



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA
AVANZADA

Licenciatura en Tecnología

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE
MATERIALES NANOESTRUCTURADOS
A PARTIR DE GRAFENO Y
NANOPARTÍCULAS DE ORO.**

T E S I S

Que para obtener el título de
Licenciada en Tecnología

**P R E S E N T A:
SANDRA DEL CARMEN LUGO RIVERA**

DIRECTOR DE TESIS:
DR. PEDRO SALAS CASTILLO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Dedicatoria

A mi abuelo, por regalarme las alas de la curiosidad. Sé que cuidas siempre de mi vuelo.

A mi madre por su infinito amor y paciencia, por enseñarme a volar alto.

Deseo que me seas eterna.

A mi padre, por su protección, por ayudarme y apoyarme a cumplir mis sueños.

A mi hermano, por siempre ser tan bondadoso. Estoy segura de que llegarás muy lejos.

Nunca me faltes.

A Sergio, gracias por compartir la vida, gracias por tu apoyo, tu paciencia y por todo el amor que me das.

Deseo todos los tiempos a tu lado.

A mis tíos y primos, gracias por darle tanta felicidad a mi vida. Cada uno de ustedes forma parte del mejor regalo de la vida, mi familia.

A mi gran amigo Alfredo, admiro todo lo que eres, gracias por tanto apoyo, por las risas, por los momentos, gracias por aguantarme tanto tiempo.

Agradecimientos

Infinito agradecimiento por todo el conocimiento, apoyo, amistad y confianza que me ha sido brindado por el Dr. Pedro Salas Castillo.

Agradezco todo el apoyo y paciencia que me tuvieron la Dra. Claramaría Rodríguez González y el Dr. Edgar Jiménez Cervantes Amieva durante toda la carrera.

A Omar, Alejandro, Jeronimo, Erik, Eli, Mariana, Alma, Joav, Rubí y Daniel son una clave de esta etapa de mi vida, sin ellos no hubiera sido lo mismo, gracias por los momentos vividos, por hacer la etapa universitaria más sencilla y divertida pero sobre todo gracias por el apoyo.

A todos los profesores que tuve la fortuna de conocer a lo largo de la carrea carrera, gracias por sus enseñanzas, aprendí tanto de lo profesional como de lo personal.

Se agradece ampliamente al instituto de Neurobiología de la UNAM y en particular a la técnica titular de la unidad de microscopía María de Lourdes Palma Tirado, por su ayuda en la obtención de las micrografías TEM. Al Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales del CFATA-UNAM, especialmente a la Dra. Beatriz Millán Malo por su apoyo en la realización de las caracterizaciones por difracción de rayos X, a la Dra. Genoveva Hernández Padrón y Dra. María Antonieta Mondragón Sosa por su apoyo con las técnicas espectroscópicas Raman y FTIR.

En general, agradezco a la UNAM por ser mi casa durante toda mi etapa universitaria, por todas las facilidades y oportunidades para desarrollarme. Crecí como persona y concluyo esta etapa de mi vida siendo orgullosamente UNAM.

Índice

1. INTRODUCCIÓN	5
2. OBJETIVOS	9
2.1 Objetivo general	9
2.2 Objetivos específicos	9
3. Hipótesis	9
4. Antecedentes	10
4.1 Grafeno	10
4.1.1 Propiedades del grafeno y sus derivados.....	11
4.1.2 Métodos para obtener grafeno.....	12
4.1.3 Oxidación-reducción del óxido de grafeno (GO).....	13
4.2 Nanopartículas de oro	15
4.2.1 Síntesis de AuNPs.....	16
4.3 Heparina	19
4.4 Nanocompuestos de GO-AuNPs	21
5 Metodología	22
5.1 Materiales y equipo.	22
5.2 Metodología para la síntesis de materiales.	22
5.2.1 Precursores grafénicos	24
5.2.2 Síntesis del material híbrido GO-AuNPs	25
6 Resultados y discusión	27
6.1 Espectroscopia Raman	27
6.2 Espectroscopia FTIR	32
6.3 Difracción de Rayos X (DRX)	35
6.4 Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)	38
7 Conclusiones	42
8 Referencias	43

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, una gran parte de la investigación científica se ha centrado en la síntesis de nanomateriales, tales como nanopartículas, ya que las propiedades fundamentales y las aplicaciones prácticas de los nanomateriales están muy influenciados por su morfología y tamaño [1].

Los nanomateriales basados en el grafeno han sido el foco de los esfuerzos de investigación considerables, generando así un creciente interés de la comunidad científica debido a sus propiedades fisicoquímicas únicas y sus aplicaciones en diversas áreas como en biotecnología, medicina, ingeniería, diagnóstico y terapia de enfermedades [2].

El grafeno es un alótropo de carbono, como el grafito o el diamante, cuya estructura consiste en una lámina de átomos de carbono que forman una red cristalina con forma hexagonal o de panal. Se ha demostrado que poseen propiedades electrónicas, ópticas, térmicas, mecánicas y catalíticas únicas, que son ampliamente atractivas para diversas aplicaciones potenciales en muchos campos de la ciencia. Como consecuencia de sus excelentes propiedades mecánicas y morfológicas se ha propuesto el uso del grafeno como elemento de refuerzo en materiales compuestos.[3]

Los materiales compuestos, composite o materiales híbridos son materiales de ingeniería con propiedades únicas, son una combinación de al menos dos materiales (matriz y refuerzo), con un rendimiento distinto en comparación con los materiales constituyentes actuando solos. Estos materiales se han encontrado hoy en día en muchas aplicaciones diferentes que van desde bienes de consumo como utensilios de cocina hasta la construcción de cuerpos aéreos. El impulso principal en el uso de materiales compuestos en las industrias se debe a que este tipo de materiales presentan un mejor rendimiento, una excelente resistencia y propiedades de rigidez. Los avances recientes en tecnología compuesta incluyen el desarrollo y la utilización de compuestos de alto rendimiento, como los nanocompuestos, incluidos los nanotubos compuestos, y los compuestos a base de grafeno. Estas clases relativamente nuevas de materiales compuestos demuestran propiedades excepcionales.

Los nanocompuestos de grafeno con dopantes metálicos, pueden ser una estrategia eficaz para mejorar la funcionalidad y las propiedades de estos materiales. La integración de nanopartículas metálicas sobre las láminas de grafeno, mejoran potencialmente las propiedades físicas, químicas y biológicas del material resultante [4].

La producción de nanopartículas de metales nobles, tales como nanopartículas de oro (AuNPs), es de gran interés debido a características únicas que presentan estas nanopartículas. La manipulación de su tamaño y forma, les confiere propiedades que conducen potenciales aplicaciones en semiconductores, espectroscopía y en aplicaciones biomédicas, tales como liberación de fármacos y en terapia del cáncer [5].

Las AuNPs pueden formar fácilmente uniones estables con el azufre, carbono y otros elementos como flúor, cloro, bromo y yodo. Gracias a esto se le puede unir moléculas de origen biológico para dotar al material múltiples propiedades físico-químicas y biológicas.

Las AuNPs exhiben unas excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son intrínsecas a su tamaño nanométrico. Destacan especialmente sus peculiares propiedades fototérmicas. Las AuNPs pueden ser producidas con distintos tamaños, formas y ser fácilmente funcionalizadas con una gran variedad de ligandos (anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético...). Por todo ello, las AuNPs despiertan un gran interés en el campo de la biomedicina. Las AuNPs presentan un extraordinario potencial como agentes nanoestructurados útiles para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas y en terapia génica. Las AuNPs presentan, en principio, una baja toxicidad y, como acabamos de comentar, unas propiedades peculiares e increíblemente interesantes las cuales pueden ser, modificadas mediante su interacción con múltiples compuestos con la finalidad de obtener nanosistemas óptimos para las distintas aplicaciones. [6]

Hay varias formas de sintetizar nanopartículas de oro. Los protocolos de uso común a menudo se clasifican en protocolos de arriba hacia abajo (generalmente procesos físico-químicos utilizados para degradar un material a granel en piezas más pequeñas, logrando la escala nanométrica) o protocolos de abajo hacia arriba (los protocolos más abundantes para nanomateriales, donde la síntesis de las nanopartículas se separan de precursores más pequeños, como sales metálicas o semillas moleculares que se nuclean y forman

nanoestructuras. También se pueden dividir en métodos físicos, químicos y biológicos. Los métodos físicos se basan principalmente en la transferencia de energía que ocurre en un material cuando se irradia con radiación ionizante o no ionizante, lo que puede desencadenar las reacciones de reducción que conducen a la nucleación de partículas metálicas. Esos métodos incluyen procesos fotoquímicos, radiación ionizante, radiación de microondas, entre otros. Las rutas químicas son las más comunes y requieren agentes reductores como el borohidruro de sodio (NaBH_4), la hidrazina y el citrato para iniciar el proceso sintético y promover la nucleación de nanopartículas. Aunque el NaBH_4 y la hidrazina son muy eficientes como agentes reductores y se han utilizado en varios estudios durante décadas, se sabe que son tóxicos biológica y ambientalmente, por lo tanto las AuNPs resultan incompatibles para aplicaciones biomédicas [7].

En la actualidad están siendo consideradas como estrategias alternativas para la obtención de nanopartículas coloidales, métodos donde se emplean compuestos de origen orgánico como agentes reductores, dentro de estas estrategias se encuentran las rutas químicas y fotoquímicas.

El método fotoquímico se puede llevar a cabo con fuentes de luz como láseres, Xenon, LED y lámparas UV de baja presión e incluso la luz blanca. Este método realiza simultáneamente la nucleación y crecimiento. Este proceso utiliza radiación ultravioleta (UV) para reducir los átomos de oro a su estado metálico. Sin embargo, la síntesis fotoquímica es muy sensible a diferentes variables involucradas en el proceso, tales como: pH, temperatura y tiempo de irradiación, así como a la concentración de ácido tetracloroaúrico, reductor, entre otros. Por lo tanto, la gran cantidad de variables involucradas en la síntesis fotoquímica hace que la formación de nanopartículas y el mecanismo de crecimiento sean complejos, y no a sido completamente aclarado [8].

Una amplia gama de materiales y sus combinaciones está disponible para la síntesis fotoquímica con soluciones de precursores de metales como (AgNO_3 , HAuCl_4 y PtCl_6) y un disolvente adecuado fotosensible que ayuda a las reacciones por medio de la formación de radicales que permita la reducción de metales, proceso que conduce a la generación de nanopartículas [9].

Entre varios métodos propuestos en la literatura, el enfoque actual para la síntesis química de nanopartículas de metal se está orientando hacia una síntesis química verde, estos métodos tienen varias ventajas sobre los métodos convencionales, ya que son sencillos, eficientes y respetuosos del medio ambiente debido al uso de recursos biológicos que pueden ayudar como agentes reductores o agentes estabilizadores para la producción de las nanopartículas. Son métodos de bajo coste debido a la mínima o no exigencia de alta energía. Por otra parte, la nanopartículas biosintetizadas son en su mayoría biocompatibles y candidatas para aplicaciones biomédicas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

En el presente trabajo se busca determinar la viabilidad de utilizar la heparina como agente reductor y estabilizador en la obtención de nanopartículas de oro sobre láminas de óxido de grafeno.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar la síntesis de óxido de grafeno a partir de grafito por el método de Hummers modificado.
- Caracterizar los precursores grafénicos para la obtención del compuesto GO-AuNPs
- Funcionalizar láminas de grafeno con nanopartículas de oro mediante diferentes metodologías: Química y fotoquímica
- Caracterizar los compuestos obtenidos por diferentes técnicas: Espectroscopia Raman, Espectroscopia FTIR, Difracción de Rayos X y Microscopía Electrónica de Transmisión
- Determinar la eficiencia de utilizar la heparina como una estrategia alternativa para la síntesis de nanopartículas de oro.

3. Hipótesis

El uso de la heparina como agente reductor y estabilizador para la síntesis fotoquímica UV de materiales nanoestructurados basados en grafeno y nanopartículas de oro, resulta ser una estrategia simple y económica produciendo un material con biofuncionalización para su uso posterior.

4. Antecedentes

4.1 Grafeno

El carbono es uno de los elementos más abundantemente encontrados en la corteza terrestre. El carbono tiene varias formas alotrópicas (Fig. 4.1). Alotropía, en Química, significa la existencia en estado sólido de dos o más formas estructurales moleculares o cristalinas de un elemento. Los alótropos del carbono pueden ser divididos en cuatro categorías:

- Tridimensionales: se encuentra el diamante y el grafito, este último es el alótropo más abundante, fue usado por culturas neolíticas.
- Bidimensionales: grafeno
- Monodimensionales: nanotubos
- Cero dimensionales: fullerenos

El grafeno es una lámina bidimensional de carbón hibridado sp^2 . El grafeno es una estructura de tamaño nanométrico, es una red de átomos de carbono fuertemente cohesionados en una superficie uniforme, presenta una topografía ligeramente plana, con ondulaciones, con un espesor de un átomo. Ha recibido la atención de muchos investigadores debido a sus extraordinarias propiedades térmicas, mecánicas y eléctricas. Debido a estas propiedades, el grafeno parece tener muchas aplicaciones en diversos sectores [10].

El grafeno fue aislado por primera vez por los físicos Geim y Novoselov mediante exfoliación micromecánica de grafito aprovechando las débiles interacciones cohesivas entre los planos atómicos (002) que forman este material. Desde entonces, el grafeno ha despertado un gran interés en la comunidad científica debido a las extraordinarias propiedades que ha ido revelando [11].

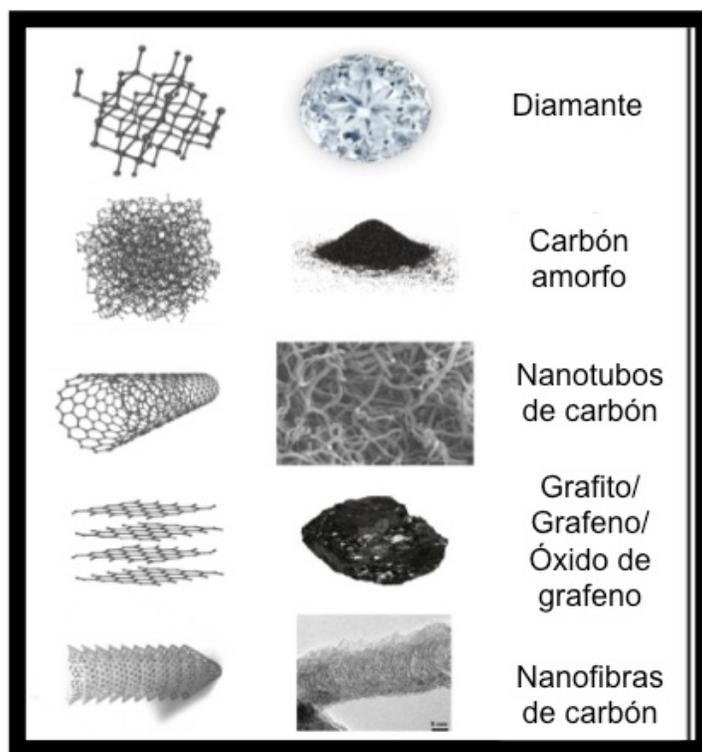


Fig. 4.1 Diferentes formas alotropicas del carbono (Adaptada de Villarreal, Pham, Ramnani, & Mulchandani, 2017)

4.1.1 Propiedades del grafeno y sus derivados.

El grafeno, como elemento estructural componente del grafito es un material muy conductor y resistente, tiene características que lo potencializan en muchas aplicaciones como en circuitos, películas, refuerzo de materiales, catálisis, sensores, entre otros [12]. Las propiedades más destacadas que presenta el grafeno son alta superficie específica ($2630 \text{ cm}^2/\text{g}$), gran conductividad eléctrica debido a la movilidad electrónica intrínseca que presenta el material ($200,000 \text{ cm}^2/\text{Vs}$), propiedades mecánicas como alta elasticidad, gran dureza y una resistencia mecánica mayor que el acero (módulo de Young de 1 TPa y una rigidez de 340 N/m para un espesor efectivo de 0.335 nm), estabilidad química, el grafeno reacciona con otras sustancias para formar compuestos con diversas propiedades, transmitancia óptica (97.7%) y a temperatura ambiente presenta efecto Hall cuántico.[13]

El grafeno prístino sintetizado se puede presenta en monocapa, bicapa o multicapas (3-10 capas) pero también existe un derivado del grafeno, es conocido como óxido de grafeno

(GO), el cual es rico en grupos funcionales oxigenados. Tiene grupos hidroxilo y epóxido en su plano basal, y grupos carboxílico, cetona y aldehído en el borde de su capa. Por lo tanto, GO es un compuesto estructuralmente rico en carbono, hidrógeno y oxígeno. Dado que existen diferentes métodos para sintetizar GO, su estructura y composición no estequiométricas dependen en gran medida de la etapa de producción. Debido al proceso de oxidación, la presencia de defectos, impurezas, desórdenes estructurales, arrugas, grietas, fragmentación y otros atributos estructurales son posibles, y estos pueden afectar las propiedades electrónicas, ópticas y de adsorción de GO. Por lo tanto, GO puede procesarse aún más en otro derivado de grafeno conocido como óxido de grafeno reducido (rGO). La transformación de GO a rGO se puede lograr a través de la reducción química o física, a través del proceso de reducción, los grupos funcionales oxigenados en el GO se eliminan para formar rGO, este ofrece ventajas sobre el grafeno y el grafito, ya que puede almacenarse durante más tiempo sin aglomeración y exhibe más estabilidad en solventes orgánicos. Además, el óxido de grafeno reducido es muy conductivo y resistente en comparación con el óxido de grafeno. [14].

4.1.2 Métodos para obtener grafeno.

Gran parte de la investigación dedicada al grafeno se ha enfocado en desarrollar métodos eficientes para la obtención de láminas de buena calidad a gran escala. En la actualidad existe una gran cantidad de técnicas y procesos que han sido desarrollados con este propósito, presentándose entre éstos diferentes ventajas y desventajas respecto a su facilidad, la calidad de los productos obtenidos y la escalabilidad de los procesos, las cuales deben ser tomadas en consideración de acuerdo con la aplicación o fin específico que se esté buscando.

Los métodos de síntesis de grafeno suelen clasificarse en dos grupos (Fig. 4.2), de acuerdo a la estrategia que siguen: top-down (de arriba hacia abajo) y botton-up (de abajo hacia arriba) . El enfoque de top-down implica la descomposición estructural del precursor, como el grafito, seguido de la separación entre capas para producir láminas de grafeno. Algunos ejemplos de este método incluyen exfoliación mecánica, oxidación- reducción de GO, exfoliación en fase líquida y descarga de arco. Mientras tanto, la técnica de botton-up, como la deposición química de vapor , el crecimiento epitaxial y la síntesis orgánica total, utilizan gas de fuente de carbono para sintetizar el grafeno sobre un sustrato.

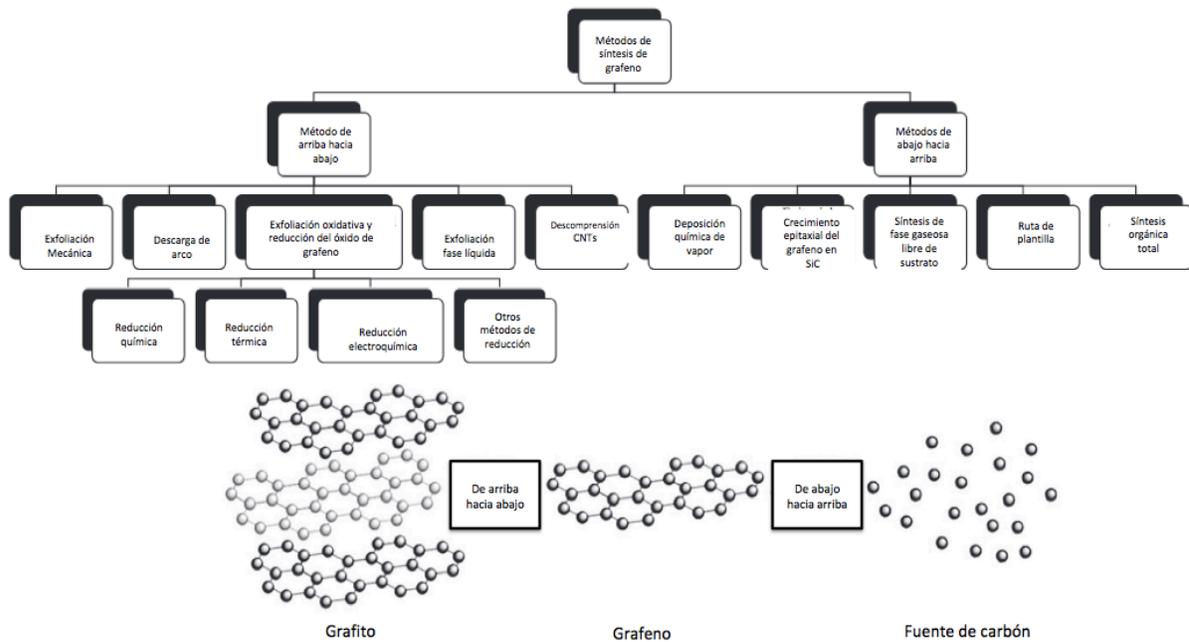


Fig. 4.2 Métodos de síntesis del grafeno(Adaptada de Lee, Hiew and Lai et al. 2018.)

4.1.3 Oxidación-reducción del óxido de grafeno (GO).

La obtención de grafeno a partir de la vía oxidación-reducción es una técnica popular debido a su escalabilidad, permitiendo obtener grandes volúmenes de este material, incluyendo productos monocapa con una eficiencia alta. Sin embargo, la calidad de las láminas obtenidas se ve afectada por la generación de defectos dentro de la red cristalina que resulta inherente al proceso. Esta estrategia presenta la ventaja de poder partir de precursores abundantes y de bajo costo como el grafito[15].

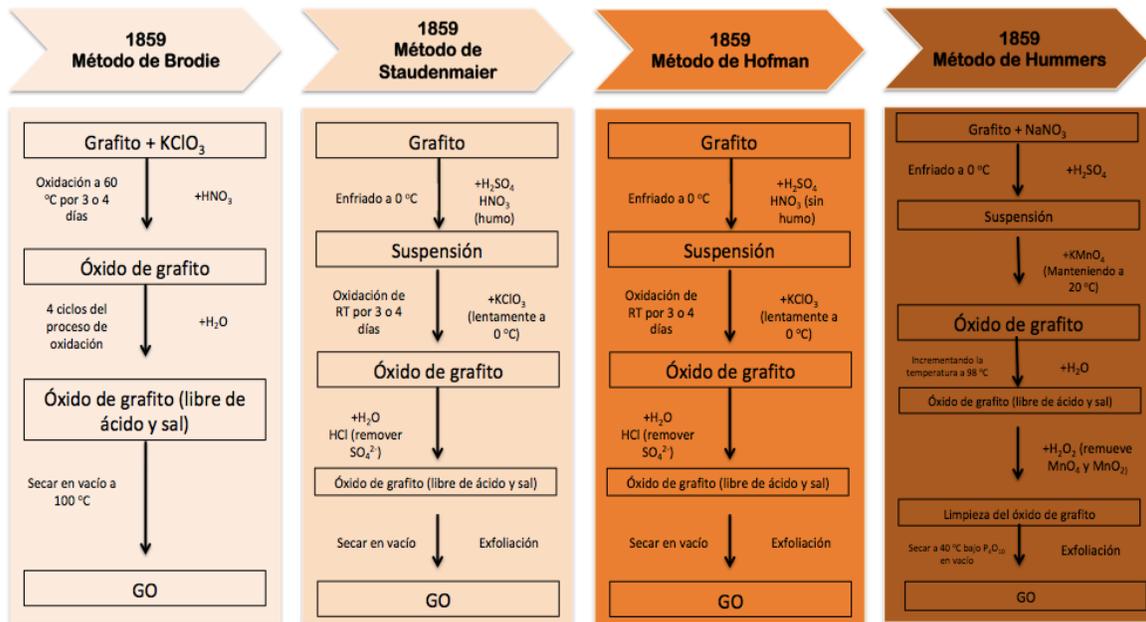


Fig. 4.3 Esquemas de rutas de oxidación del grafito (Adaptada de Lee, Hiew and Lai et al. 2018.)

En la literatura existen cuatro rutas principales para la obtención de GO, que incluyen los métodos de Brodie, Staudenmaier, Hofmann y Hummers. En la fig. 4.3 se muestran las vías de reacción de estos métodos que ocurren a temperaturas por debajo de los 100°C , esto es un punto clave, trabajar con temperaturas relativamente bajas ayuda a mantener un bajo costo de producción. Actualmente, el método de Hummers se usa ampliamente para la síntesis de GO, ya que es un proceso rápido y seguro. A lo largo de los años, la modificación del método de Hummers ha introducido un enfoque más ecológico para producir GO [16].

La primer etapa de esta ruta de síntesis consiste en la oxidación del grafito, esto con el propósito de introducir grupos oxigenados entre las láminas de grafeno, aumentando la distancia entre las capas de grafito de $0,335$ a $0,625$ nm, o más. Por lo tanto, las hojas de grafito se separan fácilmente debido a los débiles enlaces de van der Waals y los átomos de carbono se unen con O y H. La segunda etapa es la exfoliación por sonicación en solventes adecuados produciendo GO de monocapa, bicapa ó pocas capas bien dispersas. El GO resultante es un material altamente hidrófilo debido a la presencia de grupos funcionales oxigenados, por lo que puede dispersarse en diferentes soluciones. [17]

La tercer etapa consta de la reducción química del GO, se pueden utilizar una gran variedad de agentes reductores, en esta etapa la mayoría de los grupos funcionales oxigenados como carbonilo, hidroxilo y carboxilo que estan presentes en el GO se eliminan, obteniéndose así rGO. Sin embargo, no se puede lograr una reducción completa de GO para producir grafeno puro. El rGO resultante generalmente tiene una gran semejanza con el grafeno prístino, pero con un cierto grado de defectos y diferencias de dimensión. La calidad de rGO se define por el tipo de reductor y las condiciones del proceso, como el tiempo de reducción, la temperatura y la presión. En esta etapa es posible realizar procesos de funcionalización para la obtención de materiales híbridos, aprovechando las interacciones electrostáticas que se pueden generar entre los grupos oxigenados en la superficie del óxido de grafeno y especies polares o con cargas. [18]

4.2 Nanopartículas de oro

El oro (Au) es uno de los elementos más estudiados a lo largo de la historia de la ciencia, recientemente hay un gran interés en este material, especialmente en el contexto de nanociencia y nanotecnología con las nanopartículas, las estructuras a nanoescala poseen diversas propiedades físicas y químicas muy interesantes debido a su tamaño.

Entre los diferentes tipos de nanomateriales, las nanopartículas metálicas, especialmente las nanopartículas de oro (AuNPs), han atraído el interés de diferentes campos de la ciencia, debido a sus características particulares: Alto coeficiente de absorción de rayos X, facilidad de manipulación sintética, que permite un control preciso sobre las propiedades físico-químicas de la partícula, fuerte afinidad de unión a tioles, disulfuros y aminas, propiedades ópticas sintonizables únicas y distintas propiedades electrónicas. [19]

Las AuNPs se puede clasificar en tres grupos basados en sus dimensiones:

- a) *AuNPs unidimensionales (1D)*: las estructuras de este grupo tienen una longitud variable conservando dos dimensiones (altura y anchura) en la escala de nanómetros; a estos corresponden los nanohilos, nanorods, nanotubos y nanobelts (Fig. 4.4)

- b) *AuNPs bidimensionales (2D)*: son nanocapas o películas delgadas de oro con áreas de tamaño indefinido y un espesor entre 1 y 100 nm como ejemplo están los cuadrados, rectángulos, triángulos y los hexágonos,
- c) *AuNPs tridimensionales (3D)*: dentro de este grupo están morfologías como las nanoestrellas y nanomancuernas (nanodumbbells).

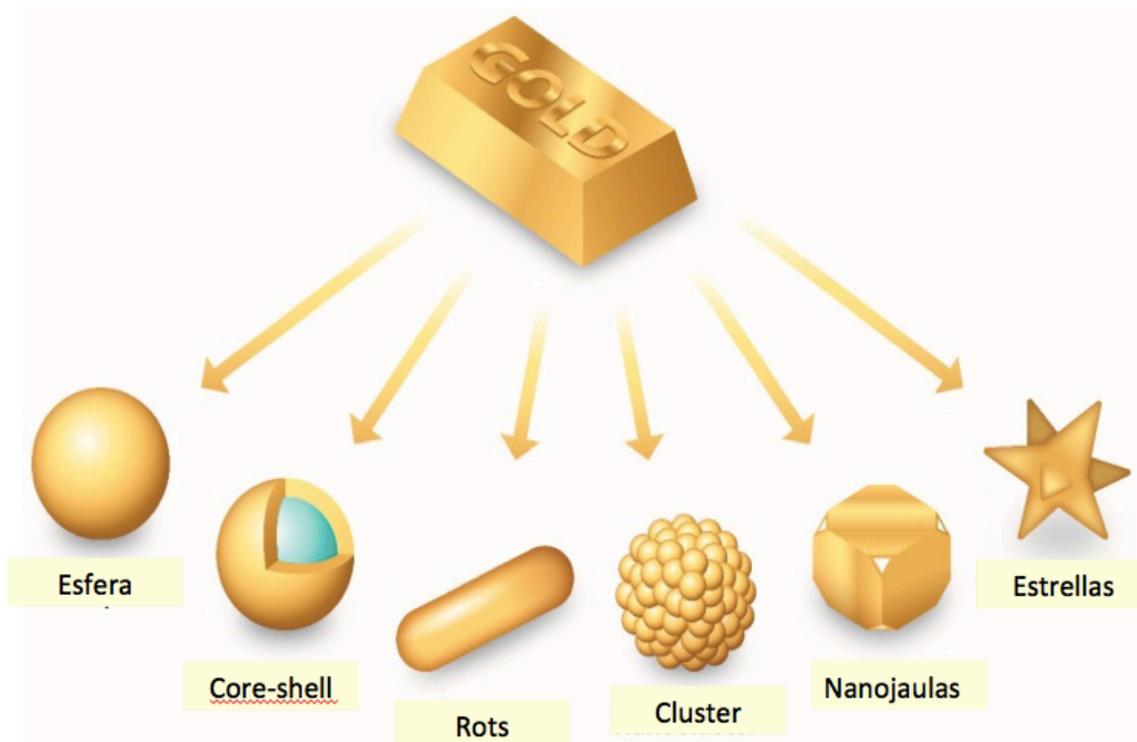


Fig. 4.4 Esquema representativo de los ensamblajes y morfologías de las nanopartículas de oro más comunes . (Adaptada de Freitas , Costa, Batista y Lugão. 2018.)

4.2.1 Síntesis de AuNPs.

Actualmente existen numerosos métodos para la síntesis de AuNPs, que contienen procedimientos Top-down y de Bottom-Up (Fig. 4.4). Todas las metodologías se enfocan en poder contralar tamaño, forma, solubilidad, estabilidad y funcionalidad.

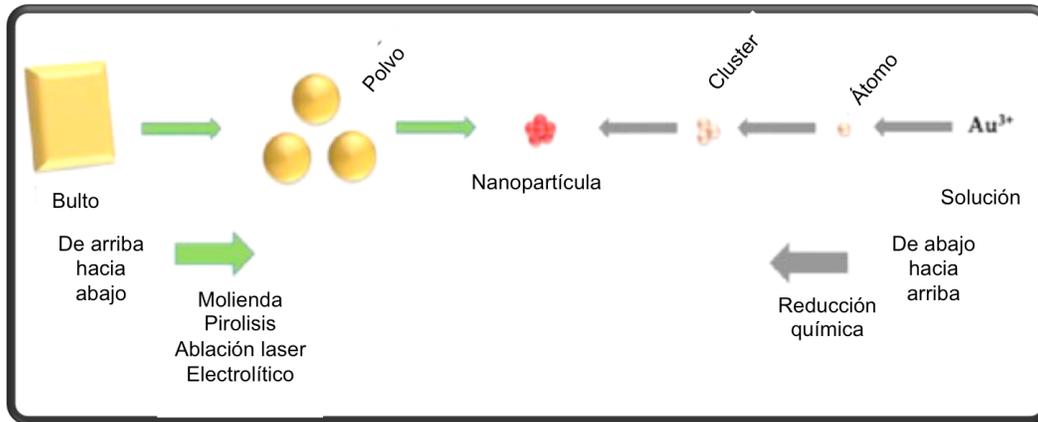


Fig. 4.5 Enfoques básicos para la preparación de nanopartículas de oro. (Adaptada de Elahi, Kamali, Baghersad. 2018)

Generalmente, los métodos para la síntesis de AuNPs pueden clasificarse en físicos, químicos y verdes.

- I. *Métodos físicos:* Dentro de esta categoría se encuentran procedimientos como la radiación gamma, radiación de microondas (MW), método sonoquímico, radiación ultravioleta (UV), ablación laser, proceso termolítico y el proceso fotoquímico[9]. Estos métodos producen nanopartículas de diámetros pequeños, diferentes morfologías como esferas y rods. La radiación y altas temperaturas juegan el papel de reductores, considerando esto y optimizando las condiciones de síntesis se obtienen varios tamaños, es decir, se controlan las dimensiones de las nanopartículas [20].
- II. *Métodos químicos:* Se realizan reacciones químicas en medio acuoso en presencia de un agente reductor. El citrato y el borohidruro de sodio son los agentes reductores más comunes que se utilizan. Entre los métodos convencionales de síntesis química del oro coloidal, el procedimiento de Turkevich se utiliza mucho debido a la simplicidad y facilidad de síntesis, el tamaño controlable y la estabilidad de las nanopartículas coloidales [21].
- III. *Métodos verdes:* También conocidos como “amigables con el ambiente”. Los métodos verdes tratan de fomentar una “química verde”, es decir, se centran en el diseño de productos y procesos químicos que implican la reducción o eliminación de sustancias peligrosas para las personas y el medio ambiente. Los agentes

disolventes, reductores y estabilizadores que se utilizan en estas metodologías deben ser seguros y no tóxicos. Comúnmente se utilizan como agentes reductores los compuestos y derivados de origen vegetal, bacterias, hongos, algas, levaduras y virus. Se pueden obtener varias formas y tamaños de nanopartículas. Siguiendo un método verde las nanopartículas tienen muchas aplicaciones efectivas en ciencias biomédicas [22].

4.2.1.1 Síntesis fotoquímica de AuNPs

Como ya se ha mencionado, las nanopartículas de oro han generado un enorme interés en la ciencia debido a sus particulares propiedades y sus potenciales aplicaciones en diferentes campos. Las propiedades que las AuNPs puedan presentar están directamente relacionadas con el tamaño, superficie, morfología y composición. Por lo tanto, resulta sumamente importante desarrollar estrategias eficientes que permitan tener control sobre estas características.

En la literatura existen diversas estrategias para la síntesis de nanopartículas metálicas coloidales, sin embargo, recientes investigaciones están considerando la síntesis fotoquímica como otra alternativa para obtener nanopartículas coloidales.

Este método es aplicable con fuentes de luz como láseres, mercurio de presión media y baja, Xenón, LED y lámparas UV, e incluso luz blanca. Una amplia gama de materiales y sus combinaciones están disponibles para la síntesis basada en luz en solución. Sales metálicas que actúan como precursores (AgNO_3 , HAuCl_4 y PtCl_6) en un disolvente adecuado (etilenglicol, alcoholes); complejos de quelatos, acetiluros metálicos, polímeros y surfactantes. También hay agentes fotosensibles que ayudan a las reacciones mediante la formación de radicales que permiten el proceso de reducción de metales que conduce a la generación de nanopartículas [23].

La síntesis de AuNPs basada en la reducción fotoquímica UV es una ruta atractiva debido a algunas ventajas importantes, por ejemplo, la reducción controlada de iones metálicos puede llevarse a cabo sin utilizar un agente reductor en exceso, y no se produce contaminación por adsorción en el producto en el proceso de preparación; la radiación se absorbe independientemente de la presencia de solutos y productos que absorben la luz, y la reacción de reducción surge uniformemente en la solución; desde el punto de vista de las

aplicaciones prácticas, el método fotoquímico UV puede ser una técnica conveniente y rentable.

La síntesis fotoquímica de las nanopartículas de oro ha sido estudiada en la última década. Si bien este método no está tan extendido como el método de reducción química, apunta a tener una aplicación generalizada en la síntesis y el auto-ensamblaje de nanopartículas metálicas.

4.3 Heparina

La heparina, es un glicosaminoglicano aniónico de cadena lineal que está constituida principalmente por dos unidades de disacáridos que se repiten (sulfatados de forma variable), conocidos comúnmente como ácido idurónico (anillo izquierdo) y glucosamina (anillo derecho), respectivamente (Fig. 4.6). Presenta un peso molecular y grado de sulfatación variable dependiendo del tejido del que se extrae, que puede ser pulmón de res o mucosa intestinal porcina, siendo esta última el origen de la mayoría de las heparinas en el mercado, es conocida por ser utilizada como anticoagulante .

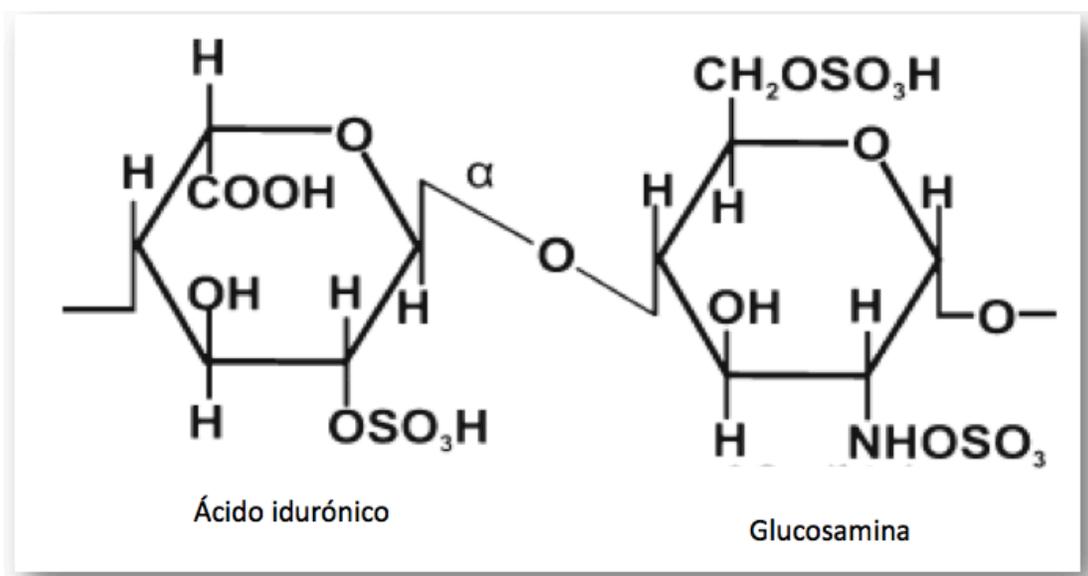


Fig. 4.6 Estructura de la heparina de sodio. (Adaptada de Torres, Torres, Castillo, González, López. 2013)

El polímero de heparina es hidrófilo y contiene aproximadamente 2-10% de agua incluso después de un secado prolongado y es un polielectrolito que tiene una carga neta promedio

de -75 /cadena. Esta carga se mantiene a través de un amplio rango de valores de pH, ya que el pKa de sus grupos aniónicos es ~ 3.3 (carboxilo) y $\sim 1.0-1.5$ (O-Sulfo y N-sulfo). Mientras que las sales metálicas (es decir, sodio, potasio, etc.) son infinitamente solubles en agua e insolubles en prácticamente todos los solventes orgánicos, las sales de alquil (aril) amonio cuaternarias son extremadamente hidrófobas e insolubles en agua pero son solubles en solventes orgánicos.

La heparina tiene varios grupos funcionales químicamente reactivos. Cada unidad de repetición de disacárido contiene un grupo carboxilo. Todas las unidades repetitivas contienen uno o más grupos hidroxilo primero o segundo y un promedio de 2-2.5 grupos sulfo. Los grupos N-sulfo se encuentran en el 75-85% de todas las unidades repetitivas. Aproximadamente el 15-25% de estas unidades repetitivas contienen un diol vecinal. Cada cadena contiene un extremo hemiacetal reductor, que es un grupo aldehído enmascarado. La heparina contiene ~ 0.3 grupos amino no sustituidos/cadena. Estos grupos funcionales se pueden utilizar para unirse directamente a una matriz de soporte o aceptar la introducción de un enlazador o espaciador para su unión a una matriz [24].

Debido a que la heparina posee una estructura rica en grupos de sulfato, es la molécula conocida con la carga negativa más alta. También tiene grupo funcionales como carboxilos, hidroxilos, diol y aminos. La heparina tiene la característica de ser altamente fotosensible (especialmente en la gama UV), por lo que es un excelente candidato para síntesis fotoquímica de nanopartículas metálicas. La heparina se ha utilizado en procedimientos de síntesis de nanopartículas desde hace algún tiempo. Las nanopartículas basadas en heparina poseen propiedades mejoradas cuando la heparina se integra a ellas debido a sus propiedades biológicas. Nanopartículas de metal de metal nobel, por ejemplo, oro y plata se han sintetizado usando heparina. Cuando se trata de especificaciones y aplicaciones, los trabajos más relevantes están relacionados con el campo de la salud, especialmente el tratamiento, la imagen y la detección del cáncer por lo tanto se ha dedicado trabajo al uso de la heparina junto como parte de un nanosistema multifuncional para detectar y tratar el cáncer, ya que es una sustancia biocompatible y el cuerpo la absorbe bien debido a sus interacciones biológicas con proteínas, factores de crecimiento, quimiocinas, citocinas, enzimas y lipoproteínas, involucradas en una variedad de procesos biológicos [21].

4.4 Nanocompuestos de GO-AuNPs

Los materiales híbridos formados por materiales inorgánicos y grafeno más importantes son los que combinan el material de carbono bidimensional con nanopartículas, ya sean metálicas o de óxidos.

La modificación de las superficies de grafeno con nanopartículas metálicas puede potencializar significativamente sus propiedades físico químicas.

Estos materiales híbridos son comúnmente enfocados en la construcción de plataformas sensoras y biosensoras. Las nanopartículas metálicas más comúnmente empleadas para modificar las superficies electródicas en el desarrollo de sensores y biosensores electroquímicos, son las de metales nobles, como Au, Ag, Pd y Pt, debido a que presentan una elevada resistencia a las reacciones de oxidación y su buena biocompatibilidad [25].

Las AuNPs, juegan un papel importante, debido a que son relativamente baratas, fáciles de preparar, poseen baja toxicidad y baja reactividad. Como consecuencia de esto, han sido las más utilizadas en la construcción de numerosas plataformas nanoestructuradas en las que las partículas metálicas se inmovilizan electrostáticamente, covalentemente o por adsorción.

Se han propuesto varios métodos para la síntesis del nanocompuesto AuNPs/grafeno . Todos estos métodos se pueden dividir en dos estrategias. Uno es el crecimiento *in situ* de las nanopartículas, donde se parte de una solución del precursor del metal en presencia de óxido de grafeno o de nanolaminas de grafeno. Esta estrategia ha sido ampliamente utilizada en la síntesis de nanocompuestos de AuNPs/grafeno. La principal ventaja de este enfoque es simple y barata, sin embargo, es difícil controlar el tamaño y la dispersión de las nanopartículas en la superficie del grafeno. Las técnicas *ex situ* son una estrategia alternativa para la preparación de AuNPs/grafeno. En esta estrategia, las nanopartículas se sintetizan por adelantado y luego se unen a la superficie de las hojas de grafeno a través del reactivo de enlace mediante interacciones covalentes o no covalentes. Usualmente se requiere la funcionalización de las AuNPs o grafeno con grupos funcionales. Este método puede controlar con éxito el tamaño y la distribución de las nanopartículas. Es importante considerar que esta estrategia no es la más viable para la síntesis a gran escala.

5 Metodología

5.1 Materiales y equipo.

A continuación se presentan los principales materiales y reactivos empleados en los procesos de síntesis, funcionalización y caracterización, omitiendo mencionar los reactivos de uso común en el laboratorio: grafito (rods de carbono de 12" x 0.120" adquiridos de Electron Microscopy Science, molidos y cribados en malla 300), ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 98wt. %), permanganato de potasio (KMnO_4 , reactivo A.C.S), peróxido de hidrógeno (H_2O_2 , 30wt. %) y ácido clorhídrico (HCl , reactivo A.C.S 37) adquiridos en Sigma-Aldrich, metanol, ácido tetracloraurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), heparina en solución acuosa grado farmacéutico (5000 IU/ml, 10 ml), lámpara UV.

Los equipos de caracterización que se utilizaron: un difractómetro de rayos X de la marca Rigaku modelo MiniFlex+ con una fuente de Cu de 0.154 nm y con una configuración estándar de análisis cualitativo para muestras en forma de polvos, un microscopio (TEM) de la marca JEOL modelo JEM-1010 y rejillas recubiertas con Formvar de la marca Ted Pella, los espectros Raman se obtuvieron con un espectrómetro Bruker Senterra con una longitud de onda de láser de 785 nm como fuente de excitación y con un intervalo de medición de 80 a 3300 cm^{-1} con resolución de 4 cm^{-1} y para realizar la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) se empleó un equipo Bruker Vector 33 con una configuración ATR para FTIR-MIR de 4000 a 400 cm^{-1} .

5.2 Metodología para la síntesis de materiales.

A lo largo de esta sección se relata de manera detallada el proceso experimental llevado a cabo para la obtención del material compuesto GOAuNP, el cual se ilustra de manera resumida en la Fig. 5.1.

- ❖ *Obtención de materiales grafenicos:* Síntesis de óxido de grafito mediante el Método de Hummers modificado. Exfoliación (ultra-sonicación) del óxido de grafito, previamente sintetizado, para la obtención de óxido de grafeno
- ❖ *Síntesis del material híbrido GO-AuNP (Método físico y químico):* Funcionalización de laminas de GO con nanopartículas de oro, usando como reductor principal la heparina

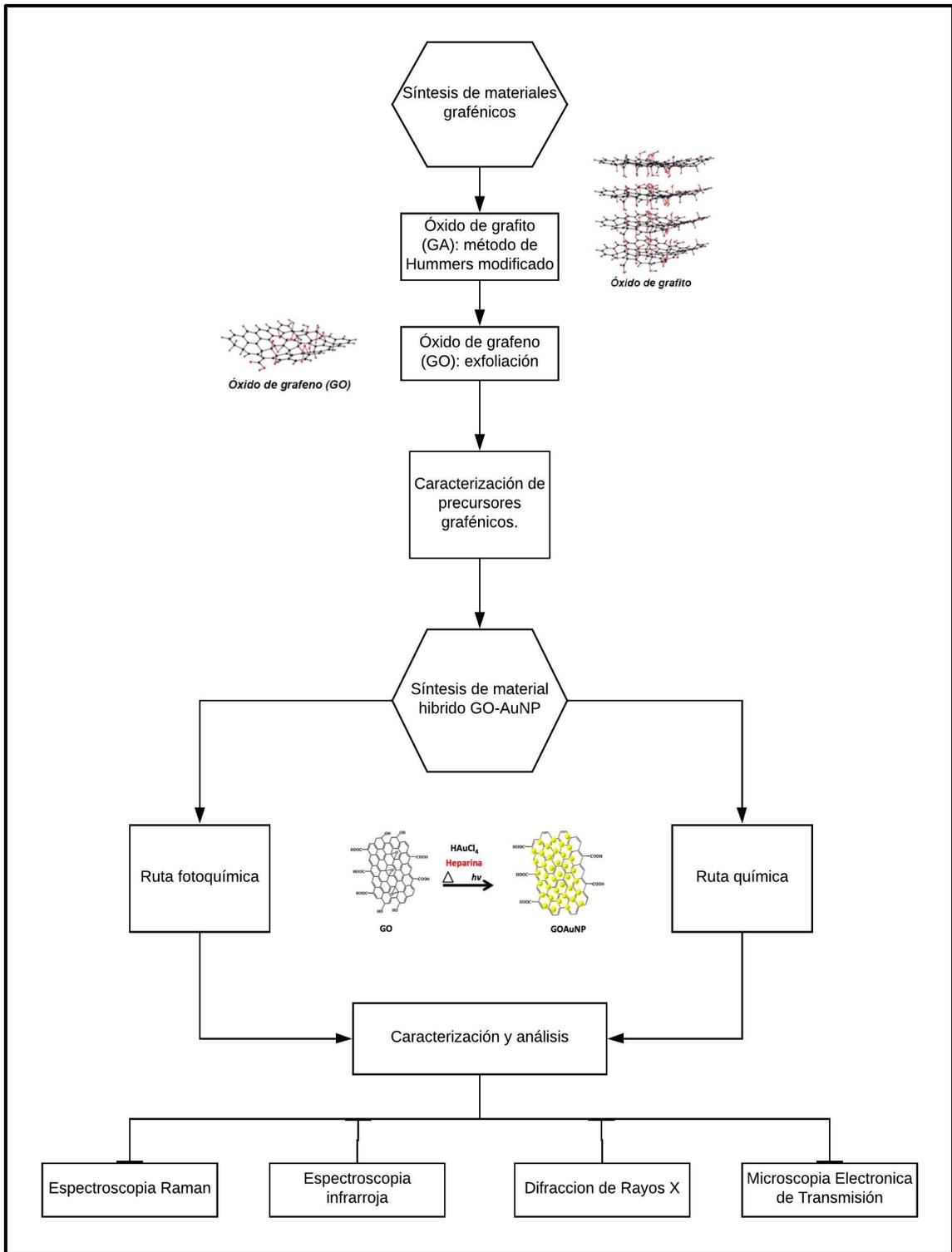


Fig. 5.1 Representación esquemática de la síntesis del material compuesto GOAuNP. (Fuente propia)

5. 2.1 Precursores grafénicos

5.2.1.1 Síntesis de óxido de grafeno: método de Hummers modificado y exfoliación.

El óxido de grafito se obtuvo mediante el método modificado de Hummers. Este proceso consistió en colocar en baño de hielo 2 g del grafito triturado en 46 ml de H_2SO_4 frío, bajo agitación constante; en seguida se añadieron de forma gradual 6 g de $KMnO_4$ evitando que la temperatura se eleve por encima de los $20\text{ }^\circ\text{C}$, esto para evitar que la reacción inicie prematuramente, debido a que se genera una reacción exotérmica. Cuando la mezcla se encuentre bien dispersa, se retira del baño de hielo y se deja en agitación durante 2 h, considerando el tiempo al alcanzar una temperatura de $35\text{ }^\circ\text{C}$. Posteriormente, se agregan por goteo 92 ml de agua destilada manteniendo la agitación por un tiempo de 15 min. La mezcla se transfiere a un recipiente con 270 ml de agua destilada y 10 ml de H_2O_2 al 30% con la intención de eliminar el exceso de permanganato residual.



Fig. 5.2 Sistema empleado en la síntesis de óxido de grafito

Se realizaron lavados por centrifugación utilizando una solución de HCl (10ml HCl/400ml de agua destilada) con la finalidad de eliminar iones metálicos y con agua destilada hasta obtener un pH cercano a 7. Finalmente, el material se secó a $65\text{ }^\circ\text{C}$ por un periodo no menor a 12 h.

Con el óxido de grafito ya sintetizado, procedimos a obtener el óxido de grafeno, este se obtiene a partir de la exfoliación de las láminas compactadas que conforman el óxido de grafito. Este fenómeno se debe a que el óxido de grafeno tiene la propiedad de ser un material higroscópico e hidrofílico (por los grupos funcionales) por lo tanto se utilizó el baño ultrasónico para evitar el aglutinamiento entre las diferentes capas y de esta manera, evitar la intercalación de moléculas de agua u otros elementos. Para ello, lotes de 300 mg de óxido de grafito se redispersaron en agua destilada en una relación de 100 mg/ml y se sometieron al baño ultrasónico ($42 \text{ kHz} \pm 6\%$) por 3 h. Los materiales obtenidos se secaron en un horno a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 h, se trituraron con un mortero de ágata hasta obtener un polvo fino.

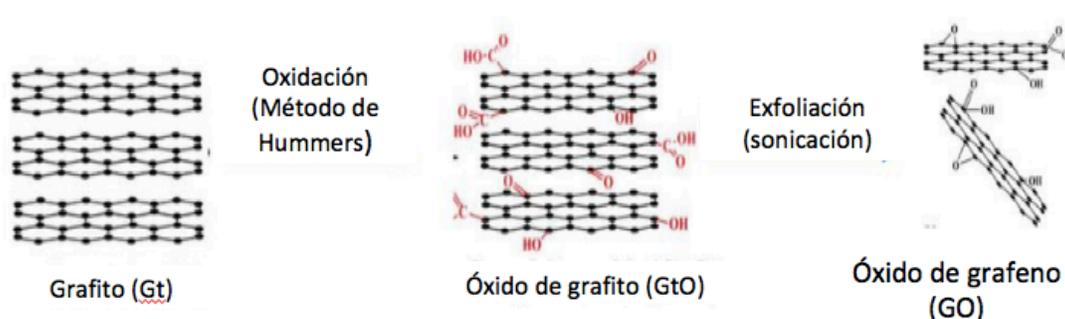


Fig. 5.3 Representación grafica del proceso de síntesis de GO (Adaptada de Young-Shin Jun 2016)

5.2.2 Síntesis del material híbrido GO-AuNPs

Para la síntesis del material compuesto GO-AuNP se siguieron dos rutas, un método químico y otro fotoquímico que implica la radiación UV, ambos usando heparina sódica, una biomolécula conocida como reductor y estabilizador, con el objetivo de proponer metodologías con un enfoque de síntesis verde.

5.2.2.1 Reducción química (térmico)

Se colocaron en un vial de vidrio 75 mg de grafito oxidado, previamente sintetizado, el cual fue dispersado en 95 ml de agua por ultrasonido durante 3 h, con la finalidad de generar una suspensión estable. La suspensión de GO se colocó en un matraz de tres bocas en un baño

de aceite. Se agregó una solución de 25.38 mM de Au bajo agitación constante y trascurridos 5 minutos se agregaron 25 ml de heparina. La agitación se mantuvo por 30 minutos. La solución se elevó a 70° C y se mantuvo constante por 20 h.

Transcurrido el tiempo de reacción se dejó enfriar aproximadamente 40 min, se realizaron cinco lavados con agua destilada por centrifugación y se dejó secar el material en una estufa a 65° C.

La muestra realizada por esta ruta se etiquetó como GOAuP1.

5.2.2.2 Reducción fotoquímica

Se realizaron una serie de ensayos para determinar las condiciones óptimas en la incorporación de nanopartículas de Au sobre láminas de GO por medio de un proceso fotoquímico.

Se colocaron, para cada una de la síntesis realizadas, 75 mg óxido de grafito y estos fueron dispersados mediante ultrasonido por 3 h, en el medio indicado en la Tabla 5.1. La suspensión de GO se depositó en un matraz Erlenmeyer, bajo agitación constante, en seguida se agregó una solución de Au, manteniendo la agitación para propiciar una mezcla homogénea y uniforme, transcurridos 5 minutos, se agregó la heparina, continuando con la agitación por 5 minutos más.

La mezcla se vació en una placa petri y se procedió a la exposición de radiación UV por diferente fuente (luz solar, lámpara UV), transcurrido el tiempo de exposición se realizaron de 4 a 6 lavados por centrifugación del material y posteriormente se dejó secar en un horno a 65°C por 24 h. Se realizaron 6 síntesis siguiendo el procedimiento antes descrito, variando los parámetros como se indica en la Tabla 5.1

Tabla 5.1 Condiciones para la síntesis material híbrido GOAuNP por ruta fotoquímica

Muestra	Medio	Volumen (ml)	Heparina 5000 UI/ml (reductor) (ml)	Solución de de Au (mM)	Fuente de exposición	Tiempo de exposición (h)
GoAuP2	H ₂ O	30	5	25.38	Luz solar	7
GoAuP3	H ₂ O	30	5	25.38	Lámpara UV	18
GOAuP4	H ₂ O	75	15	12.69	Lámpara UV	18
GoAuP5	Heparina	50	20	6.60	Lámpara UV	66
GoAuP6	Heparina	30	5	25.38	Luz solar	5

6 Resultados y discusión

En esta sección se presentan los resultados obtenidos por la caracterización mediante TEM, DRX y las espectroscopias Infrarroja y Raman de los materiales sintetizados, así como una breve introducción sobre los principios físicos que rigen estas técnicas.

Iniciamos presentando un pequeño resumen en la Tabla 6.1 de las condiciones empleadas en las diferentes síntesis realizadas, esto para comparar y analizar los resultados de las caracterizaciones realizadas al material compuesto GOAuNPs.

Tabla 6.1 Resumen de las condiciones de síntesis de las diferentes muestras de GOAuNPs

Síntesis	Concentración de heparina (mM)	Concentración de Au (mM)	Tipo de reducción	Tiempo de reacción (h)
GOAuP1	0.166	25.38	Química	20
GOAuP2	0.092	25.38	Fotoquímica	7
GOAuP3	0.092	25.38	Fotoquímica	18
GOAuP4	0.125	12.69	Fotoquímica	18
GOAuP5	0.729	6.60	Fotoquímica	66
GOAuP6	0.729	25.38	Fotoquímica	5

6.1 Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman es una técnica utilizada para conocer la composición química y estructural de las muestras. Generalmente, todos los materiales producen espectros Raman, a excepción de los metales puros. La espectroscopia Raman hace referencia al fenómeno de dispersión inelástica de la luz por la materia, descubierta por el físico Chandrasekhar Raman en 1922. Dicha dispersión es provocada por cambios energéticos en los momentos vibracionales o rotacionales de las moléculas que son excitadas al incidir la luz sobre ellas. Esto es similar a la espectroscopia de absorción infrarroja, más ampliamente conocida, pero aquí se aplican reglas diferentes. Se requiere un cambio en la polarizabilidad molecular durante la vibración para que se produzca el efecto Raman. [26]

La caracterización de materiales utilizando el efecto Raman se lleva a cabo haciendo irradiar un láser monocromático con una potencia considerable, ya que la intensidad de la

radiación Raman producida representa únicamente un 0.001% de la intensidad de la fuente. La radiación del láser utilizado puede pertenecer a la región visible o infrarroja. La excitación que provoca la radiación incidente lleva a las moléculas hasta un nivel virtual de mayor energía y a una posterior reemisión de un fotón de menor o mayor energía al de la fuente (dispersión inelástica), por ello el espectro Raman presenta dos tipos de emisión conocidos como difusión Stokes (menor frecuencia) y Anti-stokes (mayor frecuencia).

El estudio y la caracterización de materiales de carbono se ha valido de una de las técnicas que permite obtener información sobre la composición del material: la espectroscopia Raman. El uso de esta técnica se ha hecho extensivo para conocer las propiedades del grafeno. La forma, posición e intensidad de las bandas que suelen aparecer en el espectro permite identificarle y monitorear los cambios estructurales que sufre este material durante su proceso de síntesis.

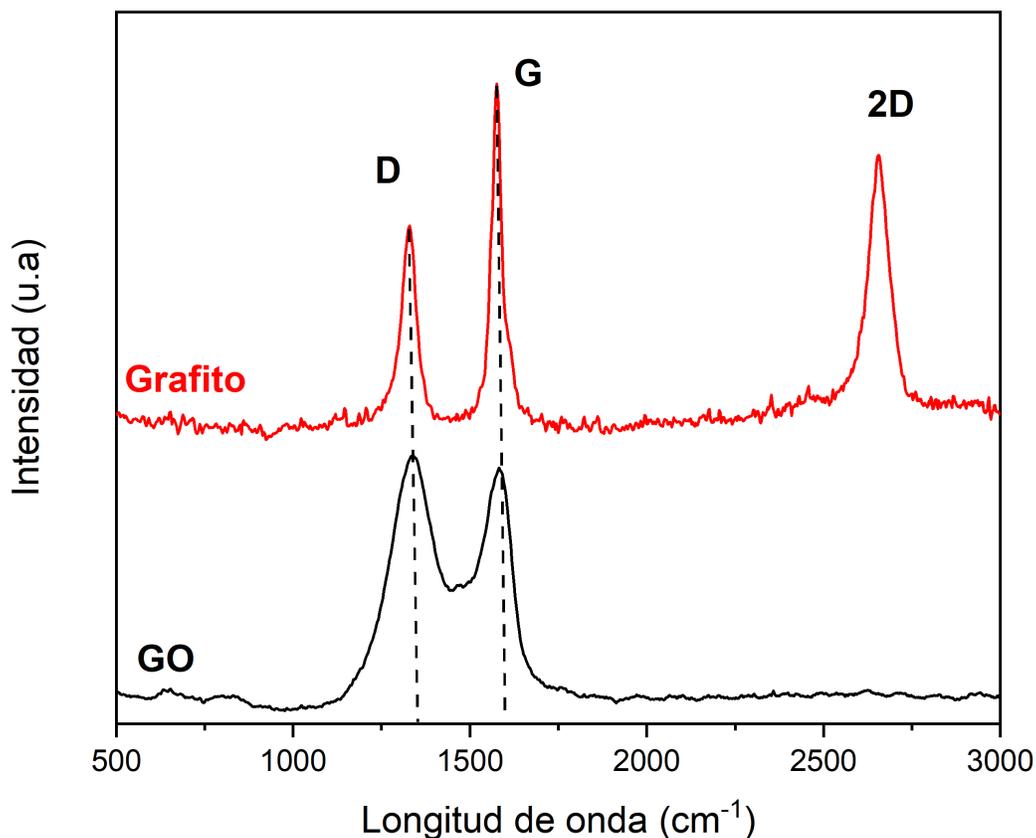


Fig. 6.1 Espectros Raman del grafito precursor y óxido de grafeno (GO).

En Figura 6.1 se comparan los espectros Raman del grafito y óxido de grafeno (GO), siendo este último el que se contempló como matriz para el material híbrido GOAuNP. Como puede ser apreciado cada espectro muestra picos característicos. En el grafito la banda localizada a aproximadamente 1329 cm^{-1} , se aprecia que es una banda bien definida y menos intensa, es denominada banda D, se le conoce como la banda de desorden o defecto, y representa un modo del carbono unido a sp^3 , la intensidad de la banda D es directamente proporcional al nivel de defectos en la muestra y también se puede utilizar como indicador para conocer el grado de funcionalización cuando el grafito se modifica químicamente. Una segunda banda es apreciada, es una banda más definida y la más intensa, se localiza a 1576 cm^{-1} y es conocida como banda G, que origina de la vibración en el plano de los átomos de carbono con hibridación sp^2 comunes a las diferentes formas alotrópicas del carbono con una configuración conjugada de $C=C$, es decir, corresponde a una estructura de carbono bien ordenada y, finalmente, la banda localizada a 2655 cm^{-1} es asociada a un sobre tono de la banda D, conocida como banda 2D. [27]

La proporción de intensidades de las bandas D y G es empleada para determinar el grado de desorden de la estructura de los materiales de carbono. En el grafito es posible observar una banda D de intensidad débil y una banda G de alta intensidad, además de estar, bien definido que indica que el grafito posee una estructura en capas apiladas.

Después de haber realizado los procedimientos necesarios para la obtención de óxido de grafeno (método de Hummers modificado) su espectro Raman proporciona evidencia de las modificaciones estructurales que sufrió, pues las bandas características de los materiales grafénicos, banda D y G, experimentan cambios típicos. Se aprecia claramente que la banda D (1339 cm^{-1}), asociado al desorden, se ensancha y crece en intensidad comparada a la banda G, en tanto que ésta se amplía y desplaza ligeramente a un número de frecuencia mayor (1582 cm^{-1}) en comparación con las frecuencias observadas para el grafito. Este fenómeno puede ser atribuido a la presencia de dobles enlaces aislados sobre la hoja de grafeno los cuales resuenan a frecuencias más elevadas. El incremento en la intensidad de la banda D indica la introducción de defectos en la estructura.

La desaparición de la banda 2D que presenta el óxido de grafeno ocurre como consecuencia de la oxidación y exfoliación de las láminas de óxido de grafeno, ya que esta banda está ligada en gran medida a las interacciones entre laminas apiladas, por lo que una importante disminución en el número de capas lleva a una drástica pérdida de dicha señal.[28]

Como se mencionó anteriormente, la proporción de intensidades de las bandas D y G (I_D/I_G) es la proporción de carbono amorfo o desordenado (sp^3) respecto al carbono grafitico (sp^2). Los cambios significativos que se presentan en la relación de intensidades de D y G, entre el grafito ($I_D/I_G=0.77$) y el óxido de grafeno ($I_D/I_G=1.04$). Este aumento en la proporción de las intensidades D/G sugiere una reducción en el tamaño promedio de las regiones con enlaces de tipo sp^2 , a la incorporación de oxígeno y su funcionalización con diferentes grupos entre las láminas de grafeno, ocasionados por un efectivo proceso de oxidación del material.

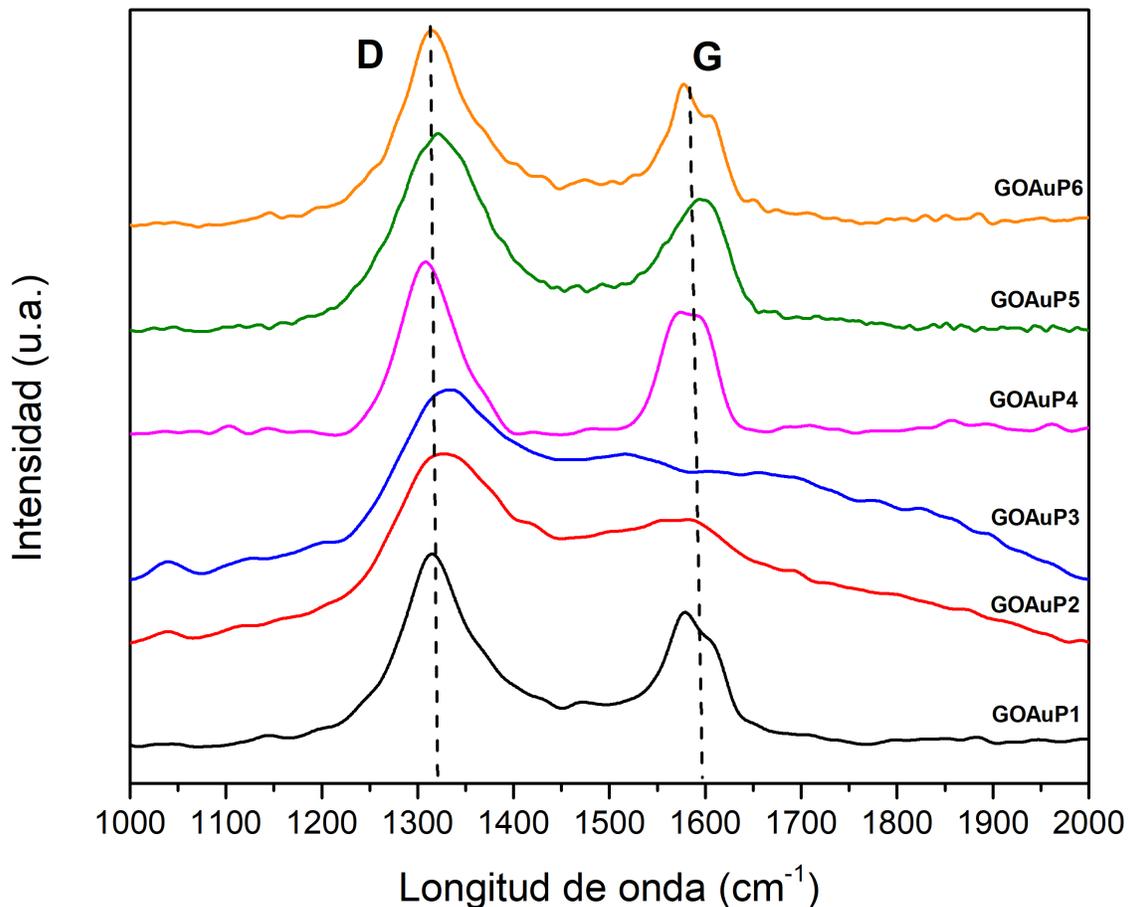


Fig. 6.2 Espectros Raman del material híbrido GOAuNPs .

En la Figura 6.2 se presentan los espectros Raman del material híbrido: óxido de grafeno funcionalizado con nanopartículas de oro (GOAuNPs) obtenidos a partir de las diferentes rutas y condiciones propuestas en la sección 5.2.2, los espectros presentan los picos característicos que corresponden a las bandas D y G de las hojas GO. Seis bandas de alta intensidad aparecieron a $1308\text{--}1335\text{ cm}^{-1}$ (banda D, asociada con la presencia de defectos estructurales), $1517\text{--}1595\text{ cm}^{-1}$ (banda G, característica de todos los materiales basados en sp^2), la posición exacta y la intensidad de los picos, para cada una de las muestras se resumen en la Tabla 6.2.

En general, la relación I_D/I_G aumenta cuando se introducen más defectos en GO. Debido a una mayor funcionalización del GO, la intensidad de la banda D aumentó dramáticamente y las relaciones I_D/I_G (Tabla 6.2) correspondientes a los compuestos de GOAu fueron mucho más altas, en especial para cuatro de las muestras: GOAuP3, GOAuP4, GOAuP5 y GOAuP6, destacando GOAuP3 (3.13) en comparación con GO (1.04). Los resultados ilustran que la cantidad de carga de AuNP tiene una gran influencia en la relación, lo que implica que la nucleación de las nanopartículas de oro en las superficie de las laminas de GO introduce defectos adicionales en la estructura. El aumento de la relación I_D/I_G para los compuestos GOAu nos indica que ocurrió una reducción conjunta del GO y Au^{+3} . Para las muestras GOAuP1 y GOAuP2, la disminución en de los índices I_D/I_G respecto al precursor, puede asociarse a que se favoreció la reducción química de las láminas de GO en lugar del precursor de las nanopartículas de oro ($HAuCl_4$).

Tabla 6.2 Características Raman para compuesto GOAuNP

Muestra	D (cm^{-1})	G (cm^{-1})	I_D/I_G
GOAuP1	1325	1579	0.51
GOAuP2	1327	1587	0.89
GOAuP3	1335	1517	3.13
GoAuP4	1308	1574	1.27
GOAuP5	1321	1595	1.23
GOAuP6	1314	1577	1.14

6.2 Espectroscopia FTIR

La espectroscopia vibracional fue una de las primeras técnicas espectroscópicas a la cual se le encontró un uso extendido, en particular la espectroscopia de absorción infrarroja (IR) que recibe su nombre por la región del espectro electromagnético involucrada. Existe una segunda forma de espectroscopia vibracional (Raman) que se sustenta en un fundamento físico diferente y proporciona información similar y complementaria al IR.

La espectroscopia IR es el método por el cual se estudia la absorción o emisión de energía radiante originada por la interacción entre la radiación electromagnética y el material en estudio.

La espectroscopia IR se basa en que las moléculas tienen la posibilidad de rotar y vibrar a distintas frecuencias (modos normales vibracionales). O sea que, una molécula puede absorber la energía de fotones en el rango energético de IR en el caso en que exista una diferencia en el momento bipolar de la molécula mientras ocurre un movimiento vibracional rotacional y cuando la frecuencia asociada con la radiación resuena con el movimiento vibracional.

Los componentes de los enlaces químicos tienen movimientos vibracionales con frecuencias naturales dentro del rango de frecuencias del infrarrojo. Existen modos vibracionales que inducen oscilaciones que pueden entrar en resonancia con un haz de IR. Esto produce un intercambio de energía entre el haz y las moléculas constituyentes. Existe un comportamiento característico para un enlace con un tipo atómico, un entorno químico y una concentración de enlaces determinadas. Se puede decir entonces, que en un espectro infrarrojo se pueden manifestar bandas asociadas a prácticamente todos los compuestos moleculares. Cada una de estas bandas correspondería a un movimiento de vibración de uno de los enlaces dentro de la molécula. Se sostiene entonces que el conjunto constituye la huella dactilar del compuesto. Cada compuesto tendrá entonces un comportamiento particular frente a un haz de infrarrojos, en esto se basa la eficacia de la IR.

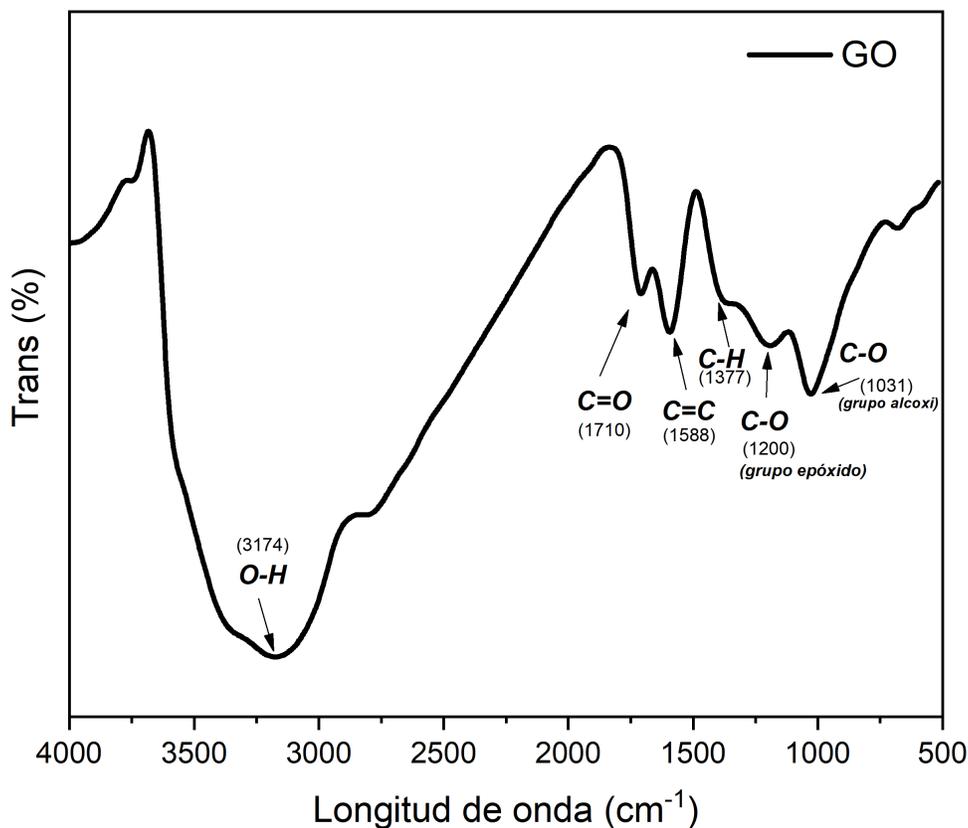


Fig. 6.3 Espectros FTIR del óxido de grafeno (GO).

El espectro FTIR que se obtuvo del GO sintetizado por el método de Hummers modificado, se presenta en la Figura 6.3, muestra la presencia de una banda ancha, con un número de onda de 3174 cm^{-1} , que corresponde a las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilo, esta banda está relacionada con moléculas de agua intercaladas. El pico que aparece a los 1710 cm^{-1} está relacionado con las vibraciones de estiramiento de grupos carboxilo (C=O) que están presentes en los bordes de las hojas de GO. El espectro también exhibe varios picos de absorción característicos de GO; la banda a 1588 cm^{-1} que corresponde a la vibración esquelética de C=C de dominios grafiticos no oxidados; la banda ubicada en 1377 cm^{-1} que se debe a la vibración de estiramiento sp^3 C-H de los carbonos saturados, el pico ubicado en 1200 cm^{-1} es asignado a la vibración de estiramiento de la funcionalidad C-O de los grupos epóxidicos (C-O-C) que se presumen se encuentran distribuidos sobre la superficie de las láminas y finalmente el pico ubicado en 1031 cm^{-1} es atribuido a la vibración de estiramiento del alcoxi (C-O).

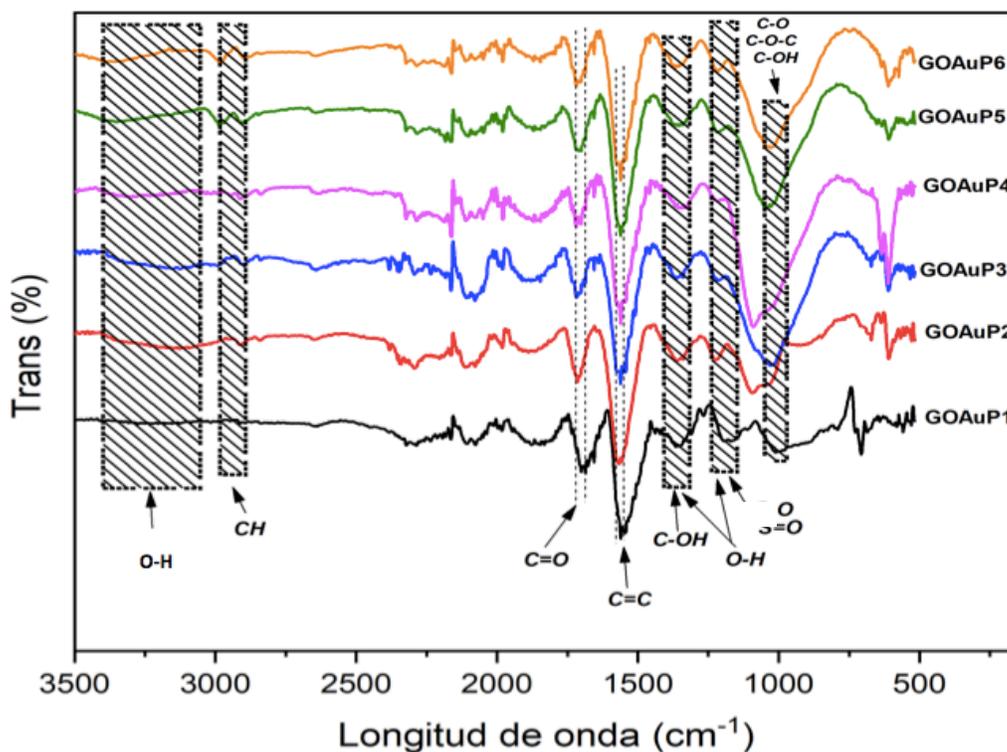


Fig. 6.4 Espectros IR del material compuesto GOAuNPs.

En los espectros IR de los materiales compuestos presentados en la Figura 6.4 se observa tres picos característicos para materiales a base de GO, ubicados en 3420, 1360 y 1200 cm^{-1} estos picos están relacionados a las vibraciones del grupo hidroxilo (OH), la notable disminución de la intensidad de esta banda, comparada con la del GO precursor, nos indica que se presentó una considerable reducción durante el proceso de síntesis para todas las muestras, también se aprecia la presencia de dos bandas en 2995 y 2890 cm^{-1} las cuales se pueden asociar a C-H; otro de los cambios importantes es en la banda ubicada aproximadamente a 1030 cm^{-1} , la cual prácticamente desaparece tras la funcionalización con las AuNPs en todos los procesos, y que corresponde a enlaces carbono oxígeno (alcoxi) pertenecientes a los tres principales grupos funcionales presentes en el GO epóxido, hidroxilo y carboxilo, lo cual sugiere y confirma una significativa reducción química, ya mencionada, debido a las interacciones y sustituciones que se propician entre las nanopartículas y estos grupos funcionales.

6.3 Difracción de Rayos X (DRX)

La difracción de rayos X (DRX) es una técnica analítica rápida utilizada principalmente para la identificación de fases de un material cristalino y puede proporcionar información sobre las dimensiones de las celdas unitarias. Para analizar el material, es necesario presentar la muestra en polvo finamente molido y homogeneizado; lo cual permitirá determinar la composición a granel promedio.

El método de DRX se basa en el hecho de que cada sustancia cristalina presenta un diagrama de difracción único. Así, pueden compararse un diagrama de una muestra desconocida y el de una muestra patrón, y determinar su identidad y composición química.[29]

La técnica consiste en hacer incidir un haz de rayos X sobre el sólido sujeto a estudio. La interacción entre el vector eléctrico de la radiación X y los electrones de la materia que atraviesa dan lugar a una dispersión. Al producirse la dispersión tienen lugar interferencias (tanto constructivas como destructivas) entre los rayos dispersados, ya que las distancias entre los centros de dispersión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación. El resultado es la difracción, que da lugar a un patrón de intensidades que puede interpretarse según la ubicación de los átomos en el cristal, por medio de la ley de Bragg (Ec. 6.1). La misma postula que cuando un haz de rayos X incide sobre la superficie de un cristal formando un ángulo θ una porción del haz es dispersada por la capa de átomos de la superficie; la porción no dispersada del haz penetra en la segunda capa de átomos donde, nuevamente una fracción es dispersada y así sucesivamente con cada capa hasta la profundidad de aproximadamente 1000 nm, lo que lo hace una técnica másica. El efecto acumulativo de esta dispersión producida por los centros regularmente espaciados del cristal es la difracción del haz.[30]

$$\text{Ley de Bragg: } n\lambda = 2d \sin \theta \quad (6.1)$$

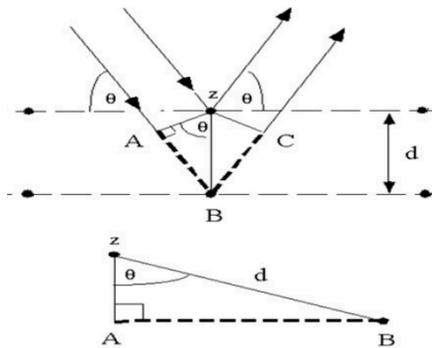


Fig. 6.5 Ley de Bragg. (Ravi, Bisen, Usha and Sharma. 2012)

La Figura 6.6 muestra los patrones de difracción pertenecientes al grafito y óxido de grafeno precursores medidos en el rango de 2θ entre 5° y 35° . Para el grafito se observa un pico intenso con un ángulo de difracción 2θ en 26.41° , asociado al plano (002), mismo que es desplazado hasta 12.27° para el GO tras los procesos de oxidación y exfoliación. Por la ley de Bragg podemos determinar la distancia interplanar (d), la cual en este caso representa el espaciado entre las láminas de grafeno, de esta forma obtenemos que para el grafito la distancia entre capas es $d=0.33$ nm, mientras que para el caso del óxido de grafeno la distancia se incrementa hasta $d= 0.72$ nm, esto se debe a que tras el proceso oxidativo, las láminas se funcionalizaron con diferentes grupos oxigenados, lo que provoca mayor distancia entre las capas, estos resultados son congruentes con los reportados en la literatura y junto a la ausencia de un pico residual de grafito en el patrón de GO, son prueba de un efectivo proceso de funcionalización y exfoliación.

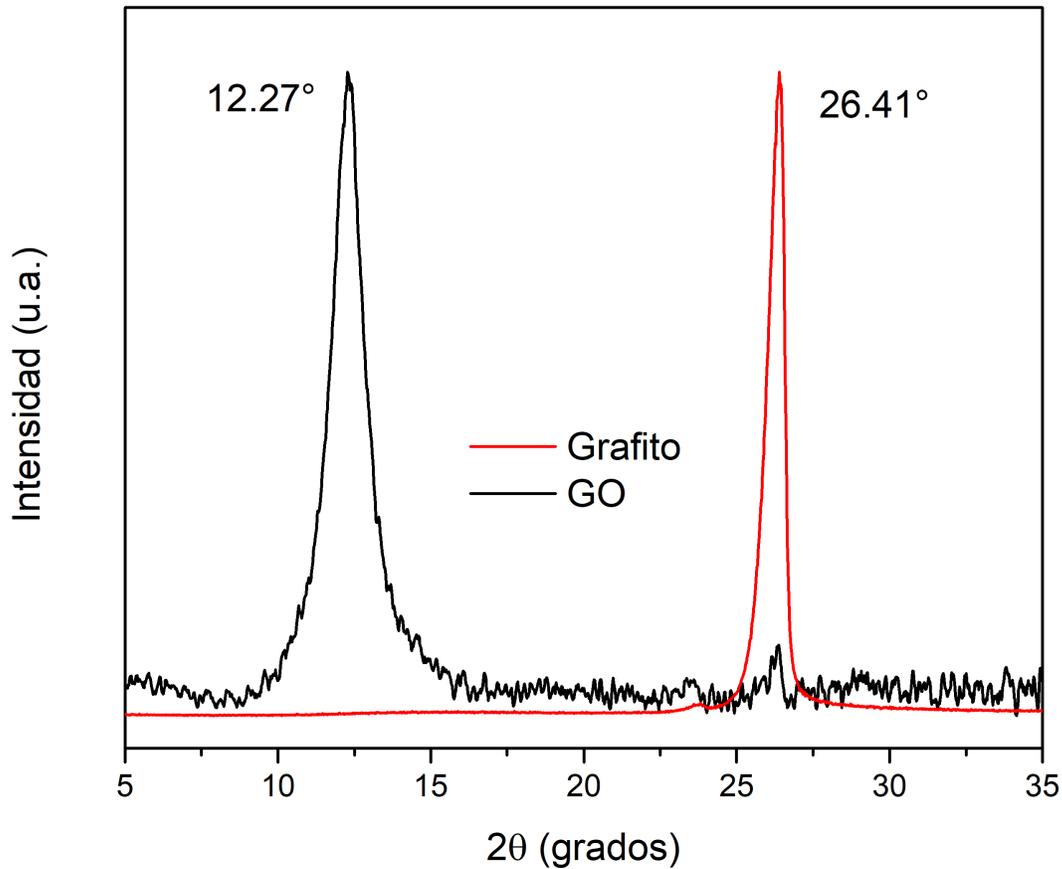


Fig. 6.6 Difractograma del grafito y óxido de grafeno (GO).

En la Figura 6.7 se presentan los patrones de grafeno funcionalizado con nanopartículas de oro, en estos patrones podemos observar que se presentan los siguientes picos; el primero con un ángulo de difracción 2θ en 11.80° , este pico está relacionado al plano (002), es evidente que es el pico menos intenso, casi nulo en la mayoría de las muestras, la disminución de la intensidad de este indica que se presentó una reducción en el GO.

En seguida se aprecian cuatro prominentes picos en el patrón DRX los cuales se ubican en valores 2θ de 38.25° , 44.42° , 64.66° y 77.63° , que se asignan a la estructura cristalina cubica centrada en la cara asociada a los planos cristalográficos (111), (200), (220) y (311) respectivamente, valores que se encuentran dentro de los parámetros estándares del oro (JCPDS 04-0784). [31]

Estos resultados implican que la heparina juega un excelente papel como agente reductor y estabilizador para la reducción del GO y HAuCl_4 , propiciando la formación de las nanopartículas de oro, para la obtención del material compuesto.

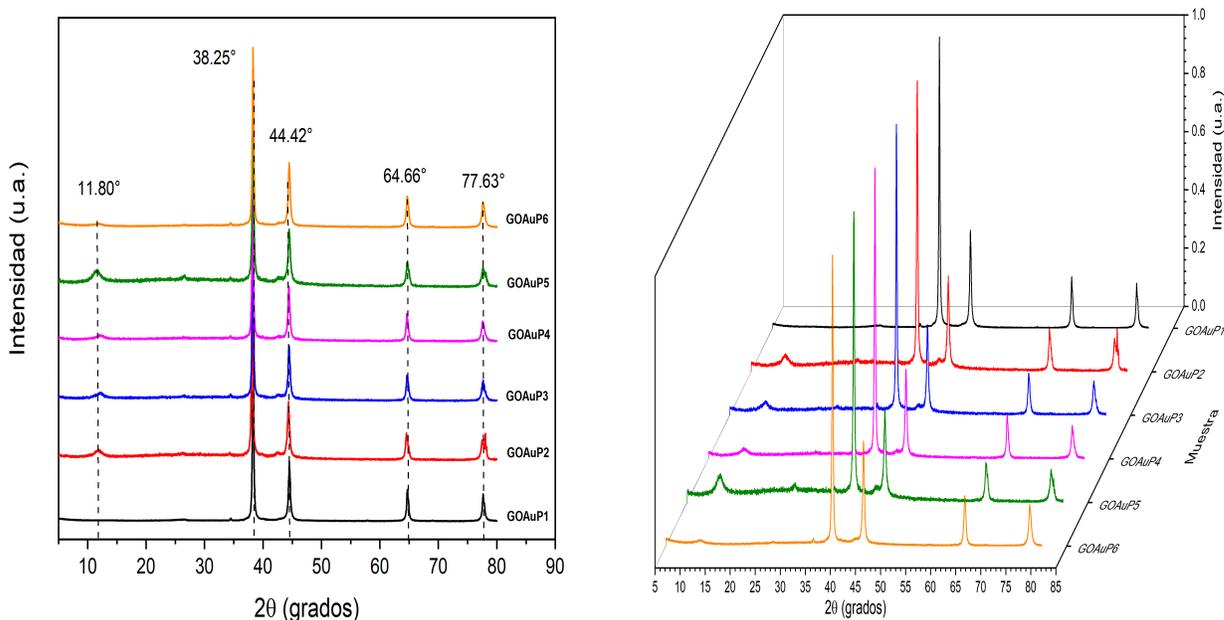


Fig. 6.7 Difractogramas del material híbrido GOAuNPs

6.4 Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

La microscopia electrónica de transmisión es una técnica de caracterización que aprovecha los fenómenos físico-atómicos que se producen cuando un haz de electrones suficientemente acelerado incide en una muestra. Cuando los electrones colisionan con la muestra, en función de su grosor y del tipo de átomos que la forman, parte de ellos son dispersados selectivamente, es decir, hay una gradación entre los electrones que la atraviesan directamente y los que son totalmente desviados. Todos ellos son conducidos y modulados por unas lentes para formar una imagen final sobre un sensor electrónico que puede tener miles de aumentos con una definición inalcanzable para cualquier otro instrumento. La información que se obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que se corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes.

Las imágenes obtenidas mediante esta técnica ofrecen información sobre la morfología y estructura de la muestra.

En la Figura 6.8 se presenta una micrografía de una lámina del óxido de grafeno sintetizado, presenta una morfología que corresponde a la descripción convencional para este material sintetizado por el método de Hummers modificado. Revela una estructura bidimensional, transparente, arrugada y ondulada debido a la deformación en los procesos de exfoliación y reducción.

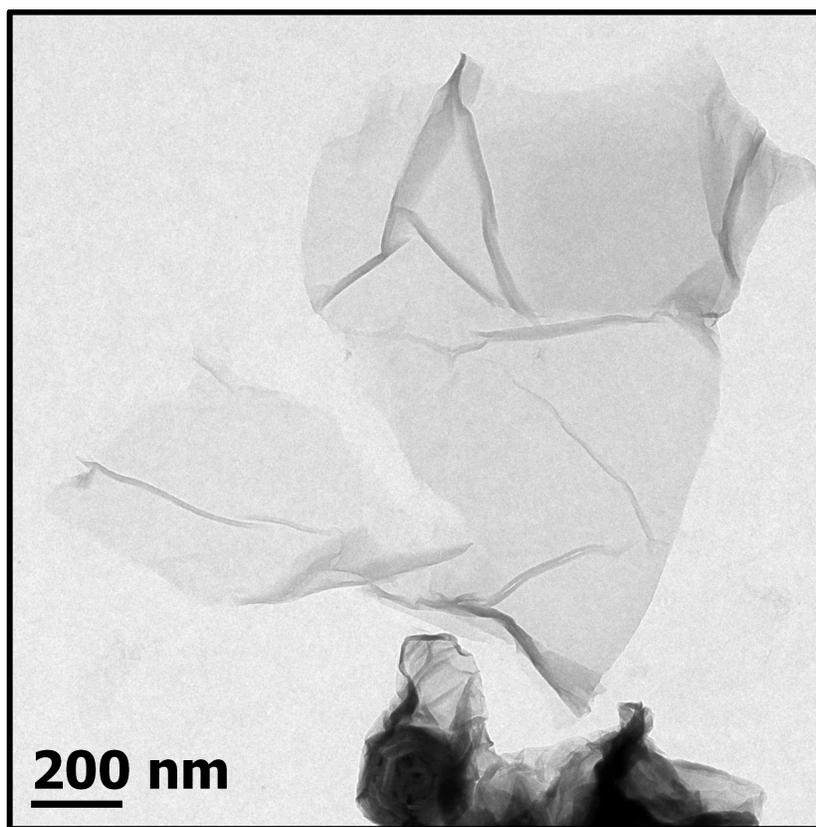


Fig. 6.8 Micrografía de TEM de una lámina del precursor GO

Las imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de transmisión del material híbrido GOAu (Fig. 6.9) permitieron conocer las diferencias morfológicas generadas mediante la variación de condiciones propuestas por las diferentes rutas de síntesis.

En la imagen 6.9.A. corresponde a la muestra GOAuP1, podemos apreciar nanopátículas de oro bien dispersas sobre láminas de grafeno, las AuNPs presentan una morfología esférica con un tamaño aproximado de 35 nm. La micrografía correspondiente a GOAuP2 (6.9.B)

muestra una decoración de AuNPs de mayor tamaño, respecto a GOAuP1, son nanopartículas con morfología cuasiesférica y dimensiones promedio de 84 nm. La muestra de GOAuP3 (Fig. 6.9.C) presenta una población de nanopartículas bastante densa, se puede apreciar, además, que se produjeron conglomerados de AuNPs sobre la lámina de GO, el tamaño promedio que se obtuvo de esta muestra es de 71 nm, las nanopartículas presentan una forma esférica definida. Respecto a las muestras GOAuP2 y GOAuP3 es importante resaltar que son las muestras que presentan menor concentración de heparina, y como ya se mencionó, presenta una uniformidad y homogeneidad en tamaño y formar.

En la imagen D correspondiente a la muestra GOAuP4, se aprecia una población de partículas más dispersas, con tamaños entre 70 y 175 nm, donde las partículas de menor tamaño presentan una morfología de esfera más definida comparadas con las que sobrepasan los 100 nm.

Las muestras GOAuP5 y GOAuP6 (6.9.E y 6.9.F, respectivamente) son las muestras que e presentan una menor población de nanopartículas, comparadas con las primeras tres muestras, la funcionalización de las láminas de grafeno con las nanopartículas es bastante buena. En ambas muestras resultaron nanopartículas con morfologías interesantes como triángulos y rots, predominando pentágonos para GOAuP5, con un tamaño promedio de 57 nm y una forma esférica con dimensiones de aproximadamente 44 nm en GOAuP6.

Es importante mencionar que en todas las muestras se aprecia que las AuNPs están presentes y distribuidas en la superficie de las láminas de GO, respetando los bordes de esta; esto nos indica fuertes interacciones entre el GO y las AuNPs

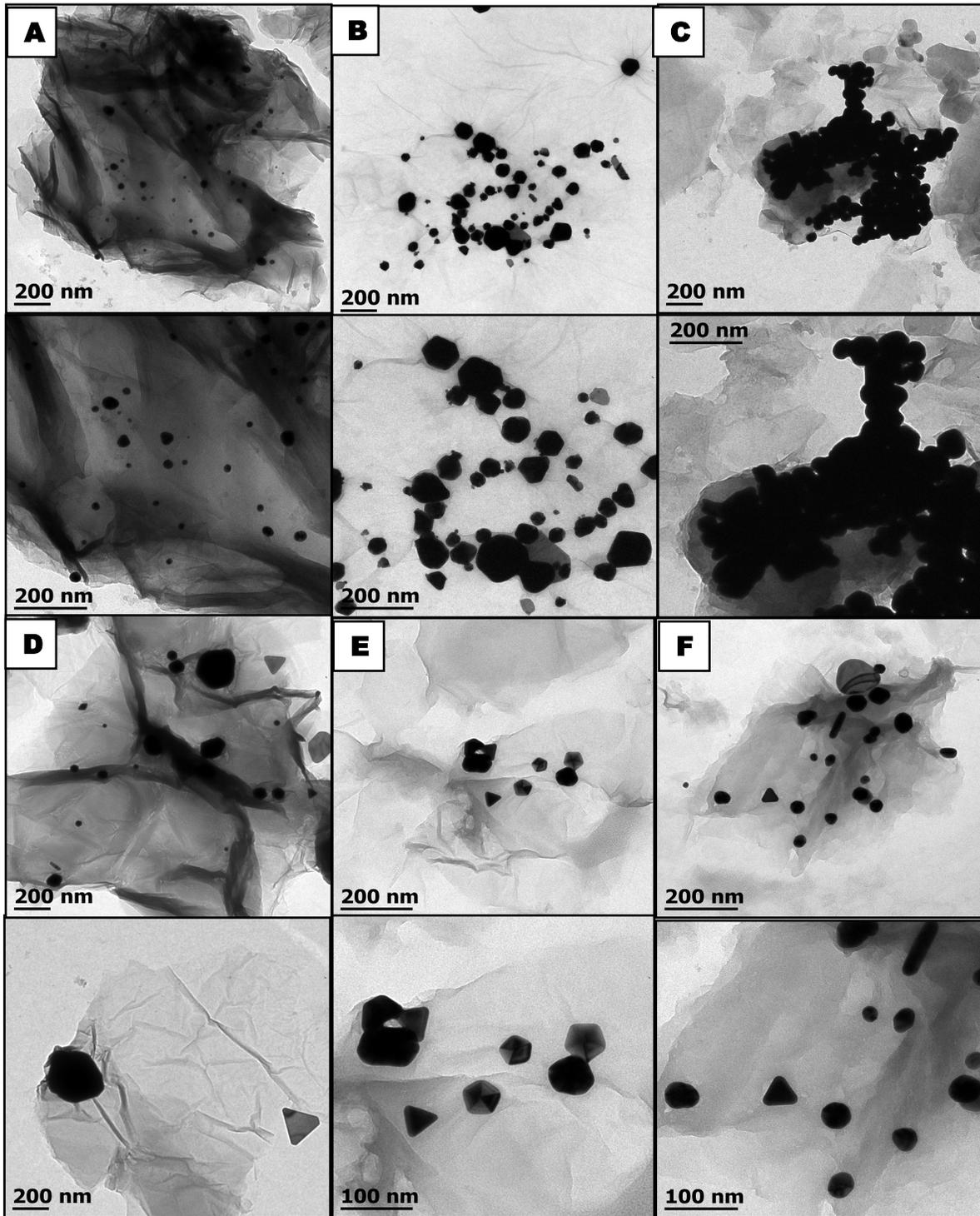


Fig. 6.9 Micrografía de TEM del material compuesto GOAuNPs: A)GOAuP1, B)GOAuP2, C)GOAuP3, D)GOAuP4, E)GOAuP5 y F) GOAuP6

7 Conclusiones

Se logró de manera exitosa la síntesis del nanomaterial compuesto de láminas de grafeno funcionalizadas con nanopartículas de oro, donde el personaje principal es la heparina, la cual participa como reductor y estabilizador, para la obtención del material.

A partir de las dos rutas propuestas de síntesis, se obtuvieron partículas de oro desde aproximadamente 35 nm hasta 175 nm, mostrando en la mayoría de las muestras una buena distribución sobre las láminas de grafeno.

Se demostró que la ruta fotoquímica es una estrategia simple y flexible para la síntesis de híbridos GOAuNPs gracias a que la heparina es una biomolécula utilizada como anticoagulante que es muy reactiva en el rango UV.

Los resultados nos mostraron que las bajas concentraciones de heparina fomentan el crecimiento de nanopartículas en direcciones preferenciales, es decir, se obtiene más uniformidad y homogeneidad en la morfología. Cuando se da un aumento en la concentración de la heparina se presenta una aleatoriedad en morfología y tamaño.

Además, suponemos que dada la biocompatibilidad del agente estabilizador y de la protección, la heparina, estos coloides sintetizados, podrían ser candidatos potenciales para estudios y terapia con plasma.

En cuanto al impacto que presenta el material compuesto de grafeno y nanopartículas de oro basado en heparina, suponemos que dada la biocompatibilidad del agente estabilizador y reductor, la heparina, este material compuesto, podría ser candidato potencial en aplicaciones en el área de biotecnología o biomédica. Los estudios reportados en la literatura, afirman que los materiales sintetizados a base de heparina podrían ser una excelente opción para el desarrollo de diferentes alternativas que permitan *tratar, detectar y prevenir* enfermedades en los seres humanos [32], es decir, este material híbrido tiene potenciales aplicaciones en el área de imágenes, detección, actividad antimicrobiana y biosensores, a pesar del hecho de que hay algunos estudios, son áreas en las que se puede trabajar más para desarrollar materiales para cumplir con aplicaciones específicas.

8 Referencias

- [1] Wang, Wei, Guo, Sun, Sun, Yonghai, Yang, Zhuang. Photochemical synthesis and self-assembly of gold nanoparticles. 2008.
- [2] Shima, Kima, Han, Chung, Lee, Byuna, Oh. Reduced graphene oxide nanosheets coated with an anti-angiogenic anticancer low-molecular-weight heparin derivative for delivery of anticancer drugs. 2014.
- [3] Bharech, Kumar. A Review on the Properties and Applications of Graphene. Journal of Material Science and Mechanical Engineering. 2015.
- [4] Zaijun, Xiulan, Qianfang, Ruiyi, Yinjun, Shuping, Junkang. Green and controllable strategy to fabricate well-dispersed graphene–gold nanocomposite film as sensing materials for the detection of hydroquinone and resorcinol with electrodeposition. 2012.
- [5] Krishnaswamy, Vali, Orsat. Value-adding to grape waste: Green synthesis of gold nanoparticles. 2014.
- [6] Al-qadi, López. Nanopartículas metálicas: oro. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. 2016.
- [7] Masanori, Fujistuka, Majima. Light as a construction tool of metal nanoparticles: Synthesis and mechanism. 2009.
- [8] Berrú, Redón, Olmos, Saniger. Silver nanoparticles synthesized by direct photoreduction of metal salts. Application in surface-enhanced Raman spectroscopy. Journal of Raman Spectroscopy. 2009.
- [9] Torres, Torres, Salas, González, López. UV photochemical synthesis of heparin-coated gold nanoparticles. 2014.
- [10] Bharech, Kumar. A Review on the Properties and Applications of Graphene. Journal of Material Science and Mechanical Engineering. 2015.
- [11] Nachón, Rodil, Alonso. Grafenos preparados por métodos químicos: características y aplicaciones. Tesis doctoral. Programa de Doctorado de Ciencia y Tecnología de Materiales. Universidad de Oviedo. 2015.
- [12] Ortega. El grafeno, posibilidades del grafeno en la arquitectura. Universidad Politécnica de Madrid. 2018.
- [13] Lee, Hiew, Lai et al. Review of graphene and its derivatives: Synthesis methods and potential industrial implementation, Journal of Taiwan Institute of Chemical Engineers. 2017.
- [13] Bhawal, Ganguly, Chaki, Das. Synthesis and characterization of graphene oxide filled ethylene methyl acrylate hybrid nanocomposites. 2016.

- [14] Ciceroni, Agresti, Di Carlo, Brunetti, The Future of Semiconductor Oxides in Next-Generation Solar Cells: Chapter 13 - Graphene Oxide for DSSC, OPV and Perovskite Stability. 2018.
- [15] Yoon, Sep, Ku K, Kim, Jeon, Kang. Factors affecting the exfoliation of graphite intercalation compounds for graphene synthesis. 2015.
- [16] Kianpour, Ebrahimi, Salehi, Fatemi. Evaluating the Effect of Graphite Source and Operating Conditions on the Synthesis of Graphene Oxide. 2017.
- [17] Elahi, Kamali, Baghersad. Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. 2018.
- [18] Yang, Li, Lu, He, Zhu, Gao. Controllable biosynthesis and properties of gold nanoplates using yeast extract. 2017.
- [19] Elahi, Kamali, Baghersad. Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. 2018.
- [20] Wang, Zhu, You, Shukoor, Zhang, Altman, Chen, Huang. Assembly of aptamer switch probes and photosensitizer on gold nanorods for targeted photothermal and photodynamic cancer therapy. 2012.
- [21] Torres, Torres, Salas, González,López. UV photochemical synthesis of heparin-coated gold nanoparticles. 2013
- [22] Dong, Zhou. Photochemical synthesis of colloidal gold nanoparticles. Materials Science and Engineering. 2007.
- [24] Murugesan, Xie, Linhardt. Immobilization of Heparin: Approaches and Applications. Curr Top Med Chem. 2008.
- [25] Yin, Shah, Chhowalla, Lee. Design, Synthesis, and Characterization of Graphene–Nanoparticle Hybrid Materials for Bioapplications. Chemical Reviews. 2015.
- [26] Skoog, Holler, Crouch. Principios de análisis instrumental. 6ª Edición. Cengage learning.
- [27] Wall. Raman Spectroscopy: Optimizes Graphene Characterization, Advanced Materials & Processes. 2012.
- [28] Perumbilavil, Sankar, Rose, Philip. White light Z-scan measurements of ultrafast optical nonlinearity in reduced Graphene oxide nanosheets in the 400–700 nm región. 2015.
- [29] Piqué, Vázquez. Uso de espectroscopía infrarroja con transformada de fourier (ftir) en el estudio de la hidratación del cemento. 2012.
- [30] Skoog, West. Analisis Instrumental. 2001.

[31] Sharma, Bisen, Shukla, Sharma. X-ray diffraction: a powerful method of characterizing nanomaterials. 2012.

[32] Torres, Acosta .Torres. Review Article Heparin-Based Nanoparticles: An Overview of Their Applications. 2018