



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

## FACULTAD DE QUÍMICA

### Preparación de un sustrato flexible SERS a partir de PMMA y nanopartículas de oro con vértices

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIA DE MATERIALES

PRESENTA

Ing María Guadalupe Reyes Cruz

DIRIGIDO POR

Dr. Alfredo Rafael Vilchis Nestor (CCIQS)

Dr. Gustavo López Téllez (CCIQS)

Dr. Marco Antonio Camacho López (LIDMA)



**“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino  
como una oportunidad para penetrar en el bello y  
maravilloso mundo del saber”**

**Albert Einstein**

# Índice General

|  |     |
|--|-----|
| Índice de Tablas.....                                      | I   |
| Índice de Figuras .....                                    | II  |
| Abreviaturas.....  | III |
| Resumen.....   | IV  |
| CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN.....                               | 6   |
| Antecedentes .....   | 7   |
| Nanomateriales compuestos .....                            | 8   |
| Síntesis química de nanopartículas.....                    | 10  |
| Nucleación.....  | 10  |
| Crecimiento .....  | 10  |
| Síntesis de nanopartículas por método biológico.....       | 13  |
| <i>Camellia sinensis</i> .....                             | 14  |
| Propiedades ópticas de nanopartículas metálicas.....       | 17  |
| Nanopartículas metálicas.....                              | 18  |
| Radiación electromagnética y plasmones de superficie ..... | 20  |
| Procesos de autoensamblaje .....                           | 27  |
| Polímeros .....  | 29  |

|  |    |
|--|----|
| Poli (metacrilato de metilo) .....                     | 30 |
| CAPITULO 2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS ..... | 31 |
| Hipótesis.....   | 32 |
| Objetivo(s).....                                       | 32 |
| Metas .....  | 32 |
| Justificación .....                                    | 33 |
| CAPITULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....              | 34 |
| Materiales y reactivos .....                           | 35 |
| Síntesis de nanopartículas de oro .....                | 36 |
| Sustrato a partir de PMMA .....                        | 37 |
| Técnicas de caracterización .....                      | 39 |
| CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....               | 54 |
| CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES .....                          | 65 |
| REFERENCIAS.....                                       | 67 |

## Índice de Tablas

|   |    |
|---|----|
| TABLA 1.- BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS UTILIZANDO EXTRACTOS DE PLANTAS. RECUPERADO DE [9]                      | 9  |
| TABLA 2.- COMPOSICIÓN MEDIA EN TÉ VERDE.  | 14 |
| TABLA 3.- PROPIEDADES DEL POLIMETIL METACRILATO[63-64].   | 31 |
| TABLA 4.- NÚMEROS DE ONDA DE LOS ESPECTROS FTIR DE LOS MÉTODOS 1, 2 Y 3 EN COMPARACIÓN CON EL<br>PMMA EN BLANCO | 67 |

## Índice de Figuras

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 1.- DESCRIPCIÓN DE LOS ENFOQUES ARRIBA HACIA ABAJO Y ABAJO HACIA ARRIBA PARA LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS  | 8  |
| FIGURA 2.- CAMBIO EN LA CONCENTRACIÓN DEL PRECURSOR Y EL CRECIMIENTO DE NANOPARTÍCULAS [12].   | 10 |
| FIGURA 3.- MECANISMO DE CRECIMIENTO DE NANOPARTÍCULAS PROPUESTO POR POLTE [15].  | 11 |
| FIGURA 4.- CLASIFICACIÓN DE LAS FUERZAS INTERMOLECULARES.  | 12 |
| FIGURA 5.- REPRESENTACIÓN DE LAS FUERZAS EN LAS NANOPARTÍCULAS A) ELECTROSTÁTICAS Y B) ESTÉRICAS [18][19].   | 12 |
| FIGURA 6.- REPRESENTACIÓN QUE PROPONE LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS CON PLANTAS COMO AGENTES REDUCTORES [2]  | 14 |
| FIGURA 7.- ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE LOS PRINCIPALES COMPUESTOS DE LAS CATEQUINAS PRESENTES EN EL TÉ VERDE [13].   | 15 |
| FIGURA 8.- OXIDACIÓN DE DOS ELECTRONES DEL ÁCIDO GÁLICO A SU CORRESPONDIENTE FORMA QUINONA [32]  | 16 |
| FIGURA 9.- REPRESENTACIÓN DE LA INTERACCIÓN ELECTROSTÁTICA DE GRUPOS CARBOXILO EN LA SUPERFICIE DE LA NANOPARTÍCULA Y ENLACES DE HIDRÓGENO ENTRE LAS MOLÉCULAS CUBIERTAS. [32] | 16 |
| FIGURA 10.- MICROGRAFÍA DE NANOESFERAS (ARRIBA) Y NANORODILLOS (ABAJO) DE AU, DE LADO DERECHO FOTOGRAFÍA DE LA DISPERSIÓN COLOIDAL AUMENTANDO LA CONCENTRACIÓN [34]            | 17 |
| FIGURA 11.- MASA ESPECÍFICA DE ÁREA SUPERFICIAL EN DIVISIÓN DE CUBOS [35]  | 18 |
| FIGURA 12.- DESCRIPCIÓN DE LOS DIFERENTES MATERIALES DEPENDIENDO DE LA DIMENSIÓN CON RESPECTO A LOS EJES [38].   | 18 |
| FIGURA 13.- DIAGRAMA DE LA ESTRUCTURA DE LAS BANDAS PARA SÓLIDOS CONDUCTORES, SEMICONDUCTORES Y AISLANTES  | 19 |
| FIGURA 14.- ONDA ELECTROMAGNÉTICA QUE SE PROPAGA EN DIRECCIÓN X CON UNA VELOCIDAD V.   | 20 |

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 15.- GEOMETRÍA PARA LA PROPAGACIÓN EN UNA INTERFACE SIMPLE ENTRE UN METAL Y UN DIELÉCTRICO [43].   | 22 |
| FIGURA 16.- ESQUEMA DE DECAIMIENTO DEL PLASMÓN RADIATIVO Y NO RADIATIVO [43]  | 23 |
| FIGURA 17.- ESQUEMA DE PRS EN A) NANOESFERAS Y B) NANORODILLOS EN UN CAMPO DE LUZ POLARIZADO [44].  | 23 |
| FIGURA 18.- ESQUEMA DE LOS CAMPOS PRODUCIDOS POR CADA NANOPARTÍCULA Y SU EFECTO CON NANOPARTÍCULAS ADYACENTES   | 24 |
| FIGURA 19.- A) HOT SPOT FORMADOS POR DOS NP MUY CERCANAS, B) HOT SPOT FORMADO POR UNA GEOMETRÍA DE PUNTA, C) HOT SPOT FORMADOS POR PROCEDIMIENTOS QUÍMICOS  | 25 |
| FIGURA 20.- ESPECTRO DE ABSORCIÓN TÍPICA DE AUNP CON DIFERENTE FORMA [46]   | 26 |
| FIGURA 21.- COMPORTAMIENTO DE AGNP DANDO ORIGEN A LA FORMACIÓN DE ANILLO DE CAFÉ [51].  | 27 |
| FIGURA 22.- (A-D) PASOS PARA LA FABRICACIÓN DE PLANTILLAS POR LITOGRAFÍA DE NANOESFERAS. (DERECHO) MICROGRAFÍA SEM DE UN PATRÓN DE PLATA UTILIZADO EL MÉTODO DE LITOGRAFÍA [52]   | 27 |
| FIGURA 24.- A) REPRESENTACIÓN DE LA POSICIÓN DE LA PARTÍCULA EN LA INTERFACE ACEITE/AGUA PARA TRES ÁNGULOS DE CONTACTO [53] B) ARREGLO DE NANORODILLOS, C) PATRONES DE INTENSIDAD FORMADOS POR EL PROCEDIMIENTO DE INTERFACE LÍQUIDO-LÍQUIDO [54] Y D) POSIBLE FORMACIÓN DE PUNTOS CALIENTES DEBIDO A LAS DIVERSAS MORFOLOGÍAS. | 28 |
| FIGURA 25.- DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE LA PREPARACIÓN DE SUSTRATOS SERS DE NANORODILLOS DE AU/PMMA [57]  | 28 |
| FIGURA 26.- POLIMERIZACIÓN EN SUSPENSIÓN DEL MONÓMERO MMA CON PERÓXIDO DE BENZOILO COMO INICIADOR. EL PERÓXIDO REACCIONA CON EL MONÓMERO EN EL AGUA Y SE FORMA UNA EMULSIÓN AGUA/ACEITE [65]  | 32 |
| FIGURA 27.- REPRESENTACIÓN DE: A) EXPERIMENTO DE NEWTON DONDE INCIDÍA LUZ EN UN PRISMA Y LA DESCOMPONÍA EN DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA [67], B) EXPERIMENTO DE KIRCHOFF Y BUNSEN, EL  |    |

|   |    |
|---|----|
| HAZ INCIDÍA SOBRE EL ORIFICIO B, ATRAVESABA EL PRISMA F Y SE OBSERVABA POR UN TELESCOPIO {68}   | 39 |
| FIGURA 28.- ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO DE LA REGIÓN DE LA LUZ VISIBLE [67].  | 40 |
| FIGURA 29.- ONDA ELECTROMAGNÉTICA QUE SE PROPAGA EN DIRECCIÓN X CON UNA VELOCIDAD V.  | 40 |
| FIGURA 30.- REGIÓN DEL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO [70].  | 42 |
| FIGURA 31.- FENÓMENO GENERALIZADO DE ABSORCIÓN [72]   | 42 |
| FIGURA 32.- ESQUEMA DE UN ESPECTROFOTÓMETRO UV - VIS. UN MONOCROMADOR SEPARA LA LUZ EN ESTA REGIÓN, INCIDE SOBRE LA MUESTRA, ANALIZAR LA ABSORCIÓN Y MUESTRA UN ESPECTRO. [75]  | 44 |
| FIGURA 33.- INTERFERÓMETRO DE MICHELSON, UNA LONGITUD DE ONDA ES DIVIDIDA EN DOS, Y REFLEJADA EN UN ESPEJO FIJO Y OTRO MÓVIL, AL REGRESAR, LAS ONDAS PRODUCEN INTERFERENCIA CONSTRUCTIVA O DESTRUCTIVA [76].  | 45 |
| FIGURA 34.- VIBRACIONES MOLECULARES, EL SIGNO + INDICA DIRECCIÓN HACIA EL LECTOR Y EL SIGNO - HACIA EL INTERIOR. [77]   | 46 |
| FIGURA 35.- REPRESENTACIÓN ENERGÉTICA DE LAS DIFERENTES POSIBILIDADES DE DISPERSIÓN AL INCIDIR UN FOTÓN [79]  | 47 |
| FIGURA 36.- ESPECTRO RAMAN QUE MUESTRA LA BANDA DE RAYLEIGH, A $0 \text{ cm}^{-1}$ EN EL CENTRO, A LA IZQUIERDA [80]  | 47 |
| FIGURA 37.- ESQUEMA DE UN MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN [81]   | 48 |
| FIGURA 38.- TIPOS DE FENÓMENOS PRODUCIDOS CUANDO UN HAZ DE ELECTRONES INTERACTÚA CON UNA MUESTRA  | 49 |
| FIGURA 39.- MODO DE HAZ CONVERGENTE EN TEM. A) EL PRINCIPIO BÁSICO: EL LENTE C2 ILUMINA UNA PEQUEÑA ÁREA DEL ESPÉCIMEN CON UN HAZ NO PARALELO, ESTO ES UN HAZ CONVERGENTE. B) EL USO DE PIEZAS OBJETIVAS EN EL LENTE C3 OFRECE UNA PEQUEÑA PRUEBA Y GRANDES ÁNGULOS | 51 |
| FIGURA 40.- EL ESPACIO R ENTRE EL HAZ DIRECTO Y LA DISPERSIÓN MÁXIMA, DONDE L ES LA LONGITUD DE CÁMARA.   | 52 |

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 41.- CINÉTICA DE REACCIÓN, SE OBSERVA PRIMERA BANDA EN 553NM Y SEGUNDA EN 975NM.<br>ESPECTRO UV-VIS-NIR E IMAGEN TEM DE NANOPARTÍCULAS DE ORO OBTENIDAS POR REDUCCIÓN DE<br>AUCL4 EN PRESENCIA DE ACETONA.   | 55 |
| FIGURA 42.- GRÁFICA DE LA INTENSIDAD DE LA SUPERFICIE DEL PLASMÓN A 553 NM Y 975 NM EN RELACIÓN AL<br>TIEMPO DE REACCIÓN.   | 56 |
| FIGURA 43.- MICROGRAFÍAS TEM DE AUNP OBTENIDAS  | 57 |
| FIGURA 44.- ILUSTRACIÓN 2.- MICROGRAFÍAS TEM Y GRÁFICA DE RELACIÓN ENTRE NANOPARTÍCULAS<br>TRIANGULARES (A) Y NO TRIANGULARES (B).  | 58 |
| FIGURA 45.- .- PATRÓN SAED MOSTRANDO CUATRO ANILLOS DE DIFRACCIÓN QUE CORRESPONDEN A LOS<br>ESPACIOS INTERPLANARES MOSTRADOS EN LA TABLA ANEXA. TABLA Y GRÁFICA DE VALORES TEÓRICOS Y<br>EXPERIMENTALES OBTENIDOS, DONDE LAS REFLEXIONES ASOCIADAS CORRESPONDIENTES A UNA<br>ESTRUCTURA FCC | 60 |
| FIGURA 46.- ESPACIO INTERPLANAR EXPERIMENTAL $D=0.2357\text{NM}$ ACORDE CON EL TEÓRICO $D=0.2355\text{NM}$<br>CORRESPONDEN AL PLANO (111)   | 61 |
| FIGURA 47.- SE OBSERVA UN ESPECTRO FTIR DEL PMMA EN BLANCO, DONDE SE APRECIAN BANDAS<br>CARACTERÍSTICAS   | 63 |
| FIGURA 48.- ESPECTRO FTIR DEL SUSTRATO SIGUIENDO EL MÉTODO 1, SE PUEDE PERCIBIR LA DISMINUCIÓN EN<br>LA TRANSMITANCIA.  | 64 |
| FIGURA 49.- ESPECTRO FTIR DEL DEL SUSTRATO CON EL MÉTODO 2  | 65 |
| FIGURA 50.- FTIR DEL SUSTRATO SIGUIENDO EL MÉTODO NUMERO 3  | 66 |

## Abreviaturas

|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>NP</b>                | Nanopartícula   |
| <b>Nm</b>                | Nanómetro   |
| <b>MMA</b>               | Metil metacrilato   |
| <b>PMMA</b>              | Polimetil metacrilato   |
| <b>PSR</b>               | Plasmones de superficie   |
| <b>SERS</b>              | Surface Enhanced Raman Spectroscopy (Espectroscopia Raman con superficie aumentada) |
| <b>TERS</b>              | Tip Enhanced Raman Spectroscopy (Espectroscopia Raman con punta aumentada)          |
| <b>Au</b>                | Oro   |
| <b>Ag</b>                | Plata   |
| <b>NaOH</b>              | Hidróxido de sodio  |
| <b>HAuCl<sub>4</sub></b> | Ácido tetracloro aurico   |
| <b>CHCl<sub>3</sub></b>  | Cloroformo  |
| <b>T<sub>m</sub></b>     | Temperatura de fusión   |
| <b>T<sub>g</sub></b>     | Temperatura de transición vítrea  |
| <b>T<sub>d</sub></b>     | Temperatura de descomposición   |
| <b>E<sub>p</sub></b>     | Energía de activación   |
| <b>UV-VIS</b>            | Ultravioleta - visible  |
| <b>TEM</b>               | Transmission electron microscopy (microscopio electrónico de transmisión)           |
| <b>FTIR</b>              | Infrarrojo de transformada de Fourier   |
| <b>IR</b>                | Infrarrojo  |
| <b>NIR</b>               | Infrarrojo cercano  |
| <b>MIR</b>               | Infrarrojo medio  |

## Resumen

En el presente trabajo se elaboró un sustrato flexible SERS con nanopartículas de oro soportadas en polimetil metacrilato (PMMA) con la finalidad de ser utilizado en futuras aplicaciones en el análisis de contaminantes, en particular el azul de metileno.

Para obtener el sustrato flexible primero se llevó a cabo una síntesis de nanopartículas de oro con  $\text{HAuCl}_4$  (ácido tetracloroáurico) y utilizando extracto de *Camellia sinensis*, o mejor conocido como té verde, la cantidad de polifenoles que contiene este extracto permite ser utilizado como agente reductor formando núcleos o semillas que después de la coalescencia dan origen a las nanopartículas de oro; estos polifenoles entonces actúan también como agentes estabilizantes que debido a su estructura permiten un crecimiento preferencial dando origen a las nanopartículas de oro con vértices y semiesféricas que posteriormente fueron utilizadas.

Es importante mencionar que la morfología deseada para el sustrato flexible SERS es aquel que contiene gran cantidad de vértices, debido a que producen mayor cantidad de puntos de acumulación de energía llamados "hot spot", los cuales se obtienen cuando la distancia entre nanopartículas es de nanómetros de separación.

Como se mencionó, el polímero utilizado fue PMMA debido a que es resistente, puede ser utilizado con muestras húmedas, es transparente lo cual implica un excelente candidato para llevar a cabo el análisis con espectroscopía raman y pueden obtenerse sustratos flexibles para analizar objetos con tamaño y forma diversa, por ello se llevó a cabo la polimerización del MMA y posteriormente se procedió a realizar el sustrato.

## **Abstract**

In the present work, a flexible SERS substrate with gold nanoparticles and polymethyl methacrylate (PMMA) was developed in order to be used in future applications in the analysis of contaminants, in particular methylene blue.

To obtain the substrate, a synthesis of gold nanoparticles was first carried out with  $\text{HAuCl}_4$  (tetrachloroauric acid) and using *Camellia sinensis* extract, or better known as green tea, the amount of polyphenols contained in this substrate allows it to be used as a reducing agent, forming nuclei or seeds that after coalescence give rise to gold nanoparticles, these polyphenols then also act as stabilizing agents that, due to their structure, allow preferential growth giving rise to gold nanoparticles with vertices and hemispheres that were later used.

It is important to mention that the desired morphology for the flexible SERS substrate is one that contains a large number of vertices, due to the fact that they produce a greater number of energy accumulation points called "hot spots", which are obtained when the distance between nanoparticles is nanometers apart.

As mentioned, the polymer used was PMMA because it is resistant, it can interact with water, so it can be used with wet samples, it is transparent, which implies almost no interaction when carrying out the analysis with raman spectroscopy, and can be obtained flexible substrates to analyze various morphologies, for this reason polymerization was carried out and subsequently the substrate was made.

# **CAPITULO 1**

## **INTRODUCCIÓN**

## Antecedentes

La tecnología crece a pasos gigantescos por lo que los avances científicos enfrentan nuevos retos, esto ha llevado a la unión de diversas ramas como la física, química, biología entre otras y dando surgimiento a otras nuevas como la nanociencia y la nanotecnología que implica la modificación, mejoramiento e incluso la creación de diversos materiales a escalas nanométricas esto es una medida de  $1 \times 10^{-9}$  m <sup>[1]</sup>.

La obtención de materiales nanométricos pueden abordarse desde dos enfoques <sup>[2-4]</sup>, de arriba hacia abajo (top down) donde se parte del material en bulto y se obtienen estructuras cada vez más pequeñas, esto se logra con ayuda de energía la cual puede ser mecánica, química, termal e incluso irradiación por medio de un láser. El otro método es de abajo hacia arriba (Botton up) y parte de iones para dar lugar a los átomos que funcionarán como semillas, aglomerando estas se pueden obtener las nanopartículas de diversos tamaños y estructuras.

En la figura 1 del lado izquierdo se puede observar el método de arriba hacia abajo donde partiendo de un material en bulto se obtienen pequeños fragmentos, de los cuales pueden obtener placas para finalmente sintetizar nanopartículas; por otro lado, en el método de abajo hacia arriba un precursor que contiene las moléculas de interés da origen a iones, radicales libres y electrones, llevando a cabo un proceso de formación de clusters dan origen a las nanopartículas.

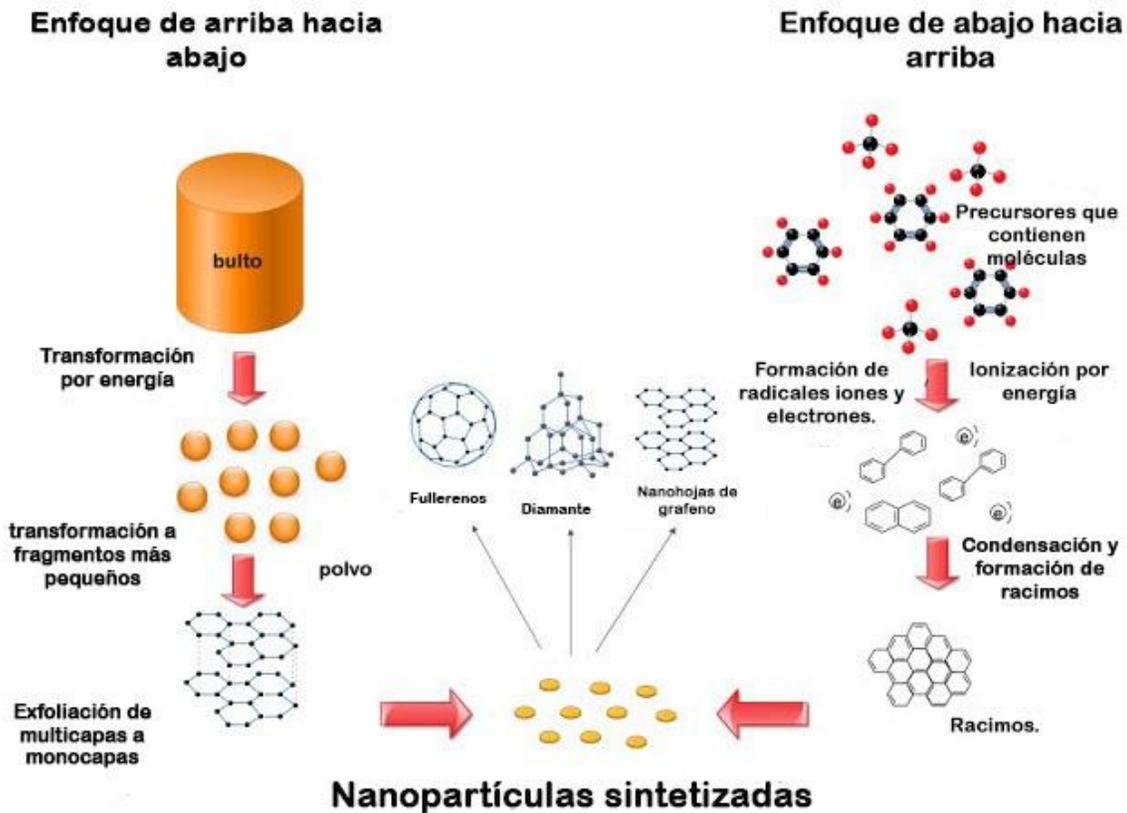


Figura 1.- Descripción de los enfoques arriba hacia abajo y abajo hacia arriba para la síntesis de nanopartículas

## Nanomateriales compuestos

Las nanopartículas pueden ser obtenidas por métodos físicos, químicos y biológicos [5]; como métodos físicos se puede encontrar la ablación laser, termal, deposición de vapor. Por ejemplo, en la ablación lo que se busca es vaporiza la superficie de un material, esto se hace al incidir un haz laser, por ejemplo de Nd:YAG sobre una placa de metal. La obtención de nanopartículas depende del número de pulsos, la longitud de onda y el tiempo, cabe señalar que se requiere tiempo para alcanzar la estabilidad del laser, para la formación de nanopartículas se requiere gran cantidad de energía además de que produce un aumento de temperatura alrededor del sistema.

En el enfoque químico se pueden encontrar métodos como el solvotermal, micela y redox, donde en éste último se utilizan agentes reductores como el citrato de sodio para formar núcleos o semillas y después producir el crecimiento de la nanopartícula controlando el tamaño con los agentes estabilizador como boro hidruro de sodio [6], desafortunadamente los residuos de estos métodos químicos producen gran daño al medio cuando son desechados.

| Planta                              | Tipo de nanopartícula | Tamaño y forma                            | Referencias                               |
|-------------------------------------|-----------------------|---|---|
| <i>Aloe vera</i>                    | Au, Ag                | 50–350 nm; esférica, triangular           | Chandran et al. (2006)                    |
| <i>Camelia sinensis</i>             | Au, Ag                | 30–40 nm                                  | Vilchis-Nestor et al. (2008)              |
| <i>Chenopodium album</i>            | Au, Ag                | 10–30 nm; cuasi esférica                  | Dwivedi y Gopal (2010)                    |
| <i>Cinnamomum camphora</i>          | Au, Ag                | 55–80 nm                                  | Huang et al. (2007)                       |
| <i>Cymbopogon sp. (lemongrass)</i>  | Au                    | 200–500 nm; esférica y triangular         | Shankar et al. (2005)                     |
| <i>Emblica officinalis</i>          | Au, Ag                | 10–20 nm Ag; 15–25 nm Au                  | Ankamwar et al. (2005)                    |
| <i>Geranium leaf</i>                | Au                    | 16–40 nm                                  | Shankar et al. (2003)                     |
| <i>Memecylon edule</i>              | Au, Ag                | 20–50 nm; triangular, circular, hexagonal | Elavazhagan and Arunachalam (2011)        |
| <i>Mentha piperita (peppermint)</i> | Au, Ag                | 5–150 nm; esférica                        | Ali et al. (2011); Parashar et al. (2009) |
| <i>Mucuna pruriens</i>              | Au                    | 6–17.7 nm; esférica                       | Arulkumar and Sabesan (2010)              |

Tabla 1.- Biosíntesis de nanopartículas utilizando extractos de plantas. Recuperado de [9]

Finalmente, para el biológico [3] la ventaja de este método es que se obtienen nanopartículas de tamaño y morfología controlable además de que es más amigable con el medio debido a que la síntesis involucra bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, con hongos como *Colletotrichum sp* [7] y plantas como *Camellia sinensis* para sintetizar nanopartículas de oro [8], otros extractos de plantas utilizados pueden observarse en la tabla 1.

## Síntesis química de nanopartículas

La síntesis de las nanopartículas metálicas está dividida en tres pasos: nucleación, crecimiento y aglomeración

### Nucleación

Este proceso corresponde a la creación de núcleos o semillas, dando origen a las nanopartículas. Inicia añadiendo un agente reductor a un ion para obtener un átomo con valencia cero ( $M^+ \rightarrow M^0$ ), es decir, en este paso, el agente cede electrones al ión, se produce una gran cantidad de núcleos, y una subsecuente supersaturación alcanzando un máximo cuando el radio del átomo alcanza un límite <sup>[10][11]</sup>.

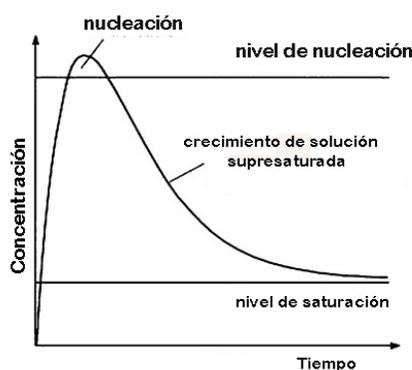


Figura 2.- Cambio en la concentración del precursor y el crecimiento de nanopartículas [12].

La cantidad de agente reductor suministrada al sistema, proporcionará la cantidad de semillas a formar, así como el tamaño de estas, al consumirse el agente reductor, surge el aumento del tamaño de las nanopartículas para provocar un sistema más estable. El proceso de nucleación es más rápido que el proceso de crecimiento, por ello la supersaturación se alcanza en un tiempo muy corto.

### Crecimiento

En esta parte de la formación se lleva a cabo la unión de los núcleos llamado coalescencia de átomos para obtener un material con mayor tamaño, surge por la inestabilidad de las semillas iniciales, el tamaño de las nanopartículas depende entre otras cosas de la cantidad de reductor utilizado.

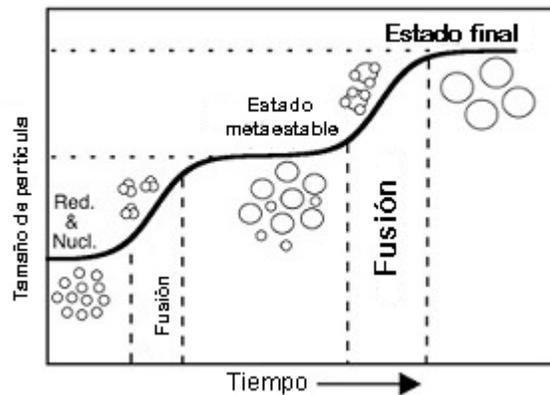


Figura 3.- Mecanismo de crecimiento de nanopartículas propuesto por Polte [15].

Durante la formación de las nanopartículas se lleva a cabo un estado metaestable antes y después de la coalescencia, antes de alcanzar su estado estable donde se obtienen las nanopartículas de tamaño deseado, se debe a que cuando se produce la sobresaturación de núcleos y comienza el proceso de crecimiento, el exceso del agente reductor se va colocando sobre la superficie de la nanopartícula (Figura 3) [15].

La cantidad de agente reductor disminuye muy rápido ocasionando un estado metaestable, con nanopartículas más pequeñas, después de esto se prosigue con la formación de más átomos, por esta razón en ocasiones es necesario la adición de más agente, tiempo después de la primera adición.

En el proceso de síntesis de nanopartículas mencionado con anterioridad, las fuerzas de Van der Waals ejercen una fuerza atractiva, ocasionando aglomeración y formando nanopartículas cada vez más grandes, para contrarrestar esta fuerza y estabilizar a la molécula, intervienen otras dos fuerzas que son las electrostáticas y estéricas que a pesar de tener diferente origen tiene la misma finalidad, impedir la aglomeración de nanopartículas.

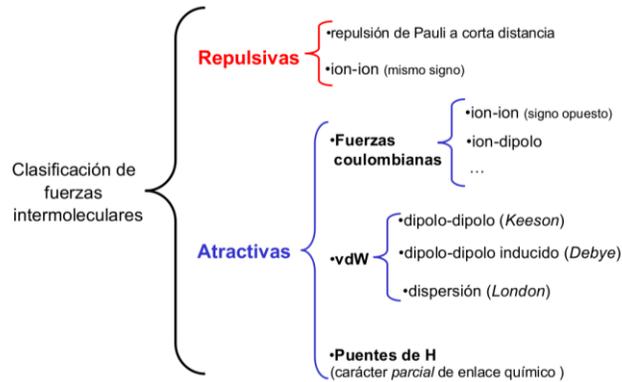


Figura 4.- Clasificación de las fuerzas intermoleculares.

Estas fuerzas secundarias o intramoleculares, porque se limitan al interior de la molécula, son más débiles que las fuerzas intermoleculares (covalentes, iónicas, metálicas) a pesar de que sea más fácil romper su enlace, son las que proporcionan estabilidad a las moléculas y se dividen en tres grupos (Figura 4) [17][17].

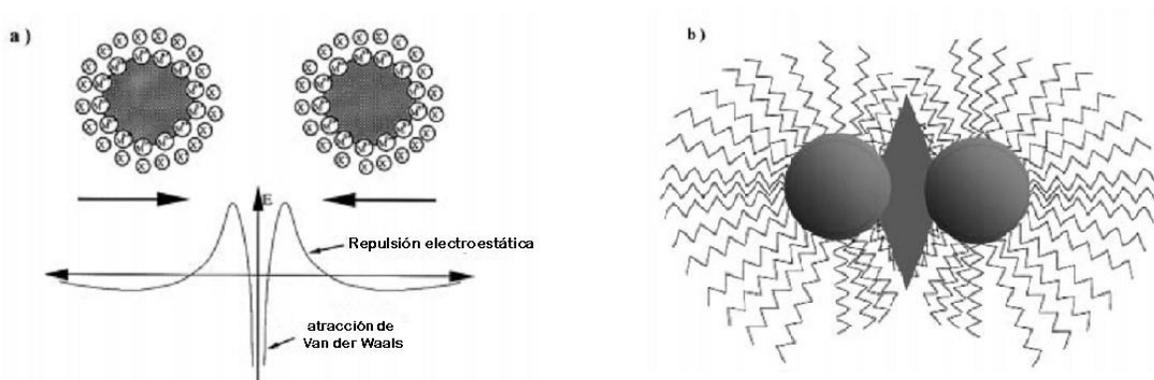


Figura 5.- Representación de las fuerzas en las nanopartículas a) Electrostáticas y b) Estéricas [18][19].

Debido a la presencia de estas fuerzas, las nanopartículas al poseer este tamaño serán más susceptibles a cambios o variaciones en el medio que las rodee.

En las fuerzas electrostáticas se forma una doble capa de cargas positivas y negativas que rodean a las nanopartículas y que cuando otra nanopartícula se acerca debido a la interacción electrostática tipo Coulomb, estas ejercen fuerzas de repulsión unas a otras impidiendo posible aglomeración (Figura 5a).

El efecto estérico es provocado por los grupos funcionales que conforman a la molécula, es decir, cada elemento ejerce cierta fuerza de atracción o repulsión hacia los átomos vecinos; el conjunto o la suma de estas fuerzas produce una atracción o repulsión debido al volumen que ocupan estos grupos funcionales, por ende las repulsiones estéricas estabilizan a las nanopartículas impidiendo que se aglomeren; éstas son formadas cuando en la síntesis se utilizan polímeros que al contener diferentes grupos con cationes y/o aniones, causan repulsión, conforme la distancia entre ambas va disminuyendo (Figura 5b).

Como se sabe hasta ahora, el agente reductor da origen a la formación de núcleos, y el agente estabilizador evita que continúe la coalescencia, dependiendo de los agentes utilizados, además de controlar el tamaño, también se puede controlar la morfología, esto con ayuda de compuestos biológicos cíclicos presentes en ciertas plantas como es el caso de los compuestos polifenólicos presentes en el extracto de *Camellia sinensis*.

## **Síntesis de nanopartículas por método biológico**

El cuidado del medio ha hecho surgir diversos grupos de trabajo en los cuales se busca la síntesis de nuevos materiales con recursos naturales como plantas, hongos, semillas, hojas, etc, reduciendo así el daño al ambiente [4][20], estos métodos pretenden ser más amigables con el ambiente, así como eficientes, dando origen a la química verde.

Unos de los materiales más estudiados son las plantas, la composición química de ellas presenta una ventaja para realizar la síntesis de nanopartículas. Entre los compuestos presentes se encuentran innumerables grupos cíclicos que pueden actuar como agentes reductores y estabilizadores, obteniendo así las nanopartículas con tamaño promedio deseable en cada reacción, así como ciertas morfologías [13].

La formación de estos enlaces es debido al doble enlace que contiene el oxígeno, así como los grupos hidroxilos que se encuentran en las ramificaciones de los grupos cíclicos y al igual que en el enfoque químico, las fuerzas de repulsión debido a los grupos funcionales lograrán la estabilidad de las nanopartículas en el medio (Figura 6).

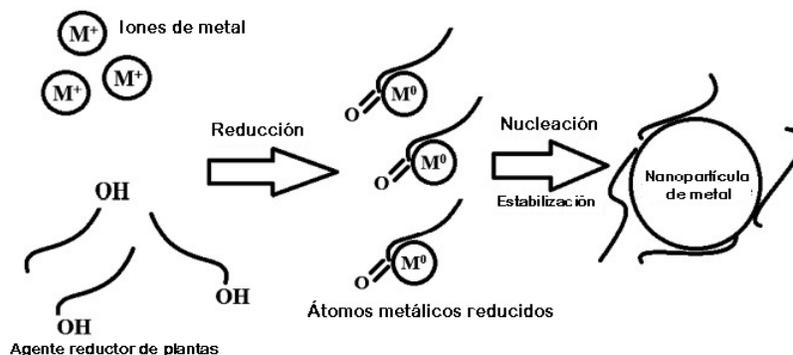


Figura 6.- Representación que propone la síntesis de nanopartículas con plantas como agentes reductores [2]

### ***Camellia sinensis***

Entre los estudios más comunes para la síntesis biogénica, se encuentran diversas plantas entre ellas la del té verde que proviene de la planta *Camellia sinensis* [21][22], pueden dividirse en té verde que se realiza con hojas frescas y se conoce como no fermentado, el semi fermentado es el té azul y el fermentado es el té negro o rojo, los cuales poseen diversos beneficios como agente antioxidante [12][23].

| Compuestos                    | Porcentaje en peso seco |
|-------------------------------|-------------------------|
| Proteínas                     | 15                      |
| Aminoácidos                   | 4                       |
| Fibra                         | 26                      |
| Otros carbohidratos           | 7                       |
| Lípidos                       | 7                       |
| Pigmentos                     | 2                       |
| Minerales                     | 5                       |
| Compuestos fenólicos          | 30                      |
| Compuestos fenólicos oxidados | 0                       |

Tabla 2.- Composición media en té verde.

Los compuestos fenólicos son de los más importantes que contiene el té verde debido a sus características estructurales, estas estructuras contienen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos. Los compuestos fenólicos se pueden dividir en ácidos fenólicos, flavonoides y polifenoles [23].

La obtención de los compuestos fenólicos puede lograrse con el aumento de la temperatura en el agua que contienen las hojas de té verde haciendo que su pared celular se rompa, y debido

a la gran solubilidad de los polifenoles en el agua facilita la migración hacia el medio acuoso, a temperaturas entre 75°-95°C de 1 a 10 minutos, se pueden obtener una cantidad de polifenoles similares al valor en seco antes de ser procesadas [24].

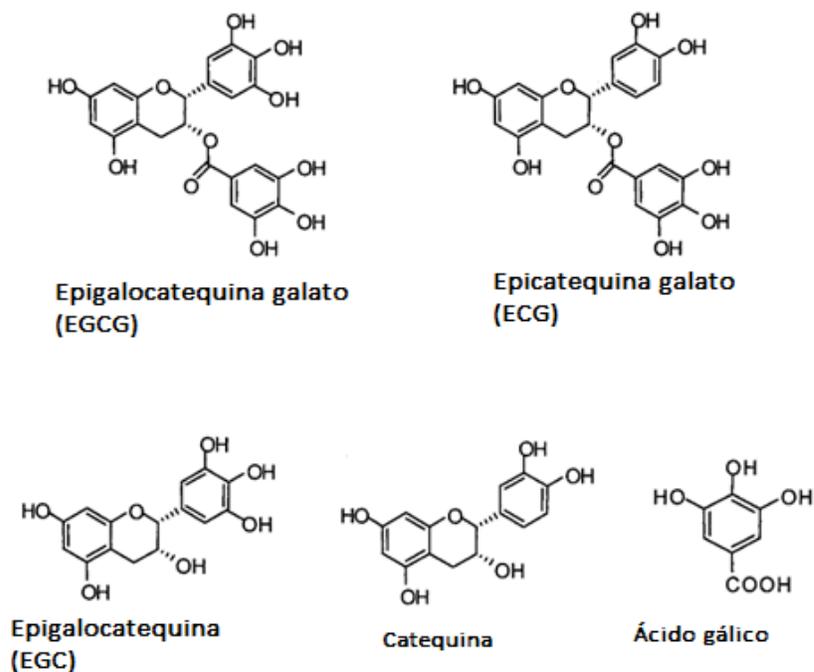


Figura 7.- Estructuras químicas de los principales compuestos de las catequinas presentes en el té verde [13].

Dentro de los principales compuestos fenólicos se encuentran las catequinas (Figura 7), las cuales tienen propiedades antioxidantes debido a la posición de los grupos hidroxilo, así como los dobles enlaces que les permite neutralizar los radicales libres [24][25].

Los compuestos polifenólicos pueden actuar como agentes reductores y estabilizadores durante la síntesis de nanopartículas [26][27]. El comportamiento como agente reductor se lleva a cabo por el mecanismo de oxidación-reducción, cuando ocurre la oxidación del hidrógeno en el grupo hidroxilo, es decir, cuando el hidrógeno de este grupo se pierde, dejando a un oxígeno con doble enlace (figura 8), este doble enlace permitirá que el grupo funcional actúe como agente estabilizante controlando así el tamaño y morfología de la nanopartícula [28-31].

Este proceso no es llevado a cabo de manera espontánea, es llevado a cabo de forma similar a la síntesis química de nanopartículas

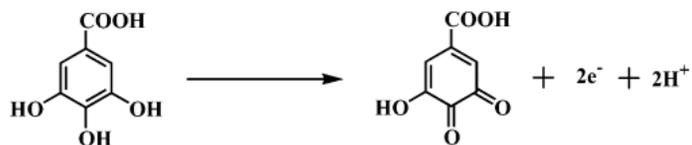


Figura 8.- Oxidación de dos electrones del ácido gálico a su correspondiente forma quinona [32]

En la figura 9 se observa que la oxidación en los grupos hidroxilo permite que el doble enlace del oxígeno interactúe con la nanopartícula y los grupos funcionales hidroxilo que no fueron oxidados formen puentes de hidrogeno con las otras moléculas, produciendo así una estructura o red para delimitar el crecimiento de las nanopartículas.

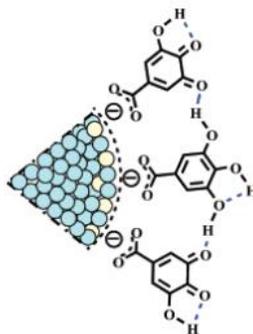


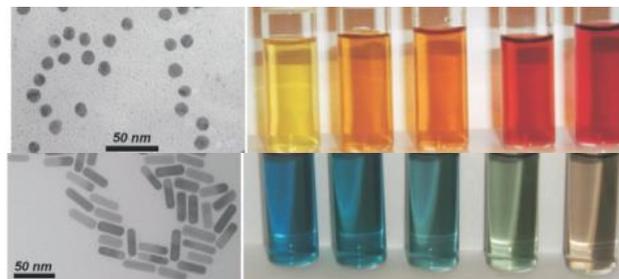
Figura 9.- Representación de la interacción electrostática de grupos carboxilo en la superficie de la nanopartícula y enlaces de hidrógeno entre las moléculas cubiertas. [32]

Por otro lado, la reducción del grupo OH no es al zar, hay zonas favorables para llevar a cabo esta oxidación, como los grupos hidroxilo en la posición orto o para [32], tanto la posición de los grupos funcionales, así como el compuesto fenólico, juegan un papel importante en la morfología de las nanopartículas.

En general la síntesis de nanopartículas puede ser llevada a cabo controlando la termodinámica o la cinética de reacción. Controlando la parte termodinámica la formación de las nanopartículas puede ser uniforme y se obtienen nanopartículas generalmente esféricas; por otro lado, al controlar la parte cinética, puede producirse un crecimiento preferencial que da como resultado nanopartículas anisotrópicas.

La morfología de la nanopartícula es proporcionada por el tipo de crecimiento que se lleve a cabo por medio de las facetas  $\{hkl\}$ , durante el crecimiento de las nanopartículas las caras con menor cantidad de energía son las que quedan expuestas para minimizar la energía de superficie total, cuando las caras con mayor cantidad de energía quedan expuestas, estas tienen a desaparecer para disminuir la energía de superficie total, esto depende del número de coordinación que se tenga, para los metales nobles, estas facetas son generalmente (111), (100) y (110), cuyos números de coordinación son nueve, ocho y siete respectivamente, por tanto la energía de superficie sigue el orden  $(111) < (100) < (110)$ .

La importancia de obtener nanopartículas anisotrópicas se debe a las propiedades que pueden tener, la resonancia del plasmón superficial para las nanopartículas esféricas, varillas, triángulos, y en general diversas morfologías, será característico a cada una [33], como se verá en la siguiente sección.



*Figura 10.- Micrografía de nanoesferas (arriba) y nanorodillos (abajo) de Au, de lado derecho fotografía de la dispersión coloidal aumentando la concentración [34]*

## **Propiedades ópticas de nanopartículas metálicas**

El interés por estos materiales a escalas nanométricas se debe a que sus propiedades cambian totalmente en comparación a las que tiene en forma macroscópica, una de ellas es la relación entre el área superficial y el volumen, conforme disminuye el tamaño existe mayor cantidad de área superficial disponible.

Las propiedades ópticas de los materiales surgen cuando una onda electromagnética interactúa con ellos, a escalas nanométricas, para el caso particular de los metales, estas propiedades se

estudian con las oscilaciones colectivas de los electrones que rodean a las nanopartículas metálicas.

Todas estas características implican enormes aplicaciones en diversos campos como la medicina, siendo utilizados como marcadores, o entregar medicamento en un sitio; en el área de remediación para descontaminar el agua, adhiriendo metales o compuestos peligrosos a la superficie de las nanopartículas, así como aplicaciones en la óptica y electrónica.

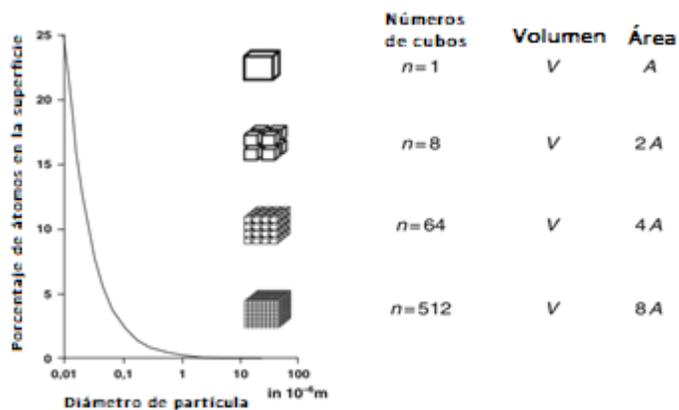


Figura 11.- Masa específica de área superficial en división de cubos [35]

La clasificación de estos materiales por sus escalas nanométricas depende de la dimensión espacial a tratar, para ello se tienen cuatro tipos mostrados en la figura 13 [36][37].

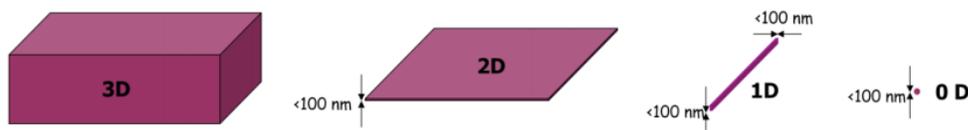
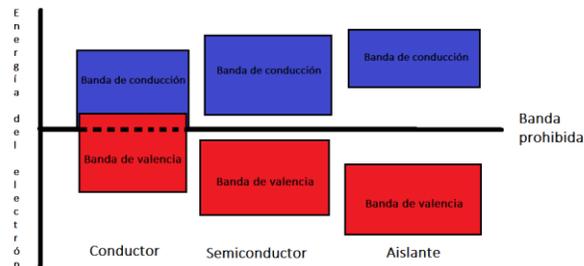


Figura 12.- Descripción de los diferentes materiales dependiendo de la dimensión con respecto a los ejes [38].

## Nanopartículas metálicas

La importancia en la síntesis de las nanopartículas metálicas es debido a las propiedades ópticas, electrónicas y magnéticas; el análisis de este comportamiento puede hacerse por la teoría de bandas y por el mar de Drude.

En la teoría de bandas la capacidad de conducción de los metales puede comprenderse comparando la distancia que separa los orbitales atómicos que contienen los electrones. En la banda de valencia se encuentran los electrones de la última capa, la banda de conducción con mayor energía es donde pueden saltar los electrones excitados, y el espacio entre estas o la energía requerida para llegar de una banda a otra, es la banda prohibida (Figura 13).



*Figura 13.- Diagrama de la estructura de las bandas para sólidos conductores, semiconductores y aislantes*

Dependiendo del tipo de sólido, será la brecha de energía de la banda prohibida y, por tanto, la energía necesaria para pasar de la banda de valencia a la banda de conducción dependerá de cada material.

Para materiales aislantes la brecha es muy grande que los electrones no tienen la energía necesaria para pasar a la banda de conducción; para los semiconductores el movimiento de electrones entre bandas puede ocurrir por impurezas o aumento de temperatura. Finalmente, en los conductores las bandas de valencia y conducción se encuentran muy juntas que incluso pueden traslaparse, es por ello que ocurre el paso libre de electrones; por tanto, el ancho de la banda prohibida es el valor mínimo que necesita un fotón para que se pueda producir el efecto fotovoltaico [1].

Siguiendo la teoría de bandas, cuando la temperatura de un sólido es demasiado baja, la máxima energía que los electrones pueden tener en la parte más alta de la banda de valencia es la energía de Fermi, la superficie que forma toda esta energía y que separa las bandas de valencia y de conducción es la superficie de Fermi. Mackintosh define a un metal como un sólido con superficie de Fermi.

Como se mencionó, en los materiales conductores, las bandas de valencia y de conducción se traslapan, por tanto, la superficie de Fermi envuelve ambas bandas donde se encuentran los electrones, debido a este traslape la cantidad de energía que se requiere para ser excitados es mínima cuando interactúan con la onda electromagnética incidente [39]

Como se mencionó, la relación entre volumen superficie se hace más notable conforme se reduce el tamaño, esto produce que las características de conductividad también sean más evidentes, por ello, cuando la región nanométrica es comparable a la longitud de onda de De Broglie, existe un confinamiento cuántico por los electrones confinados, esto implica una estrecha relación entre el tamaño del material y la longitud de onda en la cual emite.

Para estudiar las propiedades ópticas de los metales se utiliza el modelo de la nube de electrones de Drude, en el cual se parte de un núcleo positivo rodeado de una nube de electrones altamente deslocalizados, permitiendo moverse e interactuar de forma relativamente libre cuando se forma un enlace o una onda electromagnética incide sobre el material.

## Radiación electromagnética y plasmones de superficie

Planck propuso que cada átomo con cierta temperatura tenía vibraciones (oscilaciones), las cuales producían radiación electromagnética, la cual está formada por un campo oscilante eléctrico  $E$  y magnético  $H$  perpendiculares entre sí y con el eje en el que se mueve (figura 14).

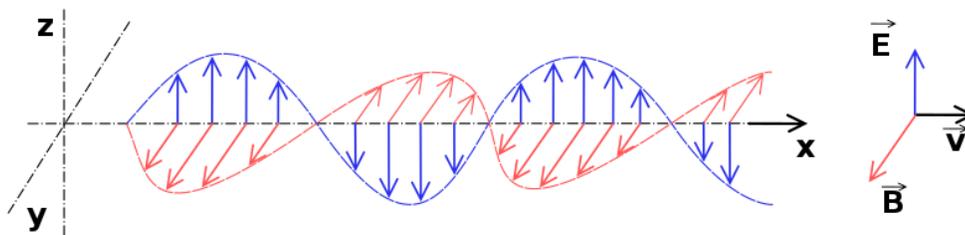


Figura 14.- Onda electromagnética que se propaga en dirección  $x$  con una velocidad  $v$ .

Cada oscilación tiene una frecuencia fundamental con cierta energía, esto fue determinado por el siguiente postulado: "Cualquier ente físico con un grado de libertad, cuya "coordenada" es una función senoidal del tiempo (realiza funciones armónicas simples) solo puede poseer energías totales  $E''$ , que satisfacen la relación dada por <sup>[40]</sup>:

$$\Delta E = nh\nu$$

Donde:

$\nu$  es la frecuencia de la onda.

$h$  es la constante de Planck.

$$n = 1,2,3, \dots$$

Podemos ver que la energía está cuantizada de forma discreta y además con la teoría de Bohr de que los átomos estaban conformados por un núcleo con carga positiva y los electrones se encontraban a la periferia siguiendo un movimiento circular, llevó a cuantificar esta energía con respecto a los niveles energéticos que se asignen a cada orbital.

Cuando la onda electromagnética interactúa con un material ocurren procesos de absorción y dispersión <sup>[41]</sup>, que junto con el camino libre medio da origen al proceso de extinción de la luz. El camino libre medio es la distancia que recorre el electrón entre cada colisión, a mayor distancia recorrida, mayor pérdida de energía, por lo que para nanopartículas muy grandes existe una gran cantidad de dispersión; esta extinción de la luz o pérdida de energía está dada en términos de la función dieléctrica.

Cuando una onda electromagnética con amplitud  $E_0$  se propaga con frecuencia  $\omega$  en la dirección  $\mathbf{r}$  tiene un comportamiento dado por <sup>[42]</sup>:

$$E = E_0 \exp(j\omega t - j\mathbf{k} \cdot \mathbf{r})$$

Si la onda electromagnética pasa de un medio con índice de refracción  $n_1$  y constante dieléctrica  $\epsilon_1$  a un medio con índice de refracción  $n_2$  y constante dieléctrica  $\epsilon_2$  sufre un cambio en su frecuencia, en el caso particular del aire y un metal, la incidencia de la onda electromagnética

produce el movimiento de los electrones, estos comienzan a oscilar, produciendo choques entre electrones y un amortiguamiento  $\gamma = v_f / l$  con  $v_f$  es la velocidad de Fermi y  $l$  es el camino libre medio, dando origen a la conocida onda evanescente, debido a que conforme viaja en el medio, pierde energía y se desvanece (Figura 15) [43].



Figura 15.- Geometría para la propagación en una interfaz simple entre un metal y un dieléctrico [43].

La función dieléctrica describe el comportamiento del material cuando se encuentra inmerso en un campo eléctrico. Para los metales en bulto se tiene dos situaciones, la primera es el decaimiento radiativo relacionado con la dispersión y el no radiativo con la absorción.

Los procesos de absorción dan origen a transiciones interbanda e intrabanda, las transiciones interbanda ocurren de bandas llenas a bandas desocupadas, que están separadas por la banda prohibida y generalmente están en las regiones ultravioleta. Las transiciones interbanda ocurren cuando las bandas se traslapan y se llevan a cabo por electrones de transición en el nivel de Fermi, estos últimos producirán la resonancia de plasmón (Figura 16).

La función dieléctrica para los materiales en bulto está constituida por las transiciones intrabanda e interbanda, dentro de las cuales se consideran las fuerzas debidas al campo eléctrico y las producidas por la energía perdida entre cada colisión llamado amortiguamiento.

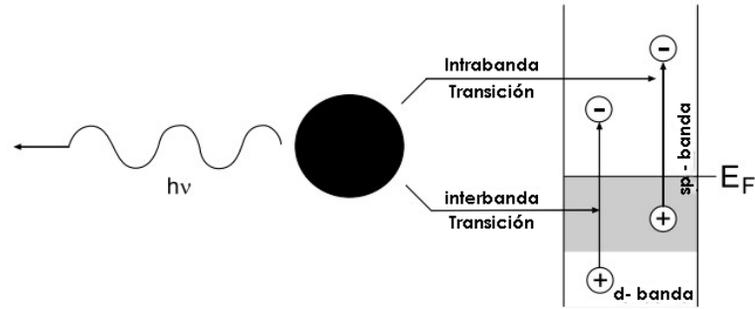


Figura 16.- Esquema de decaimiento del plasmón radiativo y no radiativo [43]

Para las escalas nanométricas, es necesario incluir la fuerza de restitución que tienen los electrones con respecto al núcleo de los átomos, cabe mencionar que esta fuerza para los materiales en bulto no es considerada debido a que los electrones a esta escala se mueven libres sin tener un núcleo específico. Teniendo en consideración lo anterior, la función dieléctrica puede ser escrita como:

$$\epsilon(\omega) = 1 + \frac{\omega_p^2}{\omega_0^2 - \omega^2 - j\gamma\omega},$$

Donde  $\gamma$  es el factor de amortiguamiento,  $\omega_p$  es la frecuencia del plasmón del material en bulto,  $\omega_0$  la frecuencia natural del electrón enlazado y  $\omega$  es la frecuencia de la onda oscilante.

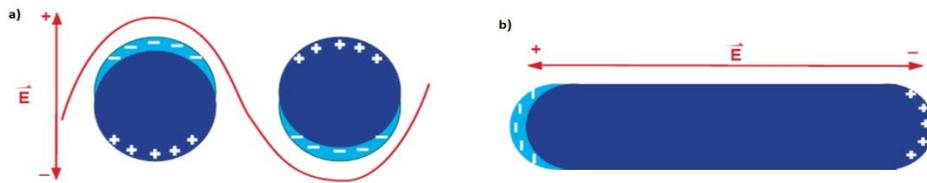


Figura 17.- Esquema de PRS en a) nanoesferas y b) nanorodillos en un campo de luz polarizado [44].

En el movimiento oscilatorio de los electrones que rodean al material, como se ha mencionado, el tamaño juega un factor muy importante, la oscilación de los electrones en un material en bulto se conoce como resonancia de plasmones de volumen, pero en escalas nanométricas este fenómeno se conoce como resonancia de plasmones de superficie (PRS).

El fenómeno de resonancia ocurre considerando al núcleo del electrón como una carga positiva inmóvil y a los electrones como un conjunto de carga negativa móvil. Cuando la onda electromagnética con una frecuencia específica, conocida como frecuencia de plasmón  $\omega_p^2 = ne^2/\epsilon_0 m$  interactúa, produce un movimiento de los electrones en contra de la dirección del campo eléctrico y por fuerzas de restitución siguiendo la ley de Coulomb, regresan a su posición original. Debido a que el campo incidente es oscilante, también lo será el movimiento de los electrones, esto producirá la polarización de la nanopartícula metálica (Figura 17).

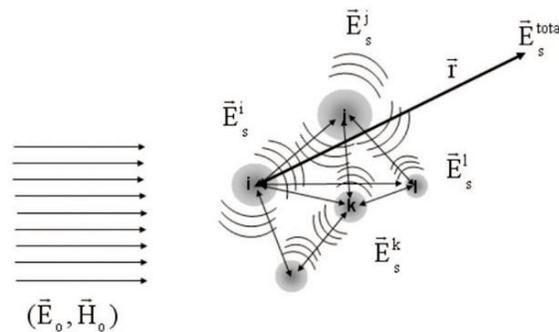


Figura 18.- Esquema de los campos producidos por cada nanopartícula y su efecto con nanopartículas adyacentes

Debido a que las nanopartículas forman dipolos (Figura 18), cada uno de ellos producirá un campo eléctrico inducido y afectará a las otras nanopartículas, por tanto, cada nanopartícula experimentará un campo eléctrico local dado por

$$\vec{E}_{i,loc} = \vec{E}_{i,app} + \vec{E}_{i,ind}$$

Estos campos altamente localizados producidos cerca de las superficies de las nanopartículas metálicas darán origen a diversos fenómenos, cuando estas nanopartículas se encuentran a menos de 10nm de distancia producen los llamados puntos calientes o "hot spot".

Los puntos calientes son sitios locales con gran acumulación de energía y pueden ser obtenidos por dos procedimientos, uno físico y otro químico (Figura 19). En el procedimiento químico, las moléculas cuentan con algunos enlaces característicos que son absorbidos por un material metálico.

El procedimiento físico se obtiene por medio de la interacción de un campo electromagnético (EM) con el metal y puede ser obtenido de dos formas. En el primer método interactúan dos nanopartículas que se encuentran a menos de 10nm de distancia entre si y producen un mejoramiento en la superficie por dispersión Raman o efecto SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy). El segundo se produce cuando una punta de nanopartícula se encuentra a menos de 10nm de distancia de otra punta o superficie, dando origen al mejoramiento en la punta para dispersión Raman o TERS (Tip Enhanced Raman Spectroscopy).

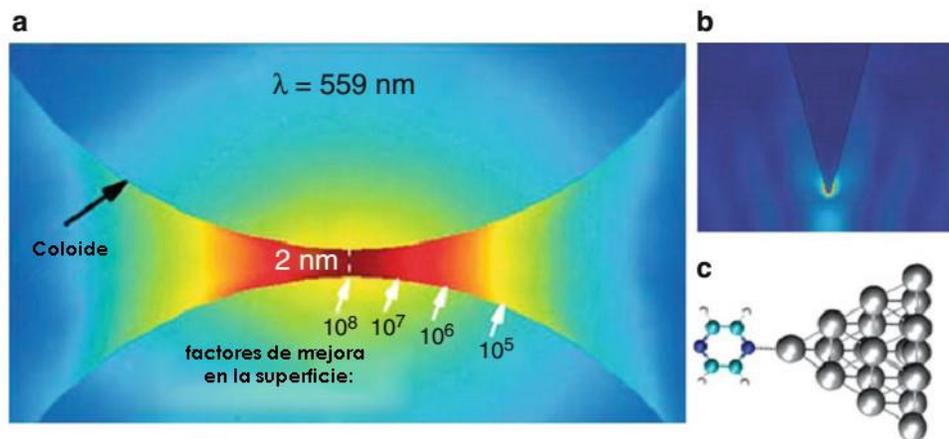


Figura 19.- a) Hot spot formados por dos NP muy cercanas, b) Hot spot formado por una geometría de punta, c) Hot spot formados por procedimientos químicos

Los efectos SERS y TERS son producidos por la resonancia de plasmones de superficie, estos son oscilaciones colectivas de electrones que surgen por la interacción de un campo electromagnético con la nube de electrones de los metales.

Dependiendo de la morfología de la nanopartícula [39-41], se observarán momentos dipolares o multipolares los cuales dependerán del lugar donde incida la onda electromagnética. Como puede observarse en la figura 17, para las nanopartículas esféricas el sitio de la onda incidente es similar, por otro lado, para los nanorodillos se puede observar la resonancia de los plasmones dependiendo de la onda EM incidente de forma transversal y longitudinal.

Cuando la nanopartícula sea mucho menor que la longitud de onda incidente, en el espectro de absorbancia se apreciará un primer pico independientemente de la morfología de la nanopartícula, las bandas siguientes con mayor longitud de onda dependerán de la morfología de la nanopartícula, así como del medio en el que se encuentren, esto es debido a que la resonancia de plasmones se divide en desplazamiento transversal que nos proporciona la primer banda y otro longitudinal para las siguientes bandas.

Las morfologías con picos contienen mayor cantidad de electrones deslocalizados y debido a ello, son más polarizables y entre mayor cantidad de polarización mayor será su efecto SERS.

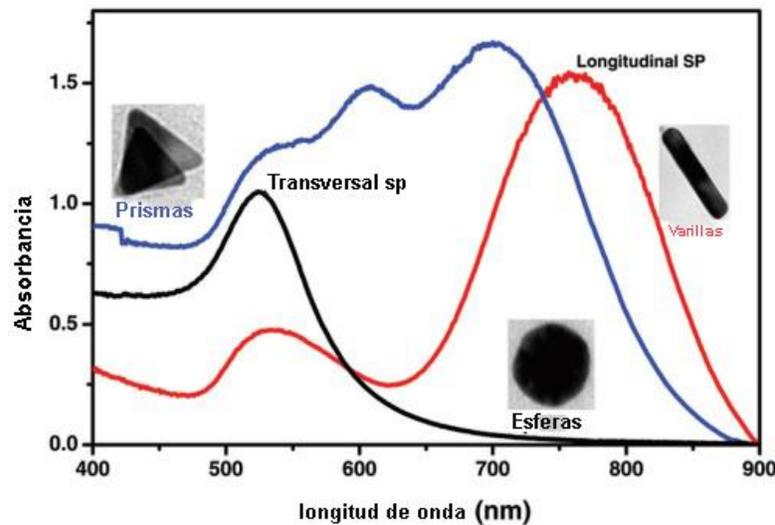


Figura 20.- Espectro de absorción típica de AuNp con diferente forma [46]

Como se mencionó, la morfología de la nanopartícula indicará el momento dipolar o multipolar, pero de igual forma el tamaño de las nanopartículas producirá este resultado (Figura 20).

Cuando las nanopartículas son menores a 40nm se producirán los momentos dipolares, pero cuando son mayores aparecerán los multipolares debido a que los electrones deben de recorrer mayor cantidad de distancia produciendo más choques y perdiendo energía, provocando señales más anchas [47-49].

## Procesos de autoensamblaje

Debido a que los “hot spot” son indispensables para producir el efecto SERS existen diversas técnicas para obtener este arreglo o sustrato, a continuación, se mencionarán tres de ellos.

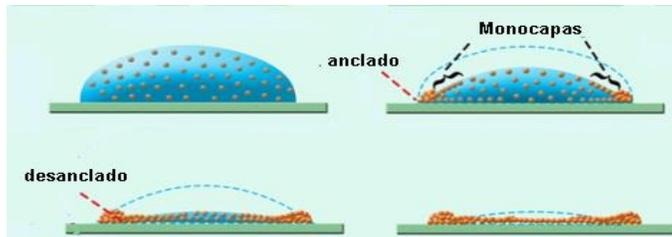


Figura 21.- Comportamiento de AgNP dando origen a la formación de anillo de café [51].

El autoensamblaje mediado por secado consiste en colocar sobre un sustrato disolvente que contiene nanopartículas, al evaporarse dejará las nanopartículas en la superficie [50][51]. Este procedimiento puede producir el fenómeno de anillo de café, que implica una desventaja ya que existirán áreas sin nanopartículas y otras con formación de multicapas (Figura 21).

Para evitar la formación de multicapas se puede utilizar el método de litografía. En éste método se colocan nanopartículas de polímero sobre un sustrato, a continuación, la superficie es cubierta por una capa de oro, ésta capa recubre las esferas de polímero, pero también se introduce entre los intersticios, finalmente las esferas se retiran dejando un patrón con gran cantidad de picos, obteniendo así muchos puntos calientes (Figura 23), la desventaja de este método es el alto costo, razón por la cual deben de buscarse otras opciones.

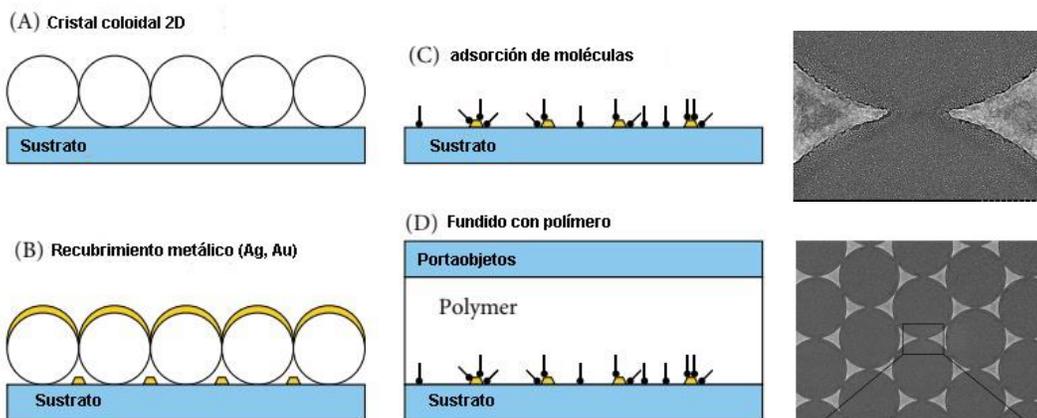


Figura 22.- (A-D) Pasos para la fabricación de plantillas por litografía de nanoesferas. (derecho) Micrografía SEM de un patrón de plata utilizado el método de litografía [52]

Finalmente se encuentra el método de interfaces líquido - líquido que aprovecha la tensión interfacial para colocar nanopartículas entre ambos líquidos, por ejemplo, en la interface agua/aceite el ángulo que se forma entre la nanopartícula y la solución debe de ser de  $90^\circ$ , de esta forma se produce la estabilidad, esta puede ser utilizando nanopartículas esféricas, rodillos, triangulares o hexagonales, las cuales se ordenaran de forma que cubran la mayor área de superficie y la separación entre ellas sea de unidades de distancia nanométrica, produciendo así en el sustrato SERS (Figura 24).

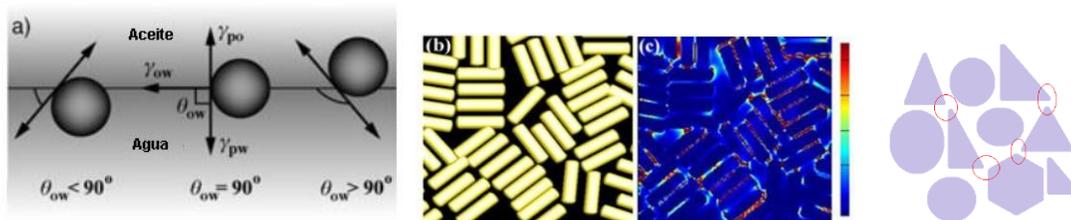


Figura 23.- a) Representación de la posición de la partícula en la interface aceite/agua para tres ángulos de contacto [53] b) Arreglo de nanorodillos, c) Patrones de intensidad formados por el procedimiento de Interface Líquido-Líquido [54] y d) Posible formación de puntos calientes debido a las diversas morfologías.

Reinckle [55] reportó que la introducción de etanol estabiliza a la partícula en la interface agua/heptano, hay que recordar que la solución coloidal con nanopartículas se encuentra estabilizada por los polifenoles que producen repulsiones estéricas, cuando a esta solución coloidal se añade etanol, se reduce las fuerzas estéricas y permite el acercamiento de las nanopartículas y para reducir la gran cantidad de energía entre las interfaces, se ordenan en la interface produciendo una monocapa, esto puede observarse en [56] donde se ordenaron nano rodillos para producir un sustrato SERS (Figura 25).

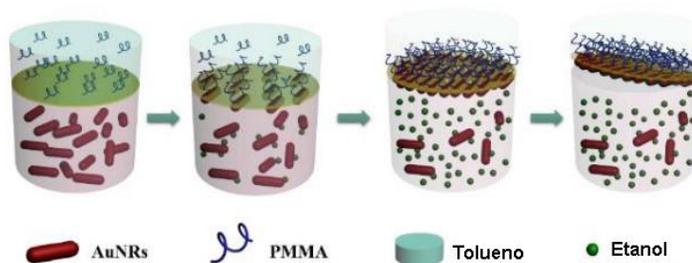


Figura 24.- Diagrama esquemático de la preparación de sustratos SERS de Nanorodillos de Au/PMMA [57]

La formación puntos calientes se debe al arreglo de las nanopartículas, para ello se necesita una película donde depositarlas, un polímero que ofrece muchas virtudes es el polimetil metacrilato (PMMA) el cual es un polímero termoplástico por tanto tiene la capacidad de ser fundido y refundido para adquirir nuevamente la forma deseada además de tener gran flexibilidad para ser colocado y moldeado en diferentes superficies.

## **Polímeros**

Los polímeros son materiales formados por una sucesión de unidades repetidas llamadas monómeros unidos por enlaces covalentes llamados primarios, éstos se encuentran constituidos por moléculas, las cuales pueden producir cadenas largas llamadas polímeros o cortas llamadas oligómeros, cuando las cadenas presentan ramificaciones al interactuar con otras cadenas pueden formar enlaces más débiles o secundarios [58-62].

Tanto los enlaces primarios como los secundarios producirán diferentes estructuras debido a que, al ir uniéndose cada monómero, los grupos sustituyentes se conforman de diferente manera cada vez, estos sustituyentes producen fuerzas secundarias de repulsión y atracción, lo que conlleva a ángulos de flexión entre dos enlaces carbono-carbono y ángulos de torsión entre tres enlaces, esto irá modificando a la cadena conforme al grado de polimerización crece.

Para dar origen a estos polímeros existen dos mecanismos de polimerización, en cadena o por adición y por etapas o condensación, llevando a cabo los pasos de iniciación, propagación y terminación.

La primera ocurre con monómeros insaturados, es decir monómeros que presentan dobles enlaces, un iniciador que puede ser un radical libre o un ion, recibe energía por radiación o en forma de calor, rompe el doble enlace del monómero haciéndolo inestable y provocando la reacción subsecuente al doble enlace de los monómeros adyacentes.

Por otro lado, la polimerización por condensación se lleva a cabo entre grupos funcionales enormemente reactivos, de los cuales al enlazarse pueden desprender una molécula, generalmente agua, los polímeros pueden tener aún grupos funcionales reactivos por lo cual pueden seguir formando enlaces covalentes con otros grupos reactivos o con otros polímeros.

El proceso para la polimerización se divide en sistemas homogéneo (masa y solución) y heterogéneos (emulsión y suspensión).

En la polimerización en masa únicamente interactúan el monómero y en ocasiones el iniciador, en la polimerización en solución son monómeros disueltos en un solvente inerte, la polimerización en emulsión consiste en un polímero que es ligeramente disperso en el solvente y un iniciador que se disuelve en el solvente, el polímero obtenido puede o no puede ser disuelto por el disolvente.

Finalmente, la polimerización por suspensión se lleva a cabo con el monómero que es suspendido en una solución acuosa, para iniciar la polimerización se puede añadir un iniciador el polímero resultante es un polímero con fase sólida dispersa el cual se mantiene en suspensión debido a la agitación constante, así como los estabilizadores [58].

### **Poli (metacrilato de metilo)**

El polimetil metacrilato es un polímero vinílico, se obtiene por la polimerización de radicales libres partiendo de su monómero, el metacrilato de metilo. El polímero es un termoplástico lineal, sindiotáctico en un 70-75% y en menor proporción en forma isotáctica y sindiotáctica. Debido a la ausencia de estereorregularidad y a los grupos funcionales es amorfo [58].

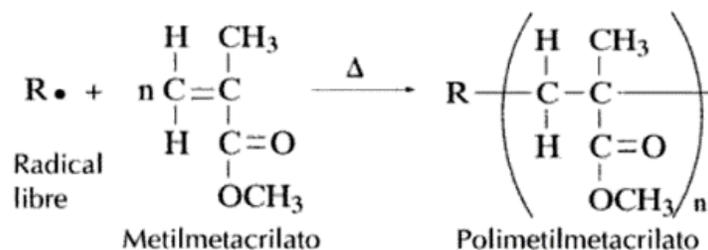


Figura 26.- Polimerización del metacrilato de metilo.

Debido a los sustituyentes el polimetil metacrilato es rígido y resistente, es un polímero amorfo, polímero transparente, incoloro, con buena resistencia a la intemperie y al impacto a demás a las disoluciones diluidas de ácidos o bases, fácil de colorear, tiene resistencia a la abrasión, pero comparada con el vidrio es mala.

El Poli (metacrilato de metilo) es un polímero que es soluble en solventes orgánicos, pero insoluble en agua, algunas de sus características se presentan en la tabla 4.

| Propiedades   | Valores   |
|---|-----------|
| Categoría   | Acrílico  |
| Temperatura de fusión $T_m$ (°C)                                  | 265-285   |
| Temperatura de transición vítrea $T_g$ (°C)                       | 105       |
| Densidad (gr/cm <sup>3</sup> )                                    | 1.19      |
| Índice de refracción  | 1.49      |
| Absorción de agua   | 30mg      |
| Resistencia a la tracción (MPa)                                   | 55-76     |
| Módulo de tracción (MPa)  | 2400-3400 |
| Temperatura de descomposición $T_d$ (°C)                          | 200       |
| Energía de activación $E_p$ (Kcal/mol)                            | 6.3       |
| Energía de terminación $E_t$ (Kcal/mol)                           | 2.8       |
| Valores de la energía superficial de sólidos (mJ/m <sup>2</sup> ) | 40        |

Tabla 3.- Propiedades del polimetil metacrilato[63-64].

Otra característica de suma importancia es su transparencia lo cual lo hace un excelente sustrato SERS debido a que permite un paso relativamente libre de los fotones provenientes del haz láser cuando se lleva a cabo la espectroscopía Raman, y por ende la interacción con la molécula a analizar es casi directa.

Finalmente, su buena resistencia al agua, lo hace ideal para ser utilizada con muestras húmedas, que combinado con la capacidad de la espectroscopía Raman de analizar estas mismas muestras, hacen junto con las características antes mencionadas, un material ideal para ser utilizado como sustrato SERS.

La polimerización del PMMA se lleva a cabo por adición con radicales libres, este tipo de polimerización se lleva a cabo cuando un iniciador (como el peróxido de benzoilo) rompe el

doble enlace del monómero el cuál produce el subsecuente rompimiento del doble enlace de los monómeros continuos hasta que finalmente termina la polimerización.

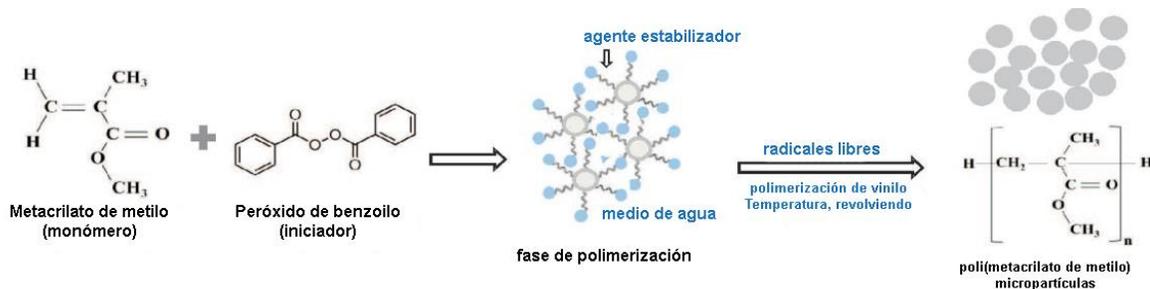


Figura 25.- Polimerización en suspensión del monómero MMA con peróxido de benzoilo como iniciador. El peróxido reacciona con el monómero en el agua y se forma una emulsión agua/aceite [65]

Las propiedades del PMMA lo hacen un candidato estupendo para ser utilizado como soporte SERS ya que su transparencia descartará la interacción entre el haz y el material a analizar, el tener un material flexible y resistente facilitará el análisis de objetos con diversas morfologías.

De igual forma, el espectro Raman del PMMA proporciona intervalos de trabajo para llevar a cabo el análisis de la molécula modelo.

**CAPITULO 2.**

**JUSTIFICACIÓN,**

**HIPÓTESIS Y**

**OBJETIVOS**

## Hipótesis

Será posible aumentar la cantidad de “hot spot” debido a un arreglo de las nanopartículas de oro con vértice depositadas en un sustrato SERS.

## Objetivo(s)

Objetivo General:

Preparar un sustrato flexible SERS en base de PMMA/NPs de oro con vértice para su evaluación con azul de metileno.

Objetivos específicos:

- Sintetizar nanopartículas de oro con vértices por el método de biorreducción utilizando extracto de té verde (*Camellia sinensis*)
- Caracterizar las de nanopartículas por espectroscopía UV-Visible y microscopía electrónica.
- Polimerizar el poli (metacrilato de metilo) por polimerización en suspensión.
- Preparar el sustrato flexible SERS.
- Caracterizar el sustrato por Espectroscopía IR, XPS y Microscopía de transmisión.
- Evaluar el efecto SERS con azul de metileno

## Metas

Sintetizar y caracterizar nanopartículas de oro con vértices.

Preparar y caracterizar el sustrato SERS con un arreglo de puntas enfrentadas para obtener gran cantidad de “hot spot”.

Evaluar el valor más pequeño detectable del efecto SERS con azul de metileno.

## **Justificación**

Un requisito para tener sustratos SERS son los “hot spot”, producidos por distancias entre nanopartículas menores a 10nm, métodos como litografía producen gran cantidad, pero debido al alto costo, es necesario utilizar métodos alternos como la interface líquido - líquido, variando el disolvente.

Las implicaciones que tendrá este material para analizar contaminante en particular el azul de metileno sería enorme, debido a que el costo y el tiempo para la elaboración sería menor que otros métodos, además con el uso de PMMA como soporte para las nanopartículas de oro podrían realizarse análisis de contaminantes a productos de diversas formas que además uno de sus componentes es el agua.

**CAPITULO 3.**

**DESARROLLO**

**EXPERIMENTAL**

## **Materiales y reactivos**

Ácido tetracloroaurico  $\text{HAuCl}_4$

Agua desionizada

*Camellia sinensis*

Metil metacrilato

Hidróxido de sodio 0.05M

Peróxido de Benzoilo

Cloroformo  $\text{CHCl}_3$

Vasos de precipitado

Matraz quitasato

Embudo Buchner

Papel filtro

Parrilla de calentamiento

Embudo de separación

Tubo de ensayo

Flujo de nitrógeno

## Síntesis de nanopartículas de oro

### Preparación del extracto

Se añadieron 100ml de agua desionizada en un vaso de precipitado y se elevó la temperatura hasta alcanzar 80°C, inmediatamente después se colocó 1gr de *Camellia sinensis* y se mantuvo la temperatura durante 20 minutos, después de ello se retiró de la parrilla permitiendo que alcanzara la temperatura ambiente y se filtró, este extracto se reservó durante 24 horas para su uso.

### Síntesis de AuNPs

Para la solución de ácido tetracloroaurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) 0.01M, se utilizó  $\text{HAuCl}_4$  marca Sigma-Aldrich y agua desionizada, agregando 5ml para la síntesis de las nanopartículas en un vaso de precipitado, posterior a ello, se añadió 0.4 ml de extracto de *Camellia sinensis*, finalmente se aforó con agua desionizada. Esta síntesis se llevó a cabo a temperatura ambiente aprovechando los polifenoles del extracto como agentes reductores y estabilizantes además de proporcionar a la nanopartícula la morfología deseada.

La cinética de formación de la nanopartícula se siguió por espectroscopía UV-Vis con un espectrofotómetro UV-Vis Modelo Evolution 220 de doble haz durante los primeros 18 minutos y en base al resultado obtenido se procedió a caracterizarlo por TEM colocando una gota de solución coloidal en una celda del para caracterizarla en el Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM JEOL-2100).

## **Sustrato a partir de PMMA**

### **Polimerización de metil metacrilato.**

La obtención del polimetil metacrilato fue llevada a cabo con dos procesos de polimerización, esto con la finalidad de obtener un polímero en blanco y otro utilizando la solución coloidal con nanopartículas obtenidas en la síntesis y siguiendo una polimerización en suspensión.

Se colocaron 9ml de metil metacrilado en un embudo de separación, a esta cantidad se le añadieron 10ml NaOH 0.05M para lavar el monómero, este procedimiento se realizó tres veces y en la cuarta ocasión se sustituyó por 10ml de agua desionizada.

Al finalizar el lavado, se añadió 0.5gr de peróxido de benzoilo como iniciador, inmediatamente después, el monómero se instaló en un embudo de globo que contenía 50ml de agua desionizada, se cubrió con un corcho y se colocó un flujo de nitrógeno para realizar una purga, dos minutos después, se inició la agitación, se introdujo en un baño de aceite y se aumentó la temperatura hasta alcanzar los 80°C.

El flujo de nitrógeno y la temperatura se mantuvo en un rango de 80-85°C durante la primera hora, posteriormente solo se dejó la agitación durante hasta completar 24 horas, el polímero fue filtrado y se dejó secar, esto fue reservado para realizar las películas delgadas con el fin de ser utilizadas como sustrato flexible para SERS.

### **Sustrato Flexible**

Para la preparación del sustrato flexible SERS se llevaron a cabo tres métodos, cabe señalar que en todos estos se agregaron 25mg de PMMA en 1 ml de cloroformo, colocándolos en un baño ultrasónico durante 5 minutos.

### **Primer método**

Dos gotas de polímero disuelto en cloroformo se dejaron caer sobre la solución coloidal de AuNPs contenidas en una caja Petri, al tener una interfaz agua/cloroformo se esperaría obtener un ordenamiento de las nanopartículas de oro para disminuir la tensión interfacial, logrando así, un arreglo espacial de las nanopartícula de oro.

Una vez formada la película, se retiró de la solución y colocó sobre una superficie de vidrio permitiendo la evaporación del cloroformo y su completo secado, 24 horas después se retiró y obtuvo la película delgada, ésta se caracterizó por espectroscopía de infrarrojo con un Espectrómetro de Infrarrojo por Transformada de Fourier modelo Tensor 27, Bruker).

### **Segundo método**

El segundo método fue realizado con un el procedimiento similar al anterior, la diferencia se basa en, una vez formada la interfaz agua/cloroformo, se agregó etanol lentamente siguiendo proporciones similares de  $\text{CHCl}_3$ /PMMA [16].

La finalidad de éste método fue obtener una película delgada para obtener un orden espacial de nanopartículas de oro, donde la distancia de separación entre cada nanopartícula sea menor de 10nm y con la mayor cantidad de vértices uno frente al otro. La película obtenida se caracterizó por FTIR.

### **Tercer método**

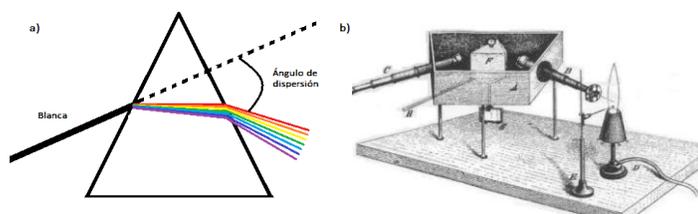
Aprovechando la diferencia de densidades entre el PMMA disuelto en  $\text{CHCl}_3$  y la solución coloidal con nanopartículas de oro, se obtuvo una película.

En un tubo de ensayo que contenía solución coloidal con nanopartículas de oro, se dejaron caer gotas de polímero en cloroformo, al romper la tensión superficial, el polímero comenzó a descender hasta llegar al fondo del recipiente. Se espera que durante el descenso gran cantidad de nanopartículas se adhirieran al polímero; una vez en el fondo, se retiró la mayor cantidad de solución posible y se dejó evaporar el cloroformo y solución restante.

## Técnicas de caracterización

### Espectroscopía

Desde la antigüedad existían enormes preguntas sobre los diversos fenómenos que ocurrían en la naturaleza, tal es el caso de los relacionados con la luz; por ejemplo, los eclipses o los arcoíris, donde en los últimos se formaban colores en el cielo cuando se tenía la presencia del sol y lluvia. Durante varios años estas preguntas carecían de respuesta hasta que, Sir Isaac Newton en 1666[66] mediante un experimento, dejó pasar un haz de luz proveniente del sol, a través de un pequeño orificio, al incidir sobre un prisma observó que salían haces de diferentes colores, por tanto, determinó que la luz blanca en realidad estaba constituida por diversos colores y estos se doblaban de diferente forma al pasar por el prisma (Figura 27a).



*Figura 26.- Representación de: a) experimento de Newton donde incidía luz en un prisma y la descomponía en diferentes longitudes de onda [67], b) Experimento de Kirchoff y Bunsen, el haz incidía sobre el orificio B, atravesaba el prisma F y se observaba por un telescopio [68]*

Siglos después Kirchoff y Bunsen [68] construyeron un aparato al que llamaron espectrómetro (Figura 27b), el cual podía determinar la composición de diversas sustancias, el principio de éste era el de Newton con el prisma que proyectaba en un espejo las diferentes longitudes de onda como líneas en diversas posiciones con mayor o menor brillo, las cuales podían ser vistas a través de un telescopio.

El espectrómetro separaba la luz en diferentes longitudes de onda, dependiendo de la energía que poseía, dando como resultado una gama de colores o espectros; en la figura 27 se observa el caso particular del rango visible. Esta técnica que nos proporciona información de la interacción de radiación electromagnética con la materia, independientemente de la longitud de onda o fenómeno provocado en el material, se llama espectroscopía [69].

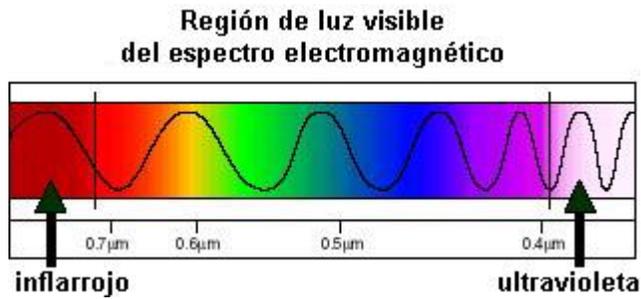


Figura 27.- Espectro electromagnético de la región de la luz visible [67].

Para estudiar este tipo de fenómenos se dividió a la transferencia de energía en: conducción, convección y radiación, esta última llamada energía radiante, incluye la vibración electromagnética, esta energía es una perturbación en el medio que viaja en el espacio como ondas, llevando la misma velocidad que la luz, por tanto, recibe el nombre de ondas electromagnéticas o radiación electromagnética.

### Radiación electromagnética

La radiación electromagnética está formada por un campo oscilante, eléctrico  $E$  y magnético  $H$  perpendiculares entre sí y con el eje en el que se mueve, como se observa en la figura 29, cuando esta radiación de frecuencia  $\nu$  ( $\nu$ ) correspondiente a un cambio de energía  $\Delta E$ , interacciona con un sistema. Pueden ocurrir tres procesos.

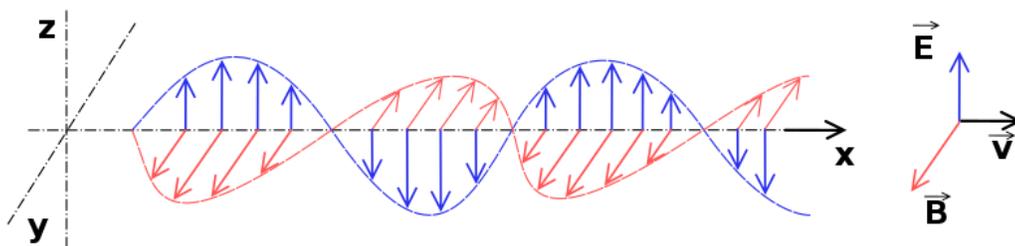


Figura 28.- Onda electromagnética que se propaga en dirección  $x$  con una velocidad  $v$ .

Cuando un átomo o molécula interacciona con una onda electromagnética, ocurren diversos cambios, si se consideran dos estados diferentes de energía  $m$  y  $n$ , la primera corresponde al estado base  $M$  y la segunda a un estado excitado  $M^*$ , los procesos ocurridos pueden ser [70]:

1.- Absorción inducida: Un átomo o molécula ( $M$ ) absorbe una cantidad de radiación y provoca que se pase de un estado base  $m$  a otro  $n$  con mayor energía o estado excitado ( $M^*$ ).

2.- Emisión espontánea: Una molécula excitada ( $M^*$ ) emite de manera espontánea radiación, pasando de un estado excitado  $n$  a uno base  $m$ .

3.- Emisión inducida: Para que la molécula pase de un estado excitado ( $M^*$ ) a otro base ( $M$ ) requiere ser inducido o estimulado.

Estos procesos están relacionados con la estructura de los elementos, así como sus cambios en la energía molecular, por tanto, variarán de elemento a elemento y dependiendo de la frecuencia que tenga la onda electromagnética.

La interacción de radiación con materia puede producir diversos cambios de energía, los cuales producen procesos de emisión o absorción provocando que los átomos en la molécula se comporten de formas características (Figura 30), estos cambios se ven reflejados en los análisis llevados a cabo con los que se pueden producir los siguientes espectros [71]:

Espectro electrónico. – Son ocasionados cuando una onda electromagnética en la región ultravioleta o visible, incide sobre un material, brindándole la suficiente energía para pasar los electrones desde el estado base a uno excitado.

Espectro de vibración. – Este espectro se produce cuando incide una onda electromagnética en la región del infrarrojo y provoca cambios vibracionales en la molécula.

Espectro de rotación. – La onda electromagnética incidente sobre el material, tiene la suficiente energía para provocar cambios rotacionales sobre la molécula, esta onda se encuentra en la región de las microondas.

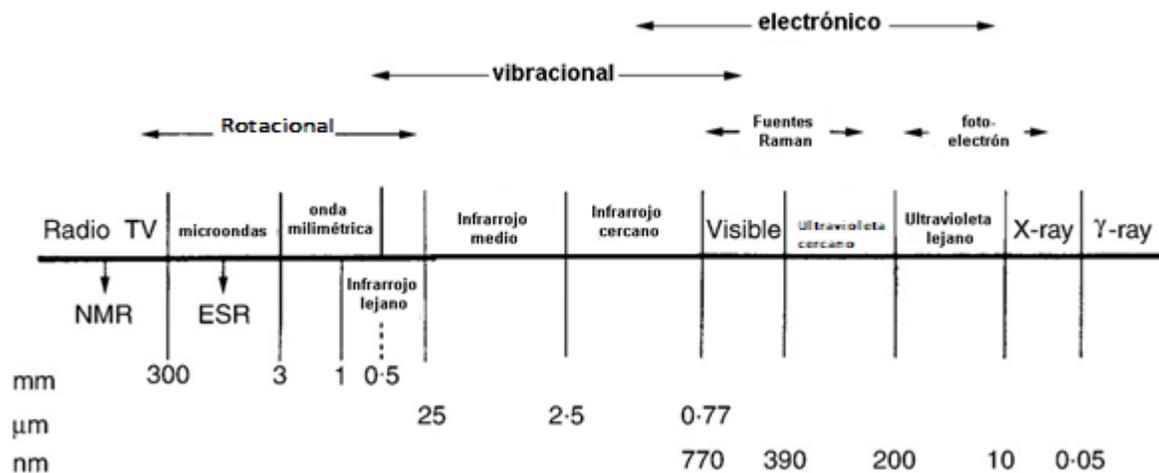


Figura 29.- Región del espectro electromagnético [70].

Por tanto, para producir los diferentes tipos de espectros es necesario aplicar la energía correspondiente a cada región, para ello existen las diversas técnicas espectroscópicas que se verán a continuación.

### Técnicas Espectroscópicas

Como se sabe los niveles energéticos tienen valores cuantizados, por tanto, para que existan fenómenos vibracionales, rotacionales o electrónicos, es necesario que la longitud de onda incidente sea de la misma que provoque una frecuencia de resonancia, razón por la cual, cuando una molécula absorba una longitud de onda, nos dirá de forma general que tipo de molécula es, en particular a continuación se profundizará en la espectroscopía ultravioleta-visible e infrarroja.

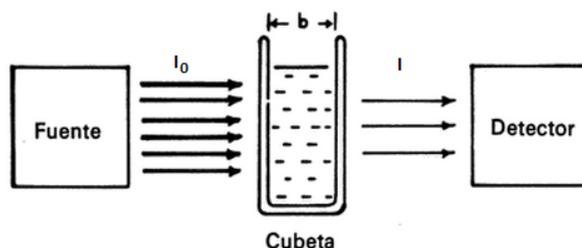


Figura 30.- Fenómeno generalizado de absorción [72]

La espectrofotometría tanto ultravioleta - visible (UV - VIS) como infrarroja (IR), tiene un principio común, en el cuál una onda electromagnética pasa a través de una muestra, donde absorberá cierta energía o longitud de onda, dejará pasar otra para ser detectada y en ocasiones transformada como en el caso del IR (Figura 31). Este fenómeno obedece a la ley Beer-Lambert, expresando la absorbancia como [73]:

$$A = \text{Log}(T) = \epsilon cl$$

Donde

$T = \frac{I_0}{I}$  es la transmitancia.

$I_0$  es la intensidad de incidencia.

$I$  es la intensidad que sale después de atravesar la muestra.

$\epsilon$  es el coeficiente de absorción.

$l$  es el camino libre medio.

$c$  es la concentración del absorbente.

El fenómeno de absorción de una onda electromagnética proveerá información sobre la molécula a estudiar, todo dependerá de la longitud de onda incidente, así como del camino óptico que tenga que recorrer hasta llegar al detector.

### **Espectrometría de ultravioleta visible (UV - Vis)**

Los cambios energéticos en las regiones del ultravioleta y del visible serán transiciones electrónicas, como se muestra en la figura 30, estos cambios implican pasar de un estado base a uno excitado de los electrones de valencia.

Para obtener un análisis en los espectros electrónicos UV - Vis se utilizan dos tipos de fuentes, generalmente el deuterio para las regiones del UV que va de 200 a 400 nm y una fuente de tungsteno para la región visible que va de los 400 a 700 nm, esta luz blanca se dispersará para obtener luz monoenergética como se observa en la figura 31.

La dispersión de la luz, así como su paso a través de una rendija conforma un monocromador, con el cual se pretende tener una luz con longitudes de onda delimitadas esto es con una misma cantidad de energía para cada fotón que incida sobre la muestra [74].

El proceso de la espectrometría es comparar, es decir, se tendrán dos recipientes llamados cubetas, en uno se colocará la muestra y en otro un blanco base previamente conocido, de esta forma cuando la luz monocromática incida sobre ambas cubetas, cada una absorberá en cantidades diferentes y transmitirá otra más, esta luz llegará al detector permitiendo el análisis por medio de la comparación y arrojando un espectro (figura 32).

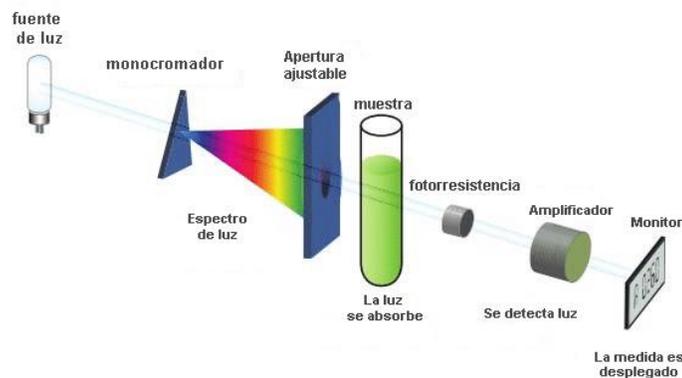


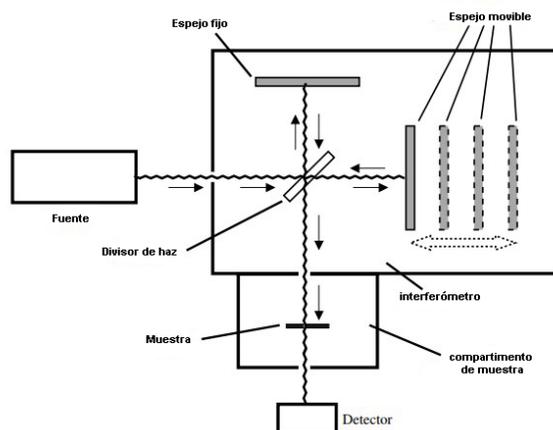
Figura 31.- Esquema de un espectrofotómetro UV - Vis. Un monocromador separa la luz en esta región, incide sobre la muestra, analizar la absorción y muestra un espectro. [75]

En la espectroscopía uv-vis, la interacción de la onda electromagnética con los metales provoca fenómenos en el material nanométrico, alterando la nube de electrones que rodea a los núcleos del material y produciendo así, un efecto de resonancia llamado resonancia de plasmón superficial, donde la nube electrónica oscila con la frecuencia del plasmón.

### Espectrometría de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR)

El espectro electromagnético, se divide en varias regiones, una de ellas es la región del infrarrojo (IR), que a su vez se subdivide en tres segmentos, con número de onda que van desde los 12500 hasta los 4000  $\text{cm}^{-1}$  para el infrarrojo cercano (NIR), de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  para la región del infrarrojo e infrarrojo medio (MIR) y finalmente para la región del infrarrojo lejano (FIR) de 400 a 10  $\text{cm}^{-1}$ .

La espectroscopía infrarroja abarca la interacción en esta región, que al añadir en el análisis del espectro la transformada de Fourier, adquiere una mayor precisión y rapidez en el análisis.



*Figura 32.- Interferómetro de Michelson, una longitud de onda es dividida en dos, y reflejada en un espejo fijo y otro móvil, al regresar, las ondas producen interferencia constructiva o destructiva [76].*

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier o FTIR (Fourier Transform Infra Red) se basa en el principio del interferómetro de Michelson (Figura 33), en el cual por medio de un espejo, un haz es dividido en dos, cada uno de ellos incide sobre un espejo y es reflejado en la misma dirección incidente, para coincidir de nuevo y alcanzar el detector; una característica importante es que un espejo permanece fijo y el otro es móvil, permitiendo que se formen interferencias constructivas y destructivas.

Cada una de las ondas constructivas o destructivas tendrán un comportamiento cosenoidal a lo largo del tiempo, razón por la cual es necesario utilizar la transformada de Fourier para pasar de la dependencia temporal a una basada en la frecuencia, por esto en los espectros de FTIR se observan picos por cada función, lo cual indica las diferentes ondas constructivas a cada compuesto.

La longitud de onda en la región del infrarrojo provocará cambios vibracionales, los cuales se dividen en dos, de estiramiento donde la longitud del enlace varía y de flexión, en el cual los ángulos entre las moléculas cambian, estas vibraciones moleculares pueden identificarse en la figura 34.

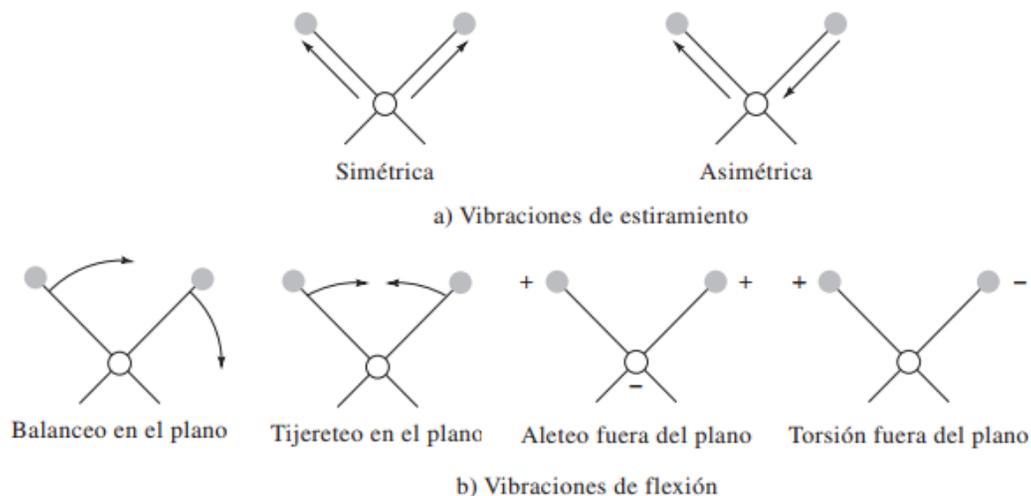


Figura 33.- Vibraciones moleculares, el signo + indica dirección hacia el lector y el signo - hacia el interior. [77]

## Espectroscopia Raman

Fue descrita en 1928 por Chandrasekhara Venkata Raman, al cual se le debe el nombre del fenómeno, este tipo de espectroscopia toma la luz dispersada de forma dinámica y estudia los modos vibracionales y rotacionales, provee información química y estructural esto ocurre cuando un fotón incide sobre la molécula e interacciona con la nube de electrones [78].

Como se mencionó existen dos procesos de dispersión, uno de ellos es la dispersión Rayleigh donde un fotón incidente hace que los electrones suban a un nivel excitado, después de ello regresan nuevamente a su nivel basal pero la emisión de energía es similar a la que recibieron, esto se debe a que no hay intercambio de energía entre el fotón incidente y los electrones del material, este tipo de dispersión no ofrece información sobre la molécula a estudiar.

El tipo de dispersión que proporciona información sobre la molécula a estudiar es la dispersión Raman, esto se debe a que el electrón absorbe energía del fotón incidente y cuando regresa a su estado base, la energía que dispersa es menor o mayor que el incidente, esta es una dispersión de tipo inelástica.

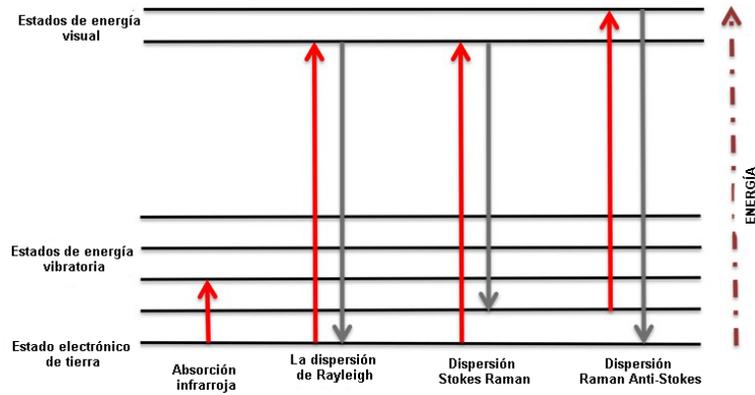


Figura 34.- Representación energética de las diferentes posibilidades de dispersión al incidir un fotón [79]

A su vez, la dispersión inelástica se puede dividir en Raman Stokes y Anti Stokes, en la primera el electrón se encuentra en un estado basal y absorbe energía para pasar a un nivel virtual excitado, regresando de nuevo a un nivel superior al estado basal, el segundo ocurre cuando el electrón se encuentra en un nivel mayor de energía al estado basal y absorbe energía del fotón incidente, es excitado y cuando regresa no es solamente a su estado inicial si no a uno de energía menor.

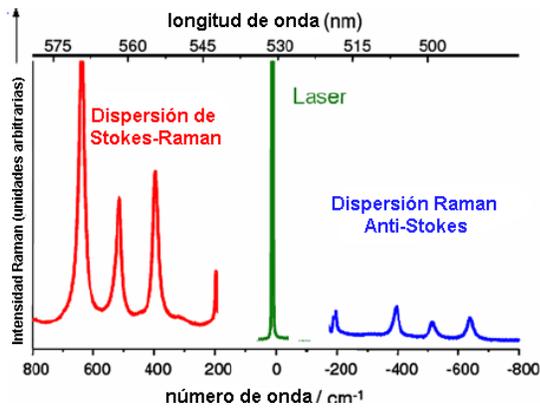


Figura 35.- Espectro Raman que muestra la banda de Rayleigh, a  $0 \text{ cm}^{-1}$  en el centro, a la izquierda [80]

Este tipo de dispersión Raman Stokes o Anti Stokes se ve reflejado en la espectroscopia Raman, porque a pesar de tener intensidades diferentes, se encuentran al mismo desplazamiento, pero hacia ejes diferentes, teniendo a la dispersión Rayleigh como centro, cuando se presentan fenómenos de fluorescencia es mejor tomar la señal Raman Stokes.

## Microscopía Electrónica de Transmisión

Un microscopio electrónico de transmisión (TEM por sus siglas en inglés), utiliza un haz de electrones, que, por medio de lentes magnéticas condensadoras y objetivo, son capaces de focalizar el haz en un punto o en una determinada zona, dependiendo de la información que se desea obtener, entre la cual se encuentra el tamaño de la partícula, la forma y la estructura cristalina.

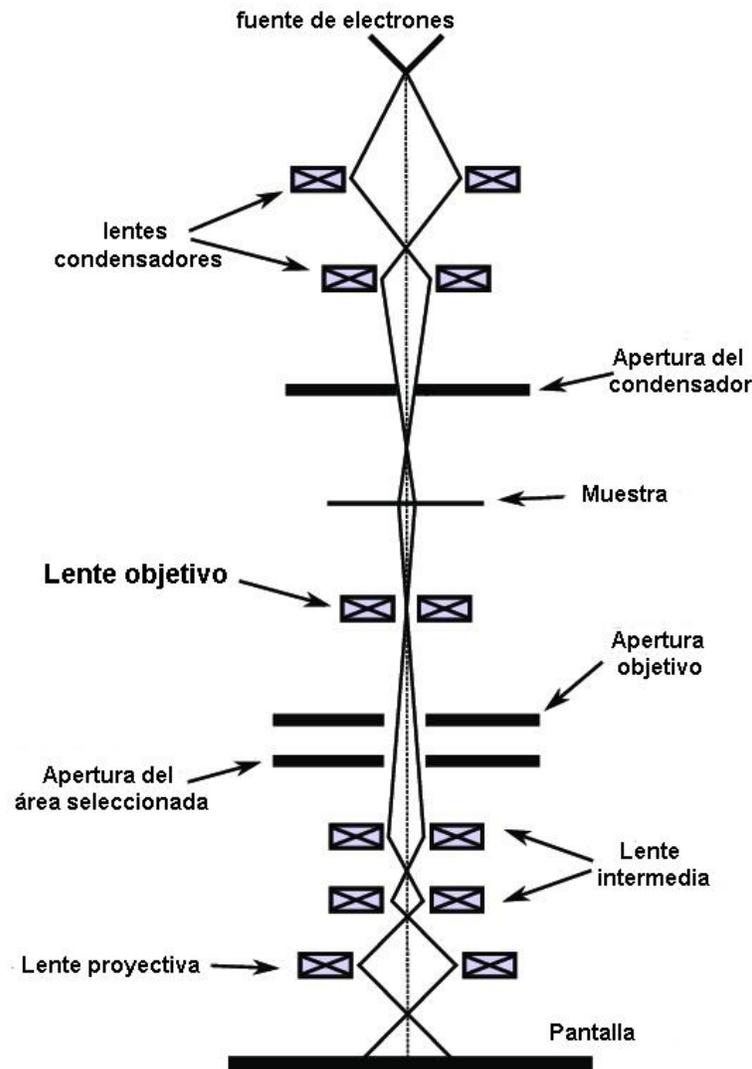


Figura 36.- Esquema de un microscopio electrónico de transmisión [81]

La interacción del haz de electrones con el material produce diversa cantidad de fenómenos, en el caso particular del TEM se está interesado en las interacciones producidas después de atravesar la muestra, por esta razón el grosor de ella es de suma importancia ya que entre mayor camino recorran los electrones, mayor energía pueden perder, por ende, la cantidad de electrones que llegaría hasta el final sería mínima.

El microscopio electrónico de transmisión es un gran cilindro dispuesto de forma vertical, que se encuentra en vacío para evitar la interacción de los electrones acelerados con el medio y modificar su comportamiento, este sistema de vacío se genera con una bomba al exterior de la columna.

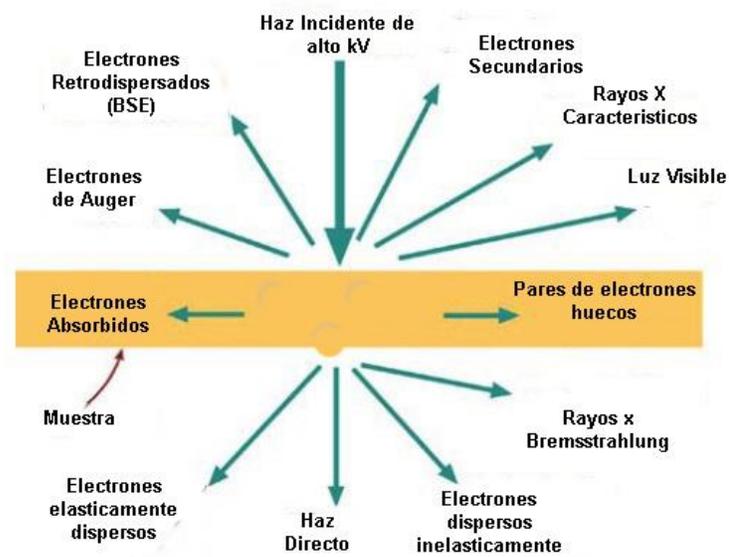


Figura 37.- Tipos de fenómenos producidos cuando un haz de electrones interactúa con una muestra

El microscopio electrónico de transmisión es un gran cilindro dispuesto de forma vertical, que se encuentra en vacío para evitar la interacción de los electrones acelerados con el medio y modificar su comportamiento, este sistema de vacío se genera con una bomba al exterior de la columna.

Las partes del microscopio son divididas en tres [82]

La primera, es el sistema de iluminación el cual contiene la fuente de producción de electrones, pudiendo utilizar un sistema termoiónico, es decir, aumenta la temperatura de un material como el tungsteno hasta que ese comienza a emitir gran cantidad de electrones con suficiente energía cinética para ser acelerados. Otra fuente es la de emisión de campo, donde se tiene una punta lo suficientemente pequeña como para producir un efecto túnel, de esta manera los electrones producidos tienen mayor cantidad de energía cinética que la fuente mencionada anteriormente. En el sistema de iluminación también se encuentran las lentes condensadoras, mencionando que dichas lentes son electromagnéticas y dirigen el curso de los electrones, así como la focalización sobre el espécimen.

La segunda parte es donde se localiza la muestra, este debe permanecer estático, evitando cualquier tipo de movimiento o vibración, y después de introducir la muestra en la cámara se debe de colocar vacío.

Finalmente, en el sistema de imagen se encuentran los lentes objetivos los cuales producen la magnificación de la imagen o se obtiene los patrones de difracción.

Cuando los electrones interactúan con el material, pueden ser dispersados de forma elástica donde no hay intercambio de energía y de forma inelástica donde se observa un intercambio de energía de los electrones con los átomos que conforman la estructura. Debido a que en la dispersión elástica no hay intercambio de energía, los electrones dispersados se consideran coherentes, es decir, se encuentran en fase, caso contrario a los electrones obtenidos por la dispersión inelástica donde se consideran estos electrones dispersados de forma incoherente.

El comportamiento de los electrones en la dispersión elástica puede visualizarse desde dos puntos de vista, en el primer considerando a los electrones como partículas, que al interactuar con el material producen una dispersión obteniendo una imagen; el segundo es tomar a los electrones como una onda que se propaga a través del espécimen, de esta forma obtenemos una difracción.

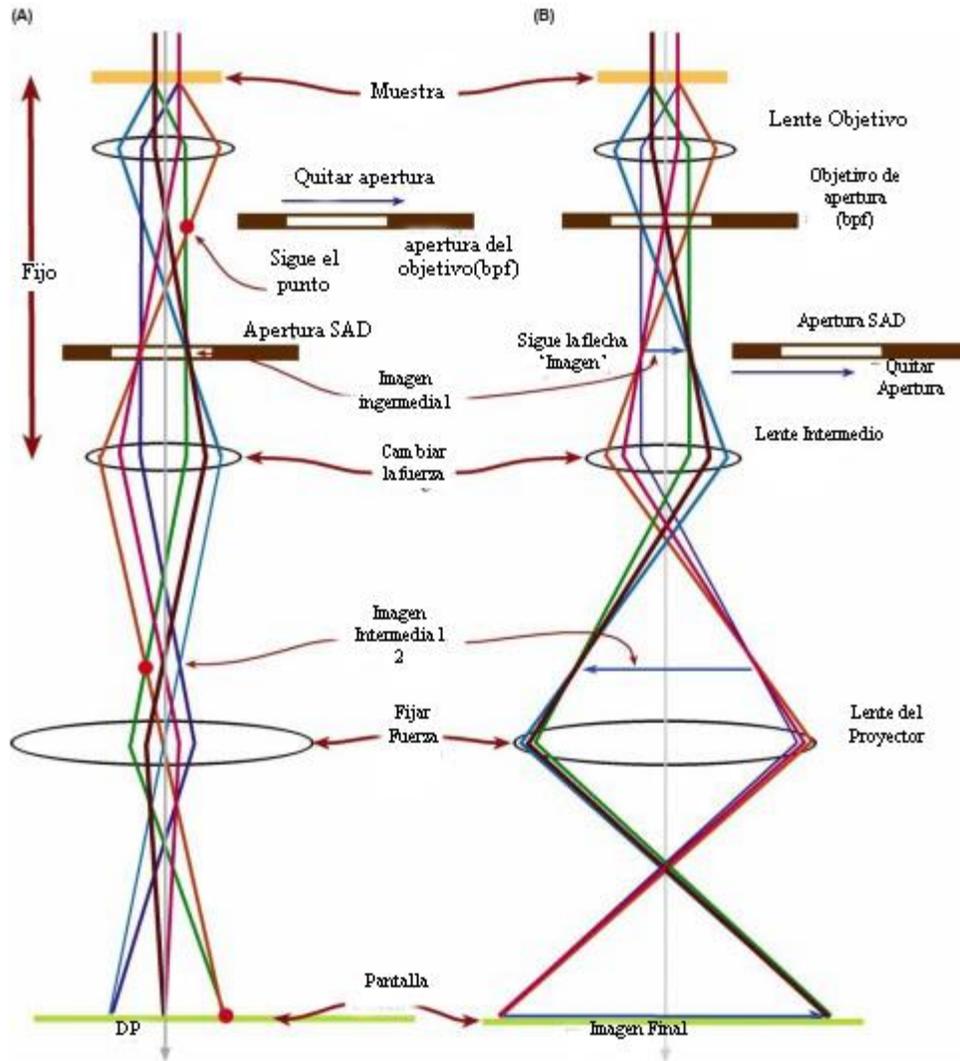


Figura 38.- Modo de haz convergente en TEM. A) El principio básico: el lente C2 ilumina una pequeña área del espécimen con un haz no paralelo, esto es un haz convergente. B) El uso de piezas objetivas en el lente C3 ofrece una pequeña prueba y grandes ángulos

Si tomamos a los electrones como partículas se encuentran propiedades como tener una sección cruzada de dispersión, pueden dispersar a través de ángulos (o más bien semi-ángulos) específicos y finalmente el electrón interactúa con el núcleo y la nube de electrones a través de las fuerzas de Coulomb [83].

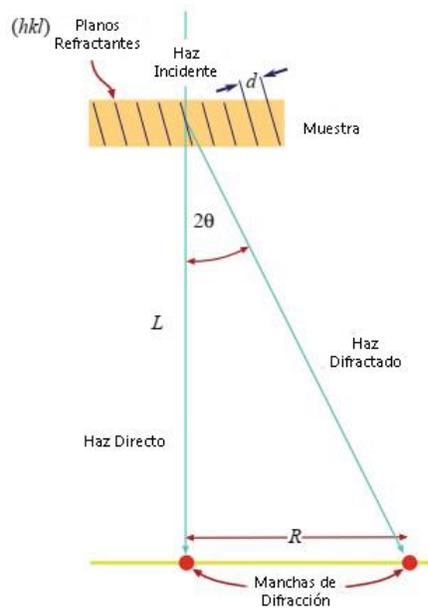


Figura 39.- El espacio  $R$  entre el haz directo y la dispersión máxima, donde  $L$  es la longitud de cámara.

Por otro lado, cuando se considera a los electrones como ondas, éstas son difractadas por átomos o centros de dispersión, dando origen a nuevas ondas. De igual forma la fuerza con la cual la onda es dispersada por el átomo es determinada por la amplitud de la dispersión atómica; sabemos que cuando las ondas se unen pueden ocurrir dos sucesos, llamados interferencia. Cuando se cancelan las ondas, ocurre una interferencia destructiva y no se observa onda alguna; por el contrario, cuando se suman aumenta la amplitud, teniendo una interferencia constructiva, es aquí cuando se puede observar los patrones de difracción que proporcionan información sobre la estructura cristalina de la molécula de estudio.

Cuando se analizan monocristales los patrones obtenidos son puntos, por otro lado, cuando se trata de materiales amorfos se obtienen anillos, y para el caso de policristales se pueden observar pequeños anillos y puntos, este análisis permite conocer la estructura cristalina del material.

**CAPÍTULO 4.**

**RESULTADOS Y**

**DISCUSIÓN**

## Caracterización por UV-Visible

La caracterización de las nanopartículas de oro fue realizada por espectroscopía UV-Visible durante los primeros 18 minutos, los resultados obtenidos se muestran a continuación.

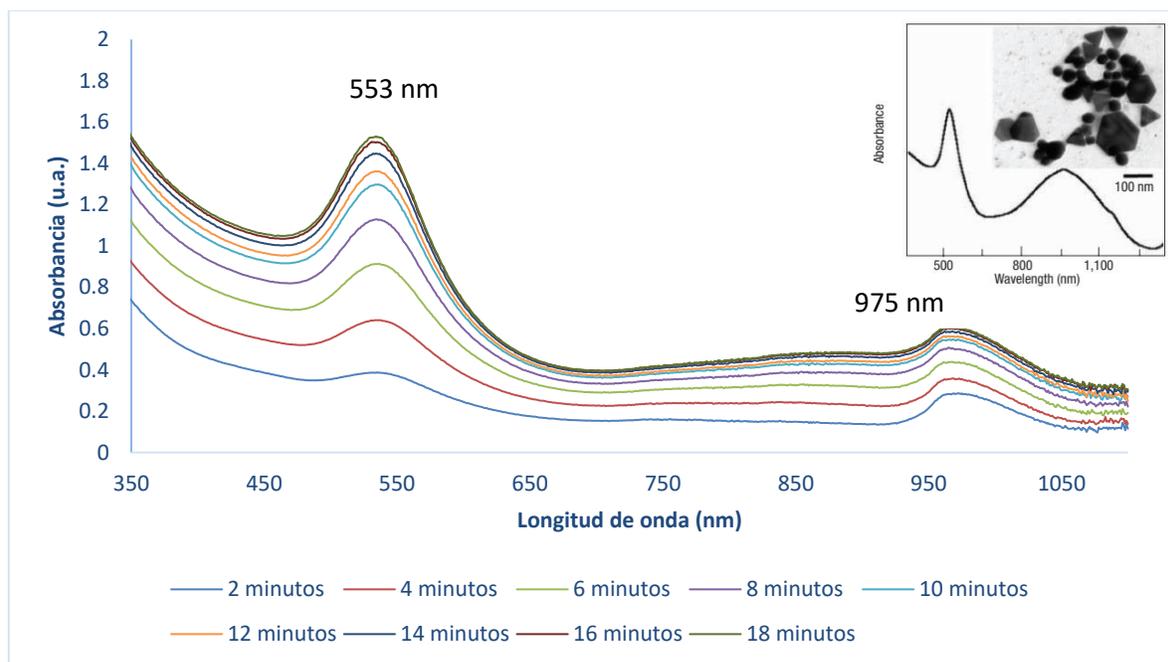


Figura 40.- Cinética de reacción, se observa primera banda en 553nm y segunda en 975nm. Espectro UV-vis-NIR e imagen TEM de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de  $AuCl_4$  en presencia de acetona.

La espectroscopia UV-Vis aplicada a las nanopartículas metálicas nos permitirá observar el comportamiento de las nanoestructuras metálicas, cuando la frecuencia de la onda incidente es la frecuencia del plasmón se observará una banda característica a cada metal, por ejemplo, en las nanopartículas esféricas de oro se observará una banda en los 600nm.

La cinética de reacción muestra dos bandas en 553 nm y 975 nm, la primera banda es característica de las nanopartículas de oro, siempre que el tamaño de una nanopartícula sea mucho menor que la longitud de onda incidente e independientemente de la morfología se observará esta banda.

La segunda banda se observa dependiendo de la morfología de la nanopartícula, y de la relación que guardan las medidas transversales y longitudinales, de igual forma en el inserto [84] se puede observar que se presentan dos bandas cercanas a los valores obtenidos experimentalmente, donde los autores muestran estructuras triangulares, hexagonales y semiesferas, por tanto, basados en los resultados experimentales obtenidos, se esperarían estructuras triangulares además de las esféricas, esto lleva a realizar la caracterización por TEM.

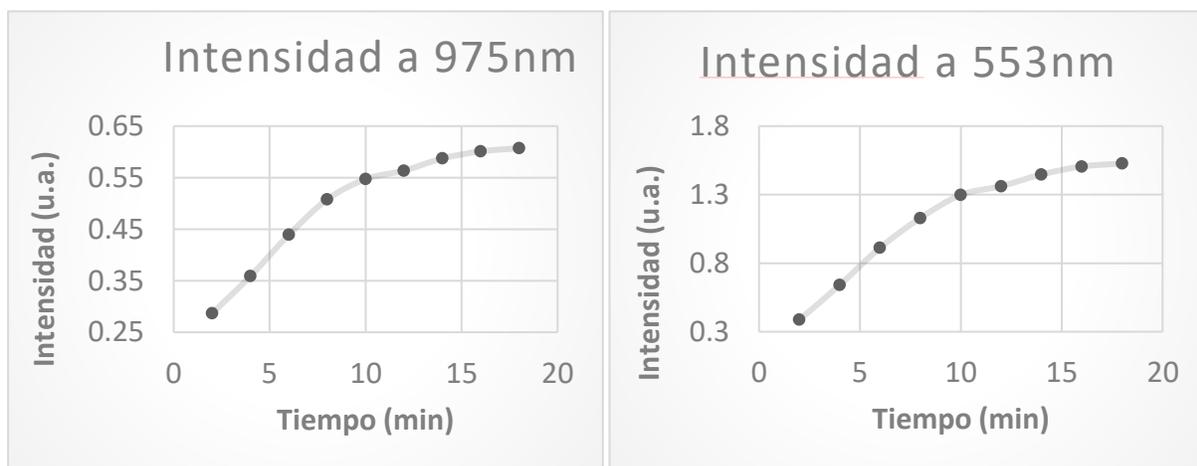
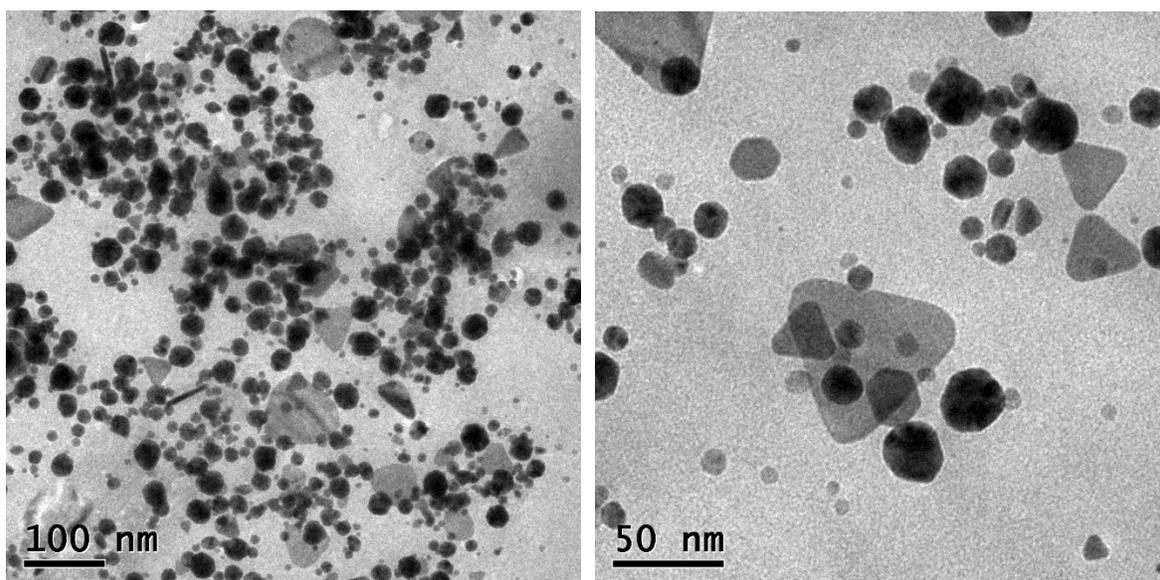


Figura 41.- Gráfica de la intensidad de la superficie del plasmón a 553 nm y 975 nm en relación al tiempo de reacción.

La intensidad de las dos bandas reportadas en la Figura 41, en función del tiempo de síntesis, se reporta en la Figura 42. En ambos casos puede observarse que la intensidad crece considerablemente, para tiempos menores a 12 minutos, mientras que éste tiende a un valor, aproximadamente constante, para tiempos superiores a 15 min.

### Caracterización por TEM



*Figura 42.- Micrografías TEM de AuNP obtenidas*

Se realizó la caracterización por microscopía electrónica de transmisión, por medio de la cual, se obtuvieron micrografías a una escala de 50 y 100nm.

En la micrografía de lado izquierdo se observan nanopartículas triangulares, esféricas, hexagonales y rodillos.

Con mayor resolución, de lado derecho, se observan nanopartículas cuasi esféricas, hexagonales y triangulares. Cabe destacar que las nanopartículas triangulares son planas, esto puede visualizarse debido a que el haz proporciona un triángulo grande y debajo de él se observan otro triángulo y más nanopartículas cuasi esféricas.

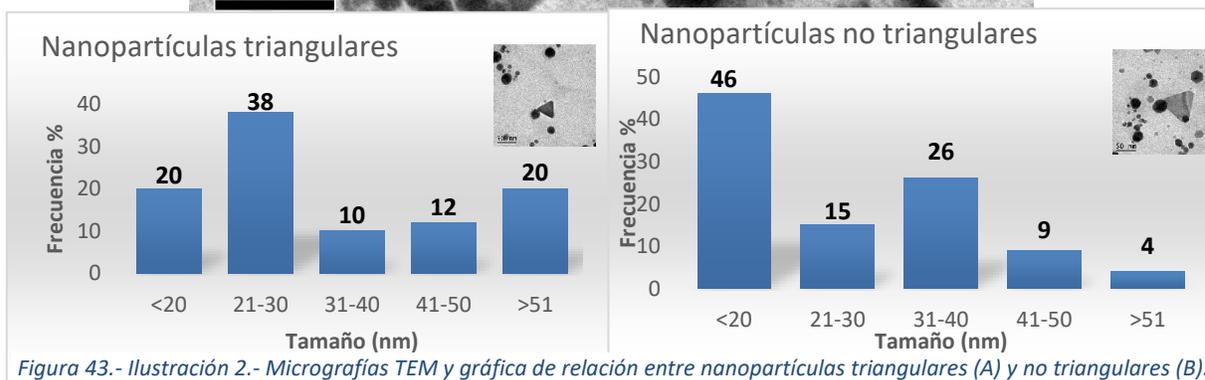
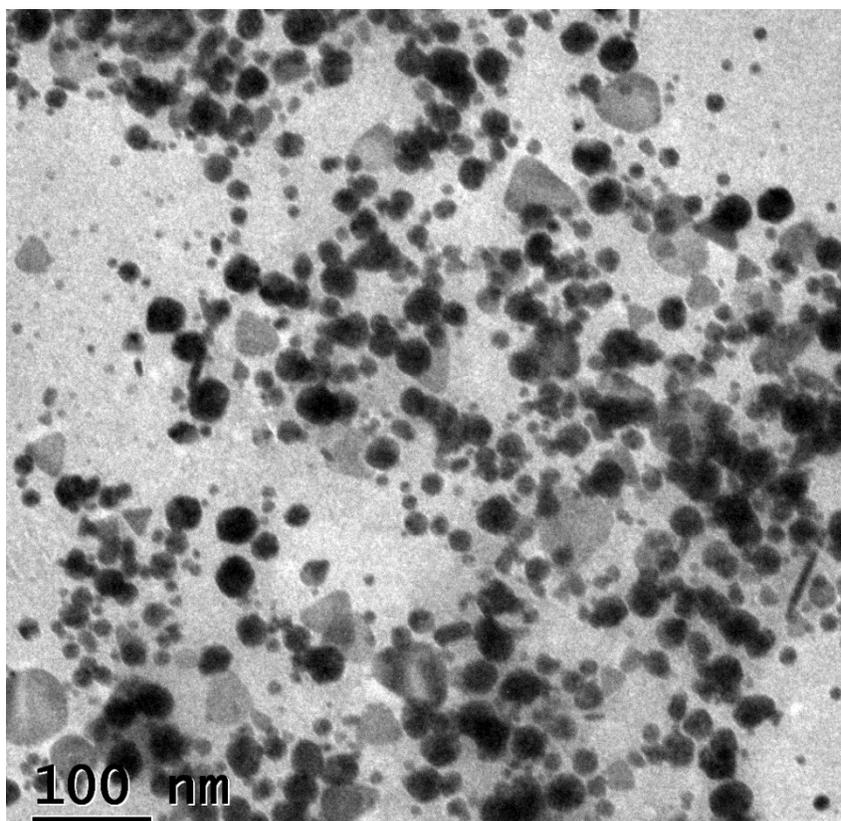
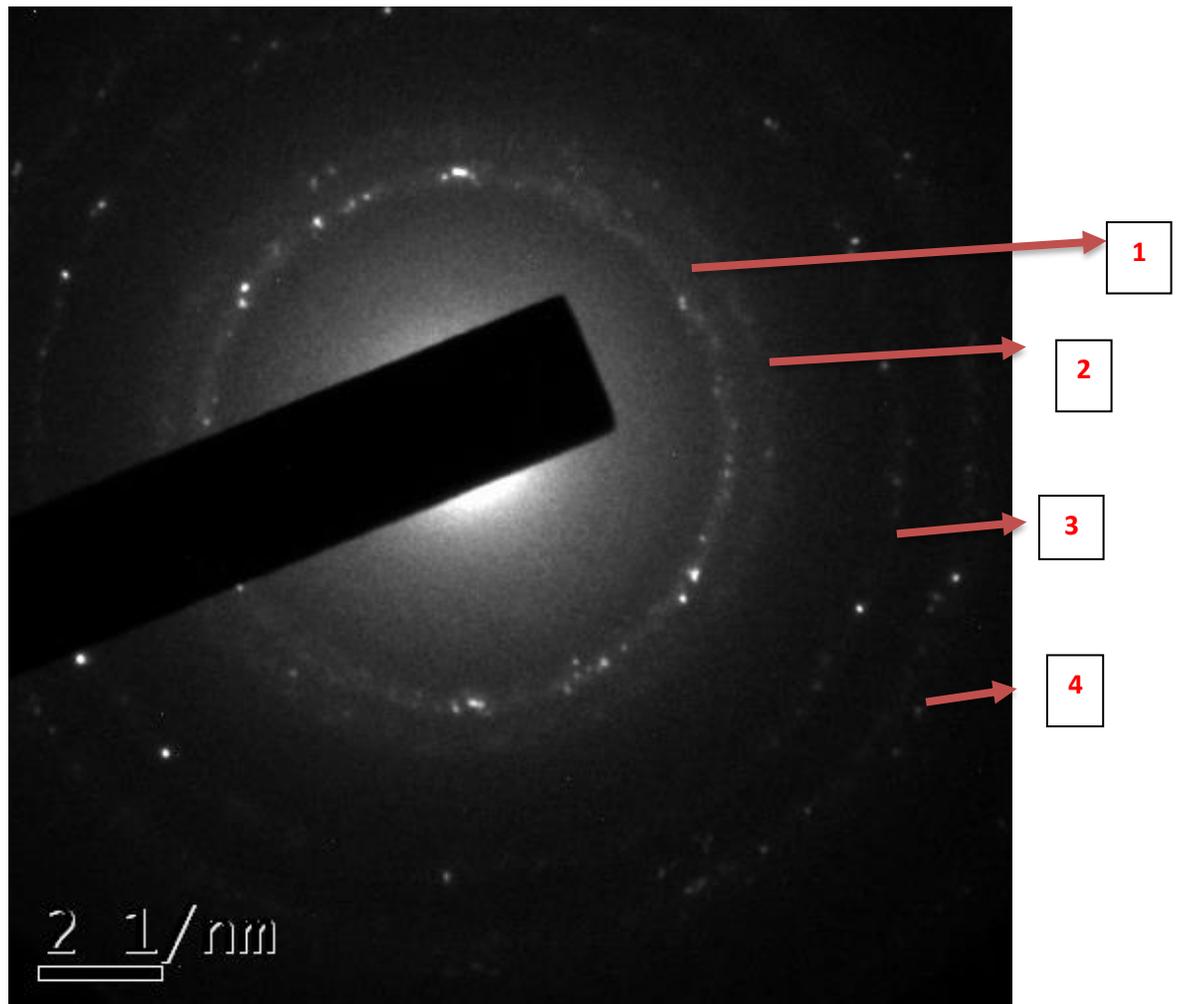


Figura 43.- Ilustración 2.- Micrografías TEM y gráfica de relación entre nanopartículas triangulares (A) y no triangulares (B).

En la figura 44 se muestra una micrografía cuyo conteo de nanopartículas fue igual a 150, de las cuales 1/3 son triangulares y el resto son semiesféricas y hexagonales, estos valores se encuentran reflejados en las gráficas de frecuencia contra tamaño, donde para las nanopartículas triangulares el mayor porcentaje se encuentra entre 21-30nm y para las nanopartículas no triangulares, la mayor cantidad es menor a 20nm. Con respecto a esto, se podría decir que las nanopartículas triangulares forman un estado metaestable, después del cual por coalescencia dan origen a las nanopartículas hexagonales y de forma esferoidal de mayor tamaño.



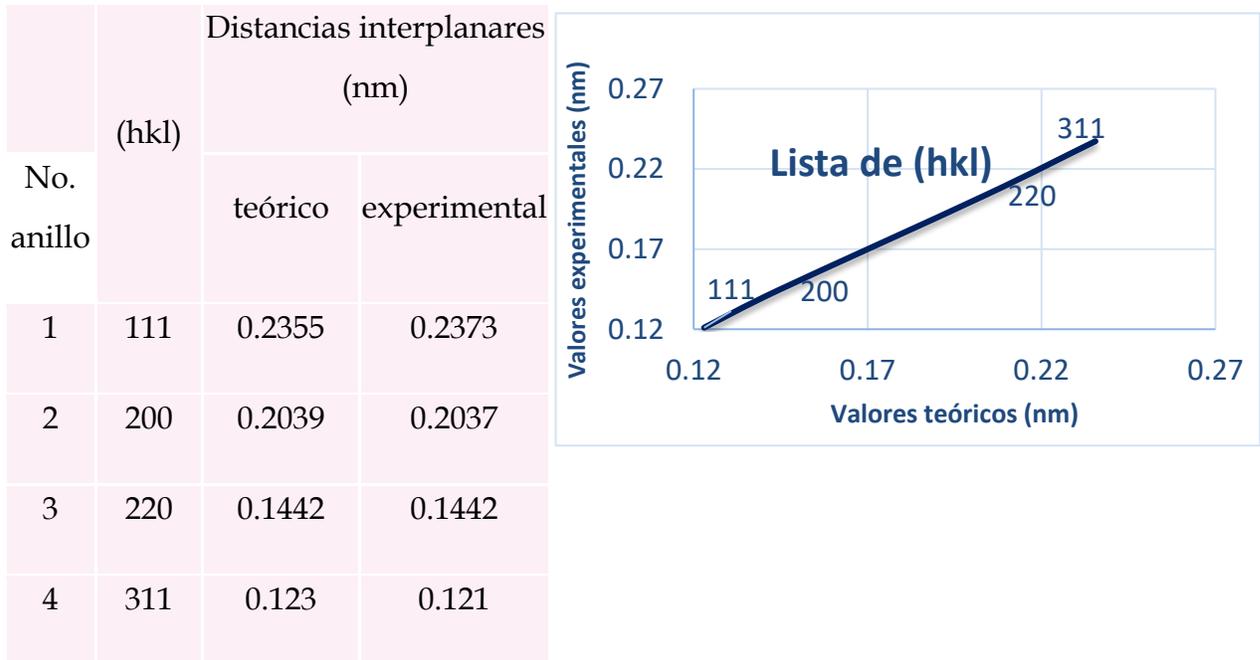


Figura 44.-.- Patrón SAED mostrando cuatro anillos de difracción que corresponden a los espacios interplanares mostrados en la tabla anexa. Tabla y gráfica de valores teóricos y experimentales obtenidos, donde las reflexiones asociadas correspondientes a una estructura FCC

Se puede observar que aproximadamente el 70% de las nanopartículas triangulares y el 80% de forma esferoide tienen menos de 40nm de tamaño. En base a esto podemos mencionar que la cantidad de extracto de *Camellia sinensis* permite un buen control en el tamaño de las nanopartículas sintetizadas.

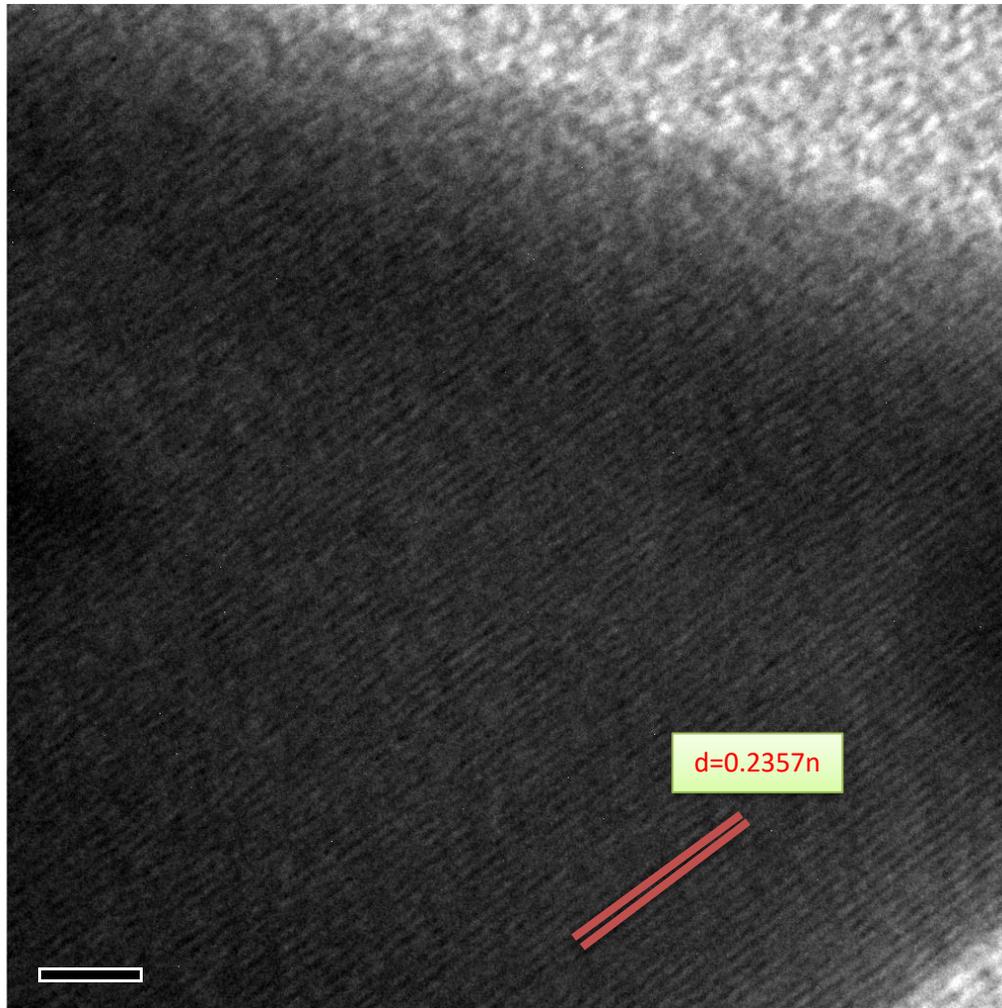


Figura 45.- Espacio interplanar experimental  $d=0.2357\text{nm}$  acorde con el teórico  $d=0.2355\text{nm}$  corresponden al plano (111)

La interacción de los electrones con los átomos de un elemento o compuesto, proporcionaran características sobre él, entre las cuales se encuentra la estructura cristalina. Ésta información puede obtenerse a partir de un patrón de difracción SAED (área selecta de difracción de electrones) con la cual siguiendo la ley de Bragg se puede obtener información sobre las reflexiones permitidas y las distancias interplanares para cada estructura cristalina.

En la figura 45 se muestra un patrón de difracción SAED de las nanopartículas de oro con vértice obtenidas, se pueden observar~~donde se observan~~ cuatro anillos, los cuales corresponden a las reflexiones permitidas (111), (200), (220) y (311), al estar relacionados con ~~los valores de~~ las distancias interplanares donde puede constatarse que los valores experimentales obtenidos se aproximan en gran medida a los valores teóricos, que se ven reflejados en la gráfica, este resultado muestra que las reflexiones asociadas corresponden a una estructura FCC que pertenecen al oro.

Finalmente, en la figura 46 se puede observar el valor del espacio interplanar  $d=0.2357$  muy cercano al valor teórico proporcionado el cual corresponde al plano (111).

### **Caracterización por FTIR**

Las NPs de oro obtenidas fueron utilizadas para preparar el sustrato flexible SERS. La existencia de NPs con vértices y de forma esférica aumentarían la cantidad de "hot spot". Esto se debe a que en los vértices existen mayor cantidad de electrones libres en comparación a las aristas, por lo tanto, se requiere interacción entre dichos vértices.

Para nanopartículas únicamente planas y triangulares, la mayor cantidad de área superficial se encuentra en las caras y las aristas, por tanto, para reducir al mínimo la energía superficial, los lugares de contacto o interacción sería por las aristas, lo cual proporcionaría menor cantidad de puntos calientes.

Por otro lado, la existencia de nanopartículas triangulares, hexagonales y semiesféricas producirán una interacción no solamente entre aristas, también entre vértices, esto si entre cada triángulo se sitúa nanopartículas esféricas, produciría un acomodo al azar produciendo mayor cantidad de “hot spot”.

Para obtener este arreglo las nanopartículas deben de colocarse sobre un sustrato, los métodos uno y dos, consistieron en colocar una gota de PMMA/ $\text{CHCl}_3$  sobre una solución coloidal de NPs de oro, en el método uno se retiró la película y en el método dos se colocó etanol antes de retirar.

Ambos métodos se requirieron 48 horas para obtener los sustratos, esto bajo condiciones ambientales. En el tercer método se requirió una gran cantidad de días para obtener el sustrato, los tres sustratos fueron caracterizados por espectroscopía FTIR donde se obtuvieron los siguientes espectros.

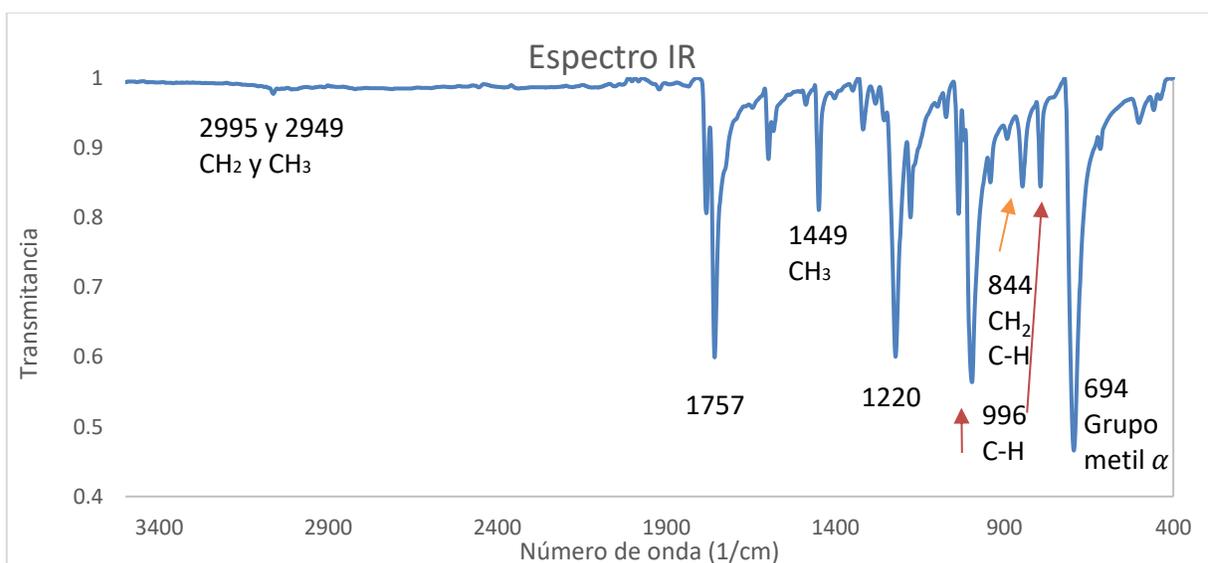


Figura 46.- Se observa un espectro FTIR del PMMA en blanco, donde se aprecian bandas características

En la figura 47 se presenta un espectro de infrarrojo del PMMA en blanco, pueden observarse bandas características de este polímero en 1757  $\text{cm}^{-1}$  indicando enlace  $\text{C}=\text{O}$ , en 1220  $\text{cm}^{-1}$  debida a  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  que tienen bandas muy fuertes por vibraciones de tensión, para los grupos  $\text{CH}_3$  se tienen las bandas en 2995  $\text{cm}^{-1}$  y 1449.

Para  $\text{CH}_2$  se observan bandas en 2949  $\text{cm}^{-1}$  y 844  $\text{cm}^{-1}$ . En 996 y 844  $\text{cm}^{-1}$  se observa la banda de  $\text{C}-\text{H}$  debido a las vibraciones de torsión, finalmente en 694  $\text{cm}^{-1}$  se aprecia la vibración debido al grupo metil alpha.

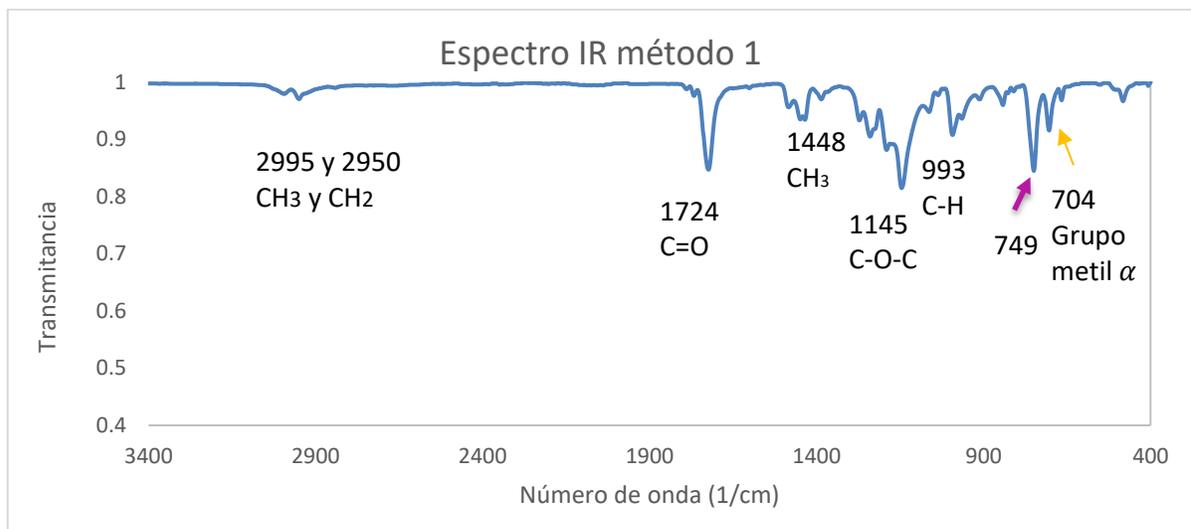


Figura 47.- Espectro FTIR del sustrato siguiendo el método 1, se puede percibir la disminución en la transmitancia.

En la figura 48 se presenta el espectro obtenido por el método 1, se pueden observar las bandas características del PMMA  $\text{C}=\text{O}$  en 1724  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  en 1145  $\text{cm}^{-1}$ , 2995 y 2950  $\text{cm}^{-1}$  para  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$  y finalmente a pesar de reducir su transmitancia se observan bandas en 1448 y 993  $\text{cm}^{-1}$  para  $\text{CH}_3$  y  $\text{C}-\text{H}$ .

En la figura 49 correspondiente al método 2 que presentaba metodología similar al anterior, modificando la adición de etanol antes de retirar el sustrato de la solución coloidal, se aprecian nuevamente las bandas características del PMMA con C=O en  $1724\text{ cm}^{-1}$ , C-O-C en  $1146\text{ cm}^{-1}$ , para CH<sub>3</sub> y CH<sub>2</sub> en  $2994$  y  $2950\text{ cm}^{-1}$  respectivamente y en  $1449$  y  $993\text{ cm}^{-1}$  para CH<sub>3</sub> y C-H.

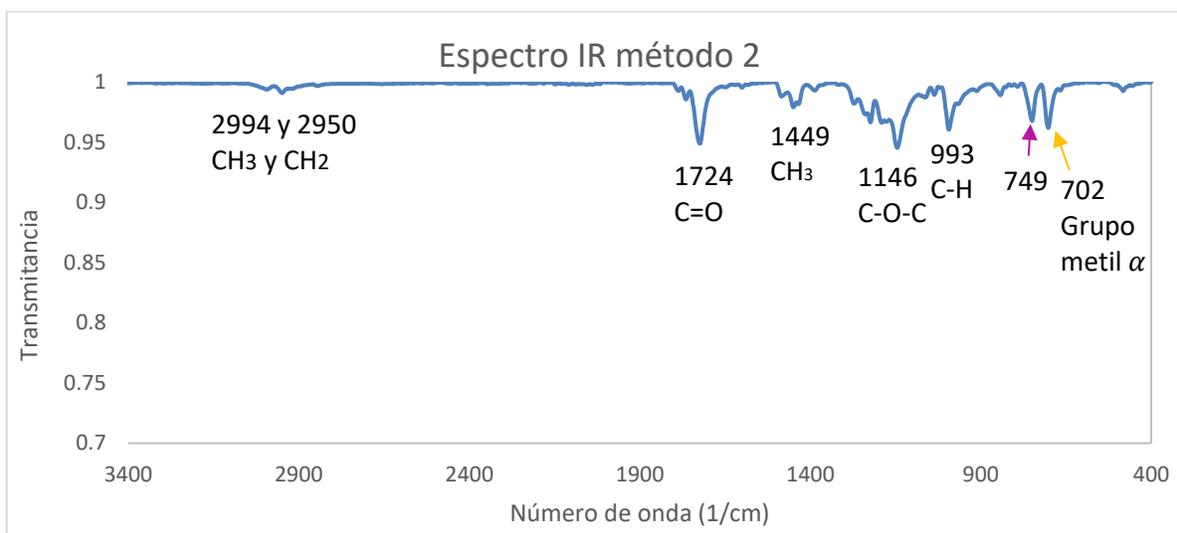


Figura 48.- Espectro FTIR del del sustrato con el método 2

El espectro del tercer método se presenta en la figura 50, cabe recalcar que el soporte obtenido por éste método fue aprovechando las diferencias de densidades entre la solución coloidal de NPs de oro y el PMMA y que representó mayor cantidad de tiempo para obtener la película, de igual forma se presentan bandas en  $1725\text{ cm}^{-1}$  y  $1146\text{ cm}^{-1}$  para en C=O y C-O-C respectivamente, así como en  $2993$  y  $2950\text{ cm}^{-1}$  para CH<sub>3</sub> y CH<sub>2</sub> y en  $1449$  y  $994\text{ cm}^{-1}$  para CH<sub>3</sub> y C-H respectivamente.

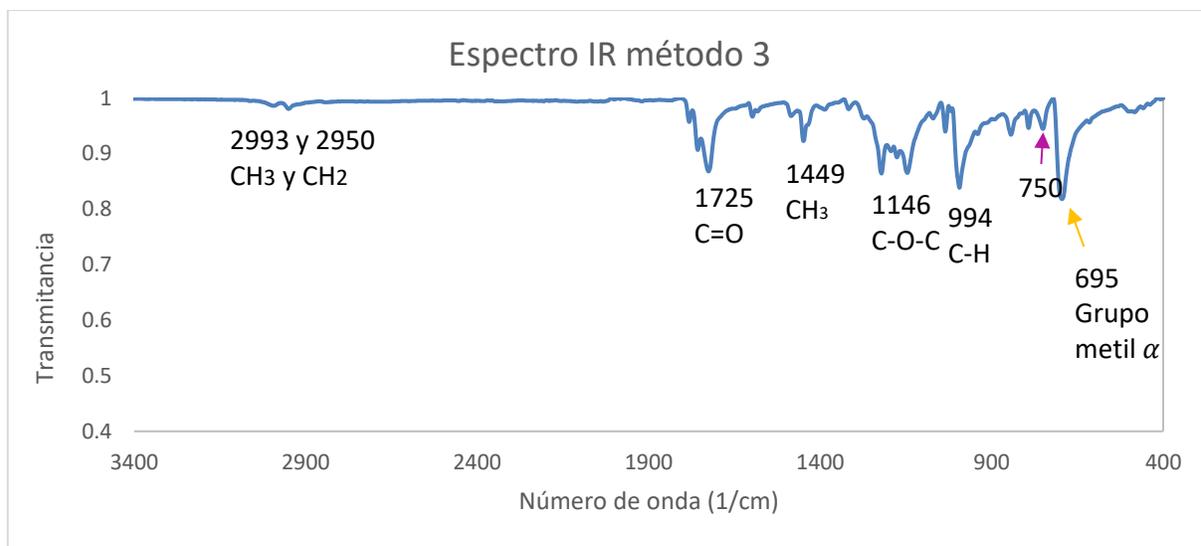


Figura 49.- FTIR del sustrato siguiendo el método numero 3

Para los espectros del método 1, 2 y 3 se aprecia que las bandas características del PMMA para los enlaces CH, CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub>, si bien muestran una disminución en la transmitancia de dichas bandas, el desplazamiento en el número de onda es nulo o insignificante con respecto a la banda original de PMMA. En la tabla 4 se presentan los valores del número de onda obtenidos en los métodos mencionados.

Al observar los máximos para el enlace C=O de los métodos se encuentran en 1724, 1724 y 1725 cm<sup>-1</sup> respectivamente, se aprecia un desplazamiento de 33 cm<sup>-1</sup> en comparación al PMMA en blanco, para el enlace C-O-C el máximo corresponde a 1145, 1146 y 1146cm<sup>-1</sup> de los métodos anteriores respectivamente mostrando un desplazamiento de 25 cm<sup>-1</sup> con respecto al PMMA en blanco.

| Picos asignados                   | PMMA puro<br>Número de onda<br>(cm <sup>-1</sup> ) | PMMA/AuNP<br>método 1<br>(cm <sup>-1</sup> ) | PMMA/AuNP<br>método 2<br>(cm <sup>-1</sup> ) | PMMA/AuNP<br>método 3<br>(cm <sup>-1</sup> ) |
|-----------------------------------|--|--|--|--|
| CH <sub>2</sub> y CH <sub>3</sub> | 2995 y 2949  | 2995 y 2950                                  | 2994 y 2950                                  | 2994 y 2950                                  |
| C=O                               | 1757   | 1724   | 1724   | 1725   |
| CH <sub>2</sub>                   | 1449   | 1448   | 1449   | 1448   |
| C-O-C                             | 1220   | 1145   | 1146   | 1146   |
| C-H                               | 996  | 993  | 993  | 994  |
| CH <sub>2</sub> ó C-H<br>balanceo | 844  | 842  | 843  | 843  |
| C-H                               | 793  | 792  | 792  | 793  |
|                                   | -  | 749  | 749  | 750  |
| Grupo metil<br>$\alpha$           | 694  | 704  | 702  | 695  |

Tabla 4.- Números de onda de los espectros FTIR de los métodos 1, 2 y 3 en comparación con el PMMA en blanco

Como sabemos, los cambios producidos en las moléculas debido a la interacción de la luz con la materia producen vibraciones y oscilaciones, éstas pueden ser estudiadas por medio de un oscilador, y relacionar el número de onda observado en los espectros con la masa de los átomos y la constante específica para cada enlace.

El número de onda es directamente proporcional a la constante e inversamente proporcional a la masa de los átomos que conforman la molécula.

La fuerza, el ángulo de flexión y de torsión, dependen del tipo de átomos, el tamaño, la masa, el enlace con otros elementos e incluso las interacciones secundarias con otros átomos, partículas o iones.

La diferencia entre cada espectro proporcionará información útil sobre las posibles modificaciones que sufre el polímero debido a la incorporación de las nanopartículas de oro.

Las diferencias notables que observamos en el espectro del polímero en blanco en relación al polímero con las nanopartículas de oro, son un cambio en la transmitancia y un desplazamiento en los números de onda de los enlaces sencillos y dobles del carbono con el oxígeno.

Para que una molécula sea activa en el infrarrojo, es necesario que exista un cambio en su momento dipolar, debido a que el dipolo formado por el enlace carbono oxígeno tiene un gran momento dipolar en comparación al enlace carbono hidrogeno, la banda que presenta es muy evidente e intensa.

En los métodos para obtener el sustrato, las bandas de los enlaces C = O y C-O se modifican, razón por la cual la interacción de las nanopartículas de oro se está llevando a cabo con los oxígenos del PMMA.

Sabemos que las nanopartículas obtenidas, tienen una gran cantidad de electrones deslocalizados que cuando entran en contacto con el dipolo carbono/oxígeno, este último provoca que la nanopartícula se polarice, redistribuyendo las cargas y formando una interacción dipolo-dipolo inducido, debido a esta atracción, la cantidad de energía requerida para producir un cambio en el momento dipolar de los enlaces C=O y C-O es mayor, por tanto, podemos observar un desplazamiento en el número de onda.

Finalmente, en el polímero con estos métodos se aprecia una banda en 749, 749 y 750  $\text{cm}^{-1}$  que no se aprecia en el polímero en blanco, esta banda de igual forma podría deberse a la interacción de las nanopartículas de oro con el polímero, que producen el surgimiento de esta nueva banda.

# **CAPÍTULO 5**

## **CONCLUSIONES**

## Conclusiones

Utilizando extracto de *Camellia sinensis* se sintetizaron nanopartículas de oro triangulares, hexagonales y esferoides con 0.4ml de extracto cuyas bandas características utilizando espectroscopía UV-VIS son en 553 nm y 975 nm

La estabilidad de las nanopartículas de oro fue en los primeros 30 minutos como se mostró en la cinética.

La ventaja de la diversidad en la morfología de las nanopartículas se debe a que, al interactuar, la cantidad de los vértices enfrentados de las nanopartículas triangulares sería mayor, proporcionando mayor cantidad de puntos calientes.

Con el PMMA se elaboraron películas siguiendo tres métodos diferentes, con los cuales, el primero presento un menor costo en tiempo y recursos, en el segundo a pesar del menor tiempo se requirió mayor cantidad de recursos y finalmente en el tercer método se requirió mayor de ambas cosas.

Los primeros dos soportes realizados presentaron mayor flexibilidad y transparencia en comparación al tercero, pero en el espectro FTIR de los tres métodos se observa un desplazamiento a menor número de onda en los enlaces con oxígeno, así como la presencia de una nueva banda a los 749  $\text{cm}^{-1}$ , dando origen a una posible interacción entre el polímero y las nanopartículas de oro con vértices.

El método presentado para preparar sustratos flexibles SERS tiene muchas ventajas sobre otros métodos. Primero es más amigable con el medio al utilizar extracto de *Camellia sinensis* para la síntesis de las nanopartículas. Segundo, el uso de PMMA como soporte de este sistema ofrece transparencia y flexibilidad para poder analizar alimentos de diversas morfologías. Tercero, el método para obtener el sustrato se lleva a cabo en corto tiempo, de forma sencilla y más económica que otros métodos.

Finalmente, la obtención de diversas morfologías sugiere la posibilidad de una mayor formación de puntos calientes además de que el análisis no representaría la destrucción de la muestra.

# REFERENCIAS

## Referencias

- [1] Poole, C.P, Owens, F.J. Introduction to Nanotechnology (2003). John Wiley & Sons
- [2] Ramsden, J. (2016). Nanotechnology: An Introduction. Elsevier Science.
- [3] Edelstein, A.S, Cammaratra, R.C.(1998). Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications, Second Edition, Taylor & Francis.
- [4] Daraio C, Jin S. (2012). Synthesis and Patterning Methods for Nanostructures Useful for Biological Applications. Springer Science+Business Media.
- [5] Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. Research in pharmaceutical sciences, 9(6), 385-406.
- [6] Turkevich J (1951). A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. The Royal Society of Chemistry.
- [7] Shah, M.; Fawcett, D.; Sharma, S.; Tripathy, S.K.; Poinern, G.E.J. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. Materials 2015
- [8] Vilchis-Nestor A (2008). Solvent less synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using *Camelia sinensis* extract. Materials Letters.
- [9] Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnology advances, 31(2), 346-356.
- [10] Pomogailo A.D., Dzhardimalieva G.I. (2014) Reduction of Metal Ions in Polymer Matrices as a Condensation Method of Nanocomposite Synthesis. In: Nanostructured Materials Preparation via Condensation Ways. Springer, Dordrecht
- [11] Thomas P. J, Armstrong O. L, Baxter S. N. (2018). Advances in Synthesis of Metal Nanocrystals. Springer International Publishing.

- [12] Cabrera, C, Reyes, A & Giménez, R (2006). Beneficial Effects of Green Tea – A Review. (Vol 25, No 2, 79–99 ed.). España: Journal of the American College of Nutrition
- [13] Bradley J. S. (1994). The Chemistry of Transition Metal Colloids. Clusters and Colloids: From Theory to Applications.
- [14] Porras A. P, López A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas selectos de ingeniería en alimentos 3-1, 121 – 134. Puebla. Universidad de las Américas.
- [15] a) Polte J, Tuaeov X, Wuithschick M, (2012) Formation Mechanism of Colloidal Silver Nanoparticles: Analogies and Differences to the Growth of Gold Nanoparticles. ACS Nano. b) Polte J. (2015). Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective. CrystEngComm. The Royal Society of Chemistry.
- [16] Silva L, Sánchez V, Camacho M, Trujillo J, Vilchis R. Plasmonic and fluorescent sensors of metal ions in water based on biogenic gold nanoparticles.
- [17] Brown, T.L. LeMay, H.E. Bursten, B.E. Murphy, C. Woodward, P. Langford, S. Sagatys, D. George, A. (2013). Chemistry: The Central Science. Pearson Higher Education AU.
- [18] Bönnemann H, Richards R. M. (2001) Nanoscopic Metal Particles Synthetic Methods and Potential Applications. MICROREVIEW. Eur. J. Inorg. Chem.
- [19] Bradley J. S. (1994). The Chemistry of Transition Metal Colloids. Clusters and Colloids: From Theory to Applications.
- [20] Pacioni N. L, Borsarelli C.D, Rey V. and Veglia A. V. (2015) Synthetic Routes for the Preparation of Silver Nanoparticles A Mechanistic Perspective. Silver Nanoparticle Applications, Engineering Materials.
- [21] Rai M. Posten C. (2013). Green Biosynthesis of Nanoparticles Mechanisms and Applications. CAB International. Pondicherry, India.
- [22] Parmar N, Rawat M and Kumar J. V. (2012). Camellia Sinensis (Green Tea): A Review. Uttarakhand, India.

- [23] Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž. and Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*, 21(7), p.901.
- [24] Minatel, Igor Otavio & Borges, Cristine & Ferreira, Maria Izabela & Gomez Gomez, Hector & Chen, Chung-Yen & Lima, Giuseppina. (2017). Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability.
- [25] Lee, L., Kim, S., Kim, Y. and Kim, Y. (2014). Quantitative Analysis of Major Constituents in Green Tea with Different Plucking Periods and Their Antioxidant Activity. *Molecules*, 19(7), pp.9173-9186.
- [26] Rababah T. M, Hettiarachchy N. S, Horax R. (2004). Total Phenolics and Antioxidant Activities of Fenugreek, Green Tea, Black Tea, Grape Seed, Ginger, Rosemary, Gotu Kola, and Ginkgo Extracts, Vitamin E, and tert-Butylhydroquinone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (16), 5183-5186.
- [27] Bollella, P., Schulz, C., Favero, G., Mazzei, F., Ludwig, R., Gorton, L. and Antiochia, R. (2016). Green Synthesis and Characterization of Gold and Silver Nanoparticles and their Application for Development of a Third Generation Lactose Biosensor. *Electroanalysis*, 29(1), pp.77-86.
- [28] Thomas P. J, Armstrong O. L, and Baxter S. N. (2018) *Advances in Synthesis of Metal Nanocrystals*. Springer International Publishing AG. Metal Nanoparticles and Cluster.
- [29] Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliany, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). "Green" Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Acta Naturae*, 6(1), 35-44.
- [30] Bönnemann H, Richards R. M. (2001) *Nanoscope Metal Particles Synthetic Methods and Potential Applications*. MICROREVIEW. *Eur. J. Inorg. Chem.*
- [31] Bradley J. S. (1994). *The Chemistry of Transition Metal Colloids. Clusters and Colloids: From Theory to Applications*.

- [32] Yoosaf K (2007). In Situ Synthesis of Metal Nanoparticles and Selective Naked-Eye Detection of Lead Ions from Aqueous Media. *The Journal of Physical Chemistry C*.
- [33] Plasmonic optical properties and applications of metal nanostructures. Jin Z Zhang, Cecilia Noguez (2008). *Plasmonics*. Volumen 3, Número 4, Páginas 127-150. Springer US.
- [34] Liz-Marzán, L. (2004). *Nanometals*. *Materials Today*.
- [35] Frimmel F. H., Niessner R. (2010). *Nanoparticles in the Water Cycle: Properties, Analysis and Environmental Relevance*. Springer Science & Business Media.
- [36] Zanella R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo nano*. Vol. 5, No. 1, enero-junio,
- [37] Keat C.L , Aziz A, Elmarzugi N.A. (2015). Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles. *Bioresour. Bioprocess*.
- [38] Singh P, Kumari K, Vishvakrma V. (2017). Metal NPs (Au, Ag, and Cu): Synthesis, Stabilization, and Their Role in Green Chemistry and Drug Delivery. *Green Technologies and Environmental Sustainability*.
- [39] Jiles, D. (2008). *Introduction to the principles of materials evaluation*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- [40] Perkampus, H., Grinter, C. and Threlfall, T. (1992). *UV-VIS spectroscopy and its applications*. Berlin, Springer.
- [41] Karapetiants, M. and Drakin, S. (1979). *Estructura de la sustancia*. Moscú, Mir.
- [42] Schasfoort, R.B.M., Kooyman, R.P.H., Corn, R.M., Tudos, A.J. *Handbook of Surface Plasmon Resonance* (2008). Royal Society of Chemistry.
- [43] Maier, S.A. *Plasmonics: Fundamentals and Applications* (2007). Springer US.
- [44] *Handbook of Nanoscale Optics and Electronics*. Wiederrecht, G. 2010. Elsevier Science.

- [45] López G. Morales R. Olea O. Nanoestructuras metálicas: síntesis, caracterización y aplicaciones. (2013). Reverté.
- [46] Photostability of gold nanoparticles with different shapes: role of Ag clusters. Yasser A. Attia David Buceta Félix G. Requejo Lisandro J. Giovanettid and M. Arturo López-Quintela. *Nanoscale*, 2015, 7, 11273
- [47] Optical Properties And Spectroscopy Of Nanomaterials. Zhong, Z.J. D 2009. World Scientific Publishing Company.
- [48] Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment Cecilia Noguez (2007). *J. Phys. Chem.* Volumen 100, Número 111, Páginas 3806-3819
- [49] Influence of morphology on the optical properties of metal nanoparticles. L Gonzalez, Cecilia Noguez (2007). *Journal of computational and theoretical nanoscience*. Volumen 4. Número 2. Páginas 231-238. American Scientific Publishers
- [50] Self-assembling nanoparticles at surfaces and interfaces. Kinge, S., Crego-Calama, M., Reinhoudt, D. N. (2008). *ChemPhysChem*, 9(1), 20-42.
- [51] The superiority of silver nanoellipsoids synthesized via a new approach in suppressing the coffee-ring effect during drying and film formation processes. Tang, Y., He, W., Wang, S., Tao, Z., & Cheng, L. (2014). *Nanotechnology*, 25(12).
- [52] Surface-enhanced raman spectroscopy of dye and thiol molecules adsorbed on triangular silver nanostructures: A study of near-field enhancement, localization of hot-spots, and passivation of adsorbed carbonaceous species. Gonçalves, M. R., Enderle, F., & Marti, O. (2012). *Journal of Nanotechnology*, 2012.
- [53] Directing self-assembly of nanoparticles at water/oil interfaces. Duan, H., Wang, D., Kurth, D. G., & Möhwald, H. (2004). *Angewandte Chemie International Edition*, 43(42), 5639-5642.

- [54] Rapid fabrication of flexible and transparent gold nanorods/poly (methyl methacrylate) membrane substrate for SERS nanosensor application. Yang, N., You, T. T., Gao, Y. K., Zhang, C. M., & Yin, P. G. (2018). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 202, 376-381.
- [55] Spontaneous assembly of a monolayer of charged gold nanocrystals at the water/oil interface. Reincke, F., Hickey, S. G., Kegel, W. K., & Vanmaekelbergh, D. (2004). *Angewandte Chemie International Edition*, 43(4), 458-462.
- [56] Rapid fabrication of flexible and transparent gold nanorods/poly (methyl methacrylate) membrane substrate for SERS nanosensor application. Yang, N., You, T. T., Gao, Y. K., Zhang, C. M., & Yin, P. G. (2018). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 202, 376-381.
- [57] Spontaneous assembly of a monolayer of charged gold nanocrystals at the water/oil interface. Reincke, F., Hickey, S. G., Kegel, W. K., & Vanmaekelbergh, D. (2004). *Angewandte Chemie International Edition*, 43(4), 458-462.
- [58] Billmeyer, F.W. (1975). *Ciencia de los polímeros*. Reverté.
- [59] Stein, R.S. Powers, J. (2006), *Topics in Polymer Physics*. Imperial College Press.
- [60] Elementos estructurales con materiales polímeros, Ángel Varela Lafuente (coord.), A Coruña: Universidade, 1997, p. 11-48.
- [61] Seymour, R.B, Carraher, C.E. (1995). *Introducción a la química de los polímeros*. Reverté.
- [62] *Polymer Handbook*, 4a ed., J. Brandrup, E. Immergut y E. Grulke, eds. (Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 1999)
- [63] Stein, R.S. Powers, J. (2006), *Topics in Polymer Physics*. Imperial College Press.
- [64] *Polymer Handbook*, 4a ed., J. Brandrup, E. Immergut y E. Grulke, eds. (Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 1999).

- [65] Arenas-Arrocena, M (2017). New trends for processing of poly(methyl methacrylate) biomaterial for dental prosthodontics
- [66] Recuperado de <https://thescienceclassroom.wikispaces.com/Colors>.
- [67] NASA. (2018). National Aeronautics and Space Administration. [online] Available at: <https://www.nasa.gov/> [Accessed 1 Apr. 2018].
- [68] Domínguez R., Torralba R., Escudero P., Martín M., Martín M. (2012). Los aparatos de Bunsen y su aplicación didáctica. Revista de Química PUCP, vol. 26, no 1-2.
- [69] Gordon M. Barrow. (1962). Introduction to Molecular Spectroscopy. McGraw-Hill.
- [70] Hollas, J. M. (2004). Modern spectroscopy. John Wiley & Sons.
- [71] Karapetians, M. and Drakin, S. (1979). Estructura de la sustancia. Moscú, Mir.
- [72] Pickering, W., Aguilar Sanjuán, M., Artigas Vidal, J. and Casassas, F. (1980). Química analítica moderna. Barcelona. Reverté.
- [73] Vo-Dinh, T. and Gauglitz, G. (2003). Handbook of spectroscopy. Weinheim: Wiley-VCH
- [74] Owen, T. (1996). Fundamentals of UV-visible spectroscopy. [Germany], Hewlett Packard.
- [75] Vista, Shree. (2015). Use of Humic acid in agriculture.
- [76] Kenkel, J. (1994). Analytical chemistry for technicians. Boca Raton. Lewis.
- [77] Skoog, D., Holler, F., Martín Gómez, M. and Nieman, T. (2003). Principios de análisis instrumental. Madrid, McGraw-Hill.
- [78] Zhang, S.L (2012). Raman Spectroscopy and its Application in Nanostructures. Wiley.
- [79] Baker, M (2016). Biophotonics: Vibrational Spectroscopic Diagnostics, Capítulo 3: Raman spectroscopy. organ & Claypool Publishers

[80] Tarcea N (2008). Raman Spectroscopy A Powerful Tool for in situ Planetary Science. Space Science Review (2007). Vol 35

[81] Marturi N (2013). Vision and visual servoing for nanomanipulation and nanocharacterization in scanning electron microscope..

[82] Egerton R. F (2015). Physical Principles of Electron Microscopy. Springer US

[83] Williams D (2009). Transmission Electron Microscopy, A Textbook for Materials Science. Springer-Verlag US.

[84] Sangaru S (2004). Biological Synthesis of Triangular Gold Nanoprisms. Nature materials.