



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Investigación y aplicación de nanopartículas  
de plata en Espectroscopía Raman**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN QUÍMICA**

**P R E S E N T A:**

**LUIS ALBERTO HERNÁNDEZ CANALES**



Ciudad de México

2016



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.

**JURADO ASIGNADO:**

|                |                                  |
|----------------|----------------------------------|
| PRESIDENTE:    | M. en C. Imelda Velázquez Montes |
| VOCAL:         | Dr. Lauro Bucio Galindo          |
| SECRETARIO:    | Dr. Roberto Sato Berrú           |
| 1er. SUPLENTE: | Lic. María Kenia Zamora Rosete   |
| 2° SUPLENTE:   | Dr. Alfonso Ramón García Márquez |

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

CENTRO DE CIENCIAS APLICADAS Y DESARROLLO TECNOLÓGICO

**ASESOR DEL TEMA**

---

Dr. Roberto Sato Berrú

**SUSTENTANTE:**

---

Luis Alberto Hernández Canales

# Dedicatoria

A mi familia.

# AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el Dr. Roberto Ysacc Sato Berrú por permitirme realizar mi estudio de tesis bajo su guía.

Al Dr. José Saniger Blesa por su asesoría y consejos para mejorar esta investigación.

A el Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico (CCADET) por permitirme trabajar en sus instalaciones, particularmente en el Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE).

También quisiera agradecer a los investigadores del CCADET, los cuales me aconsejaron durante la realización de la investigación, con apoyo teórico y técnico. Al CIO de Aguascalientes, en particular al M.C. Juan Manuel Bujdud por sus enseñanzas en colorimetría.

Al Dr. Francisco Paraguay Delgado del Laboratorio Nacional de Nanotecnología, en el Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMA) Monterrey, por la ayuda con las imágenes TEM.

A los miembros de jurado por sus valiosos comentarios y sugerencias acerca de este trabajo.

A la UNAM, en particular a la Facultad de Química por mi preparación profesional. Al proyecto PAPIIT-IA100813 y al proyecto CONACYT: Exp. Ayte-9989 por el apoyo económico otorgado.

Agradezco a todos mis amigos de la carrera y del laboratorio por su ayuda y enseñanzas.

# Índice

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Objetivo general</b>  | 1         |
| <b>Objetivos particulares</b>  | 1         |
| <b>Resumen</b>   | 1         |
| <b>Introducción</b>  | 2         |
| <b>1. Antecedentes</b>   | <b>4</b>  |
| 1.1 Plata. Propiedades físicas y químicas  | 4         |
| 1.2 Teoría de bandas   | 5         |
| 1.3 Sistemas nanoestructurados   | 6         |
| 1.3.1 Implicaciones de disminuir el tamaño de un material                                      | 8         |
| 1.3.2 Relación superficie/volumen  | 9         |
| 1.4 Coloides   | 10        |
| 1.4.1 Estabilidad de las dispersiones coloidales   | 10        |
| 1.5 Espectroscopía UV-Vis  | 13        |
| 1.5.1 Plasmones de superficie en nanopartículas metálicas                                      | 14        |
| 1.6 Colorimetría   | 15        |
| 1.6.1 Diagrama de cromaticidad   | 16        |
| 1.6.2 Espacios de color  | 17        |
| 1.6.3 Espacio de color Yxy   | 17        |
| 1.7 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)   | 18        |
| <b>2. Espectroscopia Raman y el efecto SERS</b>  | <b>20</b> |
| 2.1 Espectroscopia Raman   | 20        |
| 2.1.1 Instrumentación  | 22        |
| 2.2 Efecto SERS  | 24        |
| 2.2.1 Modelo electromagnético  | 24        |
| 2.2.2 Modelo de Transferencia de carga o químico   | 25        |
| 2.2.3 Hot spots  | 27        |
| 2.3 Aplicaciones de la espectroscopia Raman  | 28        |
| 2.3.1 Pigmentos  | 28        |
| 2.3.2 Alótropos de carbono   | 29        |
| 2.3.3 Fármacos   | 29        |
| 2.3.4 Detección de contaminantes   | 30        |
| 2.3.5 Aminoácidos  | 30        |
| <b>3. Métodos de síntesis y aplicaciones de nanopartículas de plata en dispersión coloidal</b> | <b>31</b> |
| <b>4. Desarrollo experimental</b>  | <b>47</b> |
| 4.1 Reactivos y equipos de caracterización   | 47        |
| 4.1.1 Espectroscopia UV-Visible  | 47        |

|   |            |
|---|------------|
| 4.1.2 Espectroscopía Raman                                  | 48         |
| 4.1.3 Microscopía electrónica de transmisión                | 49         |
| 4.1.4 Potencial de carga superficial                        | 50         |
| 4.2 Preparación de nanoparticulas                           | 51         |
| 4.3 Estudio de efecto SERS                                  | 53         |
| <b>5. Discusión de resultados</b>                           | <b>54</b>  |
| 5.1 Pruebas de caracterización de los coloides sintetizados | 54         |
| 5.2 Estudio de estabilidad                                  | 72         |
| 5.3 Estudio de colorimetría                                 | 86         |
| 5.4 Pruebas SERS  | 90         |
| <b>6. Conclusiones</b>                                      | <b>97</b>  |
| <b>7. Referencias bibliográficas</b>                        | <b>99</b>  |
| <b>8. Glosario</b>  | <b>108</b> |
| <b>9. Anexos</b>  | <b>111</b> |

### Abreviaturas

A = absorbancia

Å = angstrom (10<sup>-10</sup> m)

E<sup>0</sup> = potencial estándar de reducción a 25°C

ENH = electrodo normal de hidrógeno

HR-TEM = High Resolution Transmission Electron Microscopy (Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución)

λ = longitud de onda

v = frecuencia

nm = nanómetros (10<sup>-9</sup> m)

py = piridina

S/V = relación superficie/volumen

UV-Vis = ultravioleta-visible

SERS = Surface-enhanced Raman spectroscopy

## **Objetivo General**

Sintetizar nanopartículas de plata en medio coloidal con forma y tamaños controlados y evaluar estos coloides en la amplificación de señal Raman con muestras de prueba y de interés.

La motivación para realizar esta investigación es poder presentar un trabajo que aporte al gran conocimiento que conforma la nanociencia, y se pretende que al dar este aporte el conocimiento aumente y las técnicas de investigación en este rubro mejoren.

## **Resumen**

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica sobre los diferentes métodos de síntesis químicas de nanopartículas de plata, esto con el propósito de tener una visión amplia acerca del estado del arte en este tipo de síntesis y con base en lo investigado se decidió hacer la síntesis en medio coloidal por medio de la reducción de una sal de plata con un par de reductores.

Es importante mencionar que el uso de estos dos reductores no es de manera arbitraria, se decidió usar Borohidruro de Sodio y Citrato de Sodio porque, además de ser reductores que han demostrado su efectividad en la generación de coloides, el primero es un reductor fuerte en comparación con el segundo y el Citrato además de ser reductor también sirve como estabilizante.

Los coloides se sintetizaron variando la concentración de los reductores (de  $10^{-3}$  M a  $10^{-5}$  M) y dejando constante la concentración de la sal de plata (Nitrato de Plata  $10^{-4}$  M). Estos se expusieron 24 horas a luz (en un intervalo de 430 -700 nm). Con un espectroscopio UV- Vis se observaron los plasmones de estos coloides; con un microscopio de barrido electrónico se obtuvieron las imágenes de algunas nanopartículas para observar su tamaño y forma.

Las nanopartículas de plata se usaron como auxiliar en pruebas de espectroscopia Raman, con los siguientes objetivos: a) suprimir la fluorescencia de una molécula de tipo colorante (Rodamina); b) obtener una mejor y más intensa señal Raman de la nicotinamida, así como el límite de detección Raman-SERS (espectroscopia Raman amplificada por superficie), de la misma.

En el **capítulo 1** se definen términos como nanoestructura, coloide y nanopartícula; se estudian las implicaciones de disminuir el tamaño de un material. Se enumeran las propiedades físicas y químicas de la plata. También se da una introducción a todas las técnicas espectroscópicas usadas para analizar los coloides.

En el **capítulo 2** se presenta la espectroscopía Raman como técnica de caracterización pero también como auxiliar en la identificación de biomoléculas por medio del efecto SERS.

El **capítulo 3** es un recuento de las aplicaciones que se le dan a las nanopartículas de plata en medio coloidal.

El **capítulo 4** contiene la información sobre el método llevado a cabo para la síntesis de las nanopartículas y también se mencionan las técnicas que se usaron para caracterizar las muestras.

El **capítulo 5** reúne los resultados obtenidos y en el **capítulo 6** se enlistan las conclusiones a las que se llegó con la realización de esta tesis.

## **Introducción**

La nanociencia y la nanotecnología son el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nano escala ( $10^{-9}$  m). Se ha comprobado que cuando se manipula la materia a la escala tan minúscula de átomos y moléculas, ésta presenta propiedades ópticas, magnéticas, electrónicas y catalíticas únicas las cuales pueden ser interesantes desde el punto de vista de su aplicación práctica; aprovechando estas propiedades se busca construir pequeñas estructuras para el diseño de materiales avanzados o disminuir el tamaño de los actuales [1].

Así, la manipulación de las condiciones de síntesis de nanopartículas cobra importancia porque se definen formas y tamaños específicos y únicos; de esta manera, cada nanopartícula de cierto tamaño y forma sirve para un fin específico.

Existen muchos métodos de síntesis de nanopartículas, los hay por medios físicos y químicos; los primeros incluyen la evaporación térmica, la preparación de clusters gaseosos, la implantación de iones, el depósito químico en fase vapor y la molienda o activación mecanoquímica.

Entre los métodos químicos se encuentran el método coloidal, la reducción fotoquímica y radiolítica, la irradiación con microondas, la utilización de dendrímeros, la síntesis solvotermal y el método sol-gel [1].

La síntesis de nanopartículas metálicas también adquiere gran interés debido a sus propiedades ópticas, eléctricas y sus prometedoras aplicaciones en dispersión Raman, la cual es una técnica no destructiva y versátil que permite obtener resultados reproducibles con rapidez y con buena precisión. Junto con las capacidades únicas de los materiales nanoestructurados, en especial las referentes a su interacción con moléculas orgánicas, la convierten en una técnica altamente sensible (SERS).

# Capítulo 1

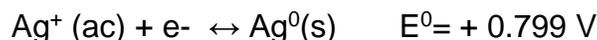
# Antecedentes

## 1.1 Plata. Propiedades físicas y químicas

La plata (Ag) es un elemento metálico de transición en la tabla periódica (número atómico 47), de color blanco, brillante y blando, que conduce muy bien el calor y la electricidad.

La plata natural se compone de dos isótopos estables Ag-107 y Ag-109, siendo el primero ligeramente más abundante (51,839%) que el segundo. Se han caracterizado veintiocho radioisótopos de los cuales los más estables son la Ag-105, Ag-111 y Ag-112, con periodos de semidesintegración de 41.29 días, 7.45 días y 3.13 horas respectivamente. Los demás isótopos tienen periodos de semidesintegración más cortos que una hora, y la mayoría menores que tres minutos [2].

Químicamente la plata no es muy reactiva, por lo que es estable en aire seco a temperatura ambiente, es insoluble en casi todos los ácidos y bases diluidos, pero se disuelve en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado o HNO<sub>3</sub> (diluido y concentrado). A temperaturas ordinarias no reacciona con O<sub>2</sub> o H<sub>2</sub>O. En casi todos los compuestos simples que forma la plata, el metal tiene un número de oxidación de + 1, siendo el AgNO<sub>3</sub> el compuesto más importante. No se oxida fácilmente, el valor de su potencial estándar de reducción en H<sub>2</sub>O con respecto al electrodo normal de hidrogeno (ENH) es:

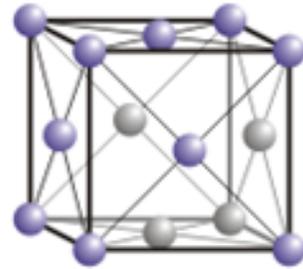


-Datos cristalográficos:

Presenta una estructura cristalina cubica centrada en las caras, las dimensiones de la celda unidad/pm es  $a=408.626$ .

El grupo espacial es  $Fm\bar{3}m$ .

Tiene una electronegatividad de 1.93 (Pauling). Su punto de fusión es de  $961.8\text{ }^{\circ}\text{C}$



La  $\text{Ag}^{\circ}$  coloidal con estructura esférica presenta una banda de resonancia plasmónica en  $420\text{ nm}$ .

## 1.2 Teoría de bandas

Cuando un sólido se forma (en los que el número de átomos que participan es cercano a  $N= 10^{23}$ ), también se forman una cantidad enorme de orbitales moleculares [2] [3] enlazantes con energías muy próximas entre sí. Estos orbitales, al encontrarse tan cercanos, dejan de presentar estados con energías discretas para dar lugar a *bandas de energía*

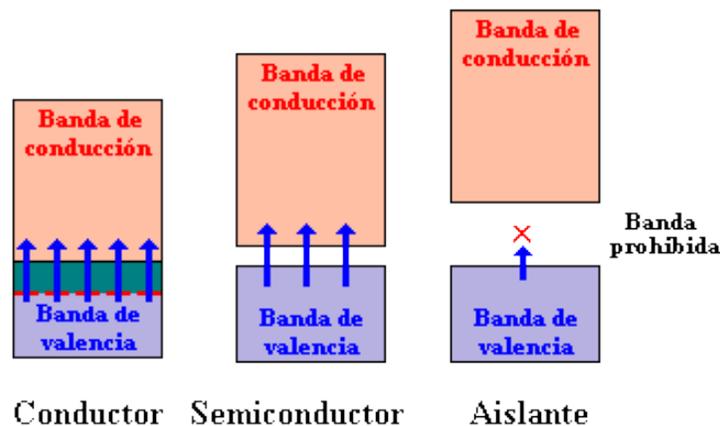


Fig. 1.1 Conductor, semiconductor y aislante, según la teoría de bandas.

Los niveles de energía de los átomos se ensanchan y forman bandas con gaps (zonas) prohibidas entre ellos (Fig. 1.1), los electrones pueden tener valores de energía correspondientes a una de las bandas, pero no pueden poseer energías correspondientes a los gaps que hay entre las bandas. Las bandas de menor energía, debida a los niveles atómicos internos, son más estrechos y están llenas de electrones, por lo que no pueden contribuir a las propiedades electrónicas de un material; los electrones externos o de valencia, que mantienen a los átomos del cristal enlazados entre sí, ocupan lo que se llama la *banda de valencia* [3].

En un material aislante la banda de valencia está llena de electrones los cuales no se pueden mover porque se encuentran en posiciones de los enlaces químicos. La banda de conducción en cambio, se encuentra muy por encima de la banda de valencia, de manera que no es térmicamente accesible y se mantiene esencialmente vacía.

En el caso de un semiconductor, el gap entre las bandas de conducción y de valencia es mucho menor. El contenido calórico del material a temperatura ambiente puede provocar la excitación térmica de algunos electrones desde la banda de valencia hasta la banda de conducción, donde llevan la corriente. La densidad de electrones que alcanza la banda de conducción por este proceso de excitación térmica es relativamente baja, pero nada despreciable, de manera que la conductividad eléctrica es baja, y de ahí el término de *semiconductor*.

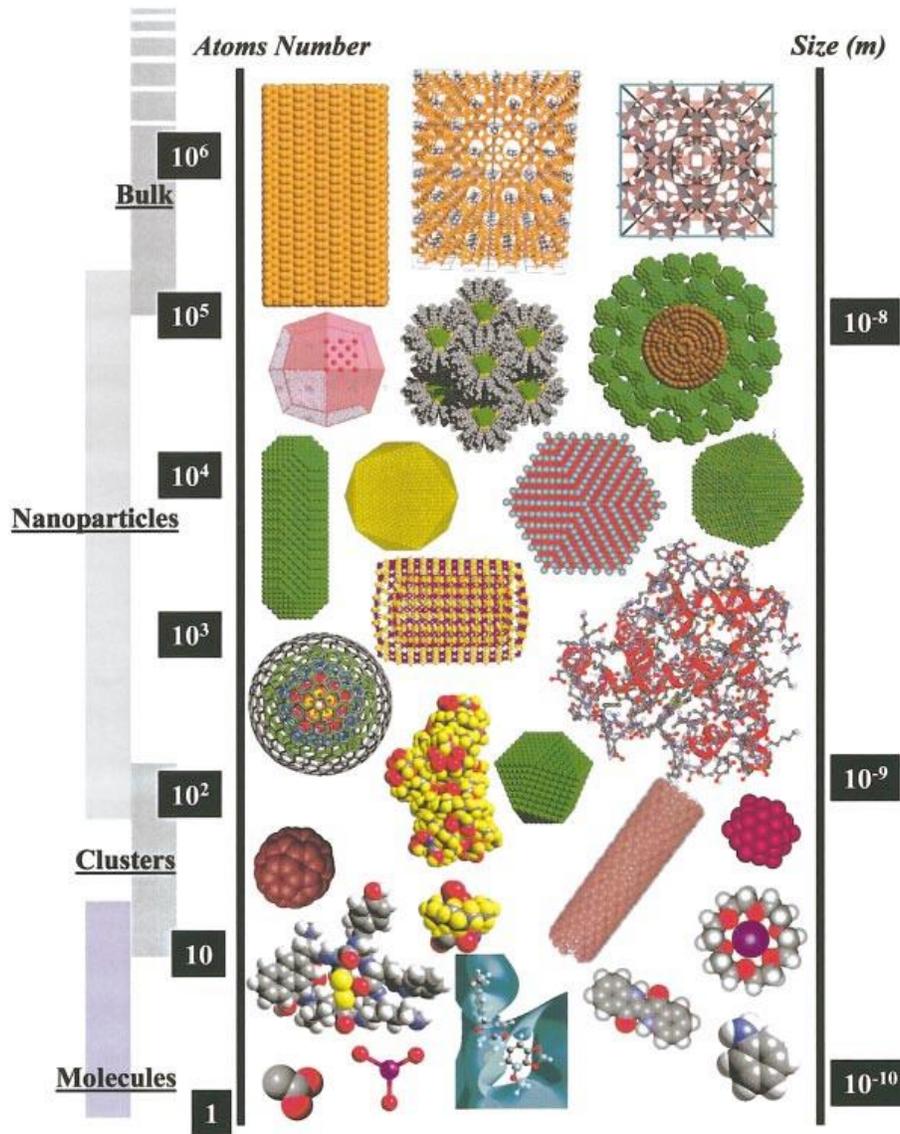
Un material conductor es aquel con la banda de valencia llena y una banda de conducción parcialmente llena de electrones conductores deslocalizados, que son eficientes para conducir la corriente eléctrica [4].

### **1.3 Sistemas nanoestructurados**

El estudio documentado de este tipo de sistemas inició con M. Faraday a mediados del siglo XIX, cuando descubrió que el color de los “soles de oro” estaba relacionado al tamaño de las partículas. Se propone el año 1959, a partir de una conferencia de R. Feynman, como el momento en que dio inicio el desarrollo de la nanotecnología; en esta conferencia se habló sobre las consecuencias de la creación de dispositivos electrónicos a escala atómica. También es importante mencionar los estudios de M. Gratzel [5] y colaboradores en 1982, en los que trabajaron con dispersiones coloidales metálicas para catalizar el proceso fotolítico del agua, en disoluciones microheterogéneas.

De la palabra Nanociencia, nano significa una milmillonésima ( $1 \times 10^{-9}$ ), y se puede definir a la nanociencia como el estudio de los sistemas con dimensiones

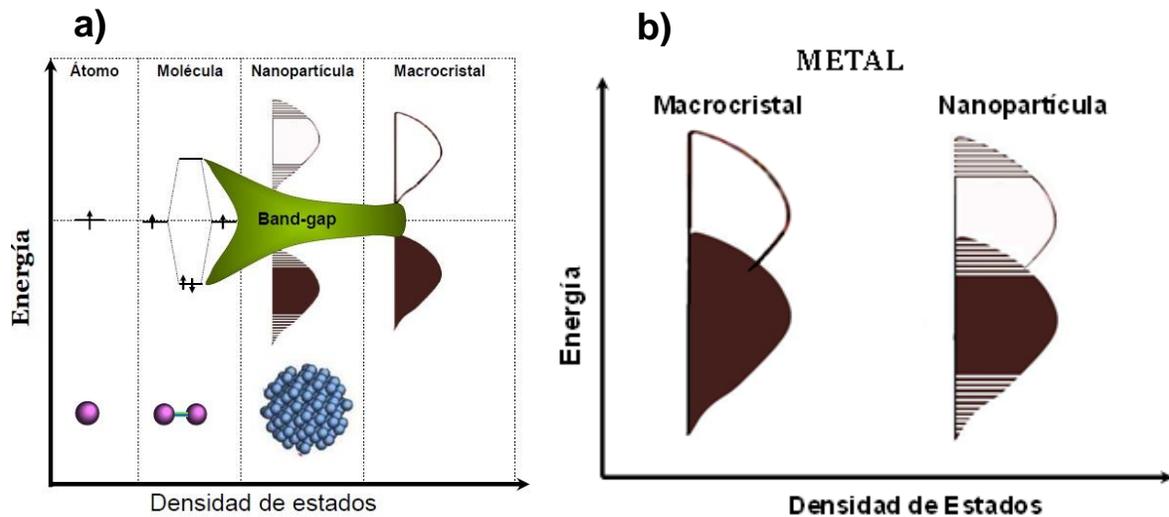
del orden de una millonésima parte de metro. Además, las nanopartículas (creadas a partir de la manipulación de la materia), son unidades más grandes que los átomos y las moléculas pero menores que 100 nm, tienen como rasgo común una muy débil masa a nivel de moléculas o átomos [4]. Debido a que contienen  $10^4$  átomos o menos, sus propiedades difieren de aquellas que tienen los mismos átomos enlazados entre sí pero para formar materiales voluminosos (Fig. 1.2).



**Fig. 1.2** Diagrama en el que se compara el tamaño entre átomos, moléculas, nanopartículas y macro cristales [6]

### **1.3.1 Implicaciones de disminuir el tamaño de un material**

Lo que hace a las nanopartículas muy interesantes y las dota de sus propiedades únicas es que su tamaño es menor que las longitudes críticas que caracterizan a muchos fenómenos físicos; normalmente, las propiedades físicas de los materiales se caracterizan por cierta longitud crítica, una longitud de difusión térmica o por una longitud de dispersión. Al tener un orden de magnitud nanométrico, el número de estados que participan, (con base en la Teoría de Bandas) se reduce según el número de átomos que intervienen en la formación de las nanopartículas. El reducir el número de estados con la formación de las nanopartículas da lugar a un estado intermedio entre los macro cristales y las moléculas, es un estado intermedio porque no se observa una banda continua como en los sólidos cristalinos y tampoco estados discretos como en las moléculas. En consecuencia, a medida que se reduce el número de estados, la banda gap (brecha de energías prohibidas) sufre un ensanchamiento (Fig. 1.3), esto explica porque al disminuir el tamaño de un material los bordes de absorción electrónica se recorren hacia mayores energías. Este comportamiento da lugar a un número considerable de efectos únicos en los materiales con dimensiones pequeñas. Entre estos efectos está el de los plasmones, nombre que reciben las oscilaciones colectivas de los electrones libres existentes en metales, las cuales llevan asociadas energías discretas de manera tal que las transiciones electrónicas entre las mismas dan lugar a la extinción (absorción + difusión) de una parte de la luz incidente, dando lugar a un efecto de coloración en estos sistemas. Cuando las partículas metálicas son de pequeño tamaño, en relación con la longitud de onda, la absorción predomina sobre la difusión, pero para partículas grandes la difusión determina en gran medida el color de la suspensión. La energía de los plasmones depende de la naturaleza del metal así como de la morfología y tamaño de las partículas implicadas [5].



**Fig. 1.3 a) Esquema que muestra la diferencia, de acuerdo a la teoría de bandas, en la densidad de estados energéticos entre átomos, moléculas, nanopartículas y macrocristales. d) El diagrama muestra el caso de metales.**

### 1.3.2 Relación superficie/volumen

La relación superficie-volumen a veces escrita como  $sa/vol$  o  $SA:V$ , es el cociente entre el área superficial de un objeto y el volumen de dicho objeto. La relación  $sa/vol$  se expresa en unidades de la inversa de la unidad de distancia.

Para entender esta relación, y explicar cómo influye el tamaño del material en ella, se hará uso de un ejemplo sencillo:

Supongamos que tenemos un cubo de un centímetro de lado; el área superficial de un poliedro se determina midiendo el área de los cuadrados que componen cada una de sus caras y multiplicándolo por la cantidad de caras que tiene, en este caso 6.

Un cubo de un centímetro de lado tendría  $1 \times 1 \times 6 = 6$  centímetros cuadrados de área superficial, el volumen del mismo cubo sería el resultado de multiplicar la longitud de cada uno de sus lados, por el número de "ejes dimensionales", en nuestro universo, tres; así que su volumen sería de  $1 \times 1 \times 1 = 1$  centímetro cúbico. La relación superficie/volumen sería de  $6/1=6$ .

Tomamos ahora un cubo de diez centímetros de lado, el área superficial sería de  $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm} \times 6 \text{ caras} = 600$  centímetros cuadrados; sin embargo el volumen de

este cubo sería de  $10 \times 10 \times 10 = 1000$  centímetros cúbicos. Su relación superficie/volumen sería de 0.6, esta diferencia de relación entre superficie y volumen hace a ambos cubos muy diferentes.

Como se nota en el ejemplo anterior, a medida que se disminuya el tamaño de un material, la relación superficie/volumen aumentará. Pensemos ahora en el caso de las estructuras nanométricas, éstas al ser muy pequeñas su relación S/V es considerablemente grande.

Esta relación es tal que, por debajo de determinado tamaño la mayor parte de los átomos que conforman el nano cristal se encuentra en la superficie.

Es decir que en un nanocristal, sus propiedades superficiales están prácticamente regidas por los mismos átomos que lo conforman [5] [7].

## 1.4 Coloides

El término “coloide” lo introdujo por primera vez Thomas Graham, en 1861, para describir a ciertas soluciones que presentaban velocidades de difusión muy lenta y/o incapacidad para atravesar una membrana semipermeable.

Se pueden definir como aquellos sistemas en los que un componente se encuentra disperso en otro, siendo las partículas dispersas mucho mayores que las moléculas del disolvente. El tamaño de estas partículas dispersas se encuentran entre  $1 \text{ nm}$  ( $10^{-9} \text{ m}$ ) y  $1 \mu\text{m}$  ( $10^{-6} \text{ m}$ ) [8].

Las soluciones coloidales se clasifican de acuerdo con las características de la fase dispersa o discontinua y de la fase dispersante o continua; una solución coloidal en que la fase dispersa es un sólido se llama suspensoide o gel y si la fase dispersa es un líquido se llama emulsoide o sol [5].

### 1.4.1 Estabilidad de las dispersiones coloidales

Un aspecto crucial en la química coloidal es el hecho de la estabilización de las partículas metálicas en el medio de dispersión.

Las partículas en disolución se encuentran sometidas a interacciones entre ellas [8], del tipo atractiva o repulsiva; las cuales se relacionan de la siguiente manera:

$$V_{total} = \sum V_A + \sum V_R \quad (1.1)$$

Donde  $V_A$  y  $V_R$  son las energías potenciales de atracción y repulsión respectivamente,  $V_A$  disminuye aproximadamente con el cuadrado de la distancia que separa las partículas y  $V_R$  disminuye exponencialmente con la distancia [9].

Una teoría que permite predecir cualitativamente esta interacción es conocida como DLVO (en honor a sus autores, Derjaguin y Landau por su lado en la URSS, y Verwey y Overbeek en Holanda), las características de esta teoría se resumen en la figura 1. 4

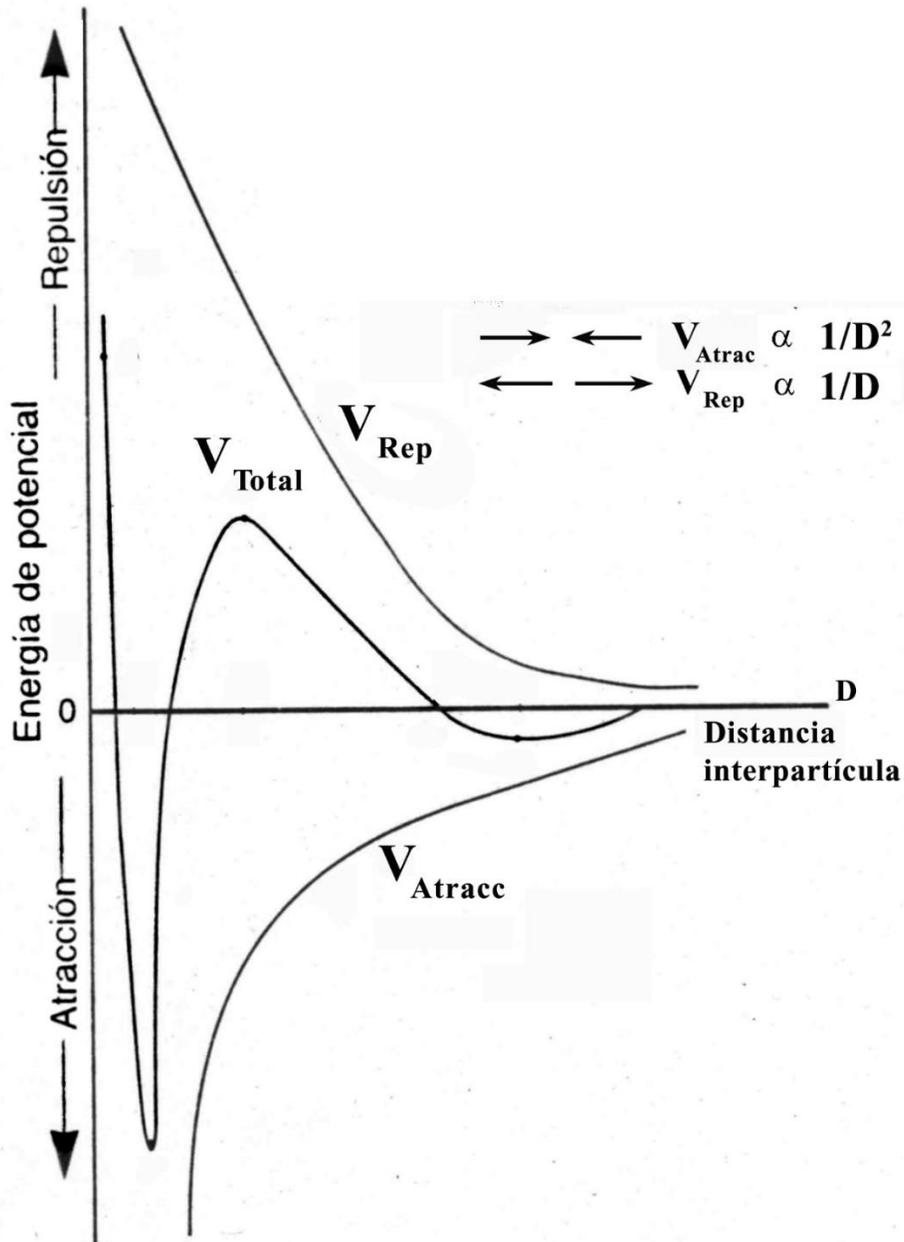


Figura 1.4 Energías de atracción y repulsión según la teoría DLVO.

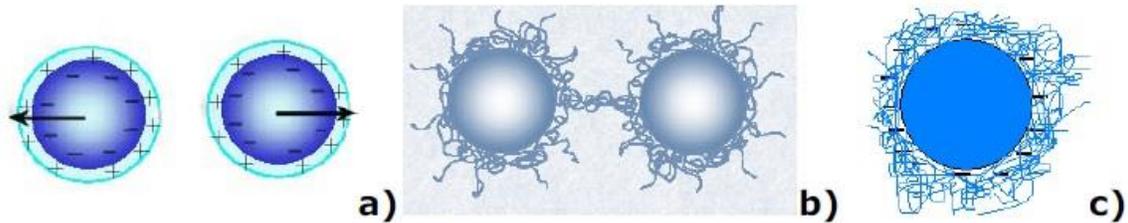
En general  $V_A$  depende del tamaño, forma y naturaleza química de las partículas en suspensión; por otro lado las fuerzas de repulsión dependen de la densidad de carga en la superficie de la partícula. Observando la figura 1.3, se nota que las fuerzas de atracción predominan cuando la  $V_{TOTAL}$  es negativa y en el caso contrario predominan las fuerzas de repulsión; entonces si se desea estabilizar una dispersión coloidal se deben hacer prevalecer las fuerzas repulsivas [10].

Químicamente hablando, las fuerzas atractivas son denominadas fuerzas de Van der Waals, y las fuerzas de repulsión pueden ser electrostáticas y estéricas. Las fuerzas de Van der Waals que actúan entre partículas coloidales son del mismo tipo que las que actúan entre átomos, moléculas o iones, pero debido a la gran cantidad de moléculas que contiene cada partícula, son de mayor magnitud y suelen actuar a distancias más largas (en promedio la distancia equivale a tener una partícula cada 100 nm). Engloban tres componentes: interacción dipolo-dipolo o de Keeson, interacción dipolo-dipolo inducido o de Debye, e interacciones debidas a fluctuaciones en la distribución de densidad electrónica o de London [9].

La fuerza electrostática se basa en la repulsión coulombica, esto se debe a que las nanopartículas metálicas presentan una interfase con cargas positivas debidas a un defecto de electrones en los átomos de la superficie que pasan al medio que las circunda; esta carga es neutralizada por iones negativos, normalmente procedentes de las sales empleadas en la preparación del coloide, se forma entonces una doble capa eléctrica que da lugar a la llamada capa de Stern, integrada por iones rígidamente unidos a la superficie del metal, después se encuentra la capa de difusión en la que los iones presentan una mayor movilidad. Como consecuencia de la distribución de cargas positivas y negativas sobre la superficie, la partícula metálica presenta una carga neta negativa, y la carga residual del metal en su superficie es una propiedad importante que asegura la estabilidad de las partículas metálicas en suspensión.

Cuando dos partículas coloidales con carga superficial neta se aproximan entre sí, provocan una superposición de las partes difusas de sus correspondientes dobles capas eléctricas y dan lugar a fuerzas electrostáticas repulsivas [8] [9].

Las partículas dispersas en medios polares generalmente presentan carga, dado que la dispersión como un todo debe de permanecer neutra pequeños iones con carga opuesta se acumulan alrededor de las partículas formando una doble capa más o menos difusa.



**Fig. 1.4 a) Repulsión eléctrica, b) Repulsión estérica y c) Repulsión electro estérica**

Así, la doble capa provoca una repulsión cuando se aproxima una segunda partícula (con su correspondiente doble capa eléctrica), actuando de este modo como un escudo que evita la coagulación [8].

La repulsión estérica se produce cuando se aproximan partículas que poseen una barrera física a su alrededor, esta barrera está constituida por una capa de macromoléculas adsorbidas en la superficie, generalmente (aunque no necesariamente) no iónicas. Cuanto mayor sea el espesor de esta capa y la distancia entre las partículas, mayor será la estabilidad de la dispersión.

Se pueden distinguir dos tipos de moléculas estabilizantes, en el primer tipo se incluyen polímeros de alto peso molecular (un ejemplo es el PVP), con una energía de adsorción por monómero pequeña pero finita; la adsorción tiene lugar en este caso mediante una configuración basada en ramificaciones orientadas hacia la disolución y colas en los extremos de la molécula que se pueden unir bastante lejos de la superficie. El segundo tipo lo constituyen macromoléculas de peso molecular relativamente bajo con un grupo de anclaje que se adsorbe con facilidad y una cola compatible con el disolvente (surfactantes) [9].

## 1.5 Espectroscopía UV-Visible

La espectroscopia UV-Visible es una técnica analítica no destructiva. Con ésta se puede obtener información cualitativa y cuantitativa de especies moleculares o

atómicas. Utiliza radiación electromagnética de las regiones UV (200 – 400 nm), visible (400 – 750 nm) e infrarrojo (750 – 1100 nm)

Experimentalmente ésta técnica irradia una muestra provocando transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas, es decir, excita a los electrones externos de la capa de valencia y los promueve a un estado de mayor energía [11].

En un espectrómetro UV- Vis, la luz es emitida por una fuente adecuada (usualmente se usan arcos de Deuterio o filamentos de tungsteno, también se usan arcos de xenón, los cuales abarcan la región desde los 175 nm hasta los 1000 nm). Esta luz es enviada sobre la muestra (la cual está sostenida sobre una base de cuarzo la mayoría de las veces), para después pasar al detector (un fotomultiplicador o un diodo de silicón).

La cuantificación de los datos por esta técnica es gracias a la ley de Lambert – Beer. Esta ley propone que la absorbancia de una muestra a determinada longitud de onda depende de la cantidad de especie absorbente con la que se encuentra la luz al pasar por la muestra. Es decir, esta ley demuestra que hay una relación exponencial entre la transmisión de luz a través de una sustancia y la concentración de la sustancia, así como también entre la transmisión y la longitud del cuerpo que la luz atraviesa.

Las transiciones electrónicas son presentadas en forma de bandas, cuyas principales características son: la posición, la intensidad y la anchura [11].

### **1.5.1 Plasmones de superficie en nanopartículas metálicas**

Se define plasmón de superficie localizado a las oscilaciones colectivas de electrones restringidos en pequeños volúmenes metálicos, para que este fenómeno ocurra, la partícula tiene que ser mucho menor que la longitud de onda de la luz incidente; el campo eléctrico oscilante de la luz incidente induce un dipolo eléctrico en la partícula desplazando a una parte de los electrones móviles deslocalizados en una dirección lejos del resto de la partícula metálica, generando así una carga neta negativa en un lado de la partícula. Como el resto de los núcleos y sus electrones internos no se han desplazado, constituyen una carga opuesta positiva (red catiónica) [12].

Esta separación de cargas actuará como una fuerza restauradora del equilibrio, en partículas pequeñas (esferas en su mayoría) se produce un dipolo, pero en partículas grandes (a partir de 30 nm y con geometrías que pueden ir desde figuras planas, como triángulos, hasta cubos e, inclusive, icosaedros) se produce

un cuadrupolo y en general multipolos, lo que determina una situación bastante compleja [12].

La energía de la luz para producir la banda de plasmón en una nanopartícula metálica depende de diversos factores: naturaleza del metal, tamaño y forma de la partícula y composición del medio circundante de la misma. La interacción de la luz con partículas esféricas coloidales queda bien descrita por la teoría de Mie basada en la solución exacta de las ecuaciones de Maxwell, esta teoría predice correctamente qué fracción de luz será absorbida y qué fracción será dispersada, y la suma de estas fracciones es la extinción de la luz debido a las partículas. Así, para partículas menores a 20 nm casi toda la extinción es por absorción, mientras que para partículas grandes la extinción es casi solo por dispersión [13] [14].

Cuando la partícula es mucho más pequeña que la longitud de onda de la radiación incidente puede considerarse que el campo eléctrico dentro de la partícula es virtualmente constante. En las partículas relativamente grandes aparecen efectos importantes de distorsión en la amplitud y la fase del campo electromagnético al atravesar la nanopartícula (efectos de retardo) [15], la consecuencia directa es que partículas más grandes conllevan que la longitud de onda de resonancia de plasmón sea también mayor [15].

Otra consecuencia del aumento del tamaño de la partícula, y por lo tanto en su interior el campo eléctrico ya no resulta constante, es la disminución en la densidad real o efectiva de los portadores de carga en la superficie de la partícula, lo que inmediatamente se traduce en un desplazamiento al rojo de la banda de plasmón junto con un ensanchamiento de la misma [16].

Estos cambios están fuertemente inducidos por especies adsorbidas (donadores o aceptores de electrones) en las partículas, de ahí su enorme influencia en la posición de la banda, y lo mismo cabe decir para el disolvente; se puede afirmar entonces, que la estructura de la doble capa eléctrica alrededor de la nanopartícula tiene un potente efecto sobre la banda de plasmón. Por último, si el crecimiento de la partícula lleva además aparejado cambios en su forma (por ejemplo desde esferas a elipsoides), el plasmón estará formado por más de una banda [16].

## **1.6 Colorimetría.**

La colorimetría, es la técnica de la medición del color, abarca sólo una parte de la ciencia del color, que consiste en todo el conocimiento relacionado con la producción de estímulos de color y la percepción de ellos. El color de un objeto se

define de acuerdo a las características de la luz con la que se le está observando. Los objetos son visibles sólo porque la luz reflejada por ellos entra a nuestros ojos. Sin luz, nada puede ser visto y en particular el color no puede ser percibido si no hay luz.

Estrictamente hablando, el color no puede ser medido, ya que es una sensación subjetiva percibida por un observador; lo que se puede hacer es describir el color en términos idealizados y estandarizados, usando números que puedan ser correlacionados con imágenes visuales. Al escoger o usar números para describir el color se pueden definir completamente las condiciones de observación (ambiente, iluminación) [17].

Se dice que la descripción de color es tridimensional, es decir que se necesitan tres variables para describir completamente un color.

Las variables son las siguientes:

- TONO (Hue):**Es la cualidad por medio de la cual se distingue el amarillo del rojo, el azul del verde, el violeta del rojo. También nos indica la relación que tiene con respecto a otros colores como amarillo-verdoso, verde-azuloso; además fija la posición del color en el espectro.

- SATURACIÓN (Saturation):**Es la cualidad por medio de la cual se distinguen los colores fuertes o vivos de los débiles o pálidos. Describe la pureza de un color, si el color es un tono pálido la saturación será muy baja, en cambio un tono fuerte tendrá una saturación alta; es la medida de la intensidad del color.

- CLARIDAD (lightness):**Es la cualidad por medio de la cual se distinguen los colores claros de los oscuros. Indica lo claro u oscuro de un color, así, los colores claros tienen una claridad muy alta y los colores oscuros muy baja. Algunas veces se usan las palabras brillantez o luminosidad como sinónimo de claridad [17]

### 1.6.1 Diagrama de cromaticidad

En 1931 la CIE (Comisión Internacional de la Iluminación) creó el sistema XYZ, también conocido como valores triestímulo XYZ del espectro, los cuales nos indican:

- X= la cantidad del rojo primario necesario para igualar un espectro.

- Y= la cantidad del verde primario necesario para igualar un espectro, pero también nos determina la luminosidad total de la luz del espectro a igualar.

- Z= la cantidad del azul primario necesario para igualar el espectro.

Los valores X,Y y Z realmente no especifican el color de un espectro dado, por lo que fue necesario establecer Ecuaciones de Color, llamadas también *Espacios de Color* [17].

### 1.6.2 Espacios de color

Un espacio de color, actualmente es un modelo tridimensional, en el cual las muestras coloreadas o evaluadas son localizadas. Una vez que las muestras son localizadas en cualquiera de los espacios de color conocidos, la diferencia de color o la distancia entre las dos muestras puede ser calculada.

Estas diferencias de color de una muestra con respecto al estándar son llamadas Deltas (pueden ser positivas o negativas).

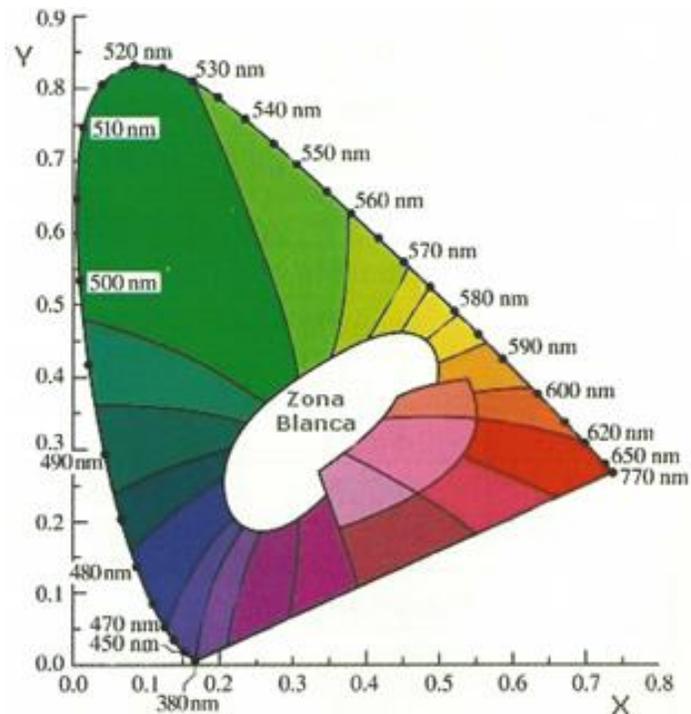
Dentro de los más conocidos están los siguientes:

- Yxy.
- CIEL\*a\*b\*.
- L\*C\*h.L\*u\*v\*.

Para el caso de esta tesis, se usó el espacio de color Yxy, esto porque, además de ser de los más empleados, también presenta un diagrama de cromaticidad que se puede manipular en dos dimensiones [17].

### 1.6.3 Espacio de Color Yxy

En este espacio de color bidimensional, su luminosidad (claridad) es independiente, y surgió debido a que los valores triestímulo no definían claramente un color. En el espacio de color Yxy, la Y nos determina la claridad, mientras que x y y son las coordenadas cromáticas que describen la ubicación del color en el diagrama de cromaticidad de la CIE. En este diagrama (Fig. 1.4) los colores acromáticos (sin color) se dirigen hacia el centro, mientras que los colores cromáticos llevan la dirección hacia el borde del diagrama, los cuales corresponden a los colores puros del espectro visible. Para el valor de Y, este se ubica en el eje z, y a medida que el valor de Y aumenta ( $\geq 50$ ) se trata de colores de alta claridad, y cuando disminuye ( $\leq 50$ ) son colores con baja claridad [17].



**Fig. 1.4 Diagrama de cromaticidad de la CIE. Se pueden asignar colores aproximados a áreas del diagrama, éstas son categorías aproximadas y no deben tomarse como afirmaciones precisas de color.**

### 1.7 Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

Esta técnica, esencialmente consiste en hacer incidir a la muestra un haz de electrones. El haz de electrones es producido por emisión térmica desde un cátodo de tungsteno y es acelerado hacia el ánodo, una vez ahí es enfocado por un lente el cual lo envía hacia la muestra que se encuentra montada en una rejilla. Este bombardeo de electrones provoca la aparición de diferentes señales que, captadas con los detectores adecuados, proporciona información acerca de la naturaleza de la muestra.

La señal de electrones secundarios proporciona una imagen de la morfología superficial de la muestra (se considera un electrón secundario aquel que emerge de la superficie de la muestra con una energía inferior a 50 eV).

La señal de retro dispersados muestra una imagen cualitativa de zonas con distinto número atómico medio, esta señal está compuesta por aquellos electrones que emergen de la muestra con una energía superior a 50 eV; estos electrones proceden en su mayoría del haz incidente que rebota en el material después de diferentes interacciones. La intensidad de la señal de retrodispersados, para una

energía dada del haz, depende del número atómico del material (a mayor número atómico mayor intensidad). Este hecho permite distinguir fases de un material de diferente composición química. Las zonas con menor Z se verán más oscuras que las zonas que tienen mayor número atómico.

La señal de rayos X proporciona espectros e imágenes acerca de la composición de elementos químicos en la muestra.

# Capítulo 2

## Espectroscopia Raman y efecto SERS

### 2.1 Espectroscopia Raman

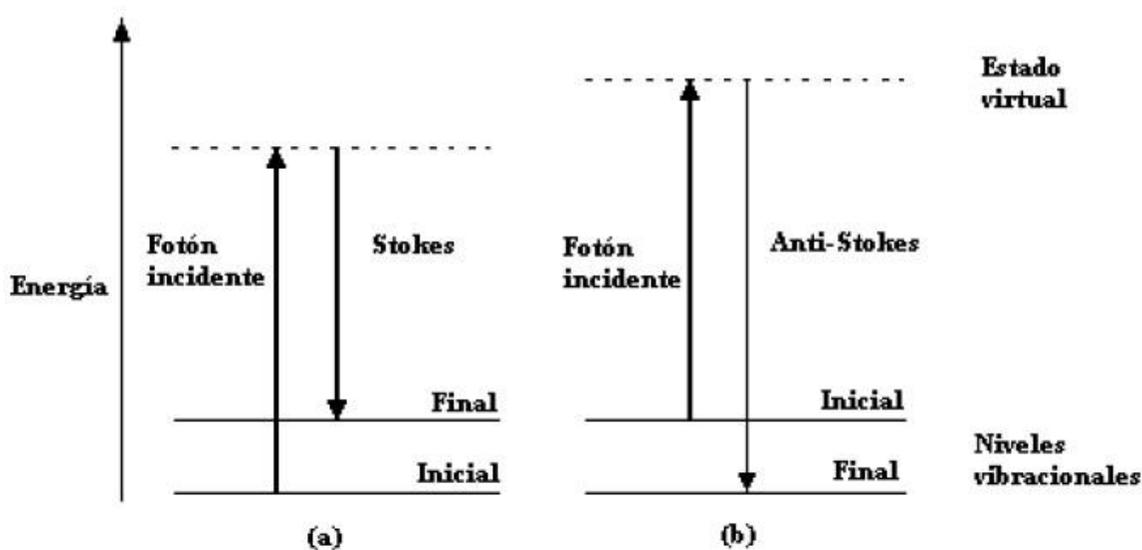
La espectroscopia Raman es una técnica de caracterización que consiste en la incidencia de un haz de luz monocromática de frecuencia  $\nu_0$  sobre una muestra de estudio, al momento en que la luz monocromática entra en contacto con el analito se observan dos tipos de dispersiones, una dispersión elástica y otra inelástica [1].

La dispersión elástica, denominada comúnmente efecto Rayleigh, tiene lugar cuando los fotones esparcidos tienen la misma energía (frecuencia) y longitud de onda que los fotones incidentes. A la par del efecto Rayleigh, hay una pequeña porción de luz que si cambia de frecuencia (aproximadamente 1 fotón dispersado por cada  $10^7$  incidentes), este cambio de frecuencia, debido al esparcimiento inelástico con la muestra de estudio, es conocido como efecto Raman [1].

Dentro del efecto Raman, existen otros dos tipos de dispersiones:

La primera (dispersión Raman Stokes) ocurre cuando el fotón incidente transfiere energía a la muestra, esto hace que el fotón dispersado presente una frecuencia menor a la inicial ( $\nu - \nu_i$ ). La segunda dispersión, denominada Raman Anti-Stokes, ocurre cuando la muestra es la que le transfiere energía al fotón incidente, haciendo que el fotón dispersado tenga una frecuencia mayor a la inicial ( $\nu + \nu_i$ ).

Esta diferencia de energía entre el fotón incidente y el fotón Raman esparcido es igual a la energía de la vibración de un enlace de la molécula en estudio, más específicamente la polarización de la nube electrónica de la muestra.



**Fig. 2.1 Diagrama de niveles de energía para el esparcimiento Raman. a) esparcimiento Raman Stokes y b) esparcimiento Raman anti - Stokes**

La polarizabilidad es una medida de la facilidad con la cual pueden distorsionarse las nubes de electrones que están alrededor de los átomos de una molécula; en consecuencia, los átomos más pesados que tienen nubes electrónicas más grandes presentarán una mayor polarizabilidad individual. La polarizabilidad electrónica ( $\alpha$ ) queda definida como la razón del momento dipolar inducido ( $\vec{P}$ ) de un átomo al campo eléctrico ( $\vec{E}$ ) que produce dicho momento dipolar:

$$\alpha = \frac{\vec{P}}{\vec{E}} \quad (2.1)$$

De esta manera se induce un dipolo oscilante en el momento en que la molécula interactúa con el campo eléctrico de un haz incidente de radiación electromagnética (el haz láser). Cada muestra dispersa la luz incidente de una manera única, esto es debido a que cada material al tener una estructura y enlaces químicos únicos, posee en consecuencia un conjunto de valores de  $\nu$  propios y así, el cambio en la longitud de onda que se genera en los fotones

proporciona información sobre el movimiento rotacional y vibracional de las moléculas que constituyen la muestra [1].

En un espectro Raman se representa la intensidad óptica dispersada en función del número de onda normalizado ( $u$ ) al que se produce, este número de onda normalizado es una magnitud proporcional a la frecuencia e inversamente proporcional a la longitud de onda (expresada en  $\text{cm}^{-1}$ ).

$$u = \nu/c = 1/\lambda$$

Así, en el eje de las abscisas aparece la diferencia entre la frecuencia Raman y la excitación del láser, normalizada respecto a la velocidad de la luz:

$$u = (\nu - \nu_i) / c$$

En el eje de las ordenadas se mide la intensidad Raman, es la dispersión correspondiente a la dispersión Stokes.

Esta técnica ha demostrado ser una excelente herramienta no destructiva, no sólo para propósitos cualitativos, sino también para el análisis cuantitativo. La aplicación de la espectroscopia Raman para el análisis cuantitativo tiene un gran número de ventajas. La ventaja más importante es la flexibilidad de muestreos ya que los espectros Raman de soluciones acuosas se obtienen fácilmente y pueden ser analizados con poca o ninguna preparación de la muestra, en sólidos o residuos. El perfil general del espectro (posición máxima y la intensidad de la banda) proporciona una huella química única que puede utilizarse para identificar un material y distinguirlo de otros: además, la intensidad de un espectro es directamente proporcional a la concentración [1]

## 2.1 Instrumentación

El equipo de caracterización de espectroscopia Raman (fig. 2.2) normalmente de los siguientes componentes:

-Láser: es el encargado de la excitación de la muestra, está compuesto por un haz de luz monocromático y puede ser un láser continuo o pulsado (FT-Raman). Convencionalmente se utilizan láseres continuos con longitud de onda variable (desde infrarrojo a ultravioleta).

- Detector CCD (charge-coupled device): Físicamente se encuentra dentro del espectrómetro y se encarga de acumular la señal de las distintas longitudes de onda para enviarla al sistema informático.
- Equipo informático: compuesto por un ordenador y un software que transforma los datos provenientes del CCD en espectros.
- Fibra óptica: dispositivo en el cuál la luz monocromática viaja a la muestra y de la muestra al monocromador.
- Rejilla: Separa la luz proveniente del cabezal óptico en sus distintas longitudes de onda.
- Filtro Notch: Se encarga de guiar el haz laser hacia el objetivo del microscopio y elimina la luz debida al efecto Rayleigh.
- Objetivo: compuesto por una serie de lentes y filtros que se encargan de enfocar la luz sobre la muestra y recoger la dispersión Raman que esta devuelve.

Para realizar las medidas se manejan tres variables instrumentales:

- Tiempo de exposición: indica el tiempo en el que la muestra es irradiada por el láser, a mayor tiempo de exposición mayor intensidad de las bandas obtenidas.
- Intensidad de láser: podemos ajustar la intensidad del láser.
- Número de acumulaciones: indica el número de medidas que realiza el espectrómetro, a mayor número de acumulaciones menor ruido en el espectro Raman obtenido.

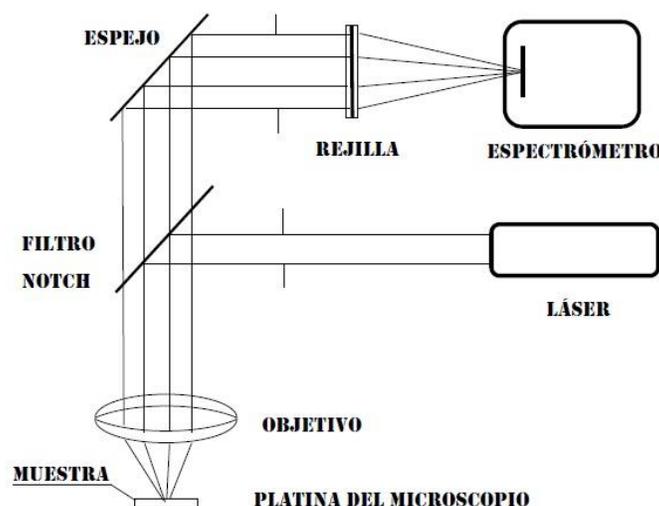


Fig. 2.2 Esquema de las partes que conforman un espectrómetro dispersivo Raman.

## 2.2 Efecto SERS

La espectroscopia Raman aumentada por la superficie (SERS) consiste en la amplificación de intensidades de señales Raman (del orden de entre  $10^5$  a  $10^{14}$  veces con respecto a las intensidades que se esperaría obtener). Para obtener SERS es necesario la interacción entre el analito y una superficie o partícula metálica: el analito se adsorbe en el metal [2].

El efecto SERS fue descubierto en 1974 por Fleischmann et al [3], quienes detectaron piridina adsorbida sobre un electrodo al que habían aplicado ciclos de óxido-reducción. La explicación que dieron al efecto observado fue: *la amplificación en la intensidad de la señal se debe a un aumento en el área superficial del electrodo, por lo tanto se adsorben un mayor número de moléculas, y por consiguiente la intensidad es debida a un mayor número de moléculas involucradas en el proceso.*

Es posible obtener efecto SERS de moléculas adsorbidas en superficies metálicas tales como oro, plata, cobre, aluminio y platino; siendo la plata el metal que produce un efecto más intenso

La mayor parte de los trabajos de investigación llevados a cabo para dilucidar la naturaleza de este fenómeno, conducen a la consideración de dos modelos fundamentales, basados ambos en la necesidad de la existencia de una superficie rugosa para que el efecto tenga lugar: a) el modelo electromagnético (EM), y b) el modelo químico o de transferencia de carga (TC). Todos los indicios experimentales hallados hasta la fecha, apuntan a considerar que ambos se dan simultáneamente [4] [6].

### 2.2.1 Modelo electromagnético

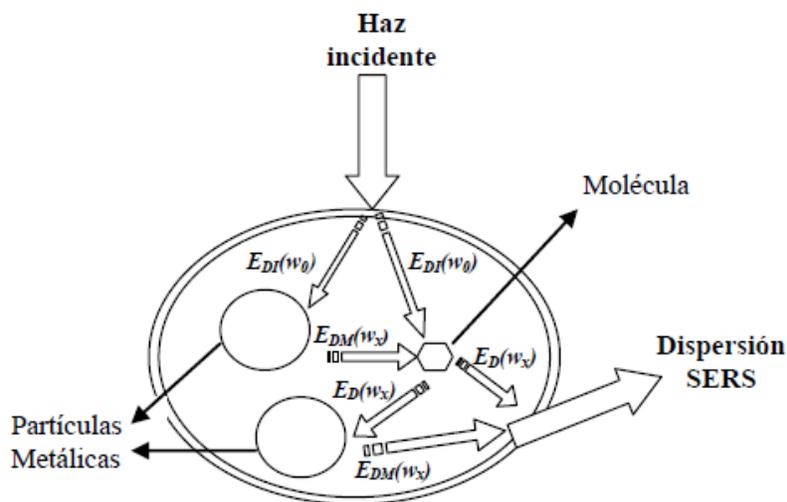
De estas dos contribuciones al efecto SERS, el mecanismo electromagnético depende de las propiedades ópticas del metal, a través de su constante dieléctrica, y de las características morfológicas de las correspondientes nanoestructuras [4].

Este modelo puede simplificarse considerando la intensificación de la señal Raman cuando una radiación de frecuencia  $\omega_0$  incide sobre una partícula esférica (o esferoidal) aislada. Es lo que se conoce como modelo de la esfera metálica y constituye la aproximación más simple al estudio teórico de estos sistemas. Según

este modelo, la polarizabilidad de la molécula no se ve afectada por la presencia del metal.

En la figura 2.3 se muestra de forma esquemática el fenómeno que tiene lugar en un proceso de dispersión Raman en presencia de estas partículas. Básicamente, la enorme intensificación que experimenta la radiación Raman se debe a dos procesos fundamentales: a) por una parte, se produce un considerable aumento de la intensidad del campo electromagnético incidente total que llega a la molécula, situada en posición  $r'$ ; ya que este campo está compuesto, no solamente de la radiación que incide directamente en la molécula,  $E_i(r', \omega_0)$ , sino también del campo que, a la misma frecuencia, es dispersado por el propio metal,  $E_{LM}(r', \omega_0)$  el cual fue descrito por Mie [4].

El campo dispersado por la partícula metálica resulta ser muchísimo más grande cuando la frecuencia  $\omega_0$  se hace coincidir con la frecuencia de resonancia de los plasmones superficiales del metal, es decir, de las oscilaciones de los electrones en el seno de la partícula metálica [4].



**Fig. 2.3 Esquema del proceso de dispersión Raman en presencia de partículas**

### 2.2.2 Modelo de Transferencia de carga o químico

Este modelo considera que el analito debe adsorberse directamente sobre el metal, con la posterior formación de un enlace químico entre ambos, esto supone

que debe existir una interacción que permita acoplamiento electrónico que den lugar a nuevos intermediarios por transferencia de carga [5].

Se ha definido que la distancia mínima necesaria para poder considerar un enlace químico entre la nanopartícula y el analito es de 5 nm, a esta distancia la molécula de estudio se puede beneficiar de los “enormes” campos electromagnéticos locales de la nanoestructura y que se produzca así el aumento de sensibilidad de las técnicas espectroscópicas. Aquí entra en juego la afinidad de las moléculas por los metales. Al respecto pueden definirse tres grupos de moléculas: a) moléculas con grupos funcionales que interactúan con el metal (por ejemplo, el grupo tiol tiene una gran afinidad por el oro y el grupo nitro por la plata); b) moléculas en las que la interacción con el metal es tan fuerte, que sufren un proceso de degradación al estar en contacto con el metal, como les ocurre a algunos polifenoles; y c) moléculas que no muestran afinidad alguna por los metales y que, por lo tanto, no se aproximan a las superficies metálicas nanoestructuradas.

Para explicar este fenómeno de transferencia de carga, se han desarrollado dos propuestas:

La primera (llamado mecanismo NR-CT), considera al metal y la molécula de estudio como especies diferenciadas; aquí el fotón incidente excita un electrón del metal y, si la energía de éste coincide con la diferencia de energía entre los estados fundamentales del adsorbato, se puede producir la transferencia de carga desde el metal a la molécula formándose así un anión transitorio. Cuando el electrón transferido finalmente retorna al metal, (por medio de un proceso inverso de transferencia electrónica), se lleva a cabo la emisión de fotones Raman [5].

Un segundo modelo es el mecanismo RR-CT. En este modelo si se considera al metal y a la molécula como un complejo único, por lo que aquí la transferencia de carga se atribuye a un proceso intramolecular; tratándose así de un proceso de redistribución más que de transferencia; en este proceso, el fotón de incidencia promueve un electrón (localizado preferentemente en el metal) hacia un estado excitado (sobre un orbital molecular del adsorbato), y cuando ocurre el proceso de relajación, un fotón Raman es emitido [6]

En aspectos generales, esta adsorción química sobre el metal puede ocasionar cambios importantes en el perfil de los espectros SERS, en relación con el espectro Raman; estos cambios consisten básicamente en: a) una modificación de las intensidades relativas de las bandas observadas; b) un desplazamiento de frecuencias de dichas bandas; c) la aparición de nuevas bandas; d) la desaparición de otras bandas; y e) el ensanchamiento de algunas de las bandas del espectro. El desplazamiento en frecuencia de las bandas de los espectros

SERS y la modificación de anchura de estas, con respecto a las equivalentes de los espectros Raman convencionales, son una consecuencia de la interacción química que tiene lugar entre el metal y el adsorbato. Generalmente, las bandas de los modos más directamente implicados en esta unión experimentan desplazamientos en frecuencia mayores y suelen presentar una mayor anchura también. Este ensanchamiento en el SERS se debe, posiblemente, a la heterogeneidad de la geometría de la superficie metálica, hecho este que da lugar a numerosos centros de adsorción distintos sobre dicha superficie [5].

Una de las características más importantes de los espectros SERS es la aparición de una nueva banda, en muchos casos de gran intensidad, correspondiente a la vibración de tensión del enlace que se establece entre el metal y la molécula adsorbida. Esta nueva banda suele aparecer en el intervalo de frecuencias 250-200  $\text{cm}^{-1}$ , dependiendo del átomo de la molécula implicado en esta interacción y de la fuerza con que se produce la unión de la molécula al metal; y suele presentar una gran anchura, lo que indica la existencia de muchos centros de unión sobre la superficie. La observación de esta banda en el espectro constituye una prueba inequívoca de la formación del complejo metal adsorbato [6].

Entre las nuevas bandas que aparecen en los espectros SERS destaca la debida a vibraciones  $\nu$  (metal-adsorbato); que, por la elevada masa de las especies implicada en esta tensión, aparece a bajas frecuencias. Otras bandas detectadas en estos espectros, cuando se emplean coloides metálicos como soportes, son las que aparecen a 914 y 800  $\text{cm}^{-1}$ , cuyo origen se debe a las especies iónicas procedentes de los compuestos de partida empleados en la obtención del coloide. Otro aspecto relevante durante el efecto SERS es la orientación espacial del adsorbato. El análisis de los espectros SERS ha permitido dilucidar con bastante certeza la orientación que la molécula adopta sobre las superficies empleadas y de la forma cómo se establece la interacción metal-adsorbato, cuando se estudia el efecto que ejercen, sobre esta orientación, diversos factores con la concentración del adsorbato, la presencia de aniones  $\text{Cl}^-$  en el medio, la modificación del pH o la variación de la longitud de onda de excitación [6].

### **2.2.3 Hot spots**

Fueron descritos por primera vez en 1997 en dos estudios independientes. Uno de ellos publicado por Nie and Emory [7] y otro por Kneipp y colaboradores [8].

Los llamados hot spots, son regiones muy bien definidas en las que se observa un campo local con un gran realce en la señal Raman. Se piensa que su existencia es debida a las excitaciones de las resonancias plasmónicas superficiales

localizadas (LSPR), estas últimas son oscilaciones electrónicas colectivas en resonancia con un campo electromagnético incidente a una dada frecuencia la cual es altamente sensible a la forma, tamaño y entorno dieléctrico en el que se encuentra la nanopartícula [9].

En sistemas de dos o más NPs, suficientemente cerca, se produce un acoplamiento de plasmones, lo que genera cambios significativos. En estos espacios intersticiales, en los que se forman los “puntos calientes”, el campo puede llegar a ser 10<sup>11</sup> veces más intenso, que el campo incidente, lo que permite hacer estudios a nivel de una molécula única [10].

De esta manera, la señal Raman observada en estos sitios se incrementa hasta 10<sup>15</sup> órdenes de magnitud; recuérdese que cuando se observa el efecto SERS, solo se han visto incrementos de hasta 10<sup>6</sup> órdenes de magnitud.

La forma más simple de generar estos hot spots es mediante agregación de NPs en soluciones coloidales con un estricto control de la geometría del nanoagregado (distancia interpartícula, número y morfología de las NPs individuales, entorno químico). Dentro de los métodos de ensamblado de NPs en dispersión coloidal, las biomoléculas poseen gran potencial para la funcionalización de nanomateriales y construcción de arquitecturas en la nanoescala, debido a sus propiedades únicas, tales como la especificidad, versatilidad y naturaleza polivalente [11] [12] [13].

## **2. 3 Aplicaciones de la espectroscopia Raman**

La espectroscopía Raman es una técnica espectroscópica empleada para el análisis cuantitativo de prácticamente cualquier material, ya sea orgánico o inorgánico. Sus principales ventajas radican en que no es necesaria ninguna preparación de la muestra a estudiar y que se trata de un proceso no destructivo.

Entre otras, esta técnica se usa en la caracterización de pigmentos, alótropos de carbono, fármacos, catalizadores, contaminantes ambientales, en aminoácidos y en vitaminas.

### **2.3.1 Pigmentos**

Se caracterizan pigmentos por su gran importancia en la restauración y conservación de obras de arte. En los últimos años, esta técnica ha cobrado relevancia ya que las técnicas actuales de análisis en el arte tales como la

cromatografía líquida (HPLC) o la espectroscopía UV-VIS son métodos destructivos que requieren cantidades de muestra relativamente grandes[14].

La principal ventaja que ofrece esta técnica es que permite realizar una identificación química de las diferentes zonas de una obra de arte de un modo no destructivo.

Una vez se ha realizado la medida se comparan los espectros obtenidos con una base de datos, obteniéndose así la información molecular y estructural deseada para cada uno de los componentes [15].

### **2.3.2 Alótropos de carbono**

La espectroscopía Raman ha resultado una técnica muy adecuada para caracterizar este tipo de materiales, pues es muy sensible a enlaces covalentes altamente simétricos con momento dipolar pequeño. Los enlaces C-C que componen los alótropos de carbono encajan perfectamente en este criterio, y es por eso que la espectroscopía Raman es capaz de proporcionar una gran cantidad de información sobre sus estructuras.

Aunque todos ellos, (diamante, grafito, grafeno, fullereno y nanotubos de carbono) estén compuestos totalmente por átomos de carbono, la orientación de sus enlaces es diferente en cada uno; es por ello que para caracterizar su estructura molecular se requiere una técnica que sea sensible a los cambios de orientación de los enlaces C-C [15].

### **2.3.3 Fármacos**

Para controlar de manera fiable la manufactura de fármacos, es necesario obtener información sobre las características tanto físicas como químicas de los mismos a través de todas las etapas de su producción. La espectroscopia sirve, en estos casos para determinar el contenido y pureza del fármaco, así como las posibles transiciones polimórficas que puedan ocurrir.

Incrementa enormemente su relevancia en procesos de control de calidad, ya que es posible realizar medidas sobre el producto listo para la venta, así como estudiar los efectos del almacenamiento tal y como se le distribuye al cliente [16].

### **2.3.4 Detección de contaminantes**

En este rubro, se aprovechan una vez más las nanoestructuras para poder detectar trazas de algunos contaminantes, que mediante técnicas convencionales muestran señales pobres o nulas.

Por ejemplo, en un estudio se caracterizó naftaleno adsorbido sobre una superficie rica en nanopartículas de plata. Como se sabe, este contaminante es producido, mayoritariamente por la quema de combustibles fósiles y es un contaminante muy presente en nuestra atmósfera [17].

### **2.3.5 Aminoácidos**

Los aminoácidos son las unidades químicas o elementos constitutivos de las proteínas que a diferencia de los demás nutrientes contienen nitrógeno. Son biomoléculas formadas por (C) Carbono, (H) Hidrogeno, (O) Oxígeno y (S) Azufre. Estos, son la única fuente aprovechable de nitrógeno para el ser humano, además son elementos fundamentales para la síntesis de las proteínas, y son precursores de otros compuestos nitrogenados.

Al ser de suma importancia en el desarrollo del ser humano, los estudios espectroscópicos de los aminoácidos adsorbidos en superficies metálicas son importantes porque pueden proporcionar información de la naturaleza de las interacciones metal – biopolímero [18].

# Capítulo 3

## Métodos de síntesis y aplicaciones de nanopartículas de plata en dispersión coloidal

En la actualidad existen muchos métodos de síntesis de nanopartículas, estos suelen agruparse en dos categorías, las aproximaciones de "arriba hacia abajo" y las "de abajo hacia arriba". La primera consiste en la división de sólidos másicos en porciones más pequeñas. Este enfoque puede involucrar la molienda o el desgaste, métodos químicos, y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes volatilizados. La segunda aproximación, «de abajo hacia arriba», consiste en la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en disolución [1].

Dentro de los métodos químicos, en general la síntesis en disolución se lleva a cabo mediante el empleo de los siguientes componentes:

**Precursor metálico + agente (s) reductor (es) + agente estabilizante + energía**  
**medio dispersor**

El mecanismo de formación de las disoluciones coloidales a partir de la reducción de iones plata consta de dos etapas diferentes: nucleación y crecimiento.

La IUPAC define a la nucleación como el proceso por el cual se forma un núcleo en solución. En el caso de las nanopartículas se puede entender como la etapa inicial de formación, con un número de átomos mínimos y a partir de la cual la posterior etapa de crecimiento es favorable termodinámicamente.

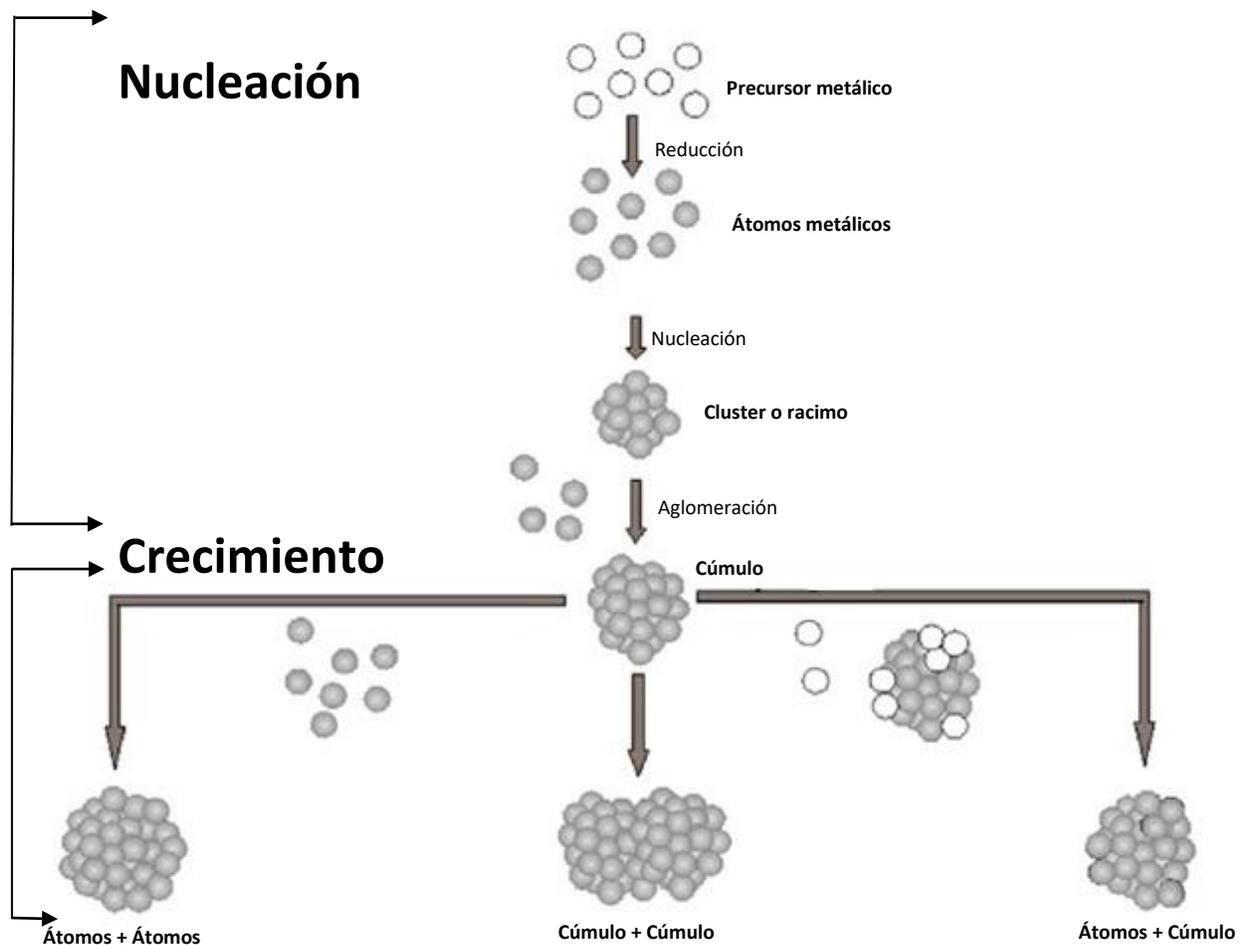
Termodinámicamente la nucleación implica la unión de dos o más átomos de naturaleza semejante; el cambio del empaquetamiento de esos átomos en estructuras intermedias inestables. Estas estructuras presentan un tamaño crítico el cual promueve la formación de partículas con la estructura final. En pocas palabras se puede decir que el proceso de nucleación es aquel en el que dos o más átomos chocan y se unen para formar un cúmulo.

En la segunda etapa o etapa de crecimiento se pueden llevar a cabo dos mecanismos:

a) Un primer mecanismo en el que hay una agregación de átomos sobre las partículas; esto sucede cuando se llevan a cabo colisiones entre nuevos átomos provenientes de la etapa de reducción y cúmulos ya existentes. Estas colisiones producen el crecimiento del cúmulo.

b) En el segundo mecanismo el crecimiento de las partículas es causado por medio de colisiones entre cúmulos (ya sea entre cúmulos muy pequeños o cúmulos muy pequeños con cúmulos muy grandes), seguido de un reordenamiento de sus átomos.

Como se mencionó anteriormente, el proceso de nucleación requiere una alta energía de activación mientras que el proceso de crecimiento requiere una baja energía de activación. El tamaño y la forma de las nanopartículas dependerá de las velocidades relativas de estos procesos que pueden ser controladas a través de la modificación de los parámetros de reacción (concentración, temperatura, pH, poder reductor, etc.).



**Fig. 3. 1 Mecanismo de formación de nanopartículas propuesto por Nguyen y colaboradores [2]**

En el caso concreto de plata se han desarrollado diversos métodos de síntesis de nanopartículas. La mayor parte de los métodos de preparación de nanopartículas de plata se basan en el empleo de reductores químicos más o menos fuertes ( $\text{NaBH}_4$ , Citrato de Sodio, Glucosa, etc.) frente a  $\text{AgNO}_3$ . En la mayoría de los métodos empleados los precursores metálicos son sales metálicas simples, el disolvente empleado suele ser agua y los agentes estabilizantes en general suelen ser ligandos, polímeros o surfactantes cargados.

Así, los primeros métodos descritos son el método de Lee-Meisel [3] y el método de Creighton [4]

El primero de ellos consiste en una variación del método Turkevich para la obtención de nanopartículas de oro, en el que se emplea  $\text{AgNO}_3$  en lugar de  $\text{HAuCl}_4$  como precursor metálico y citrato de sodio como agente reductor. Por medio de esta síntesis se obtienen nanopartículas de plata con una distribución amplia de tamaño de partícula, 20-600 nm (polidispersas) y una diversidad de formas (poliedros y platos). El mecanismo de reducción del citrato es aún incierto debido a que se han llevado a cabo relativamente pocos experimentos en este sentido. Típicamente, el ion citrato se oxida para formar acetonadicarboxilato un intermediario que se descompone rápidamente en acetoacetato; también se forma  $\text{CO}_2$ . Debido a los diferentes estados de protonación del ion citrato se ha notado que el grado de reducción y consecuentemente, la morfología de las partículas dependen del pH. Así, a un pH=5.7 la reacción es lenta (~2 h) y los productos son principalmente triángulos planos o partículas poligonales. A un pH= 11 la reacción es rápida (unos cuantos minutos) y se obtiene una mezcla de esferas y barras. En general la calidad y uniformidad de las NP's es muy pobre. Se ha demostrado que agregando una pequeña cantidad de NaOH se obtienen predominantemente alambres. Este NaOH aumenta el pH de 5.5 a 6.5 que es justo por encima del pKa del ion citrato. El control de las formas se atribuye parcialmente a el hecho de que el ion citrato esta desprotonado y puede coordinarse con  $\text{Ag}^+$  con mayor fuerza, resultando un producto de mejor calidad con solo unos pocos agregados. Por otro lado, grandes cantidades de NaOH resulta en una mezcla de partículas polidispersas, debido a que probablemente el ion  $\text{OH}^-$  interviene [3].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>)<sub>ac</sub> + sin agente estabilizante+ agitación constante*

Existen variaciones el método de Lee- Meisel, en una de ellas se procede de acuerdo a lo expuesto arriba, la diferencia radica en el uso de Dadax 19 (sal de sodio de naftalensulfonatoformaldeido de un alto peso molecular) como agente estabilizador. Este surfactante se usa porque evita la agregación de las nanopartículas en disoluciones con una alta fuerza iónica y con altas concentraciones del metal [5].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>)<sub>ac</sub> + Dadax 19+ agitación constante*

El método Creighton tambien hace uso de  $\text{AgNO}_3$  y en este caso el agente reductor es el  $\text{NaBH}_4$ . Los "soles" de plata se obtienen mediante la reducción de 10 mL de  $\text{AgNO}_3$  0.001M con 30 mL de  $\text{NaBH}_4$  0.002M. Ambas disoluciones se llevan a cabo bajo una agitación constante y vigorosa. Este método da lugar a la obtención de nanopartículas de plata de aproximadamente 10 nm y con una

distribución estrecha de tamaños (monodispersas); presentan un color amarillo y una banda de extinción en el visible cercana a 400nm. Los coloides no presentan precipitación o cambio de color durante el paso del tiempo[4]. En un experimento se hizo una modificación a este método; se usó hidróxido de sodio para variar el pH ya que se ha visto que la variación en el pH afecta directamente en el tamaño de las nanopartículas obtenidas[6].



Estos dos métodos generan nanopartículas mediante el concurso de una sal metálica y un agente reductor, es importante mencionar que no son los únicos, de hecho hay una gran cantidad de métodos que siguen más o menos una misma línea de síntesis.

Existe un método que sirve para la deposición electrolítica de películas finas de plata metálica (espejo de plata). Es un proceso, llamado método de Tollens [7], de reducción del complejo  $[Ag(NH_3)_2]^+$  en disolución por la acción de aldehídos y azúcares reductores. En el caso de la síntesis de nanopartículas de plata se emplean concentraciones menores y ultrasonidos para producir disoluciones coloidales.

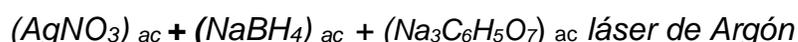


Otro método es en el que se ha empleado dimetilformamida (DMF) como disolvente y como agente reductor frente a sales de plata en diferentes condiciones de reacción [8]. Con este se han conseguido nanopartículas de diferentes tamaños empleando aminopropiltriétoxilisilano (APS) o polivinilpirrolidona (PVP) como agentes estabilizantes o incluso nanoprismas de plata.

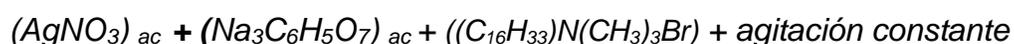


También es muy común el uso de uno o varios reductores químicos; en un experimento se usa el  $NaBH_4$  (10 mM, 0.5 mL) y el  $Na_3C_6H_5O_7$  (0.5 mM) como par de reductores en contra del  $AgNO_3$  (0.1 mM). Al término de la síntesis los coloides son expuestos a un láser de Argón cuyo haz es dispersado por medio de un prisma; con la intervención del prisma se obtienen líneas monocromáticas de 514.5, 501, 488, 476 y 457.9 nm. Por medio del uso de luz para modificar la forma

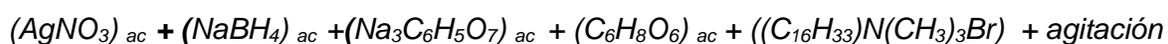
se obtuvieron NP's de aproximadamente 20 nm con formas de disco, triángulos y pirámides pentagonales [9].



Otro método, con el que se obtienen nanoplatos triangulares, también hace uso de  $Na_3C_6H_5O_7$  como reductor de  $AgNO_3$  y Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) como agente estabilizante. Las nanopartículas obtenidas presentan un tamaño de 68 nm y un grosor de 24 nm. La solución coloidal es de color rojo claro [10]. Un método más que implica el uso del ion citrato como reductor es en el que obtuvieron nanobarras pentagonales con tamaños de 50 nm [11].



El CTAB, usado como surfactante, sirve también para la síntesis de nanoestructuras de plata unidimensionales (nanobarras o nanocables). Este proceso consta de dos pasos y es denominado "seed-mediated growth" (crecimiento mediante semillas). Este método parte de la síntesis inicial de nanopartículas de plata de 4 nm (semillas) por reducción de  $AgNO_3$  con  $NaBH_4$  en presencia de citrato de sodio. A partir de estas nanopartículas de plata, la adición de más  $AgNO_3$  y ácido ascórbico como agente reductor,  $NaOH$  y CTAB como plantilla micelar permite la obtención de nanobarras y nanocables de plata [12].



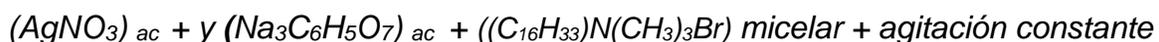
Sin embargo el polímero polivinilpirrolidona (PVP) sigue siendo uno de los más ampliamente usados agentes estabilizantes de nanopartículas metálicas. Una de las primeras síntesis consistió en la fotoreducción de  $AgNO_3$  en presencia de PVP como agente estabilizante empleando radiación UV de 243 nm. Con este método se pueden obtener nanopartículas de plata entre 15 y 22 nm en función de la relación molar entre  $AgNO_3$  y PVP. Posteriormente se han descrito diferentes métodos en los que PVP actúa como agente estabilizante de nanopartículas de plata sintetizadas mediante reducción de sales de plata con distintos agentes reductores químicos como bitartrato potásico, o Dimetilformaldehído (DMF), e incluso empleando microondas y el propio PVP como agente reductor.



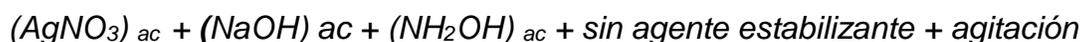
Una de las formas más comunes que llegan a presentar las AgNP's es la de esfera, esto se debe a que en los primeros momentos de la síntesis, los soles de plata recién formados se empiezan a juntar unos con otros debido a las atracciones electroestáticas presentes. Así, se han logrado sintetizar nanopartículas con un tamaño de 7-10 nm por medio de la reducción de nitrato de plata con formaldehído en presencia de PVP o PVA. Se encontró que la adición de carbonato de sodio juega un papel importante al momento de definir el tamaño y la estabilidad de las partículas. También se descubrió que el aumento en el pH reduce el poder reductor del formaldehído [12].



Se han obtenido nanoplatos triangulares usando una solución base ( $AgNO_3$  con  $Na_3C_3H_5O$ ) en presencia de micelas de bromuro de cetiltrimetilamonio. Las partículas obtenidas tienen un tamaño promedio de 68 nm y un espesor de 24 nm. La solución final presenta un color rojo claro con un pico de absorción en 552 nm. Estas partículas se pueden auto ensamblar en forma de "cadenas" debido a un parcial o total hacinamiento de las mismas [6]. Otro método usa sales como precursora pero después de la reducción química hace uso de luz para modificar las formas de las NP's. Han obtenido nanoplatos triangulares con tamaños de 30 a 120 nm [13].



Otro método comúnmente utilizado es el de Leopold y Lendl. Las nanopartículas obtenidas se preparan de la siguiente manera: A 4.5 mL de NaOH 0.1M se agregan 5 mL de Hidroxilamina (con una concentración de  $6 \times 10^{-2}$  M). Inmediatamente, la mezcla se agrega a 90 mL de  $AgNO_3$  ( $1.11 \times 10^{-3}$  M). La reacción se mantiene bajo agitación constante y rigurosa hasta observar una mezcla homogénea. Finalmente, el coloide obtenido debe presentar un aspecto gris lechoso. Si se desea un pH neutro (~6.5) se agrega NaOH [15].

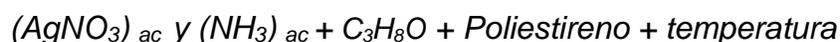


La mayoría de las disoluciones de  $AgNO_3$  se hacen en base agua; pero también se ha usado etanol como disolvente. En una investigación hecha se prepara una disolución 0.02 M de  $AgNO_3$  en etanol, a esta disolución se le agregan 5mL de bencilmercaptano. Una innovación en esta síntesis es que la formación de las

nanopartículas es inducida por medio de un sonicador, por una hora y media a una potencia de 200 W a temperatura ambiente [16].



En otra síntesis en la que se hace uso de una disolución que contiene 10 % de  $AgNO_3$  y 6% de Hidróxido de Amonio se han obtenido nanodiscos. De esta disolución se agregan 75  $\mu$ L a 60 mL de N,N-dimetilformamida y finalmente se agregan 160  $\mu$ L de poliestireno. La disolución se calienta y agita de 8 a 12 minutos. La reacción termina cuando la disolución cambia de amarillo a rojo y purpura [17].



Las nanopartículas también pueden adoptar la forma de alambres. Estos se pueden obtener por un método simple en ausencia de un surfactante o algún polímero. El método de síntesis es el siguiente: primero se debe prepara una solución (A) de 0.017 g de  $AgNO_3$  disueltos en 20 mL de N,N-dimetilformamida (DMF) y una mezcla (B) de 1 mL de Tetrabutiltitanato (TBT) y 1 mL de Acetilacetona (AcAc). Después, la solución B se agrega a la mezcla A bajo agitación constante. Esta mezcla se deja durante ocho horas a una temperatura de  $\sim 373$  K. Los productos sintetizados se separan por medio de centrifugación y lavados de agua/etanol. Siguiendo este método se logran obtener nano alambres con tamaños entre 10-70 nm [17].



Un disolvente que también sirve para sustituir el agua, en la síntesis de nanopartículas, es el Etilen glicol, este compuesto químico tiene la particularidad de que puede servir como agente reductor y estabilizador. Por medio de la reducción de una sal de plata se ha obtenido una mezcla de nanocubos y nanobarras [18]. Un estudio similar permite la formación de nano hilos con una longitud de 3 a 30  $\mu$ m y un ancho de 17 a 70 nm. Estos nano hilos presentan dimensiones bien definidas y superficies lisas, características que los convierten en prometedores candidatos para estudiar los efectos del tamaño en el transporte de electrones [19]. Otro estudio presenta la síntesis de bipyramides de plata con tamaños de entre 75 a 150 nm. Un punto a destacar en esta síntesis es que usaron NaBr para incrementar el número de iones [20]. También se han obtenido

esferas de plata, con el uso de etilenglicol como reductor y estabilizante; la diferencia en esta síntesis es que se agrega una pequeña cantidad de cloruro de sodio para controlar la estabilidad del coloide y para llevar un proceso de oxidación más controlado. Por medio de esta síntesis se obtuvieron nanopartículas esféricas de aproximadamente 30 nm con una brecha entre ellas de 1.8 nm [21]. Un método más que implica el uso de EG y PVP es en el que se han obtenido nano alambres con tamaños de 30 a 40 nm. En este método se usa el etilenglicol como reductor, con base en las semillas de plata obtenidas se agrega el PVP para modificar su forma. Todo esto es llevado a cabo a una temperatura de 160 °C [22]. Un método, que usa también etilenglicol como reductor en presencia de PVP y cloruro de sodio, ha obtenido nanocubos y tetraedros con una distribución monodispersa y en un rango de tamaños que va de los 20 hasta los 80 nm [23].



Otro reductor comúnmente usado es el polímero del etilenglicol. Usando el Polietilenglicol (PEG) en presencia de plata se han obtenido nano cubos de un tamaño menor de 10 nm. Estas nanopartículas demostraron una alta actividad antibacterial contra bacterias (gram positivas y negativas) así como hongos [24]. También se han obtenido cubos por medio del crecimiento controlado de semillas de plata. Estas semillas de alguna manera dirigen el crecimiento de las nanopartículas hacia una estructura cubica. Los nanocubos obtenidos presentan un rango de tamaños que va de los 30 a los 200 nm [25]. También se han sintetizado NPs con tamaños que van de los 8-10 nm; presentando una banda de absorción en  $\lambda$  420 nm. El método que se sigue es el siguiente: 4 g de PEG se disuelven en 200 mL de H<sub>2</sub>O a 80° C con agitación vigorosa. A esta disolución se agregan gota a gota 50 mL de una disolución de AgNO<sub>3</sub> (0.01M). La agitación se mantiene a la misma temperatura por 2 horas. La presencia de las nanopartículas se nota por el cambio de color de transparente a amarillo o amarillo oro.



Muchas de las síntesis de nanopartículas son complementadas por medio de exposición de las NP's a luz. En un experimento se obtuvieron nanopartículas decaedricas por medio de la reducción de nitrato de plata con citrato de sodio en presencia de PVP pero después del proceso químico se expusieron a luz. Se obtuvieron nanopartículas con tamaños desde los 46 hasta los 110 nm [26].



En otros estudios, el autoensamble de las nanopartículas es guiado por medio de monocapas (algunas hidrofóbicas otras hidrofílicas) situadas en las distintas caras de nanocubos previamente sintetizados. Por medio de estas monocapas se obtuvieron cinco distintas estructuras, las cuales dependen directamente del número de caras hidrofóbicas que tengan. Al ser este tipo de autoensamble llevado a cabo en medio acuoso los cubos (previamente sintetizados y activados hidrofobicamente o hidrofílicamente) únicamente fueron puestos en contacto con el medio y ellos asumieron las formas [27].

No obstante, el problema inherente de los métodos antes mencionados radica en que la mayoría de ellos suelen presentar riesgos para el ambiente. Por tal motivo, gracias al bajo impacto ambiental que representan y su bajo costo, la síntesis por bio-reducción ha crecido en los últimos años.

Con esta idea de la síntesis verde se han desarrollado un sinnúmero de métodos para obtener nanopartículas metálicas, por ejemplo, se han obtenido cristales en forma de cubo por medio de la reducción de 96 ml de  $\text{AgNO}_3$  (1 mM) con 4 mL de leche de vaca. La mezcla obtenida se almacena durante 8 horas en un agitador a temperatura ambiente. La reducción de los iones de plata dentro de la mezcla de reacción es monitoreada por el cambio de color (de blanco lechoso a café oscuro) [28].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Leche de vaca + agitación constante (8 hrs)*

También se ha usado saliva como reductor de plata, con este método se han obtenido cúmulos de nanopartículas, las cuales fueron sintetizadas al agregar 5 mg de  $\text{AgNO}_3$  y 1 mL de saliva en 10 mL de agua bidesionizada. Las nanopartículas sintetizadas tienen un tamaño aproximado de 20 nm y en su mayoría presentan forma esférica [29].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Saliva + agitación constante*

En la India se sintetizaron nanopartículas usando un extracto de la planta *Tagetes Erecta*, conocida en México como cempasúchil, como reductor. La disolución que contenía iones de plata fue mezclada al extracto de la planta y así se obtuvieron las nanopartículas. El espectro UV-Vis mostro un pico máximo en 430 nm. Un análisis por TEM reveló que las partículas obtenidas presentan formas esféricas, hexagonales e irregulares en un rango de tamaño de 10 a 90 nm. Estas nanopartículas mostraron una actividad anti fúngica con antibióticos mejor que la presentada por los antibióticos solos en contra de las cepas y las bacterias Gram negativas estudiadas. Esta investigación es importante en el sentido de la mejora en la síntesis de productos biomédicos [30].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Cempasúchil + agitación constante*

Con el uso de un extracto de la planta *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga) como agente reductor para la síntesis de nanopartículas de plata se pretende evaluar el potencial de éstas como agentes larvicidas en contra de *Culex quinquefasciatus* (mosquito portador de la filariasis). Las nanopartículas muestran un color café rojizo y muestran un pico máximo en 420 nm (UV-Vis). Presentan una forma esférica. Otro extracto de planta, la Rosa de Damasco, se ha usado como reductor en la obtención de nanopartículas. Éstas presentan un color amarillo-café y un pico máximo en 420 nm (UV-Vis), un tamaño que va de 84 a 10 nm y una forma casi esférica. Poseen actividad anticancerígena en contra del adenocarcinoma pulmonar [31]. La Ag NP's también han sido fabricadas usando un extracto de Sacha inchi (maní del Inca como reductor no tóxico presentando tamaños que van de 4 a 25 nm. Mostraron una significativa eficiencia en comparación con el extracto de Sacha inchi en contra de 1, 1 difenil-2-picrilhidrazil. A partir de los resultados obtenidos es posible que estas nanopartículas verdes pueden ser usadas efectivamente en ingeniería o en aspectos médicos [32].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Escoba amarga o Rosa de Damasco o Maní del Inca + agitación constante*

El extracto de una planta anual tropical y subtropical llamada Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) es usado en la síntesis de NP's. Se estudió la influencia de diferentes concentraciones de esta planta así como distintas concentraciones del metal precursor; también se estudió la influencia de diferentes tiempos de reacción. Las nanopartículas de plata obtenidas mostraron una forma esférica con un tamaño promedio de 9 nm y un plasmón de superficie a 446 nm. Es importante mencionar

que presentan buena actividad antimicrobial en contra de Escherichia coli, Proteus mirabilis y Shigella flexneri.

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Kenaf (Hibiscus cannabinus) + agitación constante*

Se ha desarrollado un método simple de síntesis de nanopartículas de plata usando alginato de sodio como reductor y estabilizador. Se obtuvieron NPs de forma esférica y el estudio de XRD mostro que las partículas eran cubicas centrada en las caras. También son estables ya que pueden ser guardadas a temperatura ambiente por al menos tres meses. Presentan una actividad antibacterial importante, siendo activas para ambos tipos de bacterias (Gram negativas y positivas) [33].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Alginato de Sodio+ agitación constante*

Un extracto de la cascara del mango se ha usado como reductor y estabilizador en la síntesis de AgNP's. Los resultados obtenidos por medio del espectro UV-Vis, difracción de rayos X y TEM muestran que las nanopartículas sintetizadas tiene un tamaño que va de 7 a 27 nm, con una simetría cúbica centrada en las caras [34].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Cascara de mango + agitación constante*

En el deseo de salvar el ambiente mediante prácticas químicas verdes, en una Universidad de Sudáfrica se estudia la síntesis de AgNP's usando un extracto de una planta acuática ambientalmente problemática en la región: la Eichhornia crassipes, llamada comúnmente flor de bora. Este extracto se usa como reductor y estabilizador en medio acuoso. Al variar el pH y el tiempo de reacción se estudia la evolución de las propiedades ópticas y morfológicas de las nanopartículas sintetizadas. El pico máximo del plasmón superficial de resonancia (SPR) decrece a medida que el pH incrementa. Esto indica que el aumento del pH favorece la formación de partículas "pequeñas". También se observa que el cambio de color de transparente a café en una solución a un pH 11 es más rápida que una disolución de pH menores. Imágenes TEM muestran una forma esférica monodispersa. Se calcula un tamaño de partícula promedio de 5 nm. Se ha demostrado que en base a este método de síntesis, esta planta acuática puede ser usada a favor de la humanidad [35].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Flor de bora + agitación constante*

Se han obtenido nanopartículas esféricas de 200 nm mediante la reducción de la sal de plata con un tipo de alga (*Plectonema boryanum*) [36]. El *Bacillus subtilis* es usado para obtener nanopartículas de 5-60 nm por medio de la irradiación de microondas y la bioreducción de un complejo de plata con una cadena del *Corynebacterium* (SH09) resulta en nanopartículas de plata con un rango de tamaños entre los 10 a 15 nm [37].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Plectonema boryanum (alga) + agitación constante*

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Bacillus subtilis y Corynebacterium (SH09) + microondas*

La *Spirulina Platensis* es usada también para la síntesis extra celular de nanopartículas. AgNP's de un tamaño entre 7- 16 nm y nanopartículas de oro de 6-10 nm han sido obtenidas en condiciones óptimas [38]. Un extracto de las semillas de la planta *Jatropha Curcas* es usado como agente reductor y estabilizador. Se obtienen nanopartículas esféricas con un rango de tamaños entre los 15- 50 nm [39]. También se ha usado el extracto de la planta *Hibiscus cannabinus* como agente reductor. Esta planta es una planta anual o bianual de hasta 3'5 metros de alto, herbácea con una base leñosa, hojas polimorfos de 10 a 15 cm de longitud. Con el extracto de ella se han obtenido nanopartículas esféricas con un tamaño promedio de 9 nm. Las NP's presentan una buena actividad antimicrobial contra la *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y la *Shigella flexneri* [40].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Jatropha Curcas o Hibiscus cannabinus + agitación constante*

La *Parthenium hysterophorus* es una planta herbácea de hábito caducifolio, con aspecto velludo y muy ramificada, alcanza entre 30 a 70 cm de altura. Las hojas son alternas, ovadas y pinnadas con segmentos lanceolados. Con el extracto de esta planta se han sintetizado Ag NP's con una forma esférica y de un tamaño aproximado de 10 µm. Lo que es importante resaltar en este trabajo es que estas partículas se usaron para el control del mosquito *Cx. Quinquefasciatus* con un poder larvicida moderado [41].

*(AgNO<sub>3</sub>)<sub>ac</sub> + Parthenium hysterophorus + agitación constante*

Se ha demostrado que las nanopartículas de metales oxidantes altamente reactivos, como oro, plata y cobre, muestran excelentes propiedades bactericidas contra bacterias Gram-negativas y Gram positivas [42]. Por lo tanto, la preparación, caracterización y funcionalidad de nanopartículas inorgánicas es altamente útil en la búsqueda de nuevos materiales bactericidas. Los efectos antibacteriales de la plata metálica o de las sales de plata es bien conocido [43], sin embargo, los métodos de acción no son muy claros[46]. La alta toxicidad de la plata ha sido mostrada en al menos 16 especies de bacterias como la *Escherichia coli*, la *Staphylococcus aureus*, la *Listeria monocytogenes*, *Moraxella guajuatensis*, etc. [42] [43] [44] [45] [46], y además dichas partículas han sido sintetizadas de distintas formas.

La manera en que actúan las nanopartículas de plata para la inhibición en el crecimiento de microorganismos aún es poco estudiada; se piensa que las proteínas celulares pierden su habilidad para duplicarse al estar en contacto con  $Ag^+$ . También se cree que los iones de plata se unen a los grupos funcionales de las proteínas y éstas, como resultado de esta interacción, se desnaturalizan. Debido a esta desnaturalización la proteína pierde sus propiedades biológicas.

En el caso de las bacterias, se piensa que las nanopartículas al entrar en contacto con los elementos biológicos de la membrana externa causan daños estructurales y degradación de ésta.

Provocan también un significativo incremento en la permeabilidad, esto provoca una interferencia en los procesos de transporte de la célula bacteriana y la conduce a su muerte[47].

Otra aplicación novedosa de las nanopartículas es su uso en la industria textil. En ésta se planean aplicar en algunas telas para que tengan propiedades antibacteriales. Aunque aún existen dudas sobre el efecto de estas nanopartículas en contacto con la piel, investigaciones indican que NP's de tamaños pequeños (hasta 10 nm) son inocuas [48].

Así, se ha desarrollado una fibra de carbón activado después de haber sido tratada con nanoplatina [49]. Se han usado nanopartículas para producir mono filamentos en forma de hilo con propiedades antibacteriales [50]. También se han fabricado almohadillas absorbentes de fibras de celulosa [51].

Se han sintetizado nano-compositos de Ag/PVP, presentan una baja toxicidad, biocompatibilidad, actividad anti-microbiana, solubilidad en agua y en algunos disolventes orgánicos. Todas estas características los hacen útiles para una amplia gama de aplicaciones, especialmente en el campo de la bio-medicina[52] [53].

Existen varios grupos de investigación que han desarrollado nanopartículas con funciones virucidas (capaces de matar los virus).

Por ejemplo, se sintetizaron unos “híbridos” de coloides, básicamente son un grupo de coloides de tamaño nanométrico depositados sobre un coloides de tamaño micrométrico, estos coloides sirven para inactivar patógenos virales y así disminuir el riesgo de ser liberados en el ambiente [54].

También se ha descubierto que nanopartículas de plata son útiles para prevenir la influenza H3N2 [55]. Otro estudio [56] observó que las NP's de plata tiene una mayor actividad (con un 80 – 90% de inhibición) en contra del virus simple del herpes (HSV)-1 y en contra del virus de la parainfluenza humana (hPIV)-3, en comparación a las células Vero. También se encontró que estas nanopartículas pueden llegar a inhibir la replicación de virus vacuna [57].

Una aplicación más es el la línea de investigación [58] que ha descubierto que las nanopartículas bimetálicas Au-Ag son altamente capaces de absorber radiación en el infrarrojo cercano. Estas mismas nanopartículas bimetálicas, con una estructura de caparazón, mostraron tener posibles aplicaciones en tratamientos fototérmicos debido a su estabilidad [59].

Otro campo en el que las nanopartículas están mostrando tener aplicaciones prometedoras, es en la batalla contra el cáncer. En particular las nanopartículas de plata han demostrado tener efectos antitumorales. Aunque también se ha reportado que una baja concentración de estas nanopartículas puede dañar el ADN y pueden causar aberraciones cromosomales, pero a pesar de esto no se puede decir que tengas efectos cito tóxicos graves [60].

Por mencionar algunas investigaciones, en el 2010 se estudió la eficacia de nanopartículas de plata en contra de la ascitis en los linfomas de Dalton. Se encontró que la esperanza de vida al ser tratados con este método aumentaba en aproximadamente un 50 % al ser comparadas otros tipos de control de tumores [61].

La Leucemia, otro tipo de cáncer, también se han realizado investigaciones alrededor de esta proliferación excesiva glóbulos blancos en la sangre. Muchos estudios han reportado que las nanopartículas de plata resultan ser efectivas en el combate a las células leucémicas, tales como la THP-1, Jurkat y K562. Se ha encontrado que AgNP's recubiertas con PVP pueden inhibir la viabilidad de adquirir leucemia mieloide [62].

Un tipo de cáncer, que es de suma importancia tratar es el cáncer de mama. Se ha observado que las AgNP's pueden inducir la apoptosis en células de la línea

celular MCF-7. Esto se logra por medio de la inhibición del crecimiento de estas células en hasta un 50 % [63]. En épocas más recientes se ha descubierto que las nanopartículas inducen la muerte de la línea celular MDA-MB-231 por medio de la generación de especies reactivas de oxígeno, activación de la proteína caspasa 3 y la fragmentación del ADN [63].

En este capítulo se han revisado solo algunos de los muchos métodos de síntesis de nanopartículas existentes, y una cosa que queda clara es que el desafío de la síntesis de nanopartículas no reside tanto en el agente reductor, sino en el control que se llegue a tener para crear estructuras de tamaños y formas definidas. Es en esta parte donde se debe poner especial interés porque, como se vio en este capítulo, son muchos los factores que pueden afectar la síntesis de nanopartículas (como el ph, la temperatura etc.); es por eso que el objetivo general de este trabajo es tener, al menos un método de síntesis, que se pueda controlar.

# Capítulo 4

## Desarrollo experimental

### 4.1 Reactivos y equipos de caracterización

Todas las sustancias que se emplearon se indican a continuación:

$\text{AgNO}_3$  (Aldrich 99%)

$\text{NaBH}_4$  (Aldrich 98%)

$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Aldrich 99%)

#### 4.1.1 Espectroscopia UV-Visible

Para la medición de los espectros de absorción electrónica de las dispersiones coloidales, se utilizó un espectrofotómetro UV- Visible- NIR (Cary 5000). El equipo permite tomar el espectro de la muestra con la ayuda de una cubeta de cuarzo.



**Fig. 4.1 Espectrofotómetro UV- Visible- NIR (Cary 5000)**

#### 4.1.2 Espectroscopía Raman

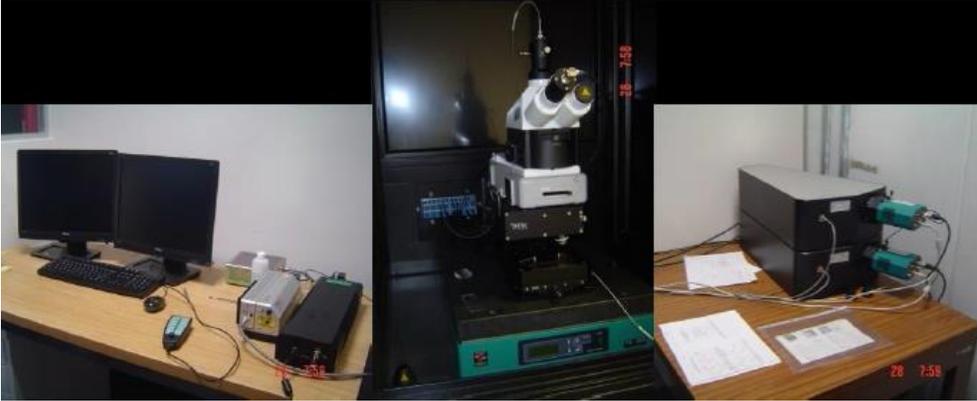
El análisis Raman se realizó a la par, en dos equipos. El primero de ellos es un equipo Raman Dispersivo Nicolet Almega XR. Este sistema está equipado con un láser de Vanadato de Ytrio dopado con Neodimio (Nd:YVO<sub>4</sub>), el cual presenta una longitud de onda de 532nm, y una potencia de 10mW.



**Fig. 4.2 Espectrofotómetro Raman Dispersivo Nicolet Almega XR.**

El segundo equipo usado fue el Sistema Raman Witec, el cual se encuentra en el laboratorio LUCE del CCADET UNAM, y tiene las siguientes características:

- 2 longitudes de onda de láser: 532 y 785 nm.
- Detectores CCD
- Raman de infra-rojo cercano
- Microscopia Cofocal
- Microscopio de Fuerza Atómica (AFM)



**Fig. 4. 3 Equipo Raman - AFM**

Para la realización de las pruebas, se usaron tiempos de exposición cortos (10-15 segundos), una potencia baja (menor del 30%) y también pocas acumulaciones (en torno a 10).

#### **4.1.3 Microscopia electrónica de transmisión.**

Para la toma de imágenes por esta técnica se utilizó un equipo JEOL, JEM – 2200FS + Cs, el cual tiene las siguientes características:

- Cañón de emisión de campo de 200 kV
- Resolución punto a punto: 0.096 nm en modo STEM
- Corrector de aberración esférica en STEM.
- Filtro de energía tipo omega.
- Sistema EDs Inca.
- Sistema EELS GAT- 777 STEMPACK.
- Detector HAADF para imágenes de contraste Z.
- Cámara UltraScan 2k x 2k.
- Portamuestras: calentamiento, enfriamiento, doble inclinación.



**Fig. 4. 4 Microscopio Electrónico de Transmisión**

#### **4.1.4 Potencial de carga superficial**

Como se explicó en la parte de antecedentes, la estabilidad de las dispersiones coloidales está relacionada al medio dispersante, ya que en la interfase solidolíquida es donde se establecen las repulsiones eléctricas.

Para medir la carga de las partículas en dispersión coloidal se utilizó un equipo MUTEK PCD 03, cuyo funcionamiento consiste en la separación mecánica de los iones que se adsorben en la superficie de un coloide. Una vez separados, se les mide su carga eléctrica aplicando una diferencia de potencial alterna (1KHz) entre dos electrodos de oro. La corriente generada por los iones es convertida en una diferencia de potencial cuyo signo sugiere la carga total de las partículas en la dispersión y su magnitud relativa a la concentración de los iones. Los resultados obtenidos tienen unidades de mV.



**Fig. 4.5 Equipo utilizado para la medición de la carga superficial de las nanopartículas.**

## 4.2 Preparación de nanopartículas

Antes de empezar con la descripción del método de síntesis es necesario puntualizar:

- Es importante que todo el material que se usa en la síntesis este perfectamente limpio.
- Los coloides, recién sintetizados, se deben de mantener a oscuridad para evitar su foto degradación.
- Todas las dispersiones coloidales fueron repetidas al menos tres veces, para garantizar su reproducibilidad.

La concentración inicial de los reactivos fue la siguiente:

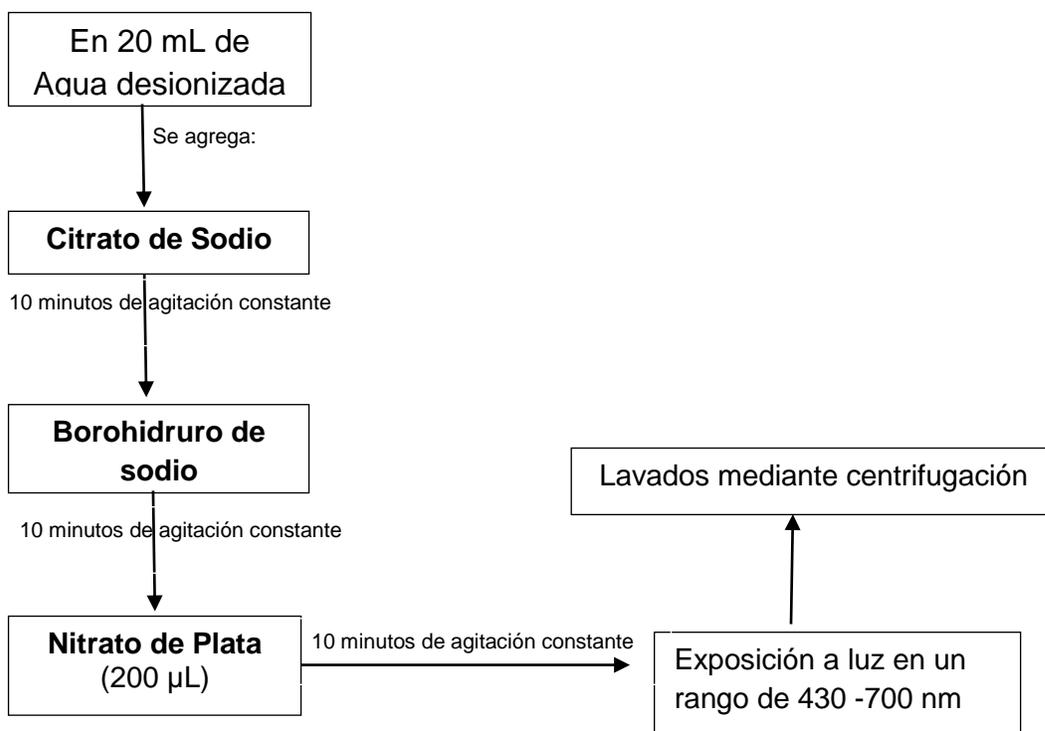
- $\text{AgNO}_3$ : 0.01 M
- $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : 0.1 M
- $\text{NaBH}_4$ : 0.1 M

Se prepararon nueve coloides diferentes y la cantidad de cada reactivo varió de acuerdo al coloide deseado; se puede apreciar en la tabla 4.1 la concentración final que cada reactivo tuvo en la dispersión coloidal.

| Coloide          | $\text{AgNO}_3$<br>[M] | $\text{Na}_3\text{Cit}$<br>[M] | $\text{NaBH}_4$<br>[M] |
|------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|
| A <sup>433</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-3}$                      | $10^{-3}$              |
| A <sup>434</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-3}$                      | $10^{-4}$              |
| A <sup>435</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-3}$                      | $10^{-5}$              |
| A <sup>443</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-4}$                      | $10^{-3}$              |
| A <sup>444</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-4}$                      | $10^{-4}$              |
| A <sup>445</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-4}$                      | $10^{-5}$              |
| A <sup>453</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-5}$                      | $10^{-3}$              |
| A <sup>454</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-5}$                      | $10^{-4}$              |
| A <sup>455</sup> | $10^{-4}$              | $10^{-5}$                      | $10^{-5}$              |

**Tabla 4. 1 Cantidad de reactivos presente en cada coloide, y la concentración Molar final de estos.**

El método que se siguió para sintetizar los coloides, fue el siguiente:



El tiempo total de síntesis fue de 30 minutos, el hecho de que el periodo de agitación entre cada reactivo sea de 10 minutos fue para asegurar la completa homogeneización del reactivo dentro del disolvente y, a partir de esto tener la completa certeza de la interacción entre las sales involucradas.

Una vez cumplidos los treinta minutos de reacción, cada coloide se colocó dentro de una cámara de luz blanca.

En cuestión de manipulación de reactivos, el Borohidruro de sodio presenta la desventaja de ser un poco inestable en condiciones normales, debido a que es un compuesto altamente higroscópico y se hidroliza parcialmente con la humedad del medio ambiente; para contrarrestar ese inconveniente, ésta disolución era la última en ser preparada y se usaba lo más rápido posible dentro de un ambiente controlado.

En términos generales, la síntesis de los coloides consistió en la reducción de la sal de plata con el Borohidruro de sodio en presencia del citrato de sodio, el cual presenta su mayor utilidad durante la exposición a la luz.

La ecuación química que representa la reacción de reducción de  $\text{Ag}^+$ , es la siguiente:



Los potenciales [1] de las semirreacciones redox involucradas son los siguientes:

| Semirreacción   | $E^\circ / \text{V}$ |
|---|----------------------|
| $\text{Ag}^+ + 1\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}^\circ_{(\text{s})}$                                     | + 0.7996             |
| $\text{BH}_4^- + 8 \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{BO}_3^- + 5\text{H}_2\text{O} + 8 \text{e}^-$ | + 1.24               |

### 4.3 Estudio de efecto SERS

Para realizar estas pruebas se siguió el siguiente orden:

Las nanopartículas se lavan y centrifugan por triplicado a 20,000 rpm durante veinte minutos. Se agrega el analito (el aminoácido) a la suspensión coloidal. Se trabajó en un rango de concentración final del aminoácido entre los  $10^{-4}$  hasta los  $10^{-12}\text{M}$ .

Se coloca una gota (de aprox.  $1\mu\text{L}$ ) de esta disolución sobre un sustrato de aluminio, el cual es implementado con papel aluminio alisado y fijado sobre un portaobjetos de vidrio. Este portaobjetos se coloca bajo el microscopio del equipo Raman y se espera que la gota se evapore. Una vez que el agua se ha evaporado, se analizan los residuos presentes con el equipo Raman al monitorear distintas áreas.

# Capítulo 5

## Discusión de resultados

La razón por la que se variaron las concentraciones del Borohidruro de Sodio y del Citrato de Sodio obedecía a cumplir uno de los objetivos principales el cual es tener al menos un método de síntesis del que se tenga control.

El ion Borohidruro se usó aprovechando su poder reductor; por los valores de potencial mostrados en la parte experimental se sabe que al entrar en contacto con la  $Ag^+$ , la reacción de reducción/oxidación que se establece está altamente favorecida y ocurre de manera inmediata; la reacción redox que se pueda establecer entre el ion plata y el ion citrato se subestima, ya que es poco probable que ésta reacción esté favorecida. Se propone entonces, que el rol del ion citrato dentro de la reacción es más como agente modificador de superficie que como reductor.

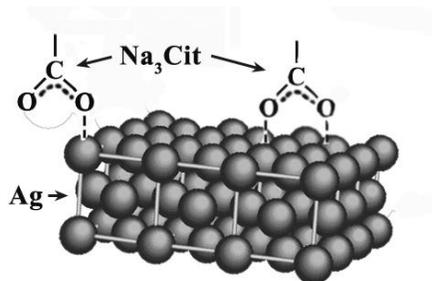
### 5.1 Pruebas de caracterización de los coloides sintetizados

Una de las pruebas principales fue la caracterización óptica, ésta se hizo con ayuda del espectrofotómetro UV- Visible- NIR; también se tomaron imágenes HR-Tem para corroborar lo observado, y una prueba de caracterización secundaria realizada fue el cálculo de sus parámetros colorimétricos (es secundaria porque este cálculo se realizó usando los datos de Transmitancia tomados en el espectrofotómetro UV-Vis).

La medición del espectro UV- Vis de las nanopartículas se realizó el día que fueron sintetizadas y veinticuatro horas después de estar expuestas a la luz blanca. En este periodo de tiempo, se pueden definir dos momentos importantes durante la formación de las nanopartículas:

- El primero de ellos (**nucleación**) se lleva a cabo justo después de agregar el Nitrato de Plata en el seno de la reacción, en este paso se forman las semillas o soles de plata y es en este primer momento en el que los actores principales son la plata reducida ( $Ag^+$ ) y el Borohidruro ( $BH_4^-$ ). Se lleva a cabo el intercambio de electrones entre ambas especies y como resultado se obtiene  $Ag^0$ .

Después de la reducción de la plata por medio del ion Borohidruro, las semillas formadas son enlazadas por el ion citrato de manera simultánea por sus tres grupos carboxilato; cada uno de los grupos carboxilato se llega a enlazar con uno o dos átomos de plata superficiales (Fig. 5.1) [1] y una vez que los grupos citrato forman una capa alrededor de la plata, estos estabilizan los coloides por medio de la repulsión de cargas superficiales; esta última parte se comprobó al medir el potencial eléctrico que se midió en una muestra que no contenía Citrato de Sodio y en otra que sí. Lo observado fue que en ausencia de este ion el potencial eléctrico medido fue de - 810 mV, y en presencia de él, el potencial aumentó trescientas unidades (- 1150 mV). Este cambio en el potencial eléctrico se propone como una consecuencia directa de un aumento en las cargas negativas que evitan la aglomeración de la Plata, favoreciendo así la estabilidad del coloide. Una vez que el ion citrato se encuentra alrededor de la plata, la manera en que estas semillas mantienen su estabilidad, es debida a repulsiones electrostáticas y, en menor medida, estéricas.

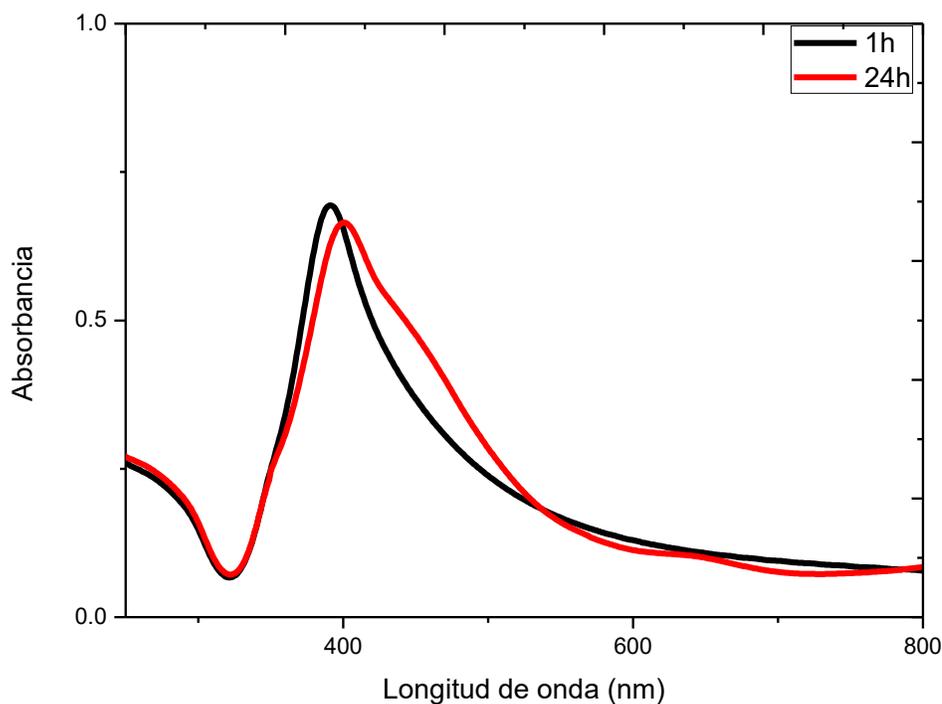


**Fig. 5.1** Esquema representativo de la unión entre el citrato de sodio y las nanopartículas de plata.

Cuando se adiciona energía (por medio de la luz) al sistema, se lleva a cabo el **crecimiento** de las semillas de plata y es en esta parte que se entra al segundo momento de la formación de las AgNP's. Para estudiar ambos momentos de la formación de las nanopartículas, se midieron los espectros UV- Vis de los coloides.

A continuación se presenta cada uno de los nueve coloides, y se comparan sus dos espectros, el que fue tomado el día de síntesis y veinticuatro horas después.

**Coloide A<sup>433</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-3</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-3</sup>)**

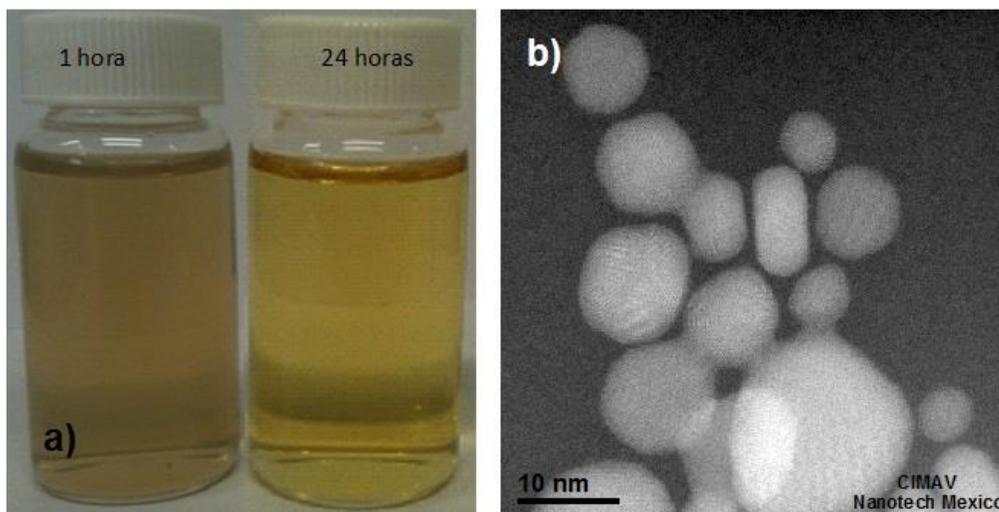


**Fig. 5.2 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>433</sup>, estos fueron tomados el día de la síntesis y veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca.**

El plasmón que aparece posicionado en 390 nm el día de la síntesis (línea en color negro), se muestra simétrico; esta simetría indica una probable dispersión con una distribución de tamaños estrecha y en su mayoría con una geometría esférica. Veinticuatro horas después el plasmón se ensancha, y se nota lo que parece ser una segunda banda en 640 nm, muy poco intensa y bastante ancha; este hecho es debido a que las semillas formadas durante la nucleación siguen acumulándose entre ellas o con partículas de plata. Estas interacciones, se llevan a cabo durante el crecimiento (o segundo momento en la formación de NP's), y es en esta etapa que se llevan a cabo los tres mecanismos anteriormente mencionados en capítulo 3; uno de ellos son las colisiones entre cúmulos (ya sea entre cúmulos muy pequeños o cúmulos muy pequeños con cúmulos muy grandes), dando como resultado nanopartículas esféricas medianamente grandes

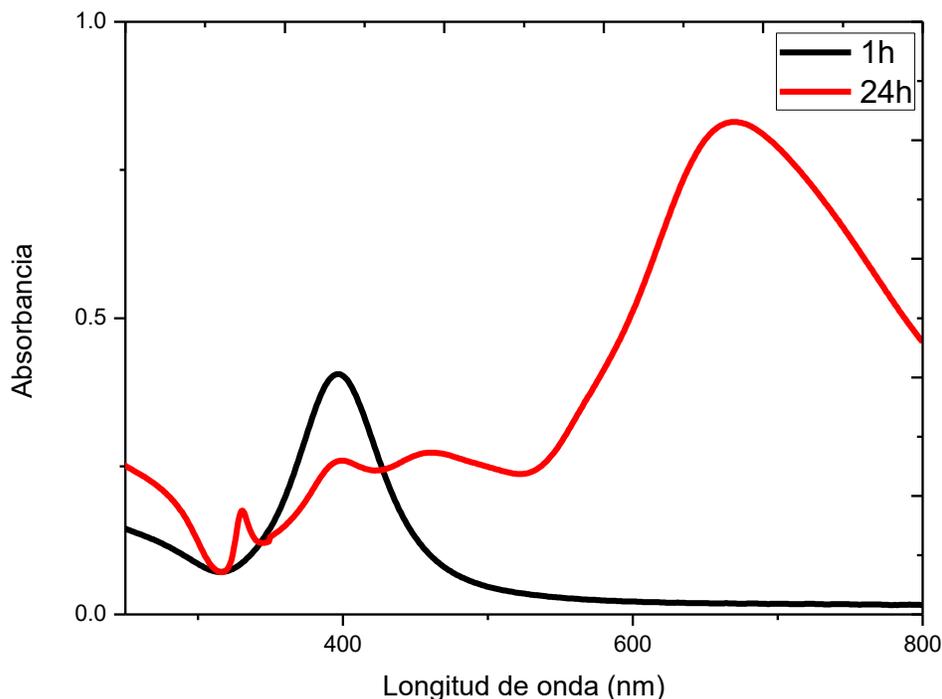
(de hasta 40 nm), también hay colisiones entre partículas y dan como resultado cúmulos con 10 nm de tamaño.

Una pregunta que resulta apropiada es, ¿por qué las esferas formadas durante la segunda etapa no rebasan los 40 nm de tamaño? La razón a la que se atribuye, en este trabajo, es a la concentración de reactivos presentes; en el caso del coloide  $A^{433}$  se tiene la misma concentración de  $NaBH_4$  y Citrato de Sodio (representado como  $Na_3Cit$  a partir de este momento), y estos a su vez están diez veces más concentrados que el Nitrato de Plata. Entonces al tener una mayor concentración molar de Borohidruro de Sodio que de Nitrato de Plata, el primero puede reducir en su totalidad la cantidad de plata presente (y también debido a que guardan una relación molar de 1:4 respectivamente): al ser esto posible, cuando se entra en el segundo momento de la reacción, el mecanismo favorecido es la colisión entre cúmulos muy pequeños, y es por esta razón que los cúmulos finales no rebasan los 40 nm, como se puede apreciar en la figura 5.3. Otra pregunta que surge al ver la figura 5.3, es porqué el color del coloide al inicio es amarillo grisáceo y veinticuatro horas después se nota amarillo claro. La razón de esto es que el día de la síntesis los átomos de plata formados aún no están enlazados por el Citrato de Sodio, y son estos átomos los que dan el color plateado a la muestra; el color desaparece al día siguiente porque estos átomos dan lugar a cúmulos más grandes que ya se encuentran enlazados al ion citrato.



**Fig. 5.3 a) Foto del coloide  $A^{433}$  antes y después de ser expuesto a luz por 24 horas y b) Micrografía HR-Tem del mismo.**

**Coloide A<sup>434</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-3</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-4</sup>)**

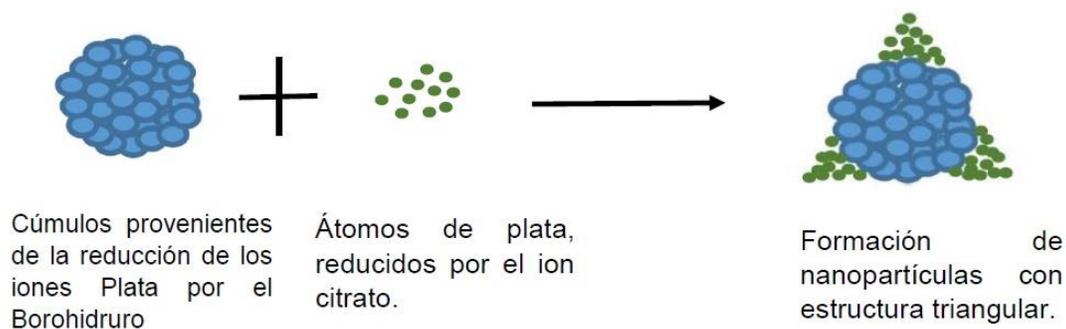


**Fig. 5.4 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>434</sup>, estos fueron tomados el día de la síntesis y veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca.**

El plasmón inicial se encuentra en los 400 nm y es simétrico, características debidas a una probable dispersión con distribución de tamaños estrecha y de forma esférica.

Pasadas veinticuatro horas se observan tres bandas en el plasmón (en 400, 460 y 650 nm), siendo la ultima la más intensa y más ancha; este hecho es debido a un cambio de la geometría, específicamente a una geometría triangular (figura 5.5). Retomando la idea de que las concentraciones de los reactivos son las que determinan la evolución de las NP's, en este coloide se tiene la misma concentración de Nitrato de Plata y Borohidruro de Sodio (guardan una relación molar de 4:1), y a su vez el Citrato de Sodio se encuentra diez veces más concentrado que los dos anteriores. Así al estar en mayor concentración el ion citrato puede llegar a intervenir durante el primer momento de la síntesis, reduciendo una parte de los iones plata, el ion Borohidruro también participa ya que a pesar de que tiene la misma concentración que el Nitrato de Plata sigue estado en exceso por la relación molar que guardan ambos. De esta manera cuando los coloides se exponen a la luz, cuentan dentro de su población a

partículas de plata reducidas y enlazadas por el ion citrato pero también existen iones citrato libre. Se propone que son estos últimos dos los que guían el crecimiento de las NP's hacia geometrías triangulares. Como se mencionó en el capítulo tres, existen métodos de síntesis en los que el ion citrato funciona como reductor; se propone que en el caso de este coloide (por haber una ausencia de iones Borohidruro libre), el ion citrato reduce los iones plata con ayuda de la energía proporcionada por la luz y, si se recuerda también la figura 3.1, se sabe que la etapa de crecimiento ocurre por medio de tres mecanismos de agregación; para este coloide se propone que el mecanismo que está favorecido es en el que colisionan átomos con cúmulos. Siendo así, en el medio de reacción se tienen cúmulos (provenientes de la reducción de la plata por el ion Borohidruro), y a ellos se les agregan los átomos recién reducidos por el ion citrato, estos últimos se van agregando uno sobre otro, y así se van formando las esquinas. Para mayor claridad, se puede ver la figura 5.5

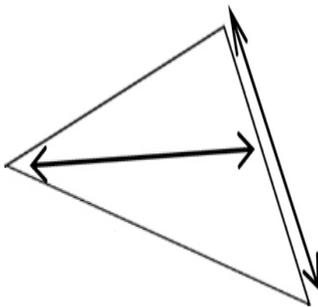


**Fig. 5. 5 Formación de nanopartículas triangulares, por medio de colisiones entre cúmulos y átomos de plata.**

Es importante mencionar, que durante la etapa de crecimiento de las nanopartículas, el coloide se encuentra sin ningún tipo de agitación mecánica; únicamente está siendo afectado por la luz a la que es expuesto. Razón por la que se puede proponer que los átomos, provenientes de la reducción de iones plata por iones citrato, no se aglomeran en forma de anillo sobre los cúmulos ya existentes.

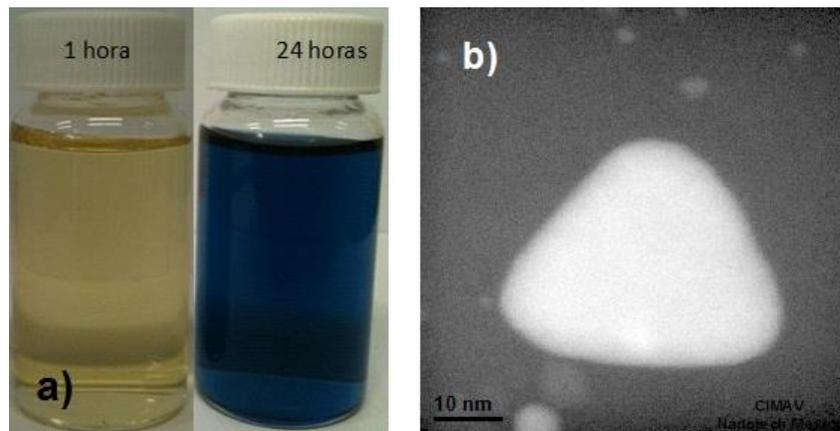
Ahora bien, otro aspecto que se debe explicar es por qué las nanopartículas, que se sabe son de forma triangular, dan lugar a tres bandas en su plasmón. Como se mencionó en la parte de antecedentes, el plasmón es una consecuencia directa de las oscilaciones colectivas de los electrones (de la capa de conducción de un metal), cuando son perturbados de su posición de equilibrio por medio de un factor externo, por una onda electromagnética como la luz, por ejemplo. Teniendo en cuenta el carácter anisotrópico de las nanopartículas, estos electrones de la capa de conducción oscilan con diferentes amplitudes a lo largo de los ejes de la

nanoestructura; estas oscilaciones distintas tienen como consecuencia la división del plasmón en varias bandas, o dicho con otras palabras: el número de maneras en que los electrones de la estructura pueden ser polarizados. Para el caso concreto del coloide  $A^{445}$  se tienen tres bandas, la primera debida a que hay presencia de nanopartículas esféricas que también contribuyen, en menor medida, y son las responsables del plasmón situado alrededor de 400 nm, los plasmones situados en 490 nm y 690 nm son debidos debido a que los electrones de las estructuras triangulares se polarizan hacia dos direcciones diferentes: largo y ancho. La figura 5.6 muestra las direcciones en como son estos electrones polarizados; en la figura 5.7 se aprecia una imagen TEM tomada del coloide, así como una foto del mismo.



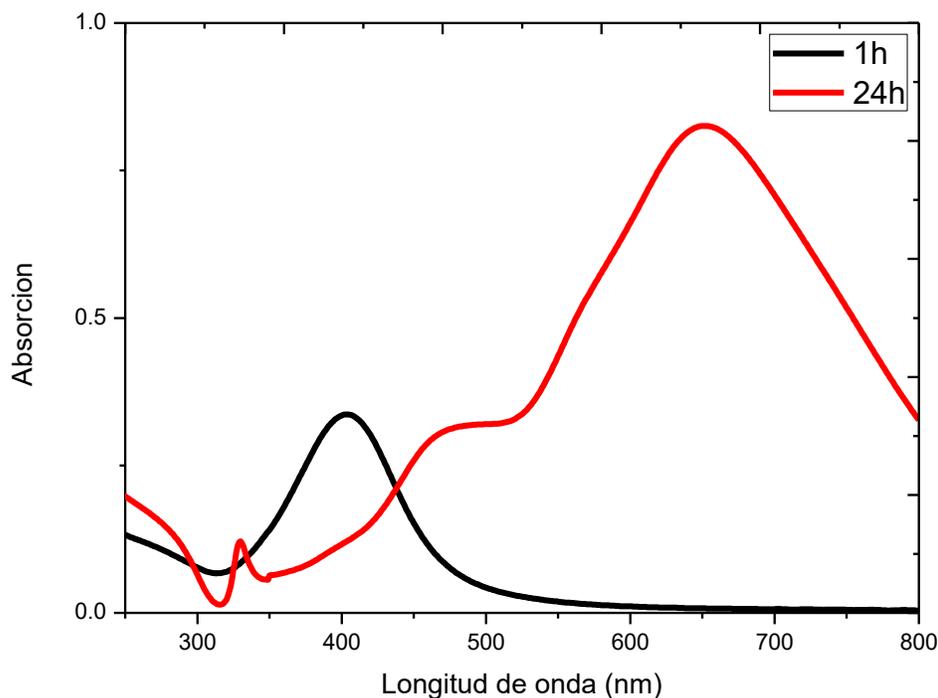
**Fig. 5. 6 Direcciones en las que los electrones de las nanopartículas triangulares son polarizados al ser perturbados por una onda electromagnética.**

En este caso, el coloide presentó el día de su síntesis un color ámbar y veinticuatro horas después era color azul, hecho que comprueba que las formas de las nanopartículas también afectan al color de los coloides.



**Fig. 5.7 a) Foto del coloide  $A^{434}$  antes y después de ser expuesto a luz por 24 horas y b) Micrografía HR - Tem del mismo.**

**Coloide A<sup>435</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-3</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-5</sup>)**



**Fig. 5.8 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>435</sup>, estos fueron tomados el día de la síntesis y veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca.**

Como en los dos casos anteriores, el plasmón inicial aparece posicionado alrededor de los 400 nm y se muestra simétrico; esta simetría indica una probable dispersión con una distribución de tamaños estrecha y en su mayoría con una geometría esférica.

El plasmón tomado veinticuatro horas después, muestra dos bandas (en 470 nm y en 650 nm); el color que presentó es azul (igual que el anterior), razón que permite pensar que su estructura es triangular también. Otro hecho que sostiene esta idea es la posición de las bandas del plasmón, las cuales se encuentran aproximadamente en la misma posición que el anterior (460 y 650 nm contra 470 y 650 nm respectivamente). La diferencia entre ambas radica en que esta última solo presenta dos bandas mientras que la anterior presentaba tres, este hecho indica que para este coloide la población de nanopartículas esféricas es mínima, recuérdese que son estas geometrías las que presentan plasmones alrededor de los 400 nm.

Igual que el coloide anterior, este presentó el día de su síntesis un color ámbar y veinticuatro horas después era color azul.

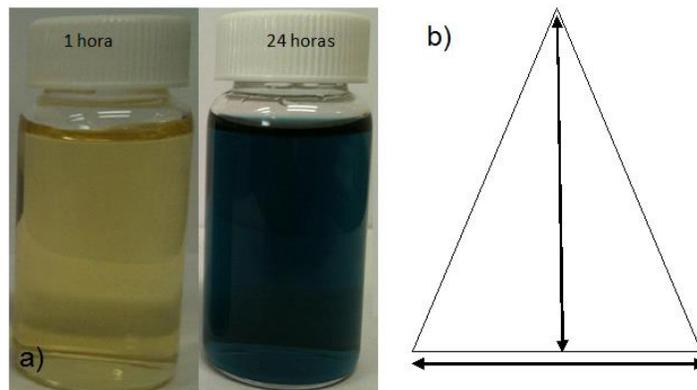


Fig. 5. 9 Foto del coloide  $A^{435}$  antes y después de ser expuesto a luz por 24 horas y b) Direcciones en el plano en las que los electrones de las nanopartículas triangulares son polarizados al ser perturbados por una onda electromagnética. Para este coloide no se cuenta con imagen HR-TEM

Coloide  $A^{443}$  ( $[AgNO_3]= 10^{-4}$ ,  $[Na_3Cit]= 10^{-4}$ ,  $[NaBH_4]= 10^{-3}$ )

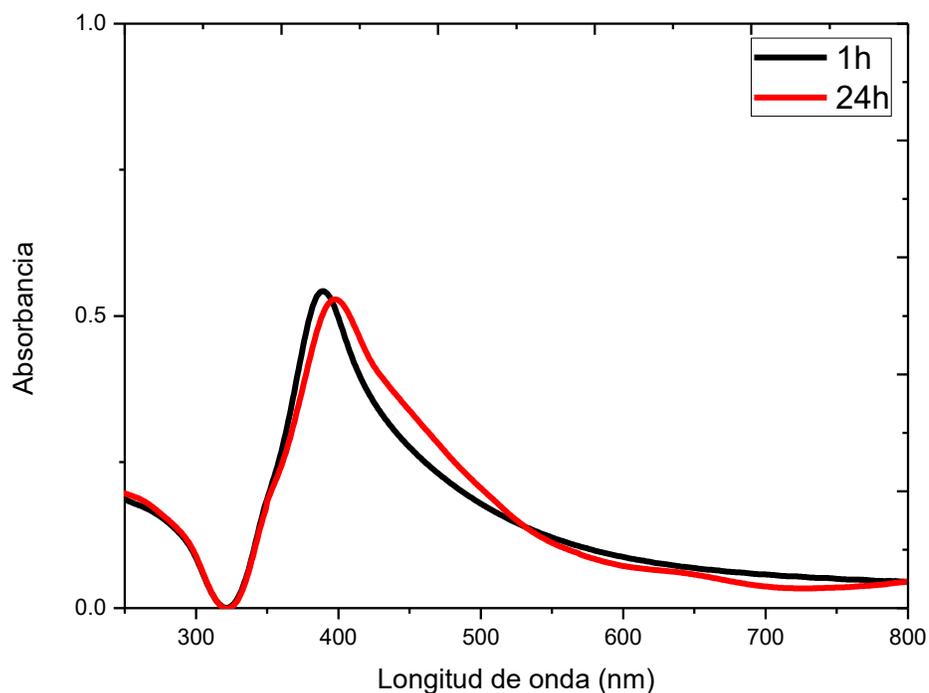
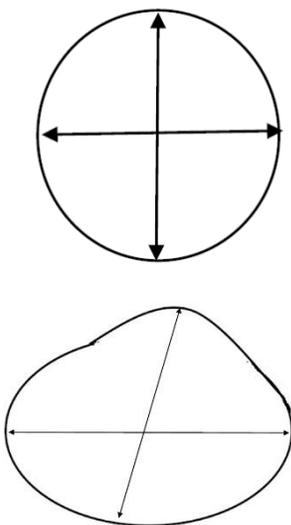


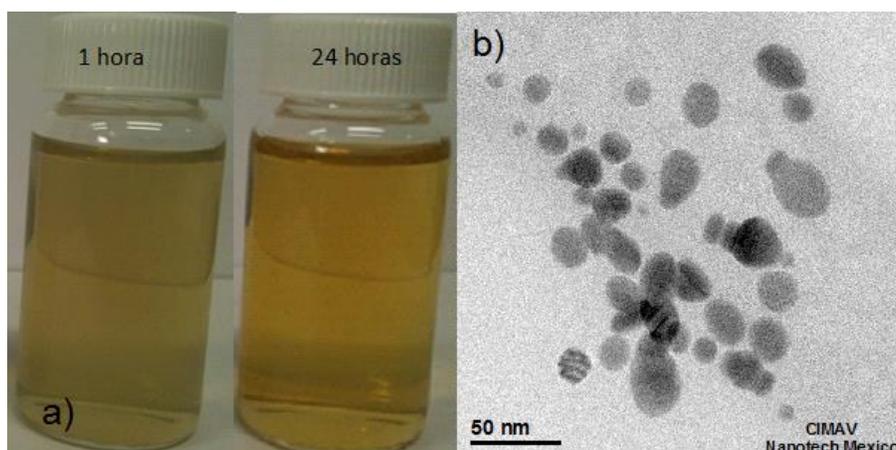
Fig. 5.10 Espectros UV-Vis del coloide  $A^{443}$ , estos fueron tomados el día de la síntesis y veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca.

Para este coloide a diferencia de los tres anteriores, el plasmón inicial que presenta se nota más ancho pero sigue mostrándose simétrico, este hecho denota estructuras de una dispersión con una distribución de tamaños menos estrecha que sus antecesores, pero manteniendo una geometría esférica.

El plasmón tomado veinticuatro horas después, mantiene su banda alrededor de los 400 nm, y presenta lo que parece ser un hombro en los 450 nm. Como ya se mencionó la relación que guardan el número de bandas con el número de maneras en que se polarizan los electrones de la banda de conducción, se puede concluir que las estructuras veinticuatro horas después siguen siendo esféricas pero con aglomeraciones irregulares sobre la superficie de las mismas (Fig. 5.11). Otro factor que sostiene esta propuesta son los reactivos, que en el caso de este coloide se tiene una misma concentración de  $\text{Na}_3\text{Cit}$  y  $\text{AgNO}_3$ . Recordando que la relación molar que guardan los iones Plata con el ion Borohidruro es 4:1 respectivamente, es correcto pensar que durante el proceso de nucleación hay reductor suficiente para transformar todos los iones plata disponibles en átomos de plata; estos últimos se aglomeran para formar clusters, los cuales durante el proceso de crecimiento colisionan unos con otros y dan lugar a la formación de estructuras esferoidales irregulares. Este tipo de estructuras se pueden representar esquemáticamente como se muestra en la figura 5.11, en la cual se compara la manera en que los electrones de una estructura esférica oscilan, con la manera de oscilación en esferas irregulares. Esta comparación explica la presencia de un hombro en la banda del plasmón.

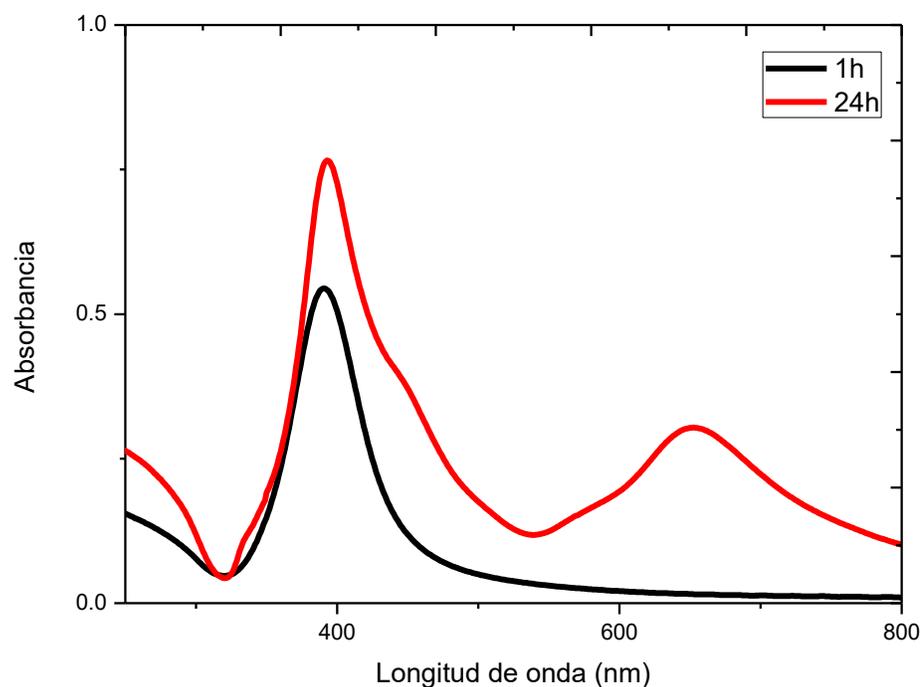


**Fig. 5.11 Comparación esquemática entre la manera en que se polarizan los electrones de una estructura esféricas con una esférica irregular. Como puede apreciarse, en ambas la polarización ocurre en dos direcciones, pero en la primera los electrones tienen una misma oscilación y en consecuencia generan una banda de plasmón única; en la segunda estructura estas oscilaciones no son similares, lo que conlleva a la formación de un hombro en la banda del plasmón.**



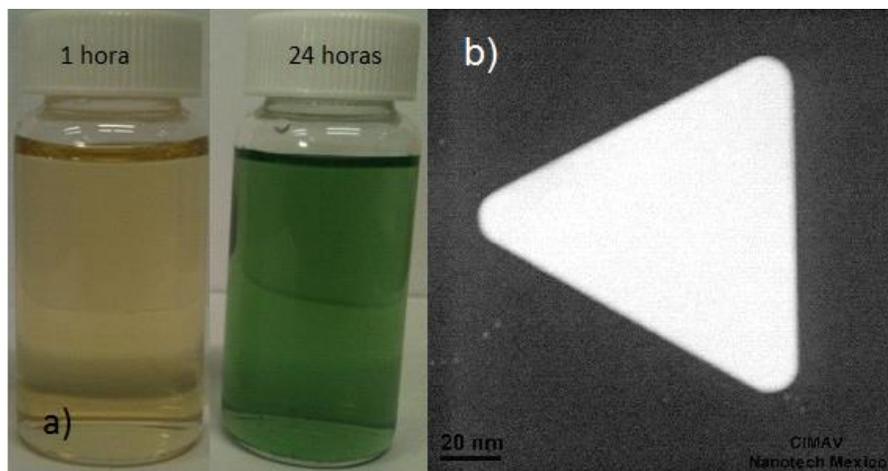
**Fig. 5.12 a) Foto del coloide A<sup>443</sup> antes y después de ser expuesto a luz por 24 horas y b) Micrografía HR-Tem del mismo.**

**Coloide A<sup>444</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-4</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-4</sup>)**



**Fig. 5.13 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>444</sup>, estos fueron tomados el día de la síntesis y veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca.**

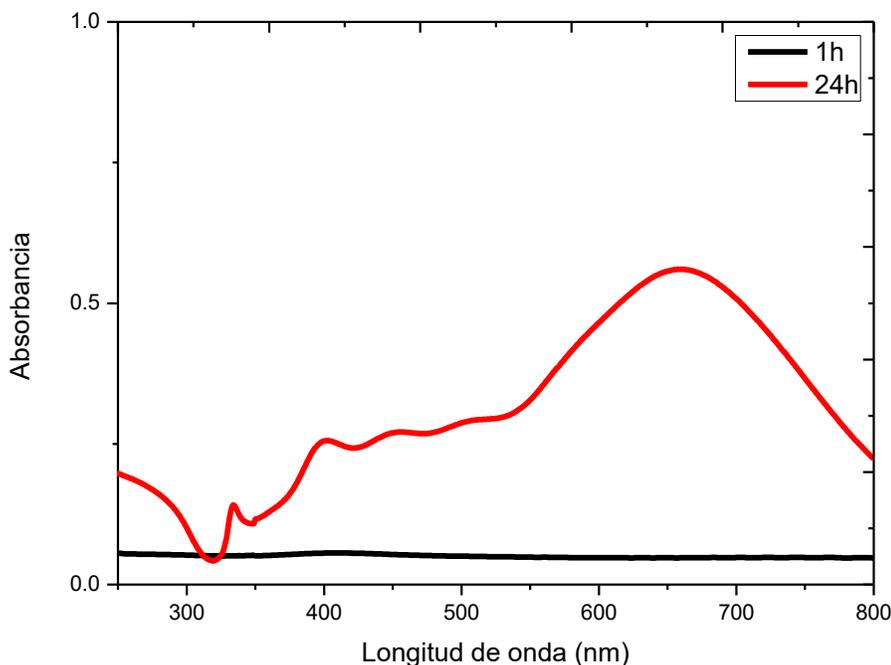
Como en los coloides anteriores, el plasmón inicial de éste se muestra simétrico; esto es debido a nanopartículas con una estrecha distribución de tamaños y de estructura esférica. En el plasmón tomado veinticuatro horas después, se notan dos bandas definidas pero ambas con sus respectivos hombros; la posición de estas bandas y hombros es 400, 460, 600 y 650 nm. Una imagen de este coloide se muestra en la figura 5.14 y se nota que su estructura es triangular, pero a diferencia de los coloides  $A^{434}$  y  $A^{435}$ , presenta una forma mejor definida y de mayor tamaño.



**Fig. 5.14 a) Foto del coloide  $A^{444}$  antes y después de ser expuesto a luz por 24 horas y b) Micrografía HR-Tem del mismo.**

Al estudiar los plasmones junto con la imagen TEM, y tomando como antecedentes los coloides  $A^{434}$  y  $A^{435}$  también, se puede relacionar el plasmón posicionado en 650 nm a las oscilaciones de los electrones de las estructuras triangulares, y las oscilaciones debidas a las estructuras esféricas dan lugar al plasmón posicionado en 400 nm. Es importante mencionar que el plasmón en 400 nm es notablemente más intenso que el de 650 nm, este hecho deja pensar que la población de estructuras esféricas es mayor que la de triangulares, y la presencia de hombros en ambos se debe a pequeños aglomerados sobre las estructuras, algo parecido a lo que ocurre con el coloide  $A^{443}$ . Para el caso de este coloide, el color mostrado el día de la síntesis fue ámbar, y veinticuatro horas después se nota verde.

**Coloide A<sup>445</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-4</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-5</sup>)**



**Fig. 5.13 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>445</sup>, estos fueron tomados el día de la síntesis y veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca.**

Este coloide no muestra plasmón inicial, este hecho no necesariamente quiere decir que no hay nanopartículas, lo que ocurre es que las nanoestructuras son de tamaños menores a los 5 nm, y como se ha reportado en estas dimensiones las NP's no muestran plasmón visible [2]; el tamaño de dichas nanopartículas es debido, una vez más, a la cantidad de reactivos presentes. En este caso se tiene al Citrato de Sodio diez veces más concentrado que el Borohidruro de Sodio. Así al estar en mayor concentración el ion citrato puede llegar a intervenir durante el primer momento de la síntesis, reduciendo una parte de los iones plata, el ion Borohidruro también participa ya que a pesar de que tiene la misma concentración que el Nitrato de Plata sigue estado en exceso por la relación molar que guardan ambos, esto da lugar a que se formen cúmulos muy pequeños que, como se comprueba en el espectro UV- Vis, no rebasan los 5 nm de tamaño.

Veinticuatro horas después de ser expuestos a luz, el plasmón que se observa muestra una banda bien definida y tres más que no son tan intensas, estas bandas se encuentran en los 401, 453, 508 y 656 nm. Al comparar estos valores con los que muestra el coloide anterior (400, 460, 600 y 650 nm), y por el color que tiene (Fig. 5.14) se puede proponer que la estructura que adoptó este coloide

también es triangular, aunque con una mayor población de triángulos que de esferas, pero estos triángulos quizá no tan definidos como con el coloide anterior y tal vez muestre pequeñas aglomeraciones en sus caras, o tengas las esquinas achatadas, estos se supone por el tipo de bandas que muestra su plasmón (no tan bien definidas y bastante anchas).



Fig. 5. 14 Foto del coloide A<sup>445</sup> antes y después de ser expuesto a luz por 24 horas. Para este coloide no se cuenta con imagen HR-TEM

**Coloide A<sup>453</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-5</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-3</sup>)**

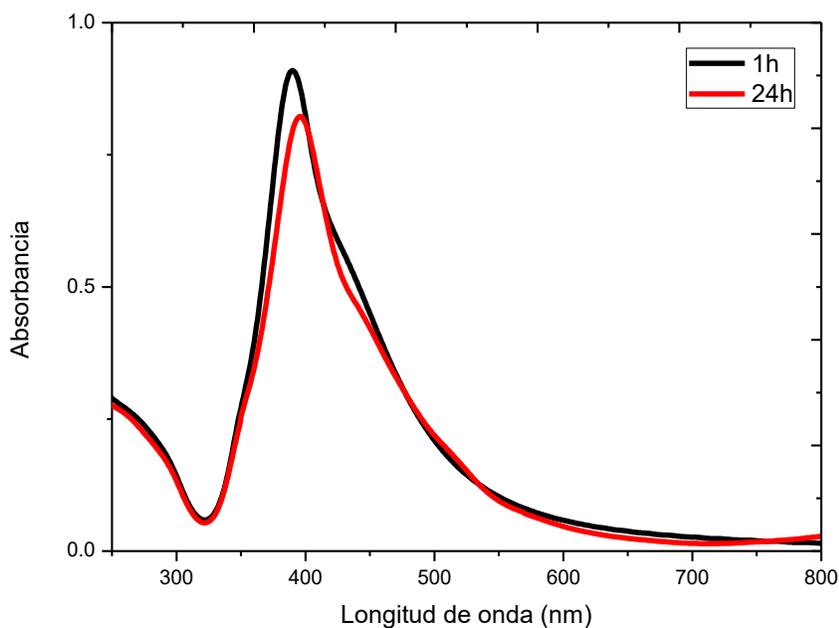


Fig. 5.15 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>453</sup>, estos fueron tomados el día de la síntesis y veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca.

El plasmón inicial que presenta es simétrico e intenso, este hecho denota estructuras de una dispersión con una distribución de tamaños estrecha, pero manteniendo una geometría esferoidal, la cual desde el inicio parece ser irregular ya que la banda del plasmón muestra un pequeño hombro. Después de veinticuatro horas, la intensidad disminuye y su ancho aumenta, hecho debido a que la distribución de tamaños aumenta, debido a que se forman estructuras de mayor tamaño al inicial, no se puede decir con exactitud el tamaño de estas ya que no se cuenta con imágenes TEM, pero si se toma como referencia el coloide A<sup>443</sup>, se puede suponer que los tamaños oscilan entre los 20 – 60 nm.



Fig. 5.16 Foto del coloide A<sup>453</sup> antes y después de ser expuesto a luz por 24 horas. Para este coloide no se cuenta con imagen HR-TEM

**Coloide A<sup>454</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-5</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-4</sup>)**

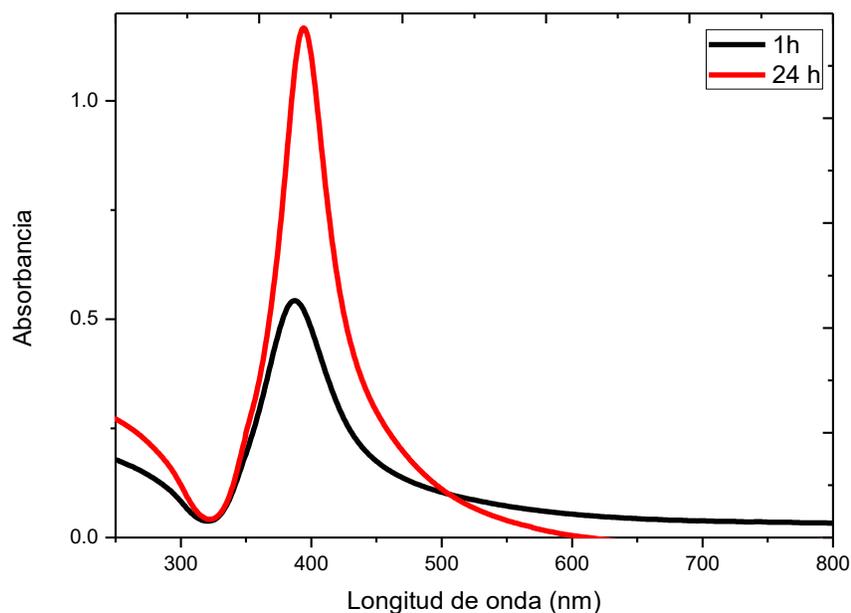


Fig. 5.17 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>454</sup>, estos fueron tomados el día de la síntesis y veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca.

Este coloide presenta una particularidad, y es que su plasmón inicial tiene la mitad de intensidad que el mostrado veinticuatro horas después. Ambos son estrechos, confirmando que se trata de estructuras esféricas con una dispersión con una distribución de tamaños estrecha. Como se explicó en los antecedentes, la intensidad del plasmón está directamente relacionada a la simetría que guardan las nanopartículas unas con otras; para entender esta diferencia de intensidades, se puede recurrir una vez más a la concentración de reactivos, en este coloide se tiene una mayor concentración de Borohidruro de Sodio seguida por el Citrato de Sodio. Como se ha propuesto en coloides anteriores, se propone que al estar en mayor concentración el ion citrato puede llegar a intervenir durante el primer momento de la síntesis, reduciendo una parte de los iones plata, y logran estabilizar también todos los átomos de plata que son reducidos por el ion Borohidruro. Este último se encuentra con la concentración necesaria para reducir todos los iones plata (como se mostró antes, estos dos guardan una relación molar de 4:1), así que cuando ocurre el mecanismo de nucleación, los átomos de plata son enlazados por iones citrato teniendo cúmulos pequeños, (de entre 10 – 20 nm) y para que durante el proceso de crecimiento se acumulen entre ellos y formen cúmulos más grandes (con tamaños que rebasan los 40 nm y hasta los 80 nm) y guardando una relación simétrica similar; esto explica porque el plasmón veinticuatro horas después es más intenso que el inicial.

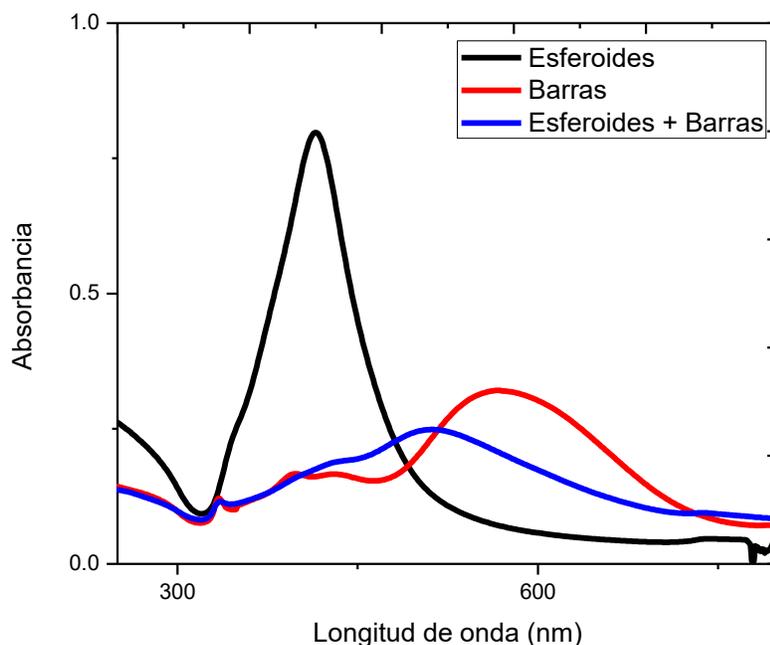


**Fig. 5. 18 Foto del coloide A<sup>454</sup> antes y después de ser expuesto a luz por 24 horas. Para este coloide no se cuenta con imagen TEM**

#### **Coloide A<sup>455</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-5</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-5</sup>)**

A diferencia de los otros ocho coloides anteriores este, a lo largo de toda la investigación, fue el que presentó un comportamiento más peculiar. Algo que siempre mantuvo, fue la ausencia de plasmón cuando estaba recién sintetizado (que es debido a que el tamaño de las nanopartículas iniciales no rebasa los 5 nm). Pero una vez que llevaba veinticuatro horas expuesto a luz blanca, el plasmón y en consecuencia el color observable era diferente en cada caso. Por ejemplo, en uno de los experimentos, el plasmón que presentó fue uno intenso,

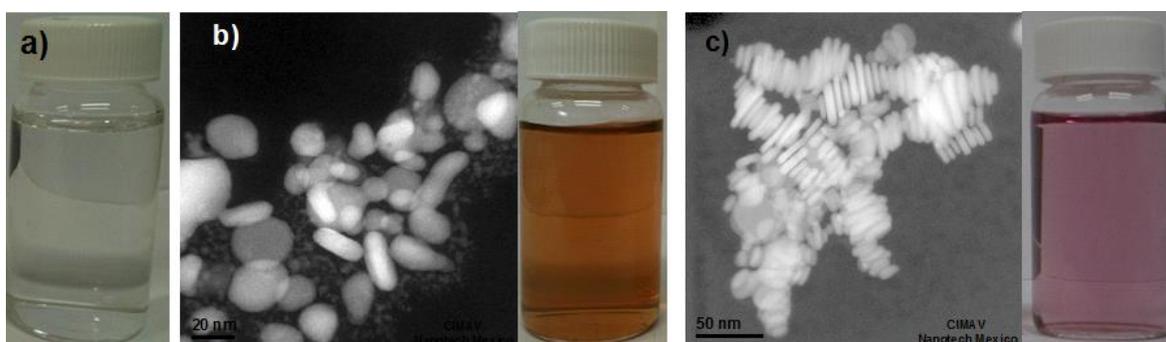
muy poco ancho y ubicado en 400 nm, en otro se nota un plasmón con dos bandas (410 nm y 580 nm), en algunos casos, aparece un plasmón ubicado en 500 nm o 550 nm, y en otros aparece un plasmón en 600 nm (Fig. 5.19), es importante aclarar que los espectros mostrados en esta figura (5.19) pertenecen al mismo coloide pero realizado en diferentes sesiones.



**Fig. 5.19 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>455</sup>, estos fueron tomados veinticuatro horas después de ser expuestos a luz blanca. El día de la síntesis no mostraba plasmón.**

Siguiendo con el tipo de análisis llevado hasta ahora, se puede recurrir a la concentración de reactivos para explicar el comportamiento; en este coloide se tiene la misma concentración del Borohidruro y Citrato de Sodio, pero estos dos están diez veces menos concentrados si se comparan con el Nitrato de Plata, aunque el Nitrato de Plata sigue siendo el reactivo limitante debido a la relación molar que guarda con ambos (4:1). Se propone así que, durante la nucleación de las semillas de plata se da lugar a la formación de nanopartículas muy pequeñas (menos de 5 nm de tamaño). Una vez que se le agrega energía al sistema, se propone que cada uno de los tres fenómenos que se mencionan en la figura 3.1 están favorecidos por igual y son las pequeñas variaciones externas las que determinan cuál de los tres será el que determine el camino final; en el primero de ellos únicamente ocurren colisiones entre los cúmulos iniciales y se forman estructuras esféricas con una dispersión de tamaños estrecha; estas estructuras son las que presentan un plasmón intenso y estrecho alrededor de los 400 nm. En el segundo mecanismo, es probable que la formación de estructuras sea llevado

por medio de las colisiones entre átomos solamente, esto ocasiona que se siga cierto orden durante el acomodo y así se da lugar a la formación de barras con hasta 50 nm de tamaño; estas estructuras son las que presentan un plasmón poco intenso y ancho, el cual tiene dos bandas, una en 410 nm y otra en 580 nm. En el tercer mecanismo, ocurren las colisiones entre únicamente átomos, entre átomos y cúmulos y entre cúmulos; esto da lugar a que se formen barras pero también esferas. Lo descrito antes, se corroboró con imágenes TEM, en las cuales se observa que los coloides que siguieron el primer camino mantuvieron una estructura esférica, y los que tomaron el segundo camino, asumieron forma de barras, en la tercera, los coloides presentan una mezcla de formas entre esferas y barras ( Fig. 5.20)



**Fig. 5.20 a) Foto del coloide A<sup>455</sup> el día de la síntesis y b) y c) Micrografías HR-TEM en las que se muestran las diferentes geometrías esferas y barras. Se muestran también fotos de los coloides en cuestión.**

Después de realizar el análisis anterior se pueden establecer las conclusiones siguientes:

- La concentración de cada reactivo en el seno de la reacción, es un factor de alta importancia en el desarrollo del coloide, ya que las estructuras que tomen las nanopartículas dependerá de estas concentraciones. Es importante aclarar que para definir las concentraciones finales de los precursores, en este estudio se trabajó con varias combinaciones posibles de ellos, pero estos experimentos se desestimaron porque, o bien llevaron a la formación de semillas pequeñas que no cambiaban su estructura esferoidal, o que durante las veinticuatro horas se precipitaban en forma de cúmulos sin forma de hasta 200 nm de tamaño.
- El agregar luz es útil porque, además de proporcionar la energía necesaria para favorecer el crecimiento de las NP's, también disminuye los tiempos en que se lleva a cabo la reacción. Asimismo se realizaron experimentos en los que después

de la síntesis, los coloides no eran expuestos a luz, algunos casos llegaron a mostrar un crecimiento pero era en cuestión de semanas.

- Otro factor de la luz que se piensa influyó en la formación de las estructuras es que para este estudio fue luz en un rango de 400 -750 nm. Se realizaron también estudios de crecimiento de nanopartículas expuestas a una sola longitud de onda, las cuales también evolucionaron, pero este crecimiento tomó meses.

- Aun cuando se pudo controlar el crecimiento de las nanopartículas, se comprobó también que este tipo de sistemas es muy dinámico, ya que hubo sesiones de síntesis en las que los coloides obtenidos no crecían hacia nuevas estructuras o, como el caso del coloide A<sup>455</sup>, presentaban diferentes estructuras. Este hecho fomentó que las sesiones de síntesis fueran muchas, para poder dominar la técnica y poder presentar los resultados de la manera en que son aquí mostrados.

## **5. 2 Estudio de estabilidad**

Para conocer mejor el comportamiento de las nanopartículas, se estudió su estabilidad en el transcurso del tiempo; esta parte se hizo analizando la evolución del plasmón por un tiempo máximo de seis meses y durante este tiempo, los coloides estuvieron expuestos a luz blanca, y se les tomaron de manera rutinaria espectros UV–Vis.

Además de conducir este estudio en la serie de coloides original, se hizo una serie a la que se les agregó Polivinilpirrolidona (PVP), el cual es un polímero de cadena larga que se usa como estabilizante estérico; esta serie se sintetizó para comprobar el efecto de un estabilizante estérico durante el crecimiento de las nanoestructuras. El proceso de síntesis fue el mismo, la diferencia es que el polímero se agregó después del Borohidruro de Sodio y antes del Nitrado de Plata; se agregó la cantidad necesaria para que tuviera una concentración final molar de  $10^{-4}$ .

Los parámetros del plasmón que se estudiaron son: la posición de su banda (o bandas) máxima, la intensidad de estas bandas y el ancho medido a la mitad de la banda, el análisis completo de estos parámetros se muestra en el anexo I. A continuación se muestran los resultados y estos están ordenados de la siguiente manera: del lado izquierdo se presentan los gráficos que contienen la serie de espectros de absorción tomados desde el momento de la síntesis de cada coloide y hasta los seis meses y del lado derecho se encuentran los mismos espectros pero correspondientes al coloide con PVP. Debajo de estos, se muestran fotos del coloide, para observar como cambió su apariencia en los seis meses.

Coloide  $A^{433}$  ( $[AgNO_3]= 10^{-4}$ ,  $[Na_3Cit]= 10^{-3}$ ,  $[NaBH_4]= 10^{-3}$ )

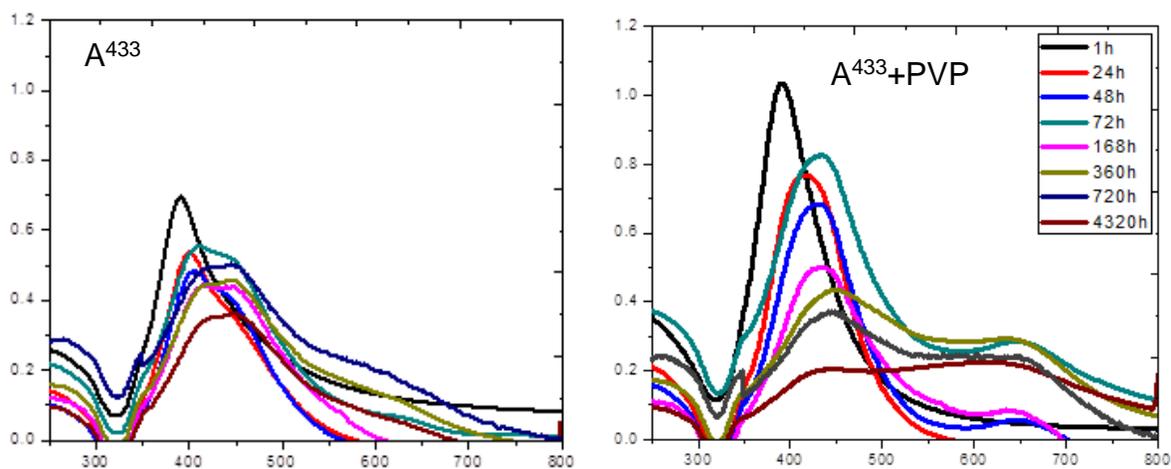


Fig. 5.21 Espectros UV-Vis del coloide  $A^{433}$  con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.

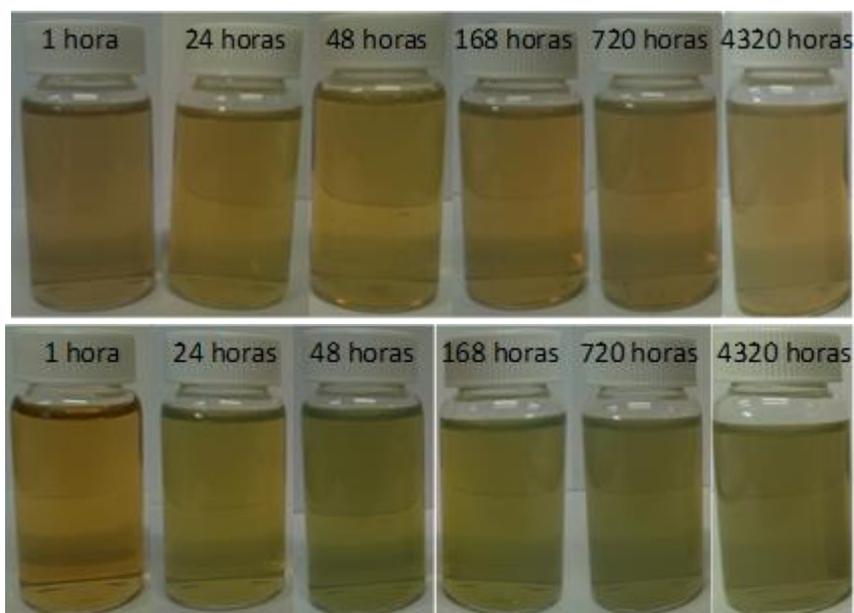


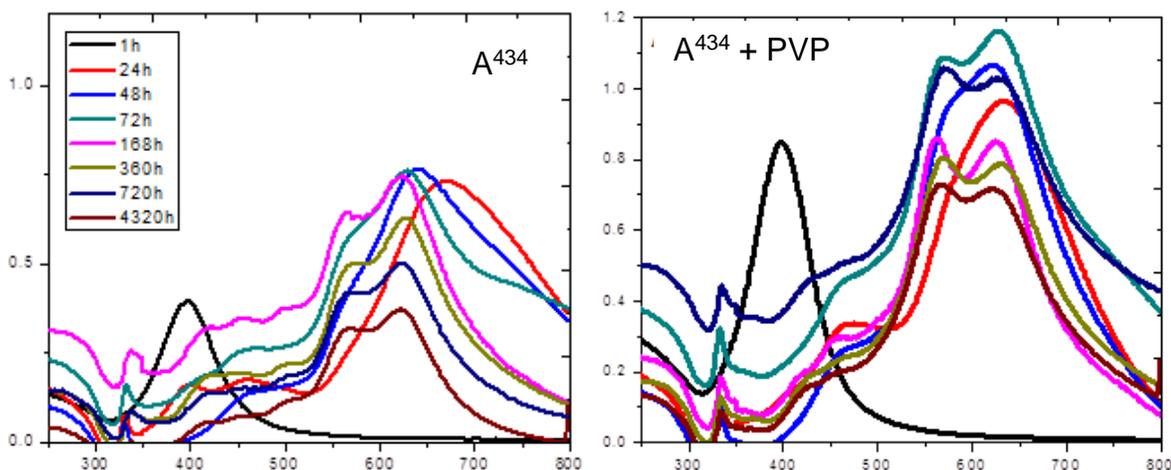
Fig. 5.22 Imágenes de los coloides  $A^{433}$  durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.

Observaciones particulares:

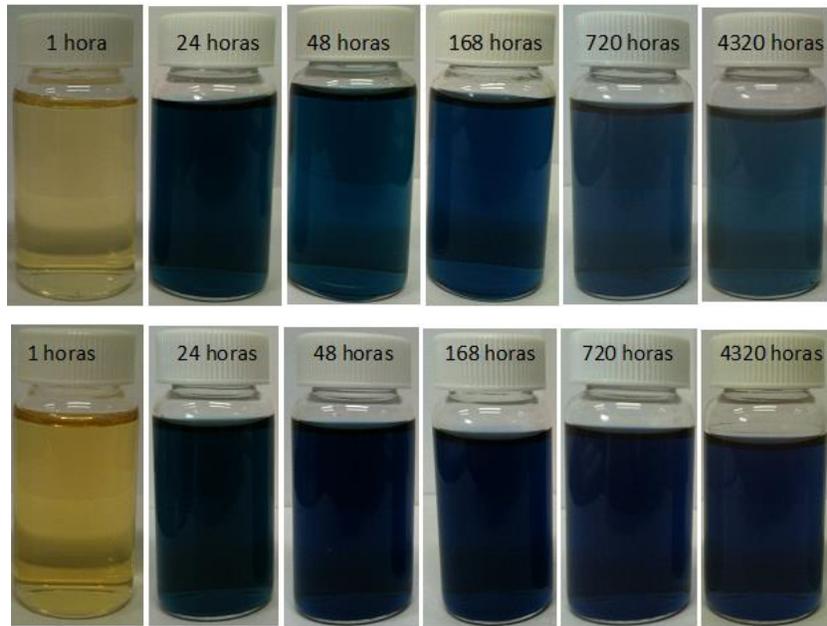
Al comparar los gráficos se nota que el día de la síntesis, tanto el plasmón del coloide sin PVP (nombrado desde ahora como sE), como el que contenía PVP (referido desde ahora como cE) presentaban una intensidad y ancho similar, pasadas 24 horas el plasmón del sE aumentó su ancho pero mantuvo su intensidad y es a las 48 horas cuando pierde intensidad y se mantiene así hasta los seis meses. El plasmón del cE inicia con una gran intensidad y ancho, se mantiene así hasta las 48 horas; a las 76 horas aumenta su ancho pero no pierde su intensidad y es en este tiempo en el que surge una segunda banda posicionada en los 650 nm, poco intensa y poco ancha. A partir de las 168 horas ambas bandas pierden intensidad y aumentan su ancho, comportamiento que mantienen hasta las 720 horas, en este tiempo ambas bandas se hacen más anchas.

Con respecto a la posición del plasmón, el comportamiento de sE y cE es similar: empiezan posicionados en los 390 nm, y su recorrido en el tiempo es gradual para finalizar en los 450 nm. Para la segunda banda del plasmón de cE, esta se mantiene todo el tiempo alrededor de los 650 nm.

**Coloide  $A^{434}$  ( $[AgNO_3]= 10^{-4}$ ,  $[Na_3Cit]= 10^{-3}$ ,  $[NaBH_4]= 10^{-4}$ )**



**Fig. 5.23 Espectros UV-Vis del coloide  $A^{434}$  con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.**



**Fig. 5.24** Imágenes de los coloides  $A^{434}$  durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.

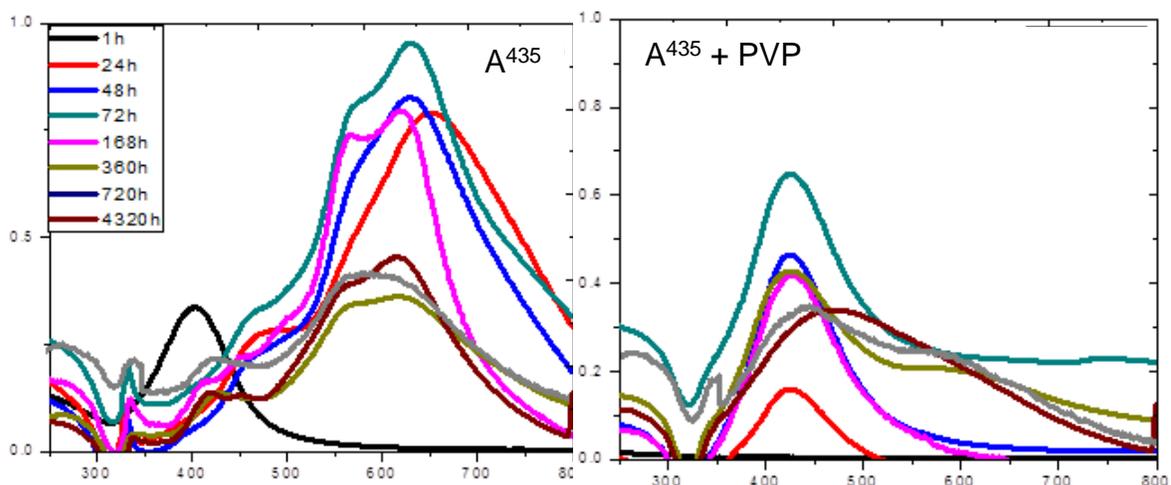
Observaciones particulares:

Se nota que a lo largo de los seis meses ambos coloides mostraron hasta cinco bandas en su plasmón. Para el caso del sE, al inicio tiene un plasmón (en 400 nm) estrecho y de intensidad media, mantiene estas características hasta los seis meses. A la par de este plasmón, en veinticuatro horas aparecen dos más, posicionadas en 450 nm y 680 nm, el de 450 nm se mantiene desde su aparición y hasta las 168 horas (tiempo en que desaparece) poco intensos y estrechos. El plasmón de los 680 nm inicia ancho e intenso, a las 168 horas, disminuye su ancho e intensidad y mantiene estas características hasta los seis meses, con la diferencia que a partir de las 720 horas disminuye su intensidad original. Posicionados en los 500 nm y 580 nm hay dos plasmones más, el de 500 nm se nota estrecho y medianamente intenso al inicio pero a las 360 horas pierde intensidad y se mantiene hasta los seis meses estrecho y poco intenso. Con respecto al plasmón en 580 nm, este inicia estrecho e intenso, es hasta las 360 horas en que pierde intensidad manteniéndose así hasta los seis meses. Hay un plasmón más que aparece a las 48 horas y que se mantiene durante los seis meses estrecho e intenso.

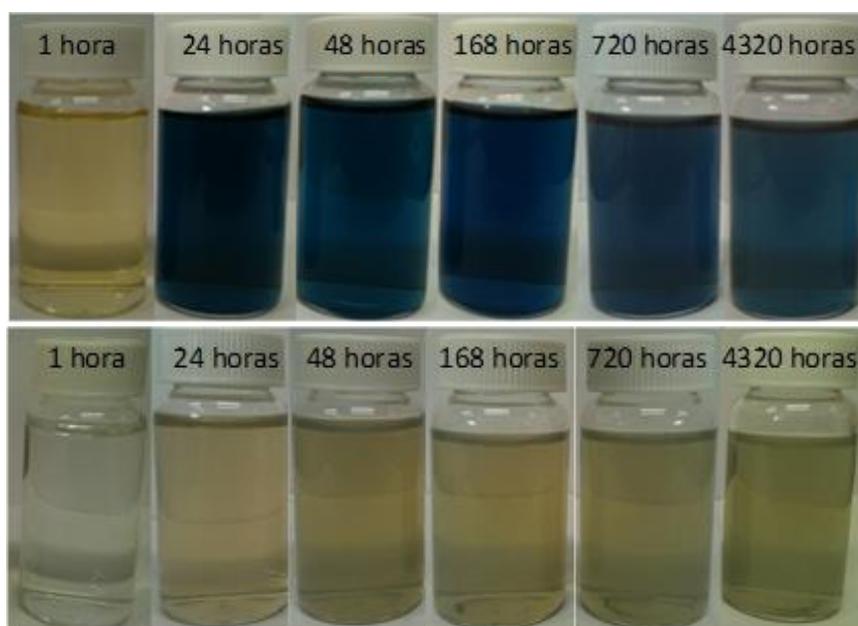
Para el caso del cE, este inicia con un plasmón posicionado en los 400 nm, muy intenso y estrecho pero que desaparece a las 24 horas, tiempo en el que aparecen dos plasmones más posicionados cada uno en los 480 nm y en los 640 nm. El de 480 nm empieza estrecho y de intensidad media, en las 360 horas se nota ancho y

poco intenso; y a partir de las 720 horas y hasta los seis meses, se mantiene estrecho pero menos intenso. El de 640 nm empieza medianamente ancho e intenso, características que mantiene hasta los seis meses.

**Coloide  $A^{435}$  ( $[AgNO_3]= 10^{-4}$ ,  $[Na_3Cit]= 10^{-3}$ ,  $[NaBH_4]= 10^{-5}$ )**



**Fig. 5.25 Espectros UV-Vis del coloide  $A^{435}$  con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.**



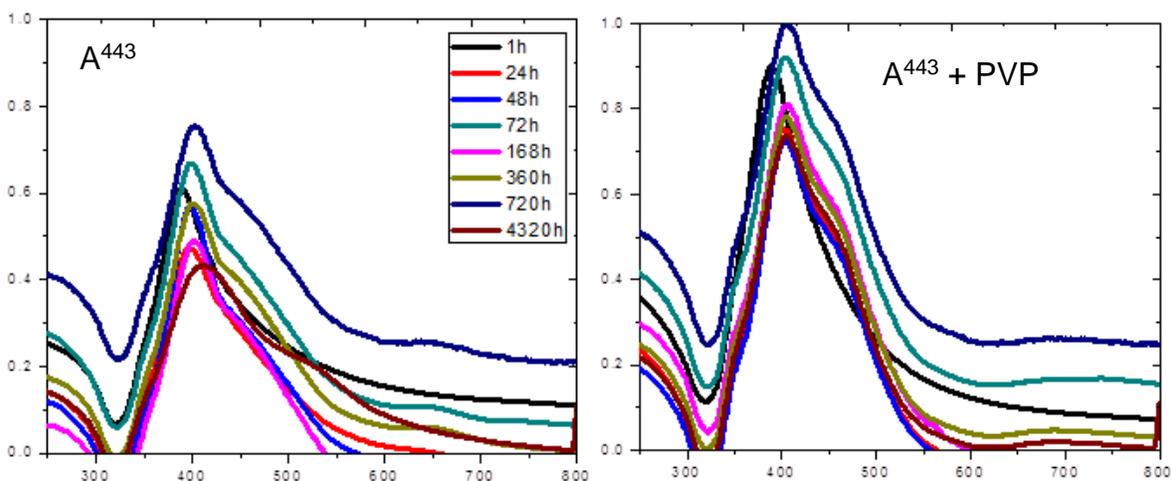
**Fig. 5.26 Imágenes de los coloides  $A^{435}$  durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.**

Observaciones particulares:

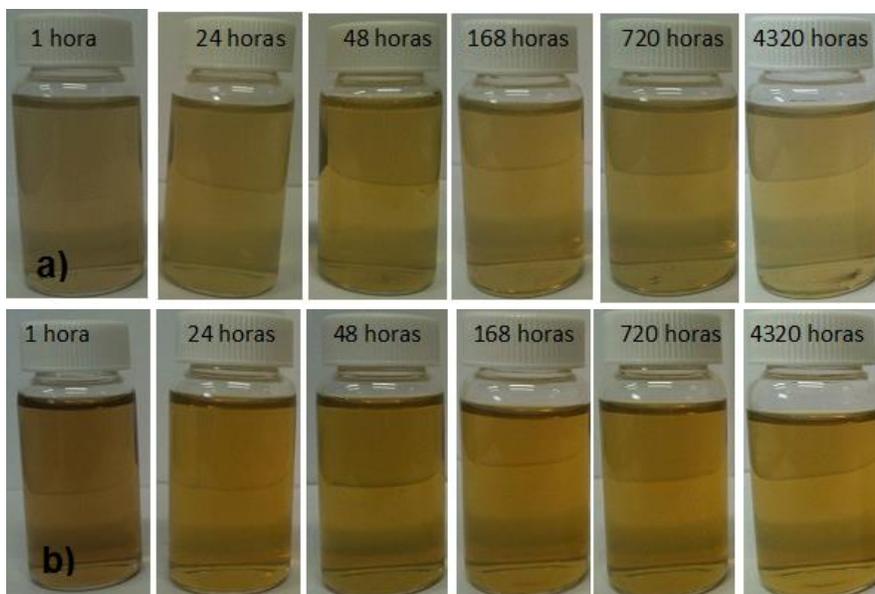
Para el sE al observar la figura 5.25 se puede pensar que cuenta con al menos cuatro plasmones, se consideró esta posibilidad pero después de llevar a cabo el análisis se notó que únicamente hay dos plasmones, y los supuestos demás plasmones son hombros de los anteriores. De esta manera, el plasmón de este coloide inicia estrecho y medianamente intenso posicionado en los 400 nm; un día de exposición a luz hace que aparezcan dos plasmones más, el primero se posiciona en 450 nm y el segundo en los 650 nm. El de 650 nm, aparece ancho e intenso y a las 48 horas se hace más estrecho, 76 horas después regresa a su ancho inicial pero en las 168 horas aparece otra vez más estrecho. Es a las 360 horas cuando pierde intensidad y aumenta su ancho y termina los seis meses así.

Con el plasmón de cE no pasa lo mismo, el día de la síntesis este coloide no presentó plasmón y después de 24 horas aparece uno estrecho y poco intenso en 450 nm. Este mantiene su ancho pero se hace más intenso a las 48 horas, pasadas 360 horas se hace más ancho pero mantiene su intensidad y es hasta los seis meses que aumenta su ancho pero no varía su intensidad.

**Coloide  $A^{443}$  ( $[AgNO_3]= 10^{-4}$ ,  $[Na_3Cit]= 10^{-4}$ ,  $[NaBH_4]= 10^{-3}$ )**



**Fig. 5.27 Espectros UV-Vis del coloide  $A^{443}$  con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.**



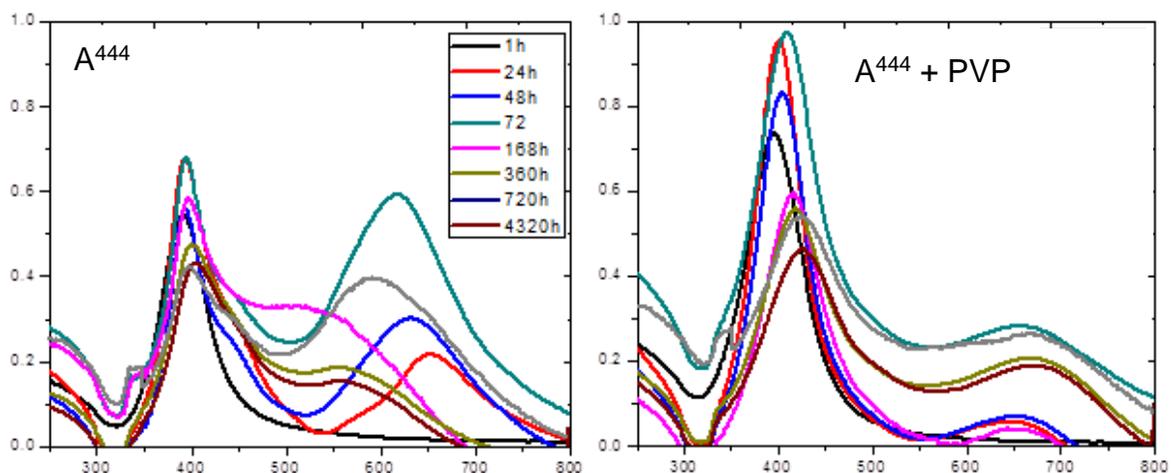
**Fig. 5.28** Imágenes de los coloides  $A^{443}$  durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.

Observaciones particulares:

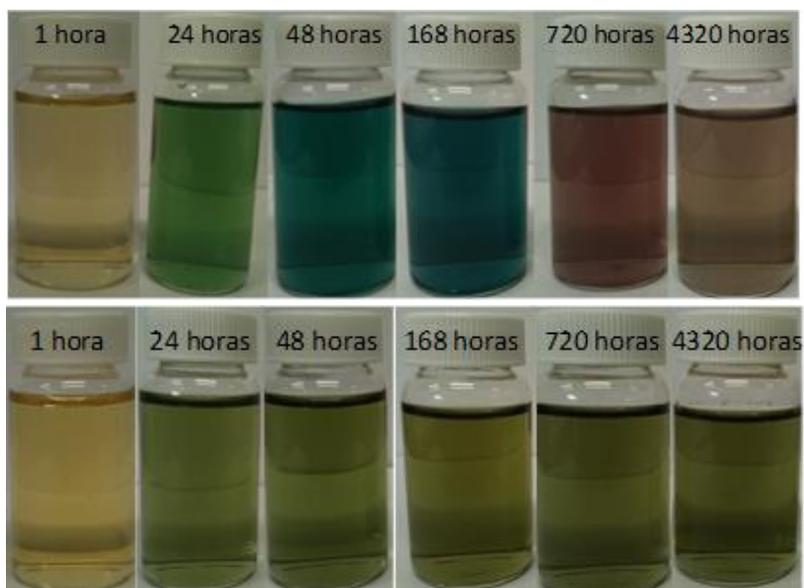
Con respecto al plasmón del sE, este inicia estrecho y muy intenso y se mantiene con estas características hasta las 72 horas, tiempo en el que pierde intensidad. En las 360 horas el plasmón aumenta su ancho y su intensidad y es hasta los seis meses cuando disminuye su intensidad manteniendo su ancho. A la par, posicionado en los 600 nm aparece un segunda plasmón, que se nota ancho y poco intenso al principio pero que aumenta de manera gradual su intensidad hasta las 72 horas. Y es en las 168 horas cuando disminuye drásticamente su intensidad, tanto que resulta casi imperceptible, para finalmente desaparecer a los seis meses.

Con respecto al plasmón de cE, el día de la síntesis el plasmón se nota estrecho e intenso, después de 24 horas aumenta su ancho y mantiene su intensidad y son estas características con las que finaliza a los seis meses.

**Coloide A<sup>444</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-4</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-4</sup>)**



**Fig. 5.29 Espectros UV-Vis del coloide A<sup>444</sup> con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.**



**Fig. 5.30 Imágenes de los coloides A<sup>444</sup> durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.**

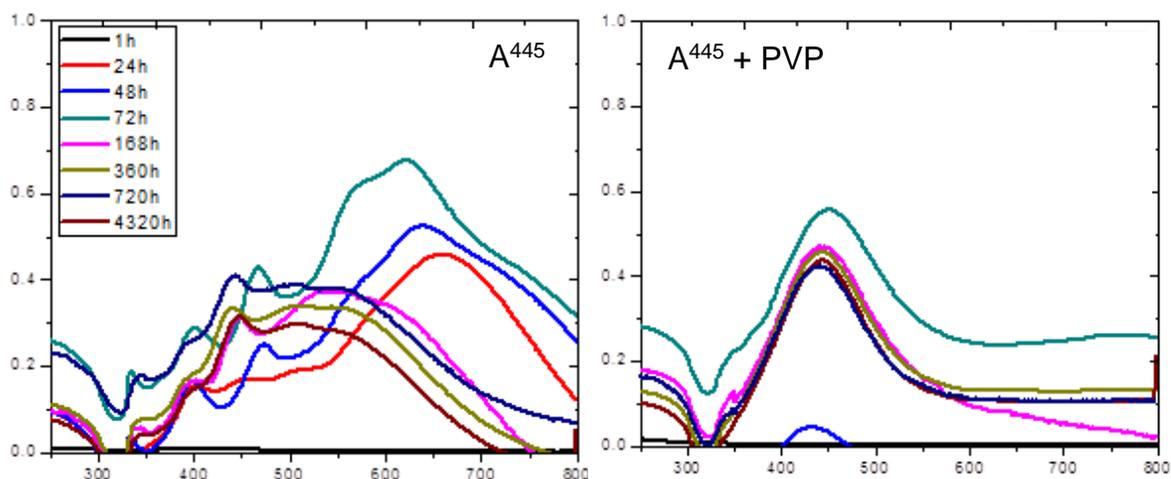
Observaciones particulares:

Para el sE, el plasmón de este coloide inicia estrecho y medianamente intenso posicionado en los 390 nm; un día de exposición a luz promueve el aumento en su intensidad. Se conserva de esta manera hasta las 360 horas, tiempo en el que

disminuye su intensidad y se queda así hasta los seis meses. En las 24 horas aparece un segundo plasmón posicionado en 650 nm, que se nota ancho y poco intenso al principio pero que aumenta de manera gradual su intensidad hasta las 72 horas. De manera gradual también, su posición se recorre ya que empieza en los 650 nm y se mueve hasta casi los 550 nm en las 168 horas. A partir de las 168 horas la intensidad del plasmón disminuye y se conserva así hasta las 720 horas, con un recorrido en su posición hacia los 600 nm. Después de seis meses, se ubica en 550 nm pero se muestra medianamente ancho y poco intenso.

El plasmón de cE se muestra estrecho e intenso en los 400 nm el día de la síntesis y se mantiene así hasta las 360 horas, con un recorrido gradual de su posición hacia los 420 nm. A las 720 horas aparece estrecho pero medianamente intenso, y pasados los seis meses se mantiene posicionado en los 420 nm pero con un aumento en su ancho y con la misma intensidad. También se observa un segundo plasmón posicionado en 650 nm y que a las 24 horas tiene poca intensidad y es poco ancho; entre las 24 y 72 horas aumenta su ancho pero vuelve al valor inicial a las 168 horas y se mantiene así durante lo que resta de los seis meses.

#### Coloide $A^{445}$ ( $[AgNO_3]= 10^{-4}$ , $[Na_3Cit]= 10^{-4}$ , $[NaBH_4]= 10^{-5}$ )



**Fig. 5.31** Espectros UV-Vis del coloide  $A^{445}$  con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.



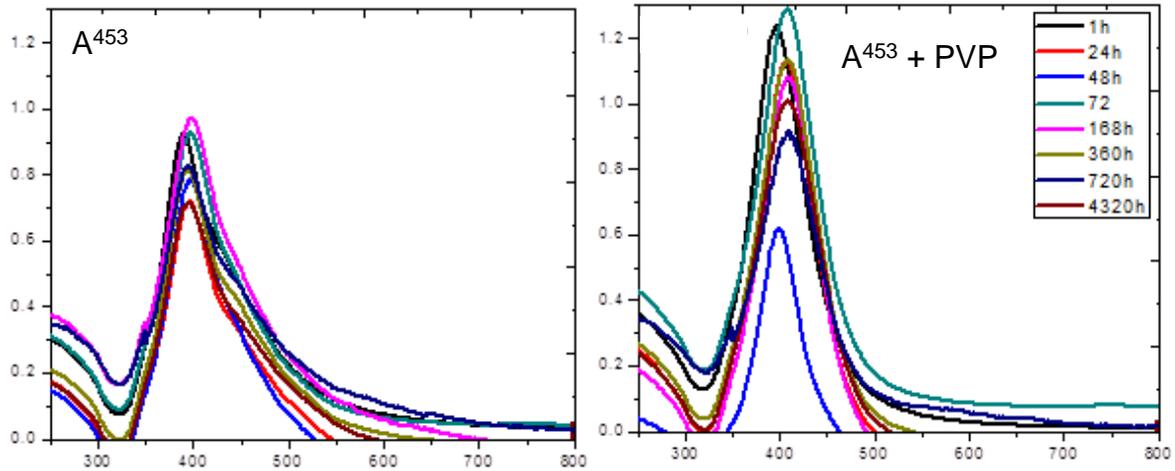
**Fig. 5.32** Imágenes de los coloides  $A^{445}$  durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.

Observaciones particulares:

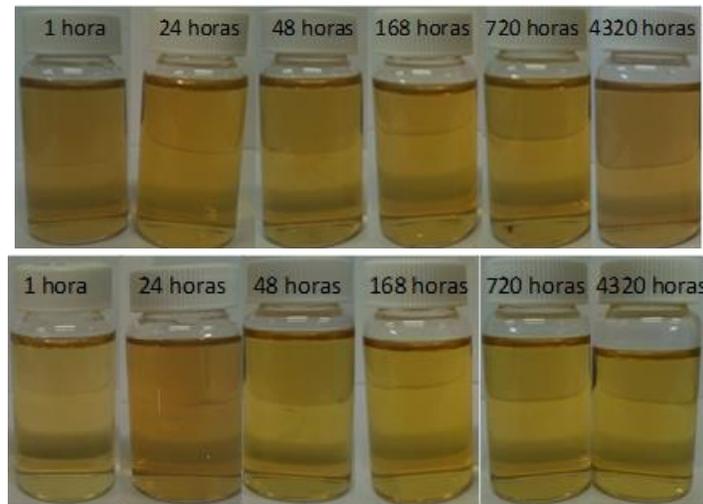
Para el caso del sE (coloide sin PVP), al inicio no mostró plasmón alguno. Veinticuatro horas después aparecen cuatro plasmones (en 400 nm, 450 nm, 500 nm y 650 nm). Los primeros tres son estrechos y poco intensos, y el cuarto es estrecho también pero medianamente intenso. Analizando el de los 400 nm, este mantiene su ancho e intensidad durante los seis meses, el plasmón en 450 nm aumenta su intensidad a partir de las 72 horas y se conserva así durante los seis meses; el plasmón que se encontraba en 500 nm simplemente desaparece pasadas 48 horas. En el caso del situado en 650 nm, aumenta su intensidad y ancho para las 48 horas y se mantiene así hasta que desaparece a las 72 horas; es en este tiempo que aparece un quinto plasmón, estrecho e intenso posicionado en 580 nm, este último disminuye de intensidad y se hace más ancho para las 168 horas; se hace un poco más estrecho y mantiene su intensidad en las 360 horas y termina los seis meses con estas características.

Con respecto al cE, el día de la síntesis no presenta plasmón y 48 horas después aparece un plasmón estrecho y poco intenso; a las 72 horas aumenta su ancho y disminuye su intensidad y son estas características con las que termina los seis meses

**Coloide A<sup>453</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-5</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-3</sup>)**



**Fig. 5.33** Espectros UV-Vis del coloide A<sup>453</sup> con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.

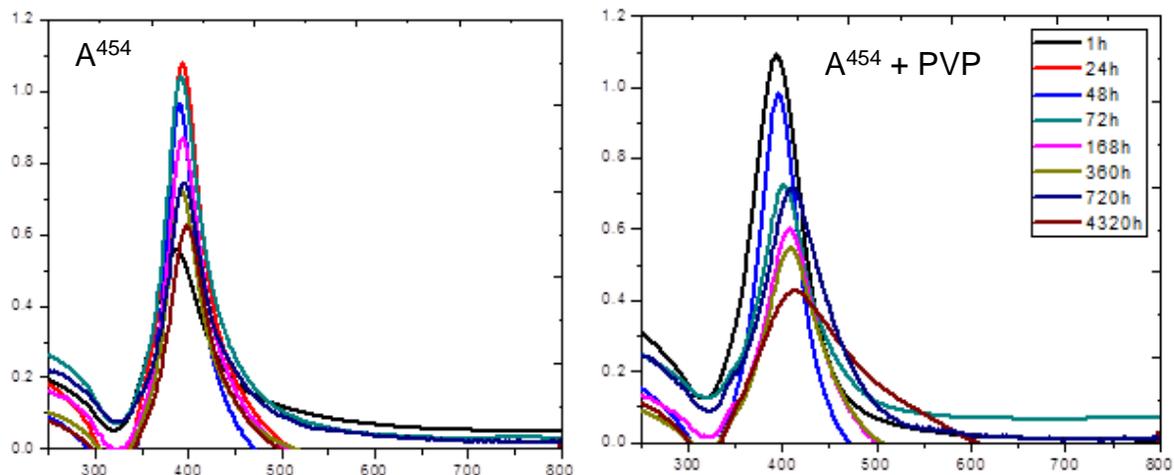


**Fig. 5.34** Imágenes de los coloides A<sup>453</sup> durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.

Observaciones particulares:

Para el caso del sE, el día de la síntesis presenta un plasmón único posicionado en 400 nm intenso y estrecho; se mantiene así los seis meses, con la excepción que en las 168 horas aumenta su ancho. El coloide cE, tiene un comportamiento similar, muestra un plasmón único ubicado en 400 nm, muy intenso y estrecho. Se conserva de esta manera los seis meses.

**Coloide A<sup>454</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-5</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-4</sup>)**



**Fig. 5.35** Espectros UV-Vis del coloide A<sup>454</sup> con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.

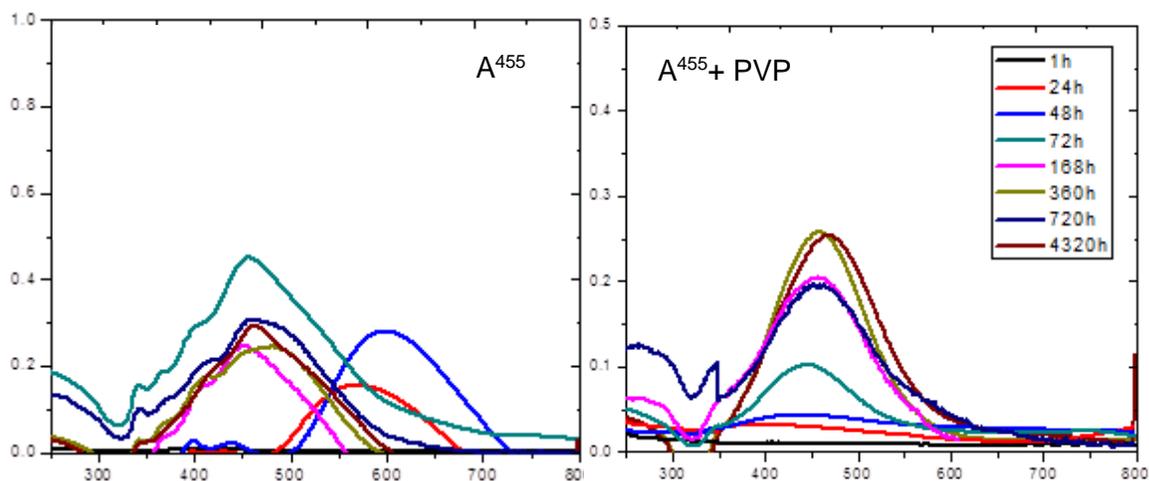


**Fig. 5.36** Imágenes de los coloides A<sup>454</sup> durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.

Observaciones particulares:

Para el caso del sE, el día de la síntesis presenta un plasmón posicionado en 400 nm intenso y estrecho, características que mantiene así los seis meses. El coloide cE, tiene un comportamiento similar, muestra un plasmón en 400 nm, muy intenso y estrecho; al terminar los seis meses se nota más ancho y menos intenso.

**Coloide A<sup>455</sup> ([AgNO<sub>3</sub>]= 10<sup>-4</sup>, [Na<sub>3</sub>Cit]= 10<sup>-5</sup>, [NaBH<sub>4</sub>]= 10<sup>-5</sup>)**



**Fig. 5.37** Espectros UV-Vis del coloide A<sup>455</sup> con y sin PVP, estos fueron tomados el día de la síntesis y por un tiempo máximo de seis meses en el que estuvieron expuestos a luz.



**Fig. 5.38** Imágenes de los coloides A<sup>455</sup> durante seis meses, a) coloide sin PVP y b) coloide con PVP.

Observaciones particulares:

El día de la síntesis el sE no mostró plasmón, a las 24 horas aparece uno en 580 nm, poco intenso y medianamente ancho, el cual aumenta su intensidad a las 48 horas pero que desaparece en las 72 horas. En este tiempo aparece otro plasmón posicionado en 450 nm medianamente ancho e intenso, el cual pierde intensidad a las 168 horas y vuelve a recuperarla para las 720 horas, con estas características

se mantiene para el final de los seis meses. Al mismo tiempo (72 horas), aparece un plasmón más posicionado en los 400 nm estrecho y medianamente intenso, desaparece por un tiempo y reaparece en las 360 horas, poco intenso y estrecho; se mantiene así a las 720 horas, pero al final de los seis meses está ausente.

El cE no muestra plasmón el día de la síntesis, es hasta las 72 horas cuando aparece uno medianamente ancho y poco intenso, a las 168 horas se hace más estrecho, a las 360 horas gana intensidad y aumenta su ancho pero vuelve a perder esa intensidad a las 720 horas; la banda finaliza los seis meses medianamente ancho e intenso.

Después de realizar el análisis anterior con cada coloide, se pueden establecer las conclusiones siguientes:

Es importante recordar, antes de empezar con el análisis, que el plasmón es un fenómeno superficial de las nanopartículas, y sus características están íntimamente ligadas a la forma, tamaño, dispersión de tamaños y medio dispersante de las mismas [2]. Con base en estas especificaciones, lo que se puede apreciar en las gráficas es lo siguiente:

- En la mayoría de los coloides la intensidad del plasmón disminuye y el ancho de la banda aumenta; este efecto se nota también en los coloides que contienen PVP.
- La disminución y el ensanchamiento del plasmón, indica un crecimiento del tamaño de partícula, ya que las partículas de plata en dispersión coloidal continúan agregándose y formando cúmulos de mayor tamaño. Esto es provocado por dos factores: a) la energía constante a la que están expuestas, que promueve una mayor energía cinética la que a su vez promueve las colisiones entre cúmulos; y b) al movimiento browniano, debido a la naturaleza de las dispersiones coloidales.
- Con respecto a la posición del plasmón, se nota como éste se recorre hacia la derecha a medida que pasa el tiempo. Este efecto se nota en las nanopartículas con PVP también. La razón de esto es que a medida que las nanoestructuras aumentan de tamaño, la oscilación de sus electrones se hace más amplia, haciendo que el plasmón aparezca a longitudes de onda de menor energía. Este hecho es conocido también como desplazamiento hacia el rojo.
- Otra cuestión que se puede observar es que el PVP actuó como un estabilizante estérico, ya que el ensanchamiento y la disminución de la intensidad del plasmón de los coloides que lo contenían, ocurrió a un ritmo menor. Los coloides con este

estabilizantes también presentaron un plasmón bastante simétrico ( $A^{444}$ ,  $A^{453}$  y  $A^{454}$ ), debido a una distribución de tamaños estrecha; aunque en algunos casos se interpuso en el crecimiento de las nanopartículas, impidiendo que estas modificaran su estructura y mantuvieran una forma esferoidal (el coloide  $A^{445}$ , por ejemplo).

- Si se quiere hacer uso de las dispersiones coloidales, es posible que éstas muestren mejores resultados cuando se trabaja con ellas en el tiempo comprendido a dos días después de su síntesis, ya que es en este tiempo en el que el plasmón presenta su mayor intensidad y un ancho menor.

### 5.3 Estudio de colorimetría

Una característica de las dispersiones coloidales es que todas muestran color, por ejemplo en el caso del coloide  $A^{434}$ , el día de la síntesis presentó un color ámbar y veinticuatro horas después era de color azul, otro coloide era el día de la síntesis incoloro y veinticuatro horas después ámbar, otro más cambió de ámbar a verde oscuro. Con base en estas observaciones y retomando la discusión planteada en la sección anterior, se propone que el color es una consecuencia directa de la forma y tamaño que tienen las nanoestructuras. Para poder comprobar esta hipótesis, se calcularon los valores triestímulo de los coloides durante los seis meses (Tabla 5.1), se les tomaron fotografías e imágenes TEM (de algunos y las imágenes son las que se presentaron anteriormente en el apartado 5.1). El cálculo de los valores triestímulo se muestra en el anexo II.

Este análisis se hará en dos partes, en la primera se hablará de los valores triestímulo “x, y”, los cuales se nota que están relacionados con la forma de las nanopartículas; esta propuesta se hace con base en lo observado en la tabla presentada en el anexo I, en la que se nota que un mismo coloide, después de ser expuesto a la luz, muestra leves variaciones en sus valores de “x, y”; este hecho indica que una vez que asume una estructura, ésta define un color. Analizando los valores triestímulo de cada coloide, se puede proponer que las nanopartículas con valores triestímulo de  $x= 350\pm 20$ ,  $y= 370\pm 20$  presentan por lo general geometría esferoidal; en el caso de nanopartículas con valores triestímulo de  $x= 300\pm 20$ ,  $y= 340\pm 20$  se tienen estructuras de geometría triangular plana y para nanopartículas con valores triestímulo de  $x= 340\pm 10$ ,  $y= 340\pm 10$ , se tienen estructuras en forma de barra.

Para la segunda parte del análisis se estudiará el valor “Y”, como se mencionó en la parte de antecedentes este parámetro es el que define la claridad del color; los

colores claros muestran valores de  $Y > 50$  y los colores oscuros muestran valores de  $Y < 50$ .

**Tabla 5.1 Resultados del cálculo de valores triestímulo de los nueve coloides, desde el día de síntesis y hasta las 48 horas.**

| Coloide               | Valores triestímulo (Y, x, y) |                   |                   |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|
|                       | 0 horas                       | 24 horas          | 48 horas          |
| A <sup>433</sup>      | 100, 0.312, 0.329             | 076, 0.312, 0.329 | 068, 0.380, 0.405 |
| A <sup>433</sup> +PVP | 080, 0.370, 0.404             | 090, 0.387, 0.433 | 061, 0.385, 0.432 |
| A <sup>434</sup>      | 068, 0.355, 0.377             | 035, 0.213, 0.271 | 041, 0.248, 0.305 |
| A <sup>434</sup> +PVP | 091, 0.351, 0.390             | 030, 0.214, 0.270 | 017, 0.189, 0.212 |
| A <sup>435</sup>      | 096, 0.332, 0.362             | 036, 0.234, 0.275 | 026, 0.222, 0.251 |
| A <sup>435</sup> +PVP | 100, 0.313, 0.329             | 010, 0.338, 0.362 | 061, 0.366, 0.398 |
| A <sup>443</sup>      | 095, 0.337, 0.369             | 038, 0.240, 0.288 | 067, 0.371, 0.391 |
| A <sup>443</sup> +PVP | 067, 0.369, 0.393             | 090, 0.398, 0.425 | 067, 0.398, 0.426 |
| A <sup>444</sup>      | 064, 0.347, 0.367             | 082, 0.318, 0.381 | 052, 0.293, 0.361 |
| A <sup>444</sup> +PVP | 093, 0.343, 0.378             | 091, 0.339, 0.388 | 066, 0.344, 0.394 |
| A <sup>445</sup>      | 093, 0.331, 0.356             | 069, 0.288, 0.366 | 033, 0.257, 0.289 |
| A <sup>445</sup> +PVP | 100, 0.313, 0.330             | 012, 0.315, 0.332 | 083, 0.328, 0.352 |
| A <sup>453</sup>      | 099, 0.314, 0.330             | 082, 0.377, 0.407 | 077, 0.376, 0.407 |
| A <sup>453</sup> +PVP | 087, 0.366, 0.409             | 011, 0.376, 0.425 | 087, 0.377, 0.427 |
| A <sup>454</sup>      | 075, 0.375, 0.403             | 090, 0.361, 0.390 | 085, 0.355, 0.387 |
| A <sup>454</sup> +PVP | 092, 0.346, 0.382             | 012, 0.345, 0.382 | 094, 0.342, 0.377 |
| A <sup>455</sup>      | 081, 0.335, 0.357             | 075, 0.287, 0.291 | 050, 0.261, 0.291 |
| A <sup>455</sup> +PVP | 100, 0.313, 0.330             | 013, 0.314, 0.330 | 096, 0.317, 0.333 |

**Tabla 5.1 (continuación) Resultados del cálculo de valores triestímulo de los nueve coloides, desde las 72 y hasta las 4320 horas.**

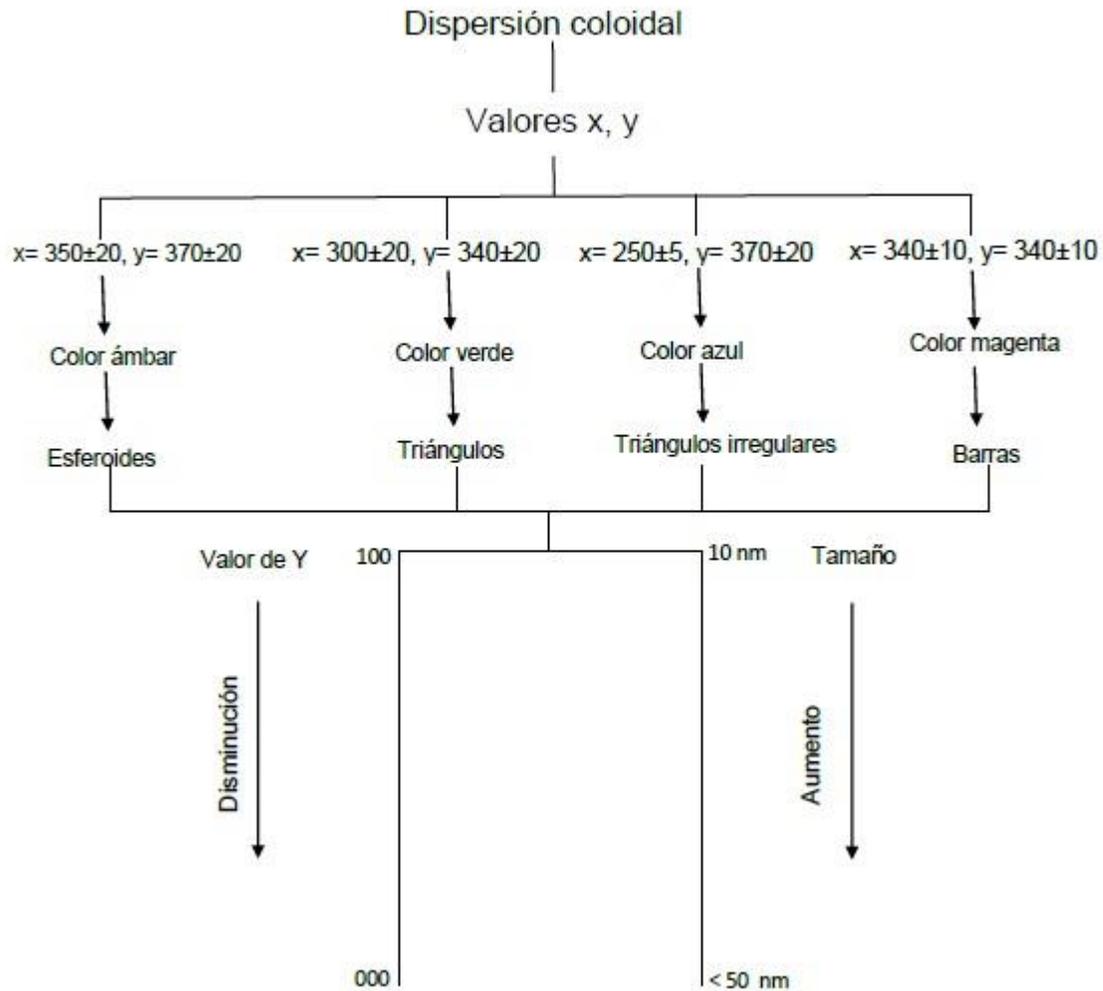
| Coloide               | Valores triestímulo (Y, x, y) |                   |                   |                   |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                       | 72 horas                      | 168 horas         | 360 horas         | 4320 horas        |
| A <sup>433</sup>      | 068, 0.389, 0.410             | 054, 0.380, 0.392 | 058, 0.370, 0.384 | 043, 0.363, 0.381 |
| A <sup>433</sup> +PVP | 061, 0.380, 0.424             | 048, 0.362, 0.397 | 045, 0.337, 0.358 | 034, 0.327, 0.353 |
| A <sup>434</sup>      | 032, 0.221, 0.257             | 037, 0.239, 0.271 | 039, 0.244, 0.285 | 014, 0.254, 0.286 |
| A <sup>434</sup> +PVP | 018, 0.199, 0.209             | 025, 0.213, 0.223 | 024, 0.218, 0.231 | 081, 0.219, 0.233 |
| A <sup>435</sup>      | 028, 0.219, 0.246             | 023, 0.215, 0.231 | 047, 0.269, 0.290 | 035, 0.268, 0.291 |
| A <sup>435</sup> +PVP | 065, 0.364, 0.396             | 060, 0.359, 0.390 | 056, 0.342, 0.370 | 037, 0.331, 0.348 |
| A <sup>443</sup>      | 071, 0.371, 0.391             | 083, 0.372, 0.393 | 071, 0.371, 0.392 | 023, 0.371, 0.392 |
| A <sup>443</sup> +PVP | 072, 0.398, 0.426             | 071, 0.400, 0.427 | 070, 0.398, 0.425 | 022, 0.398, 0.427 |
| A <sup>444</sup>      | 054, 0.303, 0.360             | 050, 0.339, 0.337 | 061, 0.339, 0.358 | 030, 0.282, 0.325 |
| A <sup>444</sup> +PVP | 067, 0.351, 0.402             | 072, 0.346, 0.396 | 064, 0.341, 0.387 | 044, 0.341, 0.388 |
| A <sup>445</sup>      | 026, 0.246, 0.276             | 042, 0.297, 0.298 | 045, 0.328, 0.323 | 015, 0.334, 0.331 |
| A <sup>445</sup> +PVP | 061, 0.366, 0.383             | 055, 0.366, 0.387 | 060, 0.365, 0.389 | 020, 0.361, 0.387 |

|                       |                   |                   |                   |                   |
|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| A <sup>453</sup>      | 078, 0.378, 0.402 | 083, 0.378, 0.408 | 076, 0.379, 0.402 | 050, 0.377, 0.402 |
| A <sup>453</sup> +PVP | 093, 0.377, 0.427 | 011, 0.378, 0.430 | 093, 0.376, 0.427 | 071, 0.374, 0.427 |
| A <sup>454</sup>      | 096, 0.342, 0.372 | 100, 0.346, 0.379 | 096, 0.341, 0.370 | 030, 0.344, 0.375 |
| A <sup>454</sup> +PVP | 100, 0.345, 0.381 | 096, 0.353, 0.392 | 096, 0.354, 0.393 | 031, 0.358, 0.399 |
| A <sup>455</sup>      | 063, 0.370, 0.399 | 070, 0.372, 0.367 | 075, 0.367, 0.355 | 057, 0.365, 0.357 |
| A <sup>455</sup> +PVP | 091, 0.330, 0.350 | 092, 0.350, 0.365 | 078, 0.356, 0.369 | 054, 0.356, 0.366 |

Al analizar la tabla 5.1, se nota que los coloides conforme varía el tiempo, muestran variación en este valor; un ejemplo, el coloide A<sup>433</sup> el día de la síntesis tiene un valor de Y= 100 (color claro), a las 24 h. el valor es de 076, pasada una semana es 054 y terminados los seis meses el valor es 043 (color oscuro); al estudiar esta variación, se puede concluir que a medida que el tamaño de las nanoestructuras aumenta, también muestran colores más oscuros. Un ejemplo más, el coloide A<sup>434</sup> el día de la síntesis tiene un valor de Y= 068 (color claro), y terminados los seis meses el valor es 014 (color oscuro); al estudiar esta variación, se puede concluir que a medida que el tamaño de las nanoestructuras aumenta, también muestran colores más oscuros.

La relación que guarda el tamaño de las NP's con la claridad del color es debida a la naturaleza de la técnica de caracterización colorimétrica, la cual usa los valores de Transmitancia de la muestra para calcular sus valores tristímulo; y se sabe que la Transmitancia es el resultado de la luz que no es absorbida por la muestra y logra atravesarla. De esta manera, a medida que la muestra aumenta de tamaño, menos luz logra atravesarla, haciendo que el valor de claridad (Y) disminuya. Es por esta razón que las nanoestructuras muestran valores desde 50 y hasta 100 el día de la síntesis, porque se trata de estructuras pequeñas (10 – 30 nm), y conforme avanza el tiempo su tamaño aumenta (50 nm o más) y los valores de "Y" empiezan a decaer.

Con base en el análisis antes presentado, se propone la siguiente relación entre el color de los coloides contra la geometría y tamaños de las nanopartículas que lo conforman:



**Fig. 5.39 Diagrama en donde se muestra la relación que guardan los valores triestímulos de un coloide con las estructuras y el tamaño de las nanoestructuras que lo componen.**

La propuesta aquí presentada, pretende servir como una herramienta para una primera caracterización de las nanopartículas; esta caracterización puede servir como una idea preliminar del tamaño y la forma de las nanopartículas al solo obtener su color, sin necesidad de acudir a imágenes TEM; que como se sabe es una prueba de caracterización complicada (en términos económicos y operativos). Con esto no se busca desestimar la importancia de las demás técnicas de caracterización, más desarrolladas y formalmente establecidas; solo pretende implementarse como una técnica más que, como ya se dijo, resulte más barata y sea más fácil de obtener.

## 5. 4 Pruebas SERS

A continuación se presentan los resultados de la evaluación de los coloides como soportes activos para SERS.

Para llevar a cabo este estudio la primera prueba fue con Rodamina 6G, y se escogió este colorante, porque visualmente es fácil de identificar a través del objetivo del microscopio, pero también porque presenta fluorescencia con la longitud de onda usada en la excitación y es difícil obtener su espectro Raman. Entiéndase fluorescencia como el evento en el que una molécula absorbe un fotón de alta energía, sufre una excitación electrónica y algunos de sus electrones son promovidos a orbitales moleculares de mayor energía, luego estos electrones excitados decaen nuevamente a orbitales de menor energía emitiendo luz de onda más larga en el proceso. La diferencia de energía entre los fotones absorbidos y los emitidos se disipa en forma de calor por medio de diferentes mecanismos de conversión interna, todo el proceso ocurre en decenas de nanosegundos. En un espectro Raman la fluorescencia suele presentarse como una suave curvatura de la línea base y puede llegar a enmascarar por completo la intensidad de las señales. Como se explicó en el capítulo 2, cuando estas moléculas se ponen en contacto con nanoestructuras, ocurre el llamado efecto SERS el cual hace que las señales de la muestra aumenten su intensidad, opacando de esta manera la fluorescencia y haciendo la señal Raman perceptible.

Volviendo a la parte experimental, la Rodamina se agregó a diferentes coloides y con todos ellos se notó la desaparición de la fluorescencia, aunque es importante hacer notar que el espectro Raman obtenido fue más intenso con unos coloides que con otros. De éstos, los coloides A<sup>434</sup>, A<sup>435</sup>, A<sup>444</sup> y A<sup>445</sup> fueron los que generaron espectros Raman con la mayor intensidad.

El resultado que se muestra a continuación, fue hecho en el equipo WiTec por medio del muestreo del área mostrada en la figura 5.40, los espectros resultantes se presentan en la figura 5.41 y pertenecen a una prueba hecha con el coloide A<sup>434</sup>, este coloide fue usado después de ser expuesto por 24 horas a la luz y lavado tres veces, por lo que las nanopartículas que lo formaban eran triangulares.

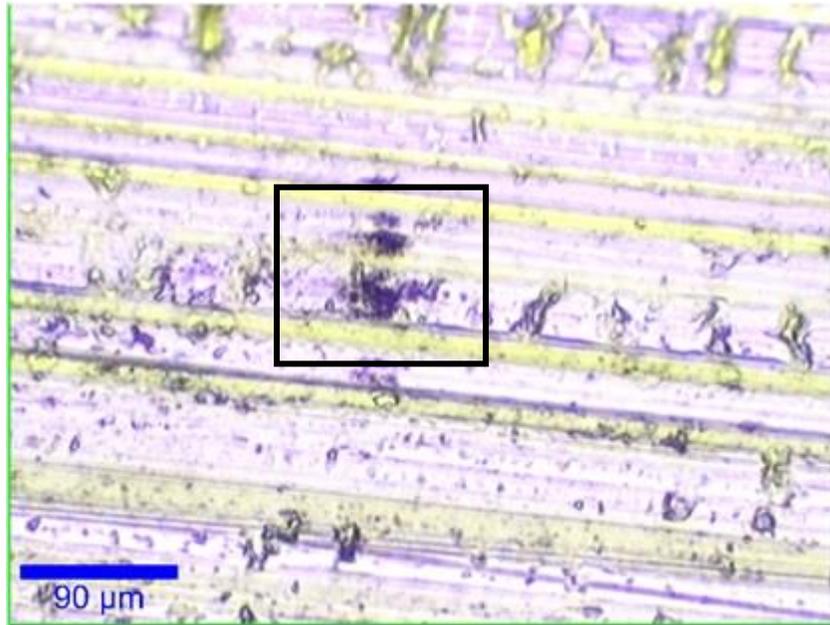


Fig. 5.40 Imagen de la zona muestreada con el Coloide A<sup>434</sup> y Rodamina 6G

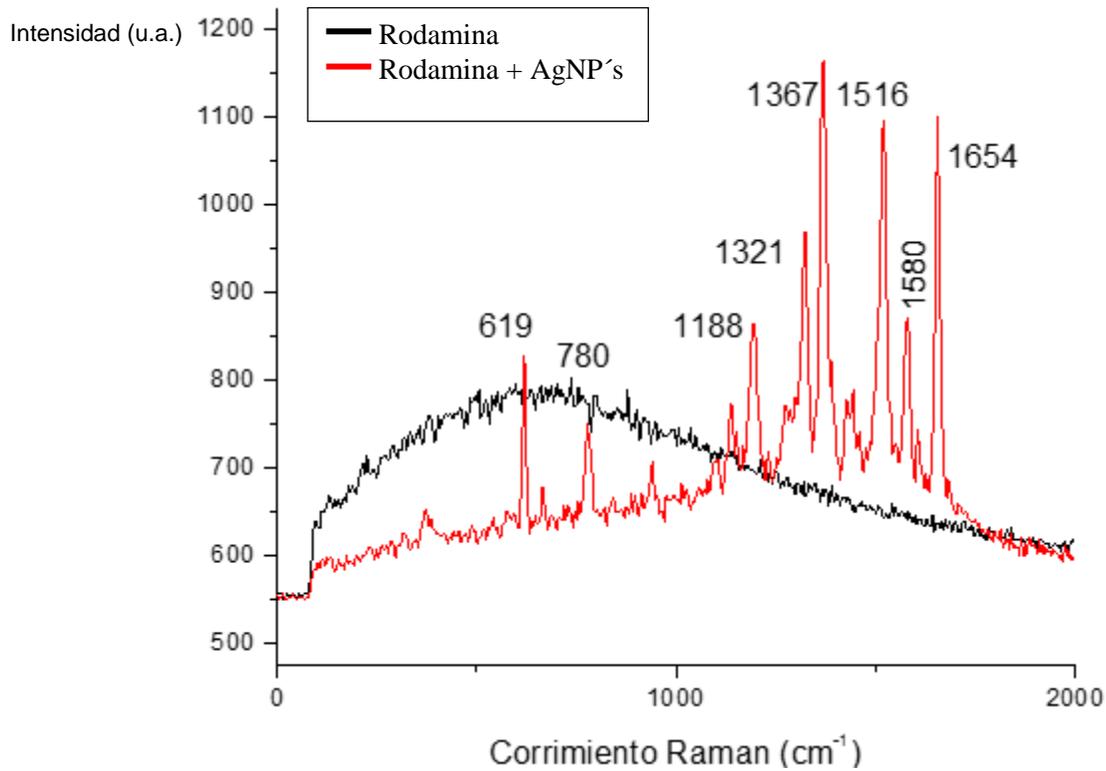


Fig. 5.41 Espectros Raman de la Rodamina sola y al agregarle nanopartículas de plata.

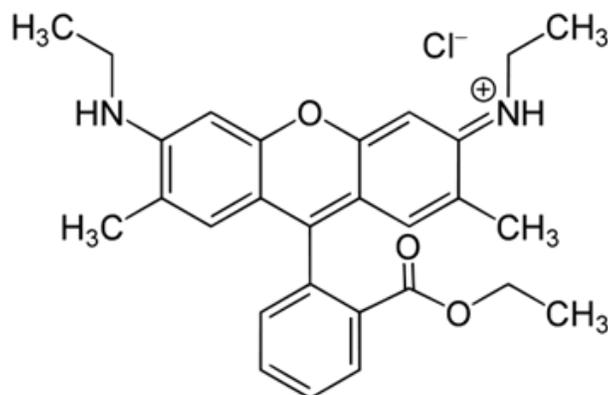


Fig. 5.42 Representación de la estructura de la Rodamina.

Tabla 5. 1 Comparación de las bandas Raman asignadas [3] de la Rodamina 6G y las observadas experimentalmente.

| Bandas    |            | Correspondencia                     |
|-----------|------------|-------------------------------------|
| Asignadas | Observadas |                                     |
| 619m      | 612m       | $\delta\text{CC}_{(\text{anillo})}$ |
| 780s      | 774m       | $\delta\text{CH}$                   |
| 1188m     | 1183m      | $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$    |
| 1321m     | 1311s      | $\nu\text{CC}, \nu\text{CN}$        |
| 1367s     | 1362s      | $\nu\text{CC}, \nu\text{CN}$        |
| 1516s     | 1510s      | $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$    |
| 1580ws    | 1599w      | $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$    |
| 1654 s    | 1648s      | $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$    |

Abreviaturas: very strong (vs), strong (s), medium (m), weak (w), very weak (vw); in plane bending ( $\delta$ ), stretching ( $\nu$ ).

Como se puede apreciar en la figura 5.41, en la que se muestran los espectros Raman de la Rodamina sola en disolución acuosa y disuelta en la suspensión coloidal (con una concentración final de  $10^{-12}$  M), se nota la diferencia clara de ambos espectros; el espectro de la Rodamina sin las nanopartículas no presenta bandas debido a la fluorescencia, pero este fenómeno desaparece completamente al entrar en contacto con las nanopartículas, y se observan las bandas características del colorante, las cuales se recogen en la tabla 5.1.

La otra muestra que sirvió de analito para este estudio fue la amida del ácido nicotínico o también llamada Nicotinamida, esta se agregó con una concentración final de  $10^{-12}$  M. La manera de llevar a cabo esta prueba fue igual a la realizada con la Rodamina, aunque en esta prueba no todos los coloides presentaron

actividad SERS; los únicos que si funcionaron como soportes activos fueron los coloides A<sup>434</sup>, A<sup>435</sup>, A<sup>444</sup> y A<sup>445</sup>, los cuales resultan ser los mismos que en las pruebas con Rodamina, hicieron que sus espectros presentaran bandas más intensas.

De los resultados que se muestran a continuación, el primero ejemplifica un espectro en el que no se nota actividad SERS y fue hecho en el equipo WiTec por medio del muestreo del área mostrada en la figura 5.43, el espectro resultante se presenta en la figura 5.44 y pertenecen a una prueba hecha con el coloide A<sup>433</sup>, este coloide fue usado después de ser expuesto por 24 horas a la luz y lavado tres veces, por lo que las nanopartículas que lo formaban eran esferoidales. Los segundos pertenecen a la prueba realizada con el coloide A<sup>434</sup> y en ellos si se observa el efecto (Fig. 5.45):

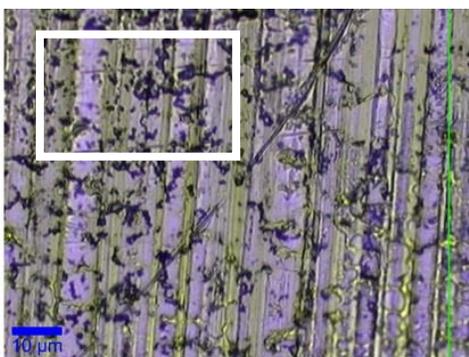


Fig. 5.43 Imagen de la zona muestreada con el Coloide A<sup>444</sup> y Nicotinamida

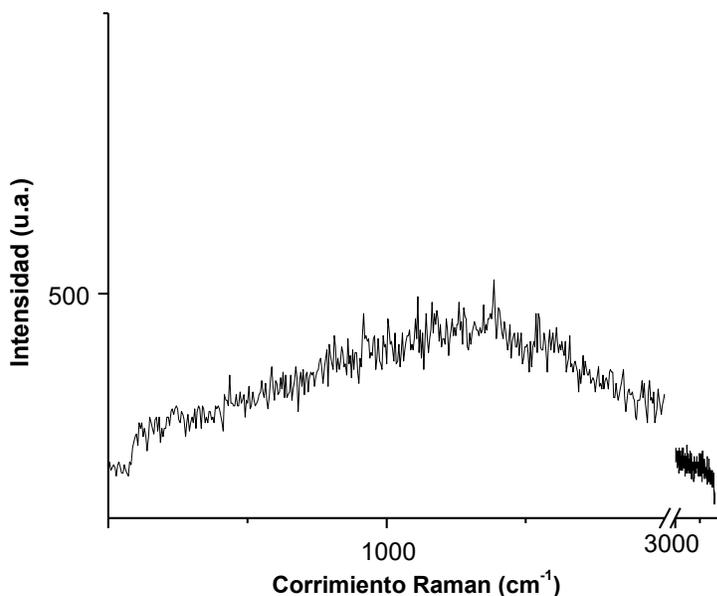
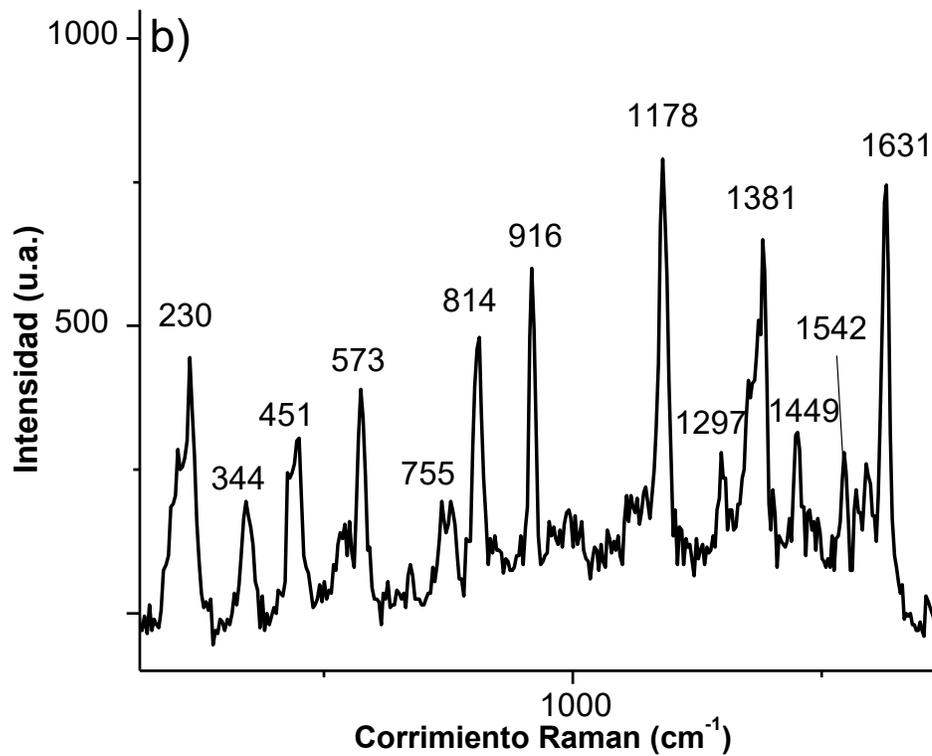
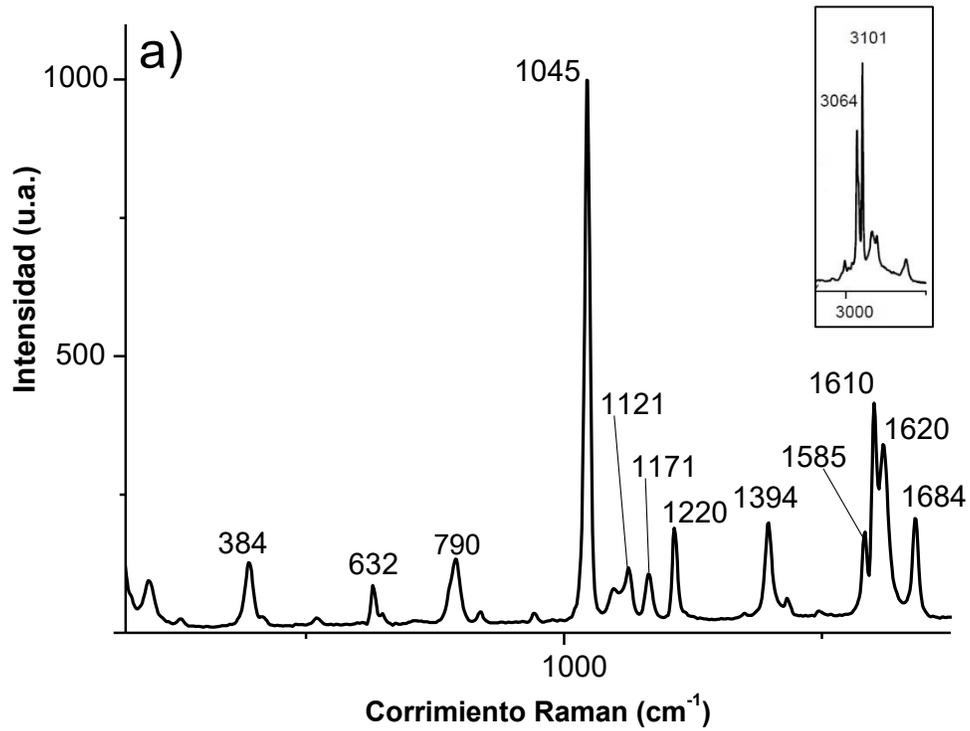


Fig. 5.44 Espectro Raman de la Nicotinamida disuelta en el coloide A<sup>433</sup>.



**Fig. 5.45** Espectros Raman de la Nicotinamida (a) Espectro asignado [4], y las observadas experimentalmente (b).

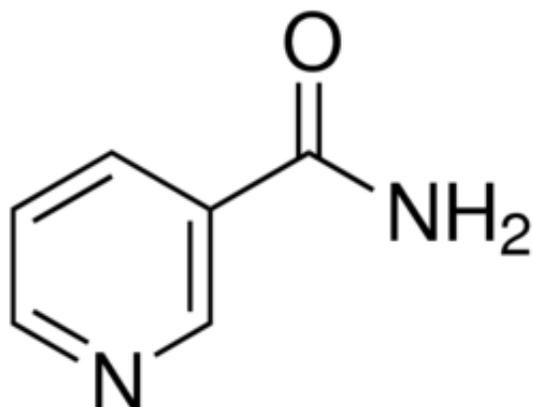


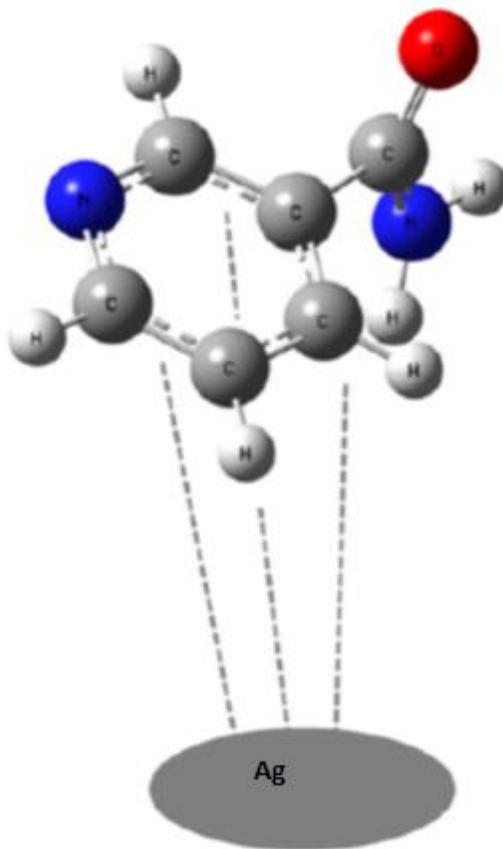
Fig. 5.46 Representación de la estructura de la Nicotinamida.

Tabla 5. 2 Comparación de las bandas Raman asignadas [4] de la Nicotinamida y al agregarle nanopartículas de plata.

| Bandas        |                 | Correspondencia [5][6]  |
|---------------|-----------------|---|
| Asignadas [4] | Observadas exp. |   |
| 3101 s        |                 | $\nu\text{CH}_{(\text{anillo})}$  |
| 3064 m        |                 | $\nu\text{CH}_{(\text{anillo})}$  |
| 1684 w        |                 | $\nu\text{CO}$  |
| 1610 m        | 1631 s          | $\rho\text{CH}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{CN}_{(\text{anillo})}$ |
| 1585 sh       | 1542 m          | $\nu\text{CN}_{(\text{amida})}$ , $\nu\text{CC}_{(\text{amida})}$ , $\rho\text{NH}_2$                   |
|               | 1449 w          | $\rho\text{CH}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{CN}_{(\text{anillo})}$ |
| 1394 w        | 1381 s          | $\rho\text{CH}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{NC}_{(\text{anillo})}$ |
| 1220 w        | 1297 w          | $\rho\text{CH}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{NC}_{(\text{anillo})}$                                    |
| 1171 vw       | 1178 s          | $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$ , $\rho\text{CH}_{(\text{anillo})}$                                    |
| 1121 vw       |                 | $\rho\text{CH}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{NC}_{(\text{anillo})}$ , $\rho\text{NH}_2$                |
| 1045 vs       |                 | $\nu\text{CC}_{(\text{anillo})}$ , $\nu\text{NC}_{(\text{anillo})}$                                     |
|               | 916 s           | $\omega\text{CH}_{(\text{anillo})}$   |
|               | 814 s           | $\omega\text{CH}_{(\text{anillo})}$   |
| 790 vw        | 755 w           | $\nu\text{C}_{(\text{anillo})}\text{C}_{(\text{amida})}$  |
| 632 vw        | 676 vw          | $\rho\text{CN}_{(\text{amida})}$  |
|               | 573 m           | $\delta\text{CNC}$  |
|               | 451 m           | $\gamma\text{CCC}$  |
| 384 vw        | 344 m           | $\omega\text{NH}_2$ , $\omega\text{C}_{(\text{anillo})}\text{C}_{(\text{amida})}$                       |
|               | 230 m           | $\tau\text{NH}_2$   |

Abreviaturas: very strong (vs), strong (s), medium (m), weak (w), very weak (vw), shoulder (sh); in plane bending ( $\delta$ ), out plane bending ( $\gamma$ ) stretching ( $\nu$ ), rocking ( $\rho$ ), wagging ( $\omega$ ), twisting ( $\tau$ ).

Al analizar los espectros Raman de la figura 5.45, se propone que la vitamina se adsorbe por la parte del anillo aromático (fig. 5.47) [4][5][6], y es por esta razón que las bandas de  $3101\text{ cm}^{-1}$ ,  $3064\text{ cm}^{-1}$ ,  $1121\text{ cm}^{-1}$ ,  $1045\text{ cm}^{-1}$ , no están presentes en el espectro b) (de la figura 5.45) pero si en el a) (figura 5.45), ya que la presencia de las nanopartículas restringen la libre vibración del anillo. Pero la parte de la amida en cambio, tiene más libertad para vibrar, es por esta razón que las bandas (en  $1394, 1171$ , y  $384\text{ cm}^{-1}$ ), del espectro a) que tienen intensidades débiles, presentan intensidades medias y fuertes (en  $1381\text{ cm}^{-1}$ ,  $1178\text{ cm}^{-1}$ ,  $344\text{ cm}^{-1}$ ), en el espectro b) (figura 5.45). Así también se establecen otro tipo de vibraciones, y es por esta razón que el espectro b) (figura 5.45) presenta bandas de varias intensidades en  $1449\text{ cm}^{-1}$ ,  $916\text{ cm}^{-1}$ ,  $814\text{ cm}^{-1}$ ,  $573\text{ cm}^{-1}$ ,  $451\text{ cm}^{-1}$  y  $230\text{ cm}^{-1}$ , las cuales no están presentes en a) (figura 5.45).



**Fig. 5.47 Orientación de la Nicotinamida al estar adsorbida sobre nanopartículas de plata.**

# Capítulo 6

## Conclusiones

En el presente trabajo se estudió una metodología de síntesis de nanopartículas de plata en medio coloidal, la cual puede ser considerada como un aporte para la síntesis de nanopartículas en general; esto debido a que se pueden sintetizar nanopartículas con al menos cuatro morfologías diferentes (esferoidales, triangulares planas, triangulares con puntas roma, platos y barras), y con una dispersión de tamaños estrecha. Un beneficio de esta propuesta es que es sencilla en cuanto a su método de síntesis, limpia en cuestiones de reactivos ya que son sencillos de conseguir y preparar, además de que es fácil de reproducir.

El comportamiento óptico que se realizó a las nanopartículas, por medio del estudio de estabilidad muestra que las dispersiones coloidales mantienen muchas de sus características originales por al menos seis meses después del día de su síntesis.

Otro aporte de la síntesis es la ausencia de un estabilizante estérico, esto se puede presentar como una novedad, porque a partir de la revisión bibliográfica que se hizo, son pocas las dispersiones coloidales que presentan tan buena estabilidad en un periodo de seis meses en ausencia de algún tipo de estabilizante estérico como PVP o PVA.

Con el estudio de colorimetría realizado, se propone una técnica de caracterización novedosa para la nanopartículas, que puede servir como primera prueba para dar una idea preliminar acerca de la forma de las nanopartículas así como de su tamaño, sin necesidad de hacer TEM.

Respecto a las pruebas Raman realizadas, se obtuvo señal Raman de un colorante (Rodamina 6G), este colorante presenta una alta fluorescencia con la longitud de onda usada en el sistema Raman, la cual desaparece por medio de la interacción con las nanopartículas metálicas. Con ayuda de espectros Raman, se

comprobó que las nanopartículas además de ser activas como soportes SERS para la nicotinamida, tienen un índice de detección de concentraciones al menos hasta los  $10^{-12}$  M, valor bastante aceptable en este tipo de pruebas.

En resumen, se obtuvieron dispersiones coloidales de nanopartículas de plata por un método simple y reproducible, sirven como soportes activos para SERS y se muestran con grandes expectativas de mejorar la señal Raman de muchas otras moléculas.

## Perspectivas

Como se reportó, en esta Tesis se presenta un método de síntesis de nanopartículas que resulta fácil en su ejecución, rentable económicamente hablando, y los coloides obtenidos muestran actividad SERS; es por estas razones que se proponen las siguientes investigaciones a futuro:

- Las nanopartículas pueden ser depositadas sobre sustratos sólidos, y ser usados en procesos catalíticos.
- Continuar con el estudio del proceso involucrado durante la reacción, quizá con otro tipo de técnicas (como el seguimiento In Situ de la reacción por medio de espectroscopía UV-Vis), para definir el momento en el que se forman las primeras nanopartículas.
- Usar las nanopartículas formadas como sensores químicos para determinar la concentración de alguna sustancia orgánica de interés, que se encuentre en el medio ambiente, en algún alimento o bebida.
- Usar las nanopartículas sintetizadas como agentes antibacteriales.

## Referencias bibliográficas

### Capítulo 1

[1] Poole, Charles P. Jr.; Owens, Frank J., «Introducción a la Nanotecnología» 2007, Barcelona, Ed. Reverté, 424 págs.

[2] Huheey, J. E., «Química Inorgánica. Principios de estructura y reactividad», 1999, 4ª ed, New York, Harper / Row.

[3] Cotton, F. A. and Wilkinson, G., «Basic Inorganic Chemistry», 1999, 5a ed, New York, John Wiley / Sons, Inc.

[4] Kittel, C., «Introducción a la Física del estado Sólido», 1998, 3ª ed., Barcelona, Editorial Reverté.

[5] Everett, D. H. «Basic Principles of Colloid Science», 1998, Royal Soc. of Chem. Paperbacks, Cap. II, pp. 19.

[6] Yacamán, J. M. «Structure shape and stability of nanometric sized particles», 2001, Journal of Vacuum Science & Technology B, nº 19, vol. 4, pp. 1091–1103.

[7] Hunter, R. H. «Introduction to Modern Colloid Science», 1962, Oxford, Oxford University Press Inc.

[8] R. A., «Reduced transition metal colloids: a novel family of reusable catalysts?», 2002, Chem.Rev., vol. 102, pp. 757-3778.

[9] Hunter, R. H. «Introduction to Modern Colloid Science», 1996, Oxford University Press Inc, Oxford, OX2 6DP, pp. 262.

[10] Israeachvili, J.N «Intermolecular and Surface Forces. With Applications to Colloidal and Biological Systems», 1985, Academic Press, Inc; San Diego, CA 92101, Cap. 9, pp. 111.

[11] K. L. Kelly, «The optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of size, shape and dielectric enviroment,» 2000, J. Phys. Chem B, vol. 107, pp. 667-668.

[12] Tang, Y., Zeng, X. & Liang, J. «Surface plasmon resonance: an introduction to a surface espectroscopy technique» 2010, Journal of Chem, vol. 87, pp. 742-746.

- [13] Campbell, D.J. & Xia, Y. «Plasmons: why should we care?» 2007, Journal of Chem., vol. 84, pp. 91-96.
- [14] Xia, Y., Halas, N. «Shape-controlled synthesis and surface plasmonic properties of metallic nanostructures» 2005, MRS Bull., vol. 30, pp. 338-344.
- [15] Murray, W.A. & Barnes, W.L. «Plasmonic materials» 2007, Adv. Mater., vol. 19, pp. 3771-3782.
- [16] Kelly, K.L., Coronado, E., Zhao, L.L. & Schatz, G.C. «The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment» 2003, J. Phys. Chem. B., vol. 107, pp. 668-677.
- [17] G.A. Pérez, M. García, N. Rodríguez, J.M. Bujdud « Notas de Curso de Colorimetría Básico», Centro de Investigaciones en Óptica A.C.

## Capítulo 2

- [1] T. Hirschfeld, DB. Chase, « FT- Raman spectroscopy: development and justification» 1986, Appl. Spectrosc., Vol. 40, pp. 113-137.
- [2] García-Ramos, S. «SERS en coloides» 2004, Ópt. Pur. Y Apl., Vol. 3, nº 2, pp. 33-37.
- [3] M. Fleischmann, «Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode» 1974, Chemical Physics Letters, vol. 26, nº 2, pp. 163-166.
- [4] García-Ramos, J.V., «Mecanismo electromagnético del efecto SERS» 2004, Ópt. Pur. Y Apl., Vol. 37, nº 2, pp. 17-22.
- [5] Kalyanasundaram, K.; Borgarello, E.; Duonghong, D.; Gratzel, M «Cleavage of Water by Visible-Light Irradiation of Colloidal CdS Solutions; Inhibition of Photocorrosion by RuO<sub>2</sub>» 1981, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. Vol. 20, pp. 987-988.
- [6] Arenas J.F., Peláez D. «Mecanismo químico en SERS» 2004, Ópt. Pur. Y Apl., Vol. 37, nº 2, pp. 23-32.
- [7] M.J. Moskovits, «Surface Enhanced Raman Spectroscopy: A Brief Perspective» Spring 2004, MSU CEM 924.
- [8] Nie SM, Emery SR, «Probing single molecules and single nanoparticles by Surface enhanced Raman scattering» 1997, Science, Vol. 275, nº 5303, pp. 1102–1106.
- [9] Kneipp K, Wang Y, Kneipp H, Perelman LT, Itzkan I, Dasari R, Feld MS, «Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS) » 1997, Phys Rev Lett, Vol. 78, nº 9, pp. 1667–1670.

- [10] Michaels AM, Jiang J, Brus L, «Ag nanocrystal junctions as the site for surface-enhanced Raman scattering of single rhodamine 6 G molecules» 2000, J Phys Chem B, n° 10450, pp. 11965–11971.
- [11] Xu HX, Aizpurua J, Kall M, Apell P, «Electromagnetic contributions to single-molecule sensitivity in surface-enhanced Raman scattering» 2000, Phys Rev E, n° 62, Vol. 3), pp. 4318–4324.
- [12] Futamata M, «Single molecule sensitivity in SERS: importance of junction of adjacent Ag nanoparticles» 2006, Faraday Discuss, n° 132, pp. 45–61.
- [13] Jiang J, Bosnick K, Maillard M, Brus L, «Single molecule Raman spectroscopy at the junctions of large Ag nanocrystals» 2003, J Phys Chem B, n° 107, Vol. 37, pp. 9964–9972.
- [14] Blackie E.J., Le Ru E.C., Etchegoin P.G., «Single-Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Nonresonant Molecules» 2009, J. AM. CHEM. SOC., n° 131, pp. 14466–14472.
- [15] Brosseau, C. L., Rayner, K. S., Casadio, F., Grzywacz, C. M., & Van Duyne, R. P. «Surface-enhanced Raman spectroscopy: a direct method to identify colorants in various artist media» 2009, Analytical chemistry, Vol. 17, n° 81, pp. 7443-7447.
- [16] J.Hodwiewicz, «Characterizing Carbon Materials with Raman Spectroscopy» Thermo Fisher Scienti\_c. Madison, WI, USA. Application Note: 51901.
- [17] Niemczyk, T.M., Delgado-Lopez, M.M., Allen, F.S., « Quantitative Determination of Bucindolol Concentration in Intact Gel Capsules Using Raman Spectroscopy» 1998, Anal. Chem., Vol. 70, pp 2762–2765.
- [18] J. Medina Valtierra, C. Medina Gutiérrez «Detección de contaminantes orgánicos sobre superficies pasivas por espectroscopia Raman Estimulada» Enero-Junio 2006, Conciencia tecnológica, n° 31, pp. 28-33.

### Capítulo 3

- [1] R. Zanella, «Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño» Mundo Nano, Vol. 5, n° 1, pp. 69-81
- [2] Nguyen T. K., « Mechanisms of Nucleation and Growth of Nanoparticles in Solution» 2014, Chem. Rev, pp. 7610–7630.
- [3] P. e. a. Lee, «Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols,» 1982, Journal of Physical Chemistry , pp. 3391-3395.
- [4] e. a. J. Alan Creighton, «Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or Gold Sol Particles of Size,» 1979, vol. 75, pp. 790–799.

- [5] I. Sondi, «Preparation of highly concentrated stable dispersions of uniform silver nanoparticles.,» 2003, Journal of colloid and Interface Science, vol. 260, pp. 75-81.
- [6] N. Shirtcliffe, «Reproducible preparation of Silver sols with small particle size using borohydride reduction: for use as nuclei for preparation of larger particles» 1999, Journal of Colloid and interface science, vol. 211, pp. 122-129.
- [7] S. Sangsuk, «Preparation of high surface area silver powder via Tollens process under sonication,» 2010, Materials Letters, vol. 64, n° 6, pp. 775-777.
- [8] Pastoriza-Santos, Liz-Marzán, «Binary cooperative complementary nanoscale interfacial materials. Reduction of silver nanoparticles in DMF. Formation of monolayers and stable colloids» 2009, Pure and Applied Chemistry, vol. 72, n° 1-2, pp. 83-90.
- [9] X. Zheng, «Laser-Induced growth of monodisperse silver nanoparticles with tunable surface plasmon resonance properties and a wavelength self-limiting effect,» 2007, Journal of physical chemistry, vol. 111, pp. 14962-14967.
- [10] S. Chen, «Synthesis and Characterization of Truncated Triangular silver nanoplates,» 2002, Nano Letters , vol. 2, n° 9, pp. 1003-1007.
- [11] B. Pietrobon, «Synthesis of size- controlled faceted pentagonal silver nanorods with tunable plasmonic properties and self- assembly of these nanorods,» 2008, American Chemical Society , vol. 3, n° 1, pp. 21-26.
- [12] K.-S. Chou, «Synthesis of nanosized silver particles by chemical reduction method,» 2000, Material Chemistry and Physics, vol. 64, pp. 241-246.
- [13] S. e. a. Chen, «Synthesis and Characterization of Truncated Triangular Silver Nanoplates» 2002, Nano Letters, vol. 2, n° 9, pp. 1003-1007.
- [14] J. Rongchao, «Controlling anisotropic nanoparticle growth through plasmon excitation,» 2003, Letters to nature, vol. 425, pp. 487- 490.
- [15] M. V. Cañamares, «Ag Nanoparticles Prepared by Laser Photoreduction as Substrates for in Situ Surface-Enhanced Raman Scattering Analysis of Dyes» 2007, Langmuir, vol. 23, pp. 5210-5215.
- [16] G.-W. Yang, «Sonochemical synthesis of highly monodispersed and size controllable Ag nanoparticles in ethanol solution» 2008, Materials Letters, vol. 62, pp. 2189-2191.
- [17] E. Hao, «Synthesis and Optical Properties of Anisotropic Metal Nanoparticles» 2004, Journal of Fluorescence, vol. 14, n° 4, pp. 331-342.
- [18] B. J. Wiley, «Synthesis and optical properties of silver nanobars and nanorice» 2007, Nano Letters, vol. 7, n° 4, pp. 1032-1036.

- [19] B. J. Wiley, «Synthesis and Electrical Characterization of Silver nanobeams» 2006, Nano Letters, vol. 6, n° 10, pp. 2273-2278.
- [20] B. J. Wiley, «Right Bipiramids of Silver: A New Shape Derived from Single Twinned Seeds» 2006, Nano Letters, vol. 6, n° 4, pp. 765-768.
- [21] W. Li, «Dimers of silver nanospheres: Facile Synthesis and their use as hot spots for SERS» 2009, Nano Letters, vol. 9, n° 1, pp. 485-490.
- [22] Y. Sun, «Uniform silver nanowires synthesis by reducing AgNO<sub>3</sub> with ethylene glycol in the presence of seeds and poly(vinyl pyrrolidone)» 2002, Chemistry of materials, vol. 14, pp. 4736-4745.
- [23] B. Wiley, «Polyol synthesis of silver nanoparticles: use of chloride and oxygen to promote the formation of single-crystal, truncated cubes and tetrahedrons» 2004, vol. 4, n° 9, pp. 1733-1739.
- [24] L. Bo, «A simple and green synthesis of polymer- based silver colloids and their antibacterial properties» 2009, Chemistry and Biodiversity, vol. 6, pp. 111-116.
- [25] Q. Zhang, «Seed- Mediated synthesis of Ag nanocubes with controllable edge lengths in the range of 30-200 nm and comparison of their optical properties,» vol. 132, pp. 11372-11378.
- [26] B. Pietrobon, «Photochemical Synthesis of Monodisperse Size-Controlled Silver Decahedral Nanoparticles and their Remarkable Optical Properties» 2010, Chemistry of Materials, vol. 20, pp. 5186-5190, 2008.
- [27] M. Rycenga, «Controlling the assembly of silver nanocubes through selective functionalization of their faces» 2008, Advanced Materials, vol. 20, pp. 2416-2420.
- [28] Lee, Kui - Jae, «Synthesis of silver nanoparticles using cow milk and their antifungal activity against phytopathogens» 2013, Material Letters, n° 105, pp. 128-131.
- [29] R. A. d. Matos, «Saliva and light as templates for the green synthesis of silver nanoparticles» 2014, Elsevier, vol. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, n° 441, pp. 539-543.
- [30] H. Padalia, «Green synthesis of silver nanoparticles from marigold flower and its synergistic antimicrobial potential» 2014, Arabian Journal of Chemistry.
- [31] B. Venkatesan «Rapid synthesis of biocompatible silver nanoparticles using aqueous extract of Rosa damascena petals and evaluation of their anticancer activity» 2014, Asian Pa, J, Trp. Med; vol. 7, pp. 294-300.

- [32] B. Kumar, «Synthesis of silver nanoparticles using Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) leaf extracts» 2014, Saudi Journal of Biological Sciences, vol. 21, pp. 605-609.
- [33] X. Zhao, «Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using sodium alginate and their antibacterial activity» 2014, Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects, vol. 444, pp. 180-188.
- [34] N. Yang, «Mango peel extract mediated novel route for synthesis of silver nanoparticles and antibacterial application of silver nanoparticles loaded onto non-woven fabrics» 2013, Industrial crops and Products, vol. 48, pp. 81-88.
- [35] T. Mochochoko, «Green synthesis of silver nanoparticles using cellulose extracted from an aquatic weed; water hyacinth» 2013, Carbohydrate Polymers, vol. 98, pp. 290-294.
- [36] D. D. Merin, «Antibacterial screening of silver nanoparticles synthesized by marine micro algae» 2010, Asian pacific Journal of Tropical Medicine, vol. 3, pp. 797-799.
- [37] A. Ahmad, «Extracellular Biosynthesis of Silver nanoparticles using the fungus *Fuarium oxysporum*» 2003, Colloid Surface, vol. B 28, pp. 313-318.
- [38] L. Sintubin, «Lactid acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles» 2009, Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 84, n° 4, pp. 741-749.
- [39] H. Bar, «Green Synthesis of silver nanoparticules using latex of *Jatropha curcas*» 2009, Colloids Surface, vol. A, n° 339, pp. 134-139.
- [40] M. Bindhu, «Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using *Hibiscus cannabinus* leaf extract and its antimicrobial activity» 2013, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, vol. 101, pp. 184-190.
- [41] N. K. Mondal, «Green synthesis of silver nanoparticles and its application for mosquito control» 2014, Asian Pacific Journal of Tropical Disease, vol. 4, pp. 204-210.
- [42] P. K. Stoimenov, «Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents» 2002, Langmuir, vol. 18, pp. 6679-6686.
- [43] S. Silver, «Bacterial heavy metal resistance: new surprises» 1996, Annu. Rev. Microbiol., vol. 50, pp. 753-89.
- [44] G. M. Whitesides, «The “right” size in Nanobiotechnology» 2003, Nat. Biotech-nol, vol. 21, pp. 1161-1165.

- [45] I. Sondi, «Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria» 2004, *J. Colloid Interface Sci.*, n° 275, p. 177–182.
- [46] J. S. Kim, «Antimicrobial effects of silver nanoparticles» 2007, *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 3, p. 95– 101.
- [47] G. Zhao, «Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion» 1998, *Biometals*, vol. 11, pp. 27 - 32.
- [48] H. J. Lee, «Bacteriostasis and skin innocuousness of nanosize silver colloids on textile fabrics» 2005, *Textile research Journal*, vol. 75, n° 7, pp. 551-556.
- [49] H. L. Pape, «Evaluation of the anti-microbial properties of an activated carbon fibre supporting silver using a dynamic method» 2002, *Carbon* 40, pp. 2947-2954.
- [50] S. Y. Yeo, «Preparation of nanocomposites fibers for permanent antibacterial effect» 2003, *Journal of Materials Science*, vol. 38, pp. 2143-2147.
- [51] A. Fernández, «Preservation of aseptic conditions in absorbents pads by using silver nanotechnology» 2009, *Food research international*, vol. 42, pp. 1105-1112.
- [52] M. Ignatova, «Novel antibacterial fibers of quaternized chitosan and poly(vinyl pyrrolidone) prepared by electrospinning» 2007, *European Polymer Journal*, vol. 43, pp. 1112-1122.
- [53] Q. Yang, «Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly (vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning» 2004, *Journal of Polymer Science*, vol. 42, pp. 3721-3726.
- [54] Park, S. et al. «Antiviral properties of silver nanoparticles on a magnetic hybrid colloid. *Appl. Environ. Microbiol*» 2014, 80, 2343–2350.
- [55] Xiang, D. et al. «Inhibition of A/Human/Hubei/3/2005 (H3N2) influenza virus infection by silver nanoparticles in vitro and in vivo» 2013, *Int. J. Nanomed.* 8, 4103–4114.
- [56] Gaikwad, S. et al. «Antiviral activity of mycosynthesized silver nanoparticles against herpes simplex virus and human parainfluenza virus type 3» 2013, *Int. J. Nanomed.* 8, 4303–4314.
- [57] Trefry, J.C. and Wooley, D.P, « Silver nanoparticles inhibit vaccinia virus infection by preventing viral entry through a macropinocytosis-dependent mechanism» 2013, *J. Biomed. Nanotechnol.* 9, 1624–1635.
- [58] Wu, P. et al, «High specific detection and near-infrared photothermal therapy of lung cancer cells with high SERS active aptamer–silver–gold shell–core nanostructures» 2013, *Analyst* 138, 6501–6510.

[59] Zhang, T. et al «Cytotoxic potential of silver nanoparticles» 2014, Yonsei Med. J. 55, 283–291.

[60] Sriram, M.I. et al «Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model» 2010, Int. J. Nanomed. 5, 753–762.

[61] Guo, D. et al.«Anti-leukemia activity of PVP-coated silver nanoparticles via generation of reactive oxygen species and release of silver ions» 2013, Biomaterials 34, 7884–7894.

[62] Franco-Molina, M.A. et al. «Antitumor activity of colloidal silver on MCF-7 human breast cancer cells» 2010, J. Exp. Clin. Cancer Res. 29, 148–154.

[63] Gurunathan, S. et al. «Green synthesis of silver nanoparticles using Ganoderma neo-japonicum Imazeki: a potential cytotoxic agent against breast cancer cells» 2013, Int. J. Nanomed. 8, 4399–4413.

#### **Capítulo 4**

[1] Lide, David R. «CRC Handbook of Chemistry and Physics» USA, CRC Press, 75<sup>th</sup> edition, pp. 1913- 1995

#### **Capítulo 5**

[1] Silman, O.; Bumm, L. A. «Surface-Enhanced Raman Scattering by Citrate on Colloidal Silver» 1983, J. Phys. Chem., vol. 87, pp. 1014-1023.

[2] Eustis, S., El-Sayed, M.A. «Why Gold Particles are More Precious than Pretty Gold. Noble Metal Surface Plasmon Resonance and Its Enhancement of the Radiative and NonRadiative Properties of Nanocrystals of Different Shapes» 2006, Chem. Soc. Rev., vol. 35, pp.209 – 217.

[3] G. Saini, S. Kaur, S. Tripathi, C.G. Mahajan, H. Thanga, A. Verma «Spectroscopic studies of Rhodamine 6G dispersed in poly(methyl methacrylate)» Spectrochimica Acta A, vol. 61, pp. 653-658

[4] Kelly, K.L., Coronado, E., Zhao, L.L. & Schatz, G.C. «The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment» 2003, J. Phys. Chem. B., vol. 107, pp. 668-677.

[5] Jaworska, Aleksandra, Malek, Kamilla., Marzec, Katarzyna & Baranska, Malgorzata «Nicotinamide and trigonelline studied with surface-enhanced FT-Raman spectroscopy» 2012, Vibrational Spectroscopy, vol. 63, pp. 469-476.

[6] S. Ramalingama, S. Periandy, M. Govindarajan & S. Mohand «FT-IR and FT-Raman vibrational spectra and molecular structure investigation of nicotinamide: A combined experimental and theoretical study» 2010, Spectrochimica Acta Part A, vol. 75, pp. 1552–1558.

[7] Yi-Jin Xiao, Ting Wang, Xun-Qing Wang, Xiao-Xia Gao «Surface-enhanced near-infrared Raman spectroscopy of nicotinamide adenine dinucleotides on a gold electrode» 1997, Journal of Electroanalytical Chemistry, vol. 443, pp. 49-56.

# Glosario

**Borohidruro de Sodio:** Con fórmula química  $\text{NaBH}_4$ , es un agente reductor de carácter selectivo usado en la síntesis de fármacos y otros compuestos orgánicos. Es un sólido blanco, que se suele encontrar en forma granulada (polvo). Es soluble en alcoholes y agua, aunque reacciona con ellos con relativa lentitud (acentuada si se añade una base fuerte) formando hidrógeno (riesgo de explosión).

**Citrato de Sodio:** Sal sódica del citrato también llamado ácido cítrico que es un componente común de las células del cuerpo humano. Tiene la fórmula química  $\text{Na}_3\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3$ .

**Coloide:** Sistema formado por dos o más fases, principalmente: una normalmente fluida (líquido), y otra dispersa en forma de partículas generalmente sólidas muy finas. La fase dispersa es la que se halla en menor proporción. Normalmente la fase continua es líquida, pero pueden encontrarse coloides cuyos componentes se encuentran en otros estados de agregación.

**Colorimetría:** Técnica de la medición del color, abarca sólo una parte de la ciencia del color, que consiste en todo el conocimiento relacionado con la producción de estímulos de color y la percepción de ellos.

**Crecimiento:** Agregación entre cúmulos, entre átomos o entre átomos y cúmulos.

**Dispersión Raman Anti-Stokes:** Ocurre cuando la muestra es la que le transfiere energía al fotón incidente, haciendo que el fotón dispersado tenga una frecuencia mayor a la inicial ( $\nu + \nu_i$ ).

**Dispersión Raman Stokes:** Cuando el fotón incidente transfiere energía a la muestra, esto hace que el fotón dispersado presente una frecuencia menor a la inicial ( $\nu - \nu_i$ ).

**Efecto Raman:** Porción de luz que si cambia de frecuencia (aproximadamente 1 fotón dispersado por cada  $10^7$  incidentes), este cambio de frecuencia, debido al esparcimiento inelástico con la muestra de estudio.

**Efecto Rayleigh:** Dispersión elástica en la que los fotones esparcidos tienen la misma energía (frecuencia) y longitud de onda que los fotones incidentes.

**Efecto SERS:** Amplificación de intensidades de señales Raman (del orden de entre  $10^5$  a  $10^{14}$  veces con respecto a las intensidades que se esperaría obtener). Para obtener SERS es necesario la interacción entre el analito y una superficie o partícula metálica: el analito se adsorbe en el metal.

**Espectroscopía Raman:** Técnica espectroscópica usada para estudiar modos de baja frecuencia como los vibratorios, rotatorios, y otros. Se basa en los fenómenos de dispersión inelástica, o dispersión Raman, de la luz monocromática, generalmente de un láser en el rango de luz visible, el infrarrojo cercano.

**Fuerzas de Van der Waals:** Fuerzas atractivas o repulsivas entre moléculas (o entre partes de una misma molécula) distintas a aquellas debidas a un enlace intramolecular (Enlace iónico, Enlace metálico y enlace covalente de tipo reticular) o a la interacción electrostática de iones con otros o con moléculas neutras.

**Luz monocromática:** Luz que está formada por componentes de un solo color. Es decir, que tiene una sola longitud de onda, correspondiente a ese color.

**Nanociencia:** Estudio de los sistemas con dimensiones del orden de una milmillonésima parte de metro.

**Nanometro:** Medida de longitud que equivale a la milmillonésima parte del metro.

**Nanopartícula:** Partícula microscópica con por lo menos una dimensión menor que 100 nm.

**Nanotecnología:** Tecnología que se dedica al diseño y manipulación de la materia a nivel de átomos o moléculas, con fines industriales o médicos, entre otros.

**Nucleación:** Proceso por el cual se forma un núcleo en solución.

**Oxidante químico:** Un agente oxidante es aquel que recibe electrones de un agente reductor.

**pH:** Medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidrógeno  $[H]^+$  presentes en determinadas disoluciones.

**Plasmón:** Oscilaciones colectivas de los electrones libres existentes en metales, las cuales llevan asociadas energías discretas de manera tal que las transiciones electrónicas entre las mismas dan lugar a la extinción (absorción + difusión) de un parte de la luz incidente, dando lugar a un efecto de coloración en estos sistemas.

**Plata (Ag):** Elemento metálico de transición en la tabla periódica (número atómico 47), de color blanco, brillante y blando, que conduce muy bien el calor y la electricidad.

**Polarizabilidad:** Medida de la facilidad con la cual pueden distorsionarse las nubes de electrones que están alrededor de los átomos de una molécula; en consecuencia, los átomos más pesados que tienen nubes electrónicas más grandes presentarán una mayor polarizabilidad individual.

**PVA:** El Acetato de polivinilo es un polímero obtenido mediante la polimerización del acetato de vinilo.

**PVP:** La Polivinil pirrolidona es un polímero soluble en agua, formado por cadenas de múltiples vinilpirrolidonas.

**Relación superficie-volumen:** Cociente entre el área superficial de un objeto y el volumen de dicho objeto. La relación sa/vol se expresa en unidades de la inversa de la unidad de distancia.

**Reductor químico:** Un agente reductor es aquel que cede electrones a un agente oxidante.

# Anexos

## Anexo I

A continuación se presenta dos tablas, en la primera (7.0) se concentran los datos relacionados al seguimiento de que se les dio a los coloides por medio de la espectroscopia UV-Vis, desde el día de la síntesis y hasta las 72 horas, en la tabla número 7.1 se enlistan los resultados restantes (desde las 168 horas y hasta las 4320 horas).

**Tabla 7.0 Resultados del análisis llevado a cabo en el plasmón de cada coloide, desde el día de su síntesis y hasta las 72 horas.**

| Coloide                   | Plasmón (T <sub>x</sub> )                                      | Plasmón (Tx)  | Plasmón (Tx)  | Plasmón (Tx)  |
|---------------------------|--|---|---|---|
| A <sup>433</sup>          | x = 0 horas<br>Plasmón: 390 nm<br>Ancho: 068 nm<br>H/2: 0.3495 | x = 24 horas<br>Plasmón: 399 nm<br>Ancho: 101 nm<br>H/2: 0.2648   | x= 48 horas<br>Plasmón: 405 nm<br>Ancho: 104 nm<br>H/2: 0.2327<br>Presenta un<br>hombro en 440 nm                 | x= 72 horas<br>Plasmón: 411 nm<br>Ancho: 130 nm<br>H/2: 0.2716  |
| A <sup>433</sup><br>(PVP) | x = 0 horas<br>Plasmón: 390 nm<br>Ancho: 087 nm<br>H/2: 0.3291 | x = 24 horas<br>Plasmón: 415 nm<br>Ancho: 090 nm<br>H/2: 0.3838   | x = 48 horas<br>Plasmón: 429 nm<br>Ancho: 092 nm<br>H/2: 0.3432<br>Plasmón: 647 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: ----- | x = 72 horas<br>Plasmón: 432 nm<br>Ancho: 108<br>nm<br>H/2: 0.3432<br>Plasmón: 647<br>nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: ----- |
| A <sup>434</sup>          | x = 0 horas<br>Plasmón: 390 nm<br>Ancho: 076 nm<br>H/2: 0.4613 | x = 24 horas<br>Plasmón: 394 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: ---<br>Plasmón: 665 nm<br>Ancho: 161 nm<br>H/2: 0.2907 | x = 48 horas<br>Plasmón: 458 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 639 nm<br>Ancho: 223 nm<br>H/2: 0.3819 | x = 72 horas<br>Plasmón: 458 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 627<br>nm<br>Ancho: 267<br>nm<br>H/2: 0.3313 |
| A <sup>434</sup> (PVP)    | x = 0 horas<br>Plasmón: 399 nm<br>Ancho: 065 nm<br>H/2: 0.2026 | x = 24 horas<br>Plasmón: 471 nm<br>Ancho: 080 nm<br>H/2: 0.1102   | x = 48 horas<br>Plasmón: 458 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----  | x = 72 horas<br>Plasmón: 458 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----  |

|                        |  |  |  |  |
|------------------------|--|--|--|--|
|                        |  | Plasmón: 632 nm<br>Ancho: 149 nm<br>H/2: 0.4233  | Plasmón: 622 nm<br>Ancho: 162 nm<br>H/2: 0.5336  | Plasmón: 567 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 627 nm<br>Ancho: 166 nm<br>H/2: 0.4891                 |
| A <sup>435</sup>       | x = 0 horas<br>Plasmón: 398 nm<br>Ancho: 071 nm<br>H/2: 0.4055 | x = 24 horas<br>Plasmón: 399 nm<br>Ancho: 056 nm<br>H/2: 0.1044<br>Plasmón: 646 nm<br>Ancho: 169 nm<br>H/2: 0.2982 | x = 48 horas<br>Plasmón: 460 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 629 nm<br>Ancho: 188 nm<br>H/2: 0.4143  | x = 72 horas<br>Plasmón: 464 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 630 nm<br>Ancho: 238 nm<br>H/2: 0.4197  |
| A <sup>435</sup> (PVP) | x = 0 horas<br>Plasmón: 398 nm<br>Ancho: 072 nm<br>H/2: 0.2233 | x = 0 horas<br>Plasmón: 426 nm<br>Ancho: 072 nm<br>H/2: 0.2233   | x = 48 horas<br>Plasmón: 423 nm<br>Ancho: 095 nm<br>H/2: 0.2316  | x = 72 horas<br>Plasmón: 423 nm<br>Ancho: 087 nm<br>H/2: 0.2072  |
| A <sup>443</sup>       | x = 0 horas<br>Plasmón: 390 nm<br>Ancho: 065 nm<br>H/2: 0.2218 | x = 24 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: 098 nm<br>H/2: 0.2356  | x = 48 horas<br>Plasmón: 398 nm<br>Ancho: 088 nm<br>H/2: 0.2850<br>Plasmón: 647 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----  | x = 72 horas<br>Plasmón: 398 nm<br>Ancho: 126 nm<br>H/2: 0.3039<br>Plasmón: 647 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----  |
| A <sup>443</sup> (PVP) | x = 0 horas<br>Plasmón: 390 nm<br>Ancho: 065 nm<br>H/2: 0.2218 | x = 24 horas<br>Plasmón: 402 nm<br>Ancho: 106 nm<br>H/2: 0.3750  | x = 48 horas<br>Plasmón: 403 nm<br>Ancho: 106 nm<br>H/2: 0.3609  | x = 72 horas<br>Plasmón: 403 nm<br>Ancho: 117 nm<br>H/2: 0.3814  |
| A <sup>444</sup>       | x = 0 horas<br>Plasmón: 389 nm<br>Ancho: 076 nm<br>H/2: 0.3924 | x = 24 horas<br>Plasmón: 392 nm<br>Ancho: 051 nm<br>H/2: 0.3541<br>Plasmón: 650 nm<br>Ancho: 092 nm<br>H/2: 0.0925 | x = 48 horas<br>Plasmón: 393 nm<br>Ancho: 067 nm<br>H/2: 0.2504<br>Plasmón: 629 nm<br>Ancho: 158 nm<br>H/2: 0.1220 | x = 72 horas<br>Plasmón: 393 nm<br>Ancho: 118 nm<br>H/2: 0.2504<br>Plasmón: 616 nm<br>Ancho: 191 nm<br>H/2: 0.2134 |
| A <sup>444</sup> (PVP) | x = 0 horas<br>Plasmón: 389 nm<br>Ancho: 047 nm<br>H/2: 0.2526 | x = 24 horas<br>Plasmón: 400 nm<br>Ancho: 057 nm<br>H/2: 0.4765<br>Plasmón: 649 nm                                 | x = 48 horas<br>Plasmón: 405 nm<br>Ancho: 063 nm<br>H/2: 0.4159<br>Plasmón: 653 nm                                 | x = 72 horas<br>Plasmón: 408 nm<br>Ancho: 092 nm<br>H/2: 0.432<br>Plasmón: 660                                     |

|                        |  |  |   |   |
|------------------------|--|--|---|---|
|                        |  | Ancho: 091 nm<br>H/2: 0.0297   | Ancho: 099 nm<br>H/2: 0.0329  | nm<br>Ancho: 152 nm<br>H/2: 0.0882  |
| A <sup>445</sup>       | x = 0 horas<br>Plasmón: 395 nm<br>Ancho: 065 nm<br>H/2: 0.3482 | x = 24 horas<br>Plasmón: 403 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 649 nm<br>Ancho: 191 nm<br>H/2: 0.2630 | x = 48 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: 046 nm<br>H/2: 0.0845<br>Plasmón: 471 nm<br>Ancho: 065 nm<br>H/2: 0.1233<br>Plasmón: 636 nm<br>Ancho: 258 nm<br>H/2: 0.2640 | x = 72 horas<br>Plasmón: 399 nm<br>Ancho: 075 nm<br>H/2: 0.0845<br>Plasmón: 467 nm<br>Ancho: 077 nm<br>H/2: 0.1777<br>Plasmón: 622 nm<br>Ancho: 284 nm<br>H/2: 0.3022 |
| A <sup>445</sup> (PVP) | x = 0 horas<br>Plasmón: 395 nm<br>Ancho: 065 nm<br>H/2: 0.3482 | x = 24 horas<br>Plasmón: 403 nm<br>Ancho: 035 nm<br>H/2: 0.0215<br>Plasmón: 637 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: ----- | x = 48 horas<br>Plasmón: 431 nm<br>Ancho: 048 nm<br>H/2: 0.0215<br>Plasmón: 637 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----  | x = 72 horas<br>Plasmón: 448 nm<br>Ancho: 101 nm<br>H/2: 0.1588   |
| A <sup>453</sup>       | x = 0 horas<br>Plasmón: 389 nm<br>Ancho: 078 nm<br>H/2: 0.4275 | x = 24 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: 068 nm<br>H/2: 0.36  | x = 48 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: 068 nm<br>H/2: 0.3917   | x = 72 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: 096 nm<br>H/2: 0.4185   |
| A <sup>453</sup> (PVP) | x = 0 horas<br>Plasmón: 389 nm<br>Ancho: 066 nm<br>H/2: 0.4275 | x = 24 horas<br>Plasmón: 406 nm<br>Ancho: 066 nm<br>H/2: 0.5640  | x = 48 horas<br>Plasmón: 398 nm<br>Ancho: 047 nm<br>H/2: 0.3075   | x = 72 horas<br>Plasmón: 406 nm<br>Ancho: 072 nm<br>H/2: 0.5995   |
| A <sup>454</sup>       | x = 0 horas<br>Plasmón: 387 nm<br>Ancho: 063 nm<br>H/2: 0.2528 | x = 24 horas<br>Plasmón: 393 nm<br>Ancho: 045 nm<br>H/2: 0.5392  | x = 48 horas<br>Plasmón: 391 nm<br>Ancho: 039 nm<br>H/2: 0.4829   | x = 72 horas<br>Plasmón: 392 nm<br>Ancho: 053 nm<br>H/2: 0.4795   |
| A <sup>454</sup> (PVP) | x = 0 horas<br>Plasmón: 395 nm<br>Ancho: 061 nm<br>H/2: 0.5496 | x = 24 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: 047 nm<br>H/2: 0.4897  | x = 48 horas<br>Plasmón: 400 nm<br>Ancho: 050 nm<br>H/2: 0.3280   | x = 72 horas<br>Plasmón: 400 nm<br>Ancho: 059 nm<br>H/2: 0.3262   |
| A <sup>455</sup>       | x = 0 horas<br>Plasmón: 393 nm<br>Ancho: 059 nm<br>H/2: 0.5135 | x = 24 horas<br>Plasmón: 399 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 438 nm<br>Ancho: --- nm                | x = 48 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 438 nm<br>Ancho: --- nm   | x = 72 horas<br>Plasmón: 363 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 398 nm  |

|                        |  |   |   |   |
|------------------------|--|---|---|---|
|                        |  | H/2: ----<br>Plasmón: 617 nm<br>Ancho: 118 nm<br>H/2: 0.0409    | H/2: ----<br>Plasmón: 597 nm<br>Ancho: 137 nm<br>H/2: 0.1395    | Ancho: --- nm<br>H/2: ----<br>Plasmón: 454 nm<br>Ancho: 166 nm<br>H/2: 0.<br>1971 |
| A <sup>455</sup> (PVP) | x = 0 horas<br>Plasmón: 393 nm<br>Ancho: 059 nm<br>H/2: 0.5135 | x = 24 horas<br>Plasmón: 406 nm<br>Ancho: 076 nm<br>H/2: 0.5135 | x = 48 horas<br>Plasmón: 444 nm<br>Ancho: 109 nm<br>H/2: 0.0529 | x = 72 horas<br>Plasmón: 444 nm<br>Ancho: 109 nm<br>H/2: 0.0529                   |

**Tabla 7.1 Resultados del análisis llevado a cabo en el plasmón de cada coloide, desde las 168 y hasta las 4320 horas.**

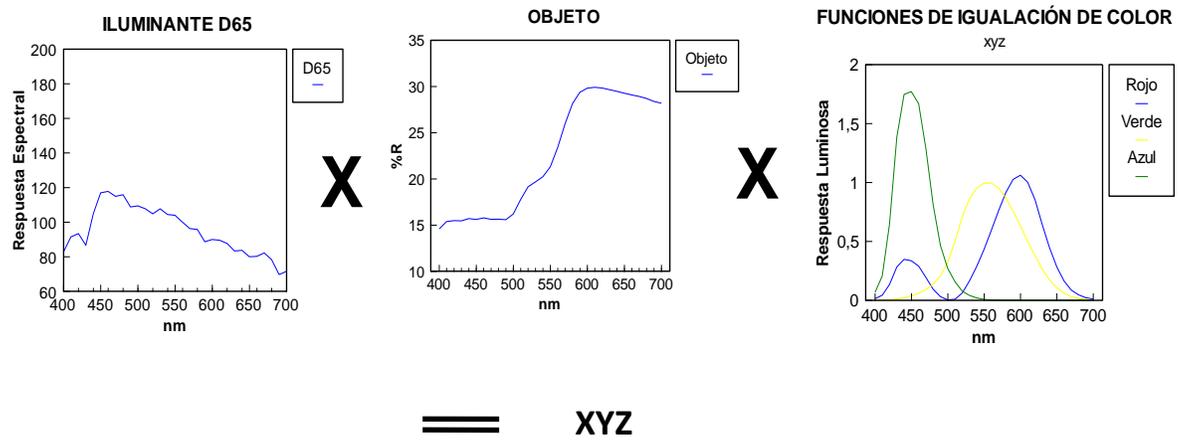
| Coloide                   | Plasmón (Tx)  | Plasmón (Tx)  | Plasmón (Tx)  | Plasmón (Tx)   |
|---------------------------|---|---|---|--|
| A <sup>433</sup>          | x= 168 horas<br>Plasmón: 428 nm<br>Ancho: 133 nm<br>H/2: 0.2219   | x= 360 horas<br>Plasmón: 447 nm<br>Ancho: 149 nm<br>H/2: 0.2281   | x = 720 horas<br>Plasmón: 446 nm<br>Ancho: 136 nm<br>H/2: 0.1912  | x = 4320 horas<br>Plasmón: 449 nm<br>Ancho: 143 nm<br>H/2: 0.1797  |
| A <sup>433</sup><br>(PVP) | x = 168 horas<br>Plasmón: 432 nm<br>Ancho: 112 nm<br>H/2: 0.2495<br>Plasmón: 642 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----  | x = 360 horas<br>Plasmón: 448 nm<br>Ancho: 172 nm<br>H/2: 0.2193<br>Plasmón: 646 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----  | x = 720 horas<br>Plasmón: 390 nm<br>Ancho: 087 nm<br>H/2: 0.3291  | x = 4320 horas<br>Plasmón: 435 nm<br>Ancho: 087 nm<br>H/2: 0.3291<br>Plasmón: 646 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----  |
| A <sup>434</sup>          | x = 168 horas<br>Plasmón: 452 nm<br>Plasmón: 562 nm<br>Ancho: 143 nm<br>H/2: 0.3183   | x = 360 horas<br>Plasmón: 451 nm<br>Plasmón: 567 nm<br>Plasmón: 626 nm<br>Ancho: 127 nm<br>H/2: 0.2648  | x = 720 horas<br>Plasmón: 420 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: ---<br>Plasmón: 621 nm<br>Ancho: 124 nm<br>H/2: 0.213   | x = 4320 horas<br>Plasmón: 423 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: ---<br>Plasmón: 620 nm<br>Ancho: 124 nm<br>H/2: 0.213   |
| A <sup>434</sup> (PVP)    | x = 168 horas<br>Plasmón: 458 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 562 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 624 nm<br>Ancho: 162 nm<br>H/2: 0.4265 | x = 360 horas<br>Plasmón: 461 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 568 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 630 nm<br>Ancho: 177 nm<br>H/2: 0.3926 | x = 720 horas<br>Plasmón: 428 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 568 nm<br>Ancho: 085 nm<br>H/2: 0.3689<br>Plasmón: 630 nm<br>Ancho: 127 nm<br>H/2: 0.3530 | x = 4320 horas<br>Plasmón: 462 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 568 nm<br>Ancho: 085 nm<br>H/2: 0.3689<br>Plasmón: 630 nm<br>Ancho: 127 nm<br>H/2: 0.3530 |

|                        |   |   |   |  |
|------------------------|---|---|---|--|
| A <sup>435</sup>       | x = 168 horas<br>Plasmón: 412 nm<br>Plasmón: 448 nm<br>Plasmón: 564 nm<br>Plasmón: 619 nm<br>Ancho: 140 nm<br>H/2: 0.3750 | x = 360 horas<br>Plasmón: 425 nm<br>Plasmón: 617 nm<br>Ancho: 216 nm<br>H/2: 0.1810                                 | x = 720 horas<br>Plasmón: 418 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 567 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 624 nm<br>Ancho: 163 nm<br>H/2: 0.2342 | x = 4320 horas<br>Plasmón: 418 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 573 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 624 nm<br>Ancho: 163 nm<br>H/2: 0.2342 |
| A <sup>435</sup> (PVP) | x= 168 horas<br>Plasmón: 428 nm<br>Ancho: 092 nm<br>H/2: 0.2105   | x= 360 horas<br>Plasmón: 425 nm<br>Ancho: 149 nm<br>H/2: 0.2134<br>Plasmón: 623 nm                                  | x= 720 horas<br>Plasmón: 441 nm<br>Ancho: 122 nm<br>H/2: 0.1338<br>Plasmón: 582 nm  | x= 720 horas<br>Plasmón: 468 nm<br>Ancho: 122 nm<br>H/2: 0.1338<br>Plasmón: 582 nm   |
| A <sup>443</sup>       | x = 168 horas<br>Plasmón: 402 nm<br>Ancho: 096 nm<br>H/2: 0.2441  | x = 360 horas<br>Plasmón: 402 nm<br>Ancho: 121 nm<br>H/2: 0.2895<br>Plasmón: 646 nm                                 | x = 720 horas<br>Plasmón: 403 nm<br>Ancho: 116 nm<br>H/2: 0.2689<br>Plasmón: 648 nm   | x = 720 horas<br>Plasmón: 411 nm<br>Ancho: 116 nm<br>H/2: 0.2689<br>Plasmón: 648 nm  |
| A <sup>443</sup> (PVP) | x = 168 horas<br>Plasmón: 405 nm<br>Ancho: 116 nm<br>H/2: 0.4043  | x = 360 horas<br>Plasmón: 405 nm<br>Ancho: 110 nm<br>H/2: 0.3912<br>Plasmón: 686 nm                                 | x = 720 horas<br>Plasmón: 405 nm<br>Ancho: 114 nm<br>H/2: 0.2460  | x = 720 horas<br>Plasmón: 425 nm<br>Ancho: 114 nm<br>H/2: 0.2460   |
| A <sup>444</sup>       | x = 168 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: 093 nm<br>H/2: 0.2540<br>Plasmón: 533 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----        | x = 360 horas<br>Plasmón: 399 nm<br>Ancho: 088 nm<br>H/2: 0.2369<br>Plasmón: 564 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: -----  | x = 720 horas<br>Plasmón: 399 nm<br>Ancho: 836 nm<br>H/2: 0.1945<br>Plasmón: 592 nm<br>Ancho: 151 nm<br>H/2: 0.1780   | x = 4320 horas<br>Plasmón: 404 nm<br>Ancho: 836 nm<br>H/2: 0.1945<br>Plasmón: 592 nm<br>Ancho: 151 nm<br>H/2: 0.1780   |
| A <sup>444</sup> (PVP) | x = 168 horas<br>Plasmón: 415 nm<br>Ancho: 070 nm<br>H/2: 0.2942<br>Plasmón: 650 nm<br>Ancho: 080 nm<br>H/2: 0.0195       | x = 360 horas<br>Plasmón: 415 nm<br>Ancho: 089 nm<br>H/2: 0.2796<br>Plasmón: 666 nm<br>Ancho: 178 nm<br>H/2: 0.1032 | x = 720 horas<br>Plasmón: 421 nm<br>Ancho: 081 nm<br>H/2: 0.2094<br>Plasmón: 666 nm<br>Ancho: 178 nm<br>H/2: 0.1032   | x = 4320 horas<br>Plasmón: 426 nm<br>Ancho: 081 nm<br>H/2: 0.2094<br>Plasmón: 669 nm<br>Ancho: 178 nm<br>H/2: 0.1032   |
| A <sup>445</sup>       | x = 168 horas<br>Plasmón: 392 nm<br>Plasmón: 444 nm<br>Plasmón: 545 nm<br>Ancho: 212 nm<br>H/2: 0.1869                    | x = 360 horas<br>Plasmón: 392 nm<br>Plasmón: 438 nm<br>Plasmón: 522 nm<br>Ancho: 245 nm<br>H/2: 0.1693              | x = 720 horas<br>Plasmón: 389 nm<br>Plasmón: 440 nm<br>Plasmón: 551 nm<br>Ancho: 158 nm<br>H/2: 0.1472  | x = 4320 horas<br>Plasmón: 399 nm<br>Plasmón: 446 nm<br>Plasmón: 551 nm<br>Ancho: 158 nm<br>H/2: 0.1472  |
| A <sup>445</sup> (PVP) | x = 168 horas<br>Plasmón: 441 nm<br>Ancho: 138 nm   | x = 360 horas<br>Plasmón: 441 nm<br>Ancho: 132 nm   | x = 720 horas<br>Plasmón: 442 nm<br>Ancho: 095 nm   | x = 4320 horas<br>Plasmón: 442 nm<br>Ancho: 095 nm   |

|                        |  |  |   |   |
|------------------------|--|--|---|---|
|                        | H/2: 0.2369  | H/2: 0.2266  | H/2: 0.1601   | H/2: 0.1601   |
| A <sup>453</sup>       | x = 168 horas<br>Plasmón: 398 nm<br>Ancho: 071 nm<br>H/2: 0.4056   | x = 360 horas<br>Plasmón: 393 nm<br>Ancho: 085 nm<br>H/2: 0.4089   | x = 720 horas<br>Plasmón: 389 nm<br>Ancho: 074 nm<br>H/2: 0.4275  | x = 4320 horas<br>Plasmón: 394 nm<br>Ancho: 074 nm<br>H/2: 0.4275 |
| A <sup>453</sup> (PVP) | x = 168 horas<br>Plasmón: 408 nm<br>Ancho: 063 nm<br>H/2: 0.5425   | x = 360 horas<br>Plasmón: 408 nm<br>Ancho: 074 nm<br>H/2: 0.5640   | x = 720 horas<br>Plasmón: 408 nm<br>Ancho: 067 nm<br>H/2: 0.5447  | x = 4320 horas<br>Plasmón: 408 nm<br>Ancho: 067 nm<br>H/2: 0.5447 |
| A <sup>454</sup>       | x = 168 horas<br>Plasmón: 395 nm<br>Ancho: 044 nm<br>H/2: 0.4795   | x = 360 horas<br>Plasmón: 392 nm<br>Ancho: 044 nm<br>H/2: 0.3618   | x = 720 horas<br>Plasmón: 396 nm<br>Ancho: 044 nm<br>H/2: 0.3312  | x = 4320 horas<br>Plasmón: 398 nm<br>Ancho: 044 nm<br>H/2: 0.3312 |
| A <sup>454</sup> (PVP) | x = 168 horas<br>Plasmón: 408 nm<br>Ancho: 061 nm<br>H/2: 0.3030   | x = 360 horas<br>Plasmón: 408 nm<br>Ancho: 064 nm<br>H/2: 0.2722   | x = 720 horas<br>Plasmón: 409 nm<br>Ancho: 067 nm<br>H/2: 0.2690  | x = 4320 horas<br>Plasmón: 413 nm<br>Ancho: 067 nm<br>H/2: 0.2690 |
| A <sup>455</sup>       | x = 168 horas<br>Plasmón: 367 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 405 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: ----<br>Plasmón: 450 nm<br>Ancho: 117 nm<br>H/2: 0.1217 | x = 360 horas<br>Plasmón: 367 nm<br>Ancho: ---- nm<br>H/2: -----<br>Plasmón: 411 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: ----<br>Plasmón: 480 nm<br>Ancho: 148 nm<br>H/2: 0.1221 | x = 720 horas<br>Plasmón: 406 nm<br>Ancho: --- nm<br>H/2: ----<br>Plasmón: 467 nm<br>Ancho: 112 nm<br>H/2: 0.1383 | x = 4320 horas<br>Plasmón: 462 nm<br>Ancho: 112 nm<br>H/2: 0.1383 |
| A <sup>455</sup> (PVP) | x = 168 horas<br>Plasmón: 457 nm<br>Ancho: 083 nm<br>H/2: 0.0724   | x = 360 horas<br>Plasmón: 457 nm<br>Ancho: 121 nm<br>H/2: 0.1297   | x = 720 horas<br>Plasmón: 457 nm<br>Ancho: 105 nm<br>H/2: 0.1079  | x = 4320 horas<br>Plasmón: 467 nm<br>Ancho: 129 nm<br>H/2: 0.1258 |

## Anexo II

### Cálculo de los Valores Triestímulo



Siendo:

$$X = k \sum_{400}^{700} S \lambda P \lambda \bar{x} \lambda$$

$$Y = k \sum_{400}^{700} S \lambda P \lambda \bar{y} \lambda$$

$$Z = k \sum_{400}^{700} S \lambda P \lambda \bar{z} \lambda$$

Donde:

XYZ= Son los valores triestímulo para 10° y 2°\*

S= Valores de reflectancia de la iluminante para 10° y 2°\*

P= Valores de reflectancia del tono evaluado\*

$\bar{x} \lambda, \bar{y} \lambda, \bar{z} \lambda$  = Funciones de igualación de color para 10° y 2°

\*Valores que se pueden obtener en la página oficial de la Comisión Internacional de la Iluminación

k= Factor de normalización para cada iluminante en función del observador que se aplique en el cálculo. La ecuación para el cálculo de k es la siguiente:

$$k = \frac{100}{\sum_{400}^{700} S \lambda \bar{y} \lambda}$$

Para obtener las coordenadas cromáticas  $x, y$  aplicamos las siguientes fórmulas:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \quad y = \frac{Y}{X + Y + Z} \quad z = \frac{Z}{X + Y + Z}$$

$z$  también se puede expresar como:  $z = 1 - (x + y)$

Donde:

$xyz$  = Son las coordenadas cromáticas

$XYZ$  = Valores triestímulo para  $10^\circ$  o  $2^\circ$