



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Obtención de un sustrato en dos dimensiones activo
para SERS basado en nanoestructuras de Au-Ag
en una matriz polimérica

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIA DE MATERIALES

PRESENTA

Q. Eduardo Carlos Martínez Zúñiga

DIRIGIDA POR:

Dr. Alfredo Rafael Vilchis Néstor (CCIQS)

Dr. Gustavo López Téllez (CCIQS)

Dr. Miguel Avalos Borja (LINAN)



ÍNDICE

Dedicatorias	I
Agradecimientos	II
Resumen	III
Abstract	IV
	Pags.
CAPITULO I: Introducción	
1.1 Antecedentes	09
1.2 Problemática a Resolver	11
1.3 Objetivos	12
1.3.1 Objetivo General	12
1.3.2 Objetivos Específicos	12
1.4 Hipótesis	12
CAPITULO II: Fundamentos Teóricos	
2.1 Nanotecnología y Nanociencia	14
2.2 Nanopartículas	15
2.2.1 Propiedades Ópticas	16
2.2.2 Hot Spot	20
2.3 Métodos de Síntesis	22
2.4 Nanopartículas Metálicas	24
2.4.1 Nanopartículas de Plata	25
2.4.2 Nanopartículas de Oro	25
2.5 Sustrato Polimérico	26
2.6 Efectos SERS	27
CAPITULO III: Técnicas de Caracterización	
3.1 Espectroscopia UV-Vis	31
3.2 Microscopia Electrónica de Transmisión	33
3.3 Espectroscopía Raman SERS	36

CAPITULO IV: Desarrollo Experimental

4.1	Obtención de Nanopartículas de Plata	41
4.2	Obtención de Nanopartículas de Oro	42
4.3	Obtención de Sustrato Polimérico	42
4.4	Análisis Raman.....	45

CAPITULO V: Resultados

5.1	Caracterización de Nanopartículas de Oro	52
5.1.1	Nanopartículas de Oro Poliedrales	52
5.1.1.1	Espectroscopia UV-Vis	52
5.1.1.2	Microscopia electrónica de Transmisión	53
5.1.2	Nanopartículas de Oro Estrellas	56
5.1.2.1	Espectroscopía UV-Vis	56
5.1.2.2	Microscopía electrónica de Transmisión	57
5.2.	Caracterización de Nanopartículas de Plata	58
5.2.1	Nanopartículas de Plata Cubos	58
5.2.1.1	Espectroscopía UV-Vis	59
5.2.1.2	Microscopía electrónica de Transmisión	59
5.3	Espectroscopía Raman SERS	61
5.3.1	Nanopartículas Soportadas en Matriz Polimérica	61
5.3.1.1	Nanopartículas de oro soportadas en poliestireno	62
5.3.2.1	Nanopartículas de plata soportadas en poliestireno	68

CAPITULO VI: Conclusiones

6.1	Conclusiones	71
-----	--------------------	----

ABREVIATURAS

APENDICES

BIBLIOGRAFIA

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de México y al Claustro de Profesores de Ciencia de Materiales de la Facultad de Química por la formación proporcionada.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de este trabajo de investigación.

Al Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo de investigación.

RESUMEN

En este trabajo se desarrolló un sustrato en dos dimensiones de poliestireno basado en nanoestructuras de oro y de plata.

Para obtener el sustrato en dos dimensiones primero se sintetizaron nanopartículas de oro y de plata. Las nanopartículas de oro se obtuvieron por el método de bio-reducción, utilizando extracto de *Cymbopogon citratus* (Te Limón) y extracto de cáscara de *Citrus paradisi* (Toronja), mientras que para las nanopartículas de plata se utilizó el método del poliol, usando etilenglicol como agente reductor. Estas nanopartículas fueron caracterizadas por técnicas de UV-Vis y Microscopía Electrónica de Transmisión; por medio de dichas técnicas se pudo identificar la forma y tamaño de las nanopartículas.

Para el sistema de oro se obtuvieron dos morfologías en las nanopartículas una en forma de estrella y otra en forma poliedral, mientras que, para el sistema de plata se obtuvo sólo la forma cúbica, las tres formas de nanopartículas obtenidas de oro y plata se depositaron en un sustrato de poliestireno el cual fue evaluado en espectroscopia Raman, bajo el efecto SERS, usando azul de metileno como referencia.

Los tres sistemas de nanopartículas sobre el sustrato poliestireno presentaron una amplificación de señal de la molécula azul de metileno que va de 10 a 50 veces la amplitud de señal, confirmándose con esto que los tres sistemas funcionan para ampliar la señal en el efecto SERS.

ABSTRACT

In this work, a two-dimensional polystyrene substrate based on gold and silver nanostructures was developed.

To obtain the substrate in two dimensions, first gold and silver nanoparticles were synthesized. The gold nanoparticles were obtained by the method of bioreduction, using extract of *Cymbopogon citratus* (Tea Limón) and extract of shell of *Citrus paradisi* (Grapefruit), while for the silver nanoparticles the polyol method was used, using ethylene glycol as agent reducer. These nanoparticles were characterized by UV-Vis and Electron Transmission Microscopy techniques; by means of said techniques it was possible to identify the shape and size of the nanoparticles.

For the gold system, two morphologies were obtained in the nanoparticles, one in the form of a star and the other in a polyhedral form, while for the silver system, only the cubic shape was obtained, the three forms of nanoparticles obtained from gold and silver were deposited in a polystyrene substrate which was evaluated in Raman spectroscopy, under the SERS effect, using methylene blue as a reference.

The three nanoparticle systems on the polystyrene substrate showed a signal amplification of the blue methylene molecule that goes from 10 to 50 times the signal amplitude, confirming that all three systems work to amplify the signal in the SERS effect.

CAPÍTULO

I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En el área de la nanotecnología es de gran importancia el desarrollo de técnicas para la síntesis de nanopartículas metálicas; esto con el propósito de controlar su forma, tamaño y composición, debido a que, a diferencia de los materiales en bulto las nanopartículas presentan propiedades eléctricas, magnéticas y ópticas únicas que dependen de su tamaño y forma[1], por lo que, controlando la morfología de las nanopartículas metálicas se puede modificar sus propiedades fisicoquímicas y orientarlas para aplicaciones como marcadores biológicos, catálisis, sensores y un mejor efecto SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy)[2].

Las propiedades ópticas de las nanopartículas metálicas pueden ser observadas en un amplio intervalo espectral[3], esto es posible debido a la resonancia de la superficie de los plasmones con luz visible. Las frecuencias definidas y específicas de resonancia son establecidas por parámetros tales como la composición de las nanopartículas, morfología, concentración, índice de refracción del solvente donde se suspende la nanopartícula, la carga superficial y temperatura del sistema[4].

La observación y el estudio de plasmones de las nanopartículas metálicas por medio del UV-Vis requiere seguir un protocolo de síntesis riguroso con los reactivos usados considerando su pureza, forma y el orden de adición, así como, todo tipo de factores físicos y químicos[5], en especial la temperatura (la cual que puede cambiarse o no de forma programada durante el proceso de síntesis) la forma e intensidad de la agitación, el pH, la fuerza iónica, entre otros. Paradójicamente, la síntesis de nanopartículas metálicas es tan fácil que el problema no es iniciar su crecimiento, sino detenerlo en el momento deseado para que dejen de crecer[6].

Se conocen como plasmones de superficie localizados a las oscilaciones colectivas de electrones restringidos en pequeños volúmenes metálicos[7]. El campo eléctrico oscilante de la luz incidente induce un dipolo eléctrico en la partícula desplazando a una parte de los

electrones móviles deslocalizados en una dirección lejos del resto de la partícula metálica, generando así una carga neta negativa en un lado de la partícula[8].

Para conocer la forma y tamaño de estos sistemas es necesario caracterizar al sistema usando técnicas muy diversas, típicamente, se han empleado técnicas de microscopia como la de fuerza atómica (AFM), de barrido por tunelamiento (STM), de transmisión electrónica (TEM), entre otras. Estas técnicas proveen de imágenes de pequeñas partes de la muestra, es decir, dan propiedades locales del sistema y caracterizan pocas partículas a la vez. Con el uso de estas técnicas ha sido posible identificar partículas nanométricas de diferentes formas y tamaños, como esferas, cilindros, esferoides, lentes, conos, pirámides, tubos, y muchas más con diferentes formas de poliedros[9].

En los sistemas nanoestructurados donde el sustrato es un polímero y se incluye partículas metálicas, la interacción entre ambas fases puede modificar las propiedades dieléctricas, ópticas y mecánicas del polímero. La mayoría de los sistemas nanoestructurados corresponden a metales nobles en polímeros con el objeto de aprovechar sus propiedades ópticas. Los polímeros constituyen matrices interesantes por la gran variedad de características que puede presentar, las cuales pueden verse alteradas por la presencia de las nanopartículas. Estos sistemas donde el sustrato es un polímero podrían ser utilizados en las espectroscopias vibracionales por ejemplo la espectroscopia Raman.

La espectroscopía Raman es una técnica utilizada en física y química de la materia para el estudio de los modos de vibración y rotación de baja frecuencia. Los sistemas de oro y plata se emplean en gran medida en la espectroscopía Raman (SERS), estos sistemas son de fácil preparación, sin embargo, son difíciles de controlar y caracterizar debido a su enorme gama de tamaños y formas; el control de la formación de estos sistemas permitiría inducir una mayor homogeneidad en la superficie y tener una mayor respuesta en la espectroscopía Raman (SERS).

1.2 Problemática a Resolver

Las técnicas espectroscópicas intensificadas por superficies metálicas nanoestructuradas se han desarrollado en los últimos años, fundamentalmente SERS y SEIR.

El efecto SERS es una de las técnicas que implica un aumento tanto en la sensibilidad como de la selectividad de las moléculas a estudiar, lo que hace del Raman una técnica con prometedoras aplicaciones analíticas. La aplicación de la técnica SERS está relacionada fuertemente a las propiedades morfológicas y superficiales de los sistemas nanoestructurados.

Estos sistemas tienen que cumplir unas condiciones morfológicas para inducir un mayor acoplamiento con la radiación incidente, dando lugar a una mayor señal espectroscópica, estas morfologías pueden ser controladas mediante el proceso de síntesis de las nanopartículas. En este trabajo se obtuvieron suspensiones coloidales de nanopartículas que fueron inmovilizadas sobre un sustrato polimérico, lo cual permite tener un sustrato en dos dimensiones activo para SERS el cual está basado en nanopartículas de oro o plata sobre una matriz polimérica.

Esta intensificación resultante del efecto SERS requiere como condición un acercamiento de la molécula a estudiar sobre el soporte metálico de la nanopartícula, es por esto que la forma de las nanopartículas debe presentar vértices en su estructura, lo que permite una mejor interacción entre nanopartícula y molécula de estudio que al combinarse con el sustrato polimérico con pequeños canales incrementa la probabilidad de generar “*hot spots*” entre los vértices de las nanopartículas y así asumimos que se puede mejorar esta relación que nos permite tener una mejor amplificación de señal en la molécula de estudio (azul de metileno).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Obtener un sustrato activo para SERS para evaluar la relación de la forma de las nanopartículas de oro y plata con la intensidad de señal.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar y caracterizar nanopartículas de oro
- Sintetizar y caracterizar nanopartículas de plata
- Diseñar un sustrato de poliestireno
- Soportar las nanopartículas obtenidas en el sustrato de poliestireno
- Evaluar el efecto SERS por medio de la espectroscopia Raman de los sistemas obtenidos con el sustrato de poliestireno

1.4 Hipótesis

El diseño de matrices poliméricas en dos dimensiones con nanopartículas de oro y plata de diferentes tamaños y formas permitirá obtener efecto SERS

CAPÍTULO
II
FUNDAMENTOS
TEÓRICOS

2.1. - Nanotecnología y Nanociencia:

La nanociencia es el estudio de los procesos fundamentales que ocurren en las estructuras de 1 y 100 nanómetros, las cuales se conocen como nanoestructuras. La nanotecnología es el área de investigación que estudia, diseña y fabrica materiales o sistemas a escalas nanoscópicas y les da alguna aplicación práctica[10].

La fabricación de nanoestructuras y nanopartículas requiere del conocimiento de los fenómenos físicos que se presentan a escala nanométrica. A estas escalas las estructuras han demostrado tener propiedades físicas que son únicas en su tipo y que difieren de sus correspondientes en sólidos o moléculas. Para determinar estas propiedades se debe conocer su forma, tamaño y estructura atómica del sistema, los cuales son importantes para determinar las propiedades eléctricas, ópticas, catalíticas, térmicas, elásticas, entre otras[11].

La complejidad de fabricar, observar y manipular nanoestructuras, así como su potencial aplicación, demanda de la colaboración de varias disciplinas. Por lo que la llamada nanociencia se puede definir como el estudio de la materia a escala nanométrica desde el punto de vista de la física, química, biología y la ciencia de materiales. La nanociencia es distinta a las otras ciencias porque aquellas propiedades que no se pueden ver a escala macroscópica adquieren importancia a escalas nanométricas, como por ejemplo propiedades de mecánica cuántica y termodinámicas[12- 13].

La nanotecnología es la creación de materiales, dispositivos y sistemas útiles por medio de la manipulación de la materia a una escala nanoscópica[14]. Debido a su pequeño tamaño, los dispositivos a escala nanométrica pueden interactuar fácilmente con biomoléculas localizadas tanto en la superficie como en el interior de las células. Al obtener acceso a tantas áreas del cuerpo, tienen la posibilidad de detectar enfermedades y de administrar tratamiento en formas que fueron inimaginables en el pasado[15 -16]. Una importante área de investigación es la síntesis de nanopartículas con diferentes composiciones, tamaños, formas y controlar su dispersión[17 -18].

El futuro de la humanidad dependerá de tener instrumentos útiles en el trabajo, el hogar y en la vida cotidiana, por razones prácticas y energéticas[19]. Para alcanzar estos objetivos serán fundamentales los avances científicos y tecnológicos en nanociencia, en donde la química tiene mucho que aportar en el diseño, preparación y caracterización de nanomateriales[20]. La manipulación de las condiciones de síntesis permite el control racional del tamaño y la forma de las nanopartículas y provee los medios para adaptar las propiedades de los materiales a una aplicación específica. Uno de los objetivos centrales de la nanociencia es construir pequeñas estructuras para el diseño de materiales avanzados, nanodispositivos de alto rendimiento y miniaturización de dispositivos electrónicos[21].

2.2 Nanopartículas

El estudio de nanopartículas es de gran interés debido a que las modificaciones de las propiedades catalíticas, eléctricas y ópticas, no solo por el tamaño de las mismas, sino también como resultado de su combinación con diferentes metales. Debido a que las nanopartículas contienen 10^6 átomos o menos y sus propiedades difieren de aquellos materiales que tienen los mismos átomos enlazados entre sí, pero son materiales voluminosos. Las propiedades de las nanopartículas dependen de su forma, tamaño, características de superficie y estructura interna.

Estas nanopartículas se diseñan, se caracterizan y se aplican en estructuras, componentes y sistemas en donde ese tiene que mantener un control sobre el tamaño y la forma de sus elementos (átomos, moléculas o macromoléculas) a nivel de la escala de nanómetros, esto para obtener dichas estructuras, componentes o sistemas que posean al menos una propiedad característica nueva o mejorada debido al pequeño tamaño de sus constituyentes[22].

Las propiedades ópticas y fototérmicas de las nanopartículas provienen de las oscilaciones resonantes de sus electrones libres en presencia de luz (resonancia localizada de plasmón de superficie), gracias a la cual las nanopartículas pueden radiar luz o absorber luz que se transforma rápidamente en calor. Estas nanopartículas emiten un intenso calor cuando son estimuladas con la frecuencia correcta de luz láser u otra fuente de calor (microondas, radiofrecuencia, ultrasonidos...); así una colección de pequeñas nanopartículas puede calentar localmente un área de mil veces su tamaño, actuando como auténticos «calefactores nanoscópicos activados por la luz».

2.2.1 Propiedades Ópticas

Existe un gran interés en el estudio de las propiedades ópticas de las nanopartículas, esta propiedad que le da color a los vitrales de la edad media, se debe a la dependencia de esta propiedad con la morfología y tamaño de las nanopartículas, así como con otros parámetros como el medio que las rodea, es decir, con cualquier medio polarizable como el medio dieléctrico, su interacción con otras nanopartículas y sustratos.

La presencia de electrones libres en la banda de conducción de la superficie de las nanopartículas metálicas que reciben un haz de luz incidente, induce una excitación colectiva de estos electrones libres, como consecuencia de la fuerte interacción con la luz incidente; se produce una oscilación coherente deslocalizada de los electrones confinados en la superficie de las nanopartículas metálicas, en la interfaz metal-dieléctrico o metal-semiconductor; la excitación electromagnética se llama polaritón del plasmón de superficie; el polaritón es una casi-partícula híbrida resultante del fuerte acoplamiento entre la luz y los electrones libres en la superficie de una nanopartícula. En la figura 1 se muestra la oscilación que se presenta en una nanopartícula esférica.

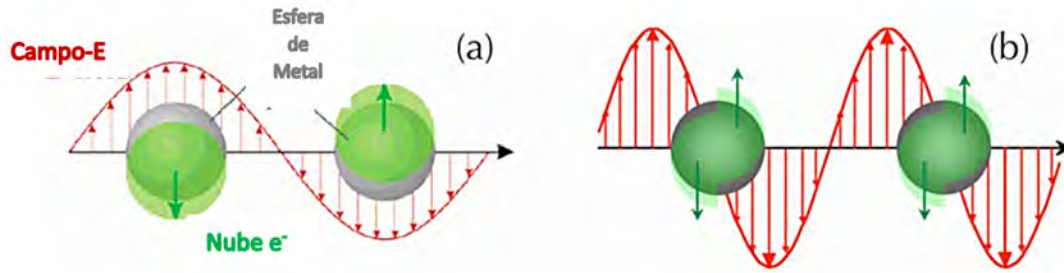


Figura 1: Oscilaciones colectivas de la nube electrónica en esferas metálicas. (Cecilia Noguez)

Cuando el tamaño “ a ” de la esfera es muy pequeña comparada con la longitud de onda “ λ ” del sistema ($a \ll \lambda$), el desplazamiento de las cargas en una partícula esférica es homogénea y se puede describir mediante una distribución dipolar, ver la figura 1(a). Cuando la esfera crece, el desplazamiento de la nube de electrones con respecto a los núcleos ya no es uniforme y por lo tanto hay una distribución de carga en la superficie que se puede describir mediante momento multipolares de orden mayor al dipolar, como se muestra en la figura 1(b). Cuando esto sucede, el espectro de absorción muestra más de una resonancia y por lo tanto el espectro se hace más ancho y asimétrico. En las nanopartículas de los metales nobles como el oro y la plata, la resonancia es máxima y su frecuencia se produce en el campo visible del espectro electromagnético.

Esta resonancia se origina cuando el tamaño “ a ” de las nanopartículas es mucho menor que la longitud de onda “ λ ” de la radiación incidente, ($a \ll \lambda$). En estas circunstancias se producen excitaciones dipolares fuertes de los electrones libres en la superficie de la partícula; con la resonancia del plasmón se produce un fuerte acoplamiento de los electrones libres con el haz de luz incidente como consecuencia de los fotones absorbidos.

La frecuencia de resonancia y la anchura de banda de absorción del plasmón, dependen del tamaño y de la forma de las nanopartículas. Como se muestra en la figura 2, donde podemos observar los diferentes tipos de banda dependiendo de la forma de las nanopartículas.

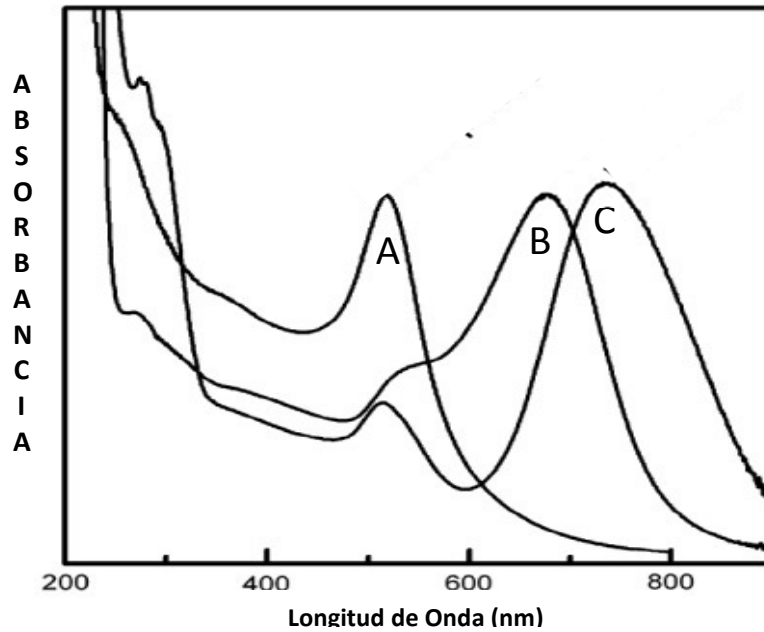


Figura 2: Variación de la longitud de onda absorbida con la forma de las nanopartículas
 A) nanoesferas, B) nanoestrellas, C) nanorodillos
 (Resonancia del plasmón de la superficie (RPS); propiedades optoelectrónicas)

Esta dependencia permite que las nanopartículas vayan asociadas distintas energías y colores características del tamaño y forma de las nanopartículas, que van desde la luz ultravioleta hasta las proximidades del campo infrarrojo. La posibilidad de modificar las frecuencias de resonancia es el origen de las importantes propiedades óptico y electrónicas de las nanopartículas de oro y de plata principalmente.

La resonancia produce una oscilación dipolar o polarización con una determinada frecuencia, de la carga entorno a la red cristalina de carga positiva (nube electrónica polarizada) como consecuencia del campo eléctrico que genera la luz incidente, perpendicular al rayo de luz. La energía del plasmón de una nanopartícula metálica depende de su tamaño y de su forma.

La respuesta óptica, lineal o no lineal, de las nanopartículas metálicas está relacionada con la oscilación de los electrones libres en la superficie dentro de un potencial de Coulomb, formado por el núcleo iónico de la nanopartícula cargado positivamente (Surface Plasmon Resonance). La resonancia del plasmón superficial (RPS) depende también fuertemente de otros factores como: la concentración de las nanopartículas, su distribución espacial y las propiedades de la matriz que rodea las nanopartículas metálicas.

La energía de la resonancia del plasmón superficial depende de la densidad del plasma de los electrones libres y de la propiedad dieléctrica del medio que rodea a la nanopartícula; esta energía aumenta con la frecuencia de resonancia a medida que disminuye el diámetro “d” de la nanopartícula y cuando se cumple la condición “ $d \ll \lambda$ ”, siendo λ la longitud de onda incidente expresada en nm.

Para las nanopartículas de diámetro < 20 nm, el ancho de banda del plasmón aumenta progresivamente, a medida que disminuye su tamaño; cuando el diámetro es >20 nm, la anchura de banda se desliza a longitudes de onda más largas, se producen multipolos y la oscilación es más compleja, como se muestra en la figura 3.

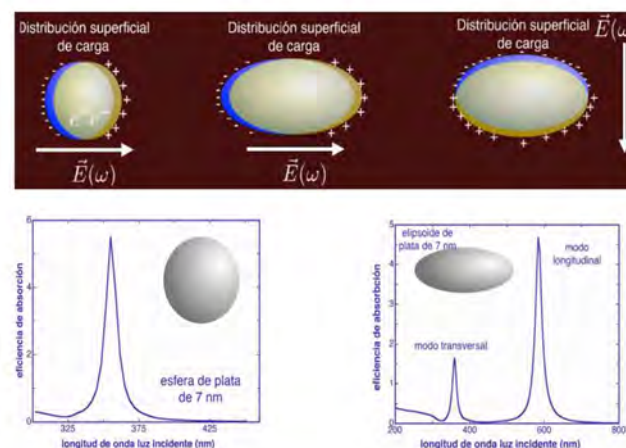


Figura 3: Desplazamiento de las cargas negativas respecto a los iones positivos en una esfera metálica de diámetro menor a 40 nm en presencia de un campo externo. También se muestra la distribución de carga para un elipsoide cuando el campo externo apunta a lo largo del eje mayor

(respuesta longitudinal) o perpendicular (respuesta transversal) a éste.

(Física a la escala nanométrica)

En general, para una disolución coloidal es de esperar que el espectro de absorción en el visible muestre una banda ancha de absorción-dispersión indefinida y monótona sin señal destacable alguna. Sin embargo, para aquellos casos en que se produzca la condición de resonancia anterior, la absorción alcanza un máximo nítido y definido a cierta longitud de onda característica y el espectro colapsa en un pico claro, apareciendo por tanto en su espectro de absorción una banda característica que es lo que se denomina banda de plasmón. Así por ejemplo en el visible y para valores comunes en medios acuosos, el oro produce a longitudes de onda en torno a 520 nm, mientras que para la plata está en torno a 420 nm.

2.2.2.- Hot Spot

La nanoplasmónica se define como la ciencia que estudia la excitación de resonancias plasmónicas superficiales localizadas en nanoestructuras metálicas y sus posibles aplicaciones tecnológicas. Estas interacciones presentan ventajas como para enfoca y guiar la luz en escalas inferiores a su longitud de onda o la aparición de campos eléctricos intensos en la superficie de la nanoestructura[23]. Los plasmones de superficie transforman la energía del campo electromagnético incidente en, por ejemplo, energía térmica. Otra aplicación tiene que ver con el hecho de que los plasmones están localizados, es decir, hay regiones en donde la amplitud del campo electromagnético aumenta varios órdenes de magnitud respecto al campo de radiación incidente, y por lo tanto la energía alrededor de los mismos.

Cuando la luz incide sobre una superficie metálica, los dos tipos de onda interactúan, la nube electrónica que rodea el metal se acopla con los fotones, y de este acoplamiento surge una nueva cuasi-partícula: un plasmón, que no es otra cosa que una oscilación colectiva de la nube electrónica en resonancia con la luz incidente. Cuando el metal es de tamaño nanométrico, la oscilación de la nube electrónica produce un aumento dramático del valor

del campo cercano y se crea un plasmón localizado que se comporta como una nanoantena, la cual también se manifiesta como un pico de absorción en el espectro.

El factor de aumento de campo es una medición que facilita la observación campo cercano, y permite no sólo ver las nanopartículas sino también usar ese campo tan intenso, 1,000 veces mayor que el campo incidente, para medir las frecuencias de vibración de las moléculas naturales por medio de la técnica SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy), abriendo la posibilidad de obtener las señales químicas de moléculas únicas, de estudiar trayectorias bioquímicas e incluso de la dinámica de química molecular dentro de células vivas[24].

Mediante el ajuste de la morfología de las nanopartículas, es posible obtener prácticamente cualquier frecuencia de resonancia y, dado que la respuesta óptica depende de su orientación, se puede imaginar un amplio abanico de aplicaciones prácticas para estos sistemas.

En la figura 4 se observa que cuando la simetría es esférica, la frecuencia y simetría del modo de oscilación es independiente de la dirección de incidencia (figura 4c), mientras que los cilindros se puede identificar dos modos diferenciados, que definen cada una de las bandas de extinción (figura 4d).

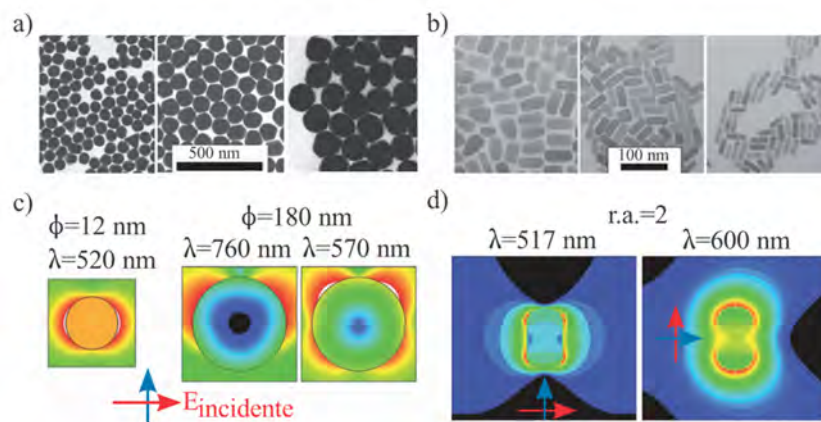


Figura 4.- Microfotografías electrónicas de transmisión de nanoesferas (a) y nanocilindros (b) de oro. Simulación de mapas del aumento del campo

cercano para nanoesferas de oro (c) de distintos tamaños (12 y 180 nm de diámetro), y para nanocilindros de oro con relación de aspecto igual a 2 (d) Las flechas roja y azul indican la dirección de la luz incidente y la polarización en su dirección perpendicular, respectivamente. Se ha indicado la longitud de onda de la radiación incidente en cada simulación. (Liz Marzán)

2.3 Métodos de Síntesis

Las nanopartículas son de gran interés debido a su tamaño pequeño y su gran superficie en relación a su volumen y que exhiben características totalmente novedosas comparadas a las grandes partículas. Durante las últimas dos décadas la biosíntesis de nanopartículas con metales nobles como: plata, oro, platino y paladio han recibido una considerable atención debido a sus diferentes aplicaciones.

Los métodos de nanopartículas se clasifican como *top-down* (utilizan métodos físicos, procesos de molienda) y como *bottom-up* (métodos químicos en solución coloidal, procesos de formación de partículas a partir de una solución), figura 5. Los métodos *top-down* son aquellos que reducen el tamaño de agregación del material hasta llegar a un tamaño nanométrico con un consumo considerable de energía, mientras que los métodos *bottom-up* involucran la obtención de un estado de agregación nanométrico partiendo de una dispersión molecular, es decir, es una vía contraria a la primera. Mientras que los métodos físicos tienen la ventaja de ser capaces de producir grandes cantidades de NPs, a su vez, tienen la desventaja de no tener un suficiente control sobre el tamaño de la partícula, produciendo NPs con un amplio rango de tamaño que pueden originar un efecto poco controlable y predecible, los métodos de síntesis química coloidal tienen la capacidad de sintetizar NPs uniformes con un tamaño de partícula estrecho[25].

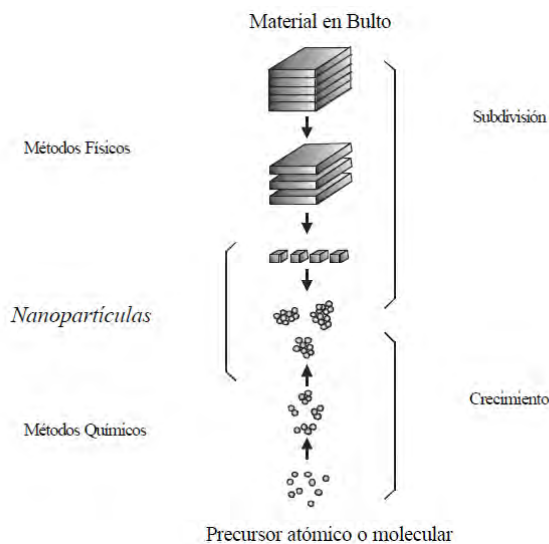


Figura 5.- Métodos de obtención de nanopartículas.

Los métodos de síntesis físicos y químicos están diseñados para el control de las propiedades físicas de las nanopartículas y son actualmente empleado en la producción de nanopartículas metálicas. La mayoría de estos métodos están todavía en fase de desarrollo y los problemas a menudo se experimentan con la estabilidad de la preparación de nanopartículas, el control del crecimiento de los cristales y la agregación de las partículas [26].

Una de las síntesis que se ha desarrollado en los últimos años, es la síntesis biológica de nanopartículas también denominada “síntesis verde” que ha permitido la formación de nanoestructuras metálicas a partir del uso de bacterias[27 - 28], hongos[29], plantas o sus extractos[30], por lo que esta forma de síntesis representa una alternativa presumiblemente no tóxica, amigable con el medio ambiente y que además su uso en algunas ocasiones iguala o sobrepasa las expectativas de las nanopartículas sintetizadas por métodos físicos y químicos, en cuanto a costo y características de las nanopartículas obtenidas, la síntesis y purificación de nanopartículas metálicas es simple, económicamente costeable, conveniente, compatible y ambientalmente segura.

En la búsqueda de nuevos métodos ecológicos "verdes" para la síntesis de nanopartículas de metales nobles, se han identificado hongos, actinomicetos y extractos de plantas para la síntesis de plata y nanopartículas de oro. Recientemente, se observó una excelente formación selectiva de forma de nanopartículas de oro triangulares monocristalinas usando el extracto de la planta de limoncillo (*Cymbopogon flexuosus*)[31]. Estas nanoestructuras poseen una fuerte absorbanza en el infrarrojo cercano (NIR) que podría ajustarse fácilmente modificando las condiciones experimentales[32].

2.4 Nanopartículas Metálicas.

En las últimas décadas ha habido un enorme interés por el estudio de las nanopartículas metálicas debido a distintos campos de aplicación, ya que normalmente presentan propiedades mejoradas respecto a su forma en bulto. El control efectivo del tamaño, forma, arquitectura y composición de los metales en las partículas juegan un papel muy importante en la mejora de sus características, de las cuales dependen sus múltiples aplicaciones, desde la catálisis hasta su uso como biosensores o en aplicaciones biomédicas, etc[33].

Entre las nanopartículas de metales nobles, las de plata tienen, actualmente, una mayor demanda para su aplicación en la industria de la electrónica, en catálisis, en recubrimientos y como aditivos para la elaboración de productos con propiedades bactericidas. Sus propiedades ópticas también las hacen ideales para su aplicación en la espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS), también son usadas como sensores moleculares, biológicos y en el transporte eficiente de fármacos. Siendo la aplicación más común, la elaboración de productos antimicrobianos.

2.4.1 Nanopartículas de Plata

Las nanopartículas de Plata son de gran importancia debido a sus propiedades ópticas y antimicrobianas, esto nos permite desarrollar y fabricar diversos productos con nanopartículas de plata, debido a su amplio rango de aplicaciones. Estas propiedades dependen del tamaño, la forma y la dispersión de las NPs, que pueden ser controladas a partir del método de síntesis, dentro de los parámetros que influyen en la morfología de las nanopartículas se encuentran la elección del agente reductor, las cantidades relativas y las concentraciones de reactivos, la temperatura y la duración de la reacción[34]. La plata tiene una larga historia en exitosas aplicaciones médicas. Estudios recientes han mostrado que en su forma de nanopartículas son altamente efectivas como agentes antimicrobiales contra bacterias y virus[35]. Dichas propiedades están fuertemente relacionadas con el tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura de la partícula[36].

2.4.2 Nanopartículas de Oro

Las nanopartículas de metales nobles y, más específicamente, las nanopartículas de oro (AuNPs), exhiben excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, intrínsecas a su tamaño nanométrico. Además, las AuNPs pueden ser producidas en distintos tamaños y formas, y pueden ser fácilmente funcionalizadas con un amplio abanico de ligandos (anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético, etc.). Todo esto hace que las AuNPs despierten un gran interés en multitud de campos, pero especialmente en los sectores biomédico y alimentario[37].

Las nanopartículas de oro han sido ampliamente utilizadas en la medicina y medicamentos, mientras que las nanopartículas de plata se han empleado en la tecnología de sensores, nivelación biológica y muchas otras aplicaciones biomédicas. Los sistemas nanoestructurados donde la matriz es un polímero en el que se incluyen partículas de una fase metálica, la interacción entre ambas fases puede modificar las propiedades dieléctricas, ópticas y mecánicas del polímero.

Las nanopartículas de oro (AuNPs) son de un gran interés tanto por sus propiedades, como sus aplicaciones. Han sido ampliamente estudiadas por sus propiedades químicas: reconocimiento moléculas, ensamblajes ADN-AuNPs, sensores de glucosa, etc., o de sus propiedades físicas: ópticas, electromagnéticas o electrostáticas. Por último, la catálisis es uno de los campos de aplicación para las aplicaciones de AuNPs[38].

2.5 Sustrato Polimérico

La incorporación de nanopartículas en matrices poliméricas para proveer a éstas de propiedades conductivas u optoelectrónicas, representa un gran reto tanto para el área académica como para el sector industrial. Debido a la poca interacción que presentan las nanopartículas con los diferentes polímeros, surge la necesidad de modificar su superficie, ya sea mediante modificación con agentes orgánicos o mediante carga electrónica superficial o una modificación estructural en su superficie. Estos materiales poliméricos son ampliamente utilizados debido a sus propiedades como fácil procesamiento, baja densidad y bajo costo en comparación con los materiales cerámicos y metálicos[39].

Recientemente, el diseño y la aplicación de polímeros, con nanopartículas metálicas, ha generado importantes beneficios en áreas relacionadas con la salud y el cuidado humano, puesto que la incorporación de cargas nanométricas modifica drásticamente las propiedades fisicoquímicas de los materiales obtenidos. Las nanopartículas en una matriz polimérica, pueden ser depositadas en la superficie o estar incorporadas dentro del material. Para este propósito, algunos autores han reportado la preparación de nanocompuestos mediante diversos métodos, tales como atomización (spraying), pulverización catódica (sputtering) deposición por plasma y deposición en capas, entre otros, donde la ausencia de interacción química entre ambas fases representa una desventaja, ya que se puede llevar a cabo el desprendimiento de las partículas a corto plazo y, por lo tanto, que el efecto para mejorar las propiedades está comprometido.

Una manera de evitar este fenómeno es mediante la preparación de nanocompuestos a partir del mezclado en fundido, ya que a pesar de que las partículas no se encuentran enlazadas químicamente al polímero quedan embebidas en el material durante su procesamiento, lo que disminuye su difusión al exterior. Dentro de los factores predeterminantes para la obtención de materiales nanoestructurados se encuentra la dispersión uniforme de las partículas en la matriz y su compatibilidad con el polímero[40].

El poliestireno (PS) es un polímero termoplástico que debido a su facilidad de procesamiento, aspecto ligero y apariencia atractiva es uno de los polímeros con mayor demanda en el mercado a nivel mundial excediendo los 18 millones de toneladas por año; se prevé hacia 2014 que la producción ascenderá a 21.5 millones de toneladas al año[41]. El PS presenta múltiples aplicaciones en construcción, partes de electrodomésticos, dispositivos electrónicos, automóviles, juguetes, utensilios para el hogar, envases y componentes industriales. En la figura 6, se muestra la polimerización del estireno vía radicales libres.



Figura 6- Reacción de polimerización del estireno.

El poliestireno (PS) se obtiene de la polimerización del monómero de estireno, existen principalmente: el PS cristal o GPPS (del inglés: General Purpose Polystyrene), que es transparente, rígido y quebradizo; el poliestireno de alto impacto o HIPS (del inglés: High Impact Polystyrene), resistente al impacto y opaco blanquecino, el poliestireno expandido o EPS (del inglés: Expandable Polystyrene; PSE en francés), muy ligero, y el poliestireno extruido, similar al expandido pero más denso e impermeable.

En este trabajo se desarrolló un sustrato de poliestireno y nanopartículas de oro y plata, para ser estudiado en la técnica analítica de espectroscopia vibracional con la intención de mejorar la ampliación de señal de la molécula en estudio.

2.6 Efecto SERS

En particular en SERS el aumento en la respuesta óptica de la molécula en presencia de nanopartículas metálicas llega a ser hasta de doce órdenes de magnitud más, esto se debe a que la respuesta Raman el cual es proporcional al cuadrado de la intensidad electromagnética.

El efecto Raman está relacionado con los estados de vibración del sistema (fonones), los cuales se excitan a través de un campo electromagnético debido a la polarización que sufre la molécula debido al reacomodo de la nube de electrones. La mayoría de los fotones sufre una dispersión elástica, conocida como dispersión Rayleigh, mientras que uno de cada 100 fotones sufre una dispersión inelástica a Raman. Para aumentar la sensibilidad de esta espectroscopia con intensidades bajas de láser, en poco tiempo y con pocos datos, llegando al límite de moléculas individuales, se ha propuesto obtener un factor de amplificación de al menos 10^{14} órdenes de magnitud la respuesta en condiciones normales. El aumento de intensidad Raman se debe a dos mecanismos fundamentales:

- a) El modelo electromagnético
- b) El modelo de transferencia de carga

Ambos contribuyen al efecto SERS aunque la contribución de cada uno depende del sistema a estudiar. La técnica SERS implica un aumento tanto de la sensibilidad como de la selectividad, lo que hace del Raman una técnica con prometedoras aplicaciones analíticas[42].

El fundamento SERS se basa en el fenómeno plasmónico de las LSPR, en donde las moléculas sobre o en las cercanías de la superficie de las NPs experimentan un enorme incremento en sus secciones eficaces. En sistemas de dos o más NPs, suficientemente cerca, se produce un acoplamiento de plasmones, lo que genera cambios significativos tanto en la respuesta óptica de extinción (campo lejano), como en la distribución espacial del campo electromagnético incrementando superficial (campo cercano). En las regiones intersticiales de los nanoagregados de NPs metálicas, se produce un fuerte confinamiento del campo electromagnético, dando lugar a regiones denominadas *“hot spots”* o puntos calientes donde el campo puede llegar a ser 10¹¹ veces más intenso que el campo incidente, lo que permite hacer estudios a nivel de una molécula única. La forma más la generación de estos *“hot spots”* es mediante agregados de NPs en soluciones coloidales con un estricto control de la geometría del nanoagregado.

CAPITULO
III
FUNDAMENTOS
DE
TÉCNICAS
DE
CARACTERIZACIÓN

3.1.- Espectroscopia UV- Vis

La espectrometría ultravioleta-visible o espectrofotometría UV-Vis implica la espectroscopía de fotones en la región de radiación ultravioleta-visible. Utiliza la luz en los rangos visible y adyacentes, el ultravioleta (UV) cercano y el infrarrojo (IR) cercano. En esta región del espectro electromagnético, las moléculas se someten a transiciones electrónicas. Figura 7, podemos observar el campo electromagnético.

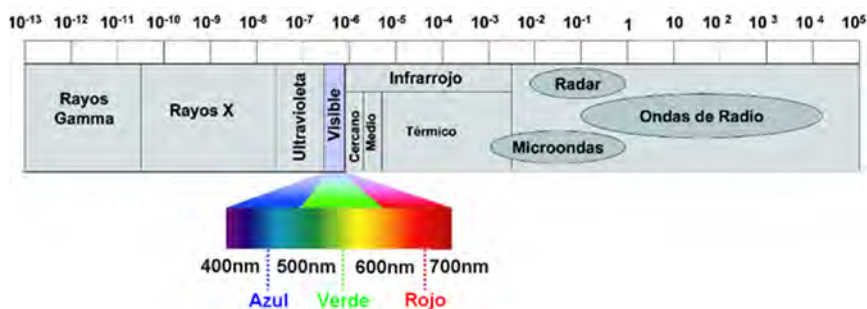


Figura 7.- Espectro Electromagnético (Propiedades de la radiofrecuencia)

Esta técnica es complementaria de la espectrometría de fluorescencia, que trata con transiciones desde el estado excitado al estado basal, mientras que la espectrometría de absorción mide transiciones desde el estado basal al estado excitado. Figura 8, donde se muestra la pérdida por reflexión y dispersión de una disolución.

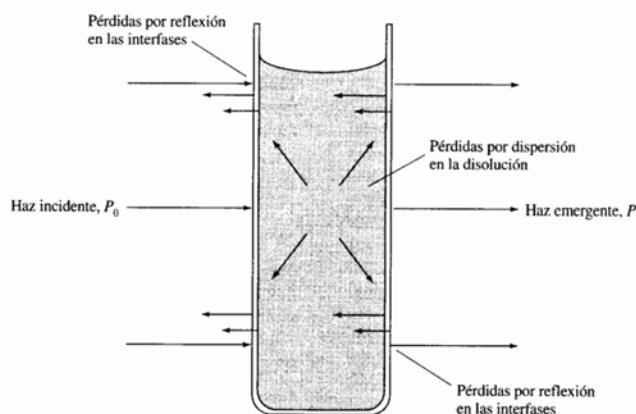


Figura 8.- Pérdida por reflexión y dispersión (Douglas A. Skoog)

La espectroscopia de absorción molecular se basa en la transmitancia “T” o la absorbancia “A” de disoluciones que se encuentran en cubetas transparentes que tienen un camino óptico de “b” cm. Normalmente, la concentración “c” de analito absorbente está relacionada linealmente con la absorbancia como representa la ecuación[43]. Donde “P₀/P” es el haz incidente / haz emergente.

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc$$

En la figura 9, se muestran las secciones eficaces de extinción en color rojo, de absorción en color verde y de dispersión en color azul, para esferas de plata inmersas en vacío de radios entre 1 y 50 nm. Para el índice de refracción de las esferas se tomaron las medidas para plata entre 1 y 50 nm. realizadas en un sistema macroscópico, de manera que no se están considerando los efectos de tamaño en la descripción de las propiedades dieléctricas del material. En la figura 8 podemos observar que los efectos debido a la dispersión de la luz no son importantes para partículas de tamaño menor a los 10 nm. Cuando la partícula tiene un radio de 10 nm, ésta comienza a dispersar luz, aunque dispersa mucho menos luz que la que absorbe. Sin embargo, cuando la partícula tiene un radio de 30 nm ésta dispersa un poco más de luz que la que absorbe, mientras que cuando tiene un radio de 50 nm la dispersión de luz es dominante en comparación con la luz que absorbe.

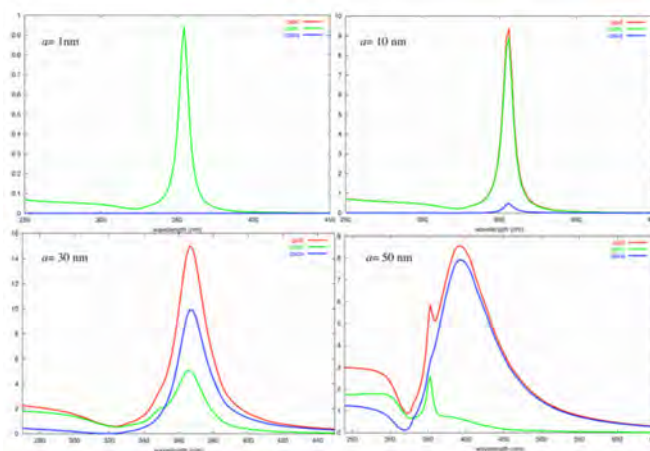


Figura 9.- Secciones eficaces de extinción (C_{ext}), absorción (C_{abs}) y dispersión (C_{dis}) de luz por nanopartículas de plata de diferente tamaño (Cecilia Noguez)

En los espectros de dispersión podemos observar que el comportamiento en función del tamaño de la esfera es muy diferente al comportamiento que se observa en los espectros de absorción. Como habíamos observado los efectos de dispersión comienzan a ser importantes para esferas mayores de 10 nm. Además, de la figura 4 podemos observar que el máximo del pico se desplaza a longitudes de onda mayores cuando el radio de la partícula se incrementa al igual que el área bajo la curva de los espectros. Es decir, los modos de dispersión de la esfera dependen del radio de la misma. Además del desplazamiento de los modos de dispersión también se observa que el ancho del pico aumenta conforme crece el tamaño de la esfera.

3.2.- Microscopía Electrónica de Transmisión

Hoy en día la Microscopía Electrónica es una poderosa herramienta que permite la caracterización de materiales utilizando para ello un haz de electrones de alta energía que interactúa con la muestra. Técnica de uso habitual por los investigadores que trabajan en las Ciencias Físicas, Químicas o Biológicas, que nos permite observar, analizar y explicar fenómenos que ocurren a nanoescala[44]. Es un microscopio que utiliza un haz de electrones para visualizar un objeto, debido a que la potencia amplificadora de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz visible. Lo característico de este microscopio es el uso de una muestra ultrafina y que la imagen se obtenga de los electrones que atraviesan la muestra. Los microscopios electrónicos de transmisión pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces, figura 10.

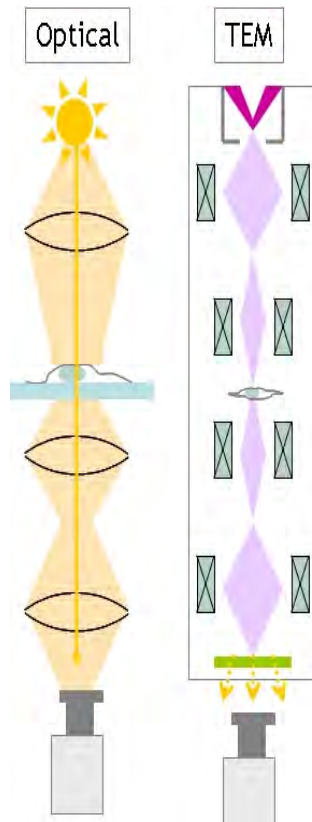


Figura 10.- Esquema óptico de TEM (Imagen tomada del enlace <http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:SimpleSEMandTEM.jpg>)

La resolución máxima alcanzable con un microscopio óptico se encuentra en principio limitada por la longitud de onda λ de la luz que se utiliza para examinar la muestra, y por la apertura numérica NA del sistema. La longitud de onda del electrón se obtiene igualando la ecuación de De Broglie a la energía cinética de un electrón. Debe introducirse una corrección relativista adicional, ya que los electrones en un equipo TEM alcanzan velocidades próximas a la de la luz[45].

La microscopía electrónica de transmisión se basa en un haz de electrones que manejado a través de lentes electromagnéticas se proyecta sobre una muestra muy delgada situada en una columna de alto vacío. Imágenes directas de la estructura de secciones muy delgadas de material (100 - 200 Å), en la figura 11 se muestran imágenes de nanopartículas de plata adquiridas por TEM.

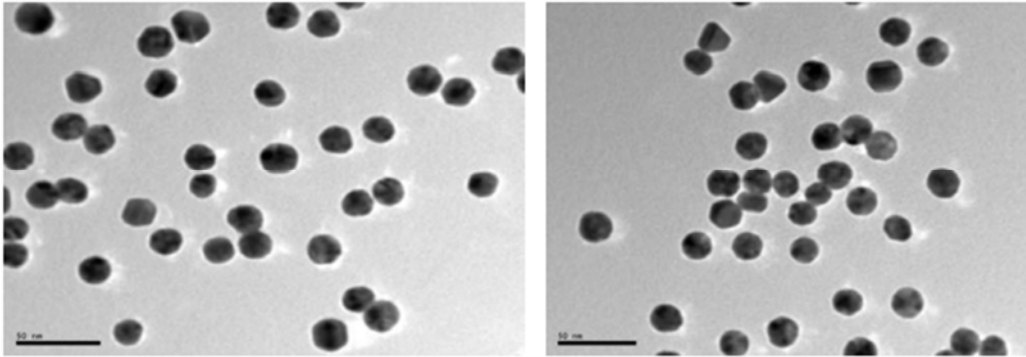


Figura 11.- Imágenes de TEM de nanopartículas de plata. (GENTCH, BIOSCIENCES)

APLICACIONES

- Observar y fotografiar zonas de la muestra, desde 10 aumentos a 200.000, con una resolución espacial de 5 nm.
- Medidas de longitudes nanométricas.
- Distinción, mediante diferentes tonos de grises, de zonas con distinto número atómico medio.
- Análisis cualitativo y cuantitativo de volúmenes de muestra en un rango de una a varios millones de micras cúbicas.
- Observas la ultraestructura de células, bacterias, etc.
- Localización y diagnóstico de virus.
- Control del deterioramiento de los materiales.
- Control de tratamientos experimentales.
- Grados de cristalinidad y morfología.
- Defectos en semiconductores, etc.

3.3.- Espectroscopía Raman SERS

La espectroscopía Raman se considera una técnica de análisis no destructiva debido a que se realiza directamente sobre el material sin necesidad de ningún tratamiento previo además de que el uso de luz normalmente no causa daños en la muestra a menos que ésta sea fotosensible o se irradie con demasiada intensidad por periodos prolongados de tiempo[46].

La espectroscopía Raman es una técnica fotónica utilizada para obtener en pocos segundos información química y estructural de diversas sustancias. El análisis por espectroscopia Raman se basa en la medición de la luz dispersada por un material sobre el cual se hace incidir un haz monocromático. La luz dispersada presenta cambios en la longitud de onda respecto al haz incidente dependiendo de la estructura química de la muestra. Esto también permite determinar semi cuantitativamente la cantidad de sustancia en una muestra de casi cualquier material o compuesto para su identificación, detectar vibraciones en moléculas y caracterizar fases puras y mezclas de minerales con un empaquetamiento atómico similar. Figura 12.



Figura 12.- Esquema detección Raman
(US Dinish et al., *Biosensors and Bioelectronics* 26, 1987-1992 (2011))

El análisis mediante espectroscopía Raman consiste en hacer incidir un haz de luz monocromática de frecuencia ν sobre una muestra cuyas características moleculares se desean determinar. Los fotones del haz incidente pueden experimentar los siguientes efectos:

- 1) Colisiones elásticas con los átomos de la muestra, prácticamente sin pérdida de energía y conservando la misma frecuencia con la que incidieron generando la llamada dispersión Rayleigh, la cual, no aporta ninguna información sobre la composición de la muestra debido a que las moléculas vuelven al mismo nivel de energía que tenían antes del choque del haz.

- 2) Colisiones inelásticas con los átomos de la muestra en donde se presentan transferencia de energía que modifican la frecuencia de los fotones dispersados (un fotón de cada 10^{11} que inciden) que forman la llamada dispersión Raman la cual contiene información sobre la composición y estructura de la muestra debido a que las moléculas son excitadas a un estado vibracional distintos del que tenían antes del choque en dos formas posibles.
 - a) El fotón incidente transmite energía a la molécula con la que choca, (dispersión Stokes), induciendo vibraciones moleculares, y disminuyendo su frecuencia por la pérdida de energía al chocar.

 - b) El fotón absorbe energía al chocar con moléculas excitadas, (dispersión anti-Stokes) aumentando su frecuencia al ganar energía durante el choque, como se muestra en la figura 13.

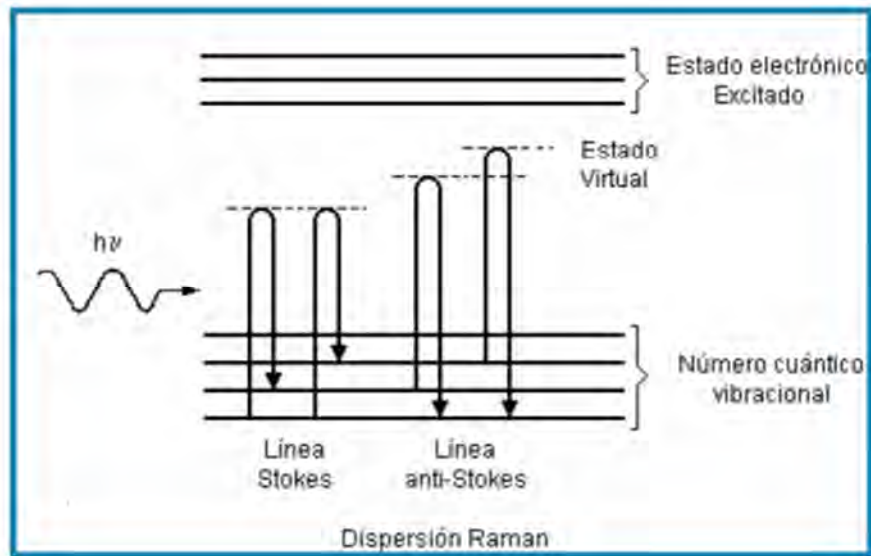


Figura 13.- Señales elásticas e inelásticas.

(ANARMONICIDAD Y RESONANCIA EN VIBRACIONES DE MOLÉCULAS)

La espectrometría Raman es una técnica utilizada en física de la materia y también en química para el estudio de los modos vibracionales, rotacionales y otros de baja frecuencia en un sistema. Se basa en la dispersión inelástica, o dispersión Raman, de la luz monocromática, que por lo general procede de un láser en el rango visible, infrarrojo cercano, o ultravioleta cercano. La luz láser interactúa con fonones u otras excitaciones en el sistema, por lo que la energía de los fotones láser se desplaza hacia arriba o hacia abajo.

La molécula se excita desde el estado basal a un estado de energía virtual, y se relaja a un estado vibracional excitado, lo que genera la dispersión de Raman Stokes. Si la molécula ya se encontraba en un estado elevado de energía vibracional, la dispersión Raman se llama entonces dispersión Raman anti-Stokes. Para que la molécula exhiba el efecto Raman es necesario un desplazamiento en la polarizabilidad molecular, o cantidad de deformación de la nube de electrones con respecto a la coordenada vibracional.

La espectrometría Raman de superficie mejorada (SERS). Normalmente se hace en un coloide de plata o de oro, o en un sustrato que contiene plata u oro. Los plasmones de superficie de plata y oro son excitados por el láser, lo que resulta en un aumento en los campos eléctricos que rodean el metal. Teniendo en cuenta que las intensidades Raman son proporcionales a la intensidad del campo eléctrico, hay un gran aumento de la señal medida.

En presencia de NPs la señal Raman se intensifica hasta niveles suficientes como para detectar una molécula individual. Por esta razón, la espectroscopia Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) está actualmente reconocida como una técnica de detección extremadamente sensible con altos niveles de especificidad molecular.

CAPITULO
IV
DESARROLLO
EXPERIMENTAL

4.1.- Obtención de Nanopartículas de Plata

En el presente trabajo se obtuvieron nanocubos de plata, por el método del poliol utilizando etilenglicol como agente reductor y nitrato de plata como sal metálica[47], como se describe a continuación: se calentaron 5.0 ml de etilenglicol a 160°C, en baño de aceite y con reflujo, se adicionaron 40 μ L de NaCl (10^{-4} M en EG), después se dejó estabilizar a la temperatura indicada por una hora. En seguida se adicionaron simultáneamente y gota a gota 2.0 ml de AgNO₃ (10^{-3} M en EG) y 2.0 mL de PVP (10^{-3} M en EG). En la figura 14 se muestra el equipo utilizado para esta síntesis.



Figura 14.- Obtención de nanopartículas de plata

4.2.- Obtención de Nanopartículas de Oro

El método utilizado en este trabajo para la obtención de nanopartículas de oro en forma triangular y/o poliedral, fue el método de bio-reducción, [48-49] con *Cymbopogon citratus* (Te Limón). Ver figura 15 donde se muestra la imagen del Te Limón.



Figura 15.- *Cymbopogon citratus*

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se colocó 100 mL de agua desionizada y se llevó punto de ebullición, posteriormente se adicionó 1.0 gr de hojas de *Cymbopogon citratus* (Te Limón) y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Una vez que la solución adquirió la temperatura ambiente se filtró al vacío dos veces, con ayuda del matraz Kitazato y el embudo Buchner y usando papel Whatman No 5. (figura 16)



Figura 16.- Diagrama de flujo para la obtención de extracto de *Cymbopogon citratus*

Se transfirieron 5.0 mL de extracto de *Cymbopogon citratus* a un vaso de precipitado y se le adicionaron simultáneamente y gota a gota 2.0 mL de solución de ácido tetracloroaurico (HAuCl_4) (10^{-3} M) y 40 μL de solución de ácido ascórbico (10^{-3} M), con agitación constante y en aproximadamente en 5 min se observó un cambio de color en la solución de café a violeta y rojizo. (figura 17)



Figura 17.- Obtención de nanopartículas de oro

El método utilizado para la obtención de nanopartículas de oro en forma de estrella [50], fue el método de bio-reducción con cáscara de *Citrus paradisi* (Toronja). (figura 18)



Figura 18.- *Citrus paradisi*

Se transfirieron 100 mL de agua desionizada y 10.0 gr de cáscara de *Citrus paradisi* a un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se calentó a ebullición por 5 minutos, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente, finalmente la solución se filtró dos veces con vacío, esto con ayuda de un matraz Kitazato y un embudo Buchner, usando papel Whatman No 5.

A 5.0 mL de la solución filtrada se adicionaron simultáneamente y gota a gota 2.0 mL de solución de HAuCl_4 (10^{-3} M) y 2.0 mL de Solución de ácido ascórbico (10^{-3} M). En aproximadamente 5 minutos se observó un cambio de color en la solución de café a azul intenso.

4.3.- Obtención del Sustrato Polimérico

Para la obtención de la matriz de poliestireno, se utilizó una prensa a 127°C y 2.0 Kg/cm², por aproximadamente 30 min. Obteniendo pastillas de 11 mm de diámetro y 4 mm de grosor. En la figura 19 se muestra el equipo utilizado y las pastillas de poliestireno.

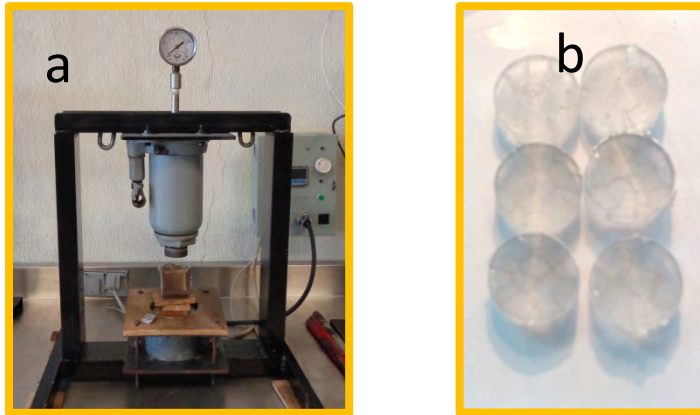


Figura 19.- (a) Imagen de prensa y (b) pastillas de poliestireno

También se utilizó una placa de teflón para obtención de una película de poliestireno sobre un portaobjetos de vidrio. La película de poliestireno se obtuvo como se describe a continuación: se disolvió 1.0 gr de poliestireno en 2.0 mL de cloroformo, con esta solución se formó sobre una superficie del portaobjetos una película de poliestireno con canales de aproximadamente 2 mm de altura. Ver figura 20.

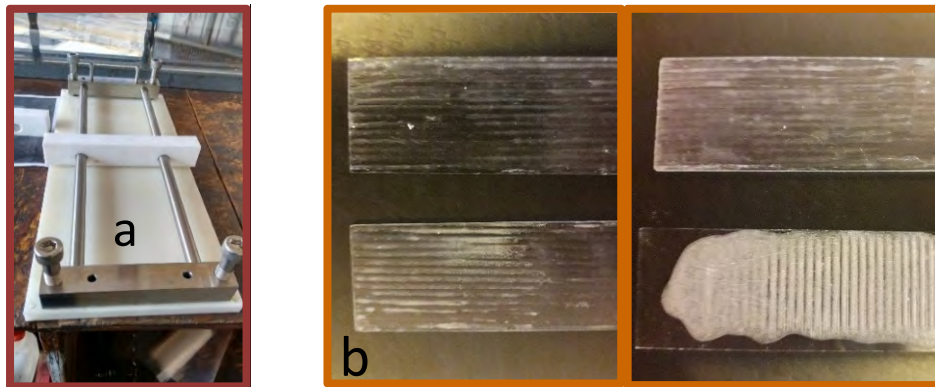


Figura 20.- (a) Placa de teflón y (b) películas de poliestireno

4.4 Análisis Raman

Para poder conocer cuál sería la concentración de nanopartículas y obtener una ampliación de señal, del azul de metileno, se realizó un estudio previo adicionando nanopartículas en un soporte de vidrio (porta objetos) y con estas muestras se realizó el estudio en espectroscopia Raman.

El análisis de espectroscopia Raman se realizó en un equipo micro-Raman Horiba Jobin Yvon, modelo LabRam 800, equipado con un microscopio confocal Olympus BX40, con las siguientes condiciones:

- Láser de 632.917 nm
- Hole de 200 μm
- Time 10 adquisiciones x 10 segundos
- Options 600 líneas por milímetro, objetivo 50x
- Potencia del láser de 75 microwatts.

Como primer paso se realizó un espectro del Azul de Metileno con una concentración de 10^{-3} M, se depositaron 40 μL en un portaobjetos, para determinar las señales características de esta molécula.

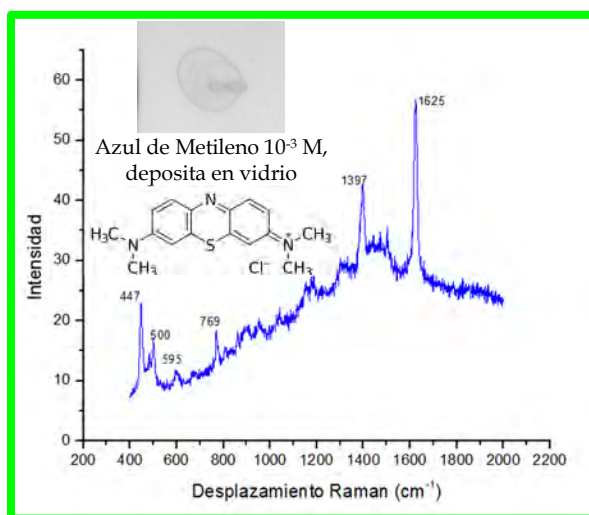


Figura 21.- Espectro Raman de Azul de Metileno

En la figura 21 se puede observar el espectro Raman del Azul de Metileno con una concentración de 10^{-3} M, se puede observar una señal en 1625 que corresponde a la vibración del C - C, otra señal en 1394 del C - H, un pico en 769 de la vibración del C - S - C y N - CH₃, otra señal en 500 que corresponde al movimiento C - N - C y una señal en 447 que corresponde al C - N - C.

Para indicar cuál sería la óptima concentración de nanopartículas depositadas en la pastilla de poliestireno, primero se realizó un estándar de nanopartículas con forma de estrella en un soporte de vidrio (portaobjetos de 75mm x 25mm), con una concentración de 10^{-6} M como se muestra en las tablas A y B. (figuras 22 y 23).

Tabla A: Concentración de nanopartículas y de azul de metileno

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS (10^{-3} M)	CONCENTRACIÓN DE AZUL DE METILENO (10^{-6} M)
M1	40 μ L	40 μ L
M2	80 μ L	40 μ L
M3	120 μ L	40 μ L
M4	160 μ L	40 μ L
M5	200 μ l	40 μ l
M6	240 μ l	40 μ l
M7	280 μ l	40 μ l
M8	320 μ l	40 μ l
M9	360 μ l	40 μ l
M10	400 μ l	40 μ l
M11	440 μ l	40 μ l
M12	480 μ l	40 μ l
M13	520 μ l	40 μ l
M14	560 μ l	40 μ l

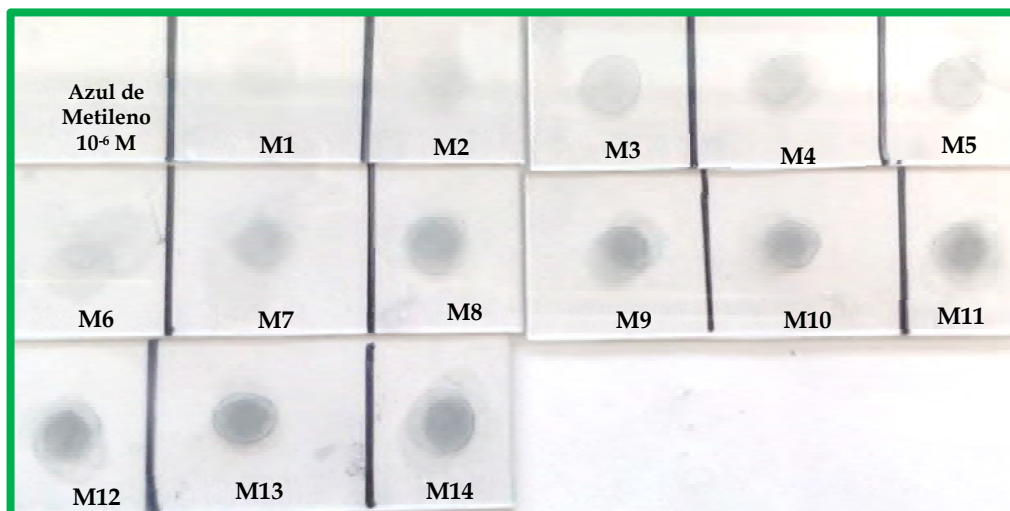


Figura 22.- Portaobjetos con nanopartículas de oro y azul de metileno

Tabla B: Concentración de nanopartículas y de azul de metileno

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS (10^{-3} M)	CONCENTRACIÓN DE AZUL DE METILENO (10^{-6} M)
A	400 μ L	40 μ L
B	800 μ L	40 μ L
C	1200 μ L	40 μ L
D	1600 μ L	40 μ L
E	2000 μ L	40 μ L

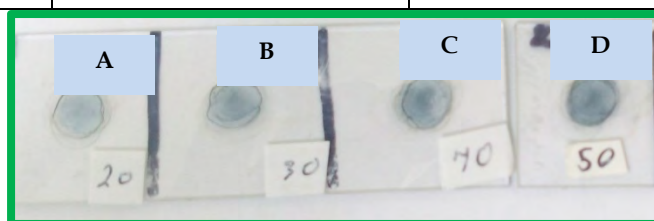


Figura 23.- Portaobjetos con nanopartículas de oro y azul de metileno

En la figura 24 se presenta el espectro Raman de la tabla A, se puede observar que las nanopartículas intensifican la señal Raman del azul de metileno debido a la generación de "hot spots", esto se puede definir debido a que la solución de azul de metileno que se utilizó para este estudio tenía una concentración de 10^{-6} M, a esta concentración el azul de metileno no presenta una señal definida en espectroscopía Raman.

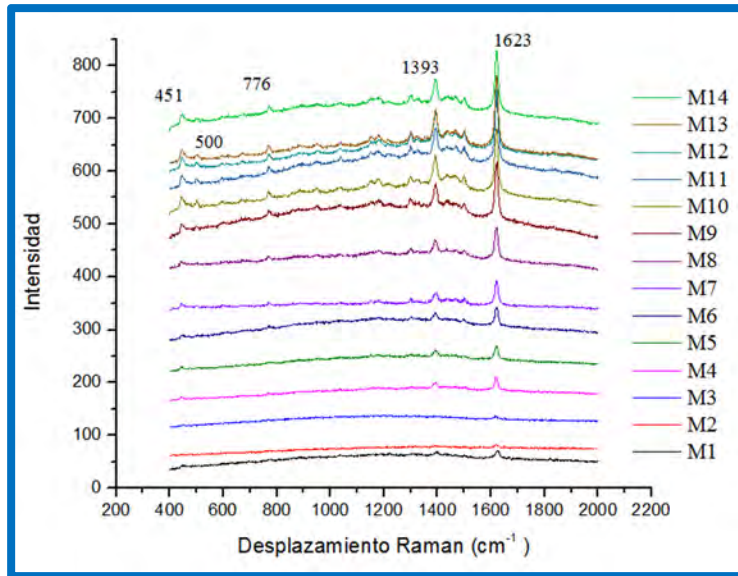


Figura 24.- Espectros Raman de la tabla "A"

En el espectro de la figura 24, se observan señales correspondientes al estándar de azul de metileno (figura 20), señales en 1623 correspondiente a la vibración de C - C, otra señal en 1393 C - H, un pico en 776 de la vibración del C - S - C, otro señal en 500 que corresponde al movimiento C - N - C y una señal en 451 que corresponde al C - N - C.

Se puede observar con este estudio que dependiendo de la cantidad de nanopartículas adicionada la señal en el espectro se van intensificando, esto nos indica que está aumentando la probabilidad de generar más "hot spots".

Estos "hot spots" permiten una mejor interacción molécula - nanopartícula y permite que se intensifiquen las señales del azul de metileno. Para poder observar mejor la amplitud de señal que se puede tener con las nanopartículas de oro en forma de estrella, se tomó el pico más intenso en los espectros que fue el que aparece en 1623 y se determinó la amplitud de señal. Esta amplitud de señal se obtuvo de la diferencia de 1623 y 1634, obteniendo una gráfica de amplitud la cual se muestra en la figura 25.

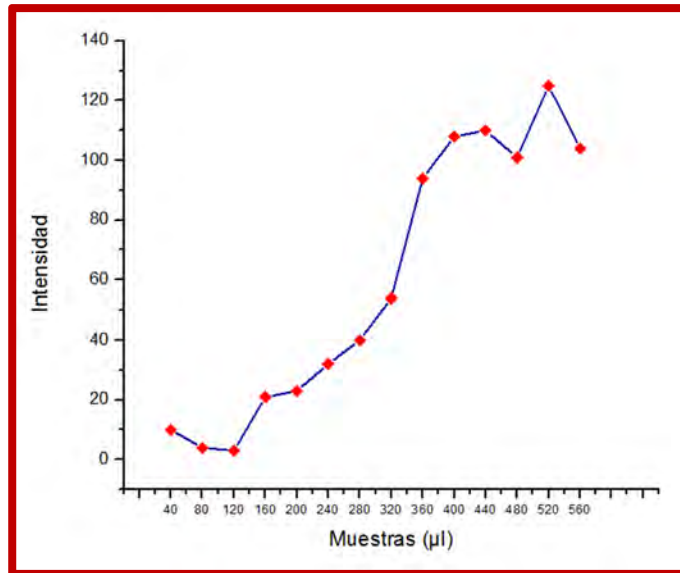


Figura 25.- Grafica de Amplitud de la tabla "A"

Continuando este estudio se fue aumentando la cantidad de nanopartículas depositadas en el portaobjetos (tabla B), y se obtuvieron los espectros Raman de estas muestras, los cuales se presentan en la figura 26. Estos resultados nos indicaron que hay un aumento de señal y se observa señales que no se observaron en los espectros anteriores. (Figura 23). La señal de 1300 que indica la unión C - H y una señal en 1178 que corresponde a vibración C - N.

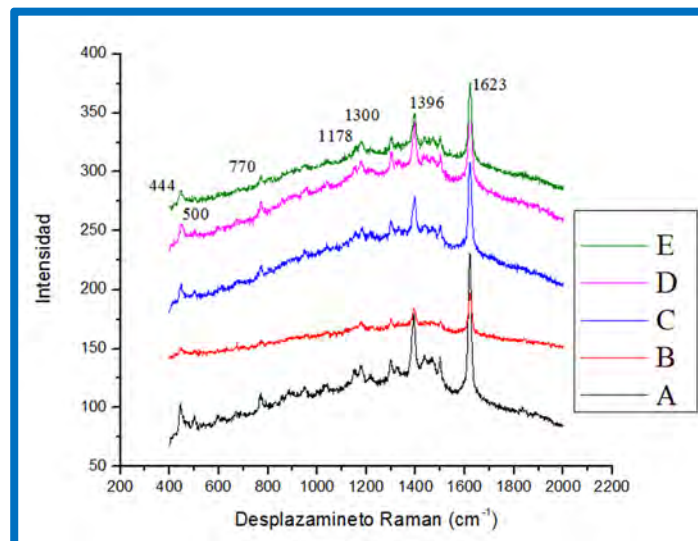


Figura 26.- Espectros Raman de la tabla "B"

Se realizó una gráfica (figura 26) donde se observa la amplitud correspondiente a cada tipo de muestra, con esto se puede concluir, que cuando se utilizó de 320 μL a 2000 μL de una solución de nanopartículas de oro en forma de estrella a una concentración de 10^{-3} M se pudo intensificar la señal Raman (efecto SERS) de la azul de metileno que tenía una concentración de 10^{-6} M, la cual tuvo una amplitud de señal que fue desde 20 a 90 veces más de la intensidad de la señal en el espectro Raman, como se puede observar en la figura 27.

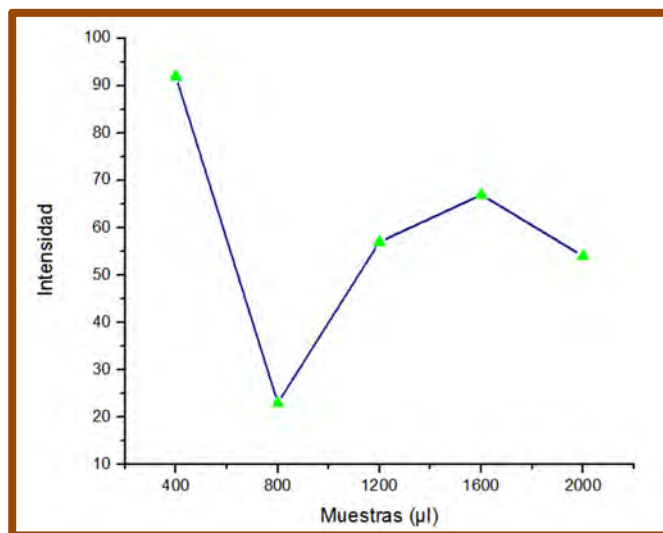


Figura 27.- Grafica de Amplitud de la tabla "B"

CAPÍTULO
V
RESULTADOS

5.1.- CARACTERIZACIÓN NANOPARTÍCULAS DE ORO.

Para poder caracterizar los sistemas nanoestructurados se utilizan diferentes técnicas como microscopia de fuerza atómica (MFA), microscopia electrónica de transmisión (MET), UV-Vis entre otras. Con estas técnicas se ha podido identificar partículas nanométricas de diferentes formas y tamaños como esferas, cubos, triángulos, conos, pirámides, tubos y muchas más con diferentes formas poliedrales.

5.1.1. NANOPARTÍCULAS DE ORO POLIEDRALES

Como resultado de la síntesis del extracto de *Cymbopogon citratus* (Te Limón), se obtuvo una solución de color violeta, lo cual indica la formación de nanopartículas metálicas de oro. Figura 5.1.



Figura 5.1. Suspensión de nanopartículas de oro

5.1.1.1 ESPECTROSCOPIA UV-Vis

Las diferentes suspensiones de nanopartículas de oro que se obtuvieron, se caracterizaron por medio de espectroscopia UV-Vis y se observó el plasmón de resonancia superficial en la región del visible. En la figura 5.2 se muestra el espectro UV-Vis de nanopartículas de oro, donde se puede establecer el máximo del plasmón de resonancia superficial en 563 nm, también se identificó una banda ancha que va desde los 500 nm a los

650 nm. Esta banda aparece cuando la suspensión de nanopartículas muestra más de una resonancia y por lo tanto el espectro se hace más ancho y asimétrico, con una distribución de carga que ya no es uniforme; esta característica nos permitió identificar la formación de nanopartículas de tamaño heterogéneo.

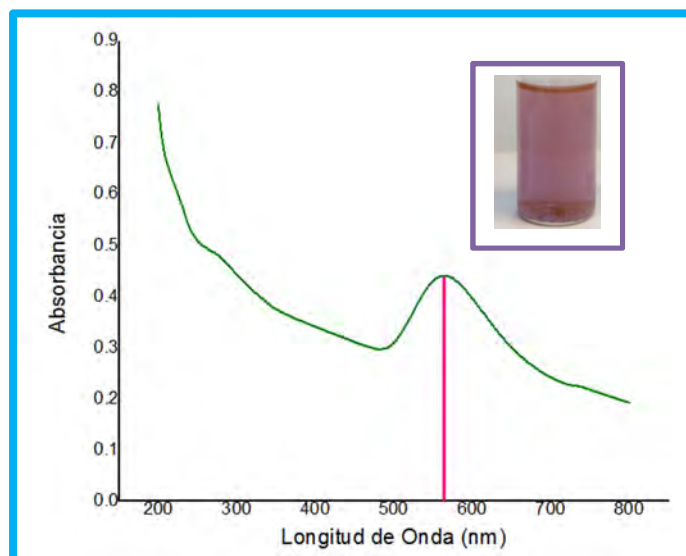


Figura 5.2. UV-Vis de nanopartículas de oro

5.1.1.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.

Con la Microscopia Electrónica de Transmisión podemos determinar la forma y tamaño de las nanopartículas sintetizadas de oro. En la figura 5.3 a y b se puede observar que las nanopartículas obtenidas forman vértices definidos, lo cual nos permitiría tener más probabilidad de generar los “hot spots” en la matriz polimérica de poliestireno.

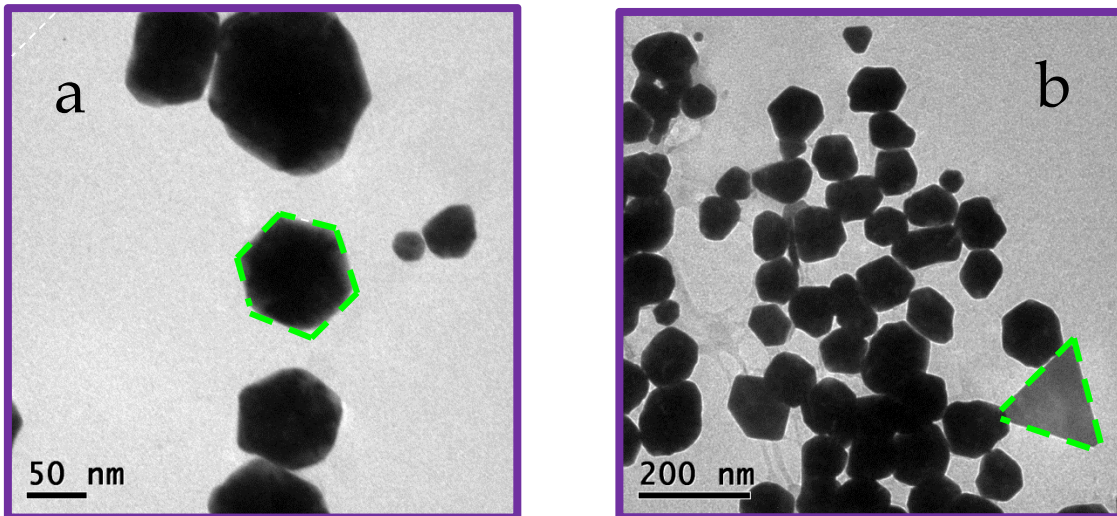


Figura 5.3. Micrografías de TEM de nanopartículas de oro sintetizadas por bioreducción

Se realizó la medición de las micrografías obtenidas de la microscopía electrónica de transmisión con el programa “Imagej-win32” y con el programa “OriginPro 8.1”, esto nos permite conocer el tamaño promedio de las nanopartículas (figura 5.4). Se midieron 217 nanopartículas y se obtuvo una media de 75.90 nm de longitud y una desviación estándar de 14.38 nm.

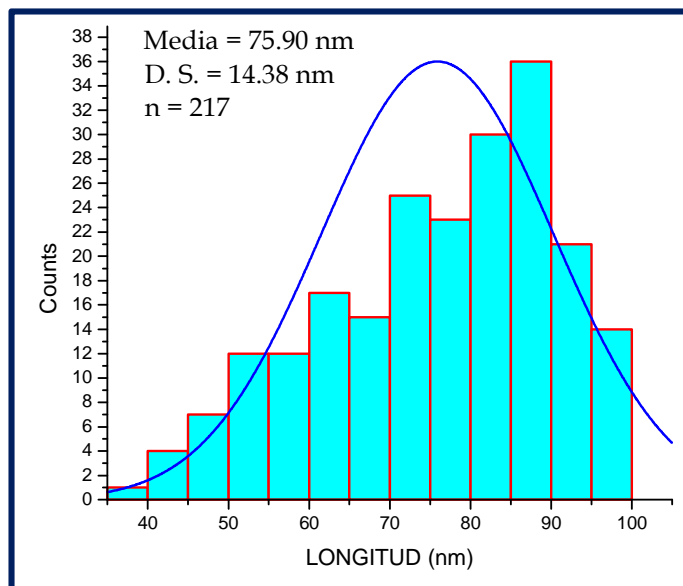


Figura 5.4 Histograma de distribución de partículas de NPs Au de forma poliedral, sintetizadas por bioreducción.

La microscopía electrónica de transmisión (MET) se utilizó para determinar la morfología de las nanopartículas sintetizadas de oro. Las nanopartículas presentaron una estructura cristalina cubica, (FC por sus siglas en inglés), se calcularon las distancias interplanares y los planos cristalográficos de las micrografías obtenidas, con el programa "DigitalMicrograph", y se compararon con la tarjeta de oro número de tarjeta JCPDS "00-004-0784" y "CAS: 7440-57-5". En estas micrografías se pueden observar formas triangulares y hexagonales, entre otras formas diversas.

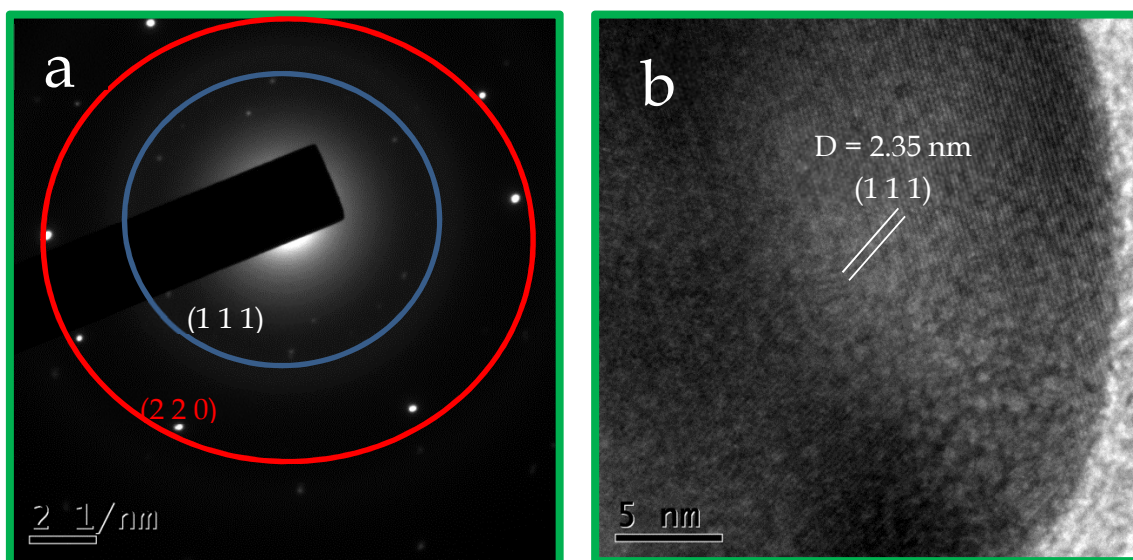


Figura 5.5a Patrón de Difracción de Electrones de Área Selecta y 5.5b Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución

En la figura 5.5a y 5.5b se muestra las micrografías obtenidas por MET, a partir de la cual se determinaron las distancias 2.28\AA y 1.41\AA , correspondientes a los planos (1 1 1) y (2 2 0) del oro (tarjeta JCPDS 004-0784) que tiene un sistema cristalino cúbico con parámetros de celda unitaria $a=b=c=4.079$.

Con este método de síntesis se obtuvieron nanopartículas de oro con una variedad de tamaño y con diferentes morfologías con vértices definidos, lo cual nos permitirá observar el efecto SERS con este tipo de morfologías.

5.1.2. NANOPARTÍCULAS DE ORO ESTRELLAS

Como resultado de la síntesis del extracto de cascara de *Citrus paradisi* (Toronja), se obtuvo una solución de color azul, el cual indica la formación de nanopartículas metálicas de oro, en la figura 5.6. se muestra la disolución de las nanopartículas de oro.



Figura 5.6. Suspensión de nanopartículas de oro.

5.1.2.1. ESPECTROSCOPIA UV-Vis

Para este tipo de sistemas se desarrollaron varias síntesis para obtener la forma deseada y con el análisis UV-Vis se pudo definir la síntesis más adecuada para obtener la forma de nanoestrellas, en la figura 5.7., se observa el espectro UV-Vis de nanopartículas de oro, se puede observar el máximo de plasmón superficial en 580 nm, también se observa un banda ancha que va desde los 500 nm a los 750 nm, que nos indica la formación de nanoestrellas de oro, con una diversidad de tamaños ya que no se observan dos picos definidos, como indica la literatura para esta estructuras. [50-51]

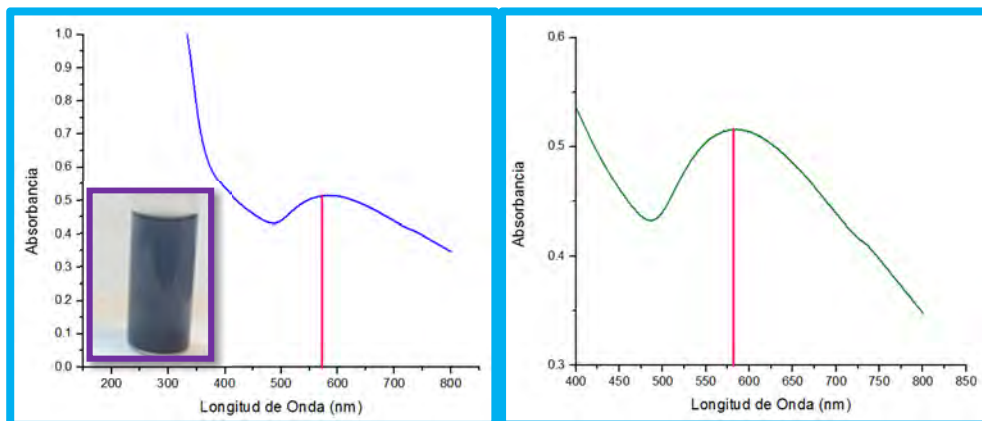


Figura 5.7. UV-Vis de nanopartículas de oro.

5.1.2.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.

Con las micrografías (figura 5.8.) obtenidas por esta técnica podemos observar que las nanopartículas de oro tienen una forma de estrella, esta forma nos permitiría tener una mayor probabilidad de generar "hot spots" y tener una mejor ampliación de señal del efecto SERS.

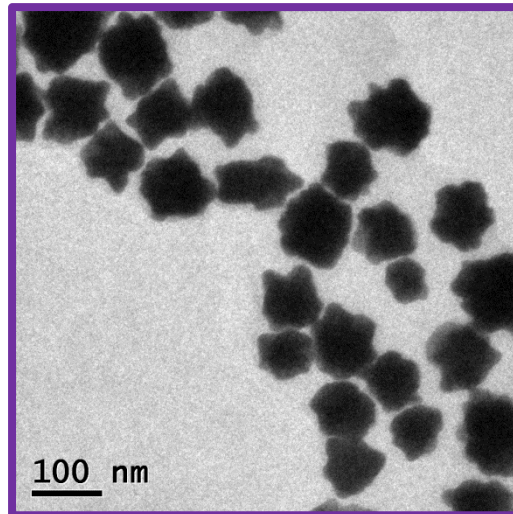


Figura 5.8. Micrografías MET de nanopartículas de oro

En la figura 5.9. se puede observar el histograma del tamaño de partícula con una media de 72.61 nm de longitud y una desviación estándar de 15.23 nm, estos datos se obtuvieron de 121 mediciones.

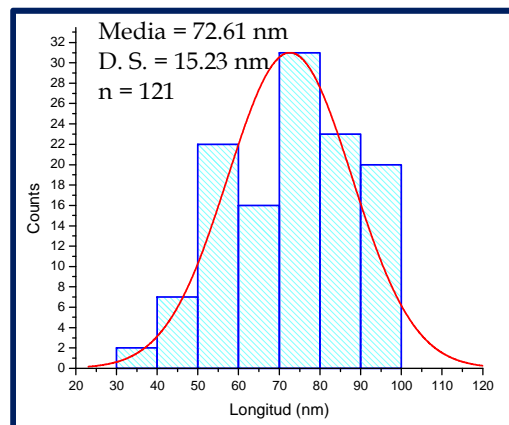


Figura 5.9. Histograma de distribución de partículas de NPs Au en forma de estrella

En la figura 5.10a y 5.10b, se muestran las micrografías obtenidas por MET, a partir de las cuales se determinaron las distancias a) 2.29\AA y 2.00\AA , correspondientes a los planos b) $(1\ 1\ 1)$ y $(2\ 0\ 0)$ del oro (tarjeta JCPDS 004-0784) que tiene un sistema cristalino cúbico con parámetros de celda unitaria $a=b=c=4.079$.

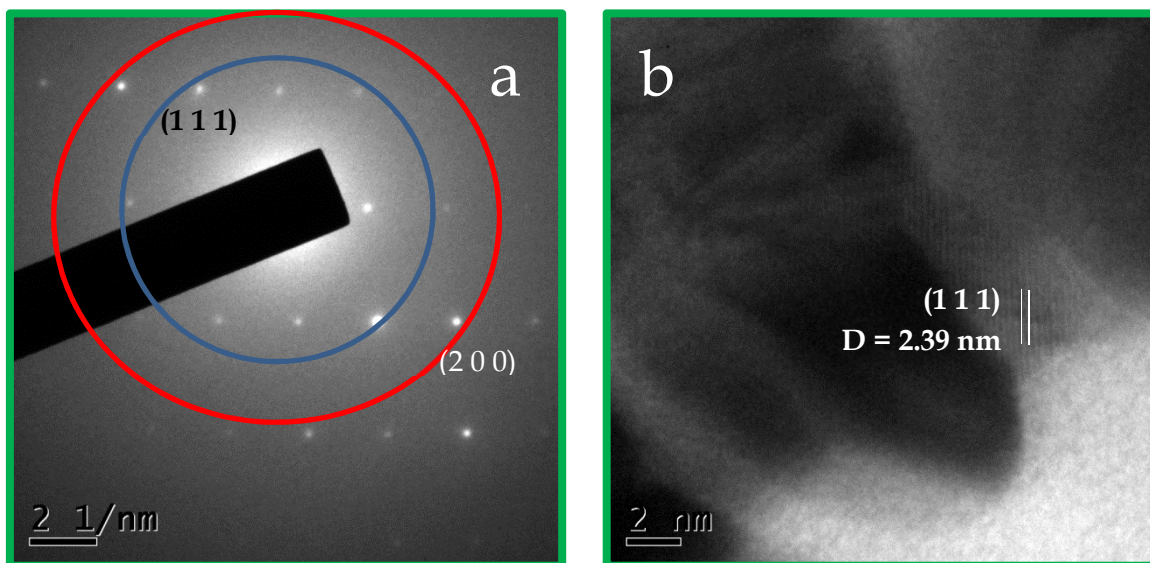


Figura 5.10a Patrón de Difracción de Electrones de Área Selecta
5.10b Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución

5.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

5.2.1. NANOPARTÍCULAS DE PLATA CUBOS

La síntesis de nanopartículas de plata se realizó por el método del polio en donde el reductante fue el Etilenglicol, se obtuvieron nanopartículas de plata en una solución color beige claro. (Figura 5.11)



Figura 5.11. Suspensión de nanopartículas de plata

5.2.1.1. ESPECTROSCOPIA UV-Vis

Para la síntesis de nanopartículas de plata se realizaron varias concentraciones de PVP y nitrato de plata tomando como variable la temperatura debido a que en la literatura esta condición permite tener un mejor control en la formación de nanocubos. En la figura 5.12., se muestra el espectro UV-Vis de nanopartículas de plata, el cual tiene un máximo de plasmón superficial en 457 nm.

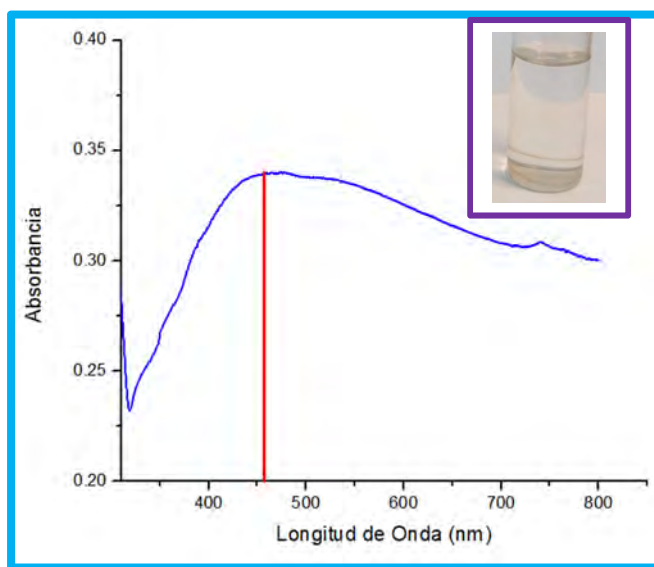


Figura 5.12. UV-Vis de nanopartículas de plata.

5.2.1.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.

En la figura 5.13 se muestran las micrografías obtenidas por MET que indican la formación de nanocubos de plata

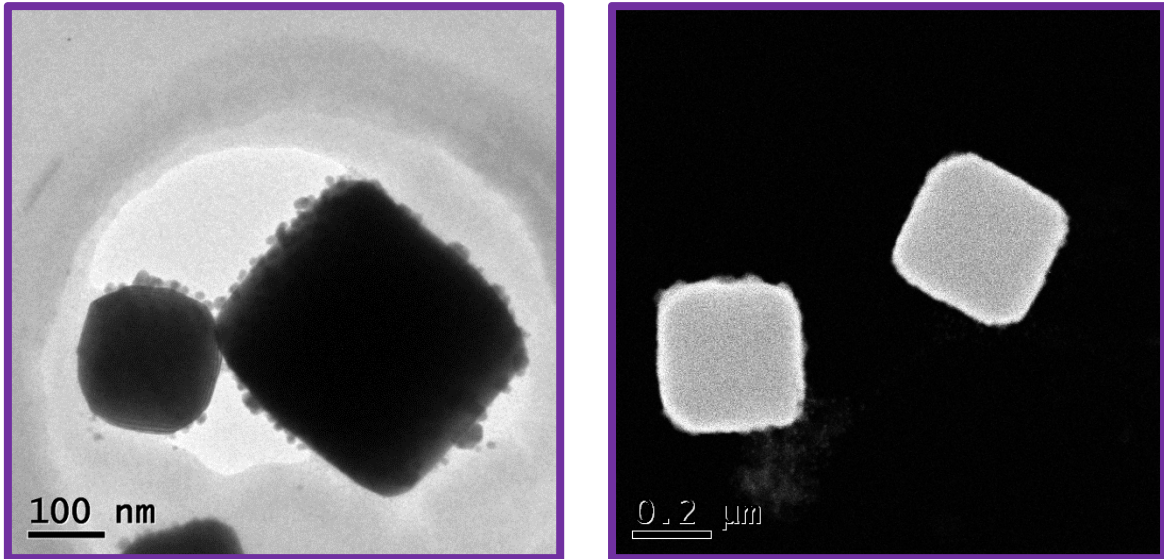


Figura 5.13. Micrografías de nanopartículas de plata.

En la figura 5.14. se muestra las micrografías obtenidas por MET, a partir de la cual se determinaron los planos (1 1 1) y (2 2 0) de la plata (tarjeta JCPDS 004-0783) que tiene un sistema cristalino cúbico con parámetros de celda unitaria $a=b=c=4.086$.

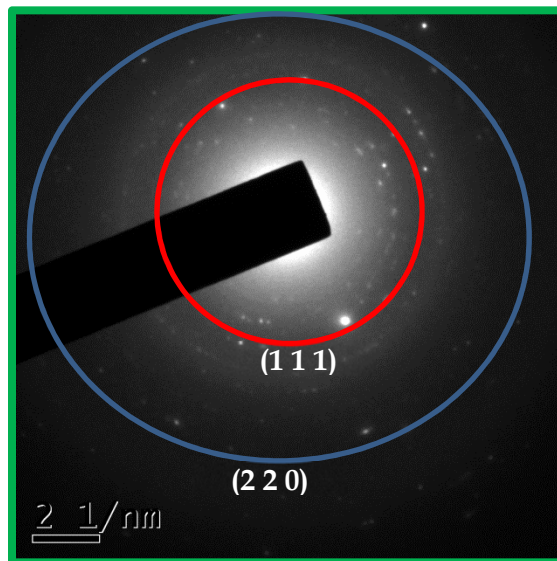


Figura 5.14. Micrografías MET Patrón de Difracción de Electrones de Área Selecta.

5.3. ESPECTROSCOPIA Raman (SERS)

5.3.1 NANOPARTÍCULAS SOPORTADAS EN MATRIZ POLIMÉRICA

Para este estudio se realizó una matriz de poliestireno modificando la superficie con canales concéntricos (figura 5.15), esta modificación en la superficie del poliestireno pudo aumentar la probabilidad de que las nanopartículas generarán un mayor número de "hot spots" en la superficie de la matriz polimérica. Estos soportes se realizaron como se discutió en la sección 3.2.3.

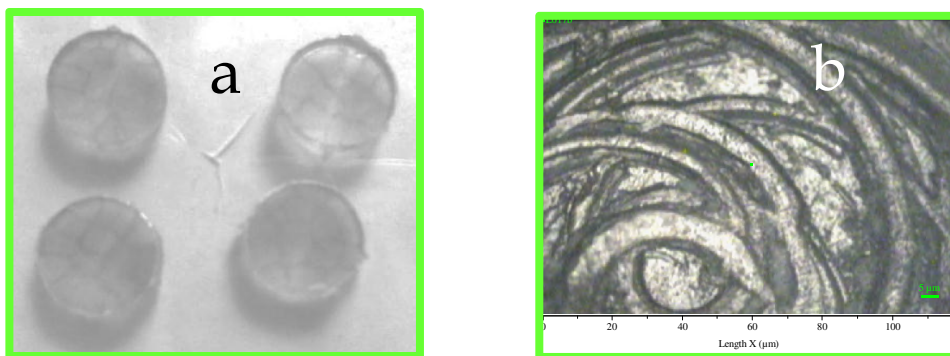


Figura 5.15 a) Imagen de pastillas de poliestireno

b) Imagen de pastillas de poliestireno modificando la superficie

Se caracterizaron dos tipos de nanopartículas de oro una con formas poliedrales, sección 5.1.1 y otra con forma de estrellas, sección 4.1.2. Para este estudio se prepararon dos concentraciones de nanopartículas una fue de 10^{-3} M y otra de 5×10^{-4} M y la concentración de Azul de Metileno fue de 10^{-6} M, las cuales se depositaron en la matriz de poliestireno.

5.3.1.1 Nanopartículas de oro soportadas en poliestireno

Analizaremos primero las nanopartículas de oro de forma poliedral (sección 4.1.1).

Se prepararon las muestras depositando las nanopartículas de oro en la matriz de poliestireno como se muestra en la figura 5.16. Se uso una concentración de 10^{-3} M, en la matriz de poliestireno en cantidades de 400 μ L a 1200 μ L, la "TABLA C" indica la cantidad de nanopartículas, de Azul de Metileno y las concentraciones utilizadas.



FIGURA 5.16. Matriz de poliestireno y nanopartículas de oro (10^{-3} M)

TABLA C: Cantidad de nanopartículas y azul de metileno sobre la matriz de poliestireno

MUESTRA	CONCNETRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS (10^{-3} M)	CONCENTRACIÓN DE AZUL DE METILENO (10^{-6} M)
Au P01 A	400 μ L	40 μ L
Au P01 B	400 μ L	40 μ L
Au P02 A	800 μ L	40 μ L
Au P02 B	800 μ L	40 μ L
Au P03 A	1200 μ L	40 μ L
Au P03 B	1200 μ L	40 μ L

Se realizó el análisis Raman en dos secciones de la pastilla de poliestireno que contiene las muestras analizaron y las partículas de azul de metileno. Ver figura 5.17 donde se muestra el espectro obtenido de estas muestras.

Se observaron señales características del Azul de Metileno en 1622 las cuales corresponden a la vibración de C - C, en 1396 que corresponde a C - H, en 1299 de la vibración C - H, un pico en 770 de la vibración del C - S - C y una señal más en 448 que corresponde al C - N - C.

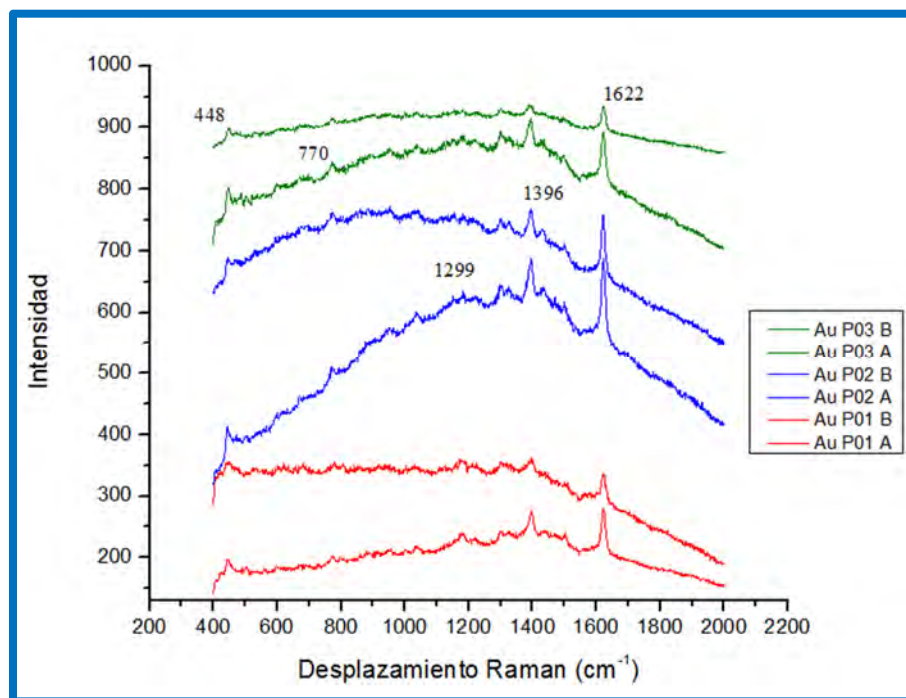


Figura 5.17. Espectro Raman de la tabla "C"

Con estos resultados se puede observar que las nanopartículas de oro de forma poliedral tienen un efecto en la obtención de señales Raman del azul de metileno, esto es debido a la generación de "hot spots" que generan las nanopartículas al ser depositadas sobre la matriz de poliestireno. También podemos definir que a una concentración de 10^{-3} M y una cantidad de 800 μ L, se observa una amplificación de señal del azul de metileno.

Para realizar una segunda evaluación del efecto de las nanopartículas en la matriz de poliestireno se preparó una solución de nanopartículas de oro de forma poliedral a una concentración de 5×10^{-4} M, la cual se depositó en la matriz de poliestireno (figura 5.18). En la TABLA D se muestra la cantidad depositada en la matriz de poliestireno.

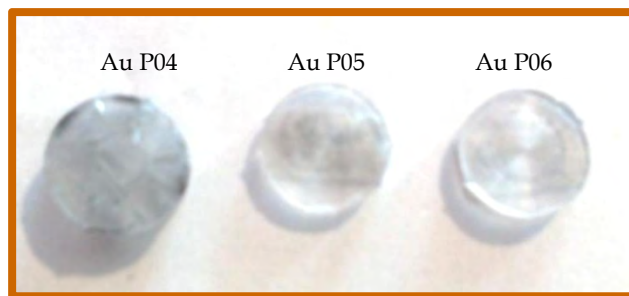


Figura 5.18. Matriz de poliestireno y nanopartículas de oro (5×10^{-4} M)

TABLA D: Cantidad de nanopartículas y azul de metileno sobre la matriz de poliestireno

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS (5×10^{-4} M)	CONCENTRACIÓN DE AZUL DE METILENO (10^{-6} M)
Au P04 A	400 μ L	40 μ L
Au P04 B	400 μ L	40 μ L
Au P05 A	800 μ L	40 μ L
Au P05 B	800 μ L	40 μ L
Au P06 A	1200 μ L	40 μ L
Au P06 B	1200 μ L	40 μ L

Se realizó el análisis Raman de las muestras y se obtuvo el espectro que se muestra en la figura 5.19, donde se observan las señales características del azul de metileno. Las señales en 1622 correspondiente a la vibración de C - C, en 1395 C - H, en 1304 de la vibración C - H, un pico en 769 de la vibración del C - S - C y una señal más en 444 que corresponde al C - N - C.

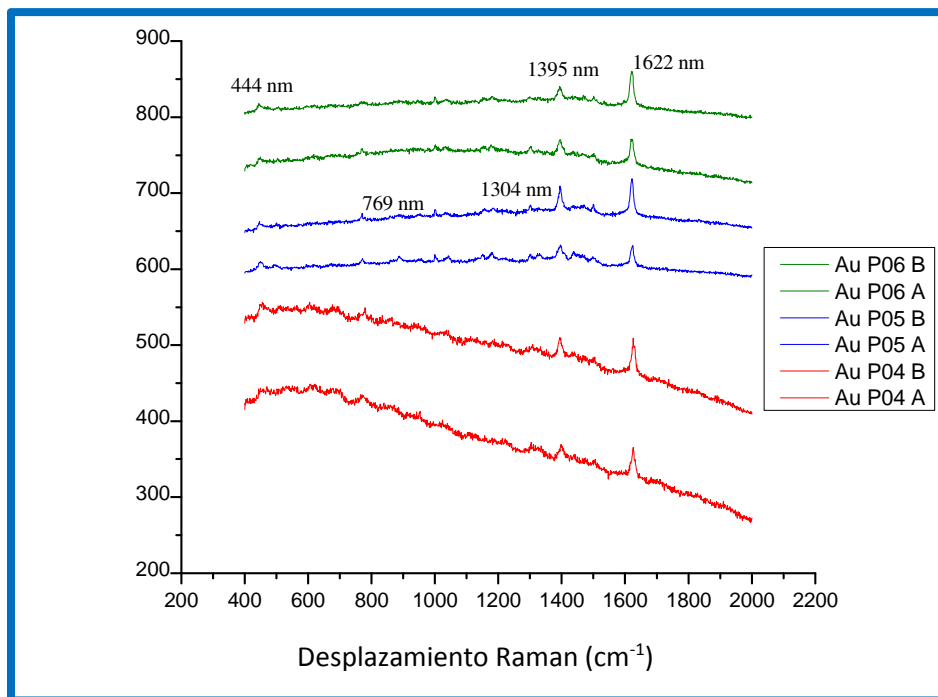


Figura 5.19. Espectro Raman de la tabla "D"

A continuación, se presenta el análisis de resultados de las nanopartículas de oro de forma de estrella preparadas como se indicó en la sección 4.1.2 (figura 5.20). Este tipo de morfología se depositó la solución de 10^{-3} M en la matriz de poliestireno. La cantidad de solución de nanopartículas se establece en la "TABLA E" con una concentración de azul de metileno de 10^{-6} M.



Figura 5.20. Matriz de poliestireno y nanopartículas de oro (10^{-3} M)

TABLA E: Cantidad de nanopartículas y azul de metileno sobre la matriz de poliestireno

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS (10^{-3} M)	CONCENTRACIÓN DE AZUL DE METILENO (10^{-6} M)
Au E01 A	400 μ L	40 μ L
Au E01 B	400 μ L	40 μ L
Au E02 A	800 μ L	40 μ L
Au E02 B	800 μ L	40 μ L
Au E03 A	1200 μ L	40 μ L
Au E03 B	1200 μ L	40 μ L

En la figura 5.21, se pueden observar las señales características del Azul de Metileno, las señales en 1623 corresponden a la vibración de C - C, en 1501 la señal corresponde a C - C - C, la señal en 1396 C - H, en 1000 de la vibración C - H, un pico en 773 de la vibración del C - S - C y por último una señal en 445 que corresponde al C - N - C.

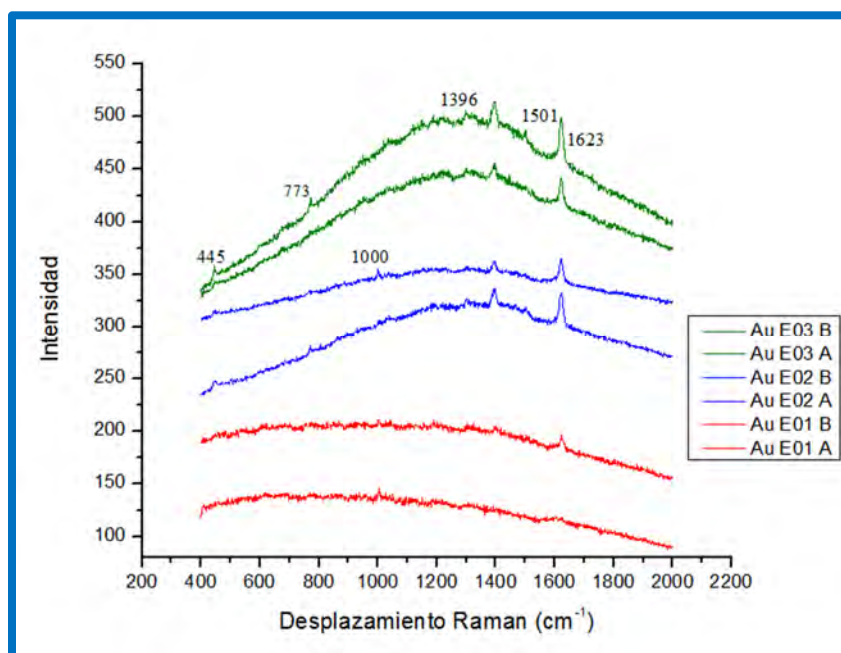


Figura 5.21. Espectro Raman de la tabla "E"

Para el segundo análisis se utilizó una concentración de 5×10^{-4} M de nanopartículas de forma de estrella (figura 5.22), en la "TABLA F" se indica las cantidades de solución de nanopartículas y de azul de metileno utilizadas en la matriz de poliestireno.

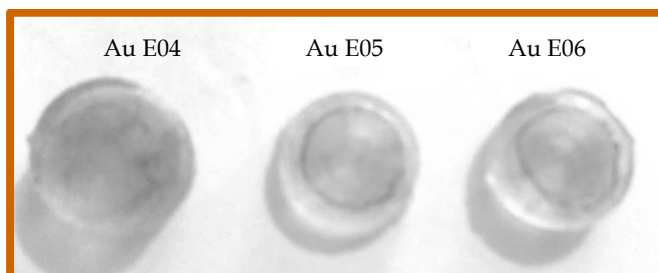


Figura 5.22. Matriz de poliestireno y nanopartículas de oro (5×10^{-4} M)

TABLA F: Cantidad de nanopartículas y azul de metileno sobre la matriz de poliestireno

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS (5×10^{-4} M)	CONCENTRACIÓN DE AZUL DE METILENO (10^{-6} M)
Au E04 A	400 μ L	40 μ L
Au P04 B	400 μ L	40 μ L
Au E05 A	800 μ L	40 μ L
Au E05 B	800 μ L	40 μ L
Au E06 A	1200 μ L	40 μ L
Au E06 B	1200 μ L	40 μ L

En la figura 5.23, se puede observar las señales características del Azul de Metileno, señales en 1623 correspondiente a la vibración de C - C, la señal en 1397 C - H, la señal en 1181 corresponde a C - N, en 1000 a la vibración C - H, un pico en 772 de la vibración del C - S - C y finalmente una señal en 443 y 448 que corresponde al C - N - C.

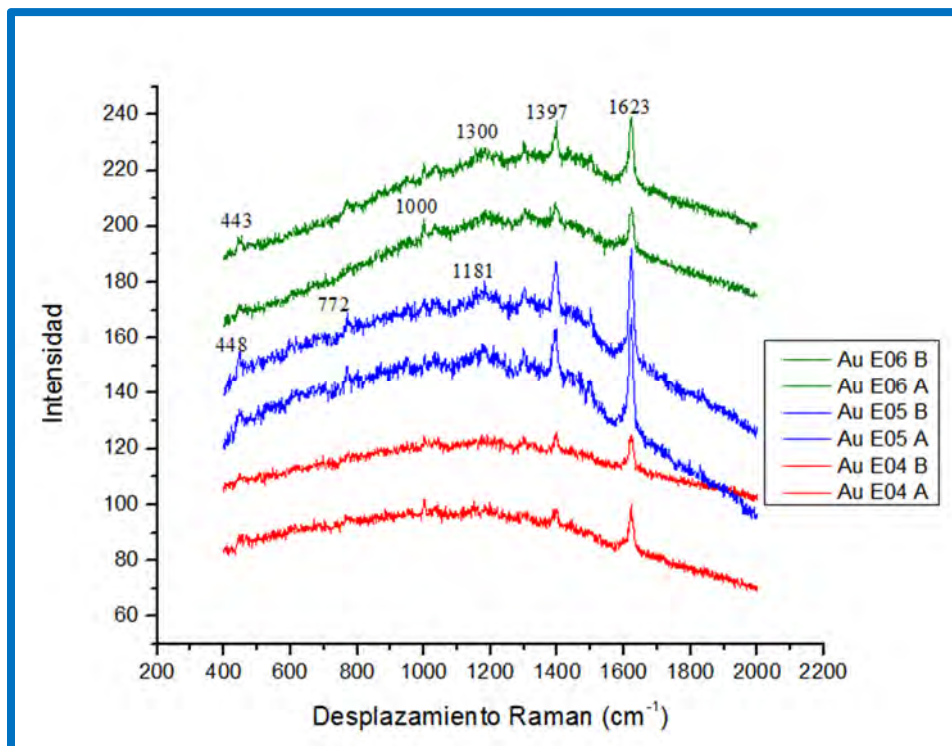


Figura 5.23. Espectro Raman de la tabla "F"

5.3.2.1 Nanopartículas de plata soportadas en poliestireno

Para el caso de nanocubos de plata a una concentración de 10^{-3} M, que se caracterizaron en la sección 4.2.1 y una concentración de azul de metileno 10^{-6} M se depositaron en la matriz de poliestireno (figura 5.24), las cantidades de esta solución de nanopartículas de plata se observa en la "TABLA G".



Figura 5.24. Matriz de poliestireno y nanopartículas de plata (10^{-3} M)

TABLA G: Concentración de nanopartículas y azul de metileno sobre la matriz de poliestireno

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS (10^{-3} M)	CONCENTRACIÓN DE AZUL DE METILENO (10^{-6} M)
Ag C01 A	400 μ L	40 μ L
Ag C01 B	400 μ L	40 μ l
Ag C02 A	800 μ L	40 μ l
Ag C02 B	800 μ L	40 μ l
Ag C03 A	1200 μ L	40 μ l
Ag C03 B	1200 μ L	40 μ l

En la figura 5.25, se puede observar las señales características del Azul de Metileno, señales en 1620 corresponden a la vibración de C - C, la señal en 1395 C - H, la señal en 1248 se observa una señal corresponde a C - N, en 1005 a la vibración C - H, un pico en 769 a la vibración del C - S - C y una señal en 444 que corresponde al C - N - C. al comparar estos resultados con las nanopartículas de oro podemos observar desplazamientos de señales en los espectros Raman.

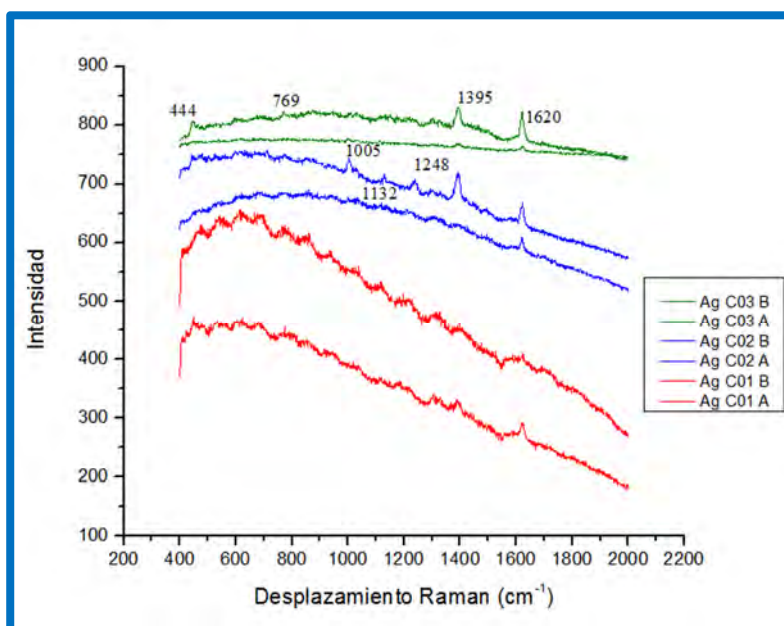


Figura 5.25. Espectro Raman de la tabla "G"

CAPÍTULO
VI
CONCLUSIONES

6.1 CONCLUSIONES

En este trabajo se realizó un estudio del efecto SERS (Surface Enhanced Raman Scattering), que es una técnica espectroscópica intensificada por superficies metálicas nanoestructuradas usando nanopartículas de oro o plata en una matriz de poliestireno.

Podemos concluir que las nanopartículas depositadas en poliestireno, favorecen el aumento de señal en la espectroscopia Raman, debido a la presencia de los plasmones de superficie que presentan las nanopartículas y la generación de "hot spots" que son propiciados por la forma de las nanopartículas que terminan en punta.

Con el estudio realizado se pudo observar que para las nanopartículas de estrella a una concentración de 5×10^{-4} M y con una cantidad de 800 μ L soportadas en una matriz de poliestireno se obtuvo un mejor espectro Raman del azul de metileno el cual tuvo una concentración de 10^{-6} M esto debido a que se tiene una mejor intensidad de señal.

En el caso de las nanopartículas de oro de forma poliedral se obtiene una mejor señal cuando su concentración es de 10^{-3} M y una cantidad de 800 μ L es depositada en la matriz de poliestireno, con una concentración de azul de metileno de 10^{-3} M.

En los nanocubos de plata se obtuvo una mejor respuesta SERS cuando la concentración era de 10^{-3} M con una cantidad de 800 μ L depositada en la matriz de poliestireno, con una concentración de azul de metileno de 10^{-3} M.

En este trabajo se usaron nanopartículas de oro y plata para comprobar que la forma, el tamaño, la concentración de la solución de nanopartículas y la cantidad depositada en la matriz de poliestireno son determinantes en la obtención de los espectros Raman (efecto SERS) en amplitud de señal de la molécula que se desea identificar.

Por lo tanto, se ha desarrollado un sustrato en dos dimensiones activo para SERS basado en nanoestructuras de Au y Ag en una matriz polimérica de poliestireno, el cual tiene una buena ampliación de señal en espectroscopía Raman SERS.

Esto fue resultado de la interacción que presentan las nanopartículas de oro y plata en el poliestireno y la formación de "*hot spots*", lo que permitió una interacción del azul de metileno con las nanopartículas y así, al aplicar la espectroscopía Raman SERS, se logró tener una amplificación de las señales del azul de metileno.

ABREVIATURAS

SERS Surface Enhanced Raman Scattering

“hot spot” Punto Caliente

RPS Resonancia del Plasmon Superficial

nm nanómetros

AuNp's Nanopartículas de Oro

AgNp's Nanopartículas de Plata

μl microlitros

M Molar

U.A. Unidades Arbitrarias

Raman shift / cm^{-1} Desplazamiento Raman / cm^{-1}

Au Oro

Ag Plata

Au P nanopartículas de Oro con geometría Poliedral

Au E nanopartículas de Oro con geometría de Estrella

Ag C nanopartículas de Plata con geometría de Cubo

APENCICE

A) Tarjeta JCPDS 004-0784 de Oro

00-004-0784 Jun 25, 2008

Status Primary **QM:** Star (S) **Pressure/Temperature:** Ambient **Chemical Formula:** Au **Weight %:** Au100.00 **Atomic %:** Au100.00
Compound Name: Gold **Mineral Name:** Gold, syn

Radiation: CuKα1 **λ:** 1.5406 **Intensity:** Diffractometer **Reference:** Swanson, Tatge. Natl. Bur. Stand. (U.S.), Circ. 539 I, 33 (1953).

SYS: Cubic **SPGR:** Fm-3m (225) **AuthCellVol:** 67.85 **Z:** 4.000 **Author's Cell [AuthCell-a: 4.079 AuthCellVol: 67.85] Dcalc:** 19.283
Dmeas: 19.300 **SS/FOM:** F 9.0 = 129(0.007; 9.0) **Melting Point:** 1334.6-1336.2 K **Reference:** Ibid.

Space Group: Fm-3m (225) **Z:** 4 **Molecular Weight:** 196.97
Crystal Cell [XtlCell-a: 4.079 XtlCell-b: 4.079 XtlCell-c: 4.079 XtlCell.a: 90 XtlCell.β: 90 XtlCell.y: 90 XtlCellVol: 67.85]
Reduced Cell [RedCell-a: 2.884 RedCell-b: 2.884 RedCell-c: 2.884 RedCell.a: 60 RedCell.β: 60 RedCell.y: 60 RedCellVol: 16.96]

ωβ: =0.366 **Reference:** Winchell. Elements of Optical Mineralogy. 17

CAS: 7440-57-5 **Pearson:** cF4.00 **Prototype Structure:** Cu **Mineral Classification:** Gold (Supergroup), 1C-disordered (Group)
Subfile(s): Common Phase, Educational Pattern, Forensic, Inorganic, Metals & Alloys, Mineral Related (Mineral), NBS Pattern, Primary Pattern
Last Modification Date: 01/24/2006 **Cross-Ref PDF #'s:** 04-001-2616

Database Comments: Analysis: Spectrographic analysis (%): Si 0.001, Ca 0.001, Ag 0.001(?). Color: Yellow metallic. Melting Point: 1334.6-1336.2 K. Opaque Optical Data: Opaque mineral optical data on specimen from unspecified locality; RR2Re=71.6, Disp.=16, VHN100=53-58, Color values=.384, .391, 72.7, Ref.: IMA Commission on Ore Microscopy QDF. Sample Source or Locality: Sample purified at NBS, Gaithersburg, Maryland, USA and is about 99.997% Au. Temperature of Data Collection: Pattern taken at 299 K. Unit Cell Data Source: Powder Diffraction.

00-004-0784 (Fixed Slit Intensity) - Cu Kα1 1.54056Å

2θ	d(Å)	I	h	k	l	2θ	d(Å)	I	h	k	l	2θ	d(Å)	I	h	k	l	2θ	d(Å)	I	h	k	l						
38.1836	2.355	100	1	1	1	64.5759	1.442	32	2	2	0	81.7212	1.1774	12	2	2	2	110.7976	0.9358	23	3	3	1	135.4156	0.8325	23	4	2	2
44.3917	2.039	52	2	0	0	77.5471	1.23	36	3	1	1	98.1334	1.0196	6	4	0	0	115.2593	0.912	22	4	2	0						

B) Tarjeta JCPDS 004-0783 de Plata

00-004-0783 Jun 25, 2008

Status Primary **QM:** Indexed (I) **Pressure/Temperature:** Ambient **Chemical Formula:** Ag **Weight %:** Ag100.00 **Atomic %:** Ag100.00
Compound Name: Silver **Mineral Name:** Silver-3C, syn

Radiation: CuKα1 **λ:** 1.5406 **Intensity:** Diffractometer **I/Ic:** 5.2 **Reference:** Swanson, Tatge. Natl. Bur. Stand. (U.S.), Circ. 539 I, 23 (1953).

SYS: Cubic **SPGR:** Fm-3m (225) **AuthCellVol:** 68.23 **Z:** 4.000 **Author's Cell [AuthCell-a: 4.086 AuthCellVol: 68.23] Dcalc:** 10.501
Dmeas: 10.500 **SS/FOM:** F 9.0 = 65(0.015; 9.0) **Melting Point:** 1233.6 K **Reference:** Ibid.

Space Group: Fm-3m (225) **Z:** 4 **Molecular Weight:** 107.87
Crystal Cell [XtlCell-a: 4.086 XtlCell-b: 4.086 XtlCell-c: 4.086 XtlCell.a: 90 XtlCell.β: 90 XtlCell.y: 90 XtlCellVol: 68.23]
Reduced Cell [RedCell-a: 2.889 RedCell-b: 2.889 RedCell-c: 2.889 RedCell.a: 60 RedCell.β: 60 RedCell.y: 60 RedCellVol: 17.06]

ωβ: =0.181 **Reference:** Winchell. Elements of Optical Mineralogy. II, 17

CAS: 7440-22-4 **Pearson:** cF4.00 **Prototype Structure:** Cu **Mineral Classification:** Gold (Supergroup), 1C-disordered (Group)
Subfile(s): Common Phase, Educational Pattern, Forensic, Inorganic, Metals & Alloys, Mineral Related (Mineral), NBS Pattern, Primary Pattern
Last Modification Date: 01/24/2006 **Cross-Ref PDF #'s:** 01-087-0597 (Alternate), 04-001-2617

Database Comments: General Comments: Purity >99.999%. Additional Patterns: See PDF 01-087-0597. Analysis: Spectrographic analysis indicated faint traces of Ca, Fe and Cu. Color: Light gray metallic. Melting Point: 1233.6 K. Opaque Optical Data: Opaque mineral optical data on specimen from Great Bear Lake, Canada; RR2Re=94.1, Disp.=16, VHN100=55-63, Color values=.314, .321, 94.2, Ref.: IMA Commission on Ore Microscopy QDF. Sample Source or Locality: Sample obtained from Johnson Matthey Company, Ltd. Temperature of Data Collection: Pattern taken at 300 K. Unit Cell Data Source: Powder Diffraction.

00-004-0783 (Fixed Slit Intensity) - Cu Kα1 1.54056Å

2θ	d(Å)	I	h	k	l	2θ	d(Å)	I	h	k	l	2θ	d(Å)	I	h	k	l	2θ	d(Å)	I	h	k	l						
38.1164	2.359	100	1	1	1	64.4257	1.445	25	2	2	0	81.5365	1.1796	12	2	2	2	110.497	0.9375	15	3	3	1	134.8824	0.8341	13	4	2	2
44.2773	2.044	40	2	0	0	77.4723	1.231	26	3	1	1	97.8879	1.0215	4	4	0	0	114.9238	0.9137	12	4	2	0						

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Gericke, A. Pinches. *Biological synthesis of metal nanoparticles*. Hydrometallurgy, 85: 132-140, (2006).
- [2] Lehui Lu, Atsuko Kobayashi, Keiko Tawa and Yukihiro Ozaki, *Silver Nanoplates with Special Shapes: controlled Synthesis and Their Surface Plasmon Resonance and Surface-Enhanced Raman Scattering Properties*. Chem. Mater. 18: 4894-4901, (2006).
- [3] Luis M., Liz-Marzán, *Tailoring Surface Plasmons through the Morphology and Assembly of Metal Nanoparticles*, Langmuir, Vol. 22, 32-41. (2006).
- [4] Xavier Enrique Guerrero, Ubaldo Ortiz Méndez, Selene Sepúlveda G, Domingo Ferrer-Luppi. *Síntesis y propiedades de nanopartículas monometálicas y bimetálicas oro-plata*. Ingeniería, Vol. XII, No 45: 72 - 78, (Octubre-Diciembre 2009).
- [5] Jozaira Lárez, Carlos Rojas, Luis Cortina, María Cristina Hernández, *ELABORACIÓN DE NANOCOMPUESTOS METAL-POLÍMERO: Fe/PCL*, Rev. Latin. Am. Metal. Mat. No. 35 (1), 78-85. (2015)
- [6] Campbell, D.J. & Xia, Y. Plasmons: why should we care? Journal of Chem. Ed.: 84, 91-96. (2007).
- [7] Tang, Y., Zeng, X. & Liang, J. Surface plasmon resonance: an introduction to a surface spectroscopy technique. Journal of Chem. Ed.: 87, 742-746. (2010).
- [8] Champion, A. & Kambhampati, P. Surface-enhanced RAMAN scattering. Chem. Soc. Rev.: 27(4), 241-250. (1998).

- [9] Cecilia Noguez, Propiedades ópticas de nanopartículas metálicas, Instituto de Física Universidad Nacional Autónoma de México.
- [10] Solomon SD, Bahadory M, Jeyarajasingam AV, Rutkowsky SA, Borito C, Mulfinger L. Nanopartículas of Silver. J. Chem. Ed. 2: p. 322. (2007)
- [11] Cecilia Noguez, Octavio Miramontes, Karen Volke, Fronteras de la Física en el Siglo XXI: Física a la escala nanométrica, editorial CopIt-arXives, México, D.F., 2013, pag. 1-15
- [12] http://www.euroresidentes.com/futuro/nanotecnologia/recursos_docentes/que_es_nanociencia.htm Fecha: 15:13 11/01/2012
- [13] N. Inclusion compounds. Takemoto, K. and Sonoda, J.L. Attwood, J.E.D. Davies, D.D. McNicols, Eds.; Academic Press, New York; Vol. 2, (1984).
- [14] Valdez Medina I. 2010. Nanotecnología. Santiago de Chile.
- [15] Mohd Sayeed Akhtar, Jitendra Panwar and Yeoung-Sang Yun. Biogenic Synthesis of Metallic Nanoparticles by Plant Extracts. ACS Sustainable Chem. Eng. Vol 1, pag 591-602, (2013)
- [16] Cecilia Noguez, Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment, J. Phys. Chem. C 2007, 111, pag. 3806 - 3819.
- [17] Daniel A. Cruz, Miriam C. Rodríguez, Juan M. López, Virginia M. Herrera, Alejandro G. Orive, Alberto H. Creus. METALLIC NANOPARTICLES AND SURFACE PLASMONS: A DEEP RELATIONSHIP, Av. Cien. Ing.: Vol. 3(2), 67-78 (2012).
- [18] Charles P. Poole Jr., Frank J. Owens, Introducción a la Nanotecnología, Barcelona, Ed. Reverté, 2007.

- [19] Y. Gogotsi, *Nanomaterials handbook*, CRC Press, 2006.
- [20] Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño, Rodolfo Zanella, Vol. 5, No. 1, (enero-junio, 2012)
- [21] David Gómez, Juan Enterría, Jorge Bonhomme, Cristina Lausín. “Aplicaciones industriales de la nanotecnología”. ESTIIC,
- [22] Ángela Camacho Beltrán, Mario Zapata Herrera, PLASMÓNICA EN EL RÉGIMEN SUBNANOMÉTRICO, revista digital universitaria, Vol. 16, Núm. 9, pag. 1607 – 6079, (2015).
- [23] Andrés Guerrero Martínez, Ramón Álvarez Puebla, Luis M Liz Marzán, Nanoplasmonica basada en Química Coloidal, An. Quím., vol. 107(3), pag. 221–228, (2011).
- [24] Gerardo Leyva Gómez. Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. Vol. 2, Núm. 1, pp 18-22, enero-abril 2013.
- [25] Takemoto, K. and Sonoda, J.L. Attwood, J.E.D.Davies, D.D. McNicols, Eds. N. Inclusion compounds. Academic Press, New York; Vol. 2, (1984).
- [26] Zhang, J. Du, J. Han, B. Liu, Z. Jiang, T. Zhang, Z. Sonochemical formation of single-crystalline gold nanobelts *Angewandte Chemie, International Edition* (2006), 45(7), 1116 – 1119.
- [27] Wu, C. Mosher, B. P. Zeng, T. Rapid synthesis of gold and platinum nanoparticles using metal displacement reduction with sonomechanical assistance *Chemistry of Material* (2006), 18(13), 2925 – 2928.

- [28] Xiong, H. M. Shchukin, D. G. Moehwald, H. Xu, Y. Xia, Y. Y. Sonochemical synthesis of highly luminescent zinc oxide nanoparticles doped with magnesium (II) *Angewandte Chem. International Edition* (2009), 48(15), 2727 - 2731.
- [29] Mao, C. J. Pan, H. C. Wu, X. C. Zhu, J. J. Chen, H. Y. Sonochemical route for self-assembled V_2O_5 bundles with spindle-like morphology and their novel application serum albumin sensing. *The Journal of Physical Chemistry* (2006), 110(30), 14709 - 14713.
- [30] S. Prathap Chandran, Minakshi Chaudhary, Renu Pasricha, Absar Ahmad, and Murali Sastry, Synthesis of Gold Nanotriangles and Silver Nanoparticles Using Aloe Vera Plant Extract, *Biotechnol. Prog.* 2006, 22, 577-583.
- [31] Shankar, S. S.; Rai, A.; Ahmad, A.; Sastry, M. Controlling the optical properties of lemongrass extract synthesized gold nanotriangles and potential application in infrared-absorbing optical coatings. *Chem. Mater.* 2005, 17, 566-572
- [32] Andrés Guerrero Martínez, Ramón A. Álvarez Puebla, Luis M. Liz Marzán. Nanoplasmónica basada en Química Coloidal. *Real Sociedad Española de Química. An. Quím.* 2011, 107 (3), 221-228.
- [33] M. Gericke, A. Pinches. Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy*, vol. 83 p. 132-140, (2006).
- [34] Morales J, Moran J, Quintana M, Estrada W. Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta Sol-Gel a partir de Nitrato de Plata. *Rev Soc Quím Perú*; 75 (2). (2009)
- [35] Luo C, Zhang Y, Zeng X, Zeng Y, Wang Y. The role of Poly(ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science.*, (28): p. 44-48. (2005)

[36] Mateo, Diego; Morales, Paloma; Ávalos, Alicia; Haza, Ana I. Gold nanoparticles: Applications and in vitro cytotoxicity, *Acta toxicol.* Vol .21 no.2, (2013)

[37] J. Zhang, R. m. Kontturi. *Chem. Commun. P. R. Unwin*, Vol. 16, p. 1818-1819 (2001).

[38] Florentino Soriano-Corral, Graciela Morales, Pablo Acuña, INCORPORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN POLIESTIRENO DE ALTO IMPACTO: EFECTO SOBRE LA CINÉTICA DE POLIMERIZACIÓN Y LA ESTRUCTURA MORFOLÓGICA, *Revista Iberoamericana de Polímeros*, Volumen 12, enero, pag. 116-124 (2011).

[39] B. Liliana España-Sánchez, J. Alberto Rodríguez-González*, Pablo González-Morones, M. Guadalupe Neira-Velázquez, Bernardo Franco-Bárceñas. Nanocompuestos de polipropileno con nanopartículas de cobre: preparación, activación superficial por plasma y actividad antibacteriana, *Multidisciplinary Scientific Journal*, Vol. 24 No. 3 mayo-junio 2014.

[40] Juan F. López, León D. Pérez, Betty L. López, SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOHÍBRIDOS POLIESTIRENO/SÍLICA MESOPOROSA MCM-41, *Scientia et Technica* Año XIII, No 36, septiembre, pag. 971 - 976, (2007).

[41] José Vicente García-Ramos, Santiago Sánchez-Cortés. Vibrational spectroscopy on metal nanostructures (SERS and SEIR): new substrates and applications. *Opt. Pura Apl.* Vol 39 (2), pag. 125-128, (2006)

[42] Juan C. Fraire, Eduardo A. Coronado. Desing of plasmomic nano-structures for SERS ultrasensitive spectroscopy: comparison between self-assembly and bioconjugation. INFIQC, Centro Láser de Ciencias Moleculares, Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Bitácora digital Facultad de Ciencias Químicas (UNC), pag 1- 8

- [43] Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman. 2001. Principios de Análisis Instrumental. España. Editorial Mc Graw Hill
- [44] Pala Rajasekharreddy Pathipati Usha Rani, Qualitative assessment of silver and gold nanoparticle synthesis in various plants: a photobiological approach.
- [45] Gang Lu, Hai Li, Shixin Wu, Peng Chen and Hua Zhang, High-density metallic nanogaps fabricated on solid substrates used for surface enhanced Raman scattering
- [46] Yasuji J. Amano, Linda Díaz Cevallos. INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA PRINCIPIOS - APLICACIONES. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI). Tercera Edición, pag. 000-000 (2015)
- [47] Jaime Renau-Piqueras & Magdalena Faura. Principios básicos del Microscopio Electrónico de Barrido. Sección de Microscopía Electrónica. Centro de Investigación. Hospital "La Fé". VALENCIA, pag 73 - 92.
- [48] Yi Wang, Yiqun Zheng, Cheng Zhi Huang, and Younan Xia, Synthesis of Ag Nanocubes 18–32 nm in Edge Length: The Effects of Polyol on Reduction Kinetics, Size Control, and Reproducibility, J. Am. Chem. Soc. vol. 135, pag. 1941–1951, (2013).
- [49] Naznin Ara Begum, Samiran Mondal, Saswati Basu, Rajibul A. Laskar, Debabrata Mandal, Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts, ELSEVIER, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 71, pag. 113–118, (2009).
- [50] Pandian Senthil Kumar, Isabel Pastoriza-Santos, Benito Rodríguez-González, F. Javier Garcia de Abajo and Luis M Liz-Marzán, High-yield synthesis and optical response of gold nanostars, Nanotechnology 19, pag. 015606, (2008).

- [51] Laura Rodríguez-Lorenzo, Ramón A. Álvarez-Puebla, F. Javier García de Abajo and Luis M. Liz-Marzán, Surface Enhanced Raman Scattering Using Star-Shaped Gold Colloidal Nanoparticles, *J. Phys. Chem.*, 114, pag. 7336–7340. (2010)
- [52] Rattanon Suntivich, Ikjun Choi, Maneesh K. Gupta, Constantinos Tsitsilianis and Vladimir V. Tsukruk, Gold Nanoparticles Grown on Star-Shaped Block Copolymer Monolayers, *Langmuir*, 27, pag. 10730–10738. (2011)
- [53] Malte S. Strozyk, Dorleta Jiménez de Aberasturi, and Luis M. Liz-Marzán, Composite Polymer Colloids for SERS-based Applications, *Chem. Rec.* 2017, 17, pag. 1–13. (2017)
- [54] Richard E. Darienzo, Olivia Chen, Maurinne Sullivan, Tatsiana Mironava and Rina Tannenbaum, Quasi-fractal gold nanoparticles for SERS: effect of nanoparticle morphology and concentration, *ChemRxiv*, pag. 1-17. (2018)
- [55] Lingxiao Liu, Feifei Wu, Daren Xu, Ning Li, Nan Lu, Space confined electroless deposition of silver nanoparticles for highly-uniform SERS detection, *ELSEVIER, Sensors and Actuators B*, 255, pag. 1401–1406, (2018)