹ En el caso de las SAMs de MUA, un estudio reciente demuestra que una pequeña fracción de moléculas se encuentran en posición horizontal sobre el sustrato coexistiendo con moléculas en la posición vertical lo cual, obviamente, resulta en una disminución del cubrimiento.⁸⁰ Para el caso de tioles cortos, como ya hemos adelantado, las redes que se encuentran son más diluidas y por ende su cubrimiento es menor que en el caso de MUA, MUAM ($\theta = 0.28$) y de las SAMs de alcanotioles con grupo terminal CH₃ ($\theta = 0.33$). Es importante destacar que los cubrimiento para estas SAMs

de tioles pequeños determinados mediante XPS coinciden con los encontrados mediante las curvas de electrodesorción reductiva (Tabla 5.2).

Tiol	θ_{SAM}	Cu/S	$q_{Cu}/ \mu C.cm^{-2}$
MBA	0.24	0.24 (0.48)	15.5(36)
MPA	0.28	0.17 (0.56)	19.5(42)
MUA	0.28	0.24 (0.56)	1.5(42)
PyS	0.21	0.11 (0.42)	6.3(31)
Cyst	0.23	0.26 (0.46)	14 (35)
MUAM	0.28	0.19 (0.56)	1.7(42)

Tabla 5.2: Columna 1: Tiol correspondiente a la SAM sobre la cual se inmovilizó en AcCu. Columna 2: θ_{SAM} calculada a partir de la relación S2p(162 eV)/Au4f. Columna 3: Relación Cu/S calculada a partir de los datos de XPS. Los números entre paréntesis corresponden a la máxima relación posible considerando el cubrimiento experimental obtenido para cada SAM. Columna 4: Densidad de carga de la cupla Cu(II)/Cu(I) obtenida electroquímicamente para cada SAM; entre paréntesis se indica la máxima carga esperada para un cubrimiento completo de AcCu sobre cada SAM (calculados teniendo en cuenta el cubrimiento experimental hallado para cada SAM).

La relación Cu/S nos da una medida directa del cubrimiento del complejo de AcCu (θ_{AcCu}) sobre las SAMs. Si consideramos una SAM compacta ($\theta = 0.33$), teniendo en cuenta las dimensiones del complejo de AcCu⁸¹ (Figura 5.10), se obtiene un $\theta_{AcCu} = 1/3$ (Figura 5.13d); es decir, es posible acomodar de manera compacta 1 complejo cada 3 tiolatos presentes en la SAM. Dado que cada AcCu tiene dos iones Cu(II), para un cubrimiento total (100% eficiencia) de AcCu sobre una SAM compacta, la relación Cu/S medida por XPS debería ser 2/3 (2 iones Cu(II) cada 3 tiolatos). Sin embargo, la estimación del máximo cubrimiento posible de AcCu sobre cada SAM debe hacerse con el cubrimiento real (experimental) θ_{SAM} , ya que este determina la verdadera cantidad de sitios de coordinación disponibles. En la Tabla 5.2 puede verse que los cubrimientos de Cu(II), θ_{Cu} , varían entre el 26% (para PyS) a 56% (para Cyst) respecto del máximo esperado para cada una de las SAMs estudiadas. Esto implica que la eficiencia de inmovilización depende fuertemente de la SAM que se emplea.

Finalmente estudiaremos la relación COO/Cu la cual no da información sobre la integridad del complejo de AcCu inmovilizado sobre la SAM. Para el AcCu la relación COO/Cu = 2 (Figura 5.10). Comenzaremos analizando lo que sucede en las SAMs que también poseen grupos terminales COO. Si el complejo de AcCu se enlaza a la SAM mediante el desplazamiento de una molécula de agua axial, la relación esperada sería COO/Cu = 7/2; esto es: por cada complejo hay 4 COO y 2 Cu(II) más los 3 COO terminales de la SAM (recordemos que hay 1 complejo cada 3 tiolatos). Otra posibilidad sería que el complejo se adsorba sobre la SAM desplazando una molécula de acetato, en ese caso la relación esperada sería COO/Cu = 6/2. Este último caso se ha

observado para complejos de acetato-Ru inmovilizados sobre SAMs con grupos terminales –COO.⁸² El valor experimental encontrado para las SAMs con grupos terminales COO es de 3.2, un valor que no nos permite decidir cual mecanismo es más probable aunque también existe la posibilidad de que ambos ocurran simultáneamente.

Para el caso de SAMs terminadas en N el valor esperado para el mecanismo de desplazamiento de una molécula axial de agua sería de $\text{COO}/\text{Cu} = 2$ (no hay otras contribuciones de COO). En esta SAMs el valor experimental es de 5.8. Esto permite suponer que el desplazamiento de una molécula de agua axial del complejo es el mecanismo que opera en la inmovilización, ya que si operara el desplazamiento de COO el valor esperado sería incluso menor a 2. Sin embargo, el valor obtenido es muy superior al esperado. Este hecho podría deberse a la adsorción de COO libre (en equilibrio con el complejo) en los grupos amino terminales, tal como ya ha sido demostrado.⁸³⁻⁸⁴

5.7 Influencia de la SAM (aromática o alifática) y el grupo donador (N o O) en los procesos de transferencia de carga e inmovilización del complejo AcCu.

La máxima carga esperada para la cupla Cu(II)/Cu(I) para una arreglo compacto del complejo AcCu sobre una SAM con $\theta = 0.33$ es de $q_{\text{Cu}} \approx 50 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ (ver Figura 5.13d). Sin embargo, como ya explicamos, dicho cálculo debe realizarse considerando el cubrimiento de cada SAM en particular (θ_{SAM}) ya que la cantidad de grupos donores (para inmovilizar al complejo) depende de dicho cubrimiento. Estos valores han sido calculados y figuran en la Tabla 5.2, (columna 4, valores entre paréntesis). Los datos indican que para tioles pequeños (SAM de MPA, espesor de $h = 0.5 \text{ nm}$;⁸⁵ SAM de MBA, espesor de $h = 0.78 \text{ nm}$ ⁸⁶ y SAM de Cyst, espesor de $h = 0.48 \text{ nm}$ ⁸⁷) los valores de q_{Cu} se encuentran en torno a $14/19 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$, esto implica entre un 40/50% de una monocapa completa de AcCu. Si se tiene en cuenta que los valores de θ_{AcCu} sobre estas SAMs es también un 40/50% (Tabla 5.2, columna 3) podemos concluir que prácticamente todas las especies de Cu(II) inmovilizadas sobre estas SAMs son electroactivas y transfieren carga con el sustrato de Au de manera eficiente. Esto es así incluso en las SAMs de PyS, donde el cubrimiento de AcCu es muy bajo ($\theta_{\text{AcCu}} = 1/4$), pero prácticamente todas las especies transfieren carga.

Por otro lado, la menor q_{Cu} encontrada corresponde a la SAM de MUA ($h = 1.9 \text{ nm}$)⁸⁷ a pesar de que esta SAM es capaz de inmovilizar gran cantidad de iones Cu(II), tal como muestran los resultados de XPS (Tabla 5.2). Este hecho puede explicarse considerando que la probabilidad túnel en este sistema disminuye marcadamente debido al mayor espesor de SAM. Como consecuencia, solo una pequeña fracción de los centros redox (5%) puede participar del proceso de transferencia de carga. Ocurre lo mismo en las SAMs de MUAM ($h = 1.75 \text{ nm}$),⁸⁸ donde por

XPS se encuentra un cubrimiento de $\theta_{\text{AcCu}} = 1/3$, pero la carga detectada electroquímicamente es de solo $q_{\text{Cu}} = 1.7 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ (Figura 5.11b).

Es posible concluir que la mejor actividad electroquímica del complejo inmovilizado se alcanza para SAMs de tioles cortos tales como MPA, Cyst, MBA y PyS. En este último caso sin embargo la eficiencia para anclar al AcCu es marcadamente menor a los otros tioles. Este hecho podría explicarse por la distinta afinidad para adsorber iones Cu(II) que presenta el grupo piridínico respecto del amino en tioles N terminados. La alta eficiencia para la transferencia de carga de las SAMs de tioles pequeños también se observa cuando se estudia la transferencia de carga desde el Cu(II) del centro activo de la azurina inmovilizada sobre SAMs de alcanotioles de distinto largo de cadena. En estos experimentos se demostró que la constante de transferencia de carga es prácticamente independiente para tioles con menos de 8 o 9 átomos de C y que para tioles más largos existe un decaimiento exponencial de la misma con un factor $\beta = (1.03 \pm 0.02)/n$, siendo n el número de átomos de C de la cadena hidrocarbonada del alcanotiol.⁸⁸⁻⁹⁰ Otra conclusión importante es que a partir de nuestros resultados experimentales no hay evidencias de que el comportamiento de transferencia de carga sea distinto entre SAMs de tioles aromáticos y alifáticos, tal como se ha observado para otros centros redox inmovilizados sobre SAMs en sustratos de Au.⁹¹ En efecto, para SAMs de tioles, es razonable esperar que el principal mecanismo que opere en la transferencia de carga sea el de túnel, con lo cual el espesor de la SAM es fundamental y no así su naturaleza (alifática o aromática) ya que la resistencia a la transferencia de carga aumenta exponencialmente a medida que se aleja el centro redox del sustrato.⁹² Esto permite explicar lo que sucede para las SAMs de MUA y MUAM, las cuales resultan ser las peores en la construcción de plataformas que implican transferencia de carga entre el sustrato y el complejo.

En conclusión nuestros resultados demuestran que el proceso de transferencia de carga depende fuertemente del espesor de la SAM pero resulta prácticamente independiente de la naturaleza del mismo (alifático o aromático) como así también del donador presente en el grupo terminal por el cual se enlaza el AcCu. Los resultados también demuestran que la eficiencia de la inmovilización del AcCu por parte de los tioles que poseen O en los grupos terminales es mayor respecto de los que poseen N.

5.8 Orientación espacial de las especies de AcCu inmovilizadas sobre las SAMs: construcción de estructuras supramoleculares.

Para estudiar la orientación espacial que adquiere el AcCu inmovilizado en las SAMs hemos recurrido a la construcción de otra capa de moléculas por sobre la capa del complejo. Para ello utilizamos las moléculas de 4,4'-bipiridina (BiPy) las cuales tienen la capacidad de unirse a la capa de AcCu y a su vez anclar una segunda capa de AcCu. Esto sólo sería posible si la

orientación espacial del complejo sobre la SAM es vertical lo que permite desplazar la segunda molécula axial de agua del AcCu inmovilizado. En la Figura 5.14b se presenta un esquema de la estructura supramolecular que pretendemos construir.

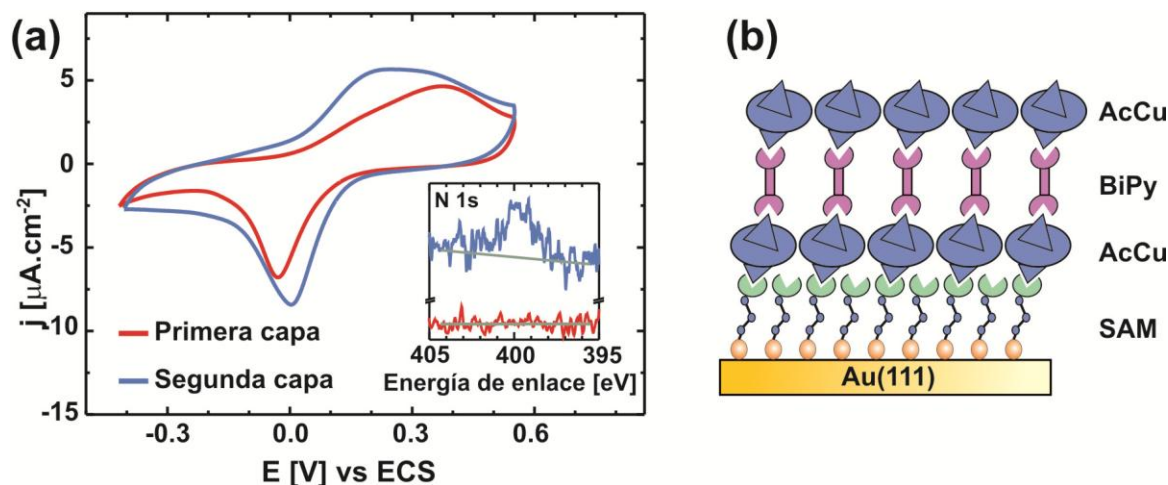


Figura 5.14: (a) Curva de j vs E para la cupla redox Cu(II)/Cu(I) en el sistema AcCu-MBA-Au(111) (rojo) y luego de construir la estructura supramolecular AcCu-BiPy-AcCu-MBA-Au(111) (azul). Las medidas fueron realizadas a $\nu = 0.05 \text{ V.s}^{-1}$ en buffer fosfato 0.5 M (pH = 7.4). Inset: Espectros de XPS de N 1s antes (rojo) y después (azul) de ensamblar la BiPy sobre la primer capa de la estructura. (b) Esquema ideal de la estructura supramolecular generada.

Para construir esta estructura supramolecular hemos utilizado la SAM de MBA sobre Au(111). Dicha elección se basa en: el buen cubrimiento de AcCu que presenta esta SAM, su buena capacidad para la transferencia de carga y la estructura rígida que proporciona el anillo aromático (mayor interacción lateral con moléculas vecinas). Por otra parte la elección de la BiPy para inmovilizar la segunda capa se base en la posibilidad de formar una estructura aromática tridimensional (junto al MBA) que podría beneficiar la transferencia de cargas entre el AcCu más externo y sustrato de Au. La construcción del sistema AcCu-MBA-Au(111) fue realizada de acuerdo al protocolo descrito previamente. Este sistema fue luego inmerso durante 12 horas en una solución etanólica 1 mM de BiPy. Posteriormente se procedió a un cuidadoso lavado con etanol y finalmente al secado bajo corriente de N_2 . Las muestras así preparadas fueron analizadas mediante XPS. El inset de la Figura 5.14a muestra el espectro de XPS (región de N 1s) después del ensamblado de la BiPy (curva azul). En el mismo puede observarse la presencia del N lo cual evidencia que las moléculas de BiPy son capaces de adsorberse en este sistema. La posibilidad de que las moléculas de BiPy se adsorbieran sobre los COO libres de la SAM de MBA fue descartada mediante la realización de un blanco de MBA-Au(111) + BiPy donde no pudo observarse la señal de N 1s en el espectro XPS (inset Figura 5.14a, curva roja). Posteriormente la estructura modificada con la capa de BiPy se colocó por 2 horas en la solución acuosa 1 mM de AcCu, con la intención de generar la segunda capa de AcCu adsorbido (ver Figura 5.14b) y

construir la estructura supramolecular AcCu-BiPy-AcCu-MBA-Au(111). Luego de varios lavados la muestra fue colocada en la celda electroquímica y se determinó la q_{Cu} para esta estructura. Como puede verse en la Figura 5.14a, la densidad de carga q_{Cu} aumenta un 40% luego de inmovilizar la segunda capa de AcCu (línea azul) con respecto a la primera (línea roja). El aumento neto en q_{Cu} es de $\sim 6 \mu C.cm^{-2}$, un valor que coincide con el que hemos medido cuando se inmoviliza el AcCu sobre SAMs de PyS lo cual es esperable dado que esta molécula como la BiPy poseen grupos piridínicos disponibles para inmovilizar el AcCu.

Un punto interesante a discutir es que, a diferencia de lo ocurre para las SAMs de MUA y MUAM, donde solo una fracción muy pequeña de iones Cu(II) adsorbidos son electroquímicamente activos dada la longitud de la cadena hidrocarbonada, en el caso de la BiPy, los iones Cu(II) de la segunda capa del AcCu son capaces de transferir carga a pesar de encontrarse a más de 2 nm de la superficie de Au. Esto indica que la estructura supramolecular de AcCu-BiPy-AcCu-MBA-Au(111) es capaz de conectar eléctricamente todos los centros redox adsorbidos (de la primera y segunda capa) y transferir carga desde ambos complejos al sustrato de Au. Esto no debería sorprendernos ya que sabemos que la conductancia molecular de una molécula de BiPy es 8 veces mayor a la de un ditiol alifático de largo intermedio como el hexanoditiol.⁹² En este caso es válido suponer que el mecanismo de transferencia de carga entre la primera y segunda capa de la estructura supramolecular es distinto al que opera entre la primera capa y el sustrato de Au (túnel).

Respecto de las preguntas que nos formulamos para este sistema ya hemos sido capaces de responder gran parte de ellas, en particular las referidas al proceso de transferencia de carga y habilidad de los grupos terminales donores N y O para inmovilizar el AcCu. Sin embargo llama la atención que en las condiciones experimentales que hemos empleados no ha sido posible observar la segunda cupla redox del complejo: Cu(I)/Cu(0). La generación de Cu(0) sobre la SAM permitiría fabricar contactos moleculares a partir de un proceso de metalización controlado. Dos factores pueden ser los responsables de la ausencia de esta cupla en los voltamperogramas: 1) las SAMs bloquean completamente la transferencia de un segundo electrón desde el sustrato de Au a los iones Cu(II), 2) la desorción del tiol ocurre antes de poder transferir el segundo electrón (el potencial al cuál ocurre dicha transferencia es más negativo que el potencial de electrodesorción de la SAM). Una estrategia para discernir cuál de estos factores es el responsable de la ausencia de la cupla mencionada es utilizar una plataforma en la cual las SAMs presentan mayor estabilidad frente al proceso de desorción reductiva del tiol. Esta condición puede alcanzarse utilizando los sustratos de Au nanoestructurado descritos en el Capítulo 4 que presentan dicha propiedad. En la siguiente sección estudiaremos la inmovilización de AcCu sobre SAMs de tioles ensambladas sobre Au nanoestructurado.

5.9 SAMs de tioles sobre Au nanoestructurado: adsorción específica de AcCu.

La Figura 5.15 muestra el voltamperograma de AcCu adsorbido sobre Au nanoestructurado (NSAu) en ausencia de SAM, registrado en buffer fosfato. La cupla redox Cu(II)/Cu(I) que hemos discutido previamente aparece a potenciales entre 0.3/0.05 V mientras que otro proceso más irreversible tiene lugar a potenciales más negativos. Dicho proceso corresponde a la cupla redox Cu(I)/Cu(0), cuyos picos catódico y anódico se encuentran centrados en -1.0 V y -0.6 V respectivamente, solapados con la reacción de descarga de hidrógeno (HER). En este caso podemos resaltar tres aspectos: 1) la carga anódica de la reacción redox Cu(I)/Cu(0) es menor a la carga catódica. Este resultado puede explicarse teniendo en cuenta que la reacción catódica se encuentra solapada con la HER; 2) la carga involucrada en el proceso Cu(I)/Cu(0) es menor a la del proceso Cu(II)/Cu(I), esto se debe a que la ventana de potenciales que se puede utilizar se encuentra limitada por la estabilidad del solvente y en la misma solo una fracción de Cu(I) puede ser reducido a Cu(0); 3) el proceso de reducción de Cu(I) a Cu(0) comienza a $E \approx -0.65$ V, un potencial al cual comienza la desorción de la mayoría de las SAMs utilizadas sobre Au(111) (Figura 5.12). Este último punto es importante para comprender porque la cupla Cu(I)/Cu(0) no pudo ser observada cuando el AcCu fue adsorbido sobre las distintas SAMs de tioles sobre Au(111).

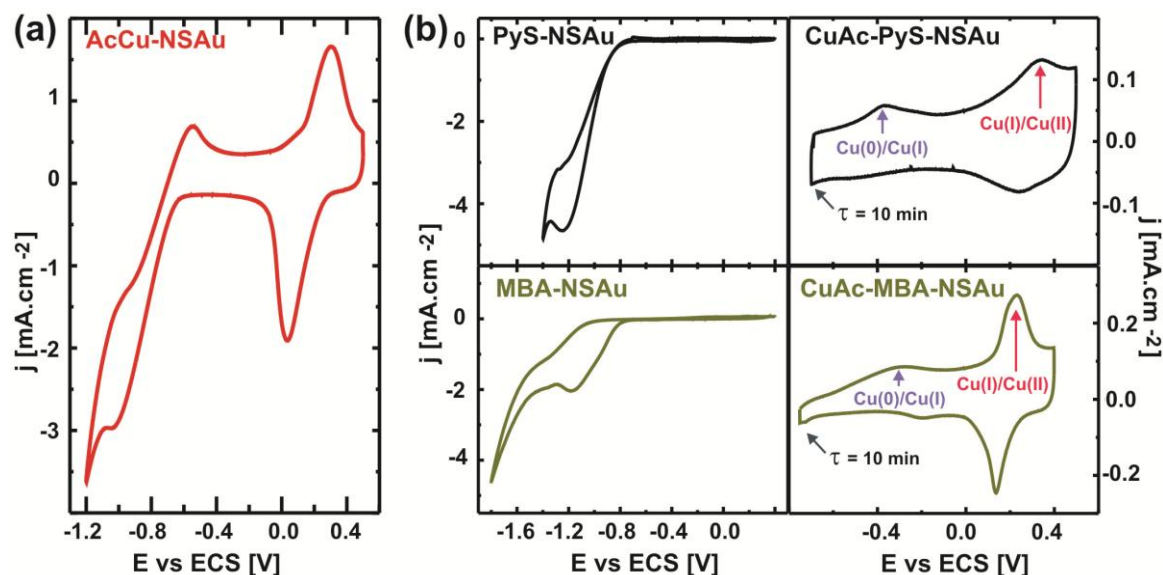


Figura 5.15: (a) Curva de j vs E para AcCu adsorbido sobre Au nanoestructurado (en ausencia de SAM). (b) Panel izquierdo: curvas de electrodesorción reductiva de SAMs sobre Au nanoestructurado. Panel derecho: Voltamperometría cíclica de las cuplas Cu(II)/Cu(I) y Cu(I)/Cu(0) para AcCu inmobilizado sobre SAMs de PyS y MBA sobre Au nanoestructurado. Las medidas fueron realizadas a $\nu = 0.05$ V.s⁻¹ en buffer fosfato 0.5 M (pH = 7.4).

La Figura 5.15b (panel izquierdo) muestra la curva de electrodesorción reductiva para SAMs de PyS y MBA sobre Au nanoestructurado. Tal como esperamos, de acuerdo a lo discutido en el Capítulo 4, la estabilidad de las SAMs sobre estos sustratos es mayor que en Au(111) como se comprueba comparando la Figura 5.15b (Au nanoestructurado) con la Figura 5.12 (Au(111)). En el caso del Au(111) la desorción de las SAMs ocurre en torno a $E \approx -0.6/-0.8$ V, mientras que sobre Au nanoestructurado ocurre a partir de $E \approx -1.2$ V. Este aumento en la estabilidad de las SAMs permite analizar la posibilidad de metalizarlas a partir de iones Cu(II) inmovilizados sobre las mismas. Sin embargo esto requiere que la transferencia de un segundo electrón al Cu(II) no esté bloqueada por las SAMs.

Para estudiar esta posibilidad preparamos SAMs de MBA y PyS sobre Au nanoestructurado las cuales fueron inmersas durante 12 horas en solución acuosa 1 mM de AcCu. El incremento del tiempo de inmersión respecto del utilizado para los sistemas SAMs-Au(111) está relacionado con la estructura porosa de estos sustratos nanoestructurados y tiene por objetivo garantizar que el AcCu ha sido capaz de alcanzar toda la estructura del sustrato. Posteriormente los sustratos ya modificados con el AcCu se polarizaron a -0.7 V (para PyS) y -0.75 V (para MBA) durante 10 minutos (Figura 5.15b, panel derecho). A estos potenciales no debería ocurrir desorción del tiol sobre Au nanoestructurado (Figura 5.15b, panel izquierdo) y al menos una fracción de los iones Cu(I) producidos en la primera región de potencial podrían ser reducidos a Cu(0), de acuerdo a la Figura 5.15a. En la Figura 5.15b (panel derecho) se puede observar la señal anódica correspondiente al proceso de oxidación de Cu(0) a Cu(I) precediendo el pico de la reacción Cu(I)/Cu(II). Por lo tanto, este procedimiento electroquímico permitiría recubrir las SAMs de tioles con cantidades controladas de Cu metálico utilizando superficies de Au nanoestructurado. Una ventaja adicional de este procedimiento es que el complejo de AcCu utilizado como fuente de Cu(II) evita que dichos iones penetren por los defectos nanométricos de la SAM dado el gran tamaño del complejo, como ya lo hemos demostrado utilizando SAMs de HT. La difusión de iones Cu(II) a través de defectos es uno de los problemas más frecuentes en los procesos de formación de contactos moleculares y metalización de SAMs ya sea en fase líquida como en fase gas.⁹³

Sin embargo, la carga involucrada en el proceso de oxidación de Cu(0)/Cu(I) es considerablemente menor a la del proceso Cu(I)/Cu(II). Esto se debe a que el potencial y tiempo de reducción (-0.7/-0.75 V, 10 minutos) sólo permiten generar una fracción de Cu(0) a partir del Cu(I) generado en el primer pico catódico. En otras palabras ni el potencial ni el tiempo de reducción permiten que todos los iones Cu(I) se reduzcan tal como se deduce del análisis de la Figura 5.15a. Es importante destacar que el potencial de reducción que hemos utilizado es el más negativo que permite metalizar el Cu (al menos parcialmente) preservando la integridad de la SAM. En efecto si utilizáramos potenciales más negativos aumentaríamos la cantidad de iones Cu(I) que se reducen a Cu(0) pero simultáneamente se desorbería parte de la SAM.

Los sustratos de Au nanoestructurado parecen constituir plataformas interesantes para el sensado de cationes metálicos, en particular para la detección de Cu(II). En efecto, si se compara la cantidad de AcCu adsorbido sobre una misma SAM pero ensamblada en sustratos de Au(111) y en Au nanoestructurado, se observa que en estos últimos la carga involucrada en la cupla redox Cu(II)/Cu(I) es ~ 30 veces mayor. Este hecho se debe al aumento de área superficial del Au nanoestructurado, tal como señalamos en el Capítulo 4. La nanoestructuración de la superficie de Au también permite realizar medidas de espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS) en estos sustratos debido a la presencia de plasmones superficiales. Abordaremos este punto a continuación.

5.10 Localización espacial mediante espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS) de AcCu sobre SAMs mixtas en Au nanoestructurado.

Como describimos previamente, las SAMs de HT (grupo terminal metilo) resultan ineficientes para inmovilizar el complejo AcCu (Figura 5.11b). Por el contrario hemos demostrado que las SAMs con grupos terminales donores O y N (en especial O) son capaces de adsorber específicamente el complejo de AcCu. Las medidas de SERS permiten localizar con precisión micrométrica las regiones ricas en Cu sobre sustratos de Au nanoestructurado recubiertos con SAMs de tioles. En este sentido y con la idea de confirmar la importancia de los grupos terminales de la SAM, hemos preparado SAMs mixtas de dos tioles (HT y MBA) que presentan distinta capacidad para el anclaje de AcCu. A priori las regiones ricas en MBA también deberían serlo en AcCu, no así las regiones donde está presente el HT en las que el AcCu debería estar ausente. Esta distribución local de especies podría ser revelada a través de mapas de micro-Raman.

Con el objeto de evaluar en forma simultánea la presencia de las distintas especies sobre el sustrato de Au nanoestructurado se seleccionaron distintas regiones espectrales, características de cada una de las especies. En el caso del MBA se utilizó la señal Raman centrada a 1590 cm^{-1} (Figura 5.16a) que es la banda más intensa que presenta el espectro SERS de MBA y que ha sido asignada al modo de vibración ν_{8a} del anillo aromático.⁹⁴ Para el AcCu, se utilizaron las bandas que se encuentran en la región de 300 cm^{-1} donde existen 5 modos de vibración del complejo: $\delta(\text{O-Cu-O}) = 223$ y 234 cm^{-1} , $\delta(\text{Cu-Cu-O}_w) = 254\text{ cm}^{-1}$ (siendo O_w el correspondiente a una de las moléculas de agua axiales), $\nu(\text{Cu-O}_w) = 302\text{ cm}^{-1}$ y $\nu(\text{Cu-O}) = 323\text{ cm}^{-1}$.⁹⁵ En la Figura 5.16c puede verse el solapamiento de todos estos modos vibracionales que pueden ser asignados a la presencia de AcCu.

En la Figura 5.16b y d se presentan los mapas ($100 \times 100\ \mu\text{m}^2$) correspondientes a la distribución de MBA (rojo, Figura 5.16b) y AcCu (verde, Figura 5.16d), en la misma muestra y región. Los mismos fueron realizados graficando la intensidad de las señales Raman antes

mencionadas en función de la posición en el sustrato. Estos mapas revelan la estrecha correlación que existe entre la distribución de MBA y la del AcCu sobre la superficie de Au nanoestructurado. Las regiones azules en el mapa de MBA corresponden a lugares donde el HT se autoensambló sobre el sustrato y es evidente que en dichas regiones no hay AcCu adsorbido. Estos resultados muestran la importancia del grupo terminal en los procesos de adsorción específica. Los mapas también permiten concluir que el MBA y el HT en SAMs mixtas se segregan formando dominios claramente identificables en la superficie del Au.

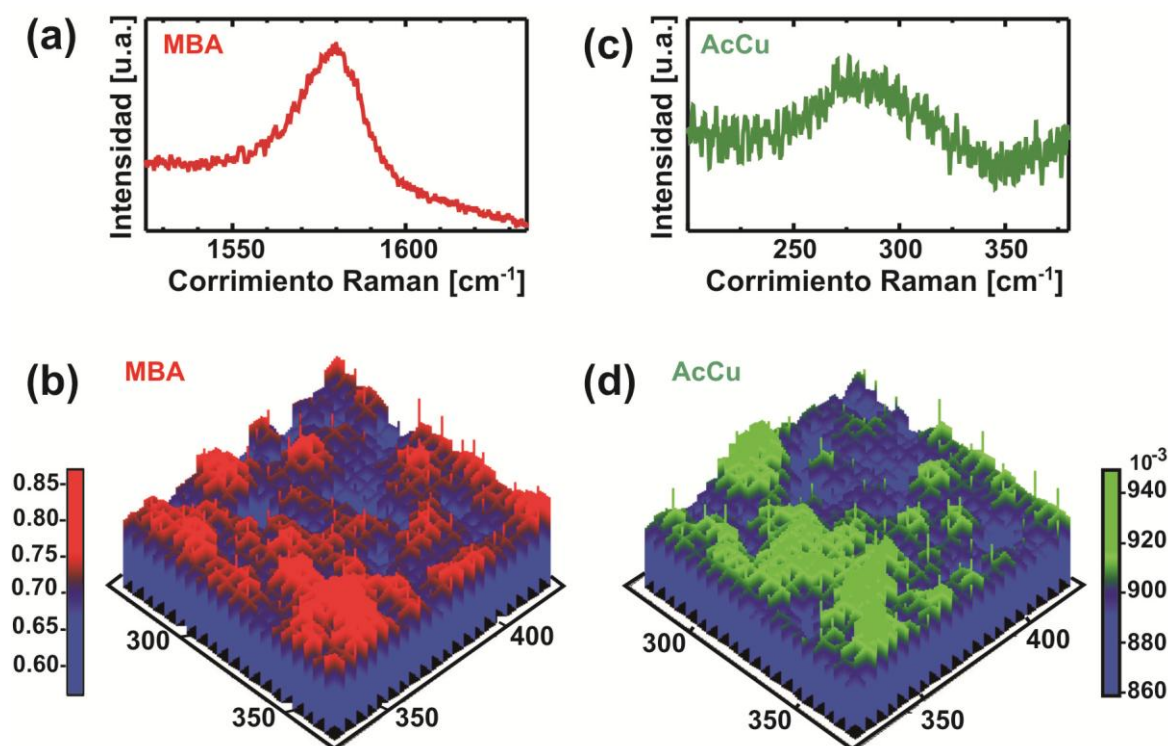


Figura 5.16: (a) Modo Raman de vibración del anillo aromático $\nu_{8a} = 1590 \text{ cm}^{-1}$ del MBA. (b) y (d) Mapas SERS de $100 \times 100 \text{ }\mu\text{m}^2$ de la distribución espacial de MBA (b) y AcCu (d) en SAMs mixtas (HT y MBA) en Au nanoestructurado + AcCu. (c) Región de 300 cm^{-1} donde varios modos de vibración Raman han sido reportados para AcCu.

Sin embargo para llegar a estas conclusiones es necesario realizar un cuidadoso análisis de los resultados. En primer lugar, los sustratos de Au nanoestructurado son intrínsecamente inhomogéneos en cuanto a los factores de amplificación de la señal Raman. Esto podría implicar que solo las regiones de mayor amplificación SERS sean detectadas en las Figuras 5.18b y d. Para descartar esta posibilidad, se midieron los blancos de Au nanoestructurado con MBA autoensamblado (sin HT) y aunque los factores de amplificación no fueron homogéneos, el MBA pudo ser detectado en todo el sustrato. Esto implica que en la Figura 5.16b el mapa de distribución de MBA muestra el contenido real de esta molécula en la SAM mixta y por tanto las regiones azules pueden ser asignadas a HT. Otro factor a tener en cuenta es la dependencia de los

factores de amplificación SERS con la distancia entre la molécula y el sustrato. Podría ocurrir que el AcCu se encuentre inmovilizado sobre HT a una distancia mayor del sustrato que en el caso del MBA con lo cual su factor de amplificación sería menor y por tanto podríamos no estar detectándolo. Sin embargo, el espesor de ambas SAMs es muy similar: MBA 0.78 nm y HT 0.9 nm. Por lo tanto el AcCu inmovilizado en ambas SAMs debería ser detectado con iguales o similares factores de amplificación.

Por lo tanto podemos concluir mediante el análisis de los mapas de SERS (utilizando sustratos nanoestructurados de Au como plataformas) la importancia del grupo terminal en la inmovilización de los complejos de Cu y la posibilidad de localizar estas especies en SAMs mixtas con precisión micrométrica.

5.11 Liberación controlada electroquímicamente de especies de Cu.

Los ciclos voltamperométricos consecutivos de la cupla redox Cu(II)/Cu(I), inmovilizada sobre SAMs de PyS y Cyst en Au(111), muestran una pérdida continua de carga, indicando que las especies de Cu son liberadas desde la interfaz SAM/electrolito hacia el seno del electrolito (Figura 5.17a y b). Por el contrario, en SAMs con grupos terminales O como donador, tales como MPA o MBA, la carga de la cupla Cu(II)/Cu(I) se mantiene constante al menos durante los primeros 10 ciclos. Este hecho demuestra que la interacción N-Cu es más débil que la interacción O-Cu.

De manera de evaluar si las especies liberadas corresponden a Cu(I), se aplicó un potencial de -0.25 V durante 10 minutos y se verificó una disminución en la carga de la cupla redox Cu(II)/Cu(I) respecto de la inicial. Por el contrario, experimentos control realizados a circuito abierto muestran que la carga no se modifica en el tiempo (para tiempos similares a los que tardan los 10 ciclos electroquímicos), es decir: no hay liberación de Cu(II) y la liberación de Cu(I) es inducida electroquímicamente, por lo que puede ser controlada.

La posibilidad de liberar especies de Cu(I) en forma controlada mediante ciclos voltamperométricos ha sido utilizada recientemente por otros autores para catalizar reacciones en superficies.⁹⁶ La Figura 5.17c muestra la liberación electroquímica controlada de Cu(I) desde los sustratos de Au nanoestructurados (NSAu) recubiertos con una SAM de PyS. Se puede observar que esta SAM (con grupos terminales conteniendo N como donador) libera $\approx 30\%$ de la carga luego de 10 ciclos voltamperométricos (Figura 17.d). Cabe destacar que bajo iguales condiciones experimentales, las SAMs con grupos terminales conteniendo O muestran una pérdida de especies de Cu de $\sim 5\%$ luego de 10 ciclos consecutivos.

En conclusión los sustratos nanoestructurados de Au son plataformas capaces de anclar grandes cantidades de especies de Cu. Además es posible inducir electroquímicamente la

liberación controlada de especies Cu(I) cuando se utilizan SAMs con grupos terminales conteniendo N.

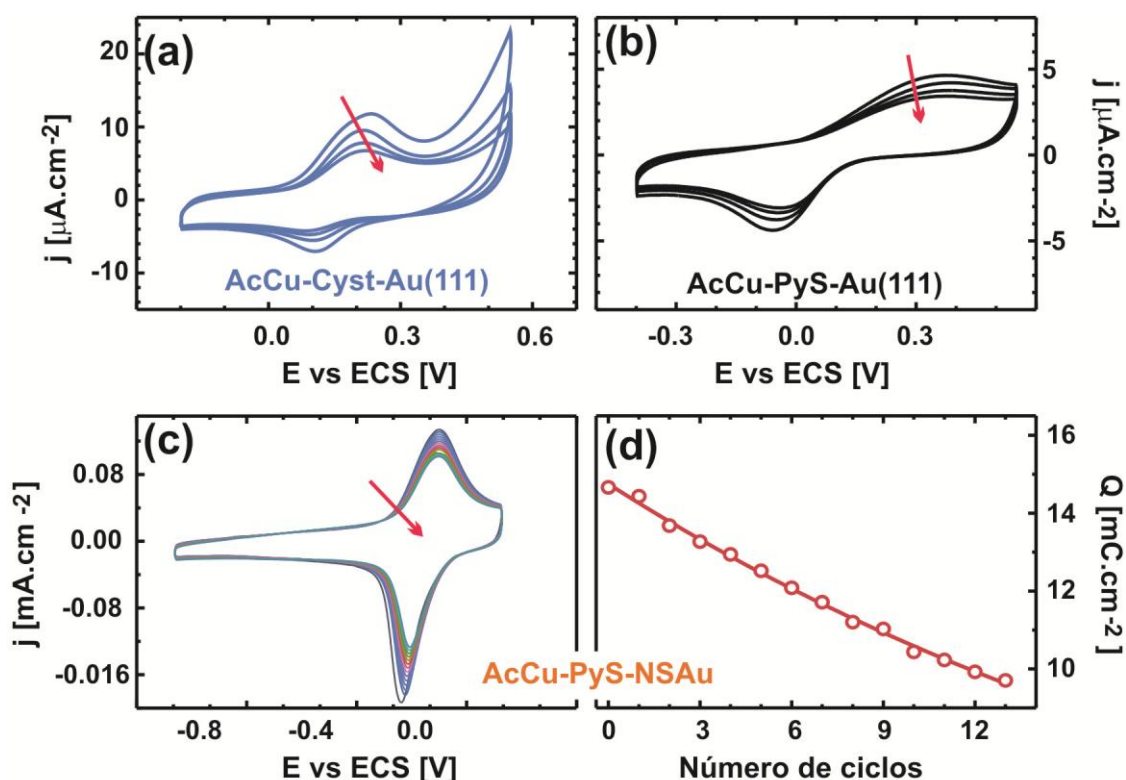


Figura 5.17: Curvas sucesivas de j vs E para la cupla redox Cu(II)/Cu(I) de AcCu inmovilizados sobre SAMs de (a) Cyst y (b) PyS sobre Au (111). (c) Primeros 13 ciclos voltamperométricos consecutivos de la cupla Cu(II)/Cu(I) de AcCu inmovilizado sobre una SAM de PyS en Au nanoestructurado. (d) Evolución de la carga del pico anódico de la Figura c en función del número de ciclos. En todos los casos las condiciones utilizadas fueron: $\nu = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ en buffer fosfato 0.5 M (pH = 7.4).

5.12 Conclusiones.

En el Capítulo 5 estudiamos el autoensamblado de tioles sobre Au focalizándonos en aspectos relacionados a la interacción entre moléculas vecinas y la función del grupo terminal de la SAM. De esta forma, y en conjunto con el Capítulo 4, describimos algunos de los aspectos más relevantes a tener en cuenta a la hora de proponer a este tipo de sistemas en aplicaciones tecnológicas. Por mencionar algunas de ellas: la interacción Au-S, el proceso de autoensamblado, los mecanismos de degradación de las SAMs, la interacción entre moléculas vecinas que determinan las estructuras superficiales formadas, la naturaleza del grupo terminal y su selectividad y habilidad para transferir carga, la construcción de estructuras complejas tridimensionales, etc.

En particular, en la primera parte de este Capítulo, se estudió el autoensamblado de una nueva cianina (CNN) tiolada sobre superficies de Au(111) y nanopartículas de Au (AuNPs): la influencia de la interacción π - π entre moléculas de CNN y como las mismas determinan el mecanismo y naturaleza de las especies adsorbidas.³¹ Algunas de las conclusiones más importantes al respecto son:

- Las moléculas de CNN se encuentran quimisorbidas sobre los sustratos de Au mediante un enlace tiolato. Sin embargo, las especies adsorbidas no son solamente moléculas aisladas (monómeros) sino también agregados (de tipo *J*), aunque los mismos están presentes en muy baja concentración (en comparación a los monómeros) en la solución de incubación. El proceso de agregación no ocurre en la superficie (a partir de monómeros adsorbidos) sino mediante un proceso de autoensamblado selectivo de los *J*-agregados. Dicho mecanismo da cuenta de la importancia de las interacciones π - π de estos sistemas que introducen una barrera energética que no es posible sortear de manera de optimizar el enlace S-Au. Por otro lado, la adsorción de *J*-agregados implica la generación de doble cantidad de enlaces tiolatos (respecto de la adsorción de monómeros) lo cual también contribuye a estabilizar dicho sistema.

- La adsorción de *J*-agregados sobre AuNPs también ocurre mediante un enlace tiolato. La fuerte interacción π - π entre las moléculas de CNN en los *J*-agregados impide que los mismos sean desorganizados incluso cuando se refuerza el enlace Au-S en la superficie de las AuNPs, las cuales poseen gran cantidad de defectos donde el enlace tiolato es más fuerte.

- Los tioles alifáticos (como el hexanotiol, HT) son eficientes agentes de dilución superficial. Es posible controlar la cantidad de CNN ensamblada sobre la superficie de Au(111) mediante la relación HT/CNN utilizada en la solución de incubación.

Complementariamente, en la segunda parte de este Capítulo se abordaron problemáticas relacionadas a la naturaleza del grupo terminal de la SAM y su influencia en la inmovilización y posterior liberación de complejos de cationes metálicos, la construcción de estructuras moleculares tridimensionales y la habilidad de las plataformas de Au nanoestructuradas para metalizar las SAMs electroquímicamente. A continuación se detallan cada uno de estos puntos:

- Es posible inmovilizar mediante adsorción específica complejos de AcCu sobre SAMs de tioles alifáticos y aromáticos con grupos terminales donores O y N. Los tioles más pequeños permiten transferir carga entre el sustrato de Au y los iones Cu(II) independientemente de su carácter alifático o aromático y de la naturaleza del grupo terminal lo cual concuerda con una transferencia de carga tipo túnel donde el espesor de la SAM es el factor determinante. Consecuentemente, en SAMs de tioles largos solo una pequeña fracción de iones Cu(II) son electroquímicamente activos.

- La eficiencia del grupo terminal de la SAM en el proceso de inmovilización varía entre un 26% y un 56% de una monocapa compacta de AcCu, siendo en general los grupos terminales O más eficientes que los N. Por otro parte también demostramos que productos secundarios (Cu

libre, acetato) son también inmovilizados en la SAM y que los mismos no pueden ser removidos fácilmente lo que demuestra la dificultad de controlar la química superficial en la nanoescala.

- La orientación preferencial de los complejos de AcCu inmovilizados sobre la SAM demuestra que esta estrategia simple y sencilla permite la preparación de estructuras moleculares tridimensionales. Hemos construido una estructura supramolecular utilizando moléculas de 4-4' bipyridina como nexo entre una primera y una segunda capa de AcCu, siendo esta última capaz de transferir carga con el sustrato.

- Es posible alcanzar un incremento notable (~30 veces) en la captura de iones Cu cuando se utilizan sustratos de Au nanoestructurados. Estos sustratos permiten además mediante SERS la localización espacial (con precisión micrométrica) de iones Cu sobre SAMs mixtas con distintos grupos terminales. Además, debido a la mayor estabilidad frente a los procesos de electrodesorción de las SAMs sobre estos sustratos es posible reducir una fracción de iones Cu(II) a Cu(0). Este último resultado sugiere que el aumento de estabilidad en la interacción SAM-sustrato permitiría realizar procesos de metalización (con control electroquímico) de Cu sobre las SAMs.

- Por último, también fue demostrada la posibilidad de liberar electroquímicamente de forma controlada especies de Cu desde las SAMs con grupos terminales nitrogenados, ya sea desde sustratos de Au(111) o Au nanoestructurado.

5.13 Referencias.

[1] Patonay, G.; Narayanan, N.; Streckowski, L.; Middendorf, L. R.; Lipowska, M. A method of identifying strands of DNA using infrared fluorescent labels. 670374 1995.

[2] Zhang, S. H.; Li, B.; Tang, L. M.; Wang, X. G.; Liu, D. S.; Zhou, Q. X., Studies on the near infrared laser induced photopolymerization employing a cyanine dye-borate complex as the photoinitiator. *Polymer* **2001**, 42 (18), 7575-7582.

[3] Shealy, D. B.; Lipowska, M.; Lipowski, J.; Narayanan, N.; Sutter, S.; Streckowski, L.; Patonay, G., Synthesis, Chromatographic-Separation, and Characterization of near-Infrared-Labeled DNA Oligomers for Use in DNA-Sequencing. *Anal. Chem.* **1995**, 67 (2), 247-251.

[4] Middendorf, L. R.; Bruce, J. C.; Bruce, R. C.; Eckles, R. D.; Grone, D. L.; Roemer, S. C.; Sloniker, G. D.; Steffens, D. L.; Sutter, S. L.; Brumbaugh, J. A.; Patonay, G., Continuous, Online DNA Sequencing Using a Versatile Infrared-Laser Scanner Electrophoresis Apparatus. *Electrophoresis* **1992**, 13 (8), 487-494.

[5] Durrant, I.; Gubba, L., Fluorescent Dyes and Dye Labelled Probes for detection of Nucleic Acid Sequence in Biological Materials. In *Fluorescence microscopy and fluorescent probes*, Slavík, J., Ed. Plenum Press: New York, 1996.

[6] Mujumdar, R. B.; Ernst, L. A.; Mujumdar, S. R.; Waggoner, A. S., Cyanine Dye Labeling Reagents Containing Isothiocyanate Groups. *Cytometry* **1989**, 10 (1), 11-19.

- [7] Mujumdar, R. B.; Ernst, L. A.; Mujumdar, S. R.; Lewis, C. J.; Waggoner, A. S., Cyanine Dye Labeling Reagents - Sulfoindocyanine Succinimidyl Esters. *Bioconjugate Chem.* **1993**, *4* (2), 105-111.
- [8] Matsuoka, M., *Infrared Absorbing Dyes*. Plenum Press: New York, 1990.
- [9] Dai, Z. F.; Qun, L.; Peng, B. X., Synthesis and characterization of some stabilized indocarbocyanine dye complex colorants for optical recording media. *Dyes Pigm.* **1998**, *36* (3), 243-248.
- [10] Sowell, J.; Agnew-Heard, K. A.; Mason, J. C.; Mama, C.; Streckowski, L.; Patonay, G., Use of non-covalent labeling in illustrating ligand binding to human serum albumin via affinity capillary electrophoresis with near-infrared laser induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography B* **2001**, *755* (1-2), 91-99.
- [11] Lipowska, M.; Patterson, S. E.; Patonay, G.; Streckowski, L., A Highly Selective Hydrogen-Deuterium Exchange in Indolium Heptamethine Cyanines. *J. Heterocycl. Chem.* **1993**, *30* (5), 1177-1180.
- [12] Cooper, M. E.; Gregory, S.; Adie, E.; Kalinka, S., pH-sensitive cyanine dyes for biological applications. *J. Fluoresc.* **2002**, *12* (3-4), 425-429.
- [13] Roberts, G., *Langmuir-Blodgett Films*. Plenum Press: New York, 1990.
- [14] Herz, A. H., Aggregation of Sensitizing Dyes in Solution and Their Adsorption onto Silver-Halides. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1977**, *8* (4), 237-298.
- [15] Kirstein, S.; Daehne, S., J-aggregates of amphiphilic cyanine dyes: Self-organization of artificial light harvesting complexes. *International Journal of Photoenergy* **2006**, vol. 2006, Article ID 20363, -.
- [16] Grad, J.; Hernandez, G.; Mukamel, S., Radiative Decay and Energy-Transfer in Molecular Aggregates - the Role of Intermolecular Dephasing. *Phys. Rev. A* **1988**, *37* (10), 3835-3846.
- [17] Saito, K.; Honda, S.; Watanabe, M.; Yokoyama, H., Optical Anisotropic Behavior in Cyanine Dye J-Aggregate Langmuir-Blodgett-Films. *Japanese Journal of Applied Physics Part 1-Regular Papers Short Notes & Review Papers* **1994**, *33* (11), 6218-6219.
- [18] Karthaus, O.; Kawatani, Y., Self-assembly and aggregation control of cyanine dyes by adsorption onto mesoscopic mica flakes. *Japanese Journal of Applied Physics Part 1-Regular Papers Short Notes & Review Papers* **2003**, *42*, 127-131.
- [19] Fischer, U. C.; Bortchagovsky, E.; Heimel, J.; Hanke, R. T., Increased transmission of a thin gold film by adsorbed layers of dye molecules. *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *80* (20), 3715-3717.
- [20] Blumentritt, S.; Burghard, M.; Roth, S.; Nejo, H., Self-assembly and scanning tunneling microscopy investigation of cyanine fibers on conducting substrates. *Surf. Sci.* **1998**, *397* (1-3), L280-L284.
- [21] Owens, R. W.; Smith, D. A., STM imaging of cyanine dye J-aggregates formed on carboxyl-terminated self-assembled monolayers. *Langmuir* **2000**, *16* (2), 562-567.
- [22] Kawasaki, M.; Sato, T.; Yoshimoto, T., Controlled layering of two-dimensional J-aggregate of anionic cyanine dye on self-assembled cysteamine monolayer on Au(111). *Langmuir* **2000**, *16* (12), 5409-5417.

- [23] Lim, I. I. S.; Zhong, C. J., Molecularly-mediated assembly of gold nanoparticles. *Gold Bull.* **2007**, *40* (1), 59-66.
- [24] Lim, I. I. S.; Goroleski, F.; Mott, D.; Kariuki, N.; Ip, W.; Luo, J.; Zhong, C. J., Adsorption of cyanine dyes on gold nanoparticles and formation of J-aggregates in the nanoparticle assembly. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (13), 6673-6682.
- [25] Fofang, N. T.; Grady, N. K.; Fan, Z.; Govorov, A. O.; Halas, N. J., Plexciton Dynamics: Exciton-Plasmon Coupling in a J-Aggregate-Au Nanoshell Complex Provides a Mechanism for Nonlinearity. *Nano Lett.* **2011**, *11* (4), 1556-1560.
- [26] Vericat, C.; Vela, M. E.; Benitez, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C., Self-assembled monolayers of thiols and dithiols on gold: New challenges for a well-known system. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (5), 1805-1834.
- [27] Shapiro, B. I., Molecular assemblies of polymethine dyes. *Russ. Chem. Rev.* **2006**, *75* (5), 433 - 456
- [28] Xu, Q. M.; Ma, H.; Yip, H.; Jen, A. K. Y., Controlled assembly of large pi-conjugated aromatic thiols on Au(111). *Nanotechnology* **2008**, *19* (13), 135605(11pp).
- [29] Pensa, E.; Carro, P.; Rubert, A. A.; Benitez, G.; Vericat, C.; Salvarezza, R. C., Thiol with an Unusual Adsorption-Desorption Behavior: 6-Mercaptopurine on Au(111). *Langmuir* **2010**, *26* (22), 17068-17074.
- [30] Jin, Q.; Rodriguez, J. A.; Li, C. Z.; Darici, Y.; Tao, N. J., Self-assembly of aromatic thiols on Au(111). *Surf. Sci.* **1999**, *425* (1), 101-111.
- [31] Carro, P.; Creus, A. H.; Muñoz, A.; Salvarezza, R. C., On the Thermodynamic Stability of α,ω -Alkanedithiols Self-Assembled Monolayers on Unreconstructed and Reconstructed Au(111). *Langmuir* **2010**, *26* (12), 9589-9595.
- [32] Zhong, C. J.; Brush, R. C.; Anderegg, J.; Porter, M. D., Organosulfur Monolayers at Gold Surfaces: Reexamination of the Case for Sulfide Adsorption and Implications to the Formation of Monolayers from Thiols and Disulfides. *Langmuir* **1999**, *15* (2), 518-525.
- [33] Suárez, S. n. A.; Fonticelli, M. H.; Rubert, A. A.; de la Llave, E.; Scherlis, D. n.; Salvarezza, R. C.; Martí, M. A.; Doctorovich, F., A Surface Effect Allows HNO/NO Discrimination by a Cobalt Porphyrin Bound to Gold. *Inorg. Chem.* **2010**, *49* (15), 6955-6966.
- [34] Malitesta, C.; Losito, I.; Sabbatini, L.; Zamboni, P. G., New findings on polypyrrole chemical structure by XPS coupled to chemical derivatization labelling. *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* **1995**, *76*, 629-634.
- [35] Wirde, M.; Gelius, U.; Nyholm, L., Self-Assembled Monolayers of Cystamine and Cysteamine on Gold Studied by XPS and Voltammetry. *Langmuir* **1999**, *15* (19), 6370-6378.
- [36] Kneippa, K.; Kneippb, H.; Rentschb, M., SERS on a 1,1'-diethyl-2,2' cyanine dye adsorbed on colloidal silver *J. Mol. Struct.* **1987**, *156* (3-4), 331-340
- [37] Gu, B.; Akins, D. L., "Adatom" sites, structure and mobility effects on the sers of cyanine. *Chem. Phys. Lett.* **1985**, *113* (6), 558-562.

- [38] Wang, X.; Wen, H.; He, T.; Zuo, J.; Xu, C.; Liu, F.-C., Enhancement mechanism of SERS from cyanine dyes adsorbed on Ag₂O colloids. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **1997**, *53* (14), 2495-2504.
- [39] Li, X.; Gu, B.; Akins, D. L., Surface-enhanced Raman scattering by cyanine chloride. *Chem. Phys. Lett.* **1984**, *105* (3), 263-267.
- [40] Coles, D. M.; Meijer, A. J. H. M.; Tsoi, W. C.; Charlton, M. D. B.; Kim, J.-S.; Lidzey, D. G., A Characterization of the Raman Modes in a J-Aggregate-Forming Dye: A Comparison between Theory and Experiment. *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114* (44), 11920-11927.
- [41] Lustemberg, P. G.; Vericat, C.; Benitez, G. A.; Vela, M. E.; Tognalli, N.; Fainstein, A.; Martiarena, M. L.; Salvarezza, R. C., Spontaneously Formed Sulfur Adlayers on Gold in Electrolyte Solutions: Adsorbed Sulfur or Gold Sulfide? *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (30), 11394-11402.
- [42] Gottschalck, J.; Hammer, B., A density functional theory study of the adsorption of sulfur, mercapto, and methylthiolate on Au(111). *J. Chem. Phys.* **2002**, *116* (2), 784-790.
- [43] Asanuma, H.; Tani, T., Structure and Growth Mechanism of J-Aggregates of a Cyanine Dye Adsorbed on AgBr Grains from Thermodynamic Analysis of the Dye Desorption Process. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101* (12), 2149-2153.
- [44] Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J., A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society* **1951**, *11*, 55-75.
- [45] Turkevich, J., Colloidal gold. Part I. *Gold Bulletin* **1985**, *18* (3), 86-91.
- [46] Turkevich, J., Colloidal gold. Part II. *Gold Bulletin* **1985**, *18* (4), 125-131.
- [47] Frens, G., *Nature Phys. Sci.* **1973**, *241*.
- [48] Grumelli, D.; Vericat, C.; Benitez, G.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C.; Giovanetti, L. J.; Ramallo-López, J. M.; Requejo, F. G.; Craievich, A. F.; Shon, Y. S., Thiol-Capped Gold Nanoparticles on Graphite: Spontaneous Adsorption and Electrochemically Induced Release. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111* (19), 7179-7184.
- [49] Cortés, E.; Rubert, A. A.; Benitez, G.; Carro, P.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., Enhanced stability of thiolate self-assembled monolayers (SAMs) on nanostructured gold substrates. *Langmuir* **2009**, *25* (10), 5661-5666.
- [50] Scodeller, P.; Carballo, R.; Szamocki, R.; Levin, L.; Forchiassin, F.; Calvo, E. J., Layer-by-Layer Self-Assembled Osmium Polymer-Mediated Laccase Oxygen Cathodes for Biofuel Cells: The Role of Hydrogen Peroxide. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (32), 11132-11140.
- [51] Crumbliss, A. L.; Perine, S. C.; Edwards, A. K.; Rillema, D. P., Characterization of carrageenan hydrogel electrode coatings with immobilized cationic metal complex redox couples. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96* (3), 1388-1394.
- [52] Kind, M.; Wöll, C., Organic surfaces exposed by self-assembled organothiol monolayers: Preparation, characterization, and application. *Prog. Surf. Sci.* **2009**, *84* (7-8), 230-278.
- [53] Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M., Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (4), 1103-1170.

- [54] Toledo, I.; Arancibia, M.; Andrade, C.; Crivelli, I., Redox chemistry of copper acetate binuclear complexes in acetic acid-methanol mixture as solvent. *Polyhedron* **1998**, *17* (1), 173-178.
- [55] Chi, Q.; Zhang, J.; Andersen, J. E. T.; Ulstrup, J., Ordered Assembly and Controlled Electron Transfer of the Blue Copper Protein Azurin at Gold (111) Single-Crystal Substrates. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105* (20), 4669-4679.
- [56] Suzuki, S.; Kataoka, K.; Yamaguchi, K., Metal Coordination and Mechanism of Multicopper Nitrite Reductase. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33* (10), 728-735.
- [57] Klis, M.; Maicka, E.; Michota, A.; Bukowska, J.; Sek, S.; Rogalski, J.; Bilewicz, R., Electroreduction of laccase covalently bound to organothiol monolayers on gold electrodes. *Electrochim. Acta* **2007**, *52* (18), 5591-5598.
- [58] Ivanova, V.; Baunach, T.; Kolb, D. M., Metal deposition onto a thiol-covered gold surface: A new approach. *Electrochim. Acta* **2005**, *50* (21), 4283-4288.
- [59] Ku, S.-Y.; Wong, K.-T.; Bard, A. J., Surface Patterning with Fluorescent Molecules Using Click Chemistry Directed by Scanning Electrochemical Microscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (8), 2392-2393.
- [60] Roznyatovskaya, N.; Laurinavichute, V.; Tsirlina, G.; Mirsky, V., Electrochemistry and catalytic behavior of immobilized binuclear complexes of copper(II) and nickel(II) with Robson type ligand. *J. Solid State Electrochem.* **2007**, *11* (7), 981-992.
- [61] Bleaney, B.; Bowers, K. D., Anomalous paramagnetism of copper acetate. *Proceedings of the Royal Society* **1952**, *214*, 451-65.
- [62] Shekhah, O.; Wang, H.; Kowarik, S.; Schreiber, F.; Paulus, M.; Tolan, M.; Sternemann, C.; Evers, F.; Zacher, D.; Fischer, R. A.; Wöll, C., Step-by-Step Route for the Synthesis of Metal - Organic Frameworks. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (49), 15118-15119.
- [63] Barth, J. V., Molecular Architectonic on Metal Surfaces. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *58* (1), 375-407.
- [64] Upadhyay, D. N.; Yegnaraman, V.; Rao, G. P., Hexacyanoferrate Modification of Gold Electrode through Monolayer Approach. *Langmuir* **1996**, *12* (17), 4249-4252.
- [65] Yang, W.; Justin Gooding, J.; Brynn Hibbert, D., Characterisation of gold electrodes modified with self-assembled monolayers of l-cysteine for the adsorptive stripping analysis of copper. *J. Electroanal. Chem.* **2001**, *516* (1-2), 10-16.
- [66] Finklea, H., Electrochemistry of organized monolayers of thiols and related molecules on electrodes. In *Electroanalytical Chemistry*, Bard, A. J.; Rubinstein, I., Eds. Marcel Dekker: New York, Vol. 19, pp 110-318.
- [67] Bard, A. J.; Faulkner, L. R., *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications* Wiley&Sons: New York, 2001; p 590-595.
- [68] Eckermann, A. L.; Feld, D. J.; Shaw, J. A.; Meade, T. J., Electrochemistry of redox-active self-assembled monolayers. *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254* (15-16), 1769-1802.

- [69] Petri, M.; Kolb, D. M.; Memmert, U.; Meyer, H., Adsorption of mercaptopropionic acid onto Au(1 1 1): Part I. Adlayer formation, structure and electrochemistry. *Electrochim. Acta* **2003**, *49* (1), 175-182.
- [70] Cui, Y.; Yang, C.; Zeng, W.; Oyama, M.; Pu, W.; Zheng, Y.; Zhang, J., Three Dimensional Monolayer of 3-Mercaptopropionic Acid Assembled on Gold Nanoparticles for Electrochemical Determination of Trace Cu(II). *Anal. Lett.* **2007**, *40* (11), 2151-2160.
- [71] Zangmeister, C. D.; Bertocci, U.; Beauchamp, C. R.; Stafford, G. R., In situ stress measurements during the electrochemical adsorption/desorption of self-assembled monolayers. *Electrochim. Acta* **2008**, *53* (23), 6778-6786.
- [72] Zhang, J. D.; Bilic, A.; Reimers, J. R.; Hush, N. S.; Ulstrup, J., Coexistence of multiple conformations in cysteamine monolayers on Au(111). *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (32), 15355-15367.
- [73] Zhou, W.; Baunach, T.; Ivanova, V.; Kolb, D. M., Structure and Electrochemistry of 4,4'-Dithiodipyridine Self-Assembled Monolayers in Comparison with 4-Mercaptopyridine Self-Assembled Monolayers on Au(111). *Langmuir* **2004**, *20* (11), 4590-4595.
- [74] Sawaguchi, T.; Mizutani, F.; Yoshimoto, S.; Taniguchi, I., Voltammetric and in situ STM studies on self-assembled monolayers of 4-mercaptopyridine, 2-mercaptopyridine and thiophenol on Au(111) electrodes. *Electrochim. Acta* **2000**, *45* (18), 2861-2867.
- [75] Ramírez, E. A.; Cortés, E.; Rubert, A. A.; Carro, P.; Benítez, G.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., Complex Surface Chemistry of 4-Mercaptopyridine Self-Assembled Monolayers on Au(111). *Langmuir* **2012**, *28* (17), 6839-6847.
- [76] Wühn, M.; Weckesser, J.; Woll, C., Bonding and Orientational Ordering of Long-Chain Carboxylic Acids on Cu(111): Investigations Using X-ray Absorption Spectroscopy. *Langmuir* **2001**, *17* (24), 7605-7612.
- [77] Saavedra, H. c. M.; Thompson, C. M.; Hohman, J. N.; Crespi, V. H.; Weiss, P. S., Reversible Lability by in Situ Reaction of Self-Assembled Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (6), 2252-2259.
- [78] Chusuei, C. C.; Brookshier, M. A.; Goodman, D. W., Correlation of Relative X-ray Photoelectron Spectroscopy Shake-up Intensity with CuO Particle Size. *Langmuir* **1999**, *15* (8), 2806-2808.
- [79] Baio, J. E.; Weidner, T.; Brison, J.; Graham, D. J.; Gamble, L. J.; Castner, D. G., Amine terminated SAMs: Investigating why oxygen is present in these films. *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* **2009**, *172* (1-3), 2-8.
- [80] Stettner, J.; Winkler, A., Characterization of Alkanethiol Self-Assembled Monolayers on Gold by Thermal Desorption Spectroscopy. *Langmuir* **2010**, *26* (12), 9659-9665.
- [81] de Meester, P.; Fletcher, S. R.; Skapski, A. C., Refined crystal structure of tetra-m-acetato-bis-aquodicopper(II). *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1973**, (23), 2575-2578.
- [82] Takagi, H.; Mikata, Y.; Ichimura, A.; Yano, T.; Kinoshita, I.; Hori, M.; Collins, T. J.; Gottschaldt, M.; Yano, S., Feasible attachment of dinuclear ruthenium complex to gold electrode surface via new ligand substitution reaction. *Electrochim. Acta* **2009**, *54* (4), 1286-1291.

- [83] Vishweshwar, P.; Nangia, A.; Lynch, V. M., Recurrence of Carboxylic Acid-Pyridine Supramolecular Synthons in the Crystal Structures of Some Pyrazinecarboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **2001**, *67* (2), 556-565.
- [84] Cecchet, F.; Fioravanti, G.; Marcaccio, M.; Margotti, M.; Mattiello, L.; Paolucci, F.; Rapino, S.; Rudolf, P., Electrode surface modification by a spirobifluorene derivative. An XPS and electrochemical investigation. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (39), 18427-18432.
- [85] Chah, S.; Yi, J.; Pettit, C. M.; Roy, D.; Fendler, J. H., Ionization and Reprotonation of Self-Assembled Mercaptopropionic Acid Monolayers Investigated by Surface Plasmon Resonance Measurements. *Langmuir* **2001**, *18* (2), 314-318.
- [86] Schäfer, A. H.; Seidel, C.; Chi, L.; Fuchs, H., STM Investigations of Thiol Self-Assembled Monolayers. *Adv. Mater. (Weinheim, Ger.)* **1998**, *10* (11), 839-842.
- [87] Neuert, G.; Kufer, S.; Benoit, M.; Gaub, H. E., Modular multichannel surface plasmon spectrometer. *Rev. Sci. Instrum.* **2005**, *76* (5), 054303.
- [88] Brockman, J. M.; Frutos, A. G.; Corn, R. M., A Multistep Chemical Modification Procedure To Create DNA Arrays on Gold Surfaces for the Study of Protein DNA Interactions with Surface Plasmon Resonance Imaging. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (35), 8044-8051.
- [89] Zhang, J.; Kuznetsov, A. M.; Medvedev, I. G.; Chi, Q.; Albrecht, T.; Jensen, P. S.; Ulstrup, J., Single-Molecule Electron Transfer in Electrochemical Environments. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (7), 2737-2791.
- [90] Fujita, K.; Nakamura, N.; Ohno, H.; Leigh, B. S.; Niki, K.; Gray, H. B.; Richards, J. H., Mimicking Protein-Protein Electron Transfer: Voltammetry of *Pseudomonas aeruginosa* Azurin and the *Thermus thermophilus* CuA Domain at ω -Derivatized Self-Assembled-Monolayer Gold Electrodes. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (43), 13954-13961.
- [91] Mendes, R. K.; Freire, R. S.; Fonseca, C. P.; Neves, S.; Kubota, L. T., Characterization of self-assembled thiols monolayers on gold surface by electrochemical impedance spectroscopy. *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 849-855.
- [92] Xu, B.; Tao, N. J., Measurement of Single-Molecule Resistance by Repeated Formation of Molecular Junctions. *Science* **2003**, *301* (5637), 1221-1223.
- [93] Silien, C.; Buck, M., On the Role of Extrinsic and Intrinsic Defects in the Underpotential Deposition of Cu on Thiol-Modified Au(111) Electrodes. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (10), 3881-3890.
- [94] Michota, A.; Bukowska, J., Surface-enhanced Raman scattering (SERS) of 4-mercaptopbenzoic acid on silver and gold substrates. *J. Raman Spectrosc.* **2003**, *34* (1), 21-25.
- [95] Mathey, Y.; Greig, D. R.; Shriver, D. F., Variable-temperature Raman and infrared spectra of the copper acetate dimer $\text{Cu}_2(\text{O}_2\text{CCH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})_2$ and its derivatives. *Inorg. Chem.* **1982**, *21* (9), 3409-3413.
- [96] Takahashi, I.; Honda, Y.; Hirota, S., Regulating Copper-Binding Affinity with Photoisomerizable Azobenzene Ligand by Construction of a Self-Assembled Monolayer. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48* (33), 6065-6068.

Capítulo 6

Plataformas Plasmónicas Bimetálicas

6.1 Sustratos plasmónicos ordenados: nanocavidades metálicas.

Tal como se ha señalado en la Introducción del presente trabajo de Tesis, una visión simplificada de la composición de un sensor sería la de una plataforma sobre la que se soporta un elemento de reconocimiento que genera una señal medible (eléctrica, óptica, mecánica, térmica, etc.) sensible al analito que se desea detectar. En los capítulos anteriores nos centramos en un aspecto fundamental para la construcción de dispositivos de sensado utilizando autoensamblados moleculares quimisorbidos como base estructural activa o pasiva de los elementos de reconocimiento. También estudiamos ya distintos aspectos sobre la detección de señales eléctricas y formas de optimizarla: utilizando plataformas nanoestructuradas para aumentar los límites de detección, controlando molecularmente el espesor de las SAMs y aumentando la estabilidad electroquímica de las mismas, etc. En el presente capítulo nos centraremos en la detección de señales ópticas como método ultrasensible para el reconocimiento de especies. Para esto utilizaremos las propiedades plasmónicas de sustratos nanoestructurados, capaces de amplificar varios órdenes de magnitud las señales de ciertos métodos espectroscópicos.

En este sentido y para los objetivos propuestos anteriormente, la Espectroscopía Raman Amplificada por Superficies (SERS) resulta una técnica sumamente importante ya que combina las posibilidades de identificación molecular y detección ultrasensible (alcanzando niveles de moléculas individuales). Es por ello que en los últimos años se han propuesto muchas estrategias para potenciar las aplicaciones de SERS.¹⁻⁷ Los principales aspectos de estos desarrollos han estado centrados en alcanzar concentraciones moleculares muy pequeñas con alta especificidad y

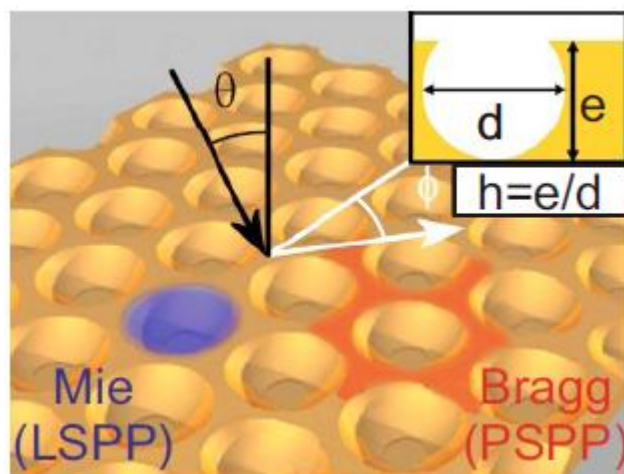
precisión analítica, la detección y estudio de pocas moléculas e incluso de moléculas únicas y el entendimiento de los procesos fundamentales que acontecen en SERS y en plasmónica, entre otros.

Existen dos efectos responsables de la amplificación de la señal Raman en SERS: el efecto electromagnético (EM) y el efecto químico. El primero de ellos (EM) surge como consecuencia directa de las propiedades plasmónicas del sistema y es el más importante y estudiado.⁸ En cuanto al segundo, si bien ha sido objeto de amplia discusión todavía no existe un acuerdo sobre su origen a nivel molecular (al igual que su alcance) existiendo al respecto varias teorías o modelos.⁹⁻¹³ Por este motivo, en las aplicaciones y desarrollos de SERS el abordaje más frecuente se realiza desde las propiedades plasmónicas (EM) del sustrato SERS utilizado. De esta forma, la potencialidad de la detección óptica en SERS depende casi exclusivamente de las propiedades plasmónicas de la plataforma metálica que se utilice. En este sentido, el material (metal) de fabricación de los sustratos SERS activos está limitado por las constantes ópticas del mismo (por este motivo los más utilizados son Au y Ag) que junto a la nanoestructuración de la plataforma determinan sus propiedades plasmónicas (ver Apéndice A).^{6, 8} En general, un sustrato SERS activo puede resultar atractivo para afrontar ciertas problemáticas, pero no otras. Típicamente, los sustratos que presentan mayores factores de amplificación SERS, carecen de reproducibilidad y de la posibilidad de controlar los parámetros que generan la respuesta SERS.¹⁴⁻¹⁶ Por otro lado, los sustratos que presentan mayor reproducibilidad en el diseño superficial a nivel de su nanoestructuración, poseen factores de amplificación más pequeños aunque igualmente significativos.^{4-5, 7} Por lo tanto, si los objetivos están centrados en la búsqueda de aplicaciones analíticas y en el correcto entendimiento de los procesos que tienen lugar en la detección SERS, aquellos sustratos con alta reproducibilidad, homogeneidad y estables (química y superficialmente) en el tiempo son los deseados.

Uno de los sustratos que cumple con las características antes mencionadas está constituido por los arreglos ordenados de nanocavidades metálicas desarrollados por el grupo del Dr. P. Bartlett y cuyas propiedades ópticas han sido extensamente estudiadas.¹⁷⁻²⁵ (Esquema 6.1). Los factores de amplificación estimados de estos sustratos se encuentran en el orden de 10^5 - 10^7 , presentan gran reproducibilidad, son estables, homogéneos y otorgan la posibilidad de controlar experimentalmente una serie de parámetros (diámetro y altura de la cavidad) de manera de modular su respuesta plasmónica.²⁴⁻²⁵

Es posible realizar una descripción cualitativa que permite interpretar la respuesta plasmónica de las nanocavidades metálicas en función de la contribución de dos tipos de polaritones plasmónicos superficiales (SPPs) los cuales determinan sus propiedades plasmónicas: de tipo-Mie ó localizados (LSPPs) y de tipo-Bragg ó propagantes (PSPPs). Los primeros pueden aproximarse como la solución electromagnética al problema de la luz dispersada por una cavidad

esférica rodeada por un medio metálico infinito.^{18, 26} Los otros (PSSPs) son generados como resultado de la ruptura de la invariancia traslacional producto de la nanoestructuración periódica del sustrato, lo cual posibilita el acoplamiento de los PSSPs con la luz (conservación simultánea de momento y energía).^{8, 20}



Esquema 6.1. Nanocavidades de Au SERS activas mostrando los polaritones plasmónicos superficiales (SPPs) presentes en esta estructura, (d) diámetro de la cavidad, (e) espesor de la capa de Au, (h) altura de la cavidad expresada como una fracción del diámetro ($h = e/d$). Gráfico extraído de Kelf et al.²⁰

En la última década, se han realizado distintos estudios teóricos con el objetivo de comprender las propiedades ópticas de estos sistemas y de esta forma predecir el comportamiento de los SPPs. Cabe destacar que es posible contrastar las predicciones teóricas con los resultados experimentales, ya que los SPPs pueden medirse mediante la reflectividad óptica de estos sustratos. Desde el punto de vista experimental también se ha estudiado la distribución espacial de los SPPs mediante microscopía de barrido de campo cercano (SNOM),²³ los factores de amplificación en SERS de estos sustratos,²⁵ etc. Respecto de las aplicaciones de estas plataformas SERS activas pueden mencionarse: el estudio electroquímico in situ de cuplas redox,²⁷ la determinación de mutaciones genéticas en secuenciación de ADN,²⁸⁻²⁹ medidas del pH superficial en tiempo real,³⁰ entre otras.

Un problema central en el desarrollo de sustratos SERS activos (nanocavidades u otros) está vinculado en la adecuada selección del material de fabricación. Como mencionamos anteriormente Au y Ag son los metales más utilizados para la fabricación de plataformas SERS debido a sus excelentes propiedades ópticas. Sin embargo mientras que los sustratos de Au pueden ser nanoestructurados por métodos sencillos, con alta homogeneidad y calidad y son química, mecánica y estructuralmente estables, los sustratos de Ag, que presentan factores de amplificación significativamente mayores, son difíciles de nanoestructurar y presentan una calidad relativamente baja. Esto se debe a la mayor movilidad superficial de los átomos de Ag

comparados con los de Au a temperatura ambiente lo cual implica una mayor inestabilidad de las nanoestructuras. Además este metal presenta mayor reactividad química lo cual lo torna incompatible con diversos medios electrolíticos, situación que no se presenta en el caso del Au. La fabricación de superficies nanoestructuradas de Au ha sido extensamente explorada en el campo de la nanociencia y nanotecnología (como por ejemplo los sustratos del Capítulo 4).

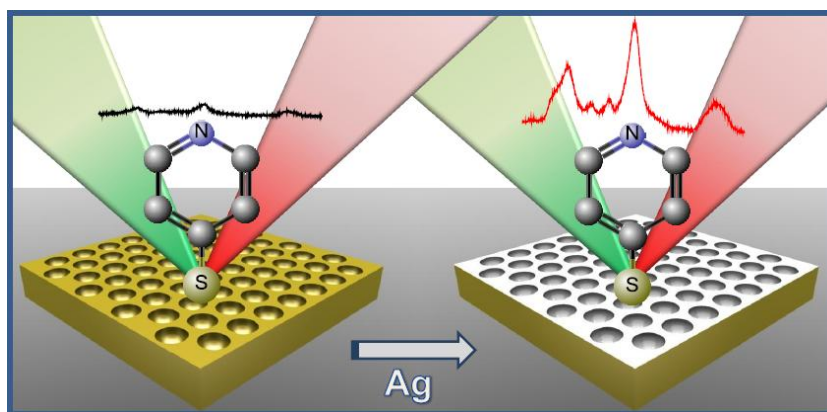
La literatura también presenta ejemplos de fabricación de sustratos SERS activos de otros metales o la combinación de más de un metal.³¹⁻³³ Sin lugar a dudas dentro de este grupo se destacan los sustratos bimetálicos de Au-Ag. En este sentido se ha observado que los factores de amplificación correspondientes a las plataformas bimetálicas varían (respecto de las de Au y Ag por separado) dependiendo del tipo de nanoestructura utilizada: superficies nanoporosas,³⁴⁻³⁵ nanopartículas y nanotubos tipo “*core-shell*”,³⁶⁻³⁷ mezclas de nanopartículas de Au y Ag inmovilizadas sobre superficies metálicas,³⁸ heterodímeros Au-Ag,³⁹ etc.

A pesar los desarrollos experimentales realizados en la preparación de plataformas bimetálicas para sistemas de detección basados en SERS, en muy pocos de ellos es posible controlar el espesor del segundo metal incorporado a nivel del nanómetro, en particular en los sistemas de nanomateriales *core-shell* o superficies porosas SERS activas. En este contexto, existen varios métodos físicos/químicos que permiten el depósito de películas metálicas ultradelgadas.⁴⁰ Los métodos electroquímicos son particularmente atractivos ya que permiten realizar depósitos metálicos de manera sencilla y controlada.²⁴ Mediante estas técnicas es posible electrodepositar exactamente 1 monocapa o 2 capas atómicas de un determinado metal sobre otro mediante la aplicación de potencial (depósito a sub-potenciales, UPD). Esta técnica implica la electrodeposición de un metal sobre un sustrato de otro metal a potenciales más positivos que los que predice la ecuación de Nernst para el depósito masivo (depósito a sobrepotenciales, OPD).⁴¹ El proceso de UPD acontece debido a que la interacción adátomo – sustrato (metal 2 – metal 1) es más fuerte que la interacción adátomo – adátomo (metal 2 – metal 2). El mecanismo del depósito a sub-potenciales ha sido extensamente explorado utilizando distintas técnicas de caracterización de superficies.⁴²⁻⁴⁴ En particular, el depósito de Ag UPD sobre Au(111) se considera un sistema modelo para el estudio de procesos de UPD. En este sistema experimental es posible depositar exactamente 1 o 2 monocapas de Ag sobre Au de acuerdo a la ventana de potenciales seleccionada.⁴⁵⁻⁴⁷ De esta forma se puede controlar a nivel atómico el espesor del segundo metal depositado sobre el sustrato de Au.

La preparación de sustratos SERS activos mediante UPD de una monocapa metálica sobre otro sustrato metálico y la influencia que dicha monocapa ejerce en los factores de amplificación de la señal Raman han sido objeto de estudio en distintos sistemas experimentales. Así por ejemplo el espectro SERS de haluros adsorbidos sobre una monocapa de Ag o Cu depositada a UPD sobre superficies de Au rugoso muestra el doble de intensidad que la señal correspondiente

al Au rugoso sin modificar.⁴⁸ Por otra parte la señal SERS de la piridina disminuye cuando se deposita una monocapa de Pb sobre superficies rugosas de Ag o Cu.⁴⁹ Recientemente también ha sido mostrado que moléculas de rodamina adsorbida sobre sustratos de Ag(UPD)-Au(rugoso) presentan mayor señal SERS respecto del mismo sustrato sin Ag.⁵⁰ También se ha reportado la inexistencia de plasmones superficiales capaces de amplificar la señal Raman en el sistema Ag(UPD)-Pt(rugoso).⁵¹ A pesar de estos resultados experimentales, no ha sido posible explicar el origen microscópico de este efecto de amplificación: ¿se debe a una modificación en las condiciones de resonancia plasmónica de los sustratos y/o a una modificación de los SPPs, y por lo tanto es de origen EM?, o bien ¿tiene un origen químico relacionado a la interfaz molécula-sustrato?.

En este Capítulo tratamos de unificar todos los conceptos vertidos en esta Introducción para resolver, entre otros, este último interrogante. De esta forma utilizamos como método óptico de detección ultrasensible la espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS) y como plataforma óptica nanocavidades metálicas con arreglo hexagonal compacto. Con el objetivo de mejorar los límites de detección de las mismas (mayor amplificación), estas se fabrican utilizando Au como sustrato (debido a las ventajas ya mencionadas que presenta este material) pero son luego modificadas con distintos espesores de Ag mediante UPD (1 monocapa) y OPD (10 y 100 monocapas). Esto permite generar capas de Ag ultradelgadas, limpias, renovables y de espesor controlado utilizando una técnica sencilla y accesible a cualquier laboratorio de química como es la electrodeposición. Esta metodología surge como una posibilidad atractiva que combina las ventajas de ambos metales (estabilidad de Au y amplificación de Ag) en su utilización como plataformas SERS activas. A diferencia de los ejemplos antes mencionados que emplean monocapas de Ag sobre superficies rugosas de Au, los sustratos de nanocavidades Au presentan una contribución electromagnética (EM) a la amplificación de la señal Raman conocida y en principio definida (plasmones). Por lo tanto es posible estudiar la influencia del depósito de Ag sobre EM y cuál es la contribución real del efecto químico. En este Capítulo describimos el método de preparación de los sustratos y los caracterizamos estructuralmente mediante STM y SEM y ópticamente a través de su reflectividad. Demostramos que es posible preparar sustratos de alta calidad con factores de amplificación semejantes a estructuras de Ag con este procedimiento. Finalmente realizamos un estudio detallado de la respuesta SERS de estos sustratos en función de la longitud de onda y la altura de las cavidades utilizando 4-mercaptopiridina (PyS) como molécula sonda no resonante (Esquema 6.2) y para la cual ya hemos estudiado las condiciones óptimas de autoensamblado en el Capítulo 4.



Esquema 6.2. Nanocavidades metálicas ordenadas sin/con electrodeposición de Ag y respuesta Raman (SERS) para moléculas de PyS adsorbidas en cada una de las estructuras.

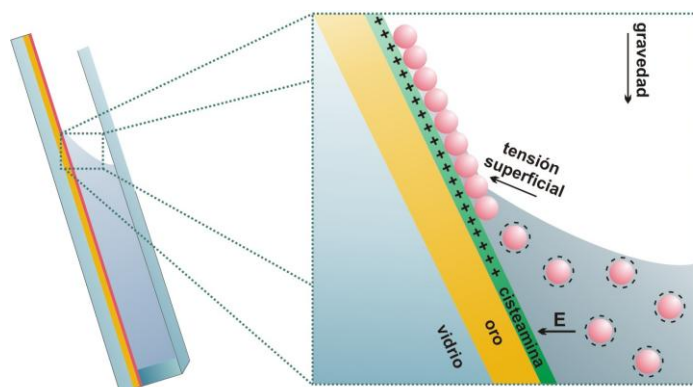
6.2 Fabricación de nanocavidades de Au y posterior electrodeposición ultradelgado de Ag.

Fabricación de nanocavidades de Au. Los sustratos son fabricados mediante un procedimiento que comprende 3 etapas. Primeramente se realiza un autoensamblado hexagonal compacto de nanoesferas de poliestireno de 500 nm de diámetro sobre una película de Au. El patrón generado por las nanoesferas se utiliza como un molde sobre la cual electrodepositamos Au para finalmente realizar la remoción de las nanoesferas generando el patrón de nanocavidades.¹⁷

Brevemente, una solución acuosa 1% de nanoesferas es colocada (~ 10 μ l) en una celda formada por: un sustrato de vidrio cubierto con una película de Au que ha sido modificada con una SAM de cisteamina (Cyst), un cubreobjetos y paredes de 300 μ m de alto de parafilm según se muestra en el Esquema 6.3. La SAM de Cyst tiene como objetivo exponer los grupos amino terminales cargados positivamente (al pH de trabajo) de manera de tal de facilitar la interacción electrostática con las esferas que se encuentran cargadas negativamente y el solvente acuoso (polar). La evaporación controlada (temperatura y humedad, ~ 15° C y 25% respectivamente) del agua de la solución de nanoesferas y su tensión superficial son las responsables del autoensamblado en un ordenamiento hexagonal compacto sobre la SAM de Cyst en el sustrato de Au (Esquema 6.3).

El patrón (“template”) generado por el arreglo hexagonal de nanoesferas se coloca en una celda electroquímica convencional de 3 electrodos para ser empleado como electrodo de trabajo. El sistema se completa con una malla de Pt de alta área como contraelectrodo y un electrodo de Ag/AgCl como referencia. Como baño de electrodeposición se utiliza una solución comercial conteniendo iones Au (ver Capítulo 2 para más detalles). Durante el proceso, el Au se deposita en los espacios presentes entre las nanoesferas no conductoras de poliestireno. La Figura 6.1a

muestra la respuesta típica de corriente vs tiempo (i vs t) a potencial ($E = -0.83$ V) constante para este sistema.



Esquema 6.3. Autoensamblado de esferas de poliestireno sobre el sustrato de Au-Cyst para generar luego, mediante electrodeposición, el molde de las nanocavidades metálicas ordenadas.

Es posible identificar diferentes regiones a lo largo del electrodeposito (Figura 6.1a): en primer lugar se polariza el electrodo y se forma la doble capa electroquímica, luego tiene lugar el proceso de nucleación de los primeros sitios del electrodeposito (sobre la película de Au) y finalmente el depósito metálico comienza a crecer relleno los intersticios que dejan las esferas de poliestireno. El mínimo valor absoluto de corriente durante el proceso de electrodeposición indica que se ha alcanzado la mitad del diámetro ($d/2$) de las esferas (la cantidad de Au electrodepositada a $d/2$ es mínima dado que las esferas están prácticamente en contacto a esa altura y el intersticio entre ellas es mínimo); a partir de allí el electrodeposito sigue por encima de $d/2$ y la corriente (en valor absoluto) aumenta nuevamente. Es posible entonces controlando el tiempo y velocidad de electrodeposición en el baño de Au regular con buena precisión la altura de dichas cavidades.

Finalmente, las esferas de poliestireno son removidas sonicando por 3 minutos en dimetilformamida. La Figura 6.1a muestra las imágenes de SEM obtenidas para distintas alturas de cavidades de Au (distintos tiempo de electrodeposito). Como puede observarse el método permite obtener arreglos hexagonales de nanocavidades muy bien definidas en superficies de Au de $\sim 1\text{cm}^2$ (Figura 6.1b).⁵² Por último, en la Figura 6.1c se muestra una imagen 3D de STM donde pueden observarse además de las nanocavidades el grano de tamaño nanométrico que compone la estructura del electrodeposito de Au. Cabe destacar que los intentos realizados con el fin de obtener nanocavidades de Ag mediante procedimientos similares generan estructuras con gran cantidad de defectos y menor orden.

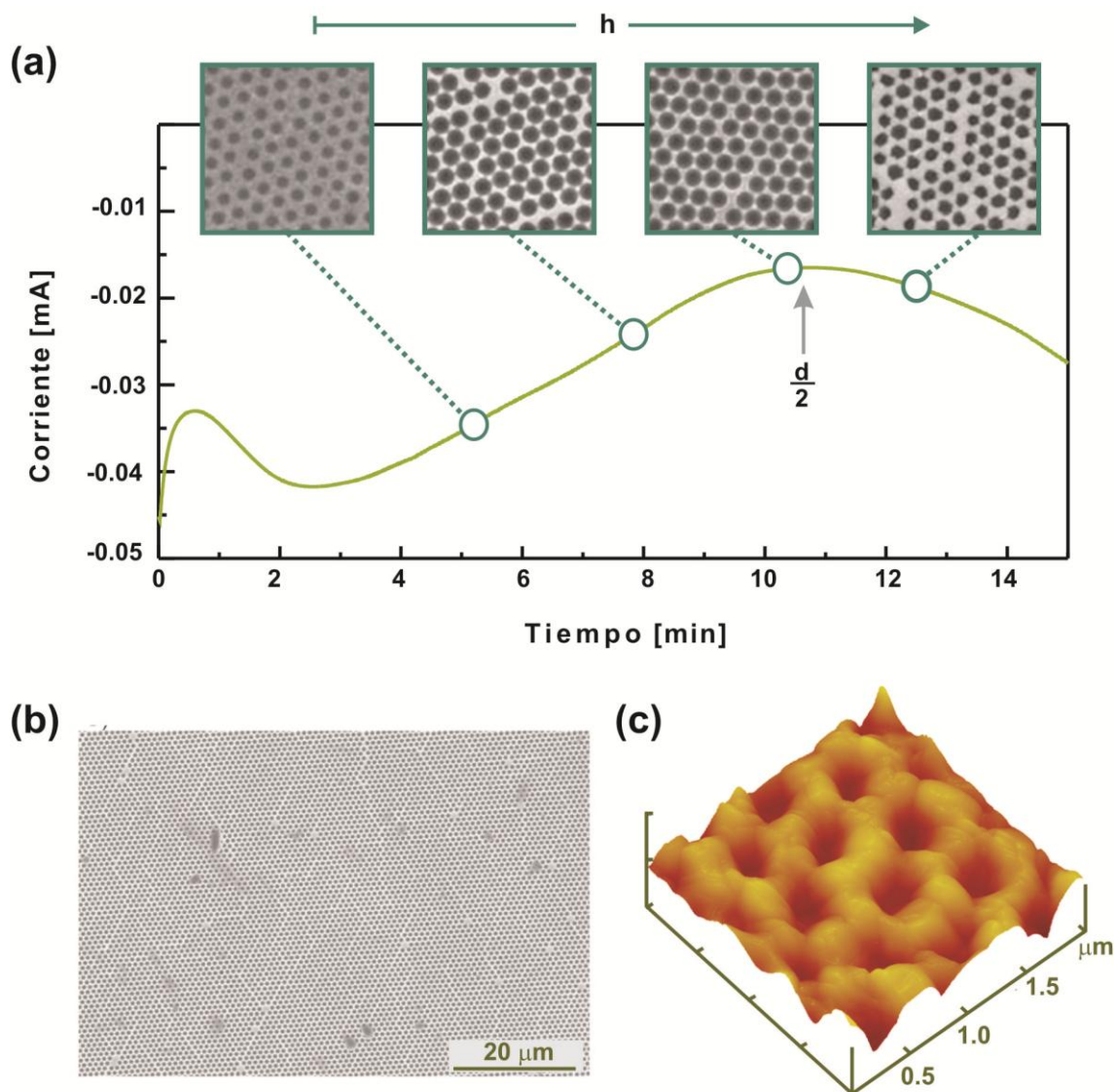


Figura 6.1. a) Curva de corriente vs tiempo del electrodepósito de Au sobre el molde de nanoesferas de poliestireno (el depósito de Au se realiza a potencial constante en una solución de depósito comercial). Sobre la curva se muestran imágenes de SEM de nanocavidades de altura variable dependiendo el tiempo de electrodepósito. b) Imagen de SEM de $\sim 1\text{cm}^2$ del sustrato mostrando el orden de amplio alcance de las nanocavidades. c) Imagen 3D de STM de $2 \times 2\ \mu\text{m}^2$ de nanocavidades de Au de 500 nm de diámetro.

Electrodepósito de películas ultradelgadas de Ag sobre el sustrato de Au con nanocavidades. El primer paso para la fabricación de las plataformas bimetálicas de Ag-Au con distintos espesores de Ag requiere la evaluación del área real del sustrato de Au, que en nuestro caso contiene las nanocavidades. Este dato es imprescindible para determinar qué cantidad exacta de Ag debemos electrodepositar para alcanzar los espesores equivalentes a 1 (UPD), 10 o 100 (OPD) capas atómicas (Figura 6.3a) teniendo en cuenta que la densidad de carga involucrada en el depósito de una monocapa de Ag es $q = 0.22\ \text{mC/cm}^2$.

Como ya describimos en el Capítulo 4, el área real de los sustratos de Au se puede evaluar

con precisión mediante voltamperometría de acuerdo a procedimientos ya descritos en la literatura.⁵³ Para ello se utilizó una celda convencional de tres electrodos, empleando como electrodo de trabajo el sustrato de Au con las nanocavidades, una lámina de Pt como contra electrodo y un electrodo de calomel saturado (ECS) como referencia conteniendo 0.5 M H₂SO₄ como electrolito. A continuación se aplicó una rampa triangular de potencial de -0.20 a 1.60 V a 0.1 V.s⁻¹ registrándose el voltamperograma correspondiente (Figura 6.2a, curva negra). A partir de la carga (Q) involucrada en el pico de reducción de la monocapa de óxido de oro (sombreado en negro en la Figura 6.2a) es posible estimar el área real del sustrato (A) considerando que la misma involucra una densidad de carga q = 0.44 mC/cm² (Figura 6.2a), de acuerdo a A = Q/q. Notar que en este caso la densidad de carga es el doble respecto de la Ag, ya que en el caso del Au el proceso redox involucra 2 electrones mientras que en la Ag es solo 1.

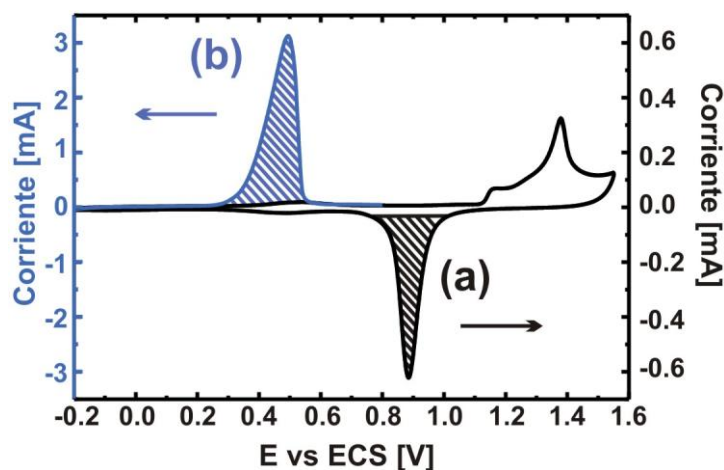


Figura 6.2. a) Voltamperometría cíclica de nanocavidades de Au en 0.5 M H₂SO₄ a $v = 0.1 \text{ V.s}^{-1}$. Área sombreada: electroreducción de monocapa de óxido de Au. b) Primer ciclo en sentido anódico del sustrato modificado con 100 capas de Ag. Área sombreada: Stripping anódico de 100 capas de Ag a $v = 0.01 \text{ V.s}^{-1}$ en 0.5 M H₂SO₄.

Los depósitos de Ag sobre el sustrato de Au con nanocavidades fueron realizados electroquímicamente a partir de una solución acuosa $5 \times 10^{-4} \text{ M Ag}_2\text{SO}_4 + 1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ en una celda electroquímica convencional de tres electrodos utilizando una lámina de Pt como contraelectrodo y un alambre de Ag como electrodo de referencia. El electrodeposición se realizó a potencial constante. Para la elección de dicho potencial es necesario conocer el perfil de corriente vs potencial (i vs E) para el depósito de Ag sobre la cavidades en nuestras condiciones experimentales. En la Figura 6.3b, en dicho perfil i vs E , es posible distinguir las regiones de OPD y UPD (línea punteada roja). Como explicamos anteriormente, en la región de UPD (subpotenciales) ocurre el depósito sucesivo de 1 y 2 capas atómicas de Ag sobre Au.⁴⁶ Estimando mediante el área real del sustrato de Au determinada previamente la cantidad de Ag necesaria para depositar 1 monocapa de Ag se selecciona (en la región de UPD) el potencial al cual solo la

primera capa es depositada (ver línea verde en la Figura 6.3b). Para los depósitos de 10 y 100 capas de Ag, se trabaja en la región de sobrepotenciales (OPD), seleccionando un potencial (típicamente $E = -0.05$ V) y luego monitoreando la evolución de i vs t se detiene el proceso cuando la carga de Ag depositada alcance la calculada para 10 o 100 capas. A diferencia del proceso de UPD, donde la cantidad de Ag depositada en el equilibrio no puede exceder la que fija el potencial del interfaz (de fracciones de monocapa a 2 monocapas dependiendo de E), la deposición a OPD ocurre fuera del equilibrio y la cantidad de Ag que se deposita debe ser controlada continuamente mediante la integración de la curva i vs t hasta alcanzar el valor deseado.

La morfología del sustrato recubierto por los distintos depósitos de Ag (1, 10 o 100 capas) se caracterizó mediante SEM (Figura 6.3c), observando en todos los casos que el patrón de nanocavidades de Au permanece inalterado luego del electrodeposición del segundo metal.

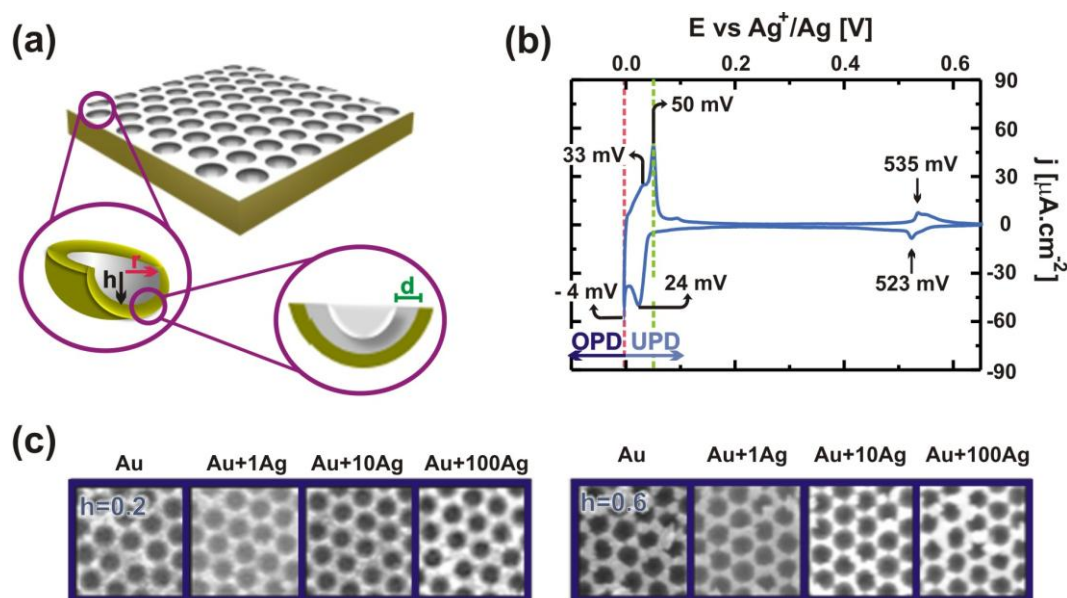


Figura 6.3. a) Esquema del depósito de Ag sobre los moldes de nanocavidades de Au. b) Perfil de densidad de corriente vs potencial para las nanocavidades de Au en 5×10^{-4} M Ag_2SO_4 + 1 M H_2SO_4 a $v = 0.01$ V·s⁻¹ entre $E_a = 0.65$ V y $E_c = -0.005$ V. Dos regiones pueden distinguirse (separadas por la línea punteada roja): la del depósito de Ag a subpotenciales, UPD ($E > 0$ V) y a sobrepotenciales, OPD ($E < 0$ V). El depósito de 1 capa de Ag se realiza barriendo entre $E_a = 0.65$ V y $E_c = 0.05$ V (línea punteada verde). Se muestran los potenciales de los picos característicos del depósito de Ag sobre Au en ambas regiones. c) Imágenes de SEM de nanocavidades de $h = 0.2$ (izquierda) y $h = 0.6$ (derecha) con cantidades variables de Ag.

Una ventaja muy importante del sistema bimetalico Ag-Au es que las capas de Ag pueden ser removidas de la plataforma de Au utilizando un sistema experimental electroquímico igual al descrito para la evaluación del área real de Au. En la Figura 6.2b se muestra un ejemplo para el caso de la remoción de 100 capas de Ag (sombreado azul). La integración de la corriente del pico

centrado a 0.49 V, asociado a la oxidación de Ag (Figura 6.2b), nos permite confirmar que la cantidad de Ag que había sido electrodepositada es la esperada. Luego de este procedimiento de limpieza, la superficie recupera la respuesta i vs E de la plataforma de Au de partida. Hemos podido comprobar que una misma plataforma sometida 10 veces a este procedimiento (electrodeposición/remoción) no presenta cambios en su morfología (SEM) ni en su respuesta electroquímica (Figura 6.4). Esto demuestra la posibilidad de reutilizar estos sustratos renovando las capas ultradelgadas de Ag.

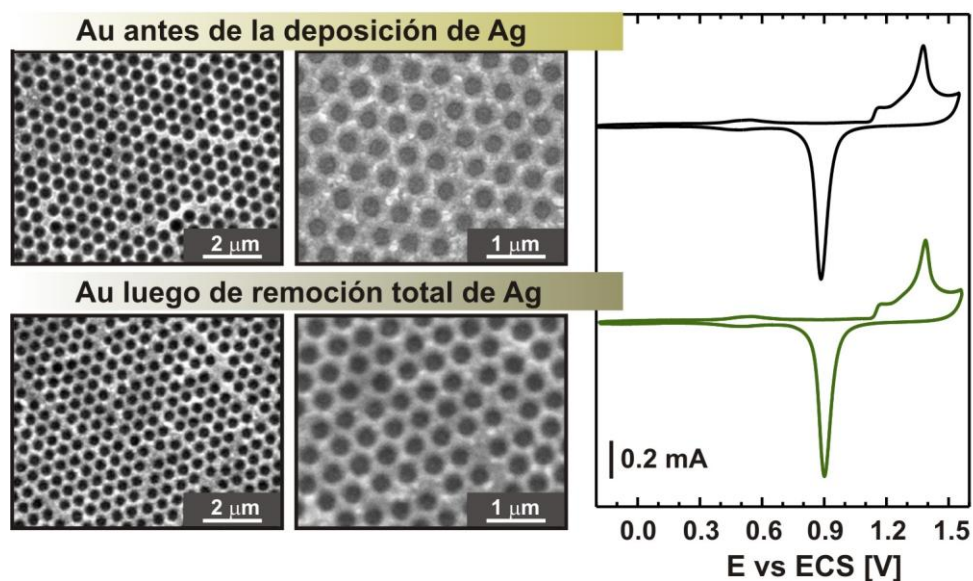


Figura 6.4. Imágenes de SEM del sustrato de nanocavidades de Au antes (superiores) y después (inferiores) de realizar 10 ciclos sucesivos de depósito/remoción de capas de Ag. Voltamperogramas del sustrato de nanocavidades de Au en H_2SO_4 antes y después de los 10 ciclos sucesivos de depósito/remoción de capas de Ag.

6.3 Respuesta plasmónica de los sustratos bimetálicos.

Tal como se mencionó anteriormente y se muestra en el Esquema 6.1, existen dos contribuciones plasmónicas importantes en este tipo de nanoestructuras periódicas. Dentro de una cavidad (en azul) se genera el polaritón plasmónico de superficie localizado ó plasmón de Mie; mientras que sobre la superficie plana entre las cavidades de la nanoestructura (en rojo), podemos encontrar al polaritón plasmónico de superficie propagante ó plasmón de Bragg. Estos plasmones tienen distintas propiedades y no necesariamente coexisten en las nanoestructuras de cavidades metálicas, ya que dependen de la altura que tengan las mismas. Por ejemplo, para cavidades de $h < 0.2$, los plasmones de Mie son muy débiles (dado que la cavidad no se encuentra conformada como tal), para $0.4 < h < 0.6$ la superficie plana entre cavidades se separa en pequeños triángulos (menores a la longitud de onda de la luz incidente) que impiden la propagación de los plasmones de Bragg, etc.

Una de las formas más sencillas de evaluar experimentalmente las propiedades plasmónicas de estos sustratos SERS activos es mediante medidas de reflectividad, donde una absorción implica la presencia de un modo SPPs. En esta sección realizaremos un análisis de la reflectividad de los sustratos de nanocavidades de Au modificados con Ag. En lo que sigue denominaremos: Au (nanocavidades de Au), Au+1Ag (sustratos modificados con una monocapa de Ag), Au+10Ag (sustratos modificados con 10 capas de Ag) y Au+100Ag (sustratos modificados con 100 capas de Ag). Las medidas de reflectividad sobre estos sustratos fueron realizadas en un elipsómetro de ángulo variable Wollam WVASE32.

En la Figura 6.5 (superior) se muestra el mapa de intensidad de reflectividades para los sustratos de nanocavidades de Au de 500 nm. Los mismos fueron tomados utilizando luz de polarización S, con un ángulo de incidencia de 25° y cubriendo la región espectral de 500 a 1000 nm con pasos de 5 nm (eje horizontal) en función de la altura (h) de las cavidades (eje vertical). Para graficar la intensidad de las reflectividades se utilizó una escala logarítmica de colores, donde el color rojo representa un mínimo en la reflectividad ($R = 0$) y el color blanco un máximo en la reflectividad ($R = 1$). De aquí que la regiones en rojo se corresponden con las presencia de SSPs. Las curvas son guías para el ojo e identifican las absorciones ópticas calculadas/medidas para estos sistemas.¹⁹⁻²¹ Los modos $^1P_+$, $^1D_+$, $^1D_-$ corresponden a SPPs de Mie para distintos valores de l , m en la solución de los esféricos armónicos $Y_{(l-1,m)}$ (ver Capítulo 3 para mayores detalles). El modo INT está asociado a una región donde se ha identificado una excitación relacionada al acoplamiento entre cavidades vecinas.²¹ Por otro lado, los SPPs de Bragg pueden observarse para $h < 0.4$ y son más intensos cuando la luz tiene polarización P, por lo tanto, en la Figura 6.5 no se observan ya que en las medidas presentadas se utilizó luz de polarización S. Estos resultados coinciden con los informados por otros grupos demostrando la reproducibilidad de fabricación de estos sustratos. Para mayores detalles sobre el comportamiento plasmónico de estos sistemas se recomienda consultar la Tesis del Dr. Nicolás Tognalli.⁵²

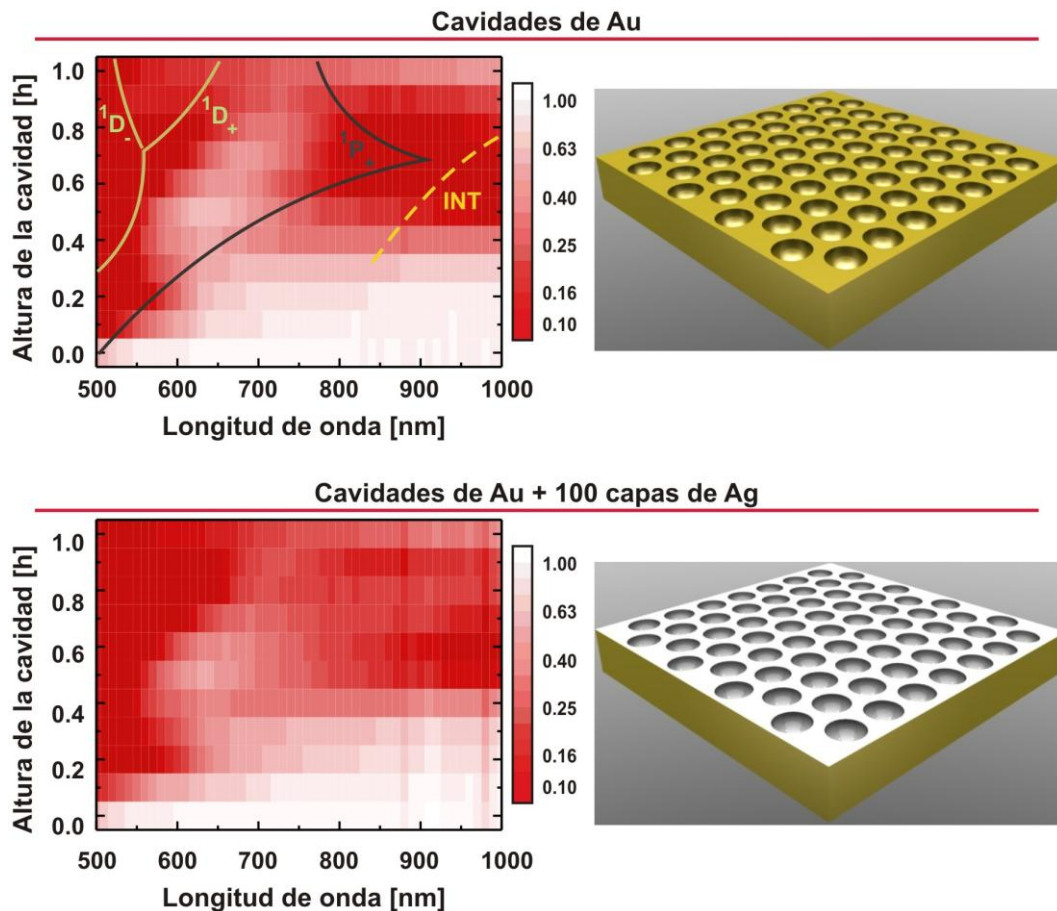


Figura 6.5. Mapas de intensidad de reflectividades (R) para nanocavidades de Au de 500 nm de diámetro (superior) y nanocavidades de Au+100Ag (inferior). Los mapas de colores muestran la variación de R en función de la altura de la cavidad (variable de 0 a 1, expresada como una fracción del diámetro) y de la energía incidente. Se utilizó una escala logarítmica de colores con $R = 1$ (máxima reflectividad, blanco) y $R = 0$ (mínima reflectividad, rojo). Por lo tanto, los procesos de absorción de luz están presentes en las zonas rojas del mapa. En el panel superior se presentan (como guías para el ojo), distintos modos plasmónicos encontrados para estos sustratos de acuerdo a la asignación realizada por Kelf et al.¹⁹⁻²⁰

Para los sustratos Au+1Ag y Au+10Ag los mapas de reflectividad son prácticamente indistinguibles del correspondiente a las cavidades de Au (Figura 6.5 superior), lo que permite suponer a priori que los depósitos más delgados de Ag no tienen influencia en las propiedades plasmónicas del sustrato. Sin embargo, los sustratos Au+100Ag conservan en general una respuesta similar a los sustratos de Au y modos SPPs similares, aunque existen leves modificaciones en el mapa de reflectividades evidenciados por la aparición de nuevas zonas de absorción en distintas partes del mismo (Figura 6.5, inferior), especialmente para cavidades de $h > 0.6$ y en la región azul-verde del espectro (SPPs de Mie). Estos cambios pueden interpretarse como un corrimiento al azul de los modos SPPs.⁸ Ambos metales Au y Ag tienen respuestas dieléctricas similares en la región roja del espectro ($\lambda > 650$ nm), bien descritas por un modelo tipo Drude. Sin embargo, en la región azul del espectro el Au sufre una atenuación en la excitación plasmónica como consecuencia de una gran absorción asociada a transiciones

electrónicas interbanda (ver Apéndice A para más detalles). De esta forma, la Ag, tiene un comportamiento plasmónico superior al Au y por lo tanto, de las medidas de reflectividad, podemos interpretar que los sustratos Au+100Ag tienen un comportamiento plasmónico similar al de estructuras de Ag *bulk*, mientras que los sustratos de Au, Au+1Ag y Au+10Ag tienen un comportamiento similar entre ellos (Au *bulk*). Es importante resaltar para las discusiones posteriores que, en estos últimos 3 casos (Au, Au+1Ag y Au+10Ag) y como puede observarse en la Figura 6.5 superior, no existen estados plasmónicos en las regiones comprendidas por: $600 \text{ nm} \leq \lambda \leq 700 \text{ nm}$ y $0.5 \leq h \leq 0.6$ como así tampoco para la región de $600 \text{ nm} \leq \lambda$ y $h \leq 0.2$.

En lo que sigue utilizaremos estas plataformas para la detección ultrasensible de moléculas mediante espectroscopía Raman amplificada de superficies (SERS).

6.4 Ensamblado de SAMs de PyS sobre sustratos bimetálicos.

La respuesta SERS de los sustratos de Au y los modificados con 1, 10 y 100 capas de Ag es evaluada utilizando PyS como molécula sonda. La elección de esta molécula está relacionada a: 1) su buena sección eficaz Raman, 2) la posibilidad de formar monocapas densas a través del autoensamblado molecular y que el cubrimiento máximo alcance un valor similar sobre ambos metales (independizarse de la cantidad de moléculas), 3) el conocimiento adquirido previamente (Capítulo 4) sobre las condiciones óptimas del ensamblado y estabilidad de las SAMs de PyS, 4) debido a que la molécula sonda (PyS) no presenta absorciones en la región espectral de trabajo ($500 \text{ nm} < \lambda < 800 \text{ nm}$), esto implica que la respuesta SERS puede ser atribuida únicamente a las modificaciones introducidas en la plataforma metálica sin contribuciones adicionales de la molécula (tal como resonancias electrónicas, etc), ver Figura 6.6.

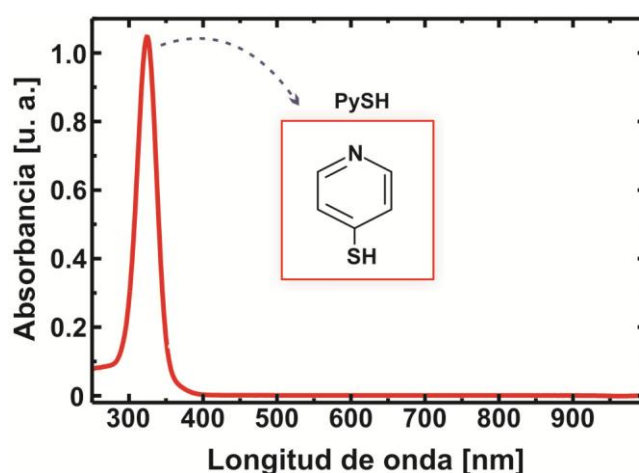


Figura 6.6. Espectro UV-visible de una solución acuosa $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ de PySH.

Las SAMs de PyS fueron preparadas siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo 4. De esta forma, los sustratos fueron inmersos en soluciones acuosas 1×10^{-3} M de PySH por 10 minutos y luego sometidos a varios lavados con agua Milli-Q. El cubrimiento fue controlado mediante técnicas de electrodesorción reductiva y XPS tal como ha sido descrito previamente.

6.5 Respuesta SERS de los sustratos bimetalícos.

Las experiencias Raman fueron llevadas a cabo utilizando un espectrómetro triple Jobin-Yvon T64000 operando en modo sustractivo y acoplado a una CCD enfriada con N_2 líquido. Las excitaciones fueron realizadas utilizando un láser Ar-Kr (específicamente, 514.5, 530.2, 647.1 y 676.2 nm) y 3 longitudes de onda del láser continuo Ti-Zafiro sintonizadas entre 690 y 1080 nm. Los espectros que se muestran fueron adquiridos en tiempos de 15 segundos con una potencia del láser de 20 mW y un ángulo de incidencia de 25° , utilizando un spot circular de 30 μm de diámetro.

La Figura 6.7 presenta los espectros SERS de una SAM de PyS adsorbida sobre los sustratos de nanocavidades de Au, Au+1Ag, Au+10Ag, Au+100Ag. En los paneles superiores se presentan los espectros obtenidos utilizando el laser verde de 514.5 nm mientras que en el inferior se presentan los espectros obtenidos con el laser rojo de 676.2 nm. Estos dos láseres permiten tener un panorama completo de lo que sucede en ambas regiones del espectro y son representativos de la respuesta general del sistema en dichas regiones (para $500 \text{ nm} < \lambda < 600 \text{ nm}$ y $600 \text{ nm} < \lambda < 800 \text{ nm}$). Por otra parte, en los paneles de la izquierda (superior e inferior) se presentan los espectros obtenidos para cavidades con $h = 0.2$ y en los de la derecha para $h = 0.6$. En cada uno de los paneles se presentan los espectros Raman en función de la cantidad de Ag depositada en las nanocavidades; de abajo hacia arriba de Au hasta Au+100Ag, respectivamente (los espectros fueron desplazados verticalmente para una mejor visualización).

Para el análisis de la respuesta SERS de los distintos sustratos nos centraremos en la región de 1100 cm^{-1} del espectro Raman de PyS. Para las nanocavidades de Au, el espectro SERS de PyS presenta dos bandas principales a 1004 cm^{-1} y 1095 cm^{-1} (Figura 6.7). Estas bandas han sido asignadas a vibraciones correspondientes al estiramientos C-C del anillo aromático.⁵⁴ Al depositar una monocapa de Ag (Au+1Ag), dichos modos sufren un corrimiento al azul centrándose en 1012 cm^{-1} y 1101 cm^{-1} respectivamente. Además, se observa la aparición de una nueva banda a 1068 cm^{-1} , la cuál ha sido asignada al estiramiento C-H.⁵⁴ El depósito posterior de 10 y 100 capas de Ag origina un ablandamiento de dichos modos, centrándose ahora en: 1008 cm^{-1} , 1063 cm^{-1} y 1098 cm^{-1} respectivamente, alcanzando energías intermedias entre los sustratos de Au y Au+1Ag. El endurecimiento de los modos vibracionales de PyS al pasar de sustratos de Au a sustratos de Ag ya ha sido observado por otros autores.⁵⁴ El endurecimiento adicional (mayor corrimiento al

azul) de los modos de PyS en el caso de Au+1Ag podría estar relacionado a la mayor energía de enlace (mayor interacción) de las SAMs de tioles sobre Ag(UPD) respecto del Au o Ag.^{46-47, 55-56} Sin embargo la diferencia más importante que presentan los espectros SERS de PyS sobre los sustratos de nanocavidades con cantidades variables de Ag, es la fuerte variación de las intensidades. Este hecho está estrictamente relacionado con los límites de detección de estos sustratos y abordaremos este punto central a continuación.

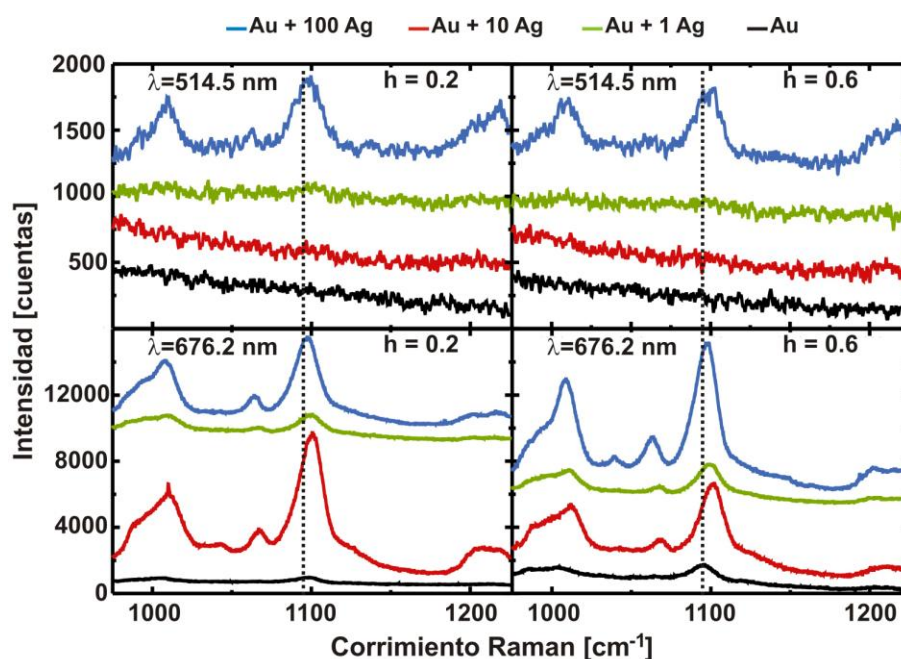


Figura 6.7. Espectros Raman de PyS adquiridos con el láser de 514.5 nm (paneles superiores) y de 676.2 nm (paneles inferiores) utilizando nanocavidades de $h = 0.2$ (paneles izquierdos) y $h = 0.6$ (paneles derechos) con cantidades variables de Ag: Au (negra), Au+1Ag (roja), Au+10Ag (verde) y Au+100Ag (azul). Los espectros fueron desplazados verticalmente para una mejor visualización.

Para el caso de espectros SERS de PyS adquiridos utilizando el laser de 514.5 nm (Figura 6.7, paneles superiores) prácticamente no se detecta señal (bajo las condiciones utilizadas) cuando las nanocavidades de Au, Au+1Ag y Au+10Ag son utilizadas como sustratos plasmónicos. Por otro lado, el espectro SERS de PyS es claramente detectado en el sustrato de Au+100Ag. Este puede explicarse en términos de la modificación de la respuesta dieléctrica del sustrato cuando 100 capas de Ag (~ 30 nm) son depositadas. En efecto, teniendo en cuenta que la profundidad de penetración de la luz en Ag *bulk* es de ~ 30 nm, los sustratos Au+100Ag se comportan de manera similar a sustratos de Ag masivos en cuanto a su respuesta plasmónica. Esto concuerda con las conclusiones de la sección anterior a través del análisis de los mapas de reflectividad y de la respuesta plasmónica de estos sustratos.

Cuando se utiliza el láser de 676.2 nm el comportamiento es mucho más complejo (Figura 6.7, paneles inferiores). En primer lugar se observa el espectro SERS de PyS para las nanocavidades de Au, independientemente de la altura de las mismas ($h = 0.2$ y $h = 0.6$). De acuerdo a los mapas de reflectividad (Figura 6.5), para esta energía y altura de cavidades mostradas, no hay resonancia con ningún modo plasmónico de las cavidades. De esta forma, este comportamiento podría ser explicado parcialmente mediante las propiedades plasmónicas del Au considerando un acoplamiento no resonante con alguno de los modos plasmónicos. Volveremos sobre este punto más adelante. En segundo lugar se puede observar una fuerte amplificación de la señal cuando se deposita solamente una monocapa de Ag (Au+1Ag) para ambas alturas de nanocavidades. Esta amplificación es importante: 20 veces más (respecto de las cavidades de Au) para $h = 0.2$ y de 6 veces para $h = 0.6$. Este importante incremento de la intensidad del espectro Raman es atenuado cuando se depositan 10 capas de Ag (Au+10Ag) y recuperado nuevamente con el depósito de 100 capas de Ag. En la Figura 6.8 se resumen estos hechos graficando la variación de intensidad de la banda a $\sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ en función del número de capas de Ag depositadas para ambas alturas de cavidades ($h = 0.2$ cuadrados y $h = 0.6$ círculos) utilizando el láser de 676.2 nm.

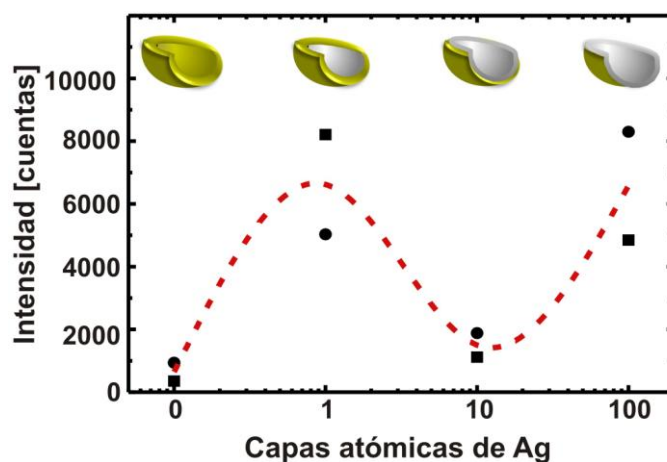


Figura 6.8. Intensidad Raman correspondiente al modo de $\sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ de PyS en función del número de capas de Ag depositadas para nanocavidades de altura $h = 0.2$ (cuadrados) y $h = 0.6$ (círculos) utilizando el láser de 676.2 nm. La línea punteada es una guía para el ojo para demostrar el comportamiento global observado.

La Figura 6.8 resume el comportamiento descrito: la intensificación de la señal Raman para el caso Au+1Ag, su disminución para el depósito de 10 capas de Ag y la recuperación de la intensidad para el caso Au+100Ag. Este último hecho es concordante con la aparición de plasmones similares a los de Ag *bulk*, tal como fue descrito para el caso del láser a 514.5 nm y corrobora la idea de construir estructuras plasmónicas de Ag a partir del electrodeposición sobre moldes de Au. Finalmente, debemos explicar el comportamiento anómalo observado de la señal

Raman en los casos de Au+1Ag y Au+10Ag y sobre este punto trabajaremos en lo que resta de este Capítulo. Es importante destacar nuevamente que los cubrimientos de PyS son similares para todos los casos estudiados, lo cual permite descartar en principio que sea el número de moléculas abarcadas por el volumen focal el causante de dicho efecto.

6.6 Desacoplamiento de los efectos electromagnético y “químico” en SERS.

En la Figura 6.9 se muestra la variación en la intensidad SERS de la banda a $\sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ del espectro de PyS en función de la longitud de onda del láser incidente para cada uno de los sustratos empleados. En este caso se seleccionó la cavidad de altura $h = 0.6$ con la intención de minimizar la influencia de los plasmones de las nanocavidades en la región de energías estudiadas ($514.5 \text{ nm} < \lambda > 770 \text{ nm}$) y de esta forma poder desacoplar la respuesta plasmónica con otro tipo de efecto que pueda estar presente en este sistema. Cabe destacar que los resultados obtenidos fueron similares cuando se utilizaron cavidades de $h = 0.2$. Tal como hemos discutido en la Introducción de este Capítulo, se sabe que una monocapa de Ag es incapaz de generar una oscilación colectiva de electrones superficiales.⁵¹ En este sentido, el efecto que hemos observado para el caso de PyS sobre Au+1Ag podría estar asociado a otro efecto, distinto al electromagnético. Como hemos mencionado una de las ventajas de utilizar estos sustratos ordenados con respuesta plasmónica definida es la posibilidad de desacoplar efectos plasmónicos de otros que puedan estar presentes en el sistema.

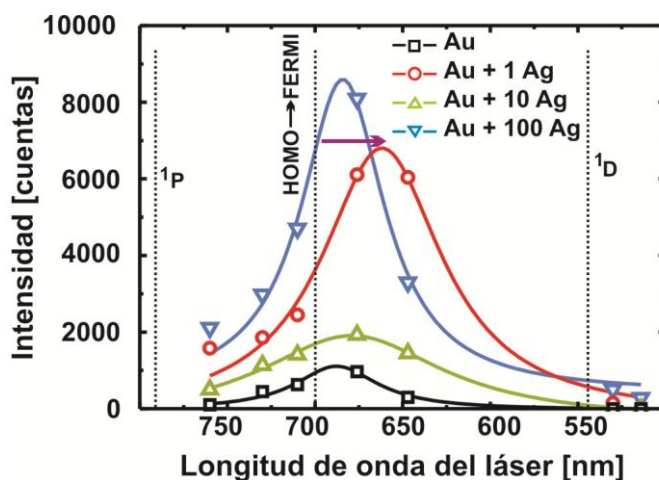


Figura 6.9. Intensidad Raman del modo a $\sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ de PyS en función de la energía del láser incidente utilizando nanocavidades de $h = 0.6$ de Au (negra), Au+1Ag (roja), Au+10Ag (verde) y Au+100Ag (azul). Los ajustes Lorentzianos son guías para el ojo. En líneas punteadas se muestran las energías a las cuales aparecen los modos plasmónicos $^1P_+$ y 1D para cavidades de $h = 0.6$ y el valor de energía para la resonancia de transferencia de carga molécula-metal (HOMO-FerMI).

Volvamos nuevamente a la Figura 6.9 para un análisis más detallado de estos resultados. En primer lugar se observa claramente la presencia de una resonancia Raman centrada en 650-700 nm, una región de energías donde no hay presencia de modos plasmónicos, independientemente de la cantidad de Ag depositada (Figura 6.5). En efecto, el máximo de esta “nueva” resonancia se encuentra alejado de los modos plasmónicos $^1P_+$ y 1D (mostrados en la Figura 6.9) como así también de la transición HOMO-LUMO en la molécula de PyS (reflejado en la absorción óptica de la Figura 6.6), la cual se encuentra centrada en 330 nm. En segundo lugar, el comportamiento de la variación de la intensidad Raman en función de las capas de Ag depositadas a lo largo de todo el rango de energías estudiadas sigue un perfil similar al mostrado en la Figura 6.8 para el caso de $\lambda = 676.2$ nm. Esta evidencia permite afirmar que el fenómeno observado es prácticamente independiente de la longitud de onda del láser incidente en el rango de energías estudiadas. En tercer lugar es importante resaltar que en la mayoría de los casos el máximo de la resonancia se encuentra cercano al láser de $\lambda = 676.2$ nm, pero sin embargo para el caso Au+1Ag existe un corrimiento al azul de la resonancia Raman (marcado con una flecha en la Figura 6.9).

Los resultados precedentes indican claramente la presencia de una nueva resonancia en el proceso Raman para todos los sustratos modificados con PyS. Dicha resonancia está ausente en la molécula y en el arreglo de nanocavidades por separados y es producto del conjunto de ambas: PyS+(Au+xAg), con x=0, 1, 10 y 100. Además, hay evidencia de un efecto adicional a nivel de la interacción electrónica para el caso de Au+1Ag, que origina el aumento relativo de la sección eficaz Raman en ese caso (Figura 6.8) y el corrimiento de la resonancia respecto de los otros sustratos. Este tipo resonancias Raman y cambios a nivel electrónico, que originan variaciones en la intensidad y posición de las bandas en los espectros Raman, son identificados en la literatura como efecto “*químico*” en SERS.¹⁰

Antes de abordar con mayor detalle y desde un punto de vista cuantitativo el efecto “*químico*” presente para todos los sustratos (tal como muestra la Figura 6.9), aunque particularmente intenso el caso Au+1Ag, es necesario entender porque existe una disminución de la intensidad Raman en el espectro de PyS en el caso Au+10Ag. Como se mencionó anteriormente en el caso de las plataformas de Au y Au+100Ag, la respuesta plasmónica podría asimilarse a la de los sustratos de Au y Ag *bulk* respectivamente, siendo mucho más intensa en el caso de la Ag debido a que no presenta transiciones interbanda que atenúen su respuesta plasmónica. En el caso de 10 capas de Ag, las moléculas de PyS se encuentran adsorbidas sobre átomos superficiales de Ag cuya estructura electrónica es prácticamente idéntica a los de Ag *bulk* (la influencia de la estructura electrónica del Au está completamente apantallada por las 10 capas de Ag). Este hecho se puede evidenciar en los corrimientos Raman del espectro de PyS (Figura 6.7), los cuales son idénticos para los casos Au+10Ag y Au+100Ag. Por otro lado la respuesta plasmónica de los sustratos Au+10Ag debería ser similar a los sustratos de Au, ya que la

profundidad de penetración de la luz para estructuras de Ag es de ~ 30 nm,⁸ siendo que los depósitos de 10 capas de Ag tienen un espesor de solo ~ 3 nm. Es decir, en estos sustratos no está presente el efecto “químico” evidenciado para el caso Au+1Ag y tampoco están presentes los plasmones de Ag *bulk* dado que el espesor de penetración de la luz en Ag es mucho mayor que los ~ 3 nm de Ag de estos sistemas. Estos dos efectos conjuntos permiten explicar porque la intensidad del espectro Raman de PyS disminuye para el caso de Au+10Ag comparado con Au+1Ag y Au+100Ag.

6.7 Efecto “químico” en SERS: ¿Qué sucede a nivel microscópico?.

Hasta el momento entonces hemos evidenciado la presencia de dos efectos diferentes causantes de la amplificación de la señal Raman dependiendo de la cantidad de Ag depositada: un primer efecto de tipo “químico”, máximo para el caso de una monocapa de Ag y que actúa acoplado con la respuesta plasmónica del Au de las nanocavidades y un segundo efecto centrado en las mejores propiedades plasmónicas de las estructuras tipo Ag *bulk* (Au+100Ag) que también están acompañadas por una pequeña contribución química de las moléculas de PyS sobre Ag (Figura 6.9).⁵⁷ Coexistiendo con ambos efectos hemos detectado la presencia de una nueva resonancia presumiblemente relacionada a la estructura electrónica de la PyS unida covalentemente a las estructuras metálicas de Au y Ag. En lo que sigue de este Capítulo nos centraremos en tratar de entender y explicar el origen y alcance del efecto “químico” y de esta resonancia.

Desde un punto de vista microscópico el entendimiento del efecto “químico” en SERS es incierto aún. En la literatura existe un gran debate sobre su posible origen y alcance y varios modelos teóricos han sido propuestos para tratar de explicar este efecto sin que exista actualmente evidencia experimental que permita contrastarlos.^{9, 11-13} Por otra parte, desde un punto de vista experimental, distintos comportamientos observados en diversos sistemas se han atribuido “cualitativamente” al efecto químico.⁵⁸ De esta forma, la conexión entre teoría y experimentos es necesaria para poder explicar que sucede microscópicamente.

Los modelos teóricos planteados para el efecto “químico” están basados en diversos fenómenos: la transferencia de carga resonante entre el metal y la molécula,⁹ la presencia de adátomos superficiales,¹¹ la modulación de la polarizabilidad¹² y la separación electrón-hueco y generación de especies aniónicas en la interfaz,¹³ entre otros. El primero de los modelos, propuesto por Persson (transferencia de carga),⁹ reúne varios de los aspectos básicos presentes en los otros modelos y permite una evaluación cuantitativa de la respuesta SERS mediante el cálculo de la sección eficaz Raman diferencial. Otro modelo más reciente de Persson (polarizabilidad)¹² tiene sus bases en el primer modelo de transferencia de carga y se aplica a un grupo reducido de

moléculas. El modelo de Otto (adátomos)¹¹ fue planteado en los comienzos del descubrimiento del efecto SERS, cuando solo las superficies de Au y Ag rugosas se utilizaban como plataformas plasmónicas. Sin embargo, este modelo es incapaz de explicar el efecto “químico” observado en muchos otros sustratos SERS activos empleados hoy en día tales como plataformas con patrones ordenados, nanopartículas, etc. El modelo reciente de Otto (electrón-hueco)¹³ también se basa en superficies rugosas defectuosas y lo tanto tiene una aplicación limitada. Por estos motivos utilizaremos el modelo más amplio y general de transferencia de carga resonante propuesto por Persson para tratar de explicar el efecto observado experimentalmente en nuestra plataforma bimetalítica (Au +xAg).

El modelo teórico de Persson plantea la posibilidad de una transferencia de carga resonante entre la molécula y la superficie metálica. Brevemente, un haz de fotones (de energía de algunos eV) incide en el sistema metal-molécula. Uno de esos fotones puede dispersar un electrón desde un nivel por debajo del nivel de Fermi a un nivel por encima del nivel de Fermi. Esta excitación de transferencia de carga resulta en un cambio en el potencial eléctrico de la molécula el cuál induce una relajación estructural de la misma. El electrón excitado puede entonces retornar al nivel desde el cual fue excitado (ocupando ese hueco) y emitiendo un fotón. Dicho fotón puede tener la misma energía que el fotón incidente si la molécula culmina en un estado vibracional fundamental (dispersión Rayleigh). Sin embargo, debido a la relajación nuclear antes mencionada, hay una probabilidad finita de que la molécula termine en un estado vibracional excitado. En este caso, el fotón emitido tendrá una energía menor respecto de la del fotón incidente y tendremos entonces un proceso de dispersión Raman. Existe también la posibilidad de que el electrón excitado se desexcite mediante algún canal no radiativo, como por ejemplo interacciones Coulómbicas con otros pares de electrones-huecos. Estos procesos de interacción del sistema metal-molécula con el fotón incidente y posteriores procesos de relajación están descriptos por el siguiente Hamiltoniano:⁹

$$H = [\varepsilon_a(Q) - edE_z] \hat{n}_a + \sum_k \varepsilon_k c_k^\dagger c_k + \sum_k (V_{ak} a^\dagger c_k + hc) + \hbar\Omega b^\dagger b + H_{EM} \quad (1)$$

donde Q es el desplazamiento asociado a un modo vibracional de la molécula y $\varepsilon_a(Q)$ es la energía del orbital molecular $|a\rangle$ calculado para un Q fijo. Por otro lado, c_k^\dagger (c_k) es el operador de creación (aniquilación) que crean (aniquilan) un electrón con energía ε_k en la superficie metálica mientras que a^\dagger (a) es el operador correspondiente al orbital molecular. V_{ak} describe el “salto” del electrón entre la molécula y el metal. $\hbar\Omega$ es la energía vibracional y b^\dagger (b) es el operador de creación (aniquilación) para los estados vibracionales. Los últimos dos términos son

las energías asociadas a los grados de libertad vibracional y electromagnético respectivamente. El acoplamiento entre la molécula y el campo eléctrico externo está dado por el término edE_z donde \hat{n}_a es el operador numérico $a^\dagger a$ y d es la distancia efectiva. Este término representa el trabajo hecho en contra del campo eléctrico externo e inducido (E_z) al mover un electrón desde el orbital $|a\rangle$ hacia la superficie metálica. De esta forma, la distancia d implica el camino recorrido por el electrón desde el orbital molecular hasta los estados involucrados en la transferencia de carga por parte del metal, o sea, aquellos estados que también son responsables de la energía de Fermi y de la respuesta electrostática. A partir de la expresión del Hamiltoniano se puede realizar una expansión de primer orden de $\varepsilon_a(Q)$ en torno a Q :⁹

$$\varepsilon_a(Q) \approx \varepsilon_a(0) + \varepsilon'_a(0)Q \quad (2)$$

a partir de aquí, planteando teoría de perturbaciones ($H \approx H_o + V$) y utilizando la regla de oro de Fermi, se puede llegar a la expresión de la sección eficaz Raman diferencial:⁹

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{4\omega'^4}{3c^4} (ed)^4 |\varepsilon'_a(0)G(\omega, \omega')|^2 |\langle n=1|Q|n=0\rangle|^2 \quad (3)$$

donde e es la carga del electrón y d es la distancia efectiva incluida en el modelo para dar cuenta del cambio en el potencial electrostático entre la posición del centro de carga del orbital $|a\rangle$ y el plano imagen dado por la superficie metálica. Como señalamos anteriormente (ecuación 2), $\varepsilon'_a(0)$ es la primera derivada de la energía del orbital $|a\rangle$ respecto de la coordenada de desplazamiento Q . $\langle n=1|Q|n=0\rangle$ es el elemento de matriz del operador desplazamiento Q entre el estado vibracional fundamental $|n=0\rangle$ y el primer estado excitado $|n=1\rangle$. Por último, $G(\omega, \omega')$ es una expresión integrada que depende de las frecuencias de los fotones incidentes (ω), dispersados (ω') y la relación entre ellos ($\omega - \omega' = \Omega$) según:⁹

$$G(\omega, \omega') = A(-\omega', -\omega) + A(\omega, \omega') + A(-\Omega, \omega') + A(-\Omega, -\omega) + A(\omega, \Omega) + A(-\omega', \Omega) \quad (4)$$

siendo A :

$$A(\omega, \omega') = \int_{-\infty}^{EF} d\varepsilon \rho_a(\varepsilon) \int_{EF}^{\infty} d\varepsilon' \frac{\rho_a(\varepsilon')}{\varepsilon' - \varepsilon + \hbar\omega - i\gamma} x \int_{EF}^{\infty} d\varepsilon'' \frac{\rho_a(\varepsilon'')}{\varepsilon'' - \varepsilon + \hbar\omega' - i\gamma} - \int_{EF}^{\infty} d\varepsilon \rho_a(\varepsilon) \int_{-\infty}^{EF} d\varepsilon' \frac{\rho_a(\varepsilon')}{\varepsilon - \varepsilon' + \hbar\omega - i\gamma} x \int_{-\infty}^{EF} d\varepsilon'' \frac{\rho_a(\varepsilon'')}{\varepsilon - \varepsilon'' + \hbar\omega' - i\gamma} \quad (5)$$

donde $\rho_a(\varepsilon)$ es la densidad de estados proyectada sobre el orbital molecular $|a\rangle$, caracterizada por un ancho a media altura de γ .

A partir del modelo descrito y de las ecuaciones (1-5) puede observarse que la sección eficaz Raman (ecuación 3) depende principalmente de los siguientes tres factores: i) la magnitud con la cuál un determinado modo vibracional modula los estados electrónicos, dado por $\varepsilon'_a(0)$; ii) los términos resonantes que involucran el láser y los fotones dispersados y las transiciones entre los niveles electrónicos moleculares y metálicos, dados por la función $G(\omega, \omega')$ y iii) la distancia efectiva d entre la molécula y el plano imagen del metal. Este último término es consecuencia de la energía adicional requerida para transferir un electrón de la molécula al metal (o viceversa) dada la variación de cargas generadas en la superficie del metal.

Llegado este punto entonces trataremos de evaluar cuantitativamente el efecto “químico” de nuestro sistema experimental [PyS(Au+xAg)] a partir del modelo teórico de Persson. Para esto, se realizaron cálculos mediante teoría funcional de las densidades (DFT) de: los estados electrónicos del sistema, la estructura de la molécula sobre cada una de las superficies y las energías vibracionales para cada uno de los casos estudiados (Au, Au+1Ag, Au+10Ag y Au+100Ag). A partir de estos parámetros será posible evaluar la sección eficaz Raman (ecuación 3) para cada sistema y de esta forma compararlos con los obtenidos experimentalmente.

6.8 Cálculos teóricos de la respuesta SERS: evaluación de los parámetros del modelo de Persson para el efecto “químico”.

Los cálculos sobre los parámetros involucrados en el modelo de Persson fueron realizados por la Dra. Pilar Carro (Universidad de La Laguna, España) y los Dres. Alexander Hernández-Nieves, Gonzalo Usaj y Carlos Balseiro (Instituto Balseiro-CAB, Bariloche). En todos los casos se utilizaron superficies metálicas sin reconstruir de orientación preferencial (111) con las moléculas de PyS en configuración $\sqrt{3} \times \sqrt{3} R30^\circ$ y con condiciones de contorno periódicas. Como señalamos en el Capítulo 4, la adsorción de PyS en sustratos de Au(111) no induce reconstrucción de la superficie tal como si ocurre para otros tioles sobre las superficies de Au(111) y Ag(111).⁵⁹⁻
⁶³ Esta red ha sido utilizada recientemente en el modelado del comportamiento de PyS en otros sistemas bimetalicos (Pd-Au).⁶⁴ La configuración de la molécula, en cada uno de los casos, se determinó mediante cálculos de optimización de la energía. En el caso de los sustratos de Au, la configuración más estable es la adsorción en un sitio “bridge” (levemente corrida hacia un sitio fcc) y con un ángulo de inclinación de 27° (respecto de la normal al sustrato). En el caso de los sustratos de Ag UPD y OPD la molécula adquiere una posición vertical y adsorbida en sitios fcc. Estos resultados se resumen en la Tabla 6.1.

Sustrato	Vertical-fcc	Inclinada-bridge
Au	-1.35	-1.41
Au+1Ag	-1.87	-1.78
Ag	-1.70	-1.62

Tabla 6.1. Energías de adsorción (eV) para SAMs de PyS en $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$ R30° ($\theta = 0.33$) sobre sustratos (111) de Au, Au-Ag y Ag. En rojo se indican los valores de energía y de inclinación de las moléculas más favorables.

En la Figura 6.10 se presenta la densidad de estados electrónicos (DOS) en función de la energía, calculada para tres sistemas: Au-PyS (superior), Au+1Ag-PyS (medio) y Ag-PyS (inferior). Es importante resaltar que el caso Ag-PyS representa la estructura electrónica de los sustratos Au+10Ag y Au+100Ag, ya que como explicamos anteriormente con 10 capas de Ag la estructura electrónica del Au se encuentra totalmente apantallada (los corrimientos Raman en el espectro de PyS son completamente idénticos en ambos casos, Figura 6.7). El nivel de Fermi está definido como el estado a $E = 0$ eV. En cada uno de los paneles se muestran: la densidad de estados totales (DOS total, azul) y la densidad de estados proyectada para la molécula (DOS de la molécula, verde). Como puede verse hay una variación en la densidad de estados en cada caso producto de los cambios introducidos por la composición de la superficie. De esta forma por ejemplo, las estructuras intensas a baja energía (~ 2 eV para Au y ~ 3 eV para Ag) provienen principalmente de contribuciones de estados electrónicos d de cada uno de los metales y son los responsables del color rojo/amarillo para el caso del Au y blanco para la Ag. Para el caso del Au, tanto en la DOS total como en la parcial de la molécula, hay un pico bien definido centrado en -1.25 eV (indicado con una línea roja) y que corresponde al último orbital molecular ocupado (HOMO). Notablemente, la posición del HOMO se corre a -1.4 eV cuando la molécula se adsorbe sobre el sustrato Au+1Ag y vuelve a correrse a menores energías (-1.3 eV) cuando la molécula se encuentra adsorbida en Ag *bulk*. El corrimiento del HOMO es una fuerte indicación de la perturbación de la estructura electrónica molecular de acuerdo a la estructura electrónica del sustrato. Este resultado permite explicar el corrimiento experimental observado para el máximo de la intensidad Raman en el caso de Ag UPD (Figura 6.9), donde se observa un corrimiento al azul de la resonancia (de 1.8 a 1.9 eV) y nos indica que la transferencia de carga del HOMO al Fermi sería la responsable de la nueva resonancia encontrada en estos sistemas (Figura 6.9). La modificación del HOMO respecto al nivel de Fermi permite explicar la posición de los máximos de la resonancia observados experimentalmente para cada uno de los sistemas estudiados. Sin embargo, debemos mencionar que existe una diferencia de ~ 0.5 eV entre los datos experimentales de la resonancia (Figura 6.9) y los calculados a partir de la DOS (Figura 6.10). Dicha diferencia podría atribuirse a las aproximaciones realizadas en el cálculo (utilizar superficies (111), la red de

PyS utilizada, etc). Similares diferencias de energía (entre teoría y experimentos) han sido encontradas para otras SAMs sobre superficies metálicas.⁶⁵

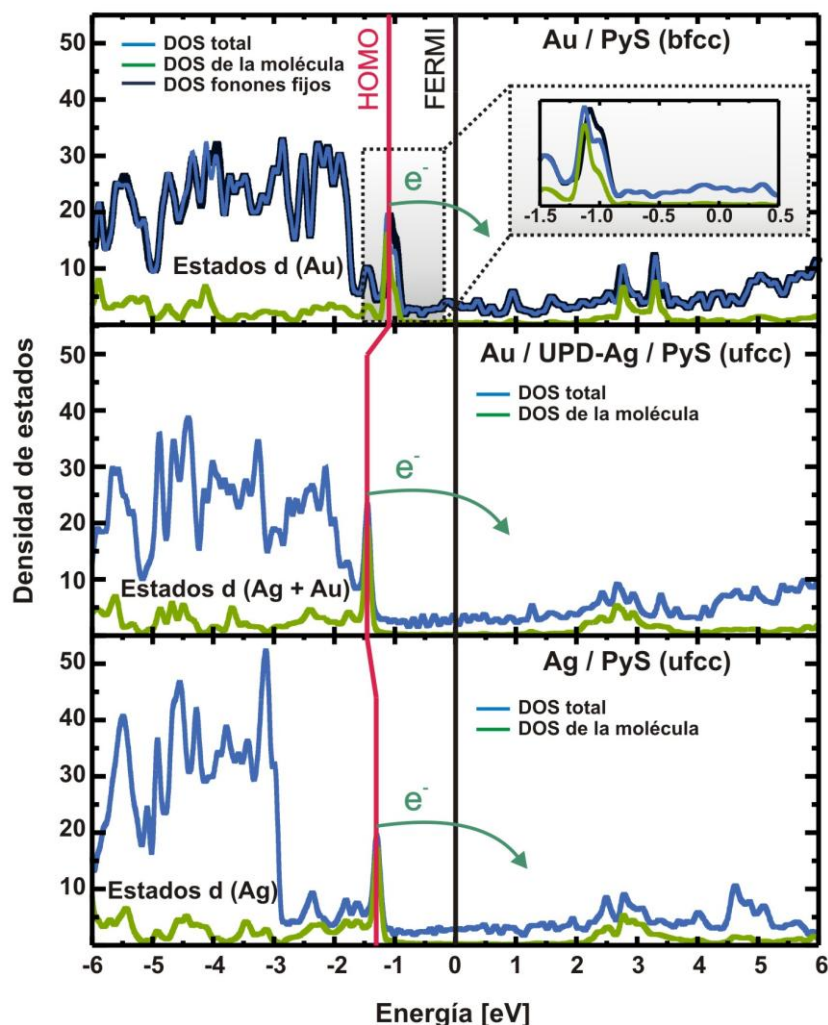


Figura 6.10. Cálculos ab initio de la densidad de estados (DOS) de moléculas de PyS adsorbidas sobre distintas superficies metálicas (111): Au (superior), Au+1Ag (central) y Ag (inferior). En el caso del Au la molécula se encuentra adsorbida en un sitio bridge e inclinada 27° mientras que en los otros dos casos se encuentra en posición vertical. La línea azul representa la densidad de estados total y la verde la densidad de estados proyectada sobre los estados moleculares. La línea roja muestra la posición del estado molecular HOMO en cada uno de los casos. Las flechas representan la transición electrónica de la molécula al metal. En el inset se muestra el corrimiento del HOMO (línea negra) a partir de un cálculo de fonones del sistema.

Por último, también observamos en la DOS total y parcial un grupo de estados centrados entre 2.5 y 3 eV que pueden ser asignados al primer orbital molecular desocupado (LUMO). Las transiciones de carga HOMO-LUMO y metal-LUMO también podrían ser responsables de la resonancia Raman observada experimentalmente. Sin embargo, los valores de energías para dichas transiciones ($E_{\text{HOMO}} - E_{\text{LUMO}} \geq 3.5$ eV y $E_{\text{Fermi}} - E_{\text{LUMO}} \geq 2.5$ eV) se encuentran muy por encima de los valores experimentales (más aún si se tiene en cuenta que los cálculos ab-initio subestiman los valores de energía de los estados excitados).

En la Tabla 2 se comparan las frecuencias vibracionales (experimentales y teóricas) de PyS adsorbida. En el panel superior se presentan las frecuencias medidas para cada uno de los casos estudiados: Au, Au+1Ag, Au+10Ag y Au+100Ag. Como ya vimos en la Figura 6.7 se observa un endurecimiento de los modos vibracionales cuando pasamos de Au a Au+1Ag y luego un ablandamiento de los mismos al pasar a Au+10Ag y Au+100Ag. En el panel inferior de la Tabla 2 se presentan los modos vibracionales encontrados en el cálculo ab-initio para la molécula libre y adsorbida sobre Au. La discrepancia entre los resultados teóricos y experimentales es de ~2%. Es importante notar que pese a la muy buena correlación entre las frecuencias calculadas y medidas (para el caso del Au), los corrimientos observados al pasar de un sustrato a otro se encuentran también en torno al ~2% y es por eso que no se realizó un cálculo ab initio de las frecuencias para los otros sustratos (ya que los corrimientos son del orden del error). En el panel inferior de la tabla se muestran las figuras que dan cuenta del desplazamiento atómico para cada uno de los modos vibracionales presentes en la PyS libre.

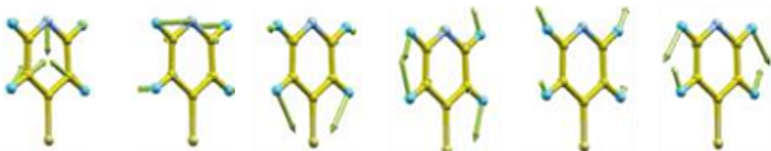
	Muestra	Hombro	Banda muy Intensa	Banda	Banda Intensa	Banda muy intensa	Banda	Banda
Exp	Au	987	1005	-	1065	1098.5	-	1212
	Au+1Ag	988	1010	1042	1067	1101	1205	1217
	Au+10Ag	984	1009	1042	1066	1099.5	1203	1215
	Au+100Ag	983	1008	1042	1064.5	1098	1201.5	1216
Calc	Au(bfcc)	978	992	1059	1071	1076	-	1215
	PyS libre	967	971	1049	1068	1079	1202	-
	PyS libre							

Tabla 6.2. Panel superior (Exp): frecuencias medidas (en cm^{-1}) para cada uno de los sistemas estudiados con cantidades variables de Ag. Panel inferior (Calc): modos vibracionales calculados para PyS adsorbida en un sitio bridge inclinada sobre Au y para PyS libre. Se presentan también las representaciones de los desplazamientos atómicos correspondientes a cada uno de los modos.

Además de permitir la correcta asignación de los modos vibracionales observados, los cálculos e identificación de frecuencias presentados en la Tabla 2 resultan importantes para encontrar el orbital molecular más afectado por la vibración molecular (orbital $|a\rangle$ en el modelo de Persson). Estos cálculos involucran la evaluación de la energía total del sistema para una configuración fuera del equilibrio, caracterizada por un desplazamiento de los átomos de acuerdo

a un autovector vibracional. En el inset de la Figura 6.10 se ilustra precisamente el cálculo del efecto de las vibraciones sobre la densidad de estados total para el modo vibracional más intenso ($\sim 992 \text{ cm}^{-1}$) presente en el sistema Au-PyS. El cambio más importante en la DOS se encuentra en el orbital HOMO, que se corre 0.05 eV hacia mayores energías (Figura 6.10, inset). Este resultado muestra cuales son los niveles electrónicos que se ven más fuertemente modificados por los estados vibracionales y por lo tanto son los que más contribuyen al término $\varepsilon'_a(0)$ presente en la ecuación 3. En base a los cálculos ab initio realizados y a los datos experimentales es posible identificar al estado molecular HOMO como el orbital molecular $|a\rangle$ involucrado en la transferencia de carga molécula a metal en el proceso químico resonante presente en SERS. Esta transición ocurre desde el estado HOMO a un estado por arriba del nivel de Fermi, tal como se indica con flechas en la Figura 6.10 para cada uno de los casos: Au, Au+1Ag y Ag.

Habiendo identificado el orbital molecular descrito en el modelo de Persson pasaremos ahora a evaluar la distancia d (ver ecuación 3) para cada uno de los sustratos estudiados. Para esto integramos en cada caso la DOS de la Figura 6.10 entre las siguientes regiones: -1.6 a -1.0 eV en la región del HOMO y 0.0 a 0.4 eV en la región de los estados metálicos (receptores de la carga). Estos últimos además de participar en el proceso de transferencia de carga son representativos de la densidad de estados local entorno a la energía de Fermi. Esta es una buena aproximación a la respuesta electrostática de la superficie metálica en cada uno de los casos. Como resultado, en la Figura 6.11 se muestra la densidad de carga proyectada sobre los átomos correspondientes para la integración en la región del HOMO (columna izquierda) y de los estados entorno a la energía de Fermi (columna derecha) para el caso de Au-PyS (superior), Au+1Ag-PyS (central) y Ag-PyS (inferior).

A partir de la Figura 6.11 puede observarse que densidad de carga del HOMO está centrada principalmente sobre la PyS, con una pequeña contribución de la superficie metálica. Esta última contribución aparece dado que la DOS total es la suma de las contribuciones moleculares y superficiales. De esta forma por ejemplo, la contribución del Au al HOMO es mayor que la de la Ag, dada la mayor superposición entre los estados metálicos-d del Au y el HOMO (Figura 6.10). Se observa también una mayor densidad de carga en la última capa metálica del Au “*bulk*” comparada con la superficie metálica del resto de los sustratos, consistente con una mayor hibridización de la molécula con los átomos superficiales de Au. Por otro lado, los estados entorno a la energía de Fermi están mayormente localizados sobre los átomos del sustrato, incluso cuando una hibridización con el átomo de S de PyS está presente. Sin embargo, el resultado más notable es la ausencia de densidad de carga en los átomos de Ag UPD (capa superficial) para el sistema Au+1Ag, tal como se observa en la Figura 6.11 (panel central derecho). Este resultado es también soportado por las electronegatividades de Pauling, siendo 2.3 eV para Au y 1.8 eV para Ag⁶⁶⁻⁶⁷ y por los valores obtenidos a partir de nuestros cálculos ab initio para las funciones trabajo

de cada sustrato (en ausencia de PyS): Au(111) 5.23 eV, Au(111)/Ag(UPD) 5.24 eV y Ag(111) 4.54 eV. La ausencia de carga en la capa superficial de Ag UPD resulta en un incremento de la distancia d (corrimiento del plano imagen) respecto de los otros sustratos. En la Figura 6.11 se presenta la distancia efectiva d calculada para cada uno de los casos estudiados. Para hallar dicha distancia se realiza un promedio ponderado por la carga entre los átomos de S y N de la PyS y la última capa metálica de los sustratos de Au y Ag y las dos últimas capas en el caso de Ag(UPD), dado que como señalamos anteriormente la primer capa no tiene prácticamente contribución a la densidad de carga entorno a la energía de Fermi. Como resultado y comparando los valores de distancia efectiva obtenidos para cada uno de los casos, se observa un gran incremento para el caso de Au+1Ag comparado con los sustratos de Au y Ag *bulk*. A partir de la ecuación 3 del modelo de Persson se observa que la sección eficaz Raman depende de d^4 y por lo tanto es esperable un gran incremento en la intensidad del espectro SERS para el caso de Au+1Ag.

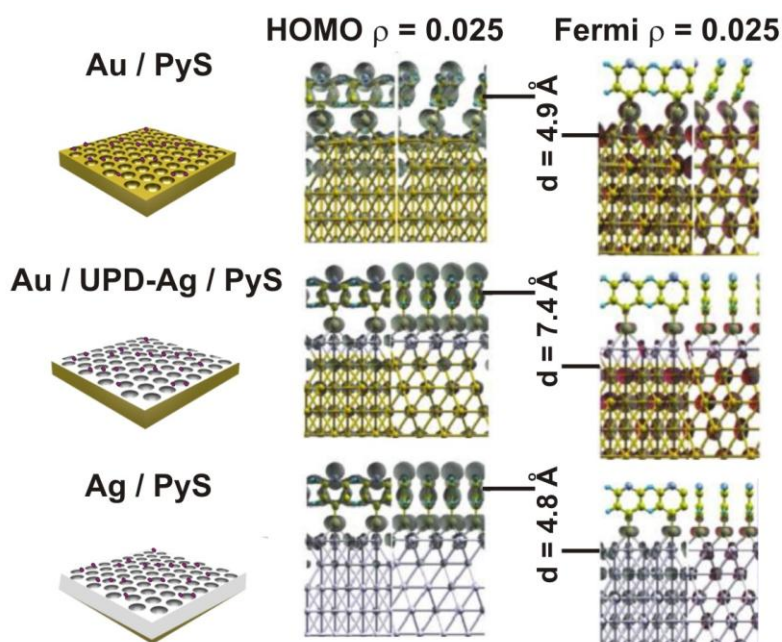


Figura 6.11. Densidad de carga proyectada sobre tres de los sistemas estudiados: Au-PyS (superior), Ag+1Ag-PyS (central) y Ag-PyS (inferior). En la columna izquierda se presenta dicha proyección correspondiente al estado HOMO y producto de la integración de la DOS (Figura 6.10) entre los valores de energía de -1.6 a -1.0 eV. En la columna derecha se presenta la proyección de densidad de carga sobre los estados cercanos a la energía de Fermi como consecuencia de la integración de la DOS entre 0.0 y 0.4 eV. En la columna central se presenta la distancia efectiva d calculada para cada uno de los sistemas en base a los resultados del cálculo ab initio.

Como conclusión, a partir de los datos obtenidos mediante el cálculo ab initio para los modelos superficiales planteados, es posible determinar la relevancia de cada uno los parámetros presentes en la ecuación 3 para la sección eficaz Raman en el modelo de transferencia de carga

molécula-metal y de esta forma tratar de explicar el fenómeno observado al depositar cantidades variables de Ag sobre las nanocavidades de Au. Del análisis realizado podemos inferir que: i) la función $G(\omega, \omega')$ tiene una contribución importante en cada uno de los casos dada la transición HOMO-Fermi encontrada, ii) la distancia efectiva d también es una variable relevante dada la ausencia de densidad de carga en el caso de Ag(UPD) y iii) no hemos encontrado evidencia de que el parámetro $\varepsilon'_a(0)$ sufra una variación importante entre los distintos sustratos encontrados. Este último factor además resulta ser el más sensible al modelo superficial planteado. Por lo antes mencionado es que podemos modelar la sección eficaz Raman como:

$$\sigma(\Omega) \propto \left| \omega'^2 d^2 G(\omega, \omega') \right|^2 \quad (6)$$

A partir de los parámetros encontrados ($\rho_a(\varepsilon)$ y d) en la Figuras 6.10 y 6.11 es posible representar la ecuación 6 en función de ω (Figura 6.12) para cada uno de los casos estudiados: Au-PyS (verde), Au+1Ag-PyS (rojo) y Ag-PyS (azul). Como resaltamos anteriormente, este último caso (Ag-PyS) pretende modelar la contribución química en dos de los sistemas experimentales (Au+10Ag y Au+100Ag). En el caso de 100 capas de Ag existe una contribución adicional (de tipo electromagnética, no incluida en este cálculo) dada la presencia de plasmones de Ag *bulk*. Podemos comparar entonces la contribución química calculada a partir del modelo de Persson con los datos experimentales obtenidos para estos sistemas (Figura 6.9). Como mencionamos anteriormente esto es posible dado que en el rango de energías estudiadas (y para la altura de cavidad $h = 0.6$) no hay prácticamente efectos plasmónicos resonantes, con lo cual es posible separar el efecto electromagnético del químico. Por este mismo motivo compararemos los cálculos del sistema Ag-PyS con los datos experimentales del sistema Au+10Ag-PyS (ya que en el caso de 100 capas hay un efecto plasmónico adicional).

Como puede verse en la Figura 6.12 el modelo teórico de Persson de transferencia de carga resonante entre la molécula y la superficie metálica reproduce notablemente bien la relación de intensidades y el corrimiento de la resonancia encontrados experimentalmente. Como mencionamos anteriormente la discrepancia en la posición exacta de la resonancia puede estar relacionada al modelado superficial en cada uno de los casos (redes utilizadas, orientación (111) de las superficies, etc.) lo que influye en la posición exacta del HOMO en la DOS. Sin embargo, estos resultados son una clara evidencia de la aplicación del modelo de Persson para la amplificación química en SERS en el sistema estudiado a partir de un modelo microscópico de transferencia de carga HOMO-Fermi evidenciado por la aparición de una nueva resonancia óptica en el sistema. Estos resultados sugieren que el depósito de Ag(UPD) podría ser una forma sencilla y efectiva de amplificar (químicamente) señales Raman en sustratos SERS activos de Au, que tal como mencionamos en la introducción de este capítulo son más sencillos de fabricar. Además,

como también hemos demostrado la capa metálica de Ag es fácil de remover y renovar. A pesar de que los resultados aquí mostrados fueron obtenidos utilizando PyS como molécula sonda, este fenómeno podría generalizarse a un grupo más grande de moléculas.

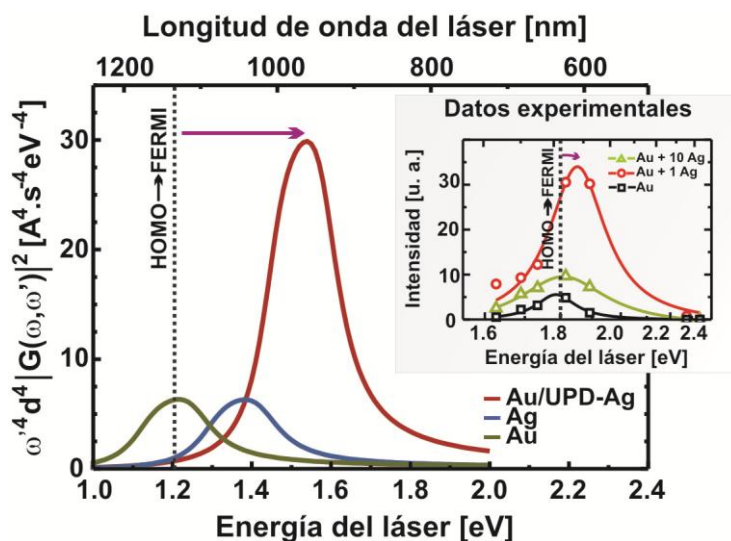


Figura 6.12. Efecto químico “teórico” calculado a partir del modelo de Persson. $|\omega'^2 d^2 G(\omega, \omega')|^2$ en función de ω para cada uno de los sistemas: Au-PyS (verde), Au+1Ag-PyS (roja) y Ag-PyS (azul). Inset: valores experimentales de intensidad del espectro Raman de PyS utilizando como sustratos: Au (negra), Au+1Ag (roja) y Au+10Ag (verde).

6.9 Conclusiones.

En este Capítulo se presenta una alternativa sencilla para la fabricación de plataformas SERS activas mediante el electrodeposición controlada de Ag sobre sustratos de Au que presentan patrones periódicos de nanocavidades con excelente estabilidad estructural y química. Estas plataformas pueden reutilizarse mediante sucesivos ciclos de electrodeposición/remoción de las capas de Ag.

Los sustratos modificados presentan un aumento considerable (de hasta 50 veces) de las señales SERS de PyS, utilizada como molécula sonda. El depósito controlado de 1 a 100 capas de Ag mediante UPD y OPD origina en todos los casos un aumento de la intensidad Raman en la región roja del espectro con un aumento adicional (de hasta 20 veces) para el caso de una monocapa de Ag. Este último fenómeno fue analizado teóricamente a partir de cálculos ab initio utilizando un modelo microscópico para el mecanismo de amplificación química que involucra una transferencia de carga de la molécula al nivel de Fermi del metal. Este análisis permitió demostrar que un reordenamiento de la densidad de carga electrónica en el sistema Au+1Ag-PyS genera un incremento de la distancia efectiva entre el centro de carga del HOMO y el plano

imagen del metal y que dicho efecto es el responsable de la amplificación adicional de este sustrato. Este efecto desaparece al depositar 10 capas de Ag producto del cambio en la estructura electrónica del sistema y como consecuencia la intensidad del espectro Raman disminuye (comparada con el caso Au+1Ag). El depósito de 100 capas de Ag origina un nuevo aumento de la señal Raman, pero en este caso es producto de la contribución electromagnética de los plasmones tipo Ag *bulk* presentes en estas estructuras.

Finalmente, estos resultados muestran la posibilidad de preparar sustratos SERS activos que combinan la durabilidad y reproducibilidad de los moldes de Au, con los factores de amplificación químico y electromagnético de Ag UPD y OPD, respectivamente.

6.10 Referencias.

- [1] Etchegoin, P.; Maher, R. C.; Cohen, L. F.; Hartigan, H.; Brown, R. J. C.; Milton, M. J. T.; Gallop, J. C., New limits in ultrasensitive trace detection by surface enhanced Raman scattering (SERS). *Chem. Phys. Lett.* **2003**, 375 (1–2), 84-90.
- [2] Freeman, R. G.; Grabar, K. C.; Allison, K. J.; Bright, R. M.; Davis, J. A.; Guthrie, A. P.; Hommer, M. B.; Jackson, M. A.; Smith, P. C.; Walter, D. G.; Natan, M. J., Self-Assembled Metal Colloid Monolayers: An Approach to SERS Substrates. *Science* **1995**, 267 (5204), 1629-1632.
- [3] Kiely, C. J.; Fink, J.; Brust, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J., Spontaneous ordering of bimodal ensembles of nanoscopic gold clusters. *Nature* **1998**, 396 (6710), 444-446.
- [4] Félidj, N.; Aubard, J.; Lévi, G.; Krenn, J. R.; Salerno, M.; Schider, G.; Lamprecht, B.; Leitner, A.; Aussenegg, F. R., Controlling the optical response of regular arrays of gold particles for surface-enhanced Raman scattering. *Phys. Rev. B* **2002**, 65 (7), 075419.
- [5] Jackson, J. B.; Westcott, S. L.; Hirsch, L. R.; West, J. L.; Halas, N. J., Controlling the surface enhanced Raman effect via the nanoshell geometry. *Appl. Phys. Lett.* **2003**, 82 (2), 257-259.
- [6] Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C., The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *J. Phys. Chem. B* **2002**, 107 (3), 668-677.
- [7] Dick, L. A.; McFarland, A. D.; Haynes, C. L.; Van Duyne, R. P., Metal Film over Nanosphere (MFON) Electrodes for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS): Improvements in Surface Nanostructure Stability and Suppression of Irreversible Loss. *J. Phys. Chem. B* **2001**, 106 (4), 853-860.
- [8] Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*. Elsevier: 2008.
- [9] Persson, B. N. J., On the theory of surface-enhanced Raman scattering. *Chem. Phys. Lett.* **1981**, 82 (3), 561-565.
- [10] Moskovits, M., Surface-enhanced spectroscopy. *Reviews of Modern Physics* **1985**, 57 (3), 783-826.

- [11] Otto, A.; Timper, J.; Billmann, J.; Kovacs, G.; Pockrand, I., Surface roughness induced electronic Raman scattering. *Surf. Sci.* **1980**, *92* (1), L55-L57.
- [12] Persson, B. N. J.; Zhao, K.; Zhang, Z., Chemical Contribution to Surface-Enhanced Raman Scattering. *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *96* (20), 207401.
- [13] Otto, A., The ‘chemical’ (electronic) contribution to surface-enhanced Raman scattering. *J. Raman Spectrosc.* **2005**, *36* (6-7), 497-509.
- [14] Maher, R. C.; Cohen, L. F.; Etchegoin, P., Single molecule photo-bleaching observed by surface enhanced resonant Raman scattering (SERRS). *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *352* (5–6), 378-384.
- [15] Tognalli, N.; Fainstein, A.; Calvo, E.; Bonazzola, C.; Pietrasanta, L.; Campoy-Quiles, M.; Etchegoin, P., SERS in PAH-Os and gold nanoparticle self-assembled multilayers. *J. Chem. Phys.* **2005**, *123* (4), 044707-9.
- [16] Perassi, E. M.; Hernandez-Garrido, J. C.; Moreno, M. S.; Encina, E. R.; Coronado, E. A.; Midgley, P. A., Using Highly Accurate 3D Nanometrology to Model the Optical Properties of Highly Irregular Nanoparticles: A Powerful Tool for Rational Design of Plasmonic Devices. *Nano Lett.* **2010**, *10* (6), 2097-2104.
- [17] Bartlett, P. N.; Birkin, P. R.; Ghanem, M. A., Electrochemical deposition of macroporous platinum, palladium and cobalt films using polystyrene latex sphere templates. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* **2000**, (17), 1671-1672.
- [18] Coyle, S.; Netti, M. C.; Baumberg, J. J.; Ghanem, M. A.; Birkin, P. R.; Bartlett, P. N.; Whittaker, D. M., Confined Plasmons in Metallic Nanocavities. *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *87* (17), 176801.
- [19] Kelf, T. A.; Sugawara, Y.; Baumberg, J. J.; Abdelsalam, M.; Bartlett, P. N., Plasmonic Band Gaps and Trapped Plasmons on Nanostructured Metal Surfaces. *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *95* (11), 116802.
- [20] Kelf, T. A.; Sugawara, Y.; Cole, R. M.; Baumberg, J. J.; Abdelsalam, M. E.; Cintra, S.; Mahajan, S.; Russell, A. E.; Bartlett, P. N., Localized and delocalized plasmons in metallic nanovoids. *Phys. Rev. B* **2006**, *74* (24), 245415.
- [21] Cole, R. M.; Baumberg, J. J.; Garcia de Abajo, F. J.; Mahajan, S.; Abdelsalam, M.; Bartlett, P. N., Understanding Plasmons in Nanoscale Voids. *Nano Lett.* **2007**, *7* (7), 2094-2100.
- [22] Teperik, T. V.; Popov, V. V.; García de Abajo, F. J.; Abdelsalam, M.; Bartlett, P. N.; Kelf, T. A.; Sugawara, Y.; Baumberg, J. J., Strong coupling of light to flat metals via a buried nanovoid lattice: the interplay of localized and free plasmons. *Opt. Express* **2006**, *14* (5), 1965-1972.
- [23] Lacharmoise, P. D.; Tognalli, N. G.; Goñi, A. R.; Alonso, M. I.; Fainstein, A.; Cole, R. M.; Baumberg, J. J.; Garcia de Abajo, J.; Bartlett, P. N., Imaging optical near fields at metallic nanoscale voids. *Phys. Rev. B* **2008**, *78* (12), 125410.
- [24] Baumberg, J. J.; Kelf, T. A.; Sugawara, Y.; Cintra, S.; Abdelsalam, M. E.; Bartlett, P. N.; Russell, A. E., Angle-Resolved Surface-Enhanced Raman Scattering on Metallic Nanostructured Plasmonic Crystals. *Nano Lett.* **2005**, *5* (11), 2262-2267.
- [25] Cintra, S.; Abdelsalam, M. E.; Bartlett, P. N.; Baumberg, J. J.; Kelf, T. A.; Sugawara, Y.; Russell, A. E., Sculpted substrates for SERS. *Faraday Discuss.* **2006**, *132*, 191-199.

- [26] Mie, G., Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik* **1908**, 330 (3), 377-445.
- [27] Abdelsalam, M.; Bartlett, P. N.; Russell, A. E.; Baumberg, J. J.; Calvo, E. J.; Tognalli, N. s. G.; Fainstein, A., Quantitative Electrochemical SERS of Flavin at a Structured Silver Surface. *Langmuir* **2008**, 24 (13), 7018-7023.
- [28] Mahajan, S.; Richardson, J.; Brown, T.; Bartlett, P. N., SERS-Melting: A New Method for Discriminating Mutations in DNA Sequences. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130 (46), 15589-15601.
- [29] Johnson, R. P.; Richardson, J. A.; Brown, T.; Bartlett, P. N., A Label-Free, Electrochemical SERS-Based Assay for Detection of DNA Hybridization and Discrimination of Mutations. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134 (34), 14099-14107.
- [30] Johnson, R. P.; Richardson, J. A.; Brown, T.; Bartlett, P. N., Real-Time Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Monitoring of Surface pH during Electrochemical Melting of Double-Stranded DNA. *Langmuir* **2012**, 28 (12), 5464-5470.
- [31] Andrade, G. F. S.; Brolo, A. G.; Temperini, M. L. A., Comparison of SERS Performances of Co and Ni Ultrathin Films over Silver to Electrochemically Activated Co and Ni Electrodes. *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112 (39), 15348-15355.
- [32] Wang, Y.; Song, W.; Ruan, W.; Yang, J.; Zhao, B.; Lombardi, J. R., SERS Spectroscopy Used To Study an Adsorbate on a Nanoscale Thin Film of CuO Coated with Ag. *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113 (19), 8065-8069.
- [33] Ji, N.; Ruan, W.; Wang, C.; Lu, Z.; Zhao, B., Fabrication of Silver Decorated Anodic Aluminum Oxide Substrate and Its Optical Properties on Surface-Enhanced Raman Scattering and Thin Film Interference. *Langmuir* **2009**, 25 (19), 11869-11873.
- [34] Lu, L.; Eychmüller, A., Ordered Macroporous Bimetallic Nanostructures: Design, Characterization, and Applications. *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41 (2), 244-253.
- [35] Feng, J.-J.; Gernert, U.; Sezer, M.; Kuhlmann, U.; Murgida, D. H.; David, C.; Richter, M.; Knorr, A.; Hildebrandt, P.; Weidinger, I. M., Novel Au-Ag Hybrid Device for Electrochemical SE(R)R Spectroscopy in a Wide Potential and Spectral Range. *Nano Lett.* **2008**, 9 (1), 298-303.
- [36] Cui, Y.; Ren, B.; Yao, J.-L.; Gu, R.-A.; Tian, Z.-Q., Synthesis of AgcoreAushell Bimetallic Nanoparticles for Immunoassay Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110 (9), 4002-4006.
- [37] Wang, T.; Hu, X.; Dong, S., A Renewable SERS Substrate Prepared by Cyclic Depositing and Stripping of Silver Shells on Gold Nanoparticle Microtubes. *Small* **2008**, 4 (6), 781-786.
- [38] Driskell, J. D.; Lipert, R. J.; Porter, M. D., Labeled Gold Nanoparticles Immobilized at Smooth Metallic Substrates: Systematic Investigation of Surface Plasmon Resonance and Surface-Enhanced Raman Scattering. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110 (35), 17444-17451.
- [39] Encina, E. R.; Coronado, E. A., Near Field Enhancement in Ag Au Nanospheres Heterodimers. *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115 (32), 15908-15914.
- [40] Seo, K.; Borguet, E., Nanolithographic Write, Read, and Erase via Reversible Nanotemplated Nanostructure Electrodeposition on Alkanethiol-Modified Au(111) in an Aqueous Solution. *Langmuir* **2006**, 22 (4), 1388-1391.

- [41] Bard, A. J.; Faulkner, L. R., *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Wiley: 2000.
- [42] Borissov, D.; Aravinda, C. L.; Freyland, W., Comparative Investigation of Underpotential Deposition of Ag from Aqueous and Ionic Electrolytes: An Electrochemical and In Situ STM Study. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (23), 11606-11615.
- [43] Esplandiu, M. J.; Schneeweiss, M. A.; Kolb, D. M., An insitu scanning tunneling microscopy study of Ag electrodeposition on Au(111). *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1* (20), 4847-4854.
- [44] Rooryck, V.; Reniers, F.; Buess-Herman, C.; Attard, G. A.; Yang, X., The silver upd on gold(111) revisited. *J. Electroanal. Chem.* **2000**, *482* (2), 93-101.
- [45] Ogaki, K.; Itaya, K., In situ scanning tunneling microscopy of underpotential and bulk deposition of silver on gold (111). *Electrochim. Acta* **1995**, *40* (10), 1249-1257.
- [46] Fonticelli, M. H.; Benitez, G.; Carro, P.; Azzaroni, O.; Salvarezza, R. C.; Gonzalez, S.; Torres, D.; Illas, F., Effect of Ag Adatoms on High-Coverage Alkanethiolate Adsorption on Au(111). *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (12), 4557-4563.
- [47] Jennings, G. K.; Laibinis, P. E., Underpotentially Deposited Metal Layers of Silver Provide Enhanced Stability to Self-Assembled Alkanethiol Monolayers on Gold. *Langmuir* **1996**, *12* (26), 6173-6175.
- [48] Leung, L. W. H.; Gosztola, D.; Weaver, M. J., Surface-enhanced Raman scattering from gold electrodes modified by underpotential-deposited silver and copper monolayers: spectral and double-layer comparisons with silver and copper electrodes. *Langmuir* **1987**, *3* (1), 45-52.
- [49] Ingram, J. C.; Pemberton, J. E., Investigation of the quenching of surface enhanced Raman scattering from pyridine on copper and silver electrodes by underpotential deposition of lead. *Langmuir* **1992**, *8* (8), 2040-2048.
- [50] Liu, Y.-C.; Yang, K.-H.; Hsu, T.-C., Enhancements in intensity and thermal stability of Raman spectra based on roughened gold substrates modified by underpotential deposition of silver. *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40* (8), 903-907.
- [51] Miragliotta, J.; Furtak, T. E., Enhanced Raman scattering with one monolayer of silver. *Phys. Rev. B* **1987**, *35* (14), 7382-7391.
- [52] Tognalli, N. Nanoestructuras metálicas para espectroscopia SERS de sistemas biomiméticos y de sensado. Tesis Doctoral, Instituto Balseiro, Bariloche, 2008.
- [53] Michri, A. A.; Pshenichnikov, A. G.; Burshtein, R. K., Determining the actual surface area of smooth gold electrodes. *Elektrokhimiya* **1972**, *8*, 351-352.
- [54] Orendorff, C. J.; Gearheart, L.; Jana, N. R.; Murphy, C. J., Aspect ratio dependence on surface enhanced Raman scattering using silver and gold nanorod substrates. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8* (1), 165-170.
- [55] Fonticelli, M.; Azzaroni, O.; Benítez, G.; Martins, M. E.; Carro, P.; Salvarezza, R. C., Molecular Self-Assembly on Ultrathin Metallic Surfaces: Alkanethiolate Monolayers on Ag(1 × 1)-Au(111). *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108* (6), 1898-1905.

- [56] Azzaroni, O.; Vela, M. E.; Andreasen, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C., Electrodesorption Potentials of Self-Assembled Alkanethiolate Monolayers on Ag(111) and Au(111). An Electrochemical, Scanning Tunneling Microscopy and Density Functional Theory Study. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106* (47), 12267-12273.
- [57] Shegai, T.; Vaskevich, A.; Rubinstein, I.; Haran, G., Raman Spectroelectrochemistry of Molecules within Individual Electromagnetic Hot Spots. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (40), 14390-14398.
- [58] Sánchez-Cortés, S.; García-Ramos, J. V., Surface-Enhanced Raman of 1,5-Dimethylcytosine Adsorbed on a Silver Electrode and Different Metal Colloids: Effect of Charge Transfer Mechanism. *Langmuir* **1999**, *16* (2), 764-770.
- [59] Vericat, C.; Vela, M. E.; Benitez, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C., Self-assembled monolayers of thiols and dithiols on gold: New challenges for a well-known system. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (5), 1805-1834.
- [60] Rissner, F.; Egger, D. A.; Romaner, L.; Heimel, G.; Zojer, E., The Electronic Structure of Mixed Self-Assembled Monolayers. *ACS Nano* **2010**, *4* (11), 6735-6746.
- [61] Yu, M.; Woodruff, D. P.; Bovet, N.; Satterley, C. J.; Lovelock, K.; Jones, R. G.; Dhanak, V., Structure Investigation of Ag(111)($\sqrt{7}\times\sqrt{7}$)R19°-SCH₃ by X-ray Standing Waves: A Case of Thiol-Induced Substrate Reconstruction. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (5), 2164-2170.
- [62] Torres, D.; Carro, P.; Salvarezza, R. C.; Illas, F., Evidence for the Formation of Different Energetically Similar Atomic Structures in Ag(111)-(sqrt[7]x sqrt[7])-R19.1°-CH₃S. *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *97* (22), 226103.
- [63] Yu, M.; Woodruff, D. P.; Satterley, C. J.; Jones, R. G.; Dhanak, V. R., Structure of the Pentylthiolate Self-Assembled Monolayer on Ag(111). *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111* (27), 10040-10048.
- [64] Keith, J. A.; Jacob, T., Theoretical studies of Pd metal deposition on the $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$ 4-mercaptopyridine self-assembled monolayer. *Electrochim. Acta* **2010**, *55* (27), 8258-8262.
- [65] Carro, P.; Corthey, G. n.; Rubert, A. A.; Benitez, G. A.; Fonticelli, M. H.; Salvarezza, R. C., The Complex Thiol-Palladium Interface: A Theoretical and Experimental Study. *Langmuir* **2010**, *26* (18), 14655-14662.
- [66] Kolb, D. M.; Gerischer, H., Further aspects concerning the correlation between underpotential deposition and work function differences. *Surf. Sci.* **1975**, *51* (1), 323-327.
- [67] Gordy, W.; Thomas, W. J. O., Electronegativities of the Elements. *J. Chem. Phys.* **1956**, *24* (2), 439-444.

Capítulo 7

Modulación electroquímica en SERS

7.1 Electroquímica y SERS: antecedentes.

Hasta aquí hemos trabajado sobre la construcción y propiedades de capas moleculares ensambladas sobre superficies planas, nanoestructuradas (ordenadas y/o desordenadas) y nanopartículas. Dichos sistemas pueden acoplarse a métodos de detección eléctricos u ópticos con la finalidad de generar instrumentos de sensado con gran capacidad analítica (detección a nivel de sub-monocapas moleculares). En el presente Capítulo ahondaremos sobre este último concepto a través del acoplamiento de métodos electroquímicos y espectroscópicos (específicamente, voltamperometría cíclica y espectroscopía Raman amplificada por superficies) con el objetivo de aumentar aún más los límites de detección para aplicaciones en sensores.

Electroquímica y SERS son dos técnicas que se encuentran íntimamente relacionadas. De hecho, las primeras evidencias del efecto SERS fueron consecuencia de la fabricación de electrodos de Ag rugosa modificados con piridina.¹⁻³ Desde entonces, diversas técnicas electroquímicas han contribuido a un mayor entendimiento de la interacción electrónica entre las moléculas y los sustratos metálicos SERS activos,⁴⁻⁵ como así también a la fabricación de nuevas plataformas nanoestructuradas (tal como vimos en los Capítulos 4 y 6). En la actualidad la combinación de ambas técnicas ha permitido llevar adelante estudios de sistemas complejos tales como: coadsorción de especies,⁶⁻⁷ sistemas biológicos redox,⁸⁻⁹ corrosión,¹⁰ celdas solares y electrocatálisis,¹¹⁻¹⁴ procesos de transferencia de carga y dinámica de moléculas en superficies,¹⁵⁻¹⁶ conducción molecular,¹⁷⁻¹⁸ entre otros. Las aplicaciones modernas de la electroquímica en conjunto con SERS implican la presencia simultánea del campo electromagnético del láser con potenciales eléctricos y/o corrientes provenientes de electrodos únicos, múltiples o puntas (de

STM y AFM) en distintas condiciones de pH, electrolito, etc. Dada la cantidad de factores y variables que confluyen, el estudio de procesos electroquímicos en la interfaz de sustratos metálicos SERS activos resulta particularmente complejo aunque sumamente relevante en áreas tales como la analítica o la bioanalítica.

A pesar de la gran cantidad de estudios y avances en este campo, es quizás la complejidad de estos sistemas lo que lleva a que hoy en día la combinación de ambas técnicas se encuentre aún en proceso de desarrollo a nivel metodológico y analítico. Es necesario encontrar nuevos métodos y técnicas de análisis que permitan afrontar la complejidad creciente de estos sistemas. Algunos ejemplos de estos avances son: el monitoreo por SERS de especies inestables generadas en el electrodo de trabajo mediante barridos rápidos de potencial,¹⁹ la detección de especies intermediarias en reacciones redox mediante medidas SERS resueltas en el tiempo,²⁰ el mapeo local de corrientes eléctricas mediante resonancia de plasmones superficiales,²¹⁻²² la generación de campos electrostáticos que ayuden a la adsorción/desorción selectiva de cationes/aniones en solución a sustratos SERS activos,⁷ etc. Algunas de estas técnicas no utilizan estrictamente SERS aunque comparten los elementos básicos de la problemática descripta: electroquímica acoplada a una técnica de detección basada en resonancia de plasmones superficiales.

La espectroscopia Raman amplificada por superficies es una herramienta fundamental para el estudio de procesos electroquímicos a niveles de concentración extremadamente bajos (picomolares o menores), los cuales no pueden ser alcanzados por otras técnicas (incluyendo las electroquímicas convencionales). La sensibilidad SERS puede incluso alcanzar niveles de detección de moléculas individuales.²³ Sin embargo, debido a la gran sensibilidad de la técnica, la *congestión espectral* es un problema frecuente en la utilización de SERS como método de detección, tal como ha sido recientemente señalado por diversos autores.²⁴⁻²⁵ Esta problemática es más importante aún cuando se trabaja con matrices complejas, tal como pueden ser los sistemas biológicos u otros, donde la pureza o características espectrales de todos los componentes de la muestra no pueden ser regulados o escogidos a priori.²⁶ En estos casos es frecuente la superposición de picos de distintas especies o la diferencia en algunos casos de órdenes de magnitud en la sección eficaz Raman entre moléculas de la muestra.

En este Capítulo presentamos un desarrollo metodológico, mediante la combinación de electroquímica y SERS, tendiente a resolver algunos de los problemas de congestión espectral antes mencionados. Para ello tomaremos como base de partida las ideas de “modulación óptica”²⁷ utilizando en este caso la posibilidad de “encender/apagar” señales Raman mediante la aplicación de potenciales. Los cambios dramáticos en la intensidad del espectro Raman en los procesos de oxidación/reducción han sido ampliamente estudiados en la literatura. El cambio en las condiciones de resonancia de una misma especie entre su estado oxidado/reducido es la principal consecuencia en el espectro SERS cuando ocurren procesos de transferencia de carga en la interfaz metal-molécula. Este efecto ha sido utilizado como parámetro de detección en nanobiosensado,²⁸ para

testear la permeabilidad de membranas lipídicas o SAMs de tioles,²⁹⁻³⁰ para evaluar la integridad y propiedades redox de proteínas³¹ entre otros. En nuestro caso utilizaremos la modulación electroquímica para inducir fluctuaciones controladas en la intensidad del espectro SERS que permitan discriminar y separar las señales de diversas especies presentes en la muestra. La modulación estará dada entonces por el rango, amplitud y frecuencia seleccionados en el barrido de potencial, mientras que los cambios inducidos en el espectro Raman serán analizados con técnicas de análisis de fluctuaciones: análisis de componentes principales (PCA) y/o transformada de Fourier (FFT). De esta forma, la modulación electroquímica del espectro SERS y la discriminación de señales podría significar un avance metodológico en el estudio de sistemas complejos de multicomponentes redox activos.

A diferencia de los Capítulos anteriores, donde trabajamos con capas moleculares autoensambladas (quimisorbidas), en este caso estamos interesados en matrices más complejas (que permitan casos de coadsorción de especies). Además prescindiremos de elementos de reconocimiento o química de coordinación (para reconocer o preconcentrar analitos) ya que justamente el objetivo es discriminar señales de un conjunto de moléculas. Como sustrato SERS activo (y electrodo de trabajo) utilizaremos un sustrato de Ag modificado con nanopartículas (NPs) de Ag y una serie de colorantes (fisisorbidos). Presentamos en este Capítulo algunos ejemplos sencillos con el fin de mostrar las posibles aplicaciones de esta técnica.

7.2 Electroquímica y respuesta SERS en función del estado de oxidación de las especies utilizadas. Preparación de las muestras.

Comenzaremos describiendo el electrodo de trabajo (y superficie SERS activa) utilizado en este Capítulo. Como mencionamos anteriormente el mismo consiste en una lámina de Ag sobre la que se depositan NPs de Ag (de $\sim 50 \pm 10$ nm de diámetro). Las mismas fueron sintetizadas de acuerdo al procedimiento de Creighton, et al. (utilizando borohidruro de sodio como agente reductor).³² La finalidad de depositar NPs de Ag sobre el sustrato es la de generar agregados coloidales de las mismas (“clusters”) donde la presencia de intensos plasmones superficiales permiten amplificar las señales Raman varios órdenes de magnitud.³³ Por este motivo, antes de ser depositadas, las NPs son mezcladas con la muestra que se desea analizar y una pequeña cantidad de KCl 20 mM, con la intención de desestabilizarlas y agregarlas (aumentando la fuerza iónica del medio), favoreciendo la formación de clusters. La mezcla es centrifugada durante 10 minutos y evaporada sobre el sustrato de Ag (ver Figura 7.1). Las NPs interactúan mediante fuerzas de van der Waals con el sustrato evitando su desorción una vez que el electrodo se encuentra inmerso en la solución electrolítica. Varias regiones con agregados de NPs de Ag pueden distinguirse utilizando la cámara del microscopio Raman una vez inmerso el electrodo. De esta forma, la muestra a analizar no se encuentra disuelta en la solución sino que la misma es previamente

mezclada con las NPs con la intención de maximizar la probabilidad de que las moléculas de interés se encuentren en regiones de gran amplificación SERS. Nuestro electrodo de trabajo consiste entonces en el sustrato de Ag con las NPs de Ag depositadas formando clusters y las moléculas de interés fisisorbidas en el mismo. De esta forma, coexisten en el electrodo las condiciones bajo las cuales es posible: observar concentraciones moleculares muy bajas (gran amplificación) y realizar electroquímica de las moléculas fisisorbidas. Como electrolito soporte se utilizó buffer fosfato de pH = 6. En la Figura 7.1 se muestra una imagen SEM de las NPs de Ag sobre el sustrato (formando agregados) y la respuesta voltamperométrica típica del mismo (sin la muestra problema).

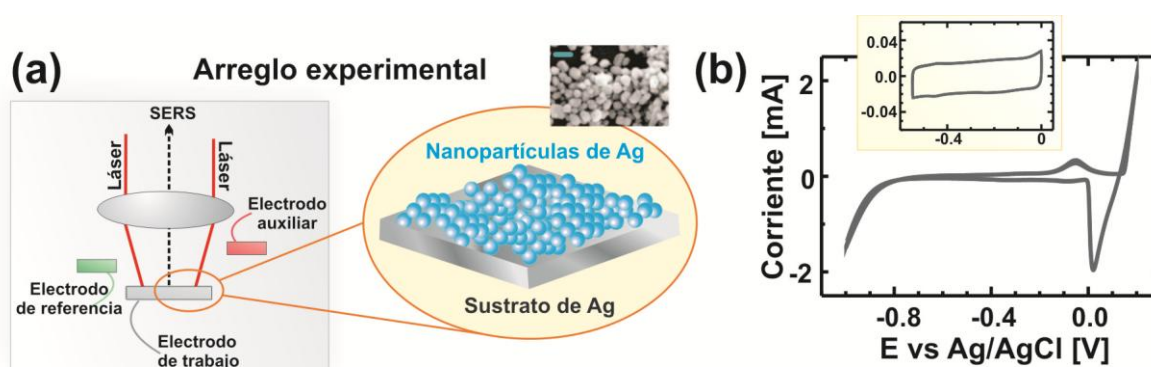


Figura 7.1. a) Arreglo experimental de la celda electroquímica utilizada acoplada al microscopio Raman. Se muestra además un esquema del electrodo de trabajo. En la Figura interna se muestra una imagen SEM de las NPs de Ag utilizadas. La barra de escala celeste (dentro de la imagen) corresponde a 100 nm. b) Voltamperograma del electrodo de trabajo (sin la muestra a analizar) en buffer fosfato pH = 6 a $0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ donde se observa el comportamiento i vs E típico de superficies de Ag. Inset b) Notar la doble capa eléctrica del electrodo de trabajo en la región de potenciales que utilizaremos a continuación.

El arreglo experimental utilizado consiste en una celda electroquímica de tres electrodos especialmente diseñada para ser colocada bajo el objetivo del microscopio Raman (ver esquema del arreglo experimental en la Figura 7.1a). Como electrodo de referencia se utilizó Ag/AgCl (1M Cl) y como electrodo auxiliar una malla de Pt de alta área. Se utilizó un potenciostato con adquisición digital de datos (marca Teq). El electrodo de trabajo se encuentra en el centro de la celda y en la parte superior se encuentra el objetivo del microscopio Raman (microscopio Olympus BX41 acoplado a un espectrómetro LabRam Jobin-Yvon), el cual se focaliza sobre el mismo. En este caso, como estamos interesados en señales “promedio” de la muestra el objetivo utilizado es x10 (diámetro de spot de $10 \mu\text{m}$, apertura numérica 0.2) que permite focalizarnos sobre el sustrato a través de la interface agua/aire. A su vez la celda se encuentra soportada sobre una plataforma motorizada (x-y) lo que permite realizar mapas y exploración del sustrato. Los resultados SERS mostrados en este Capítulo fueron adquiridos utilizando un láser HeNe (633 nm) con una potencia de 3 mW sobre la muestra.

Para una mejor comprensión de los ejemplos de modulación electroquímica del espectro SERS comenzaremos mostrando los voltamperogramas y espectros Raman de las moléculas por separado. A lo largo de los ejemplos que describiremos en este Capítulo se utilizan tres colorantes: azul del nilo (NB), rodamina 6G (RH6G) y cristal violeta (CV). En la Figura 7.2 se muestran los voltamperogramas (adquiridos en la celda electroquímica y utilizando el electrodo de trabajo previamente descritos) y las fórmulas moleculares de los colorantes.

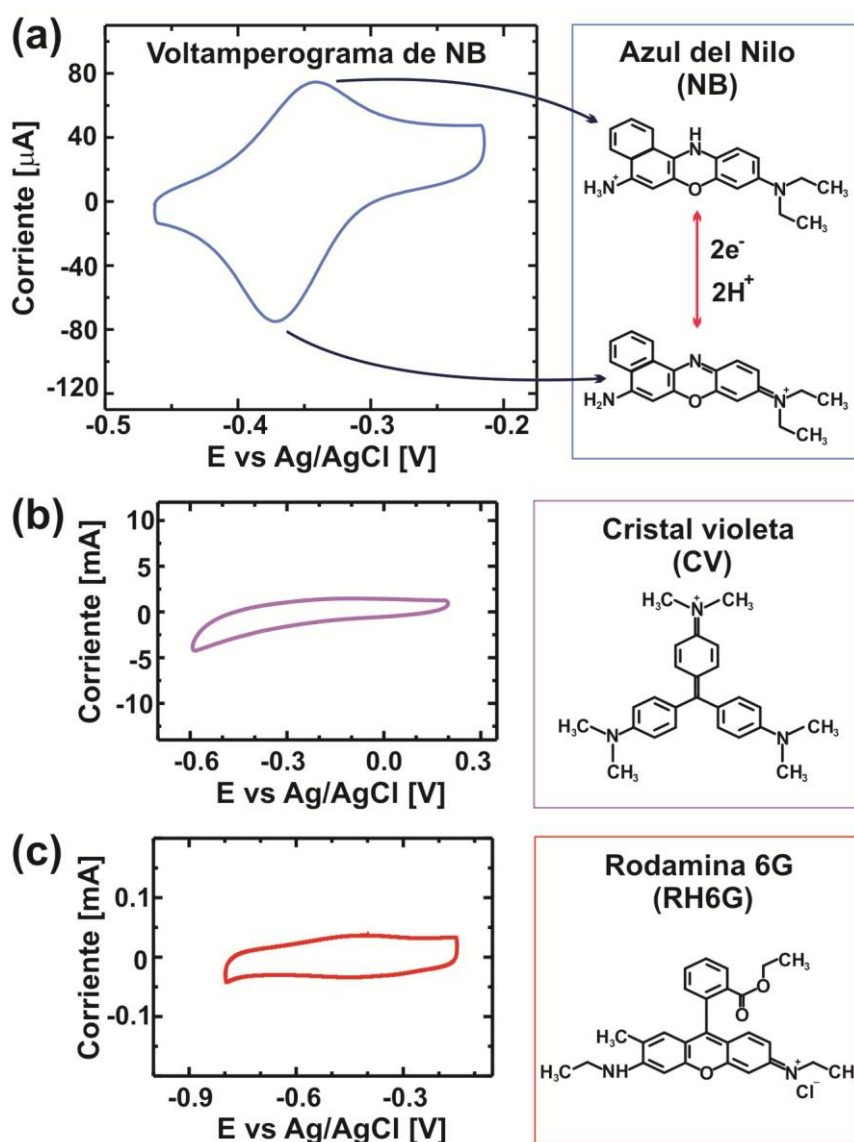


Figura 7.2. Voltamperogramas y fórmulas moleculares de a) Azul del Nilo (NB), b) Cristal violeta (CV) y c) Rodamina 6G (RH6G). Las medidas electroquímicas fueron realizadas en la celda electroquímica y electrodo de trabajo descritos en la Figura 7.1 utilizando buffer fosfato pH = 6 como electrolito soporte y a una velocidad de barrido de $0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$,

En cuanto a su respuesta SERS, en la Figura 7.3 se presentan los espectros típicos adquiridos (a circuito abierto) sobre el electrodo de trabajo para cada una de las moléculas utilizadas.

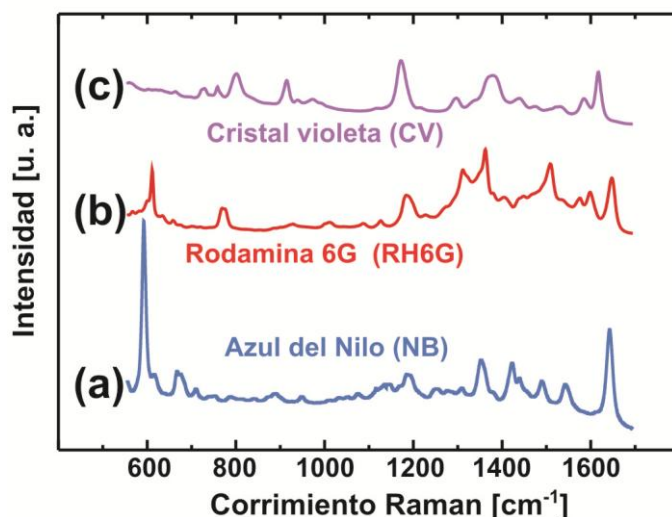


Figura 7.3. Espectros SERS de CV, RH6G y NB a circuito abierto.

En el rango de potenciales que trabajaremos (-0.05 a -0.55 V vs Ag/AgCl) solo NB presenta una cupla redox definida, centrada en -0.35 V (vs Ag/AgCl), Figura 7.2. La respuesta SERS de NB con la aplicación de potenciales (en la región de la cupla redox) ya ha sido estudiada por algunos autores.³⁴⁻³⁸ Brevemente, hay dos mecanismos redox para NB adsorbido en un sustrato de Ag y dependen del pH del electrolito soporte.³⁴ Para valores de $\text{pH} < 6.1$ el espectro SERS de NB en Ag es muy similar al espectro Raman de NB en solución, con lo cual la adsorción de NB ocurriría en forma perpendicular a la superficie del electrodo y en este caso el mecanismo redox que opera es de $2e^-2H^+$. Por otro lado, a valores más altos de pH ($\text{pH} > 6.1$) el espectro Raman de las moléculas de NB adsorbidas difiere considerablemente del de las moléculas libres de NB. Este comportamiento podría deberse a la mayor influencia del sustrato en la estructura electrónica de la molécula, la cual se adsorbería paralelamente al mismo. En este caso, se demostró que el mecanismo redox que opera es de $2e^-1H^+$.³⁴ Bajo nuestras condiciones experimentales ($\text{pH} = 6$) ambos mecanismos redox podrían estar operando simultáneamente. Sin embargo, nosotros verificamos que en nuestra celda electroquímica y en nuestras condiciones de trabajo el espectro de NB adsorbido es prácticamente idéntico al de NB en solución, con lo cual el mecanismo de $2e^-2H^+$ es el principal, con las moléculas de NB representando especies catiónicas tanto en el estado oxidado como en el reducido (Figura 7.2a).

Como mencionamos en la introducción del presente Capítulo, el cambio en la intensidad del espectro Raman entre el estado reducido y oxidado de NB (producto de un cambio en la condiciones de resonancia de la molécula) es la principal diferencia entre ambos estados. Tal como señalamos anteriormente, este comportamiento es observado generalmente para moléculas redox. En la Figura 7.4 se muestran los espectros SERS de NB oxidado y reducido. Se presenta además una rampa de potencial aplicado y la consecuente variación de la intensidad SERS a lo

largo de ese período. Esta variación “modulada” de la intensidad SERS con el potencial aplicado será la herramienta de partida en el método propuesto. Volveremos sobre este punto en la próxima sección. Es importante resaltar que el rango de potenciales utilizados no cruza en ningún momento el potencial de carga cero (pzc) de este electrodo (-0.9 V).³⁹ De esta forma, los fenómenos observados no pueden estar relacionados a procesos de adsorción/desorción producto del cambio de polaridad de la superficie del electrodo, sino que son debidos a procesos de oxido/reducción de las especies presentes. Por otro lado, los procesos de migración de moléculas (impulsados por cambios electrostáticos) ocurren a una velocidad muy baja (lentos) comparada a la utilizada en nuestras experiencias.⁷

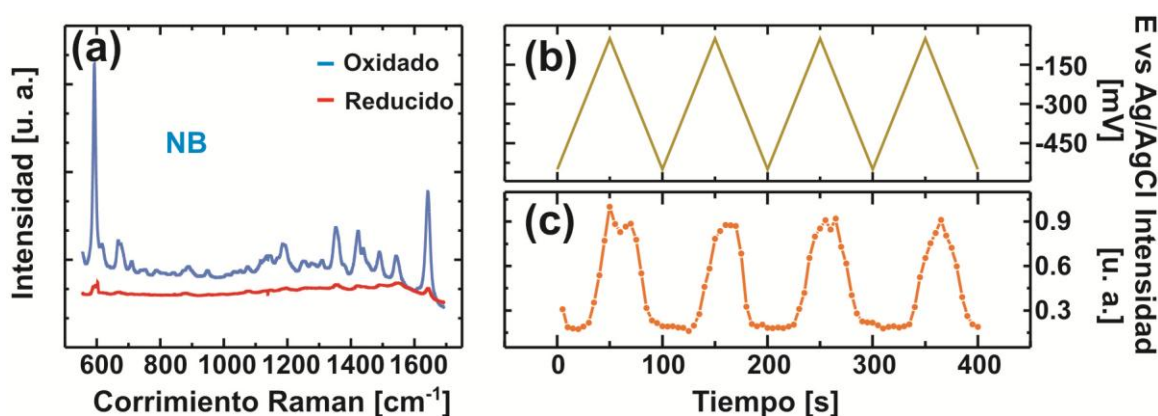


Figura 7.4. a) Espectro SERS de NB en estado oxidado (azul) y reducido (rojo). b) Rampa de potencial aplicado ($v = 0.01 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$) y c) respuesta simultánea de la intensidad SERS de NB.

Respecto de la electroquímica y respuesta SERS de RH6G y CV la información previa es mucho menor que para el caso de NB. En el caso de RH6G, los estudios electroquímicos acoplados con espectroscopia están centrados mayormente en los cambios de la fluorescencia que sufre este colorante.⁴⁰⁻⁴¹ Recientemente ha sido reportado que a potenciales cercanos a -0.45 V (vs Ag/AgCl) la RH6G comenzaría a reducirse.⁶ Para la ventana de potenciales que utilizaremos a lo largo de este trabajo, los cambios en la intensidad del espectro SERS de RH6G son prácticamente imperceptibles (menores a 5%).

En el caso de CV ocurre algo diferente. En primer lugar no hay procesos redox acoplados en la ventana de potenciales que utilizaremos (tal como se ve en la Figura 7.2). Sin embargo, en los estudios SERS de CV en esta región de potenciales, se observa la presencia de una transferencia de carga parcial que modifica levemente las intensidades relativas de algunas bandas del espectro.⁴²⁻⁴⁴ Nuevamente al igual que en RH6G, el cambio en el espectro SERS en función del potencial de CV es sutil comparado con el dramático cambio de intensidades de NB.

En las secciones siguientes utilizaremos toda esta información para ejemplificar el método de modulación electroquímica del espectro SERS para discriminar señales.

7.3 Análisis de componentes principales (PCA) y transformada de Fourier (FFT).

El método de análisis de componentes principales (PCA) es una técnica estadística utilizada generalmente para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos que además permite encontrar (a través de un análisis de fluctuaciones) las principales causas de variabilidad entre los mismos y ordenarlas según su importancia. La principal ventaja del método reside en que al disminuir la dimensión de la matriz inicial de datos cobran particular relevancia aquellas características que más contribuyen a la *varianza* del conjunto. Dichas características conforman los *componentes principales*. Para hallar dichos componentes se realiza una transformación lineal del conjunto de datos en un nuevo sistema de coordenadas en el cual se ubican en el primer eje la mayor varianza del sistema, la siguiente en el segundo y así sucesivamente.⁴⁵⁻⁴⁶ De esta forma, al tratarse de un problema de descomposición lineal, el conjunto de datos puede ser expresado finalmente (sin pérdida de información relevante) como una combinación lineal de los autovectores de la matriz de covarianza (que preserva las características o componentes principales del conjunto inicial).

Hoy en día PCA es una herramienta ampliamente utilizada en el análisis quimiométrico de datos. Varias técnicas analíticas utilizan este método para procesar y analizar información. En este Capítulo utilizaremos PCA para analizar las fluctuaciones del espectro SERS en función del potencial y de esa forma separar, mediante los distintos autovectores de la matriz de covarianza, los componentes principales (espectros) de la muestra. Otros detalles necesarios para la comprensión del método propuesto (rotación de autovectores, etc) serán oportunamente explicados en las próximas secciones con los ejemplos experimentales. Una descripción matemática de las transformaciones lineales de PCA puede encontrarse en el Apéndice B.

Por otro lado, la transformada de Fourier (FT) es básicamente el espectro de frecuencias de una función; es decir que se trata de una aplicación que genera una función $g(\xi)$ a partir de otra función original $f(x)$ de la siguiente forma:

$$g(\xi) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) e^{-i\xi x} dx \quad (1)$$

donde las variables ξ y x dependen de la aplicación en particular (espacio, frecuencia, etc). En procesamiento de señales la transformada de Fourier suele considerarse como la descomposición de una señal en componentes de frecuencias diferentes: $g(\xi)$ corresponde al espectro de frecuencias de la señal $f(x)$. Hoy en día, diversas áreas tales como física, electrónica, estadística, entre otras, utilizan la FT. En nuestro caso utilizaremos la transformada de Fourier “rápida” (FFT) que es un algoritmo que permite computar sencillamente y de forma veloz la transformada de

Fourier discreta y su inversa, pero el principio matemático y significado es el mismo que para la FT.⁴⁷

En las próximas secciones discutiremos la implementación de estos métodos de análisis a la modulación electroquímica del espectro SERS. Como veremos, el procesamiento de datos se hará con PCA y en los casos en que el ruido sea del orden de las fluctuaciones se agregará un prefiltrado de FFT.

7.4 Modulación electroquímica en SERS. Caso a) NB y RH6G.

Consideremos en primer término una mezcla de NB (20 nM) y RH6G (40 nM). Realizaremos 20 barridos consecutivos de voltamperometría cíclica en un rango de potenciales de -0.05 a -0.55 V a $0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ (siendo 20 segundos la duración total de cada ciclo voltamperométrico). Utilizaremos tiempos de integración de la señal SERS de 1 segundo, de manera de poder seguir la dinámica del proceso. De esta forma, el rango de potenciales aplicados y período (velocidad de barrido) son variables que pueden ser modificadas dependiendo la muestra. Tal como se observa en la Figura 7.2, en esta ventana de potenciales las moléculas de NB son reducidas y oxidadas mientras que las de RH6G comenzarían a reducirse a potenciales cercanos a -0.45 V. La Figura 7.5a muestra el promedio de los 400 espectros SERS de la mezcla, adquiridos durante los 20 ciclos de modulación electroquímica. En el recuadro se resalta la presencia de los picos característicos de NB y RH6G a $\sim 590 \text{ cm}^{-1}$ y $\sim 610 \text{ cm}^{-1}$, respectivamente (ver Figura 7.3). En este primer ejemplo, las señales de ambas especies coadsorbidas son claramente visibles y presentan, en alguna región del espectro, algún grado de solapamiento (como los picos centrados a 1645 cm^{-1} de NB y 1650 cm^{-1} de RH6G).

Comenzaremos el análisis basándonos en la región espectral en torno a $\sim 600 \text{ cm}^{-1}$ (ver recuadro en la Figura 7.5a). La aplicación de PCA a esta región permite identificar rápidamente la presencia de dos componentes principales que están siendo moduladas (autovectores de la Figura 7.5b). Como se explicó anteriormente, dado que PCA es una técnica de descomposición lineal, los resultados del análisis (autovectores) son por lo general una combinación lineal de la respuesta real del sistema. Este hecho puede apreciarse mejor en el autovector rojo de la Figura 7.5b, donde hay una pequeña contribución del mismo en la región donde el autovector azul tiene su máximo. Para pasar de los autovectores “originales” a los “reales” (que representan la contribución individual de NB y RH6G al espectro) es necesario realizar una transformación lineal de los mismos (lo llamaremos rotación, ver Apéndice B para mayores detalles). Esta transformación ya ha sido utilizada en la aplicación de PCA a medidas de SERS.⁴⁸ Los autovectores rotados (Figura 7.5c) representan las contribuciones individuales de NB y RH6G al espectro. Una vez conocidos los autovectores rotados (V_1 y V_2) se puede realizar una descomposición lineal sobre cada uno de los 400 espectros (I_t) de la serie temporal ($t = 1, 2, 3, \dots, 400$) de manera de poder encontrar para

cada I_t cuál es la contribución de V_1 y V_2 . De esta forma cada espectro de la serie temporal puede ahora representarse como $I_t = C_1V_1 + C_2V_2$ donde C_1 y C_2 son los coeficientes que representan la contribución de NB y RH6G a cada espectro individual. En la Figura 7.5d se muestra la variación de los coeficientes C_1 (NB) y C_2 (RH6G) a lo largo de t (para la ventana espectral analizada) y la Figura 7.5e se amplía una de las regiones para una mejor visualización. De estas dos últimas Figuras se desprende como las dos especies están siendo moduladas de forma independiente de acuerdo a sus propias propiedades redox. Las moléculas de NB presentan un perfil de variación de la señal SERS como la mostrada en la Figura 7.4 para el caso de NB “puro”, mientras que las pequeñas variaciones de la intensidad SERS de RH6G pueden atribuirse al comienzo de la reducción de las mismas a $E \approx -0.45$ V, las cuales son prácticamente imperceptibles cuando se analiza el espectro modulado de RH6G “puro”. La escala temporal utilizada puede ser fácilmente transformada a potenciales aplicados (a $t = 0$ tenemos $E = -0.55$ V y la velocidad de barrido es de 0.05 V.s⁻¹). Los coeficientes de las Figuras 7.5d y e se encuentran en unidades arbitrarias (u.a.) ya que la intensidad Raman (que les dio origen) está también medida en u.a. Sin embargo la importancia reside en sus valores relativos, ya que representan las contribuciones individuales de cada especie para cada t al espectro total. Otro hecho que también se observa a partir de la evolución de los coeficientes en el tiempo es la disminución progresiva de los mismos; esto podría estar relacionado a la destrucción de las moléculas debido a la energía del láser incidente (photobleaching). Este es un problema general en SERS y es la causa principal por la cual no es posible obtener un número ilimitado de espectros. Como veremos más adelante este puede ser un inconveniente importante al momento de analizar otro tipo de muestras.

A partir de la Figura 7.5 podemos concluir que: la combinación de modulación electroquímica y PCA permite independizar y separar las señales de las dos especies y de esta forma resolver este caso sencillo de congestión espectral. Por otro lado es posible también a partir de la variación de los coeficientes identificar los rangos de potencial donde las distintas especies están siendo moduladas. Esto puede ser evidenciado en el “desfasaje” de los coeficientes producto de la electroquímica particular de cada una de las especies.

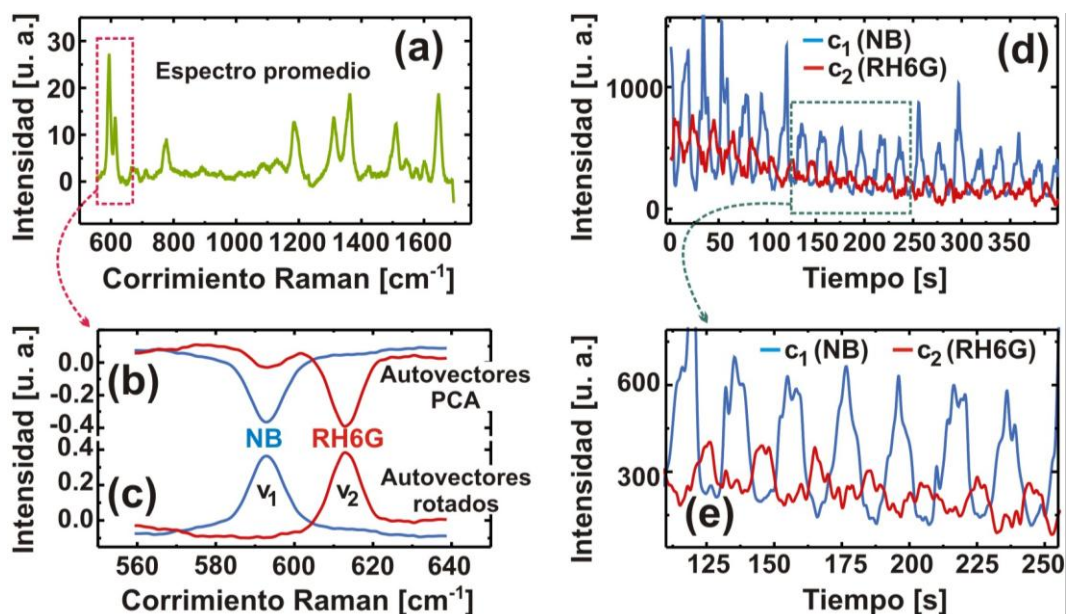


Figura 7.5. a) Espectro SERS promedio de la mezcla NB (20 nM) y RH6G (40 nM) modulada electroquímicamente entre -0.05 y -0.55 V (vs Ag/AgCl) a $v = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ en buffer fosfato pH = 6. Se remarca la región espectral en torno a 600 cm^{-1} que contiene los picos a 590 cm^{-1} de NB y 610 cm^{-1} de RH6G. b) Autovectores (azul de NB y rojo de RH6G) obtenidos en el análisis de PCA de la región espectral de 600 cm^{-1} . c) Autovectores rotados V_1 (NB) y V_2 (RH6G) que representan la contribución individual de cada una de las especies al espectro total. d) y e) Coeficientes que describen mediante una combinación lineal de V_1 y V_2 la contribución de cada especie a cada uno de los espectros de la serie temporal.

Pasamos ahora a un caso más complejo que implica el análisis de todo el espectro SERS de la mezcla (no solo una región como en el caso anterior). Al ampliar la región espectral surge un nuevo problema que podría interferir en el análisis de PCA y es la variación en la línea de base de los espectros (background). Dichas modificaciones pueden tener variados orígenes y son un problema habitual en SERS.⁴⁹ En nuestro caso nos concentraremos solo en las señales Raman y por lo tanto sustraeremos las líneas de base mediante el programa de libre acceso COBRA.⁵⁰ En la Figura 7.6 se presenta un análisis de iguales características al realizado anteriormente pero para todo el espectro SERS de la mezcla NB y RH6G (Figura 7.6a). Una vez rotados, los autovectores V_1 y V_2 logran recuperar el espectro completo de cada una de las moléculas presentes en la muestra (Figura 7.6c).

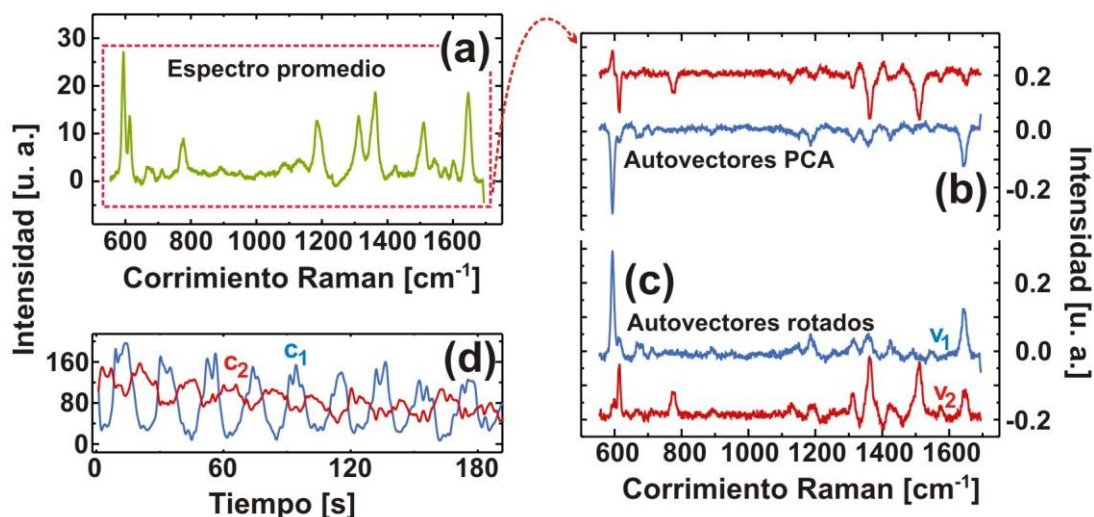


Figura 7.6. a) Espectro SERS promedio de la mezcla NB (20 nM) y RH6G (40 nM) modulada electroquímicamente entre -0.05 y -0.55 V (vs Ag/AgCl) a $v = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ en buffer fosfato pH = 6. Se remarca la región espectral que será analizada con PCA. b) Autovectores (azul de NB y rojo de RH6G) obtenidos en el análisis de PCA. c) Autovectores rotados V_1 (NB) y V_2 (RH6G) que muestran el espectro SERS completo de cada una de las sustancias presentes en la muestra. d) Coeficientes que describen mediante una combinación lineal de V_1 y V_2 la contribución de cada especie a cada uno de los espectros (de la mezcla) en la serie temporal.

Para verificar la efectividad del método de modulación electroquímica en la separación de los espectros SERS completos de NB y RH6G, en la Figura 7.7 presentamos una ampliación (de la Figura 7.6c) de la región espectral en torno a 1650 cm^{-1} . Como ya anticipamos, en dicha región ambas moléculas presentan un pico relacionado a la vibración de los anillos aromáticos a frecuencias muy similares: 1645 cm^{-1} para NB y 1650 cm^{-1} para RH6G. En el espectro de la mezcla la superposición de estos picos es total. Sin embargo, luego de la modulación electroquímica y el análisis de PCA es posible deconvolucionar ambas contribuciones.

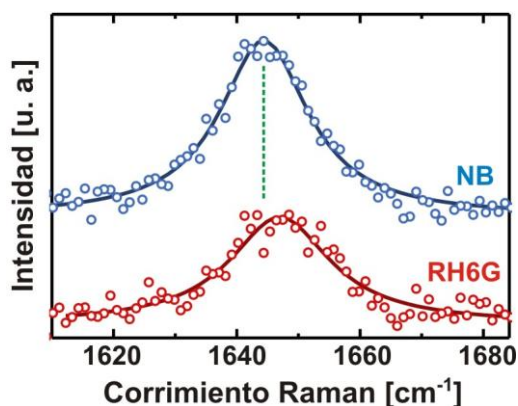


Figura 7.7. Deconvolución de la región espectral en torno a 1650 cm^{-1} . Es posible separar la contribución de cada una de las especies incluso en regiones de superposición total de picos.

Hasta aquí presentamos los resultados para un caso sencillo de congestión espectral donde ambos componentes tienen una contribución comparable a la intensidad del espectro SERS de la

mezcla y pueden ser además fácilmente separados a partir de sus fluctuaciones en los ciclos de modulación electroquímica. En la próxima sección abordamos un caso más complejo que implica recobrar las señales de una especie en presencia de otra que domina completamente el espectro SERS.

7.5 Modulación electroquímica en SERS. Caso b) NB y CV.

Consideremos en este caso una mezcla de NB (20 nM) y CV (80 nM). En la Figura 7.8a se presenta el espectro SERS para esta muestra. Tal como se observa, las señales de NB (marcadas con flechas a 590 cm^{-1} y 1645 cm^{-1}) son prácticamente imperceptibles frente a las de CV. La muestra fue preparada intencionalmente en estas condiciones con el fin de aplicar el mismo análisis que para el caso anterior y resolver así este problema de congestión espectral, evidentemente más difícil que el anterior. Esta muestra intenta reflejar aquellos casos en donde una de las moléculas se encuentra en una concentración muy baja respecto al resto o bien que su sección eficaz Raman es muy baja a pesar de ser comparables en concentración. Como vimos anteriormente en la Figura 7.2, NB y CV tienen distintas propiedades redox en la ventana de potencial -0.05 a -0.55 V y la aplicación de estos potenciales tiene también diferentes consecuencias en el espectro SERS de cada una. A priori entonces podríamos pensar que este problema debería poder resolverse utilizando modulación electroquímica.

Con un número ilimitado de espectros el análisis de PCA tiene en principio todo lo necesario para distinguir todas las componentes del espectro SERS. Esto se debe a que los autovectores y autovalores de la matriz de covarianza pueden distinguir fácilmente entre fluctuaciones correlacionadas y fluctuaciones al azar. Básicamente es el mismo principio por el cual una integración infinita (en tiempo) de la señal SERS llevaría a una relación señal-ruido perfecta. Obviamente, tanto el número ilimitado de espectros como la integración infinita de la señal, son imposibles en SERS debido a los procesos de degradación de la muestra (photobleaching), estabilidad del sistema NPs Ag-moléculas, etc. Por otro lado, cuando señales de gran intensidad están presentes junto a otras (independientes) de mucho menor intensidad, son estas últimas las que fijan el número necesario de espectros para que el análisis de PCA las identifique. Esto último se debe a que las pequeñas variaciones aleatorias de la señal más intensa pueden competir en importancia (respecto a los autovectores de la matriz de covarianza) con la señal pequeña que estamos tratando de modular. Nuevamente, con un número ilimitado de espectros este problema estaría resuelto ya que las variaciones aleatorias podrían ser eliminadas. Nos encontramos entonces frente a un problema (limitado por el muestreo) que podría impedir resolver la congestión espectral planteada para esta muestra.

En la Figura 7.8b se muestran los primeros 4 autovectores del análisis de PCA efectuado en la región de 1650 cm^{-1} del espectro SERS de la mezcla luego de 20 ciclos de modulación

electroquímica como en el ejemplo anterior. Como ya describimos esta región tiene una importante contribución de CV a 1620 cm^{-1} y un pequeño pico de NB (superimpuesto al de CV) a 1645 cm^{-1} . Tal como puede verse en la Figura no hay, en principio, ninguna contribución de NB en los 4 primeros componentes principales arrojados por PCA. El primero de ellos está claramente dominado por fluctuaciones en la intensidad del pico de CV, mientras que el segundo autovector muestra un corrimiento en la frecuencia del pico de CV.⁴⁸ Del tercer autovector en adelante, la matriz de covarianza de PCA, intenta encontrar correlaciones en el ruido del muestro. Con un número ilimitado de espectros estos dos últimos autovectores serían cero y el tercer autovector sería entonces el pico de NB. Como conclusión, en este caso, el muestro limitado establece una competencia en el análisis de PCA entre fluctuaciones al azar de señales muy intensas y la señal de NB que estamos buscando. Recurriremos entonces a otra herramienta para solucionar este problema: el pre-filtrado de la señales.

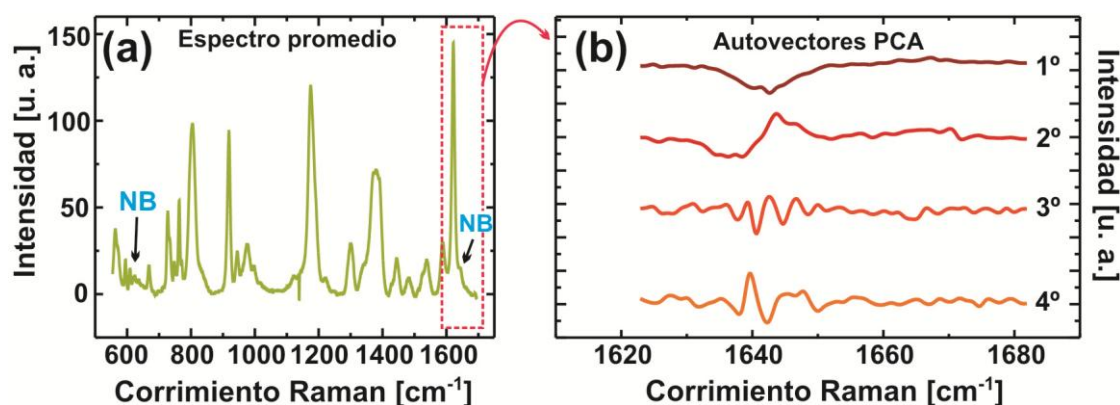


Figura 7.8. a) Espectro SERS promedio de la mezcla NB (20 nM) y CV (80 nM) modulada electroquímicamente entre -0.05 y -0.55 V (vs Ag/AgCl) a $v = 0.05\text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ en buffer fosfato $\text{pH} = 6$. Se remarca la región espectral que será analizada con PCA. b) Autovectores obtenidos en el análisis de PCA: 1° variación de intensidad del pico de CV, 2° corrimiento de frecuencia del pico de CV, 3° y 4° ruido.

La idea para resolver este problema es la de tratar de disminuir la importancia de la fluctuaciones al azar o de realzar las fluctuaciones inducidas electroquímicamente. Para esto aplicaremos (antes del análisis de PCA) un filtro que permita desacoplar las fluctuaciones y elegir solo aquellas que siguen la frecuencia de modulación inducida electroquímicamente (la velocidad de barrido). Una forma sencilla de hacerlo es a través de la transformada de Fourier de la intensidad total integrada en función del tiempo y así revelar la principal frecuencia de modulación (a partir del espectro de frecuencias). Básicamente es encontrar con qué frecuencia está cambiando la intensidad del espectro en el tiempo. Esto se muestra en la Figura 7.9a en unidades de frecuencia de la transformada de Fourier.⁴⁷ Una vez encontrada la frecuencia de modulación electroquímica la misma se utiliza para filtrar a cada longitud de onda (o pixel de la CCD) toda la serie de datos. Esto puede realizarse fácilmente aplicando la transformada de

Fourier a la serie temporal de cada pixel y multiplicando en cada caso con un filtro que contenga la frecuencia revelada en la Figura 7.9a y luego a través de una transformada de Fourier inversa retornar al dominio temporal. Esta última serie de datos (que contiene espectros en función del tiempo, tal como la serie original de datos) se encuentra ahora filtrada por la frecuencia de modulación electroquímica y por lo tanto hemos realzado las fluctuaciones que son producto de la misma. En la Figura 7.9b se muestra el espectro SERS promedio (de los 400 adquiridos) de la mezcla luego de ser filtrados con la frecuencia arrojada por la transformada de Fourier. En la misma puede observarse el aumento de la intensidad relativa de la señal de NB frente a CV (comparadas con la Figura 7.8a); esto se debe a que solo una pequeña fracción de la señal de CV está siendo modulada a dicha frecuencia. Esto podría ser de utilizad a la hora de buscar la señal de NB entre los primeros autovectores del análisis de PCA (utilizando los datos filtrados).

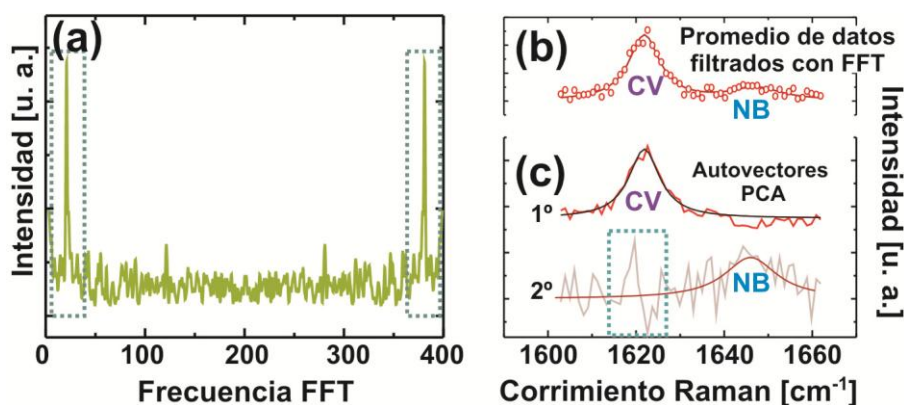


Figura 7.9. a) FFT de la intensidad total integrada de los espectros SERS modulados. Se observan las frecuencias características (recuadros punteados) de la modulación electroquímica (velocidad de barrido). b) Promedio de datos filtrados a la frecuencia de modulación resaltando la intensidad relativa de NB frente a CV. c) Primer autovector del análisis de PCA de los datos previamente filtrados. Se observa un cambio en la intensidad SERS en el pico de CV. En segundo autovector tiene una contribución del cambio de frecuencia del pico de CV y de la intensidad modulada del pequeño pico de NB.

Efectivamente, en la Figura 7.9c podemos ver que el primer autovector sigue dominado por los cambios de intensidad del pico de CV pero en el segundo aparecen dos factores acoplados: un cambio de frecuencia en el pico de CV (recuadro punteado) y el pico de NB que está siendo modulado. Recordemos que la señal de NB era prácticamente imperceptible en el espectro SERS promedio de la mezcla (Figura 7.8a). Lo que logramos con el pre-filtrado de la señal es colocar a los cambios de intensidad de NB al mismo nivel de importancia (para la matriz de covarianza) que el corrimiento de frecuencia del pico de CV, además de eliminar las fluctuaciones al azar del pico más intenso (CV). Básicamente utilizamos el mismo principio de un amplificador “lock-in”. Como resaltamos anteriormente, con un número ilimitado de espectros el pre-filtrado (o amplificación tipo ‘lock-in’) no sería necesario ya que la señal siempre crece linealmente con el tiempo de integración mientras que el ruido lo hace con la raíz cuadrada del mismo. Por lo tanto

la relación señal-ruido siempre tiende a mejorar a mayores tiempos de integración y eventualmente una pequeña señal podría ser resuelta de esta forma. Sin embargo como ya vimos, no es posible tener en SERS un número ilimitado de espectros (photobleaching), entonces una forma de alcanzar el mismo resultado pero en un tiempo menor sería utilizando un concepto similar al de un amplificador “lock-in” (o un pre-filtrado con la transformada de Fourier). La matriz de covarianza de PCA es básicamente independiente (o ciega) a la secuencia temporal de los espectros, esto es, a la modulación electroquímica. Si mezcláramos todos los espectros “modulados” y aplicáramos el análisis de PCA obtendríamos el mismo resultado.⁴⁵ Sin embargo, nosotros sabemos la frecuencia a la cual estamos modulando (velocidad de barrido). La idea del pre-filtrado es seleccionar aquellas fluctuaciones que ocurren a la frecuencia a la cual nosotros sabemos que el fenómeno físico real está ocurriendo. De esta manera “orientamos” el análisis de PCA hacia fluctuaciones que son relevantes físicamente y de esta forma poder distinguir que está correlacionado de que no. En términos de amplificación “lock-in” mejoramos la relación señal-ruido descartando aquellas fluctuaciones que no ocurren a una dada frecuencia.

7.6 Conclusiones.

En este Capítulo mostramos la combinación de modulación electroquímica con análisis de fluctuaciones para discriminar y separar señales de distintas especies en casos de congestión espectral cuando hay coadsorción de moléculas. Los ejemplos experimentales mostrados fueron preparados intencionalmente para demostrar la utilidad de la técnica en distintos escenarios. Sin embargo, la misma podría ser aplicada a casos de más de dos componentes. Como vimos también, no es estrictamente necesario que todas las especies sean redox activas, ya que pequeños cambios (corrimiento de frecuencias o intensidades) inducidos por el potencial también son encontrados con el análisis de PCA. Obviamente, cuanto mayor sea el cambio, más sencillo será desacoplar la señal de esa especie. Para casos más complejos también mostramos la aplicación de un filtrado de la señal mediante FT.

La utilidad de la técnica apunta a resolver problemas de congestión espectral en muestras complejas (biológicas, contaminantes, etc.) donde no siempre es posible elegir la pureza y características espectrales de todos sus componentes.

7.7 Referencias

[1] Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J., Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *26* (2), 163-166.

[2] Jeanmaire, D. L.; Van Duyne, R. P., Surface raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1977**, *84* (1), 1-20.

- [3] Albrecht, M. G.; Creighton, J. A., Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99* (15), 5215-5217.
- [4] Tian, Z.-Q.; Ren, B., ADSORPTION AND REACTION AT ELECTROCHEMICAL INTERFACES AS PROBED BY SURFACE-ENHANCED RAMAN SPECTROSCOPY. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2004**, *55* (1), 197-229.
- [5] Wu, D.-Y.; Li, J.-F.; Ren, B.; Tian, Z.-Q., Electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy of nanostructures. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37* (5), 1025-1041.
- [6] Santos, D. P. d.; Andrade, G. F. S.; Temperini, M. L. A.; Brolo, A. G., Electrochemical Control of the Time-Dependent Intensity Fluctuations in Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113* (41), 17737-17744.
- [7] Lacharmoise, P. D.; Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., Guiding Molecules with Electrostatic Forces in Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *ACS Nano* **2008**, *3* (1), 66-72.
- [8] Murgida, D. H.; Hildebrandt, P., Disentangling interfacial redox processes of proteins by SERR spectroscopy. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37* (5), 937-945.
- [9] Hildebrandt, P.; Murgida, D. H., Electron transfer dynamics of cytochrome c bound to self-assembled monolayers on silver electrodes. *Bioelectrochemistry* **2002**, *55* (1-2), 139-143.
- [10] Cai, W. B.; Ren, B.; Li, X. Q.; She, C. X.; Liu, F. M.; Cai, X. W.; Tian, Z. Q., Investigation of surface-enhanced Raman scattering from platinum electrodes using a confocal Raman microscope: dependence of surface roughening pretreatment. *Surf. Sci.* **1998**, *406* (1-3), 9-22.
- [11] Lombardi, J. R.; Birke, R. L., A Unified View of Surface-Enhanced Raman Scattering. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42* (6), 734-742.
- [12] Xie, Y.; Wu, D. Y.; Liu, G. K.; Huang, Z. F.; Ren, B.; Yan, J. W.; Yang, Z. L.; Tian, Z. Q., Adsorption and photon-driven charge transfer of pyridine on a cobalt electrode analyzed by surface enhanced Raman spectroscopy and relevant theories. *J. Electroanal. Chem.* **2003**, *554-555* (0), 417-425.
- [13] Gersten, J. I.; Birke, R. L.; Lombardi, J. R., Theory of Enhance I Light Scattering from Molecules Adsorbed at the Metal-Solution Interface. *Phys. Rev. Lett.* **1979**, *43* (2), 147-150.
- [14] Lombardi, J. R.; Birke, R. L.; Lu, T.; Xu, J., Charge-transfer theory of surface enhanced Raman spectroscopy: Herzberg--Teller contributions. *J. Chem. Phys.* **1986**, *84* (8), 4174-4180.
- [15] Tognalli, N. G.; Scodeller, P.; Flexer, V.; Szamocki, R.; Ricci, A.; Tagliazucchi, M.; Calvo, E. J.; Fainstein, A., Redox molecule based SERS sensors. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11* (34), 7412-7423.
- [16] Shegai, T.; Vaskevich, A.; Rubinstein, I.; Haran, G., Raman Spectroelectrochemistry of Molecules within Individual Electromagnetic Hot Spots. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (40), 14390-14398.
- [17] Ward, D. R.; Halas, N. J.; Ciszek, J. W.; Tour, J. M.; Wu, Y.; Nordlander, P.; Natelson, D., Simultaneous Measurements of Electronic Conduction and Raman Response in Molecular Junctions. *Nano Lett.* **2008**, *8* (3), 919-924.

- [18] Liu, Z.; Ding, S.-Y.; Chen, Z.-B.; Wang, X.; Tian, J.-H.; Anema, J. R.; Zhou, X.-S.; Wu, D.-Y.; Mao, B.-W.; Xu, X.; Ren, B.; Tian, Z.-Q., Revealing the molecular structure of single-molecule junctions in different conductance states by fishing-mode tip-enhanced Raman spectroscopy. *Nat Commun* **2011**, *2*, 305.
- [19] Tian, Z. Q.; Li, W. H.; Mao, B. W.; Zou, S. Z.; Gao, J. S., Potential-Averaged Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **1996**, *50* (12), 1569-1577.
- [20] Shi, C.; Zhang, W.; Birke, R. L.; Lombardi, J. R., Detection of short-lived intermediates in electrochemical reactions using time-resolved surface-enhanced Raman spectroscopy. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94* (12), 4766-4769.
- [21] Shan, X.; Patel, U.; Wang, S.; Iglesias, R.; Tao, N., Imaging Local Electrochemical Current via Surface Plasmon Resonance. *Science* **2010**, *327* (5971), 1363-1366.
- [22] Wang, S.; Huang, X.; Shan, X.; Foley, K. J.; Tao, N., Electrochemical Surface Plasmon Resonance: Basic Formalism and Experimental Validation. *Anal. Chem.* **2010**, *82* (3), 935-941.
- [23] Etchegoin, P. G.; Le Ru, E. C., A perspective on single molecule SERS: current status and future challenges. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10* (40), 6079-6089.
- [24] Casadio, F.; Leona, M.; Lombardi, J. R.; Van Duyne, R., Identification of Organic Colorants in Fibers, Paints, and Glazes by Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43* (6), 782-791.
- [25] Golightly, R. S.; Doering, W. E.; Natan, M. J., Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Homeland Security: A Perfect Match? *ACS Nano* **2009**, *3* (10), 2859-2869.
- [26] Nguyen, T. T.; Rembert, K.; Conboy, J. C., Label-Free Detection of Drug-Membrane Association Using Ultraviolet-Visible Sum-Frequency Generation. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (4), 1401-1403.
- [27] Yu, P.; Cardona, M., *Fundamentals of semiconductors : physics and materials properties*. Springer: 2010.
- [28] Scodeller, P.; Flexer, V.; Szamocki, R.; Calvo, E. J.; Tognalli, N.; Troiani, H.; Fainstein, A., Wired-Enzyme Core-Shell Au Nanoparticle Biosensor. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (38), 12690-12697.
- [29] Daza Millone, M. A.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C.; Creczynski-Pasa, T. B.; Tognalli, N. G.; Fainstein, A., Phospholipid Bilayers Supported on Thiolate-Covered Nanostructured Gold: In Situ Raman Spectroscopy and Electrochemistry of Redox Species. *ChemPhysChem* **2009**, *10* (11), 1927-1933.
- [30] Tognalli, N. G.; Fainstein, A.; Vericat, C.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., In Situ Raman Spectroscopy of Redox Species Confined in Self-Assembled Molecular Films. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (10), 3741-3746.
- [31] Kranich, A.; Naumann, H.; Molina-Heredia, F. P.; Moore, H. J.; Lee, T. R.; Lecomte, S.; de la Rosa, M. A.; Hildebrandt, P.; Murgida, D. H., Gated electron transfer of cytochrome c6 at biomimetic interfaces: a time-resolved SERR study. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11* (34), 7390-7397.

- [32] Creighton, J. A.; Blatchford, C. G.; Albrecht, M. G., Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2* **1979**, 75 (0), 790-798.
- [33] Meyer, M.; Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., Self-Limiting Aggregation Leads to Long-Lived Metastable Clusters in Colloidal Solutions. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110 (12), 6040-6047.
- [34] Ni, F.; Feng, H.; Gorton, L.; Cotton, T. M., Electrochemical and SERS studies of chemically modified electrodes: Nile Blue A, a mediator for NADH oxidation. *Langmuir* **1990**, 6 (1), 66-73.
- [35] Gorton, L.; Torstensson, A.; Jaegfeldt, H.; Johansson, G., Electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide coenzymes by graphite electrodes modified with an adsorbed phenoxazinium salt, meldola blue. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1984**, 161 (1), 103-120.
- [36] Liu, H.-H.; Lu, J.-L.; Zhang, M.; Pang, D.-W., Electrochemical Properties of Nile Blue Covalently Immobilized on Self-assembled Thiol-monolayer Modified Gold Electrodes. *Anal. Sci.* **2002**, 18 (12), 1339-1344.
- [37] Gorton, L., Chemically modified electrodes for the electrocatalytic oxidation of nicotinamide coenzymes. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases* **1986**, 82 (4), 1245-1258.
- [38] Sagara, T.; Igarashi, S.; Sato, H.; Niki, K., Voltammetric application of electromodulated electroreflection absorption spectroscopy: electroreflectance voltammetry as an in situ spectroelectrochemical technique. *Langmuir* **1991**, 7 (5), 1005-1012.
- [39] Niaura, G.; Gaigalas, A. K.; Vilker, V. L., Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Phosphate Anions: Adsorption on Silver, Gold, and Copper Electrodes. *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101 (45), 9250-9262.
- [40] Li, L.; Tian, X.; Zou, G.; Shi, Z.; Zhang, X.; Jin, W., Quantitative Counting of Single Fluorescent Molecules by Combined Electrochemical Adsorption Accumulation and Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy. *Anal. Chem.* **2008**, 80 (11), 3999-4006.
- [41] Yu, J.-S.; Zhou, T.-Y., The electrochemistry and thin-layer luminescence spectroelectrochemistry of rhodamine 6G at a 4,4'-bipyridine-modified gold electrode. *J. Electroanal. Chem.* **2001**, 504 (1), 89-95.
- [42] Watanabe, T.; Pettinger, B., Surface-enhanced Raman scattering from crystal violet adsorbed on a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.* **1982**, 89 (6), 501-507.
- [43] Cañamares, M. V.; Chenal, C.; Birke, R. L.; Lombardi, J. R., DFT, SERS, and Single-Molecule SERS of Crystal Violet. *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112 (51), 20295-20300.
- [44] Sun, W.; Ding, Y.; Jiao, K., Electrochemical studies on the interaction of heparin with crystal violet and its analytical application. *J. Anal. Chem.* **2006**, 61 (4), 359-364.
- [45] Jolliffe, I. T., *Principal Component Analysis*. Springer: 2010.
- [46] Hyvärinen, A.; Karhunen, J.; Oja, E., *Independent Component Analysis*. John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2002.
- [47] Kauppinen, J.; Partanen, J., Fourier Transform Spectroscopy (FTS). In *Fourier Transforms in Spectroscopy*, Wiley-VCH Verlag GmbH: 2002; pp 77-108.

- [48] Etchegoin, P. G.; Meyer, M.; Blackie, E.; Le Ru, E. C., Statistics of Single-Molecule Surface Enhanced Raman Scattering Signals: Fluctuation Analysis with Multiple Analyte Techniques. *Anal. Chem.* **2007**, *79* (21), 8411-8415.
- [49] Buchanan, S.; Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., Plasmon-dispersion corrections and constraints for surface selection rules of single molecule SERS spectra. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11* (34), 7406-7411.
- [50] Galloway, C. M.; Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., An Iterative Algorithm for Background Removal in Spectroscopy by Wavelet Transforms. *Appl. Spectrosc.* **2009**, *63* (12), 1370-1376.

Capítulo 8

Electroquímica de moléculas únicas monitoreada con SERS

8.1 Moléculas únicas.

El límite máximo en la detección analítica de especies moleculares es el de moléculas individuales. Esto implica en principio detectar todas y cada una de las especies presentes en una muestra. Sin embargo, el estudio de fenómenos a nivel de moléculas únicas ha contribuido en los últimos años de manera significativa a la comprensión de distintos fenómenos cuya importancia no está restringida solo al campo de la detección. Su amplio interés radica en la posibilidad de desacoplar la molécula en estudio de su ensamble accediendo a información sobre su entorno, conformación, interacciones, respuesta a estímulos, etc. Sin duda uno de los temas más estudiados al nivel de moléculas únicas es el del transporte de carga a través de una molécula que une dos contactos metálicos (electrónica molecular).¹⁻⁴ En estos casos ha sido posible evidenciar la influencia de distintos parámetros en la conducción molecular: sitios de adsorción, entorno, naturaleza del grupo terminal (contacto), etc. Muchos de estos efectos son difíciles (algunos de ellos imposibles) de evaluar cuando se trabaja con muchas o incluso algunas moléculas, ya que en esos casos la respuesta se promedia sobre el ensamble. Es por ellos que el estudio de moléculas individuales, más allá de su mera detección, ha contribuido a entender diversos fenómenos y mecanismos en áreas tales como: física,⁵⁻⁶ química,⁷ biología,⁸⁻¹⁰ etc.

Para ello ha sido necesario avanzar en el desarrollo de muchas de las técnicas analíticas y/o fisicoquímicas utilizadas convencionalmente con el fin de poder acceder o al menos acercarse a los niveles de detección que requiere trabajar con moléculas únicas. Algunos ejemplos de ello son

la fluorescencia,¹¹ la microscopía de efecto túnel,¹² la espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS).¹³ etc. Otras, como las técnicas electroquímicas, han progresado enormemente persiguiendo ese objetivo, alcanzando hoy en día límites cercanos al de moléculas individuales.¹⁴⁻¹⁵ Sin embargo, hasta el momento, la única evidencia del monitoreo de procesos redox a nivel de moléculas únicas está dada por métodos espectroscópicos, precisamente por el cambio en la fluorescencia (producto de la transferencia de carga) en moléculas y macromoléculas aisladas,^{11, 16-17} limitando su aplicación solo a fluoróforos redox.

En este sentido, la detección de moléculas individuales por métodos espectroscópicos ha estado dominada principalmente por la fluorescencia, debido a la simplicidad para calcular la presencia de una única molécula fluorescente en el volumen focal mediante diluciones sucesivas de la muestra y debido a sus aplicaciones biológicas como marcadores en proteínas, anticuerpos, etc.¹⁸⁻²⁰ Sin embargo, la espectroscopia Raman tiene no solo la potencialidad de explorar la detección a nivel de moléculas únicas de cualquier tipo de moléculas independientemente de su naturaleza química, sino que además, gracias a la riqueza espectral de la dispersión Raman es posible estudiar simultáneamente las propiedades estructurales, dinámicas (vibraciones) y electrónicas (resonancias) de la molécula detectada.²¹⁻²² Por estos motivos, SERS constituye una técnica espectroscópica de enorme potencial que combina la posibilidad de identificar moléculas (mediante su espectro Raman) con niveles de sensibilidad que alcanzan la detección de moléculas únicas.²³ No obstante la forma en la cual es posible asegurar que un dado espectro SERS corresponde a una molécula única es más compleja que en el caso de la fluorescencia.²⁴⁻²⁵ Por este motivo, en los últimos años muchos de los avances en el campo de moléculas únicas en SERS han estado abocados a demostrar este hecho (como veremos en detalle en la próxima sección). Actualmente la detección de moléculas individuales en SERS está ampliamente aceptada y probada y por lo tanto los avances en este campo están preparados para apuntar más allá de la mera demostración de la sensibilidad de la técnica.²¹

En este último Capítulo de la presente Tesis Doctoral estudiamos por primera vez la posibilidad de acoplar la detección de moléculas únicas por SERS con técnicas electroquímicas. De esta forma, no solo alcanzamos el límite máximo de detección analítica sino que también ha sido posible estudiar fenómenos electroquímicos al nivel de moléculas individuales, uno de los grandes desafíos de la electroquímica actual.¹⁴⁻¹⁵

8.2 Detección de moléculas únicas por SERS.

Las primeras observaciones de moléculas individuales utilizando SERS tomaron el desarrollo que previamente se había empleado en fluorescencia; es decir, generaron diluciones de una dada sustancia hasta alcanzar concentraciones picomolares que aseguraran que estadísticamente solo una molécula ocuparía el volumen de dispersión.^{13, 26} Esta forma de lograr señales de moléculas

únicas sigue siendo muy utilizada en fluorescencia aunque fue rápidamente descartada para medidas SERS. Como vimos en los capítulos anteriores y a diferencia de la fluorescencia, para poder amplificar la señal Raman de una molécula aislada es necesaria la contribución plasmónica de una superficie nanoestructurada a la cual debe quimi/fisisorberse la misma. Es decir, la estructura plasmónica con la molécula adsorbida es lo que debe estar al mismo tiempo en el volumen de dispersión. Por este motivo, la estadística de estos primeros intentos de ver moléculas únicas con SERS fue muy pobre ya que no se tuvo en cuenta este hecho y el método de detección se fue modificando para mejorar su efectividad. Más aún si tenemos en cuenta que para poder ver el espectro Raman de una única molécula debemos alcanzar factores de amplificación relativamente altos ($\sim 10^8$ / $\sim 10^{10}$) que son los que usualmente se obtienen en la unión entre dos nanoestructuras (*hot spot*), típicamente nanopartículas de Ag (Ag NPs) (ver Figura 8.1).²⁷⁻²⁹ Obviamente colocar las NPs con la molécula adsorbida correctamente entre ambas dentro del volumen de dispersión es prácticamente imposible y fue la principal limitante del método de diluciones aplicado a SERS.

De la Figura 8.1 surge que solo aquellas moléculas que estén situadas en una región de muy alta localización del campo electromagnético, el *hot-spot*, podrán ser observadas al nivel de moléculas únicas. Idealmente entonces uno desearía tener una molécula por *hot-spot* en lugar de una molécula por volumen de dispersión. Esto implica que la concentración inicial de moléculas puede incrementarse considerablemente respecto del primer método, ya que muchas de las moléculas se adsorberán en torno a las NPs, fuera del *hot-spot*. De esta forma pasamos de concentraciones picomolares a nanomolares. Sin embargo es imposible conocer la cantidad exacta de moléculas que son necesarias para obtener señales de moléculas únicas en SERS ya que deberíamos conocer la probabilidad de que una dada molécula se adsorba al azar en una región con un determinado factor de amplificación.²⁷ Por otro lado, la dispersión en intensidades complica de manera irresoluble la posibilidad de utilizar este parámetro (la intensidad) como medida del número de moléculas.³⁰ Es necesario entonces otro método que permita asegurarnos que los espectros SERS (medidos en estas condiciones) corresponden a moléculas únicas.

En el año 2006 fue introducida la técnica de dos analitos (*bi-analyte*), cuyo principio estadístico reside en colocar en la muestra dos especies (A y B) con espectro SERS distinguible (como por ejemplo RH6G y NB) de manera que si las condiciones de medida son las de moléculas únicas (concentración, tiempo de integración, presencia de *hot-spots*, etc.) se pueden observar cuatro situaciones (Figura 8.2a): el espectro SERS de la molécula A, el espectro SERS de la molécula B, el espectro SERS de ambas A+B (evento mixto) o ninguna señal (evento nulo).³¹ Así por ejemplo, si una molécula de A se encuentra en el *hot-spot* (amplificación de $\sim 10^8$), es necesario colocar ~ 100 moléculas de B a escasos nanómetros (amplificación de $\sim 10^6$) para obtener una señal SERS comparable (suponiendo iguales secciones eficaces Raman). Estadísticamente este es un hecho muy poco probable (ya que hay igual cantidad de moléculas de

A y de B en la muestra), por lo que en general el espectro SERS observado corresponde al de la molécula que ocupa el hot-spot (el resto de las moléculas ocupan regiones de mucho menor amplificación y dado los tiempos cortos de integración su señal no logra verse). Si en la zona de la muestra que estamos observando no hay hot-spots intensos ocupados o están igualmente poblados por moléculas de A y de B, veremos una señal nula o un promedio de las moléculas (A+B), respectivamente. De esta forma, el espectro promedio de varios (miles) de puntos de la muestra es la señal A+B, aunque individualmente es posible encontrar espectros de A o de B solos. Este método constituye una herramienta experimental para evidenciar la aparición de señales de moléculas individuales en SERS y su base estadística ha sido ampliamente estudiada.^{23, 32} De esta forma, los experimentos con el método bianalito (*bi-analyte*) consisten en colocar al menos dos especies con espectro SERS distinguishable (en concentraciones nanomolares) en contacto con coloides de Ag “agregados” (formando hot-spots) para adquirir luego con tiempos cortos de integración espectros SERS. Las experiencias pueden realizarse tanto en solución como depositando los hot-spots en superficies. Bajo estas condiciones es posible observar las situaciones descritas anteriormente y estadísticamente es posible afirmar que cuando se obtiene el espectro SERS individual de una de esas especies, el mismo corresponde al de una molécula única.

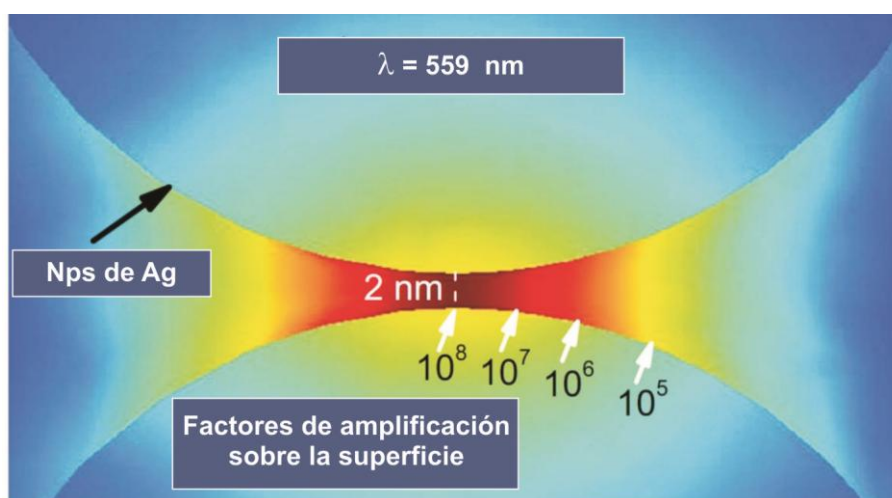


Figura 8.1. Dímero de NPs de Ag mostrando la rápida variación de los factores de amplificación en función de la posición exacta de la molécula en el hot-spot. Gráfico extraído de la Tesis Doctoral de Evan Blackie.³³

A partir de aquí otros factores involucrados en la detección de moléculas únicas también han podido ser explorados. En la Figura 8.2b se presenta un ejemplo sobre la influencia del tiempo de integración de la señal SERS en la detección de moléculas únicas, usando el método bianalito, en este caso para coloides con moléculas adsorbidas en líquidos. En la misma se descompone cada espectro SERS obtenido en función de la contribución de A y de B al mismo. De esta forma puede verse que al incrementar el tiempo de integración, producto de promediar la señal y del

movimiento browniano propio en líquidos, se observa una transición gradual desde el régimen de moléculas únicas al de muchas moléculas. Es así como, a tiempos largos, se obtiene una distribución Gaussiana, propia de dos componentes A y B distribuidos al azar.

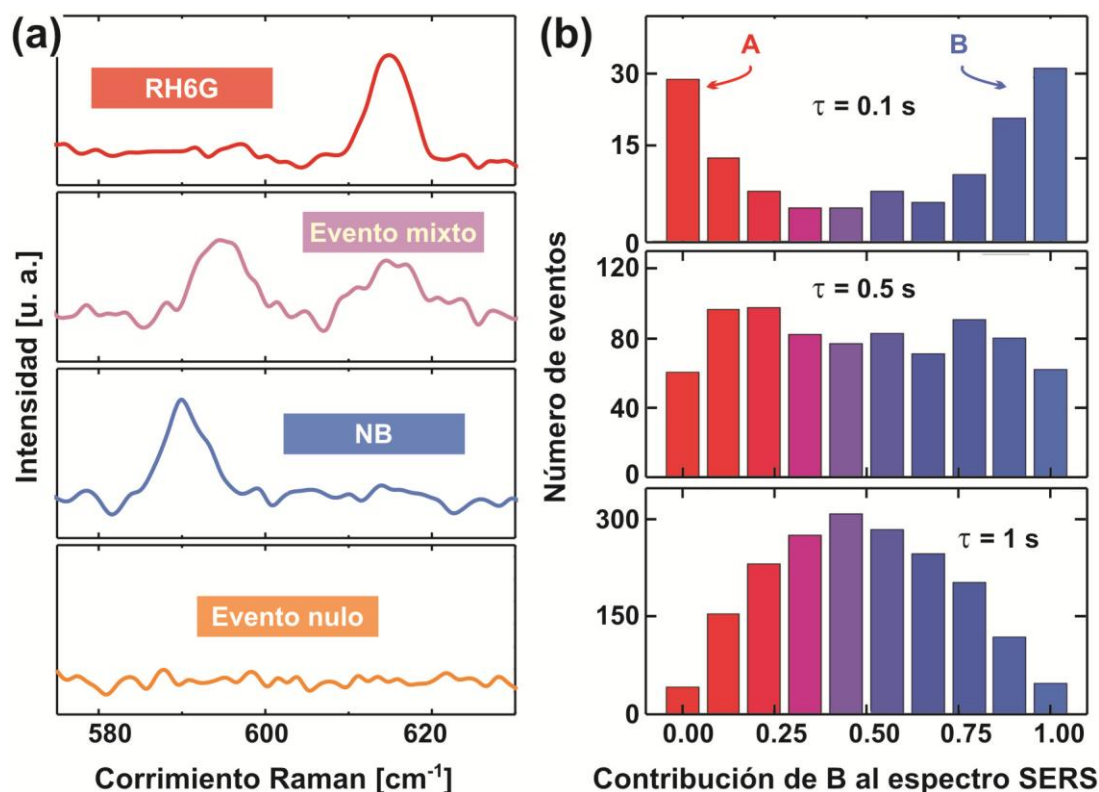


Figura 8.2. a) Posibles eventos SERS utilizando el método bianalito. b) Histogramas mostrando la contribución de A y B al espectro SERS en función del tiempo de integración. Gráfico extraído de la Tesis Doctoral de Evan Blackie.³³

El método bianalito constituye hoy en día la herramienta más importante y certera en la detección de moléculas individuales por SERS. Cabe mencionar que también se han realizado algunas modificaciones sobre el método como por ejemplo la posibilidad de usar una molécula dada y una modificación isotópica de la misma con la intención de que ambas sondas tengan similares secciones eficaces Raman y similares interacciones con la superficie de las NPs de Ag, entre otras.³⁴⁻³⁷

En lo que sigue, utilizaremos la dupla NB y RH6G para detectar señales de moléculas únicas con SERS y además acoplaremos la posibilidad de realizar medidas electroquímicas.

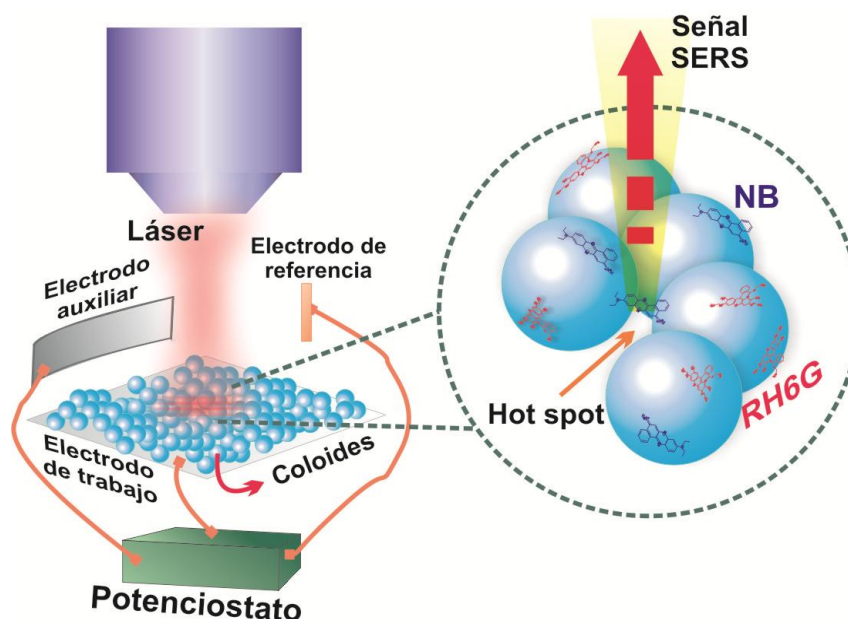
8.3 Combinación de electroquímica y SERS a nivel de moléculas individuales.

A diferencia de los estudios de transporte de carga a través de moléculas, donde se construyen junturas de moléculas individuales que conectan dos metales y se evalúa cada una de

ellas,¹⁻⁴ en nuestras condiciones experimentales muchas moléculas serán oxidadas y reducidas al mismo tiempo y seleccionaremos una de ellas para ser analizada mediante su respuesta SERS.

En el Esquema 8.1 se muestra el diseño experimental utilizado. Como puede verse, es similar al descrito en el Capítulo 7 (de hecho, el electrodo de trabajo es el que ya detallamos). A diferencia de las condiciones previas en este caso utilizamos concentraciones de 2-5 nM, un objetivo x100 (de inmersión, apertura numérica 1.0) y tiempos cortos de integración (0.1/0.35 segundos). Las medidas serán realizadas con el láser de 633 nm. Como vimos en la sección anterior, la forma más confiable de asignar un espectro SERS al de una molécula individual es mediante el método bianalito. En nuestro caso utilizaremos la dupla de moléculas NB y RH6G por dos razones. Tal como hemos descrito en el Capítulo 7 el cambio en el espectro SERS de NB entre su forma oxidada/reducida (resonante/no resonante) es mucho más dramático que para RH6G, cuyo espectro SERS es prácticamente constante en la región de potenciales donde está presente la cupla redox de NB. En este sentido, monitoreamos con SERS la electroquímica de moléculas individuales de NB y utilizaremos las moléculas de RH6G como contraparte del método bianalito. Por lo tanto es deseable que las moléculas de este segundo analito permanezcan “inalteradas” durante el ciclado de potencial, como veremos a continuación. Otro motivo para esta selección es el hecho de que ambas moléculas poseen secciones eficaces Raman comparables y picos de similares intensidades en una misma región espectral (como vimos para el caso de NB a 590 cm^{-1} y de RH6G a 610 cm^{-1}). Este último punto si bien no es necesario es deseable para casos de detección de moléculas individuales por SERS ya que distintas regiones del espectro Raman pueden verse influenciadas por la dispersión plasmónica.³⁸ Este último punto hace referencia a que la amplificación de un dado espectro SERS puede no ser la misma entre las regiones de bajas y altas frecuencias del mismo (producto de la dispersión plasmónica), y por lo tanto para asegurar la presencia de solo una molécula en el hot-spot es deseable que ambas especies tengan picos en la misma región del espectro.

El hecho de observar un dado evento SERS de molécula única a lo largo del ciclo electroquímico implica un nuevo desafío: no solo detectar señales de moléculas individuales sino poder seguir las en el tiempo. En nuestro caso utilizaremos la evolución temporal del espectro SERS para probar indirectamente la electroquímica (reacción redox) de una molécula individual.



Esquema 8.1. a) Arreglo experimental utilizado para monitorear la electroquímica de moléculas individuales mediante SERS. Los dos analitos NB y RH6G son incorporados al electrodo de trabajo en concentraciones de 2-5 nM. Electrodo de referencia Ag/AgCl. Ocasionalmente, una molécula dada se encuentra ubicada en un hot-spot dominando la señal SERS observada.

En la Figura 8.3 se muestran algunas de las situaciones observadas bajo nuestras condiciones experimentales. Por ejemplo, en la Figura 8.3a se puede ver una señal de molécula única de RH6G (ausencia de NB) la cual permanece constante a lo largo de 3 ciclos electroquímicos completos. Por otro lado, en la Figura 8.3b se observa un caso de señal mixta donde las moléculas de NB están siendo reducidas/oxidadas mientras que las de RH6G permanecen inalteradas. Este caso obviamente no corresponde a uno de moléculas únicas y por lo tanto es descartado para el análisis estadístico. Sin embargo es interesante ver en la Figura 8.3c como la señal de NB sigue el ciclado electroquímico (aunque no logra resolverse completamente) y la importancia de que las moléculas de RH6G permanezcan inalteradas durante el barrido de potencial, ya que permiten descartar estos eventos donde hay presencia de ambas moléculas (si la señal SERS de RH6G también fuese sensible al potencial aplicado perdería su valor como analito sonda). En todos los casos que mostraremos a lo largo de este Capítulo seguiremos las señales de NB a 590 cm^{-1} y RH6G a 610 cm^{-1} , las cuales corresponden a vibraciones colectivas de los anillos aromáticos de la estructura de cada una de ellas.

En este primer ejemplo las condiciones experimentales fueron ajustadas para observar señales de moléculas únicas a lo largo de varios ciclos voltamperométricos (al menos 3). Existe aquí un problema: cuantos más ciclos electroquímicos queramos seguir, más baja debe ser la potencia del láser utilizada (para minimizar el photobleaching, la principal limitación para observar señales de moléculas únicas durante algunos segundos) y por lo tanto más baja será la señal SERS medida. Esto puede compensarse aumentando los tiempos de integración de la señal,

pero esto implica una menor resolución del ciclo voltamperométrico a través de la señal SERS (Figura 8.3c). Los resultados más interesantes se obtienen cuando limitamos el número de ciclos pero ganamos en resolución durante el mismo mediante la señal SERS como veremos a continuación.

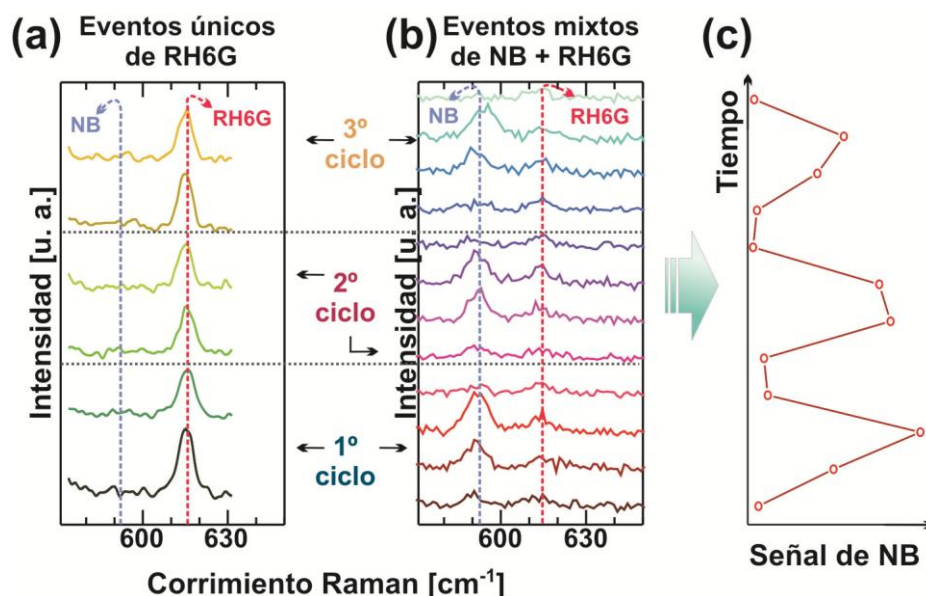


Figura 8.3. Modulación electroquímica utilizando el método bianalito para detección de moléculas individuales en SERS. a) Evento de molécula única de RH6G (siguiendo la señal a 610 cm^{-1}), a lo largo de 3 ciclos voltamperométricos. $E_i = -0.55 \text{ V}$, $E_f = -0.05 \text{ V}$. Velocidad de barrido (ν): $1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$. Tiempo de integración de la señal SERS (t): 0.5 seg. b) Evento mixto de NB (590 cm^{-1}) y RH6G utilizando $\nu = 0.5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ y $t = 0.5 \text{ seg}$. c) Señal SERS integrada de NB en función del tiempo.

En la Figura 8.4 se presentan los resultados utilizando un tiempo de integración de $t = 0.35 \text{ seg}$. y una velocidad de barrido de $\nu = 0.3 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, siendo $E_i = -0.54 \text{ V}$ y $E_f = -0.07 \text{ V}$. Bajo estas condiciones la duración total de cada ciclo voltamperométrico es de 3.13 seg. lo cual corresponde a 9 espectros SERS (3.15 seg.). En este caso, al reducir los tiempos de integración de la señal SERS debemos aumentar la potencia del láser, pero como consecuencia del photobleaching la gran mayoría de los eventos de moléculas únicas duran un solo ciclo electroquímico. Bajo estas condiciones experimentales surgen nuevos e interesantes resultados. Como puede verse en las Figuras 8.4b y c los perfiles SERS de moléculas únicas adquieren una forma “rectangular”. Este comportamiento es marcadamente diferente a las curvas que se obtienen para muchas moléculas (Figura 8.4a). Estos resultados confirman la posibilidad de monitorear simultáneamente el espectro Raman y la respuesta electroquímica de moléculas únicas.

En los ejemplos de la Figura 8.4 comenzamos el ciclo electroquímico desde -0.54 V (NB reducido, no resonante) y cada espectro representa un “avance” en el potencial de $\sim 0.052 \text{ V}$ (hasta alcanzar -0.07 V vs Ag/AgCl, donde el ciclo retorna hacia potenciales catódicos

nuevamente). En los casos de moléculas únicas (Figuras 8.4b y c), el primer espectro donde aparece el pico de NB (de abajo hacia arriba) refleja el potencial al cual la molécula de NB ha sido oxidada (resonante), mientras que cuando desaparece la señal implica que la molécula ha sido nuevamente reducida. Como ya describimos en detalle en el Capítulo 7, estos procesos tienen asociados en cada caso la transferencia de $2e^-2H^+$.

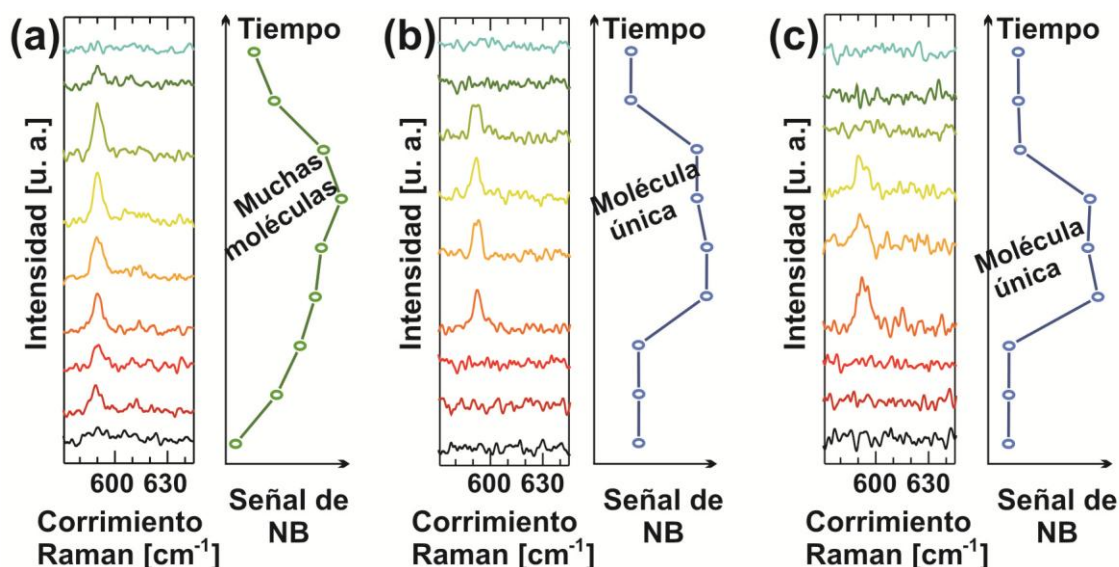


Figura 8.4. Perfiles SERS monitoreando la electroquímica de una/varias molécula/s. a) Evolución temporal de la señal SERS a lo largo de un ciclo voltamperométrico para muchas moléculas de NB (25 nM de NB, sin RH6G en la celda electroquímica). b y c) Dos ejemplos de la variación de la señal SERS de moléculas únicas de NB (ausencia de RH6G) a lo largo de un ciclo electroquímico. $E_i = -0.54$ V, $E_f = -0.07$ V. Velocidad de barrido (v): 0.3 V.s $^{-1}$. Tiempo de integración de la señal SERS (t): 0.35 seg.

Es importante destacar que solo aquellos eventos SERS donde la señal de NB (sin RH6G) está presente antes y después de un ciclo electroquímico completo han sido tenidos en cuenta para la estadística de electroquímica de moléculas únicas. De esta forma nos aseguramos que la señal Raman de NB desaparece a causa de su reducción y no por problemas de migración fuera del hot-spot o photobleaching.

La Figura 8.5a muestra como distintas moléculas individuales de NB permanecen en el estado “visible” o resonante (oxidado) durante distintos tiempos, lo cual implica obviamente que los potenciales a los cuales cada molécula está siendo reducida/oxidada son levemente diferentes. Este comportamiento refleja la característica estocástica de las propiedades redox locales en distintos hot-spots de la superficie. De hecho es esperable una gran heterogeneidad en la superficie de las NPs de Ag.³⁹ En la Figura 8.5c también puede observarse que algunas moléculas de NB presentan un comportamiento redox reversible (eventos 1 y 3) mientras que otras tienen un ΔE_p ($E_{ox} - E_{red}$) mayor, asociados a procesos más irreversibles (eventos 2 y 4). Este tipo de variaciones en moléculas redox confinadas en la superficie puede atribuirse a varios factores tales

como: orientación de la molécula, variaciones en el acoplamiento electrónico de la interfaz molécula-electrodo, entorno (solvatación, pH local, etc), carga superficial, etc. Volveremos sobre este punto más adelante pero en principio, como resultado de estos efectos, tanto el potencial redox como la constante de velocidad de transferencia de carga presentan un comportamiento estocástico al nivel de moléculas individuales.

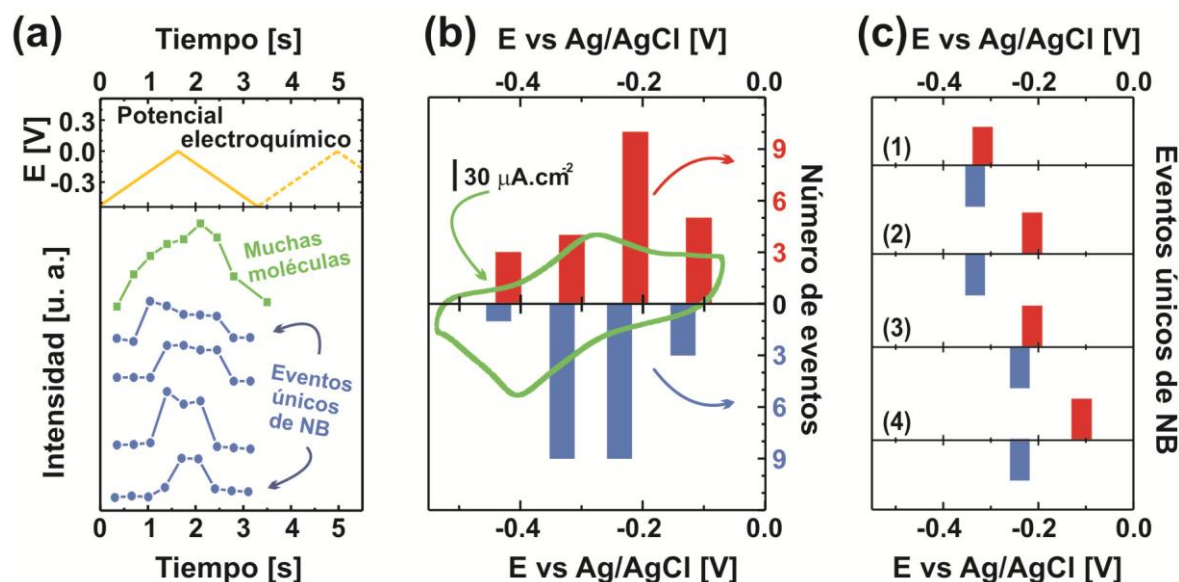


Figura 8.5. Variaciones entre las propiedades redox de distintas moléculas únicas. a) Intensidades SERS de NB a lo largo del tiempo para distintos casos de moléculas únicas (azul) y de muchas moléculas (verde). b) Histograma mostrando la distribución de potenciales de oxidación (rojo) y reducción (azul) de varios eventos de moléculas únicas. En verde se muestra el voltamperograma de NB (cobrimiento de monocapa) sobre el electrodo de trabajo. c) Eventos redox de moléculas individuales mostrando para cada caso el potencial de oxidación (rojo) y reducción (azul). Todos los potenciales están referidos a Ag/AgCl.

Otro punto interesante es el de saber qué sucede con una misma molécula a lo largo de dos ciclos voltamperométricos. Como puede verse en la Figura 8.6a, una misma molécula de NB experimenta distintos potenciales de oxidación/reducción en dos ciclos consecutivos. La molécula de NB que se muestra en esta figura es oxidada a -0.21 ± 0.05 V y reducida a -0.42 ± 0.05 V en el primer ciclo mientras que el segundo lo hace a -0.32 ± 0.05 V y -0.24 ± 0.05 V, respectivamente. En la Figura 8.6c se muestran otros ejemplos, para distintas moléculas individuales de NB y nuevamente se demuestra la naturaleza estocástica de los eventos de moléculas únicas, revelando en este caso además las fluctuaciones temporales del sistema, algo que ya había sido adelantado teóricamente.⁴⁰ Este comportamiento no se observa cuando monitoreamos lo que sucede con muchas moléculas de NB, donde obviamente realizamos un promedio estadístico sobre todos estos eventos (Figura 8.6b).

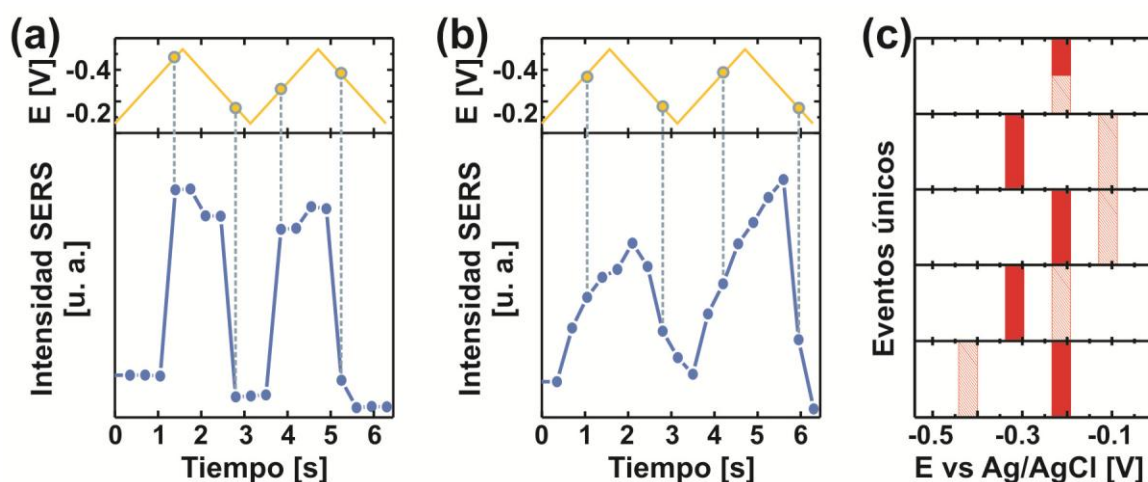


Figura 8.6. Variación en las propiedades redox en dos ciclos electroquímicos consecutivos. Evolución de la señal de NB a 590 cm^{-1} de a) una molécula individual b) muchas moléculas. Las líneas punteadas son guías para el ojo para poder determinar los potenciales redox en cada caso. c) Para distintas moléculas individuales (una en cada fila) se muestra el potencial de oxidación del primer ciclo (rojo) y del segundo (rosa). Todos los potenciales están referidos a Ag/AgCl.

Habiendo mostrado el carácter estocástico a nivel espacial y temporal de los eventos de moléculas únicas es posible preguntarse si a partir de los mismos es posible recuperar el comportamiento “promedio” del sistema. En la Figura 8.5b se muestra el voltamperograma de NB (monocapa) sobre nuestro electrodo de trabajo en conjunto con el histograma construido a partir de varios eventos de moléculas únicas. Como puede verse existen algunas diferencias tales como el potencial formal, que para el histograma se encuentra en torno a $E^0 \approx -0.22\text{ V}$, mientras que en el voltamperograma de “muchas moléculas” aparece 0.1 V más anódico ($E^0 = -0.32\text{ V}$). Estas diferencias pueden deberse a las distintas interacciones laterales de las moléculas a medida que nos movemos de un régimen de “alto” cubrimiento al de moléculas “individuales”.⁴¹ Sin embargo, la diferencia también puede estar asociada a una falta de estadística en el caso de moléculas únicas (histograma) para recuperar la respuesta promedio. De hecho, otros autores demostraron que, por ejemplo, cientos de proteínas inmovilizadas (bajo cubrimiento) tienen un comportamiento redox distinto al observado en medidas electroquímicas convencionales.⁴² Otro hecho posible es que solo aquellas moléculas más cercanas a la superficie sean detectadas (mayor amplificación) y que su potencial redox difiera de las moléculas más alejadas. Volveremos sobre este punto más adelante.

De las Figuras 8.5 y 8.6 puede concluirse que el potencial redox estándar surge de la contribución espacial y temporal de un gran número de moléculas con condiciones locales similares, pero no idénticas y que esta información solo puede obtenerse a partir de medidas de moléculas únicas, donde estas propiedades no son promediadas sobre el ensamble.

Hasta aquí hemos demostrado entonces que la combinación de SERS con electroquímica permite monitorear procesos de transferencia de carga (en este caso de 2 electrones) en moléculas únicas, un fenómeno que está fuera del alcance en el estado del arte de la electroquímica.^{14-15, 43}

La espectroscopia SERS provee un método indirecto de “amplificación” para monitorear los procesos electroquímicos de moléculas únicas en conjunto con la gran especificidad del espectro Raman de las mismas. En la próxima sección trataremos de profundizar acerca de este último punto buscando información adicional del proceso de transferencia de carga a partir del espectro Raman de las moléculas individuales.

8.4 Conformación molécula-sustrato y su relación con el potencial redox.

Utilizaremos ahora la posibilidad de estudiar procesos electroquímicos al nivel de moléculas únicas mediante SERS para tratar de profundizar nuestro conocimiento sobre la interfaz metal-molécula (en este caso Ag NPs-NB). Para ello optimizaremos las condiciones experimentales empleando una red de difracción de alta resolución (2400 líneas/mm) y tiempos de integración de las señales de moléculas únicas de 100 milisegundos. Este último avance (tiempos de milisegundos) fue posible debido a una mejora electrónica en la adquisición de datos de la CCD. Estas modificaciones, como veremos, permiten tener una mayor información sobre el sistema y su dinámica.

Comenzaremos estudiando la influencia del potencial aplicado en el espectro SERS de NB para el caso de muchas moléculas. En la Figura 8.7 se resume gran parte del fenómeno que trataremos de abordar en esta sección. Tal como ya hemos descrito, las Figuras 8.7a y b muestran el voltamperograma y espectro SERS de NB sobre nuestro electrodo de trabajo. Sin embargo, al estudiar cómo evoluciona el espectro SERS de NB oxidado (resonante) al de la forma reducida (no resonante) aparece un nuevo aspecto que hasta el momento no habíamos descrito. En la Figura 8.7c se muestra la variación en el pico de $\sim 590 \text{ cm}^{-1}$ de NB con el potencial. Para poder observar dicho efecto con mayor claridad hemos utilizado la red de difracción de mayor resolución (comparados con los datos de la sección anterior). Como puede verse para este caso de muchas moléculas de NB hay un corrimiento del pico Raman a mayores frecuencias a medida que nos movemos en sentido catódico con el potencial (antes de llegar a la reducción del total de las moléculas). Este resultado es reforzado en la Figura 8.7d donde se grafica la posición promedio del pico Raman en función del potencial aplicado (E) durante el barrido en sentido catódico.

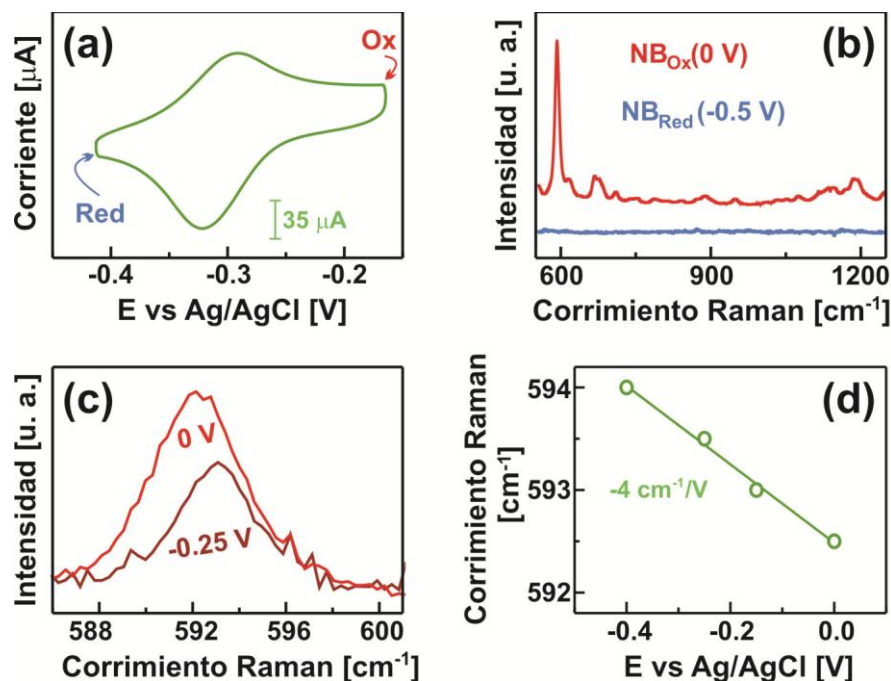


Figura 8.7. a) Voltamperograma de NB en buffer fosfato (pH = 6) a $\nu = 0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$. b) Espectro SERS promedio de 50 nM de NB oxidado (resonante, rojo) y reducido (no resonante, azul), láser 633 nm, $\times 10$, 3mW. c) Variación con el potencial del pico de 50 nM de NB a $\sim 590 \text{ cm}^{-1}$. Hay una disminución parcial de la intensidad del pico (producto de la reducción de algunas moléculas) y un corrimiento del mismo. d) Dependencia lineal de la variación de la posición del pico de NB en $\sim 590 \text{ cm}^{-1}$ con el potencial aplicado.

La variación en la posición del pico Raman de NB puede tener distintos orígenes o explicaciones. Una de ellas podría ser que la presencia del campo eléctrico (de distinta magnitud de acuerdo al potencial aplicado) afecte a las moléculas de NB (cambios de orientación de las moléculas, transferencia parcial de carga, etc) y por consiguiente modifique la posición de los picos del espectro Raman. Es así como observaciones similares en otros sistemas han sido atribuidas al “efecto Stark”.⁴⁴ Sin embargo, un análisis más detallado de la forma y ancho del pico permite una explicación alternativa: dentro de la distribución de moléculas de NB, aquellas de menores frecuencias (dentro del ensanchamiento inhomogéneo del pico Raman a 590 cm^{-1} de NB) podrían estar siendo selectivamente “apagadas” (reducidas) por el potencial. Para tratar de resolver este problema y obtener mayor información sobre el proceso que realmente está ocurriendo, recurriremos a medidas de moléculas únicas. Como explicamos anteriormente, la principal ventaja de este tipo de medidas es que permiten desacoplar la respuesta colectiva de las moléculas para saber qué es lo que sucede con cada una de ellas en particular, es decir, podemos indagar sobre lo que sucede dentro de la distribución de moléculas.

Al igual que en la sección anterior utilizaremos el método del bianalito con RH6G como contraparte. Como puede verse en la Figura 8.8a, el espectro promedio muestra dos picos centrados a 590 cm^{-1} y 610 cm^{-1} propios de NB y RH6G respectivamente. Sin embargo, a

diferencia de los resultados anteriores, en este caso al utilizar una mayor resolución espectral surge un nuevo aspecto al nivel de moléculas individuales. Es posible resolver moléculas de una misma especie (supongamos NB) dentro del ensanchamiento inhomogéneo del pico de 590 cm^{-1} (lo mismo sucede para RH6G con el pico de 610 cm^{-1}).⁴⁵ De esta forma, en la Figura 8.8b podemos ver espectros donde hay dos o más picos de NB (en torno a 590 cm^{-1}) y lo mismo con RH6G, indicando la presencia de dos o más moléculas de NB en entornos levemente distintos. Este hecho ya ha sido estudiado en profundidad e incluso ha sido propuesto como un método alternativo para resolver moléculas únicas en SERS.⁴⁵ En nuestro caso entonces utilizaremos ambos efectos (binalito y resolución del ensanchamiento inhomogéneo) como pruebas de detección de moléculas únicas.

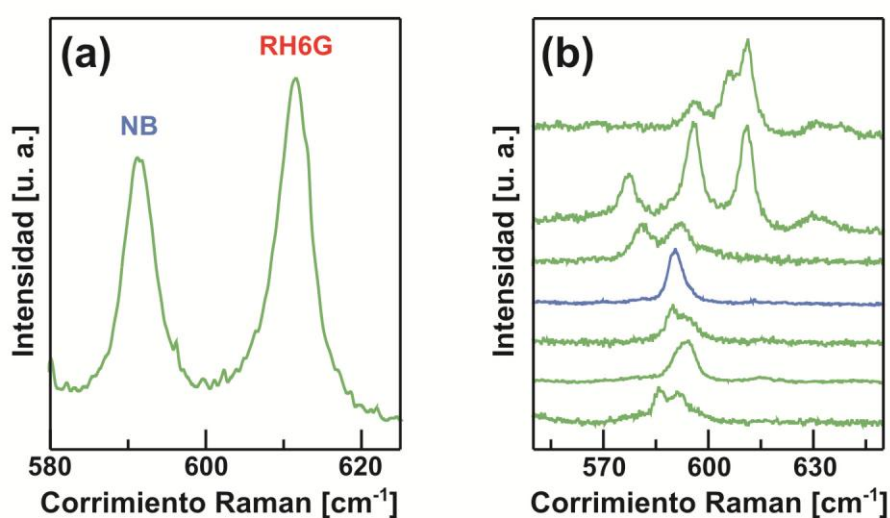


Figura 8.8. a) Espectro SERS promedio (a circuito abierto) del método del binalito para detección de moléculas únicas. Se promediaron más de 5000 espectros tomados a lo largo de la muestra. b) Espectros SERS (a circuito abierto) de distintos puntos de la muestra, láser 633 nm, 3 mW, x100, red de 2400 líneas/mm. Dada la alta resolución se puede resolver más de una molécula dentro del ensanchamiento inhomogéneo del pico (tanto para NB como para RH6G). De esta forma es posible resolver, por ejemplo, moléculas de NB cuyo pico aparece a 580 cm^{-1} o 585 cm^{-1} o 590 cm^{-1} , dando cuenta de los distintos entornos de las mismas. Lo mismo sucede con RH6G. Los espectros verdes no son tenidos en cuenta para la estadística de moléculas únicas (hay más de una moléculas), mientras que si lo es un espectro como el azul.

Una vez establecidas las condiciones para la detección de moléculas únicas pasaremos ahora a estudiar lo que sucede al aplicar la rampa de potencial. En la Figura 8.9 se muestran los perfiles “rectangulares” característicos de los eventos redox de moléculas únicas, tal como mostramos en la sección anterior. En este caso se muestra tanto la intensidad del espectro SERS (a, c) como el corrimiento Raman (b, d) para cada uno de estos dos eventos (notar la mayor resolución temporal y espectral respecto de los experimentos anteriores). Como se puede ver, la intensidad de un dado evento es independiente del corrimiento Raman de dicho evento; si bien en ambos casos la señal lógicamente aparece y desaparece para el mismo tiempo o potencial (potencial redox de esa molécula). Es importante señalar que la intensidad de un evento de molécula única está

relacionada con la posición exacta de la molécula dentro del hot-spot (Figura 8.1).⁴⁶⁻⁴⁷ Por el contrario, la frecuencia da cuenta un de parámetro físico mucho más fundamental tal como lo es la interacción entre la molécula y la superficie.⁴⁸⁻⁴⁹ Nos centraremos entonces en lo que sucede con el corrimiento Raman para estos eventos cuyos principales resultados son por un lado, tal como señalamos en la sección anterior, la duración de la señal Raman de cada evento en particular (relacionada al potencial redox de cada molécula) y por otro lado el hecho de que mientras la molécula de NB está oxidada (forma resonante) la frecuencia de esa molécula se mantiene constante dentro de $\pm 0.2 \text{ cm}^{-1}$. Este último punto se repite para cada uno de los espectros SERS de alta resolución de moléculas únicas que hemos analizado y sugiere que la molécula de NB permanece “inmóvil” en la superficie cuando se le transfieren dos electrones y dos protones (oxidación). La naturaleza exacta de la interacción entre la superficie de la NPs de Ag y cada una de las moléculas oxidadas de NB está dada por el valor exacto de frecuencia de cada caso en particular.⁴⁸ Esto no es otra cosa que resolver el ensanchamiento inhomogéneo del pico de 590 cm^{-1} de NB en cada una de sus componentes (moléculas) las cuales tienen, como dijimos, entornos diferentes.

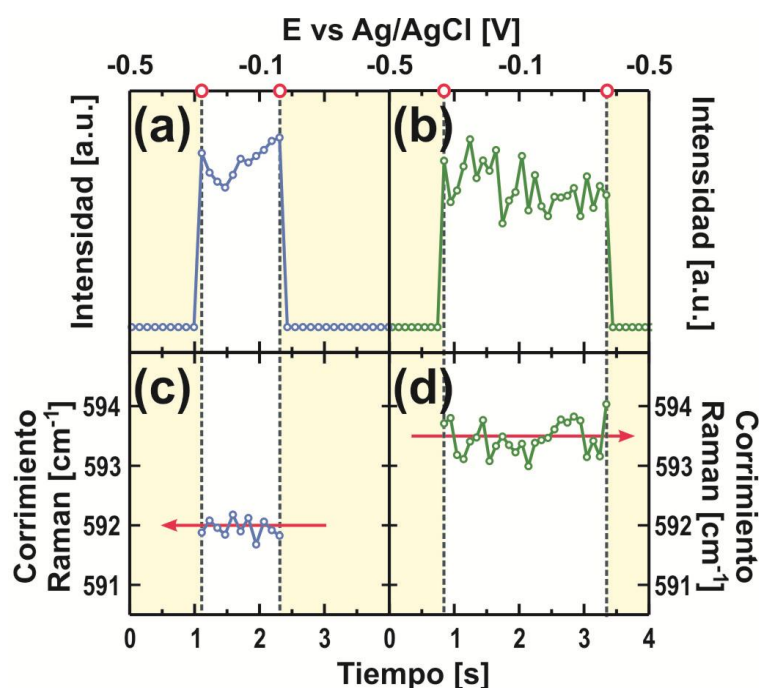


Figura 8.9. a) Intensidad SERS de un dado evento de molécula única de NB. Se muestra la variación en la intensidad del modo de 590 cm^{-1} obtenido a lo largo de un ciclo voltamperométrico de -0.5 a -0.1 V a $\nu = 0.2 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ con un tiempo de integración de la señal SERS por espectro de $t = 0.1$ segundo. Para esta molécula $E_{\text{ox}} = -0.28 \text{ V}$ y $E_{\text{red}} = -0.16 \text{ V}$. b) Se muestra el corrimiento Raman de 592 cm^{-1} correspondiente al mismo evento único de NB descrito en previamente. c) Variación de la intensidad SERS del modo de 590 cm^{-1} para otro evento único de NB con $E_{\text{ox}} = -0.32 \text{ V}$ y $E_{\text{red}} = -0.38 \text{ V}$. d) Corrimiento Raman asociado al evento anterior de NB: 593.5 cm^{-1} . En las Figuras b y d los puntos antes/después de la oxidación no se muestran ya que la molécula reducida no es resonante y por lo tanto el pico a 590 cm^{-1} está ausente en dichas regiones.

Por otro lado, este primer resultado también permite descartar algunas de las hipótesis que planteamos para el efecto observado con muchas moléculas (Figura 8.7c y d). Si el corrimiento del pico Raman con el potencial es debido al cambio en el campo eléctrico de la interfaz (producto del barrido de potencial), este hecho también debería modificar en el tiempo la frecuencia de un dado evento de molécula única (ya que aquí también estamos haciendo el mismo barrido de potencial). Por lo tanto, si el efecto que observamos con muchas moléculas fuese debido a un cambio de orientación de las mismas o una transferencia parcial de carga, el pico Raman de cada una de las moléculas individuales también debería correrse con el potencial (o con el tiempo) y esto no es lo que observamos experimentalmente. Contrariamente, el escenario más simple y probable hasta el momento es que las moléculas de NB oxidadas (cationes) permanecen en una configuración fija producto de la interacción con la capa de aniones que rodean a la NPs Ag.

Para comprender mejor los fenómenos que ocurren en la interfaz molécula-superficie observemos qué sucede cuando podemos seguir un evento de molécula única a lo largo de dos ciclos voltamperométricos consecutivos. En la Figura 8.10 se muestran los resultados de la variación de la intensidad SERS de una molécula de NB (a) y la frecuencia exacta del modo a $\sim 590 \text{ cm}^{-1}$ a lo largo del barrido de potencial (b). Como puede verse, no solo el potencial redox sino también el corrimiento Raman es distinto para el primer y el segundo ciclo lo que sugiere que la molécula es capaz de relajarse a una posición levemente distinta o bien durante su estado reducido (no resonante, “silencioso”) o bien en los “saltos” donde los procesos de transferencia de carga ($2e^-2H^+$) tienen lugar. En este caso, para poder monitorear el proceso de una misma molécula por más de un ciclo voltamperométrico es necesario aumentar la velocidad de barrido de manera de evitar la destrucción de la molécula por un largo tiempo de exposición al láser.

A partir de los datos anteriores hemos demostrado la posibilidad de monitorear procesos electroquímicos de moléculas únicas accediendo simultáneamente a información sobre la interfaz metal-molécula a partir de su espectro SERS. Como vimos, tanto el potencial redox como el corrimiento Raman varían de molécula en molécula e incluso de ciclo en ciclo para una misma molécula. Sin embargo, veamos lo que sucede cuando juntamos varios de estos eventos individuales. En la Figura 8.11 graficamos (para varios eventos de moléculas únicas) el corrimiento Raman de un dado evento en función del potencial de reducción (a) y de oxidación (b) para esa molécula de NB. Es importante notar que en todos los casos las frecuencias que graficamos/vemos corresponden a las moléculas de NB en su estado oxidado (resonante) y los potenciales corresponden a las moléculas que pasan del estado reducido al oxidado (potencial de oxidación, primer “salto”, aparición de la señal SERS) y a las moléculas que pasan del estado oxidado al reducido (potencial de reducción, segundo “salto”, desaparición de la señal SERS). Como puede verse en la Figura 8.11a, existe una clara correlación entre el potencial de reducción y el corrimiento Raman del estado oxidado (resonante). En este sentido, las moléculas con

mayores corrimientos Raman son reducidas a potenciales más negativos mientras que aquellas que presentan una menor frecuencia lo hacen a menores sobrepotenciales. Notablemente, dicha correlación no existe para los potenciales de oxidación y los corrimientos Raman observados del estado oxidado de NB, Figura 8.11b.

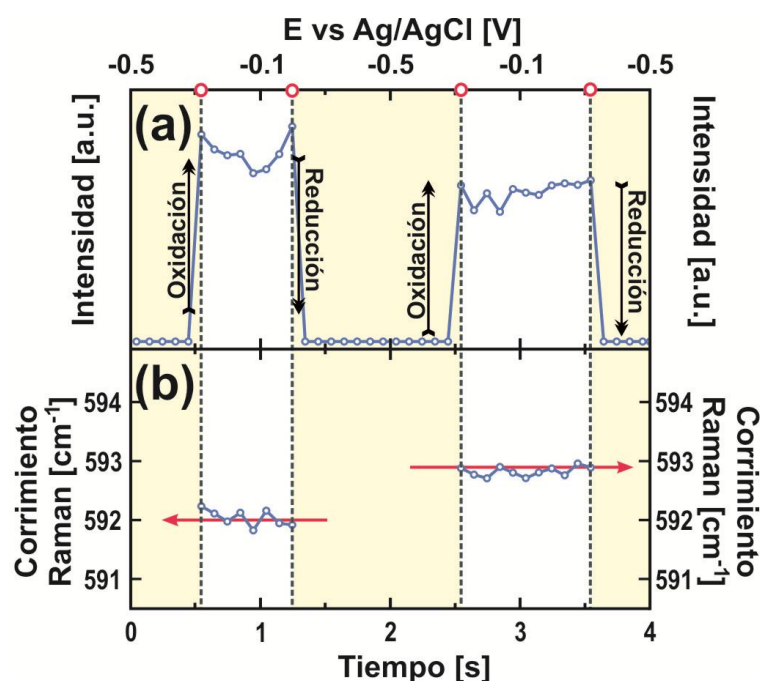


Figura 8.10. a) Intensidad SERS de un dado evento de molécula única de NB a lo largo de dos ciclos voltamperométricos consecutivos. Se muestra la variación en la intensidad del modo de $\sim 590 \text{ cm}^{-1}$ obtenido a lo largo de dos ciclos voltamperométricos de -0.5 a -0.1 V a $\nu = 0.4 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ con un tiempo de integración de la señal SERS por espectro de $t = 0.1$ segundo. b) Se muestra el corrimiento Raman de 592 cm^{-1} y 593 cm^{-1} correspondientes al primer y segundo ciclo respectivamente del mismo evento único de NB descrito en a).

De esta forma la variación observada para muchas moléculas (Figura 8.7d) se puede explicar ahora a partir de la reducción progresiva de distintas poblaciones moleculares de acuerdo a su distancia a la superficie, lo cual genera un desplazamiento del corrimiento Raman producto de que aquellas moléculas más alejadas (mayor corrimiento Raman) continúan aún siendo visibles (permanecen oxidadas). El comportamiento evidenciado en la Figura 8.11a se asemeja al encontrado para muchas moléculas (Figura 8.7d), aunque la pendiente es levemente diferente. En este sentido, la tendencia encontrada para el caso de moléculas individuales representa la verdadera variación del corrimiento Raman con el potencial aplicado, ya que cada caso logra resolver una a una las componentes del ensanchamiento inhomogéneo del pico Raman (sin promediar sobre el ensamble de moléculas).

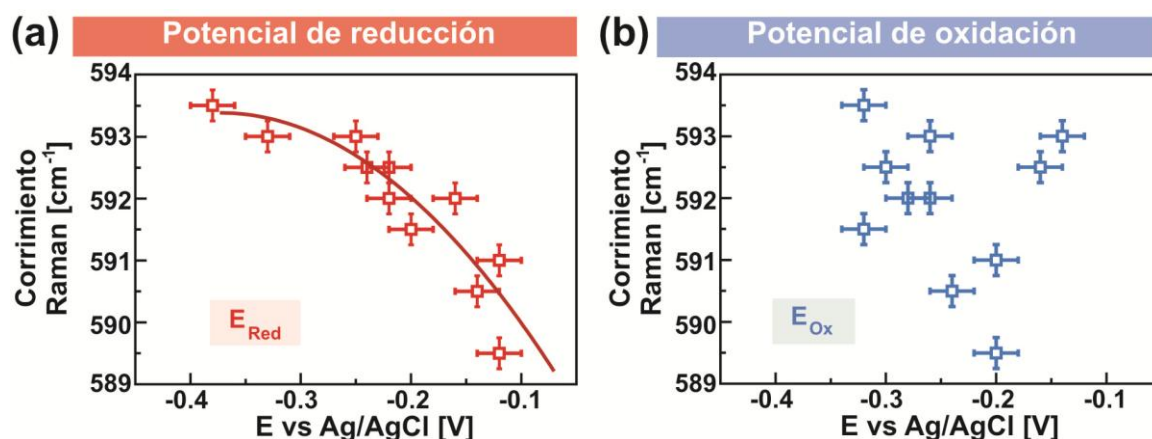


Figura 8.11. Dependencia del corrimiento Raman del modo a $\sim 590 \text{ cm}^{-1}$ del estado oxidado (resonante) de NB en función del potencial de reducción (a) y oxidación (b) de cada evento. Cada punto corresponde a un evento de molécula única de NB. La línea en (a) marca una tendencia (guía para el ojo).

Por otro lado, de la Figura 8.11 también se desprende que los procesos de oxidación y reducción tienen un comportamiento totalmente distinto frente a la frecuencia Raman del estado oxidado de NB. La explicación para esta asimetría es sencilla: si el cambio de configuración de la molécula ocurre durante el proceso de transferencia de carga es lógico que el corrimiento Raman del estado oxidado se corresponda con el potencial al cual dicha molécula es reducida (desde esa configuración inicial oxidada), mientras que el potencial al cual la molécula es oxidada debería corresponderse con la configuración de la molécula en estado reducido (a partir de la cual es oxidada), pero que no vemos por ser la forma no resonante (silenciosa) de NB. La misma explicación es válida si el cambio de configuración ocurre durante el estado reducido de la molécula, el cual no podemos monitorear mediante su señal SERS. A partir de los resultados experimentales trataremos ahora de buscar una explicación sobre la correlación entre E_{red} y corrimiento Raman.

En la literatura existen varios modelos simples de interacción de las vibraciones moleculares con la superficie, pero la mayoría de ellos son muy sensibles a los parámetros elegidos en el modelado.^{48, 50-51} Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, es posible afirmar que un debilitamiento de las frecuencias en todos los casos (y para todos los modelos) está asociado a una mayor interacción con la superficie. Este es el caso cuando, por ejemplo, la principal contribución del metal es la de proveer un canal de relajación para las vibraciones moleculares.⁵² Justamente esto es lo que sucede con el modo de 590 cm^{-1} de NB sobre la superficie de estas mismas NPs de Ag, tal como ha sido demostrado recientemente mediante experiencias SERS de alta resolución con control de temperatura.⁵² Este es un aspecto básico de un oscilador amortiguado: el debilitamiento de la frecuencia de resonancia cuando aumenta la amortiguación.

Nuestros resultados experimentales muestran que aquellas moléculas que interactúan más débilmente con la superficie (frecuencias más fuertes, mayor corrimiento Raman) son oxidadas a

potenciales más negativos que aquellas que interaccionan fuertemente con superficie (menores corrimientos Raman). A partir de aquí, sobre todos los efectos que podrían estar involucrados en el hecho de que exista una distribución de potenciales redox como así también en el ensanchamiento inhomogéneo de los picos Raman (pequeños cambios estructurales o contribuciones isotópicas de las moléculas, efectos del solvente, distancia molécula-superficie, etc), parecería que alguno de ellos es dominante en ambos casos (electroquímica y SERS) lo que avalaría las correlaciones encontradas en las Figura 8.11a y 8.7d. Por otra parte de acuerdo al mecanismo túnel si una molécula se encuentra “cerca” de la superficie, la transferencia de carga ocurrirá a menores sobrepotenciales respecto de aquellas que están más alejadas. De esta forma, la distancia molécula-superficie permite explicar la correlación encontrada para moléculas únicas a partir del mecanismo túnel y de la relajación de las vibraciones a través del metal (ver Esquema 8.2).

De esta forma vemos que para el caso estudiado el potencial redox está definido principalmente por la distancia entre la molécula y la superficie la cual puede ser revelada a través del espectro SERS de alta resolución. Los resultados experimentales son compatibles con la molécula “fija” en su estado oxidado (caracterizada por el corrimiento Raman constante del estado oxidado resonante) y también presumiblemente en su estado reducido (no resonante), ya que ambas especies redox son cationes en solución, producto de la transferencia de 2 electrones acoplada con 2 protones.⁵³ Dicha interacción electrostática podría ocurrir mediante la capa de aniones que rodea a las NPs de Ag. De esta forma, los cambios conformacionales podrían ocurrir durante la transferencia de carga desde/hacia la molécula. Estas hipótesis permiten explicar los fenómenos electroquímicos observados por SERS tanto a nivel de moléculas únicas como para muchas moléculas.

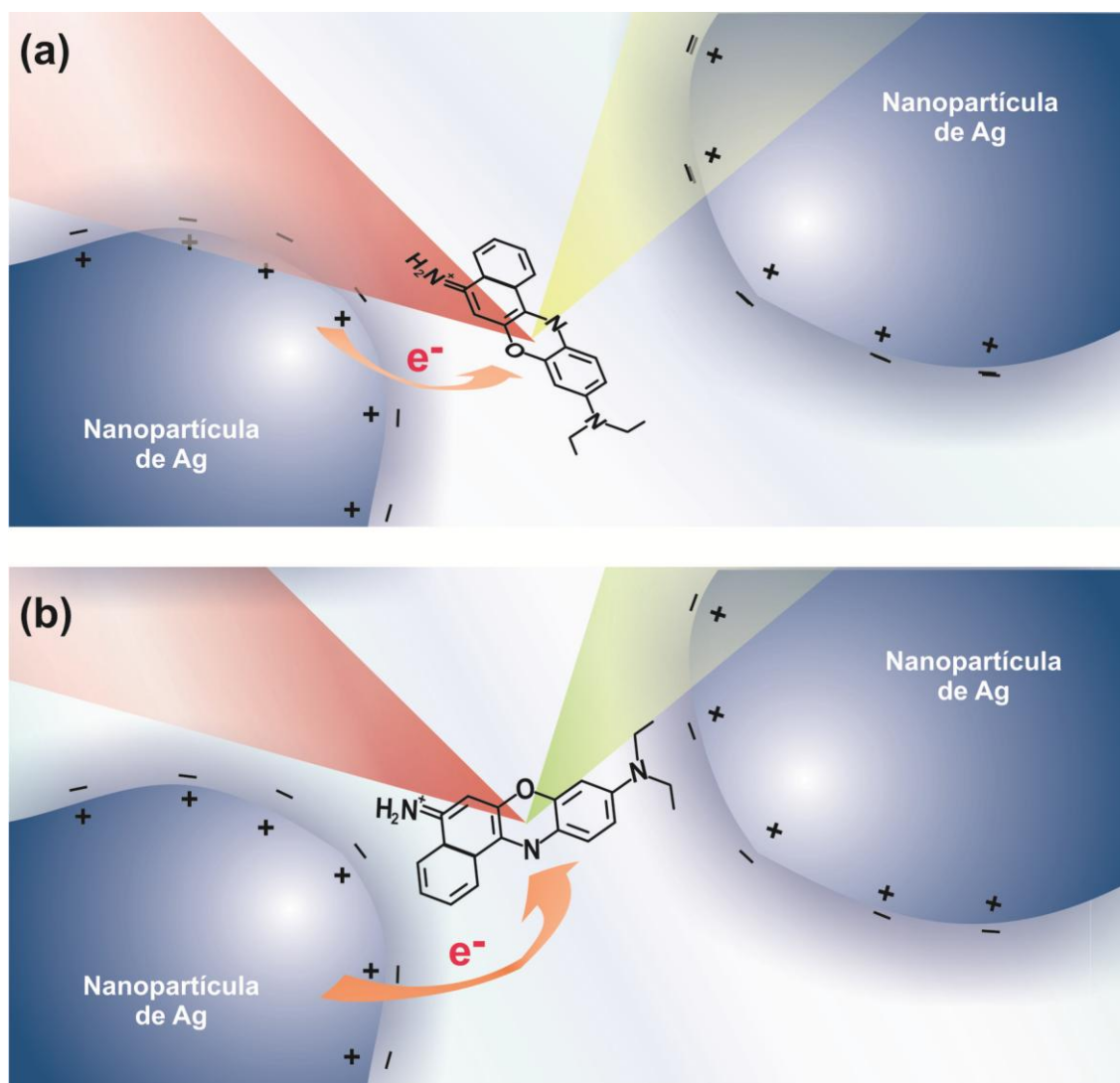
8.5 Conclusiones.

En este Capítulo demostramos que es posible monitorear procesos redox a nivel de moléculas únicas mediante SERS, obteniendo en forma conjunta información de la interfaz molécula-superficie.

A partir de los resultados experimentales es posible afirmar que el potencial redox de un ensamble de moléculas es la convolución espacio-temporal de eventos individuales que difieren entre ellos principalmente en la distancia de la molécula a la superficie. De esta forma, es posible evidenciar mediante la combinación de SERS a nivel de moléculas únicas y electroquímica, el carácter estocástico de los procesos redox a nivel de moléculas individuales.

Mediante medidas SERS de alta resolución es posible resolver el ensanchamiento inhomogéneo de los picos Raman revelando las distintas contribuciones moleculares al espectro. En este caso también resulta determinante la configuración de la molécula respecto a la superficie,

ya que en este caso el metal actúa como un canal de relajación de las vibraciones moleculares, generando una distribución de frecuencias de acuerdo a la proximidad de la molécula (oscilador) al metal. Dicha distancia molécula-superficie es también la principal responsable de la distribución de potenciales redox en la interfaz. Estas conclusiones solo pueden ser establecidas a partir de la combinación de ambas técnicas (electroquímica y SERS) a nivel de moléculas únicas, donde los resultados no son promediados sobre todo el conjunto.



Esquema 8.2. Representación de la interfaz NB-NPs Ag en el hot spot. El potencial de carga cero (PZC) de Ag en buffer fosfato a pH = 6 es de -0.9 V, por lo tanto, a lo largo de toda la región de potenciales aplicados la superficie permanece cargada positivamente rodeada por una capa de aniones (región gris alrededor de la NPs) a través de la cual interacciona la molécula de NB (catión en solución). La transferencia de carga ocurre por un mecanismo túnel a través de la capa de aniones. En el esquema se muestran dos situaciones posibles donde la molécula de NB se encuentra más cerca (a) o más lejos (b) de la superficie. En el primer caso la transferencia de carga ocurre a menores sobrepotenciales y la cercanía de la molécula a la superficie le provee un canal de relajación directo con lo cual se espera una disminución de la frecuencia de vibración (considerando un modelo sencillo de oscilador con amortiguación). Lo contrario ocurre para el caso (b).

Finalmente, logramos unificar a través de un caso modelo ambos métodos de detección (eléctrico y óptico) al nivel de moléculas únicas, último límite posible en la detección analítica de especies moleculares. A partir de aquí se abren nuevas posibilidades de estudios básicos y aplicados extendidos a otros sistemas.

8.6 Referencias.

- [1] Moth-Poulsen, K.; Bjornholm, T., Molecular electronics with single molecules in solid-state devices. *Nat Nano* **2009**, *4* (9), 551-556.
- [2] Venkataraman, L.; Klare, J. E.; Nuckolls, C.; Hybertsen, M. S.; Steigerwald, M. L., Dependence of single-molecule junction conductance on molecular conformation. *Nature* **2006**, *442* (7105), 904-907.
- [3] Venkataraman, L.; Park, Y. S.; Whalley, A. C.; Nuckolls, C.; Hybertsen, M. S.; Steigerwald, M. L., Electronics and Chemistry: Varying Single-Molecule Junction Conductance Using Chemical Substituents. *Nano Lett.* **2007**, *7* (2), 502-506.
- [4] Ward, D. R.; Halas, N. J.; Cizek, J. W.; Tour, J. M.; Wu, Y.; Nordlander, P.; Natelson, D., Simultaneous Measurements of Electronic Conduction and Raman Response in Molecular Junctions. *Nano Lett.* **2008**, *8* (3), 919-924.
- [5] Brinks, D.; Stefani, F. D.; Kulzer, F.; Hildner, R.; Taminiau, T. H.; Avlasevich, Y.; Mullen, K.; van Hulst, N. F., Visualizing and controlling vibrational wave packets of single molecules. *Nature* **2010**, *465* (7300), 905-908.
- [6] Bogani, L.; Wernsdorfer, W., Molecular spintronics using single-molecule magnets. *Nat. Mater.* **2008**, *7* (3), 179-186.
- [7] Díez-Pérez, I.; Hihath, J.; Lee, Y.; Yu, L.; Adamska, L.; Kozhushner, M. A.; Oleynik, I. I.; Tao, N., Rectification and stability of a single molecular diode with controlled orientation. *Nat Chem* **2009**, *1* (8), 635-641.
- [8] Spiller, D. G.; Wood, C. D.; Rand, D. A.; White, M. R. H., Measurement of single-cell dynamics. *Nature* **2010**, *465* (7299), 736-745.
- [9] English, B. P.; Min, W.; van Oijen, A. M.; Lee, K. T.; Luo, G.; Sun, H.; Cherayil, B. J.; Kou, S. C.; Xie, X. S., Ever-fluctuating single enzyme molecules: Michaelis-Menten equation revisited. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2* (2), 87-94.
- [10] Elf, J.; Li, G.-W.; Xie, X. S., Probing Transcription Factor Dynamics at the Single-Molecule Level in a Living Cell. *Science* **2007**, *316* (5828), 1191-1194.
- [11] Palacios, R. E.; Fan, F.-R. F.; Bard, A. J.; Barbara, P. F., Single-Molecule Spectroelectrochemistry (SMS-EC). *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (28), 9028-9029.
- [12] Huang, Z.; Chen, F.; D'Agosta, R.; Bennett, P. A.; Di Ventra, M.; Tao, N., Local ionic and electron heating in single-molecule junctions. *Nat Nano* **2007**, *2* (11), 698-703.
- [13] Nie, S.; Emory, S. R., Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science* **1997**, *275* (5303), 1102-1106.

- [14] Bard, A. J., Toward Single Enzyme Molecule Electrochemistry. *ACS Nano* **2008**, 2 (12), 2437-2440.
- [15] Lemay, S. G.; Kang, S.; Mathwig, K.; Singh, P. S., Single-Molecule Electrochemistry: Present Status and Outlook. *Acc. Chem. Res.* **2012**.
- [16] Palacios, R. E.; Fan, F.-R. F.; Grey, J. K.; Suk, J.; Bard, A. J.; Barbara, P. F., Charging and discharging of single conjugated-polymer nanoparticles. *Nat. Mater.* **2007**, 6 (9), 680-685.
- [17] Lei, C.; Hu, D.; Ackerman, E. J., Single-molecule fluorescence spectroelectrochemistry of cresyl violet. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* **2008**, 0 (43), 5490-5492.
- [18] Moerner, W. E.; Kador, L., Optical detection and spectroscopy of single molecules in a solid. *Phys. Rev. Lett.* **1989**, 62 (21), 2535-2538.
- [19] Ambrose, W. P.; Moerner, W. E., Fluorescence spectroscopy and spectral diffusion of single impurity molecules in a crystal. *Nature* **1991**, 349 (6306), 225-227.
- [20] Ambrose, W. P.; Goodwin, P. M.; Jett, J. H.; Van Orden, A.; Werner, J. H.; Keller, R. A., Single Molecule Fluorescence Spectroscopy at Ambient Temperature. *Chem. Rev.* **1999**, 99 (10), 2929-2956.
- [21] Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., Single-Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2012**, 63 (1), 65-87.
- [22] Blackie, E. J.; Ru, E. C. L.; Etchegoin, P. G., Single-Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Nonresonant Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131 (40), 14466-14472.
- [23] Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects. Elsevier.
- [24] Emory, S. R.; Nie, S.; Kneipp, K.; Harrison, G. R., Single-Molecule Raman Spectroscopy Fact or Fiction? *CHIMIA International Journal for Chemistry* **1999**, 53 (1-2), 35-37.
- [25] Otto, A., What is observed in single molecule SERS, and why? *J. Raman Spectrosc.* **2002**, 33 (8), 593-598.
- [26] Kneipp, K.; Wang, Y.; Kneipp, H.; Perelman, L. T.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S., Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *Phys. Rev. Lett.* **1997**, 78 (9), 1667-1670.
- [27] Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G.; Meyer, M., Enhancement factor distribution around a single surface-enhanced Raman scattering hot spot and its relation to single molecule detection. *J. Chem. Phys.* **2006**, 125 (20), 204701-13.
- [28] Futamata, M.; Maruyama, Y.; Ishikawa, M., Critical importance of the junction in touching Ag particles for single molecule sensitivity in SERS. *J. Mol. Struct.* **2005**, 735-736 (0), 75-84.
- [29] Futamata, M., Single molecule sensitivity in SERS: importance of junction of adjacent Ag nanoparticles. *Faraday Discuss.* **2006**, 132 (0), 45-61.
- [30] Etchegoin, P. G.; Le Ru, E. C.; Meyer, M.; Kneipp, K., SERS assertions addressed. *Physics Today* **2008**, 61 (8), 13-15.

- [31] Le Ru, E. C.; Meyer, M.; Etchegoin, P. G., Proof of Single-Molecule Sensitivity in Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) by Means of a Two-Analyte Technique. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (4), 1944-1948.
- [32] Etchegoin, P. G.; Meyer, M.; Blackie, E.; Le Ru, E. C., Statistics of Single-Molecule Surface Enhanced Raman Scattering Signals: Fluctuation Analysis with Multiple Analyte Techniques. *Anal. Chem.* **2007**, *79* (21), 8411-8415.
- [33] Blackie, E. Quantification of the enhancement factor in Surface-Enhanced Raman Scattering. PhD Thesis, Victoria University of Wellington Wellington, 2010.
- [34] Dieringer, J. A.; Lettan, R. B.; Scheidt, K. A.; Van Duyne, R. P., A Frequency Domain Existence Proof of Single-Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (51), 16249-16256.
- [35] Blackie, E.; Le Ru, E. C.; Meyer, M.; Timmer, M.; Burkett, B.; Northcote, P.; Etchegoin, P. G., Bi-analyte SERS with isotopically edited dyes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10* (28), 4147-4153.
- [36] Kleinman, S. L.; Ringe, E.; Valley, N.; Wustholz, K. L.; Phillips, E.; Scheidt, K. A.; Schatz, G. C.; Van Duyne, R. P., Single-Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Crystal Violet Isotopologues: Theory and Experiment. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (11), 4115-4122.
- [37] Etchegoin, P. G.; Le Ru, E. C.; Meyer, M., Evidence of Natural Isotopic Distribution from Single-Molecule SERS. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (7), 2713-2716.
- [38] Buchanan, S.; Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., Plasmon-dispersion corrections and constraints for surface selection rules of single molecule SERS spectra. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11* (34), 7406-7411.
- [39] Jadzinsky, P. D.; Calero, G.; Ackerson, C. J.; Bushnell, D. A.; Kornberg, R. D., Structure of a Thiol Monolayer-Protected Gold Nanoparticle at 1.1 Å Resolution. *Science* **2007**, *318* (5849), 430-433.
- [40] García-Morales, V.; Krischer, K., Fluctuation enhanced electrochemical reaction rates at the nanoscale. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2010**, *107* (10), 4528-4532.
- [41] Bard, A. J., Inner-Sphere Heterogeneous Electrode Reactions. Electrocatalysis and Photocatalysis: The Challenge. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (22), 7559-7567.
- [42] Salverda, J. M.; Patil, A. V.; Mizzon, G.; Kuznetsova, S.; Zauner, G.; Akkiliç, N.; Canters, G. W.; Davis, J. J.; Heering, H. A.; Aartsma, T. J., Fluorescent Cyclic Voltammetry of Immobilized Azurin: Direct Observation of Thermodynamic and Kinetic Heterogeneity. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (33), 5776-5779.
- [43] Hoeben, F. J. M.; Meijer, F. S.; Dekker, C.; Albracht, S. P. J.; Heering, H. A.; Lemay, S. G., Toward Single-Enzyme Molecule Electrochemistry: [NiFe]-Hydrogenase Protein Film Voltammetry at Nanoelectrodes. *ACS Nano* **2008**, *2* (12), 2497-2504.
- [44] Zhang, P.; Cai, J.; Chen, Y.-X.; Tang, Z.-Q.; Chen, D.; Yang, J.; Wu, D.-Y.; Ren, B.; Tian, Z.-Q., Potential-Dependent Chemisorption of Carbon Monoxide at a Gold Core-Platinum Shell Nanoparticle Electrode: A Combined Study by Electrochemical in Situ Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Density Functional Theory. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *114* (1), 403-411.

- [45] Etchegoin, P. G.; Le Ru, E. C., Resolving Single Molecules in Surface-Enhanced Raman Scattering within the Inhomogeneous Broadening of Raman Peaks. *Anal. Chem.* **2010**, *82* (7), 2888-2892.
- [46] Titus, E. J.; Weber, M. L.; Stranahan, S. M.; Willets, K. A., Super-Resolution SERS Imaging beyond the Single-Molecule Limit: An Isotope-Edited Approach. *Nano Lett.* **2012**, *12* (10), 5103-5110.
- [47] Willets, K. A.; Stranahan, S. M.; Weber, M. L., Shedding Light on Surface-Enhanced Raman Scattering Hot Spots through Single-Molecule Super-Resolution Imaging. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2012**, *3* (10), 1286-1294.
- [48] Ford, G. W.; Weber, W. H., Shift and broadening of the vibrational mode for a diatomic molecule adsorbed on a metal surface. *Surf. Sci.* **1983**, *129* (1), 123-136.
- [49] Wang, Y.; Sevinc, P. C.; He, Y.; Lu, H. P., Probing Ground-State Single-Electron Self-Exchange across a Molecule–Metal Interface. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (18), 6989-6996.
- [50] Ford, G. W.; Weber, W. H., Electromagnetic interactions of molecules with metal surfaces. *Phys. Rep.* **1984**, *113* (4), 195-287.
- [51] Ueba, H., Vibrational state of the chemisorbed molecule on metal surfaces: Role of electron-hole pair excitation. *J. Chem. Phys.* **1982**, *77* (7), 3759-3766.
- [52] Artur, C.; Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., Temperature Dependence of the Homogeneous Broadening of Resonant Raman Peaks Measured by Single-Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2011**, *2* (23), 3002-3005.
- [53] Ni, F.; Feng, H.; Gorton, L.; Cotton, T. M., Electrochemical and SERS studies of chemically modified electrodes: Nile Blue A, a mediator for NADH oxidation. *Langmuir* **1990**, *6* (1), 66-73.

Capítulo 9

Conclusiones Generales

A lo largo del presente trabajo de Tesis doctoral hemos abordado, mediante distintos ejemplos, problemáticas asociadas a la interfaz metal-molécula en sistemas con potenciales aplicaciones a sensores químicos. De esta forma hemos tratado de comprender desde un punto de vista microscópico procesos que van desde reacciones químicas superficiales a procesos de transferencia de carga (mediados por aplicación de potencial o incidencia de luz) estudiando para ello la influencia de la nanoestructuración del metal, el solvente, las fuerzas intermoleculares, la conductancia de moléculas, la estructura electrónica del ensamble metal-molécula y la orientación molecular.

Comenzamos describiendo los mecanismos de degradación de la interfase Au-S en monocapas autoensambladas (SAMs) de tioles sobre superficies de Au. Independientemente del carácter alifático o aromático de las moléculas se encontró que la generación de especies disulfuro es la principal vía de deterioro de las SAMs. En el caso de algunos tioles, como la 4-mercaptopiridina (PyS), el proceso de degradación puede proseguir generando S atómico que recubre completamente la superficie del sustrato metálico. En superficies nanoestructuradas el enlace Au-S es de mayor energía con lo cual se desfavorecen los procesos de degradación. Del mismo modo, la elección de solventes (ya sea para el autoensamblado como para la conservación de la plataforma SAM-Au) donde los productos de degradación sean poco solubles, es un camino para generar dispositivos más estables.

Proseguimos analizando la importancia de las fuerzas de van der Waals en el proceso de autoensamblado molecular sobre superficies de Au. Fue posible demostrar en el caso de una cianina tiolada que la interacción π - π entre moléculas es tan importante que la misma predomina frente a la estabilización del enlace S-Au, lo cual se refleja en la formación de agregados

moleculares que presentan interesantes propiedades ópticas. La posibilidad de estabilizar mediante una unión tiolato estos agregados a distintas superficies de Au (tales como nanopartículas) genera nuevas posibilidades de aplicación en diversos sistemas de sensado.

Otro punto estudiado fue la capacidad y naturaleza química del grupo terminal de las SAMs para coordinar cationes metálicos capaces de ser detectados electroquímicamente. A través del ejemplo estudiado fue posible determinar que la principal limitante en el proceso de transferencia de carga es la longitud del espaciador molecular más allá del carácter alifático/aromático del mismo o de la naturaleza química del grupo terminal. A su vez demostramos la posibilidad de generar estructuras complejas tridimensionales mediante química de coordinación y la liberación controlada de cationes metálicos inducida electroquímicamente.

Por último, en esta primera parte de las Tesis referida a moléculas quimisorbidas sobre sustratos metálicos, abordamos la construcción de plataformas plasmónicas bimetalicas. Se construyeron nanocavidades metálicas de Au las cuales fueron posteriormente modificadas mediante electrodeposición metálica con cantidades variables de Ag (1, 10 y 100 capas). Empleando espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS) se estudió la respuesta plasmónica de dichos sustratos utilizando una molécula tiolada como sonda, tal como la PyS. Para el caso de 1 monocapa de Ag se encontró la existencia de un proceso de transferencia de carga molécula-metal mediado por luz. Mediante un modelo teórico de la respuesta SERS fue posible determinar que el parámetro fundamental que origina dicho proceso es un aumento de la distancia entre el orbital HOMO de la molécula y un orbital (aceptor del electrón) por debajo del nivel de Fermi del metal (Au+1Ag). De esta forma fue posible establecer mediante datos experimentales y teóricos una explicación microscópica del “efecto químico” en SERS.

En la segunda parte de este trabajo abordamos problemas de coadsorción de especies moleculares: la interfaz metal-molécula para el caso de especies fisorbidas. Dada la inespecificidad en la interacción metal-molécula para este caso (en contraposición de lo que sucede con moléculas tioladas) una de las problemáticas más habituales en la detección óptica de este tipo de sistemas es la congestión espectral. En esta Tesis realizamos un abordaje a dicho inconveniente a partir del desarrollo de un método de modulación electroquímica de la señal SERS que en conjunto con técnicas de análisis de fluctuaciones (análisis de componentes principales y transformada de Fourier) permite desacoplar los espectros Raman de las distintas especies presentes en la muestra.

Finalmente realizamos estudios de monitoreo de procesos de transferencia de carga a nivel de moléculas individuales utilizando SERS. Fue posible estudiar la evolución del proceso redox de una molécula única midiendo en forma simultánea su espectro Raman. De esta forma demostramos el carácter estocástico del potencial redox, el cual es una convolución espacio-temporal de moléculas con distintos entornos. Mediante medidas de alta resolución espectral y temporal demostramos que la orientación molecular respecto de la superficie (electrodo) es la

principal contribución que permite explicar el potencial y corrimiento Raman observados para cada uno de los eventos individuales.

Los resultados presentados en este trabajo de Tesis Doctoral contribuyen a la comprensión de distintos fenómenos que acontecen en la interfaz metal-molécula. Mediante estudios moleculares, plasmónicos y electroquímicos hemos mostrado nuevas soluciones, estrategias y métodos para el perfeccionamiento y/o desarrollo de métodos de detección ultrasensible de moléculas.

Publicaciones asociadas a esta Tesis

Capítulo 4

E. Cortés, A. Rubert, G. Benitez, P. Carro, M. E. Vela, R. C. Salvarezza. Enhanced stability of thiolate SAMs on nanostructured gold substrates. *Langmuir*, 25, 5661–5666, **2009**.

A. Ramirez, **E. Cortés**, A. A. Rubert, P. Carro, G. Benitez, M. E. Vela, R. C. Salvarezza. Complex Surface Chemistry of 4-Mercaptopyridine Self-Assembled Monolayers on Au(111). *Langmuir*, 28, 6839-6847, **2012**.

E. Pensa, **E. Cortés**, G. Corthey, P. Carro, C. Vericat, M. H. Fonticelli, G. Benitez, A. A. Rubert, R. C. Salvarezza. The chemistry of the sulfur-gold interface: in search of a unified model. *Accounts of Chemical Research*, 45, 8, 1183-1192, **2012**.

Capítulo 5

R. Urcuyo, **E. Cortés**, A. A. Rubert, G. Benitez, M. Montero, N. G. Tognalli, A. Fainstein, M. E. Vela, R. C. Salvarezza. Aromatic and aliphatic thiol SAMs on Au: anchoring and delivering Cu species. *J. Phys. Chem. C*, 115, 50, 24707–24717, **2011**.

G. Menéndez, **E. Cortés**, D. Grumelli, L. P. Méndez de Leo, F. J. Williams, N. G. Tognalli, A. Fainstein, M. E. Vela, E. A. Jares-Erijman, R. C. Salvarezza. Self-assembly of thiolated cyanine aggregates on Au(111) and Au nanoparticle surfaces. *Nanoscale*, 4, 531-540, **2012**.

Capítulo 6

E. Cortés, N. Tognalli, A. Fainstein, M. E. Vela, R. C. Salvarezza. Ag-modified Au nanocavity SERS substrates. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11, 7469-7475, **2009**.

N. G. Tognalli, **E. Cortés**, A. D. Hernández-Nieves, P. Carro, G. Usaj, C. A. Balseiro, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, A. Fainstein. From single to multiple Ag-layer modification of Au nanocavity substrates: a tunable probe of the chemical SERS mechanism. *ACS Nano*, 5, 7, 5433-5443, **2011**.

Patente de Invención. N. Tognalli, A. Fainstein, E. J. Calvo, **E. Cortés**, M. E. Vela, R. C. Salvarezza. Nanocavidades de oro, soporte, dispositivo sensor y procedimiento. P20100102376. Fecha: 02/07/2010 (en trámite).

Capítulo 7

E. Cortés, P. G. Etchegoin, E. C. Le Ru, A. Fainstein, M. E. Vela, R. C. Salvarezza. Electrochemical Modulation for Signal Discrimination in Surface Enhanced Raman Scattering (SERS). *Analytical Chemistry*, 82, 6919–6925, **2010**.

Capítulo 8

E. Cortés, P. G. Etchegoin, E. C. Le Ru, A. Fainstein, M. E. Vela, R. C. Salvarezza. Monitoring the electrochemistry of single molecules by surface-enhanced Raman spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 132, 18034–18037, **2010**.

E. Cortés, P. G. Etchegoin, E. C. Le Ru, A. Fainstein, M. E. Vela, R. C. Salvarezza. Strong correlation between molecular configurations and charge transfer process probed at the single molecule level by SERS. *J. Am. Chem. Soc.*, 135, 2809–2815, **2013**.

Apéndice A

Funciones dieléctricas de Au y Ag

Para comprender la importancia de las funciones dieléctricas $\varepsilon(\omega)$ de los metales en su respuesta plasmónica consideremos un ejemplo sencillo de resolver analíticamente. Este es el caso cuando se utiliza un láser para iluminar una esfera metálica rodeada por un medio con una constante dieléctrica relativa ε_M (siendo la dimensión de la esfera mucho menor a la longitud de onda del haz incidente).¹ A partir de la aproximación electrostática es posible encontrar el campo eléctrico resultante dentro de la esfera (E_{in}), producto de la interacción de la misma con el campo electromagnético, el cual resulta proporcional al campo incidente E_0 :

$$E_{in} = \frac{3\varepsilon_M}{\varepsilon(\omega) + 2\varepsilon_M} E_0 \quad A.1$$

Para lograr idealmente un campo divergente dentro de la esfera el denominador de la expresión A.1 debería ser cero, para lo cual $\varepsilon(\omega) \approx -2\varepsilon_M$. En el caso de los metales, esta condición se puede alcanzar si para dada una longitud de onda [$\text{Re } \varepsilon(\omega) = -2\varepsilon_M$] y [$\text{Im } \varepsilon(\omega) = 0$]. Esto implica que a esa longitud de onda hay una gran respuesta óptica de absorción y dispersión de luz (condición de resonancia). La parte real de la función dieléctrica del metal determina la posición (frecuencia o longitud de onda) de la resonancia, mientras que la parte imaginaria establece hasta donde se extiende la misma (define el ancho). El resultado es entonces una resonancia localizada (plasmon de superficie localizado) la cual puede ser observada experimentalmente mediante medidas de absorción UV-visible de una solución de NPs (ver Capítulo 5, Figura 5.6a).

La respuesta plasmónica de un dado material no solo depende de su constante dieléctrica sino también de su geometría. De esta forma, las condiciones de resonancia plateadas para la ecuación A.1 son aplicables solo para el caso de NPs. Si cambiamos la geometría del objeto encontraremos

otro tipo de condiciones. Sin embargo, en todos los casos e independientemente de la geometría dichas condiciones de resonancia se alcanzan cuando la parte imaginaria de la función dieléctrica del metal es aproximadamente cero y cuando la parte real de la misma es negativa [$\text{Re } \epsilon(\omega) < 0$] y [$\text{Im } \epsilon(\omega) \approx 0$]. Es así como cualquier metal con una función dieléctrica de este tipo tendrá excelentes propiedades plasmónicas, mientras que la geometría del objeto y la constante dieléctrica del medio definirán las condiciones exactas de resonancia.

Para los intereses de la espectroscopía SERS así como también para sus aplicaciones es deseable encontrar un metal con una función dieléctrica como la descrita, pero en el rango visible del espectro electromagnético. En la Figura A.1 se presentan las funciones dieléctricas (parte real e imaginaria) de Au y Ag en dicha región del espectro.

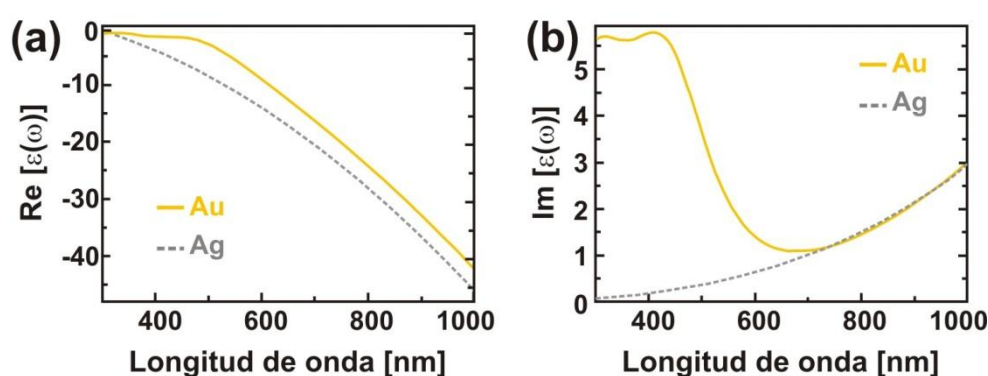


Figura A.1: Funciones dieléctricas de Au y Ag en la región visible del espectro electromagnético. a) Parte real y b) Parte imaginaria. Datos extraídos de la referencia 2.

Como puede verse, en ambos casos (Au y Ag) la parte real de la función dieléctrica es negativa (siempre más negativa para Ag que para Au), siendo esta una condición deseable en materiales plasmónicos. Respecto de la parte imaginaria, en el caso del Au, existe una absorción interbanda para $\lambda < 600$ nm lo que se refleja en [$\text{Im } \epsilon(\omega) > 0$] y la cual da origen al color amarillo del Au. Este hecho es el que determina que en la región de menores λ del espectro visible la Ag sea un “mejor material” plasmonico respecto del Au. Sin embargo, para $\lambda > 600$ nm ambos cumplen con las condiciones descritas bajo las cuales hay presencia de plasmones superficiales.

Referencias.

- [1] Jackson, J., *Classical Electrodynamics Third Edition*. Wiley: 1998.
- [2] Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G., *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*. Elsevier: 2009.

Apéndice B

Análisis de componentes principales (PCA) y sus modificaciones

En el Capítulo 7 describimos los puntos más importantes referidos al análisis de componentes principales y citamos además bibliografía complementaria sobre el fundamento de este método, que hoy en día se encuentra ampliamente difundido y es utilizado en varias aplicaciones y áreas de la ciencia. Sin embargo, en el análisis de los espectros SERS se introdujo una modificación respecto del método PCA clásico, a la cual nos referimos oportunamente como “rotación” de los autovectores. A continuación brindaremos brevemente los fundamentos del método PCA y sus modificaciones.

La serie de datos, en nuestro caso espectros en función del tiempo, se pueden condensar en la siguiente matriz rectangular:

$$M = \left. \begin{array}{c} \overbrace{\begin{array}{ccc} \lambda_1 & \lambda_2 & \dots & \lambda_N \\ I_{t_1} & I_{t_1} & \dots & I_{t_1} \\ \lambda_1 & \lambda_2 & \dots & \lambda_N \\ I_{t_2} & I_{t_2} & \dots & I_{t_2} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \lambda_1 & \lambda_2 & \dots & \lambda_N \\ I_{t_T} & I_{t_T} & \dots & I_{t_T} \end{array}}^{\text{Longitudes de onda (N)}} \\ \left. \begin{array}{c} \end{array} \right\} \text{Tiempos (T)} \quad B.1 \end{array} \right.$$

donde cada fila corresponde al espectro para un dado tiempo y cada columna a las longitudes de onda en las que podemos descomponer cada uno de esos espectros (en este caso son los 1024

pixeles de la CCD). Continuando con la implementación “clásica” de PCA generamos ahora la misma matriz M que en el caso anterior pero a cada fila le sustraemos el valor medio:

$$\hat{M} = \begin{pmatrix} \hat{\lambda}_j \\ I_{t_i} \end{pmatrix} \quad B.2$$

donde:

$$\hat{I}_{t_i}^{\lambda_j} = I_{t_i}^{\lambda_j} - \bar{I}_{t_i} \quad \bar{I}_{t_i} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N I_{t_i}^{\lambda_j} \quad B.3$$

esto genera una nueva matriz de iguales dimensiones a la anterior $\hat{M} = (T \times N)$ pero ahora, para cada tiempo, hay un espectro de intensidad promedio cero.

A partir de aquí construimos la matriz de covarianza $V = (N \times N)$ para cada una de las N

columnas de las matriz promedio \hat{M} de acuerdo a:

$$V = (COV(\hat{I}_{t_i}^{\lambda_j}, \hat{I}_{t_i}^{\lambda_k})) \quad B.4$$

En el caso de la ecuación B.4 estimamos la covarianza de las intensidades entre dos longitudes de onda (λ_j y λ_k), la cual se calcula a partir del siguiente estimador:

$$COV(\hat{I}_{t_i}^{\lambda_j}, \hat{I}_{t_i}^{\lambda_k}) = \frac{\sum_{i=1}^T \left(\hat{I}_{t_i}^{\lambda_j} - \left\langle \hat{I}^{\lambda_j} \right\rangle \right) \left(\hat{I}_{t_i}^{\lambda_k} - \left\langle \hat{I}^{\lambda_k} \right\rangle \right)}{(T-1)} \quad B.5$$

donde $\hat{I}^{\lambda_j}, \hat{I}^{\lambda_k}$ son los promedios temporales definidos como:

$$\left\langle \hat{I}^{\lambda_j} \right\rangle = \frac{1}{T} \sum_{i=1}^T \hat{I}_{t_i}^{\lambda_j} \quad B.6$$

La matriz de covarianza V será entonces una matriz cuadrada ($N \times N$) ya que su dimensionalidad está definida por la varianza entre las distintas longitudes de onda sin importar el número de espectros (T). Sin embargo, a mayor cantidad de espectros, mayor será la confiabilidad estadística de V .

A partir de aquí es posible entonces reducir la dimensionalidad del conjunto de datos. Para ello, se obtienen los N autovalores y N autovectores de la matriz de covarianza, ordenados según

su importancia. De esta forma, el primer autovector $f_1^{\lambda_j}$ ($j = 1, 2, \dots, N$) puede ser considerado una función de la longitud de onda que rescata los aspectos más importantes de la serie de datos, es el componente principal (el de mayor varianza). El método de PCA representa una gran ventaja en el análisis estadístico cuando el conjunto inicial de datos puede ser descripto por los primeros (pocos) autovectores. En nuestro caso, el método es siempre aplicado a una mezcla de dos componentes, con lo cual (como ambas especies fluctúan distinto) dos autovectores serían suficientes para describir el comportamiento de la mezcla. Es decir, cualquier espectro de la serie temporal puede ser representando como una combinación lineal de los primeros dos autovectores ($f_1^{\lambda_j}$ y $f_2^{\lambda_j}$) de la matriz de covarianza.

$$I_{t_i}^{\lambda_j} = \alpha_i f_1^{\lambda_j} + \beta_i f_2^{\lambda_j} + \bar{I}_{t_i} \quad B.7$$

Para esto es necesario obtener la serie de coeficientes (α_i, β_i) por los cuales es necesario multiplicar a cada autovector en la combinación lineal para representar a cada espectro de la serie temporal (necesitamos $2 \times T$ coeficientes). Estos se obtienen a partir del producto escalar de cada uno de los espectros por los respectivos autovectores:

$$C = \begin{bmatrix} \alpha_1 & \beta_1 \\ \alpha_2 & \beta_2 \\ \dots & \dots \\ \alpha_T & \beta_T \end{bmatrix} = \hat{M} \begin{bmatrix} f_1^{\lambda_1} & f_2^{\lambda_1} \\ f_1^{\lambda_2} & f_2^{\lambda_2} \\ \dots & \dots \\ f_1^{\lambda_N} & f_2^{\lambda_N} \end{bmatrix} \quad B.8$$

Aquí finaliza el análisis convencional de PCA a partir del cual es posible reconstruir toda la serie de datos originales (utilizando la ecuación B.7 para cada T). A continuación trataremos de mostrar gráficamente la operación de “rotación” que llevamos a cabo en el análisis de nuestros datos.

En la Figura B.1b graficamos los dos autovectores obtenidos en función de la longitud de onda (utilizamos una escala de energía reducida). De la misma forma la matriz de coeficientes C podría graficarse (Figura B.1a) en un espacio de dos dimensiones donde cada fila corresponde a un punto del gráfico (si tomamos como ejes a $x_i = \alpha_i$, $y_i = \beta_i$). Como puede verse, la mayoría de los eventos de este último gráfico se sitúan en torno a los ejes; esto implica que gran parte de los espectros pueden ser representados por un dado valor de α_i o de β_i . La posición exacta de cada evento depende de la intensidad de cada autovector (o espectro). Sin embargo, como vemos en la Figura B.1b, estos dos autovectores no representan la

situación física “real” de nuestras experiencias; es decir cada autovector tiene contribuciones de las dos especies moleculares presentes. Si nuestro objetivo es estudiar la variación de cada componente (en forma separada) debemos realizar una operación de rotación de los mismos. Técnicamente esta es la diferencia entre componentes principales y componentes independientes. Idealmente entonces desearíamos tener dos autovectores que representen cada uno la contribución de cada especie molecular y consecuentemente una matriz de coeficientes positivos que arrojen la contribución de cada una de ellas a cada uno de los T espectros. Esto puede lograrse multiplicando la matriz de coeficientes C y la matriz de autovectores (ecuación B.8) por una matriz de rotación R. Como resultado de esta transformación lineal en la Figura B.1d se muestran los nuevos autovectores rotados que representan la contribución de cada especie molecular de forma independiente. De la misma forma, los coeficientes (ahora positivos) se muestran en la Figura B.1c. Mayores detalles sobre la matriz R pueden encontrarse en la referencias 3.¹

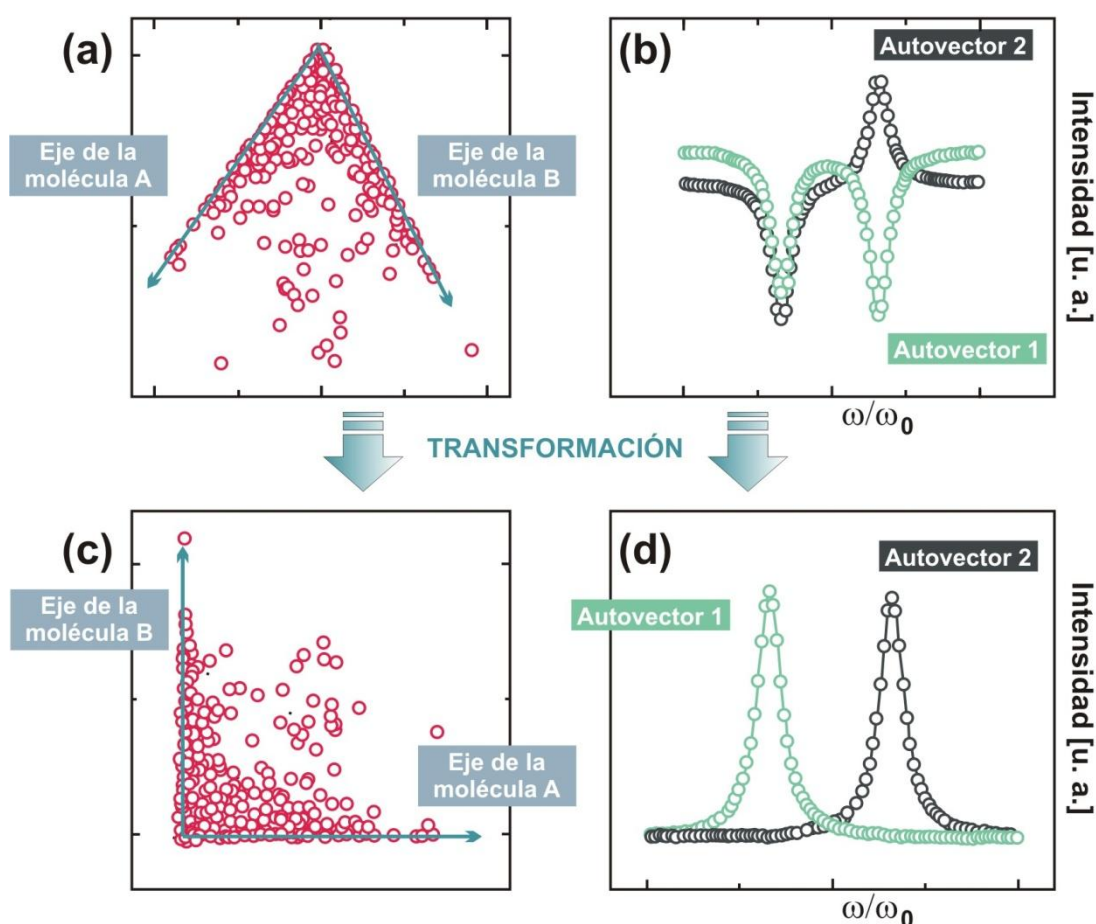


Figura B.1: a) Representación bidimensional de los coeficientes de la matriz C donde cada eje representa a los dos componentes principales del análisis de PCA. b) Autovectores “originales” de la matriz de covarianza V. c) Rotación de los coeficientes para obtener valores positivos de los mismos. d) Autovectores rotados mostrando los componentes independientes del análisis de PCA modificado.

Referencias.

- [1] Etchegoin, P. G.; Meyer, M.; Blackie, E.; Le Ru, E. C., Statistics of Single-Molecule Surface Enhanced Raman Scattering Signals: Fluctuation Analysis with Multiple Analyte Techniques. *Anal. Chem.* **2007**, 79 (21), 8411-8415.

Agradecimientos

Estadísticamente, el 50% de las personas que lleguen a esta Tesis comenzaran a leerla desde acá, por lo que trataré de esforzarme en entusiasmarlos para que continúen con el resto de la lectura. Es quizás una de las partes más importantes de este trabajo, ya que sin la colaboración y apoyo constante de las personas que figuran en esta sección, esta Tesis no podría haberse llevado a cabo. A todos, muchas gracias.

En primer lugar quiero agradecer a mi directora María Elena Vela por su apoyo constante, sus consejos, su tiempo, su paciencia, su sabiduría y sus enseñanzas. Esta Tesis no sería lo que es sin ella. A Roberto Salvarezza, por estar siempre, por su dosis diaria de optimismo y motivación y por las infinitas discusiones de las que tanto aprendí. Y a Alejandro Fainstein, por sumarse a esta iniciativa de trabajar en conjunto, su completa disposición, sus explicaciones y su enorme generosidad en las más de diez estadías de trabajo que realicé en Bariloche. A los tres, muchas gracias por impulsarme y darme la total libertad para llevar adelante cada una de mis iniciativas y por el soporte científico y humano incondicional de estos años. Creo que la mejor forma de resumir cuán agradecido estoy es decirles que si retrocediéramos en el tiempo los volvería elegir a los tres para hacer la Tesis que hicimos.

En el mismo orden de importancia y agradecimiento está Pablo Etchegoin, con quien compartí más de seis meses increíbles de aprendizaje constante, charlas, café y algunos mates, en su laboratorio en la Universidad de Victoria en Nueva Zelanda. A él y a Eric Le Ru muchas gracias por cederme completamente sus instalaciones y equipos durante mis estadías y por las explicaciones, ideas y buena onda, que hicieron de estos viajes una experiencia inolvidable.

A todos mis compañeros del laboratorio de Nanoscopías y Fisicoquímica de Superficies del INIFTA. En especial a Guillermo Benítez y Aldo Rubert por las medidas de XPS y las discusiones de los resultados. A Carolina Vericat y Mariano Fonticelli por las discusiones y

consejos experimentales. A Antonieta Daza Millone por su ayuda desinteresada y viajes realizados. A Alejandro Ramírez y Doris Grumelli, por su colaboración en las medidas y discusiones de algunos de los resultados de los Capítulos 4 y 5 respectivamente. Y al resto de mis compañeros por las risas, mates, charlas, eventos y buen tiempo compartido, en especial a Federico Castez, Gastón Corthey, Alejandra Floridia, Julio Azcárate, Constanza Flores, Celeste Dalfovo, Laura Arnal, Agustín Picco, Bárbara Blum, Patricia Schilardi y Marcos Madrid.

Un agradecimiento muy especial a Nicolás Tognalli (Centro Atómico Bariloche - Instituto Balseiro, Bariloche) quien me brindó siempre todo su apoyo, colaboración, tiempo y confianza en mis primeras estadías en el CAB; me enseñó a usar el equipo Raman (y todos sus trucos) y con quien compartí largas tardes y noches de medida. También al resto de mis compañeros del Laboratorio de Fotónica y Optoelectrónica del CAB-IB por darme una mano cuando lo necesité, en especial a Guillermo Rozas, Florencia Pascual Winter y Axel Bruchhausen.

A mis compañeros del Laboratorio Raman de la Universidad de Victoria en Wellington, Nueva Zelanda. En especial a Baptiste Auguie, Camille Artur, Walter Somerville y Stefan Meyer por ayudarme cada vez que lo necesité.

A todo el personal de los tres centros de investigación: INIFTA, CAB-IB y UVW por su colaboración en el diseño y fabricación de celdas, adaptaciones, etc.

Agradezco al resto de las personas de otras Instituciones que participaron y aportaron su conocimiento y experiencia en distintas partes de este trabajo. A Pilar Carro, de la Universidad de La Laguna, Tenerife, España por los cálculos de estabilidad de SAMs del Capítulo 4 y por ayudarnos junto a Alexander Hernández-Nieves, Gonzalo Usaj y Carlos Balseiro (CAB-IB, Bariloche) a encontrar los parámetros y valores del modelo teórico del Capítulo 6. A Guillermo Menéndez y Elizabeth Jares-Erijman, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas, UBA por la síntesis de la cianina tiolada y a Federico Willams, INQUIMAE-UBA por los XPS de dicha cianina, Capítulo 5. A Roberto Urcuyo, Universidad de Costa Rica por su colaboración con las primeras medidas electroquímicas del complejo de acetato de cobre.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Facultad de Ciencias Exactas - Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Universidad de Victoria - Nueva Zelanda (VUW), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Centro Argentino-Brasilero de Nanociencia y Nanotecnología (CABNN), National Science Foundation (NSF), Universidad de Hamburgo - Alemania, International Center for Theoretical Physics (ICTP) – Italia; por las diversas fuentes de financiamiento que permitieron llevar adelante este trabajo de Tesis como así también realizar los correspondientes cursos de formación.

A mis compañeros de la cátedra de Fisicoquímica de la Facultad de Ciencias Exactas-UNLP por los reemplazos ante cada viaje y por las tardes y asados compartidos.

A mis amigos les agradezco los maravillosos momentos que pasamos juntos y les pido disculpas por las ausencias, los viajes y la distancia que a veces impidieron que pasáramos más tiempo juntos, en especial a Pita, Gaby, Rose y Caro.

Finalmente, el agradecimiento más especial de todos a mi familia. A mis tíos y primos, en especial a mi tía Silvia que siempre estuvo a mi lado. A Ceci, mi cuñada, por su alegría contagiosa. A mis abuelas por su cariño inmenso y por preocuparse constantemente. A mis papas por acompañarme en todos y cada uno de los pasos de este largo camino, por estar siempre, por ayudarme y porque gracias a ellos y a sus enseñanzas fue posible llegar hasta acá. A mi hermano, Fede, por aguantarme, cocinarme, entenderme y por los buenos momentos que vivimos juntos durante todo este tiempo. Finalmente a Eva, mi novia, por hacer que los días sean más lindos, porque sin su compañía, ayuda, comprensión y tiempo hubiese sido imposible realizar esta Tesis.

A todos, gracias totales.

Emi.

