

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en nanociencias**

**Incorporación de nanopartículas metálicas en materiales de
baja densidad**

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Irving Brian Becerril Castro

Ensenada, Baja California, México
2019

Tesis defendida por
Irving Brian Becerril Castro

y aprobada por el siguiente Comité

Dr. José Manuel Romo Herrera
Director de tesis

Dra. Ana Bertha Castro Ceseña

Dra Catalina López Bastidas

Dr. Franklin David Muñoz Muñoz

Dr Víctor Ruíz Cortés



Dr. Sergio Fuentes Moyado
Coordinador del Posgrado en nanociencias

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Irving Brian Becerril Castro** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en nanociencias.

Incorporación de nanopartículas metálicas en materiales de baja densidad

Resumen aprobado por:

Dr. José Manuel Romo Herrera
Director de tesis

La detección de moléculas en soluciones gaseosas es de gran relevancia para el monitoreo de sustancias controladas, el control de seguridad de los alimentos y la detección de moléculas altamente tóxicas. En este trabajo se propuso la incorporación de nanopartículas (NPs) metálicas de oro en materiales de baja densidad como posibles candidatos para detectar analitos en soluciones gaseosas. Se buscó explorar el resultado de tres morfologías: esferas, rodillos y cubos, por su diferente respuesta plasmónica, así como la variación en concentración en el material final. El presente estudio incluye desde la síntesis de NPs hasta la obtención del material final. La síntesis de NPs fue llevada a cabo por medio de la síntesis mediada por semillas. Cada morfología está basada en un protocolo ya reportado. Sin embargo, se realizaron modificaciones para sintonizar el tamaño de las NPs. Se sintetizaron esferas de 30, 42, y 80 nm, rodillos con longitud de 31 nm y cubos de 39 nm. Para la obtención de hidrogeles se prepararon mezclas de NPs con acrilamida y bis-acrilamida. Posteriormente se polimerizó para obtener hidrogeles de poli-acrilamida (PAam). Fue posible retirar el solvente de los hidrogeles de PAam utilizando el proceso de liofilización. Los criogeles obtenidos mantienen la presencia de NPs con una distribución uniforme de las mismas. Por lo tanto, se obtuvieron materiales de baja densidad con respuesta plasmónica, los cuales tienen características adecuadas para su posterior estudio como sustrato para la detección de señal Raman aumentada por la superficie (SERS).

Palabras clave: nanopartículas, hidrogeles, detección, SERS, soluciones gaseosas.

Abstract of the thesis presented **by Irving Brian Becerril Castro** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Nanosciences.

Inclusion of metal nanoparticles into low density materials

Abstract approved by:

Dr. José Manuel Romo Herrera
Thesis Director

Detection of molecules in gaseous solutions is of great importance for controlled substances monitoring, food safety control and detection of highly toxic molecules. In this work, we proposed the inclusion of metal nanoparticles into low density materials as candidates to detect analytes in gaseous solutions. Three morphologies: spheres, rods and cubes are explored due to its different plasmonic response and their final concentration was modified in the material. This work covered since NPs synthesis to final material manufacture, but not its performance as SERS substrate. NPs synthesis was performed by seed mediated growth method. Each morphology is based in a previously reported protocol. Nevertheless, small modifications were required in order to tune NPs size. 30, 42 and 80 nm spheres, 31 nm length rods and 39 nm concave cubes were synthesized. In order to obtain polyacrylamide hidrogels, NPs with acrylamide and bis-acrylamide mixtures were prepared. Then a polymerization reaction was needed. It was possible to remove the solvent of the polyacrylamide (PAam) hydrogels by freeze-drying method. The obtained cryogels contain the NPs with an even distribution. The low-density materials obtained possess plasmonic properties as evidenced by their coloration and the light absorption spectra.

Keywords: nanoparticles, hydrogels, detection, SERS, gaseous solutions.

Dedicatoria

A Brenda Karina



C'est le temps que tu as perdu pour ta rose qui fait ta rose si importante.

—Antoine de Saint-Exupéry, Le Petit Prince.

Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y al Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN) de la UNAM por acogerme en sus instalaciones y permitirme portar su nombre con orgullo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por brindarme el apoyo económico para realizar mis estudios de maestría.

Al apoyo brindado a través del proyecto DGAPA-PAPIIT IN105719 de la UNAM y los proyectos Fordecyt 272894 y ciencia básica A1-S-17539 de CONACyT.

A mi asesor el doctor José Manuel Romo Herrera por la confianza depositada en mí y su disposición para ayudarme para terminar el trabajo. Extrañaré nuestras conversaciones semanales.

A los miembros de mi comité: Dra. Ana Bertha Castro Ceseña, Dra Catalina López Bastidas, Dr. Franklin David Muoz Muoz y Dr. Víctor Ruíz Cortés por todas sus oportunas sugerencias y comentarios.

A Samanta Jiménez del departamento de innovación biomédica del CICESE y Luis Gradilla del departamento de geología del CICESE por su apoyo para la liofilización y la obtención de micrografías SEM, respectivamente.

A Hugo Borbón del CNyN por su ayuda para realizar las espectroscopías FT-IR y UV-Vis por reflectancia en la superficie, y a Andrey Simakov del CNyN por su ayuda para realizar las espectroscopías UV-Vis por reflectancia difusa.

A mi familia: mi madre, mi padre y mi hermana.

A mi querido tío Pato.

Y especialmente a mi increíble compañera de laboratorio: Lilia Trinidad Rivera Barrios. Por todo su tiempo, su apoyo, su dedicación y ayuda. Por cambiar las horas de trabajo rutinario en el laboratorio por momentos de descubrimiento y creatividad. Compañera, sepa usted que puede contar conmigo.

A todos ustedes,

GRACIAS

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	x
Capítulo 1. Introducción	
1.1. Dispersión Raman y espectroscopía SERS.....	1
1.2. Nanopartículas metálicas.....	3
1.2.1.LSPR.....	3
1.2.2.Método de crecimiento mediado por semillas.....	4
1.2.3.Hot-spots.....	5
1.3. Hidrogeles, criogeles y xerogeles.....	5
1.4. Propuesta de trabajo.....	6
Capítulo 2. Antecedentes	
2.1. Espectroscopía SERS de moléculas en soluciones gaseosas	7
2.1.1.Detección en fase líquida.....	7
2.1.2.Detección en fase gaseosa.....	8
2.2. Nanocompositos de hidrogeles con NPs.....	9
Capítulo 3. Hipótesis	
3.1. Hipótesis.....	10
3.2. Objetivos.....	10
Capítulo 4. Metodología	
4.1. Síntesis de NPs de oro.....	11
4.1.1.Morfología esférica (AuNEs).....	11
4.1.2.Morfología de cubos cóncavos (AuNCCs).....	12
4.1.3.Morfología de rodillos (AuNRs).....	13
4.2. Obtención de hidrogeles.....	13

4.2.1.Fase líquida.....	14
4.2.2.Gelificación.....	15
4.2.3.Hidratación.....	15
4.3. Obtención de criogeles.....	16
4.4. Caracterización.....	16
4.4.1.Análisis estadístico.....	16
4.4.2.Espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	16
4.4.3.Espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis).....	16
4.4.4.Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	17
4.4.5.Microscopía electrónica de transmisión (TEM).....	17
Capítulo 5. Resultados	
5.1. Síntesis de NPs de oro.....	18
5.1.1.Síntesis de AuNEs.....	18
5.1.2.Síntesis de AuNRs.....	21
5.1.3.Síntesis de AuNRCCs.....	22
5.2. Obtención de hidrogel.....	22
5.2.1.Fase líquida.....	23
5.2.2.Gelificación.....	25
5.2.3.Hidratación.....	29
5.3. Obtención de criogeles.....	30
Capítulo 6. Discusión	
6.1. Discusión de resultados.....	35
Capítulo 7. Conclusiones	
7.1. Conclusiones.....	38
Literatura citada.....	39
Anexo.....	42

Lista de figuras

Figura		Página
1	Ilustración de la LSPR en nanopartículas esféricas. El campo eléctrico de la luz genera una oscilación coherente y colectiva de la nube de electrones.....	3
2	Posibles rutas para la extracción de agua de un hidrogel. Cada ruta en el diagrama de fases da características propias al material final obtenido.....	6
3	Esquema del sensor de microfluídica para analitos gaseosos propuesto por Piorek et al. (2007). La presencia del analito produce una aglomeración de NPs que delata su presencia.....	7
4	Estrategias más comunes para obtener nanocompositos de hidrogeles con NPs encontradas en la literatura. Imagen adaptada de Thoniyot <i>et al.</i> K (2015).....	9
5	Celda de ultrafiltrado. A) Forma de ensamble de la celda, B) Diagrama de funcionamiento de la celda.....	15
6	Espectros de absorción de NPs de Au. A) NPs de 1–3 nm. Debido a su tamaño, estas NPs no muestran una banda de absorción. B) NPs de 10 nm. Se observa una banda de absorción centrada en 519 nm.....	18
7	AuNEs. De izquierda a derecha: forma facetada, lisa y espectro de absorción. A) 31 nm, B) 42 nm, C) 85 nm.....	20
8	Efecto de la Ag en la síntesis de AuNRs, 30 y 100 μ l. A, C) Micrografías TEM. B, D) Espectros de absorción.....	21
9	AuNCCs. A) Micrografía TEM, B) Espectro de absorción.....	22
10	Vista macroscópica de NPs de Au concentradas. De izquierda a derecha 0.25, 2.5 y 12.5 mM de Au ⁰ . A) NEs 30 nm, B) NEs 42nm, D) NEs 80 nm, E) AuNRs 32 nm, F) AuNCCs 40 nm. Es posible apreciar un marcado cambio en la absorción y tonalidad de las distintas muestras. F) Depósito de NPs sobre la membrana de filtrado. Al aumentar la concentración de NPs se produce un bloqueo total sobre la membrana.....	23
11	Espectros de absorción de la mezcla de NPs con acrilamida y bis-acrilamida. A) Mezcla a temperatura ambiente. Se observa la aparición de un hombro alrededor de los 700 nm. B) Mezcla a 4 °C. Se observa un cambio en la absorción total y un corrimiento al rojo de 6 nm.....	24
12	Efecto del iniciador (PSA) sobre la solución de NPs, monómero y agente entrecruzante. A) 40 μ l, B) 30 μ l, C) 20 μ l, D) 10 μ l de PSA. E) Vista macroscópica de las disoluciones. Puede observarse el cambio al violeta en la coloración.....	26
13	Vista macroscópica de los geles obtenidos recién sintetizados. De izquierda a derecha aumento en la concentración de Au ⁰ . A-C) AuNEs de 32, 40, y 80 nm respectivamente. D) AuNRs. E) AuNCCs.....	27

14	Espectros FTIR de los geles obtenidos. A) Sin NPs, B) con NPs esféricas de 42 nm.....	28
15	Vista macroscópica de xerogeles e hidrogeles. De izquierda a derecha hay un aumento en la concentración de Au ⁰ . En los xerogeles A-D) se observa una fuerte concentración de las NPs. Se muestran A-C) AuNEs de 32, 40 y 80 nm y D) AuNCCs. Se observa un cambio en la coloración de los hidrogeles con el aumento de volumen. E-G) AuNEs de 32, 40 y 80 nm, y H) AuNCCs.....	29
16	Curva de hinchamiento de hidrogeles con AuNEs A) 32 nm, B) 40 nm y C) 80 nm. Las concentraciones 1x, 10x y 50x corresponden a los colores negro, rojo y azul, respectivamente.....	29
17	Vista macroscópica de los criogeles. De izquierda a derecha hay un aumento en la concentración de Au ⁰ . Liofilización durante 24h. A) Aspecto en el interior del liofilizador. B) Aspecto después de 30 minutos de ser extraído del liofilizador. Liofilización durante 48h, vistas superior y lateral. C-E) AuNEs de 32, 40, y 80 nm, y F) AuNCCs.....	31
18	Micrografías SEM del criogel con AuNEs de 80nm y concentración 50x. A) Vista a bajos aumentos con electrones secundarios. Distribución de NPs con B) electrones secundarios, y C) electrones retrodispersados. Las marcas de color representan a la misma ubicación espacial.....	32
19	Micrografías SEM de los criogeles con electrones retrodispersados. Vista a bajos aumento A) NEs 30nm, B) NEs 42 nm, C) NEs 80 nm, D) NCCs. Vista a altos aumentos D) NEs 30 nm, E) NEs 42nm, F) NEs 80 nm, G) NCCs. Barra de escala 1µm.....	33
20	Espectros UV-Vis por reflectancia difusa (curvas negras) A) AuNEs 30 nm B) AuNEs 42 nm C) AuNEs 80 nm y D) AuNCCs, comparadas con la respuesta LSPR de las NPs en dispersión coloidal en agua (curvas azules). Los insertos corresponden a la vista macroscópica de los criogeles y a la disolución coloidal concentrada correspondiente.	34

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Volumen de AuNEs de 10 nm y de HAuCl_4 para obtener AuNEs de 30, 42 y 80 nm.....	12
2	Velocidades y tiempo de centrifugación de las NPs empleadas.....	14
3	AuNEs. Tamaños y LSPR, antes y después del proceso de suavizado.....	20

Capítulo 1. Introducción

La detección de compuestos químicos dispersos en una solución gaseosa es de gran relevancia en el monitoreo de sustancias controladas, en el control de calidad y seguridad de los alimentos, y en la detección de moléculas altamente tóxicas tales como los agentes de guerra química y las sustancias químicas industriales tóxicas (Golightly *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2012). Por este motivo, se han desarrollado distintos tipos de sensores de gas, entre los cuales podemos encontrar: catalíticos, electroquímicos, ópticos, acústicos y a base de semiconductores (Wang *et al.*, 2010; Hübert *et al.*, 2011; Dey, 2018).

La elección del tipo de sensor a emplear se define por sus propiedades intrínsecas, como el límite de detección y su especificidad, así como del ambiente de trabajo en el cual se requiera. Sin embargo, como regla general se busca la detección rápida y eficiente. Por lo cual es importante contar con la mayor sensibilidad y selectividad posible, además de tener la capacidad de realizar las mediciones en tiempo real. Debido a lo anterior, se realizan grandes esfuerzos en el desarrollo y miniaturización de dispositivos capaces de detectar analitos en soluciones gaseosas (Sylvia *et al.*, 2000; Pilot, 2018).

El reto principal de este proceso es lograr la disminución del tamaño, conservando, o mejorando, el límite de detección del sistema. Esto lleva, como caso límite, a tener la capacidad de detectar una sola molécula utilizando un detector portátil operado con una batería. Entonces, resulta natural explorar un enfoque nanotecnológico. Es decir, buscar explotar las propiedades de los nanomateriales, específicamente, la resultante de la interacción entre los nanomateriales y el analito en solución gaseosa debido a que podría servir para detectar la presencia del analito. En este trabajo se propone la obtención de un material a base de nanopartículas (NPs) metálicas (Au) que pudiera servir como sustrato para identificar moléculas en soluciones gaseosas por medio de la espectroscopía por dispersión Raman incrementada en la superficie (SERS; *Surface Enhanced Raman Scattering*).

1.1 Dispersión Raman y espectroscopía SERS

La *dispersión Raman* es la dispersión inelástica de un fotón por la excitación de una molécula a un nivel vibracional de mayor energía. En otras palabras, un fotón incidente con mayor energía que la

existente entre niveles energéticos vibracionales de una molécula cede parte de su energía a la vibración de la molécula y la energía restante es dispersada en forma de fotón con menor frecuencia (Larkin, 2011).

Debido a que las frecuencias de estas vibraciones moleculares dependen de la masa de los átomos que constituyen la molécula y de su acomodo espacial, la señal Raman contiene información relacionada con la composición química y la estructura de la molécula. Visto de otra forma, el espectro Raman obtenido puede ser utilizado para revelar la presencia de una determinada molécula (Larkin, 2011). Sin embargo, la señal Raman es muy débil y no puede ser detectada fácilmente cuando la concentración del analito es baja, lo cual genera la necesidad de buscar métodos para aumentar su intensidad. Entre ellos, la amplificación más significativa proviene del llamado *aumento por la superficie* (Sharma *et al.*, 2012).

El modelo básico del aumento por la superficie se explica de la siguiente manera. Cuando una onda electromagnética interactúa con una superficie metálica, se pueden excitar plasmones superficiales localizados, lo cual resulta en la amplificación de los campos eléctricos cercanos a la superficie. Por lo tanto, si hay un aumento de los campos incidentes y dispersados, entonces puede esperarse un aumento en la intensidad de la señal Raman (Stiles *et al.*, 2008). A esta señal amplificada se le conoce como *dispersión Raman aumentada por la superficie* o SERS (por sus siglas en inglés, *Surface Enhanced Raman Scattering*).

La espectroscopía que hace uso de la dispersión Raman aumentada se le conoce como espectroscopía SERS y ha sido ampliamente utilizada para la detección de moléculas, en particular en medios líquidos, a través de diversas estrategias (AlvarezPuebla y Liz-Marzán, 2010). La más sencilla de ellas es la detección directa del analito unido a una nanoestructura metálica que amplifica la señal, por ejemplo NPs metálicas coloidales (Aroca *et al.*, 2005). El reto principal para la detección de analitos en soluciones gaseosas es propiciar la interacción entre la muestra y la superficie metálica (Sharma *et al.*, 2012). Una forma de resolver este problema ha sido disolver los analitos en microcanales con una suspensión coloidal de NPs (Piorek *et al.*, 2007). Sin embargo, no todos los analitos son fácilmente solubles y sería ideal realizar las mediciones sin requerir de pasos intermedios. Entonces, se requiere de un medio que permita el flujo abundante y eficiente de la solución gaseosa. Además, debe de cumplir con un peso y resistencia mecánica que le permita ser transportado, y resistencia térmica apropiada para su uso constante. Finalmente, como característica más importante, necesita presentar respuesta

plasmónica para la generación de la señal SERS. Para esto se buscó la presencia de NPs metálicas de oro en el sustrato SERS propuesto.

1.2 Nanopartículas metálicas

Las NPs metálicas son partículas de metales tales como el oro (Au), la plata (Ag), el cobre (Cu) o el platino (Pt) cuyas dimensiones son menores a 100 nanómetros en al menos una dimensión. Entre sus propiedades podemos encontrar una alta relación entre el área superficial y el volumen, una alta reactividad superficial, y la posibilidad de controlar su tamaño, morfología y composición. Un aspecto de gran relevancia son sus propiedades ópticas (Yang *et al.*, 2016), en particular, su capacidad de responder a interacciones con la luz a pesar de tener dimensiones menores a la longitud de onda de la luz utilizada, la cual ocurre mediante la *resonancia de plasmones superficiales localizados* (LSPR, por sus siglas en inglés: *localized surface plasmon resonance*).

1.2.1 LSPR

La LSPR es un fenómeno óptico de gran interés en las NPs metálicas (Lu *et al.*, 2009). Para entenderlo, consideremos una NP metálica esférica (Figura 1). Al aplicar un campo eléctrico, como la componente eléctrica de la luz, se produce un desplazamiento de la nube de electrones debido a su carga. Si el campo es oscilatorio, bajo determinadas condiciones se producirá una distribución de carga oscilante. En particular, se puede obtener la condición de resonancia para dicha oscilación de la carga cuando se utiliza una longitud de onda específica que produce una oscilación coherente y colectiva de la nube electrónica asociada a la NP metálica; a esto se le llama LSPR.

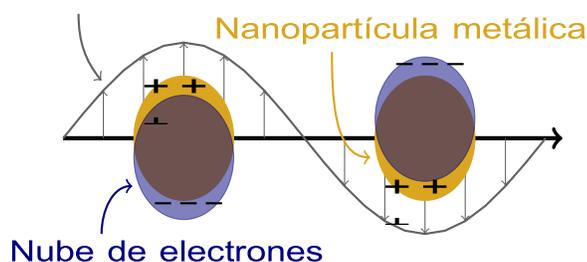


Figura 1. Esquema de la LSPR en nanopartículas esféricas. El campo eléctrico de la luz genera una oscilación coherente y colectiva de la nube de electrones.

Las condiciones para la LSPR están determinadas por la morfología, composición química y tamaño de las NPs. Por ejemplo, se ha encontrado que NPs cúbicas de plata son más eficientes que las NPs esféricas de plata para realizar SERS, lo cual se atribuye a que las regiones cercanas a las puntas responden con una mayor intensidad de campo eléctrico (Rycenga *et al.*, 2009). Por lo tanto, la confiabilidad y reproducibilidad en el proceso de síntesis de NPs son características indispensables para el aprovechamiento de sus propiedades únicas.

1.2.2 Método de crecimiento mediado por semillas

Entre los diferentes métodos para sintetizar NPs, encontramos los métodos de química húmeda. Los cuales son altamente versátiles y eficientes para la síntesis controlada de tamaño y morfología de NPs metálicas (Niu *et al.*, 2013). Entre ellos, el crecimiento mediado por semillas ha atraído una enorme atención debido a su gran éxito en la síntesis de NPs metálicas con diferentes morfologías (Niu *et al.*, 2013). Entre las morfologías que podemos obtener se encuentran esferas, cubos, estrellas, con forma de rodillos, entre otras.

El método de crecimiento mediado por semillas consiste en la separación de la nucleación espontánea y el crecimiento cristalino. El procedimiento típico consiste en dos pasos: la síntesis de NPs semilla y su subsecuente crecimiento en soluciones que contienen precursores metálicos, agentes reductores y agentes direccionadores (Niu *et al.*, 2013). El funcionamiento de esta técnica se basa en que la energía de activación para la reducción de un metal en las semillas preformadas es significativamente menor que aquella para una nucleación homogénea de nanopartículas semilla en la solución, por lo tanto, solo permite crecimiento autocatalítico de átomos metálicos en las semillas pre-existentes (Niu *et al.*, 2013). Esta estrategia tomó gran relevancia en la síntesis de NPs con los trabajos de los grupos de Murphy y El-Sayed en la síntesis de NPs anisotrópicas (Nikoobakht y El-Sayed, 2003; Jana *et al.*, 2001). En el presente trabajo se propone el uso de tres morfologías de NPs: esferas, cubos y rodillos debido a su distinta respuesta plasmónica.

1.2.3 Hot-spots

El uso de NPs en espectroscopía SERS se debe a que al tener NPs muy próximas entre si, ocurre una redistribución del campo eléctrico que conlleva a la formación de regiones locales de muy alta intensidad. El aumento en la intensidad está directamente ligado a la separación entre las superficies de las NPs metálicas. A estas regiones de alta intensidad del campo se les denomina comúnmente (en inglés) como *hot-spots* y se les investiga por su influencia en la obtención de una señal SERS de mayor intensidad comparada con la señal producida por NPs aisladas.

Para aprovechar el incremento en la señal SERS debido a los *hot-spots* se ha propuesto el uso de patrones bidimensionales con estructuras metálicas (Abalde-Cela *et al.*, 2009). En estos patrones, la separación entre las nanoestructuras es controlada para la generación de *hot-spots*, obteniendo así una mejora significativa en la sensibilidad del sistema. Sin embargo, debido a que el sistema es estático, la radiación no puede disiparse con facilidad, lo que favorece reacciones no deseadas. Otra limitación es la restricción del espacio ópticamente activo que se encuentra acotado a los primeros 10–30 nm sobre la superficie de la nanoestructura (Tian *et al.*, 2012), lo que refuerza la necesidad de acercar las moléculas de interés a la limitada superficie bidimensional. Para mejorar la sensibilidad se han sugerido materiales tridimensionales plasmónicamente activos que preserven la gran densidad de una solución coloidal de nanopartículas eliminando el problema de agregación de las nanopartículas (Tian *et al.*, 2016).

1.3 Hidrogeles, criogeles y xerogeles

Los hidrogeles son redes poliméricas hidrofílicas capaces de absorber agua en cantidades desde un 10% hasta miles de veces su peso seco (Rosiak y Yoshii, 1999). Estas redes forman una red tridimensional que en conjunto cuenta con un alto grado de flexibilidad por su gran contenido de agua (Ullah *et al.*, 2015). Dependiendo de la forma en la que estas cadenas estén unidas (entrecruzadas) podemos separar dos tipos de geles, permanentes y reversibles. Los geles se consideran permanentes o químicos cuando las redes están unidas de forma covalente. Por su parte, los geles reversibles o físicos están unidos por fuerzas secundarias como iónicas, enlaces de hidrógeno o interacciones hidrofóbicas (Rosiak y Yoshii, 1999). El estado de equilibrio de absorción de agua de estos materiales depende del parámetro de interacción entre el agua y el polímero, y de la densidad de entrecruzamiento. Debido a que bajo condiciones fisiológicas podemos encontrar una consistencia gomosa suave similar a la de

tejidos vivos, se ha propuesto el uso de hidrogeles como ideales para una gran variedad de aplicaciones biológicas (Rosiak y Yoshii, 1999).

La extracción del líquido de un hidrogel puede darse de tres maneras diferentes (ver Figura 2). En condiciones ambientales (evaporación), en condiciones supercríticas (fluido supercrítico) y condiciones de liofilización (sublimación). Cada una de estas condiciones influye en las características finales del material. Es común, aunque no de forma completamente aceptada, el nombrar a los materiales obtenidos como xerogeles, aerogeles y criogeles, respectivamente.

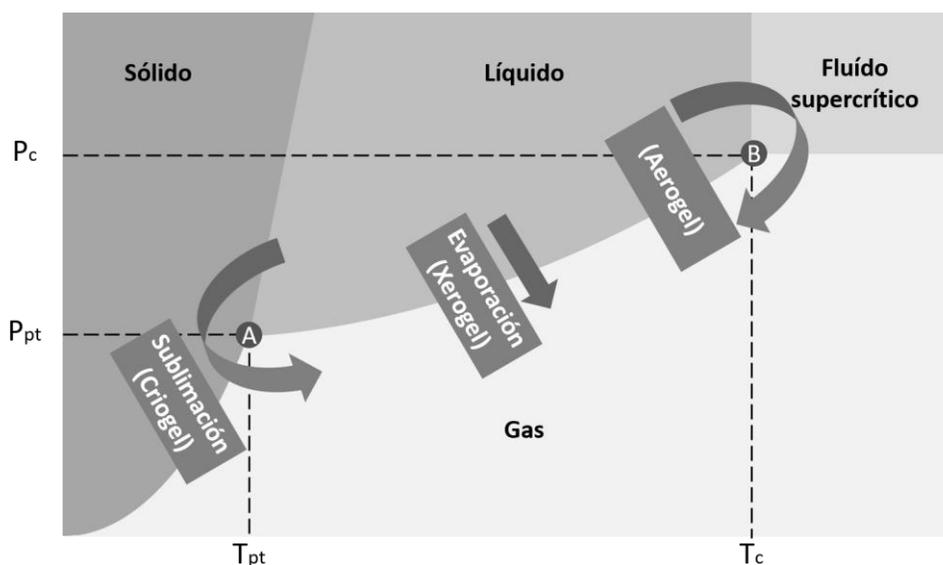


Figura 2. Posibles rutas para la extracción de agua de un hidrogel. Cada ruta en el diagrama de fases da características propias al material final obtenido.

1.4 Propuesta de trabajo

En este trabajo se propone la obtención de materiales de baja densidad con respuesta plasmónica debido a que esta clase de materiales podría tener una potencial aplicación como sustrato para identificar moléculas en soluciones gaseosas por medio de la espectroscopía SERS. Para lograr la respuesta plasmónica se propone el uso de NPs esféricas, cúbicas y con forma de rodillo, así como la variación en la concentración de las NPs para promover la formación de *hot-spots*. Para esto se propone fabricar hidrogeles y utilizarlos como una matriz tridimensional llena de agua. En dicha matriz se busca realizar la sustitución del agua por una disolución que contenga NPs y posteriormente realizar la extracción del líquido, dejando a las NPs en el interior de la matriz.

Capítulo 2. Antecedentes

2.1 Espectroscopía SERS de moléculas en soluciones gaseosas

La espectroscopía SERS es una técnica poderosa y no destructiva para determinar la identidad química de compuestos y obtener información sobre su estructura (Sharma *et al.*, 2012). Sin embargo, la detección SERS en soluciones gaseosas es un reto actual debido a la baja concentración del analito y la típica baja interacción con la superficie sensora (Kodiyath *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2012). La mayoría de las estrategias que pueden encontrarse en la literatura han sido para desarrollar sustratos SERS con alta actividad SERS para detección en fase líquida (Dasary *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010).

2.1.1 Detección en fase líquida

La detección en fase líquida se logra al disolver al analito, originalmente en una solución gaseosa, dentro de un medio líquido. De esta forma es posible utilizar una variedad de sustratos y estrategias que se encuentran disponibles. Como ejemplo, podemos encontrar el trabajo de Piorek *et al.* (2007) quienes presentaron una técnica de detección combinando microfluídica y SERS (Figura 3). Para esto utilizaron un microcanal por el cual fluyen NPs de plata en suspensión coloidal, el cual, al encontrarse expuesto a la atmósfera permite la absorción de 4-aminobencenotiol. Debido a esto el coloide comienza a agregarse lo que genera *hot-spots* y produce un espectro SERS de gran intensidad.

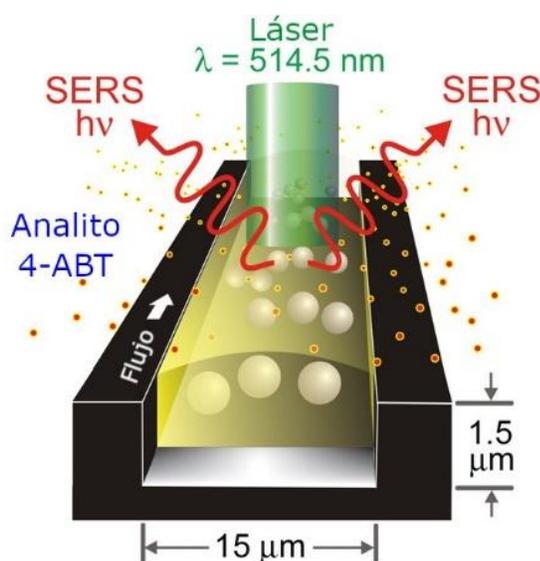


Figura 3. Esquema del sensor de microfluídica para analitos gaseosos propuesto por Piorek *et al.* (2007). La presencia del analito produce una aglomeración de NPs que delata su presencia.

El uso de dispersiones coloidales permite el uso de láseres de mayor potencia para la producción de SERS gracias a la presencia del medio líquido que sirve como disipador térmico (Aroca *et al.*, 2005). Sin embargo, es importante señalar que no todos los analitos de interés son solubles en medio líquidos. Además de poseer de una estabilidad limitada, lo cual restringe su uso generalizado (Tian *et al.*, 2016).

2.12 Detección en fase gaseosa

La detección en fase gaseosa permite la detección del analito sin cambiar el medio en que se encuentra. Los trabajos reportados en la literatura pueden agruparse en dos tipos de sustratos: los sustratos planos o bidimensionales y los sustratos tridimensionales.

El trabajo de Sylvia *et al.* (2000) es un ejemplo de sustrato bidimensional aplicado para la detección de vapores químicos que emanan de minas terrestres de TNT. Para esto se demostró la detección de 2,4-dinitrotolueno a concentraciones de 5 partes por mil millones, la cual se realizó con tiempo de adquisición de 30s. Aunque esta clase de trabajo deja en claro una potencial y atractiva aplicación de la espectroscopía SERS, también muestra sus carencias. Estos sustratos ofrecen una área superficial limitada, lo cual limita la máxima densidad posible de nanoestructuras presentes en las cuales ocurrirá el efecto SERS. A lo anterior se le suma que el espacio plasmónicamente activo está limitado a los primeros 10–30nm sobre la superficie, lo cual obliga a tener un método para acercar lo suficiente al analito a las nanoestructuras (Kodiyath *et al.*, 2013; Tian *et al.*, 2016).

Los sustratos tridimensionales por su parte buscan ofrecer un espacio abierto y ópticamente activo en tres dimensiones, de tal forma que se preserven las características favorables de una suspensión coloidal eliminando la posible agregación. Dentro de las propuestas para generar estos sustratos, Tian *et al.* (2016) propusieron un método para generar sustratos con respuesta plasmónica al incorporar nanorrodillos de oro en aerogeles de nitrocelulosa. De forma simplificada sintetizaron los aerogeles que posteriormente fueron sumergidos en una solución concentrada de NPs. Este material demostró tener una mejor capacidad de sensado SERS comparado con su contraparte bidimensional. Otras propuestas han sido orientadas al uso de aerogeles monolíticos metálicos como el trabajo realizado por Gao *et al.* (2016).

2.2 Nanocompositos de hidrogeles con NPs

La aparición de nuevas tecnologías recae fuertemente en el desarrollo de nuevos materiales, los cuales pueden obtenerse de la combinación creativa de componentes conocidos (Thoniyot et al., 2015). Por ejemplo, la combinación de la red polimérica de un hidrogel con NPs busca aportar la rigidez mecánica de un hidrogel para aumentar la estabilidad de las NPs mientras se conservan sus propiedades únicas. Para esto, podemos encontrar 5 estrategias comunes:

1. Formación del hidrogel en una suspensión de NPs.
2. Incrustación física de NPs en la matriz del hidrogel posterior a la gelificación.
3. Formación reactiva de NPs en el interior de un gel preformado.
4. Entrecruzamiento utilizando NPs para formar hidrogeles.
5. Formación de gel utilizando NPs, polímeros y moléculas geladoras.

Estas estrategias se representan esquemáticamente a continuación en la Figura 4. De acuerdo con Thoniyot et al. (2015), algunas de las potenciales aplicaciones de los nanocompositos de hidrogeles con NPs son: Sistemas de nanocompositos para biosensado seguros y clínicamente implantables. Sistemas de remediación ambiental para catalizar la oxidación de toxinas y/o eliminación de contaminantes. Nanocompositos reciclables y catalíticos para síntesis química. Y parches de nanocompositos para aplicaciones cosméticas

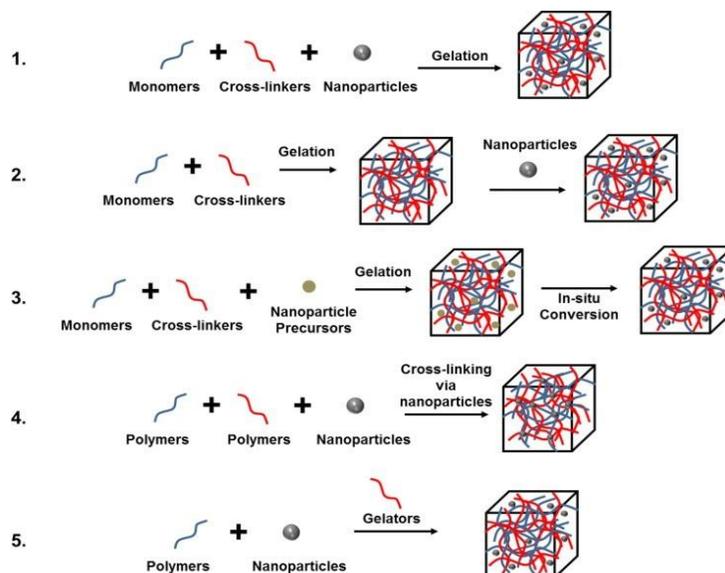


Figura 4. Estrategias más comunes para obtener nanocompositos de hidrogeles con NPs encontradas en la literatura. Imagen adaptada de Thoniyot *et al.* (2015).

Capítulo 3. Hipótesis y objetivos

En este trabajo se propone una nueva ruta para obtener materiales de baja densidad con respuesta plasmónica para su potencial uso como sustrato SERS en la detección de analitos disueltos en soluciones gaseosas.

3.1 Hipótesis

Es posible obtener materiales de baja densidad con propiedades plasmónicas mediante la liofilización de hidrogeles con NPs de oro inmersas, utilizando distintas morfologías y concentración de NPs.

3.2 Objetivos

- General
 - Obtener materiales de baja densidad con respuesta plasmónica.

- Particulares
 - Sintetizar y caracterizar NPs de oro esféricas con distintos tamaños.
 - Sintetizar y caracterizar NPs de oro con morfología cúbica cóncava y de rodillo.
 - Variar la concentración de las NPs de oro obtenidas.
 - Obtener hidrogeles con NPs de oro inmersas.
 - Encontrar las condiciones apropiadas de extracción del medio acuoso mediante la liofilización.

Capítulo 4. Metodología

En este capítulo se encuentra la metodología detallada sobre la realización de este trabajo. El orden expuesto sigue la secuencia para obtener el material: síntesis de NPs, formación de hidrogeles y la obtención de criogeles. La información completa sobre los diferentes reactivos empleados (nombre, abreviatura, pureza y proveedor) puede consultarse en el Anexo A.

4.1 Síntesis de NPs de oro

Las diferentes morfologías de NPs de oro fueron obtenidas por el método coloidal mediado por semillas (sección 1.2.2). Los métodos aquí descritos permiten obtener ~ 10ml por síntesis y fueron escalados linealmente para obtener volúmenes mayores.

4.1.1 Morfología esférica (AuNEs)

La síntesis de AuNEs fue realizada por el método descrito por Hanske et al. (2017) con ligeras modificaciones. Este método consta de cuatro pasos secuenciales: la obtención de semillas, el primer crecimiento a NPs de 10 nm, el segundo crecimiento al tamaño deseado y el proceso de suavizado.

Obtención de semillas. Se añadieron 40 μ l de NaBH₄ (200 mM) a una solución que contenía 1ml de CTAC (100 mM) y 50 μ l de HAuCl₄ (10 mM). Se mantuvo la agitación durante un minuto y posteriormente se dejó en reposo por dos minutos. Después, la solución fue diluida al 10 % (v/v) con CTAC (100 mM) en agitación media por dos minutos.

Crecimiento a AuNEs de 10 nm. A una solución de 5ml de CTAC (25 mM) se le añadieron 450 μ l de las semillas recién diluidas. Posteriormente, se añadieron en orden: 20 μ l de ac.asc. (100 mM) y 125 μ l de HAuCl₄ (10 mM). La muestra se dejó en agitación media durante 15 minutos. Finalmente, la solución fue diluida al 50 % con CTAC (25 mM).

Segundo crecimiento. Se añadió una cantidad seleccionada de AuNEs de 10 nm y 40 μ l de ac. ascorb. a una solución de 10 ml de CTAC (25 mM). En la tabla 1 se muestran los volúmenes de AuNEs de 10 nm requeridas para el crecimiento de las AuNEs con diferentes tamaños. Posteriormente, se añadieron 250 μ l de H_{AuCl}₄ (10 mM) bajo agitación vigorosa por 3 minutos. La mezcla fue dejada sin alteraciones durante una hora.

Tabla 1. Volumen de AuNEs de 10 nm y de H_{AuCl}₄ empleados para obtener AuNEs de 30, 42 y 80 nm.

AuNEs 10nm (μ l)	H _{AuCl} ₄ 10 mM (μ l)	Diámetro (nm)
316	0	30
66.6	10.2	42
15.5	16.8	80

Proceso de suavizado. Bajo agitación media se añadieron 10 μ l de NaClO al 1–1.5 % (v/v) por cada 10 ml de NPs y se dejó reaccionar por 5 minutos en agitación a temperatura ambiente. Después se añadió una cantidad determinada de H_{AuCl}₄ (10 mM) y se dejó reaccionar por 18 horas. En la tabla 1 se muestran los volúmenes de H_{AuCl}₄ requeridos para el suavizado de las AuNEs con diferentes tamaños.

4.1.2 Morfología de cubos cóncavos (AuNCCs)

La síntesis de AuNCCs fue realizada por el método mediado por semillas descrito por Romo-Herrera et al. (2016) con ligeras modificaciones. El cual consta de dos pasos secuenciales: la obtención de semillas y el proceso de crecimiento.

Obtención de semillas. Se añadieron abruptamente 75 μ l de una solución de NaBH₄ (40 mM), preparada previamente con agua desionizada a punto de congelación, a una mezcla que contenía 5 ml de CTAC (100 mM) y 125 μ l de H_{AuCl}₄ (10 mM) en agitación fuerte. Se mantuvo la agitación durante un minuto y posteriormente se dejó en reposo por dos horas. Después, la solución fue diluida con CTAC (100 mM) 1/150 (v/v).

Crecimiento. A una solución de 10 ml de CTAC (100 mM) con agitación media se le añadió de forma secuencial 500 μ l de H_{AuCl}₄ (10 mM), 100 μ l de AgNO₃ (10 mM), 200 μ l de HCl (1 M), 100 μ l de ac.asc. (100 mM) y 100 μ l de las semillas diluídas. De dejó en agitación vigorosa por un minuto y posteriormente en reposo por una hora.

4.1.3 Morfología de rodillos (AuNRs)

La síntesis de AuNRs fue realizada por el método mediado por semillas descrito por Chang y Murphy (2018) con ligeras modificaciones. El cual consta de dos pasos secuenciales: la obtención de semillas y el proceso de crecimiento.

Obtención de semillas. Se añadieron abruptamente 75 μ l de una solución de NaBH₄ (40 mM), preparada previamente con agua desionizada a punto de congelación, a una mezcla que contenía 4.875 ml de CTAB (100 mM) y 125 μ l de H_{AuCl}₄ (10 mM) en agitación fuerte. Se mantuvo la agitación durante un minuto y posteriormente se dejó en reposo por 1.5 h.

Crecimiento. A una solución de 8 ml de CTAB (100 mM) con agitación media se le añadió de forma secuencial 500 μ l de H_{AuCl}₄ (10 mM), 40–100 μ l de AgNO₃ (10 mM), 200 μ l de HCl (1 M), 80 μ l de ac. asc. (100 mM) y 2 ml de las semillas. Se dejó en agitación vigorosa por un minuto y posteriormente en reposo en baño maria a 29 °C durante 18h.

4.2 Obtención de hidrogeles

La formación de hidrogeles se realizó en tres pasos. La obtención de una fase líquida que contiene a las nanopartículas, un monómero y un agente entrecruzante; la polimerización para obtener un hidrogel y finalmente la hidratación del mismo.

4.2.1 Fase líquida

La fase líquida se preparó como una disolución al 30.0% wt de acrilamida y 0.30% wt de bis-acrilamida, utilizando la disolución de NPs como disolvente, se consideró que la disolución tenía una densidad neta de 1 g/ml. De cada tipo de NP se prepararon tres soluciones con diferentes concentraciones, que se identificaron como 1x, 10x y 50x. Para esto, se tomó como referencia 0.25mM de Au⁰ como 1x midiendo la absorbancia en 400 nm y las correspondientes como 10 y 50 veces esa concentración (Hendel et al., 2014). Para obtener las soluciones coloidales con la concentración adecuada se utilizaron dos estrategias: la centrifugación y el ultrafiltrado (ver 5.2.1). Las velocidades y tiempos de centrifugación para las NPs empleadas se encuentran resumidos en la Tabla 2. Para el ultrafiltrado se empleó una celda con agitación Millipore modelo 8050 con membranas de 30 kDa. En la Figura 5 se muestra la forma de ensamble y funcionamiento de la celda.

Tabla 2. Velocidades y tiempo de centrifugación de las NPs empleadas. Los parámetros aquí reportados son el producto del ensayo y el error.

NP		Velocidad (g)	Tiempo (min)
Esféras	30	11000	5
	42	4000	7
	80	34000	15
Rodillos		16000	40
Cubos		4000	5

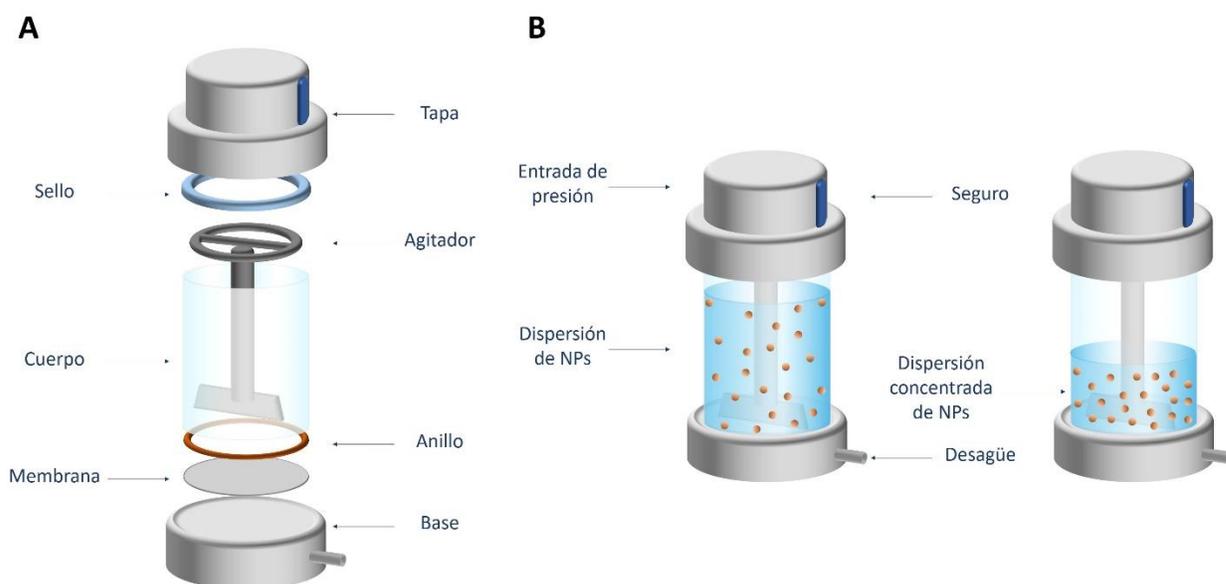


Figura 5. Celda de ultrafiltrado. A) Forma de ensamble de la celda, B) Diagrama de funcionamiento de la celda.

4.2.2 Gelificación

Un mililitro de la fase líquida fue colocado en viales de 8ml. Posteriormente se añadieron 10 μ l de PSA como agente iniciador para esferas y 70 μ l para cubos, y se cerró el vial. Mismo que fue colocado en un baño maría a 95°C por 30 min para los geles de concentración 1x y 10 min para las demás concentraciones.

4.2.3 Hidratación

Los geles fueron extraídos rompiendo el vial, limpiados de cualquier fragmento y colocados en un vaso de precipitado con agua desionizada. Los geles fueron hidratados durante 4 días para formar un hidrogel.

4.3 Obtención de criogeles

Los criogeles fueron obtenidos al liofilizar los hidrogeles obtenidos anteriormente (sección 4.2). Para esto, los hidrogeles fueron colocados en vasos de precipitado y sumergidos en suficiente agua desionizada para cubrir al hidrogel. Se cerró el vaso con un parafilm al cual se le hicieron perforaciones. Posteriormente, se congeló a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ colocando las muestras en un ultracongelador durante, al menos, 24h. Finalmente, las muestras fueron liofilizadas durante 48 h. El equipo empleado fue un FreeZone -105 C 4.5 Liter Cascade Benchtop Freeze Dry System de Labconco. Las condiciones iniciales fueron $-105\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el colector y 0.040 mbar de presión.

4.4 Caracterización

4.4.1 Análisis estadístico

El tamaño reportado de las NPs es el promedio de 100 NPs con una desviación estándar. Las mediciones fueron tomadas manualmente con el programa ImageJ (Schneider et al., 2012). El análisis fue realizado empleando Origin.

4.4.2 Espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Para obtener los espectros de absorción de los geles se utilizó el espectrofotómetro FTIR en un rango de $4000\text{--}350\text{ cm}^{-1}$ haciendo pastillas de la muestra con KBr.

4.4.3 Espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis)

Para obtener los espectros de absorción de las NPs se utilizó el espectrofotómetro Agilent Cary 60 UV-Vis en un rango de 300–900 nm empleando celdas desechables y corrección de línea base con agua desionizada. Para medir la concentración de las soluciones concentradas se preparaban diluciones de las

mismas con el surfactante a 25 mM. Se siguió un ajuste lineal, considerando que para una celda de 1 cm de paso óptico 1.2 de absorbancia equivale a 0.5 mM de Au⁰ según lo reportado por Hendel et al. (2014).

4.4.4 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las micrografías de las NPs fueron obtenidas empleando el equipo EVO MA15 de Zeiss de la división Ciencias de la Tierra del CICESE. Para la preparación de la muestra se realizaron cortes transversales de los criogeles y posteriormente se aterrizó la muestra con tinta conductora en los bordes de la muestra.

4.4.5 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las micrografías de las NPs fueron obtenidas empleando los equipos: JEOL JEM-2010 y JEOL 2100F de la Unidad de Nanocaracterización del Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la UNAM. Se emplearon rejillas con recubrimiento continuo de carbono *mesh 200*. Para la preparación de la muestra se tomaron en cuenta dos parámetros: concentración del surfactante (1 mM) y concentración de Au⁰ (2 mM). Se emplearon 10 µl de solución por rejilla y se dejaron evaporar a temperatura ambiente por al menos 2 h.

Capítulo 5. Resultados

En este capítulo se exponen los resultados más sobresalientes obtenidos de la experimentación. Aspectos particulares sobre la preparación y la caracterización de las muestras puede encontrarse en la sección 4.4.

5.1 Síntesis de NPs de oro

Para la caracterización de las NPs obtenidas se utilizaron dos técnicas complementarias: espectrofotometría UV-Vis y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Estas dos técnicas permiten caracterizar el comportamiento óptico y la morfología de las NPs, respectivamente.

5.1.1 Síntesis de AuNEs

El método escogido permite, según la literatura, la obtención de AuNEs lisas con tamaños entre 10 y 100nm. En el primer paso se obtienen NPs de entre 1–3 nm, las cuales no presentaron una banda de absorción como se muestra en la Figura 6A.

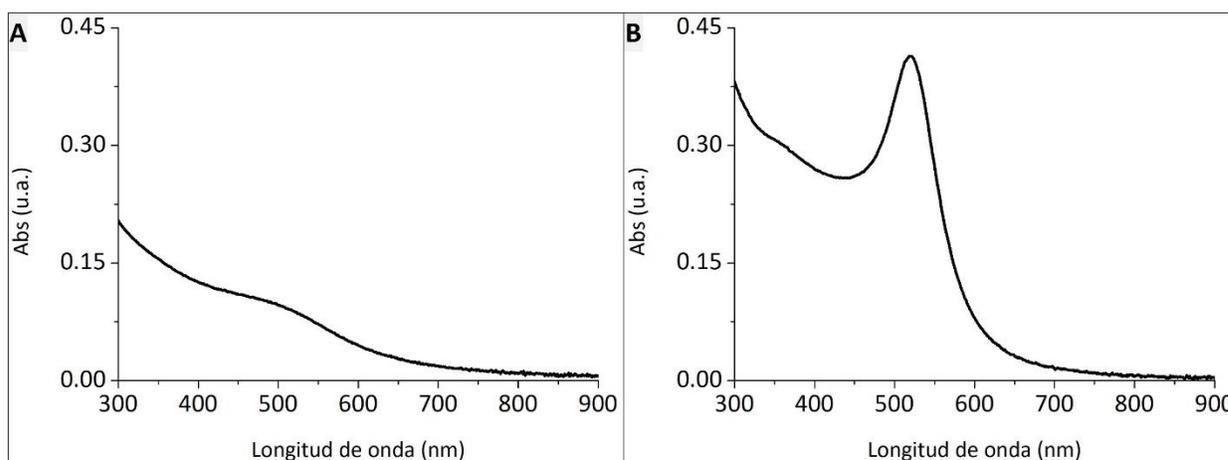


Figura 6. Espectros de absorción de NPs de Au. A) NPs de 1–3 nm. Debido a su tamaño, estas NPs no muestran una banda de absorción. B) NPs de 10 nm. Se observa una banda de absorción centrada en 519 nm.

Estas NPs semilla fueron empleadas para obtener AuNEs de 10 nm, las cuales presentaron una banda de absorción centrada en 519 nm como se observa en la Figura 6B. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Hanske et al. (2017). En el segundo crecimiento las AuNEs de 10 nm fueron empleadas como semillas por lo cual se varió el volumen utilizado en la síntesis (Tabla 1). Las AuNEs obtenidas de este paso son esferas faceteadas las cuales pueden apreciarse en las Figuras 7A, 7D y 7G.

Para obtener esferas lisas se llevó a cabo un proceso de suavizado, cuyo resultado puede verse en las Figuras 7B, 7E y 7H. Este proceso de suavizado provocó un corrimiento al azul en el espectro de absorción y una disminución en 400nm, lo cual se relaciona a la reducción de tamaño y a la pérdida del material en la parte más externa de las AuNEs respectivamente (Figuras 7C, 7F y 7I). Las variaciones de tamaño y el cambio en la banda de absorción se encuentran resumidos en la Tabla 3.

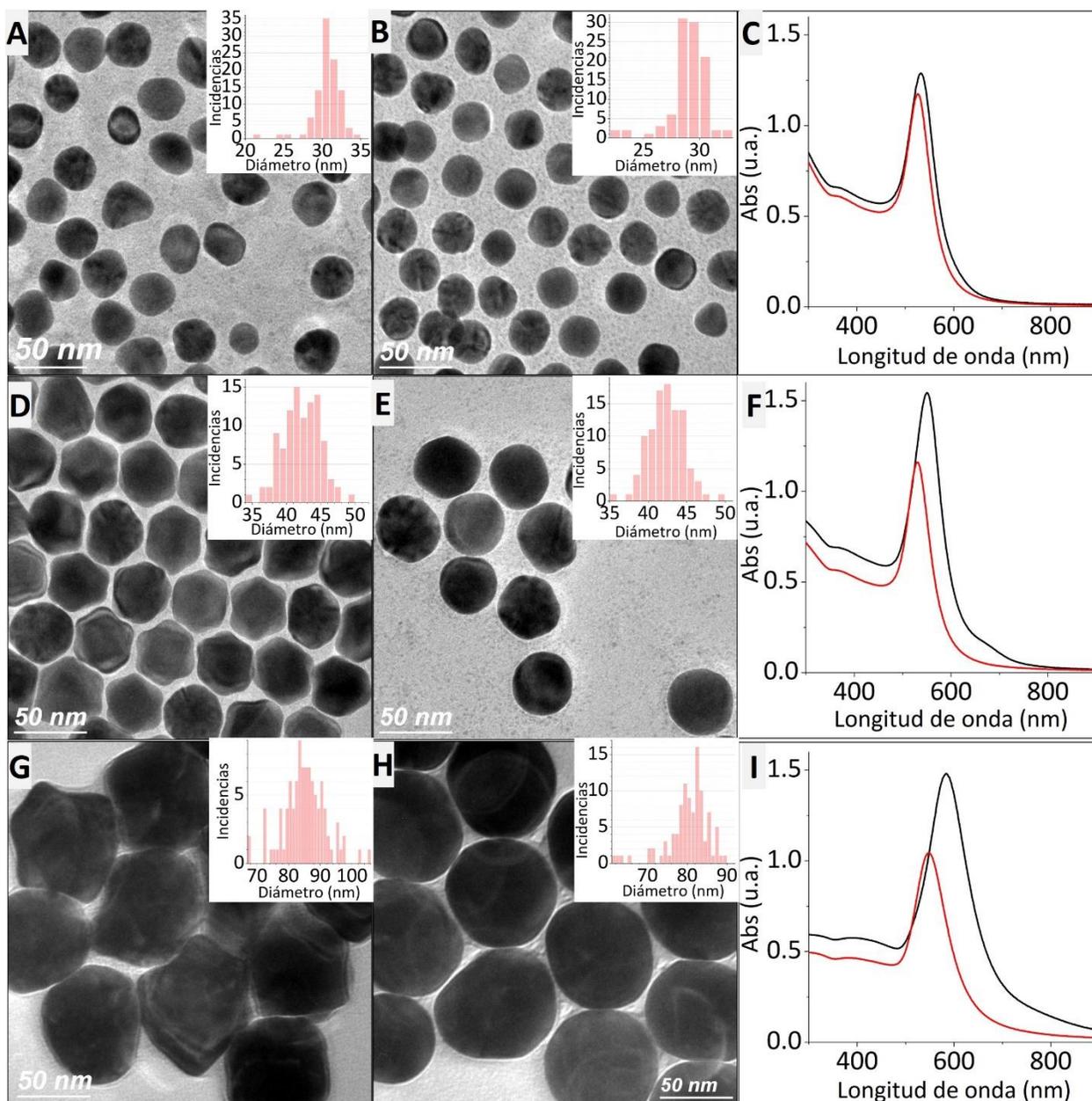


Figura 7. AuNEs. De izquierda a derecha: forma faceteada, lisa y espectro de absorción. A) 31nm, B)42nm, C)85nm.

Tabla 3. AuNEs. Tamaño y LSPR antes y después del proceso de suavizado.

Tamaño inicial (nm)	LSPR inicial (nm)	LSPR final (nm)	Tamaño final (nm)
31±2	532	525	30±2
42±3	535	532	42±2
85±7	600	571	80±5

5.1.2 Síntesis de AuNRs

El método reportado por Chang y Murphy (2018) permite la variación de la relación de aspecto de los NRs (2.2 a 3.8) variando la cantidad de Ag presente en la solución. A mayor cantidad de plata mayor la relación de aspecto. Los NRs con 30 μl de Ag tienen una longitud promedio de 24 ± 5 nm y un diámetro de 12 ± 2 nm (Figura 8A). La relación de aspecto calculada es de 2.0 ± 0.8 . Las bandas de absorción se encuentran en 523 y 630 nm (Figura 8B). Por otro lado, los NRs con 100 μl de Ag tienen una longitud promedio de 31 ± 8 nm y un diámetro de 8.3 ± 1.3 nm (Figura 8C). La relación de aspecto calculada es de 3.7 ± 1.6 . Las bandas de absorción se encuentran en 514 y 777 nm (Figura 8D). Para experimentos posteriores se trabajó con los NRs de 31 nm.

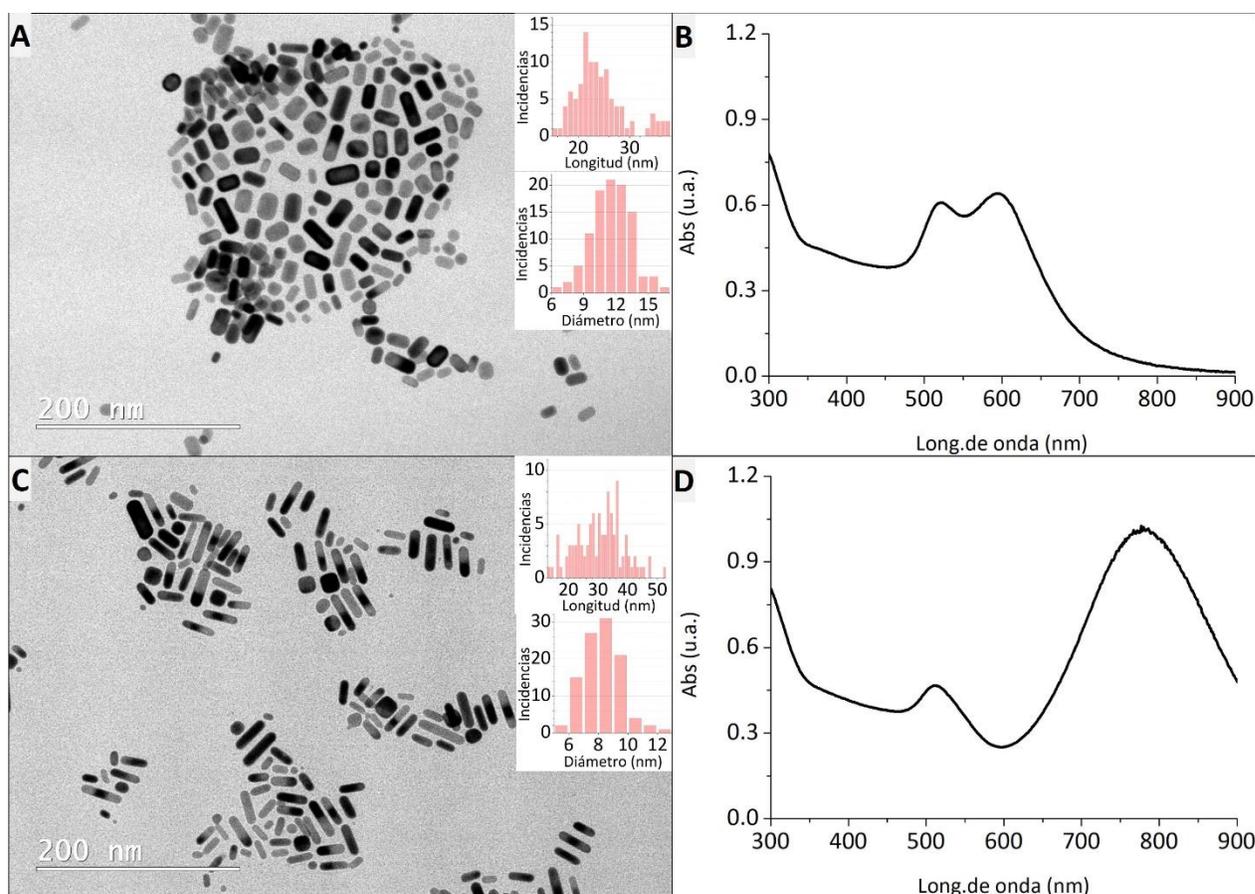


Figura 8. Efecto de la Ag en la síntesis de AuNRs, 30 y 100 μl . A, C) Micrografías TEM. B, D) Espectros de absorción.

5.1.3 Síntesis de AuNCCs

Para la síntesis de cubos cóncavos, el método reportado por Romo-Herrera et al. (2016) permite la variación del tamaño de la arista al cambiar la cantidad de semillas añadidas a la solución de crecimiento. El espectro de absorción en la Figura 9B muestra una banda alrededor de 621nm. Los AuNCCs tienen una arista promedio de 39 ± 5 nm. El rendimiento de morfología obtenido fue del 60 %.

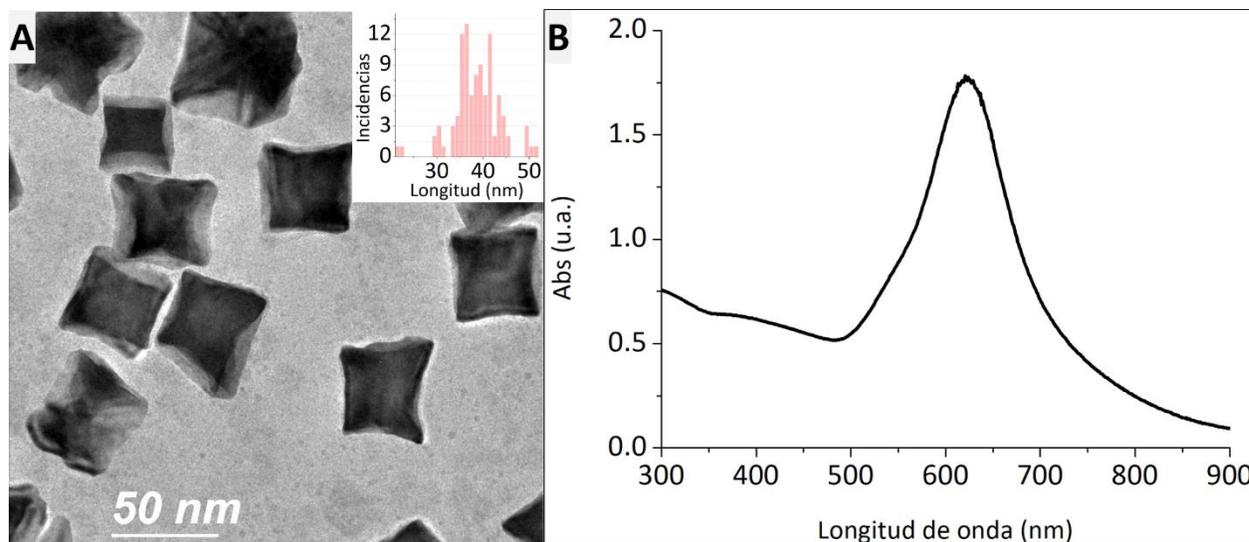


Figura 9. AuNCCs. A) Micrografía TEM, B) Espectro de absorción.

5.2 Obtención de hidrogeles

A partir de las NPs sintetizadas se decidió utilizar las AuNEs de 30, 42 y 80 nm, los AuNCCs de 39 nm y los rodillos de 31 nm. Esta elección se basó en estudiar el efecto de la variación de tamaño en la morfología esférica y en la comparación de esferas y cubos de dimensiones similares. Esto último porque como describieron Romo-Herrera et al. (2016), los AuNCCs de un tamaño similar tienen una mejor respuesta para realizar SERS a comparación de esferas de tamaño comparable. Los AuNRs elegidos son los más cercanos a este tamaño.

5.2.1. Fase líquida

Para obtener las dispersiones coloidales con la concentración adecuada se tenía acceso a dos centrifugas con las siguientes capacidades por vial: 50 ml a 3600 g (6 viales) y 2 ml a 16400 g (24 viales). Por esta razón se utilizó una estrategia mixta. Las muestras fueron concentradas utilizando la celda de ultrafiltrado para obtener un volumen medible i.e. 25 ml a partir de un volumen inicial típico de 250ml. Para que la concentración del agente surfactante de los cubos y rodillos fuera comparable con las NPs esféricas, después de su proceso de filtrado se les agregó agua desionizada y se repitió el filtrado. Se asumió que el surfactante salía de forma homogénea por la membrana. Se corroboró que las NPs no son capaces de atravesar la membrana al estudiar el espectro de absorción del líquido de salida. A partir del volumen concentrado ($\sim 10x$) se trabajó en la centrifuga. Las AuNEs de 80 nm fueron centrifugadas directamente ya que debido a su tamaño era posible precipitarlas a velocidades relativamente bajas. En las Figuras 10A-10E se muestran las distintas concentraciones de NPs. Para asegurar la concentración adecuada se corroboró la absorción en 400 nm con UV-Vis.

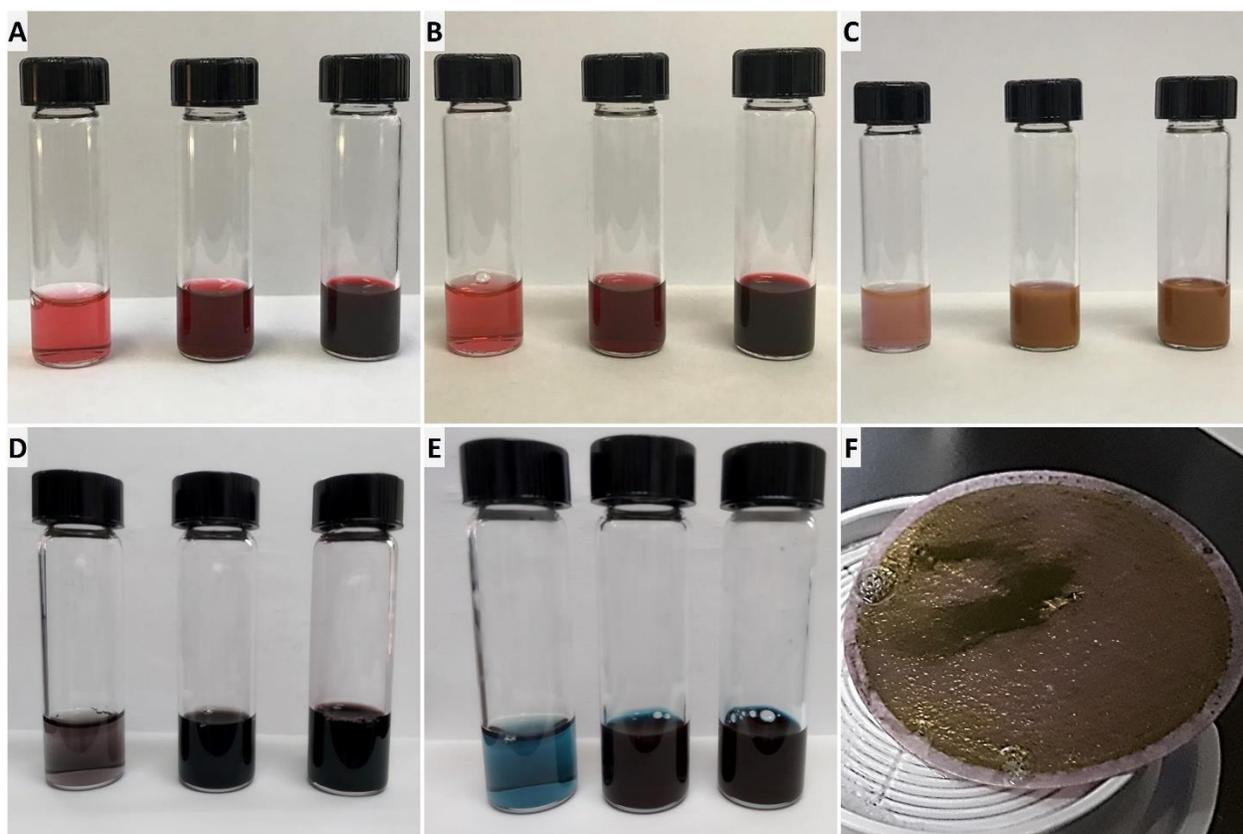


Figura 10. Vista macroscópica de NPs de Au concentradas. De izquierda a derecha 0.25, 2.5 y 12.5 mM de Au⁰. A) NEs 30 nm, B) NEs 42nm, D) NEs 80 nm, E) AuNRs 32 nm, F) AuNCCs 40 nm. Es posible apreciar un marcado cambio en la absorción y tonalidad de las distintas muestras. F) Depósito de NPs sobre la membrana de filtrado. Al aumentar la concentración de NPs se produce un bloqueo total sobre la membrana.

Múltiples intentos para concentrar NPs a concentraciones superiores a 10x utilizando el ultrafiltrado resultaron en fracasos. Como se muestra en la Figura 10F, las NPs mostraron una tendencia a depositarse sobre la membrana causando una obstrucción. Aunque fue posible recuperar a las NPs depositadas, al ser redispersadas se observaba agregación después de unos minutos. Esta falta de estabilidad las inutilizaba para ser empleadas como medio para obtener el gel.

Una vez obtenidas las disoluciones con concentración adecuada se procedió a mezclar al monómero y al agente entrecruzante con ayuda de un baño ultrasónico. Ocasionalmente se observó un cambio en la coloración a un color violeta. El cual está tradicionalmente atribuido a un proceso de agregación de las NPs. En la Figura 11A se puede observar el cambio en el espectro de absorción y la aparición de un hombro. Para evitar esto, se optó por mantener la solución de NPs fría (4 °C) antes de realizar la mezcla. Como se muestra en la Figura 11B, el espectro mostró un cambio en la absorción, pero el mismo perfil. Esto nos indica que el cambio fue debido principalmente al cambio en la concentración de NPs y que la solución de NPs es estable. El desplazamiento del pico fue de 6nm al rojo, este cambio se atribuyó al cambio en el índice de refracción del medio.

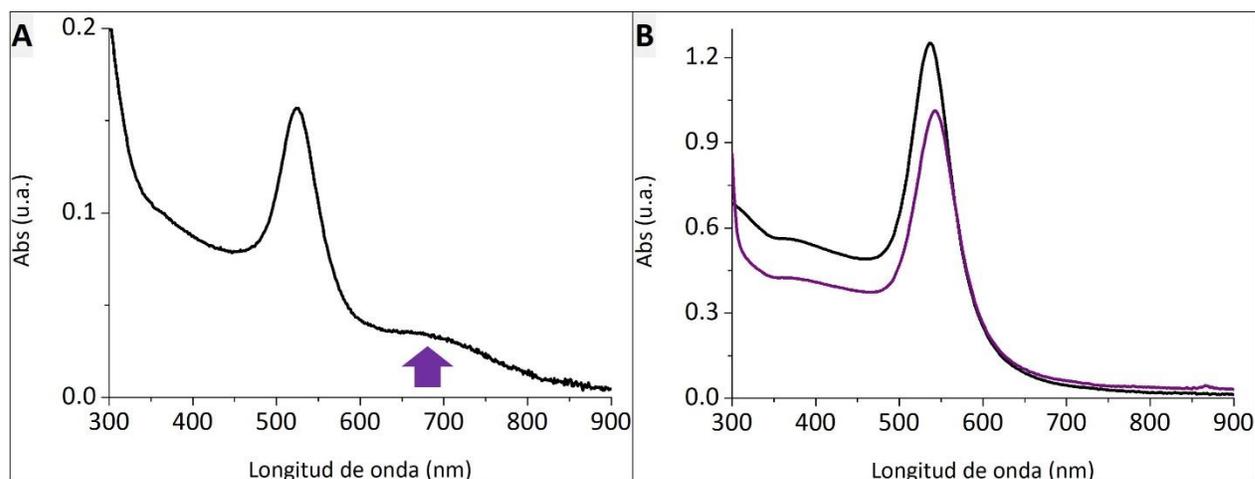


Figura 11. Espectros de absorción de la mezcla de NPs con acrilamida y bis-acrilamida. A) Mezcla a temperatura ambiente. Se observa la aparición de un hombro alrededor de los 700 nm. B) Mezcla a 4 °C. Se observa un cambio en la absorción total y un corrimiento al rojo de 6 nm.

5.2.2. Gelificación

A partir de observaciones experimentales para la formación de geles con NPs esféricas se intuyó que el agente iniciador (PSA) causaba la agregación de las NPs esféricas por el cambio al color violeta de la disolución. Por esta razón se varió el volumen (40, 30, 20, 10 μ l) de PSA en una solución de 2ml al 70 % (v/v) de NPs esféricas con agua desionizada y se estudió su evolución cada 30 s a temperatura ambiente. Como se muestra en la Figuras 12A, 12B, 12C y 12D, al disminuir la cantidad de PSA las NPs tienen una mejor estabilidad. Este efecto se atribuyó al cambio en la fuerza iónica de la solución, la cual afecta a las mezclas que mantienen estables a las NPs. El cambio en el espectro al agregar 20 μ l es mínimo, por lo cual se decidió emplear 10 μ l de iniciador por cada mililitro de solución líquida para todas las morfologías y tamaños. En la Figura 12E se muestra una vista macroscópica de las suspensiones y el llamado cambio al violeta. Este cambio en la coloración es un rápido indicador del grado de estabilidad de la suspensión de NPs y tiene la ventaja de que puede ser detectado inmediatamente. Como en este trabajo se buscaba un material que retuviera el efecto plasmónico de las NPs, se buscó evitar este cambio en todas las etapas. Desde la concentración hasta la gelificación.

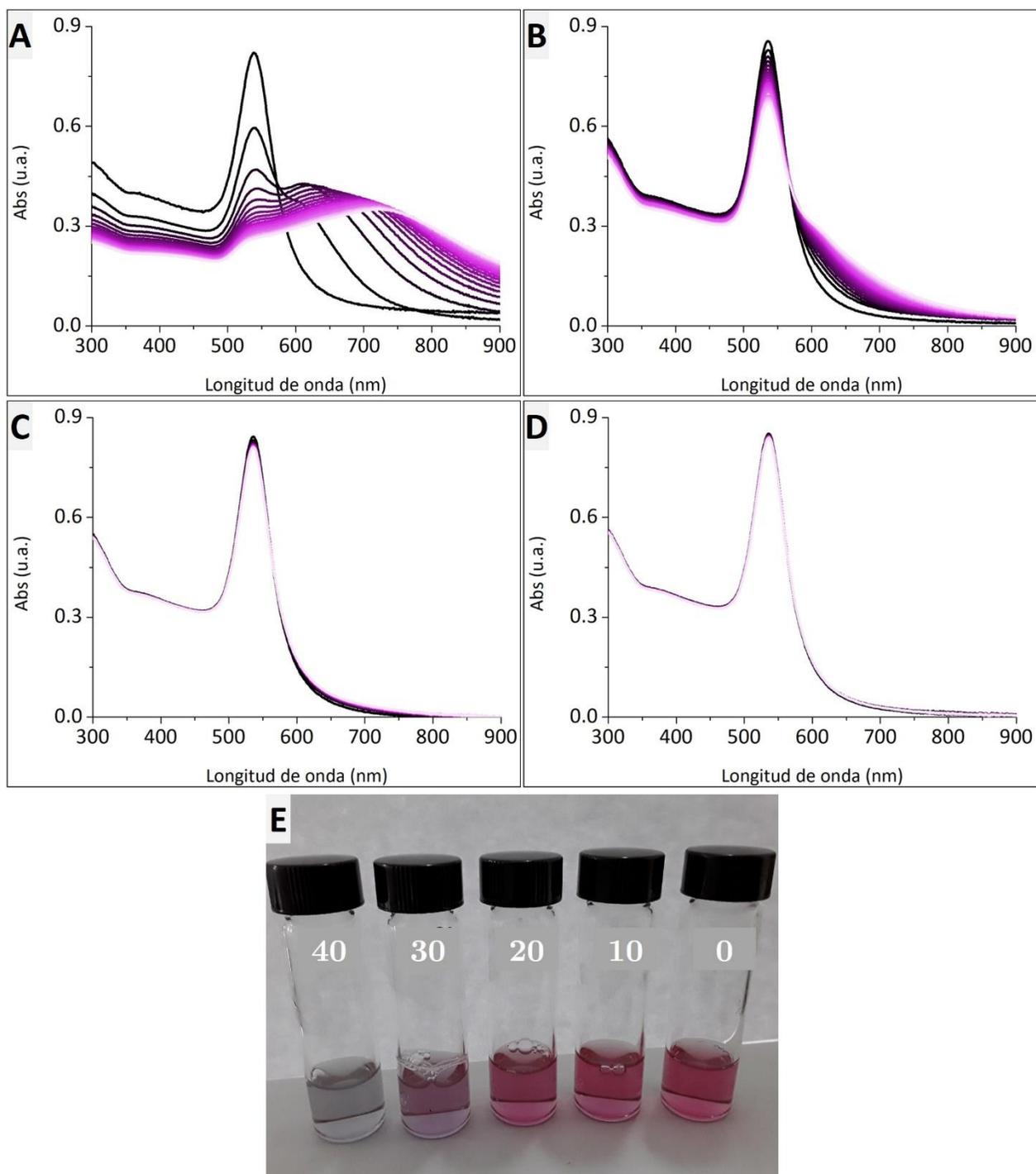


Figura 12. Efecto del iniciador (PSA) sobre la solución de NPs, monómero y agente entrecruzante. A) 40µl, B) 30 µl, C) 20 µl, D) 10 µl de PSA. E) Vista macroscópica de las disoluciones. Puede observarse el cambio al violeta en la coloración.

Resultado de los parámetros obtenidos anteriormente (ver 4.2.2), se obtuvieron geles de poliacrilamida (PAam) que conservaban la coloración de la solución líquida (Figura 13). Los geles que contenían NPs esféricas (Figuras 13A, 13B, y 13C) fueron obtenidos sin complicación alguna. Sin embargo, fue necesario agregar una mayor cantidad de PSA para lograr la polimerización de los AuNCCs. No se observó cambio de color debido a este aumento de volumen. Lo expuesto anteriormente se puede deber a la existencia de una mayor concentración de CTAC que en las esferas, lo cual significaría que, durante el proceso de filtrado, el CTAC no es removido con facilidad de la dispersión coloidal de las NPs. Aunque esto pueda parecer una contradicción debido a que la membrana empleada era de 30kDa es necesario recordar que el CTAC libre se encuentra en forma de micelas, lo cual aumenta en gran medida su tamaño como conjunto. Por su parte, no fue posible obtener un gel con NPs con forma de rodillo. Al aumentar la cantidad de PSA se obtuvo un evidente cambio en la coloración para concentraciones de NPs 1x y no se logró la gelificación en los demás casos. La diferencia entre los surfactantes es la presencia de bromuro en el CTAB y cloruro en el CTAC.

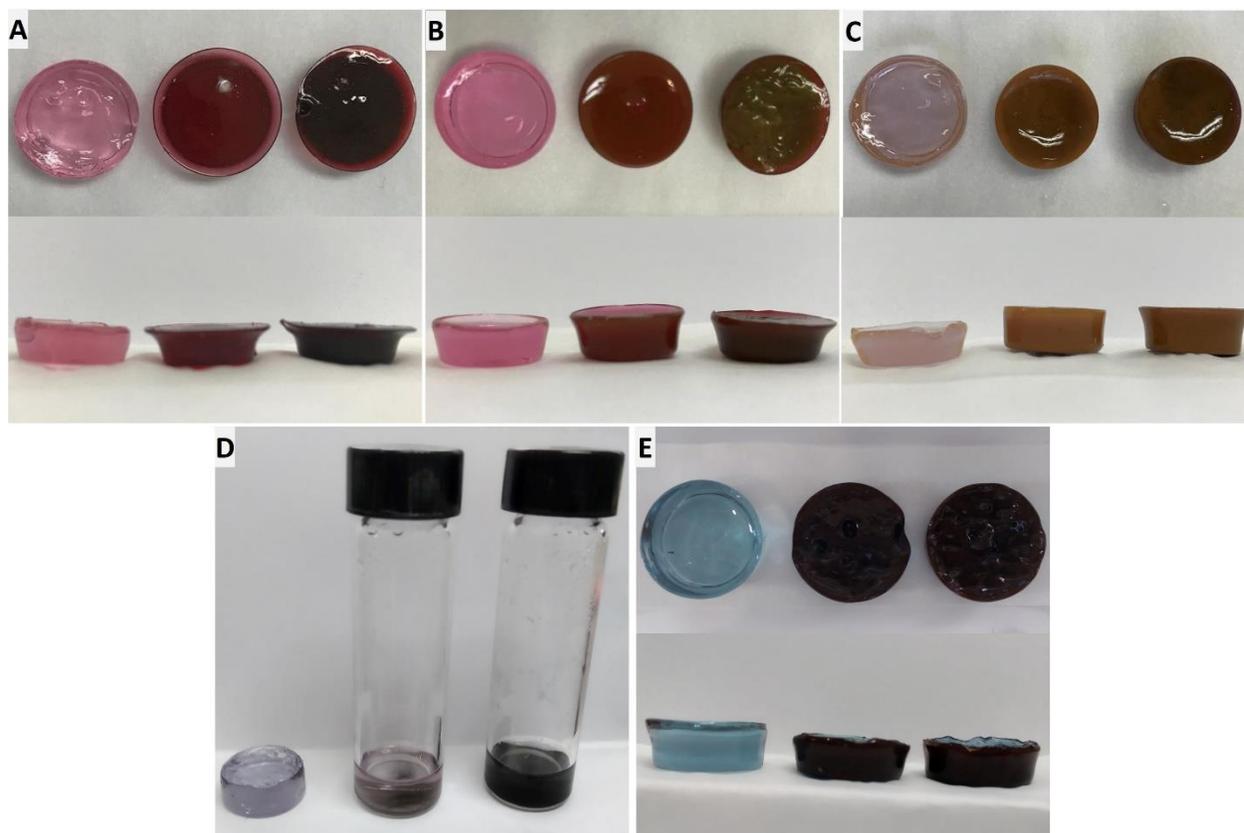


Figura 13. Vista macroscópica de los geles obtenidos recién sintetizados. De izquierda a derecha aumento en la concentración de Au⁰. A-C) AuNEs de 32, 40, y 80 nm respectivamente. D) AuNRs. E) AuNCCs.

Para estudiar la polimerización del gel y comprobar la obtención de PAam se recurrió a la espectrofotometría FT-IR. Se comparó un gel blanco de PAam, es decir, sin nanopartículas, contra uno que tenía AuNEs de 40 nm. Estos espectros fueron comparados con lo reportado en la literatura y se encontró una clara correspondencia con la PAam (Kuptsov A. y Zhizhin G., 1998). Para el blanco se observa la presencia del pico característico a 1668 cm^{-1} atribuido al estiramiento de $\text{C}=\text{O}$ presente en el grupo $-\text{CONH}_2$. La fuerte absorción en 3393 y 3194 cm^{-1} se deben a los estiramientos antisimétricos y simétricos respectivamente del grupo $\text{N}-\text{H}$. El pico en 1616 cm^{-1} se atribuyó al doblez del grupo $\text{N}-\text{H}$. Por otro lado, para el gel con NPs se observa la presencia del pico característico a 1665 cm^{-1} del $\text{C}=\text{O}$ en el grupo $-\text{CONH}_2$. Las absorciones de los estiramientos antisimétricos y simétricos del $\text{N}-\text{H}$ se encontraron en 3393 y 3192 nm . El pico en 1616 nm^{-1} se asoció al doblez del $\text{N}-\text{H}$. La diferencia más importante fue el cambio en el grupo $\text{C}=\text{O}$ el cual paso de 1668 a 1665 cm^{-1} . De acuerdo a lo reportado por Salaheldin (2017) este cambio podría atribuirse a una interacción de las NPs con el grupo $\text{C}=\text{O}$. Por otro lado, debido a que el pico en 1616 nm^{-1} no cambió, se propone una falta de interacción entre el N del $\text{N}-\text{H}$ y las NPs. Adicionalmente, se muestra que la presencia de las NPs no afecta a la obtención del polímero. Por el contrario, actúan como catalizadores debido a que no se utilizó TEMED o algún acelerador que es común en la obtención de poliácridamida. Por su parte, para obtener el blanco si fue necesario utilizar $1.5\text{ }\mu\text{l}$ de TEMED debido a que no sé logró obtener un gel en las mismas condiciones.

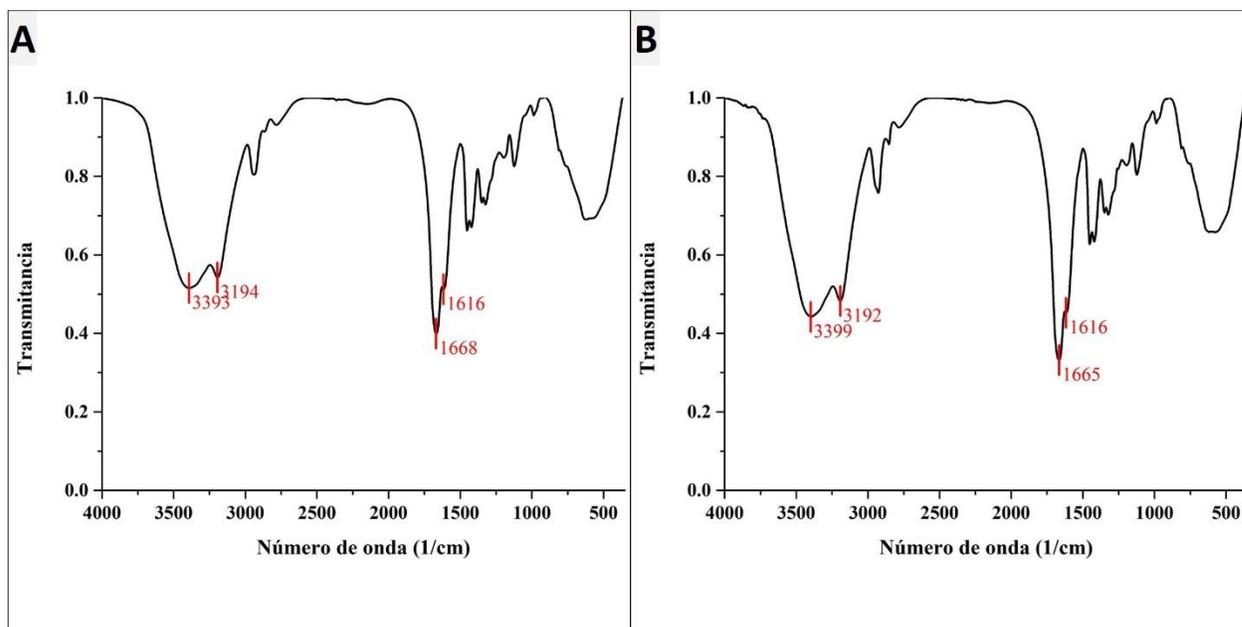


Figura 14. Espectros FTIR de los geles obtenidos. A) Sin NPs, B) con NPs esféricas de 42 nm.

5.2.3. Hidratación

Para poder medir la capacidad de absorción de los hidrogeles se procedió a secar los geles de la siguiente manera: Se dejaron en el interior de una campana de extracción durante 72 h y posteriormente por 12 h en un horno de vacío (Figuras 15A - 15D). Posteriormente los geles fueron extraídos cuidadosamente y colocados en viales con atmósfera inerte (N_2) para mantenerse secos durante los movimientos para el pesado. Después de su pesado inicial los geles fueron sumergidos en agua desionizada y vueltos a pesar cada 24 h. En las Figuras 16A – 16C se muestra su comportamiento.

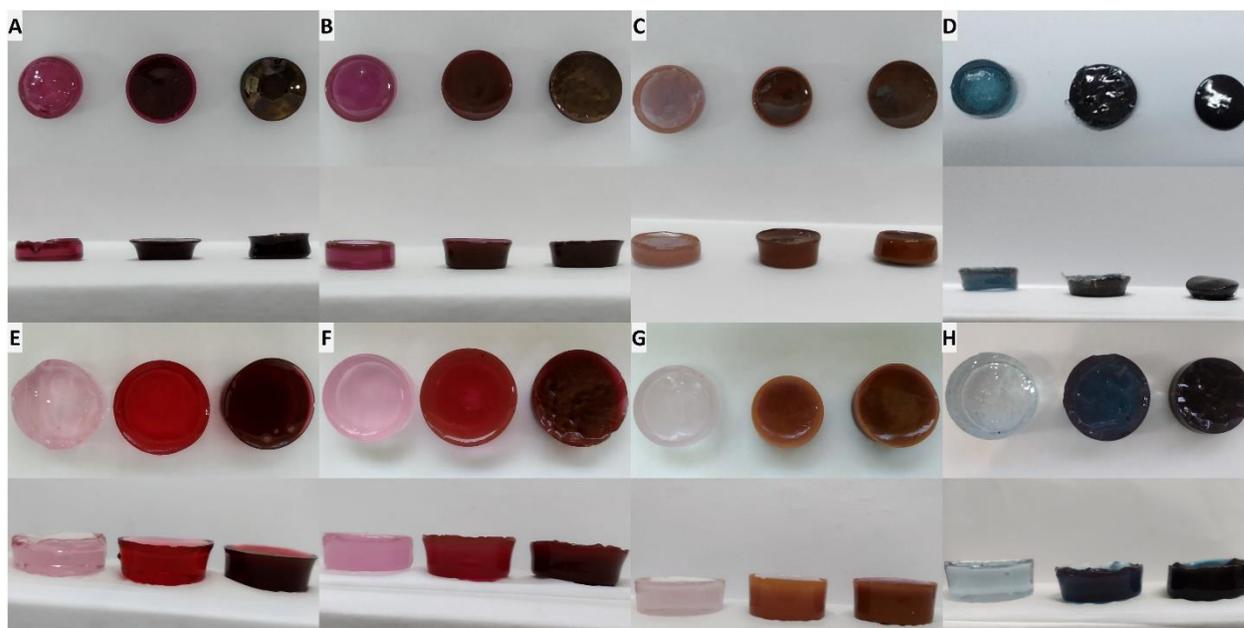


Figura 15. Vista macroscópica de xerogeles e hidrogeles. De izquierda a derecha hay un aumento en la concentración de Au^0 . En los xerogeles A-D) se observa una fuerte concentración de las NPs. Se muestran A-C) AuNEs de 32, 40 y 80 nm y D) AuNCCs. Se observa un cambio en la coloración de los hidrogeles con el aumento de volumen. E-G) AuNEs de 32, 40 y 80 nm, y H) AuNCCs.

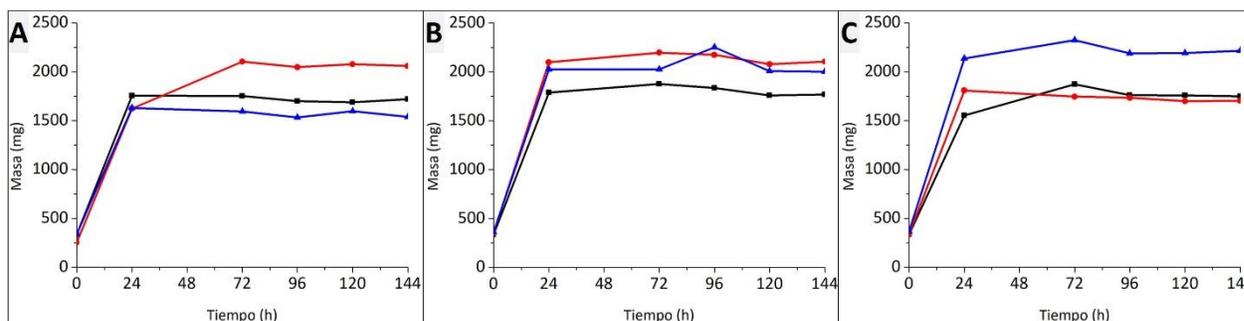


Figura 16. Curva de hinchamiento de hidrogeles con AuNEs A) 32 nm, B) 40 nm y C) 80 nm. Las concentraciones 1x, 10x y 50x corresponden a los colores negro, rojo y azul, respectivamente.

Como se puede observar, después de 3 días se alcanzó el máximo de absorción. El coeficiente de absorción fue de 465%. En la Figuras 15E- 15H se muestra el aspecto de los hidrogeles, los cuales pasaron de tener colores oscuros a colores brillantes. Eso se atribuyó al cambio en la concentración de NPs por el aumento de volumen. No se observó visualmente fuga de NPs del gel y fue corroborado por UV-Vis. Sin embargo, es importante señalar que después de la extracción del gel y durante el proceso de limpieza de fragmentos si existe una pérdida de NPs, la cual se observa como coloración en el agua empleada. Estas NPs se suponen no lograron quedar encerradas en el gel debido a una polimerización incompleta. Durante el proceso de hidratación se cambió el agua desionizada para eliminar residuos.

5.3. Obtención de criogeles

Se probaron dos tiempos de liofilización: 24 y 48h. Los hidrogeles liofilizados durante 24h mostraban un aspecto seco en el interior del liofilizador (Figura 17A), pero al ser extraídos su aspecto cambiaba a un aspecto gomoso como se muestra en la Figura 17B. Esto se atribuyó a que no se había retirado toda el agua presente en los geles, lo cual provocaba que al ser extraídos del liofilizador los fragmentos de hielo se derritieran y fueran reabsorbidos por el gel y se destruyera su estructura.

Los hidrogeles liofilizados (criogeles) durante 48h son el resultado final del material trabajado. En la Figuras 17C- 17F se muestran los materiales terminados. Son materiales duros y dúctiles. La densidad calculada promedio, considerando las pastillas como cilindros perfectos fue de 0.15g/cm³. El cambio en la coloración observado en los materiales terminados, puede ser explicado por la presencia de NPs en el material. Esta es una prueba cualitativa de que los materiales finales conservan las propiedades plasmónicas de las NPs. Para corroborar la existencia de NPs en los criogeles y explorar su distribución espacial se utilizó la microscopía electrónica de barrido. En la micrografía de pocos aumentos mostrada en la Figura 18A se puede observar la porosidad del material. En la Figura 18B se puede ver una imagen obtenida con electrones secundarios, lo cual nos da una imagen de la topografía del material. Se pueden localizar pequeñas protuberancias que se supusieron eran las NPs en el material aunque a simple vista pueden pasar desapercibidas y en ocasiones resulta difícil distinguir algunas de ellas. Para corroborar con mayor claridad la presencia y distribución de las NPs se tomó la imagen empleando electrones retrodispersados (Figura 18C). Así pues, pueden distinguirse claramente como puntos brillantes la presencia de las NPs de Au, debido a la diferencia de contrastes por la marcada diferencia en número atómico entre el Au y los componentes de la matriz polimérica. En las Figuras 19A- 19D se muestra la vista

a pocos aumentos de los diferentes criogeles utilizando electrones retrodispersados y la concentración de NPs más alta. Se pueden apreciar zonas brillantes, las cuales se atribuyen a cúmulos ocasionales de NPs. Una vista a mayores aumentos como en las Figuras 19E- 19H nos muestra una distribución homogénea de NPs en todas las zonas estudiadas.

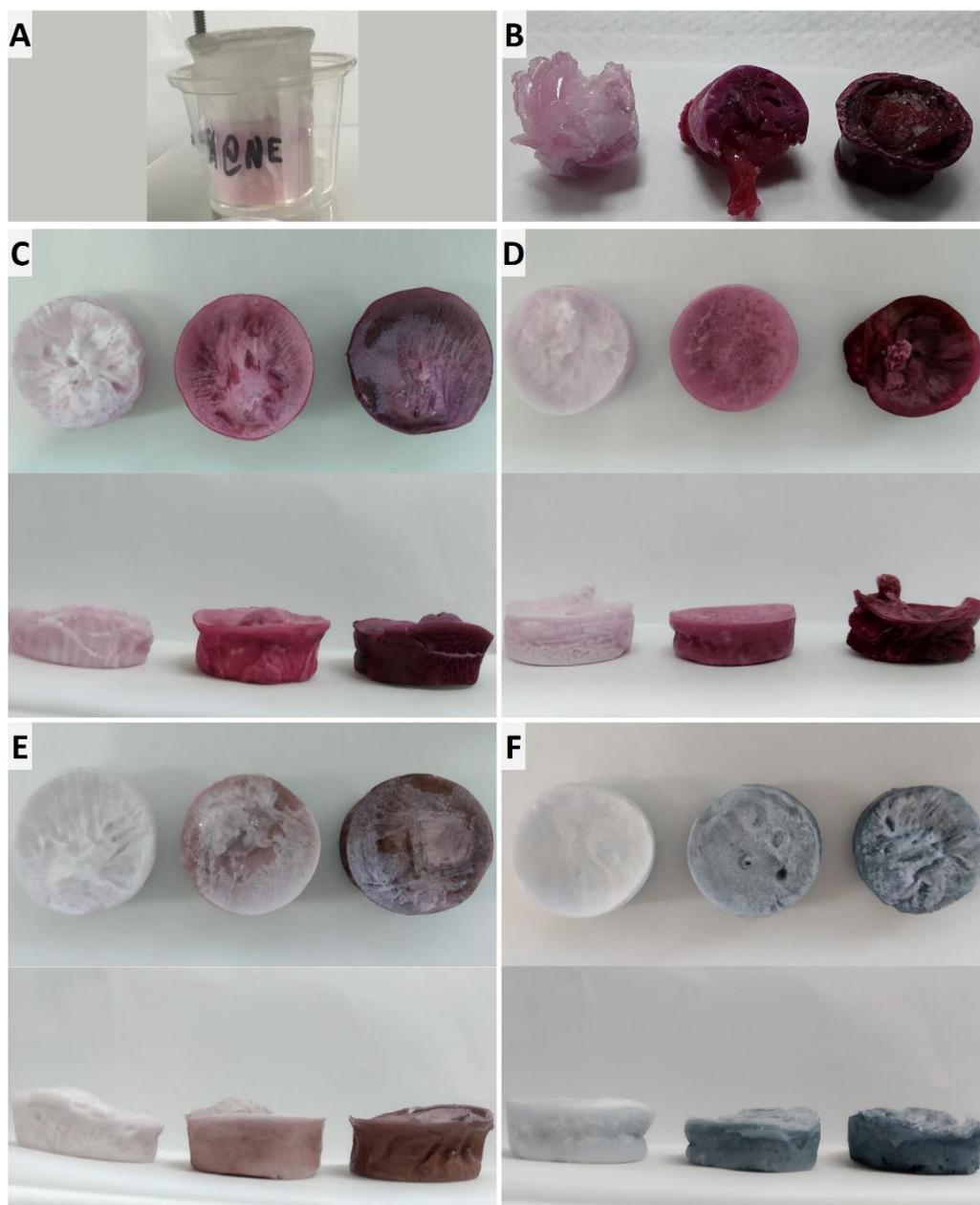


Figura 17. Vista macroscópica de los criogeles. De izquierda a derecha hay un aumento en la concentración de Au^0 . Liofilización durante 24h. A) Aspecto en el interior del liofilizador. B) Aspecto después de 30 minutos de ser extraído del liofilizador. Liofilización durante 48h, vistas superior y lateral. C-E) AuNEs de 32, 40, y 80 nm, y F) AuNCCs.

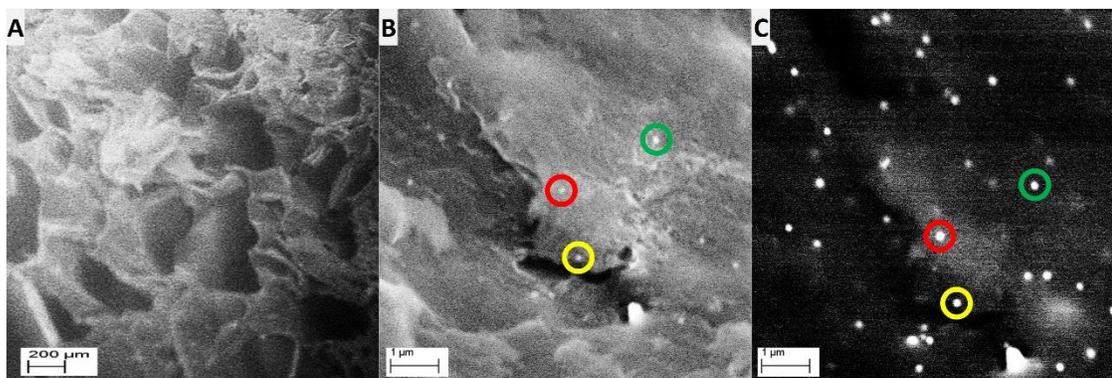


Figura 18. Micrografías SEM del criogel con AuNEs de 80nm y concentración 50x. A) Vista a bajos aumentos con electrones secundarios. Distribución de NPs con B) electrones secundarios, y C) electrones retrodispersados. Las marcas de color representan a la misma ubicación espacial.

El cambio en la coloración de los criogeles es consecuencia de su respuesta plasmónica, es decir, el color proviene de la absorción de cierta longitud de onda por las NPs. Para estudiar esta absorción se recurrió a la espectroscopía UV-Vis por reflectancia difusa con esfera integradora. La espectroscopía UV-Vis por transmitancia y por reflectancia en la superficie resultaron poco eficientes para las condiciones de un material sólido macroscópico. Se estudiaron las muestras con mayor concentración de NPs. Los espectros se encuentran resumidos en la Figura 20. El ruido en las señales es propio de la espectroscopía en muestras sólidas. Para las muestras con NPs esféricas, Figuras 20A-C, pude observarse una mayor absorción en los espectros al acercarse al rango de los 500–600nm. Por su parte en los cubos hay un máximo en el rango de 600–700 nm. Estos rangos coinciden con los plasmones de las NPs en forma coloidal (curvas azules en la Figura 20).

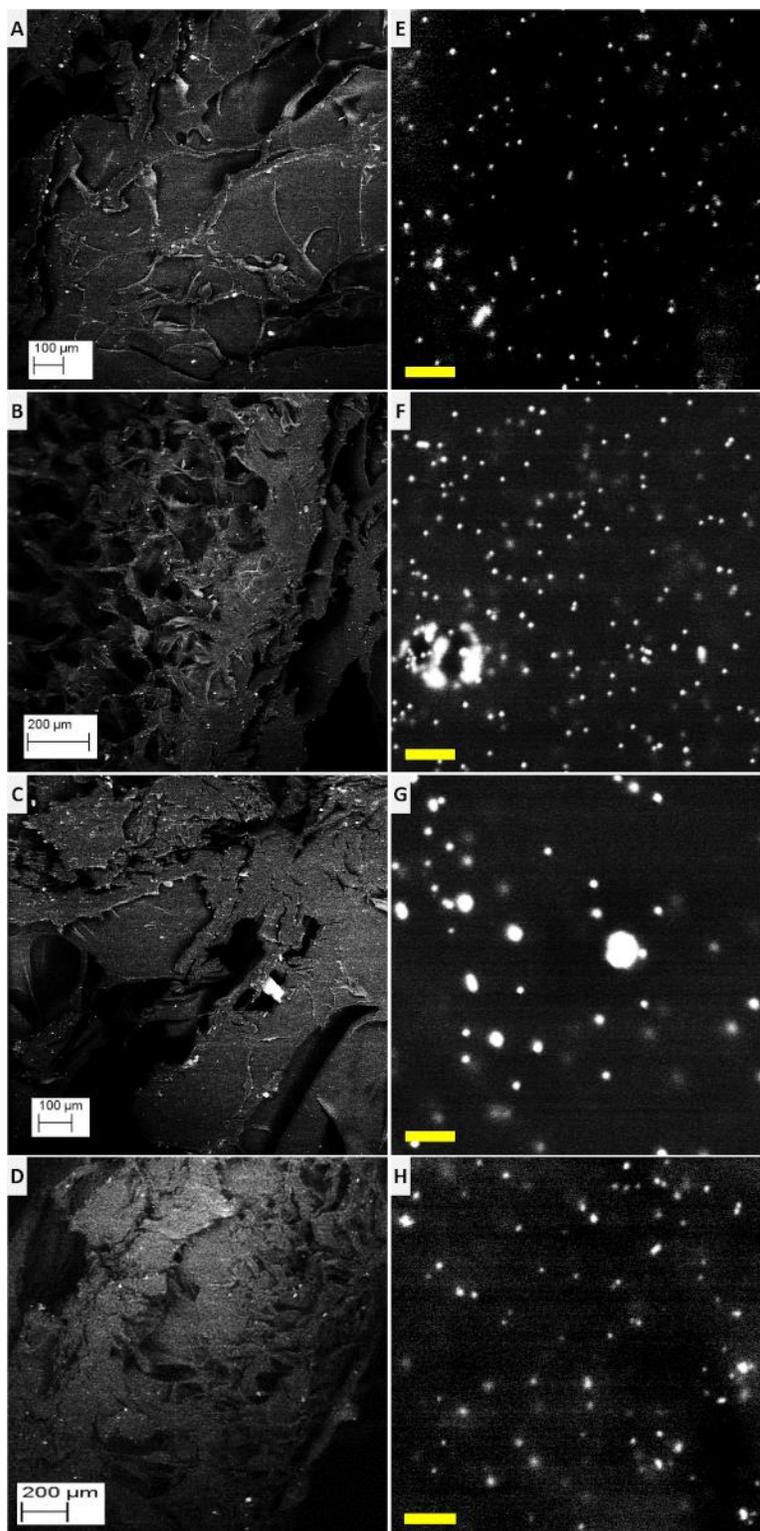


Figura 19. Micrografías SEM de los criogeles con electrones retrodispersados. Vista a bajos aumento A) NEs 30nm, B) NEs 42 nm, C) NEs 80 nm, D) NCCs. Vista a altos aumentos D) NEs 30 nm, E) NEs 42nm, F) NEs 80 nm, G) NCCs. Barra de escala 1 μ m.

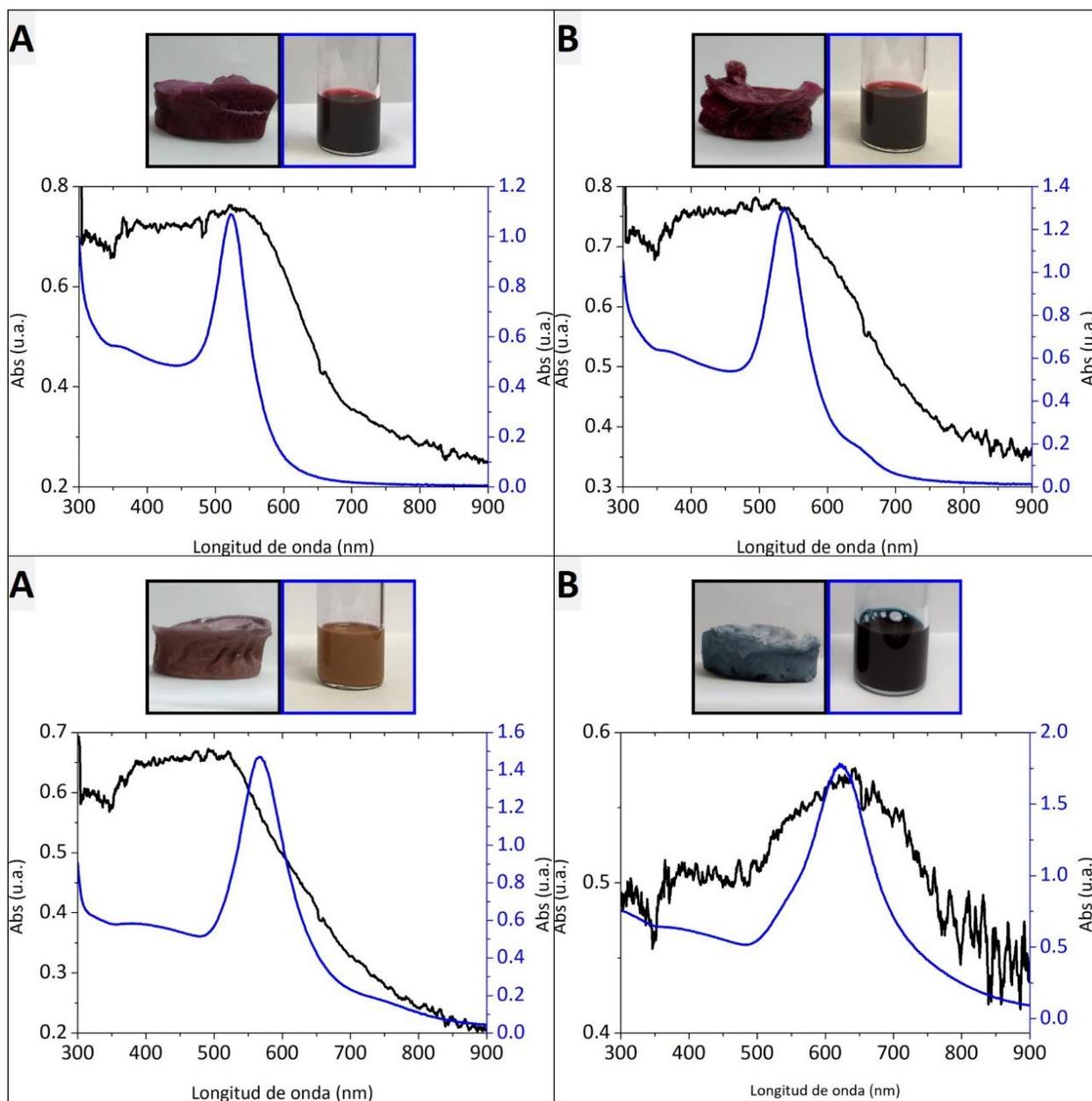


Figura 20. Espectros UV-Vis por reflectancia difusa (curvas negras). A) AuNEs 30 nm B) AuNEs 42 nm C) AuNEs 80 nm y D) AuNCCs, comparadas con la respuesta LSPR de las NPs en dispersión coloidal en agua (curvas azules). Los insertos corresponden a la vista macroscópica de los criogeles y a la disolución coloidal concentrada correspondiente.

Capítulo 6. Discusión

6.1. Discusión de resultados

La síntesis de NPs de oro esféricas con distintos tamaños fue un éxito, los tamaños obtenidos fueron 30, 42, y 80 nm y pueden corroborarse visualmente por las imágenes TEM en la Figura 7. En la misma Figura los histogramas muestran una distribución uniforme del tamaño de las NPs. Esta distribución uniforme se traduce en bandas de absorción angostas en los espectros correspondientes. También puede observarse en la Tabla 3, que las longitudes de onda de la LSPR se encuentran dentro del intervalo de 500 – 600nm con una tendencia hacia el rojo al aumentar el tamaño. Todos los resultados anteriores están en acuerdo con lo reportado por Link y El-Sayed (1999); Hanske et al. (2017). La variación de tamaño de las esferas obedece a una de las ideas básicas del método de crecimiento mediado por semillas: "las condiciones de crecimiento no permiten una nucleación homogénea". Es decir, el oro en la solución de crecimiento solo puede depositarse sobre las semillas suministradas. A mayor cantidad de semillas, menor el depósito en cada una. Por su parte, el corrimiento al rojo del plasmón puede comprenderse rápidamente haciendo una analogía con el problema de la partícula en una caja: a mayor tamaño, menor la energía.

La síntesis de diferentes morfologías de NPs fue exitosa, se lograron obtener rodillos y cubos como puede corroborarse en las imágenes TEM de las Figuras 8 y 9. Los espectros de absorción de los rodillos (Figura 8B y 8D) muestran dos bandas de absorción que corresponden a los modos de resonancia transversal y longitudinal, tal y como se ha discutido en la literatura (Nikoobakht y El-Sayed, 2003; Jana et al., 2001; Chang y Murphy, 2018). Para lograr la ruptura de la simetría en el crecimiento de las NPs, los métodos aquí empleados hacen uso de dos estrategias: el uso de un agente direccionador, la Ag; y el uso de un surfactante selectivo, el CTAB. Se ha observado que la presencia de la Ag en el crecimiento de las nanopartículas de oro, favorece el crecimiento entre caras de alto índice de Miller. En el caso de los cubos se propone que el ion Cl⁻ provoca la concavidad en unión con la plata (Zhang et al., 2010). Por su parte, en el caso de los rodillos se ha propuesto que es la afinidad del CTAB la que produce un crecimiento preferencial en una dirección mientras que la plata evita la aparición de rodillos pentagemelados (Nikoobakht y El-Sayed, 2003).

De acuerdo con Scarabelli et al. (2015) la calidad de las NPs expresada en una distribución estrecha de tamaños y la homogeneidad de las morfologías está ligada a: la calidad del agua empleada, la utilización

del mismo lote de reactivos y a la limpieza del material. Los resultados respecto a la síntesis y caracterización de NPs sugieren una implementación adecuada de los diferentes métodos de síntesis. A pesar de ser resultados ampliamente reportados en la literatura y no aportan nuevo conocimiento respecto a la síntesis de NPs, la eficiente implementación de estos es necesaria, pues este trabajo comprendió desde la síntesis de las NPs hasta la obtención de los materiales porosos con respuesta plasmónica. La elección de las morfologías se basa en la comparación del efecto SERS en diferentes morfologías. Se espera que los cubos cóncavos presenten un mayor incremento del campo local por sus puntas. La variación en el tamaño de las esferas se debe a que se busca explorar la respuesta SERS con el tamaño.

En la Figura 10 se muestra la vista macroscópica de las NPs de Au concentradas. Al ser examinadas por espectroscopía UV-Vis, se encontró que el perfil de absorción era el mismo para diferentes concentraciones del mismo tipo de NPs y por lo tanto el cambio en la tonalidad y la absorción se debe a una mayor concentración de NPs. De esta forma se prueba que se logró no desestabilizar las NPs ni producir algún tipo de cambio en el tamaño durante la concentración. Este supuesto cambio de tamaño se hubiera visto como un corrimiento en la posición de la banda de absorción como describen Link y El-Sayed (1999) para las esferas, Nikoobakht y El-Sayed (2003) hacen dicha verificación para la banda longitudinal de los rodillos y Romo-Herrera et al. (2016) para los cubos. La obtención de una alta concentración de NPs es la consecuencia directa de que los métodos empleados (centrifugación y ultrafiltrado) con las condiciones expuestas permiten respetar la estabilidad de las NPs. Este resultado no es trivial. En particular, debido a que la purificación de NPs por medio de la centrifugación puede llevar con mucha facilidad a la agregación irreversible. Obtener las condiciones ideales fue un problema de ensayo y error. Estos resultados pueden servir como base para trabajar con altas concentraciones de NPs.

Los espectros FT-IR muestran la composición de la matriz polimérica, la cual corresponde con PAam. Misma que no se ve afectada por la presencia de las NPs. Sin embargo, se puede observar cualitativamente en la coloración de los geles de la Figura 15 la presencia de NPs. Para lograr la polimerización fue necesario primero encontrar un monómero y un agente entrecruzante que fueran solubles en agua y de carácter neutro. Por una parte, las NPs solo son estables en agua, cualquier intento de modificar el medio a un ambiente menos polar resulta casi inmediatamente en agregación irreversible. Por otro lado, la presencia de monómeros con carga modifica la fuerza iónica de la solución y provoca la desestabilización de las NPs. La acrilamida fue elegida como monómero y la Bis-acrilamida como agente entrecruzante pues cumplen con estas condiciones. Además de la facilidad reconocida para poder polimerizar (Mark, 1998; Kuptsov A H, 1998). Estos resultados sugieren el uso de la poliacrilamida como

una matriz ideal para dispersar NPs estabilizadas en CTAC sin necesidad de realizar modificaciones en la superficie de las NPs. La variación de las concentraciones de monómero y agente entrecruzante no fue estudiada en este trabajo, pero abren la posibilidad para futuros trabajos sobre su efecto en la matriz resultante. De acuerdo con Thoniyot et al. (2015) los nanocompositos de hidrogeles con NPs es un terreno poco explorado, donde la mayor dificultad radica en lograr preservar una distribución homogénea de las NPs, misma que las imágenes SEM muestran haber sido lograda en el presente trabajo.

Las condiciones más apropiadas para la liofilización fueron 48h de liofilización. Esto se puede observar al comparar la Figura 17B y las Figuras 17C- 17F. El proceso de liofilización consiste en la extracción del agua por medio de la sublimación, en este trabajo se liofilizó un hidrogel, material que por su naturaleza tiende a absorber una gran cantidad de agua. La liofilización de un hidrogel macroscópico para obtener un material con propiedades plasmónicas no fue encontrada en ningún trabajo en la realización del anteproyecto.

El material final obtenido puede ser considerado de baja densidad debido a que su densidad promedio (0.15g/cm^3) es menor a la del polietileno de baja densidad, la cual es de 0.855g/cm^3 . La baja densidad del material se atribuye a su estructura porosa, de acuerdo las imágenes de SEM podemos estimar un poro promedio de 200nm. La porosidad de este material lo perfila como un candidato para ser analizado como sustrato SERS. De forma cualitativa, basándonos en las imágenes SEM, se muestra una porosidad uniforme en el material. La presencia de NPs en el material es corroborada por medio de imágenes de SEM (Figura 18). Esto sugiere que las NPs se encuentran ligadas a la matriz. La naturaleza de esta unión no fue estudiada. La evidencia de respuesta plasmónica se encuentra de forma empírica en la coloración de los materiales obtenidos (Figura 17) y caracterizada por medio de los espectros de absorción obtenidos por espectroscopía UV-Vis de reflectancia difusa como los muestra la Figura 20. La respuesta plasmónica consiste en la absorción de ciertas longitudes de onda, mismo efecto que provoca la coloración en las NPs dispersas y la cual no existe en la acrilamida sin NPs. Este material podría servir como un medio plasmónico seco.

Se comprueba la hipótesis del trabajo, pues fue posible obtener un material plasmónico de baja densidad a partir de la liofilización de hidrogeles con NPs de oro inmersas. El empleo de diferentes morfologías, tamaños y concentraciones de NPs es una muestra de la flexibilidad de la metodología propuesta y desarrollada en el presente trabajo

Capítulo 7. Conclusiones

7.1. Conclusiones

Los métodos seleccionados para sintetizar las morfologías y tamaños de NPs deseadas fueron efectivos y brindan una corroboración adicional de la eficacia del método de crecimiento medidado por semillas. Como parte de este trabajo, se propuso la concentración de NPs utilizando una celda de ultrafiltrado, este método no es útil para trabajar con concentraciones mayores a 2.5 mM de oro. Sin embargo, de la misma manera que fue empleado en este trabajo, puede utilizarse como un pre-proceso para trabajar con volúmenes grandes de NPs en caso de tener una limitación en el volumen de centrifugación.

La mezcla de NPs con acrilamida y bis-acrilamida permite la formación de una solución estable a bajas temperaturas y que es polimerizable para obtener un hidrogel con NPs inmersas. El uso del agente iniciador PSA provoca la aglomeración de NPs por lo cual se sugiere el uso de un acelerador en caso de desear continuar esta ruta de trabajo. De esta forma el volumen de agente iniciador permitirá que las NPs se mantengan dispersas homogéneamente durante la polimerización. El método reportado permite obtener geles de poliacrilamida con NEs y NCCs, los cuales no se fugan del material. Sin embargo, no fue posible obtener geles con NRs. El uso de un acelerador también podría ayudar en esta reacción si se buscara una forma de encerrar NRs.

La presencia de las NPs en los geles no afectó las características de los hidrogeles: la absorción de agua y la retención de la forma. Además de que los geles pueden ser secados e hidratados sin cambio aparente en la estabilidad de las NPs, ni en sus propiedades plasmónicas (absorción de luz).

Fue posible retirar el solvente de los hidrogeles de poliacrilamida utilizando el proceso de liofilización. Los criogeles obtenidos mantienen la presencia de NPs con una distribución uniforme de NPs. Además de presentar propiedades plasmónicas, observadas en las distintas coloraciones y en los espectros de absorción. Por lo tanto, se cumplió el objetivo principal del proyecto: se obtuvieron materiales de baja densidad con respuesta plasmónica.

Literatura citada

- Abalde-Cela, S., Ho, S., Rodríguez-González, B., Correa-Duarte, M. A., Álvarez-Puebla, R. A., Liz-Marzán, L. M., y Kotov, N. A., 2009. Loading of exponentially grown LBL films with silver nanoparticles and their application to generalized SERS detection. *Angewandte Chemie - International Edition*, 48(29): 5326–5329.
- Alvarez-Puebla, R. A. y Liz-Marzán, L. M. 2010. SERS-based diagnosis and biodetection. *Small*, 6(5): 604–610.
- Aroca, R. F., Alvarez-Puebla, R. A., Pieczonka, N., Sanchez-Cortez, S., y Garcia-Ramos, J. V. 2005. Surface-enhanced Raman scattering on colloidal nanostructures. *Advances in Colloid and Interface Science*, 116(1-3): 45–61.
- Chang, H. H. y Murphy, C. J. 2018. Mini gold nanorods with tunable plasmonic peaks beyond 1000 nm. *Chemistry of Materials*, 30(4): 1427–1435.
- Dasary, S. S., Singh, A. K., Senapati, D., Yu, H., y Ray, P. C. 2009. Gold nanoparticle based label-free SERS probe for ultrasensitive and selective detection of trinitrotoluene. *Journal of the American Chemical Society*, 131(38): 13806–13812.
- Dey, A. 2018. Semiconductor metal oxide gas sensors: a review. *Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology*, 229(January): 206–217.
- Dweik, H., Sultan, W., y Sowwan, M. 2014. Analysis characterization and some properties of polyacrylamide copper complexes. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* (September 2013): 37–41.
- Gao, X., Esteves, R. J., Nahar, L., Nowaczyk, J., y Arachchige, I. U. 2016. Direct cross-linking of Au/Ag alloy nanoparticles into monolithic aerogels for application in surface-enhanced Raman scattering. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8(20): 13076–13085.
- Golightly, R. S., Doering, W. E., y Natan, M. J. 2009. Surface-enhanced Raman spectroscopy and homeland security: a perfect match? *ACS Nano*, 3(10): 2859–2869.
- Hanske, C., González-Rubio, G., Hamon, C., Formentín, P., Modin, E., Chuvilin, A., Guerrero-Martínez, A., Marsal, L. F., y Liz-Marzán, L. M. 2017. Large-scale plasmonic pyramidal supercrystals via templated self-assembly of monodisperse gold nanospheres. *Journal of Physical Chemistry C*, 121(20): 10899–10906.
- Hendel, T., Wuithschick, M., Kettemann, F., Birnbaum, A., Rademann, K., y Polte, J. 2014. In situ determination of colloidal gold concentrations with uv-vis spectroscopy: limitations and perspectives. *Analytical Chemistry*, 86(22): 11115–11124.
- Hübert, T., Boon-Brett, L., Black, G., y Banach, U. 2011. Hydrogen sensors - a review. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 157(2): 329–352.
- Jana, N. R., Gearheart, L., y Murphy, C. J. 2001. Wet chemical synthesis of high aspect ratio cylindrical gold nanorods. *Journal of Physical Chemistry B*, 105(19): 4065–4067.

- Kodiyath, R., Malak, S. T., Combs, Z. A., Koenig, T., Mahmoud, M. A., El-Sayed, M. A., y Tsukruk, V. V. 2013. Assemblies of silver nanocubes for highly sensitive SERS chemical vapor detection. *Journal of Materials Chemistry A*, 1(8): 2777–2788.
- Kuptsov A H, Zhizhin G. N. 1998. Handbook of Fourier transform Raman and infrared spectra of polymers. Elsevier.
- Larkin, P. 2011. Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation. Elsevier
- Link, S. y El-Sayed, M. A. 1999. Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B*, 103(21): 4212–4217.
- Lu, X., Rycenga, M., Skrabalak, S. E., Wiley, B., y Xia, Y. 2009. Chemical synthesis of novel plasmonic Nanoparticles. *Annual Review of Physical Chemistry*, 60(1): 167– 192.
- Mark, J. E. 1998. Polymer data handbook. Oxford University Press, primera edición.
- Nikoobakht, B. y El-Sayed, M. A. 2003. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chemistry of Materials*, 15(10): 1957–1962.
- Niu, W., Zhang, L., y Xu, G. 2013. Seed-mediated growth of noble metal nanocrystals: crystal growth and shape control. *Nanoscale*, 5(8): 3172–3181.
- Pilot, R. 2018. SERS detection of food contaminants by means of portable Raman instruments. *Journal of Raman Spectroscopy*, 49(6): 954–981.
- Piorek, B. D., Lee, S. J., Santiago, J. G., Moskovits, M., Banerjee, S., y Meinhart, C. D. 2007. Free-surface microfluidic control of surface-enhanced Raman spectroscopy for the optimized detection of airborne molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(48): 18898–18901.
- Romo-Herrera, J. M., González, A. L., Guerrini, L., Castiello, F. R., Alonso-Nuñez, G., Contreras, O. E., y Alvarez-Puebla, R. A. 2016. A study of the depth and size of concave cube Au nanoparticles as highly sensitive SERS probes. *Nanoscale*, 8(13): 7326–7333.
- Rosiak, J. M. y Yoshii, F. 1999. Hydrogels and their medical applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 151(1-4): 56–64.
- Rycenga, M., Kim, M. H., Camargo, P. H., Cobley, C., Li, Z. Y., y Xia, Y. 2009. Surface-enhanced raman scattering: comparison of three different molecules on single-crystal nanocubes and nanospheres of silver. *Journal of Physical Chemistry A*, 113(16): 3932–3939.
- Salaheldin, H. I. 2017. Comparative catalytic reduction of 4-nitrophenol by polyacrylamide-gold nanocomposite synthesized by hydrothermal autoclaving and conventional heating routes. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(4).
- Scarabelli, L., Sánchez-Iglesias, A., Pérez-Juste, J., y Liz-Marzán, L. M. 2015. A "Tips and tricks" practical guide to the synthesis of gold nanorods. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 6(21): 4270–4279.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., y Eliceiri, K. W. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*, 9(7): 671–5.
- Sharma, B., Frontiera, R. R., Henry, A. I., Ringe, E., y Van Duyne, R. P. 2012. SERS: materials, applications, and the future. *Materials Today*, 15(1-2): 16–25.

- Stiles, P. L., Dieringer, J. A., Shah, N. C., y Van Duyne, R. P. 2008. Surface-enhanced raman spectroscopy. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 1(1): 601–626.
- Sylvia, J. M., Janni, J. A., Klein, J. D., y Spencer, K. M. 2000. Surface-enhanced raman detection of 2,4-dinitrotoluene impurity vapor as a marker to locate landmines. *Analytical Chemistry*, 72(23): 5834–5840.
- Thoniyot, P., Tan, M. J., Karim, A. A., Young, D. J., y Loh, X. J. 2015. Nanoparticle–hydrogel composites: concept, design, and applications of these promising, multi-functional materials. *Advanced Science*, 2(1-2): 1–13.
- Tian, L., Chen, E., Gandra, N., Abbas, A., y Singamaneni, S. 2012. Gold nanorods as plasmonic nanotransducers: Distance-dependent refractive index sensitivity. *Langmuir*, 28(50): 17435–17442.
- Tian, L., Luan, J., Liu, K. K., Jiang, Q., Tadepalli, S., Gupta, M. K., Naik, R. R., y Singamaneni, S. 2016. Plasmonic biofoam: a versatile optically active material. *Nano Letters*, 16(1): 609–616.
- Ullah, F., Othman, M. B. H., Javed, F., Ahmad, Z., y Akil, H. M. 2015. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *materials science and engineering C*, 57: 414–433.
- Wang, C., Yin, L., Zhang, L., Xiang, D., y Gao, R. 2010. Metal oxide gas sensors: sensitivity and influencing factors. *Sensors*, 10(3): 2088–2106.
- Xia, Y., Gilroy, K. D., Peng, H. C., y Xia, X. 2017. Seed-mediated growth of colloidal metal nanocrystals. *Angewandte Chemie - International Edition*, 56(1): 60–95.
- Yang, L., Ma, L., Chen, G., Liu, J., y Tian, Z. Q. 2010. Ultrasensitive SERS detection of TNT by imprinting molecular recognition using a new type of stable substrate. *Chemistry - A European Journal*, 16(42): 12683–12693.
- Yang, P., Zheng, J., Xu, Y., Zhang, Q., y Jiang, L. 2016. Colloidal synthesis and applications of plasmonic metal nanoparticles. *Advanced Materials*, 28(47): 10508–10517.
- Zhang, J., Langille, M. R., Personick, M. L., Zhang, K., Li, S., y Mirkin, C. A. 2010. Concave cubic gold nanocrystals with high-index facets. *Journal of the American Chemical Society*, 132(40): 14012–14014.

Anexo

Reactivos utilizados

Reactivos comunes a todas las síntesis de AuNPs:

- Ácido cloroaúrico trihidratado ($HAUCL_4 \cdot 3H_2O$), $\geq 99.9\%$, Sigma-Aldrich.
- Ácido L-ascórbico (*ac.asc.*), $\geq 95\%$, Sigma
- Borohidruro de sodio ($NaBH_4$), $\geq 96\%$, Fluka.

AuNEs

- Cloruro de hexadeciltrimetilamonio (CTAC, por sus siglas en inglés *Cetyl Trimethyl Ammonium Chloride*), $\geq 95\%$, Sigma-Aldrich.
- Hipoclorito de sodio ($NaClO$), 10 – 15 % clorito disponible, Sigma.

AuNCCs

- Cloruro de hexadeciltrimetilamonio (CTAC), $\geq 95\%$, Sigma-Aldrich.
- Nitrato de plata ($AgNO_3$), $\geq 99.0\%$, Sigma.

AuNRs

- Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB, por sus siglas en inglés *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*), $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich.
- Nitrato de plata ($AgNO_3$), $\geq 99\%$, Sigma.

Geles de PAam

- Acrilamida, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich
- Bis-acrilamida, 99%, Sigma-Aldrich
- Persulfado de amonio (PSA), $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich.
- N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED), $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich.