



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Síntesis de nanopartículas de oro con POSS-tiol mediante
ablación láser para aplicaciones biomédicas**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Físico

P R E S E N T A :

Jean Yves Tovar Sánchez



DIRECTOR DE TESIS:

Dra. María Beatriz De la Mora Mojica

Ciudad Universitaria, Cd.Mx., 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno.
Tovar
Sánchez
Jean Yves
56419593
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Física
309515425
2. Datos del Asesor.
Dra.
María Beatriz
De la Mora
Mojica
3. Datos del sinodal 1.
Dr.
Mayo
Villagrán
Muniz
4. Datos del sinodal 2.
Dr.
Juan Carlos
Cheang
Wong
5. Datos del sinodal 3.
Dr.
Tupak
García
Fernández
6. Datos del sinodal 4.
Dra.
Karen
Volke
Sepúlveda
7. Datos del trabajo escrito.
Síntesis de nanopartículas de oro con POSS-tiol mediante
ablación láser para aplicaciones biomédicas
81 p
2017

Agradecimientos

De antemano le agradezco a usted lector, por permitirme ser parte de su interés. Quisiera agradecerle a todas las personas que me apoyaron y contribuyeron a la realización de este trabajo de tesis, por su atención, cariño y entrega.

Un profundo agradecimiento a la Dra. Beatriz De la Mora. Por sus enseñanzas, consejos y sabiduría que parten de su amplia experiencia y gran corazón y siempre llegaron más allá de lo tangible. Por todas aquellas valiosas lecciones que revolucionaron mi integridad, tanto intelectual como personalmente. Por su contagiosa alegría, tenacidad y energía que siempre desembocó en pericia, éxito y experiencia, dentro y fuera del ámbito académico. Su paciencia, su motivación y la confianza hacia mis capacidades contribuyeron a mi formación en diversos congresos internacionales, escuelas de verano y seminarios. Por sus implícitas enseñanzas transmitidas mediante el ejemplo acerca de fortaleza, modestia, optimismo y tenacidad que mejoran las virtudes y enriquecen la personalidad de la gente que le rodea.

A los miembros del comité jurado el Dr. Juan Carlos Cheang, el Dr. Tupak García, el Dr. Mayo Villagrán y la Dra. Karen Volke, por sus importantes aportes y valiosos comentarios para mejorar esta tesis.

Al Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico (CCADET) de la UNAM, por el apoyo económico con la beca y por permitirme el uso de los recursos personales y materiales de sus instalaciones. A los integrantes del Laboratorio de Fotofísica y Películas Delgadas por incluirme en su cálido, ameno, familiar y exitoso ambiente de trabajo, a los investigadores a cargo por las numerosas y degustables horas de discusión siempre constructiva, su gran aporte de ideas, dudas, cuestionamientos, soluciones, oportunidades, críticas y sobre todo, voluntad. Al Dr. Mayo Villagrán y al Dr. Tupak por sus interesantes pláticas y entusiastas ideas que enriquecieron mi trabajo. A la Dra. Rosalba Castañeda y la Dra. Citlali Sánchez por su apoyo incondicional y colaboraciones que me permitieron compartir nuestro trabajo en diversos congresos. A mis compañeros de celda Artemisa, Jose Luis, Enrique, Miguel, Adriana, Andrés, Osmary, Gina, Francisco, Alberto y Ximena. Sin duda alguna, siempre me acompañarán todas esas experiencias vividas fuera y dentro del laboratorio.

A la Facultad de Ciencias y a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por abrirme las puertas a este maravilloso mundo de la investigación y contribución científica, mediante una excelente formación académica e inmersión cultural. A mis compañeros, ayudantes y profesores que conjuntamente me ayudaron a forjar el inicio de mi carrera. A Giovanna, Ricardo, Juan, Najee y Alejandra, por las experiencias, desventuras, risas explosivas, malicia benéfica, presión compartida y encuentros sorpresivos que rompieron barreras de edades y disciplinas.

A Rodrigo, Iván, Antonio, Héctor, Mariana y Adriana por generar un sentimiento de camaradería sin igual. A Artemisa por ser mi socio y secuaz en el betún de mi carrera. A todos, por sus cálidas risas y logros compartidos.

Agradezco profundamente a mi familia. A mis padres Miguel y Elena, por su apoyo y cariño, por ser un ejemplo de voluntad y motivación cuyas enseñanzas siempre me han impulsado. A mi hermano Misha, por la apertura, fascinación y eterna curiosidad por el mundo. A Sigfrida, que me

enseño que las serendipias son el motor de la curiosidad y a mi sobrino Ayocuán que me motiva a compartir lo mejor.

Al valioso apoyo brindado por el Laboratorio Central de Microscopía (LCM) del Instituto de Física (IFUNAM). Al Fís. Roberto Hernández por su excelente trabajo en microscopía de transmisión electrónica (TEM). Al Dr. René García por su trabajo de citotoxicidad realizado en la Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León, UNAM.

Agradezco al Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE), CCADET, UNAM y a los investigadores el Dr. José Ocotlán, la Dra. Esther Mata y a la técnico M. en C. Selene Islas por la caracterización de las muestras mediante las Técnicas de espectroscopía UV-Vis, FTIR y Raman.

Finalmente agradezco el apoyo brindado en el marco del Proyecto 278094 CONACyT-CNR respaldado por FONCICYT y el proyecto PAPIIT IG100415 por la beca recibida. Así como el apoyo y atención brindado por el Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico (CCADET), el Instituto de Física (IFUNAM) y la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Resumen

En este trabajo se realizó la síntesis de nanopartículas esféricas de oro (Au-NPs) mediante la técnica de ablación láser pulsada en líquidos y la caracterización de la respuesta óptica de los coloides obtenidos. En particular, se estudió la viabilidad de uso de estos coloides como sensores basados en su respuesta plasmónica al adicionar la molécula polimérica Poliedrooligomérico silsesquixano tiol (POSS-tiol). Esta molécula presenta una fuerte afinidad química del azufre por el oro y puede mejorar la suspensión coloidal. Para realizar la síntesis de nanopartículas, la radiación láser con longitud de onda de $1064nm$ y energía por pulso de $60mJ$ proveniente de un láser Nd:YAG fue enfocada sobre la superficie de un blanco de oro sumergido en $10ml$ de solución. Se utilizaron tres soluciones base de $0.2mg/ml$ de POSS-tiol disuelto en etanol: al 0 %, al 70 % y al 100 %. Para la caracterización in situ mediante fotoacústica se utilizaron sensores piezoeléctricos con rango de respuesta de hasta $600KHz$ para obtener las señales fotoacústicas producidas durante la síntesis de las Au-NPs. Su caracterización ex situ se realizó mediante las técnicas espectroscópicas de Ultravioleta-visible (UV-vis), Transformada de Fourier en el infrarrojo (FTIR) y Raman, así como la obtención de micrografías mediante Microscopía de Transmisión de Electrones (TEM).

Los estudios de la respuesta óptica de los coloides se enfocaron en el efecto de los siguientes parámetros: las tasas de repetición $5Hz$ y $10Hz$ del láser, número de pulsos (2000-4000) y condición de enfoque $z = -1, 0, 1$ (desplazamiento en mm respecto a la superficie del blanco); concentración del polímero, distribución de tamaños de las Au-NPs, longitudes de onda del pico de la banda de plasmón, su ancho FWHM, su absorbancia máxima, el deterioro de la respuesta óptica al transcurrir los días y su sugerente funcionalización mediante el enlace S-Au. Con base en los resultados de distribución de tamaños y el uso de la Teoría de Mie, se propuso un modelo semiempírico como primera aproximación de las bandas de absorbancia de los coloides presentes por efecto de Resonancia de Plasmón Localizada (LSPR). Por último se realizó un breve estudio de citotoxicidad en células gingivales humanas para estudiar su biocompatibilidad.

Índice general

| | |
|---|-----------|
| Resumen | III |
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1. La relevancia de la nanociencia | 1 |
| 1.2. Propiedades de los nanomateriales | 2 |
| 1.2.1. Propiedades superficiales | 3 |
| 1.2.2. Propiedades ópticas (efectos cuánticos) | 3 |
| 1.3. Importancia e interés en las nanopartículas coloidales de oro | 5 |
| 1.3.1. Propiedades ópticas de las Au-NPs: Efecto de resonancia de plasmón. | 6 |
| 1.3.2. Dependencia de los espectros con la geometría y el medio que rodea a las NPs | 7 |
| 1.4. Estabilidad y funcionalización de los coloides | 11 |
| 1.5. Métodos de síntesis | 11 |
| 1.5.1. Ablación láser en la fabricación de nanopartículas de oro | 12 |
| 1.6. Aplicaciones de Au-NPs con interés de sensado y sistemas biológicos | 14 |
| 1.7. Presentación del trabajo | 17 |
| 1.7.1. Motivación del proyecto | 17 |
| 1.7.2. Objetivos Generales | 17 |
| 2. Metodología | 19 |
| 2.1. Sistema experimental de síntesis y caracterización <i>in-situ</i> | 19 |
| 2.2. Caracterización <i>ex-situ</i> | 21 |
| 2.3. Ajuste teórico de espectros de absorción experimentales mediante teoría de Mie | 22 |
| 2.4. Detalles del equipo y parámetros en las técnicas espectroscópicas | 23 |
| 3. Resultados y análisis | 25 |
| 3.1. Producción de Au-NPs y fotoacústica pulsada de alta energía (FPAE) | 25 |
| 3.2. Estudio de la respuesta plasmónica de los coloides | 27 |
| 3.2.1. Condición de enfoque y número de pulsos | 28 |
| 3.2.2. Parámetros de picos de plasmón y estabilidad temporal | 30 |
| 3.3. Morfología esférica y estadística de tamaños de Au-NPs | 36 |
| 3.4. Ajuste del modelo semiempírico | 38 |
| 3.5. Espectrometría FTIR y Raman | 41 |
| 3.6. Citotoxicidad en células gingivales | 45 |
| 4. Conclusiones y trabajo a futuro | 47 |
| 4.1. Trabajo a futuro | 49 |

| | |
|---|-----------|
| A. Teoría de Mie | 51 |
| A.1. Esparcimiento de radiación EM por partículas esféricas | 51 |
| A.1.1. Fundamentos | 51 |
| A.1.2. Construcción de los vectores armónicos esféricos | 53 |
| A.1.3. Radiación esparcida: Coeficientes de Mie | 55 |
| B. Ajuste semiempírico | 59 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| 1.1. Número de publicaciones relacionadas con nanomateriales (izquierda) y con su toxicidad (derecha) en el periodo de 1990 a 2005 [47]. | 2 |
| 1.2. Representación esquemática de nanomateriales según su clasificación. | 2 |
| 1.3. Cálculo de energía superficial (a), área superficial (b), energía de enlace (c) y temperatura de fusión (d) como función del tamaño de partícula para el oro [50]. | 4 |
| 1.4. Costados: vitrales del Museo de Vidrio Tintado Británico. En el centro se presentan la composición, morfología y tamaño de las nanopartículas involucradas en la composición de colores. Imagen publicada por The New York Times el 21 de febrero de 2005 [60]. | 6 |
| 1.5. (a) Representación esquemática de la oscilación de los electrones de una partícula con tamaño menor a λ , la longitud de onda del campo incidente. (b) La geometría de la Au NPs modifica la longitud de onda a la que se presenta el espectro característico de absorbanza del fenómeno resonante [68]. | 7 |
| 1.6. Absorbancia de coloides de nanopartículas de oro en función del diámetro [16]. | 7 |
| 1.7. (a) Esquema cromático del espectro de absorbanza de una nanopartícula esférica de $d = 13 \text{ nm}$, se observa mayor absorción en la región del color verde. (b) Soluciones coloidales de Au-NPs: conforme el tamaño cambia de 5 nm a 90 nm , la región del espectro que absorbe y refleja varía de manera que se observan distintos colores [71]. | 8 |
| 1.8. Secciones transversales calculadas para NPs esféricas de plata en función del diámetro [68]. | 9 |
| 1.9. Espectros de absorción de NPs de plata (a) y oro (b) para $d = 40 \text{ nm}$ [65]. | 10 |
| 1.10. Distribución de la carga eléctrica en la NPs en presencia del campo incidente, cuando $d \ll \lambda$ es uniforme dentro de ella (arriba) y $d < \lambda$ con el campo heterogéneo (abajo) [65]. | 10 |
| 1.11. [65] Ilustración de la acumulación de carga para modos resonantes longitudinal y transversal (a). Coeficientes de absorción calculados para nanobastones de oro para distintas proporciones entre sus lados (b). Espectros de absorción para varios arreglos de NPs esféricas de plata, variando la geometría del aglomerado (c). | 11 |
| 1.12. Representación del proceso de ablación láser. Imagen tomada de [78]. | 12 |
| 1.13. (1) Secuencia de fotografías de la burbuja de cavitación y su desarrollo en el tiempo al irradiar un blanco de Ti con un láser YAG a una presión de 1 atm (2) Evolución de la burbuja de cavitación. Imágenes tomadas de [79]. | 13 |
| 1.14. Esquema del sensor de Au-NPs modificadas con un compuesto a base de ferroceno [68]. | 14 |
| 1.15. Corrimiento de la banda de luz esparcida al modificar el estado de hibridación de ADN con la Au-NP [9]. | 15 |
| 1.16. Corrimiento de la banda de luz esparcida al modificar el estado de hibridación de ADN con Au-NP. [9]. | 16 |

| | |
|---|----|
| 1.17. Representación esquemática de la molécula de POSS-tiol [1]. | 16 |
| 2.1. Representación esquemática del arreglo experimental utilizado en la síntesis por ablación láser en etanol. | 20 |
| 3.1. Gráficas de los valores de RMS contra número de pulsos, para 5 Hz (a) y 10 Hz (b). | 26 |
| 3.2. . Gráficas de los valores de RMS con sus barras de error para 5 Hz (c) y 10 Hz (d). | 26 |
| 3.3. (a) Esquema representativo del incremento de la concentración de los coloides mientras se desarrolla la ablación. (b) Fotografías representativas de un coloide con más de 2000 pulsos recién sintetizado y su degradación tras una hora. | 27 |
| 3.4. Espectros de absorbancia obtenidos al variar la distancia de ablación. | 29 |
| 3.5. (a) Espectros representativos de absorbancia y (b) fotografías de los coloides al variar el número de pulsos. | 30 |
| 3.6. Espectros de absorbancia de varios coloides sintetizados para 10 Hz y 60 mJpuls^{-1} | 31 |
| 3.7. Espectros de absorbancia representativos para las tres concentraciones 0%, 70% y 100% a 5 Hz de repetición de ablación. La gráfica morada de la concentración 0% presenta mayor diferencia a los valores de la tabla 3.1. | 31 |
| 3.8. Espectros de absorbancia representativos para las tres concentraciones 0%, 70% y 100% a 10 Hz de repetición de ablación. | 32 |
| 3.9. Espectros de absorbancia de coloides al 0% y 100% de disolución, medidos días después. Los espectros fueron medidos con el equipo Ocean Optics USB2000 para una pronta comparación. | 33 |
| 3.10. . Micrografías TEM de (a, b) los granos de POSS-tiol disuelto después de ser agitados en ultrasonido por 40 minutos, (c) coloide de Au-NPs en etanol y (d, e) coloide de Au-NPs con POSS-tiol. Se pueden apreciar las cadenas lineales acopladas con los cristales del polímero. La escala gráfica en todas las micrografías son de 100 nm. | 34 |
| 3.11. Estadística y distribución de tamaños de Au-NPs de las micrografías para coloides con etanol para 5 Hz (a) y 10 Hz (b). | 37 |
| 3.12. Estadística y distribución de tamaños de Au-NPs de las micrografías para coloides con etanol y POSS-tiol al 70% para ambas frecuencias de ablación (c y d). | 37 |
| 3.13. Estadística y distribución de tamaños de Au-NPs de las micrografías para coloides con etanol y POSS-tiol al 100% para ambas frecuencias de ablación (e y f). | 38 |
| 3.14. Espectros de Absorbancia teóricos calculados con el programa del apéndice B. | 39 |
| 3.15. Espectros teóricos con $\lambda_{\text{plasmón}}$ cercanas a 536 nm. El ajuste semiempírico se realizó basándose en la distribución de tamaños obtenida de las micrografías. | 40 |
| 3.16. (a) Ajuste del espectro semiempírico y el experimental. (b) Espectro de extinción calculados para Au-NPs monodispersas y (c) agrupadas en cadenas lineales. | 41 |
| 3.17. Espectros FTIR del polímero (curva gris), del coloide sin polímero (curva negra) y al 70% de concentración (curva morada). Se añadieron etiquetas de las bandas presentes en el polímero y la atmósfera. | 42 |
| 3.18. Espectro Raman del depósito de los coloides analizados (curva roja) y el polímero (curva azul y verde). Es notoria la gran señal que dio la carbonización de la muestra, la cual apantalla el resto de las componentes. | 43 |
| 3.19. Ampliación de los espectros Raman cercanos al intervalo 0 - 1100 cm^{-1} . Se observan señales definidas del polímero en polvo, pero se pierde la información de las señales del coloide carbonizado (curva roja). | 44 |

| | |
|---|----|
| 3.20. Ampliación de los espectros Raman cercanos al intervalo 2500 - 3800 cm^{-1} . Se observa la señal del tiol con muy baja intensidad para el polímero en polvo. | 44 |
| 3.21. Curva dosis-respuesta de las distintas muestras en contacto con los coloides de Au-NPs. No se observa actividad citoestática, al modificar la dosis. | 46 |
| B.1. Desarrollo del programa elaborado en Mathematica9. Se anexan ejemplos de cálculos para NPs de 1 - 50 nm | 61 |

Capítulo 1

Introducción

La nanociencia es una de las áreas más prometedoras de la ciencia y tecnología moderna, donde se trabaja con elementos del orden de una millonésima parte de un milímetro. Para ello se han desarrollado técnicas que permiten elaborar y manipular materiales a esas escalas, algunas tan sofisticadas que posibilitan el manejo de la materia átomo por átomo.

1.1. La relevancia de la nanociencia

Las propiedades de los nanomateriales han generado un gran interés en industrias como: productoras de cerámicas, metalurgia, fabricantes de láminas delgadas, electrónica, relacionadas con materiales magnéticos y dispositivos ópticos, catálisis, almacenamiento de energía y biomedicina ([1]- [46]). Algunas de las ventajas de los nanomateriales se enlistan a continuación:

- Al variar el tamaño y geometría de los materiales nanométricos sus propiedades de superficie y ópticas se modifican de manera que con un mismo material es posible tener diversas características para las aplicaciones antes mencionadas ([58]- [62], [4]- [46]).
- Una gran cantidad de avances reportados en nanotecnología están relacionados con mejorar la eficiencia de dispositivos que permiten un uso sustentable de la energía así como remediación ambiental ([30], [35]- [38], [41]- [46]).
- Permiten generar un valor agregado a productos y desechos locales lo que favorece el desarrollo económico. Un ejemplo de lo anterior es la producción de nanopartículas de óxido de silicio a partir de residuos de cáscara de arroz [45].
- Las recientes aplicaciones y productos creados a partir de nanomateriales suelen tener soluciones innovadoras a problemas no resueltos anteriormente como la dosificación localizada de fármacos ([10], [20]- [22], [30], [31]) y optimización de técnicas de sensado como la espectroscopia Raman amplificada por superficie (SERS) ([13]- [14]).

Por lo anterior se ha observado un importante aumento en la cantidad de publicaciones científicas relacionadas con la nanotecnología. En la [Figura 1.1](#) se puede observar el incremento en el número de publicaciones en el periodo entre los años 1990 y 2005, y el incremento de publicaciones acerca de su toxicidad en la [Figura 1.1.b](#).

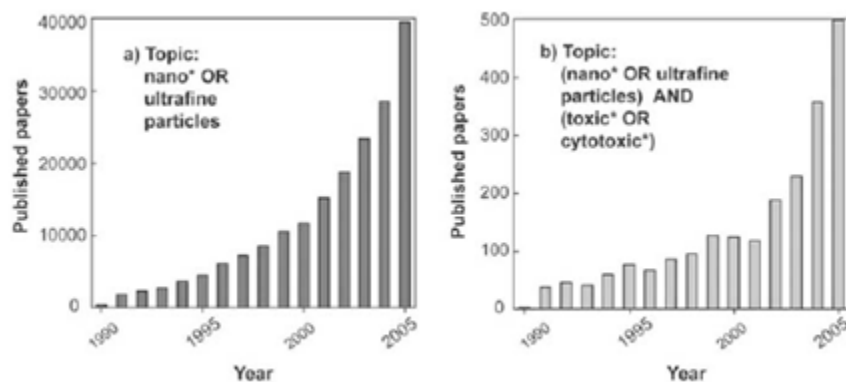


Figura 1.1: Número de publicaciones relacionadas con nanomateriales (izquierda) y con su toxicidad (derecha) en el periodo de 1990 a 2005 [47].

1.2. Propiedades de los nanomateriales

Para que un material se considere nano, debe contar con al menos una dimensión que pertenezca a la escala nanométrica. Pokropivny y V. V. Skorokhod [48] proponen una clasificación según el número de dimensiones que se encuentran fuera de esta escala: 0-D para aquellos con todas sus dimensiones dentro de la escala (ej. nanopartículas esféricas); 1-D y 2-D donde se presentan una o dos dimensiones mayores a 100 nm respectivamente (ej. nanotubos y películas delgadas) y 3-D en los que el sistema completo puede sobrepasar la escala, pero sus componentes o granos son nanométricos. En la Figura 1.2 se puede observar una representación esquemática de esta clasificación.

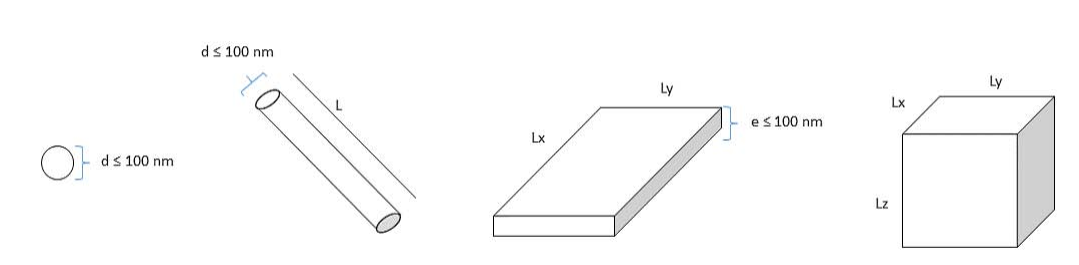


Figura 1.2: Representación esquemática de nanomateriales según su clasificación.

Otra clasificación de los nanomateriales según su composición, refiere a:

- Dendrímeros: son polímeros de forma bien definida, construidos a partir de unidades ramificadas. La superficie de un dendrímero tiene numerosos extremos de cadena que se pueden adaptar para desempeñar funciones específicas.
- Compositos: se combinan las nanopartículas iniciales con otras de distinto material formando un compuesto heterogéneo; con uno de mayor tamaño se puede efectuar la función de semilla precursora. Por ejemplo las fibras de kevlar, que cuentan con una gran dureza y son ligeras.
- Basados en carbono y en metales: se incluyen a los puntos cuánticos, nanopartículas de oro y plata, y óxidos metálicos como el dióxido de titanio.

Muchas de las propiedades de los materiales dependen de cómo se comportan y distribuyen sus electrones así como la forma en la que están ordenados sus átomos. En un material nanométrico el movimiento de los electrones está limitado por sus dimensiones, por lo que se pueden presentar comportamientos ópticos y electrónicos que no se observan en estos materiales en bulto [49]. Así mismo la fracción de átomos que se encuentran en la superficie de las nanoestructuras es significativamente mayor al compararlas con microestructuras o el bulto, ocasionando cambios drásticos en los efectos de superficie. Algunos de los principales efectos ópticos y de superficie observados en nanomateriales se discuten a continuación.

1.2.1. Propiedades superficiales

Se ha mencionado que la reactividad de los materiales se encuentra en su superficie, donde se observa que el aumento del número de átomos relativo en la superficie a medida que se reduce su tamaño incrementa la energía libre disponible en la superficie y su tendencia a combinarse. Respecto a la relación de superficie por unidad de volumen un ejercicio útil para visualizar su variación al disminuir la escala es pensar en un material con geometría esférica. Para una esfera de radio r , área $4\pi r^2$ y volumen $4\pi r^3/3$, la razón del área superficial y volumen de una esfera de diámetro $d = 2r$, es proporcional a un factor $6/d$; conforme se disminuye su diámetro, aumentará su área superficial relativa.

Los átomos de la superficie son termodinámicamente metaestables, de manera que ligeras perturbaciones modifican al sistema que en ocasiones de manera probabilística es capaz de formar estructuras complejas, es decir, de autoensamblarse.

Un parámetro útil para describir cómo se comportan los átomos en la superficie es el número de coordinación, el cual se define como el número de átomos vecinos inmediatos en una red. Este parámetro es de gran utilidad para referir su reactividad y su estabilidad estructural. De esta definición se puede observar que en la superficie se tiene un número de coordinación menor que en el interior de la nanopartícula, lo que genera una menor energía de enlace por átomo al reducir su tamaño ([49], [50]), como se muestra en la Figura 1.3.a, Figura 1.3.b y Figura 1.3.c [50]. En consecuencia, el nanomaterial presenta un punto de fusión que es menor al que tiene en microestructura, y éste a su vez menor al que se tiene en bulto. Este comportamiento se puede observar en la Figura 1.3.d.

1.2.2. Propiedades ópticas (efectos cuánticos)

Como ya se mencionó, al reducir el tamaño del sistema las propiedades ópticas a escalas nanométricas se modifican. En particular, para los metales y algunos semiconductores se observa que al incidir una onda electromagnética para determinadas longitudes de onda se presentan oscilaciones colectivas de sus electrones libres conocidas como plasmón de superficie, que de excitarse con la frecuencia adecuada genera una fuerte absorción óptica por la resonancia del plasmón (SPR por sus siglas en inglés) ([64], [66]- [70]). La longitud de onda característica en la que se presenta este fenómeno depende del tamaño y la forma de la nanopartícula.

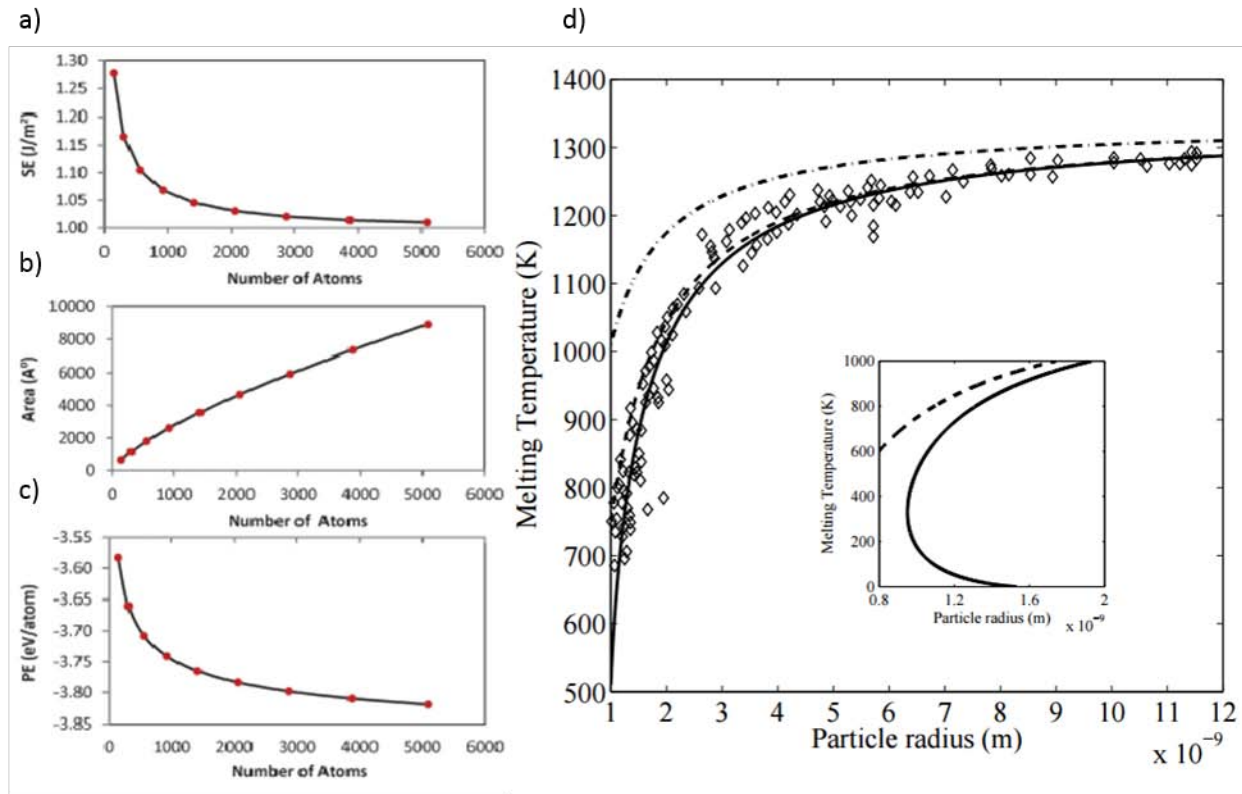


Figura 1.3: Cálculo de energía superficial (a), área superficial (b), energía de enlace (c) y temperatura de fusión (d) como función del tamaño de partícula para el oro [50].

Como consecuencia de esta oscilación colectiva la forma en la que se absorbe, transmite y refleja la luz cambia con respecto a este mismo material en bulto. Otras propiedades físicas de las nanopartículas originadas por los efectos cuánticos son:

- Fotoluminiscencia.
- Conversión de algunos compuestos metálicos en semiconductores (ZnO , SiO); algunos semiconductores se convierten en aislantes.
- Incremento de la absorción de la radiación solar con la disminución del tamaño de la nanopartícula.
- Elevada conductividad eléctrica y térmica de algunas nanopartículas (Ag), baja conductividad eléctrica y térmica de otras nanopartículas (Au).
- Modificación de las densidades electrónicas alrededor de las nanopartículas.
- Súper paramagnetismo (Fe , Co , Ni).
- Ferrofluides.
- Cambio de las propiedades magnéticas de materiales como: Fe , Co , Ni , Fe_3O_4 , en los que varía el momento magnético con el tamaño de la nanopartícula.

Hasta aquí se han descrito las principales características de los nanomateriales y su importancia. En las siguientes subsecciones se discutirán las características y relevancia de las nanopartículas estudiadas en este trabajo: nanopartículas coloidales de oro.

1.3. Importancia e interés en las nanopartículas coloidales de oro

La obtención de nanopartículas (NPs) metálicas estables coloidales ha sido un área muy activa de investigación. Las nanopartículas más estudiadas son las de metales nobles: oro, plata, platino y paladio. En particular, en las nanopartículas de oro (Au-NPs) destacan sus peculiares propiedades ópticas.

La implementación de Au-NPs se remonta al imperio romano donde se utilizaba para modificar el color de vidrios utilizados en artesanías. Posteriormente, se usó para dar color a vitrales por ejemplo, el color rojo de los vitrales de algunas catedrales góticas medievales [60], como los que se aprecian en la Figura 1.3. Estos vitrales contienen nanopartículas de oro que poseen el tamaño y la geometría adecuada (10-60 nm), para absorber los fotones correspondientes a las longitudes de onda de la luz azul y verde y reflejar el rojo.

En la actualidad las nanopartículas de oro tienen múltiples aplicaciones. Un ejemplo de ello es la terapia fototérmica, donde las Au-NPs son activadas en presencia de luz láser y se generan importantes gradientes de calor, por lo que actúan como nano-calefactores en zonas bien localizadas. Éste fenómeno da base a nuevas terapias médicas que aprovechan el agudo gradiente de temperatura para la activación molecular o incineración de membranas ([10], [16]). Las Au-NPs y sus arreglos estructurados son actualmente fuente de atención debido a sus propiedades ópticas, eléctricas y catalíticas inusuales. Para la implementación de estas aplicaciones es de gran importancia que las Au-NPs sean estables y su superficie sea adecuada para el uso específico deseado, es decir que esté funcionalizada.

En la siguiente sección se discute la propiedad óptica de las Au NPS de mayor interés para este trabajo, el efecto de plasmón de resonancia.

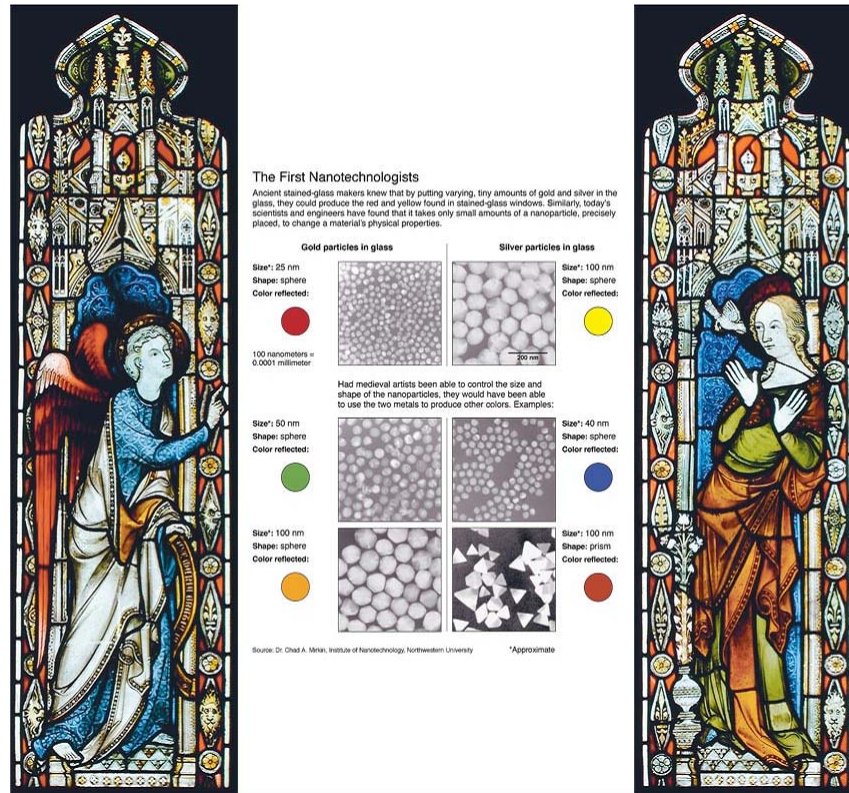


Figura 1.4: Costados: vitrales del Museo de Vidrio Tintado Británico. En el centro se presentan la composición, morfología y tamaño de las nanopartículas involucradas en la composición de colores. Imagen publicada por The New York Times el 21 de febrero de 2005 [60].

1.3.1. Propiedades ópticas de las Au-NPs: Efecto de resonancia de plasmón.

Al incidir luz sobre una Au-NP la resonancia produce una oscilación dipolar de la carga, por lo que la nube electrónica se polariza como consecuencia del campo eléctrico que genera la luz incidente, perpendicular a la dirección de propagación del haz de luz, como se representa en la figura [Figura 1.5.a](#). Se tiene como condición para la resonancia que el tamaño de las nanopartículas sea considerablemente menor que la longitud de onda de la radiación incidente, $d \ll \lambda$ siendo d el diámetro de la partícula y λ la longitud de onda incidente, ambas expresadas en nanómetros (nm).

Este efecto como se ha mencionado anteriormente es conocido como resonancia de plasmón de superficie (SPR) y genera un espectro de absorción característico como el que se muestra en la [Figura 1.5](#).

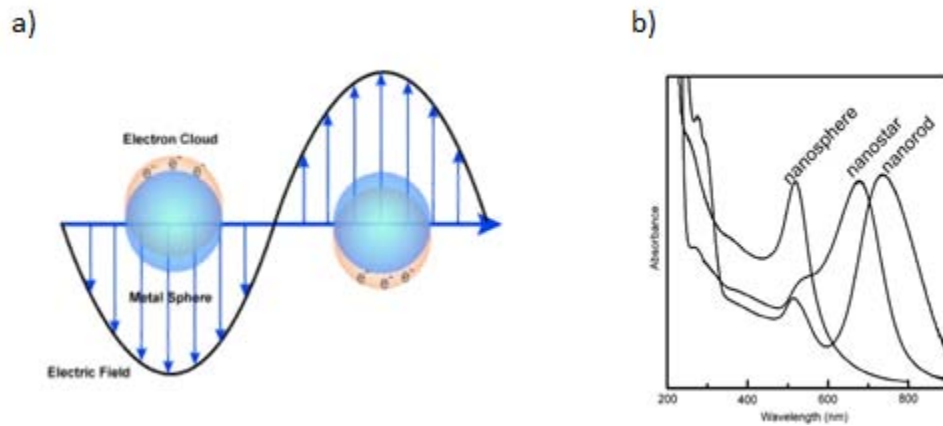


Figura 1.5: (a) Representación esquemática de la oscilación de los electrones de una partícula con tamaño menor a λ , la longitud de onda del campo incidente. (b) La geometría de la Au NPs modifica la longitud de onda a la que se presenta el espectro característico de absorbancia del fenómeno resonante [68].

Si la oscilación está contenida en la nanoestructura del material (ej, en una nanopartícula), se le llama resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR por sus siglas en inglés).

1.3.2. Dependencia de los espectros con la geometría y el medio que rodea a las NPs

Para las Au NPs esféricas con diámetro $d < 20$ nm, el ancho de banda del plasmón, relacionado con su espectro de absorción, disminuye conforme aumenta su tamaño. Cuando el diámetro es $d > 20$ nm, el pico de absorción se va ensanchando y se observa a mayores longitudes de onda, como se muestra en la Figura 1.6. A un mayor tamaño de nanopartícula se pueden producir multipolos y la oscilación adquiere mayor complejidad.

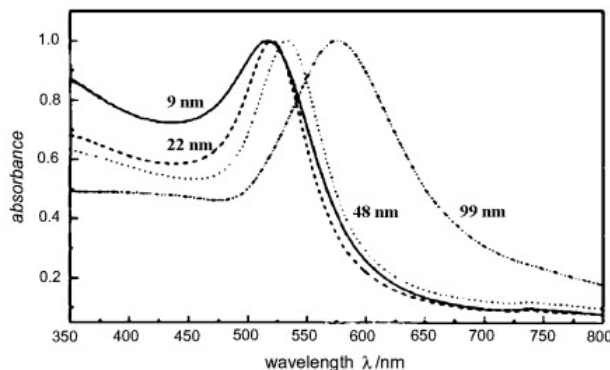


Figura 1.6: Absorbancia de coloides de nanopartículas de oro en función del diámetro [16].

En una dispersión coloidal de Au-NPs esféricas con la condición $d < 20$ nm la LSPR genera una fuerte absorción de la luz en la zona visible del espectro electromagnético de color verde $\lambda = 500 - 600$ nm y refleja luz con $\lambda \approx 700$ nm, lo que otorga un color rojo intenso a la disolución.

En la [Figura 1.7](#) se aprecia una representación cromática del espectro de absorbancia de las Au-NPs en función de la longitud de onda, y cómo el tamaño de partículas modifica la apariencia macroscópica de la disolución, en un intervalo de 5 nm a 90 nm de diámetro.

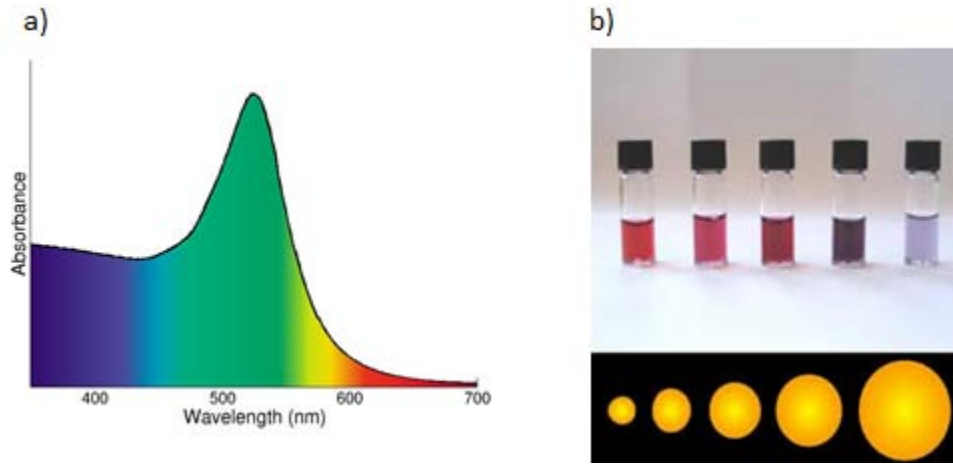


Figura 1.7: (a) Esquema cromático del espectro de absorbancia de una nanopartícula esférica de $d = 13 \text{ nm}$, se observa mayor absorción en la región del color verde. (b) Soluciones coloidales de Au-NPs: conforme el tamaño cambia de 5 nm a 90 nm , la región del espectro que absorbe y refleja varía de manera que se observan distintos colores [\[71\]](#).

Para un mismo tamaño de nanopartícula el espectro de absorbancia es modificado si el medio presenta un índice de refracción diferente, como se observa en el vector de onda k de la ecuación 1.1. Es decir, la respuesta plasmónica es sensible a la modificación del medio que rodea a la nanopartícula. Por lo anterior, las nanopartículas de oro pueden servir como sensores. En este trabajo de investigación se plantea el estudio de nanopartículas coloidales de oro con geometría esférica. Si se considera un sistema nanométrico en la escala mesoscópica con Au-NPs esféricas de diámetro $d < 20 \text{ nm}$, se puede utilizar satisfactoriamente la teoría de Mie (1908), la cual ofrece una solución analítica y exacta de las ecuaciones de Maxwell para estudiar la dispersión y absorción de la radiación electromagnética producida por estas partículas. El desarrollo matemático detallado de esta teoría se presenta en el apéndice A.

La energía absorbida y dispersada puede aproximarse al calcular la sección transversal de extinción $C_{ext}(\lambda)$ dependiente de la longitud de onda, que define la energía perdida en la dirección de propagación de la luz incidente [\[64\]](#). En este caso la resonancia del plasmón de superficie se produce para un valor máximo de $C_{ext}(\lambda)$ definida por a_n y b_n , coeficientes de Mie como lo describe la ecuación 1.1 desarrollada en el apéndice A:

$$C_{ext}(\lambda) = \frac{2\pi}{k^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \text{Re}(a_n + b_n) \quad (1.1)$$

donde el coeficiente de extinción $C_{ext}(\lambda)$ se muestra como función del tamaño de nanopartícula. Para NPs tanto de plata como de oro, con un diámetro $d < 60 \text{ nm}$, la sección transversal de dispersión es despreciable comparada con la sección transversal de absorción, por lo que sólo se consideran fenómenos de absorción asociados a $C_{ext}(\lambda)$.

Con el cálculo de $C_{ext}(\lambda)$ mediante la teoría de Mie se puede tener una buena aproximación del espectro de absorbancia relacionado con la respuesta plasmónica, por ejemplo para la plata [Figura](#)

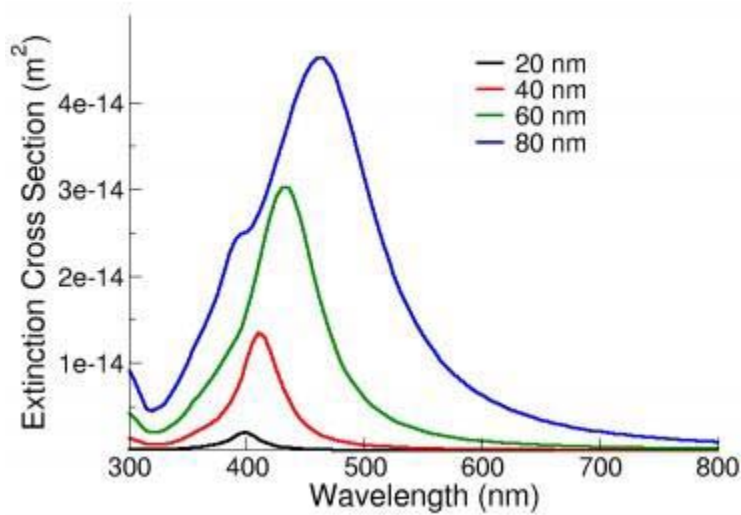


Figura 1.8: Secciones transversales calculadas para NPs esféricas de plata en función del diámetro [68].

ra 1.8. Sin embargo, para una correcta interpretación de los espectros de absorción de Au NPs coloidales es necesario tomar en cuenta otros fenómenos. Debido a la estructura atómica de cada elemento, si la radiación incidente es tal que sitúe al sistema en un estado electrónico excitado, habrá una absorción característica de la transición entre sus niveles energéticos. Estas transiciones electrónicas llamadas transiciones interbandas, dependen exclusivamente de la configuración del sistema. Para el oro estas bandas de absorción se encuentran en la región ultravioleta, con $\lambda < 400 \text{ nm}$.

En la Figura 1.9.a se muestra cómo afectan las transiciones interbandas en el espectro de absorción de nanopartículas de plata y oro [65]. Para el caso de la plata, el modo resonante principal y el asociado a transiciones interbandas son distinguibles al tener bandas de absorción separadas por cientos de nanómetros de la banda de absorción asociada a la respuesta plasmónica. Sin embargo, para el oro se tiene que la absorción de longitudes de onda cercanas a 400nm es un efecto acoplado entre las transiciones y la resonancia plasmónica, por lo que se debe tomar en cuenta al interpretar su espectro de absorción.

Una ventaja de la geometría isotrópica de las Au-NPs esféricas es el reducido número de grados de libertad en los que la LSPR puede resultar. Como se discutió al principio de esta subsección, la incidencia de la onda electromagnética es la que determina el modo de oscilación de los electrones, pero esta condición se debilita conforme el sistema crece. Para NPs esféricas con $d < \lambda$, aumenta la probabilidad de que el nodo de la onda se encuentre dentro de la partícula, generando un campo heterogéneo dentro de la misma, como se observa en la Figura 1.10. Esto modifica la respuesta de la nube electrónica según la posición, complicando la superposición de los campos y con ello la respuesta óptica del sistema.

Dicho cambio de fase tiene mayor presencia para partículas con $d > 80 \text{ nm}$. A su vez, si la NP no presenta una geometría isotrópica, también presentará resonancias en otras longitudes de onda. Por ejemplo, para nanopartículas 1-D (Nanobastones) se observa una banda de absorción

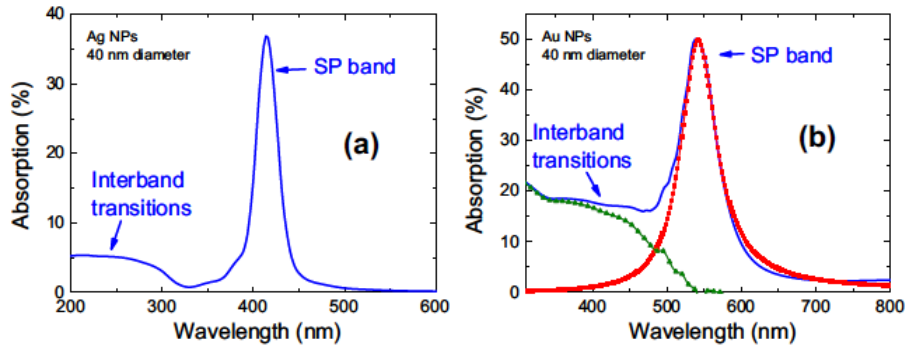


Figura 1.9: Espectros de absorción de NPs de plata (a) y oro (b) para $d = 40 \text{ nm}$ [65].

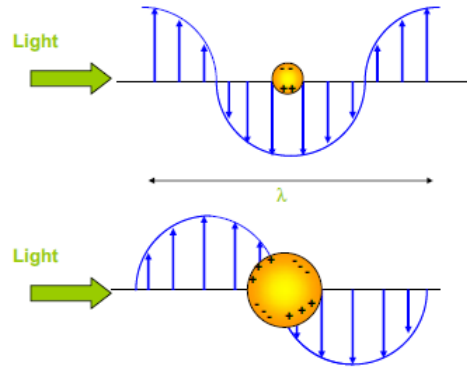


Figura 1.10: Distribución de la carga eléctrica en la NPs en presencia del campo incidente, cuando $d \ll \lambda$ es uniforme dentro de ella (arriba) y $d < \lambda$ con el campo heterogéneo (abajo) [65].

similar a la de las nanopartículas esféricas y la presencia de otra banda en una región a mayores longitudes de onda relacionada con otros modos vibracionales. Ya sea por la estructura de cada NP, o por el arreglo mesoscópico en el que se encuentren, la respuesta óptica se verá modificada con distintas regiones de máximos locales de absorción, como se muestra en la [Figura 1.11](#).

Es posible comparar las gráficas (b) y (c) y observar que la respuesta óptica de absorción es similar cuando se trata de NPs nanobastones y cuando se tienen cadenas lineales de NPs esféricas, aunque en ambos casos nos encontremos en el régimen $d \ll \lambda$. Este fenómeno se utilizará para discutir las diferencias entre el ajuste semiempírico y los datos experimentales del capítulo 3.

Hasta aquí se discutieron las propiedades ópticas de mayor interés de nuestro sistema de estudio y sus características. Existen otras propiedades determinantes para una exitosa implementación en el uso de Au NPs, su estabilidad y funcionalización, que se discuten a continuación.

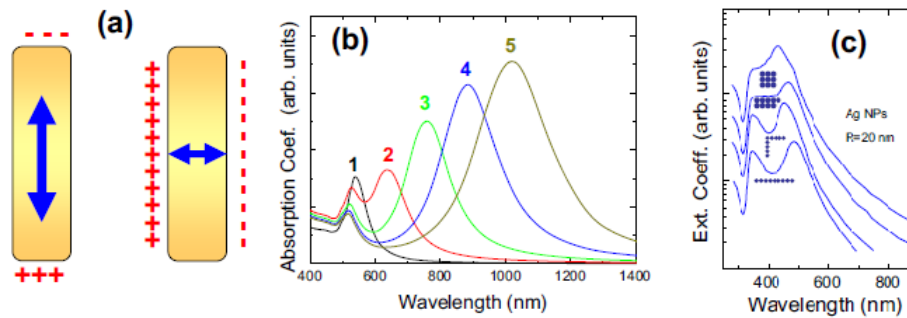


Figura 1.11: [65] Ilustración de la acumulación de carga para modos resonantes longitudinal y transversal (a). Coeficientes de absorción calculados para nanobastones de oro para distintas proporciones entre sus lados (b). Espectros de absorción para varios arreglos de NPs esféricas de plata, variando la geometría del aglomerado (c).

1.4. Estabilidad y funcionalización de los coloides

Al tener las NPs descubiertas, el riesgo estimado de contaminarse por más especies es alto debido a su elevada reactividad. De forma adicional las nanopartículas coloidales en un sistema con una dinámica Browniana tienden a agruparse espontáneamente como bloques para construir estructuras de mayor tamaño aglomerándose y modificando sus propiedades nanométricas. Es por ello que para la implementación de Au-NPs coloidales, es fundamental el control de su agregado. Dentro de los métodos utilizados para reducir la energía de superficie se encuentra la adsorción de especies terminales químicas. Éstas especies terminales originan enlaces químicos o fuerzas de atracción débiles como las fuerzas de Van der Waals y las fuerzas electrostáticas. La adsorción química origina una restructuración de la superficie de la nanopartícula, la formación de nanocristales procesados, la sinterización y la maduración de Ostwald [51], la cual describe el proceso del cambio de una estructura homogénea con el tiempo en disoluciones. Otro método para reducir la energía de superficie es mediante la estabilización estérica o polimérica, el cual tiene especial interés en la realización de esta tesis, como se comentará en la subsección 1.6.

1.5. Métodos de síntesis

En los últimos años se han desarrollado distintas técnicas de preparación de Au-NPs coloidales, éstas incluyen métodos físicos y químicos (reducción química, calentamiento de soluciones que contengan oro, irradiación láser, semillas precursoras, entre otras [72] - [76]). La vía más frecuente de síntesis de Au-NPs en disolución es la reducción de una sal del metal [73], la cual produce coloides de gran concentración y un alto control tanto en la morfología como en la dispersión de tamaño. No obstante, involucra la presencia de varias especies químicas residuales, lo que incrementa las impurezas del coloide final. Dentro de los diferentes métodos de síntesis destaca la ablación láser por la posibilidad de producir nanopartículas de alta pureza. En esta tesis se propone utilizar este método de síntesis para la obtención de Au-NPs coloidales. A continuación se discuten los aspectos principales de este método de síntesis.

1.5.1. Ablación láser en la fabricación de nanopartículas de oro

La ablación láser es un fenómeno que ocurre cuando un blanco es irradiado por un haz láser con una fluencia adecuada al umbral de ablación del material, lo que provoca su evaporación y la eyección de diferentes especies como: átomos, moléculas y cúmulos fuera del material, como se puede apreciar en el esquema de la [Figura 1.12](#). Entre las ventajas que ofrece este método se tiene una alta pureza de las nanopartículas sintetizadas, morfología esférica, facilidad de implementarlas en distintos disolventes así como su posible funcionalización in-situ, sencillo arreglo óptico y bajo costo de los materiales utilizados. Sin embargo, cuenta con varias desventajas respecto a otros métodos, como la restricción a otro tipo de geometría de la NPs, menor concentración de coloides, menor control en la distribución de tamaños, menor estabilidad de los coloides sintetizados y el requerimiento de un arreglo óptico capaz de superar el umbral de cada material.

Al irradiar un blanco con la fluencia adecuada se produce un plasma frente a la superficie del material irradiado, característico del sistema ([\[77\]](#)-[\[84\]](#), [\[86\]](#), [\[87\]](#)). En particular, para el oro [\[83\]](#) se encontró un umbral de ablación de $0.5 J/cm^2$ si se irradia con un láser Nd:YAG a $1064 nm$ y $10 ns$, como el que se usó para la síntesis de los coloides en el desarrollo de esta tesis.

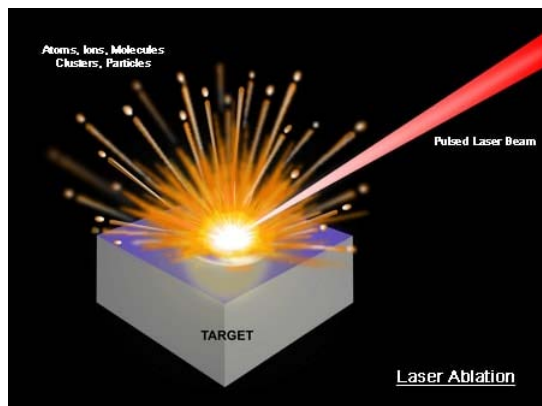


Figura 1.12: Representación del proceso de ablación láser. Imagen tomada de [\[78\]](#).

En el caso de ablación en líquidos, la expulsión de las especies eyectadas está restringida de manera significativa por el confinamiento del ambiente que le rodea. Debido a la transferencia de momento y energía, los plasmas presentan altas temperaturas (del orden de $10^4 K$), ocasionando violentos cambios en la presión, del orden de $1 GPa$ en un tiempo de vida menor a $100 ns$ ([\[77\]](#), [\[79\]](#)-[\[82\]](#), [\[86\]](#), [\[87\]](#)).

Es posible hacer un análisis de la dinámica de las especies eyectadas mediante un análisis del esparcimiento de luz ocasionado por la presencia de Au NPs al incidir otro láser de manera rasante al blanco de ablación para analizar la dinámica de las especies eyectadas como el realizado en [\[80\]](#).

Después de este tiempo el plasma ópticamente emisor desaparece; como consecuencia del incremento de temperatura y presión se genera una onda de choque y por ello, una burbuja de cavitación. Esta burbuja es propia del proceso de ablación láser en líquidos. Sus características como el radio máximo, tiempo e intensidad de la implosión, dependen de las propiedades termodinámicas del medio líquido y del blanco irradiado así como de los parámetros del haz incidente. De manera ilustrativa en la [Figura 1.13](#) se presenta una serie de micrografías que exhiben la evolución de la

burbuja de cavitación generada durante la ablación de un blanco de Ti [79].

La burbuja de cavitación se expande y conforme avanza el tiempo, llega a un máximo de tamaño y empieza a colapsar, como se observa en la Figura 1.13.1. Esto se debe a que el sistema se encuentra en un estado metaestable debido a la diferencia de presión entre el interior de la burbuja (evaporación del material) y su exterior (medio líquido desplazado) ([80], [86], [87]). Al colapsar, el proceso se repite para burbujas de menor tamaño y menor fuerza de impacto. Desde su descubrimiento y planteamiento teórico hasta la fecha, el desarrollo de las burbujas de cavitación ha sido ampliamente estudiado. En la Figura 1.13.2 se observa que el esparcimiento de la luz es mayor en regiones cercanas a la frontera entre la burbuja y el medio líquido, lo que refiere la presencia de las nanopartículas.

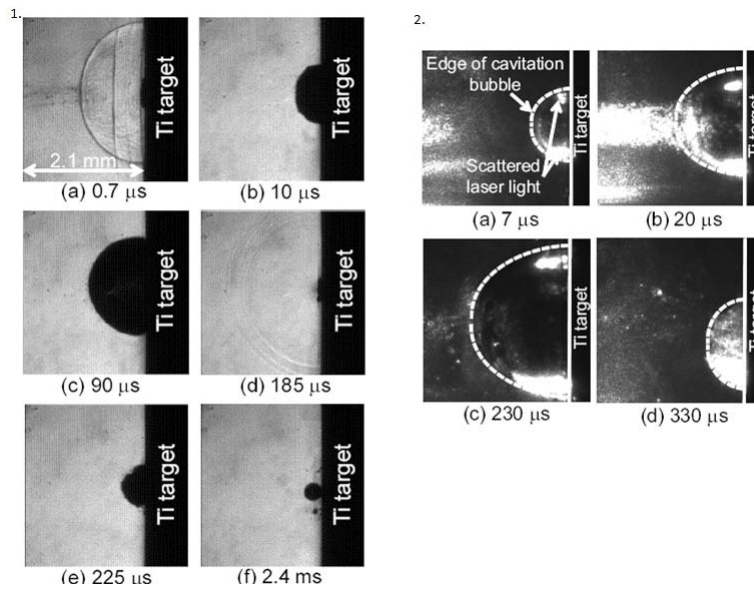


Figura 1.13: (1) Secuencia de fotografías de la burbuja de cavitación y su desarrollo en el tiempo al irradiar un blanco de Ti con un láser YAG a una presión de 1 atm (2) Evolución de la burbuja de cavitación. Imágenes tomadas de [79].

Este resultado sugiere que las partículas eyectadas son transportadas dentro de la burbuja, lo que ocasiona un crecimiento de las mismas. Al llegar a su máxima expansión, la burbuja inicia un proceso de implosión, proyectando partículas fuera y dentro de ella. Cuando la burbuja colapsa de regreso a la superficie del material irradiado, con partículas en su interior, se genera un segundo proceso de ablación. Si se realiza la ablación con pulsos repetidos, es importante que el tiempo entre pulsos sea mayor que el tiempo de relajación de la superficie del blanco, con el fin de tener condiciones similares de pulso a pulso.

El proceso total hasta la segunda implosión de la burbuja de cavitación generada por un pulso tiene una duración promedio del orden de microsegundos, de manera que para una tasa de repetición de 10 Hz, queda una diferencia temporal de 2 órdenes de magnitud para que la superficie del blanco vuelva a un estado termodinámico estable.

Por lo general, las Au-NPs producidas tienen geometría esférica y se obtienen descubiertas, lo

que favorece su aglomeración. Para evitar esto se hace uso de surfactantes, con el inconveniente de que puede cambiar las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas ([1]- [5]). Las Au-NPs obtenidas por ablación láser pueden ser utilizadas para el desarrollo de sensores como se discute en la siguiente sección.

1.6. Aplicaciones de Au-NPs con interés de sensado y sistemas biológicos

Las Au-NPs funcionalizadas se pueden aplicar como marcadores para estudios microscópicos en células biológicas, así como para la detección de interacciones moleculares y biochips, métodos de contraste para técnicas de diagnóstico de enfermedades por imagen y aplicaciones fototérmicas ([7], [8]- [10]).

Como un ejemplo del uso de Au-NPs como medios de contraste, Prashant et. al. [68] implementaron la teoría de Mie y el método de aproximación dipolar para calcular los coeficientes de absorción y esparcimiento, así como su respuesta óptica de Au-NPs esféricas, sistemas de Au-NPs recubiertas de silicio y nanobastones de oro. Se encontró que al incrementar el tamaño de nanopartículas, para partículas mayores de 80 nm de diámetro, la magnitud de la luz esparcida por Au-NPs es 5 órdenes mayor que la emisión emitida por otros marcadores basados en colorantes fluorescentes. Otro ejemplo de aplicación de Au-NPs fue el reportado por Astruc et. al. [61] quienes diseñaron un sensor para iones $H_2PO_4^-$ y HSO_4^- en disolución. Para ello usaron Au-NPs con una mezcla de alcanotioles y amidoferrocenilalcanotiol (AFAT), como se esquematiza en la [Figura 1.14](#).

Encontraron que el potencial redox del grupo ferrocenilo es perturbado por el acomplamiento entre interacciones electrostáticas, puentes de hidrogeno y topología, propios de la NP modificada, de forma que los cambios en el potencial pueden ser utilizados para detectar la presencia de dichos iones en disolución.

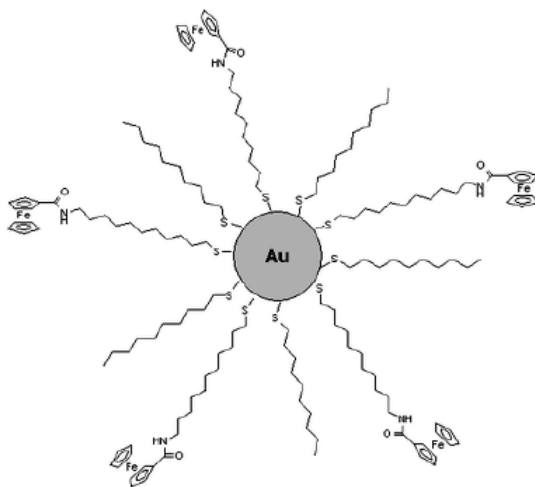


Figura 1.14: Esquema del sensor de Au-NPs modificadas con un compuesto a base de ferroceno [68].

En aplicaciones como biosensado, es común necesitar partículas funcionalizadas. Esta funcionalización implica modificaciones en las características fisicoquímicas y biológicas del material original al usar sustancias acopladas a la nanopartícula, para el desarrollo de una función específica. Los métodos más usados para obtener Au-NPs funcionalizadas son la adición de grupos funcionales a las NPs, como aminas, tioles y grupos carboxilos; el uso de disolventes tales como el polietilenglicol, generalmente acoplado al grupo tiol, así como el uso de biomoléculas más complejas como ARN, ADN, péptidos y anticuerpos ([12]- [23]).

Un ejemplo de lo anterior es el sensor desarrollado por Sönnichsen et. al. [9] en el que usan la respuesta óptica de las NPs para determinar la presencia de la hibridación de ADN, presentada en la Figura 1.15. A partir de la luz esparcida debido a la interacción con el plasmón de las NPs, al variar el entorno de acuerdo al tipo de hibridación, se observa un corrimiento en la longitud de onda referida al máximo esparcimiento.

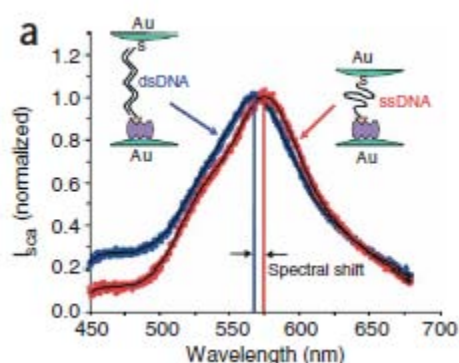


Figura 1.15: Corrimiento de la banda de luz esparcida al modificar el estado de hibridación de ADN con la Au-NP [9].

Previo a este análisis también se estudió el cambio en su respuesta óptica cuando se funcionalizan NPs de oro y plata con estreptavidina y en presencia de la biotina, al colocar el sistema entre dos de las NPs. Se puede observar en los espectros la figura Figura 1.15 una notable diferencia entre las bandas iniciales debido a su acomplamiento en una región muy cercana, entre 500 y 650 nm. En este ejemplo las NPs de plata muestran un mayor corrimiento espectral (del orden de 100 nm) respecto a las del oro (del orden de 23 nm). Sin embargo el oro es químicamente más estable y por su afinidad es más fácil acoplarlo a biomoléculas vía los grupos funcionales $-SH$, $-NH_2$ ó $-CN$.

Entre los surfactantes que recientemente han cobrado mucho interés están las moléculas orgánicas con grupos tioles ($-SH$), dada la gran afinidad química de este grupo por el oro. Por ejemplo, se han empleado una gran variedad de alcanotioles para derivar nanopartículas en disolución [2]. Sin embargo, dentro de las características de los tioles es común su fuerte olor, baja solubilidad en agua, bajo punto de ebullición y alta volatilidad. Es por ello que el acoplamiento con sistemas biológicos puede complicarse.

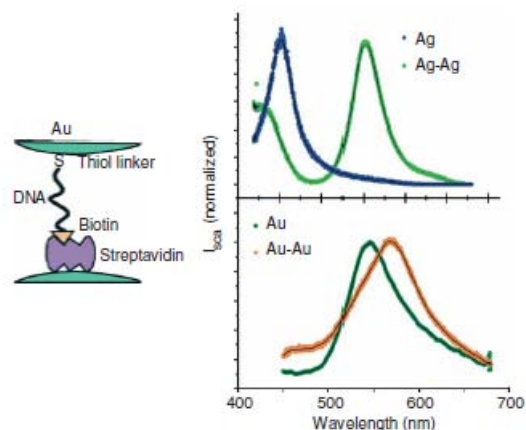


Figura 1.16: Corrimiento de la banda de luz esparcida al modificar el estado de hibridación de ADN con Au-NP. [9].

Dentro de los compuestos que contienen grupos tiolados, de forma reciente se ha utilizado el compuesto polimérico híbrido POSS-tiol (poliedrooligomérico silsesquioxano tiol), para realizar la transferencia de Au-NPs de fase acuosa a una fase con un solvente orgánico así como para la fabricación de monocapas autoensambladas SAMS (por sus siglas en inglés) ([53], [55], [1]).

En la [Figura 1.17](#) se esquematiza la estructura molecular del POSS-tiol. Debido a la parte orgánica de su estructura molecular con grupos metilos presentes, el POSS-tiol se disuelve en sustancias no polares como el tolueno y tiene una baja solubilidad en agua.

Entre las ventajas de usar este compuesto se encuentra su gran estabilidad térmica debido a su estructura interna que consiste en una caja de silicio enlazada a oxígeno, además de que en este polímero la presencia del grupo tiol es inodora [1]. Como se mencionó previamente una de las desventajas de la ablación láser para la fabricación de Au-NPs es su baja estabilidad. Dada la importancia de las Au-NPs, en este trabajo se propone el uso del POSS tiol como un agente estabilizante para coloides de Au-NPs obtenidos mediante ablación láser. De forma adicional se estudiará la viabilidad de funcionalización de estas Au-NPs para potenciales aplicaciones en biosensado.

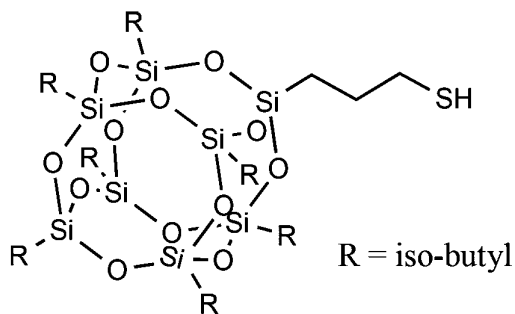


Figura 1.17: Representación esquemática de la molécula de POSS-tiol [1].

1.7. Presentación del trabajo

1.7.1. Motivación del proyecto

Para que la aplicación de las Au-NPs como biosensor sea adecuada, es fundamental tener un control adecuado de la geometría y superficie de las nanopartículas, así como de la estabilidad del coloide. En este trabajo se propone el estudio de la síntesis de Au-NPs mediante ablación láser, con el objetivo de mejorar la estabilidad del coloide utilizando el agente polimérico POSS-tiol durante la síntesis. Se analizará la influencia de algunos parámetros de la ablación láser tales como frecuencia de la repetición de pulsos y la concentración del POSS-tiol en las características ópticas y geométricas de las Au-NPs obtenidas. De manera adicional se estudiará la viabilidad de la funcionalización “in situ” de las Au-NPs coloidales.

Se plantea que las nanopartículas obtenidas puedan ser utilizadas para aplicaciones en sensores de moléculas de interés biomédico. A continuación se presentan los objetivos generales y específicos de este trabajo de investigación.

1.7.2. Objetivos Generales

- Estudiar la síntesis de nanopartículas de oro con el agente polimérico POSS-tiol mediante ablación láser en etanol.
- Analizar la viabilidad de uso de las nanopartículas obtenidas para su aplicación como biosensores coloidales basados en su respuesta plasmónica.

*Objetivos específicos:

- Estudiar la respuesta plasmónica de las nanopartículas de oro coloidales en etanol al agregar POSS-tiol.
- Analizar la influencia de los parámetros de síntesis como la frecuencia de pulso, condición de foco de la ablación, y concentración de POSS-tiol en el comportamiento óptico del coloide y su estabilidad, así como en la geometría de las Au NPs obtenidas.
- Utilizar un modelo con base en la Teoría de Mie para aproximar espectros de absorbancia atribuidos a la respuesta plasmónica, como función del tamaño de partículas.
- Estudiar la viabilidad de funcionalización “in situ” de las nanopartículas.
- Analizar la posibilidad de que los coloides sintetizados puedan ser utilizados como biosensores basados en respuesta plasmónica.

Capítulo 2

Metodología

En esta sección se describe la metodología experimental implementada para la síntesis de las Au-NPs coloidales, así como su caracterización espectroscópica y fotoacústica durante la síntesis. Para complementar este estudio se realizaron cálculos teóricos del espectro de absorbancia esperado al seguir un modelo basado en la teoría de Mie.

2.1. Sistema experimental de síntesis y caracterización *in-situ*

En la sección anterior se comentó la importancia de utilizar disolventes no tóxicos y biocompatibles para el desarrollo de Au-NPs coloidales con aplicaciones en biosensado. El tolueno, al ser un compuesto no polar es mejor disolvente del POSS-tiol con la desventaja de que es tóxico y no biocompatible. Un disolvente comúnmente utilizado en la ablación láser es el agua, que tiene propiedades biocompatibles pero es un mal disolvente del polímero que se desea utilizar al ser una sustancia muy polar. Por ello se decidió usar etanol, que es un solvente menos polar que el agua y con mayor biocompatibilidad que el tolueno. Para mejorar la solubilidad en el líquido base, las disoluciones de POSS-tiol en etanol se sometieron a agitación ultrasónica durante 40 minutos.

Para la síntesis de las Au-NPs coloidales, se implementó un arreglo óptico para enfocar el haz láser de manera que se llegara a la condición de ablación del blanco. El arreglo es utilizado de forma común en este tipo de síntesis ([79], [81], [83]), y se presenta en la Figura 2.1. Un blanco cilíndrico de oro de alta pureza (6 mm diámetro y 8 mm de altura) se colocó dentro de un recipiente tetragonal de vidrio (Corning) de base cuadrada de 2.1 cm y 3.5 cm de alto, con 10 ml de alguna de las tres disoluciones a estudiar: etanol y dos disoluciones de etanol con POSS-tiol. Un tipo de disolución contenía 0.2 mg/ml del polímero en etanol, a esta solución se le llamó 100 %. Una dilución de ésta al 70 % fue la siguiente disolución estudiada. A la solución de etanol sin POSS tiol se le llamó 0 %. El blanco, el disolvente y el polímero utilizado tienen un 99.95 % de pureza, y fueron adquiridas de Sigma-Aldrich.

La fotoacústica es una poderosa herramienta para el análisis de estructuras, especies químicas y cambios de fase dentro de varios materiales [86], que se basa en interacciones fonónicas excitadas por luz láser generando espectros característicos de cada sistema. En este trabajo el análisis fotoacústico se realizó para comparar las señales recibidas durante la ablación láser en presencia del polímero y sin él, y correlacionarlo con la energía incidente en el blanco durante la ablación. En

los experimentos realizados, las vibraciones mecánicas ocasionadas por la energía del impacto del láser al incidir en el blanco generaron una diferencia de potencial en el piezoeléctrico, que se midió mediante un osciloscopio conectado al sistema mediante un cable coaxial. Se adhirió el blanco de oro a un micrófono PZT (aleación de plomo, circonio, titanio) para medir la señal fotoacústica del blanco. El osciloscopio utilizado fue el Tektronix Digital Phosphor Oscilloscope TDS5054B y el sensor piezoeléctrico tiene un rango de respuesta de frecuencias de hasta 600 KHz , con los cuales se obtuvieron las señales Fotoacústicas Pulsadas de Alta Energía (FPAE).

De la extracción de material, se tiene como consecuencia un cráter en la superficie, lo que genera cambios en la misma donde llega el haz láser. Estos cambios pueden generar modificaciones en la distribución de la energía del siguiente pulso que llegue al blanco. Para minimizar este tipo de efectos se procuró realizar la ablación en distintos puntos del blanco. Por lo anterior, el sistema acoplado micrófono-blanco se colocó sobre una mesa de desplazamiento XY que se movía mediante un par de motores micrométricos THOR-LABS, la cual describe una cuadrícula de $4\text{ mm} \times 4\text{ mm}$. También se estableció una condición inicial de superficie, donde se lijó el blanco de oro y se realizó una síntesis previa, antes de producir cada coloide. La captura de las señales y la emisión láser se sincronizaron mediante el uso de un fotodiodo.

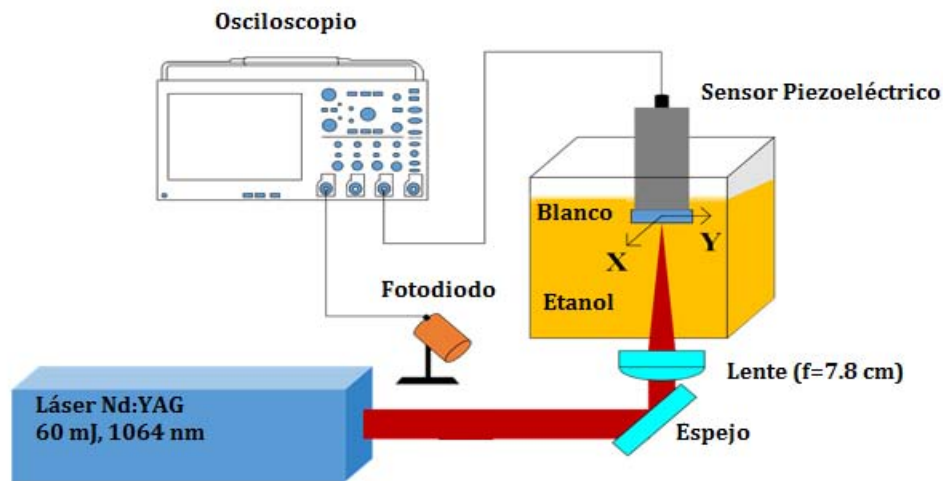


Figura 2.1: Representación esquemática del arreglo experimental utilizado en la síntesis por ablación láser en etanol.

La radiación incidente se generó mediante un láser Surelite Continuum III en el modo Q-switch, que emite pulsos gaussianos con un ancho de 7 ns a FWHM y una apertura de $265\text{ }\mu\text{s}$ para el Q-switch con una alimentación de 1.47 kV . Estas condiciones son las que optimizan la emisión láser, con una mayor energía y un perfil temporal más estable. Se seleccionó la región central del haz con un diafragma de 2 cm de apertura para mejorar la estabilidad de la emisión por pulso. El láser cuenta con un generador de frecuencias, con el que se seleccionaron emisiones a 5 y 10 Hz , con un parámetro fijo de energía por pulso de 60 mJ . Para la regulación de la energía, se utilizó un atenuador de cuarzo y se implementó un separador de onda para distinguir el primer armónico y seleccionar la longitud de onda de 1064 nm . De irradiarse con el segundo armónico

de 532 nm se podría favorecer una mayor interacción con las nanopartículas de oro formadas, ya que se encuentra en la región de la respuesta plasmónica típica como se mencionó en la sección anterior donde el haz incidente es absorbido por las Au-NPs, y se reduciría considerablemente la energía incidente al blanco.

Posterior al atenuador, se colocó un telescopio compuesto por una lente plano-convexa y otra convergente para expandir el haz y disminuir la fluencia de cada pulso sobre la cubeta. Con el haz expandido, el riesgo de daño a la cubeta se redujo. Finalmente, el haz fue reflejado al blanco con un espejo para la longitud de onda de 1064 nm y enfocado con una lente de distancia focal de 7.8 cm. Para estudiar el efecto de la distancia focal se realizaron síntesis a distintos valores de la distancia entre la lente y el blanco (7.7, 7.8 y 7.9 cm) para realizar estudios de la producción de los coloides. A la condición con el blanco situado justo en el foco del sistema lente-cubeta-etanol, se le llamó $z = 0$, donde $z = 1$ y $z = -1$ corresponden a 7.9 y 7.7, respectivamente. Se sintetizaron coloides en las tres condiciones, y se compararon sus espectros de absorbancia y su estabilidad temporal para definir la condición óptima.

El número total de pulsos usados fueron 2000 para ambas frecuencias de 5 y 10 Hz, por lo que el tiempo de síntesis fue de 8:40 minutos y 4:20 minutos respectivamente. Tras finalizar la ablación, se extrajo el coloide producido con pipetas Pasteur y se introdujo en viales de vidrio cubiertos de papel aluminio para evitar modificaciones de los coloides debidas a su fotosensibilidad.

2.2. Caracterización *ex-situ*

Los coloides fabricados por ablación láser fueron caracterizados por técnicas microscópicas y espectroscópicas. Para el estudio de la morfología y tamaño promedio de las Au-NPs obtenidas se obtuvieron micrografías mediante Microscopía de Transmisión de Electrones (TEM), realizada en el Laboratorio Central de Microscopía del Instituto de Física, UNAM. Se analizaron las micrografías obtenidas con el software ImageJ para la estadística de diámetro de la Au-NPs. Una vez extraídos los datos, fueron graficados como distribuciones de frecuencia de datos y analizados estadísticamente con el software OriginPro 8. Para el análisis se tomó en cuenta el valor medio y el error experimental.

La respuesta plasmónica asociada al espectro de absorbancia de las Au NPs fue medida por espectroscopia UV-Vis. Se midió el pico máximo de absorbancia, determinando la longitud de onda en el punto medio de la recta al 98 % del valor de absorbancia del plasmón. Para establecerlo se tomó el valor de absorbancia con el mínimo local próximo (450-480 nm) como el 0 %, y el 100 % como el valor de absorbancia máximo de la banda (500-600 nm). Así mismo, los coloides preparados fueron medidos durante varios días para realizar un estudio de la estabilidad temporal de la respuesta plasmónica.

La posible funcionalización de las Au-NPs con el POSS-tiol fue caracterizada por espectroscopia Raman e Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Las espectrometrías FTIR y Raman son técnicas de caracterización que se utilizan para detectar absorción de luz debida a la excitación de estados vibracionales de las moléculas, donde cada banda de absorción es asociada a un enlace químico. Como evidencia de la funcionalización se estudió el comportamiento del enlace tiol (-SH). Este enlace tiende a perder el H y enlazarse al oro formando en ocasiones un enlace casi tan fuerte

como un enlace covalente ([1], [3]). El grupo tiol presenta una banda característica cercana al número de onda 2556 cm^{-1} en ambas técnicas. El etanol presenta una señal intensa y bien definida tanto en FTIR como en Raman, por lo se tomó su señal como una línea base.

Las muestras medidas fueron preparadas con gotas del coloide sobre sustratos limpios de vidrio Corning. Al secarse la gota las componentes sólidas se distribuyen de manera heterogénea sobre la superficie, concentrándose en la orilla. A este efecto se le conoce como “coffee stain”. Las mediciones de FTIR y Raman se realizaron sobre las orillas donde se encontraba mayor concentración del material de granos de POSS-tiol con Au-NPs. Los métodos de caracterización por espectroscopía UV-Vis-NIR, FTIR y Raman fueron realizados en el Laboratorio Universitario (LUCE) dentro del Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico (CCADET). Los parámetros relevantes en cada medición se enlistan al final de esta sección.

Por último, se realizó el estudio de citotoxicidad con la ayuda del Dr. René García en ENES León, UNAM, en cultivos controlados de fibroblastos gingivales (células de encía) para determinar las diferencias de citotoxicidad entre los coloides de distintas concentraciones de polímero disuelto.

2.3. Ajuste teórico de espectros de absorción experimentales mediante teoría de Mie

Para complementar el análisis espectroscópico UV-Vis se desarrolló un modelo auxiliar semiempírico con base en los cálculos de la sección eficaz de extinción $C_{ext}(\lambda)$ a partir de la teoría de Mie, junto con la aproximación propuesta en [69] donde se relaciona explícitamente la absorbancia medida en un espectrómetro UV-Vis y la absorción teórica del modelo electromagnético. La diferencia entre los conceptos de absorbancia y absorción radica en que la absorbancia incluye los fenómenos de absorción y esparcimiento del haz de luz que se usa en el espectrómetro, para obtener la razón entre las intensidades incidente y transmitida por la muestra. Haiss, Thanh et al. proponen la siguiente ecuación:

$$A = \frac{\pi R^2 Q_{ext} d_0 N}{2.303} \quad (2.1)$$

donde los parámetros R , d_0 y N son el radio de la NP, la anchura (cubeta de cuarzo de 1 cm) y la concentración del coloide analizado y Q_{ext} el coeficiente de extinción que se obtiene a partir de la ecuación 1.1 (se presenta en el apéndice A). El programa que se usó para los espectros semiempíricos fue realizado con el software Mathematica 9 y su desarrollo se presenta en el Apéndice B.

2.4. Detalles del equipo y parámetros en las técnicas espectroscópicas

- Para la espectroscopía de absorbancia, se utilizó el espectrofotómetro Cary 5000 UV-Visible-NIR de la marca Agilent Technologies, con un barrido de la longitud de onda entre 200 nm y 800 nm , una resolución de 0.5 nm y 3 ml de cada coloide dentro de una cubeta de cuarzo especializada para el equipo, de ancho de 1 cm . Este último dato es importante ya que es uno de los parámetros contemplados para el ajuste con el modelo teórico experimental.
- Para la espectroscopía FTIR, el equipo FT-IR Nicolet iS50R de la marca Thermo Scientific con el aditamento Smart iTX en el modo de reflectancia total atenuada (ATR), con un barrido espacial de un haz de 740 nm de longitud de onda, sobre una cuadrícula alrededor de la frontera de la gota, y cada medición fue otro barrido sobre números de onda de 600 - 4000 cm^{-1} .
- Para la espectroscopía Raman, se utilizó el Microscopio Confocal Raman acoplado a Microscopio de Fuerza Atómica Alpha 300AR de la marca WITec, con dos longitudes de onda de excitación (785 nm y 532 nm) enfocado sobre la frontera de la gota seca. Las potencias utilizadas variaron dentro del rango de 0.5 y 9 mW , a lo largo de un barrido de 300 - 3500 cm^{-1} para los números de onda.

Capítulo 3

Resultados y análisis

En esta sección se presentarán los resultados experimentales obtenidos mediante las técnicas ya descritas, así como su análisis y comparación con los resultados esperados según la literatura. Primeramente se mostrarán los resultados de la producción de Au-NPs coloidales, posteriormente los de su respuesta óptica plasmónica y al final la viabilidad de su uso como biosensor según su posible funcionalización y su citotoxicidad.

3.1. Producción de Au-NPs y fotoacústica pulsada de alta energía (FPAE)

En la subsección 2.1 se describió el acoplamiento de un micrófono piezoeléctrico con el blanco de oro para medir la señal producida durante la ablación que puede relacionarse con la energía incidente. Como se mencionó previamente el piezoeléctrico funciona como un transductor de las ondas mecánicas generadas por la energía del láser sobre el blanco a voltaje que puede ser medido en el osciloscopio. Esta señal medida está asociada indirectamente con la cantidad de energía que llega al blanco conforme los pulsos inciden. Es conocido que la cantidad de energía incidente durante la ablación afecta la producción total de Au-NPs y su tamaño [86], además la energía incidente inicial disminuye para los pulsos siguientes ya que suceden procesos simultáneos de absorción y dispersión de la radiación láser en el líquido debido a la presencia de las Au-NPs que se forman continuamente durante la ablación. Para esta medición indirecta se decidió tomar como parámetro la media cuadrática (RMS por sus siglas en inglés), como referente de la energía incidente al blanco. La RMS de una señal es una medida estadística de la magnitud de una cantidad variable, razón por la cual se optó por utilizarla como la variable dependiente.

Como se observa en las gráficas (a) y (b) de la [Figura 3.1](#), se encontró un decremento en los valores de la RMS conforme la síntesis se desarrollaba, que puede asociarse a una función exponencial que decae. Es posible atribuir esas pérdidas de energía a las interacciones del haz incidente con las Au-NPs que se iban formando en el coloide. Se presentan las barras de error en gráficas diferentes (c) y (d) para mejorar la visualización de los datos de las distintas condiciones de la disolución base, como se puede observar en la [Figura 3.2](#). Se obtuvo un comportamiento común para todas las condiciones de concentración de POSS-tiol, sin diferencias significativas entre las soluciones base etanol (0%), 70% y 100% (rombos verdes, círculos azules, triángulos rojos, respectivamente) para cada frecuencia considerada. Para este estudio la distancia lente-blanco se mantuvo fija en 7.8 *cm*.

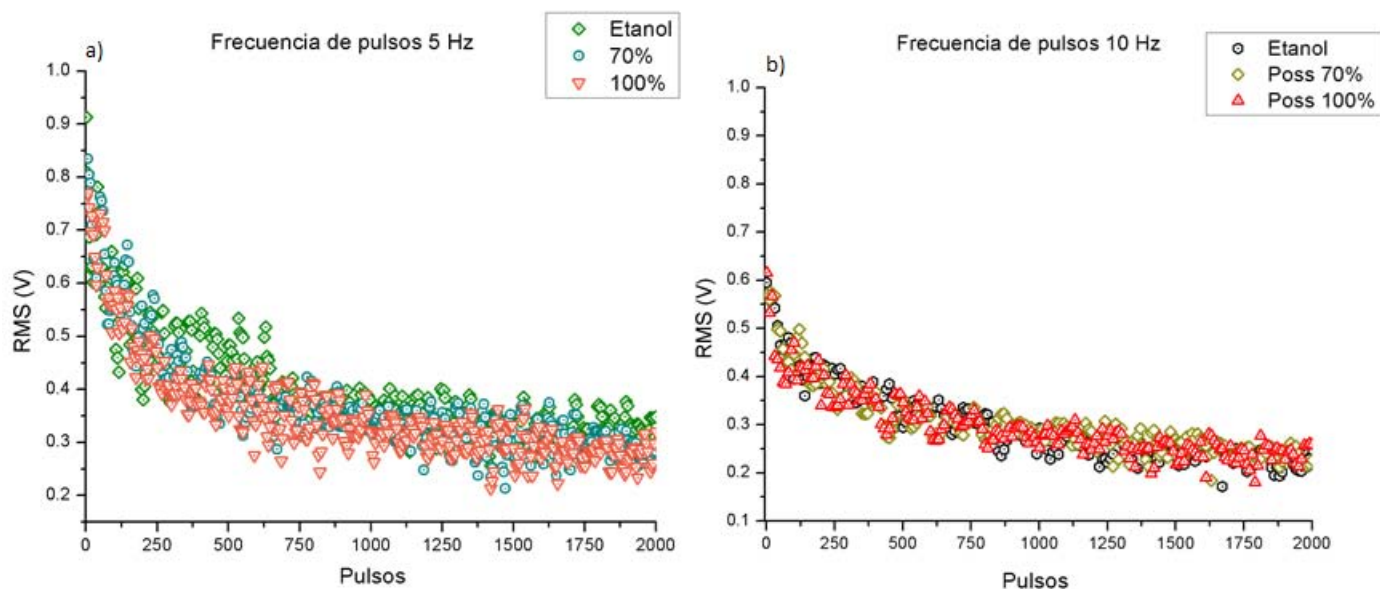


Figura 3.1: Gráficas de los valores de RMS contra número de pulsos, para 5 Hz (a) y 10 Hz (b).

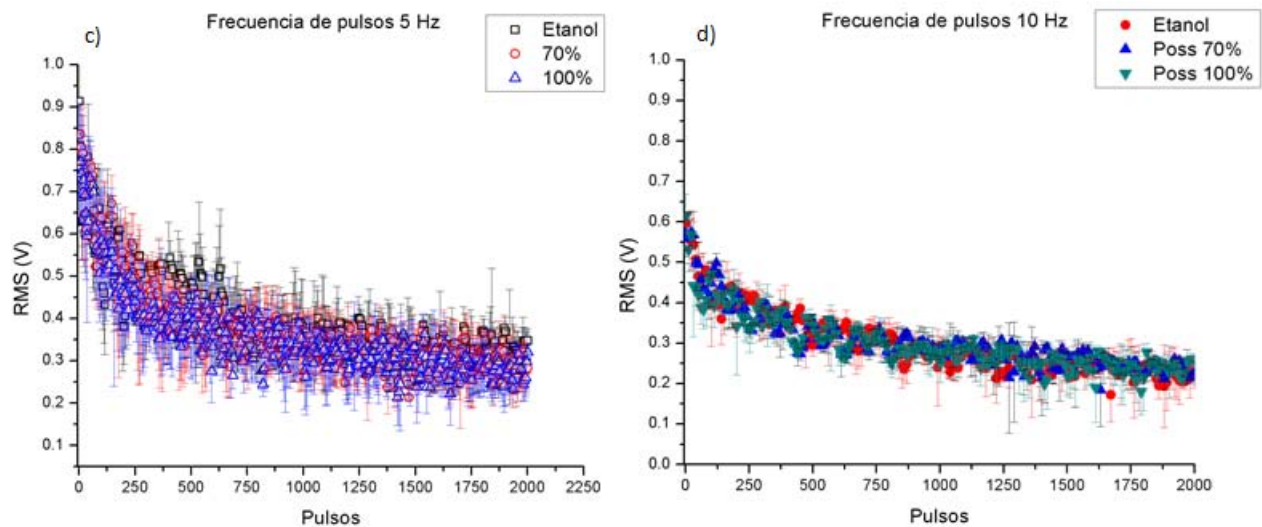


Figura 3.2: . Gráficas de los valores de RMS con sus barras de error para 5 Hz (c) y 10 Hz (d).

Ya que el proceso de ablación es complicado y dinámico, se apreciaron algunas irregularidades en la síntesis cuando ciertos pulsos espontáneamente generaron plasmas más intensos, y con ello un destello y sonido mayores que otros pulsos. Estas perturbaciones son las que generan datos que se desvían del comportamiento exponencial que decae al que tiende, como se aprecia en la [Figura 3.1.a](#) entre los pulsos 200 y 700 para la síntesis con etanol y entre los pulsos 500 y 1000 para la síntesis con POSS-tiol.

Los principales cambios en la superficie de ablación y la producción de Au-NPs suceden durante los primeros pulsos ([\[79\]](#), [\[83\]](#), [\[86\]](#), [\[87\]](#)) cuando la concentración de las Au-NPs es baja. Esta es la

razón por la que el valor de la RMS cae rápidamente después de los primeros pulsos, y para mayor número de pulsos la RMS tiende a un comportamiento monótono decreciente, como se observa en las todas las condiciones analizadas después del pulso 1200 (Figura 3.1a y Figura 3.1b). Esta tendencia a un comportamiento monótono significa que la producción de nanopartículas por pulso disminuye, pero sí se siguen produciendo, lo que corresponde con lo estudiado en [86]. Lo anterior se observó al producir coloides con un mayor número de pulsos (2000 - 4000), cuyos espectros de absorbancia se presentan en la subsección 3.3.1. Estos coloides presentaron mayor intensidad inicial en su respuesta óptica y con ello un aumento de su opacidad a simple vista, sin embargo se generó una importante aglomeración del coloide y se precipitaron rápidamente, lo que redujo casi completamente su respuesta óptica después de unos minutos. Después de ese corto tiempo, esos mismos coloides se observaban traslúcidos y con gran asentamiento de material en el fondo del vial. En la Figura 3.3b se muestra un coloide sintetizado con 2500 pulsos y ese mismo coloide precipitado después de una hora.

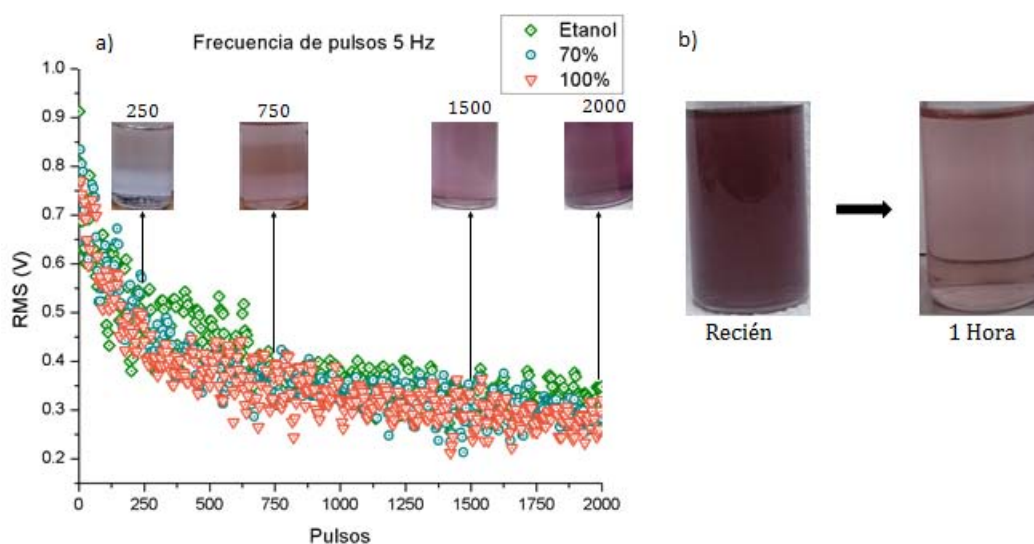


Figura 3.3: (a) Esquema representativo del incremento de la concentración de los coloides mientras se desarrolla la ablación. (b) Fotografías representativas de un coloide con más de 2000 pulsos recién sintetizado y su degradación tras una hora.

Como conclusión de este estudio se tiene que no hay diferencias significativas en los valores de la RMS del proceso de síntesis al variar la concentración de POSS-tiol en la solución base del coloide ni la frecuencia de repetición de pulsos. Esto nos sugiere indirectamente que no hay cambios significativos de energía incidente al blanco en presencia del polímero, por lo que se establecen condiciones similares de ablación para las condiciones estudiadas. Al analizar los valores de la RMS y el comportamiento de los coloides obtenidos a diferente número de pulsos se determinó el parámetro de 2000 pulsos para la síntesis. El análisis de la respuesta plasmónica y la estabilidad de los coloides se presentan a continuación.

3.2. Estudio de la respuesta plasmónica de los coloides

Dado el interés en la aplicación de estos coloides obtenidos por ablación láser para su uso como biosensores ópticos, el análisis de los espectros de absorbancia fue el parámetro principal para

determinar las condiciones óptimas de fabricación y la viabilidad de su uso como un sensor. Como se ha mencionado previamente, es fundamental que los coloides exhiban características plasmónicas y que éstas sean reproducibles y estables. Para tener una caracterización representativa se analizaron los espectros UV-Vis de 150 coloides.

3.2.1. Condición de enfoque y número de pulsos

Se analizó la influencia de la distancia lente-blanco en las propiedades plasmónicas de los coloides obtenidos. El objetivo de este estudio inicial consistía en encontrar la mejor condición de foco para obtener una mayor producción de Au-NPs para un determinado número de pulsos. Este estudio se realizó con 2000 pulsos para una energía de 60 *mJ*, a una frecuencia de 10 *Hz*. Sólo se analizó la síntesis con etanol ya que los resultados de la subsección 3.1 muestran que la presencia del polímero no afecta significativamente la energía incidente sobre la superficie, por lo que suponemos que los resultados óptimos tendrán un comportamiento análogo en las disoluciones que contienen POSS-tiol.

Como se definió en la subsección 2.1, la distancia $z = 0$ corresponde a una distancia de 7.8 *cm* entre la lente y el blanco, que es donde se encuentra el foco del sistema óptico lente-cubeta-líquido. Fueron analizadas 2 condiciones de foco adicionales $z = -1$ y $z = 1$ que corresponden a un desplazamiento de -0.1 *cm* y 0.1 *cm*, respectivamente. Una vez sintetizados los coloides obtenidos fueron medidos con un espectrómetro portátil UV-Vis Ocean Optics USB2000. Los espectros se muestran en la [Figura 3.4](#)

Para la condición $z = -1$ el blanco de oro está más cerca de la lente, por lo que el cono de luz no logra enfocar sobre la superficie, se aumenta el área de ablación y disminuye la fluencia (energía por unidad de área). Como consecuencia se tiene una mayor extracción de material y mayor distribución de tamaños de Au-NPs, ya que hay mayor número de especies eyectadas, como se describió en la subsección 1.5.1 ([\[86\]](#), [\[87\]](#)). Un mayor ancho de distribución de tamaños y una mayor concentración de oro afecta al espectro de absorbancia de luz relacionado con el fenómeno LSPR.

En la [Figura 3.4](#) se puede observar que la banda de absorción es más ancha para esta condición y se presenta un pequeño “hombro” (segundo máximo) para longitudes cercanas a $\lambda = 640$ *nm* que puede asociarse a la respuesta plasmónica de nanopartículas de mayor tamaño. Para esta condición el espectro de absorbancia es ligeramente más intenso que para las otras dos condiciones estudiadas y se observó que los coloides se precipitaban en decenas de minutos. Lo anterior se debe a la presencia de nanopartículas de mayor tamaño que favorecen la coalescencia.

Para la condición $z = 1$, el foco se encuentra dentro del líquido por lo que se generó un rompimiento óptico frente al blanco, se disipó la energía y se redujo la fluencia sobre la superficie. Esto produjo coloides con menor concentración de Au-NPs. El efecto de plasmón de superficie es un fenómeno resonante por lo que al haber menor cantidad de nanopartículas que contribuyen al efecto, la señal de absorbancia asociada es más débil. Lo anterior puede observarse en la [Figura 3.4](#) donde el espectro correspondiente a $z = 1$ presenta menor intensidad. Se encontró que la condición óptima fue con $z = 0$, donde se compensaba la fluencia incidente con la concentración de Au-NPs adecuada para una mayor estabilidad temporal. Los picos de absorbancia son más angostos, aunque exhiben una intensidad ligeramente menor que para el caso de $z=1$. Esto corresponde a lo

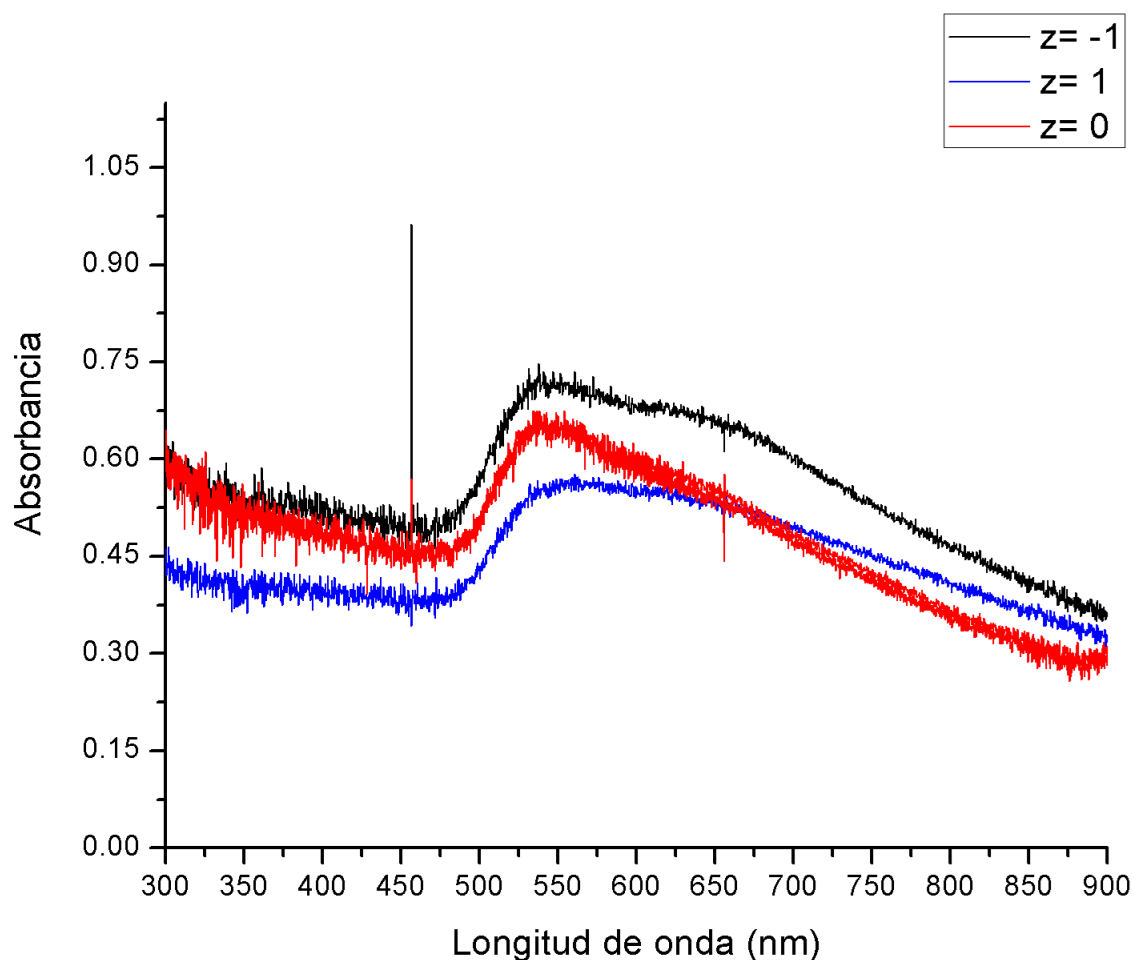


Figura 3.4: Espectros de absorbanza obtenidos al variar la distancia de ablación.

reportado en la literatura ([86], [87]). Respecto a los pulsos utilizados se estableció una medida óptima de 2000 pulsos, basándose en los estudios de fotoacústica de la anterior subsección y en el trabajo previamente realizado en el Laboratorio de Fotofísica, UNAM, acerca de ablación láser de metales en agua y etanol [86]. Una mayor cantidad de pulsos generó un aumento considerable en la concentración del coloide, lo que provocó la aglomeración de las Au-NPs que promovía que los coloides se precipitaran en menor tiempo (algunos minutos). Es decir, se presenta un compromiso entre un aumento de la señal plasmónica y la estabilidad del coloide. Este fenómeno era gradual al aumentar el número de pulsos, de 2000 a 4000 pulsos, como se presentan en la Figura 3.5.a y Figura 3.5.b. Menor número de pulsos generaron espectros apenas encima del nivel del ruido, por lo que no se consideraron en el análisis.

Como conclusión de este estudio se obtuvieron las condiciones óptimas de número de pulsos y distancia lente-blanco de ablación para 2000 pulsos y para $z=0$ al colocar la superficie del blanco en el foco del sistema lente-cubeta-líquido. Con estas condiciones se llevaron a cabo diferentes síntesis al variar la concentración de POSS-tiol en la disolución que contiene a las Au-NPs.

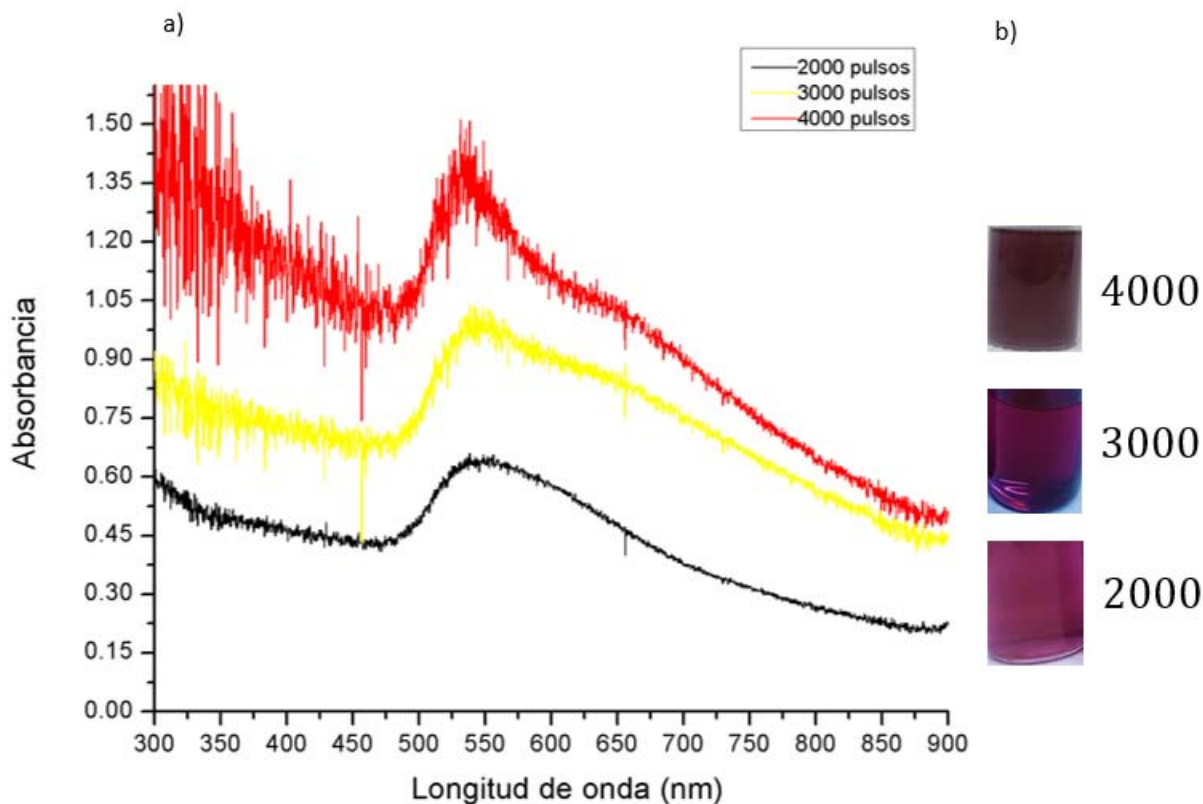


Figura 3.5: (a) Espectros representativos de absorbancia y (b) fotografías de los coloides al variar el número de pulsos.

3.2.2. Parámetros de picos de plasmón y estabilidad temporal

Para este estudio se midieron los espectros de absorbancia de los coloides en el espectrómetro Cary 5000 del LUCE-UNAM, el cual tiene mayor precisión que el espectrómetro OceanOptics usado para definir las condiciones de foco y número de pulsos. Los coloides sintetizados se midieron en diferentes días durante durante 30 días.

El proceso completo de formación de Au-NPs mediante ablación láser es complejo, y depende de varios parámetros [87]. Se ha comentado que una de las desventajas de la ablación láser en líquidos es su baja reproducibilidad. Durante el desarrollo de este trabajo se observó que para las mismas condiciones de energía, número de pulsos, longitud de onda y distancia focal se presentaba una variación en algunos espectros de los coloides obtenidos. Como un ejemplo de la variabilidad presente en el método de ablación láser, en la [Figura 3.6](#) se muestran diferentes espectros obtenidos en condiciones análogas para las 3 disoluciones estudiadas 0 %, 70 % y 100 %. Se aprecia claramente la baja reproducibilidad que ofrece el método, en particular cuando la solución es sólo etanol. En algunos casos el coloide se precipitaba simplemente al ser trasladado al espectrómetro para su medición.

Por lo anterior es importante tener un número considerable de coloides para realizar un estudio estadístico de la respuesta plasmónica de cada condición analizada.

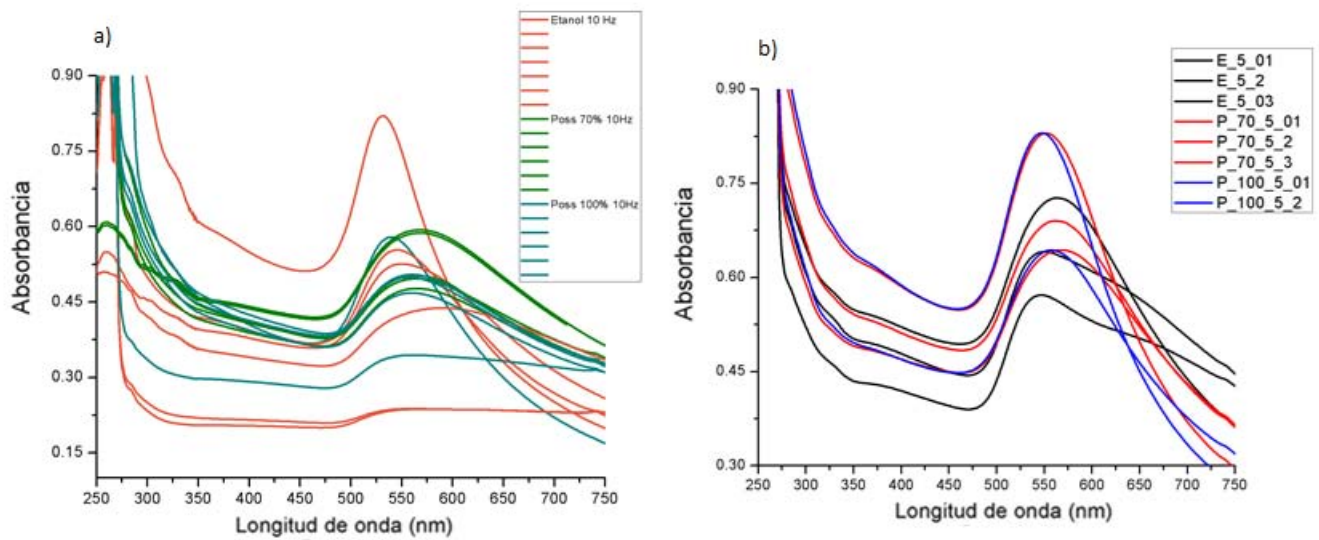


Figura 3.6: Espectros de absorbancia de varios coloides sintetizados para 10 Hz y 60 mJ/pulso^{-1}

Para facilitar la comparación de los espectros de absorbancia, en la [Figura 3.7](#) y [Figura 3.8](#) se presentan los espectros de absorbancia representativos a los valores promedio de todos los datos analizados. Cabe aclarar que sí son espectros medidos, pero no necesariamente corresponde estrictamente a los datos estadísticos presentados en la tabla 3.1, como se puede apreciar visualmente en los valores de absorbancia máxima para coloides con sólo etanol (0%).

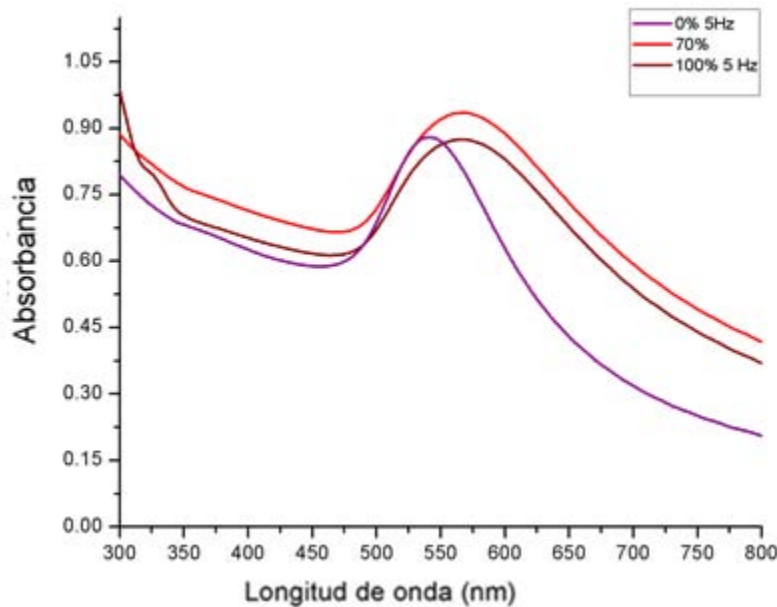


Figura 3.7: Espectros de absorbancia representativos para las tres concentraciones 0%, 70% y 100% a 5 Hz de repetición de ablación. La gráfica morada de la concentración 0% presenta mayor diferencia a los valores de la tabla 3.1.

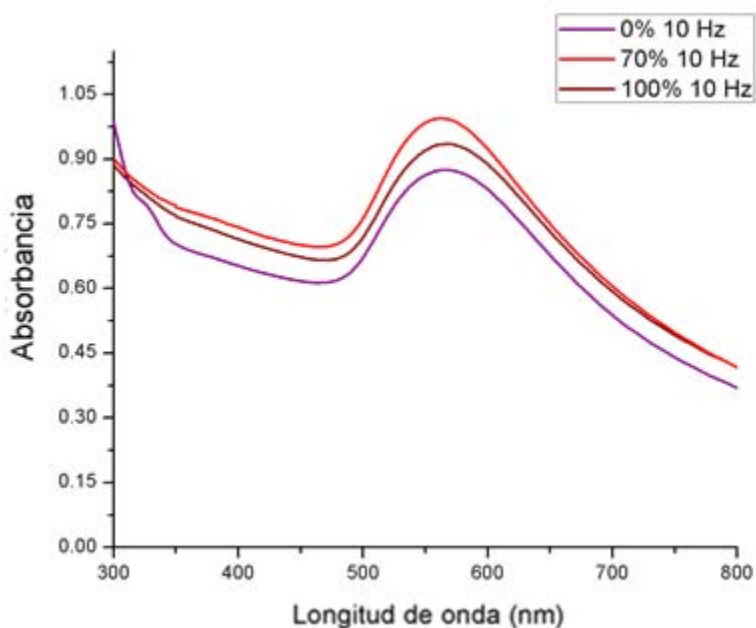


Figura 3.8: Espectros de absorbanza representativos para las tres concentraciones 0 %, 70 % y 100 % a 10 Hz de repetición de ablación.

Los datos obtenidos del estudio estadístico de la longitud de onda, ancho de banda FWHM y absorbanza máxima de los espectros de absorbanza relacionados con el LSPR de los diferentes coloides sintetizados se presentan en la [Tabla 3.1](#). Se obtuvieron desviaciones estándar considerables respecto a $\lambda_{plasmón}$. Este resultado refleja el bajo control en el tamaño de partícula y la condición de aglomeración del coloide. Como se presentó en la subsección 1.3.2, las cadenas que se puedan formar al aglomerarse las Au-NPs modifican la respuesta óptica total, razón por la que los espectros se ensanchan. Esta última observación se discutirá con mayor detalle al final de esta subsección.

| Condición | $\lambda_{plasmón}(nm)$ | $\Delta FWHM(nm)$ | Absorbancia |
|-------------|-------------------------|-------------------|-------------|
| 0 % 5 Hz | 531+/-40 | 64+/-13 | 1.07+/-0.15 |
| 0 % 10 Hz | 532+/-52 | 71+/-21 | 1.19+/-0.19 |
| 70 % 5 Hz | 568+/-23 | 89+/-29 | 0.93+/-0.10 |
| 70 % 10 Hz | 536+/-21 | 64+/-23 | 1.11+/-0.21 |
| 100 % 5 Hz | 541+/-47 | 62+/-36 | 0.88+/-0.13 |
| 100 % 10 Hz | 539+/-38 | 66+/-11 | 0.95+/-0.17 |

Tabla 3.1: . Valores promedio y su desviación estándar de las características de la banda de absorbanza por LSPR para las 6 condiciones.

Se encontró un valor promedio mínimo de $\lambda_{plasmón} = 531 \text{ nm}$ al usar sólo etanol y 5 Hz de repetición de ablación, y un valor promedio máximo de $\lambda_{plasmón} = 568 \text{ nm}$ para 70 % de disolución y 5 Hz. El estudio de anchos de banda FWHM permitió obtener información acerca de su estado de aglomeración inicial. Se obtuvieron anchos de 65 nm, con un máximo de 89 nm para 70 % y 5 Hz y un mínimo de 62 nm para 100 % a 5 Hz. Es importante observar que si se considera la desviación estándar la diferencia entre los valores obtenidos para las diferentes condiciones estudiadas no es significativa.

El criterio de utilidad dependerá de la sensibilidad que se busca, según sea el caso en el que el fenómeno a medir con este tipo de sensores quede apantallado dentro de la variación de la respuesta óptica inicial de los coloides de Au-NPs. Es importante enfatizar que en todos los coloides se obtuvo una adecuada respuesta plasmónica. Mejorar la reproducibilidad propia de la técnica de síntesis se propone como trabajo futuro, como se presenta en la sección 4.

Como conclusión de este estudio se tiene que se produjeron coloides de Au-NPs y POSS-tiol con su respuesta óptica máxima de plasmón cercana a 540 nm , anchos de 65 nm y absorbancia considerable.

Al final de la subsección 1.3.2. se mencionó que la modificación de la respuesta óptica del coloide de Au-NPs depende totalmente del estado de agregación y de la estructura microscópica que se presente una vez sintetizadas las NPs. En las cadenas lineales se tienen más modos resonantes y con ello el ensanchamiento de la banda, por lo que es de esperarse que conforme pase el tiempo y por el movimiento browniano las Au-NPs colisionen, formen agrupaciones y se reduzca la absorbancia por LSPR. Por esta razón se estudió con especial interés la respuesta óptica conforme pasaban los días después de la síntesis.

Se encontró que el uso del POSS-tiol sí afecta de manera significativa en el proceso de aglomeración y de estabilidad temporal en su respuesta óptica. En la [Figura 3.9](#) se presentan los espectros de coloides medido 5 días después, donde la absorbancia disminuyó y el ancho aumentó en ambos casos, pero con POSS-tiol el efecto es menor.

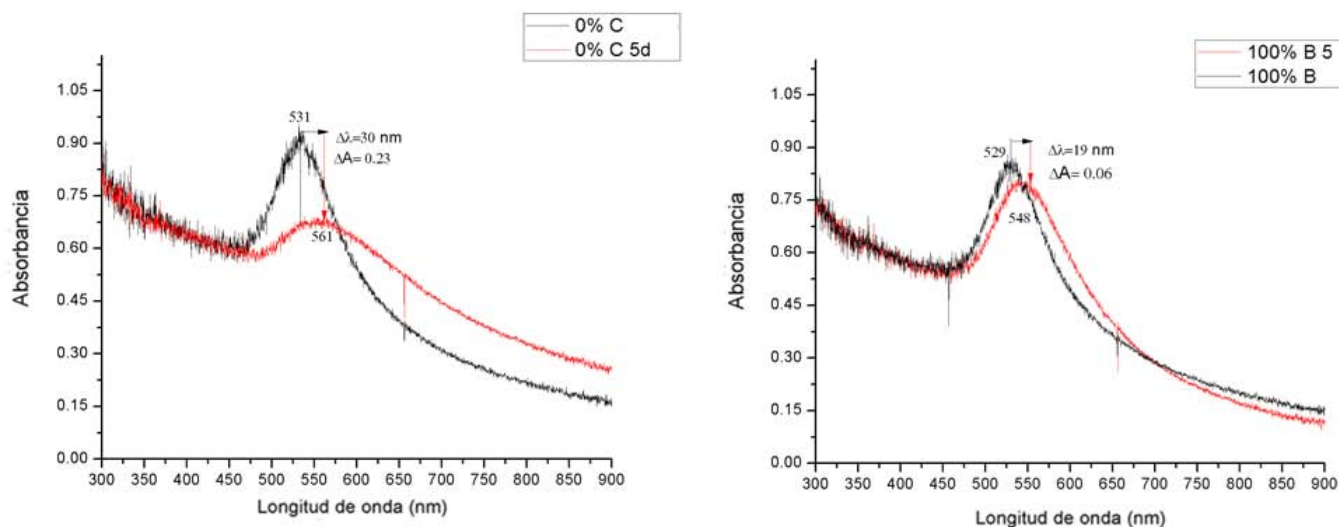


Figura 3.9: Espectros de absorbancia de coloides al 0% y 100% de disolución, medidos días después. Los espectros fueron medidos con el equipo Ocean Optics USB2000 para una pronta comparación.

En el caso del coloide sin POSS-tiol es más probable que colisionen Au-NPs con ellas mismas, formando agrupaciones que van creciendo cada vez más hasta que se pierda la suspensión coloidal y se precipiten. Como se mencionó en las características de la técnica de ablación láser, el hecho de que las Au-NPs queden descubiertas en el medio líquido aumenta la probabilidad de coalescencia,

pero al tener un obstáculo entre ellas es posible retrasar este efecto. Este efecto de impedimento estérico que ejerce el polímero ayuda a estabilizar los coloides y su respuesta plasmónica a través del tiempo.

El POSS-tiol mostró ser un buen estabilizante del coloide, por adsorción física con el cristal y por la afinidad química del azufre con el oro. La última observación se puede apreciar en las fotografías de la [Figura 3.10](#). La forma en la que se encuentran distribuidas las Au-NPs en estas imágenes TEM sugiere que las nanopartículas podrían estar funcionalizadas, donde el acoplamiento cristal-AuNPs está restringido.

Debido a la poca solubilidad del polímero en etanol, el proceso de fragmentación de los cristales de POSS-tiol no fue homogéneo ([Figura 3.10.a](#) y [Figura 3.10.b](#)) por lo que se sugiere realizar un tratamiento físico para mejorar la solubilidad del POSS-tiol en la disolución y aumentar la superficie del polímero disponible para la funcionalización, como un tratamiento láser.

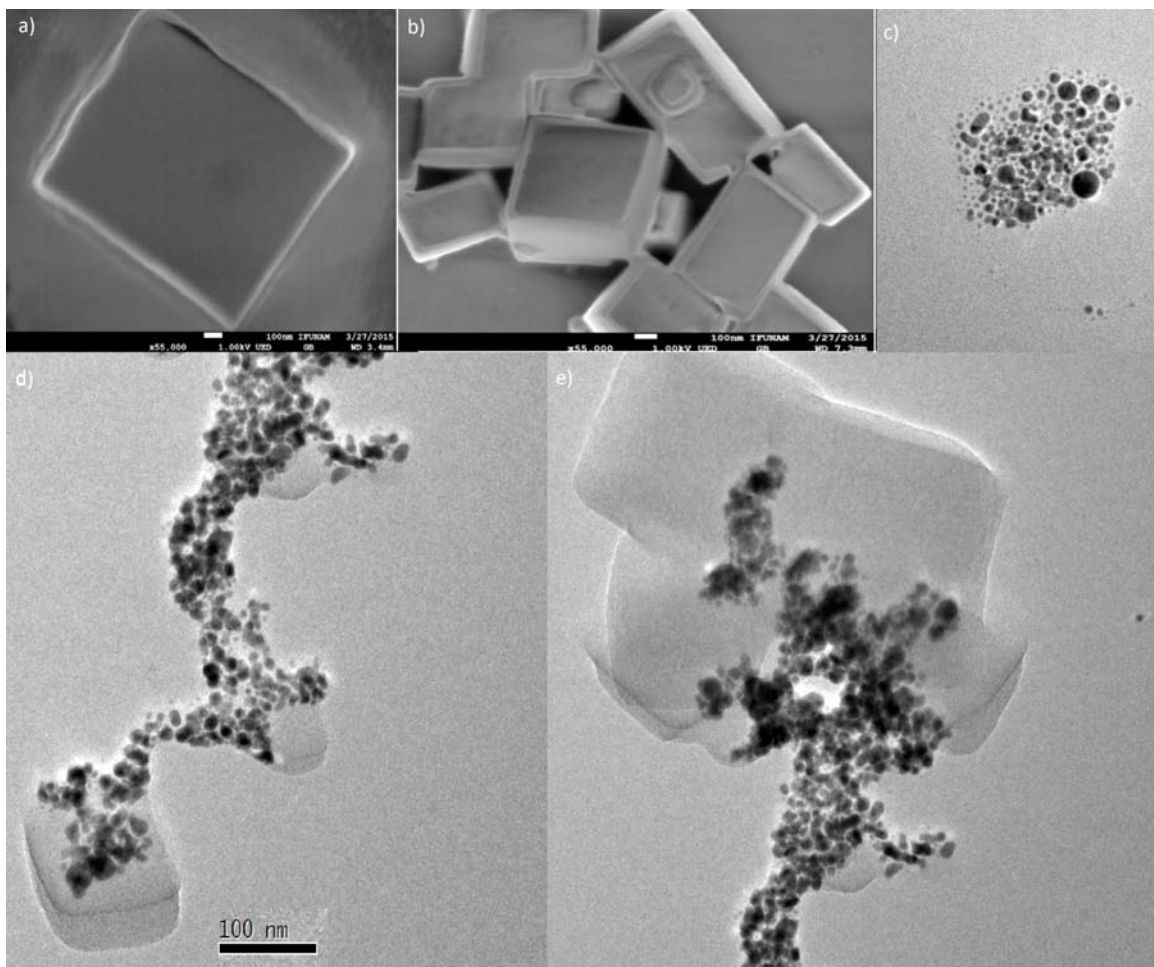


Figura 3.10: . Micrografías TEM de (a, b) los granos de POSS-tiol disueltos después de ser agitados en ultrasonido por 40 minutos, (c) coloide de Au-NPs en etanol y (d, e) coloide de Au-NPs con POSS-tiol. Se pueden apreciar las cadenas lineales acopladas con los cristales del polímero. La escala gráfica en todas las micrografías son de 100 nm.

Otra característica que ya se ha mencionado y se puede observar de las micrografías es la pureza de los compuestos y la homogeneidad de su geometría, lo que contrasta con muchos de los residuos e irregularidades, productos de métodos de síntesis química, como se mencionó en la subsección 1.5.

Si se compara la microestructura de las cadenas lineales de Au-NPs con los espectros estudiados en [19] de la [Figura 1.11](#) referimos que el ensanchamiento del plasmón se debe precisamente al arreglo que se forman alrededor y entre los cristales del polímero. Una vez acoplado con el polímero, es más probable que el arreglo se mantenga a que se continúe coalesciendo con Au-NPs en el líquido, ya que su energía superficial es menor al estar en este arreglo. Esto provoca una menor aglomeración de todo el coloide y con ello la suspensión se mantiene por mayor tiempo.

Al comparar los espectros de absorbanza de varios coloides de Au-NPs en ausencia y presencia del polímero, se obtuvo su análisis estadístico en la [Tabla 3.2](#). En los 6 casos se observó un corrimiento al rojo del valor de $\lambda_{plasmón}$, lo que implica la presencia de otros modos resonantes, como los generados en cadenas lineales y NPs tipo 1-D.

| Día 1 | $\Delta\lambda$ (nm) | ΔAbs |
|-------------|----------------------|--------------|
| Etanol | 30 | 0.32 |
| c/Poss-tiol | 10 | 0.15 |

| Día 10 | $\Delta\lambda$ (nm) | ΔAbs |
|-------------|----------------------|--------------|
| Etanol | 85 | 0.41 |
| c/Poss-tiol | 42 | 0.24 |

| Día 31 | $\Delta\lambda$ (nm) | ΔAbs |
|-------------|----------------------|--------------|
| Etanol | 121 | 0.65 |
| c/Poss-tiol | 76 | 0.38 |

Tabla 3.2: Cambios en los valores de longitud de onda y absorbanza máxima del plasmón a través del tiempo, como un indicador de estabilidad

El corrimiento del valor del pico central así como el aumento de la diferencia de absorción entre el día 1, el día 10 y el día 31 de los coloides donde sólo hay etanol indican que el uso del POSS-tiol mejora considerablemente la estabilidad de la respuesta plasmónica en el tiempo.

Como conclusión de este estudio se obtuvo el valor promedio mínimo de $\lambda_{\text{plasmón}} = 531 + / - 40 \text{ nm}$, FWHM de $64 + / - 13$ y absorbancia máxima de $1.07 + / - 0.15$ al usar sólo etanol y 5 Hz de repetición de ablación, y un valor promedio máximo de $\lambda_{\text{plasmón}} = 568 + / - 23 \text{ nm}$, FWHM de $89 + / - 29 \text{ nm}$ y absorbancia máxima de $0.93 + / - 0.10$ para 70 % de disolución y 5 Hz . Se obtuvieron los valores óptimos de $\lambda_{\text{plasmón}} = 536 + / - 23 \text{ nm}$, su absorbancia máxima de $1.11 + / - 0.21$ y un ancho FWHM de $64 + / - 23 \text{ nm}$ para 70 % a 10 Hz .

Además se obtuvo una mejoría en sus propiedades ópticas al usar POSS-tiol respecto a sólo etanol en el transcurso de un mes al calcular la razón entre los valores del ancho FWHM y la absorbancia máxima. Se calculó un deterioro entre 13 % - 34 % de la absorbancia inicial y un ensanchamiento entre 15 % - 117 % al usar el polímero, comparado con un deterioro entre 29 % - 60 % de la absorbancia máxima y un ensanchamiento entre 46 % - 189 % al usar sólo etanol.

3.3. Morfología esférica y estadística de tamaños de Au-NPs

Como se mencionó en la subsección 1.5.1 sobre la técnica de ablación láser en líquidos, se obtuvieron Au-NPs principalmente esféricas. Este resultado corresponde con lo medido a partir de las micrografías por transmisión de electrones (TEM). Algunas micrografías de las condiciones estudiadas se presentan a continuación en las Figuras 3.12 – 3.14. De acuerdo al procedimiento descrito previamente, se obtuvo la estadística de frecuencias de tamaños de las Au-NPs. La distribución de frecuencia de tamaños asemeja el comportamiento como una distribución del tipo Fisher-Snedecor, similar a una distribución de gaussiana ([86], [87]). Al hacer un ajuste tipo gaussiano, se observó que difiere en la cola prolongada característica de una distribución tipo F, como se aprecia en los ajustes de las Figuras 3.12 -3.14.

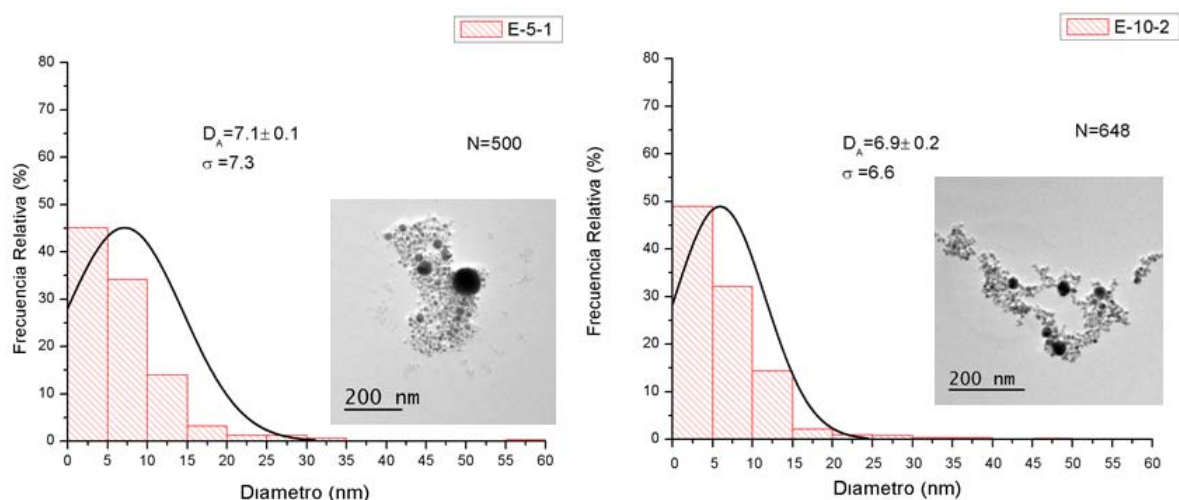


Figura 3.11: Estadística y distribución de tamaños de Au-NPs de las micrografías para coloides con etanol para 5 Hz (a) y 10 Hz (b).

Como primera aproximación, el análisis de una distribución gaussiana permite el cálculo del valor de la media aritmética de los diámetros medidos D_A y su desviación estándar σ , obtenidos mediante el software OriginPro9. El eje de las ordenadas *Frecuencia Relativa* se definió como la razón del número de NPs en el intervalo $[x_{n-1}, x_n]$ para intervalos de 5 nanómetros, respecto al total de las NPs contadas N .

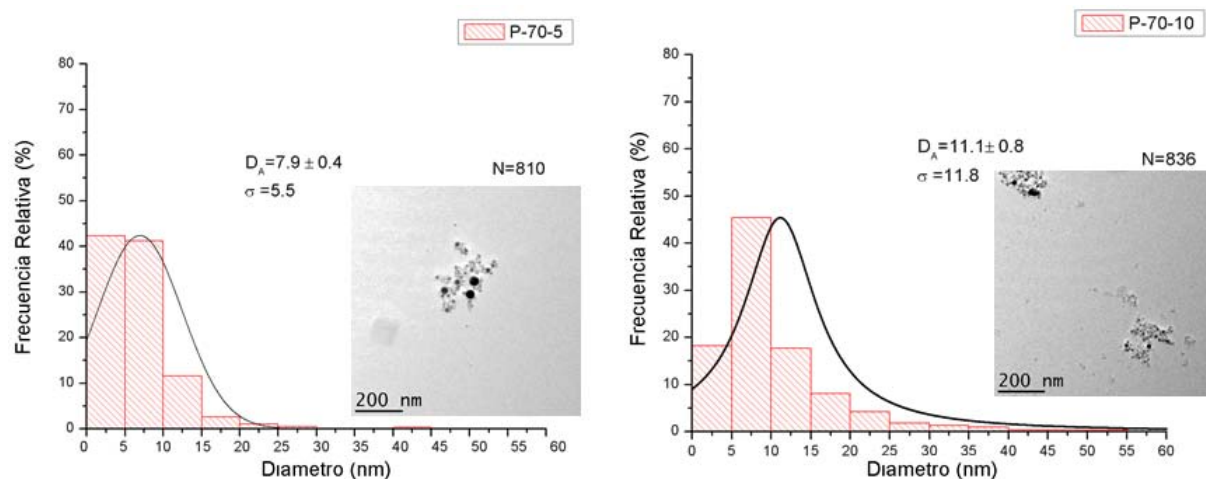


Figura 3.12: Estadística y distribución de tamaños de Au-NPs de las micrografías para coloides con etanol y POSS-tiol al 70% para ambas frecuencias de ablación (c) y (d).

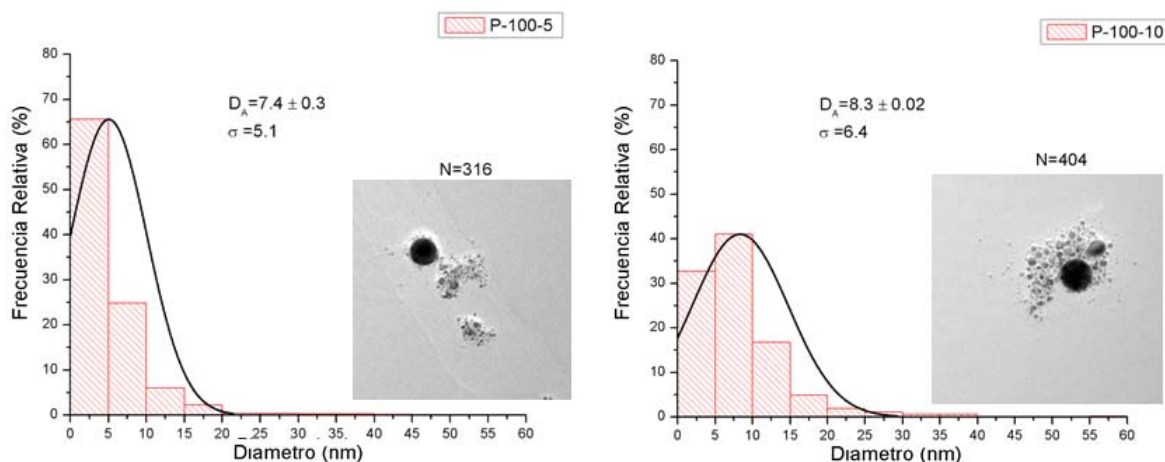


Figura 3.13: Estadística y distribución de tamaños de Au-NPs de las micrografías para coloides con etanol y POSS-tiol al 100 % para ambas frecuencias de ablación (e y f).

Del estudio anterior se obtuvieron los valores de los diámetros promedio con su desviación estándar para los distintos coloides. Estos resultados se presentan a continuación en la [Tabla 3.3](#).

| | 0% 5Hz | 0% 10Hz | 70% 5Hz | 70% 10Hz | 100% 5Hz | 100% 10Hz |
|------------------------------|--------|---------|---------|----------|----------|-----------|
| Diámetro promedio D_A | 7.1 | 6.9 | 7.9 | 11.8 | 7.4 | 8.3 |
| Desviación estándar σ | 7.3 | 8.6 | 5.5 | 11.1 | 5.1 | 6.4 |

Tabla 3.3: Valores estadísticos de tamaños de Au-NPs de los coloides fabricados.

A partir de este estudio, es posible observar que se tiene una distribución de tamaño amplia, lo que es una de las principales desventajas de la ablación láser, como se mencionó previamente. A pesar de que el diámetro promedio menor se encontró para la condición 0% a 10 Hz, la desviación estándar es considerable respecto al valor promedio, como sucede en todas las condiciones. Se obtuvo una menor desviación para 100% a 5 Hz, y valores mayores en ambos casos para 70% a 10 Hz. No obstante, en todos los casos se observó que más del 90% de las Au-NPs esféricas producidas son de tamaños menores a 15 nm.

Como conclusión de este estudio se tiene que mediante esta técnica es viable la producción de Au-NPs esféricas de tamaños entre 1 – 70 nm, casi en su totalidad menores a 20 nm, con grandes valores de dispersión de tamaño respecto al valor promedio y se observó que la presencia del POSS-tiol no afecta de manera significativa el diámetro promedio de nanopartículas ni su desviación estándar. Es posible disminuir el ancho de la distribución de frecuencia de tamaño mediante diferentes procedimientos posteriores a la síntesis como tratamientos láser, centrifugación o el uso de agentes químicos de transferencia. Estos tópicos se discuten al final del capítulo 4, en lo referente a trabajo futuro.

3.4. Ajuste del modelo semiempírico

Para hacer la comparación del espectro de absorbancia experimental con el espectro teórico esperado para las Au NPs con la geometría obtenida, se desarrolló un programa en Mathematica 9 basado en la teoría de Mie junto con la ecuación de la Absorbancia que relaciona la concentración

y tamaño de NPs con los coeficientes de extinción. Este ajuste se mencionó en la subsección 2.3 y su desarrollo detallado se presenta en el Apéndice B.

Para los cálculos se consideró que los coloides estudiados se encontraban en un recipiente de 1 *cm* de espesor tal como el usado en el espectrómetro Cary, para una concentración de 10 *mg/l* y un peso molecular del oro de 196.9665 *gr/mol*. Después de correr el programa para un intervalo de tamaños de 1–60 *nm* de diámetro se obtuvieron los espectros que se presentan en la [Figura 3.14](#).

Las curvas roja y verde con las líneas anchas son aquellas en las que la longitud de onda de máxima absorción por LSPR coincide con el valor máximo de las mediciones experimentales y donde los coeficientes de esparcimiento Q_{esp} empiezan a ser significativos respecto a los de absorción Q_{abs} . Se puede observar que el comportamiento de ensanchamiento no es monótono; el ancho disminuye desde 1–20 *nm* y empieza a aumentar para diámetros mayores.

La razón por la que los espectros cambian gradualmente en intensidad y en amplitud con los mismos parámetros de concentración y volumen es el hecho de considerar que el coloide tiene una suspensión de Au-NPs en el que cada esfera absorbe la luz, y a partir de 40–60 *nm* numéricamente empiezan a ser significativa las pérdidas por esparcimiento de la luz.

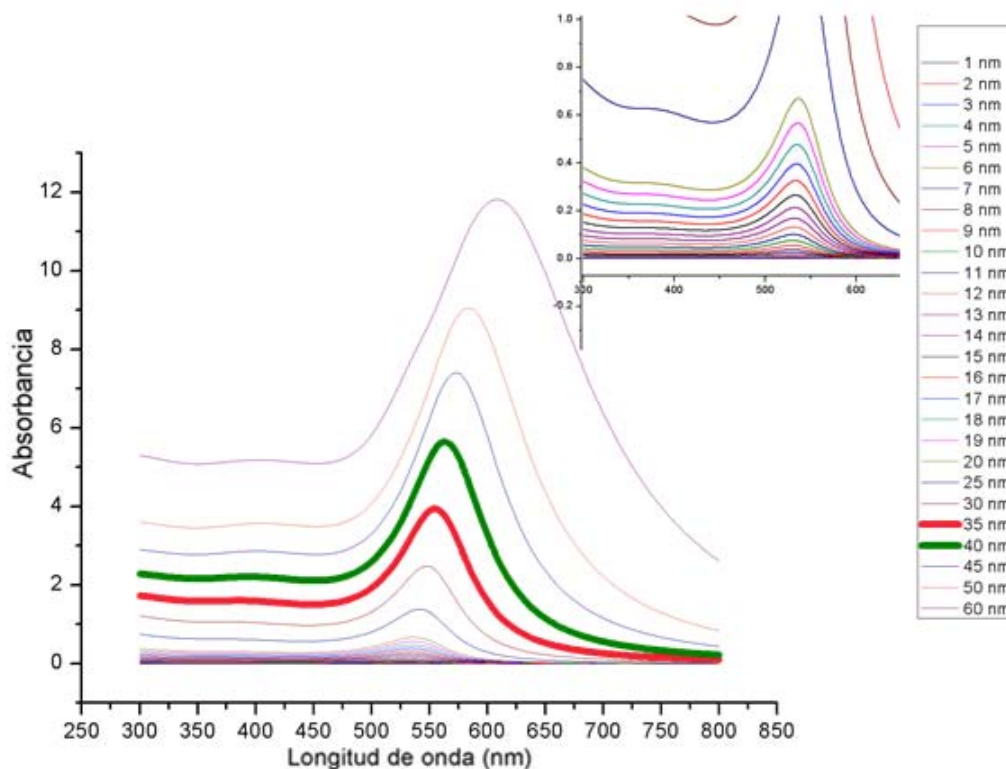


Figura 3.14: Espectros de Absorbancia teóricos calculados con el programa del apéndice B.

Se comparó el espectro experimental representativo con sus propiedades ópticas aproximadas al promedio estadístico con $\lambda_{plasmón} = 536 \text{ nm}$, con el espectro teórico más cercano para tamaño de partícula, donde se obtuvo que en longitud de onda se aproxima el cálculo teórico de un coloide de Au-NPs en etanol de Au-NPs esféricas de sólo 18 *nm* de diámetro. Es importante aclarar que

la diferencia en el valor de Absorbancia depende del equipo y del ancho de la muestra.

Con el objetivo de incluir en el cálculo de los espectros teóricos condiciones más representativas del sistema experimental estudiado, se consideró la distribución de tamaños medida por TEM.

Esta superposición tuvo como función de peso la frecuencia relativa que se obtuvo experimentalmente en el análisis de la subsección 3.2. Para el ajuste se sumaron las contribuciones de los espectros cada 5 nm multiplicadas por el valor de su frecuencia relativa respecto al total. En la [Figura 3.15.a](#) se presentan algunos espectros de absorbancia calculados para coloides de diámetro 10 – 20 nm, y en la figura [Figura 3.15.b](#) se presenta la frecuencia relativa medida a partir de las micrografías. Se multiplicaron los valores de los espectros en (a) por porcentaje de la frecuencia relativa de (b), y contribución por contribución se fue sumando.

Este proceso de multiplicación por frecuencia relativa y suma de los espectros con función de peso se realizó de 0 a 60 nm, para la condición óptima de 70% de concentración a 10 Hz de ablación.

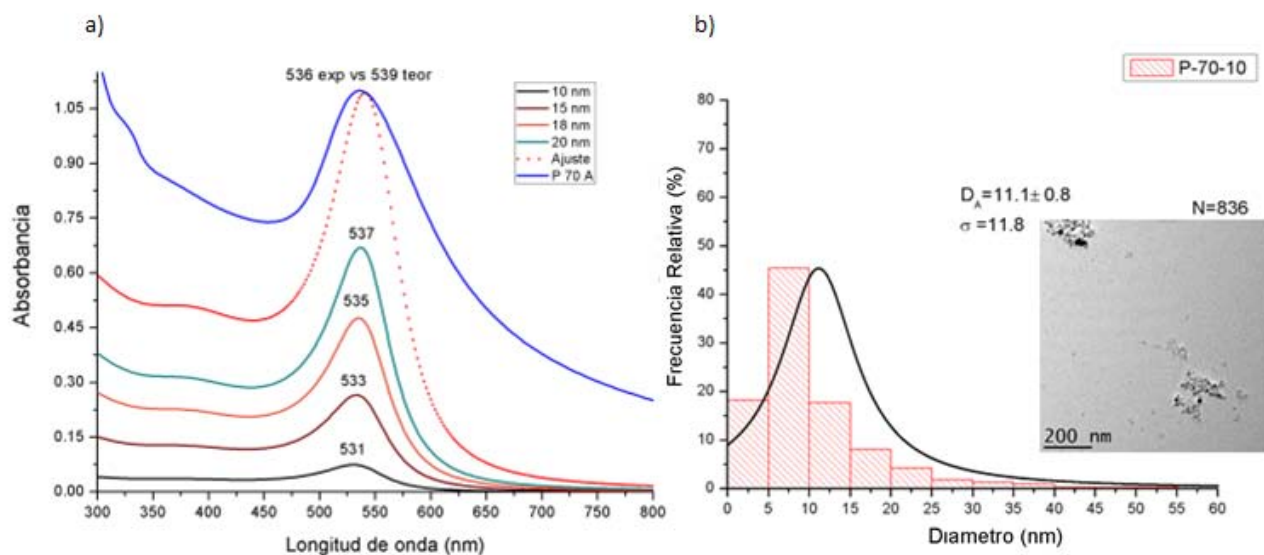


Figura 3.15: Espectros teóricos con $\lambda_{\text{plasmón}}$ cercanas a 536 nm. El ajuste semiempírico se realizó basándose en la distribución de tamaños obtenida de las micrografías.

Finalmente ambos espectros se normalizaron respecto al valor de absorbancia máxima de cada uno, y su espectro normalizado se presenta en la [Figura 3.16](#).

Como conclusión de este estudio se tiene que el ajuste semiempírico propuesto del coloide de Au-NPs es una primera aproximación del resultado experimental donde se tiene el polímero y se atribuye la diferencia en los anchos a la agrupación de las Au-NPs debida al acoplamiento con los cristales de POSS-tiol como se discutió previamente en la [Figura 3.10](#).

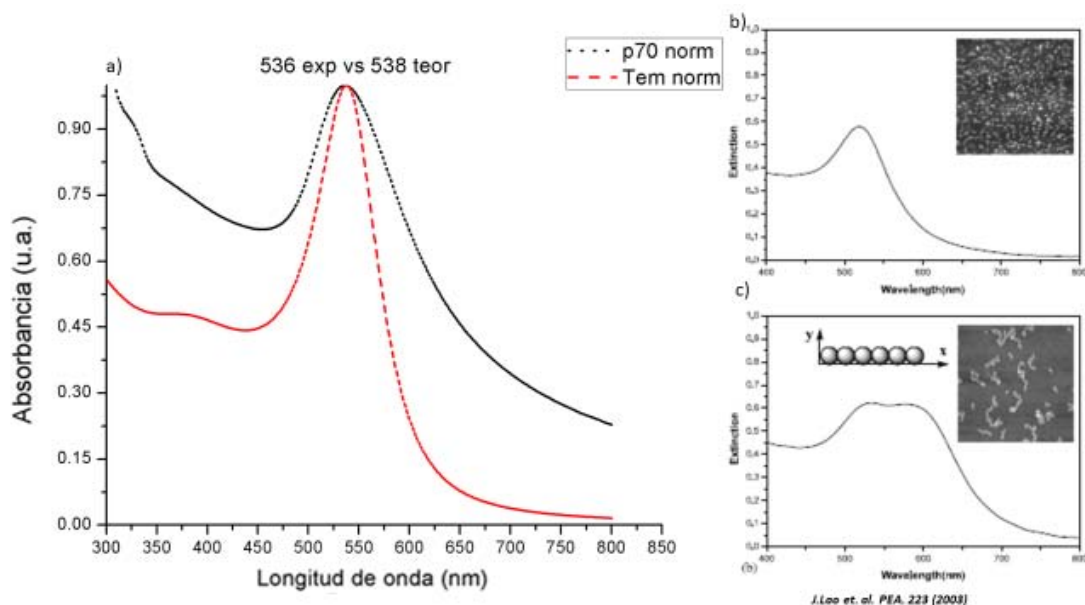


Figura 3.16: (a) Ajuste del espectro semiempírico y el experimental. (b) Espectro de extinción calculados para Au-NPs monodispersas y (c) agrupadas en cadenas lineales.

3.5. Espectrometría FTIR y Raman

Como se mencionó al final de la subsección 3.2, se observó que la estabilidad de la respuesta plasmónica mejoró considerablemente mediante el uso del POSS-tiol. Esto es un indicador de que este tipo de coloides pueden ser útiles para el desarrollo de biosensores plasmónicos. Sin embargo, para que su uso sea más efectivo es deseable que las Au-NPs estén funcionalizadas. Esto implica que exista un enlace químico entre las Au-NPs y el POSS-tiol de forma que el POSS-tiol a su vez pueda unirse a alguna molécula biológica de interés, como se presentó en la subsección 1.6. Se considera que la funcionalización puede ser posible dada la gran afinidad química del oro con el azufre. El mecanismo propuesto en esta interacción consiste en que el extremo de la molécula del polímero que tiene el tiol (grupo funcional S-H, [Figura 1.17](#)) sufre una desprotonización en presencia del oro, de manera que se suelta un ión H^+ y deja una vacante que ocupa el átomo de oro.

Dos técnicas espectroscópicas que permiten estudiar la presencia de un posible enlace entre las Au-NPs y el POSS-tiol son las espectroscopías Raman y FTIR. Mediante estas técnicas de caracterización se buscaron dos indicadores de funcionalización: la posible aparición de una señal asociada al enlace S-Au y una reducción en la señal asociada al enlace tiol S-H. Cualquiera de las

dos señales es una medición directa de la conjugación con el enlace S-Au. De acuerdo a lo reportado en la literatura [87] la señal S-Au se encuentra para números de onda en FTIR de $350 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Como se comentó anteriormente, en este estudio se colocaron gotas sobre un portaobjetos con los coloides de interés. Se realizó un barrido de mediciones en la frontera del borde de la marca originada por el *coffee stain* después de la evaporación del etanol. Los espectros de FTIR se muestran en la Figura 3.17

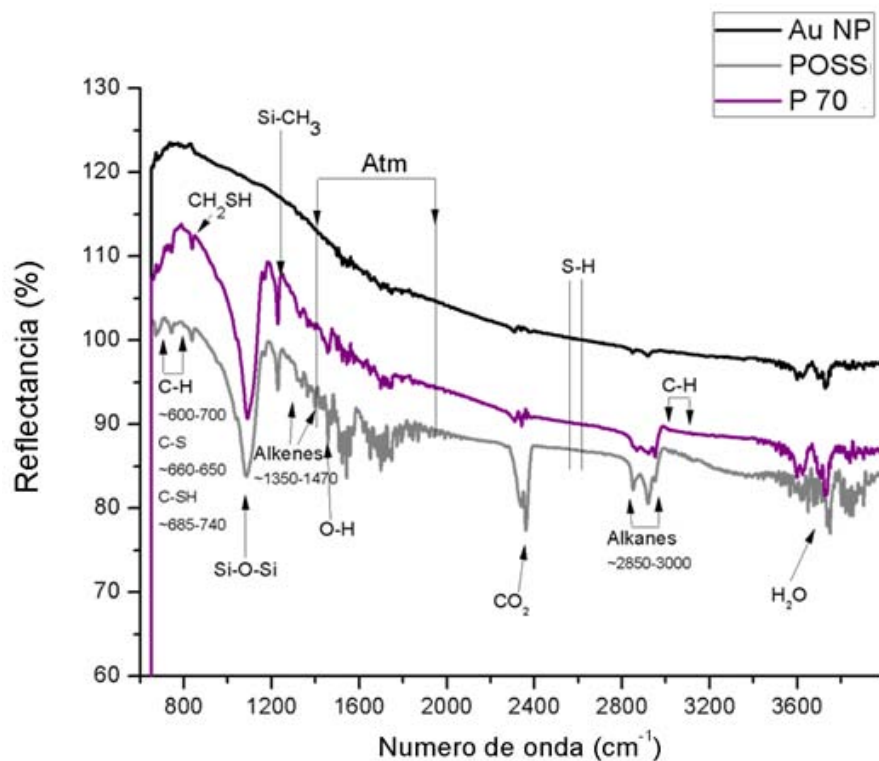


Figura 3.17: Espectros FTIR del polímero (curva gris), del coloide sin polímero (curva negra) y al 70% de concentración (curva morada). Se añadieron etiquetas de las bandas presentes en el polímero y la atmósfera.

Después de analizar cada banda que se obtuvo en la señal y compararla con lo reportado en [87] se localizaron la mayoría de los enlaces que conforma la caja híbrida de silicio y oxígeno así como sus alcanos en cada extremo, pero no se localizó la señal del extremo de la cadena con el grupo tiol S-H reportada en 2556 cm^{-1} . En la región $2400 - 2800 \text{ cm}^{-1}$ no se observaron picos significativos.

También se encontraron algunas bandas referentes a la atmósfera terrestre, agua y dióxido de carbono debido a fallas en el aislamiento del sistema. Es conocido que el oro puro no presenta señal FTIR ni Raman, como se puede apreciar en las curva negra de la Figura 3.17 y Figura 3.18. Sin embargo, no se encontró la señal asociada al enlace S-Au en la región de $300 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ya que se encuentra muy próximo a la frontera de ventana de medición y las señales en la región menor a 500 cm^{-1} presentaban variaciones irregulares.

Después de realizar este estudio se llevaron a cabo las mediciones por espectroscopía Raman, donde también se ha reportado el enlace S-Au en la región de $300 - 400 \text{ cm}^{-1}$ y el enlace del tiol

S-H cercano a 2556 cm^{-1} . El espectro Raman de la solución base y los coloides fueron estudiados con dos longitudes de onda de excitación, 532 nm y 785 nm con las que opera el equipo. La excitación con 785 nm generó señales muy débiles apenas sobre el nivel del ruido, por lo que se decidió usar la excitación a 532 nm . Cabe destacar que esta longitud de onda se encuentra en la sección de máxima absorción por LSPR de las Au-NPs, por lo que el haz fue absorbido, se disipó localmente una gran cantidad de calor y se carbonizaron partes de la muestra, como se ve en el espectro rojo de la [Figura 3.18](#) a la [Figura 3.20](#).

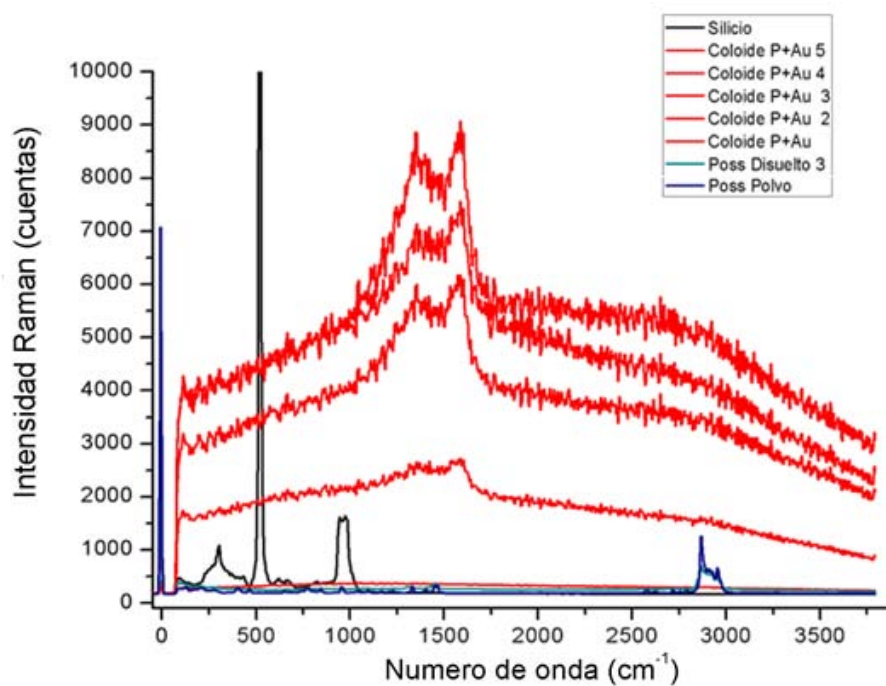


Figura 3.18: Espectro Raman del depósito de los coloides analizados (curva roja) y el polímero (curva azul y verde). Es notoria la gran señal que dio la carbonización de la muestra, la cual apantalla el resto de las componentes.

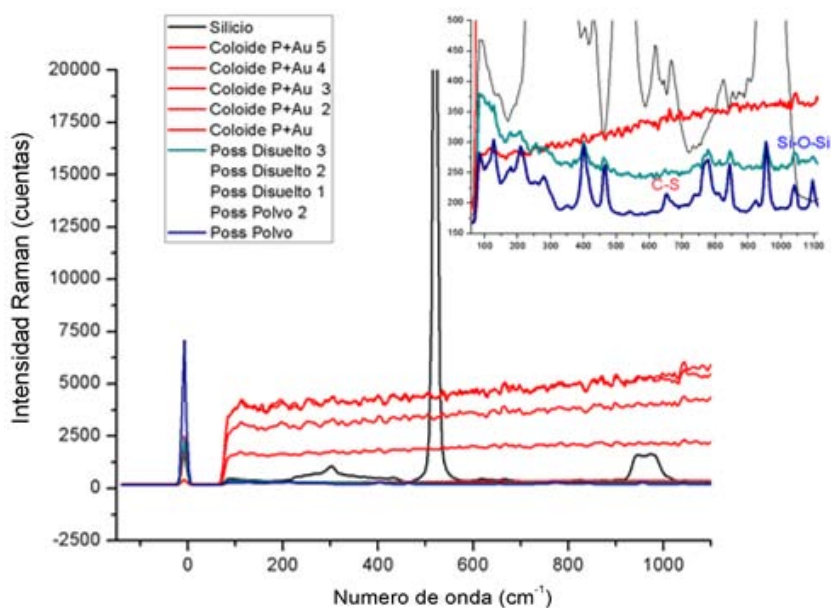


Figura 3.19: Ampliación de los espectros Raman cercanos al intervalo $0 - 1100 \text{ cm}^{-1}$. Se observan señales definidas del polímero en polvo, pero se pierde la información de las señales del coloide carbonizado (curva roja).

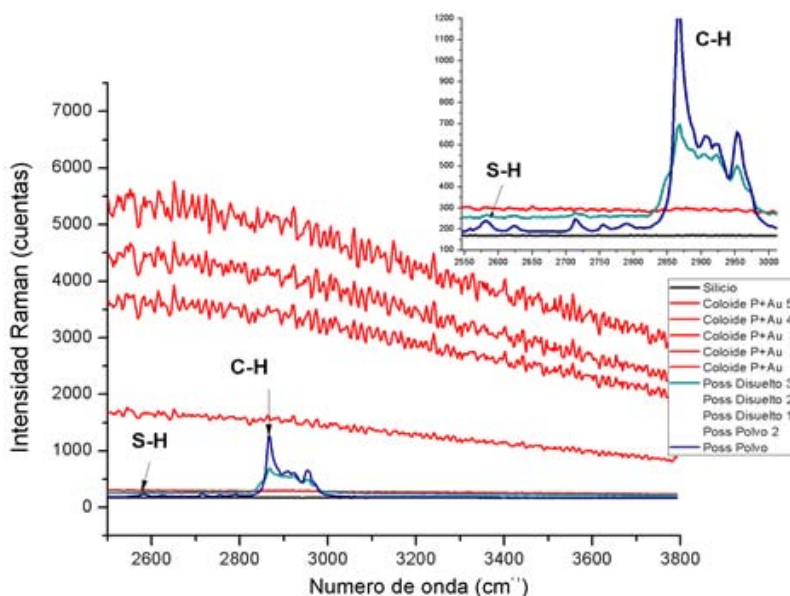


Figura 3.20: Ampliación de los espectros Raman cercanos al intervalo $2500 - 3800 \text{ cm}^{-1}$. Se observa la señal del tiol con muy baja intensidad para el polímero en polvo.

Éste fenómeno de carbonización se observó después de realizar las mediciones de los espectros Raman de las muestras, aún utilizando la menor energía de excitación con la que operaba el equipo. Por ello, no fue posible localizar la señal asociada al enlace S-Au, ni tampoco cambios en la señal del tiol S-H, la cual sólo se encontró cuando se analizaron granos del polímero sin disolver.

Además del apantallamiento de la señal por el oro y el posible cambio de estructura por la absorción del haz incidente del equipo Raman, existen otras razones por las que la medición directa del enlace S-Au es de gran dificultad y son independientes de la longitud de onda de excitación.

La banda se encuentra en una región muy cercana a la frontera de la mayoría de los equipos de medición, donde la sensibilidad del equipo puede no ser confiable, como en el caso de la medición del espectro FTIR. La señal se reporta con una intensidad muy baja, donde la técnica y optimización de medición requiere procesos muy complejos [88]. Además, la cantidad de enlaces disponibles para la funcionalización depende en gran medida del grado de disolución del polímero. Entre mayor sea la fragmentación de los cristales, mayor reactividad tendrán y habrá mayor disponibilidad de tioles para las Au-NPs. Como se observa en las micrografías de la [Figura 3.10](#), con las condiciones establecidas en este trabajo de tesis, no se logró la optimización de la disolución de POSS-tiol en etanol para el sistema coloidal de oro.

Las conclusiones del estudio de las secciones 3.1-3.3 de la respuesta óptica indican un acoplamiento útil al utilizar el polímero, sin embargo no hay evidencia de una funcionalización química. El último estudio de viabilidad se presenta a continuación, respecto a la toxicidad de los coloides con POSS-tiol.

3.6. Citotoxicidad en células gingivales

El estudio de citotoxicidad se realizó sobre cultivos de fibroblastos gingivales humanos (HGF) de pacientes sanos de 25 años de edad, según el protocolo de bioética de la Escuela Nacional De Estudios Superiores, Unidad León. A continuación se describe brevemente el protocolo seguido. En este estudio, las muestras de tejido HGF se sometieron a varios procesos de tratamiento, a las cuales se les introdujeron disoluciones de los coloides de Au-NPs de las tres concentraciones del polímero (0 %, 70 % y 100 %) y se incubaron para alcanzar una adherencia celular completa.

Se determinó el parámetro de Concentración Citotóxica al 50 % (CC_{50}) a partir de la curva de dosis-respuesta expuesta en la [Figura 3.21](#). Éste es un parámetro que describe la proporción de la sustancia externa necesaria para reducir a la mitad la población de organismos, lo que refiere a la sensibilidad de la muestra de tejido, y se calculó el valor promedio de CC_{50} mediante tres experimentos independientes. Se define la actividad citoestática como aquella que mantiene invariante la densidad poblacional.

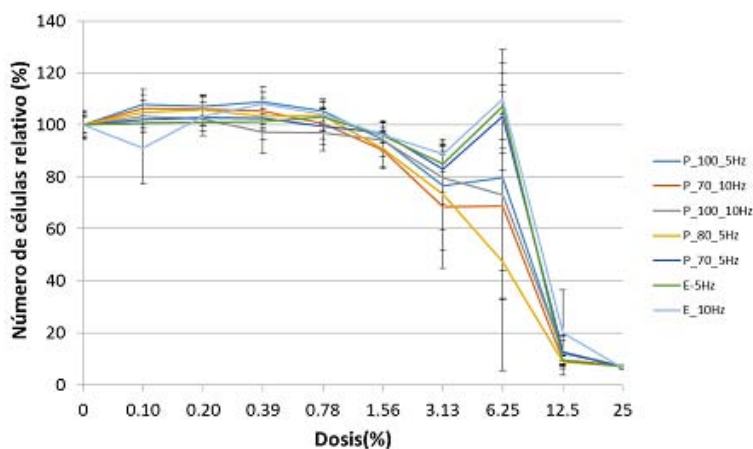


Figura 3.21: Curva dosis-respuesta de las distintas muestras en contacto con los coloides de Au-NPs. No se observa actividad citoestática, al modificar la dosis.

Por último se realizó un análisis estadístico del valor promedio y su desviación estándar al comparar los coeficientes CC_{50} entre todas las condiciones (prueba-t), donde se consideraron diferencias significativas a partir de un valor $p < 0.05$ de acuerdo a la prueba ANOVA post-hoc Tukey.

| Muestra | CC_{50} | Valor p |
|--------------|-----------|---------|
| P 100 % 5Hz | 9.00 | 0.52 |
| P 100 % 10Hz | 8.63 | 0.54 |
| P 70 % 5Hz | 9.92 | 0.57 |
| P 70 % 10Hz | 8.23 | 0.53 |
| E 0 % 5Hz | 9.90 | 0.57 |
| E 0 % 10Hz | 10.42 | 0.58 |

Tabla 3.4: Valores estadísticos de CC_{50} y el parámetro comparativo p para determinar las diferencias significativas entre muestras. Todos los casos muestran un valor $p > 0.05$.

El estudio exhibió que todas las muestras en contacto con las células HGF exhibieron un efecto citotóxico sin diferencias estadísticas ($p > 0.05$) ni actividad citoestática en la prueba de dosis-respuesta. Se obtuvo un valor mayor de sensibilidad para los coloides al 70 % de la disolución de POSS-tiol con un valor $CC_{50} = 8.23\%$ y menor sensibilidad para el coloide con solo etanol con un valor $CC_{50} = 10.42\%$, sin mostrar diferencias estadísticas, como se muestra en la [Tabla 3.4](#). Además, la mayor actividad citotóxica se debe a la deshidratación de las células por el contacto con el etanol, donde los cambios por el contacto con el oro y el polímero no son significativos.

Por lo anterior se concluye que el uso del POSS-tiol no aumenta la citotoxicidad que poseen los coloides de Au-NPs por lo que su uso para aplicaciones como sensores biomédicos es viable en lo que respecta a su biocompatibilidad.

Capítulo 4

Conclusiones y trabajo a futuro

En esta última sección se presentan las conclusiones de cada estudio realizado y un breve resumen de los resultados principales en la respuesta plasmónica de los coloides sintetizados. Por último se presentan varias ideas de cómo mejorar los datos y con ello el trabajo a futuro por desarrollar para la elaboración del sensor.

Se sintetizaron exitosamente nanopartículas esféricas de oro en suspensiones coloidales de etanol que presentan una respuesta óptica de absorción de luz por resonancia de plasmón de superficie localizada en la región visible entre 550 y 650 *nm*. Así mismo, se propuso la fabricación de nanopartículas de oro en disolventes que contuvieran un polímero que pudiera ayudar a mejorar la estabilidad y funcionalizar las nanopartículas para potenciales aplicaciones en biosensado, el POSS-tiol. Se estudió el efecto de este polímero al realizar síntesis a diferentes concentraciones 0%, 70% y 100% ($1 \times 10^{-4} M$), y estudiar el efecto de su presencia en las características ópticas, morfológicas, de estabilidad, químicas y citotóxicas de los coloides obtenidos.

Respecto a la síntesis por ablación láser se realizaron estudios de influencia de la distancia focal y el efecto de la presencia del polímero durante la fabricación en la energía incidente en el blanco, esto último mediante el uso de fotoacústica pulsada. Se encontró que la distancia lente-blanco de 7.8 *cm* es la óptima para obtener concentraciones de nanopartículas adecuadas sin comprometer la estabilidad del coloide.

Con un piezoeléctrico de sensibilidad de hasta 600 *kHz* se observó que la presencia del polímero durante la síntesis no afectaba significativamente la cantidad de energía que llegaba al blanco durante la ablación. Fue estudiado el efecto de la repetición de pulsos en la fabricación de los coloides y se optimizó el número de pulsos a utilizar para un valor de 2000 pulsos donde se pudo observar la presencia de respuesta plasmónica. Mediante la observación de los valores de la RMS obtenida de la caracterización fotoacústica se observó en general que aún ante cambios de concentración de POSS-tiol o la frecuencia de repetición de pulsos se establecen condiciones similares de ablación para las condiciones estudiadas. Todos los estudios realizados fueron realizados a una energía constante de 60 *mJ*.

Con esta técnica se encontró que es viable la producción de Au-NPs esféricas de tamaños entre 1 - 70 *nm*, casi en su totalidad menores a 20 *nm*, con grandes valores de dispersión de tamaño respecto al valor promedio y se observó que la presencia del POSS-tiol no afecta de manera significativa el diámetro promedio de nanopartículas ni su desviación estándar.

En lo referente a su estabilidad, los coloides que contenían el polímero mantuvieron su respuesta plasmónica durante un promedio de 10 días, respecto a los que sólo tenían etanol, que se precipitaban en promedio en menos de 5 días. La mejora principal en las propiedades ópticas de los coloides al usar POSS-tiol respecto a sólo etanol se encuentra en la estabilidad temporal de los espectros de absorbancia. Se calculó un deterioro relativo entre 13 % – 34 % de la absorbancia inicial y un ensanchamiento entre 15 % – 117 % al usar el polímero, comparado con un deterioro entre 29 % – 60 % de la absorbancia máxima y un ensanchamiento entre 46 % – 189 % al usar sólo etanol. El acoplamiento de los cristales fragmentados con el polímero permite una mejor suspensión de las Au-NPs, mediante un impedimento estérico a su coalescencia. Para las condiciones de concentración de POSS-tiol analizadas se obtuvo el valor promedio mínimo de $\lambda_{plasmón} = 531 + / - 40 \text{ nm}$, FWHM de $64 + / - 13 \text{ nm}$ y absorbancia máxima de $1.07 + / - 0.15$ para 0 % y 5 Hz, valor promedio máximo de $\lambda_{plasmón} = 568 + / - 23 \text{ nm}$, FWHM de $89 + / - 29 \text{ nm}$ y absorbancia máxima de $0.93 + / - 0.10$ para 70 % y 5 Hz. Los valores óptimos de $\lambda_{plasmón} = 536 + / - 26 \text{ nm}$, su absorbancia máxima de $1.11 + / - 0.21$ y un ancho FWHM de $64 + / - 23 \text{ nm}$ se encontraron para 70 % a 10 Hz.

El ajuste semiempírico propuesto con base en la teoría de Mie es una primera aproximación del resultado experimental que describe espectros similares a los medidos. Es fundamental incluir las contribuciones de distintos tamaños para tener una mejor aproximación. La diferencia de ancho de la banda se asocia a la agrupación de las Au-NPs al acoplarse con los cristales de POSS-tiol, donde se forman cadenas lineales de Au-NPs entre fragmentos del polímero.

De todas las condiciones estudiadas: foco, número de pulsos, concentración de POSS-tiol, y frecuencia de pulsos se encontró que las condiciones de síntesis son óptimas con 70 % de la concentración, ablación de 1064 nm a 10 Hz de frecuencia de ablación y 60 mJ por pulso, a una distancia de 7.8 cm lente-blanco y 2000 pulsos.

En lo referente a la composición química de los coloides con POSS-tiol las técnicas espectroscópicas FTIR y Raman no muestran presencia del enlace S-Au ni cambios en alguno de los enlaces involucrados (C-S, C-SH, S-H), debido a la carbonización de las muestras por excitación a 532 nm del equipo Raman y a la débil señal propia del enlace S-Au. Algo a resaltar es que no se encontró deterioro en la composición química del POSS-tiol, lo que demuestra resistencia al proceso de síntesis por lo que puede decirse que es un material adecuado para ser usado en coloides fabricados mediante ablación láser. Estos resultados muestran que con las condiciones estudiadas no hay funcionalización de las nanopartículas de oro con el POSS-tiol, lo cual puede deberse a que el etanol no es un buen disolvente del POSS-tiol de forma que hay poca superficie disponible para la interacción tiol-oro.

Además de la respuesta óptica y su estabilidad, si se desea utilizar los coloides para una aplicación de biosensado estos no pueden ser citotóxicos. Debido a ello se eligió utilizar etanol a pesar de no ser el disolvente más adecuado del POSS-tiol. El etanol es el alcohol que presenta menor citotoxicidad. Para probar si el POSS-tiol presentaba actividad citotóxica al interactuar con las Au-NPs se realizaron pruebas de citotoxicidad en células gingivales. Las células HGF en contacto con los coloides de oro y POSS-tiol, exhibieron un efecto citotóxico sin diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre ellas y sin actividad citoestática. Ni la implementación del polímero ni la presencia de Au-NPs modifican significativamente la toxicidad del coloide, se le atribuye este efecto al etanol.

A partir de estas conclusiones a continuación se proponen algunas ideas para mejorar la distribución de tamaños de las NPs así como para facilitar la funcionalización de las nanopartículas de oro con POSS-tiol.

4.1. Trabajo a futuro

Se propone continuar con el uso del etanol, por su alta biocompatibilidad respecto a otros disolventes de polímeros. Es imperante tener una mejor condición de disolución en el etanol por lo que se propone someter la disolución del polímero a un tratamiento láser para una mayor fragmentación de los cristales.

Este proceso puede ser optimizado si se implementa un agitador magnético para aumentar la uniformidad de la disolución. Otra estrategia para facilitar la interacción entre las Au-NPs y el POSS-tiol es realizar la síntesis de las NPs por ablación láser, después hacer una selección de tamaños mediante centrifugación y agregar el POSS-tiol “ex situ” durante un tratamiento de agitación ultrasónica. La centrifugación permitiría discriminar los tamaños de manera que su ancho de distribución puede disminuir significativamente y con ello el ancho de la banda de absorbancia. Con lo anterior, el corrimiento de la longitud de onda del plasmón al estar en contacto con alguna sustancia de interés sería más apreciable. Esto aumenta la sensibilidad de los coloides como biosensores.

Se pretende comparar con un estudio teórico-experimental de la funcionalización mediante cálculos con la Teoría de la Función de Densidad (DFT) y la técnica de Espectroscopía de Fotoelectrones emitidos por Rayos X (XPS), así como la optimización de las técnicas espectroscópicas de FTIR y Raman.

Se planea explorar con distintos disolventes biocompatibles que permitan la ablación láser del blanco de oro, por ejemplo algunas ceras vegetales. Si se utilizan disolventes con distintos coeficientes de viscosidad se puede hacer un análisis más profundo de la formación de NPs y de la burbuja de cavitación.

Se tiene interés en utilizar disoluciones de Polietilenglicol (PEG) en el estudio de la formación de cadenas lineales al hacer ablación láser en este medio. Esto evita el uso de surfactantes adicionales, lo que mantiene sus propiedades de biocompatibilidad.

Apéndice A

Teoría de Mie

A.1. Esparcimiento de radiación EM por partículas esféricas

A.1.1. Fundamentos

Se situará nuestra atención en el régimen lineal de la teoría clásica del electromagnetismo, donde el esparcimiento de las ondas electromagnéticas (EM) en cualquier medio se debe a la heterogeneidad del mismo. Una vez que una onda EM entra en contacto con una partícula o un conjunto de ellas (átomos, moléculas o cúmulos), se genera un movimiento oscilatorio de sus cargas eléctricas debido al campo eléctrico incidente. Como consecuencia del movimiento de las cargas aceleradas, se radía energía en todas direcciones. Esta segunda radiación es el campo *esparcido*. Es decir, el esparcimiento es un fenómeno de excitación seguido de una segunda radiación. Además de la segunda radiación, las cargas excitadas dentro del material pueden interactuar con la onda EM y transformar parte de la energía incidente en energía térmica, generando un proceso de *absorción*.

Según el sistema, es más probable un fenómeno que el otro. En términos generales el *esparcimiento* y la *absorción* de energía del campo incidente suceden simultáneamente.

Para iniciar la discusión sobre este sistema de interés, se supondrá como primera aproximación un medio isotrópico, homogéneo y lineal, donde un campo eléctrico armónico y homogéneo \mathbf{E} cumple que:

$$\nabla^2 E = -k^2 E \implies (\nabla^2 + k^2)E = 0 \quad (\text{A.1})$$

Es decir, el campo cumple la ecuación de Helmholtz, donde la constante k se define como :

$$k^2 = \frac{\omega^2}{c^2} \epsilon \mu \quad (\text{A.2})$$

para una permitividad eléctrica ϵ y permeabilidad magnética μ y una onda electromagnética de frecuencia ω y velocidad c . Se asume también la ausencia de fuentes de carga o corrientes eléctricas, de tal manera que se pueden expresar las primeras dos ecuaciones del electromagnetismo de Maxwell como:

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = 0 \quad (\text{A.3})$$

$$\nabla \cdot \mathbf{H} = 0 \quad (\text{A.4})$$

mientras que las restantes son:

$$\nabla \times E = i\frac{\omega}{c}\mu H \quad (\text{A.5})$$

$$\nabla \times H = -i\frac{\omega}{c}\epsilon E \quad (\text{A.6})$$

Sean φ una función escalar y \vec{C} un vector irrotacional; $\nabla \times \vec{C} = 0$ para construir un vector generador M que sea solución de la ecuación de Helmholtz (ecuación 1). Se define M como:

$$M = \nabla \times (\varphi C) - \varphi(\nabla \times C) - C \times \nabla \varphi = -c \times \nabla \varphi \quad (\text{A.7})$$

$$\Rightarrow \nabla \cdot M = \nabla \cdot (C \times \nabla \varphi) = 0 \quad (\text{A.8})$$

donde la ecuación (8) se obtiene al utilizar las siguientes propiedades del rotacional y su divergencia, que se cumplen sobre cualquier vector A y cualquier escalar f :

$$\nabla \cdot (\nabla \times A) = 0$$

$$\nabla \times (\nabla f) = 0 \quad (\text{A.9})$$

$$\nabla \times (\nabla \times A) = \nabla(\nabla \cdot A) - \nabla^2 A \quad (\text{A.10})$$

Al aplicar la propiedad de la ecuación (10) sobre el vector M ,

$$\nabla \times (\nabla \times M) = \nabla(\nabla \cdot M) - \nabla^2 M = \nabla \times \{\nabla(\nabla \cdot (\varphi C))\} - \nabla \times (\nabla^2(\varphi C))$$

así como las propiedades previamente descritas, es posible reducir la expresión de M a:

$$(\nabla^2 + k^2)M = \nabla \times [\nabla^2(\varphi C)] + k^2 \nabla \times (\varphi C)$$

$$(\nabla^2 + k^2)M = \nabla \times \{(\nabla^2 \varphi + k^2 \varphi)\} \quad (\text{A.11})$$

donde se ha supuesto que $\nabla^2 C = 0$.

De la ecuación (11) es posible observar que el vector generador M satisface la ecuación de Helmholtz

$$\nabla^2 M = -k^2 M,$$

si φ satisface la ecuación de onda

$$\nabla^2 \varphi = -k^2 \varphi.$$

Dada la definición del vector M , se utiliza su condición de ortogonalidad $M \cdot C = 0$, para construir un vector N , de la forma:

$$N = \frac{1}{k} \nabla \times M \quad (\text{A.12})$$

con divergencia nula, el cual cumple:

$$\nabla \times N = \frac{1}{k} \nabla \times (\nabla \times M) = -\frac{1}{k} \nabla^2 M = kM. \quad (\text{A.13})$$

Los vectores M y N construídos de esta manera tienen como características:

- Son solución de la ecuación de onda vectorial
- Su divergencia es nula
- Sus rotacionales son proporcionales entre sí, con un factor de proporcionalidad k .

A la función escalar φ se le llama *Función Generadora* de los vectores armónicos M y N .

Hasta aquí, se describe de manera general la interacción de una onda electromagnética en un medio heterogéneo que puede esparcir y absorber la luz. En la siguiente subsección, se expondrán las ecuaciones constitutivas del sistema de interés de esta tesis.

A.1.2. Construcción de los vectores armónicos esféricos

Dado el interés en la interacción de la radiación con una partícula con geometría esférica, se usarán coordenadas esféricas $P = P(r, \Theta, \phi)$. Sea \vec{C} ahora el vector radial $\vec{r} = x\hat{e}_x + y\hat{e}_y + z\hat{e}_z = r\hat{e}_r$ de manera que:

$$\begin{aligned}\nabla \times \vec{C} &= 0, \\ \nabla^2 \vec{C} &= 0.\end{aligned}$$

Por lo tanto:

$$M = \nabla \times (\varphi \vec{r}) = \vec{r} \times \nabla \varphi \implies \vec{r} \cdot M = 0$$

es decir, para cualquier esfera descrita por \vec{r} para cualquier $|r|$ constante, M es tangencial a ella.

Al resolver la ecuación de Helhomltz para φ en coordenadas esféricas, tenemos que el problema a desarrollar es:

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial \varphi}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2 \sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin \theta \frac{\partial \varphi}{\partial \theta} \right) + \frac{1}{r^2 \sin^2 \theta} \left(\frac{\partial^2 \varphi}{\partial \phi^2} \right) + k^2 \varphi = 0. \quad (\text{A.14})$$

La ecuación anterior se resuelve mediante el método de separación de variables, al suponer que φ es el producto de dos funciones, una radial y otra que depende de los ángulos polar y azimutal $\varphi(r, \theta, \phi) = R(r)F(\theta, \phi)$.

Al sustituir la expresión en (13) y multiplicar por el factor $\frac{r^2}{\varphi}$ obtenemos otra ecuación que también es de variables separables:

$$\frac{1}{R(r)} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) + k^2 r^2 = - \frac{1}{F(\theta, \phi)} \frac{1}{\sin^2 \theta} \left[\sin \theta \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin \theta \frac{\partial}{\partial \theta} \right) + \frac{\partial^2}{\partial \phi^2} \right] F(\theta, \phi) = c. \quad (\text{A.15})$$

Se observa que para ambos lados de la igualdad de (14), sólo se depende de un tipo de componente (radial izquierda; angular derecha) por lo que sus derivadas cruzadas se anulan, y podemos concluir que deben ser iguales a una misma constante escalar c por determinar. A c se le conoce como la constante de separación del problema.

Al observar el componente angular, se puede reconocer como un segundo problema de variables separables, si se considera a $F(\theta, \phi) = \Theta(\theta)\Phi(\phi)$, y se sigue un procedimiento análogo al anterior, de manera que:

$$\frac{1}{\Theta(\theta)} \text{sen}\theta \frac{\partial}{\partial\theta} \left(\text{sen}\theta \frac{\partial}{\partial\theta} \Theta(\theta) \right) + c \text{sen}^2\theta = \frac{1}{\Phi(\phi)} \frac{\partial^2 \Phi(\phi)}{\partial\phi^2} = m^2 \quad (\text{A.16})$$

donde se ha definido m^2 la segunda constante de separación de la ecuación de Helmholtz.

Finalmente, se obtienen 3 ecuaciones diferenciales, cada una de una única variable, que describen el comportamiento oscilatorio y armónico de un potencial escalar $\varphi(r, \theta, \phi)$ gobernado por (1):

$$\frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR(r)}{dr} \right) + [k^2 r^2 - c] R(r) = 0 \quad (\text{A.17})$$

$$\left(\frac{1}{\text{sen}\theta} \frac{d}{d\theta} \left(\text{sen}\theta \frac{d}{d\theta} \right) + c - \frac{m^2}{\text{sen}^2\theta} \right) \Theta(\theta) = 0 \quad (\text{A.18})$$

$$\left(\frac{d^2}{d\phi^2} + m^2 \right) \Phi(\phi) = 0 \quad (\text{A.19})$$

Dado que φ describirá el potencial asociado al campo de radiación, es necesario que dicho potencial sea finito y bien definido en nuestro espacio, por lo que φ deberá cumplir las siguientes características:

- Para $\Phi(\phi)$ solución de (18): se tiene la ecuación mas simple de un oscilador armónico, con soluciones pares Φ_{2n} e impares Φ_{2n+1} , descritas por $\cos(m\phi)$ y $\text{sen}(m\phi)$, respectivamente. Dada la propiedad de periodicidad de las soluciones, es inmediato observar que su periodo es de 2π y por lo tanto, la constante de separación m es un número entero.
- Para $\Theta(\theta)$ solución de (17): tenemos una ecuación diferencial de Legendre, cuyas soluciones deben ser finitas para valores $\theta = 0$ y $\theta = \pi$. Las funciones que satisfacen lo anterior son los llamados *Polinomios asociados de Legendre* de primer tipo $P_{n(\text{grado})}^{m(\text{orden})}$ donde la constante de separación es $c = n(n+1)$ para n natural.

Una de las propiedades de éstos polinomios es que son ortogonales entre sí al ser del mismo orden, con respecto a la función de peso

$$\int_{-1}^1 P_n^m(u) P_{n'}^m(u) du = \delta_{nn'} \frac{2}{2n+1} \frac{(n+m)!}{(n-m)!}, \quad (\text{A.20})$$

donde se ha definido $u = \cos\theta$ y $\delta_{nn'} = 1$ si $n = n'$ y 0 en cualquier otro caso.

Para $R(r)$ solución de (16): al hacer el cambio de variable $z = kr$ y la transformación correspondiente $R(r) \rightarrow Z_n(z)$ la ecuación queda:

$$\left\{ z^2 \frac{d^2}{dz^2} + 2z \frac{d}{dz} + z^2 - n(n+1) \right\} Z_n(z) = 0 \quad (\text{A.21})$$

cuyas soluciones $Z_n(z)$ son las llamadas *Funciones esféricas de Bessel* de primer $j_n(z)$, segundo y_n y tercer tipo $h_n^{(1)}(z)$ y $h_n^{(2)}(z)$ definidas como:

$$\begin{aligned}
j_n(z) &= \sqrt{\frac{\pi}{2z}} J_{n+\frac{1}{2}}(z) \\
h_n(z) &= \sqrt{\frac{\pi}{2z}} Y_{n+\frac{1}{2}}(z) \\
h_n^{(1)}(z) &= j_n(z) + iy_n = \sqrt{\frac{\pi}{2z}} H_{n+\frac{1}{2}}^{(1)} \\
h_n^{(2)}(z) &= j_n(z) - iy_n = \sqrt{\frac{\pi}{2z}} H_{n+\frac{1}{2}}^{(2)},
\end{aligned}$$

respectivamente.

Estas funciones cumplen la propiedad de que para un mismo grado n se tiene que a pares son linealmente independientes, de tal forma que j_n y y_n lo son entre ellas, así como $h_n^{(1)}(z)$ y $h_n^{(2)}(z)$ entre sí.

Al expresar el potencial escalar como el producto $\varphi = R(r)F(\theta, \phi) = Z_n(z)\Theta(\theta)\Phi(\phi)$, las soluciones quedan explícitamente como:

$$\varphi_{par}^{mn} = Z_n(kr)[P_n^m(\cos\theta)]\cos(m\phi) \quad (\text{A.22})$$

$$\varphi_{impar}^{mn} = Z_n(kr)[P_n^m(\cos\theta)]\sen(m\phi). \quad (\text{A.23})$$

De las definiciones de los vectores armónicos esféricos \vec{M} y \vec{N} según (7) y (12), se tienen dos familias de vectores que son ortogonales entre sí:

$$M_{par}^{mn} = \nabla \times (\varphi_{par}^{mn}\vec{r}), M_{impar}^{mn} = \nabla \times (\varphi_{impar}^{mn}\vec{r})$$

$$N_{par}^{mn} = \frac{1}{k}\nabla \times M_{par}^{mn}, N_{impar}^{mn} = \nabla \times M_{impar}^{mn}.$$

A.1.3. Radiación esparcida: Coeficientes de Mie

Al aplicar la condición a la frontera $r = a$, en la superficie de una esfera de radio a , para el campo incidente (E^i, H^i) , el campo en el interior de la esfera (E^{int}, H^{int}) y el campo esparcido fuera de ella (E^{esp}, H^{esp}) , se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones :

$$(E^i + E^{esp} - E^{int}) \times \hat{e}_r = 0 \quad (\text{A.24})$$

$$(H^i + H^{esp} - H^{int}) \times \hat{e}_r = 0 \quad (\text{A.25})$$

consecuencia de la conservación de energía. Al expandir la expresión del campo incidente como la suma de sus componentes descritas por $\vec{M}_{par/impar}^{mn}$ y $\vec{M}_{par/impar}^{mn}$, con la propiedad de que todos los factores que no tengan $m = 1$ se anulan, resulta que :

$$E^i = \sum_{n=1}^{\infty} E_n (M_{impar1n}^{(1)} - iN_{par1n}^{(1)}) H^i = -\frac{ck_2}{\omega\mu_2} \sum_{n=1}^{\infty} E_n (M_{par1n}^{(1)} + iN_{impar1n}^{(1)}) \quad (\text{A.26})$$

donde los coeficientes del campo eléctrico $E_n = inE_0 \frac{2n+1}{n(n+1)}$ y H^i se obtuvo al utilizar la ecuación de Maxwell (3).

De (24) y (25), cuando se relacionan las componentes de (E^i, H^i) , (E^{int}, H^{int}) y (E^{esp}, H^{esp}) . mediante los coeficientes a_n, b_n, c_n, d_n , llamados *Coefficientes de Mie*, se llega a que:

$$E^{int} = \sum_{n=1}^{\infty} E_n (c_n M_{impar1n}^{(1)} - id_n N_{par1n}^{(1)}) \quad (\text{A.27})$$

$$H^{int} = -\frac{ck_2}{\omega\mu_2} \sum_{n=1}^{\infty} E_n (d_n M_{par1n}^{(1)} + ic_n N_{impar1n}^{(1)}) \quad (\text{A.28})$$

$$E^{esp} = \sum_{n=1}^{\infty} E_n (ia_n M_{impar1n}^{(3)} - b_n N_{par1n}^{(3)}) \quad (\text{A.29})$$

$$H^{esp} = -\frac{ck_2}{\omega\mu_2} \sum_{n=1}^{\infty} E_n (ib_n M_{impar1n}^{(3)} + a_n N_{par1n}^{(3)}), \quad (\text{A.30})$$

donde los superíndices ⁽³⁾ refieren a los armónicos esféricos con dependencia radial descrita por $h_n(kr)$, la cual para cada orden n se comporta como una onda saliente de la esfera cuando $kr \gg 1$. Es decir, a_n y b_n son los coeficientes del campo esparcido, mientras que c_n y d_n son del campo retenido. Para cualquier valor de n tenemos el conjunto de coeficientes $\{a_n, b_n, c_n$ y $d_n\}$ a determinar. Los vectores armónicos con el superíndice ⁽³⁾ son los *Modos normales electromagnéticos* de la partícula esférica.

El campo esparcido es una superposición de modos normales, cada uno pesado por sus coeficientes a_n y b_n . Para cada orden n , tenemos dos tipos de modos: los transversales magnéticos (TM) y los transversales eléctricos (TE), los cuales carecen de su correspondiente componente radial. Por esta razón, entre mayor sea el tamaño de la esfera, mayores órdenes contribuyen al esparcimiento de la radiación incidente.

Las frecuencias con las cuales a_n y b_n son los coeficientes dominantes, son las frecuencias naturales de la esfera. Son cantidades complejas y si su componente imaginaria es pequeña comparada con su componente real, esta última corresponde aproximadamente a las frecuencias reales de las ondas EM incidentes que excitarán alguno de los varios modos electromagnéticos: los de baja frecuencia, los de alta frecuencia o modos superficiales.

Si se consideran medios igualmente magnéticos ($\mu_1 = \mu_2$), se introducen las funciones de Ricatti-bessel

$$\begin{aligned} \varphi_n(z) &= zj_n(z) \\ \zeta_n(z) &= zh_n(z) \end{aligned}$$

y al aplicar la condición a la frontera $r = a$ para una esfera de radio a índice de refracción N_2 inmerso en un medio de índice de refracción N_1 al sistema de ecuaciones previamente planteado (23) y (24), se obtienen los dos primeros coeficientes de Mie:

$$a_n = \frac{m\varphi_n(mx)\varphi'_n(x) - \varphi_n(x)\varphi'_n(mx)}{m\varphi_n(mx)\zeta'_n(x) - \zeta_n(x)\varphi'_n(mx)} \quad (\text{A.31})$$

$$b_n = \frac{\varphi_n(mx)\varphi'_n(x) - m\varphi_n(x)\varphi'_n(mx)}{\varphi_n(mx)\zeta'_n(x) - m\zeta_n(x)\varphi'_n(mx)} \quad (\text{A.32})$$

donde se ha introducido el índice de refracción relativo $m = \frac{N_2}{N_1}$ y el parámetro de tamaño definido por $x = k_2 a = \frac{2\pi N_2 a}{\lambda}$ con a el radio de la esfera. Es importante hacer énfasis en los parámetros directamente involucrados en los coeficientes del campo esparcido: los índices de refracción de los materiales, el tamaño de la partícula esférica y la longitud de onda de la radiación incidente, ya que de calcular espectros de absorbancia debida a la respuesta plasmónica, son los parámetros experimentales a introducir.

Por otro lado, la razón neta a la que la energía de una onda electromagnética cruza una superficie A de una esfera de radio r , es

$$W^{ab} = - \int_A \vec{S} \cdot \hat{e}_r dA \quad (\text{A.33})$$

para \vec{S} el vector de Poynting, con magnitud $S = \frac{c}{8\pi} \text{Re} \{ \vec{E} \times [\vec{H}] \} = S^i + S^{esp} + S^{ext}$, que describe la energía que lleva la onda (el superíndice ext refiere a las pérdidas por la interacción entre el campo incidente y el esparcido). Si $W^{ab} > 0$ la partícula absorbe energía. Al hacer el balance de energía $W^{ab} = W^i - W^{esp} + W^{ext}$ para un medio no absorbente ($W^i = 0$, la energía disipada en el medio es nula) tenemos que la energía perdida respecto a la incidente se debe a la absorbida por la partícula y sus componentes son:

$$W^{ext} = W^{ab} + W^{esp}. \quad (\text{A.34})$$

Dado un campo \vec{E} se puede describir a \vec{H} como $\vec{H} = \frac{c}{\omega\mu} \hat{k} \times \vec{E}$ y su vector de Poynting como $\vec{S} = \frac{c}{8\pi} \text{Re} \{ \vec{E} \times \vec{H}^* \} = I \hat{s}$ donde I es la intensidad de la radiación $I = \frac{c}{8\pi} \frac{ck}{\omega\mu} |E|^2$ y \hat{s} el vector unitario en la dirección de \vec{S} .

En particular, para la parte extinguida:

$$S^{ext} = \frac{c}{8\pi} \text{Re} \{ E^i \times (H^{esp})^* + E^{esp} \times (H^i)^* \} \quad (\text{A.35})$$

y se define la sección eficaz de extinción

$$C^{ext} = \frac{W^{ext}}{I^i} = \frac{W^{ab}}{I^i} + \frac{W^{esp}}{I^i} = C^{ab} + C^{esp}. \quad (\text{A.36})$$

que describe la relación entre la energía disipada y la energía incidente, y se le puede asociar a cada componente una sección eficaz $C^{ab} = \frac{W^{ab}}{I^i}$ y $C^{esp} = \frac{W^{esp}}{I^i}$.

Explícitamente, al sustituir en (34) las componentes E^i y H^{esp} ya calculadas (25-29), se obtienen las secciones eficaces en términos de los coeficientes de Mie:

$$C^{esp} = \frac{2\pi}{k_2^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \quad (\text{A.37})$$

$$C^{ext} = \frac{2\pi}{k_2^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \text{Re} \{ a_n + b_n \} \quad (\text{A.38})$$

Finalmente, se definen los coeficientes de extinción, al considerar a la esfera como una superficie perfectamente absorbente donde el campo incidente interactúa con ella como si fuera un disco de superficie πa^2 :

$$Q_{ext} = \frac{C^{ext}}{\pi a^2} \quad (\text{A.39})$$

$$Q_{esp} = \frac{C^{esp}}{\pi a^2} \quad (\text{A.40})$$

donde Q_{ext} y Q_{esp} son los coeficientes de extinción del campo total extinguido y el campo esparcido, los cuales fueron utilizados en esta tesis para calcular espectros teóricos de absorbancia de Au-NPs sumergidas en etanol, como se expone en el apéndice B.

Apéndice B

Ajuste semiempírico

En esta sección se presenta el código del programa utilizado en Mathematica9 para calcular los espectros de absorbancia de coloides monodispersos de NPs esféricas en una matriz homogénea. Se anexan imágenes del desarrollo de la teoría de Mie descrita en el apéndice A, junto con valores experimentales de la función dieléctrica del etanol y el oro en bulto. Se usó la base de datos de las mediciones de Johnson y Christy del año 1972 [\[86\]](#).

```
(*Para definir la función dieléctrica del oro como  $\epsilon_{Au} = \epsilon_1 + i\epsilon_2$  necesitamos definir  $n[\lambda]$  y  $k[\lambda]$  primero *)

Listaoro = ReadList["Gold complex refractive index.txt", Number];
(*Se lee la lista de caracteres numéricos. Es importante que la lista solo
numeros y que este guardado en "My Documents". Especificamos number*)

part = Partition[Listaooro, 3]; (*separamos la lista en tres columnas*)

parejas = Table[{part[[i, 1]], part[[i, 2]], part[[i, 3]]}, {i, 1, 200}];
(*es nuestra función que tiene como columnas las particiones creada por
"m para renglones i y por columnas (1 2 y 3), según renglones i *)

partereal = Table[{parejas[[i, 1]], parejas[[i, 2]]}, {i, 1, 200}];
(*emparejamos la columna 1 con la 2 y hacemos la tabla ( $\lambda$ , nreal)*)
parteimag = Table[{parejas[[i, 1]], parejas[[i, 3]]}, {i, 1, 200}];
(*emparejamos la columna 1 con la 2 y hacemos la tabla ( $\lambda$ , kimag)*)
(* interpolamos las tablas anteriores, a columnas, es decir,
se hacen continuas las  $\lambda$  y les asocia continuamente los valores n o k *)
nreal = Interpolation[partereal];
kimag = Interpolation[parteimag];

n[ $\lambda$ _] := nreal[ $\lambda$ ] + I * kimag[ $\lambda$ ];

 $\epsilon_m = 1.8596$ ; (*para el etanol*)
 $n_m = \sqrt{\epsilon_m}$ ;
do = 1 * (10 (7)); (*1 cm de ancho de la cubeta, en nm*)
Molar = 5.07 * (10-6); (* concentración de partículas de oro en
Molaridad. Usamos como dato experimental la concentracion de los coloides
de Enrique 10mg/l y un peso molecular del oro de 196.9665 gr/mol *)

 $\epsilon_1[\lambda\_]$  := (nreal[ $\lambda$ ])2 - (kimag[ $\lambda$ ])2; (*definimos nuestra función dieléctrica*)
 $\epsilon_2[\lambda\_]$  := 2 nreal[ $\lambda$ ] * kimag[ $\lambda$ ];
 $\epsilon_{Au}[\lambda\_]$  :=  $\epsilon_1[\lambda]$  + I *  $\epsilon_2[\lambda]$ ;
```

```

(*Funciones que describen el campo propagado en presencia de la esfera*)

J[l_, x_] := Sqrt[Pi / (2 x)] BesselJ[l + 1 / 2, x] (*Funciones Bessel esféricas*)
y[l_, x_] := Sqrt[Pi / (2 x)] BesselY[l + 1 / 2, x] (*Funciones Neunman esféricas*)
h1[l_, x_] := J[l, x] + I * y[l, x] (*Función de Hankel esférica de primer tipo*)
h2[l_, x_] := J[l, x] - I * y[l, x] (*Función de Hankel esférica de segundo tipo *)
psi[l_, x_] := x * J[l, x] (*Función de Riccati-Bessel*)
xi[l_, x_] := x * h1[l, x] (*Función de Riccati -Bessel*)
psiDev[l_, x_] := Derivative[0, 1][psi][l, x]
xiDev[l_, x_] := Derivative[0, 1][xi][l, x]

x[lam_, R_] := (2 * Pi * nm * R) / lam; (*parámetro de tamaño*)
m[lam_] := n[lam] / nm; (*índice de refracción relativo*)
y[R_] := x[206.6, R] + 4.05 (x[206.6, R])^(1/3) + 2;
(*elegimos el máximo parámetro de tamaño, del espectro para un radio R dado*)

LastTerm[R_] := Ceiling[Abs[y[R]]];
(*tomamos en n-ésimo número entero mas cercano,
para la condición de acotamiento de la suma*)

a[l_, R_, lam_] :=
  (m[lam] psi[l, m[lam] x[lam, R]] psiDev[l, x[lam, R]] - psi[l, x[lam, R]] psiDev[l, m[lam] x[lam, R]]) /
  (m[lam] psi[l, m[lam] x[lam, R]] xiDev[l, x[lam, R]] - xi[l, x[lam, R]] psiDev[l, m[lam] x[lam, R]]);
(*Definición coeficiente a de Mie*)

b[l_, R_, lam_] :=
  (psi[l, m[lam] x[lam, R]] psiDev[l, x[lam, R]] - m[lam] psi[l, x[lam, R]] psiDev[l, m[lam] x[lam, R]]) /
  (psi[l, m[lam] x[lam, R]] xiDev[l, x[lam, R]] - m[lam] xi[l, x[lam, R]] psiDev[l, m[lam] x[lam, R]]);
(*Definición coeficiente b de Mie*)

CScat[R_, lam_] := (lam^2 / (2 * Pi * (nm^2))) * Sum[LastTerm[R], {l, 1, LastTerm[R]}] (2 l + 1) ((Abs[a[l, R, lam]])^2 + (Abs[b[l, R, lam]])^2)
(*CAbs[R_] := (Pi * R^2 / f[a]) * (Pi * lam / (2 * Pi * (3 * 10^8))) * Sum[LastTerm[R], {l, 1, LastTerm[R]}] (2 l + 1) Im[a[l, R, lam]])*)
CExt[R_, lam_] := (lam^2 / (2 * Pi * (nm^2))) * Sum[LastTerm[R], {l, 1, LastTerm[R]}] (2 l + 1) (Re[a[l, R, lam]] + b[l, R, lam])
CAbs[R_, lam_] := CExt[R, lam] - CScat[R, lam]

(*Coeficientes de extinción, absorción y esparcimiento de Mie *)
QScat[R_, lam_] := CScat[R, lam] / (Pi * R^2)
QAbs[R_, lam_] := CAbs[R, lam] / (Pi * R^2)
QExt[R_, lam_] := CExt[R, lam] / (Pi * R^2)
(*Aproximacion quasiestática para radios menores a 20 nm *)
sext[R_, lam_] := (12 (nm) (Pi^2) (R^3) (em^3 (3 / 2))) / lam * (e2[lam] / (e1[lam] + 2 em)^2 + e2[lam]^2);
qext[R_, lam_] := sext[R, lam] / (Pi * (R^2));

```

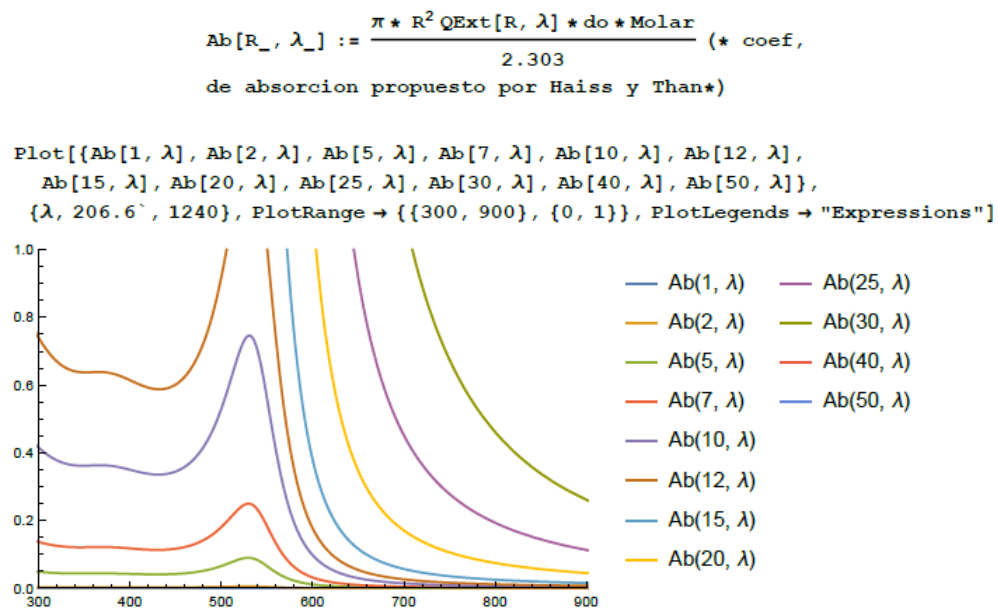


Figura B.1: Desarrollo del programa elaborado en Mathematica9. Se anexan ejemplos de cálculos para NPs de 1 - 50 nm

Bibliografía

- [1] Johannes A. van Hensbergen, Taylor W. Gaines, Kenneth B. Wagener, Robert P. Burford y Andrew B. Lowe, *Functional α, ω -dienes via thiol-Michael chemistry: synthesis, oxidative protection, acyclic diene metathesis (ADMET) polymerization and radical thiol-ene modification*, *Polym. Chem.*, 2014,5, 6225-6235.
- [2] Ming F Kaigang W, Hongbin L, Yuliang Y y Steven N., *Covalent polymer functionalization of graphene nanosheets and mechanical properties of composites*, *J. Mater. Chem.*19, 7098-7105, 2009.
- [3] M Brust, Merryl Walker, Donald Bethell, David J. Schiffrin and Robin Whyman, *Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase Liquid-Liquid system*, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994, 801-802.
- [4] M. Brust, J. Fink, D. Bethell, D. J. Schiffrin y C. Kiely , *Synthesis and reactions of functionalised gold nanoparticles*, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1995, 1655-1656
- [5] K. George Thomas and Prashant V. Kamat , *Chromophore-Functionalized Gold Nanoparticles, Photosciences and Photonics Division*, *Acc. Chem. Res.*, 2003, 36 (12), pp 888–898.
- [6] S. Salmaso, P. Caliceti. V. Amendola. M. Meneghetti, J. P. Magnusson, G Pasparakisc y Cameron Alexander , *Cell up-take control of gold nanoparticles functionalized with a thermoresponsive polymer*, *J. Mater. Chem.*, 2009,19, 1608-1615.
- [7] C. M. Niemeyer, B. Ceyhan, S. Gao, L. Chi, S. Peschel, U. Simon, *Site-selective immobilization of gold nanoparticles functionalized with DNA oligomers*, *Colloid Polym Sci* (2001) 279: 68.
- [8] Marie Christine Daniel y Didier Astruc, *Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-size-related proerties and Applications toward Biology, Catalysis and Nanotechnology*, *Molecular Nanosciences and Catalysis Group, Chem. Rev.*, 2004, 104 (1), pp 293-346.
- [9] Jae-Seung Lee, Min Su Han, and Chad A. Mirkin, *Colorimetric Detection of Mercuric Ion (Hg^{2+}) in Aqueous Media using DNA-Functionalized Gold Nanoparticles*, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 4093 –4096.
- [10] David A. Giljohann, Dwight S, Weston L, Matthew D. Pinal C, *Gold Nanoparticles for Biology and Medicine* *Angew. Chem. Int. Volume 49, Issue 19, 3280–3294* 2010.
- [11] Uhrich K. E., Cannizzaro S M, Langer R S, Shakeshelf K. M. *Polymeric systems for controlled drug release* *Chem. Rev.* 99, 1999, 3181-3198.

- [12] Sönnichsen C, Reinhard , Liphardt J y A Paul Alivisatos, *A molecular ruler based on plasmon coupling of single gold and silver nanoparticles*, Nature Biotechnology Volumen 23, 6, 741-745 2005.
- [13] Rosi N L, Mirkin C A, *Nanostructures in biodiagnostics* Chem. Rev. 105 1547-1562 2005.
- [14] Zhang, Q., Lu, X., Tang, P., *Gold Nanoparticle (AuNP)-Based Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Probe of Leukemic Lymphocytes*, Plasmonics (2016) 11: 1361.
- [15] Animesh Samanta,a Santanu Jana,a Raj Kumar Dasb and Young-Tae Chang, *Wavelength and shape dependent SERS study to develop ultrasensitive nanotags for imaging of cancer cells*,RSC Adv., 2014,4, 12415-12421
- [16] T. Gonzalo y Ma. A. Muñoz, *Dendrímeros y sus aplicaciones biomédicas*, Laboratorio de InmunoBiología Molecular, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, 2009.
- [17] Xiaohua Huang X, Mostafa A. El-Sayed, *Gold nanoparticles: Optical properties and implementations, in cancer diagnosis and photothermal therapy*, Journal of Advanced Research (2010) 1, 13-28.
- [18] Yin H, Too H P, Chow G M, *The effect of particle size and surface coating on the cytotoxicity of nickel ferrite*, Biomaterials 26 5818-5826, 2005.
- [19] Oberdörster G, Oberdörster, E, Oberdörster J *Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles*, Environ. Health. Perspect. 113 823-839, 2005.
- [20] Gupta A K, Gupta M, *Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of Surface modified magnetic nanoparticles*, Biomater. 26 1565-1573, 2005.
- [21] Partha Ghosh, Gang Han, Mrinmoy De, Chae Kyu Kim, Vincent M. Rotello, *Gold nanoparticles in delivery applications*, Advanced Drug Delivery Reviews Volume 60, Issue 11, 17 August 2008, Pages 1307-1315.
- [22] Anil Kumar¹, Huili Ma¹, Xu Zhang, Keyang Huang, Shubin Jin, Juan Liu, Tuo Wei, Weipeng Cao, Guozhang Zou, Xing-Jie Liang, *Gold nanoparticles functionalized with therapeutic and targeted peptides for cancer treatment*, Biomaterials Volume 33, Issue 4, February 2012, Pages 1180-1189.
- [23] Schubert D, Dargusch R, Raitano J, Chan S W, *Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 342, 86-91, 2006
- [24] Reijnders L., *Cleaner nanotechnology and hazard reduction of manufactured nanoparticles*, J. Cleaner Production 14, 124-133, 2006.
- [25] Li Y, Leung P, Yao L, Song Q W, Newton E., *Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles*, J. Hosp. Infect. 62, 58-63, 2006.
- [26] Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, Djediat S, Benedetti M F, Fievet F., *Toxicological impact studies based on Esterichia coli bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium*, Nano Lett. 6, 866-870, 2006.

- [27] Oberdörster G., *Toxicokinetics and effects of fibrous and nonfibrous particles*, Inhalation Toxicol. 14 29-56, 2002.
- [28] Warheit D B, Laurence B R, Reed K L, Roach D H, Reynolds G A M, Web T R., *Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats*, Toxicol. Sci. 77, 117-125, 2004.
- [29] Soto K F, Carrasco A, Powell T G, Garza K M, Murr L E., *Comparative in vitro cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy*, J. Nanoparticle Res. 7, 145-169, 2005.
- [30] Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager J, Hofmann M C., *In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germ-line stem cells*, Toxicol. Sci. July 13, 2005
- [31] Xia T, Kovoichich M, Brant J, Hotze M, Sempf J, Oberley T, Sioutas C, Yeh J I, Wiesner M R, Nel A. E., *Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm*, Nano Lett. 6, 1794-1807, 2006.
- [32] Donaldson K, Stone V, Tran C, Kreyling W, Borm P J A., *Nanotoxicology*, Occup. Environ. Med. 61, 727-728, 2004.
- [33] Lam C W, James J T, McCluskey R, Hunter R L., *Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation*, Toxicol. Sci. 77 126-134, 2004.
- [34] Roco M C, *The emergence and policy implications of converging new technologies integrated from nanoscale*, J. Nanopart. Res. 7, 2005, 129-143.
- [35] Thompson S E, Parthasarathy S, *Moore's law: the future of Si microelectronics*, Materials Today 9 20-25, 2006.
- [36] Liu H K, Wang G X, Guo Z, Wang J, Konstantinov K., *Nanomaterials for lithium-ion rechargeable batteries*, J. Nanosci. Nanotechnol. 6 1-15, 2006.
- [37] Ellis-Behnke R G, Liang Y X, You S W, Tay D K, Zhang S, So K F, Schneider G E., *Nano neuro knitting: peptide nanofibers scaffold for brain repair and axon regeneration with functional return of vision*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103 5054-5059, 2006.
- [38] Li Y, Leung P, Yao L, Song Q W, Newton E *Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles*, J. Hosp. Infect., 2006, (62) 58-63.
- [39] Kneuer C, Sameti M, Bakowsky U, Schiestel T, Schirra H, Schmidt H, Lehr C M *A nonviral DNA delivery system based on surface modified silica-nanoparticles can efficiently transfect cells in vitro*, Bioconj. Chem. 11 926-932, 2000.
- [40] Harisinghani M G, Barentsz J, Hahn P F, Deserno W M, Tabatabaei S, van de Kaa C H, de la Rosette J, Weissleder R *Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer*, N. Engl. J. Med. 19 2491-2499, 2000.
- [41] Renehan E M, Enneking F K, Varshney M, Partch R, Dennis D M, Morey T E *Scavenging nanoparticles: an emerging treatment for local anesthetic toxicity*, Region. Anesth. Pain Med. 30 380-384, 2005.

- [42] Hrubesh L W, Poco J F *Thin aerogel films for optical, thermal, acoustic and electronic applications*, J. Noncrystalline Solids 188 46-53, 1995.
- [43] Baibarac M, Gomez-Romero P *Nanocomposites based on conducting polymers and carbon nanotubes: from fancy materials to functional applications*, J. Nanosci. Nanotechnol. 6 289-302 2006
- [44] Borup B, Leuchtenberger W *Soft silanes for scratch-proof surfaces*, Materials World 10 20-21, 2002.
- [45] Fleischer N, Genut M, Rapoport L, Tenne R *New nanotechnology solid lubricants for superior dry lubrication European Space Agency*, ESA SP 524 65-66, 2003.
- [46] Van Hai Le¹, Chi Nhan Ha Thuc² and Huy Ha Thuc, *Synthesis of silica nanoparticles from Vietnamese rice husk by sol-gel method*, , Nanoscale Research Letters 2013, 8:58.
- [47] Buzea, Cristina, Pacheco Blandino Ivan I. y Kevin Robbie *Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity* Bionterphases vol. 2, issue 4 (2007) pages MR17 - MR172.
- [48] V. V. Pokropivny y V. V. Skorokhod, *Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science*, Materials Science and Engineering C, vol. 27, no. 5-8, 990-993, 2007.
- [49] Roduner E, *Size matters: why nanomaterials are different*, Chem. Soc. Rev. 35, 583-592, 2006.
- [50] F. Font, T.G. Myers , *Spherically symmetric nanoparticle melting with a variable phase and change of temperature*, España, CRM, 2013, num. 1176.
- [51] Sung-Yoon C, Young-Min K, Jin-Gyu K y Youn-Joong K, *Multiphase transformation and Ostwald's rule of stages during crystallization of a metal phosphate*, Nature Physics 5, 68 - 73 2009.
- [52] François Louchet, Jérôme Weiss, y Thiebaud Richeton, *Hall-Petch Law Revisited in Terms of Collective Dislocation Dynamics*, Phys. Rev. Lett. 97, 075504, 2006.
- [53] M Brust , D Bethell , C J. Kiely y D J. Schiffrin, *Self-Assembled Gold Nanoparticle Thin Films with Nonmetallic Optical and Electronic Properties*, Langmuir, 1998, 14 (19), pp 5425-5429.
- [54] Zhang H, Gilbert B, Huang F, Banfield J F, *Water-driven structure transformation in nanoparticles at room temperature*, Nature 424, 1025-1029, 2003.
- [55] Jacoby M, *Nanoscale electronics* Chem. Eng. News 80 38-43, 2002.
- [56] Mirkin A, , Letsinger R L, Robert C y Storhoff J, *A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials*, Nature Vol 382, 607-609, 1996.
- [57] Alivastos A P, Johnsson K P, Peng X, Wilson T E, Loweth C, Bruchez Jr M y Schultz Peter, *Organization of nanocrystal molecules using AND*, Nature Vol 382, 609-611, 1996.
- [58] I. W. Frank, D. M. Tanenbaum,, A. M. van der Zande y P. L. McEuen, *Mechanical properties of suspended graphene sheets*, J. Vac. Sci. Technol. B 25, 2558, 2007

- [59] An-Wu X., Yuan G y Han-Qin L., The Preparation, *Characterization, and their Photocatalytic Activities of Rare-Earth-Doped TiO₂ Nanoparticles*, Journal of Catalysis Volume 207, Issue 2, 25, 151-157, 2002.
- [60] <http://www.nytimes.com/imagepages/2005/02/21/science/20050222NANO1GRAPHIC.html>
- [61] Christine Valerio, Jean Luc Fillaut, Jaime Ruiz, Joelle Guittard, Jean Claude Blais y Didier Astruc, *The Dendritic Effect in Molecular Recognition: Ferrocene Dendrimers and Their Use as Supramolecular Redox Sensors for the Recognition of sMall Inorganic Anions*, J. Am. Chem. Soc. 1997, 119-10, pp 2588–2589.
- [62] Bosi S, da Ros T, Spalluto G, Prato M, *Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications*, Eur. J. Med. Chem. 38, 913-923 2003.
- [63] Maier Stephan, *Plasmonics: fundamentals and aplicaciones*, Reino Unido, Springer, 2007.
- [64] Klimov Vasily, *Nanoplasmonics*, Singapur, Pan Stanford Publishing, 2014.
- [65] Garcia M A, *Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications*, J. Phys. D: Appl. Phys. 44 (2011) 283001.
- [66] Wolfgang Haiss, Nguyen T. K. Thanh, Jenny Aveyard, and David G. Fernig, *Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra*, Anal. Chem. 2007, 79, 4215-4221.
- [67] Catherine J. Murphy, Tapan K. Sau, Anand M. Gole, Christopher J. Orendorff, Jinxin Gao, Linfeng Gou, Simona E. Hunyadi, and Tan Li, *Anisotropic Metal Nanoparticles: Synthesis, Assembly and Optical Applications*, J. Phys. Chem. B, 2005, 109 (29), pp 13857–13870.
- [68] Prashant K. Jain, Kyeong Seok Lee, Ivan H. El-Sayed y Mostafa A. El-Sayed, *Calculated Absorption and Scattering Properties of Gold Nanoparticles of Different Size, Shape and Composition: Applications in Biological Imaging and Biomedicine*, J. Phys. Chem. B, 2006, 110 (14), pp 7238–7248.
- [69] Wolfgang Haiss, Nguyen T. K. Thanh, Jenny Aveyard, and David G. Fernig, *Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra*, Anal. Chem. 2007, 79, 4215-4221.
- [70] M A Garcia, *Corrigendum: Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications*, 2011 J. Phys. D: Appl. Phys., 44 283001.
- [71] <http://www.elmundo.es/elmundo/2011/06/24/nanotecnologia/1308903941.html>
- [72] Yugang S, Younan X, *Shape-Controlled Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles*, Science Vol. 298, Issue 5601, 2176-2179, 2002
- [73] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, and A. Plech Turkevich *Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited*, J. Phys. Chem. B, 2006, 110 (32), pp 15700–15707.
- [74] Poovathinthodiyil Raveendran, Jie Fu, and Scott L. Wallen, *Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles*, J. Am. Chem. Soc., 2003, 125 (46), pp 13940–13941.

- [75] Vivek Sharma, Kyoungweon Park, Mohan Srinivasarao, *Colloidal dispersion of gold nanorods: Historical background, optical properties, seed-mediated synthesis, shape separation and self-assembly* Materials Science and Engineering R 65 (2009) 1–38 .
- [76] Haynes, Christy L and Van Duyne, Richard P, *Nanosphere Lithography: A versatile Nanofabrication Tool for Studies of Size Dependent*, J. Phys. Chem. B, 2001, 105 (24), pp 5599–561.
- [77] R.E. Russo, X.L. Mao, H.C. Liu, J.H. Yoo, S.S. Mao, *Time-resolved plasma diagnostics and mass removal during single-pulse laser ablation*, Appl. Phys. A 69, S887–S894, 1999.
- [78] [http:// appliedspectra.com/technology/libs.html](http://appliedspectra.com/technology/libs.html).
- [79] H. Ushida, N. Takada, and K. Sasaki, *Liquid-phase laser ablation*, J. Phys. Conf. Series 59, 563 , 2007.
- [80] N. Takada, A. Fujikawa y K. Sasaki, *Control of Plasma and Cavitation Bubble in Liquid-Phase Laser Ablation Using Supersonic Waves*, Japanese Journal of Applied Physics, Volume 50, Number 12R.
- [81] Suslick, K. S. 2000. Sonochemistry. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology
- [82] B E Noltingk and E A Neppiras, *Cavitation produced by Ultrasonics*, Proceedings of the Physical Society. Section B, Volume 63, Number 9, 1950.
- [83] Torrisi, L., Picciotto, A., Andó, L. *Pulsed laser ablation of gold at 1064 nm and 532 nm*, Czech. J. Phys. (2004) 54(Suppl 3).
- [84] Garner Q, Molian P. *Formation of Gold Microparticles by Ablation with Surface Plasmons*, Nanomaterials. 2013;3(4):592-605.
- [85] Ebuka S. Arinze, Botong Qiu, Gabrielle Nyirjesy, and Susanna M. Thon, *Plasmonic Nanoparticle Enhancement of Solution-Processed Solar Cells: Practical Limits and Opportunities*, ACS Photonics, 2016, 3 (2), pp 158–173.
- [86] M.A. Valverde-Alva, T. García-Fernández, M. Villagrán-Muniz,, C. Sánchez-Akéc,, R. Castaneda-Guzmán, E. Esparza-Alegría, C.F. Sánchez-Valdés, J.L. Sánchez Llamazares, C.E. Márquez Herrera, *Synthesis of silver nanoparticles by laser ablation in ethanol: A pulsed photoacoustic study*, Applied Surface Science 355 (2015) 341-349.
- [87] Dongshi Zhang, Bilal Gokce, y Stephan Barcikowsk, *Laser Synthesis and Processing of Colloids: Fundamentals and Applications*, American Chemical Society 3990-4103, (2015).
- [88] Evangelina Pensa, Emiliano Cortés, Gastón Corthey, Pilar Carro, Carolina Vericat, Mariano H. Fonticelli, Guillermo Benítez, Aldo A. Rubert, y Roberto C. Salvatorezza, *The Chemistry of the Sulfur–Gold Interface: In Search of a Unified Model*, Acc. Chem. Res., 2012, 45 (8), pp 1183–1192.