

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD
CATÓLICA DEL PERÚ**

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA



Revisión teórica de los plasmones, interacciones con el fotón y sus aplicaciones en Biomedicina

Trabajo de investigación para obtener el grado académico de Bachiller en ciencias con mención en Física presentado por:

Francesco Flavio Victor Perez Andia

Asesor:

Dr. Jorge Andres Guerra Torres

Lima, 2021

Resumen

Los plasmones describen las oscilaciones colectivas de la densidad del gas de electrones libres. Estos son capaces de interactuar, al igual que otras cuasipartículas, con los fotones para dar origen a nuevos tipos de cuasipartículas. De todas ellas, los Surface Plasmon en interfaces planas metal-dieléctrico o en nanopartículas metálicas han recibido considerable interés por parte de la comunidad científica debido a sus propiedades ópticas difícilmente alcanzables con otros materiales ópticos. En adición, el campo eléctrico asociado con los Surface Plasmon en nanopartículas mejora significativamente variando las propiedades físicas de la propia nanopartícula o el medio que lo rodea. Actualmente, estas ventajas se utilizan en el campo de la medicina y el estudio de procesos biológicos, las cuales requieren de instrumentos de detección que posean una alta sensibilidad. Por ello, se han utilizado plasmones para desarrollar nuevas técnicas de contraste de imágenes, etiquetado celular, sensores con alta sensibilidad, tratamiento térmico para cáncer entre otros. En adición, el campo eléctrico mejorado alrededor de un grupo de nanopartículas permite mejorar las señales Raman para desarrollar SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy). Por ello, los plasmones ofrecen nuevas posibilidades en Biomedicina para desarrollar nuevas técnicas de detección o tratamiento que compitan con los enfoques convencionales como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), la aglutinación de látex (LA) y los tratamientos o métodos de detección para diferentes tipos de cáncer. Esto demuestra que el uso de plasmones en el campo de la Biomedicina tiene bastante relevancia para aplicaciones futuras.

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a mi asesor el Dr Jorge Andres Guerra Torres y a Kevin Angello Lizarraga Olivares, quienes, a pesar de las dificultades del año, me brindaron las herramientas y el apoyo para llevar a cabo este trabajo. Además, agradecer a mi familia que siempre me brinda su apoyo en todo momento.



Tabla de contenido

Índice de figuras		v
1	Introducción	1
2	Teoría cuántica del plasmón	2
3	Interacciones con el fotón	7
3.1	Acoplamiento en el medio	8
3.1.1	Bulk Plasmon Polariton	9
3.1.2	Phonon Polariton	10
3.2	Acoplamientos en la interfaz entre dos medios	12
3.2.1	Surface Phonon Polariton	15
3.2.2	Surface Plasmon Polariton	17
3.2.3	Surface Plasmon Phonon Polariton	23
4	Localized Surface Plasmon (LSP)	25
4.1	Aproximación cuasiestática	26
4.2	Teoría Mie	30
4.3	Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR)	31
4.3.1	Dependencia del tamaño	32
4.3.2	Dependencia de la forma	34
4.3.3	Dependencia del medio circundante	38
4.3.4	Interacciones entre nanopartículas	39
4.4	Materiales Plasmónicos	39

5 Aplicaciones	42
5.1 Biomedicina	42
5.1.1 Biosensores	43
5.1.2 Técnicas de imágenes y etiquetado celular	46
5.1.3 Hipertermia	55
5.1.4 Transporte de medicamentos	62
5.2 Surface Enhanced Raman Spectroscopy	65
Conclusión	75
Bibliografía	77
Anexos	89
Anexo A: Constante dieléctrica para los fonones	89



Índice de figuras

Figura N° 3.1	Relación de dispersión de un Bulk Plasmon Polariton	10
Figura N° 3.2	Relación de dispersión del Phonon Polariton	11
Figura N° 3.3	Relación de dispersión del Surface Phonon Polariton	16
Figura N° 3.4	Ilustración esquemática de la propagación de un SPP	17
Figura N° 3.5	Relación de dispersión del Surface Plasmon Polariton	18
Figura N° 3.6	Mecanismos de acoplamiento para excitar ópticamente un SPP	22
Figura N° 3.7	Relación de dispersión de un SPPP en la interfaz GaAs/vacío	24
Figura N° 4.1	Localized Surface Plasmon	25
Figura N° 4.2	Esfera homogénea en un campo electrostático	26
Figura N° 4.3	Distribución de carga en la superficie de una nanopartícula a causa de la incidencia de un campo electromagnético	33
Figura N° 4.4	Espectroscopia óptica de nanopartículas de plata individuales con forma de triángulo, pentágono y esfera.	34
Figura N° 4.5	Espectros de absorción de nanorods con diferentes relaciones de as- pecto	36
Figura N° 4.6	Polarizabilidad para nanopartículas de oro, plata y cobre	38
Figura N° 4.7	Permitividad de posibles materiales plasmónicos a diferentes longi- tudes de onda	41
Figura N° 5.1	Espectro de absorción óptica de nanopartículas de oro, nanorods y sangre humana	45
Figura N° 5.2	Seguimiento en tiempo real de un ciclo completo de una célula can- cerosa HSC-3 con nanopartículas de oro	47
Figura N° 5.3	Imágenes optoacústicas del maniquí de gelatina utilizada como rep- resentación del tejido de la mama	48
Figura N° 5.4	Imágenes de dispersión de luz de las células no cancerosas HaCat y células cancerosas HOC Y HSC después de la incubación de nanopartícu- las de oro conjugadas con anticuerpos anti-EGFR	51

Figura N° 5.5	Chip de oro plasmónico para la detección de diabetes tipo 1	53
Figura N° 5.6	Hipertermia con nanopartículas	56
Figura N° 5.7	Destrucción fototérmica de células de carcinoma mama humano incubadas con nanoshells	58
Figura N° 5.8	Combinación de imágenes y terapia fototérmica de células de cáncer de mama SKBr3 utilizando nanoshells	59
Figura N° 5.9	Terapia fototérmica selectiva de células cancerosas con nanorods anti-EGFR/Au incubadas	62
Figura N° 5.10	Control de la liberación de ovoalbúmina	64
Figura N° 5.11	Control de la liberación de albúmina de suero bovino	64
Figura N° 5.12	Espectros SERS de muestras de orina	70
Figura N° 5.13	Espectros SERS de muestras de orina para cáncer de próstata	70
Figura N° 5.14	Espectros SERS de la sección de tejido tiroideo con y sin coloide de plata	71
Figura N° 5.15	Espectro SERS en un tratamiento de Hipertermia	72
Figura N° 5.16	Nanopartículas de oro conjugadas con anticuerpos ScFv para desarrollar SERS en modelos de animales in vivo	72
Figura N° 5.17	Respuesta espectral de SERS para tres cepas de E.coli	73

1. Introducción

El estudio de cuasipartículas como los magnones, fonones, excitones entre otros, ha permitido tener una mejor descripción de ciertos fenómenos físicos. Un ejemplo de esto, son los Pares de Cooper y los fonones, los cuales son utilizados para describir las propiedades de los materiales superconductores convencionales. De todas estas cuasipartículas, los plasmones reciben una atención especial ya que ofrecen la posibilidad de amplificar, concentrar y manipular la luz en la escala nanométrica, superando el límite de difracción de la óptica tradicional. Por ello, los plasmones se han utilizado en diferentes aplicaciones en óptica, SERS, medicina, celdas solares, almacenamiento de información y biología. Este amplio número de aplicaciones e investigaciones relacionados con los plasmones permitió el desarrollo de un nuevo campo de estudio denominado Plasmonics, la cual se centra principalmente en el estudio de las propiedades de los plasmones en nanopartículas.

El presente trabajo tiene como objetivo mostrar una revisión teórica de los plasmones así como sus aplicaciones en el campo de Biomedicina. Para ello, se inicia con una descripción cuántica de los plasmones siguiendo el procedimiento elaborado por Van Hieu Nguyen y Bich Ha Nguyen. Luego, se describen los diferentes acoplamientos con el fotón cuando una onda electromagnética incide sobre un material. En adición, se detallan las propiedades y los mecanismos de excitación de uno de estos acoplamientos denominado Surface Plasmon Polariton. En la siguiente sección, se describen los Localized Surface Plasmon y sus diferencias con respecto a los Surface Plasmon Polariton. Además, se revisan las teorías que permiten describir sus propiedades ópticas así como el efecto del tamaño, forma, medio circundante e interacciones de las nanopartículas en su uso práctico. Finalmente, se realiza una descripción y revisión del uso de los plasmones en Biomedicina para desarrollar tratamientos contra el cáncer, mecanismos de detección de enfermedades, mejorar la sensibilidad de los biosensores, contraste de imágenes, estudiar procesos biológicos, mejorar las señales Raman para SERS entre otros.

2. Teoría cuántica del plasmón

Van Hieu Nguyen y Bich Ha Nguyen [Nguyen y Nguyen (2014)] consideraron un modelo simple de un metal conformado por un gas de electrones itinerantes (electrones que no permanecen mucho tiempo en un mismo lugar) que se mueven libremente dentro del metal sobre un fondo de iones con distribución homogénea de carga positiva. La fluctuación de la densidad de carga $\rho(\mathbf{r}, t)$ se relaciona con la densidad de electrones $n(\mathbf{r}, t)$

$$\rho(\mathbf{r}, t) = -e[n(\mathbf{r}, t) - n_0] \quad (2.1)$$

Donde n_0 representa el valor medio de $n(\mathbf{r}, t)$. Luego, se debe establecer el Lagrangiano del sistema.

La energía potencial del gas de electrones surge a partir de la interacción mutua entre densidades de carga efectiva en dos diferentes regiones

$$U(t) = \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} \rho(\mathbf{r}, t) \psi(\mathbf{r}, t) \quad (2.2)$$

Además, de acuerdo con la ley de Coulumb, la distribución de carga crea un campo eléctrico dependiente del tiempo que se describe a partir del potencial:

$$\psi(\mathbf{r}, t) = \int d\mathbf{r}' \frac{\rho(\mathbf{r}', t)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \quad (2.3)$$

De este modo, se obtiene la energía potencial

$$U(t) = \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} \rho(\mathbf{r}, t) \int d\mathbf{r}' \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \rho(\mathbf{r}', t) \quad (2.4)$$

Por otro lado, la energía cinética surge como una consecuencia de los desplazamientos oscilantes de los electrones; es decir, la fluctuación de la densidad de carga genera una energía

cinética total, la cual se representa con la siguiente expresión:

$$T(t) = \frac{1}{2} m \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}, t) \delta\dot{\mathbf{r}}(\mathbf{r}, t)^2 \quad (2.5)$$

Donde $\delta\mathbf{r}(\mathbf{r}, t)$ representa el desplazamiento del electrón y $\delta\dot{\mathbf{r}}(\mathbf{r}, t)$ representa la velocidad del electrón. Utilizando $n(\mathbf{r}, t)$, que se obtiene de la ecuación 2.1, se obtiene el siguiente Lagrangiano:

$$L(t) = \frac{1}{2} mn_0 \int d\mathbf{r} \delta\dot{\mathbf{r}}(\mathbf{r}, t)^2 - \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} \int d\mathbf{r}' \rho(\mathbf{r}, t) \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \rho(\mathbf{r}', t) - \frac{1}{2} \frac{m}{2} \int d\mathbf{r} \rho(\mathbf{r}, t) \delta\dot{\mathbf{r}}(\mathbf{r}, t)^2 \quad (2.6)$$

Esta expresión depende de dos variables dinámicas $\delta\mathbf{r}(\mathbf{r}, t)$ y $\rho(\mathbf{r}, t)$.

Debido a que los desplazamientos oscilantes de los electrones causan fluctuaciones del valor de $n(\mathbf{r}, t)$, debe existir una relación directa entre $n(\mathbf{r}, t)$ y $\delta\mathbf{r}(\mathbf{r}, t)$. Para obtenerla, se establece la ecuación de continuidad [Nguyen y Nguyen (2014)] y se utiliza la densidad de carga $n(\mathbf{r}, t)$. Con ello, se obtiene una relación denominada condición subsidiaria

$$\dot{\rho}(\mathbf{r}, t) = \frac{\partial \rho(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = en_0 \nabla \delta\dot{\mathbf{r}}(\mathbf{r}, t) - \nabla [\rho(\mathbf{r}, t) \delta\dot{\mathbf{r}}(\mathbf{r}, t)] \quad (2.7)$$

La consecuencia de los muy pequeños desplazamientos oscilantes $\delta\mathbf{r}(\mathbf{r}, t)$ de los electrones es la apariencia de la pequeña densidad de carga efectiva $\rho(\mathbf{r}, t)$ en comparación con el valor absoluto de la densidad de carga promedio en_0 . En el orden más bajo con respecto a estas cantidades, el Lagrangiano y la condición subsidiaria se reescriben de la siguiente manera:

$$L(t) = \frac{1}{2} mn_0 \int d\mathbf{r} \delta\dot{\mathbf{r}}(\mathbf{r}, t)^2 - \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} \int d\mathbf{r}' \rho(\mathbf{r}, t) \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \rho(\mathbf{r}', t) \quad (2.8)$$

$$\dot{\rho}(\mathbf{r}, t) = en_0 \nabla \delta\dot{\mathbf{r}}(\mathbf{r}, t) \quad (2.9)$$

Ahora se debe establecer el formalismo canónico de la mecánica clásica y aplicar la cuantización al estudio del gas de electrones con las variables dinámicas $\rho(\mathbf{r}, t)$ y $\delta\mathbf{r}(\mathbf{r}, t)$ junto con las dos expresiones anteriores. Para ello, se descomponen las funciones $\rho(\mathbf{r}, t)$ y $\delta\mathbf{r}(\mathbf{r}, t)$ en la

serie de Fourier de ondas planas normalizadas en un cubo con volumen V y ortogonalizadas mediante las condiciones de contorno periódicas

$$\rho(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{\sqrt{V}} \sum_k \rho_k(t) e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}} \quad (2.10)$$

$$\delta\mathbf{r}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{\sqrt{V}} \sum_k \sum_{\alpha=1}^3 \mathbf{e}_k^{(\alpha)} f_k^{(\alpha)}(t) e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}} \quad (2.11)$$

Donde $\mathbf{e}_k^{(\alpha)}$ son tres vectores unitarios reales que satisfacen las condiciones de normalización y ortogonalización [Nguyen y Nguyen (2014)].

Se debe tener en cuenta que solo los desplazamientos longitudinales de los electrones pueden causar la onda de propagación de las fluctuaciones de la densidad del número de electrones $n(\mathbf{r}, t)$. Por ello, 2.11 se cambia por la siguiente expresión:

$$\delta\mathbf{r}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{\sqrt{V}} \sum_k \frac{\mathbf{k}}{k} f_k(t) e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}} \quad (2.12)$$

Entonces, el Lagrangiano se expresa de la siguiente manera:

$$L(t) = \frac{1}{2} \sum_k \left[mn_0 \dot{f}_k(t)^* \dot{f}_k(t) - \frac{4\pi}{k^2} \rho_k(t)^* \rho_k(t) \right] \quad (2.13)$$

Y la condición subsidiaria

$$\dot{\rho}_k(t) = \frac{\partial \rho_k(t)}{\partial t} = ien_0 k \dot{f}_k(t) \quad (2.14)$$

Reemplazando la ecuación 2.14 en 2.13:

$$L(t) = \frac{1}{2e^2} \frac{m}{n_0} \times \sum_k \frac{1}{k^2} [\dot{\rho}_k(t)^* \dot{\rho}_k(t) - \omega_{pl}^2 \rho_k(t)^* \rho_k(t)] \quad (2.15)$$

con

$$\omega_{pl} = \sqrt{\frac{4\pi e^2 m}{n_0}} \quad (2.16)$$

denominado frecuencia de plasma, la cual representa la frecuencia propia de oscilación del gas de electrones libre.

Luego, a partir de un cambio de variable

$$\frac{1}{2} \sqrt{\frac{m}{n_0}} \frac{1}{k} \rho_k(t) = q_k^{(1)}(t) + i q_k^{(2)}(t) \quad (2.17a)$$

$$\frac{1}{2} \sqrt{\frac{m}{n_0}} \frac{1}{k} \rho_k(t)^* = q_k^{(1)}(t) - i q_k^{(2)}(t) \quad (2.17b)$$

con $q_k^{(i)}(t)$ e $i = 1, 2$ siendo las funciones reales de t , se obtiene el Lagrangiano de un sistema de osciladores armónicos con la frecuencia de plasma ω_{pl} y las coordenadas generalizadas $q_k^{(i)}(t)$

$$L(t) = \frac{1}{2} \sum_{i=1,2} \sum_k [\dot{q}_k^{(i)}(t)^2 - \omega_{pl}^2 q_k^{(i)}(t)^2] \quad (2.18)$$

Al calcular el momento generalizado $p_k^{(i)}(t)$, se obtiene el Hamiltoniano del sistema

$$H = \frac{1}{2} \sum_{i=1,2} \sum_k [p_k^{(i)}(t)^2 + \omega_{pl}^2 q_k^{(i)}(t)^2] \quad (2.19)$$

El siguiente paso es aplicar un proceso simple de cuantización que consiste en pasar las variables canónicas dinámicas $q_k^{(i)}(t)$ y $p_k^{(i)}(t)$ por sus correspondientes operadores Hermitianos $\hat{q}_k^{(i)}$ y $\hat{p}_k^{(i)}$, con $i = 1, 2$. Estos operadores deben satisfacer las relaciones canónicas de conmutación. Luego, se introducen dos operadores relacionados con los operadores Hermitianos $\hat{q}_k^{(i)}$ y $\hat{p}_k^{(i)}$ para cada conjunto de dos índices i y k

$$\hat{a}_k^{(i)} = \frac{1}{\sqrt{2\hbar\omega_{pl}}} \hat{p}_k^{(i)} - i \sqrt{\frac{\omega_{pl}}{2\hbar}} \hat{q}_k^{(i)} \quad (2.20a)$$

$$\hat{a}_k^{(i)+} = \frac{1}{\sqrt{2\hbar\omega_{pl}}} \hat{p}_k^{(i)} + i \sqrt{\frac{\omega_{pl}}{2\hbar}} \hat{q}_k^{(i)} \quad (2.20b)$$

Estos operadores satisfacen las relaciones de conmutación

$$[\hat{a}_k^{(i)}, \hat{a}_l^{(j)}] = [\hat{a}_k^{(i)+}, \hat{a}_l^{(j)+}] = 0 \quad (2.21a)$$

$$[\hat{a}_k^{(i)}, \hat{a}_l^{(j)+}] = \delta_{ij} \delta_{kl} \quad (2.21b)$$

Finalmente, $\hat{p}_k^{(i)}$ y $\hat{q}_k^{(i)}$ se expresan en términos de $\hat{a}_k^{(i)}$ y $\hat{a}_k^{(i)+}$ para obtener el Hamiltoniano

en la siguiente forma:

$$H = \hbar\omega_{pl} \sum_{i=1,2} \sum_{\mathbf{k}} \left(\hat{a}_{\mathbf{k}}^{(i)+} \hat{a}_{\mathbf{k}}^{(i)} + \frac{1}{2} \right) \quad (2.22)$$

Los operadores $\hat{a}_{\mathbf{k}}^{(i)}$ y $\hat{a}_{\mathbf{k}}^{(i)+}$ son los operadores de destrucción y creación respectivamente para una cuasipartícula del tipo i y momento $\hbar\mathbf{k}$. Este tipo de cuasipartícula se denomina plasmón y describe las oscilaciones colectivas de la densidad del gas de electrones libres, al igual que los magnones describen las oscilaciones colectivas de un sistema de spin (ondas de spin) o las vibraciones de la red son descritas por los fonones. El plasmón proviene de la cuantización de la oscilación del plasma y es capaz de acoplarse con otras cuasipartículas como los excitones (plexciton) o con los fotones.



3. Interacciones con el fotón

El acoplamiento de los fotones con otras cuasipartículas comienza cuando una onda electromagnética incide sobre un material. El tipo de cuasipartícula que se forma está muy relacionado a las propiedades del medio, las cuales son descritas por su constante dieléctrica y por su permeabilidad magnética. Además, es importante diferenciar aquellos acoplamientos que se dan en el medio y los acoplamientos que ocurren en la interfaz entre dos medios de constante dieléctrica diferentes. Estos últimos se denominan comúnmente como ondas electromagnéticas superficiales y, según las propiedades eléctricas o magnéticas del medio, se describen como Surface Plasmon Polariton, Surface Phonon Polariton, Surface Exciton Polariton y Surface Magnon Polariton. Estos términos brindan información sobre el origen microscópico de estas ondas superficiales; sin embargo, su carácter electromagnético esencial es el mismo aunque existan diferencias en su origen físico [Maradudin, Sambles, y Barnes (2014)].

Una forma de describir las propiedades de estos acoplamiento es a partir de su relación de dispersión. Para ello, es necesario definir la constante dieléctrica que describan las propiedades eléctricas de los medios. Por simplicidad, se considera el valor de la velocidad de la luz c igual a 1 y se trabaja con medios no magnéticos o con materiales que a frecuencias ópticas exhiben una respuesta magnética insignificante, por lo que su permeabilidad magnética relativa es la unidad.

- **Metales**

El modelo de Drude describe de forma sencilla la respuesta óptica de los electrones de conducción libres a partir de una constante dieléctrica de la forma

$$\varepsilon(\omega) = 1 - \frac{\omega_{pl}^2}{\omega^2 - \omega_0^2 + i\gamma\omega} \quad (3.1)$$

Donde ω_0 es la frecuencia de la fuerza restauradora, ω_{pl} es la frecuencia de plasma y γ representa la tasa de colisión entre electrones. Al considerar el caso donde no hay fuerza restauradora ($\omega_0 = 0$) y se tiene una pequeña tasa de colisión ($\gamma \approx 0$), la ecuación 3.1 se

reduce a la siguiente forma:

$$\varepsilon(\omega) = 1 - \frac{\omega_{pl}^2}{\omega^2} \quad (3.2)$$

- **Fonones**

Dado que los fonones se describen como osciladores armónicos simples cuantizados, es posible obtener una constante dieléctrica que describe la interacción de los fonones ópticos cuando interactúan con la radiación electromagnética (ver Anexo A). Esta expresión depende de 3 constantes y tiene la siguiente forma:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_{\infty} \left(\frac{\omega_L^2 - \omega^2}{\omega_T^2 - \omega^2} \right) \quad (3.3)$$

Donde ε_{∞} representa la constante dieléctrica de alta frecuencia, ω_T y ω_L son las frecuencias del modo transversal y longitudinal respectivamente [Cardona y Peter (2005)]. En adición, a menudo se introduce otra cantidad (ε_0) que representa la constante dieléctrica a baja frecuencia, la cual se relaciona directamente con las otras variables a partir de la relación Lyddane-Sachs-Teller (LST).

$$\frac{\varepsilon_0}{\varepsilon_{\infty}} = \frac{\omega_L^2}{\omega_T^2} \quad (3.4)$$

3.1 Acoplamiento en el medio

La propagación de la luz a través de un medio está gobernada por las ecuaciones de Maxwell. En un medio con ausencia de estímulos externos; es decir, en ausencia de una densidad de carga y corriente externa, se resuelven las ecuaciones de Maxwell para obtener la ecuación de onda en el tiempo y en el dominio de Fourier respectivamente [Maier et al. (2007)]

$$\nabla \times \nabla \times \vec{E} = -\mu_0 \frac{\partial^2 \vec{D}}{\partial t^2} \quad (3.5)$$

$$\vec{k} (\vec{k} \cdot \vec{E}) - k^2 \vec{E} = -\varepsilon(\vec{k}, \omega) \frac{\omega^2}{c^2} \vec{E} \quad (3.6)$$

Es posible ignorar la dependencia de la constante dieléctrica con el vector de onda debido a los efectos plasmónicos y fonónicos, por lo que la constante dieléctrica dependerá de la frecuencia

ω para los casos estudiados. El resultado final es la ecuación $\varepsilon(\omega)(\vec{k} \cdot \vec{E}) = 0$, la cual tiene dos soluciones $\varepsilon(\omega) = 0$ y $\vec{k} \cdot \vec{E} = 0$. La primera solución corresponde a un modo puramente longitudinal y representa una excitación colectiva de los electrones de valencia; mientras que, la segunda solución corresponde a ondas transversales. Al utilizar las ecuaciones de Maxwell en la segunda solución, se obtiene la relación de dispersión genérica de la forma

$$k^2 = \varepsilon(\omega)\omega^2 \quad (3.7)$$

Esta ecuación representa la relación de dispersión de un fotón que se propaga en el medio.

3.1.1 Bulk Plasmon Polariton

Un polaritón es un fotón acoplado a los grados internos de libertad del medio; es decir, es una cuasipartícula formada cuando los fotones provenientes de los campos electromagnéticos se acoplan con una excitación fundamental del sistema. En este caso, el sistema está formado por las oscilaciones colectivas de la densidad del gas de electrones libres, las cuales se cuantifican introduciendo la cuasipartícula del plasmón. Como la excitación fundamental del sistema son los plasmones, el Bulk Plasmon Polariton es el resultado del acoplamiento entre el campo electromagnético circundante (fotones) y el plasmón [Maradudin et al. (2014) - Nga, Lan, y Viet (2015)].

Al resolver las ecuaciones de Maxwell para describir la propagación de la luz en un medio, se obtiene una ecuación que posee dos soluciones correspondientes a las ondas longitudinales y transversales. Ambas soluciones dependen de la constante dieléctrica del medio; para este caso, el medio es un metal, por lo que se utiliza el modelo de Drude de la ecuación 3.2. Al reemplazar este valor en la solución para las ondas longitudinales $\varepsilon(\omega) = 0$, se tiene $\omega = \omega_{pl}$, lo que muestra que el gas de electrones oscila como un todo colectivo a la frecuencia ω_{pl} . De la solución para ondas transversales, se introduce la constante dieléctrica en la ecuación 3.7 para obtener la relación de dispersión genérica para un Bulk Plasmon Polariton

$$\omega = \sqrt{k^2 + \omega_{pl}^2} \quad (3.8)$$

La figura 3.1 es la representación gráfica de la relación de dispersión del Bulk Plasmon Polariton (línea azul), la cual tiene como eje vertical a ω/ω_{pl} y al eje horizontal como k/ω_{pl} . La línea negra representa la línea de luz ($k = \omega$) y la línea roja representa el valor constante de $\omega = \omega_{pl}$.

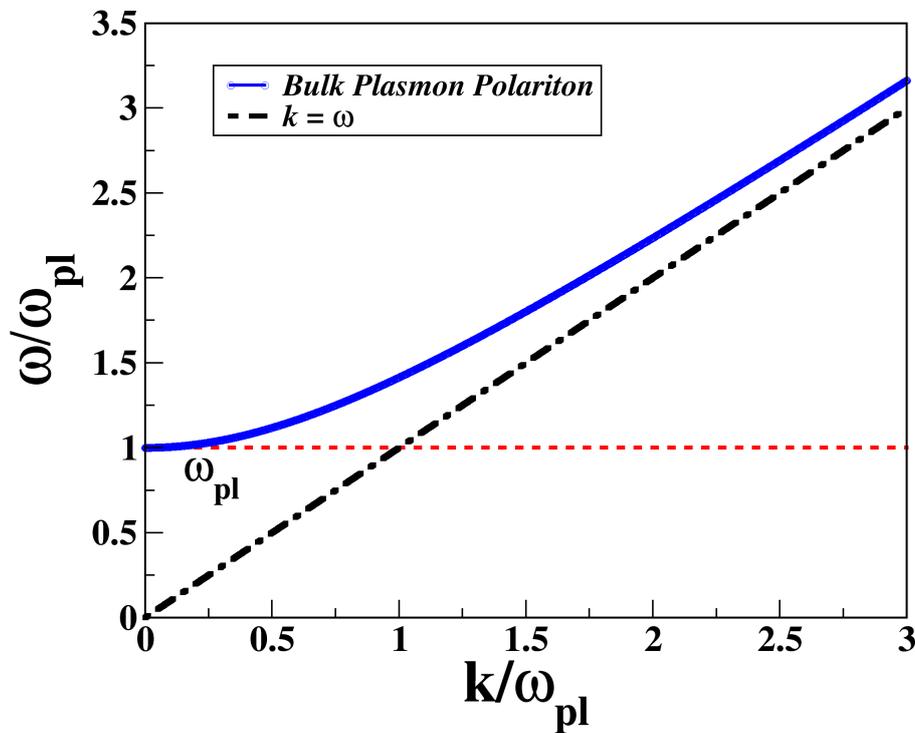


Figure 3.1: Relación de dispersión de un Bulk Plasmon Polariton

Para $\omega > \omega_{pl}$, el Bulk Plasmon Polariton se propaga. Si el valor del vector de onda $k \rightarrow \infty$, la curva de dispersión tiende a la línea de luz; mientras que, cuando $k \rightarrow 0$, el valor se aproxima a la frecuencia ω_{pl} representada por 1. El intervalo de frecuencias por debajo de la frecuencia de plasma; es decir, $0 < \omega < \omega_{pl}$, es el rango altamente amortiguado en el que no hay propagación.

3.1.2 Phonon Polariton

El Phonon Polariton es el resultado de la interacción del fonón con el campo electromagnético (fotón). Esta interacción se describe a partir de las dos soluciones obtenidas para los acoplamientos en el medio. Para la solución de los modos longitudinales $\varepsilon(\omega) = 0$, se reemplaza la constante dieléctrica de la ecuación 3.3 y se obtiene $\omega = \omega_L$. Por otro lado, se reemplaza la misma constante dieléctrica en la ecuación 3.7 para obtener la relación de dispersión corre-

spondiente a los modos transversales, cuya expresión tiene la siguiente forma:

$$\omega^4 \varepsilon_\infty - \omega^2 (k^2 + \varepsilon_\infty \omega_L^2) + k^2 \omega_T = 0 \quad (3.9)$$

La figura 3.2 representa la relación de dispersión del Phonon Polariton en GaP (Fosforo de Galio) con los valores de ω_T , ω_L y ε_∞ extraídos de Cardona y Peter (2005). En la gráfica se observa que la curva de dispersión (línea azul) posee dos ramas. Cuando $k \rightarrow 0$, la rama superior se aproxima al valor constante ω_L ; mientras que, la rama inferior tiende a $\omega = k/\sqrt{\varepsilon_0}$, cuyo resultado se obtiene de la relación de Lyddane-Sachs-Teller (ecuación 3.4). Por otro lado, cuando $k \rightarrow \infty$, la rama superior tiende a $\omega = k/\sqrt{\varepsilon_\infty}$; mientras que, la rama inferior se aproxima al valor de ω_T .

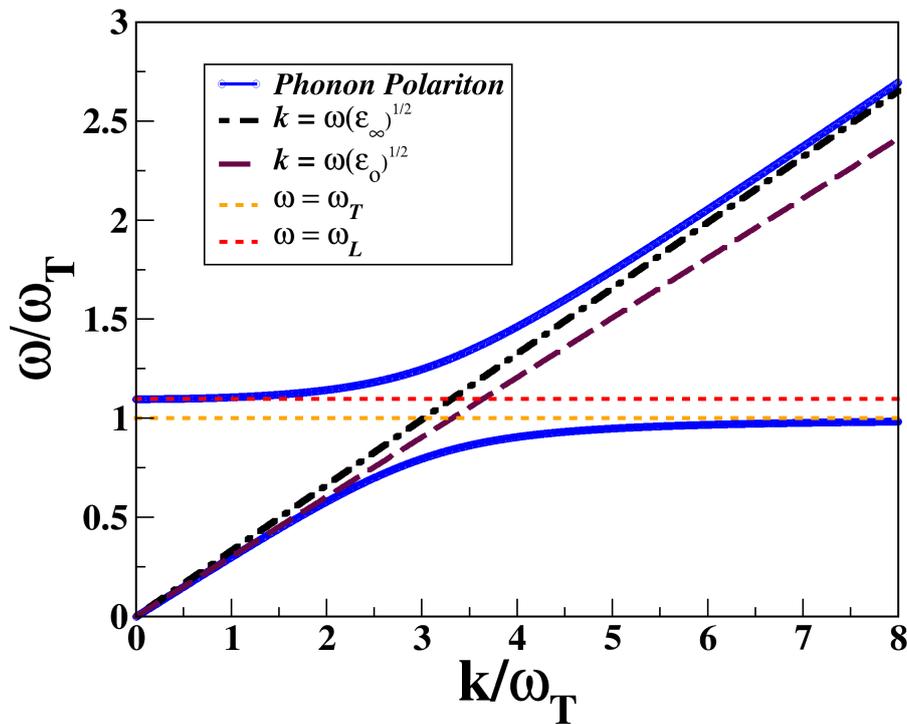


Figure 3.2: Relación de dispersión del Phonon Polariton en GaP (líneas azules). Los valores de las constantes $\omega_L = 401.9 \text{ cm}^{-1}$, $\omega_T = 366.3 \text{ cm}^{-1}$, $\varepsilon_0 = 11$ y $\varepsilon_\infty = 9.1$ son extraídos de Cardona y Peter (2005)

Para frecuencias entre ω_L y ω_T , la función dieléctrica es negativa. En este rango, la onda electromagnética no se propaga sino que disminuye exponencialmente. Esta región se le conoce como banda Reststrahlen.

3.2 Acoplamientos en la interfaz entre dos medios

Al igual que en la sección anterior, el objetivo es determinar la relación de dispersión para el caso de una onda electromagnética superficial que se propaga en la interfaz plana entre dos medios de constante dieléctrica diferentes. Para ello, primero se definen las siguientes consideraciones:

- Primero, se asume en general una dependencia armónica del tiempo para el campo eléctrico; es decir, $E(r, t) = E(r) e^{-i\omega t}$.
- Segundo, se define la geometría de propagación. Por simplicidad, se asume un problema unidimensional donde ε depende solo de una coordenada espacial. Además, la onda se propaga a lo largo de la dirección x en un sistema de coordenadas cartesianas y no muestra variación espacial en las otras dimensiones. El plano $z = 0$ coincide con la interfaz que sostiene las ondas en propagación. Con ello, el campo eléctrico se reescribe como $E(x, y, z) = E(z) e^{i\beta x}$. El parámetro complejo $\beta = k_x$ se denomina constante de propagación de las ondas viajeras y corresponden al componente del vector de onda en la dirección de propagación.

Luego, se utilizan las ecuaciones de Maxwell en ausencia de una carga externa y densidad de corriente para obtener un conjunto de ecuaciones. Estas se agrupan en dos conjuntos de soluciones autoconsistentes con diferentes propiedades de polarización. El primer conjunto son los modos TM (transversal magnético), donde solo los componentes del campo E_x , E_z y H_y son distintos de cero. El segundo conjunto son los modos TE (transversal eléctrico), donde solo los componentes del campo H_x , H_z y E_y son distintos de cero.

Al usar las soluciones del modo TM, se obtiene una ecuación para el campo magnético de la forma

$$\frac{\partial H_y}{\partial z^2} + (k^2 \varepsilon - \beta^2) H_y = 0 \quad (3.10)$$

donde $k = \omega$ es el vector de onda en el espacio libre. Además, se tienen los campos eléctricos E_x y E_z

$$E_x = -i \frac{1}{\omega \epsilon_0 \epsilon} \frac{\partial H_y}{\partial z} \quad (3.11)$$

$$E_z = -\frac{\beta}{\omega \epsilon_0 \epsilon} H_y \quad (3.12)$$

Con las ecuaciones anteriores, se obtienen los valores de E y H diferentes de cero para los dos medios. Para el medio superior ($z > 0$)

$$H_y(z) = A_2 e^{i\beta x} e^{-k_2 z} \quad (3.13a)$$

$$E_x(z) = iA_2 \frac{1}{\omega \epsilon_0 \epsilon_2} k_2 e^{i\beta x} e^{-k_2 z} \quad (3.13b)$$

$$E_z(z) = -A_1 \frac{\beta}{\omega \epsilon_0 \epsilon_2} e^{i\beta x} e^{-k_2 z} \quad (3.13c)$$

Para el medio inferior ($z < 0$)

$$H_y(z) = A_1 e^{i\beta x} e^{k_1 z} \quad (3.14a)$$

$$E_x(z) = -iA_1 \frac{1}{\omega \epsilon_0 \epsilon_1} k_1 e^{i\beta x} e^{k_1 z} \quad (3.14b)$$

$$E_z(z) = -A_1 \frac{\beta}{\omega \epsilon_0 \epsilon_1} e^{i\beta x} e^{k_1 z} \quad (3.14c)$$

Luego, al aplicar las condiciones de contorno se obtiene una ecuación que relaciona k con ϵ para ambos medios

$$\frac{k_2}{k_1} = -\frac{\epsilon_2}{\epsilon_1} \quad (3.15)$$

Para obtener una solución se requiere que $\text{Re}(\epsilon_1)$ o $\text{Re}(\epsilon_2)$ sea menor que cero. En esta deducción, se considera al medio descrito por ϵ_1 como el medio cuya parte real es negativa. Además, la expresión H_y debe satisfacer la ecuación de onda 3.10, de donde se obtienen las expresiones

para k_1 y k_2 .

$$k_1^2 = \beta^2 - k^2 \varepsilon_1 \quad (3.16)$$

$$k_2^2 = \beta^2 - k^2 \varepsilon_2 \quad (3.17)$$

Reemplazando las ecuaciones anteriores en la expresión 3.15 se obtiene la relación de dispersión

$$\beta^2 = k^2 \left(\frac{\varepsilon_1(\omega)\varepsilon_2(\omega)}{\varepsilon_1(\omega) + \varepsilon_2(\omega)} \right) \quad (3.18)$$

Esta expresión es válida tanto para ε_1 real como complejo. En adición, se reemplaza β por k_x , la cual representa el vector de onda en la dirección de propagación, y k por ω . Esto con el fin de obtener una relación de dispersión en función del vector de onda y la frecuencia.

$$k_x^2 = \omega^2 \left(\frac{\varepsilon_1(\omega)\varepsilon_2(\omega)}{\varepsilon_1(\omega) + \varepsilon_2(\omega)} \right) \quad (3.19)$$

Finalmente, es importante mencionar que al desarrollar el mismo procedimiento con el conjunto de soluciones del modo TE y aplicar las condiciones de contorno no se obtienen soluciones diferentes de cero; por tanto, no existen modos de superficie para la polarización TE [Maier et al. (2007)].

Las condiciones necesarias para que existan ondas electromagnéticas superficiales en la interfaz se obtienen analizando los términos de la raíz cuadrada de la relación de dispersión. Se nota que $\text{Re}(\varepsilon_1\varepsilon_2) < 0$ y $\text{Re}(\varepsilon_1 + \varepsilon_2) < 0$; por tanto, $\text{Re}(\varepsilon_1) < \varepsilon_2$. Además, la magnitud del campo eléctrico que se propaga en el medio decae exponencialmente lejos de la interfaz estén presentes o no las pérdidas. También, cuando los medios tienen pérdidas, el campo eléctrico también decae en la dirección de propagación. En adición, es importante señalar que existe otro tipo de acoplamiento que sucede en materiales magnéticos conocido como Surface Magnon Polaritons, los cuales no son tema de estudio en este trabajo ya que se trabaja con materiales cuya respuesta magnética es muy baja.

3.2.1 Surface Phonon Polariton

Los Surface Phonon Polariton son modos de superficie electromagnéticos que surgen debido al acoplamiento de fonones con el campo electromagnético incidente (fotones). Este acoplamiento ocurre en un rango de frecuencias donde el campo electromagnético no se propaga sino que decae exponencialmente y, de acuerdo a la relación 3.15, la parte real de la constante dieléctrica de uno de los medios es negativo. Materiales como el Carburo de Silicio (SiC), Cloruro de Sodio (NaCl) y el Óxido de Magnesio (MgO), los llamados cristales iónicos, soportan los fonones ópticos transversales que satisface esta condición. Estos materiales exhiben valores negativos de la parte real de $\varepsilon(\omega)$ en las regiones infrarroja o de infrarrojo lejano (THz) y soportan estas ondas de superficie. En adición, su amplio rango espectral, desde IR hasta longitudes de onda de Terahercios (típicamente entre 8 y 200 μm), permite trabajar con estos modos en la superficie de una gran variedad de semiconductores, aislantes y ferroeléctricos [Huber, Deutsch, Novotny, y Hillenbrand (2008) - Ha, Thuy, Hoa, Van, y Viet (2017)].

Para determinar su relación de dispersión se considera como medios el aire, cuya constante dieléctrica es 1, y el Fósforo de Galio (GaP). Tomando estos medios, la relación de dispersión descrita en la ecuación 3.19 queda de la forma

$$\omega = k \sqrt{\frac{1 + \varepsilon(\omega)}{\varepsilon(\omega)}} \quad (3.20)$$

Luego, se utiliza la constante dieléctrica de la ecuación 3.3 para obtener

$$\omega^4 \varepsilon_\infty - \omega^2 (\varepsilon_\infty \omega_L^2 + k^2 + \varepsilon_\infty k^2) + k^2 \omega_T^2 + k^2 \varepsilon_\infty \omega_L^2 = 0 \quad (3.21)$$

Esta es una expresión de grado 4, por lo que se tendrán dos curvas de solución; sin embargo, solo se considera la curva entre ω_T y ω_L ya que en ese rango la función dieléctrica es negativa. Por tanto, las ondas electromagnéticas no se propagan sino que decaen exponencialmente y los modos superficiales existen. La figura 3.3 representa la relación de dispersión de un Surface Phonon Polariton en la interfaz entre el aire y GaP (línea azul). La curva inicia cuando $\omega = \omega_T$ y $k = \omega_T$. Luego, cuando $k \rightarrow \infty$, la curva se acerca al valor $\omega = \omega_L$.

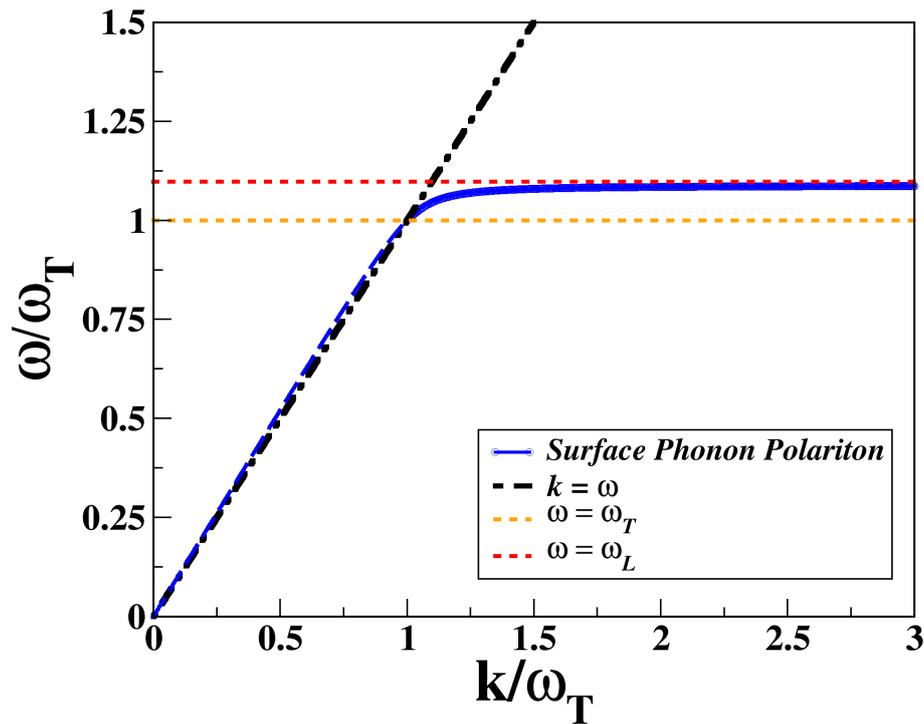


Figure 3.3: Relación de dispersión del Surface Phonon Polariton en GaP (línea azul). Los valores de las constantes son extraídos de Cardona y Peter (2005)

Los Surface Phonon Polariton presentan una opción interesante para el confinamiento y mejora de campo en el rango de frecuencias del infrarrojo. Un ejemplo de ello, es la comparación de la mejora del campo eléctrico obtenida para tres esferas de 10 nm: una de SiC y dos esferas de metal noble (oro y plata). La resonancia fonónica localizada, situada a un valor de $\lambda = 10 \mu m$, es significativamente más fuerte que la de los plasmones localizados en los metales nobles. Esto se debe a un menor amortiguamiento ya que el valor de $\text{Im}(\epsilon)$ es menor para SiC en comparación con el oro o la plata en la frecuencia de resonancia [Maier et al. (2007)]. Estas ventajas se están utilizando para aplicaciones novedosas en microscopía, almacenamiento de datos, emisión térmica o en el campo de los metamateriales [Huber et al. (2008)].

Finalmente, es importante mencionar que existe otro acoplamiento que involucra a un polaritón y un excitón. Para ello, es necesario definir el excitón como una cuasipartícula eléctricamente neutra que se forma por la interacción electrostática de Coulomb entre un electrón y un hole. Este acoplamiento se denomina Exciton Polariton, cuya interacción se expresa mediante las ecuaciones de Maxwell. En adición, también se obtiene una región donde la onda electromagnética disminuye exponencialmente y se obtiene los Surface Exciton Polariton; sin

embargo, el análisis de estos acoplamientos no son objetivos del presente trabajo [Ha et al. (2017)].

3.2.2 Surface Plasmon Polariton

Los Surface Plasmon Polariton (SPP) son ondas electromagnéticas superficiales que se originan del acoplamiento entre fotones y plasmones en la interfaz plana entre un metal y un dieléctrico. Estos materiales cumplen con las condiciones establecidas para este tipo de acoplamiento en el rango visible e infrarrojo cercano ya que la parte real de la constante dieléctrica $\epsilon(\omega)$ es mayor a cero en el caso de los dieléctricos y negativo en el caso de los metales. Estos modos superficiales se dan para ondas del tipo TM ya que el campo eléctrico tiene una componente perpendicular no nula en la dirección \hat{z} que origina una acumulación de cargas eléctricas en la interfaz. De este modo, se crea una fuerza restauradora que origina la formación de una onda superficial que se propaga a lo largo de la interfaz. Por tanto, los SPP son considerados como una oscilación colectiva de portadores de carga en la capa conductora (Figura 3.4 a); con el resultado de que la energía se transfiere paralela a la interfaz y que el valor del campo eléctrico en la dirección \hat{z} decae exponencialmente al alejarse de la interfaz. En adición, si se considera un modelo real donde los metales tienen pérdidas, la amplitud de esta onda superficial también disminuye exponencialmente en la dirección de propagación \hat{x} [Maradudin et al. (2014) - Nga et al. (2015)].

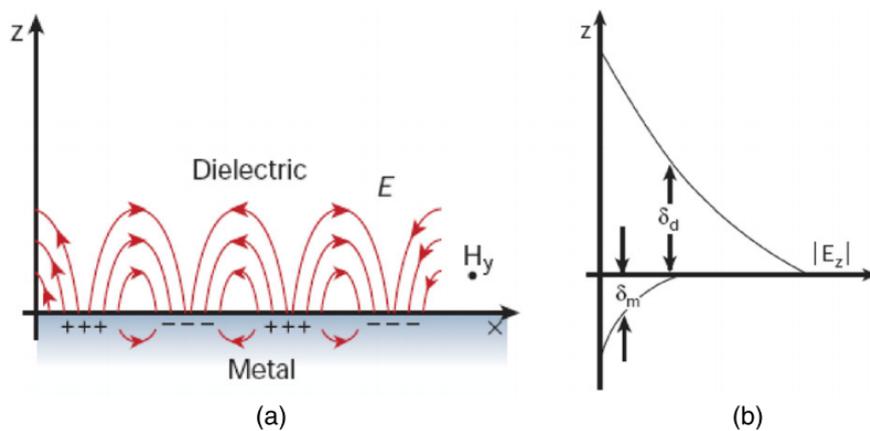


Figure 3.4: (a) Ilustración esquemática de las cargas superficiales en la interfaz entre el metal y el dieléctrico. (b) Intensidad del campo eléctrico en la dirección \hat{z} . Imagen extraída de J. Zhang et al. (2012)

Para obtener la relación de dispersión de un SPP se repite el mismo procedimiento como

en el caso anterior. En este caso, se tiene como medios el aire y un metal, por lo que la ecuación 3.19 se escribe como:

$$\omega = k \sqrt{\frac{1 + \varepsilon(\omega)}{\varepsilon(\omega)}} \quad (3.22)$$

Luego, se utiliza el valor de $\varepsilon(\omega)$ del modelo de Drude de la ecuación 3.2 para obtener la relación de dispersión de un SPP.

$$\omega = \sqrt{k^2 + \frac{\omega_{pl}^2}{2}} - \sqrt{k^4 + \left(\frac{\omega_{pl}^2}{2}\right)^2} \quad (3.23)$$

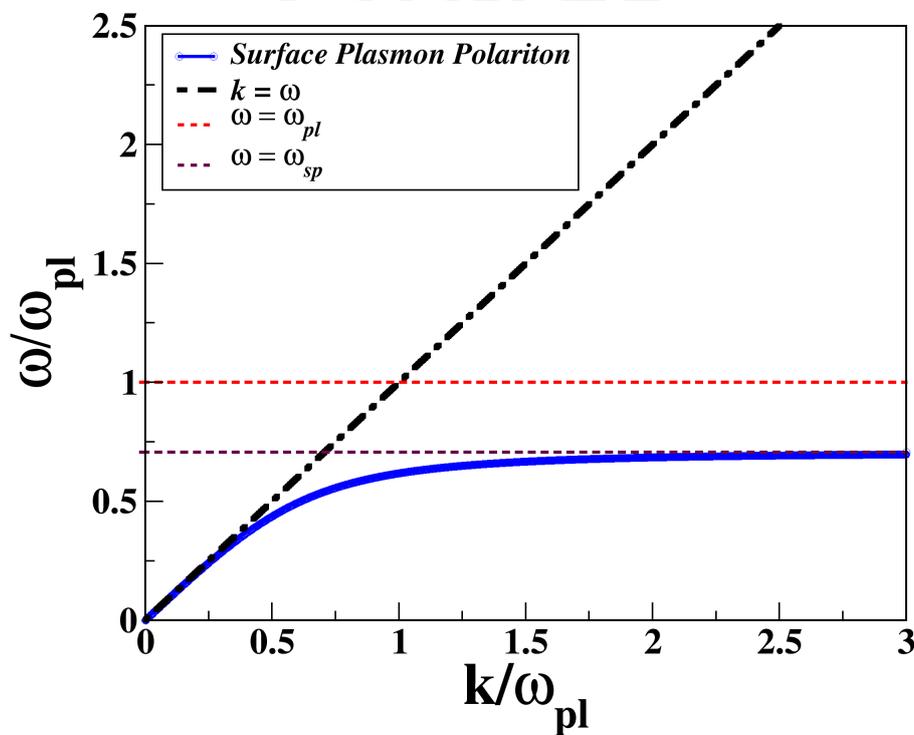


Figure 3.5: Relación de dispersión del Surface Plasmon Polariton (línea azul)

La figura 3.5 representa la relación de dispersión del SPP (línea azul). Cuando el valor de $k \rightarrow 0$, la cual corresponde a frecuencias bajas (infrarrojo medio), la curva se acerca a la línea de luz (línea negra). En este regimen, los SPP adquieren la naturaleza de un campo de luz de incidencia rasante; es decir, los SPP se propagan como si fueran fotones. Mientras que, cuando $k \rightarrow \infty$, la curva se aleja de la línea de luz hacia un valor límite igual a $\omega_{pl}/\sqrt{2}$, donde el modo se une estrechamente a la superficie. Esta condición corresponde a un Surface Plasmon (SP) [Zayats, Smolyaninov, y Maradudin (2005)] cuya frecuencia se obtiene al igualar el

denominador de la ecuación 3.22 a cero y obtener $\varepsilon(\omega) = -1$. Este resultado se reemplaza en el modelo de Drude y se obtiene la frecuencia de un Surface Plasmon $\omega_{sp} = \omega_{pl}/\sqrt{2}$ [Le Ru y Etchegoin (2008)].

Los SPP poseen una alta sensibilidad debido a que su excitación está asociada con campos mejorados cerca de la superficie del metal, por lo que las propiedades del SPP son estudiadas y muy utilizadas en diferentes aplicaciones, las cuales se describen en diferentes trabajos [J. Zhang et al. (2012) - Hayashi y Okamoto (2012)]. Por ejemplo, la adición de una capa muy delgada de un dieléctrico adyacente a la superficie del metal es suficiente para perturbar significativamente la relación de dispersión del SPP. Esta sensibilidad a las superposiciones es la base de sensores biológicos y químicos [Maradudin et al. (2014)]. Por ello, es importante mencionar sus propiedades como la longitud de propagación y la longitud de penetración.

Los SPP tienen un campo eléctrico que decae exponencialmente en la dirección \hat{z} que penetra tanto al dieléctrico como al metal. La distancia que alcanzan estos campos en los medios se determina a partir de la longitud de penetración, cuya expresión tiene la forma de $\delta_d = 1/k_2$ para el caso de dieléctricos y $\delta_m = 1/k_1$ para los metales. Para obtener el valor de δ_d de un SPP, primero se debe obtener el valor de k_2 . Esto se obtiene al reemplazar β de la expresión 3.18 en la ecuación 3.17. Finalmente, el valor de k_2 se reemplaza en δ_d y se obtiene

$$\delta_d = \frac{1}{k} \left| \frac{\varepsilon_2 + \varepsilon_1}{-\varepsilon_2^2} \right|^{1/2} \quad (3.24)$$

Para determinar δ_m se realiza el mismo procedimiento con la diferencia de que se trabaja con la ecuación 3.16. Así, se obtiene

$$\delta_m = \frac{1}{k} \left| \frac{\varepsilon_1 + \varepsilon_2}{-\varepsilon_1^2} \right|^{1/2} \quad (3.25)$$

Donde ε_1 y ε_2 representan las constantes dieléctricas del metal y el dieléctrico respectivamente. Con estas expresiones, es posible calcular las longitudes de penetración de diferentes materiales a una longitud de onda específica. Por ejemplo, a una longitud de 620 nm se tiene un valor de $\varepsilon_d = 2.127$ y $\varepsilon_m = -15.037 + i 1.017$ para el caso de óxido de Silicio y plata respectivamente.

Con estos valores, se obtiene un $\delta_d = 39.0$ nm y un $\delta_m = 22.0$ nm. Al trabajar con una longitud de onda de 400 nm se tiene que $\varepsilon_d = 2.160$ y $\varepsilon_m = -3.773 + i 0.675$ para los mismos materiales. Con estos nuevos valores, se consigue un $\delta_d = 39.0$ nm y un $\delta_m = 22.0$ nm. Los valores calculados muestran que la profundidad de penetración en el dieléctrico es mayor que en el metal (Ver figura 3.4 b) [J. Zhang et al. (2012) - Novotny y Hecht (2012)].

La propagación del SPP en la interfaz también se atenuará gradualmente si se tiene en cuenta las pérdidas en los materiales; en este caso, las pérdidas derivadas de la absorción en el metal. Para medir esto se utiliza la longitud de propagación, la cual representa la distancia después de la cual la intensidad del SPP disminuye a $1/e$. Este valor se define como $L_{SPP} = 1/2k_{SPPi}$ y depende de la parte imaginaria del vector de onda complejo del SPP debido a las pérdidas óhmicas. Utilizando la relación de dispersión de un SPP de la expresión 3.18, se obtiene el valor del L_{SPP} que dependerá de la longitud de onda incidente y las constantes dieléctricas tanto del metal como del dieléctrico.

$$L_{SPP} = \frac{1}{2 k_{SPPi}} = \frac{\lambda}{2\pi} \left(\frac{\varepsilon_{mr} + \varepsilon_d}{\varepsilon_{mr}\varepsilon_d} \right)^{3/2} \frac{\varepsilon_{mr}^2}{\varepsilon_{mi}} \quad (3.26)$$

Donde ε_{mr} y ε_{mi} representan la parte real e imaginaria de la constante dieléctrica del metal respectivamente. Por ejemplo, a una longitud de onda de 500 nm, se tiene una longitud de propagación de 2 μm para el aluminio; mientras que, para un metal de baja pérdida como la plata, se obtiene un valor de 20 μm a la misma longitud de onda [J. Zhang et al. (2012)].

Existen dos formas de excitar un SPP. Por un lado, se utiliza un método denominado EELS (Espectroscopia de pérdida de energía de electrones), donde se coloca una lámina de metal y esta es irradiada por electrones acelerados. A partir de la dispersión inelástica originada, se obtiene la excitación de un SPP, donde se cumplen las leyes de conservación [Maradudin et al. (2014)]. Por otro lado, es posible excitar un SPP a través de ondas planas y métodos adicionales ya que es imposible excitar de manera directa el SPP por ondas planas. La razón de ello se encuentra al analizar la ecuación 3.18 donde $\beta > k$, donde k es el vector de onda de la luz en el lado dieléctrico de la interfaz. Por lo tanto, la proyección a lo largo de la interfaz del momento $k_x = k \text{ Sen}(\theta)$ de los fotones que inciden bajo un ángulo θ a la normal de la superficie es siempre menor que

la constante de propagación β correspondiente a un SPP. Por esta razón, no es posible cumplir con la conservación del momento [Maier et al. (2007)].

A pesar de ello, es posible excitar los SPP con luz, solo si un componente del vector de onda de la luz incidente se incrementa por encima de su valor en el espacio libre. El método más simple para conseguir esto es excitar los SPP por medio de ondas evanescentes creadas en la interfaz entre un medio con índice de refracción $n > 1$ ya que en esa situación la línea de luz estaría inclinada por un factor n ($\omega = k/n$). Para ello, se utilizan prismas en diferentes configuraciones como la configuración de Otto o la configuración de Krestchmann. En ambas configuraciones se utilizan acopladores de prismas para excitar los SPP mediante el fenómeno de la reflexión total atenuada.

En la configuración de Otto (Figura 3.6 b) se incide un campo electromagnético a través de un prisma que se encuentra separada del metal por un medio, la cual debe tener un índice de refracción menor que la del prisma (generalmente aire). Cuando el ángulo de incidencia en el prisma es mayor que el ángulo crítico, se consigue una onda evanescente dentro del espacio que separa al prisma y el metal capaz de acoplarse a un plasmón, logrando así la excitación de la onda superficial. Es importante aclarar que la separación entre el cristal y el metal no debe ser muy grande ya que no se lograría excitar los SPP de manera eficiente debido a que la longitud de penetración del campo evanescente es demasiado corta.

La configuración Krestchmann (Figura 3.6 a) es un método alternativo más práctico ya que resulta muy complicado controlar el pequeño espacio de aire entre el prisma y la superficie de metal. En este método, se deposita una película delgada de metal sobre un prisma de vidrio. Para excitar los SPP en la interfaz metal/aire, una onda evanescente creada en la interfaz vidrio/metal penetra a través de la capa de metal hasta llegar a la interfaz metal/aire, donde se acoplará con un plasmón, logrando así la excitación de un SPP. Al igual que el caso anterior, la película de metal no debe ser demasiado gruesa ya que el SPP no se lograría excitar de manera eficiente debido a la absorción del metal.

Finalmente, otra forma de excitar los SPP es con el uso de acopladores de rejilla (Figura 3.6 c). El aumento del vector de onda necesario para igualar el momento del SPP se logra

agregando un vector de red recíproco de la rejilla al vector de onda del espacio libre. Por tanto, el nuevo vector de onda sería $k'_x = k_x + 2\pi n/a$, siendo $2\pi n/a$ un vector de red recíproca de la rejilla [Maradudin et al. (2014) - Novotny y Hecht (2012)].

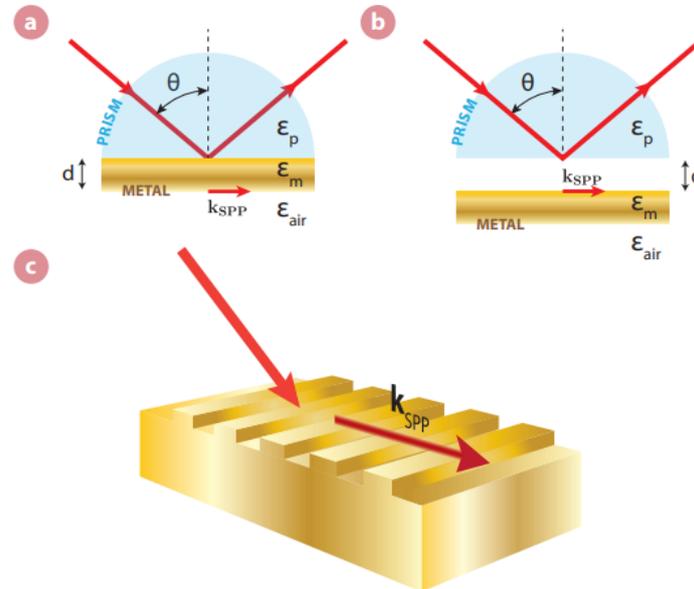


Figure 3.6: (a) Configuración Krestschmann, (b) Configuración Otto y (c) acoplamiento de rejilla. Imagen extraída de Hugall (2013)

El estudio del SPP no se limita al caso metal/dieléctrico ya que en los experimentos a menudo se trabajan con sistemas multicapas que consisten en el uso de películas delgadas que se incrustan dentro de un medio dieléctrico o conductor. Cuando la película delgada es un metal que se encuentra dentro de un dieléctrico, se conoce como estructura MIM (metal-aislante-metal); mientras que, cuando la película es un dieléctrico dentro de un metal, se conoce como estructura IMI (aislante-metal-aislante). Estas películas deben tener un espesor comparable con la longitud de penetración del campo eléctrico para que cada interfaz metal/dieléctrico admita SPP, lo que da lugar a modos acoplados debido a las interacciones entre los SPP [Maier et al. (2007) - Novotny y Hecht (2012)]. Estos modos acoplados se dividen en un modo simétrico y un modo antisimétrico.

Para el modo simétrico, la pérdida de campos eléctricos es muy pequeña porque los campos eléctricos recorren mayores distancias en el dieléctrico y la atenuación de los campos eléctricos es mucho menor en este caso; además, su longitud de propagación es muy larga. Por tanto, el modo simétrico también se denomina SPP de largo alcance. Para el modo antisimétrico, los

campos eléctricos tienen una pérdida considerable debido a que los campos eléctricos se concentran en el metal, cuya longitud de penetración es muy bajo a comparación del dieléctrico. Su longitud de propagación es bastante corta debido a la fuerte atenuación producto de las pérdidas óhmicas en el metal. Por ello, los modos antisimétricos también se denominan SPP de corto alcance [J. Zhang et al. (2012)].

Finalmente es importante señalar que existen dos tipos diferentes de Surface Plasmon: los que se propagan a lo largo de una interfaz plana dieléctrico-metal que se conocen como SPP y aquellos localizados en nanopartículas metálicas, las cuales se denominan Localized Surface Plasmon (LSP).

3.2.3 Surface Plasmon Phonon Polariton

Los Surface Plasmon Phonon Polariton (SPPP) son ondas electromagnéticas excitadas en la interfaz de dos medios con constantes dieléctricas de signos diferentes. Para obtener su relación de dispersión, se repite el mismo procedimiento de los dos casos anteriores: reemplazando las constantes dieléctricas en la ecuación 3.19. Sin embargo, en este caso es necesario que una de las constantes dieléctricas considere las contribuciones de la red y la de los electrones. Además, el vector de onda del SPPP es más grande que el vector de onda del fotón a la misma frecuencia; por tanto, los SPPP son modos no radiativos localizados en la interfaz.

A modo de ejemplo, se utilizan los datos extraídos de Melentev, Shalygin, Firsov, Vinichenko, y Vorobjev (2017) que muestran la relación de dispersión de un SPPP. En este trabajo, se utilizaron como medios el Arseniuro de Galio dopado n (GaAs) y el vacío. Además, la constante dieléctrica utilizado para el GaAs contiene las contribuciones de la red y la de los electrones, cuya expresión es la siguiente:

$$\epsilon(\omega_1) = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_0 - \epsilon_\infty}{1 - \left(\frac{\omega}{\omega_{TO}}\right)^2 - \frac{i\omega\gamma}{\omega_{TO}^2}} - \frac{\epsilon_\infty \omega_{pl}^2}{\omega^2 + i\omega\tau^{-1}} \quad (3.27)$$

Donde ϵ_∞ es la permitividad de alta frecuencia, ϵ_0 es la permitividad de baja frecuencia, ω_{TO} es la frecuencia del fonón óptico transversal, γ es la constante de amortiguación para el fonón óptico transversal, ω_{pl} es la frecuencia de plasma y τ es el tiempo de relajación de electrones

determinado por la movilidad μ : $\tau = \mu m_2 / e$.

En el trabajo se investigaba los SPPP en GaAs con el objetivo de obtener emisión de radiación en THz; por ello, se utilizaron rejillas de superficie para cumplir la condición de coincidencia de los vectores de onda del SPPP y el fotón.

$$k_{SPPP} = k_{Ph} \sin\theta + mk_G, m = \pm 1, \pm 2, \pm 3, \dots, \quad (3.28)$$

Donde $k_{Ph} = \omega/c$ es el vector de onda del fotón en el vacío, θ es el ángulo de incidencia, $k_G = 2\pi/a$ es el vector recíproco de la rejilla y a es el período de la rejilla.

La figura 3.7 representa la relación de dispersión de un SPPP obtenida en ese trabajo; además, se observa que esta relación de dispersión consiste de dos ramas separadas por una brecha. El origen de esta brecha se debe a que existe un rango espectral estrecho en la vecindad de la energía del fonón óptico donde la parte real de la constante dieléctrica del GaAs excede -1 y los SPPP no pueden existir [Melentev et al. (2017)].

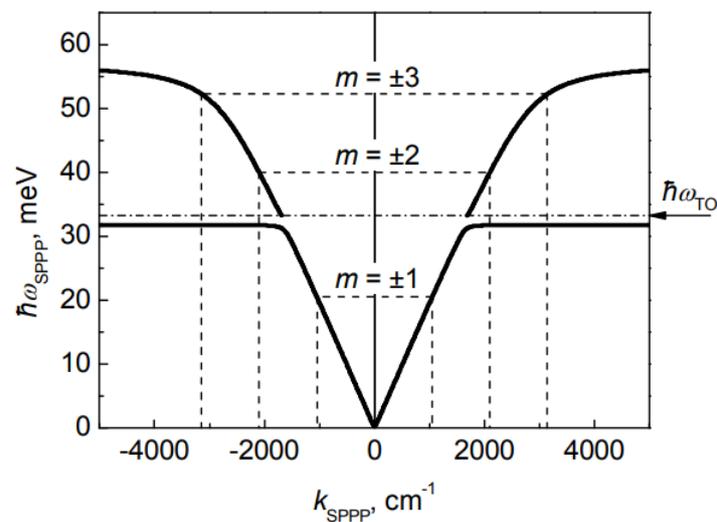


Figure 3.7: Relación de dispersión de un SPPP en la interfaz GaAs/vacío. Las líneas discontinuas horizontales muestran las posiciones espectrales de las resonancias SPPP de diferentes órdenes de m para el caso de incidencia normal de radiación $\theta = 0^\circ$. Imagen extraída de Melentev et al. (2017)

4. Localized Surface Plasmon (LSP)

Cuando se ilumina una nanoestructura, por ejemplo una nanopartícula esférica, el campo electromagnético ejerce una fuerza sobre los electrones de conducción que se encuentran confinados dentro de la nanopartícula. Esto ocasiona una distribución de carga donde la carga negativa se acumula en un lado y la carga positiva en el lado opuesto (Ver figura 4.1). La interacción de Coulomb entre estas diferentes cargas proporciona una fuerza restauradora que conduce a una frecuencia natural de oscilación de los electrones. Esta oscilación de la nube de electrones en una nanopartícula debido a la interacción con la luz se denomina Localized Surface Plasmon (LSP). A diferencia del SPP, asociado con las superficies planas, es posible excitar los LSP mediante iluminación de luz directa sin necesidad de utilizar métodos adicionales para resolver el problema de la conservación del momento. Además, los LSP presentan una condición de resonancia denominado Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR), donde el campo eléctrico alrededor de la nanopartícula toma valores muy altos, los cuales son aprovechados en diferentes aplicaciones. El estudio de los LSP enfocados a diferentes nanopartículas ha desarrollado un nuevo campo de estudio denominado Plasmonics, donde se investigan las propiedades de los LSP para modular y controlar la luz por debajo del límite de difracción. Además, se estudian las condiciones óptimas para obtener valores de campo eléctrico altos para utilizarlos en biosensores, nanocircuitos, optica no lineal o Biomedicina.

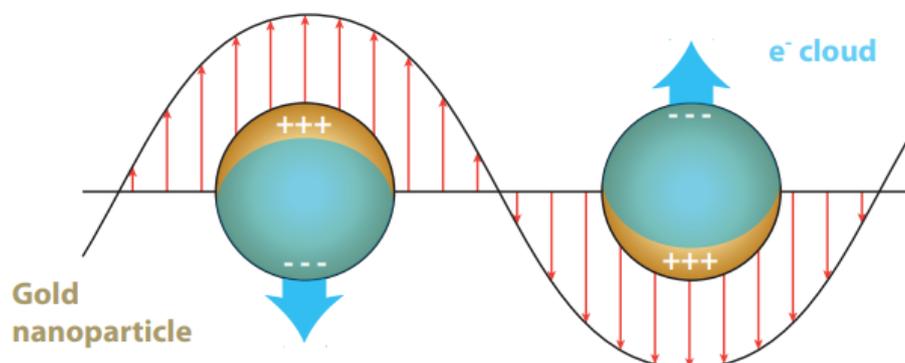


Figure 4.1: Distribución de carga en una nanopartícula esférica a causa de la incidencia de un campo electromagnético. Imagen extraída de Hugall (2013)

4.1 Aproximación cuasiestática

La aproximación cuasiestática permite analizar la interacción con el campo electromagnético y describir correctamente las propiedades ópticas de nanopartículas siempre que el tamaño de la nanopartícula sea mucho más pequeña que la longitud de onda de la luz en el medio circundante. En esta aproximación, se considera solo el término estático del campo electromagnético producido por un dipolo oscilante, ignorando los efectos asociados con el retardo y la radiación. Además, el campo electromagnético dentro de la nanopartícula se considera uniforme, siempre que la nanopartícula posea suficiente simetría. Este enfoque permite la descripción de propiedades ópticas de nanopartículas inferiores a 100 nm de manera adecuada para diferentes propósitos [Maradudin et al. (2014) - Maier et al. (2007)].

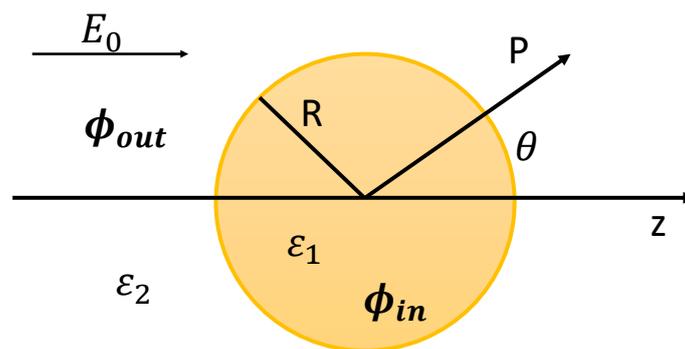


Figure 4.2: Esfera homogénea en un campo electrostático

Para un tratamiento analítico, se considera un medio circundante isotrópico no absorbente con constante dieléctrica ε_2 . En ella se ubica una esfera de radio R isotrópica y homogénea con constante dieléctrica ε_1 en el origen de un campo eléctrico estático uniforme $E = E_0 \hat{z}$ (Ver figura 4.2). El campo inicialmente uniforme se verá distorsionado por la introducción de la esfera y los campos eléctricos dentro y fuera de la esfera (E_{int} y E_{out} respectivamente) son derivables de los potenciales escalares $\phi_{int}(r, t)$ y $\phi_{out}(r, t)$. Con este enfoque, los potenciales

se obtienen de la ecuación de Laplace

$$\nabla^2 \phi_{in} = 0 \quad (r < R) \quad (4.1a)$$

$$\nabla^2 \phi_{out} = 0 \quad (r > R) \quad (4.1b)$$

Debido a la simetría azimutal del problema, el potencial se establece de la forma

$$\phi(r, \theta) = \sum_{l=0}^{\infty} [A_l r^l + B_l r^{-l+1}] P_l \cos(\theta) \quad (4.2)$$

Donde $P_l(\cos \theta)$ son los polinomios de Legendre de orden l y θ es el ángulo entre el vector de posición r en el punto P y el eje z . Debido a que los potenciales deben permanecer finitos en el origen, la solución para los potenciales ϕ_{in} y ϕ_{out} se escribe como

$$\phi_{in}(r, \theta) = \sum_{l=0}^{\infty} A_l r^l P_l(\cos \theta) \quad (4.3a)$$

$$\phi_{out}(r, \theta) = \sum_{l=0}^{\infty} [B_l r^l + C_l r^{-(l+1)}] P_l(\cos \theta) \quad (4.3b)$$

Luego, utilizando las condiciones de contorno adecuados [Maier et al. (2007) - Kawata, Ohtsu, y Irie (2001)] se obtiene

$$\phi_{int} = -\frac{3\varepsilon_2}{\varepsilon_1 + 2\varepsilon_2} E_0 r \cos(\theta) \quad (4.4)$$

$$\phi_{out} = -E_0 r \cos(\theta) + E_0 R^3 \frac{\cos(\theta)}{r^2} \frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_2}{\varepsilon_1 + 2\varepsilon_2} \quad (4.5)$$

Para determinar la polarizabilidad es importante interpretar que el potencial ϕ_{out} describe la superposición del campo aplicado y la de un dipolo ubicado en el centro de una nanopartícula. Entonces, se reescribe el ϕ_{out} introduciendo el momento dipolar \mathbf{P} de la siguiente manera:

$$\phi_{out} = -E_0 r \cos(\theta) + \frac{\mathbf{P} \cdot \mathbf{r}}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon_2 r^3} \quad (4.6)$$

Con

$$\mathbf{P} = 4\pi\varepsilon_0\varepsilon_2 R^3 \frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_2}{\varepsilon_1 + 2\varepsilon_2} E_0 \quad (4.7)$$

Por lo tanto, se observa que el campo aplicado induce un momento dipolar dentro de la esfera de magnitud proporcional a $|E_0|$. A partir de la definición del momento dipolar $\mathbf{P} = \varepsilon_0 \varepsilon_2 \alpha E_0$, se consigue obtener una expresión para la polarizabilidad α

$$\alpha = 4\pi R^3 \frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_2}{\varepsilon_1 + 2\varepsilon_2} \quad (4.8)$$

Este es el resultado central de la aproximación cuasiestática ya que se observa que existe una condición de resonancia al trabajar con materiales que tienen una permitividad negativa como la plata, oro o el cobre. Esta condición se conoce como la condición de Frölich y sucede cuando el valor de $\varepsilon_1 = 2\varepsilon_2$. Además, en esta condición, el valor de la polarizabilidad aumenta drásticamente, lo que aumenta el momento dipolar \mathbf{P} y, en consecuencia, se incrementa el potencial ϕ_{out} . La distribución del campo eléctrico $E = -\nabla \phi$ se calcula a partir de los potenciales 4.4 y 4.5.

$$E_{in} = \frac{3\varepsilon_2}{\varepsilon_1 + 2\varepsilon_2} E_0 \quad (4.9)$$

$$E_{out} = E_0 + \frac{3\mathbf{r}(\mathbf{r} \cdot \mathbf{P}) - \mathbf{P}}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon_2} \frac{1}{r^3} \quad (4.10)$$

Se observa que la resonancia en α también implica una mejora resonante del campo E_{out} ya que dependen directamente del momento dipolar. Esta mejora de campo en la condición de resonancia es aprovechada en varias aplicaciones que utilizan nanopartículas. Al utilizar el modelo de Drude para la constante dieléctrica ε_1 para una esfera metálica en la condición de Frölich, es posible establecer una relación entre la frecuencia de plasma ω_{pl} y la frecuencia del LSPR.

$$\omega_{LSPR} = \frac{\omega_{pl}}{\sqrt{2\varepsilon_2 + 1}} \quad (4.11)$$

Otra consecuencia importante del aumento del valor de la polarizabilidad (α) en la condición de resonancia, es la mejora en la eficiencia con la que una nanopartícula dispersa y absorbe la luz. Esto se observa calculando la sección transversal de absorción (σ_{abs}) y la sección transversal de dispersión (σ_{sca}). Estos valores son de suma importancia dentro de las aplicaciones; por ejemplo, para aplicaciones de imágenes celulares basadas en microscopía de dis-

persión de luz es necesario un σ_{sca} alto. Por otro lado, la terapia fototérmica eficaz con dosis mínimas de láser requiere un σ_{abs} muy alto.

La expresión de σ_{abs} y σ_{sca} se encuentra en el libro de Bohren y Huffman (2008), en la cual se muestra el procedimiento para obtener

$$\sigma_{abs} = k \operatorname{Im}(\alpha) = 4\pi k R^3 \operatorname{Im} \left(\frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_2}{\varepsilon_1 + 2\varepsilon_2} \right) \quad (4.12)$$

$$\sigma_{sca} = \frac{k^4}{6\pi} |\alpha|^2 = \frac{8\pi}{3} k^4 R^6 \left| \frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_2}{\varepsilon_1 + 2\varepsilon_2} \right|^2 \quad (4.13)$$

Con k siendo el vector de onda y R el radio de la nanoesfera. A parte de estas variables, se utiliza la sección transversal de extinción σ_{ext} , la cual representa la atenuación de una onda electromagnética por dispersión y absorción a medida que atraviesa un medio. La sección transversal de extinción se define como: $\sigma_{ext} = \sigma_{abs} + \sigma_{sca}$. En la aproximación cuasiestática, σ_{ext} tiene la siguiente forma [Maradudin et al. (2014)]:

$$\sigma_{ext} = \frac{24\pi^2 R^3 \varepsilon_2^{\frac{3}{2}}}{\lambda} \frac{\varepsilon_1''}{(\varepsilon_1' + 2\varepsilon_2)^2 + \varepsilon_1''^2} \quad (4.14)$$

Donde ε_2 representa la constante dieléctrica del medio y $\varepsilon_1 = \varepsilon_1' + i \varepsilon_1''$ es la constante dieléctrica compleja del metal. En la práctica, se miden otras variables que se denominan factor de eficiencia de absorción, dispersión y extinción (Q_{abs} , Q_{sca} y Q_{ext} respectivamente). Estos valores representan la relación entre una sección transversal específica y el área de la sección transversal física.

Una geometría más general que también es estudiada con la aproximación cuasiestática es el elipsoide, donde el valor de su polarizabilidad depende de un factor de forma. Por tanto, la condición de resonancia depende de las dimensiones para este tipo de nanopartícula. Esto se debe a que la distribución de la carga superficial conduce a diferentes intensidades del campo eléctrico dentro de la nanopartícula [Maier et al. (2007) - Bohren y Huffman (2008)].

4.2 Teoría Mie

A medida que aumenta el tamaño de las nanopartículas, la aproximación cuasiestática ya no es válida ya que el campo electromagnético no es capaz de polarizar las cargas dentro de las nanopartículas de manera homogénea. Por tanto, el campo electromagnético dentro de la nanopartícula no es uniforme. La solución completa para esto se conoce como teoría Mie y fue desarrollada por Gustavo Mie con el fin de comprender los colores de las partículas de oro coloidal en solución.

Esta teoría es una solución analítica exacta del problema de dispersión y absorción de la radiación electromagnética por una esfera, aunque es posible extender esta teoría para otras geometrías simples como esferoides. Sin embargo, no se obtienen soluciones analíticas para geometrías complejas. En consecuencia, se han desarrollado métodos numéricos como la aproximación de dipolo discreto (DDA), la cual es uno de los enfoques más comunes utilizados para nanopartículas con formas arbitrarias. Por ejemplo, se ha utilizado el método DDA para estudiar las propiedades ópticas de nanoprismas triangulares [Kelly, Coronado, Zhao, y Schatz (2003)] o para estudiar las condiciones óptimas para lograr una mejora del campo eléctrico en nanopartículas de plata y dímeros [Hao y Schatz (2004)]. Otras alternativas son el análisis riguroso de ondas acopladas (RCWA), el método de dominio del tiempo de diferencias finitas (FDTD), el método de elementos de frontera (BEM) y el método de elementos finitos (FEM).

Del libro Kawata et al. (2001), se extraen las expresiones para los campos de dispersión \mathbf{E}_s y \mathbf{H}_s , las cuales se expresan mediante armónicos vectoriales de la siguiente manera:

$$\mathbf{E}_s = \sum_{n=1}^{\infty} i^n \frac{2n+1}{n(n+1)} E_0 \left(i a_n \mathbf{N}_{e1n}^{(3)} - b_n \mathbf{M}_{o1n}^{(3)} \right) \quad (4.15)$$

$$\mathbf{H}_s = \frac{k}{\omega\mu} \sum_{n=1}^{\infty} i^n \frac{2n+1}{n(n+1)} E_0 \left(i b_n \mathbf{N}_{o1n}^{(3)} - a_n \mathbf{M}_{e1n}^{(3)} \right) \quad (4.16)$$

Donde el superíndice (3) de los armónicos esféricos implica $z_n = j_n + i y_n$. La función z_n es una combinación lineal de las funciones esféricas de Bessel $j_n(r)$ y $y_n(r)$.

$$j_n(r) = \sqrt{\frac{\pi}{2r}} J_{n+1/2}(r) \quad y_n(r) = \sqrt{\frac{\pi}{2r}} Y_{n+1/2}(r) \quad (4.17)$$

Donde J_ν y Y_ν son las funciones de Bessel del primer y segundo tipo respectivamente. Los coeficientes a_n y b_n se obtienen resolviendo las condiciones de contorno en la superficie de la esfera y están dados por

$$a_n = \frac{m\psi_n(mx)\psi'_n(x) - \psi_n(x)\psi'_n(mx)}{m\psi_n(mx)\xi'_n(x) - \xi_n(x)\psi'_n(mx)} \quad (4.18)$$

$$b_n = \frac{\psi_n(mx)\psi'_n(x) - m\psi_n(x)\psi'_n(mx)}{\psi_n(mx)\xi'_n(x) - m\xi_n(x)\psi'_n(mx)} \quad (4.19)$$

Donde $x = k r_1$ es el parámetro de tamaño, $m = \sqrt{\varepsilon_1/\varepsilon_2}$, $\psi_n(r) = r j_n(r)$ y $\xi_n(r) = r [j_n(r) - i y_n(r)]$.

Finalmente, las expresiones para σ_{sca} y σ_{ext} están dados por

$$\sigma_{ext} = \frac{2\pi}{k^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \operatorname{Re}(a_n + b_n) \quad (4.20)$$

$$\sigma_{sca} = \frac{2\pi}{k^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \quad (4.21)$$

Además, la sección transversal de absorción se obtiene a partir de: $\sigma_{abs} = \sigma_{ext} - \sigma_{sca}$.

4.3 Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR)

El LSPR en nanopartículas metálicas es muy sensible al tamaño, la forma y las propiedades dieléctricas del medio circundante [Kelly et al. (2003) - García (2011)]. Por tanto, es posible ajustar fácilmente las propiedades ópticas de las nanopartículas modificando su tamaño y forma. Esta sensibilidad forma la base para biosensores o métodos de detección de analitos biológicos. Además, cuando la distancia que separa a las nanopartículas es pequeña, los momentos dipolares inducidos por la luz de las nanopartículas se acoplan entre si, lo que genera cambios en las secciones transversales de absorción y de dispersión de las nanopartículas. Este acoplamiento también conduce a campos eléctricos fuertemente confinados y mejorados dentro de los espacios entre las nanopartículas acopladas.

La principal ventaja de los LSP es la posibilidad de ajustar la condición de resonancia en el rango de longitud de onda que mejor se ajuste a los experimentos modificando las propiedades

de la nanopartícula o el medio circundante. Por ejemplo, para las aplicaciones terapéuticas y de imágenes in vivo es deseable que la resonancia del LSP se encuentre en la región del infrarrojo cercano (NIR) ya que es la región donde la transmitancia del tejido es la más alta. Por otro lado, el controlar la resonancia también permite obtener diferentes valores de mejora para el campo eléctrico cercano a la nanopartícula. Por ello, se han realizado estudios para determinar diferentes valores de mejora que se ajusten a un experimento dado. Un ejemplo es el estudio para determinar las condiciones favorables para conseguir mejoras de campo eléctrico que permitan la observación de la Espectroscopia Raman Mejorada de Superficie (SERS) de una sola molécula en nanopartículas de plata y dímeros [Hao y Schatz (2004)].

La excitación en la resonancia de los LSP provoca la oscilación colectiva de todos los electrones de conducción. Estos procesos de excitación originan el calentamiento del gas de electrones. En la práctica, se utilizan láseres para generar estos mecanismos de excitación, lo que eventualmente origina un aumento de temperatura. El acoplamiento electrón-fonón conduce al equilibrio térmico entre los electrones y la red después de la excitación selectiva del gas de electrones con un pulso láser. Sin embargo, cuando la energía del pulso de excitación aumenta a varios microjulios sin aumentar el área de efecto, la temperatura de la red de nanopartículas puede alcanzar la temperatura de fusión del material respectivo. Esto genera cambios de tamaño y forma en las nanopartículas, las cuales son posibles de verificar con imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM). Estos cambios modifican el espectro del LSPR y, en consecuencia, las propiedades de absorción y dispersión de las nanopartículas [Link y El-Sayed (2000)].

4.3.1 Dependencia del tamaño

Como se describió anteriormente, el aumentar el tamaño de la nanopartícula ocasiona cambios en sus propiedades ópticas ya que la distribución de la carga dentro de la nanopartícula no es homogénea, como se observa claramente en la figura 4.3. En este caso, no es posible describir la nanopartícula mediante un dipolo y se requieren términos multipolares. Por otro lado, al reducir el tamaño de la nanopartícula a un valor que es más pequeño que el camino libre medio de los electrones, se presenta un efecto de tamaño intrínseco relacionado directamente

con la tasa de colisión de electrones representado por γ . Este valor γ , que aparece en el modelo de Drude de la ecuación 3.1, está relacionado con la vida útil de todos los procesos de dispersión de electrones, las cuales son principalmente la dispersión electrón-electrón, electrón-fonón y electrón-defecto en el material [Link y El-Sayed (2000)].

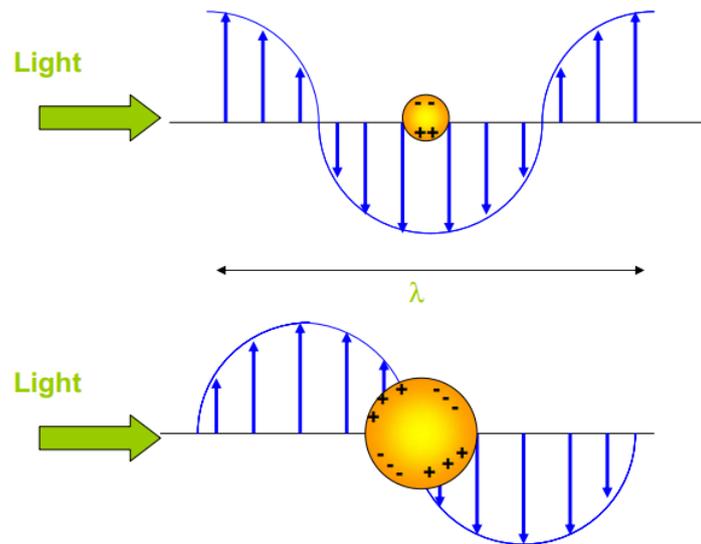


Figure 4.3: Distribución de carga en la superficie de una nanopartícula a causa de la incidencia de un campo electromagnético para dos caso: Cuando el tamaño de la nanopartícula es mucho más pequeña y cuando es comparable a la longitud de onda de la luz incidente. Imagen extraída de García (2011)

Cuando el tamaño de la nanopartícula es más pequeña que el camino libre medio de los electrones de conducción, se añade un término adicional a γ ya que los electrones se amortiguarán en su movimiento por la dispersión con la superficie de la nanopartícula. Así, el valor de γ cambia y se convierte en una función que depende del radio r de la nanopartícula, cuya expresión se denota de la siguiente manera:

$$\gamma(r) = \gamma_0 + \frac{A v_F}{r} \quad (4.22)$$

Donde A es un parámetro que depende de los detalles del proceso de dispersión de la superficie y v_F es la velocidad de los electrones en la energía de Fermi.

El primer término γ_0 describe el amortiguamiento debido a la dispersión de los electrones oscilantes con los núcleos iónicos y el segundo término corresponde a la dispersión de electrones oscilantes con la superficie de la nanopartícula [Kawata et al. (2001)-García (2011)]. A medida que la velocidad de los electrones se acerca a la velocidad de Fermi v_F , mayor será el número

de electrones que se dispersarán en su movimiento; mientras que, al aumentar el tamaño de la nanopartícula, la amortiguación total de los electrones en la superficie se reducirá. Por tanto, la amortiguación de la superficie es proporcional a la velocidad de Fermi en el metal e inversamente proporcional al radio de la nanopartícula.

4.3.2 Dependencia de la forma

La distribución de la carga en la superficie de la nanopartícula está relacionada con la fuerza restauradora que se genera dentro de la nanopartícula cuando se incide un campo electromagnético. Esta distribución se genera dependiendo de la forma de la nanopartícula. Por tanto, la resonancia del LSP se ve fuertemente afectado por la forma de la nanopartícula. Hasta este punto se han descrito nanopartículas con formas particulares como esferas o esferoides; sin embargo, existen geometrías más complejas que poseen características propias, las cuales son utilizadas para aplicaciones específicas. La figura 4.4 representa la dispersión de la luz para 3 nanopartículas de formas diferentes junto con sus imágenes TEM respectivos. En ella, se observa que el valor máximo para las nanopartículas con forma triangular aparece en la región rojo, para las nanopartículas que se visualizan como pentágonos en la región verde y para las nanopartículas con formas esféricas en la región azul. Además, se verificó que los cambios

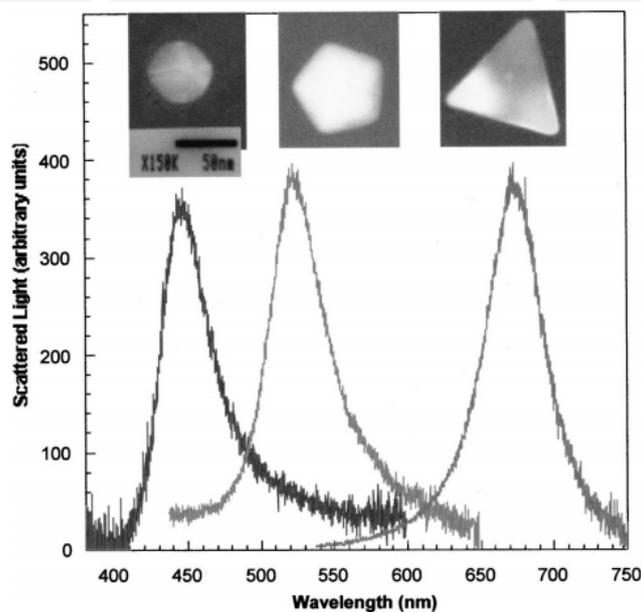


Figure 4.4: Espectroscopia óptica de nanopartículas de plata individuales con forma de triángulo, pentágono y esfera. Además, se muestra una imagen TEM de alta resolución de la nanopartícula sobre su espectro respectivo. Imagen extraída de Mock et al. (2002)

morfológicos a causa de factores externos, como el aumento de la temperatura, afectan directamente las propiedades de los LSP. Para ello, se calentaron nanopartículas triangulares durante 20 minutos a 200°C para modificar la forma de sus puntas. Al inicio, el espectro de dispersión de la luz de estas nanopartículas mostraba un pico centrado en 625 nm. Posterior al tratamiento térmico, el pico se desplazó a 585 nm. Incluso, con un nuevo calentamiento de 29 minutos, el pico espectral se desplazó a 555 nm. Esto es una evidencia de la relación directa de la forma de la nanopartícula con sus propiedades ópticas [Mock et al. (2002)].

Existen varias geometrías para las nanopartículas como los nanovoids, nanodisk o nanotriangles; sin embargo, para las aplicaciones destacan dos geometrías particulares debido a sus características propias: Los nanorods y los nanoshells [Sarid y Challener (2010)-Maier et al. (2007)].

- **Nanorods**

Gans modificó la teoría de Mie para estudiar las nanopartículas en forma de barra y predijo que la banda LSPR se dividiría en dos modos debido a las diferentes orientaciones de la barra con respecto al campo electromagnético de la luz incidente [Link y El-Sayed (2000)]. Un modo se conoce como modo longitudinal, la cual corresponde a la oscilación de los electrones libres a lo largo del eje mayor del nanorod. Este modo depende de la relación de aspecto, que es básicamente una relación entre la dimensión del nanorod a lo largo del eje largo y la del eje corto (longitud/ancho). A medida que se aumenta la relación de aspecto, este modo muestra un gran desplazamiento hacia el rojo. El otro modo se denomina modo transversal, el cual está relacionado con la oscilación de los electrones libres perpendiculares al eje mayor del nanorod. Este modo solo muestra un pequeño desplazamiento hacia el azul a medida que aumenta la relación de aspecto.

Como se muestra en la figura 4.5, el ajustar la relación de aspecto permite obtener un pico de resonancia en la región del infrarrojo cercano, lo que es beneficioso para aplicaciones en Biomedicina. Por tanto, los nanorods se utilizan muy a menudo para diagnósticos, terapias fototérmicas y el mapeo in vivo e in vitro [Long y Jing (2014)].

Se han demostrado diversos métodos para preparar nanorods como el método electro-

químico y el método de crecimiento mediado por semillas [Hu et al. (2006)]. En adición, se ha observado que los cambios estructurales de los nanorods que son expuestos a pulsos láseres depende tanto del ancho del pulso como de la energía. Un ejemplo de esto sucede cuando los nanorods son expuestos a pulsos de femtosegundos o nanosegundos. Situación que origina que los nanorods se fragmenten en partículas casi esféricas de diferentes tamaños [Link, Burda, Mohamed, Nikoobakht, y El-Sayed (1999)].

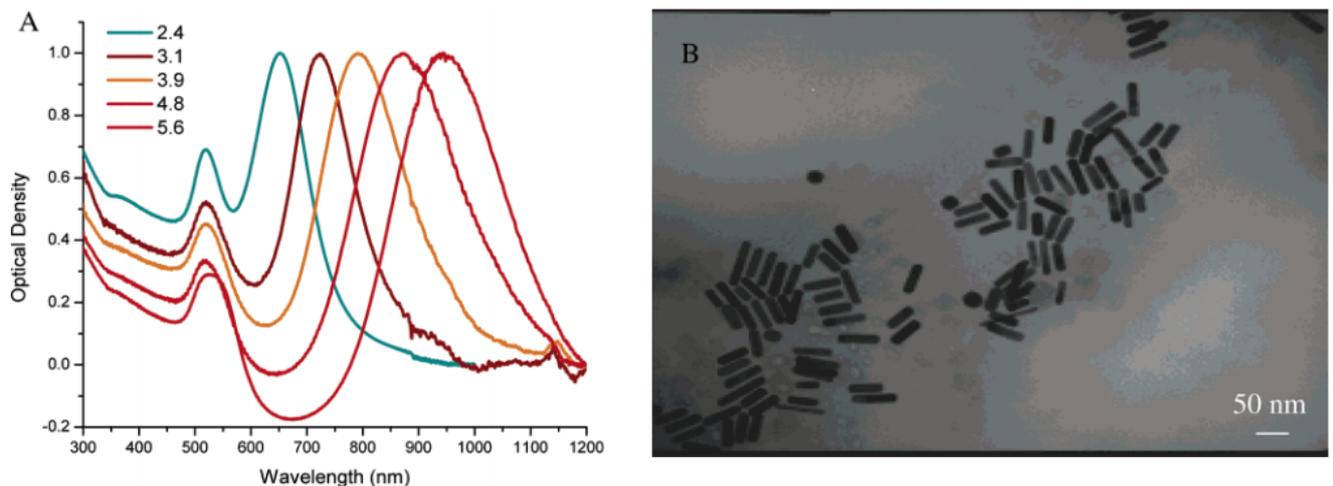


Figure 4.5: (a) Espectros de absorción de nanorods de oro con diferentes relaciones de aspecto, las cuales muestran la variación del pico del modo longitudinal a medida que la relación de aspecto aumenta. (b) Imagen TEM de un nanorod de relación de aspecto 3.9, cuyo espectro de absorción está representado por la línea naranja en la figura a. Imagen extraída de X. Huang et al. (2006)

• Nanoshells

Es una nanopartícula compuesta formada por una capa externa que rodea un núcleo hecho de otro material. La resonancia de estas nanopartículas posee un rango de longitud de onda mucho mayor que una nanopartícula esférica (desde el UV hasta el infrarrojo). Es posible ajustar esta resonancia variando la relación entre el radio del núcleo y el radio de la capa externa. Por ejemplo, la resonancia de una esfera sólida en el aire generalmente ocurre dentro de un rango estrecho de longitud de onda ($\approx 500-700$ nm); por otro lado, el rango de las nanoshells de oro se extienden a longitudes de onda de $3 \mu\text{m}$ o más [Sarid y Challener (2010)].

Las nanoshells más comunes se componen de una capa metálica de oro con un núcleo de Silice. Estas nanoshells generalmente se preparan depositando directamente oro sobre

esferas coloidales de Silice [Hu et al. (2006)]. Debido a su simetría esférica, los espectros de extinción se determinan analíticamente mediante la teoría Mie y sus espectros de dispersión se obtienen mediante microscopía de campo oscuro [Nehl et al. (2004)]. Por último, las nanoshells exhiben excelentes propiedades ya que sus dos materiales que lo componen las dotan de múltiples funciones incluidas capacidades catalíticas, biocompatibilidad, reactividad química y propiedades magnéticas. Estas ventajas son utilizadas en el campo de la química, biología, SERS, óptica no lineal entre otros.

Las secciones transversales de absorción de las nanoesferas de oro son típicamente 4-5 órdenes de magnitud más altas en comparación con los tintes usados convencionalmente. La magnitud de dispersión de luz por nanoesferas de oro de 80 nm a una longitud de onda de 560 nm es comparable a la dispersión de las nanoesferas de poliestireno 300 nm más grandes, las cuales se utilizan en la formación de imágenes confocales de células. También, la emisión de luz de moléculas fluorescentes como la fluoresceína es 5 órdenes de magnitud menor que la luz que se dispersa de nanoesferas de oro de 80 nm.

Las nanoshells de oro muestran secciones transversales de absorción y dispersión que son comparables e incluso mayores que las nanoesferas de oro sólido. Además, su pico de resonancia se puede sintonizar en la región NIR variando el tamaño del radio de la capa o el radio del núcleo; por tanto, las nanoshells son más adecuadas para aplicaciones de terapia e imágenes in vivo en comparación con las nanoesferas de oro.

Por otro lado, los nanorods de oro muestran secciones transversales ópticas comparables con las nanoshells y nanoesferas, pero con un tamaño efectivo mucho más pequeño. Esto sumado al potencial de no citotoxicidad del oro, la facilidad de sintonización óptica y la fácil síntesis, posicionan a los nanorods como las nanopartículas más prometedoras para su uso en aplicaciones de terapia fototérmica y de imágenes biomédicas [Jain, Lee, El-Sayed, y El-Sayed (2006)].

4.3.3 Dependencia del medio circundante

La excitación de los LSP depende directamente del material de la nanopartícula y el medio circundante. Un ejemplo de esto es el valor de la polarizabilidad de la ecuación 4.8 en la aproximación cuasiestática, la cual depende directamente de la constante dieléctrica de la nanopartícula y el medio circundante. La figura 4.6 muestra el valor absoluto de la polarizabilidad normalizada a cualquier radio con respecto a la frecuencia ω (en unidades de eV) para el cobre, plata y oro. Las constantes dieléctricas para cada material se extraen de los valores obtenidos por Johnson y Christy (1972) y se toma como medio el aire, la cual tiene una constante dieléctrica igual a 1. En la figura se observa que la polarizabilidad es muy diferente para cada material e incluso se observa un valor máximo en la condición de Frölich de la plata, que es muy superior al del oro y el cobre.

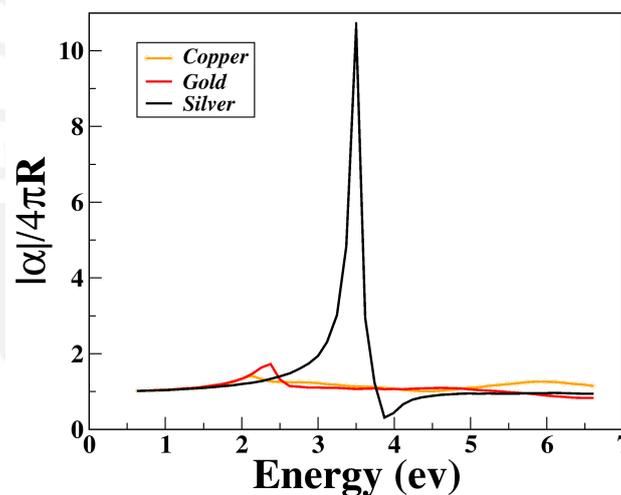


Figure 4.6: Valor absoluto de la polarizabilidad para nanopartículas de cobre (línea roja), plata (línea negra) y oro (línea amarilla) teniendo como medio el aire.

En general, el medio circundante está relacionado con la polarización del medio ya que el campo eléctrico que se genera alrededor de la nanopartícula induce la polarización de los electrones del medio circundante, lo que resulta en una acumulación de cargas en los límites entre la nanopartícula y el medio, la cual compensará parcialmente la acumulación de carga debido al movimiento de los electrones de conducción. Este efecto de carga dependerá de la función dieléctrica del medio y está relacionado con la fuerza restauradora que se genera dentro de la nanopartícula. Por tanto, el pico de resonancia de un LSP se verá influenciado por las

propiedades de su medio [García (2011)].

4.3.4 Interacciones entre nanopartículas

En un conjunto de nanopartículas, el LSPR se ve fuertemente afectado por el acoplamiento de campo cercano con otras nanopartículas. Esto significa que el campo eléctrico que se forma en una nanopartícula producto de la excitación del LSP, afecta a las nanopartículas que se encuentren cercanas a ella. Este efecto es de corto alcance ya que el campo eléctrico que se forma decae con la distancia, por lo que las interacciones electromagnéticas de nanopartículas muy lejanas no son consideradas. En adición, este acoplamiento genera un aumento extremadamente alto del campo eléctrico en un volumen espacialmente localizado entre nanopartículas. Este espacio recibe el nombre de punto caliente. Debido a su utilidad, se han desarrollado sistemas de puntos calientes clasificados como puntos calientes de primera, segunda y tercera generación para aplicaciones específicas como mejorar la señal Raman [Ding et al. (2016)].

Para nanopartículas pequeñas dentro del régimen cuasiestático, estas interacciones son esencialmente de naturaleza dipolar y el conjunto de estas nanopartículas se describen, en una primera aproximación, como un conjunto de dipolos interactuando. En adición, cuando las nanopartículas están dispuestas en geometrías particulares, es posible aprovechar estas interacciones para desarrollar nuevas aplicaciones como el guiado plasmónico. Esto se refiere al proceso de guiar una onda electromagnética mediante el acoplamiento de los LSP entre una serie de nanopartículas metálicas estrechamente espaciadas. En este sistema, una oscilación del plasmón en una nanopartícula metálica induce otra oscilación del plasmón en la nanopartícula vecina [Prasad (2004)]. Se han realizado estudios utilizando nanopartículas de plata en forma de varilla como guías de onda plasmónicas. Esto con el fin de tener una mejor comprensión del control de las interacciones luz-materia por debajo del límite de difracción de la luz para utilizarlos en aplicaciones de dispositivos fotónicos a nanoescala [Maier et al. (2003)].

4.4 Materiales Plasmónicos

Los metales son considerados materiales plasmónicos por su alta conductividad eléctrica y su alta frecuencia de plasma. En adición, estos materiales exhiben una parte real negativa de

la permitividad en el rango de longitud de onda de interés a diferencia de los dieléctricos que exhiben una parte real positiva. La parte imaginaria de la permitividad representa las pérdidas ópticas en el material, por lo que, para usos prácticos, se utilizan aquellos materiales cuya parte imaginaria de su permitividad es muy pequeño. En los dieléctricos, las pérdidas son insignificantes; mientras que, para los metales, las pérdidas son significativas.

Los mecanismos de pérdida en los rangos de frecuencia del infrarrojo cercano y visible se clasifican como pérdidas intrabanda, pérdidas interbandas y las pérdidas asociadas con las vibraciones de la red (fonones). Esta última tiene pérdidas que son varios órdenes de magnitud más pequeños que las debidas a los electrones en el rango visible e infrarrojo cercano. Las pérdidas intrabanda surgen principalmente de los electrones de la banda de conducción, cuya interacción con un campo electromagnético está bien descrita por la teoría de Drude. Las pérdidas interbandas forman un mecanismo de pérdida significativo en los materiales a frecuencias ópticas y ocurre cuando los electrones saltan a niveles de energía vacíos más altos debido a la absorción de fotones incidentes. Por tanto, un buen material plasmónico debe exhibir una parte real negativa de la permitividad y una parte imaginaria de permitividad tan pequeña como sea posible en el rango espectral de interés, generalmente entre el rango visible y el infrarrojo cercano. En adición, un buen material plasmónico debe ser químicamente estable, mecánicamente robusto y fácil de fabricar e integrar con los dispositivos semiconductores existentes [Maradudin et al. (2014)].

Existen otros materiales que cumplen con estas condiciones, pero en diferentes longitudes de onda y no son considerados en el campo de la plasmónica. Un ejemplo son los semiconductores dopados, cuyos electrones de conducción muestran una respuesta óptica similar a los metales, pero con una frecuencia de plasma en el infrarrojo lejano. Otro ejemplo es la respuesta óptica de fonones en cristales iónicos que también conducen a un valor negativo en la parte real de su permitividad a longitudes de onda mucho más largas. En este último caso, la respuesta óptica no está dictada por los electrones libres sino por los fonones [Le Ru y Etchegoin (2008)].

La Figura 4.7 representa la parte real e imaginaria de la permitividad de diferentes materiales que podrían ser utilizados para aplicaciones plasmónicas. Sin embargo, muchos de estos presentan pérdidas muy significativas, lo que ocasiona que su uso sea bastante limitado. Los

metales alcalinos como el sodio y el potasio tienen las pérdidas más bajas (Ver figura 4.7-b); sin embargo, en su forma elemental pura, estos metales alcalinos son muy reactivos al aire y al agua; por ello, son muy difíciles de fabricar e integrar en los dispositivos. Los metales nobles como el aluminio, cobre, oro y la plata son otras opciones como materiales plasmónicos. No obstante, el cobre presenta dificultades para fabricar dispositivos, ya que se oxida fácilmente y forma Cu_2O o CuO . El aluminio presenta una transición interbanda alrededor de 800 nm, lo que da como resultado valores muy altos en la parte imaginaria de la permitividad en el rango de longitud de onda visible. Estos detalles ocasionan que el cobre y el aluminio no sean utilizados con mucha frecuencia. Finalmente, el oro y la plata presentan características que los convierten en los materiales plasmónicos por excelencia. Estos materiales presentan pérdidas relativamente bajas en los rangos visibles y NIR; además, el oro es químicamente estable por lo que es una muy buena opción para aplicaciones relacionadas al campo de la medicina o la biología [Maradudin et al. (2014) - Le Ru y Etchegoin (2008)].

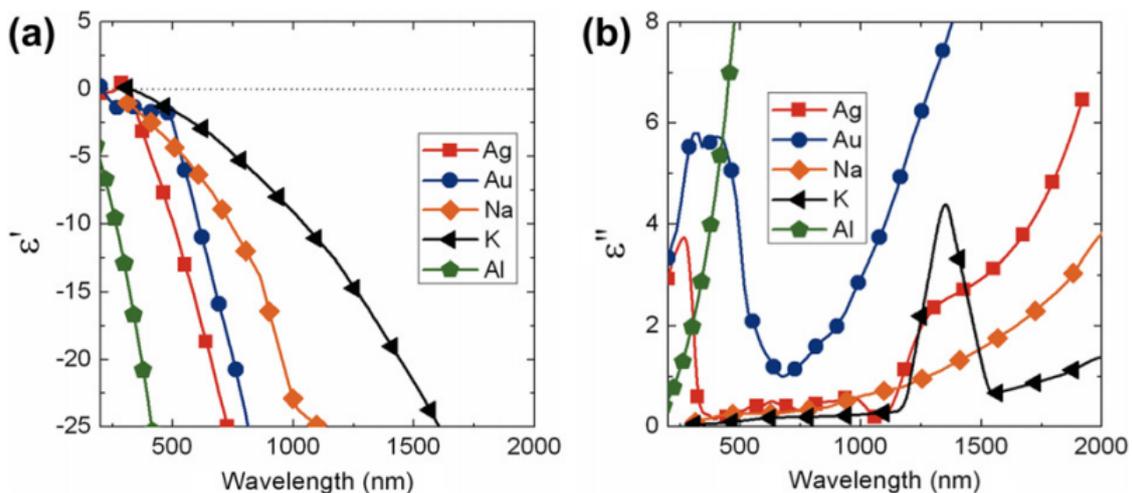


Figure 4.7: Partes reales (a) e imaginarias (b) de las permitividades de Ag, Au, Al, Na y K a diferentes longitudes de onda. Imagen extraída de Maradudin et al. (2014)

La pérdida es un factor crítico que limita el rendimiento de los dispositivos ópticos. El oro y la plata no son ajenos a estas pérdidas. Esto ocasiona que tanto el oro y la plata no sean adecuados para muchos dispositivos plasmónicos y metamateriales. Por ello, se buscan técnicas para reducir lo máximo posible las pérdidas y tener materiales que produzcan una respuesta metálica a la luz mientras exhiben muy pocas pérdidas a un rango de frecuencia específico [Naik, Shalaev, y Boltasseva (2013)].

5. Aplicaciones

Las propiedades de los SPP y los LSP descritas anteriormente han permitido el desarrollo de numerosas aplicaciones y nuevas tecnologías. Los LSP tienen una especial atención ya que han contribuido al desarrollo de una nueva disciplina conocida como Plasmonics. Los materiales plasmónicos como la plata (Ag) y el oro (Au) han sido utilizados ampliamente para ello. El oro tiene especial atención debido a su alta estabilidad química y física junto con su facilidad de funcionalización de la superficie con moléculas orgánicas y biológicas, la cual es una ventaja muy utilizada en Biomedicina. En particular, las nanopartículas de oro tienen una gran cantidad de electrones de conducción fácilmente polarizables, lo que es un requisito previo para la interacción preferencial con campos electromagnéticos y la generación de fenómenos ópticos no lineales. El campo de las aplicaciones que utilizan plasmones incluyen la mejora de la eficiencia de los procesos de fotocatalisis [Hou y Cronin (2013) - X. Zhang, Chen, Liu, y Tsai (2013)], nanolitografía plasmónica [Srituravanich et al. (2008) - Xie et al. (2011)], mejora de la fluorescencia [Fort y Grésillon (2007)-Xu et al. (2011)], pinzas ópticas [Righini, Zelenina, Girard, y Quidant (2007)], atrapamiento óptico [L. Huang, Maerkl, y Martin (2009)] entre otros. A continuación, se describen el uso y las investigaciones de los plasmones en Biomedicina, las cuales incluyen la creación de nuevos métodos de detección para diferentes enfermedades, tratamientos contra el cáncer y SERS.

5.1 Biomedicina

El uso de los plasmones en el campo de la Biomedicina, que incluyen detección y tratamiento, es uno de los campos con mayor número de aplicaciones. Las nanopartículas tienen un tamaño biológico comparable a entidades como virus, cadenas de ADN, células y bacterias, lo que hace posible que las nanopartículas interactúen con estos organismos de manera individual para su estudio o detección. En adición, las nanopartículas se distinguen por su multifuncionalidad porque permiten combinar varias técnicas de imagen o realizar terapia fototérmica junto con imágenes. Además, las nanopartículas de metales nobles son altamente biocompatibles y fáciles de funcionalizar. También, las resonancias del LSP de metales nobles son sensibles a las

propiedades dieléctricas de su entorno local, por lo que se ha aprovechado este efecto en numerosas aplicaciones de detección [Liao, Nehl, y Hafner (2006)]. Un paso más adelante es el uso de nanopartículas con diferentes geometrías (principalmente hechas de oro) para mejorar las técnicas de etiquetado celular y otorgar nuevas posibilidades de terapias efectivas contra el cáncer. Por tanto, los LSP son las principales protagonistas para el desarrollo futuro relacionado con este campo.

5.1.1 Biosensores

Los biosensores que utilizan la excitación de los Surface Plasmon (SP) proporcionan información útil sobre la afinidad y cinética de interacciones biomoleculares; además, de los niveles de concentración de un analito de una muestra compleja. Esto ha permitido el desarrollo de nuevos mecanismos de biodetección enfocados en análisis de diferentes enfermedades. A través de uniones químicas e inmunológicas específicas mediante el uso de anticuerpos o biomarcadores, los analitos se unen a la superficie, donde se originan los SP, para realizar un estudio selectivo de una biomolécula en particular. La alta sensibilidad de la detección de los SP se basa en el hecho de que los SP están estrechamente localizados en la superficie, por lo que son muy sensibles a su entorno dieléctrico. Debido a esto, cuando el analito se acerca a la superficie, se origina un cambio en el pico de resonancia del SP, mostrando la presencia del analito en la superficie para su posterior estudio [Stockman (2015)].

La información de las interacciones biomoleculares se obtienen midiendo características ópticas de la luz reflejada (intensidad, fase, reflectancia y polarización) al detectar un pequeño cambio en el índice de refracción en la interfaz metal/analito [Law, Yong, Baev, y Prasad (2011)]. La mayoría de los sensores SPP se basan en la configuración de Kretschmann y al pasar los años se busca mejorar estos sistemas de detección para obtener biosensores de bajo costo para la identificación rápida y en tiempo real de biomarcadores para varios programas de atención médica. Estas herramientas de detección tienen una alta sensibilidad de detección en el rango picolom de analito; sin embargo, es difícil detectar moléculas pequeñas como el ADN o medir cambios extremadamente pequeños en el índice de refracción, por lo que se requiere una mejora en la sensibilidad de detección. Por ello, se diseñan nuevos tipos de sensores SP

como el sensor SPR de rejilla metálica, el sensor basado en guías de onda en una estructura MIM o el sensor SPR de fibra óptica [Y. Chen y Ming (2012)].

Al igual que los SPP, las propiedades de los LSP también permiten desarrollar nuevos mecanismos de detección. Además, son utilizados para la mejora de fluorescencia y SERS utilizando las mejoras de campo eléctrico o sus propiedades ópticas como la dispersión y la absorción. Un ejemplo de esto es el trabajo realizado en 1999, donde se mostró que la unión covalente de submonocapas de nanopartículas de oro coloidal (de diámetros entre 10 a 25 nm) conducen a cambios extraordinariamente grandes en el ángulo de reflectividad mínima, así como cambios en la reflectividad absoluta. Además, en dicho trabajo se mostró la utilidad del Au coloidal realizando una medición de inmunoensayo en sandwich para IgG humana [Lyon et al. (1999)].

Los sensores LSP se centran en monitorear el cambio de frecuencia en la resonancia LSP. Estos sensores permiten acoplar directamente la luz del espacio libre a modos LSP sin necesidad de ningún prisma de vidrio a granel. En contraparte con la configuración SPR, los sensores LSP tienen el potencial de ser más accesibles a cambios superficiales del índice de refracción que los inducidos por la unión de pequeñas moléculas en la superficie del metal. El uso de un biosensor SPP o LSP dependerá tanto del analito como los diferentes parámetros que se utilizarán en el experimento, pero es posible realizar estudios comparativo entre ambos tipos de biosensores. Un ejemplo de ello, son los resultados de un análisis donde se midieron las respuestas en tiempo real de un sensor SPR de propagación comercial (película delgada plana de oro) y un sensor LSPR (matriz de nanopartículas de oro). En esos resultados, se observó que durante la fase de asociación en los estudios de unión en tiempo real, ambos sensores exhibieron curvas de señal versus tiempo cualitativamente similares. Sin embargo, en la fase de disociación, el sensor SPR mostró una pérdida de señal aproximadamente cinco veces mayor que el sensor LSPR [Haes, Haynes, et al. (2005)].

El uso de nanopartículas también presenta limitaciones dentro del desarrollo de técnicas de imagen y marcaje in vivo, debido a que la banda de absorción de la resonancia del LSP es casi idéntica a la de la hemoglobina, sin contar la gran cantidad de cuerpos dispersos en el torrente sanguíneo (leucocitos, eritrocitos, entre otros), las cuales dificultan la observación de la luz directamente dispersa o transmitida a través del tejido biológico. Por tanto, es muy difícil detectar

nanopartículas de oro en el torrente sanguíneo [García (2011)]. Esto impide tener un análisis rápido de sangre completa in situ con la capacidad de detectar una variedad de analitos seleccionados que beneficiaría gratamente a las aplicaciones en salud pública. Los inmunoensayos homogéneos proporcionan una estrategia más adecuada en el desarrollo de un ensayo de sangre completa in situ casi instantáneo; además, el uso de nanopartículas con geometrías especiales, como los nanorods, nanocage entre otros, contribuyen a la realización de inmunoensayos con resultados más óptimos, ya que con estas nanopartículas es posible ajustar la posición de resonancia del LSP entre 800 y 1100 nm donde la sangre y los tejidos apenas absorben. La figura 5.1 representa la clara ventaja del uso de nanorods frente a las nanopartículas de oro (esféricas) ya que se observa una clara diferencia de su espectro de absorción óptica frente a la obtenida de la sangre humana.

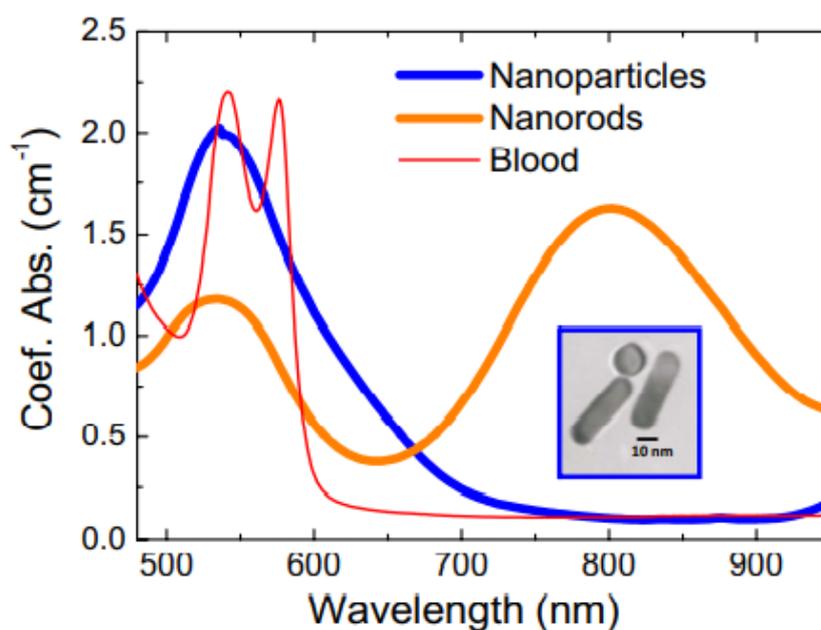


Figure 5.1: Espectro de absorción óptica de nanopartículas de oro, nanorods y sangre humana. Se visualiza que la banda SP de las nanopartículas y el modo transversal de los nanorods se encuentran en la misma región del espectro de la sangre; mientras que, la banda SP del modo longitudinal se ubica en la región NIR, donde el tejido biológico apenas absorbe. Imagen extraída de García (2011)

En otro estudio, se utilizaron nanorods de Au funcionalizados con cadenas de ADN para la detección totalmente óptica del hidrógeno en tiempo real a temperatura ambiente [N. Li et al. (2014)]. Utilizando nanoshells, una nanopartícula que consistía de un núcleo de Silice rodeada por una capa de metal delgada de oro, se describió un inmunoensayo rápido capaz de detectar analitos en medios biológicos complejos sin ninguna preparación de muestra, logrando la

detección existosa de inmunoglobinas en solución salina, suero y sangre [L. Hirsch, Jackson, Lee, Halas, y West (2003)]. Además, en dicho trabajo, se aprecia que el simple ensamblaje de anticuerpos OPSS-PEG (polietilenglicol) mediado por tiol en nanoshells podría extenderse a cualquier número de sistemas de inmunoensayo de anticuerpo / analito. Esto permitiría crear un inmunoensayo robusto capaz de detectar una variedad de analitos transmitidos por la sangre clínicamente relevantes. En adición, este proceso es mucho más simple y demanda menos trabajo que los enfoques convencionales como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y la aglutinación de látex (LA), lo que demuestra que el uso de nanopartículas tiene bastante relevancia para aplicaciones futuras.

5.1.2 Técnicas de imágenes y etiquetado celular

Los estudios de imágenes son una potente herramienta utilizada en el campo de la medicina para la detección de patologías. Existen muchas técnicas muy conocidas para este campo; sin embargo, en los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas ópticas que se basan en el uso de luz láser para la obtención de imágenes del interior del cuerpo humano. En adición, se desarrollan con más fuerza nuevos mecanismos para la obtención de imágenes como la tomografía de coherencia óptica o la tomografía optoacústica. Estas técnicas logran una resolución eficiente para el diagnóstico temprano de enfermedades basadas en la anatomía celular. A pesar de ello, el contraste obtenido por procesos biológicos como hipoxia tumoral y angiogénesis o por el uso de tintes orgánicos, como el verde de Indocianina, no es ideal para obtener imágenes de cambios moleculares específicos o para detectar procesos tumorales en etapas tempranas. Por tal motivo, el uso de nanopartículas de oro y plata han tomado mucho interés debido a que su dispersión resonante del plasmón es muchos órdenes de magnitud más brillante que la señal de fluoróforos individuales, perlas fluorescentes o puntos cuánticos. También, por su señal de dispersión, la cual no fotoblanquea ni parpadea.

Las nanopartículas de oro se han utilizado en un nuevo sistema de imágenes de dispersión de luz de campo oscuro en tiempo real para realizar imágenes de células vivas de forma continua, sin intermitencias y a largo plazo. Con este nuevo método, se han realizado estudios de diversos procesos celulares como la dinámica nuclear durante la mitosis celular, la distribución

intracelular de nanopartículas de oro entre otros. La figura 5.2 muestra el seguimiento en tiempo real del ciclo completo de una célula cancerosa HSC-3 con nanopartículas de oro localizadas en la región nuclear desde el nacimiento hasta la división. [W. Qian, Huang, Kang, y El-Sayed (2010)].

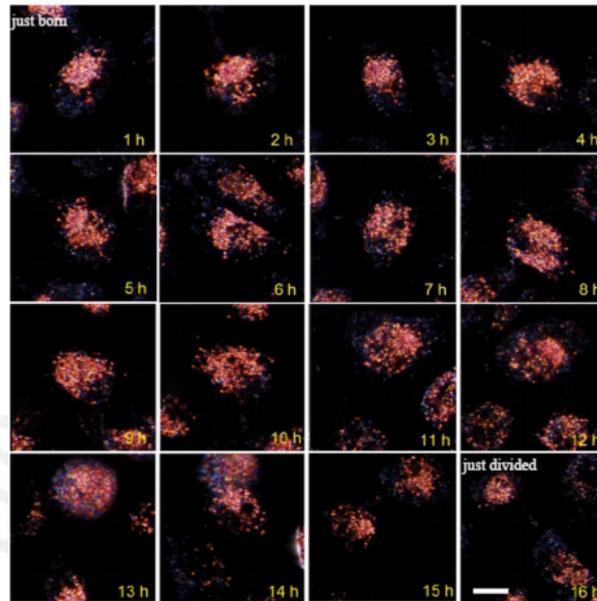


Figure 5.2: Seguimiento en tiempo real de un ciclo completo de una célula cancerosa HSC-3 con nanopartículas de oro. Imagen extraída de W. Qian et al. (2010)

En otro estudio, se aplicaron nanopartículas de oro recubiertas de quelato de gadolinio como agentes de contraste in vivo para experimentos de imágenes de Rayos X e imágenes de Resonancia Magnética. Este estudio mostró que estas nanopartículas circulan libremente en el reservorio de la sangre sin una acumulación indeseable en los pulmones, el hígado y el bazo. Además, es posible utilizarlas para el estudio y detección temprana del cáncer [Alric et al. (2008)].

La tomografía optoacústica (OAT) utiliza el efecto optoacústico referido a la generación de ondas acústicas a causa de la absorción de energía electromagnética. Por lo que este mecanismo es una combinación del alto contraste óptico con la fina resolución ultrasónica. La OAT proporciona información funcional de concentraciones de moléculas detectadas en tejidos blandos. Una aplicación directa de la OAT es generar imágenes de alta resolución y alto contraste de tumores malignos que se encuentran profundamente dentro del tejido. Utilizando nanopartículas de oro como agentes de contraste optoacústico, se demostró la alta sensibilidad de la detec-

ción de pequeños tumores en una serie de experimentos in vitro con Herceptin (una IgG humanizada que se une al dominio extracelular de la tirosina HER2) conjugado con nanopartículas de 40 nm (Mab/NPs). las cuales se dirigieron selectivamente a células de cáncer de mama SK-BR-3 humanas. Estas células cancerígenas fueron detectadas y obtenidas por OAT en un maniquí de gelatina que se parecía ópticamente al tejido de la mama (Ver figura 5.3). Los experimentos de sensibilidad mostraron que una concentración tan baja como 10^9 nanopartículas por ml era detectable a una profundidad de 6 cm [Copland et al. (2004)]. Esto muestra que el uso combinado de la OAT con nanopartículas facilitaría la detección temprana de cáncer de mama e incluso se podría mejorar la sensibilidad utilizando nanopartículas con otras geometrías.

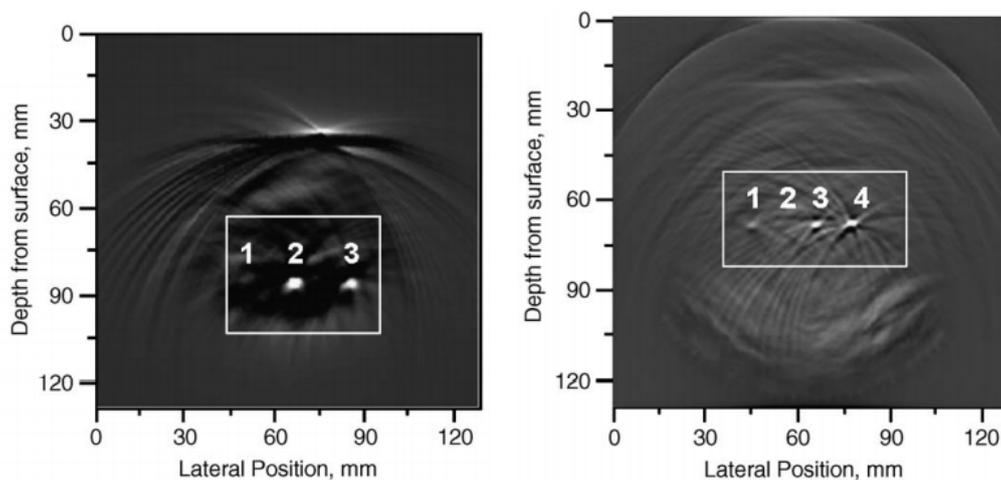


Figure 5.3: Imágenes optoacústica del maniquí de gelatina. La imagen izquierda muestra el maniquí con tres objetos incrustados: Tubo de plástico lleno del mismo gel que el medio circundante (1), tubo lleno de solución acuosa de nanopartículas (2) y un tubo lleno de Mab/NP unidos o internalizados en células SK-BR-3 (3). Las nanopartículas provocaron una señal brillante en los tubos 2 y 3. Para la imagen de la derecha, se utilizaron células SK-BR-3 unidas a Mab/NP para diferentes concentraciones: 100 millones de células (tubo 4), 25 millones de células (tubo 3), 10 millones de células (tubo 2) y un tubo de control solo con nanopartículas a una concentración de 2×10^9 nanopartículas/ml (tubo 1). Se observa una relación entre el número de células y el brillo de las imágenes ya que el brillo del tubo 4 disminuye proporcionalmente hasta el tubo 2. Imagen extraída de Copland et al. (2004)

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica interferométrica cuyo sistema posee dos haces de luz, uno de referencia y otro de muestra. A partir de su señal de interferencia, se obtiene un perfil de luz dispersa; a partir del cual, es posible conocer las dimensiones y las ubicaciones de diferentes estructuras que se encuentren en el tejido biológico. Una aplicación directa de la OCT es realizar mediciones cutáneas in vivo del melanoma maligno, lo que muestra que la OCT es un método de diagnóstico prometedor en dermatología [Lankenau, Welzel,

Birngruber, y Engelhardt (1997)].

Se ha trabajado con nanocage de oro, nanopartículas huecas con paredes porosas, como agentes de contraste para OCT debido a que mantienen fuertes picos de resonancia óptica en la región NIR en dimensiones muy pequeñas (≈ 40 nm) y por su capacidad para funcionalizarse convenientemente con anticuerpos específicos de tumores. Para demostrar esto, se realizaron imágenes OCT en muestras fantasmas con y sin nanocages. Esta muestra estaba hecho de gelatina incrustada con granulos de TiO_2 para imitar el fondo de dispersión en muestras biológicas. Se observó una notoria diferencia en las zonas donde se encontraban los nanocages con respecto a las zonas sin nanocages. Además, en este experimento se estimó que la sección transversal de dispersión (σ_{sca}) y la sección transversal de absorción (σ_{abs}) de un nanocage de oro eran $8.10 \times 10^{-16} \text{ m}^2$ y $7.26 \times 10^{-15} \text{ m}^2$ respectivamente. Este σ_{abs} es aproximadamente 5 órdenes de magnitud más alta que los tintes orgánicos comunmente utilizados como el tinte convencional Indocyanine Green (ICG), la cual tiene una σ_{abs} de $2.90 \times 10^{-20} \text{ m}^2$ a 800 nm [J. Chen, Saeki, et al. (2005)].

Los nanocages de oro también se han utilizado en la tomografía fotoacústica de alta resolución (PAT). Esta es una modalidad híbrida de imágenes biomédicas que ofrece tanto un fuerte contraste de absorción como una alta resolución ultrasónica. En un estudio se uso PAT junto con nanocages de oro bioconjugados con una hormona estimulante de los melanocitos para el estudio de imágenes in vivo de melanomas con una alta sensibilidad y especificidad. Con estas nanopartículas bioconjugadas, se obtuvo una mejora de la señal PA (fotoacústica) de un 300% más alta que la de los PEG-Au nanocages utilizados como control [Kim et al. (2010)]. Esto muestra que los nanocages de oro representan una nueva clase de agentes de contraste de absorción. En adición, su gran σ_{abs} sugieren su uso como un potencial agente terapéutico térmico.

La luminiscencia de dos fotones (TPL) tiene un mecanismo similar a la luminiscencia de un solo fotón. Los nanorods de oro son muy útiles como sustratos de TPL ya que sus modos de plasmón longitudinales resuenan en el infrarrojo cercano, donde se minimiza la absorción de agua y moléculas biológicas. También, son esencialmente inertes al fotoblanqueo, una cualidad cuyos usos prácticos son muy útiles en aplicaciones biofotónicas. Estas nanopartículas son capaces de generar TPL a intensidades suficientes para la detección de una sola partícula y la

obtención de imágenes in vivo. En un estudio se obtuvo que la intensidad de TPL de un nanorod de oro es 58 veces más brillantes que la TPL de una sola molécula de rodamina en condiciones de excitación idénticas. Además, se demostró que la resolución espacial intrínseca 3D de TPL permite monitorear procesos biológicos en tiempo real mediante imágenes in vivo de nanorods individuales, las cuales fluyen a través de los vasos sanguíneos en el lóbulo de la oreja de un ratón [H. Wang et al. (2005)].

La mejora y el diseño de nuevas técnicas de detección o biosensores utilizando plasmones contribuyen a la detección temprana de enfermedades virales infecciosas. Además, estas técnicas brindan oportunidades para un estudio más detallado de virus y bacterias. Ejemplo de esto es la demostración de un sensor nanoplasmonico optofluídico que permitió la detección directa de virus intactos a partir de medios biológicamente relevantes sin etiquetas o con poca o ninguna preparación de muestra. Este sensor se utilizó para la detección de virus de ARN con envoltura pequeña (virus de la stomatitis vesicular y Ébola pseudotipado) así como virus de ADN con envoltura grande (virus de la Vaccinia)[Yanik et al. (2010)]. Otro ejemplo, son las imágenes obtenidas a través de una técnica de imágenes por resonancia del SP, las cuales permitieron la detección, obtención de imágenes sin etiquetas y medición del tamaño y la masa de partículas virales individuales del virus de la influenza H1N1 y el HCMV [S. Wang et al. (2010)].

Los resultados del diseño de estos nuevos sensores a base de plasmones permiten la detección temprana y estudio de enfermedades más complejas, las cuales se detallan a continuación:

Cáncer: El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) puede estar involucrado en un proceso de iniciación tumoral, por lo que monitorear sus variaciones permitiría desarrollar métodos para la detección temprana del cáncer e investigar el progreso del tratamiento farmacológico terapéutico. Sin embargo, la concentración del TNF- α en el líquido biológico es muy bajo; por tanto, se requieren de biosensores ultrasensibles para monitorear la concentración de este biomarcador. Para ello, con el fin de mejorar la sensibilidad de detección, se han utilizado diferentes clases de nanopartículas aprovechando la ventaja de sus propiedades ópticas. Un ejemplo de esto, es el inmunoensayo tipo sandwich que utilizó nanorods de Au bioconjugados con el anticuerpo anti-TNF- α humano para la detección de TNF- α . Los resultados mostraron

un aumento de la sensibilidad de detección de más de 40 veces en comparación con la técnica tradicional de biosensores SPR [Law et al. (2011)].

Otro interesante trabajo es el que realizó El-Sayed con nanopartículas de oro para marcar células epiteliales malignas. En dicho trabajo, se cultivaron una línea de células epiteliales no malignas (HaCaT) y dos líneas de células epiteliales orales malignas (HOC 313 clon 8 y HSC 3) con el fin de encontrar un método que permita obtener una diferencia entre estos tipos de células. Como primer paso, se introdujeron nanopartículas de oro no conjugadas en estas células mediante el proceso de endocitosis durante los procesos de diferenciación y proliferación celular. Estas nanopartículas se acumularon dentro del citoplasma celular de los diferentes tipos de células. Las nanopartículas de oro incorporadas dispersan una fuerte luz amarillenta que permite identificar sin dificultades las células individuales, lo que proporcionan información de etiquetado anatómico; sin embargo, para este caso mostraron la misma afinidad por las células malignas y no malignas. Luego, se usaron nanopartículas de oro conjugadas con anticuerpos monoclonales anti-receptor del factor de crecimiento epidérmico (anti-EGFR). Estas se unieron de forma específica y homogénea a la superficie de las células del tipo canceroso con un máximo de absorción a 545 nm; mientras que, la unión con las células no cancerosas parecer ser inespecífica con un máximo de absorción alrededor de 552 nm [El-Sayed, Huang, y El-Sayed (2005)]. La figura 5.4 representa las imágenes obtenidas en ese estudio y muestra que la espectroscopia de absorción LSPR de nanopartículas de oro conjugadas con anticuerpos anti-EGFR distinguen entre células cancerosas y no cancerosas.

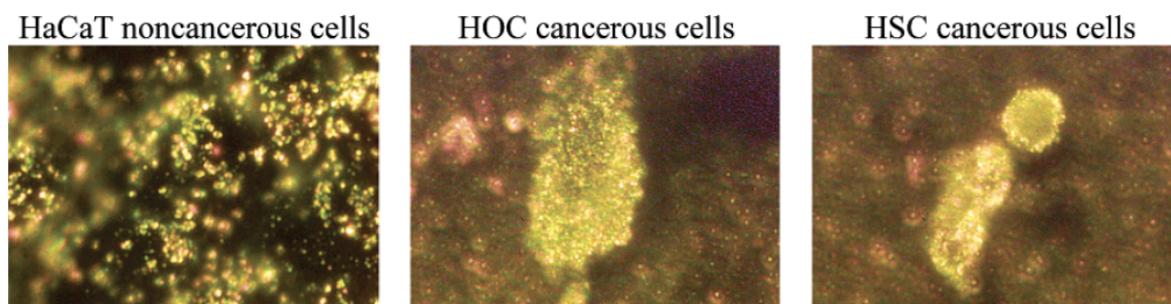


Figure 5.4: Imágenes de dispersión de luz de las células no cancerosas HaCat y células cancerosas HOC y HSC después de la incubación de nanopartículas de oro conjugadas con anticuerpos anti-EGFR. Estas nanopartículas se unen específicamente a la superficie de las células cancerosas, mostrando una clara diferencia visual con respecto a las células no cancerosas. Imagen extraída de El-Sayed et al. (2005)

En adición, los nanocages de oro se están utilizando para marcar células cancerosas para un diagnóstico temprano. Un ejemplo es el trabajo en el cual se usó una línea celular de cáncer de mama SK-BR-3, que sobreexpresa el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico (EGFR2 o HER2), para verificar la unión molecular específica de los nanocages de oro bioconjugados [J. Chen, Saeki, et al. (2005)].

Diabetes tipo 1 (TD1): La detección de autoanticuerpos contra uno o más antígenos de los islotes pancreáticos en un paciente con hiperglucemia es un diagnóstico de DT1 y distingue la enfermedad de la diabetes tipo 2 [B. Zhang, Kumar, Dai, y Feldman (2014)]. Existen ensayos que son aplicados para la detección de la DT1 como ELISA, la cual es el ensayo estándar para la cuantificación de proteínas y tiene un uso variado para el desarrollo de investigaciones clínicas. Otro ejemplo es el radioinmunoensayo (RIA), que permite detectar y cuantificar sustancias que se encuentran en pequeñas cantidades. Este ensayo se utiliza para determinar la concentración de insulina en el plasma sanguíneo. Sin embargo, estos ensayos no son útiles para tener un diagnóstico temprano de alta sensibilidad, rápida y accesible a nivel mundial para TD1.

Por tal motivo, aprovechando las propiedades de los plasmones para mejorar la fluorescencia en NIR sobre películas de oro, se desarrolló un chip de oro plasmónico para la detección mejorada por fluorescencia en NIR de autoanticuerpos dirigidos a células de los islotes. Se demostró que esta plataforma tiene una alta sensibilidad para el diagnóstico de DT1 (Ver figura 5.5). En un análisis de muestras de individuos con diabetes de nueva aparición y controles no diabéticos en el centro Médico de la Universidad de Stanford, se obtuvo que la especificidad de este nuevo método es comparable con RIA. Además, este chip presenta una ventaja adicional con respecto a RIA al necesitar volúmenes de muestras ultrabajos para los ensayos, por lo que es posible obtener una muestra confiable de un pinchazo en el dedo en lugar de requerir un laboratorio de flebotomía [B. Zhang et al. (2014)].

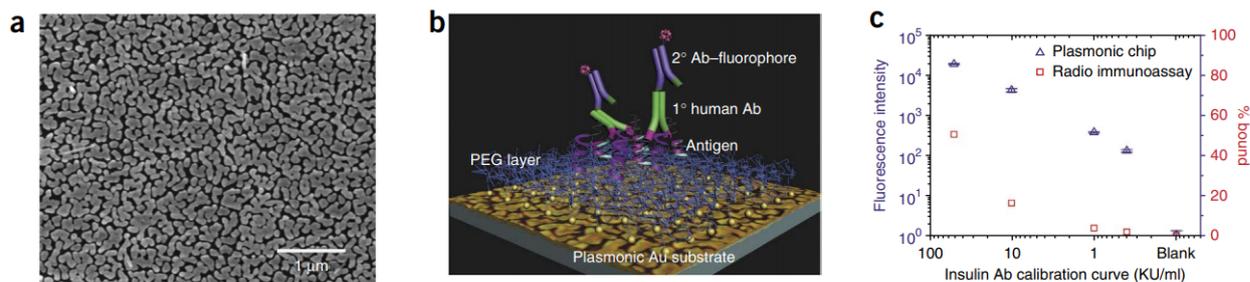


Figure 5.5: Micrografía electrónica de la película plasmónica de oro nanoestructurada (Imagen izquierda). Esquema que representa la relación espacial de la capa de PEG de la plataforma, los antígenos específicos del islote, los autoanticuerpos primarios (Abs) de suero o sangre humanos diluidos y los anticuerpos de detección conjugados con una señal de fluoróforo (Imagen central). Comparación de límites de detección y rangos dinámicos de cuantificación de autoanticuerpos específicos de insulina utilizando la plataforma de oro plasmónica y RIA. Se observa que para la plataforma de oro plasmónica se obtuvo una mejor sensibilidad (Imagen derecha). Imagen extraída de B. Zhang et al. (2014)

Alzheimer: La β amiloide ($A\beta$) es un péptido de 42 aminoácidos que se autoensamblan en pequeños oligómeros solubles denominados ADDLs (ligandos difusibles derivados de amiloide), las cuales podrían causar disfunciones neurológicas relevantes para la memoria. Además, las autopsias realizadas al cerebro de seres humanos con Alzheimer muestran la presencia de ADDLs en niveles significativamente elevados. Por tal motivo, el tener un mecanismo sensible para detectar ADDLs en fluidos corporales proporcionaría un diagnóstico molecular definitivo para esta enfermedad. Los biosensores de resonancia Surface Plasmon se han investigado extensamente para la detección de estos biomarcadores utilizando un método sin marcaje o comprobando la interacción entre el ligando y el analito [Rezabakhsh, Rahbarghazi, y Fathi (2020)]

Por otro lado, se han utilizado las propiedades de los LSP para desarrollar nuevos métodos de detección. Por ejemplo, se utilizaron biosensores LSPR con nanopartículas de plata para la comprensión de la interacción entre los ligandos difusibles derivados del amiloide β (ADDL) y el anticuerpo anti-ADDL. Se demostró que a concentraciones elevadas de anti-ADDL, las nanopartículas de Ag funcionalizadas con ADDL muestran una alta selectividad; sin embargo, la interacción molecular con la capa de adhesión de las nanopartículas (Cr) generó interacciones inespecíficas que dominaron los resultados del ensayo [Haes, Hall, Chang, Klein, y Van Duyne (2004)].

En un trabajo posterior, se monitoreó la interacción entre el antígeno, los ligandos difusibles derivados de amiloide β (ADDL) y los anticuerpos específicos anti-ADDL utilizando un biosensor LSPR a través de un ensayo tipo sandwich. Este nanosensor proporcionó información de unión cuantitativa para la detección de antígenos y segundos anticuerpos, las cuales permiten la determinación de la concentración de ADDLs. Además, para resolver el problema de la unión inespecífica observada con las nanopartículas que contienen Cr, se utilizaron susstratos de mica y se eliminó el uso de Cr como capa de adhesión. Los resultados de las pruebas indican que ningún anticuerpo se une al azar a la muestra de nanopartículas y que se eliminaron las interacciones inespecíficas. Finalmente, con los dos resultados prometedores, se analizaron muestras duplicadas de un control y paciente con Alzheimer para dos tipos de muestras humanas: extracto de cerebro humano y líquido cefalorraquídeo, mostrando comparaciones que pueden ayudar a comprender el mecanismo y diagnóstico de esta enfermedad [Haes, Chang, Klein, y Van Duyne (2005)].

Dengue: Los pacientes infectados por el virus del Dengue generan una respuesta inmunitaria al producir inmunoglobulinas (IgM, IgG e IgA). De todas ellas, la identificación del anticuerpo inmunoglobulina M (IgM) se elige normalmente como prueba serológica. Utilizando este concepto, se utilizó un biosensor basado en las guías de onda del SPP de largo alcance para la detección de anticuerpos IgM específicos del Dengue en plasma sanguíneo sin etiquetas y en tiempo real. Esto se consiguió mediante dos enfoques de funcionalización de la superficie. Por un lado, una superficie funcionalizada del virus del dengue serotipo 2 (DENV-2) para capturar el anticuerpo IgM específico del dengue en el plasma sanguíneo. Por otro lado, una superficie funcionalizada del plasma sanguíneo para capturar el DENV-2. Los resultados obtenidos a través de estos dos enfoques de funcionalización de superficie son comparables o de mayor calidad que los recogidos por el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas de captura de anticuerpos IgM convencional (MAC-ELISA)[Wong, Krupin, Sekaran, Mahamd Adikan, y Berini (2014)].

5.1.3 Hipertermia

La Hipertermia es un procedimiento terapéutico capaz de tratar tumores incrustados en regiones vitales donde la resección quirúrgica no es factible. Este tratamiento consiste en exponer los tejidos biológicos a temperaturas más altas de lo normal con el fin de promover la destrucción selectiva de células anormales con el menor daño posible al tejido normal intermedio y circundante. Se aplica de forma complementaria con varios tratamientos contra el cáncer como la radioterapia o quimioterapia. Debido a que el procedimiento de la Hipertermia está muy ligado a la ubicación y etapa del tumor, existen diferentes métodos para obtener este incremento de temperatura con el menor impacto negativo hacia el paciente, cuyos estudios y resultados se encuentran en fase clínica II y III [Wust et al. (2002)]. A pesar de ello, cuando el tamaño del tumor es considerable, es posible dañar el tejido sano al incrementar la potencia de la fuente para lograr la temperatura adecuada. En adición, los fotoabsorbentes orgánicos utilizados para esta terapia, como el verde de indocianina, presentan dificultades para el calentamiento con una iluminación láser moderada debido a su sección transversal de absorción pequeña. Por otro lado, los absorbentes inorgánicos como el óxido de hierro requieren concentraciones que pueden volverse tóxicas. Por ello, se están utilizando plasmones localizados en nanopartículas como alternativa para el desarrollo de un nuevo tipo de Hipertermia.

La idea de usar nanopartículas para Hipertermia es unir específicamente las nanopartículas a las células cancerosas y usar iluminación láser para calentarlas hasta destruirlas. El calentamiento se produce cuando la energía de los electrones excitados, las cuales van colisionando con otros electrones, pasa a los fonones mediante interacciones electrón-fonón, dando como resultado una red caliente. Esta red caliente se enfría cuando el calor pasa al medio circundante mediante la relajación fonón-fonón [Lee y Choi (2018)]. Es este calentamiento el que permite realizar el procedimiento de Hipertermia para destruir células cancerosas.

Las nanopartículas de oro presentan muchas ventajas para realizar este tratamiento debido a su capacidad potencialmente alta para calentarse con irradiación láser reducida, su baja toxicidad, la química de superficie relativamente simple, la cual permite apuntar específicamente a las células cancerosas, y su alta sección transversal de absorción. Además, las propiedades

ópticas del LSP se pueden ajustar para tener una gran absorción óptica en la región NIR, donde la absorción óptica del tejido es mínima. Los nanoshells y los nanorods son las nanopartículas más utilizadas en este campo; sin embargo, imágenes de OCT y estudios de fusión fototérmicas muestran que las propiedades de absorción y dispersión de la luz de los nanocages en la región NIR también son una opción viable para la detección óptica in vivo de cánceres y su tratamiento [J. Chen, Wiley, et al. (2005)]. La figura 5.6-a representa la ilustración esquemática del tratamiento fototérmico selectivo basado en nanopartículas de oro conjugadas con anticuerpos. La figura 5.6-b es una imagen TEM de una célula SKBR-3, una línea celular del cáncer de mama, con nanocages de oro proveniente de un trabajo donde se utilizaron estas nanopartículas conjugadas con anticuerpos monoclonales anti-HER2 para el estudio cuantitativo del daño celular empleando Hipertermia. La figura 5.6-c muestra los resultados del daño celular con Hipertermia con y sin nanocages de oro, donde se observa claramente el mayor daño celular cuando se utilizan estas nanopartículas bioconjugadas [Au et al. (2008)].

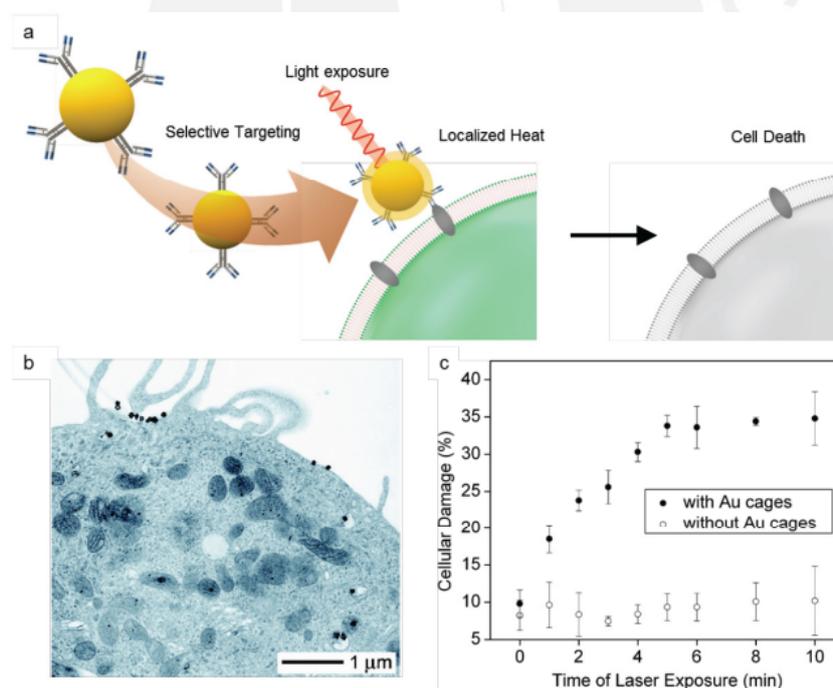


Figure 5.6: Hipertermia con nanopartículas. (a) Esquema del tratamiento fototérmico basado en nanopartículas de oro conjugadas con anticuerpos. (b) Imagen TEM de la célula SKBR-3 objetivo con nanocages de oro. (c) Daño celular en función del tiempo de exposición láser con y sin nanocages de oro. Imagen extraída de Lee y Choi (2018)

Nanoshells: El efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR) es una propiedad que permite a las nanopartículas incorporarse de forma pasiva a los tumores sin ayuda de anticuerpos u otras fracciones diana. Esto se utiliza al trabajar con monocitos porque poseen una capacidad fagocitótica innata, la cual es aprovechada para insertar nanopartículas dentro de las células para lograr acceder a regiones tumorales profundas a través de ellas. Una vez dentro de las regiones hipóxicas del tumor, se inicia la terapia fototérmica con iluminación NIR para destruir a los TAM (macrófagos que se han infiltrado en un tumor). La destrucción de los TAM dentro de estas regiones permitirían prevenir el crecimiento y la metástasis de las células epiteliales malignas. Un requisito esencial de esta estrategia terapéutica es que la carga intracelular de los monocitos/macrófagos permanezca inactiva e inofensiva para su huésped celular hasta lograr la administración en el tejido hipóxico.

Teniendo en cuenta ello, se utilizaron esferoides de tumores de mama humano cultivando células T47D humanas, un modelo in vitro del microambiente del tumor hipóxico, junto con nanoshells de Au (compuesto de un núcleo de Silice rodeado por una capa delgada de Au) para realizar ablación térmica fotoinducida de monocitos/macrófagos cargados con esta nanopartícula. En ese trabajo, se demostró con éxito la fagocitosis eficiente de las nanoshells de Au por monocitos y macrófagos, la ablación fotoinducida de monocitos/macrófagos cargados de Au-nanoshell, el reclutamiento de tumores y la muerte celular fotoinducida de macrófagos en el microambiente hipóxico de un esferoide de tumor de mama humano [Choi et al. (2007)].

En otro estudio, se demostró in vitro la destrucción fototérmica localizada de las células de carcinoma mama humano incubadas con nanoshells (Núcleo de Silice rodeado de una capa de oro). Estas nanoshells fueron expuestas a luz láser de una longitud de onda de 820 nm y una densidad de potencia de 35 W/cm^2 durante 7 minutos según lo determinado por la tinción de viabilidad de calceína AM. Además, el diámetro de la región afectada coincide con el tamaño del punto láser, lo que evidencia que la muerte celular se limitó al área de tratamiento y que la terapia no fue citotóxica (Ver figura 5.7) [L. R. Hirsch et al. (2003)].

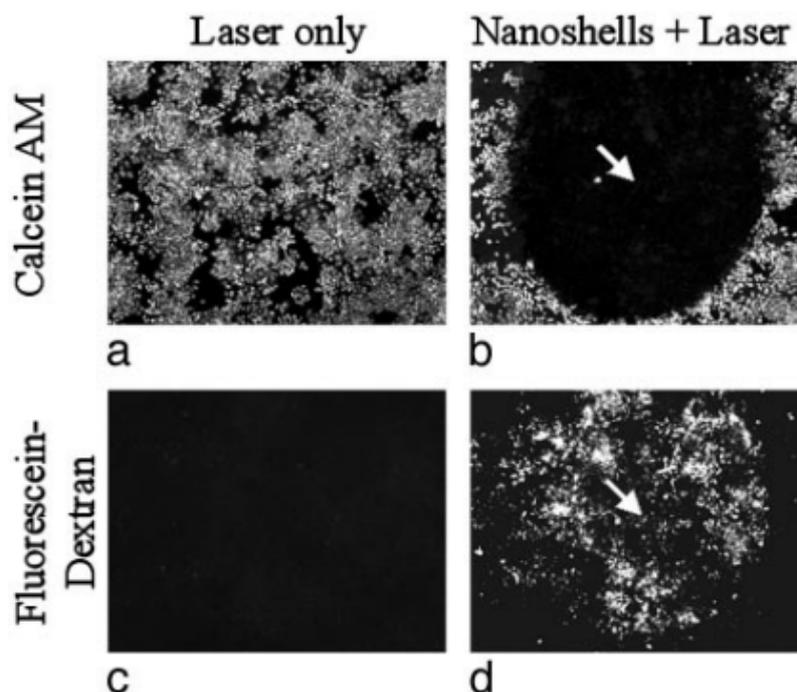


Figure 5.7: Destrucción fototérmica de células de carcinoma mama humano incubadas con nanoshells. (a) La viabilidad de las células irradiadas sin nanoshells se mantuvo de acuerdo a la calceína AM. (b) Las células irradiadas con nanoshells reflejan zona de muerte fototérmica aplicando calceína AM. (c) La falta de captación de fluorescencia dextrano intracelular refleja la integridad en células tratadas sin nanoshells. (d) Captación celular de fluorescencia dextrano a partir del aumento de permeabilidad de la membrana utilizando nanoshells. Imagen extraída de L. R. Hirsch et al. (2003)

En una demostración *in vitro*, se logró la detección de células de cáncer de mama que sobreexpresan HER2 utilizando nanoshells para la aplicación de Hipertermia. Las imágenes de las células se obtuvieron bajo un microscopio de campo oscuro sensible a la luz dispersa. Luego de la captura de las imágenes, las células se expusieron a irradiación NIR (820 nm y 0.008 W/m^2) durante 7 minutos. Las células se tiñeron usando calceína AM para determinar su viabilidad. En Adición, se realizó una tinción de plata para evaluar la presencia de unión de nanoshells en las superficies celulares. Las células incubadas con nanoshells anti-HER2 mostraron un contraste óptico basado en dispersión significativamente mayor debido a la unión de nanoshells en comparación con los dos grupos de control (Células tratadas con nanoshells conjugadas con un anticuerpo inespecífico y células tratadas solo con luz NIR). Después de la terapia fototérmica, se observó muerte celular solo en las células tratadas con láser NIR después de la exposición a nanoshells anti-HER2. Se observó una mayor intensidad de tinción de plata en las células expuestas a nanoshells anti-HER2, lo que sugiere una unión mejorada de nanoshells a las superficies celulares que sobreexpresan HER2 (Ver figura 5.8). Finalmente, se incubaron células

SKBr3 con nanoshells anti-HER2 en un rango de concentraciones y tiempo de incubación para establecer que estas nanoshells no inducen citotoxicidad por sí solas. En el análisis estadístico comparando células incubadas con nanoshells y células de control no expuestas a nanoshells, no se observaron diferencias en la viabilidad [Loo, Lowery, Halas, West, y Drezek (2005)].

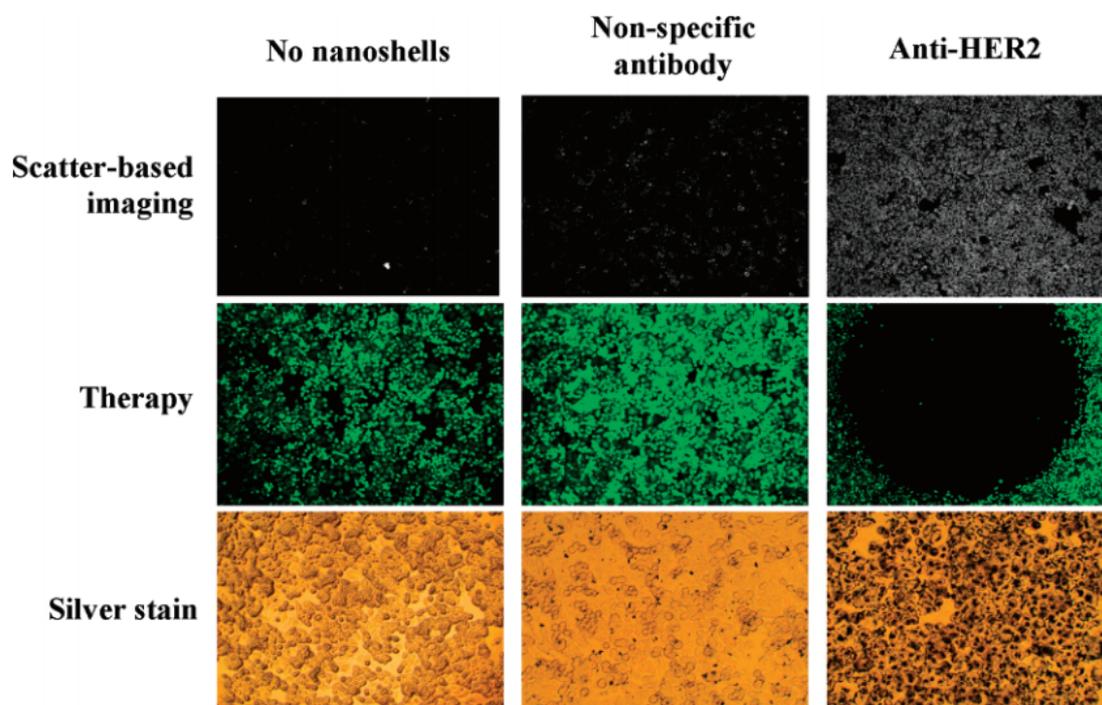


Figure 5.8: Combinación de imágenes y terapia fototérmica de células de cáncer de mama SKBr3 utilizando nanoshells dirigidas contra HER2 (columna derecha). Además, se presentan dos grupos de control, una con células sin nanoshells (columna izquierda) y de células con nanoshells marcadas no específicamente (columna central). Imágenes de campo oscuro basadas en la dispersión de la expresión de HER2 (fila superior), viabilidad celular evaluada mediante tinción con calceína (fila central) y evaluación de tinción de plata de la unión de nanoshells a las superficies celulares que sobreexpresan HER2 (fila inferior). Imagen extraída de Loo et al. (2005)

Para visualizar los efectos de la terapia in vivo se cultivaron tumores en ratones mediante inyección subcutánea de células de carcinoma de colon murino. Los ratones fueron divididos en 3 grupos: un grupo de tratamiento, uno de control y de simulación (Tratamiento con láser sin inyección de nanoshells). Aquellos seleccionados para el tratamiento se les inyectaron por vía intravenosa soluciones de nanoshells recubiertas con PEG (polietilenglicol). El tamaño de los nanoshells fue de 130 nm de diámetro aproximadamente y se controló su acumulación dentro del tumor. Luego, los tumores en los grupos de tratamiento con nanoshells y los de simulación fueron expuestos a luz NIR mediante un láser de diodo de 808 nm (4 W/cm^2) durante 3 minutos. A los 30 s, la temperatura media de los tumores tratados con nanoshells fue más alto ($\sim 50^\circ\text{C}$)

que los controles tratados con NIR pero sin nanoshells. El tamaño del tumor y la supervivencia del animal se controlaron durante 90 días después del tratamiento. Al finalizar este periodo, todos los ratones del grupo que fueron tratados con nanoshells permanecieron sanos y libres de tumores; mientras que, los tumores de los otros dos grupos, tanto el de simulación como el de control, continuaron creciendo rápidamente [O'Neal, Hirsch, Halas, Payne, y West (2004)].

Nanorods: Los nanorods se han utilizado en numerosas investigaciones para la detección y terapia fototérmica. Un ejemplo de esto, es el estudio realizado con las células KB humanas (una línea de células tumorales derivadas del epitelio oral). Estas fueron recubiertas con CTAB (Bromuro de cetiltrimetilamonio) y fueron expuestas a irradiación cw (onda continua) durante 30 segundos. Estas células sufrieron severas ampollas en sus membranas después de la irradiación a fluencias bajas de 30 J/cm^2 . Este resultado se comparó con células KB sin tratar, las cuales no mostraron evidencia visible de lesión fototérmica a una irradiación de 120 J/cm^2 después de 30 segundos. También, utilizando bromuro de etidio (EB), un colorante fluorescente utilizado como indicador de la permeabilidad de la membrana celular, se evaluaron las células KB con nanorods. Estas células eran impermeables a EB antes de la irradiación cw-NIR; sin embargo, después de 30 segundos, sus núcleos se tiñeron fuertemente, lo que muestra que el tratamiento fototérmico comprometió la integridad de la membrana celular. Además, los daños a las células se limitaron a la región de la irradiación con láser, lo que confirma la naturaleza altamente localizada de la hipertermia inducida por NIR. También, se evaluó el daño fototérmico con células KB incubadas con nanorods conjugadas con folato. Estas se expusieron a irradiación cw-NIR usando condiciones similares al trabajo mencionado anteriormente. Los resultados mostraron ampollas extensas en las membranas celulares. Finalmente, utilizando TPL se observó la pérdida de señales de TPL en ambos experimentos, lo que muestra una degradación de los nanorods de oro [Huff et al. (2007)].

En otro estudio comparativo utilizando nanorods de oro conjugados con folato, se demostró que la fototermólisis de las células KB es más eficaz cuando estas nanopartículas se absorben en la superficie celular. Para ello, se realizaron dos experimentos con el fin de comparar los resultados cuando los nanorods están unidos en la membrana y cuando están internalizados. Las células con nanorods unidos a la membrana sufrieron lesiones fotoinducidas que incluían

una tinción nuclear muy intensa de EB, lo que indicaba pérdida de la integridad de la membrana. También, se mostraban indicios de muerte celular por las extensas e irreversibles ampollas en la membrana. Todo esto a potencias bajas como 6 mW (densidad de potencia media $388,8 \text{ W/cm}^2$ y fluencia de 24 J/cm^2). Las células con nanorods internalizados requirieron una potencia de irradiación cw de 60 mW para inducir una respuesta de ampollas en la membrana. Esto es un orden de magnitud mayor que el caso anterior. Luego, las células KB con nanorods unidas a la membrana fueron expuestas a un rayo láser pulsado de femtosegundos (fs) y se produjeron ampollas visibles en la membrana dentro de los 10 segundos de irradiación a una potencia media reducida de 0.75 mW. Por el contrario, las células KB con nanorods internalizados permanecieron viables a una potencia superior de 4.5 mW. El daño fotoinducido dependiente del sitio en condiciones de pulso fs es consistente con los obtenidos usando irradiación cw [Tong et al. (2007)].

Finalmente, en un estudio in vitro utilizando una línea de células epiteliales no malignas HaCaT y dos líneas de células epiteliales malignas HOC 313 clon 8 y HSC 3 se demostró que los nanorods de oro conjugados con anticuerpo anti-EGFR se unen específicamente a los dos tipos de células malignas, lo que brinda una diferencia de imagen distinguible de las células no cancerosas. Las células no cancerosas son apenas identificables de forma individual debido a las interacciones inespecíficas entre los nanorods y esas células. Después del proceso de incubación con nanorods de oro conjugadas con anticuerpos anti-EGFR, las células se expusieron a irradiación con láser cw durante 4 min para diferentes valores de potencia (40, 80, 120, 160 y 200 mW) con un punto de enfoque de 1 mm de diámetro. La muerte celular se muestra como puntos azules en la región donde se está realizando la irradiación debido al uso del tinte azul tripán para probar la estabilidad fototérmica. Los resultados mostraron que la exposición al láser rojo a 800 nm y por encima de 160 mW (20 W/cm^2) provocó la fotodestrucción de todas las células normales de HaCat; mientras que, a una exposición de láser a 80 mW (10 W/cm^2) se observó que las células malignas HSC y HOC experimentaron destrucción fototérmica (Ver figura 5.9). Este resultado mostró que las dos células malignas requieren aproximadamente la mitad de la energía necesaria para matar las células no malignas, lo cual se debe a la sobreexpresión de EGFR en las células cancerosas y a la correspondiente mayor cantidad de nanorods

de oro conjugadas con anticuerpos anti-EGFR [X. Huang et al. (2006)].

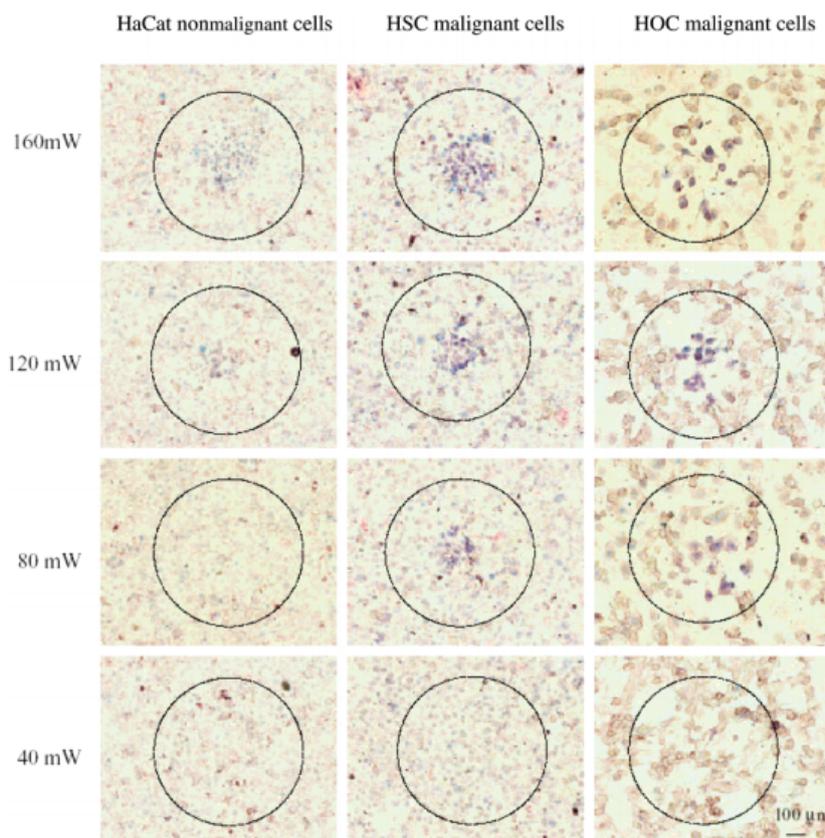


Figure 5.9: Terapia fototérmica selectiva de células cancerosas con nanorods anti-EGFR/Au incubados. Los círculos muestran el área de efecto del láser. A 160 mW se observa muerte celular de las células no cancerosas HaCaT; mientras que, a una potencia de 80 mW se evidencia muerte celular de las células cancerosas HSC y HOC. Imagen extraída de X. Huang et al. (2006)

5.1.4 Transporte de medicamentos

El aumento local de la temperatura debido a la excitación de los LSP también es utilizado para la administración controlada de fármacos usando irradiación láser NIR. El mecanismo para este tipo de tratamiento consiste en cubrir el fármaco con un recubrimiento para evitar la interacción con células no objetivo en su recorrido hasta llegar a la célula diana, donde se busca retirar el recubrimiento para una liberación eficiente del fármaco. Además, los mecanismos de liberación se complementan con otras técnicas como SERS para un estudio más completo. Un ejemplo es el estudio de un sistema de monitorización de la liberación de fármacos intracelulares sin marcaje in situ con nanopartículas biohíbridas [Hossain, Cho, Kim, y Choi (2015)], las cuales consistían de una nanopartícula de oro, un péptido que penetra en las células y un anticuerpo dirigido al cáncer de mama.

El efecto de conversión fototérmica de las nanopartículas se aprovecha cuando se incorporan en geles termosensibles como los geles basados en N-isopropilacrilamida (NIPAM). Esto se demostró al investigar el comportamiento de liberación del fármaco de los copolímeros NIPAAM-co-AAm (N isopropilacrilamida (NIPAAM)- acrilamida(AAm)) sensibles a la temperatura con y sin nanoshells incrustados. Los nanoshells utilizados consistían en un núcleo de sulfuro de oro rodeado de una fina capa de oro. Estas nanopartículas se utilizaron para lograr un calentamiento óptimo con luz ya que los hidrogeles NIPAAm-co-AAm son polímeros que exhiben un LCST (temperatura de solución crítica más baja) que está ligeramente por encima de la temperatura corporal. Estos hidrogeles no absorben fuertemente la luz infrarroja cercana, lo cual es un problema ya que es necesario lograr una temperatura del copolímero que exceda el LCST para que el hidrogel colapse y provoque la liberación repentina del material soluble contenido dentro de la matriz del hidrogel. En este trabajo, se midió el colapso de los hidrogeles NIPAAm co-AAm debido a la inmersión en un baño de agua a 50 °C y la irradiación con láser a 1064 nm. Luego, se comparó con el colapso exhibido por los hidrogeles compuestos NIPAAm-co-AAm de nanoshell en las mismas condiciones. La cantidad de liberación inducida por la irradiación del control y los hidrogeles compuestos de nanoshell se comparó para varios fármacos modelo de diferentes pesos moleculares. Los compuestos utilizados fueron azul de metileno, ovoalbúmina (Ver figura 5.10) y albúmina de suero bovino (BSA) (Ver figura 5.11). En todos los casos se mostró una liberación mejorada de los compuestos utilizando los hidrogeles con nanoshells con respecto a lo observado por parte de los hidrogeles irradiados sin nanoshells o los hidrogeles no irradiados [Serksen, Westcott, Halas, y West (2000)].

En un estudio posterior, se utilizó el hidrogel NIPAM con nanorods de oro para estudiar su cinética de contracción inducida por saltos de temperatura de 20 a 40, 50, 60 y 70 °C e irradiación con un láser NIR de longitud de onda de 1064 nm. Los resultados mostraron que la contracción se produjo mucho más rápido utilizando irradiación NIR en comparación con lo logrado por los experimentos de salto de temperatura. En adición, se desarrolló un mecanismo de liberación controlada para el fármaco modelo dextrano marcado con rodamina usando irradiación NIR. Este mecanismo mostró resultados en un breve período de irradiación (60 s) y con una alta resolución espacial ($\approx 30 \mu\text{m}$) [Shiotani, Mori, Niidome, Niidome, y Katayama (2007)].

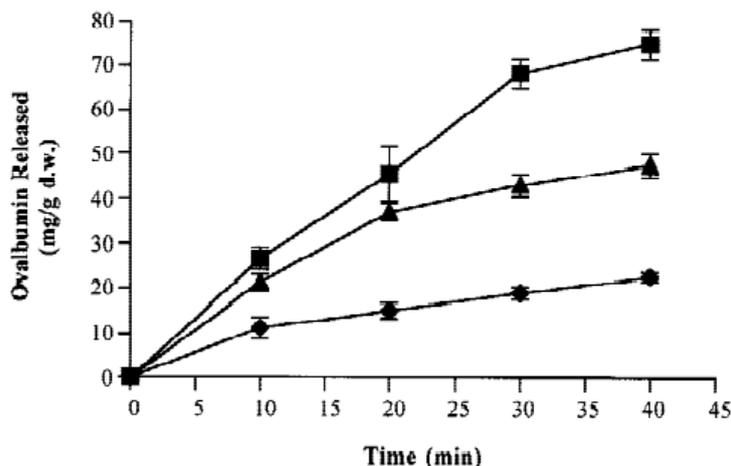


Figure 5.10: Liberación de ovoalbúmina de hidrogeles compuestos de nanoshells irradiados (cuadrado), NIPAAm-co-AAm irradiados (triángulo) e hidrogeles no irradiados (diamante). Imagen extraída de Sershen et al. (2000)

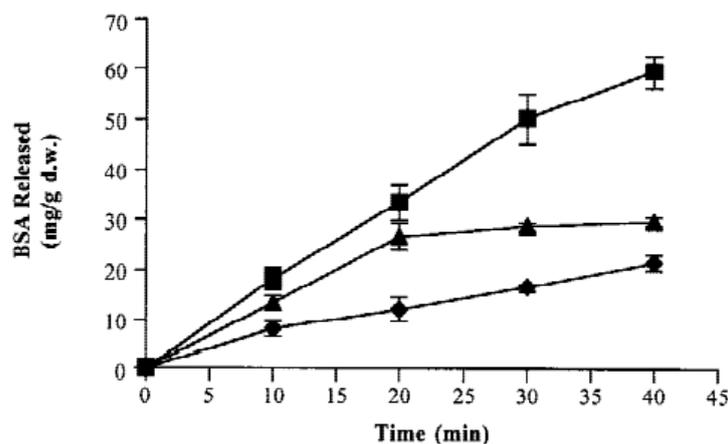


Figure 5.11:]

Liberación de BSA de hidrogeles de NIPAAm-co-AAm no irradiados (diamante), irradiados (triángulo) e hidrogeles compuestos de nanoshells irradiados (cuadrado). Imagen extraída de Sershen et al. (2000)

En otro trabajo, se sintetizaron y caracterizaron los conjugados de nanorods de oro con el fármaco modelo Isotiocinato de fluoresceína (FITC) incrustado dentro de polielectrolitos. Se estudió la cinética de liberación del FITC de estos conjugados bajo irradiación láser NIR de femtosegundos continua y periódica. Para la irradiación continua, se colocaron seis soluciones individuales de los conjugados con la misma concentración en una solución de NaCl (1mM). Luego de la irradiación, se midieron las concentraciones de FITC liberadas de los conjugados en cada muestra. Dentro del periodo de irradiación de 5 min, la tasa de liberación de FITC permaneció constante (cinética de orden cero). Para irradiación periódica, las soluciones con-

jugadas se prepararon a la misma concentración que las muestras utilizadas en el experimento anterior. A continuación, la solución se expuso periódicamente bajo irradiación durante 1 min seguido de un intervalo de 1 min y se registraron las concentraciones de FITC liberado dentro de un tiempo total de 10 min. La velocidad de liberación de FITC mostró un comportamiento cinético de primer orden similar a la mayoría de las cinéticas de liberación de fármacos en sistemas basados en polímeros biocompatibles.

Los resultados de ambos experimentos mostraron que la liberación de FITC estaba fuertemente correlacionada con el calor liberado de los nanorods de oro debido al efecto fototérmico. Además, se realizó un estudio in vitro con células de cáncer de mama utilizando un sistema de liberación de fármacos basados en los conjugados de nanorods de oro y el fármaco contra el cáncer paclitaxel (PTX) incrustado en polielectrolitos. Se utilizó irradiación con láser NIR como mecanismo para la liberación de PTX de los conjugados. Los resultados mostraron que las tasas de inhibición de las células tienen una fuerte dependencia de los modos y tiempo de irradiación láser. En adición, los resultados mostraron que las múltiples liberaciones del fármaco PTX a partir de los conjugados pueden controlarse mediante irradiación con láser durante un largo periodo de tiempo [Kuo et al. (2010)].

5.2 Surface Enhanced Raman Spectroscopy

La dispersión Raman es una técnica espectroscópica vibratoria donde los fotones incidentes se dispersan de forma inelástica desde una molécula, lo que origina un cambio en su frecuencia debido a la energía de las vibraciones moleculares. Los fotones dispersos ocurren a una energía más baja o más alta en relación con los fotones entrantes. Cuando los fotones interactúan con una molécula en el estado fundamental vibratorio pierden energía al excitar una vibración y la luz dispersa aparece a una frecuencia más baja, lo que se denomina dispersión Stokes; mientras que, al interactuar con una molécula en un estado vibratorio excitado, los fotones obtienen energía de las vibraciones moleculares y la señal dispersa aparece a una frecuencia más alta, lo que se denomina dispersión anti-Stokes [Kneipp, Kneipp, Itzkan, Dasari, y Feld (2002) - Le Ru y Etchegoin (2008)].

Este efecto fue descubierto por Raman y Krishnan [Raman y Krishnan (1928)] y se ha

utilizado con éxito para determinar los componentes químicos, la estructura molecular y la interacción entre partículas. La espectroscopia Raman ofrece una alta resolución espacial utilizando una fuente de luz en el rango UV a infrarrojo cercano. Además, la señal Raman del agua es muy débil, por lo que es posible utilizar esta técnica en soluciones acuosas sin ninguna dificultad [Zong et al. (2018)]. La desventaja de la dispersión Raman es su sección transversal de dispersión extremadamente pequeña. En adición, la intervención de la fluorescencia, que a menudo acompaña a la dispersión Raman, es capaz de interferir en el análisis de los resultados de un trabajo, lo que ocasiona que este método no sea lo suficientemente sensible para detectar cambios bioquímicos sutiles en las muestras.

Para superar el problema de la baja eficiencia de la dispersión Raman, se desarrolló la Dispersión Raman Mejorada en la Superficie (SERS en inglés) como una extensión de la espectroscopia Raman, la cual se basa en interacciones químicas y electrónicas entre el láser de excitación, el analito de interés y el sustrato SERS. Trabajos pioneros como la medición de un espectro Raman de Superficie a partir de piridina adsorbida en un electrodo de plata rugoso electroquímicamente en 1974 [Fleischmann, Hendra, y McQuillan (1974)] contribuyeron al descubrimiento y desarrollo de SERS. Desde entonces, el campo de estudio de SERS se ha desarrollado notablemente, permitiendo nuevos mecanismos de mejora de superficie para una amplia gama de aplicaciones como la espectroscopia Raman mejorada con punta (TERS), espectroscopia Raman mejorada con nanopartículas aisladas de caparazón (SHINERS), la espectroscopia ultravioleta SERS entre otros [Ding et al. (2016) - Tian (2005)]. Además, se han mejorado las condiciones de trabajo para obtener factores de mejora que están en el rango de 10^4 - 10^{10} dependiendo de las condiciones experimentales. En adición, se han obtenido factores de mejora más altos utilizando infrarrojo cercano como fuente de excitación de SERS en plata coloidal para la detección de moléculas individuales [Kneipp et al. (1997)].

El efecto SERS se debe a la amplificación de las señales Raman de los analitos en varios órdenes de magnitud cuando se encuentran ubicados en nanopartículas de metal o cerca de ellas, ya que debido al efecto de resonancia de los LSP, SERS exhibe intensidades de señal muy altas en comparación con la espectroscopia Raman convencional. Esta amplificación depende de ciertos factores como el sustrato SERS; es decir, aquel material específico donde se da la res-

onancia del plasmón. En general, los tipos de sustratos SERS utilizados son las nanopartículas metálicas en solución (como soluciones coloidales), estructuras metálicas planas o electrodos metálicos [Le Ru y Etchegoin (2008)]. Estos sustratos son principalmente de oro o plata debido a sus propiedades ópticas para mantener buenas resonancias del plasmón entre el rango visible e infrarrojo cercano. Además, El tamaño de las nanopartículas utilizadas deben ser pequeñas con respecto a la longitud de onda de la luz incidente para evitar la excitación de los multipolos de orden superior, ya que estos modos no son radiativos ni eficientes para la excitación Raman [Moskovits (2005)].

En general, se acepta que existen dos mecanismos que contribuyen a la mejora de SERS de forma paralela. Estos mecanismos se conocen como mejora electromagnética y mejora química. La mejora electromagnética contribuye de manera predominante a la mejora total de SERS. Esta mejora se basa en el aumento del campo local que se produce en la condición de resonancia de los LSP. Ejemplo de ello, es el aumento del campo eléctrico en la condición de Frölich al trabajar con la aproximación cuasiestática. En la práctica, se describe esta mejora con un factor de E^4 y explica por qué incluso una localización de campo electromagnético modesto puede conducir a enormes mejoras de señal Raman [Hugall (2013)]. Debido a que la intensidad del campo eléctrico local depende de la distancia entre la molécula y la superficie de metal, la intensidad de SERS disminuirá significativamente con el aumento de la distancia. Por tanto, es necesario que las moléculas estén muy cerca de la superficie metálica para lograr la mayor sensibilidad en las mediciones de SERS. Por otro lado, la mejora química está relacionada con la interacción química del adsorbato con el sustrato y el entorno circundante. En general, el límite de mejora del mecanismo químico es de aproximadamente 10^2 y la explicación más aceptada para este mecanismo se denomina transferencia de carga [Hugall (2013) - Champion, Ivanecky III, Child, y Foster (1995)].

SERS presenta una sensibilidad ultra alta incluso hasta el nivel de una sola molécula. En particular, la mayoría de los picos Raman tienen un ancho estrecho que es de 10 a 100 veces más estrecho que el de la emisión de fluorescencia de tintes orgánicos o puntos cuánticos, lo que minimiza la superposición espectroscópica de diferentes etiquetas. Además, la excitación de un proceso SERS permite el uso de una sola fuente de excitación para múltiples etiquetas; es decir,

su uso es potencialmente más sensible y más susceptible a mediciones multiplexadas donde se detectan múltiples analitos simultáneamente. También, SERS es resistente al fotoblanqueo y la fotodegradación en comparación con la fluorescencia y es adecuado para un seguimiento a largo plazo. Todas estas ventajas, sumado a que se obtienen resultados más precisos con menor costo, posicionan a SERS como una herramienta analítica rápida, única y no destructiva.

Otro aspecto importante es que la detección SERS se puede realizar de forma directa e indirecta. La detección directa no utiliza anticuerpos ni marcadores ya que se obtienen las señales Raman directamente de los analitos objetivos que están cerca de las nanopartículas; mientras que, la detección indirecta utiliza la reacción del anticuerpo-antígeno para que las nanopartículas metálicas se unan específicamente a la superficie del sustrato y las señales SERS obtenidas surjan de las moléculas marcadoras inmovilizadas en las nanopartículas metálicas, las cuales reflejan la presencia de analitos diana. Los sistemas anticuerpo-antígeno constituidos por dichos marcadores adsorbidos en nanopartículas metálicas son la base de los inmunoensayos SERS, las cuales tienen una alta sensibilidad de detección, selectividad y potencial de multiplexación [Ma, Zhang, y Li (2020)].

Por todo lo anterior mencionado, SERS se ha utilizado para la detección de enfermedades [Ma et al. (2020)], estudios en biofísica/bioquímica [Kneipp, Kneipp, et al. (2002)], análisis ambientales [Halvorson y Vikesland (2010)], análisis de biomoléculas [Zong et al. (2018)], estudios in vivo como un biosensor [Laing, Jamieson, Faulds, y Graham (2017)] entre otros. En adición, la información obtenida de los espectros SERS se complementa con métodos estadísticos como el análisis de componentes principales (PCA) o el análisis discriminante lineal (LDA), dos técnicas quimiométricas ampliamente utilizadas que a menudo se utilizan en conjunto en un enfoque denominado PCA-LDA para mejorar la precisión de los análisis y poder diferenciar los espectros SERS entre las diferentes muestras que se estén utilizando.

SERS se ha utilizado para la detección espectroscópica de una sola molécula de ADN [Rao et al. (2010)] y la detección de una sola molécula de adenina (una de las bases nitrogenadas que se encuentran en el ADN)[Kneipp et al. (1998)]. Además, se han utilizado nanopartículas de oro coloidal como sustrato activo SERS para el estudio dentro de células vivas. Esto proporciona una herramienta para la detección sensible y estructuralmente selectiva de sustancias químicas

nativas dentro de una célula y su distribución intracelular, lo que sugiere muchas aplicaciones en la investigación biomédica [Kneipp, Haka, et al. (2002)]. También, se ha utilizado para el estudio de diferentes sustancias biológicas con el fin de desarrollar un método de diagnóstico de diferentes enfermedades de forma no invasiva basado en el análisis SERS de fluidos corporales como la sangre, la saliva o la orina, ya que brindan información muy importante sobre las condiciones de salud física del cuerpo humano.

En un análisis sistemático de los espectros SERS de suero y plasma sanguíneo, se utilizaron nanopartículas de oro y plata como sustratos SERS para el estudio de las diferentes moléculas que se encuentran presentes en estas muestras. Esto con el objetivo de identificar posibles biomarcadores que permitan desarrollar un método de diagnóstico de una enfermedad relacionada con esas sustancias [Bonifacio et al. (2014)]. También, se ha utilizado la orina humana para un método de diagnóstico prospectivo para la enfermedad coronaria basado en SERS. El enfoque PCA-LDA aplicado a los espectros SERS reveló que la sensibilidad y especificidad de clasificación eran 90% y 78,9% respectivamente. Estos resultados sugieren que SERS tiene un gran potencial como una herramienta de diagnóstico prospectivo y no invasivo para la enfermedad coronaria. Además, este método es capaz de proporcionar información valiosa para sugerir una intervención coronaria percutánea para el paciente [Yang et al. (2018)].

Otro logro importante con SERS es la detección de diferentes tipos de cánceres a partir de fluidos corporales. Como por ejemplo el inmunoensayo basado en SERS para la proteína de Mucina (MUC4) en suero humano para el pronóstico y diagnóstico de cáncer de Páncreas [131]. La figura 5.12-a representa los espectros Raman de una muestra de orina sin nanopartículas de plata (línea roja) y una muestra con nanopartículas de plata (línea negra). En esta gráfica se observa claramente mayores picos de intensidad en SERS, lo que sugiere que existe una fuerte interacción entre los coloides de plata y las moléculas de orina. Esto se aprovechó para el análisis de muestras de orina de pacientes con cáncer de esófago y personas normales. La figura 5.12-b muestra la comparación entre los espectros SERS medios normalizados de 56 pacientes con cáncer de esófago y 36 muestras de orinas normales. Estos resultados, junto con el uso del enfoque PCA-LDA para lograr una alta precisión diagnóstica del 86.3%, muestran el potencial del análisis SERS de orina basado en nanopartículas de plata para la detección de cáncer de

esófago no invasivo y sin etiquetas [S. Huang et al. (2014)].

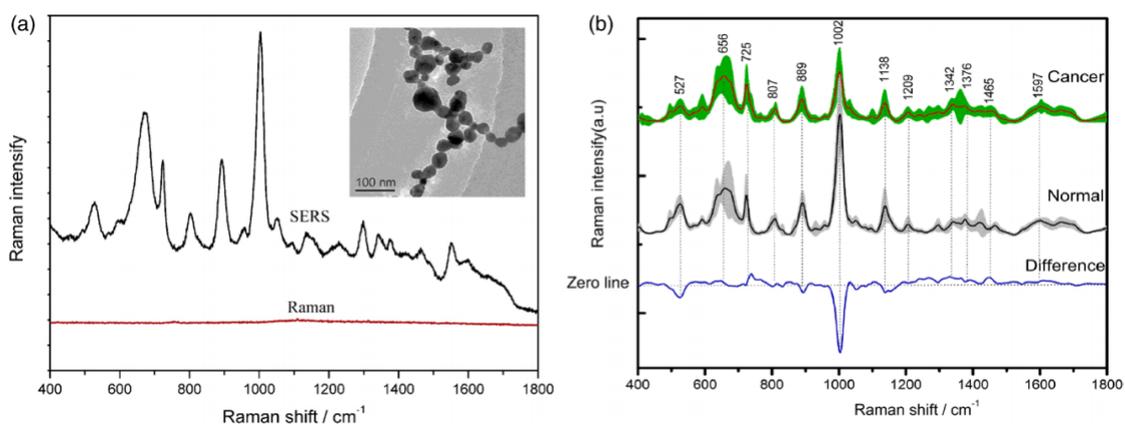


Figure 5.12: (a) Espectro Raman regular y SERS de una muestra de orina. Además, se muestra una imagen de la micrografía TEM de nanopartículas de Ag. (b) Comparación del espectro SERS medio entre las muestras de orina de pacientes con cáncer de esófago y orina de pacientes normales junto con su espectro de diferencia. Imagen extraída de S. Huang et al. (2014)

También, se utilizaron nanopartículas de oro como sustratos SERS y el método PCA-LDA para el diagnóstico del cáncer de próstata mediante la comparación directa de muestras de orina de pacientes sanos y pacientes con cáncer de próstata con una precisión diagnóstica general del 85%. La figura 5.13 muestra los espectros SERS promedio de las muestras de orina del cáncer de próstata y los grupos de control utilizadas en ese estudio [Del Mistro et al. (2015)]

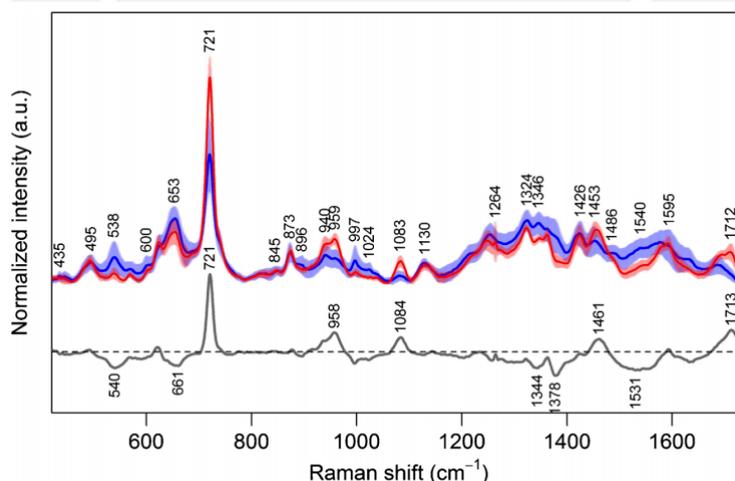


Figure 5.13: Espectros SERS normalizados promedio de muestras de orina del grupo de cáncer de próstata (rojo) y del grupo de control (azul), junto con su espectro de diferencia (gris). Imagen extraída de Del Mistro et al. (2015)

En otro trabajo, se exploró la aplicación de SERS basado en nanopartículas de plata para el análisis bioquímico de diferentes tejidos tiroideos. El análisis PCA y el análisis LDA se utilizaron para analizar y clasificar los espectros SERS adquiridos de tejidos benignos y malignos.

Una comparación entre el espectro Raman convencional y SERS obtenidos de la misma muestra de tejido tiroideo canceroso, sujeto a las mismas condiciones de medición, se muestra en la figura 5.14. Los espectros SERS exhibieron bandas vibratorias más numerosas e intensas, lo que indica que hubo fuertes interacciones entre las nanopartículas de Ag y las biomoléculas tisulares. Esto condujo a una tremenda mejora en la intensidad de la dispersión Raman del tejido tiroideo. Los resultados finales del estudio mostraron que SERS tiene un gran potencial para la detección del cáncer de tiroides a nivel molecular [Z. Li et al. (2014)].

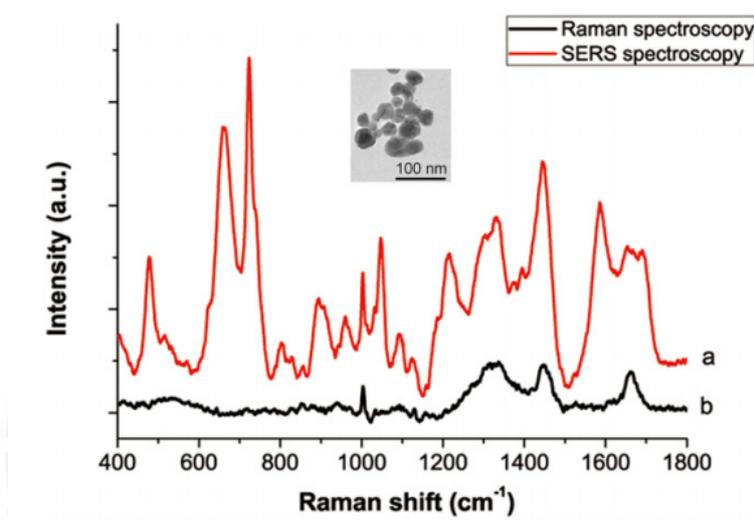


Figure 5.14: Espectros SERS de la sección de tejido tiroideo con coloide de plata (a) y sin coloide de plata (b). Además, se muestra una imagen de la micrografía TEM de nanopartículas de plata. Imagen extraída de Z. Li et al. (2014)

Los estudios de SERS también se utilizan como herramienta complementaria en los tratamientos de Hipertermia o transporte de medicamentos para tratar, por ejemplo, tumores in vivo. La figura 5.15 representa el espectro SERS del estudio de nanorods de oro recubiertos con Bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), una monocapa mixta de poli(etilenglicol) (PEG) y moléculas informadoras activas de SERS, como agente de hipertermia eficaz cuya observación in vivo es posible utilizando métodos de formación de imágenes espectroscópicas [Park et al. (2010)].

En adición, se utilizaron nanopartículas de oro conjugadas con un anticuerpo ScFv que reconoce el biomarcador tumoral EGFR, la cual se sobreexpresa en muchos tipos de tumores malignos humanos, para la detección de tumores en modelos animales vivos. Para la verificación de la unión específica de estas nanopartículas en ratones, que tenían un tumor de cabeza y cuello humano, se utilizó SERS. La figura 5.16 muestra los espectros SERS obtenidos, 5h de-

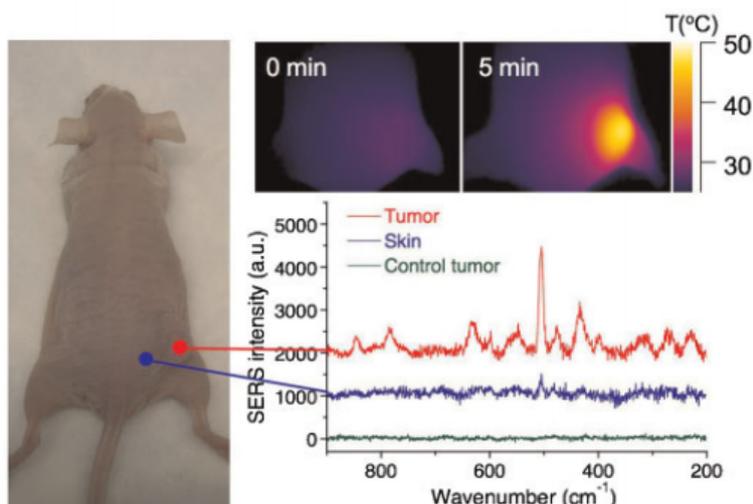


Figure 5.15: Imagen óptica, imágenes térmicas y espectros SERS de un tumor dentro de un ratón utilizando nanorods de oro. Imagen extraída de Park et al. (2010)

Después de la inyección de nanopartículas, al enfocar un rayo láser de 785 nm en el sitio del tumor o en otras ubicaciones anatómicas para nanopartículas dirigidas y no dirigidas. La diferencia en las intensidades de la señal del tumor muestran claras diferencias entre las nanopartículas dirigidas (a) y las no dirigidas (b). Este resultado demuestra el reconocimiento altamente específico de las nanopartículas de oro conjugadas con ScFv (dirigidas) y la detección Raman de células cancerosas humanas en modelos de animales in vivo [X. Qian et al. (2008)].

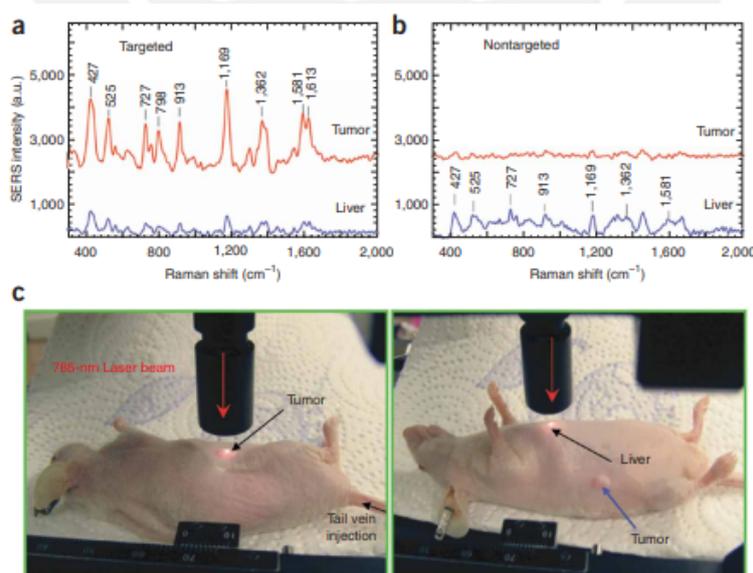


Figure 5.16: Identificación del cáncer in vivo y detección SERS mediante el uso de nanopartículas de oro conjugadas con anticuerpos ScFv. Espectros SERS obtenidos del tumor mediante el uso de nanopartículas dirigidas (a) y no dirigidas (b). (c) Imagen del láser que se enfoca en el sitio del tumor o en una ubicación anatómica; en este caso, el hígado. Imagen extraída de X. Qian et al. (2008)

Finalmente, SERS se presenta como una opción bastante considerable para competir con los métodos estándares en la identificación y clasificación de virus y bacterias por su alta sensibilidad de detección. Esto debido a que la mayoría de los ensayos de detección viral existentes como las pruebas serológicas o ELISA carecen de la sensibilidad y especificidad necesarias para la detección de virus de bajo nivel, por lo que se requieren costosos y laboriosos ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para mejorar la detección. Por ejemplo, utilizando sustratos de matrices de nanorods de plata, se desarrolló SERS para la detección y clasificación entre virus, cepas virales y virus con deleciones de genes en medios biológicos [Shanmukh et al. (2006)]. También, el uso de nanorods de plata como sustrato SERS junto con métodos estadísticos multivariados permitieron la detección y clasificación de diferentes genotipos del virus del Sarampión (MeV) [Hoang, Tripp, Rota, y Dluhy (2010)] y cepas individuales del virus respiratorio Sincitial (VSR) [Shanmukh et al. (2008)] con una preparación mínima de la muestra y una identificación rápida y altamente eficiente. Además, se ha utilizado SERS para identificar varios géneros de bacterias sin utilizar etiquetas, anticuerpos u otros receptores específicos. La figura 5.17 muestra los resultados de este estudio utilizando nanopartículas de plata para el análisis de tres cepas de *E. coli*, donde se muestra una diferencia entre cada una de las cepas [Dina, Colniza, Leopold, y Haisch (2017)].

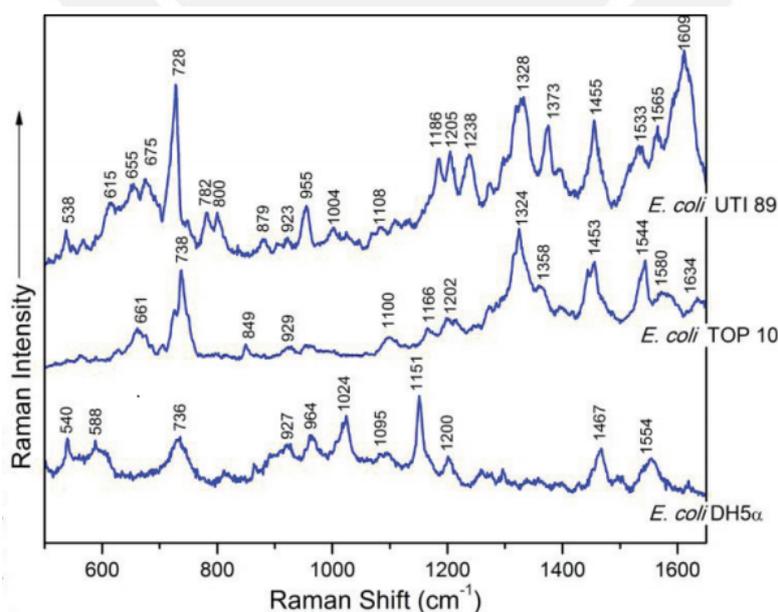


Figure 5.17: Respuesta espectral de SERS para tres cepas de *E. coli*. Imagen extraída de Dina et al. (2017)

Por todo lo anterior, no hay duda de que SERS se ha posicionado como una importante herramienta de detección que ha destacado en numerosos campos. Actualmente se busca mejorar las características de SERS para obtener una mejor resolución de tiempo, resolución espacial y sensibilidad que permitan realizar estudios más a fondo de sistemas dinámicos como los que se observan en células vivas.



Conclusión

Los plasmones describen las oscilaciones colectivas de la densidad del gas de electrones libres. Esta cuasipartícula interactúa con el fotón a través de la incidencia de un campo electromagnético sobre la superficie de un material. En adición, el fotón es capaz de interactuar con otras cuasipartículas, lo que origina nuevos tipos de acoplamientos. Las características de estos acoplamientos están relacionadas con las propiedades eléctricas y/o magnéticas del material, las cuales son descritas a partir de su constante dieléctrica y su permeabilidad magnética. En este trabajo, se describieron estos acoplamientos a partir de las ecuaciones de Maxwell y estableciendo su relación de dispersión en materiales cuya respuesta magnética es insignificante.

En adición, se clasificaron estos acoplamientos en aquellos que se dan en el medio y los que surgen en la interfaz que separa dos medios de constantes dieléctricas diferentes, las cuales son descritos comúnmente como ondas electromagnéticas superficiales. Cuando el acoplamiento se da en el medio y el fotón se acopla a los plasmones, la cuasipartícula se denomina Bulk Plasmon Polariton; en cambio, cuando la excitación fundamental está mediada por los fonones, recibe el nombre de Phonon Polariton. Por otro lado, cuando el acoplamiento se da en la interfaz entre dos medios de constante dieléctrica diferentes, reciben el nombre de Surface Plasmon Polariton, Surface Phonon Polariton y Surface Plasmon Phonon Polariton. Este último es una cuasipartícula que toma en consideración las contribuciones de la red y la de los electrones.

De todos los acoplamientos, los Surface Plasmons han recibido un interés especial en el campo de la industria y la investigación. Existen dos tipos de Surface Plasmon: los que se propagan en interfaces planas metal-dieléctrico denominados Surface Plasmon Polariton (SPP) y aquellos localizados en nanopartículas metálicas, denominados Localized Surface Plasmon (LSP). La excitación de ambos tipos de Surface Plasmon generan campos eléctricos localizados en la escala nanométrica y ofrecen un enfoque prometedor para el control y la manipulación de la luz en escalas nanométricas y de sublongitud de onda. La principal diferencia entre ambos es el método para lograr su excitación. Por un lado, la excitación del SPP requiere de una configuración particular para resolver el problema de la conservación de momento; como por ejemplo, la configuración Krestschmann. Por otro lado, la excitación de un LSP es directa y no

requiere de una geometría especial.

En adición, los LSP permiten mejorar significativamente el campo eléctrico y las propiedades de dispersión y absorción de la luz en nanopartículas a una condición de resonancia. La principal ventaja del uso de los LSP es la posibilidad de ajustar esta condición a un rango de longitudes de ondas específicas para una aplicación particular. Esto es posible ya que su resonancia se ve afectada por las características propias de las nanopartículas como su forma, tamaño, medio circundante y la interacción con otras nanopartículas.

El uso de los plasmones abarca numerosos campos; sin embargo, en este trabajo se describieron sus diferentes aplicaciones en Biomedicina. Estas incluyeron el diseño de nuevos biosensores o métodos de detección ultra sensibles para la detección de analitos biológicos y enfermedades como el Alzheimer, Diabetes tipo 1 o el Dengue. También, su uso permite potenciar las técnicas de contraste de imágenes y mejorar la eficiencia de las técnicas de transporte de medicamentos. Además, los LSP han permitido desarrollar un nuevo tipo de Hipertermia para el tratamiento térmico efectivo contra el cáncer. Este tratamiento es mínimamente invasivo, no daña al tejido sano y permite tratar el cáncer en zonas donde la intervención quirúrgica no es una opción. Finalmente, las interacciones y propiedades de los LSP permiten ampliar las señales Raman para desarrollar SERS, la cual se ha convertido en una opción de detección considerable. SERS compite con métodos como ELISA debido a su alta sensibilidad de detección, la cual es capaz de llegar hasta el nivel de una sola molécula

En general, los plasmones abren un camino nuevo y prometedor para el desarrollo de nuevas aplicaciones en varios campos que van más allá de los que se describieron aquí. Los avances en las técnicas de nanofabricación y las técnicas para reducir las pérdidas en los materiales posicionan a los plasmones como los protagonistas hacia una nueva etapa en el desarrollo de la tecnología a la escala nanométrica.

Bibliography

- Alric, C., Taleb, J., Le Duc, G., Mandon, C., Billotey, C., Le Meur-Herland, A., ... others (2008). Gadolinium chelate coated gold nanoparticles as contrast agents for both x-ray computed tomography and magnetic resonance imaging. *Journal of the American Chemical Society*, 130(18), 5908–5915. doi: 10.1021/ja078176p
- Au, L., Zheng, D., Zhou, F., Li, Z.-Y., Li, X., y Xia, Y. (2008). A quantitative study on the photothermal effect of immuno gold nanocages targeted to breast cancer cells. *ACS nano*, 2(8), 1645–1652. doi: 10.1021/nn800370j
- Bohren, C. F., y Huffman, D. R. (2008). *Absorption and scattering of light by small particles*. John Wiley & Sons.
- Bonifacio, A., Dalla Marta, S., Spizzo, R., Cervo, S., Steffan, A., Colombatti, A., y Sergio, V. (2014). Surface-enhanced raman spectroscopy of blood plasma and serum using ag and au nanoparticles: a systematic study. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 406(9), 2355–2365. doi: 10.1007/s00216-014-7622-1
- Campion, A., Ivanecky III, J., Child, C., y Foster, M. (1995). On the mechanism of chemical enhancement in surface-enhanced raman scattering. *Journal of the American Chemical Society*, 117(47), 11807–11808. doi: 10.1021/ja00152a024
- Cardona, M., y Peter, Y. Y. (2005). *Fundamentals of semiconductors* (Vol. 619). Springer.
- Chen, J., Saeki, F., Wiley, B. J., Cang, H., Cobb, M. J., Li, Z.-Y., ... others (2005). Gold nanocages: bioconjugation and their potential use as optical imaging contrast agents. *Nano letters*, 5(3), 473–477. doi: 10.1021/nl047950t
- Chen, J., Wiley, B., Li, Z.-Y., Campbell, D., Saeki, F., Cang, H., ... Xia, Y. (2005). Gold nanocages: engineering their structure for biomedical applications. *Advanced materials*, 17(18), 2255–2261. doi: 10.1002/adma.200500833
- Chen, Y., y Ming, H. (2012). Review of surface plasmon resonance and localized surface plasmon resonance sensor. *Photonic Sensors*, 2(1), 37–49. doi: 10.1007/s13320-011

-0051-2

- Choi, M.-R., Stanton-Maxey, K. J., Stanley, J. K., Levin, C. S., Bardhan, R., Akin, D., ... others (2007). A cellular trojan horse for delivery of therapeutic nanoparticles into tumors. *Nano letters*, 7(12), 3759–3765. doi: 10.1021/nl072209h
- Copland, J. A., Eghtedari, M., Popov, V. L., Kotov, N., Mamedova, N., Motamedi, M., y Oraevsky, A. A. (2004). Bioconjugated gold nanoparticles as a molecular based contrast agent: implications for imaging of deep tumors using optoacoustic tomography. *Molecular Imaging & Biology*, 6(5), 341–349. doi: 10.1016/j.mibio.2004.06.002
- Del Mistro, G., Cervo, S., Mansutti, E., Spizzo, R., Colombatti, A., Belmonte, P., ... Bonifacio, A. (2015). Surface-enhanced raman spectroscopy of urine for prostate cancer detection: a preliminary study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(12), 3271–3275. doi: 10.1007/s00216-015-8610-9
- Dina, N. E., Colniza, A., Leopold, N., y Haisch, C. (2017). Rapid single-cell detection and identification of bacteria by using surface-enhanced raman spectroscopy. *Procedia technology*, 27, 203–207. doi: 10.1016/j.protcy.2017.04.086
- Ding, S.-Y., Yi, J., Li, J.-F., Ren, B., Wu, D.-Y., Panneerselvam, R., y Tian, Z.-Q. (2016). Nanostructure-based plasmon-enhanced raman spectroscopy for surface analysis of materials. *Nature Reviews Materials*, 1(6), 1–16. doi: 10.1038/natrevmats.2016.21
- El-Sayed, I. H., Huang, X., y El-Sayed, M. A. (2005). Surface plasmon resonance scattering and absorption of anti-egfr antibody conjugated gold nanoparticles in cancer diagnostics: applications in oral cancer. *Nano letters*, 5(5), 829–834. doi: 10.1021/nl050074e
- Fleischmann, M., Hendra, P. J., y McQuillan, A. J. (1974). Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chemical physics letters*, 26(2), 163–166. doi: 10.1016/0009-2614(74)85388-1
- Fort, E., y Grésillon, S. (2007). Surface enhanced fluorescence. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 41(1), 013001. doi: 10.1088/0022-3727/41/1/013001
- García, M. A. (2011). Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applica-

- tions. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 44(28), 283001. doi: 10.1088/0022-3727/44/28/283001
- Ha, D. T., Thuy, D. T., Hoa, V. T., Van, T. T. T., y Viet, N. A. (2017). On the theory of three types of polaritons (phonon, exciton and plasmon polaritons). En *Journal of physics: Conference series* (Vol. 865, p. 012007). doi: 10.1088/1742-6596/865/1/012007
- Haes, A. J., Chang, L., Klein, W. L., y Van Duyne, R. P. (2005). Detection of a biomarker for alzheimer's disease from synthetic and clinical samples using a nanoscale optical biosensor. *Journal of the American Chemical Society*, 127(7), 2264–2271. doi: 10.1021/ja044087q
- Haes, A. J., Hall, W. P., Chang, L., Klein, W. L., y Van Duyne, R. P. (2004). A localized surface plasmon resonance biosensor: First steps toward an assay for alzheimer's disease. *Nano letters*, 4(6), 1029–1034. doi: 10.1021/nl049670j
- Haes, A. J., Haynes, C. L., McFarland, A. D., Schatz, G. C., Van Duyne, R. P., y Zou, S. (2005). Plasmonic materials for surface-enhanced sensing and spectroscopy. *MRS bulletin*, 30(5), 368–375. doi: 10.1557/mrs2005.100
- Halvorson, R. A., y Vikesland, P. J. (2010). *Surface-enhanced raman spectroscopy (sers) for environmental analyses*. ACS Publications. doi: 10.1021/es101228z
- Hao, E., y Schatz, G. C. (2004). Electromagnetic fields around silver nanoparticles and dimers. *The Journal of chemical physics*, 120(1), 357–366. doi: 10.1063/1.1629280
- Hayashi, S., y Okamoto, T. (2012). Plasmonics: visit the past to know the future. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 45(43), 433001. doi: 10.1088/0022-3727/45/43/433001
- Hirsch, L., Jackson, J., Lee, A., Halas, N., y West, J. (2003). A whole blood immunoassay using gold nanoshells. *Analytical Chemistry*, 75(10), 2377–2381. doi: 10.1021/ac0262210
- Hirsch, L. R., Stafford, R. J., Bankson, J., Sershen, S. R., Rivera, B., Price, R., ... West, J. L. (2003). Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(23), 13549–13554. doi: 10.1073/pnas.2232479100

- Hoang, V., Tripp, R. A., Rota, P., y Dluhy, R. A. (2010). Identification of individual genotypes of measles virus using surface enhanced raman spectroscopy. *Analyst*, 135(12), 3103–3109. doi: 10.1039/C0AN00453G
- Hossain, M. K., Cho, H.-Y., Kim, K.-J., y Choi, J.-W. (2015). In situ monitoring of doxorubicin release from biohybrid nanoparticles modified with antibody and cell-penetrating peptides in breast cancer cells using surface-enhanced raman spectroscopy. *Biosensors and Bioelectronics*, 71, 300–305. doi: 10.1016/j.bios.2015.04.053
- Hou, W., y Cronin, S. B. (2013). A review of surface plasmon resonance-enhanced photocatalysis. *Advanced Functional Materials*, 23(13), 1612–1619. doi: 10.1002/adfm.201202148
- Hu, M., Chen, J., Li, Z.-Y., Au, L., Hartland, G. V., Li, X., ... Xia, Y. (2006). Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 35(11), 1084–1094. doi: 10.1039/B517615H
- Huang, L., Maerkl, S. J., y Martin, O. J. (2009). Integration of plasmonic trapping in a microfluidic environment. *Optics express*, 17(8), 6018–6024. doi: 10.1364/OE.17.006018
- Huang, S., Wang, L., Chen, W., Feng, S., Lin, J., Huang, Z., ... Chen, R. (2014). Potential of non-invasive esophagus cancer detection based on urine surface-enhanced raman spectroscopy. *Laser Physics Letters*, 11(11), 115604. doi: 10.1088/1612-2011/11/11/115604
- Huang, X., El-Sayed, I. H., Qian, W., y El-Sayed, M. A. (2006). Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods. *Journal of the American Chemical Society*, 128(6), 2115–2120. doi: 10.1021/ja057254a
- Huber, A., Deutsch, B., Novotny, L., y Hillenbrand, R. (2008). Focusing of surface phonon polaritons. *Applied Physics Letters*, 92(20), 203104. doi: 10.1063/1.2930681
- Huff, T. B., Tong, L., Zhao, Y., Hansen, M. N., Cheng, J.-X., y Wei, A. (2007). Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells.
doi: 10.2217/17435889.2.1.125
- Hugall, J. T. (2013). *On the nature of sers from plasmonic nanostructures* (Tesis Doctoral no publicada). University of Cambridge.

- Jain, P. K., Lee, K. S., El-Sayed, I. H., y El-Sayed, M. A. (2006). Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine. *The journal of physical chemistry B*, 110(14), 7238–7248. doi: 10.1021/jp057170o
- Johnson, P. B., y Christy, R.-W. (1972). Optical constants of the noble metals. *Physical review B*, 6(12), 4370. doi: 10.1103/PhysRevB.6.4370
- Kawata, S., Ohtsu, M., y Irie, M. (2001). *Near-field optics and surface plasmon polaritons* (Vol. 81). Springer Science & Business Media.
- Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., y Schatz, G. C. (2003). *The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment*. ACS Publications. doi: 10.1021/jp026731y
- Kim, C., Cho, E. C., Chen, J., Song, K. H., Au, L., Favazza, C., ... others (2010). In vivo molecular photoacoustic tomography of melanomas targeted by bioconjugated gold nanocages. *ACS nano*, 4(8), 4559–4564. doi: 10.1021/nn100736c
- Kittel, C., y Fong, C.-y. (1963). *Quantum theory of solids* (Vol. 5). Wiley New York.
- Kneipp, K., Haka, A. S., Kneipp, H., Badizadegan, K., Yoshizawa, N., Boone, C., ... Feld, M. S. (2002). Surface-enhanced raman spectroscopy in single living cells using gold nanoparticles. *Applied Spectroscopy*, 56(2), 150–154.
- Kneipp, K., Kneipp, H., Itzkan, I., Dasari, R. R., y Feld, M. S. (2002). Surface-enhanced raman scattering and biophysics. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 14(18), R597. doi: 10.1088/0953-8984/14/18/202
- Kneipp, K., Kneipp, H., Kartha, V. B., Manoharan, R., Deinum, G., Itzkan, I., ... Feld, M. S. (1998). Detection and identification of a single dna base molecule using surface-enhanced raman scattering (sers). *Physical Review E*, 57(6), R6281. doi: 10.1103/PhysRevE.57.R6281
- Kneipp, K., Wang, Y., Kneipp, H., Perelman, L. T., Itzkan, I., Dasari, R. R., y Feld, M. S.

- (1997). Single molecule detection using surface-enhanced raman scattering (sers). *Physical review letters*, 78(9), 1667.
- Kuo, T.-R., Hovhannisyanyan, V. A., Chao, Y.-C., Chao, S.-L., Chiang, S.-J., Lin, S.-J., ... Chen, C.-C. (2010). Multiple release kinetics of targeted drug from gold nanorod embedded polyelectrolyte conjugates induced by near-infrared laser irradiation. *Journal of the American Chemical Society*, 132(40), 14163–14171. doi: 10.1021/ja105360z
- Laing, S., Jamieson, L. E., Faulds, K., y Graham, D. (2017). Surface-enhanced raman spectroscopy for in vivo biosensing. *Nature Reviews Chemistry*, 1(8), 1–19. doi: 10.1038/s41570-017-0060
- Lankenau, E., Welzel, J., Birngruber, R., y Engelhardt, R. (1997). In-vivo tissue measurements with optical low-coherence tomography. En *Coherence domain optical methods in biomedical science and clinical applications* (Vol. 2981, pp. 78–84). doi: 10.1117/12.274299
- Law, W.-C., Yong, K.-T., Baev, A., y Prasad, P. N. (2011). Sensitivity improved surface plasmon resonance biosensor for cancer biomarker detection based on plasmonic enhancement. *ACS nano*, 5(6), 4858–4864. doi: 10.1021/nn2009485
- Lee, J.-H., y Choi, J.-W. (2018). Application of plasmonic gold nanoparticle for drug delivery system. *Current drug targets*, 19(3), 271–278. doi: 10.2174/1389450118666170427150257
- Le Ru, E., y Etchegoin, P. (2008). *Principles of surface-enhanced raman spectroscopy: and related plasmonic effects*. Elsevier.
- Li, N., Tittl, A., Yue, S., Giessen, H., Song, C., Ding, B., y Liu, N. (2014). Dna-assembled bimetallic plasmonic nanosensors. *Light: Science & Applications*, 3(12), e226–e226. doi: 10.1038/lssa.2014.107
- Li, Z., Li, C., Lin, D., Huang, Z., Pan, J., Chen, G., ... others (2014). Surface-enhanced raman spectroscopy for differentiation between benign and malignant thyroid tissues. *Laser Physics Letters*, 11(4), 045602. doi: 10.1088/1612-2011/11/4/045602

- Liao, H., Nehl, C. L., y Hafner, J. H. (2006). Biomedical applications of plasmon resonant metal nanoparticles.
doi: 10.2217/17435889.1.2.201
- Link, S., Burda, C., Mohamed, M., Nikoobakht, B., y El-Sayed, M. A. (1999). Laser photothermal melting and fragmentation of gold nanorods: energy and laser pulse-width dependence. *The Journal of Physical Chemistry A*, 103(9), 1165–1170. doi: 10.1021/jp983141k
- Link, S., y El-Sayed, M. A. (2000). Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals. *International reviews in physical chemistry*, 19(3), 409–453. doi: 10.1080/01442350050034180
- Long, Y.-T., y Jing, C. (2014). *Localized surface plasmon resonance based nanobiosensors*. Springer.
- Loo, C., Lowery, A., Halas, N., West, J., y Drezek, R. (2005). Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy. *Nano letters*, 5(4), 709–711. doi: 10.1021/nl050127s
- Lyon, L. A., Musick, M. D., Smith, P. C., Reiss, B. D., Peña, D. J., y Natan, M. J. (1999). Surface plasmon resonance of colloidal au-modified gold films. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 54(1-2), 118–124. doi: 10.1016/S0925-4005(98)00329-3
- Ma, L., Zhang, Z., y Li, X. (2020). Non-invasive disease diagnosis using surface-enhanced raman spectroscopy of urine and saliva. *Applied Spectroscopy Reviews*, 55(3), 197–219. doi: 10.1080/05704928.2018.1562938
- Maier, S. A., Kik, P. G., Atwater, H. A., Meltzer, S., Harel, E., Koel, B. E., y Requicha, A. A. (2003). Local detection of electromagnetic energy transport below the diffraction limit in metal nanoparticle plasmon waveguides. *Nature materials*, 2(4), 229–232. doi: 10.1038/nmat852
- Maier, S. A., y cols. (2007). *Plasmonics: fundamentals and applications* (Vol. 1). Springer.
- Maradudin, A. A., Sambles, J. R., y Barnes, W. L. (2014). *Modern plasmonics*. Elsevier.

- Melentev, G., Shalygin, V., Firsov, D., Vinnichenko, M. Y., y Vorobjev, L. (2017). Surface plasmon-phonon polaritons in gaas. En *Journal of physics: Conference series* (Vol. 917, p. 062038). doi: 10.1088/1742-6596/917/6/062038
- Mock, J., Barbic, M., Smith, D., Schultz, D., y Schultz, S. (2002). Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles. *The Journal of Chemical Physics*, 116(15), 6755–6759. doi: 10.1063/1.1462610
- Moskovits, M. (2005). Surface-enhanced raman spectroscopy: a brief retrospective. *Journal of Raman Spectroscopy: An International Journal for Original Work in all Aspects of Raman Spectroscopy, Including Higher Order Processes, and also Brillouin and Rayleigh Scattering*, 36(6-7), 485–496. doi: 10.1002/jrs.1362
- Naik, G. V., Shalaev, V. M., y Boltasseva, A. (2013). Alternative plasmonic materials: beyond gold and silver. *Advanced Materials*, 25(24), 3264–3294. doi: 10.1002/adma.201205076
- Nehl, C. L., Grady, N. K., Goodrich, G. P., Tam, F., Halas, N. J., y Hafner, J. H. (2004). Scattering spectra of single gold nanoshells. *Nano Letters*, 4(12), 2355–2359. doi: 10.1021/nl048610a
- Nga, D. T. T., Lan, N. T. P., y Viet, N. A. (2015). Second quantization model of surface plasmon polariton at metal planar surface. En *Journal of physics: Conference series* (Vol. 627, p. 012018). doi: 10.1088/1742-6596/627/1/012018
- Nguyen, V. H., y Nguyen, B. H. (2014). Quantum theory of plasmon. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 5(2), 025001. doi: 10.1088/2043-6262/5/2/025001
- Novotny, L., y Hecht, B. (2012). *Principles of nano-optics*. Cambridge university press.
- O’Neal, D. P., Hirsch, L. R., Halas, N. J., Payne, J. D., y West, J. L. (2004). Photo-thermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles. *Cancer letters*, 209(2), 171–176. doi: 10.1016/j.canlet.2004.02.004
- Park, J.-H., von Maltzahn, G., Ong, L. L., Centrone, A., Hatton, T. A., Ruoslahti, E., ... Sailor,

- M. J. (2010). Cooperative nanoparticles for tumor detection and photothermally triggered drug delivery. *Advanced Materials*, 22(8), 880–885. doi: 10.1002/adma.200902895
- Prasad, P. N. (2004). *Nanophotonics*. John Wiley & Sons.
- Qian, W., Huang, X., Kang, B., y El-Sayed, M. A. (2010). Dark-field light scattering imaging of living cancer cell component from birth through division using bioconjugated gold nanoprobe. *Journal of biomedical optics*, 15(4), 046025. doi: 10.1117/1.3477179
- Qian, X., Peng, X.-H., Ansari, D. O., Yin-Goen, Q., Chen, G. Z., Shin, D. M., ... Nie, S. (2008). In vivo tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced raman nanoparticle tags. *Nature biotechnology*, 26(1), 83–90. doi: 10.1038/nbt1377
- Raman, C. V., y Krishnan, K. S. (1928). A new type of secondary radiation. *Nature*, 121(3048), 501–502. doi: 10.1038/121501c0
- Rao, S., Raj, S., Balint, S., Fons, C. B., Campoy, S., Llagostera, M., y Petrov, D. (2010). Single dna molecule detection in an optical trap using surface-enhanced raman scattering. *Applied Physics Letters*, 96(21), 213701. doi: 10.1063/1.3431628
- Rezabakhsh, A., Rahbarghazi, R., y Fathi, F. (2020). Surface plasmon resonance biosensors for detection of alzheimer's biomarkers; an effective step in early and accurate diagnosis. *Biosensors and Bioelectronics*, 112511. doi: 10.1016/j.bios.2020.112511
- Righini, M., Zelenina, A. S., Girard, C., y Quidant, R. (2007). Parallel and selective trapping in a patterned plasmonic landscape. *Nature Physics*, 3(7), 477–480. doi: 10.1038/nphys624
- Sarid, D., y Challener, W. A. (2010). *Modern introduction to surface plasmons: theory, mathematical modeling, and applications*. Cambridge University Press.
- Sershen, S., Westcott, S., Halas, N., y West, J. (2000). Temperature-sensitive polymer-nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 51(3), 293–298.
- Shanmukh, S., Jones, L., Driskell, J., Zhao, Y., Dluhy, R., y Tripp, R. A. (2006). Rapid and

- sensitive detection of respiratory virus molecular signatures using a silver nanorod array substrate. *Nano letters*, 6(11), 2630–2636. doi: 10.1021/nl061666f
- Shanmukh, S., Jones, L., Zhao, Y.-P., Driskell, J., Tripp, R., y Dluhy, R. (2008). Identification and classification of respiratory syncytial virus (rsv) strains by surface-enhanced raman spectroscopy and multivariate statistical techniques. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 390(6), 1551–1555. doi: 10.1007/s00216-008-1851-0
- Shiotani, A., Mori, T., Niidome, T., Niidome, Y., y Katayama, Y. (2007). Stable incorporation of gold nanorods into n-isopropylacrylamide hydrogels and their rapid shrinkage induced by near-infrared laser irradiation. *Langmuir*, 23(7), 4012–4018. doi: 10.1021/la0627967
- Srituravanich, W., Pan, L., Wang, Y., Sun, C., Bogy, D. B., y Zhang, X. (2008). Flying plasmonic lens in the near field for high-speed nanolithography. *Nature nanotechnology*, 3(12), 733–737. doi: 10.1038/nnano.2008.303
- Stockman, M. I. (2015). Nanoplasmonic sensing and detection. *Science*, 348(6232), 287–288. doi: 10.1126/science.aaa6805
- Tian, Z. (2005). Surface-enhanced raman spectroscopy: advancements and applications. *Journal of Raman Spectroscopy: An International Journal for Original Work in all Aspects of Raman Spectroscopy, Including Higher Order Processes, and also Brillouin and Rayleigh Scattering*, 36(6-7), 466–470. doi: 10.1002/jrs.1378
- Tong, L., Zhao, Y., Huff, T. B., Hansen, M. N., Wei, A., y Cheng, J.-X. (2007). Gold nanorods mediate tumor cell death by compromising membrane integrity. *Advanced Materials*, 19(20), 3136–3141. doi: 10.1002/adma.200701974
- Wang, H., Huff, T. B., Zweifel, D. A., He, W., Low, P. S., Wei, A., y Cheng, J.-X. (2005). In vitro and in vivo two-photon luminescence imaging of single gold nanorods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(44), 15752–15756. doi: 10.1073/pnas.0504892102
- Wang, S., Shan, X., Patel, U., Huang, X., Lu, J., Li, J., y Tao, N. (2010). Label-free imaging, detection, and mass measurement of single viruses by surface plasmon resonance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(37), 16028–16032. doi: 10.1073/pnas.1005264107

- Wong, W. R., Krupin, O., Sekaran, S. D., Mahamd Adikan, F. R., y Berini, P. (2014). Serological diagnosis of dengue infection in blood plasma using long-range surface plasmon waveguides. *Analytical chemistry*, 86(3), 1735–1743. doi: 10.1021/ac403539k
- Wust, P., Hildebrandt, B., Sreenivasa, G., Rau, B., Gellermann, J., Riess, H., ... Schlag, P. (2002). Hyperthermia in combined treatment of cancer. *The lancet oncology*, 3(8), 487–497. doi: 10.1016/S1470-2045(02)00818-5
- Xie, Z., Yu, W., Wang, T., Zhang, H., Fu, Y., Liu, H., ... Sun, Q. (2011). Plasmonic nanolithography: a review. *Plasmonics*, 6(3), 565–580. doi: 10.1007/s11468-011-9237-0
- Xu, S., Cao, Y., Zhou, J., Wang, X., Wang, X., y Xu, W. (2011). Plasmonic enhancement of fluorescence on silver nanoparticle films. *Nanotechnology*, 22(27), 275715. doi: 10.1088/0957-4484/22/27/275715
- Yang, H., Zhao, C., Li, R., Shen, C., Cai, X., Sun, L., ... Yin, Y. (2018). Noninvasive and prospective diagnosis of coronary heart disease with urine using surface-enhanced raman spectroscopy. *Analyst*, 143(10), 2235–2242. doi: 10.1039/C7AN02022H
- Yanik, A. A., Huang, M., Kamohara, O., Artar, A., Geisbert, T. W., Connor, J. H., y Altug, H. (2010). An optofluidic nanoplasmonic biosensor for direct detection of live viruses from biological media. *Nano letters*, 10(12), 4962–4969. doi: 10.1021/nl103025u
- Zayats, A. V., Smolyaninov, I. I., y Maradudin, A. A. (2005). Nano-optics of surface plasmon polaritons. *Physics reports*, 408(3-4), 131–314. doi: 10.1016/j.physrep.2004.11.001
- Zhang, B., Kumar, R. B., Dai, H., y Feldman, B. J. (2014). A plasmonic chip for biomarker discovery and diagnosis of type 1 diabetes. *Nature medicine*, 20(8), 948–953. doi: 10.1038/nm.3619
- Zhang, J., Zhang, L., y Xu, W. (2012). Surface plasmon polaritons: physics and applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 45(11), 113001. doi: 10.1088/0022-3727/45/11/113001
- Zhang, X., Chen, Y. L., Liu, R.-S., y Tsai, D. P. (2013). Plasmonic photocatalysis. *Reports on Progress in Physics*, 76(4), 046401. doi: 10.1088/0034-4885/76/4/046401

Zong, C., Xu, M., Xu, L.-J., Wei, T., Ma, X., Zheng, X.-S., ... Ren, B. (2018). Surface-enhanced raman spectroscopy for bioanalysis: reliability and challenges. *Chemical reviews*, 118(10), 4946–4980. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00668



Anexos

Anexo A: Constante dieléctrica para los fonones

A pesar de que existen dos tipos de fonones, son los fonones ópticos los que interactúan con la radiación electromagnética. Su respuesta se describe a partir de una colección de osciladores armónicos simples, idénticos y cargados a un campo eléctrico en forma de onda plana $E(r, t) = E_0 e^{i(k \cdot r - \omega t)}$, la cual desplaza a los osciladores de sus posiciones de equilibrio. Teniendo en cuenta todas las fuerzas involucradas, la ecuación diferencial de movimiento que describe este sistema queda de la siguiente manera:

$$m \ddot{r} = -m\omega_T r + qE \quad (5.1)$$

Donde m representa la masa, q la carga y ω_T la frecuencia vibratoria natural de estos osciladores.

En el estado estacionario, la solución de la ecuación anterior se expresa como:

$$r = r_0 e^{i(k \cdot r - \omega t)} \quad (5.2)$$

Sustituyendo el valor de r y E en la ecuación 5.1, se obtiene el valor de r_0

$$r_0 = \frac{qE_0}{m(\omega_T^2 - \omega^2)} \quad (5.3)$$

Luego, el vector desplazamiento eléctrico D se define como;

$$D = E + 4\pi P = \varepsilon E \quad (5.4)$$

Donde ε representa la constante dieléctrica, $P = Nq r$ es la polarización y N representa el número de osciladores del sistema. Reemplazando los valores de r y E , se obtiene ε

$$\varepsilon(\omega) = 1 + \frac{4\pi Nq^2}{m(\omega_T^2 - \omega^2)} \quad (5.5)$$

Es importante incluir la contribución de los electrones de valencia a la función dieléctrica total del medio. Esta contribución está representada por el valor ε_∞ , la cual se denomina constante dieléctrica de alta frecuencia. Este valor proviene de la constante dieléctrica a una frecuencia mucho más alta que la frecuencia vibratoria y menor que las energías de excitación electrónica [Cardona y Peter (2005)]. Con este valor, la constante dieléctrica se denota de la siguiente manera:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{4\pi Nq^2}{m(\omega_T^2 - \omega^2)} \quad (5.6)$$

Debido a que no hay cargas en exceso en el medio, el desplazamiento eléctrico D satisface la ecuación de Gauss $\nabla \cdot D = 0$, la cual es equivalente a $\varepsilon(k \cdot E) = 0$. Esta expresión se cumple para dos situaciones: cuando $k \cdot E = 0$ y $\varepsilon(\omega) = 0$. La primera solución corresponde al caso cuando E es perpendicular a la dirección de propagación. En esta solución se tiene que ε diverge cuando $\omega = \omega_T$ de acuerdo a la ecuación 5.6. Por tanto, ω_T representa una frecuencia de resonancia del medio. Por otro lado, la otra solución corresponde a un campo longitudinal con una frecuencia ω_L definida cuando la función dieléctrica $\varepsilon(\omega)$ de la ecuación 5.6 se iguala a cero [Cardona y Peter (2005)]. Así, la expresión de ω_L es

$$\omega_L^2 = \omega_T^2 + \frac{4\pi Nq^2}{\varepsilon_\infty m} \quad (5.7)$$

Con la expresión de ω_L y la constante dieléctrica de la ecuación 5.6, se obtiene el valor de $\varepsilon(\omega)$, la cual depende de ω_T , ω_L y ε_∞

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_\infty \left(\frac{\omega_L^2 - \omega^2}{\omega_T^2 - \omega^2} \right) \quad (5.8)$$

Para mayor información sobre ω_L y ω_T junto con este procedimiento, se recomienda al lector la bibliografía [Cardona y Peter (2005) - Kittel y Fong (1963)]