Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Físicas
Escuela Profesional de Física

Caracterización de nanopartículas de Au por espectrofotometría UV-Vis, dispersión dinámica de la luz y potencial Z

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Física

AUTOR

Henry Daniel LIZANA SEGAMA

ASESOR

Dr. Juan Adrián RAMOS GUIVAR

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Lizana, H. (2024). *Caracterización de nanopartículas de Au por espectrofotometría UV-Vis, dispersión dinámica de la luz y potencial Z*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas, Escuela Profesional de Física]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Henry Daniel Lizana Segama
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70299068
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-3168-6565
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Juan Adrián Ramos Guivar
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46209587
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3293-7255
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Moisés Humberto García Santiváñez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09426075
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Ana María Osorio Anaya
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08633698
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Erich Victor Manrique Castillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09608122

Datos de investigación	
Línea de investigación	A.2.1.5. Propiedades Estructurales de las Nanopartículas
Grupo de investigación	Nanotecnología Aplicada para Biorremediación Ambiental, Energía, Biomedicina y Agricultura - NANOTECH
Agencia de financiamiento	Perú. Ministerio de Educación (MINEDU). Programa de Proyecto Interdisciplinario para el Fomento de la Cooperación Interinstitucional en Investigación e Innovación - Política Nacional de Educación Superior Técnico Productiva (PNESTP-MINEDU) - 2021. Código B2113002i. R.R. N° 009412-2021-R/UNMSM.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Físicas País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Latitud: -12.059126864459323 Longitud: -77.081290370876400
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Agosto 2023 - marzo 2024
URL de disciplinas OCDE	2.10.01 – Nano - materiales https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.10.01

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN FÍSICA

Siendo las 16:00 horas del Jueves 03 de octubre de 2024, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Físicas (Auditorio 109), bajo la Presidencia del Mg. Moisés Humberto García Santiváñez (Presidente), Mg. Ana María Osorio Anaya (Miembro Titular), Dr. Juan Adrián Ramos Guivar (Asesor) y el Mg. Erich Victor Manrique Castillo (Miembro Suplente), se dió inicio a la Sesión Pública de Sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Física, del Bachiller:

HENRY DANIEL LIZANA SEGAMA

Dando lectura al Resumen del Expediente, el Presidente del Jurado, invitó al Bachiller Henry Daniel Lizana Segama a realizar una exposición del Trabajo de Tesis titulado: "Caracterización de nanopartículas de Au por espectrofotometría UV-Vis, dispersión dinámica de la luz y potencial Z".

Concluida la exposición del candidato y luego de las preguntas de rigor por parte del Jurado, el Presidente, invitó al Bachiller y al público a abandonar momentáneamente la Sala de Sesión, para dar paso a la deliberación y calificación por parte del Jurado.

Al término de la deliberación del Jurado el Mg. Moisés Humberto García Santiváñez, invitó al candidato y al público a pasar a la Sala de Sesión, para dar lectura al resultado de la deliberación. Ha obtenido la calificación de:

18	Dieciocho	Aprobado con honores
(NÚMERO)	(LETRAS)	(MENCIÓN)

Finalmente, el Presidente del Jurado, propone al consejo de la Facultad que se le declare Licenciado en Física al Bachiller Henry Daniel Lizana Segama. Siendo las 17:21 horas, se levanta la sesión.

Mg. Moisés Humberto García Santiváñez
PRESIDENTE

Mg. Ana María Osorio Anaya
MIEMBRO TITULAR

Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

Dr. Juan Adhan Ramos Quivar
ASESOR

Mg. Erich Victor Manrique Castillo
MIEMBRO SUPLENTE

Dirección: Calle Germán Amézaga N.° 375 - Lima
Facultad de Ciencias Físicas
Apartado Postal: 14-0149 – Lima 14 Perú

Escuela Profesional de Física
6197000 Anexo 3805
E-mail eapfis@unmsm.edu.pe

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

CALIFICACIÓN DEL JURADO

HENRY DANIEL LIZANA SEGAMA

SUSTENTACIÓN DE TESIS

"Caracterización de nanopartículas de Au por espectrofotometría UV-Vis, dispersión dinámica de la luz y potencial Z"

JURADO CALIFICADOR	NOTA	FIRMA
Mg. Moisés Humberto García Santiváñez PRESIDENTE	17	
Mg. Ana Maria Osorio Anaya MIEMBRO PRINCIPAL	17	
Dr. Juan Adrián Ramos Guivar ASESOR	19	
Mg. Erich Victor Manrique Castillo MIEMBRO SUPLENTE	19	
PROMEDIO FINAL	18	

CONDICIÓN :

HORA : 16:00 horas

FECHA : Jueves 03 de octubre de 2024

Dirección: Calle Germán Amézaga N.º 375 - Lima
Facultad de Ciencias Físicas
Apartado Postal: 14-0149 – Lima 14 Perú

Escuela Profesional de Física
6197000 Anexo 3805
E-mail eapfis@unmsm.edu.pe

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Juan Adrian Ramos Guivar en mi condición de asesor acreditado con el Acuerdo de Comité de Gestión N°121-EPF-FCF-24 de la tesis de Licenciatura, cuyo título es **Caracterización de nanopartículas de Au por espectrofotometría UV-Vis, dispersión dinámica de la luz y potencial Z**, presentado por el bachiller Henry Daniel Lizana Segama para optar el título de Licenciado en Física CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 8% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título correspondiente.



Firma del Asesor _____

DNI: 46209587

Nombres y apellidos del asesor: Juan Adrian Ramos Guivar



Resumen

Caracterización de nanopartículas de Au por espectrofotometría UV-Vis, dispersión dinámica de la luz y potencial Z

por Henry Daniel **LIZANA SEGAMA**

Esta tesis de licenciatura aborda la caracterización de las nanopartículas de oro (AuNPs) mediante diferentes técnicas para conocer sus propiedades físicas. La espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis), que permitió confirmar la presencia de las AuNPs evaluando la banda de absorbancia máxima. La dispersión dinámica de la luz (DLS) proporcionó información sobre el diámetro hidrodinámico y su polidispersidad, mientras que el potencial zeta (PZ) evaluó la estabilidad coloidal. Las muestras caracterizadas se sintetizaron por el método de reducción química, explorando y aclarando diversos parámetros experimentales antes, durante y después del proceso, como la concentración del agente precursor, temperatura de reacción, pH de la solución, velocidad de agitación magnética y tiempo de síntesis. Además, se investigó detalladamente la influencia de la concentración del ácido tetracloroaúrico, $HAuCl_4 \bullet 3H_2O$ en el tamaño, forma y estabilidad coloidal de las AuNPs. También se evaluó el efecto de diferentes agentes reductores orgánicos e inorgánicos. Se usó el borohidruro de sodio, $NaBH_4$, como reductor fuerte a altas concentraciones y sin estabilizador. Así como también el ácido ascórbico con el ácido cítrico, $C_6H_8O_6$ y $C_6H_8O_7$ respectivamente, como reductores moderados con propiedades estabilizantes tipo ligando. Finalmente, el bromuro de hexadeciltrimetilamonio, CTAB, como un surfactante catiónico que se adsorbe en la superficie de las AuNPs. Además, se realizó un monitoreo a través del tiempo durante treinta días para evaluar la estabilidad coloidal (sedimentación y aglomeración) a largo plazo de las AuNPs. Este aspecto es esencial para comprender su comportamiento a lo largo del tiempo y garantizar su viabilidad en aplicaciones biocompatibles y toxicológicas.

Abstract

Characterization of Au nanoparticles by UV-Vis spectrophotometry, dynamic light scattering and Z-potential

by Henry Daniel **LIZANA SEGAMA**

This undergraduate thesis focuses on the characterization of gold nanoparticles (AuNPs) using various techniques to assess their physical properties. Ultraviolet-visible spectrophotometry (UV-Vis) confirmed the presence of AuNPs by evaluating the maximum absorbance band. Dynamic light scattering (DLS) provided information on the hydrodynamic diameter and polydispersity, while zeta potential (ZP) assessed the colloidal stability. The characterized samples were synthesized using the chemical reduction method, exploring and clarifying various experimental parameters before, during, and after the process, such as precursor concentration, reaction temperature, solution pH, magnetic stirring speed, and synthesis time. The influence of the concentration of tetrachloroauric acid, $HAuCl_4 \bullet 3H_2O$, on the size, shape, and colloidal stability of AuNPs was also investigated in detail. The effect of different organic and inorganic reducing agents was evaluated. Sodium borohydride, $NaBH_4$, was used as a strong reducer at high concentrations without a stabilizer, while ascorbic acid and citric acid, $C_6H_8O_6$ and $C_6H_8O_7$ respectively, were used as moderate reducers with ligand-like stabilizing properties. Additionally, hexadecyltrimethylammonium bromide, CTAB, was used as a cationic surfactant that adsorbs on the surface of the AuNPs. A time-dependent monitoring was performed over thirty days to evaluate the long-term colloidal stability (sedimentation and aggregation) of the AuNPs. This aspect is crucial to understand their behavior over time and ensure their viability in biocompatible and toxicological applications.

Agradecimientos

Agradezco al PROYECTO INTERDISCIPLINARIO-MINEDU 2021 con código N° B2113002i aprobado con Resolución rectoral 009412-R-21, que, por medio del Vicerrectorado de investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, hizo posible el financiamiento de la presente tesis de licenciatura.

Agradezco sinceramente al equipo de trabajo del Laboratorio 405, Grupo de Investigación NANOTECH. A mi asesor, el Dr. Juan Adrián Ramos Guivar, por su dedicación y orientación a lo largo de este proyecto de investigación. Sus valiosos consejos y comentarios constructivos fueron fundamentales para mi investigación y mejorar la calidad de este trabajo. De igual forma a la Lic. Mayra Arias Contreras, Lic. Vicente Alca Ramos y el Lic. Freddy Mendoza Villa por apoyarme y capacitarme en el uso de los equipos de laboratorio durante la elaboración de esta investigación.

Quiero agradecer a mi familia por su apoyo y comprensión, los cuales han sido esenciales para continuar con mi carrera. A mi madre, Eugenia Segama Rojas, le agradezco profundamente por su sacrificio y por siempre creer en mí, y a mi padre Julio Lizana Huaira y a mis hermanos, Lucía Lizana Segama y Ryder Lizana Segama, por ser un ejemplo de vida y superación. A Rocío Garcia Flores por acompañarme y apoyarme en todo este viaje de superación.

Índice general

Resumen I

Abstract II

Agradecimientos III

Índice general IV

Índice de figuras VI

Índice de tablas IX

Abreviaciones X

1. Introducción 1
- 1.1. Antecedentes . . . 1
- 1.2. Objetivos . . . 4
  - 1.2.1. Objetivo general . . . 4
  - 1.2.2. Objetivos específicos . . . 4
- 1.3. Planteamiento del problema . . . 5
- 1.4. Hipótesis general . . . 5

2. Marco teórico y técnicas experimentales 7
- 2.1. Nanomateriales . . . 7
  - 2.1.1. Clasificación . . . 8
  - 2.1.2. Nanopartículas de oro (AuNPs) . . . 9
    - 2.1.2.1. Resonancia del plasmón de la superficie (SPR) . . . 10
- 2.2. Métodos de síntesis de las AuNPs . . . 11
  - 2.2.1. Método de reducción química . . . 13
- 2.3. Técnicas de caracterización de las AuNPs . . . 13
  - 2.3.1. Espectrofotometría ultravioleta visible (UV-Vis) . . . 15
    - 2.3.1.1. Diámetro físico . . . 16
  - 2.3.2. Dispersión dinámica de la luz (DLS) . . . 17
    - 2.3.2.1. Diámetro hidrodinámico . . . 19
  - 2.3.3. Potencial zeta (PZ) . . . 20

2.3.3.1. Estabilidad coloidal 20

3. Metodología **22**
3.1. Síntesis de las AuNPs mediante el método de reducción química 23
3.1.1. Preparación de soluciones 25
3.1.2. Síntesis de las AuNPs usando $NaBH_4$ 32
3.1.3. Síntesis de las AuNPs usando $C_6H_8O_6$ 33
3.1.4. Síntesis de las AuNPs usando $C_6H_8O_7$ y $NaBH_4$ 33
3.1.5. Síntesis de las AuNPs usando $C_{19}H_{42}BrN$ y $NaBH_4$ 34
3.2. Caracterización de las AuNPs 35
3.2.1. Medición de la banda de absorbancia máxima por UV-Vis 36
3.2.2. Medición de diámetro hidrodinámico y polidispersidad por DLS 37
3.2.3. Medición de la estabilidad coloidal por PZ 40

4. Resultados y Discusiones **41**
4.1. Evaluación de las técnicas UV-Vis, DLS y PZ en el efecto de la concentraciones del $HAuCl_4$ en las propiedades físicas de las AuNPs 41
4.1.1. Evaluación de las AuNPs usando $NaBH_4$ 41
4.1.2. Evaluación de las AuNPs usando $C_6H_8O_6$ 44
4.1.3. Evaluación de las AuNPs usando $C_6H_8O_7$ y $NaBH_4$ 47
4.1.4. Evaluación de las AuNPs usando $C_{19}H_{42}BrN$ y $NaBH_4$ 50
4.2. Evaluación de la reproducibilidad de las mejores muestras por las técnicas UV-Vis, DLS y PZ 53
4.3. Monitoreo a través del tiempo para cada muestra 56
4.3.1. El efecto de envejecimiento (*aging effect*) en las propiedades físicas de las AuNPs 66
4.4. Comparación del diámetro físico y el diámetro hidrodinámico de las AuNPs . 67

5. Conclusiones **69**

Bibliografía **72**

Anexo A. Resultados originales UV-Vis, DLS y PZ para cada muestra **79**

Anexo B. Ajuste UV-VIS con Origin9 para cada muestra **94**

Índice de figuras

2.1. Integración a nanoescala de NPs y biomoléculas. *Figura tomada de [1] y adaptada al castellano por el autor.* 8
2.2. Esquema que ilustra las dimensiones de las nanopartículas con ejemplos de cada categoría. *Figura tomada de [2] y adaptada al castellano por el autor.* . . . 9
2.3. Esquema representativo de los ensamblajes y morfologías de NPs de oro más comunes. *Figura tomada de [3] y adaptada al castellano por el autor.* 10
2.4. Representación esquemática de la banda de resonancia de plasmón superficial (SPR) en NPs plasmónicas esféricas (A) y en forma de varilla (B). *Figura tomada de [4] y adaptada al castellano por el autor.* 11
2.5. Ilustración del enfoque de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba para fabricar NPs. *Figura tomada de (Wang y cols., 2023) y adaptada al castellano por el autor.* 12
2.6. Diferentes rutas para la fabricación de las AuNPs. *Figura tomada de [5] y adaptada al castellano por el autor.* 12
2.7. Método de reducción química: un protocolo detallado paso a paso de cómo las sales metálicas se pueden convertir en NP mediante pasos de reacción química . *Figura tomada de (Krishna y cols., 2021) y adaptada al castellano por el autor.* 13
2.8. Propiedades físicas como el diámetro físico D_F, diámetro hidrodinámico D_H y el potencial zeta de las AuNPs. *Figura tomada de [6] y adaptada al castellano por el autor.* 14
2.9. Banda de absorción UV-Vis de las AuNPs; donde ancho máximo a media altura (del inglés Full Width at Half Maximum, FWHM) indican monodispersidad y polidispersidad de las NPs . *Figura tomada de [7] y adaptada al castellano por el autor.* 15
2.10. Espectros de absorción UV-Vis de las AuNPs con diferentes formas: esferas, varillas, flores, prisma, estrellas. *Figura tomada de [8] y adaptada al castellano por el autor.* 16
2.11. Datos experimentales de diámetros promedio de oro y de modelos de ajuste en función del pico de absorción máximo de luz, λ_{max}. *Figura tomada de [9] y adaptada al castellano por el autor.* 17
2.12. Proceso de medición de la dispersión dinámica de la luz para obtener la distribución del tamaño de las partículas. *Figura tomada de [10] y adaptada al castellano por el autor.* 18
2.13. Medición DLS de las AuNPs. *Figura tomada de [11] y adaptada al castellano por el autor.* 19
2.14. Esquema cualitativo de la variación del potencial zeta con el pH. *Figura tomada de [6] y adaptada al castellano por el autor.* 20

3.1. Campana extractora marca BIOBASE ubicado en NANOTECH. 23
3.2. Materiales de vidrio para el proceso de síntesis de AuNPs. 24

3.3. Equipos usados para el proceso de síntesis de AuNPs 24
3.4. Fotos representativas de los reactivos usados para las síntesis. 26
3.5. Medición de la masa en mg del agente precursor $HAuCl_4 \bullet 3H_2O$ usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución stock de $HAuCl_4$ (derecha). 28
3.6. Medición de la masa en mg del agente reductor $NaBH_4$ usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución de $NaBH_4$ (derecha). . . . 29
3.7. Medición de la masa en mg del agente reductor $C_6H_8O_6$ usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución de $C_6H_8O_6$ (derecha). . . . 30
3.8. Medición de la masa en mg del agente reductor $C_6H_8O_7$ usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución de $C_6H_8O_7$ (derecha). . . . 31
3.9. Medición de la masa en mg del agente estabilizador CTAB usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución de CTAB (derecha). 32
3.10. Proceso de síntesis de las AuNPs utilizando $NaBH_4$. *Figura realizada por el autor.* 32
3.11. Proceso de síntesis de las AuNPs utilizando $C_6H_8O_6$. *Figura realizada por el autor.* 33
3.12. Proceso de síntesis de las AuNPs utilizando $C_6H_8O_7$ y $NaBH_4$. *Figura realizada por el autor.* 34
3.13. Proceso de síntesis de las AuNPs utilizando CTAB y $NaBH_4$. *Figura realizada por el autor.* 35
3.14. Medición en el equipo UV-VIS (izquierda) y el equipo DLS (derecha). 35
3.15. Software para análisis de datos Origin9 36
3.16. Espectrofotómetro UV-Vís marca AVANTES 37
3.17. Reporte original de UV-VIS del software AvaSoft 8.14. 37
3.18. Equipo DLS marca Brookhaven Instruments. 38
3.19. Reporte original de DLS del software Particle Solutions V3.6. 39
3.20. Reporte original de PZ del software Particle Solutions V3.6. 40

4.1. Viales de vidrio con las AuNPs utilizando $NaBH_4$. (H1) $[HAuCl_4]$ = 0,125 mM, (H2) $[HAuCl_4]$ = 0,250 mM y (H3) $[HAuCl_4]$ = 0,500 mM. 42
4.2. Efectos de la concentración del agente precursor las muestras H1, H2 y H3. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha). 43
4.3. Viales de vidrio con las AuNPs utilizando $C_6H_8O_6$. (H4) $[HAuCl_4]$ = 0,125 mM, (H5) $[HAuCl_4]$ = 0,250 mM y (H6) $[HAuCl_4]$ = 0,500 mM. 45
4.4. Efectos de la concentración del agente precursor las muestras H4, H5 y H6. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha). 46
4.5. Viales de vidrio con las AuNPs utilizando $C_6H_8O_7$ y $NaBH_4$. (H7) $[HAuCl_4]$ = 0,125 mM, (H8) $[HAuCl_4]$ = 0,250 mM y (H9) $[HAuCl_4]$ = 0,500 mM. . . 48
4.6. Efectos de la concentración del agente precursor las muestras H7, H8 y H9. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha). 49
4.7. Viales de vidrio con las AuNPs utilizando CTAB y $NaBH_4$. (H10) $[HAuCl_4]$ = 0,125 mM, (H11) $[HAuCl_4]$ = 0,250 mM y (H12) $[HAuCl_4]$ = 0,500 mM. . 50
4.8. Efectos de la concentración del agente precursor las muestras H10, H11 y H12. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha). 52
4.9. Viales de vidrio con las AuNPs de las muestras más estables. (H7b) Réplica de la muestra H7, (H10b) réplica de la muestra H10. 53
4.10. Comparación de las muestras H7b y H7. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha). 54

4.11. Comparación de las muestras H10b y H10. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha). 55
4.12. Monitoreo de 30 días para la muestra H1-H2-H3. 57
4.13. Monitoreo de 30 días para la muestra H4-H5-H6. 58
4.14. Monitoreo de 30 días para la muestra H7. 59
4.15. Monitoreo de 30 días para la muestra H8. 60
4.16. Monitoreo de 30 días para la muestra H9. 61
4.17. Monitoreo de 30 días para la muestra H10. 62
4.18. Monitoreo de 30 días para la muestra H11. 63
4.19. Monitoreo de 30 días para la muestra H12. 64
4.20. Monitoreo de 30 días para la muestra H7b. 65
4.21. Monitoreo de 30 días para la muestra H10b. 66

1. Resultados originales para la muestra H1. 80
2. Resultados originales para la muestra H2. 81
3. Resultados originales para la muestra H3. 82
4. Resultados originales para la muestra H4. 83
5. Resultados originales para la muestra H5. 84
6. Resultados originales para la muestra H6. 85
7. Resultados originales para la muestra H7. 86
8. Resultados originales para la muestra H8. 87
9. Resultados originales para la muestra H9. 88
10. Resultados originales para la muestra H10. 89
11. Resultados originales para la muestra H11. 90
12. Resultados originales para la muestra H12. 91
13. Resultados originales para la muestra H7b. 92
14. Resultados originales para la muestra H10b. 93

15. Ajuste UV-VIS a la muestra H1. 94
16. Ajuste UV-VIS a la muestra H2. 95
17. Ajuste UV-VIS a la muestra H3. 96
18. Ajuste UV-VIS a la muestra H4. 97
19. Ajuste UV-VIS a la muestra H5. 97
20. Ajuste UV-VIS a la muestra H6. 98
21. Ajuste UV-VIS a la muestra H7. 98
22. Ajuste UV-VIS a la muestra H8. 99
23. Ajuste UV-VIS a la muestra H9. 99
24. Ajuste UV-VIS a la muestra H10. 100
25. Ajuste UV-VIS a la muestra H11. 100
26. Ajuste UV-VIS a la muestra H12. 101
27. Ajuste UV-VIS a la muestra H7b. 101
28. Ajuste UV-VIS a la muestra H10b. 102

Índice de tablas

2.1. Resumen de métodos para calcular el diámetro físico de las AuNPs [12][13][14]. 17

3.1. Concentraciones de los reactivos para cada síntesis de las AuNPs. $NaBH_4$: Agente reductor inorgánico, $C_6H_8O_6$: agente reductor orgánico, $C_6H_8O_7$: agente reductor orgánico, CTAB: surfactante estabilizador. 25

4.1. Resumen de las muestras H1, H2 y H3 en función a la concentración del agente precursor. 44
4.2. Resumen de las muestras H4, H5 y H6 en función a la concentración del agente precursor. 47
4.3. Resumen de las muestras H7, H8 y H9 en función a la concentración del agente precursor. 50
4.4. Resumen de las muestras H10, H11 y H12 en función a la concentración del agente precursor. 52
4.5. Comparación de las muestras H7 y H7b. 55
4.6. Comparación de las muestras H10 y H10b. 56
4.7. Datos de las muestras con longitud de onda máxima ($\lambda_{máx}$), díametro físico (D_F) para tres métodos y diámetro hidrodinámico (D_H). 68

Abreviaciones

NMs	**N**anomateriales
NP	**N**anopartícula
NPs	**N**anopartículas
AuNPs	**N**anopartículas de oro
UV-Vis	**E**spectrofotometría ultravioleta - visible
DLS	**D**ispersión dinámica de la luz
PZ	**P**otencial zeta

«La vida es y siempre seguirá siendo una ecuación incapaz de resolver, pero tiene ciertos factores que conocemos»

Nikola Tesla

Capítulo 1

Introducción

Este capítulo se centra en la revisión exhaustiva de antecedentes y estudios del arte relacionados con la síntesis de las AuNPs a nivel internacional, regional y nacional. Se explorarán las metodologías, técnicas y resultados obtenidos en diversas investigaciones, permitiendo identificar las tendencias, desafíos y avances más significativos en este campo. El objetivo general de este trabajo de licenciatura es contribuir al conocimiento actual mediante la implementación de una metodología específica para la síntesis controlada de las AuNPs, con énfasis en la caracterización física y los parámetros cruciales para la síntesis. Los objetivos específicos incluyen la revisión crítica de las estrategias sintéticas existentes, la selección y justificación de la metodología a emplear, la síntesis efectiva de nanopartículas (NPs) bajo condiciones controladas y la caracterización detallada de las propiedades estructurales y ópticas de los nanomateriales (NMs) obtenidos. Este estudio busca abordar el planteamiento del problema relacionado con la necesidad de desarrollar un método reproducible y eficiente para la síntesis de las AuNPs mediantes diferentes técnicas de caracterización, considerando la variabilidad de resultados encontrada en la literatura y la importancia de obtener NMs de alta calidad para aplicaciones específicas en el ámbito de la física y la nanotecnología.

1.1. Antecedentes

A nivel internacional en Europa y Asia se ha desarrollado mayor conocimiento sobre la nanotecnología en sistemas coloidales metálicos, en este caso en Austria se prepararon las AuNPs esféricas de 18 nm y 56 nm con síntesis de reducción de Turkevich utilizando dos reductores comunes, citrato de trisódico (Na_3Cit) y ácido ascórbico (AA), en diversas relaciones molares. En ambos procedimientos, el material de vidrio utilizado para la síntesis se limpió con agua regia ($HCl \bullet HNO_3 = 4{:}1$). Para la síntesis de las AuNPs cubiertas con citrato, se calentaron 5 mL de ácido cloroaúrico ($HAuCl_4$) con una concentración de 0,25 mM a 100

°C con agitación constante en un agitador magnético y diferentes volúmenes de Na_3Cit 34 mM fueron adicionados. La síntesis se consideró completa cuando el color de la suspensión dejó de cambiar; la suspensión se enfrió hasta temperatura ambiente (RT, del inglés room temperature). Para la síntesis con AA, se mezclaron 5 mL de $HAuCl_4$ 0,5 mM con diferentes cantidades de AA 0,1 M y se agitaron en un agitador magnético a temperatura ambiente. Además para el tratamiento de heridas se investigó en condiciones in vitro el efecto del pH y la concentración de iones en los cambios de las AuNPs en términos de potencial zeta, tendencia a la aglomeración y SPR, se dispersaron partículas en soluciones acuosas de HCl/NaCl y sistemas tampón [15].

En Polonia han demostrado que no sólo el citrato sino también otros α-hidroxicarboxilatos son capaces de reducir iones de oro (Au) a átomos de Au(0). Se añadió una muestra de 3 mL de $HAuCl_4$ acuoso (5 mM) a un matraz de 250 mL que contenía 54 mL de agua a temperatura ambiente. La solución se llevó a ebullición mientras se agitaba magnéticamente (400 rpm) y luego se agregaron 3 mL de solución de agente reductor 0,02 M (sal de ácido α- o β-hidroxicarboxílico). La reacción se llevó a cabo hasta que la solución se volvió de color rojo y su color permaneció sin cambios durante los siguientes 5 min. Sin embargo, solo los α-hidroxicarboxilatos con una estructura molecular similar a la del citrato y que dan un producto de oxidación similar en el primer paso de la reducción pueden usarse en la síntesis de las AuNPs cuasi esféricas y mono dispersas. Al aplicar las condiciones estándar del método Turkevich, las AuNPs con diámetros medios más pequeños o grandes que los del citrato y una alta estabilidad similar pueden sintetizarse de manera reproducible simplemente mediante un cambio de agente reductor. Los otros α-hidroxicarboxilatos estudiados, también redujeron el $HAuCl_4$ hasta obtener las AuNPs; sin embargo, las partículas obtenidas tenían una distribución de tamaño multimodal o poseían formas irregulares y eran relativamente grandes [16].

También en Arabia Saudita sintetizaron las AuNPs mediante la aplicación de bromelina y las AuNPs cargadas con ceftriaxona (CGNP) esféricas con un promedio de 52 y 95 nm respectivamente, donde la bromelina y ceftriaxona actúan como agente reductor y estabilizante. Se realizó a temperaturas de 30 °C, 40 °C, 50 °C y 60 °C agregando ceftriaxona en concentraciones de 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL a 1 mL mezcla de reacción e incubaron durante 48 h. Sin embargo, la mezcla de reacción consistía en $HAuCl_4$ 1 mM en tampón fosfato 50 mM a pH 7,4. Las CGNP sintetizadas actuaron como una herramienta eficaz para administrar ceftriaxona a las cepas bacterianas analizadas y mejoraron notablemente la potencia de la ceftriaxona [17].

Por otro lado, investigadores de Estados Unidos y Sudáfrica produjeron las AuNPs cuasi esféricas y coloidalmente estables sobre la base de una mezcla rápida a temperatura ambiente de soluciones acuosas de $HAuCl_4$ y un diácido oxocarbonado cíclico (ácido escuárico, SA; ácido crocónico, CA; o ácido rodizónico, SR) o ácido ascórbico (AA) como agente doble

reductor y bloqueador. Aunque estos agentes reductores generalmente produjeron partículas más grandes que las obtenidas del método clásico de Turkevich (usando citrato en agua hirviendo) y lograron una menor uniformidad del tamaño de las NPs (es decir, 30,4 ± 8,6, 33,1 ± 9,3, 29,9 ± 6,3 y 29,7 ± 7,6 nm para SA, AA, CA y SR, respectivamente, en comparación con 15,8 ± 3,7 nm para citrato), el método es versátil y excepcionalmente conveniente, ya que las AuNPs monodispersas se pueden preparar "a pedido" en cuestión de segundos simplemente mezclándolas [18].

En México se realizó síntesis de las AuNPs a partir de recubrimientos de oro recuperados de procesadores de desechos electrónicos. Es posible disolver 2 mg de recubrimientos de oro recuperados de procesadores Intel Pentium-4 utilizando sólo 10 mL de ácido clorhídrico (HCl) 10 % v/v (1,21 mol L^{-1}) y 50 µL de ácido nítrico (HNO_3) concentrado (0,08 mol L^{-1}) mediante un método de calentamiento convencional. El tamaño y la forma del oro afectan las condiciones de disolución de los recubrimientos de oro. Las bajas cantidades de ácidos utilizados tienen varias ventajas sobre los métodos con agua regia, cloro gaseoso y HNO_3 con diferentes sales mencionadas anteriormente. Por ejemplo, cero emisiones de dióxido de nitrógeno (NO_2(g)) debido a las trampas del agua oxigenada (H_2O_2), lo que permite la recuperación de HNO_3; fácil separación de las capas de oro debido a su densidad; el posible uso de nitrato de cobre ($Cu(NO_3)_2$) en otros procesos; la recuperación de estaño (Sn) como dióxido de estaño (SnO_2), que puede utilizarse como semiconductor; sin generar residuos. Además, el $HAuCl_4$ sintetizado mostró la pureza necesaria para la síntesis de las AuNPs, con tamaños y formas similares a las obtenidas con un reactivo comercial $HAuCl_4$ [19].

De igual manera en Brasil las AuNPs se sintetizaron utilizando el método Turkevich. Este proceso implica la reducción de tetracloroaurato de sodio ($NaAuCl_4$) 0,125 mol L^{-1} utilizando citrato de sodio ($Na_3C_6H_57_4$) 10 mg mL^{-1} a altas temperaturas. Posteriormente, se agregaron 420 µL de $NaAuCl_4$ a 94,6 mL de agua desionizada y la solución se agitó y calentó a 90 °C. Cuando se alcanzó la temperatura requerida, se agregaron rápidamente 5 mL de $Na_3C_6H_57_4$. Se realizó agitación y calentamiento a 90 °C durante 20 min. El color de la suspensión cambió de amarillo claro a gris y luego a rojo, lo que indica la formación de las AuNPs. Luego, la suspensión de las AuNPs se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente y se mantuvo a 4 °C [20]. Los agentes reductores fueron citrato trisódico dihidrato ($Na_3C_6H_5O_7 \bullet 2H_2O$) y borohidruro de sodio ($NaBH_4$), el precursor de oro ($HAuCl_4$) se mantuvo a 2,5 × 10^{-4} M, y diferentes porcentajes de agente reductor ($Na_3C_6H_5O_7$ y $NaBH_4$) se sintetizaron según el siguiente procedimiento experimental: Se añadió citrato trisódico a la solución precursora de oro a 100 °C y se añadió borohidruro en un baño de hielo (0 °C). La solución se mantuvo bajo agitación magnética de 200 rpm [7].

En Trujillo, se realizó un estudio sobre la influencia del campo magnético aplicado tras la síntesis en coloides que contienen AuNPs obtenidas mediante el método de ablación láser en agua destilada, utilizando longitudes de onda de 532 nm y 1064 nm para la irradiación

láser. Se ha observado que el efecto del campo magnético externo posterior a la síntesis de las AuNPs varía según la longitud de onda utilizada durante la irradiación. En el caso de la irradiación a 532 nm, no se detectaron cambios significativos en la morfología de las NPs, aunque se registró un incremento en su tamaño debido a la agregación. En contraste, la irradiación láser a 1064 nm resultó en modificaciones tanto en la forma como en el tamaño de las NPs [21].

Investigadores en Lima llevaron a cabo una evaluación del proceso cinético de crecimiento de las AuNPs en condiciones extremas, utilizando como reductor fuerte el sulfito de potasio (K_2SO_3) en altas concentraciones y sin la presencia de estabilizadores. Además, se empleó un reductor moderado, el ácido ascórbico, que posee propiedades estabilizantes de tipo ligando [9]. Asimismo, se llevaron a cabo optimizaciones en las condiciones de síntesis de las AuNPs con tres morfologías distintas: cajas, cubos y prismas triangulares. Para lograr esto, se utilizaron tres métodos de síntesis que se basan en la reducción de ácido cloroáurico. El primer método se aplica para la síntesis de nanocajas mediante el reemplazo galvánico de nanocubos de plata que se preparan a través del método del poliol. En el segundo método, se emplea el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) como estabilizante, variando la concentración de los reactivos para obtener diferentes morfologías, como cubos o triángulos. El último enfoque se destina a lograr morfologías de prismas triangulares, utilizando únicamente tiosulfato como reductor y estabilizante [22].

1.2. Objetivos

A continuación, se presentan el objetivo general y los objetivos específicos.

1.2.1. Objetivo general

- Caracterizar las propiedades físicas de las AuNPs utilizando las técnicas de UV-Vis, DLS y PZ sintetizadas con diferentes agentes reductores orgánicos e inorgánicos.

1.2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar las AuNPs a través de la reducción química empleando diferentes agentes reductores ($NaBH_4$, $C_6H_8O_6$, $C_6H_8O_7$) y el surfactante ($C_{19}H_{42}BrN$).
- Evaluar las técnicas de caracterización UV-Vis, DLS y PZ en el efecto de la concentración del agente precursor ($HAuCl_4$) en las propiedades físicas de las AuNPs.

- Reproducir y evaluar las propiedades físicas de las AuNPs con menor tamaño, la menor polidispersidad y la mayor estabilidad coloidal utilizando las técnicas de UV-Vis, DLS y PZ para así poder asegurar la consistencia de los resultados obtenidos.
- Realizar el monitoreo a través del tiempo para las AuNPs utilizando las técnicas de UV-Vis, DLS y PZ para evaluar la estabilidad de sus propiedades físicas durante un periodo de 30 días.

1.3. Planteamiento del problema

En el avance de la nanotecnología, las AuNPs se han consolidado como un área de gran interés debido a sus propiedades físicoquímicas únicas. Estas NPs exhiben características destacadas, como biocompatibilidad, resistencia a la corrosión y propiedades ópticas y electrónicas que dependen de su tamaño y forma. Estas propiedades permiten su aplicación en áreas como la detección, obtención de imágenes, administración de fármacos, y terapias fototérmicas y fotodinámicas [23].

A pesar de su potencial, uno de los principales desafíos en el uso de AuNPs es la variabilidad en sus propiedades físicas. La forma, el tamaño, polidispersidad y la estabilidad coloidal son críticos para garantizar su efectividad y durabilidad de las AuNPs. La falta de comprensión detallada sobre cómo estos factores afectan las propiedades físicas limita la capacidad de diseñar las AuNPs con características específicas y deseables para aplicaciones biomédicas.

Esta investigación se enfoca en evaluar las propiedades físicas de las AuNPs producidas mediante las técnicas UV-Vis, DLS y PZ. Se busca comprender cómo variaciones en la concentración del precursor y los tipos de agentes reductores que impactan en la banda de absorbancia máxima, diámetro hidrodinámico, polidispersidad y la estabilidad coloidal de las AuNPs. Una comprensión detallada a través de estas técnicas de caracterización permitirá desarrollar las AuNPs con propiedades físicas óptimas para mejorar su desempeño en futuras aplicaciones toxicológicas o biocompatibles.

1.4. Hipótesis general

Hipótesis General

Las propiedades físicas de las AuNPs, como el tamaño, la forma, la polidispersidad y la estabilidad coloidal, están determinadas por las condiciones de síntesis, incluyendo la concentración del agente precursor ($HAuCl_4$), el tipo y la concentración del agente reductor ($NaBH_4$, $C_6H_8O_6$, $C_6H_8O_7$) y el surfactante (CTAB). Se espera que, bajo condiciones controladas,

las AuNPs muestren características físicas específicas y estas se mantengan en un tiempo de 30 días, como un diámetro hidrodinámico menor a 100 nm y una baja polidispersidad de 30 %, formas esféricas, y una alta estabilidad coloidal, evidenciadas por un diámetro hidrodinámico uniforme, un potencial zeta en el margen de ±30 mV y una banda de absorbancia en el espectro UV-Vis centrada alrededor de 530 nm. La caracterización física detallada de estas propiedades permitirá evaluar la reproducibilidad y consistencia de las AuNPs para aplicaciones biomédicas.

Capítulo 2

Marco teórico y técnicas experimentales

En este capítulo, se presenta un detallado análisis del marco teórico y los conceptos fundamentales en torno a la síntesis de las AuNPs, explorando su fascinante intersección con el efecto plasmón de resonancia de superficie (SPR). Las AuNPs, con su tamaño nanométrico y propiedades únicas, se sitúan en la vanguardia de la investigación en física, ofreciendo oportunidades innovadoras en diversos campos. El fenómeno SPR, central en esta indagación, se examina en profundidad para comprender cómo influye en las propiedades ópticas de las NPs y su capacidad para interactuar con la luz. Además, se aborda exhaustivamente la diversidad de métodos de síntesis, otorgando especial atención a la reducción química debido a su versatilidad y control preciso sobre las características de las NPs. Este capítulo también explora las técnicas de caracterización esenciales, entre ellas la espectrofotometría ultravioleta-visible, la dispersión dinámica de la luz y la determinación del potencial zeta, con el fin de evaluar rigurosamente las propiedades físicas y químicas de las NPs sintetizadas. Al integrar estos elementos, este capítulo no solo proporciona una sólida base teórica para la investigación, sino que también establece la plataforma para una comprensión profunda y el perfeccionamiento de los métodos de síntesis y caracterización en el ámbito de la física.

2.1. Nanomateriales

Desde el ámbito de la ciencia de materiales la definición de estos compuestos puede considerarse bastante precisa; se trata de un material, ya sea de origen natural o fabricado, que contiene partículas individuales o en forma de agregados o aglomerados. Como se muestra en la Figura 2.1, estas partículas presentan una o más dimensiones externas dentro del rango de 1 a 100 nm. Sin embargo, resulta cada vez más urgente establecer una definición

adecuada que pueda ser utilizada en la creación de normativas destinadas a proteger a los organismos vivos de los posibles riesgos asociados a la inhalación, absorción o exposición a estos materiales [24]. Estos tipos de materiales son aplicables en muchas industrias, como la medioambiental, el tratamiento de aguas residuales, la agricultura, la alimentación y el procesamiento de alimentos, la energía y la biomédica [25].

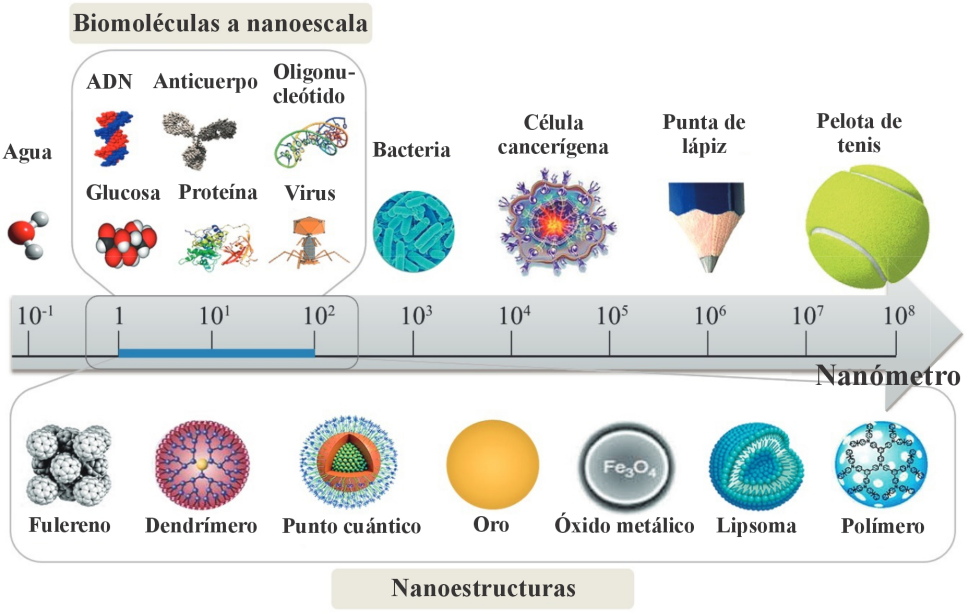


Figura 2.1: Integración a nanoescala de NPs y biomoléculas. *Figura tomada de [1] y adaptada al castellano por el autor.*

2.1.1. Clasificación

Su clasificación incluye cuatro grupos: Los NMs de dimensión cero (0D) tienen magnitudes inferiores a 100 nm en todas las direcciones (NPs, nanoporos, puntos cuánticos, proteínas y micelas). Los nanomateriales de primera dimensión (1D) tienen menos de 100 nm solo en dos direcciones (nanobarras, nanotubos, nanofibras, nanocables, nanofibras de colágeno y nanofibras de celulosa). Los nanomateriales de segunda dimensión (2D) corresponden únicamente a nanomateriales que tienen un tamaño inferior a 100 nm en la dirección del espesor (películas delgadas, nanorecubrimientos, nanoplaquetas y membranas celulares). Los nanomateriales de tercera dimensión (3D) tienen todas las dimensiones fuera de la escala nanométrica, pero están compuestos de bloques individuales a escala nanométrica de menos de 100 nm conocidos como nanocompuestos y materiales nanoestructurados como se muestra en la Figura 2.2 [26].

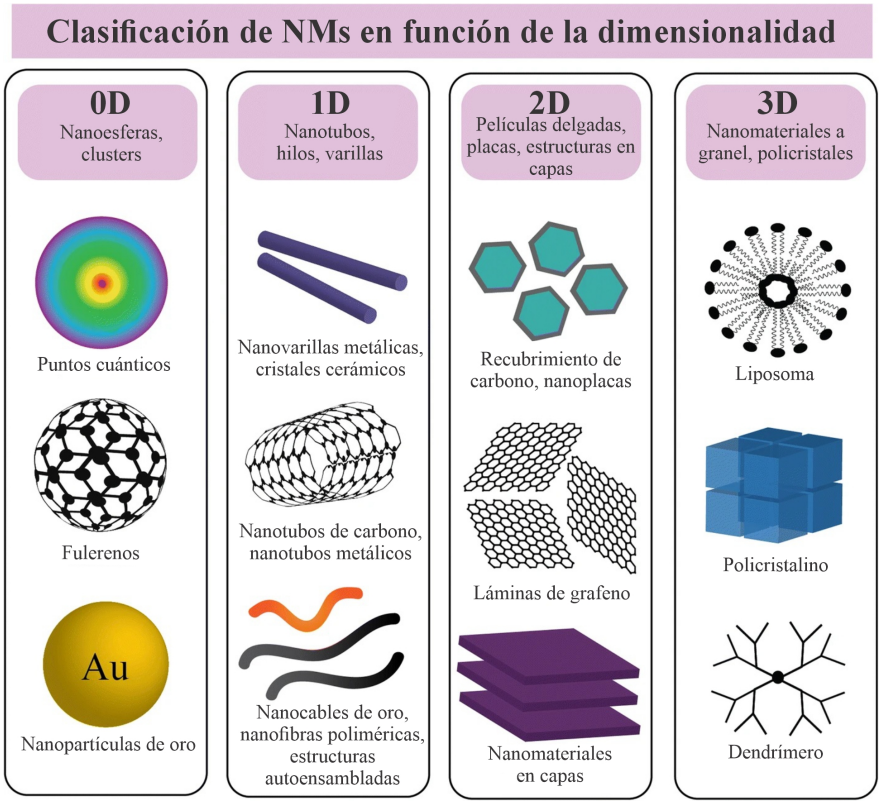


Figura 2.2: Esquema que ilustra las dimensiones de las nanopartículas con ejemplos de cada categoría. *Figura tomada de [2] y adaptada al castellano por el autor.*

2.1.2. Nanopartículas de oro (AuNPs)

Para sintetizar NPs estables, el oro se considera un metal adecuado. La mayoría de las propiedades físicas de las NPs inorgánicas dependen del tamaño y forma. Las AuNPs tienen amplias aplicaciones en diferentes campos debido a sus propiedades ópticas y físicas específicas. Las NPs sintetizadas mediante la reducción de Au en fase acuosa tienden a tener una morfología cuasi esférica, ya que esta forma presenta la superficie más pequeña si se compara con otras morfologías. Normalmente, la suspensión de NPs esféricas de oro presenta un color rojo rubí debido a la dispersión de la luz por el nanomaterial, pero el aumento de tamaño, así como un cambio en el entorno que rodea a las NPs, puede modificar las propiedades ópticas del coloide. Es posible sintetizar las AuNPs en diversas formas (Figura 2.3), como nanoesferas, nanorods, nanoshells y nanoprismas, para una amplia variedad de aplicaciones [27].

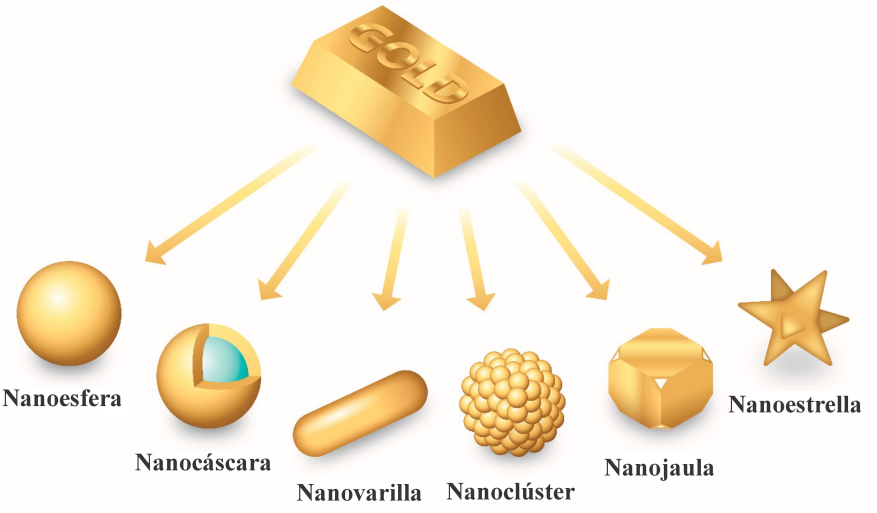


Figura 2.3: Esquema representativo de los ensamblajes y morfologías de NPs de oro más comunes. *Figura tomada de [3] y adaptada al castellano por el autor.*

2.1.2.1. Resonancia del plasmón de la superficie (SPR)

Las propiedades ópticas, como la dispersión y la extinción, de las partículas metálicas atribuidas a la resonancia de plasmón superficial (SPR) fueron teorizadas por la importante contribución de Mie en 1908. Según el trabajo de Mie, la sección transversal total para la dispersión y absorción de SPR es la suma de todas las oscilaciones electromagnéticas, y se introdujeron condiciones de contorno apropiadas para describir el fenómeno SPR resolviendo las ecuaciones de Maxwell. Además, se señaló que las partículas esféricas exhiben resonancia de plasmón, que se debe a oscilaciones dipolares de electrones libres que ocupan estados de energía por encima del nivel de Fermi en la banda de conducción. Además, estas NPs presentan varios colores, que se deben a los diferentes tamaños, formas y tipos de NPs, lo que lleva a diferentes características de absorción.

Para nanopartículas metálicas, como las de oro, la interacción con la luz visible es particularmente interesante debido a la resonancia de plasmones de superficie localizada (LSPR), que es un fenómeno que ocurre cuando los electrones libres en la superficie de las nanopartículas oscilan en resonancia con el campo eléctrico de la luz incidente.La Figura 2.4 muestra un diagrama esquemático de la resonancia de plasmón superficial localizada (del inglés Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR) excitado por NPs de Au esféricas, para las cuales solo existe un pico de absorción, mientras que se muestran dos picos pronunciados para nanovarillas de Au [28].

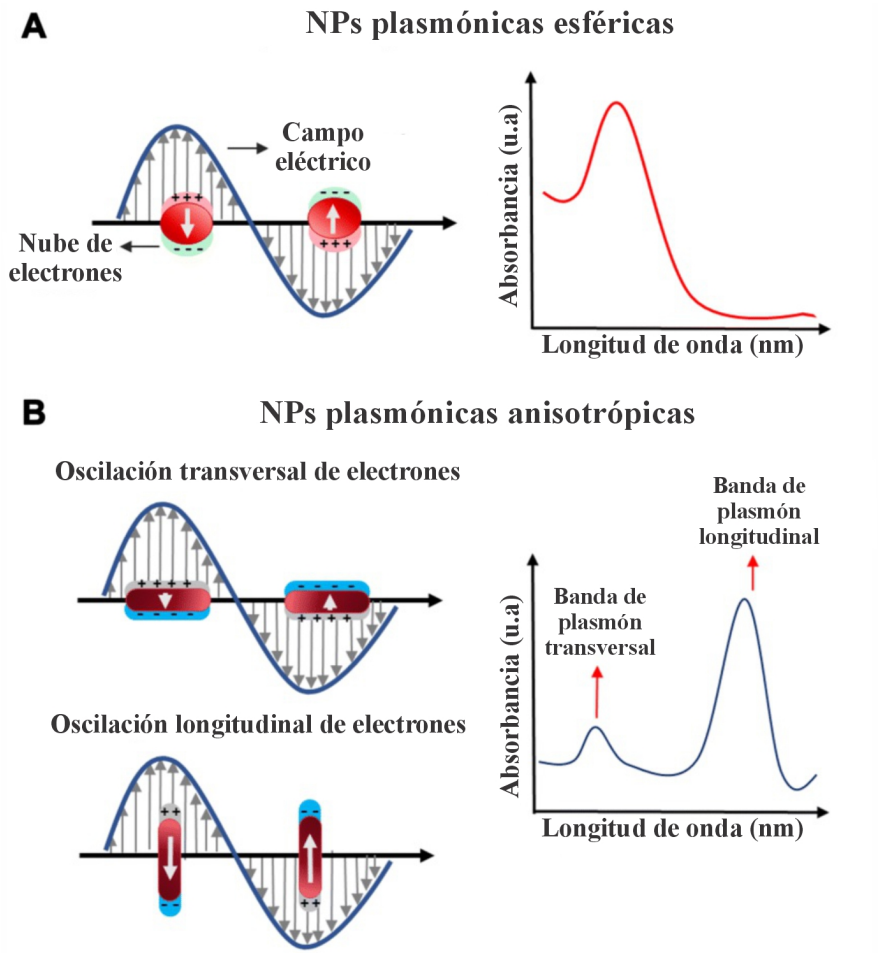


Figura 2.4: Representación esquemática de la banda de resonancia de plasmón superficial (SPR) en NPs plasmónicas esféricas (A) y en forma de varilla (B). *Figura tomada de [4] y adaptada al castellano por el autor.*

2.2. Métodos de síntesis de las AuNPs

El desarrollo de enfoques útiles y fiables, la síntesis de NPs es la clave para la investigación nanotecnológica. Los métodos de fabricación se clasifican principalmente en dos clases enfoques descendentes (del inglés top-down) y enfoques ascendentes (del inglés bottom-up). En el enfoque descendente, el material a granel se descompone a escala nanométrica (Figura 2.5).

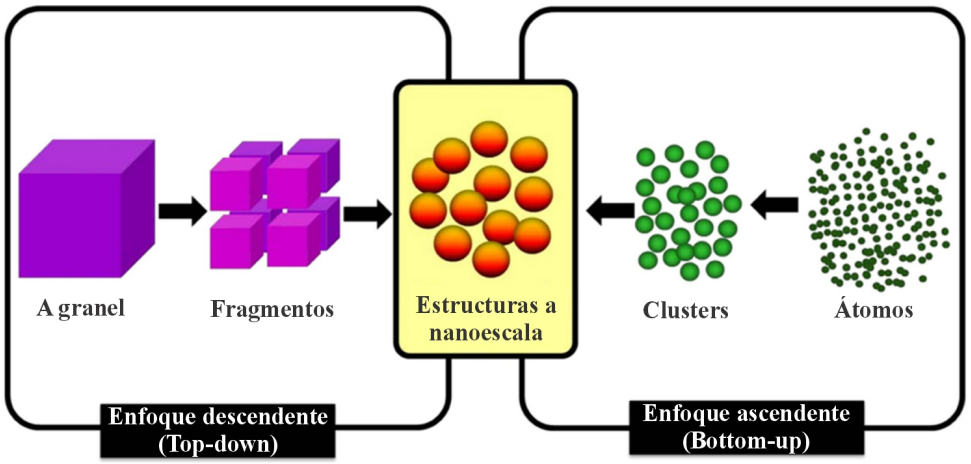


Figura 2.5: Ilustración del enfoque de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba para fabricar NPs. *Figura tomada de (Wang y cols., 2023) y adaptada al castellano por el autor.*

En el enfoque ascendente, los átomos y las moléculas se ensamblan para producir NPs. La principal ventaja del enfoque descendente es que podemos sintetizar NPs a granel en un corto espacio de tiempo. Por otro lado, el enfoque ascendente nos permite producir nanoestructuras (homogéneas) con propiedades ideales, como nanohilos, nanotubos, nanoflores, nanocajas y nanohidrogeles, que se sintetizan mediante estos enfoques y tienen diversas aplicaciones.

Los métodos de síntesis pueden clasificarse en físicos, químicos y biológicos. Tanto los protocolos descendentes como los ascendentes tienen algunas limitaciones, por lo que la comunidad científica está buscando métodos cada vez mejores para la fabricación de NPs. Algunos de los métodos basados en tácticas descendentes y ascendentes se enumeran en la Figura 2.6.

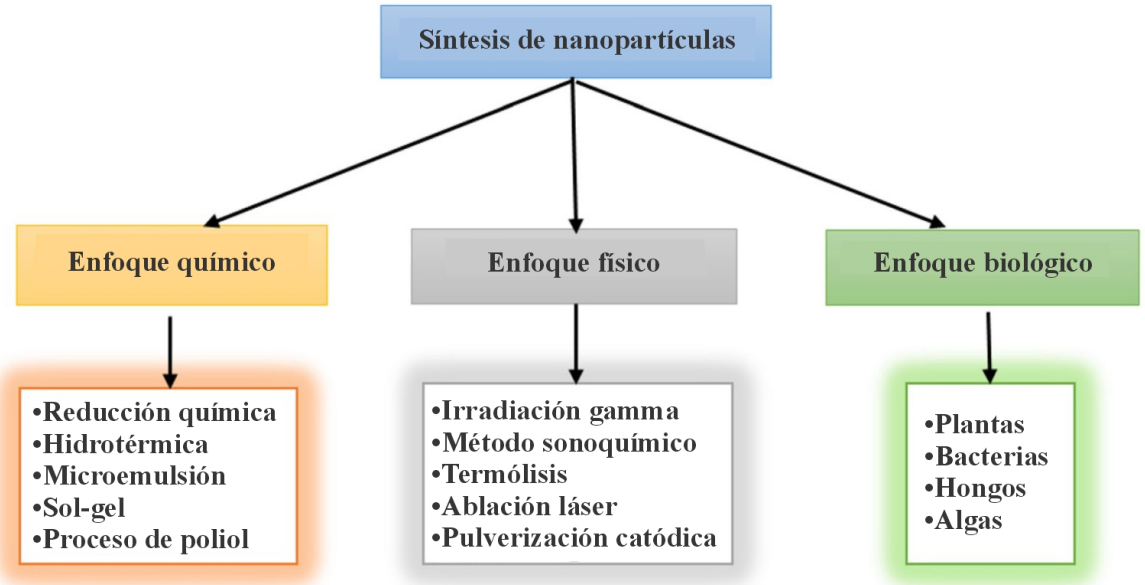


Figura 2.6: Diferentes rutas para la fabricación de las AuNPs. *Figura tomada de [5] y adaptada al castellano por el autor.*

2.2.1. Método de reducción química

La reducción química es una de las técnicas más utilizadas en los laboratorios de investigación para la síntesis de NPs. Este método se ha utilizado para varios tipos de síntesis de NP con diferentes complejidades y diferentes cargas superficiales. El método de reducción química consta de tres etapas esenciales, a saber, la reducción de sales metálicas mediante agentes reductores, la estabilización de los complejos iónicos y el control del tamaño mediante el agente de protección, ver Figura 2.7. La reducción química generalmente implica la reducción de iones metálicos en algún tipo de solvente y un agente reductor separado. Este método se utiliza normalmente para la preparación de NPs metálicas, magnéticas, como NPs de hierro, cobalto, níquel, plata, oro, etc. En este proceso, las NPs metálicas se forman en solución acuosa mediante varios procesos de reducción, como reducciones electroquímicas, reducciones por microondas y el uso de varios tipos de agentes reductores y precursores metálicos. Permite controlar el tamaño de las partículas, la morfología y la cristalinidad, pero requiere precursores costosos, disolventes tóxicos o peligrosos, reductores químicos como el borohidruro de sodio o la hidracina y estabilizadores para evitar la agregación de las partículas o hacerlas fisiológicamente compatibles [29].

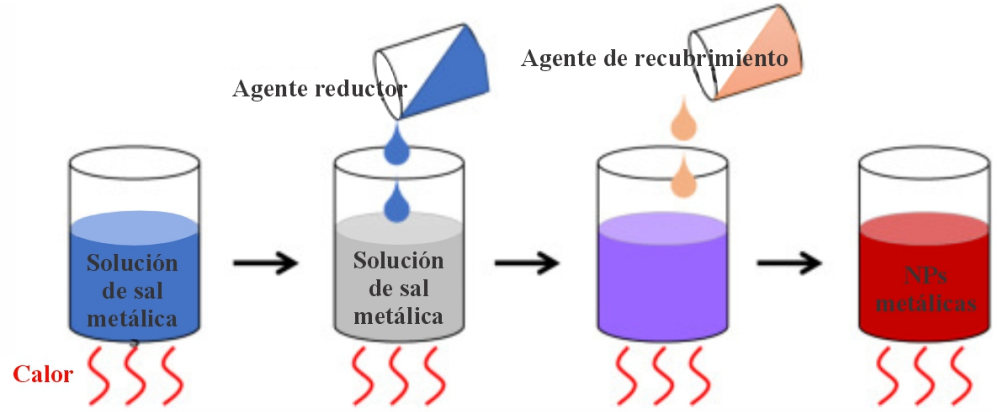


Figura 2.7: Método de reducción química: un protocolo detallado paso a paso de cómo las sales metálicas se pueden convertir en NP mediante pasos de reacción química . *Figura tomada de (Krishna y cols., 2021) y adaptada al castellano por el autor.*

2.3. Técnicas de caracterización de las AuNPs

Para comprender las propiedades físicas de las AuNPs, es fundamental emplear técnicas avanzadas de caracterización estructural. La microscopía electrónica de transmisión (TEM) permite visualizar directamente la morfología y el tamaño físico de las nanopartículas, brindando imágenes de alta resolución que revelan detalles sobre la forma y la distribución del tamaño de las partículas. Complementando esta información, la microscopía electrónica de barrido (SEM) ofrece una visión detallada de la superficie de las AuNPs, proporcionando

información clave sobre su estructura superficial y uniformidad. Por otro lado, la difracción de rayos X (XRD) es esencial para determinar la estructura cristalina de las nanopartículas, identificando su fase cristalina y el tamaño de los cristales, lo que es crucial para correlacionar la estructura con las propiedades ópticas y catalíticas de las AuNPs. La espectrofotometría ultravioleta-visible es una técnica ampliamente utilizada que permite determinar la longitud de onda máxima de absorción (λ_{max}), la cual está directamente relacionada con el tamaño y la forma de las AuNPs a través de la resonancia de plasmones de superficie. Este fenómeno óptico es clave para entender cómo las nanopartículas interactúan con la luz, y proporciona un método indirecto pero preciso para estimar su tamaño físico. Por otro lado, la dispersión dinámica de la luz es una técnica que permite medir el diámetro hidrodinámico de las AuNPs, el cual incluye no solo el núcleo de la partícula sino también las capas de solvente y cualquier material adsorbido en su superficie. Este parámetro es crucial para evaluar la dispersión y la polidispersidad de las muestras en suspensión. Adicionalmente, la medición del potencial zeta, que refleja el potencial electrostático superficial de las AuNPs, es esencial para determinar la estabilidad coloidal de las suspensiones, dado que un alto valor de potencial zeta indica una fuerte repulsión entre partículas, lo cual previene la agregación. Estas técnicas, en conjunto, proporcionan una caracterización detallada y multifacética de las AuNPs, permitiendo correlacionar sus propiedades ópticas, estructurales y de estabilidad coloidal (Figura 2.8).

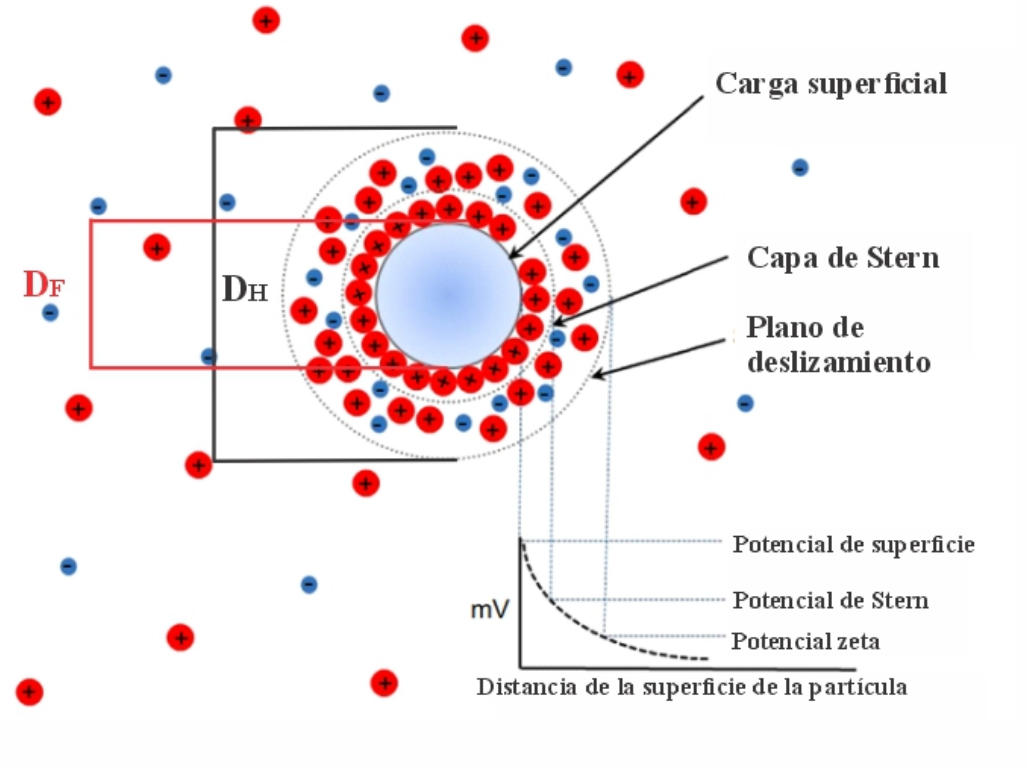


Figura 2.8: Propiedades físicas como el diámetro físico D_F, diámetro hidrodinámico D_H y el potencial zeta de las AuNPs. *Figura tomada de [6] y adaptada al castellano por el autor.*

2.3.1. Espectrofotometría ultravioleta visible (UV-Vis)

Las soluciones que contienen las AuNPs muestran un espectro de extinción UV-Vis distintivo, resultado de la señal de resonancia del plasmón superficial (SPR). Esta resonancia, conocida como LSPR debido a su dependencia con el tamaño de las AuNPs, se observa en la región visible del espectro. El comportamiento fenomenológico de las AuNPs esféricas se describe matemáticamente mediante la teoría de Mie. La interacción de la luz, una onda electromagnética, con estas AuNPs genera tres efectos principales: absorción, dispersión y extinción de la luz, donde la extinción es la suma de los dos primeros fenómenos [30].

Un espectro típico de un conjunto de las AuNPs que son perfectamente esféricas, de tamaño uniforme y sin recubrimiento superficial, como se muestra en la Figura 2.9. Este espectro se ve afectado tanto por factores intrínsecos como extrínsecos; los intrínsecos se relacionan con las propiedades cuántico-atómicas, mientras que los extrínsecos están asociados al aumento del tamaño de las nanopartículas, lo que da lugar a interacciones multipolares, como el cuadrupolo en las AuNPs mayores de 120-130 nm. La banda de absorción máxima se caracteriza por su longitud de onda λ_{max}; cuanto mayor sea la anchura de la banda, mayor será la polidispersión de la solución de las AuNPs.

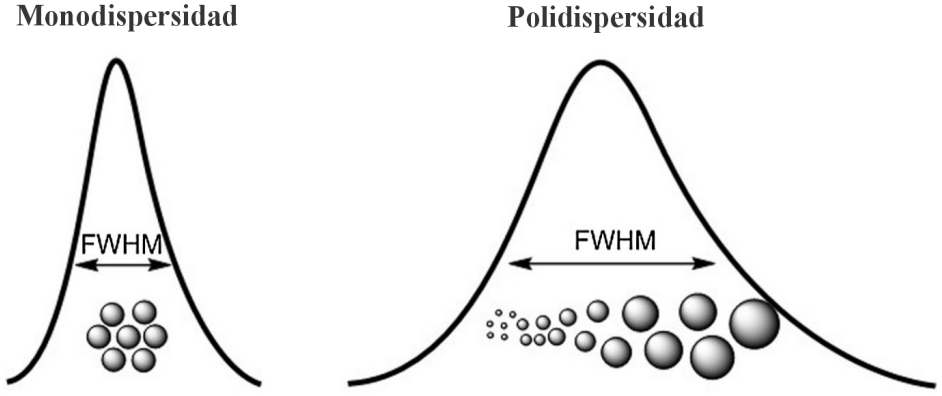


Figura 2.9: Banda de absorción UV-Vis de las AuNPs; donde ancho máximo a media altura (del inglés Full Width at Half Maximum, FWHM) indican monodispersidad y polidispersidad de las NPs . *Figura tomada de [7] y adaptada al castellano por el autor.*

En el caso de las AuNPs de mayor tamaño, la banda de absorbancia máxima se desplaza hacia el infrarrojo y el ancho máximo a media altura (FWHM) se amplía debido a la predominancia de la excitación de los electrones libres. Esta ampliación también se utiliza para correlacionar el tamaño de las nanopartículas. Se ha establecido una relación lineal entre el FWHM y la inversa del diámetro de las AuNPs más pequeñas.

En la Figura 2.10 el tamaño y la morfología de las AuNPs sintetizadas se evaluaron mediante microscopía electrónica de barrido (del inglés Scanning Electron Microscope, SEM). Las propiedades ópticas de las partículas se caracterizaron mediante espectroscopía UV-Vis. El

análisis permite realizar una comparación del los resultados SEM y UV-Vis. En las NPs estrella se observó una banda plasmónica ancha que oscilaba principalmente entre 600 nm y 1200 nm, con un máximo a 935 nm. Se sabe que la posición y la intensidad de la banda dependen del tamaño, la morfología superficial y la relación de aspecto de las nanoestructuras. Se observó una banda plasmónica que oscila entre 450 nm y 650 nm aproximadamente, con una longitud de onda máxima de 545 nm para las NPs esféricas y esta posición del pico sugiere la presencia de pequeñas partículas de Au [8].

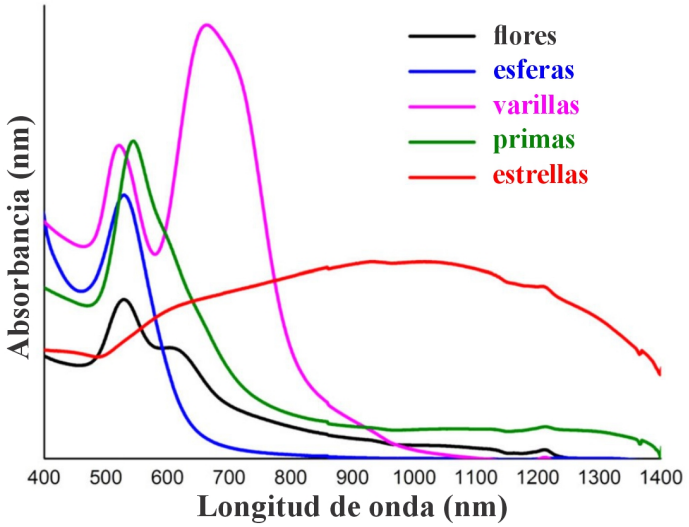


Figura 2.10: Espectros de absorción UV-Vis de las AuNPs con diferentes formas: esferas, varillas, flores, prisma, estrellas. *Figura tomada de [8] y adaptada al castellano por el autor.*

2.3.1.1. Diámetro físico

El tamaño físico de las nanopartículas, que se refiere específicamente a su diámetro físico, es una propiedad clave en la caracterización de estas estructuras a nanoescala. Este parámetro puede determinarse de manera indirecta a partir de la longitud de onda máxima (λ_{max}) observada en el espectro de absorbancia UV-Vis de las nanopartículas. Diversos estudios previos han desarrollado modelos matemáticos que correlacionan la λ_{max} con el diámetro físico, permitiendo así una estimación precisa de su tamaño. Estos modelos, basados en principios ópticos y teóricos, han demostrado ser herramientas útiles para el análisis y la optimización de la síntesis de las AuNPs, facilitando su caracterización sin necesidad de recurrir a técnicas más complejas y costosas (Figura 2.11).

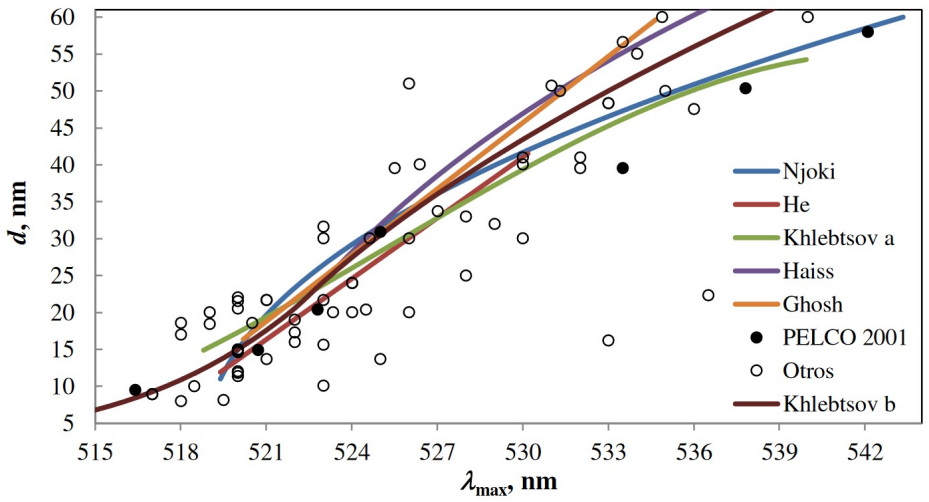


Figura 2.11: Datos experimentales de diámetros promedio de oro y de modelos de ajuste en función del pico de absorción máximo de luz, λ_{max}. *Figura tomada de [9] y adaptada al castellano por el autor.*

En este estudio, se emplearon tres modelos diferentes (Tabla 2.1) para estimar el diámetro físico de las AuNPS a partir de la longitud de onda máxima (λ_{max}) obtenida en el espectro UV-Vis. Estos modelos permitieron comparar el diámetro físico estimado con el diámetro hidrodinámico medido experimentalmente para cada muestra. La comparación entre ambos parámetros nos permitió evaluar la precisión de cada modelo y determinar cuál se ajusta mejor a los datos experimentales, proporcionando así una estimación más confiable del tamaño de las AuNPs.

Método	**Ecuación**	**Referencia**
Método 1	$d(\text{nm}) = 2{,}511\lambda_{\text{max}}(\text{nm}) - 1294{,}8$	Iqbal y cols. (2016)
Método 2	$\frac{\sqrt{\lambda_{\text{max}}-517}-1}{0{,}06}$	Khlebtsov (2008)
Método 3	$\frac{\ln\left(\frac{\lambda_{\text{max}}-512}{6{,}53}\right)}{0{,}0216}$	Haiss y cols. (2007)

Tabla 2.1: Resumen de métodos para calcular el diámetro físico de las AuNPs [12][13][14].

2.3.2. Dispersión dinámica de la luz (DLS)

En esta técnica los términos volumen, intensidad y superficie se refieren a diferentes métodos para calcular la distribución del tamaño de las partículas. La distribución por intensidad es la primera en obtenerse, ya que mide la luz dispersada por las partículas, y está dominada por partículas más grandes, que dispersan más luz. La distribución por volumen ajusta los datos para representar el espacio que ocupan las partículas, mientras que la distribución por

superficie pondera según el área superficial de las partículas. Cada una ofrece una perspectiva diferente del tamaño de las partículas en la muestra.

Las partículas dispersas en una solución se mueven constantemente según el movimiento browniano. Dado que este movimiento browniano depende de la velocidad del tamaño de la partícula, el tamaño se puede estimar observando la fluctuación correspondiente a esta velocidad. Al obtener la función de autocorrelación de la fluctuación observada, se puede obtener el tamaño y la distribución de las partículas. La dispersión dinámica de la luz (del inglés Dynamic Light Scattering, DLS) utiliza el principio físico anterior y proporciona información sobre el tamaño (diámetro hidrodinámico) de una amplia gama de partículas de forma fácil y precisa (Figura 2.12). Dado que la información sobre el tamaño de las partículas, los agregados moleculares y las gotas de emulsión es extremadamente importante, muchos investigadores de coloides prefieren ampliamente el DLS. Sin embargo, el análisis de datos de DLS se basa en el supuesto de que las partículas son uniformes y esféricas. También cabe señalar que el tamaño obtenido incluye una capa de solvato alrededor de las partículas. Por su naturaleza, se deben utilizar otras técnicas experimentales para obtener información detallada como la forma de las NPs [10].

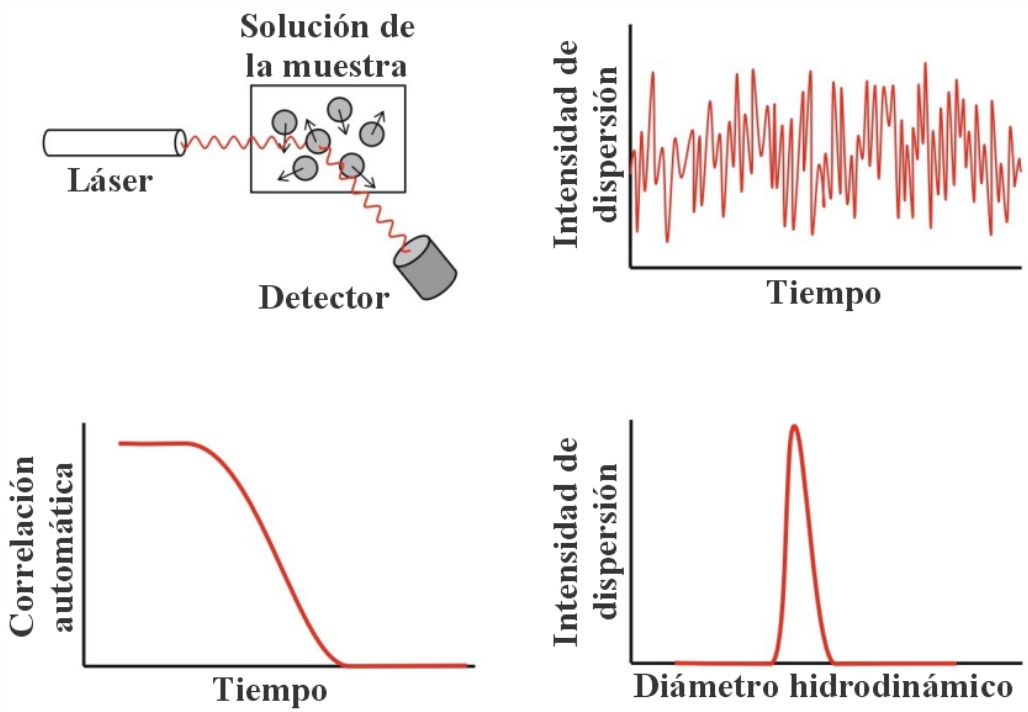


Figura 2.12: Proceso de medición de la dispersión dinámica de la luz para obtener la distribución del tamaño de las partículas. *Figura tomada de [10] y adaptada al castellano por el autor.*

La técnica DLS mide el diámetro hidrodinámico (D_H, nm) o el tamaño de las partículas en solución. El tamaño de las partículas obtenido mediante DLS suele ser mayor que el obtenido mediante microscopía electrónica de transmisión (en inglés Transmission electron

microscopy, TEM) y microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (en inglés Field Emission Scanning Electron Microscopy, FESEM), ya que el microscopio electrónico proporciona una estimación de las partículas en estado seco. En la Figura 2.13 podemos apreciarla medición DLS de las AuNPs. El tamaño medio de las AuNPs determinado por DLS fue de 26,7 nm. La medición DLS muestra un solo pico, lo que indica la presencia de las AuNPs homogéneas o monodispersas en solución, con una aglomeración insignificante. Sin embargo, puede producirse aglomeración en condiciones de almacenamiento [11].

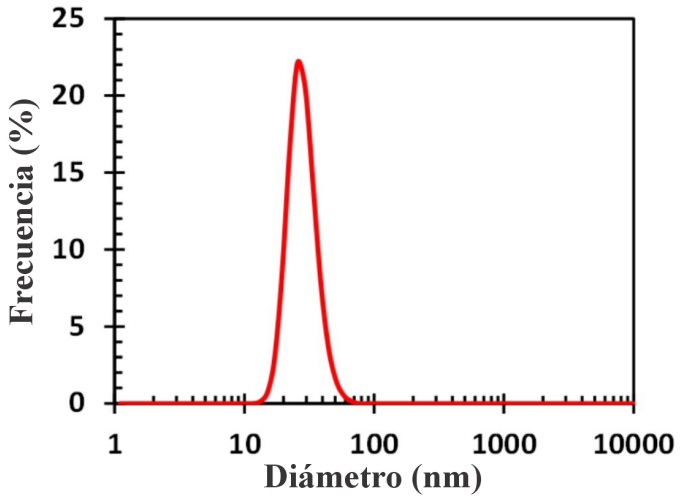


Figura 2.13: Medición DLS de las AuNPs. *Figura tomada de [11] y adaptada al castellano por el autor.*

2.3.2.1. Diámetro hidrodinámico

Las partículas se difunden constantemente en la solución en movimiento browniano. Por lo tanto, el cambio de posición espacial de las partículas en función del tiempo provoca la variación de la intensidad de dispersión de la luz debido a la interferencia. Analizando la autocorrelación a partir de la fluctuación temporal de la intensidad de dispersión, se obtiene el coeficiente de difusión. Suponiendo que las moléculas son esféricas y uniformes, el radio hidrodinámico puede determinarse mediante la ecuación de Stokes-Einstein [31]:

$$D_H = \frac{K_B T}{3\pi\eta D} \tag{2.1}$$

D_H : Diámetro hidrodinámico (nm)
K_B: Constante de Boltzmann ($1{,}3810^{-23}$ N.m.K^{-1}),
T : Temperatura (K)
η : Viscosidad del solvente (N.s.m^{-2})
D : Coeficiente de difusión (m^2.s^{-1})

2.3.3. Potencial zeta (PZ)

El PZ es un parámetro importante que afecta directamente la estabilidad de las nanodispersiones. Por tanto, puede proporcionar una buena predicción de la estabilidad de la dispersión. Los potenciales altos (negativos o positivos) se estabilizan eléctricamente. Generalmente, las fuerzas repulsivas superan a las fuerzas atractivas, lo que da como resultado un sistema estable. Los potenciales bajos tienden a coagularse o flocularse. Por lo general, se considera que las suspensiones coloidales son estables cuando el PZ es menor de -30 mV o mayor de +30 mV. En cambio, si el PZ se sitúa dentro de este rango, las suspensiones coloidales tienden a volverse inestables y a formar agregados, ver Figura 2.14. [20].

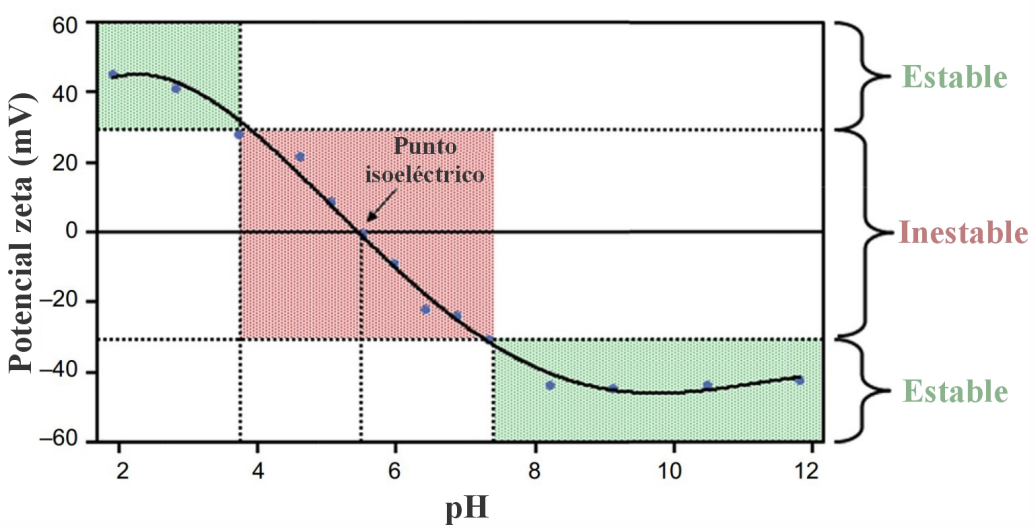


Figura 2.14: Esquema cualitativo de la variación del potencial zeta con el pH. *Figura tomada de [6] y adaptada al castellano por el autor.*

2.3.3.1. Estabilidad coloidal

La estabilidad coloidal es la capacidad de una dispersión para mantener una distribución uniforme de partículas en un medio sin que estas se aglomeren o sedimenten. Esta estabilidad depende de factores como el tamaño de las partículas, la interacción entre ellas y las fuerzas que actúan sobre ellas, tales como las interacciones electrostáticas y estéricas. Un sistema coloidal estable garantiza que las partículas permanezcan dispersas y homogéneas en la solución, lo cual es crucial para aplicaciones como la administración de fármacos, cosméticos y materiales avanzados.

La estabilidad electrostática se basa en la interacción entre cargas superficiales presentes en las partículas, que genera una repulsión que evita su aglomeración. Cuando las partículas tienen cargas de igual signo, estas se repelen debido a las fuerzas de Coulomb. Esto es crucial

en sistemas donde las cargas mantienen las partículas separadas, evitando la formación de agregados.

Por otro lado, la estabilidad estérica se refiere a una barrera física creada por moléculas o polímeros adsorbidos en la superficie de las partículas. Estas moléculas forman una capa que impide que las partículas se acerquen entre sí, ya que, al intentar hacerlo, las cadenas poliméricas se comprimen, lo que crea una fuerza de repulsión debido al impedimento estérico. Este mecanismo no depende de las cargas superficiales, lo que lo hace efectivo en medios donde la estabilidad electrostática no es suficiente, o donde las partículas tienen poca carga.

Capítulo 3

Metodología

En este capítulo, se describe de manera exhaustiva la metodología utilizada para la preparación de los reactivos que implican en la síntesis de AuNPs mediante el método de reducción química, un proceso clave que influye directamente en su posterior caracterización por las técnicas de UV-Vis, DLS y PZ. La preparación meticulosa de estas soluciones es esencial para garantizar la homogeneidad y reproducibilidad en la síntesis, aspectos fundamentales en la investigación científica. La metodología se enfoca en detallar los pasos precisos necesarios para la preparación, incluyendo la selección y manipulación del único agente precursor, el ácido cloroáurico ($HAuCl_4$), así como los tres agentes reductores utilizados: borohidruro de sodio ($NaBH_4$), ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) y ácido cítrico ($C_6H_8O_7$). También se considera el surfactante CTAB ($C_{19}H_{42}BrN$), cuya elección y función son cruciales para prevenir la aglomeración y asegurar la estabilidad coloidal de las AuNPs durante la síntesis.

En total se realizaron 14 muestras, las cuales se desarrollaron en el laboratorio del Grupo de Investigación de Nanotecnología Aplicada para Biorremediación Ambiental, Energía, Biomedicina y Agricultura (G.I. NANOTECH), Laboratorio 405 del Instituto de Investigación de Física (nuevo pabellón) de la Facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FCF-UNMSM), la cual cuenta con la temperatura estable entre 20-25 °C mientras que la humedad relativa se mantuvo en un rango bajo (generalmente $< 60\,\%$) para evitar variaciones en los experimentos y mediciones.

Además, se exploran el impacto de los agentes reductores en las propiedades físicas de las AuNPs resultantes. La sistematización de parámetros como la concentración de los reactivos, el pH del agente precursor, la temperatura, el tiempo de reacción y la velocidad de agitación magnética, permite un control riguroso sobre la morfología y estabilidad de las AuNPs obtenidas.

3.1. Síntesis de las AuNPs mediante el método de reducción química

Se usó una campana extractora marca BIOBASE que facilitó el control de las condiciones como la iluminación para un clara observación de cada paso, PPM (partes por millón) se utiliza para medir la calidad del aire. Ya que al trabajar con componentes a nanoescala es necesario evitar todo tipo de contaminación cruzada en las muestras (Figura 3.1).

Además, es obligatorio que el técnico de laboratorio o los investigadores que realicen los experimentos o manipulen las muestras utilicen la implementación correcta, que incluye guardapolvo, mascarilla y guantes de nitrilo, para asegurar tanto la seguridad personal como la integridad de las muestras durante el proceso experimental.

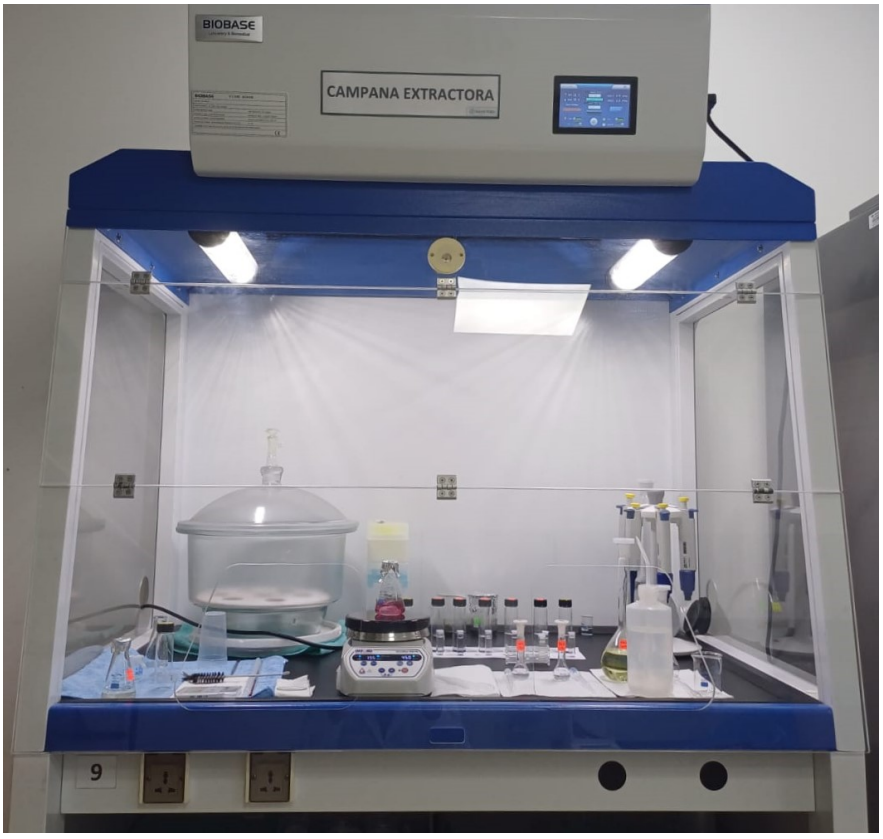


Figura 3.1: Campana extractora marca BIOBASE ubicado en NANOTECH.

Los materiales necesarios incluyen un matraz de 50 mL de capacidad en la cual se realizará las síntesis de las AuNPs, viales de vidrio con tapa rosca de 20 mL o 40 mL de capacidad para almacenar las AuNPs posterior a su síntesis. Además, es necesario tener pipetas de Pasteur de 5 mL de capacidad para poder añadir los reactivos de manera meticulosa para cada reacción, una probeta de 100 mL de capacidad la cual nos permitirá poder diluir la solución stock y obtener concentraciones menores a 1 mM, una piseta de 1 L para poder

agregar agua ultrapura en todas las reacciones y un vaso de precipitación 150 mL que nos ayudará a enfriar de manera rápida las muestras al terminas la síntesis (3.2).

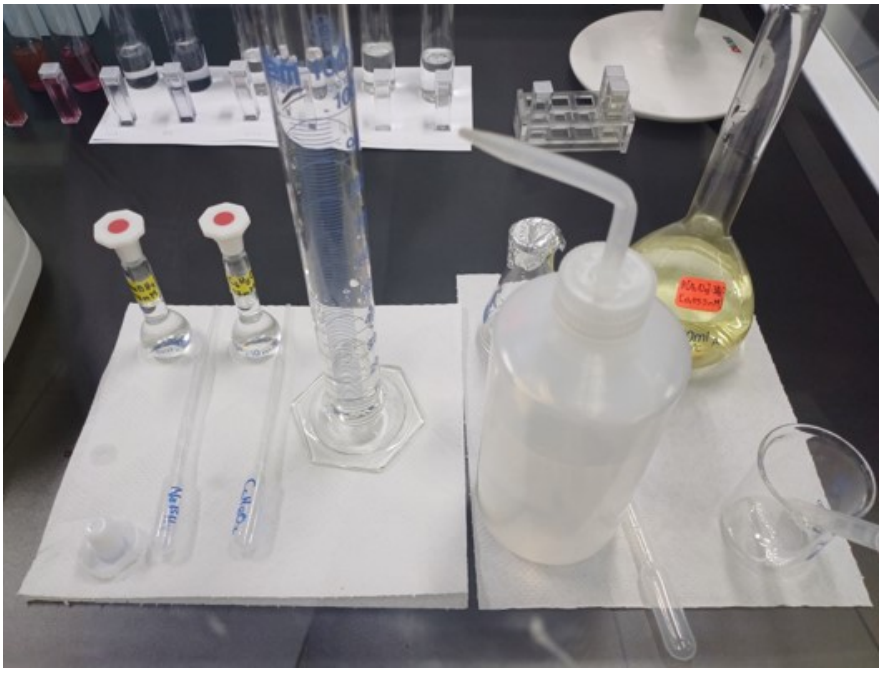


Figura 3.2: Materiales de vidrio para el proceso de síntesis de AuNPs.

En cuanto a los equipos (3.3) que se usaron en el proceso de síntesis de las AuNPs, se empleó un pH-metro de la serie HI98168 de Hanna Instruments para la medición precisa del pH de la solución stock, y un agitador magnético Oxford, modelo MHS-10L la cual tiene un control separado para la velocidad de agitación y la temperatura, así como un termómetro de vidrio. La combinación de estos materiales y equipos permite una preparación controlada y precisa de las AuNPs.

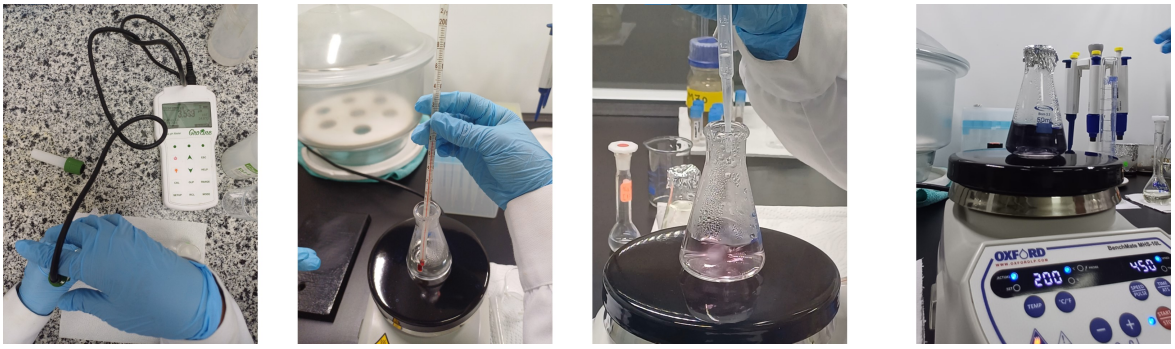


Figura 3.3: Equipos usados para el proceso de síntesis de AuNPs

Se colocó en 20 mL del ácido cloroáurico a diferentes concentraciones (0,125 mM, 0,250 mM y 0,500 mM) en cada muestra en un matraz Erlenmeyer de 50 mL de capacidad volumétrica sobre una plancha eléctrica con agitación magnética a 450 RPM hasta llegar al punto de

ebullición (100 °C). Se midió con un termómetro o a simple vista se observó la evaporación indicando que llegó a la temperatura de 100 °C y se procedió añadir (tener en cuenta la velocidad de adición de los reactivos) 1mL de solución del agente reductor a 17 mM. Luego, durante los 20 min del tiempo de síntesis se controló el volumen inicial con adición de agua ultrapura de 20 mL, luego se pasó a enfriar en baño de agua en un vaso de precipitado de 150 mL hasta llegar a temperatura ambiente.

En la Tabla 3.1 se detallan las condiciones físicas utilizadas para la síntesis de las AuNPs con los distintos agentes reductores a utilizar.

	$[HAuCl_4]$	$[NaBH_4]$	$[C_6H_8O_6]$	$[C_6H_8O_7]$	[CTAB]
H1	0,125 mM	17 mM	-	-	-
H2	0,250 mM	17 mM	-	-	-
H3	0,500 mM	17 mM	-	-	-
H4	0,125 mM	-	17 mM	-	-
H5	0,250 mM	-	17 mM	-	-
H6	0,500 mM	-	17 mM	-	-
H7	0,125 mM	17 mM	-	17 mM	-
H8	0,250 mM	17 mM	-	17 mM	-
H9	0,500 mM	17 mM	-	17 mM	-
H10	0,125 mM	17 mM	-	-	17 mM
H11	0,250 mM	17 mM	-	-	17 mM
H12	0,500 mM	17 mM	-	-	17 mM
H7b	0,125 mM	17 mM	-	17 mM	-
H10b	0,125 mM	17 mM	-	-	17 mM

Tabla 3.1: Concentraciones de los reactivos para cada síntesis de las AuNPs. $NaBH_4$: Agente reductor inorgánico, $C_6H_8O_6$: agente reductor orgánico, $C_6H_8O_7$: agente reductor orgánico, CTAB: surfactante estabilizador.

3.1.1. Preparación de soluciones

Los reactivos que se usaron en el presente trabajo de investigación son: el agente precursor que se usó en todas las reacciones el ácido tetracloroáurico ($HAuCl_4 \bullet 3H_2O$, con pureza $\geq$ 99,9 % de Sigma Aldrich. También los agentes reductores como el borohidruro sódico: $NaBH_4$ con pureza del 99 % de Sigma Aldrich, USA; ácido ascórbico con pureza de 99 % de la empresa Nile Chemicals, India; ácido cítrico monohidratado con pureza del 99,7 %, de

la empresa HIMEDIA, India. Y el surfactante bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) con pureza $\geq 98\,\%$ de Sigma Aldrich, USA. Además el hidróxido de sodio (NaOH) a una concentración de 0,5 M (Figura 3.4).



Figura 3.4: Fotos representativas de los reactivos usados para las síntesis.

Para poder hacer el cálculo de la masa necesaria de un compuesto químico es necesario saber la molaridad, el volumen de la solución, peso fórmula y la pureza de cada reactivo.

La molaridad (M) se define como la cantidad de moles de soluto (n) por litro de solución (V), es decir:

$$M = \frac{n}{V} \tag{3.1}$$

Donde:

- M es la molaridad en mol/L.
- n es el número de moles de soluto en mol.
- V es el volumen de la solución en litros (L).

El número de moles (n) también se puede expresar en función de la masa (m) y el peso fórmula (PM) del compuesto:

$$n = \frac{m}{PM} \tag{3.2}$$

Donde:

- m es la masa del soluto en gramos (g).
- PM es el peso fórmula del soluto en g/mol.

Reemplazamos la ecuación (3.2) en la ecuación (3.1):

$$M = \frac{m}{PM \cdot V} \tag{3.3}$$

Despejando la masa (m):

$$m = M \times V \times PM \tag{3.4}$$

La ecuación (3.4) nos da la masa del compuesto puro que se necesita para preparar la solución. Si el compuesto tiene una pureza (P), entonces la masa real del compuesto impuro se puede calcular mediante:

$$m_{\text{real}} = \frac{m}{P} \tag{3.5}$$

Donde:

- m_{real} es la masa real del compuesto impuro.
- m es la masa calculada del compuesto puro.
- P es la pureza del compuesto expresada como fracción.

Finalmente, la ecuación (3.5) en la ecuación (3.4).

$$m_{\text{real}} = \frac{M \times V \times PM}{P} \tag{3.6}$$

Además si queremos la masa en miligramos (mg), podemos convertir de gramos a miligramos multiplicando por 1000 a la ecuación (3.6):

$$m_{\text{real}} = \frac{M \times V \times PM}{P} \times 1000 \tag{3.7}$$

Se usó la ecuación (3.7) para calcular la masa necesaria para diferentes las concentraciones para cada reactivo que se realizó en la síntesis de las AuNPs.

Ácido tetracloroáurico ($HAuCl_4 \bullet 3H_2O$)

Para calcular la masa real necesaria del ácido tetracloroáurico en función de una concentración de 1 mM en 250 mL con un peso fórmula de $393,83$ g/mol y considerando la pureza de $99,9\,\%$ del compuesto.

Sustituyendo los valores en la ecuacicón (3.7):

$$m_{\text{real}(HAuCl_4)} = \frac{0,001 \text{ M} \times 0,250 \text{ L} \times 393,83 \text{ g/mol}}{0,999} \times 1000 = 98,6 \text{ mg} \tag{3.8}$$

Se preparó 250 mL en una fiola con tapa a una concentración de 1 mM con un pH de 5 de la solución stock a partir de $HAuCl_4 \bullet 3H_2O$, al pesar en la balanza es necesario un recipiente de vidrio, ya que el Au es corrosivo (Figura 3.5). Luego se disolvió el ácido tetracloroáurico en agua ultrapura, obtenida del sistema de purificación Pure Lab Quest ELGA que produce dos niveles de agua ultrapura nivel I (resistividad de 18,2 MOhm cm^{-1}),.



Figura 3.5: Medición de la masa en mg del agente precursor $HAuCl_4 \bullet 3H_2O$ usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución stock de $HAuCl_4$ (derecha).

A partir de esta solución stock, con una probeta de 100 mL de capacidad se realizaron la dilución del ácido cloroáurico a diferentes concentraciones de 0,125 mM, 0,250 mM y 0,500 mM para poder realizar las reacciones con diferentes tipos de agentes reductores orgánicos e inorgánicos.

Borohidruro de sodio ($NaBH_4$)

Para calcular la masa real necesaria del borohidruro de sodio en función de una concentración de 17 mM en 10 mL con un peso fórmula de $37,83$ g/mol y considerando la pureza de 99 % del compuesto.

Sustituyendo los valores en la ecuación (3.7):

$$m_{\text{real}(NaBH_4)} = \frac{0,017 \text{ M} \times 0,010 \text{ L} \times 37,83 \text{ g/mol}}{0,99} \times 1000 = 6,5 \text{ mg} \tag{3.9}$$

La masa en mg del reactivo reductor fue medida con una balanza analítica y se disolvió en agua ultrapura con un volumen de 10 mL en una fiola con tapa, a una concentración de 17 mM como se observa en la Figura 3.6. La solución se debe conservar en una temperatura de 0 °C, ya que al ser un agente reductor fuerte puede reaccionar con ciertos iones libres que aún quedan en el agua ultrapura o en la fiola en la que se almacena, perdiendo su efectividad al momento de realizar la síntesis.



Figura 3.6: Medición de la masa en mg del agente reductor $NaBH_4$ usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución de $NaBH_4$ (derecha).

Ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$)

Para calcular la masa real necesaria del ácido ascórbico en función de una concentración de 17 mM en 10 mL con un peso fórmula de 176, 13 g/mol y considerando la pureza de 99 % del compuesto, sigue estos pasos usando la fórmula proporcionada:

Sustituyendo los valores en la ecuación (3.7):

$$m_{\text{real}(C_6H_8O_6)} = \frac{0,017 \text{ M} \times 0,010 \text{ L} \times 176,13 \text{ g/mol}}{0,99} \times 1000 = 30,2 \text{ mg} \tag{3.10}$$

Se midió la masa del reactivo $C_6H_8O_6$ y se disolvió en agua ultrapura en una fiola de 10 mL con tapa a una concentración de 17 mM, ver Figura 3.7. Se mantuvo a condiciones ambientales debido a que es un compuesto orgánico.



Figura 3.7: Medición de la masa en mg del agente reductor $C_6H_8O_6$ usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución de $C_6H_8O_6$ (derecha).

Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$)

Para calcular la masa real necesaria del ácido cítrico en función de una concentración de 17 mM en 10 mL con un peso fórmula de 210, 14 g/mol y considerando la pureza de 99, 7 % del compuesto, sigue estos pasos usando la fórmula proporcionada:

Sustituyendo los valores en la ecuación (3.7):

$$m_{\text{real}(C_6H_8O_7)} = \frac{0,017 \text{ M} \times 0,010 \text{ L} \times 210,14 \text{ g/mol}}{0,997} \times 1000 = 35,8 \text{ mg} \tag{3.11}$$

Se midió la masa del reactivo $C_6H_8O_7$ y se disolvió en agua ultrapura en una fiola de 10 mL a una concentración de 17 mM con tapa como se aprecia en la Figura 3.8. Se mantuvo a condiciones ambientales.



Figura 3.8: Medición de la masa en mg del agente reductor $C_6H_8O_7$ usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución de $C_6H_8O_7$ (derecha).

Bromuro de hexadeciltrimetilamonio ($C_{19}H_{42}BrN$)

Para calcular la masa real necesaria del bromuro de hexadeciltrimetilamonio en función de una concentración de 17 mM en 10 mL con un peso fórmula de $364,45$ g/mol y considerando la pureza de 98 % del compuesto, sigue estos pasos usando la fórmula proporcionada:

Sustituyendo los valores en la ecuación (3.7):

$$m_{\text{real}(C_{19}H_{42}BrN)} = \frac{0,017\ \text{M} \times 0,010\ \text{L} \times 364,45\ \text{g/mol}}{0,98} \times 1000 = 63,2\ \text{mg} \tag{3.12}$$

Se midió la masa en mg y se disolvió en agua ultrapura en una fiola de 10 mL con tapa a una concentración de 17 mM (Figura 3.9). En este caso para tener una mejor disolución del CTAB la solución se usó el agitador magnético con calentamiento durante 60 min (a 90 °C y 450 RPM) y posteriormente homogenizó 20 min con agitación ultrasónica.

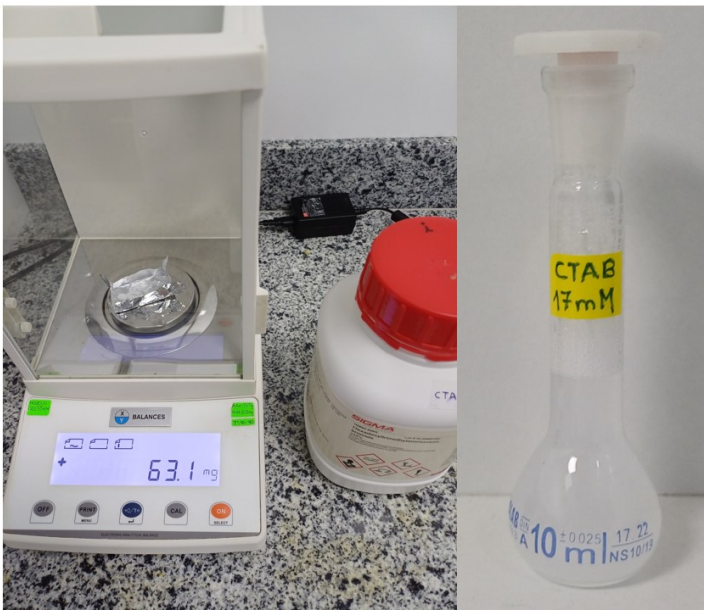


Figura 3.9: Medición de la masa en mg del agente estabilizador CTAB usando una balanza analítica marca BALANCES (izquierda). Solución de CTAB (derecha).

3.1.2. Síntesis de las AuNPs usando $NaBH_4$

En un matraz con capacidad de 50 mL, en la que se vertió 20 mL de la solución precursora de diferentes concentraciones (0,125 mM, 0,250 mM y 0,500 mM). Luego, en un agitador magnético con calentamiento se condiciona a una temperatura de 100 °C y a 450 RPM (estos parámetros se mantienen en todo el proceso de síntesis). Luego de esperar el tiempo necesario de ebullición, se inserta 1 mL del agente reductor, $NaBH_4$, con una velocidad de adición promedio. Con un papel de aluminio se cerró la boca del matraz para evitar el escape agua en forma de vapor y esperamos 20 min para una reacción química completa, véase Figura 3.10.

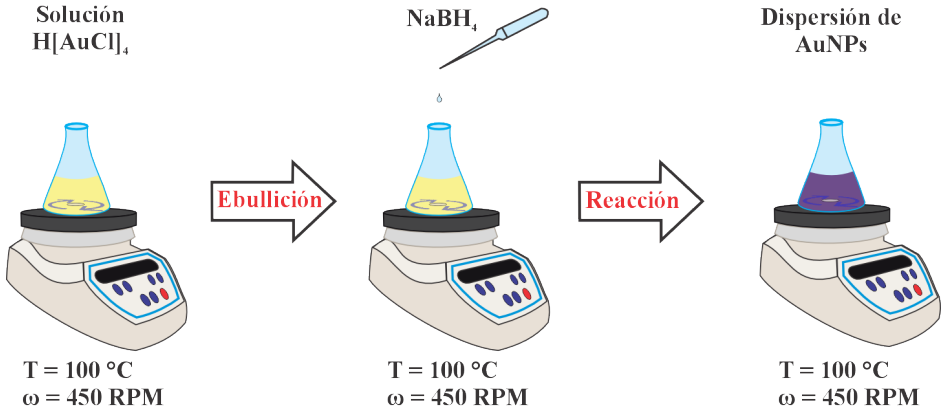


Figura 3.10: Proceso de síntesis de las AuNPs utilizando $NaBH_4$. *Figura realizada por el autor.*

De inmediato mediante la técnica de baño maría enfriamos la muestra en un vaso precipitado con agua a temperatura ambiente y luego poder guardar la muestra en un vial con tapa.

3.1.3. Síntesis de las AuNPs usando $C_6H_8O_6$

En un matraz con capacidad de 50 mL, en la que se vertió 20 mL de la solución precursora de diferentes concentraciones (0,125 mM, 0,250 mM y 0,500 mM). Luego, en una agitador magnético con calentamiento se condiciona a una temperatura de 100 °C y a 450 RPM (estos parámetros se mantienen en todo el proceso de síntesis). Luego de esperar el tiempo necesario de ebullición, se inserta 1 mL del agente reductor, $C_6H_8O_6$, con una velocidad de adición promedio. Con un papel de aluminio se cerró la boca del matraz para evitar que escape agua en forma de vapor y esperamos 20 min para la reacción química genera las AuNPs (Figura 3.11).

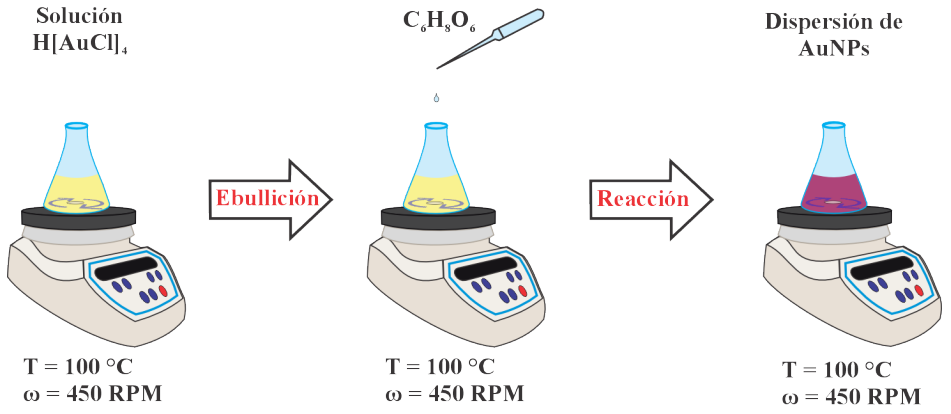


Figura 3.11: Proceso de síntesis de las AuNPs utilizando $C_6H_8O_6$. *Figura realizada por el autor.*

Una vez termina el tiempo de reacción, con la técnica de baño maría en un vaso precipitado con agua a temperatura ambiente enfriamos la muestra y luego se guardó en un vial con tapa.

3.1.4. Síntesis de las AuNPs usando $C_6H_8O_7$ y $NaBH_4$

Como se observa en la Figura 3.12 en un matraz con capacidad de 50 mL, en la que se vertió 20 mL de la solución precursora de diferentes concentraciones (0,125 mM, 0,250 mM y 0,500 mM). Seguidamente, en una agitador magnético con calentamiento se condiciona a una temperatura de 100 °C y a 450 RPM (estos parámetros se mantienen en todo el proceso de síntesis). Luego de esperar el tiempo necesario de ebullición, se inserta con una velocidad de adición promedio 1 mL del agente reductor, $C_6H_8O_7$, esperemos el tiempo necesario que esta directamente relacionado con la concentración del agente precursor, seguidamente con la

misma velocidad de adición se inserta 1 mL del otro agente reductor, $NaBH_4$, es importante mantener el orden en la que se vierte los agentes reductores. Con un papel de aluminio se cerró la boca del matraz para evitar el escape de agua en forma de vapor y esperamos 20 min para una reacción química completa.

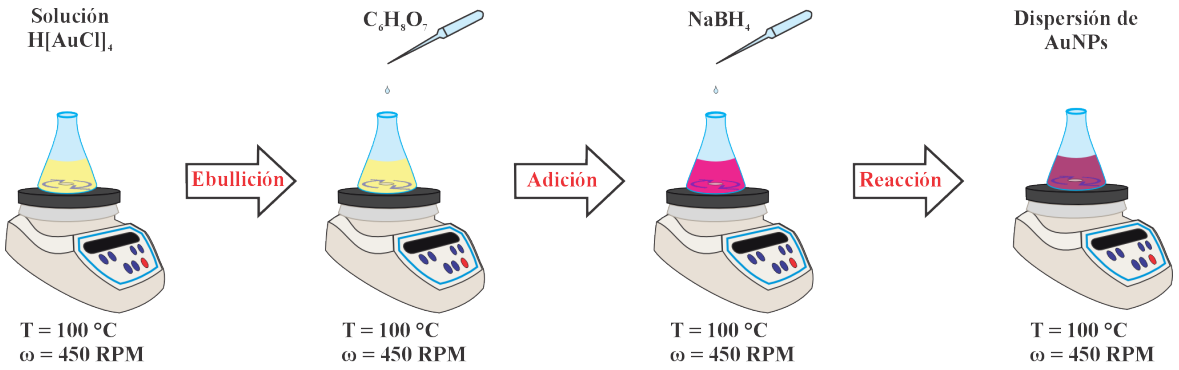


Figura 3.12: Proceso de síntesis de las AuNPs utilizando $C_6H_8O_7$ y $NaBH_4$. *Figura realizada por el autor.*

Luego que terminó el tiempo de reacción, con la técnica de baño maría en un vaso precipitado con agua a temperatura ambiente se enfrió la muestra y se guardó en un vial con tapa.

3.1.5. Síntesis de las AuNPs usando $C_{19}H_{42}BrN$ y $NaBH_4$

Como se puede apreciar en la Figura 3.13 en un matraz con capacidad de 50 mL se vertió 20 mL de la solución precursora de diferentes concentraciones (0,125 mM, 0,250 mM y 0,500 mM). Seguidamente, en una agitador magnético con calentamiento se condiciona a una temperatura de 100 °C y a 450 RPM (estos parámetros se mantienen en todo el proceso de síntesis). Luego de esperar el tiempo necesario de ebullición, se inserta con una velocidad de adición promedio 1 mL del agente estabilizador, CTAB, seguidamente con la misma velocidad de adición se inserta 1 mL del agente reductor, $NaBH_4$. Es importante mantener el orden en la que se vierte los reactivos. Luego con un papel de aluminio se cerró la boca del matraz para evitar el escape agua en forma de vapor y esperamos 20 min para que la reacción química se complete.

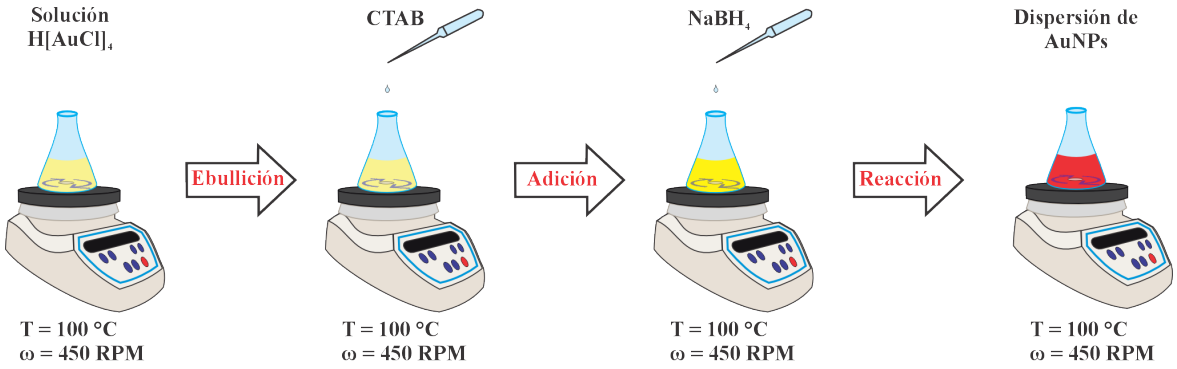


Figura 3.13: Proceso de síntesis de las AuNPs utilizando CTAB y $NaBH_4$. *Figura realizada por el autor.*

Finalmente, con la técnica de baño maría en un vaso precipitado con agua a temperatura ambiente se enfrió la muestra y se guardó en un vial con tapa.

3.2. Caracterización de las AuNPs

Los equipos deben estar limpios y calibrados, utilizando cubetas de cuarzo limpias para UV-Vis y asegurando que el láser y los componentes ópticos del equipo de DLS estén en óptimas condiciones. Además, es crucial trabajar en un entorno libre de contaminantes para evitar interferencias en los resultados (Figura 3.14).

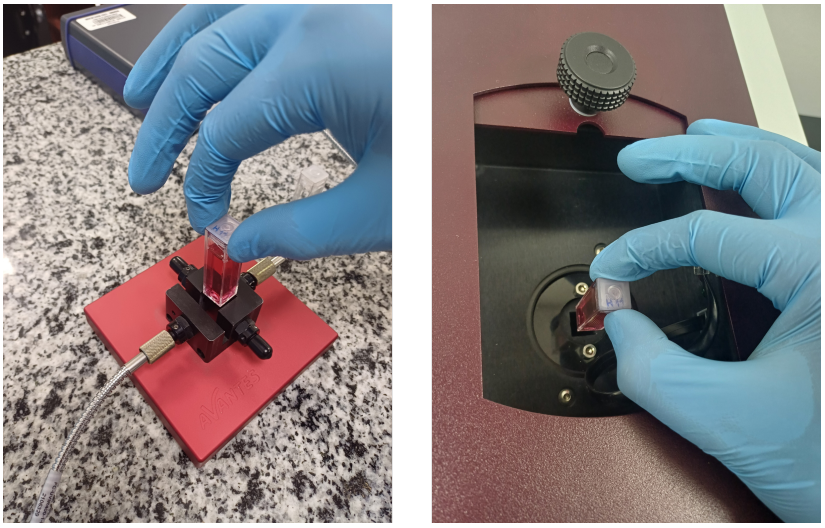


Figura 3.14: Medición en el equipo UV-VIS (izquierda) y el equipo DLS (derecha).

Para realizar una comparación exhaustiva de todas las muestras en función de la variación de la concentración del agente precursor, es esencial utilizar el software Origin9. Este software facilita el análisis de datos mediante el ajuste de los espectros UV-Vis de todas las muestras, permitiendo determinar las longitudes de onda máxima donde ocurre el efecto plasmónico en

las AuNPs. Además, Origin9 es crucial para calcular el diámetro físico utilizando diferentes métodos de ajuste y para observar cómo varía el diámetro hidrodinámico, la polidispersión y el potencial zeta a lo largo del tiempo. Este análisis detallado permite evaluar cómo cambian las propiedades físicas de las muestras en respuesta a las variaciones en las condiciones experimentales (Figura 3.15).

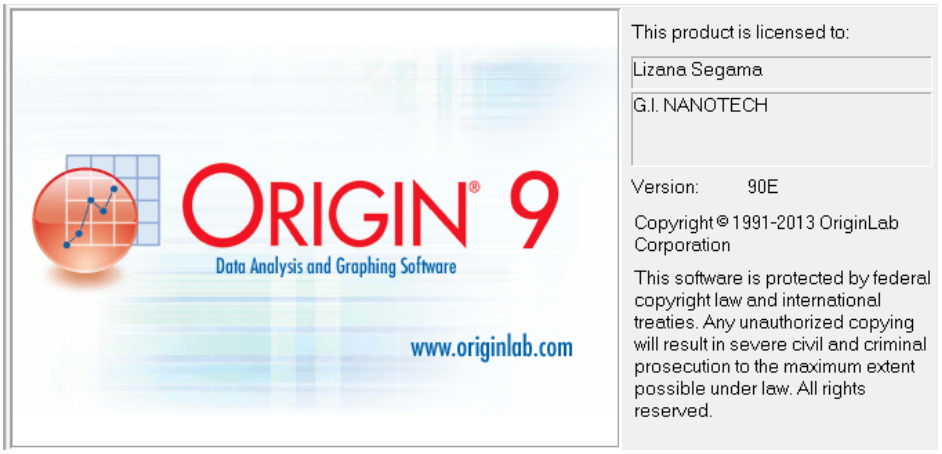


Figura 3.15: Software para análisis de datos Origin9

3.2.1. Medición de la banda de absorbancia máxima por UV-Vis

El espectrofotómetro UV-Vis de AVANTES es un equipo diseñado para medir la absorbancia y transmitancia de muestras en el rango ultravioleta y visible del espectro electromagnético, abarcando longitudes de onda desde aproximadamente 200 nm hasta 1100 nm. Este instrumento es crucial en la caracterización de NPs, análisis de concentración de soluciones y estudios de reacciones químicas. Con su alta precisión y sensibilidad, permite obtener espectros detallados que revelan información sobre las propiedades ópticas de las muestras. Además, su software intuitivo facilita la adquisición y análisis de datos, haciendo que sea una herramienta esencial en laboratorios de investigación y desarrollo.

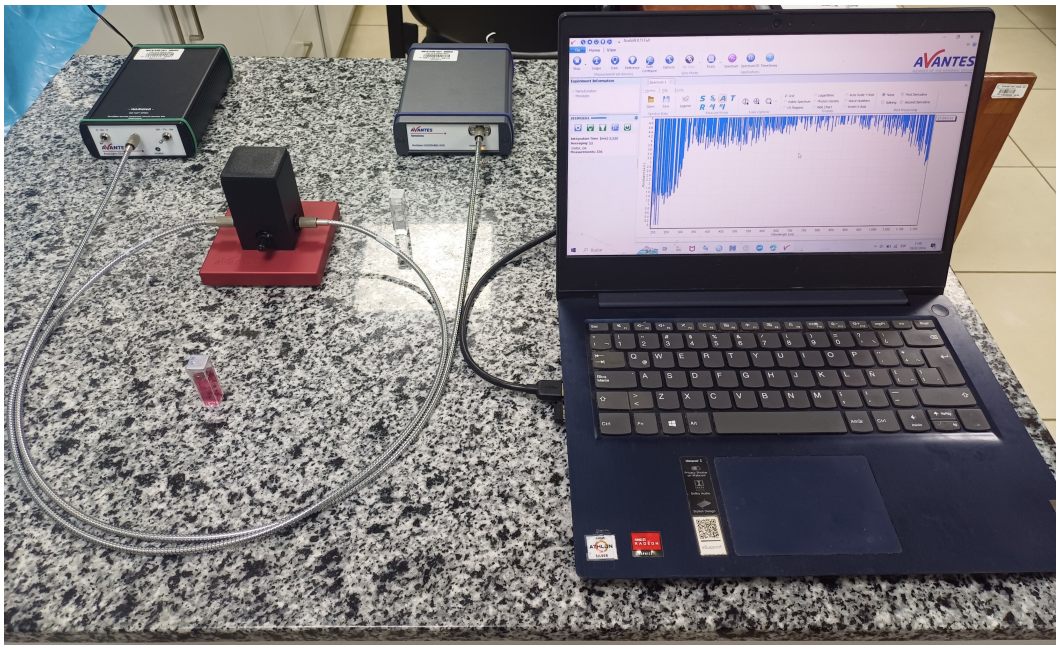


Figura 3.16: Espectrofotómetro UV-Vís marca AVANTES

Se usó el software AvaSoft 8.14 para el espectrofotómetro UV-Vis. El reporte original obtenido para el UV-Vis se puede ver en la Figura 3.17. Este software facilita la obtención y visualización de los datos experimentales, pero el análisis exhaustivo, que incluye la comparación de las propiedades de las AuNPs, requiere un procesamiento adicional utilizando herramientas como Origin9 para obtener una descripción cuantitativa precisa.

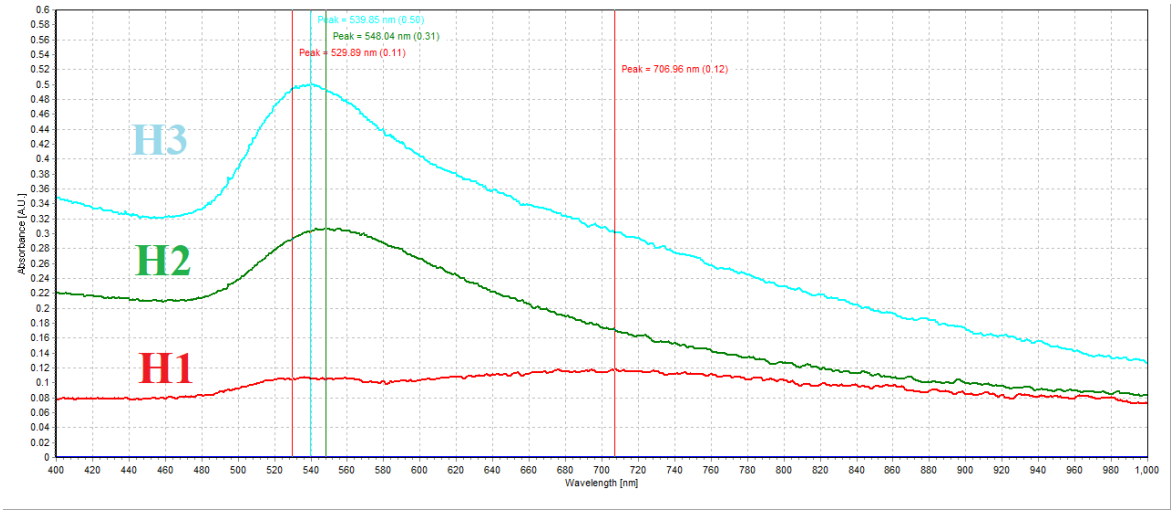


Figura 3.17: Reporte original de UV-VIS del software AvaSoft 8.14.

3.2.2. Medición de diámetro hidrodinámico y polidispersidad por DLS

El 90Plus Particle Size Analyzer de Brookhaven Instruments emplea la técnica DLS para determinar el tamaño de las partículas en suspensión, es decir el diámetro hidrodinámico.

Esta técnica utiliza un láser de 640 nm, que emite luz coherente que incide sobre las partículas en la muestra. La luz dispersada por las partículas en movimiento es capturada por un detector de ángulo múltiple. Este detector recoge la luz dispersa en diferentes ángulos, lo que mejora la precisión en la medición del tamaño de las partículas. El correlador de campo eléctrico analiza las fluctuaciones en la intensidad de la luz dispersa a lo largo del tiempo, asociadas al movimiento Browniano de las partículas, para calcular el diámetro hidrodinámico promedio. La combinación de estos componentes permite una caracterización detallada de la distribución del tamaño de las partículas en soluciones coloidales (Figura 3.18).



Figura 3.18: Equipo DLS marca Brookhaven Instruments.

Se usó el software Particle Solutions V3.6 para el DLS 90Plus de Brookhaven, nos permiten visualizar de manera instantánea los resultados obtenidos en el DLS. El reporte original obtenido para el DLS se puede ver en la Figura 3.19.

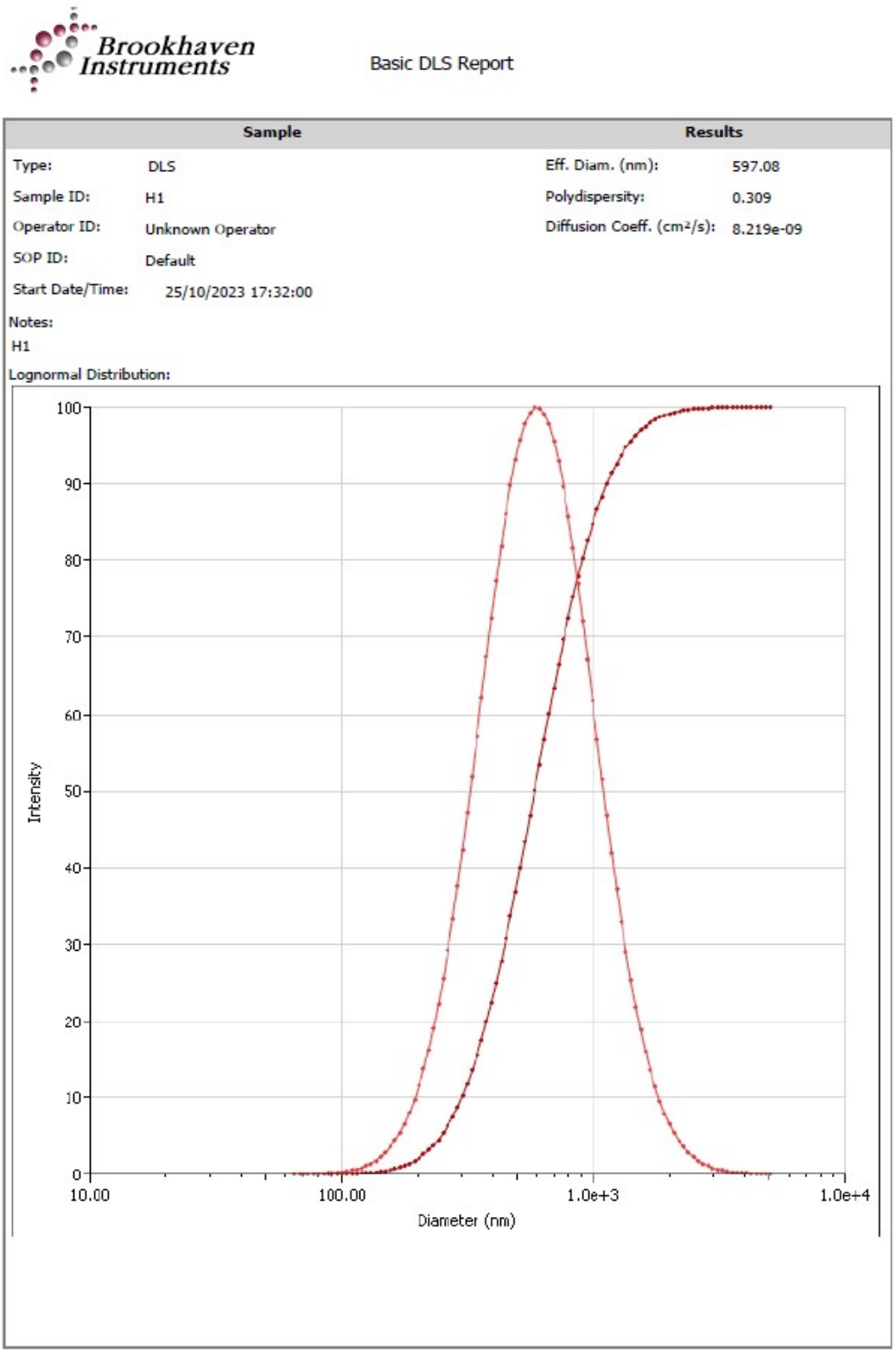


Figura 3.19: Reporte original de DLS del software Particle Solutions V3.6.

3.2.3. Medición de la estabilidad coloidal por PZ

Para medir el PZ, el 90Plus Particle Size Analyzer utiliza un sistema especializado que incluye electrodos de medición y una celda específica para esta técnica. Los electrodos aplican un campo eléctrico a la muestra, lo que induce una migración de las partículas cargadas hacia los electrodos de carga opuesta. La velocidad de esta migración se mide para determinar la movilidad electroforética de las partículas. La celda de medición está diseñada para mantener el campo eléctrico uniforme y permitir la medición precisa de la velocidad de las partículas en movimiento. Con el sistema de control de campo eléctrico y el detector de velocidad, el equipo calcula el PZ de las partículas, proporcionando información sobre su potencial electrostático superficial y, por ende, sobre la estabilidad coloidal de la suspensión. Esta técnica es fundamental para evaluar la estabilidad de las NPs y ajustar formulaciones en diversas aplicaciones industriales (Figura 3.18).

Se usó el software Particle Solutions V3.6 para el DLS 90Plus de Brookhaven, nos permiten visualizar de manera instantánea los resultados obtenidos para el PZ. El reporte original obtenido para el UV-Vis se puede ver en la Figura 3.20.

Brookhaven Instruments

Summary Statistics Report

Type	Start Date/Time	Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
PALS	25/10/2023 16:10:00	H1 - 1	-12.43	-0.97	520	1,258	2,600	8.2483E-02
PALS	25/10/2023 16:10:14	H1 - 2	6.08	0.48	511	1,258	2,600	4.1763E-02
PALS	25/10/2023 16:10:28	H1 - 3	-6.06	-0.47	502	1,258	2,600	5.8925E-02
PALS	25/10/2023 16:10:42	H1 - 4	-13.90	-1.09	499	1,258	2,600	4.7169E-02
PALS	25/10/2023 16:10:57	H1 - 5	-7.63	-0.60	494	1,258	2,600	3.2969E-02
PALS	25/10/2023 16:11:11	H1 - 6	-5.57	-0.43	493	1,258	2,600	5.9248E-02
PALS	25/10/2023 16:11:25	H1 - 7	-6.53	-0.51	495	1,258	2,600	8.3138E-02
PALS	25/10/2023 16:11:39	H1 - 8	-7.45	-0.58	492	1,258	2,600	3.8314E-02
PALS	25/10/2023 16:11:53	H1 - 9	-6.01	-0.47	488	1,258	2,600	5.5709E-02
PALS	25/10/2023 16:12:07	H1 - 10	-10.42	-0.81	486	1,258	2,600	8.3707E-02
		Mean:	-6.99	-0.55	498	1,258	2,600	5.8343E-02
		Std Err:	1.71	0.13	3	0	0	6.0496E-03
		Std Dev:	5.42	0.42	11	0	0	1.9130E-02

Printed: 25/10/2023 1 of 1

Figura 3.20: Reporte original de PZ del software Particle Solutions V3.6.

Capítulo 4

Resultados y Discusiones

En este capítulo se recopilan y comparan todos los resultados obtenidos mediante las técnicas UV-Vis, DLS y PZ. En particular, se evaluaron los efectos de la concentración del agente precursor en la banda de absobancia máxima, diámetro hidrodinámico, polidispersidad y estabilidad coloidal de las AuNPs. Se realizó la reproducibilidad de las mejores muestras con menor tamaño y mayor estabilidad coloidal. También se realizó un monitoreo a través del tiempo para todas las muestras y evaluar propiedades físicas de las AuNPs en un tiempo de 30 días.

4.1. Evaluación de las técnicas UV-Vis, DLS y PZ en el efecto de la concentraciones del $HAuCl_4$ en las propiedades físicas de las AuNPs

Para determinar las muestras óptimas las AuNPs en el contexto de este estudio, se varió de manera metódica un parámetro como la concentración del agente precursor, es decir el ácido cloroáurico. Este proceso se realizó empleando diversos agentes reductores, tanto orgánicos como inorgánicos. Es crucial destacar que la selección de las muestras con la mayor estabilidad y el tamaño más reducido constituye un indicador fundamental para identificar las AuNPs con una mayor biocompatibilidad y menor toxicidad [32] [33].

4.1.1. Evaluación de las AuNPs usando $NaBH_4$

Para las muestras H1, H2 y H3 se apreció a simple vista una tendencia de oscurecimiento progresivo conforme se incrementó la concentración del agente precursor. No obstante, se mantuvo la tonalidad característica de color violeta oscuro en todas las muestras (Figura

4.1). A los primeros 5 min desde el inicio del proceso de síntesis, se observó una sedimentación significativa en las muestras. Lo cual sugiere la formación de agregados y aglomerados de AuNPs, estas nuevas estructuras podrían cambiar significativamente el impacto biológico [34].

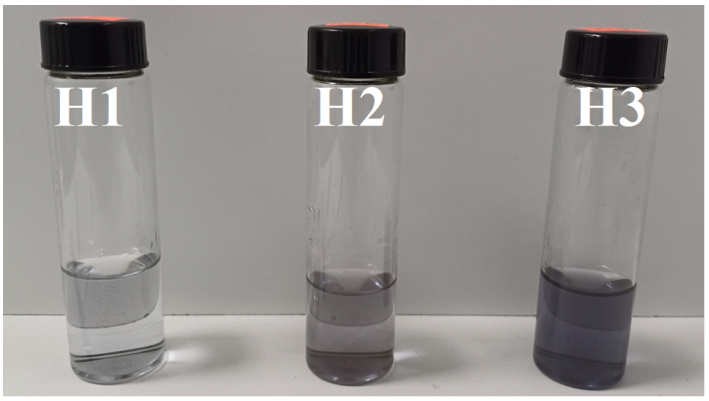


Figura 4.1: Viales de vidrio con las AuNPs utilizando $NaBH_4$. (H1) $[HAuCl_4] = 0{,}125$ mM, (H2) $[HAuCl_4] = 0{,}250$ mM y (H3) $[HAuCl_4] = 0{,}500$ mM.

En la Figura 4.2 en las medidas de UV-Vis para las muestras H1, H2 y H3 notamos una diferencia considerable en las bandas de absorbancia máxima similar a una función Lorentziana con un ligera inclinación a la izquierda, característico de las AuNPs esféricas como lo señala Woźniak y colaboradores [8]. En las muestras H2 y H3 observamos una banda de absorbancia delgada indicando una baja polidispersión; pero en la muestra H1 podemos notar dos bandas de absorbancia anchas, la segunda banda indica alta polidispersión lo cual indica aglomeración en el durante y después de la síntesis [7]. Se observó un desplazamiento a la izquierda de la banda de aborsobancia a mayor concentración del agente precursor, esto también se puede verificar en las medidas de T. Hendel y colaboradores con las mismas concentraciones de agente precursor [35]. Esto se confirmó con los ajustes UV-Vis a las muestras H1, H2 y H3 que determinó la longitud de onda máxima con 539 nm (segunda banda de absorbancia máxima es 693 nm), 549 nm y 539 nm respectivamente. Mahdi y colaboradores obtuvieron una longitud de onda máxima de 521 nm usando los mismos reactivos [36]; sin embargo, otros estudios obtuvieron 510 nm y 515 nm con diferentes concentraciones, volúmenes, tiempo de reacción y a temperatura ambiente [37][38].

Con las medidas de DLS conocemos la dinámica que tiene las AuNPs suspendidas en la solución, en la Figura 4.2 para las muestras H1, H2 y H3 los diámetros hidrodinámicos son muy grandes comparado con otros estudios [39], esto se debe a que el borohidrudo de sodio al ser solo un agente reductor no estabiliza y causó aglomeración y agregación después de la síntesis, evidenciando la sedimentación de las AuNPs 5 minutos después de su síntesis. A pesar de ello, se mantiene una relación inversa entre el diámetro hidrodinámico y la concentración del agente precursor, donde la muestra H3 tiene con un diámetro hidrodinámico menor de 192 nm. Por ejemplo Philip trabajó con el mismo precursor por reducción de borohidruro

de sodio en presencia de polietilenglicol (PEG) obteniendo diámetros hidrodinámicos mucho menores, debido a que el PEG tiene un rol de estabilizante [40].

Para evaluar la estabilidad coloidal de las AuNPs, es esencial determinar el PZ. Se encontró que en las muestras H1, H2 y H3, el PZ se mantiene dentro de un rango de ±15 mV, lo que sugiere una inestabilidad de las AuNPs [6]. Sin embargo, en investigaciones anteriores se observaron valores de potencial entre −40 mV y −30 mV, lo que indica la presencia de otros factores no controlados en cada metodología empleada [41] [42]. A pesar de estas variaciones, se evidencia una relación directa entre la concentración del precursor y la estabilidad coloidal, como se ilustra en la Figura 4.2.

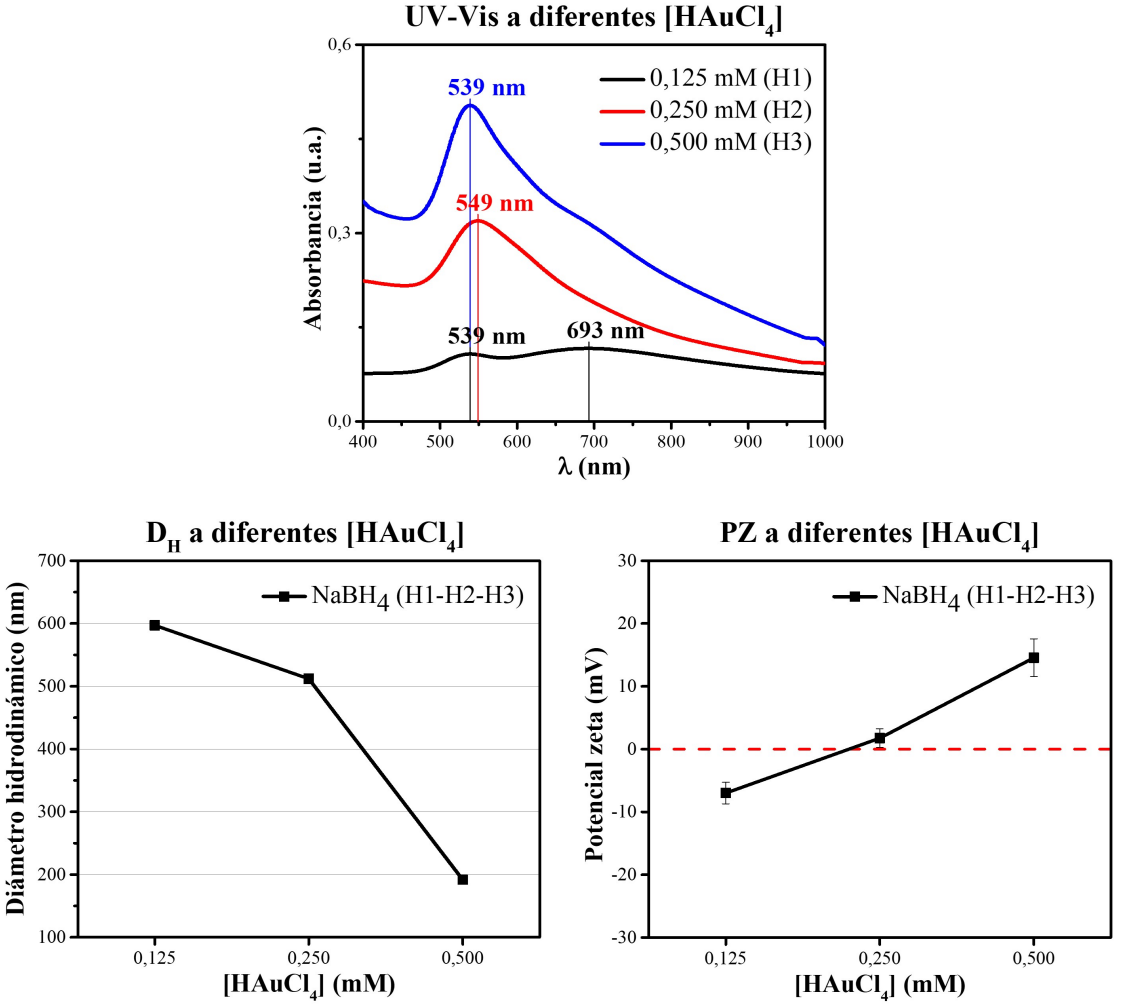


Figura 4.2: Efectos de la concentración del agente precursor las muestras H1, H2 y H3. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha).

Como podemos notar en la Tabla 4.1 se mantuvo constantes algunos parámetros para todas las muestras, como la concentración del borohidruro de sodio con 17 mM y el pH inicial -

final se mantuvo en un promedio de 5. Estudios previos mencionan que el índice de polidispersidad (PDI) de $\leq 0{,}1$ (10 %) se considera altamente monodisperso los valores de 0,1 - 0,4 (10 % - 40 %) y $\geq 0{,}4$ (40 %) se consideran moderada y altamente polidispersos, respectivamente [42]. Se constató que las muestras H1, H2 y H3 se encuentran dentro de un margen de polidispersión moderada, con un porcentaje de polidispersión de 24,9 % para la muestra H3, la cual es la menor polidispersión registrada con borohidruro de sodio.

	$[HAuCl_4]$ (mM)	$[NaBH_4]$ (mM)	d_H (nm)	Polidispersidad (%)	Potencial zeta (mV)	$pH_i - pH_f$
H1	0,125	17	597	30,9	−6,99	5,0 - 5,0
H2	0,250	17	512	32,9	+1,75	5,5 - 5,0
H3	0,500	17	192	24,9	+14,55	5,0 - 5,5

Tabla 4.1: Resumen de las muestras H1, H2 y H3 en función a la concentración del agente precursor.

La agregación y aglomeración (sedimentación en los viales de vidrio) en los primeros minutos 5 después de la síntesis, complica su estabilidad coloidal a través del tiempo. A pesar de ello podemos decir que las AuNPs de mejores características con el borohidruro de sodio es la muestra H3 con un diámetro hidrodinámico y polidispersidad más bajo y un potencial zeta alto comparados con H1 y H2. Todos los datos obtenidos de las muestras H1, H2 y H3 se pueden contrastar en los estudios de Karimi y colaboradores en el 2019; sin embargo difieren en el diámetro hidrodinámico debido a que la síntesis es a temperatura ambiente y tiene parámetros diferentes como la concentración del reductor y pH [43].

4.1.2. Evaluación de las AuNPs usando $C_6H_8O_6$

En el análisis de las muestras H4, H5 y H6, se pudo constatar a simple vista una tendencia de oscurecimiento gradual en proporción directa al aumento de la concentración del agente precursor. Sin embargo, es importante destacar que todas las muestras mantuvieron el color entre púrpura para bajas concentraciones y violeta oscuro para altas concentraciones (Figura 4.3). En los primeros días después de la síntesis se pudo observar una agregación y sedimentación significativa en las muestras reducidas con ácido ascórbico, debido a que no solo es un agente reductor sino que también cumple la función de estabilizador en comparación con otros agentes reductores químicos como el borohidruro de sodio que solo cumple el rol de reductor [44]

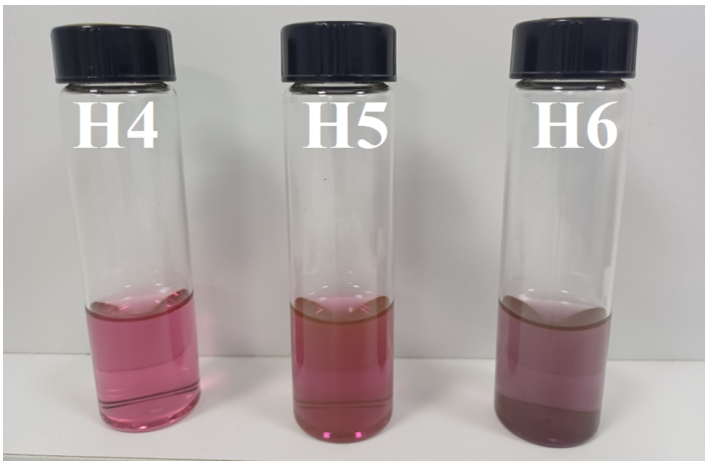


Figura 4.3: Viales de vidrio con las AuNPs utilizando $C_6H_8O_6$. (H4) $[HAuCl_4]$ = 0,125 mM, (H5) $[HAuCl_4]$ = 0,250 mM y (H6) $[HAuCl_4]$ = 0,500 mM.

En la Figura 4.4 las mediciones de UV-Vis de las muestras H4, H5 y H6, se observó una variación considerable en las bandas de absorbancia máxima de 525 nm como lo indican Luty-Błocho y colaboradores [45] característica de las AuNPs esféricas [8]. Por otro lado se relaciona el ancho máximo a media altura con la banda de absorbancia máxima con la polidispersidad de la solución de las AuNPs [46]. También se apreció una banda de absorbancia delgada que sugiere una baja polidispersión para todas las muestras con ácido ascórbico. Los ajustes de UV-Vis realizados en las muestras H4, H5 y H6, los cuales determinaron una longitud de onda máxima de 533 nm, 536 nm y 538 nm respectivamente. Con ello se determinó un desplazamiento hacia la derecha de la banda de absorbancia máxima conforme aumenta la concentración del agente precursor. Otros estudios obtuvieron una longitud de onda máxima de 527 nm empleando los mismos reactivos [47]. Por otro lado Patel y colaboradores reportan 584 nm de longitud de onda máxima, los cuales varían debido a diferencias en concentraciones de los reactivos, tiempo y temperatura de reacción; incluso se obtuvo una morfología diferente (nanoflores) consecuencia del proceso de maduración de Ostwald [48].

Mediante las mediciones DLS, se ha obtenido una comprensión de la dinámica de las AuNPs suspendidas en agua desionizada. En la Figura 4.4 se observa que los diámetros hidrodinámicos de las muestras H4, H5 y H6 se mantiene en una margen de 38 nm a 69 nm, manteniendo una relación directa entre el diámetro hidrodinámico con la concentración del agente precursor. Estudios previos como Hussain y colaboradores obtuvieron las caracterizaciones mediante DLS de 22 a 219 nm de diámetro hidrodinámico, donde el medio de reacción se ajustó cambiando la relación de volumen entre etanol y agua [49].

Para evaluar la estabilidad coloidal de las AuNPs es esencial determinar el PZ de la solución. En el caso de las muestras H4, H5 y H6 el PZ se mantiene dentro de un rango negativo de $-0{,}46$ mV hasta $-21{,}24$ mV. En otras investigaciones se ha registrado un PZ que oscila entre -4 mV y -30 mV, lo que indica la presencia de factores adicionales que pueden influir y que

no han sido completamente controlados como el pH de los reactivos y la solución coloidal [50] [51]. A pesar de estas variaciones, se mantuvo una relación inversa con la concentración del agente precursor y la estabilidad coloidal según lo establecido por Pate y colaboradores [6], tal como se evidencia en la Figura 4.4.

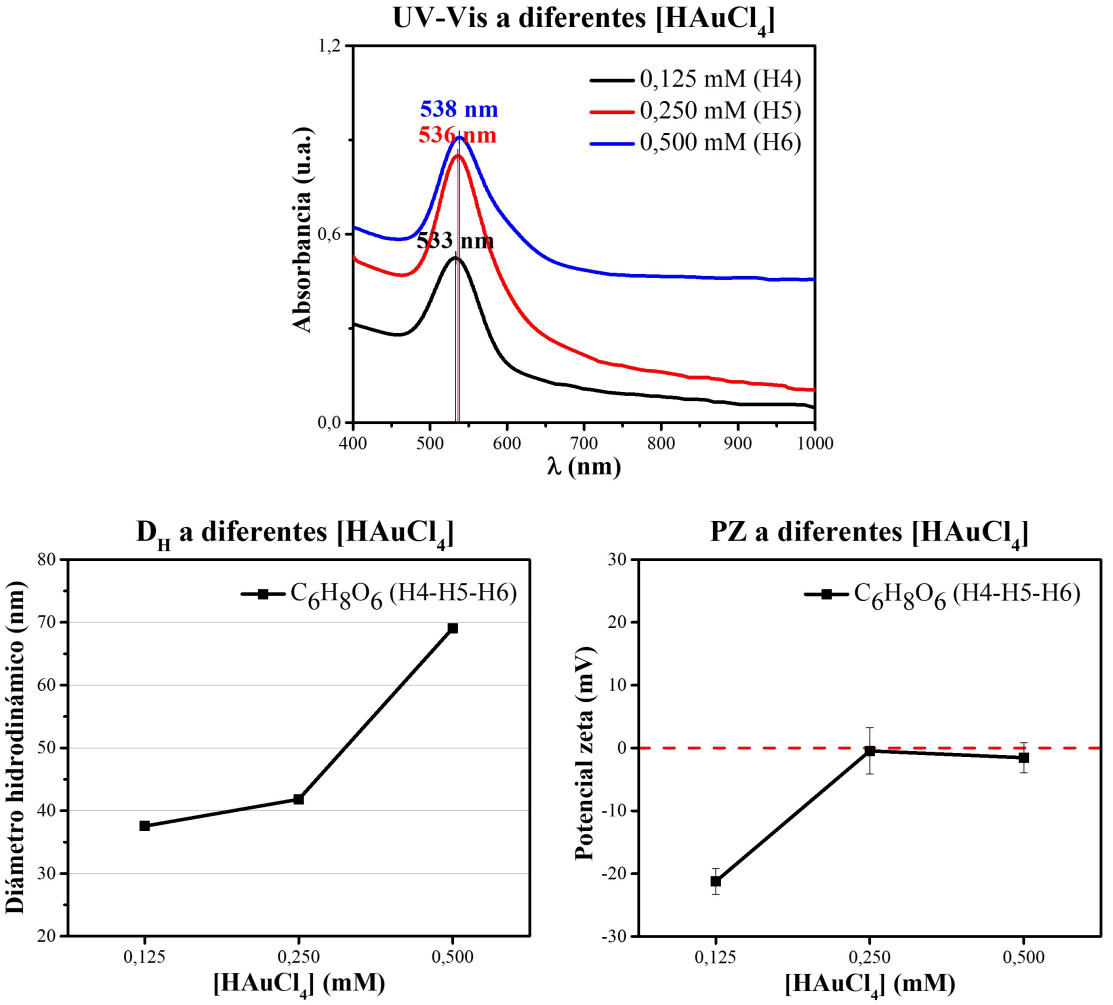


Figura 4.4: Efectos de la concentración del agente precursor las muestras H4, H5 y H6. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha).

Como podemos notar en la Tabla 4.2 se mantuvieron constantes los parámetros como la concentración del ácido ascórbico con 17 mM y el pH inicial - final se mantuvo en un promedio de 5. Estudios previos mencionan que el PDI de $\leq 0{,}1$ (10 %) se considera altamente monodisperso los valores de 0,1 - 0,4 (10 % - 40 %) y $\geq 0{,}4$ (40 %) se consideran moderada y altamente polidispersos, respectivamente [42]. Se constató que las muestras H4, H5 y H6 se encuentran dentro de un margen de polidispersión moderada, con un porcentaje de polidispersión de 32,8 % para la muestra H5, la cual es el menor porcentaje de polidispersión registrada con ácido ascórbico. Esto también se observó en las mediciones de Hussain con un

porcentaje de polidipersión máximo de 40 % una solución con alcohol y agua [49].

	$[HAuCl_4]$ (mM)	$[C_6H_8O_6]$ (mM)	d_H (nm)	Polidispersidad (%)	Potencial zeta (mV)	$pH_i - pH_f$
H4	0,125	17	38	31,0	−21,24	5,5 – 5,0
H5	0,250	17	42	32,8	−0,46	5,0 – 5,0
H6	0,500	17	69	31,0	−1,54	4,5 – 5,0

Tabla 4.2: Resumen de las muestras H4, H5 y H6 en función a la concentración del agente precursor.

La agregación y aglomeración evidenciado por la sedimentación en los viales de vidrio durante los primeros días de la síntesis, plantea desafíos en cuanto a la estabilidad coloidal a largo plazo. A pesar de este inconveniente, es notable que la muestra H4 exhibe las características más favorables entre las AuNPs sintetizadas con ácido ascórbico, mostrando un diámetro hidrodinámico y una polidispersidad más baja, así como un potencial zeta más alto en comparación con las muestras H5 y H6. Todos estos datos obtenidos para las muestras H4, H5 y H6 pueden ser contrastados con otros estudios con las variaciones en los parámetros experimentales, como la concentración del agente precursor y el pH o la adición de agentes estabilizantes como el CTAB [52] [53].

4.1.3. Evaluación de las AuNPs usando $C_6H_8O_7$ y $NaBH_4$

En las muestras H7, H8 y H9 (Figura 4.5) se notó visualmente un aumento gradual en la oscuridad a medida que se incrementó la concentración del agente precursor. Sin embargo, la tonalidad distintiva de color rojo - violeta oscuro se mantuvo constante en todas las muestras. Después de los 15 días desde el inicio del proceso de síntesis se observó una sedimentación notable en las muestras, lo que sugiere la formación de agregados y aglomerados de AuNPs. Estas nuevas estructuras podrían tener un impacto biológico significativo; sin embargo se consideran menos tóxicos comparado con otros agentes reductores [54]. También es necesario entender que en otros estudios la reacción de la sal de oro tras añadir el citrato de sodio preparado a la solución, el citrato de sodio se convierte en ácido cítrico tras la hidrólisis en agua y se utiliza como agente reductor en la reacción de síntesis de AuNPs [55].



Figura 4.5: Viales de vidrio con las AuNPs utilizando $C_6H_8O_7$ y $NaBH_4$. (H7) [$HAuCl_4$] = 0,125 mM, (H8) [$HAuCl_4$] = 0,250 mM y (H9) [$HAuCl_4$] = 0,500 mM.

En la Figura 4.6 se analizó las medidas de UV-Vis de las muestras reducidas con ácido cítrico y borohidruro de sodio, se evidenció una notable variación en las bandas de absorbancia máxima; sin embargo también se observó una segunda banda de absobancia para las muestras H8 y H9 que es una característica típica de las AuNPs como nanoprimas y para la muestra H7 como nanoesferas, como señalan Woźniak y colaboradores [8]. Se notó un desplazamiento hacia la derecha de la banda de absorbancia con el aumento de la concentración del agente precursor, junto con un incremento en la absorbancia máxima. Esta tendencia se confirmó mediante ajustes de UV-Vis en las muestras H7, H8 y H9, que determinaron longitudes de onda máximas de 527 nm, 527 nm y 538 nm, respectivamente. Shiraishi y colaboradores en el caso de la reducción térmica, la longitud de onda máxima de las AuNPs aparece a 530 nm y aumenta con el tiempo de irradiación [56]; sin embargo, otros estudios mediante UV-Vis a temperatura ambiente reportaron valores de 520 nm y 525 nm [57] [58].

Las medidas de DLS nos brindan información sobre la dinámica de las AuNPs suspendidas en una solución. En la Figura 4.6 se observó que los diámetros hidrodinámicos de las muestras H7, H8 y H9 son considerablemente óptimos a tamaño comparado con los otros agentes reductores. A pesar de esto no mantiene una relación entre el diámetro hidrodinámico y la concentración del agente precursor, ya que se mantiene en un promedio de 40 nm. Shiraishi y colaboradores trabajaron con el mismo precursor utilizando la reducción de ácido cítrico diferentes temperaturas de síntesis, logrando diámetros hidrodinámicos entre 18 a 262 nm [56].

Para evaluar la estabilidad coloidal de las AuNPs es esencial determinar su PZ. Se encontró que en las muestras H7, H8 y H9 el PZ se mantuvo dentro de un rango negativo no menor a $-25{,}32$ mV, de igual forma se encuentra en el margen de la inestabilidad [6]. Sin embargo, en investigaciones anteriores se observaron valores de potencial entre -30 mV y -20 mV, lo que indica la presencia de otros factores no controlados, ya que cada síntesis es única [59]. A pesar de estas variaciones no se evidencia una relación entre la concentración del precursor y la estabilidad coloidal (ver Figura 4.6).

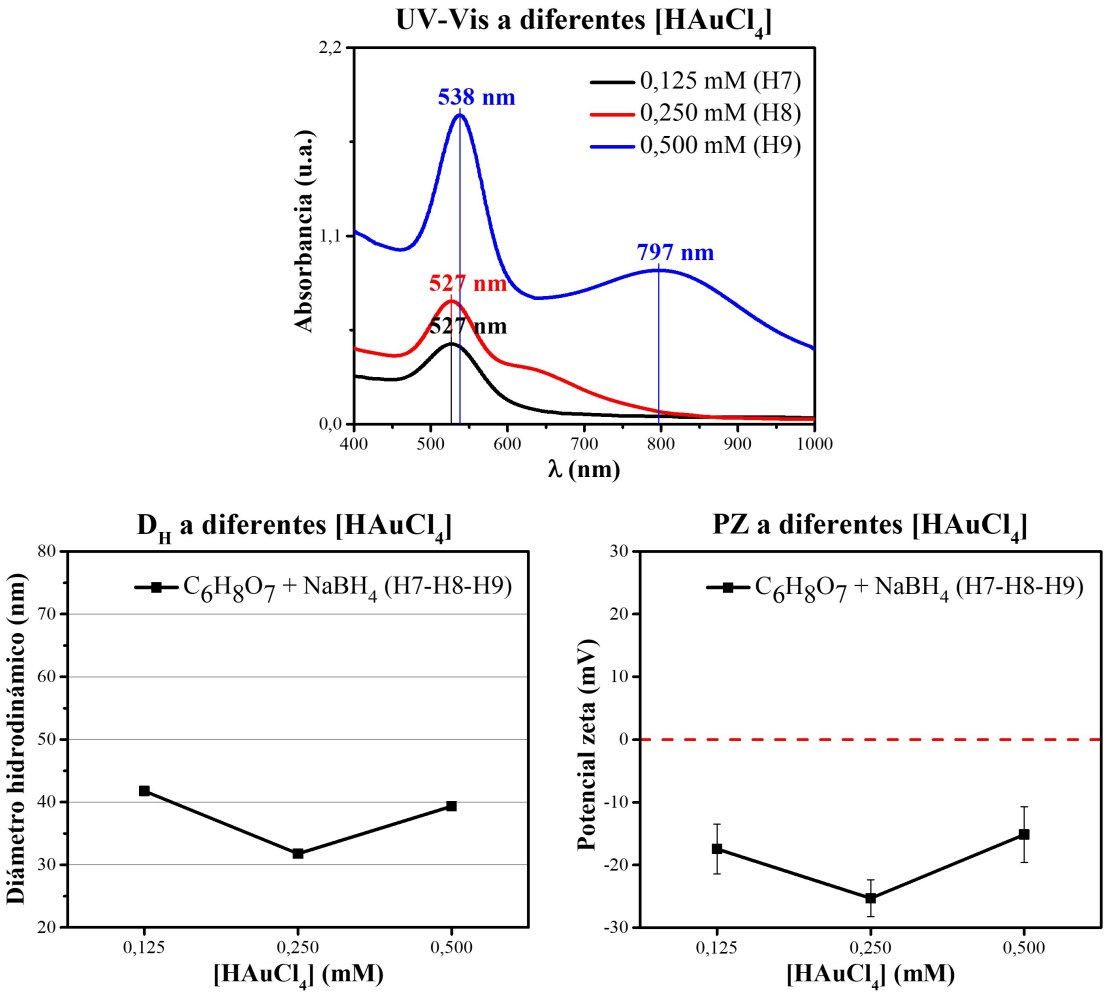


Figura 4.6: Efectos de la concentración del agente precursor las muestras H7, H8 y H9. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha).

En la Tabla 4.3 se observa que algunos parámetros se mantuvieron constantes para todas las muestras, como la concentración del ácido cítrico y el borohidruro de sodio con 17 mM y el pH inicial-final se mantuvo en un promedio de 5 para los dos reactivos. Según estudios previos, el índice de polidispersidad (PDI) de $\leq 0{,}1$ (10 %) se considera altamente monodisperso, mientras que los valores entre 0,1 y 0,4 (10 % - 40 %) se consideran moderadamente polidispersos, y $\geq 0{,}4$ (40 %) se consideran altamente polidispersos [42]. Se verificó que las muestras H7, H8 y H9 se encuentran dentro del rango de polidispersión moderada manteniendo una relación directa con la concentración del precursor, con un porcentaje de polidispersión del 26,5 % para la muestra H7 con menor polidispersión registrada utilizando ácido cítrico con borohidruro de sodio.

	$[HAuCl_4]$ (mM)	$[C_6H_8O_7]$ (mM)	$[NaBH_4]$ (mM)	d_H (nm)	Polidispersidad (%)	Potencial zeta (mV)	$pH_i - pH_f$
H7	0,125	17	17	42	26,5	−17,46	5,0 – 5,0
H8	0,250	17	17	32	27,9	−25,32	5,5 – 5,0
H9	0,500	17	17	39	32,3	−15,14	5,0 – 5,5

Tabla 4.3: Resumen de las muestras H7, H8 y H9 en función a la concentración del agente precursor.

La agregación y aglomeración se manifiestan con la sedimentación en los viales de vidrio durante los 15 días después de la síntesis, complican la estabilidad coloidal a lo largo del tiempo. A pesar de este desafío, podemos afirmar que la muestra H7 muestra las mejores características entre las AuNPs sintetizadas con ácido cítrico y borohidruro de sodio, presentando un diámetro hidrodinámico y una polidispersión más baja, así como un PZ alto en comparación con las muestras H8 y H9. Todos estos datos de las muestras H7, H8 y H9 pueden ser contrastados con los estudios de Simeonova y colaboradores; sin embargo, existe una diferencia en las longitudes de onda máxima debido a las diferencias como la temperatura de síntesis y la concentración de los reactivos [60].

4.1.4. Evaluación de las AuNPs usando $C_{19}H_{42}BrN$ y $NaBH_4$

Para las muestras H10, H11 y H12 a primera impresión podemos ver un color entre violeta y rojo para todas las muestras. En la que se oscurece a medida que la concentración del agente precursor aumenta. Un mes después de la síntesis no hubo sedimentación de las muestras, indicando una estabilidad de las AuNPs (Figura 4.7).



Figura 4.7: Viales de vidrio con las AuNPs utilizando CTAB y $NaBH_4$. (H10) $[HAuCl_4]$ = 0,125 mM, (H11) $[HAuCl_4]$ = 0,250 mM y (H12) $[HAuCl_4]$ = 0,500 mM.

Las mediciones de UV-Vis en la Figura 4.8 nos permitió conocer de forma inmediata la existencia de las AuNPs en la solución. En la que notamos una diferencia significativa en

las bandas de absorbancia para las muestras H10, H11 y H12, característico de las AuNPs esféricas como lo menciona [8]. Existe una relación directa entre la absorbancia y la concentración del agente precursor. Para las muestras H10, H11 y 12 observamos una banda de absorbancia máxima delgada indicando una baja polidispersidad, con una longitud de onda máxima de 525 nm, 526 nm y 528 nm, respectivamente. En las muestras hay un desplazamiento significativo de la banda de absorbancia máxima hacia longitudes de onda mayores, lo que indica el aumento en el tamaño de las AuNPs.

En los resultados de DLS, vemos que hay una relación directa y significativa entre el diámetro hidrodinámico y la concentración del agente precursor. El diámetro hidrodinámico para las muestras H10, H11 y H12 fue de 62 nm, 53 nm y 97 nm, respectivamente (Figura 4.8). Indicando que hay una síntesis rápida y controlada debido a la propiedad estabilizante del CTAB, la cual la muestra H11 con menor diámetro hidrodinámico.

Las mediciones del PZ de las muestras H10, H11 y H12 tiene un alto PZ. Mantienen una carga superficial positiva ya que para la concentración alta, intermedia y baja podemos notar un potencial zeta estable como lo menciona Pate y Safier [6], pero aún así la muestra H12 indica mayor estabilidad coloidal de las AuNPs, véase Figura 4.8.

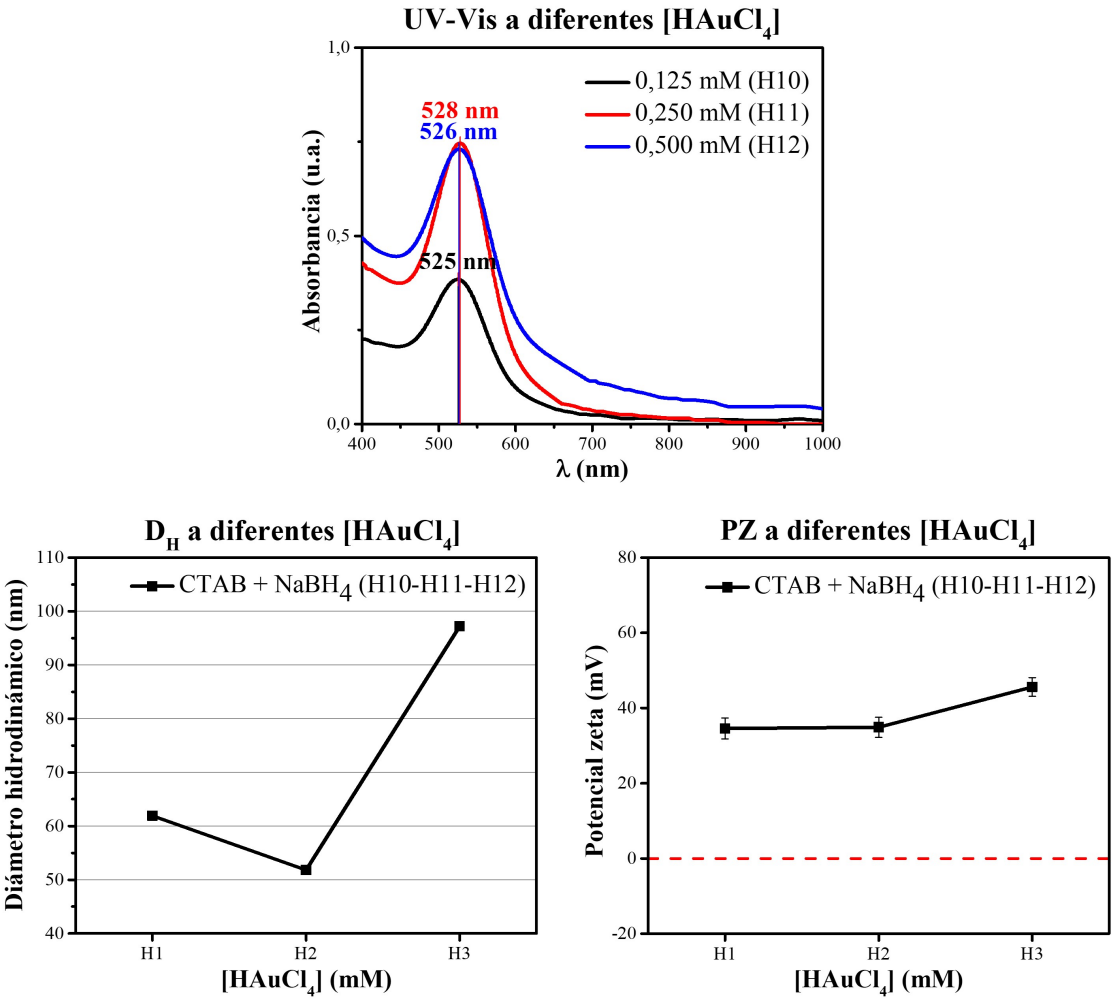


Figura 4.8: Efectos de la concentración del agente precursor las muestras H10, H11 y H12. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha).

En la Tabla 4.4 todas las muestras reportan un pH inicial y final con un promedio de 5. Así mismo mencionar que no hay una diferencia significativa en la polidispersidad para todas las muestras, ya que se mantienen en el margen permitido. Con una polidispersidad no menor a 28,1 % para la muestra H11.

	$[HAuCl_4]$ (mM)	[CTAB] (mM)	$[NaBH_4]$ (mM)	d_H (nm)	Polidispersidad (%)	Potencial zeta (mV)	$pH_i - pH_f$
H10	0,125	17	17	62	29,3	+34,55	5,0 – 5,0
H11	0,250	17	17	53	28,1	+34,91	5,5 – 5,0
H12	0,500	17	17	97	29,9	+45,61	5,0 – 5,5

Tabla 4.4: Resumen de las muestras H10, H11 y H12 en función a la concentración del agente precursor.

Podemos decir que las AuNPs más estables con el CTAB y el borohidruro de sodio es la muestra H12 con un diámetro hidrodinámico de 97 nm pero una polidispersidad baja y un potencial zeta altamente estable comparados con las muestras H10 y H11. Pero la muestra H10 es la muestra que mantiene un equilibrio entre su diámetro hidrodinámico 62 nm, una polidispersidad de 29,4 % y una carga superficial estable.

4.2. Evaluación de la reproducibilidad de las mejores muestras por las técnicas UV-Vis, DLS y PZ

Entendemos que replicar una muestra a escala nanométrica es complicado debido a que hay factores externos que podrían perturbar dicho resultado. Es por ello que se realizó 2 réplicas de las muestras más estables es decir las muestras H7 y H10. A su vez comparamos sus propiedades físicas y para así poder corroborar el control que se tiene en cada síntesis.

Para las muestras H7b y H10b observamos un color violeta y rojo respectivamente. Evidentemente cada muestra tiene diferentes color por que le corresponde a diferentes síntesis, como veremos a continuación (Figura 4.9).

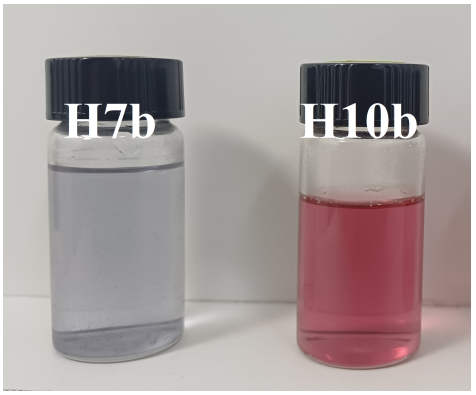


Figura 4.9: Viales de vidrio con las AuNPs de las muestras más estables. (H7b) Réplica de la muestra H7, (H10b) réplica de la muestra H10.

Comparamos los resultados UV-Vis, DLS y PZ de cada muestra para poder notar las diferencias significativas en las propiedades físicas en cada réplica (Figura 4.10 y Figura 4.11)

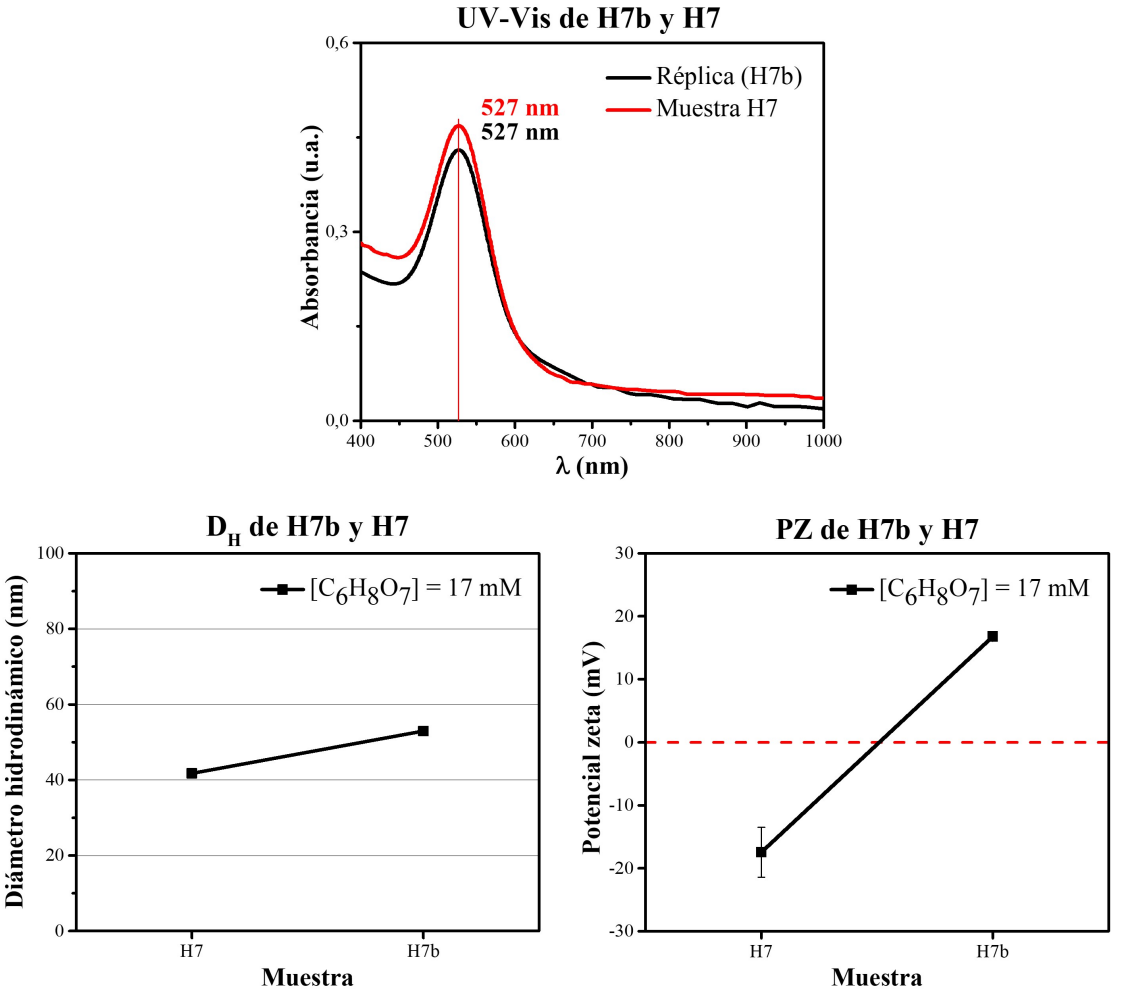


Figura 4.10: Comparación de las muestras H7b y H7. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha).

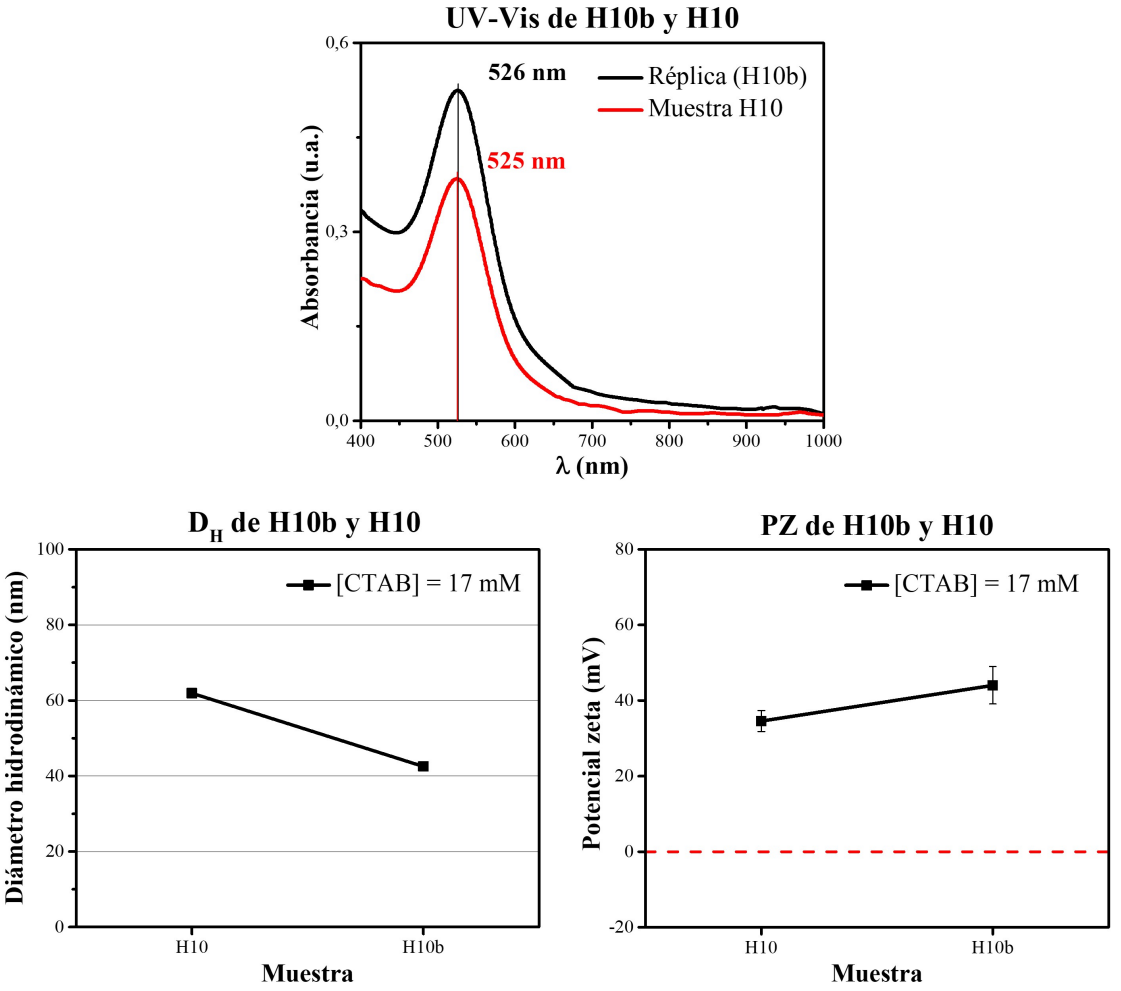


Figura 4.11: Comparación de las muestras H10b y H10. UV-Vis (arriba), DLS (izquierda) y PZ (derecha).

En la Tabla 4.5 podemos notar que el diámetro hidrodinámico varió en 11 nm al igual que su polidispersidad que es menor a 27 %. Su estabilidad coloidal es totalmente inestable de −17,46 mV a +16,8 mV, lo cual hay un cambio de carga superficial considerable haciendo una réplica no reproducible para las muestras con ácido cítrico. A pesar de que mantiene el diámetro hidrodinámico y la polidipersidad, podemos decir que no mantiene su PZ teniendo una variación considerable en el potencial de negativo a positivo.

	$[HAuCl_4]$ (mM)	$[NaBH_4]$ (mM)	$[C_6H_8O_7]$ (mM)	d_H (nm)	Polidispersidad (%)	Potencial zeta (mV)	$pH_i - pH_f$
H7	0,125	17	17	42	26,5	−17,46	5,0 – 5,0
H7b	0,125	17	17	53	20,3	+16,8	5,0 – 5,0

Tabla 4.5: Comparación de las muestras H7 y H7b.

Como se puede apreciar en la Tabla 4.6 el diámetro hidrodinámico varió en 19 nm y su polidispersidad se mantiene en un 30 %. Su estabilidad coloidal se mantiene en una carga no mayor a +44,02 mV. Podemos decir que mantiene sus propiedades se mantienen en forma general, pero no hay una variación significativa en el diámetro hidrodinámico. También podemos decir que a menor diámetro hidrodinánmico, mayor será el PZ de la AuNPs con CTAB y borohidruro de sodio.

	$[HAuCl_4]$ (mM)	[CTAB] (mM)	$[NaBH_4]$ (mM)	d_H (nm)	Polidispersidad (%)	Potencial zeta (mV)	$pH_i - pH_f$
H10	0,125	17	17	62	29,3	+34,55	5,0 – 5,0
H10b	0,125	17	17	43	30,9	+44,02	5,0 – 5,5

Tabla 4.6: Comparación de las muestras H10 y H10b.

4.3. Monitoreo a través del tiempo para cada muestra

Las muestras H1 hasta H3 en la que se usaron solo el agente reductor como el borohidruro de sodio siendo aquellas donde la aglomeración y sedimentación sucedió una hora después de la síntesis, fueron monitoreadas en función del tiempo a través de sus espectros UV-Vis. Para el día 15 ya se generaba un precipitado. Es por ello que antes de realizar las mediciones en los posteriores días al día 1, las muestras serían previamente sonicados por un tiempo de 10 min (Figura 4.12).

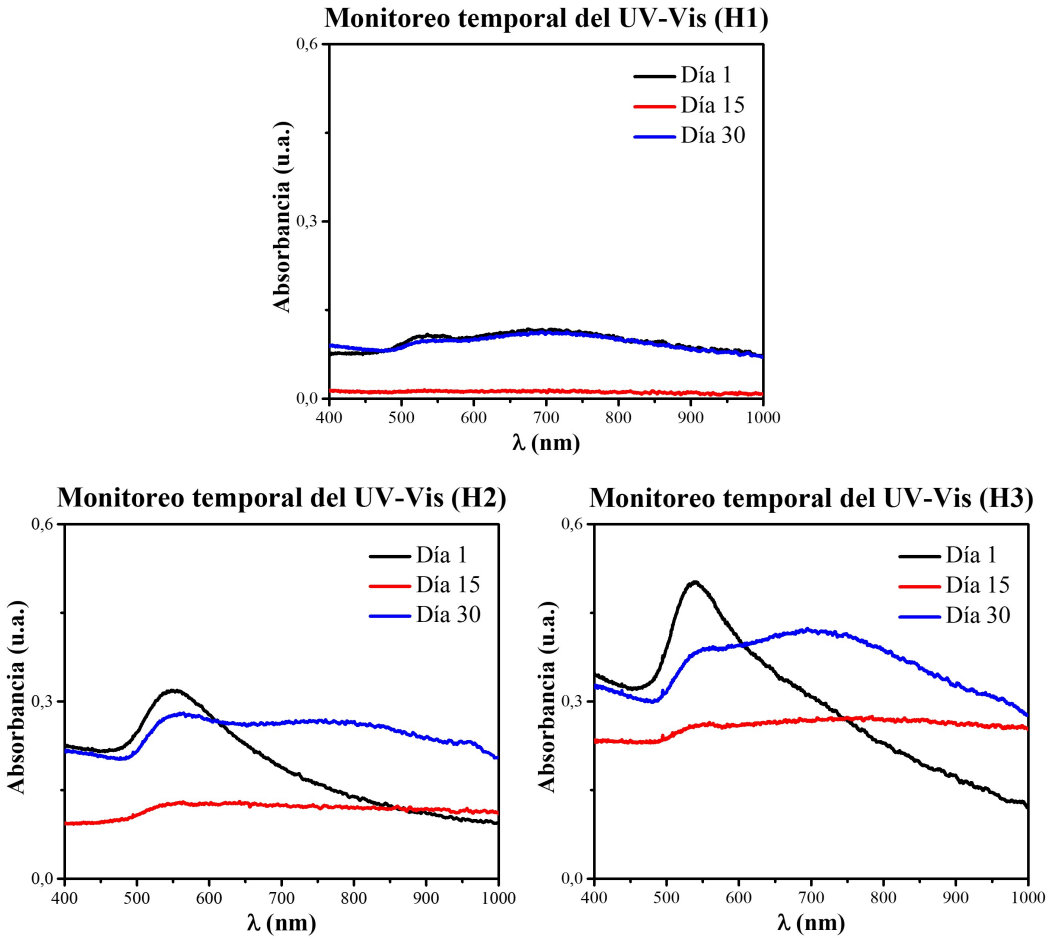


Figura 4.12: Monitoreo de 30 días para la muestra H1-H2-H3.

En la Figura 4.13, respecto a la síntesis con el ácido ascórbico correspondiente a las muestras H4 hasta H6, las mediciones de UV-Vis evidencian una aglomeración en el día 30.

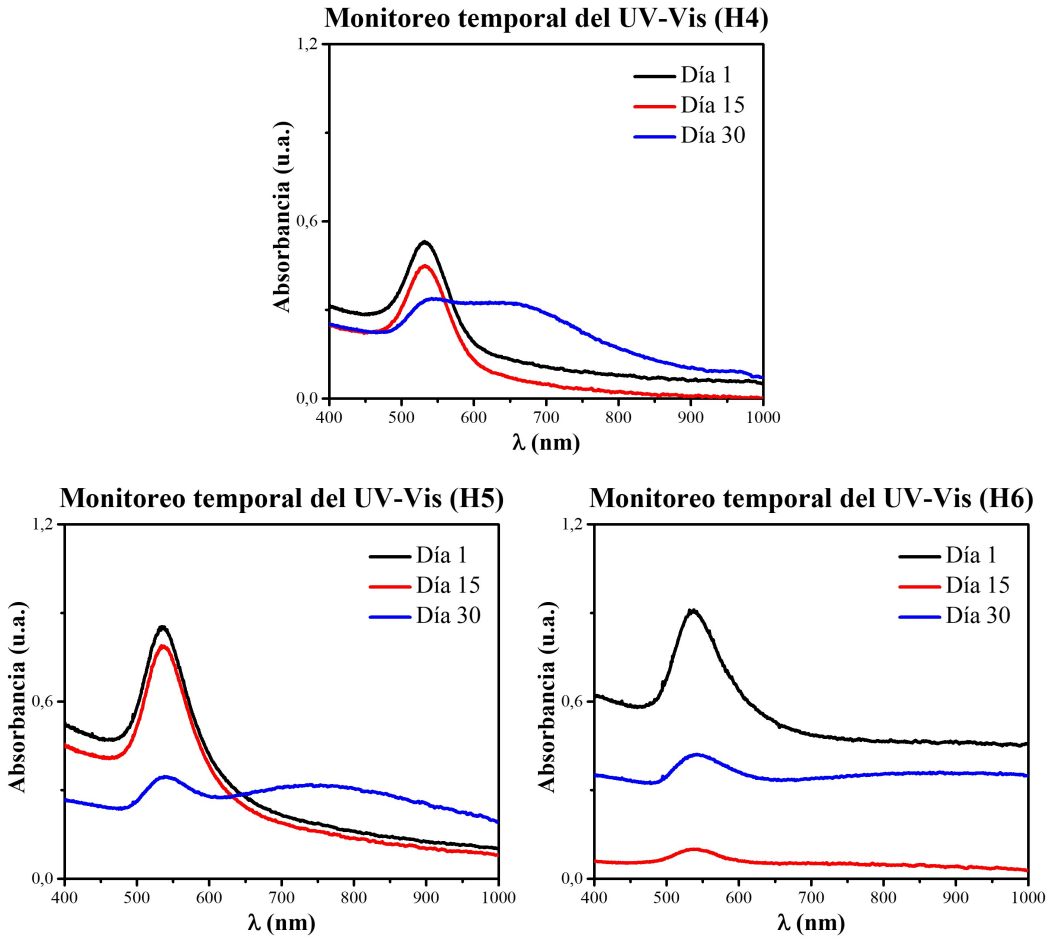


Figura 4.13: Monitoreo de 30 días para la muestra H4-H5-H6.

Por otro lado, las muestras H7, H8 y H9 mostraron una segunda banda de absorbancia a partir del dia 15, la cual siguió creciendo hasta el día 30. Eso se vio reflejado en el aumento de su diámetro hidrodinámico de 50 a 800 nm aproximadamente. De igual forma su valor de PZ se acerca a un potencial nulo (Figura 4.14, Figura 4.15 y Figura 4.16).

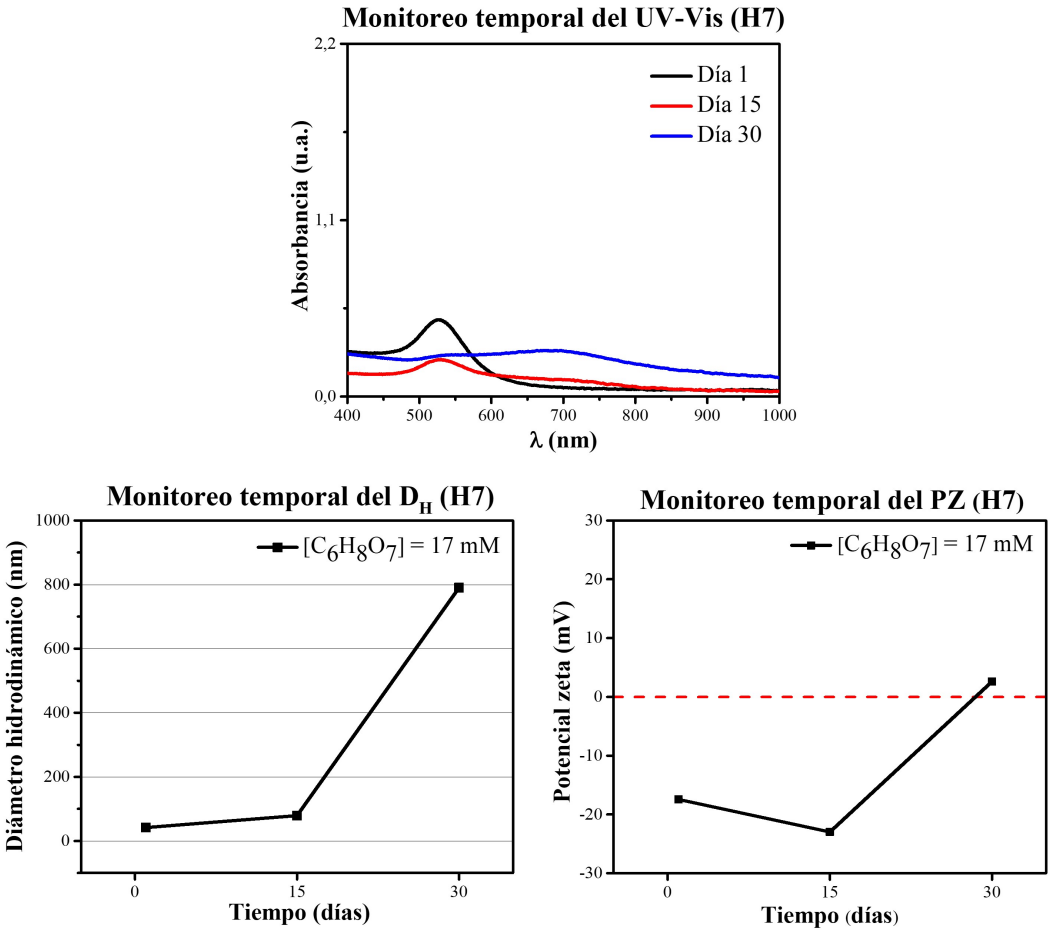


Figura 4.14: Monitoreo de 30 días para la muestra H7.

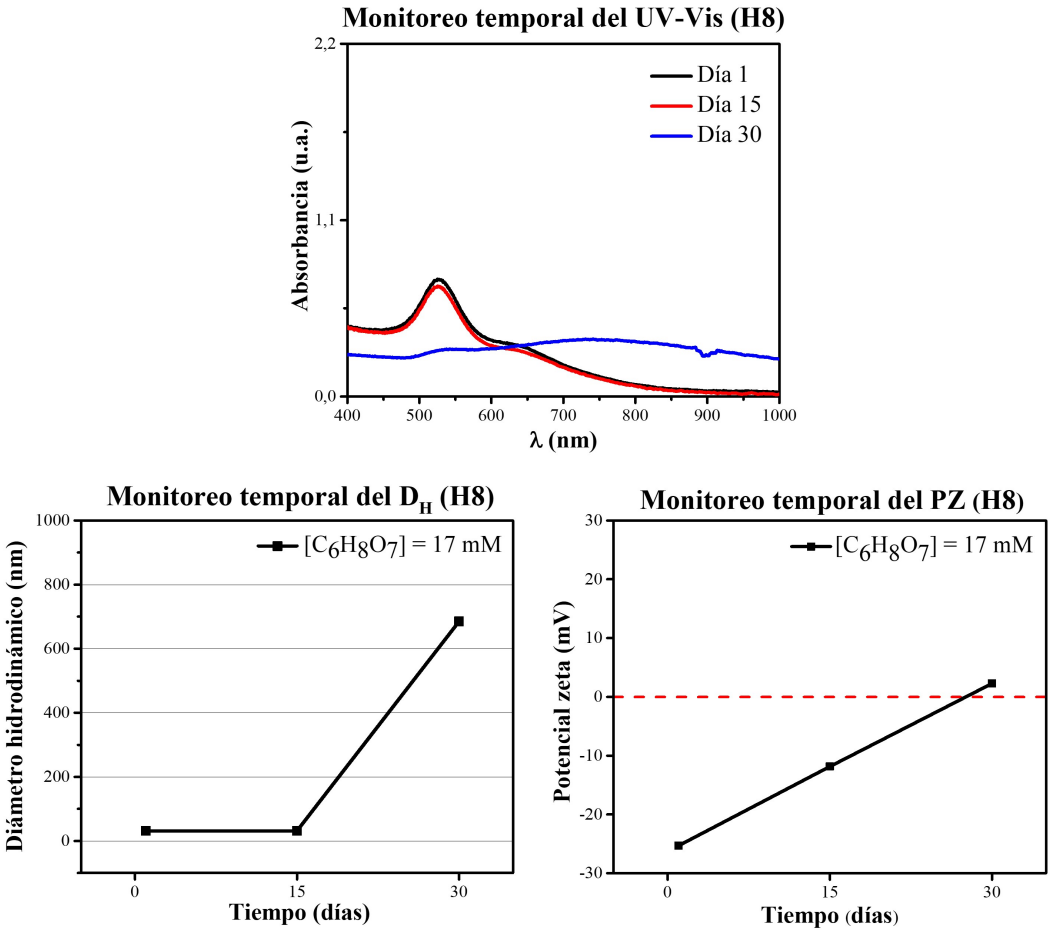


Figura 4.15: Monitoreo de 30 días para la muestra H8.

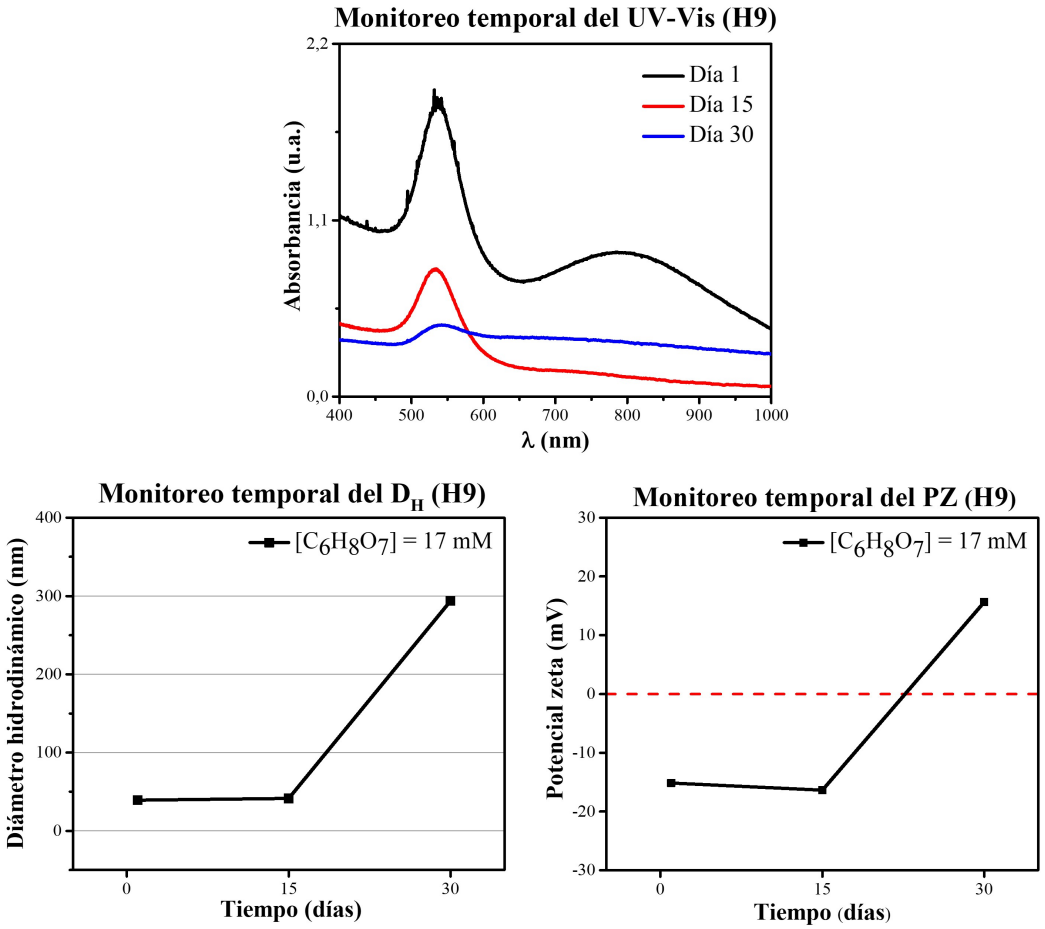


Figura 4.16: Monitoreo de 30 días para la muestra H9.

Observamos que en las muestras H10, H11 y H12 la banda de absorbancia máxima no varía en los 30 días de medición. Asu vez se corrobora que no hay una variación significativa del diámetro hidrodinámico. De igual forma su valor de PZ se mantiene en un valor altamente estable (Figura 4.17, Figura 4.18 y Figura 4.19).

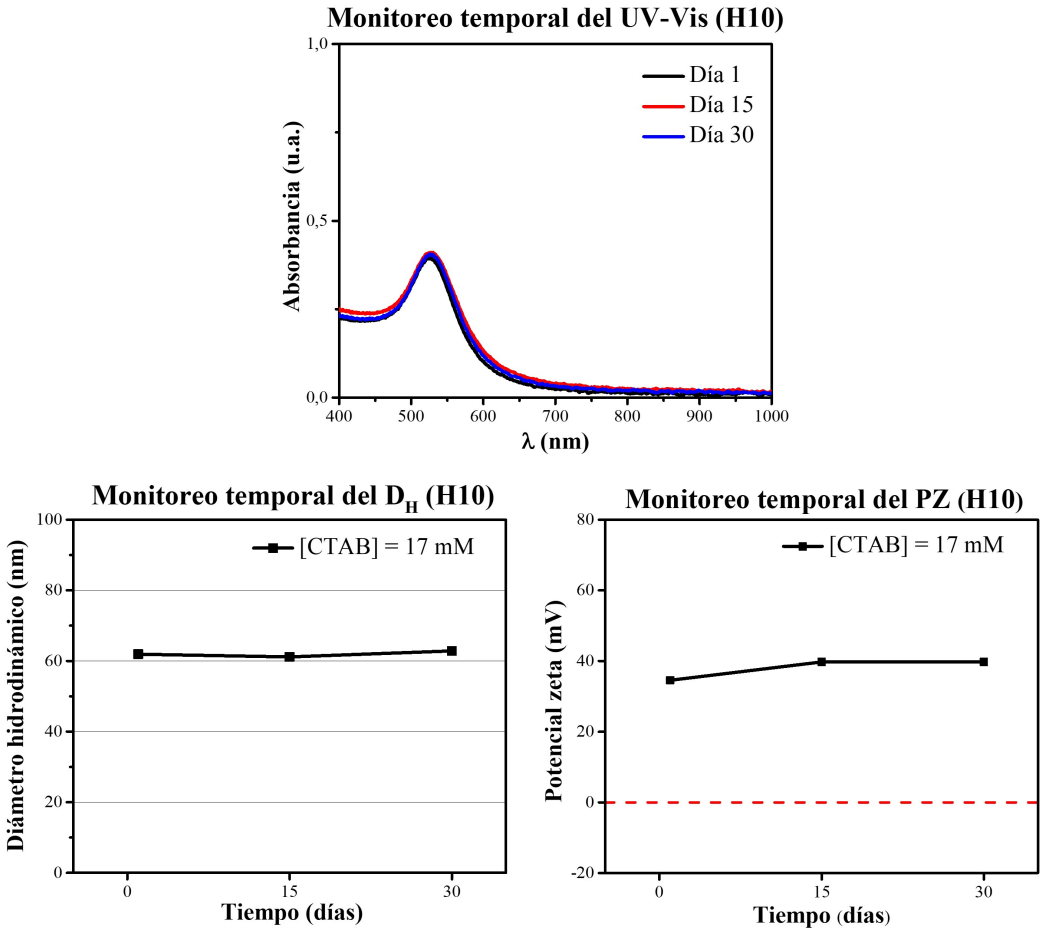


Figura 4.17: Monitoreo de 30 días para la muestra H10.

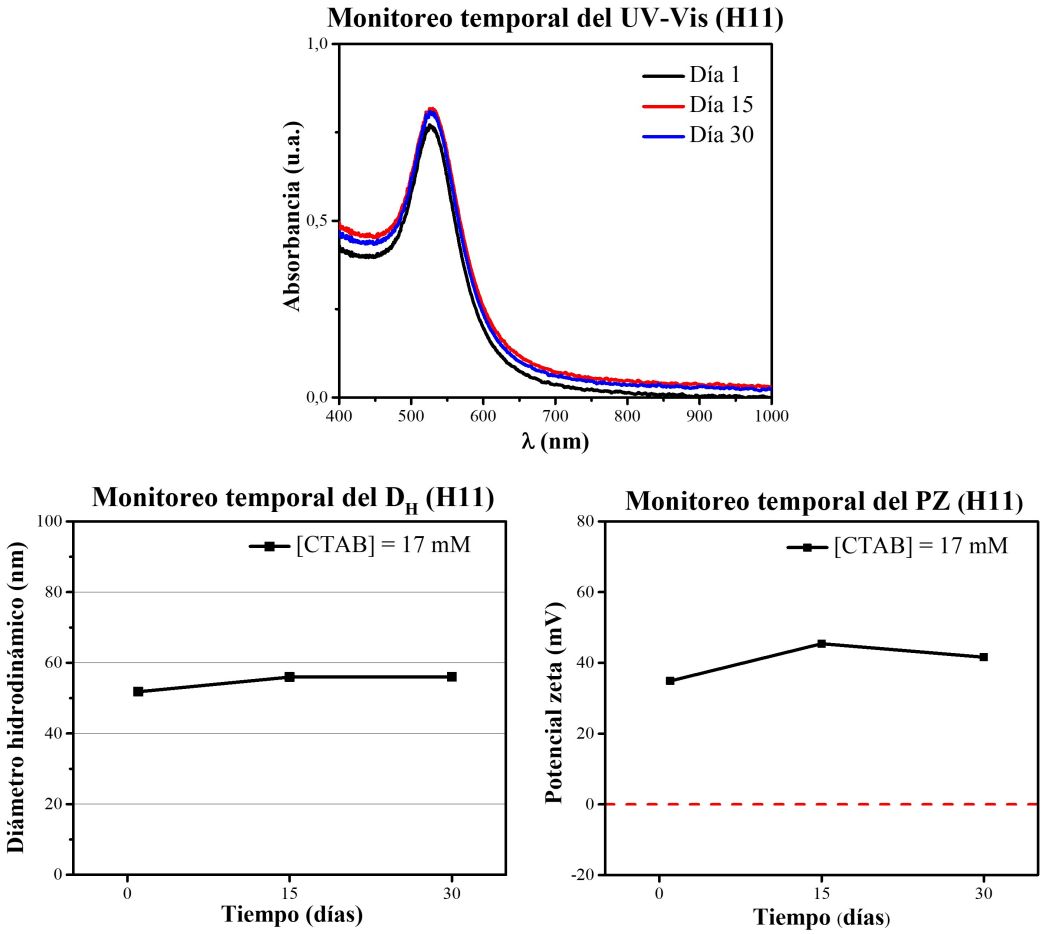


Figura 4.18: Monitoreo de 30 días para la muestra H11.

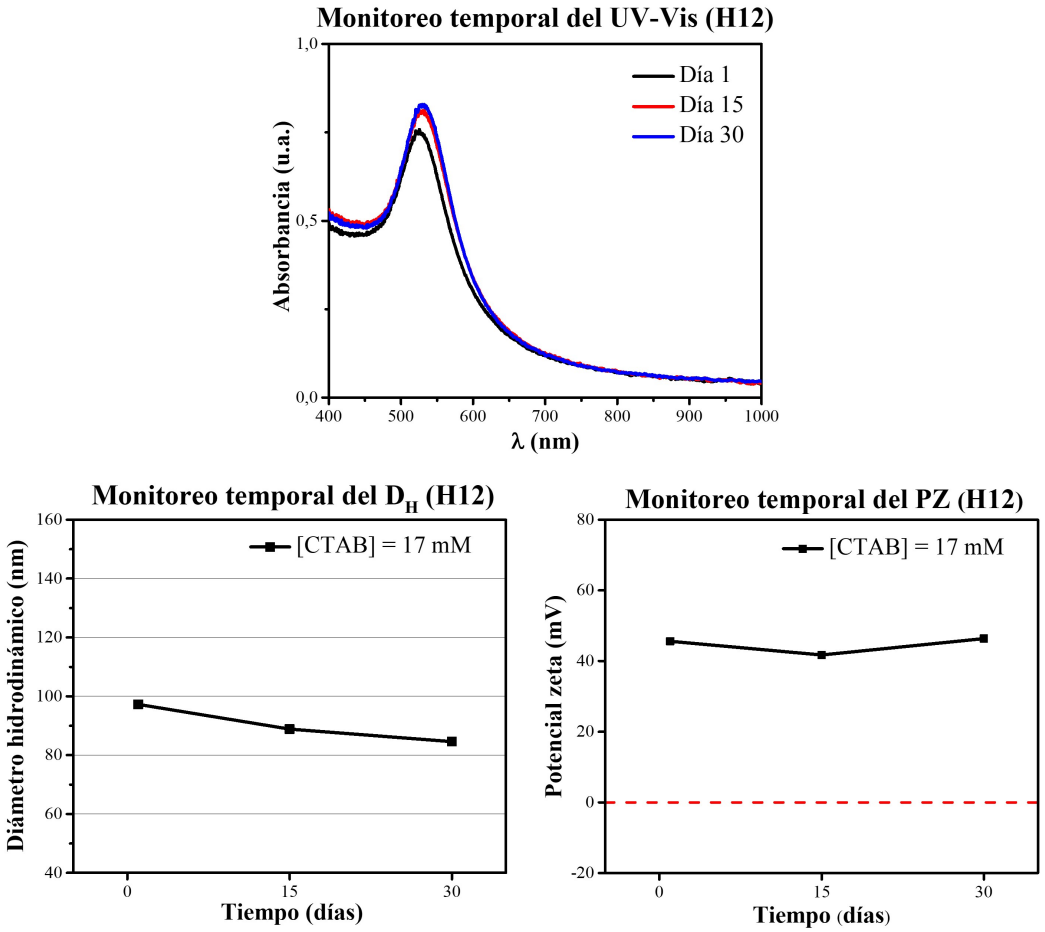


Figura 4.19: Monitoreo de 30 días para la muestra H12.

Como era de esperarse para la réplica H7b al ser sintetizado con ácido cítrico no duró más de 15 días en la que empezó a generar agregados y aglomerados, esto se puede corroborar claramente en las bandas de absobancia ensanchadas. A pesar de ser sonicado por 10 min no se honogenizó de forma total a su estado inicial, en consecuencia su diámetro hidrodinámico creció de forma exponencial y su PZ llegó a una carga superficial casi neutra de +5 mV (Figura 4.20).

Para la réplica H10b al ser sintetizada con CTAB y borohidruro de sodio, no hubo una variación significativa en la banda de absorbancia máxima. De igual manera el diámetro hidrodinámico se mantiene en un valor mayor a 90 nm y su PZ no menor a +40 mV (Figura 4.21). Esto confirma que el CTAB al ser un buen agente estabilizador e incluso poder realizar réplicas, siendo así la muestra H10b más óptima para pode replicar e incluso mantener sus características físicas de las AuNPs a través del tiempo.

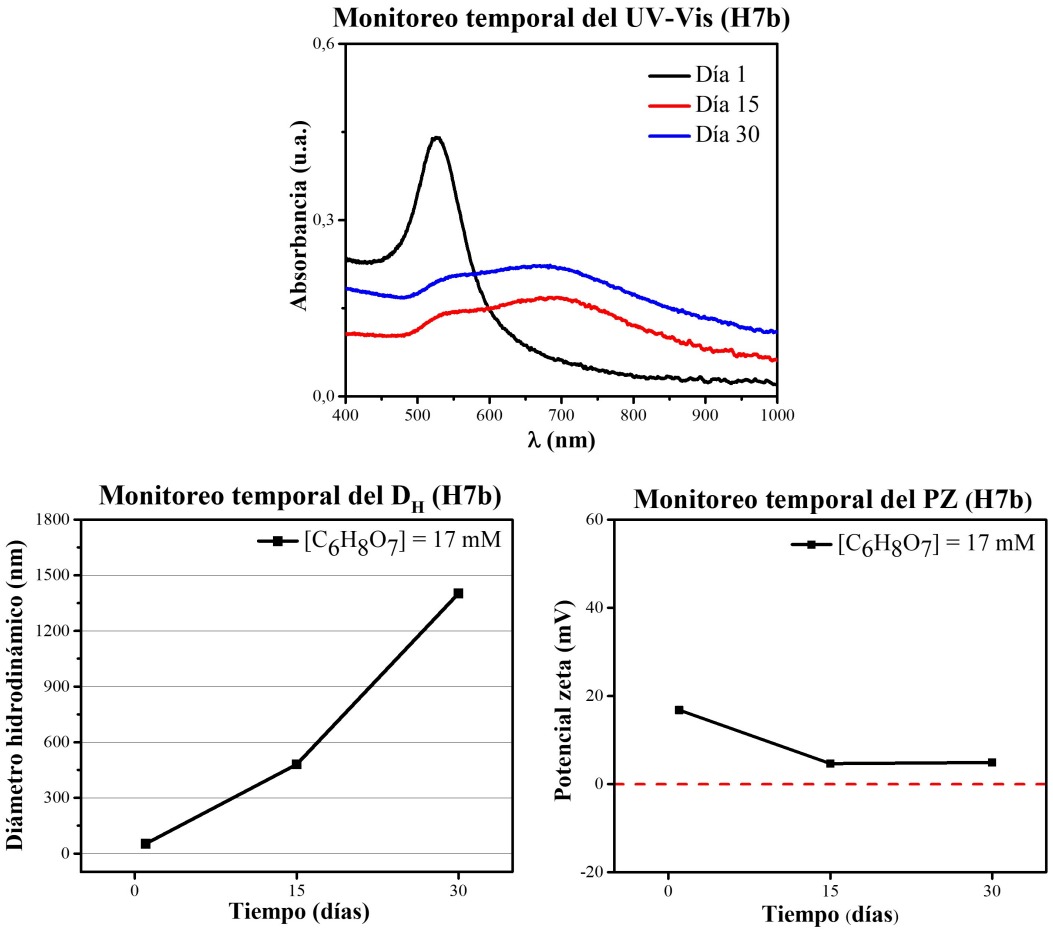


Figura 4.20: Monitoreo de 30 días para la muestra H7b.

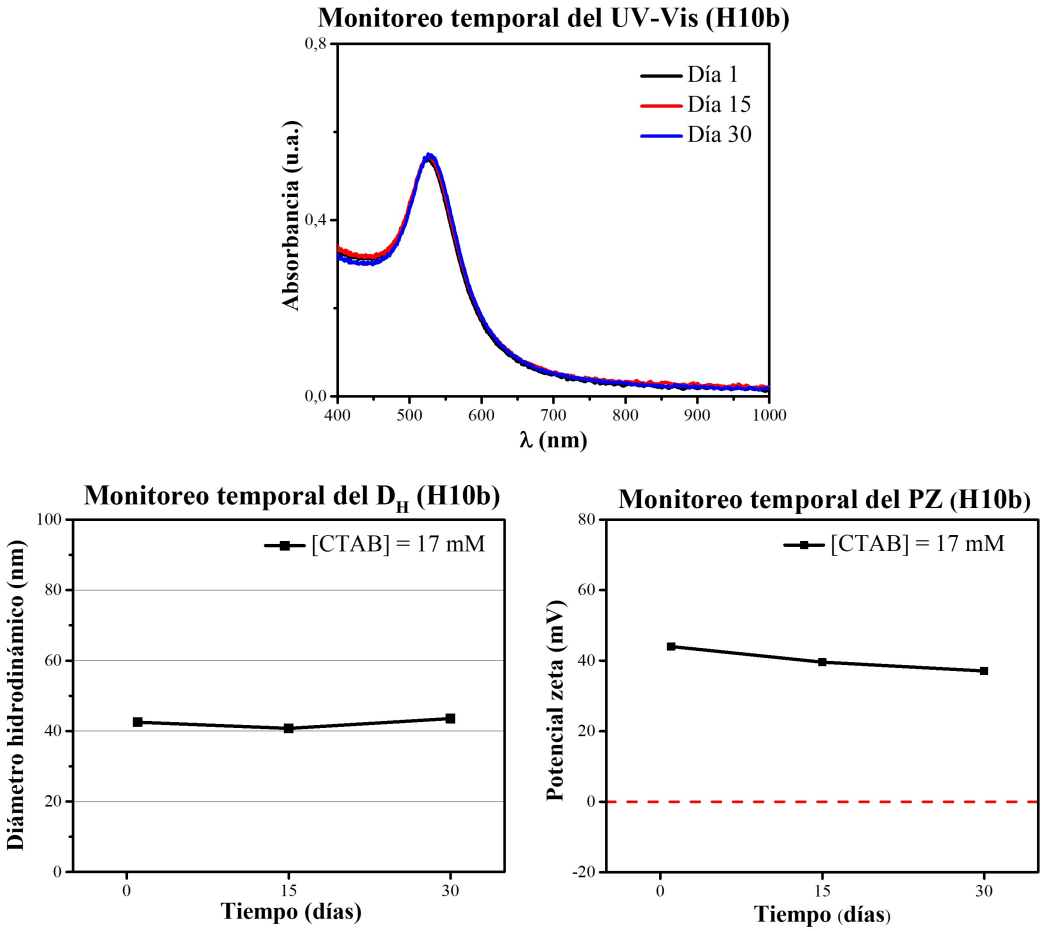


Figura 4.21: Monitoreo de 30 días para la muestra H10b.

4.3.1. El efecto de envejecimiento (*aging effect*) en las propiedades físicas de las AuNPs

El fenómeno del *aging effect* o efecto de envejecimiento es de gran relevancia en el campo de la nanotecnología, ya que puede influir significativamente en las propiedades físicas AuNPs con el paso del tiempo en solución. Todas las AuNPs, preparadas por diferentes métodos de reducción, tienen actividades electrocatalíticas mucho más altas para la oxidación de H_2O_2 y ácido fórmico (CH_2O_2) que las envejecidas, y se vuelven menos electrocatalíticas al envejecer. Esto es especialmente importante cuando se evalúan las actividades electrocatalíticas de los nanomateriales de Au y se comparan con las de otros materiales, ya que los nanomateriales recién preparados podrían tener actividades mucho mayores que los envejecidos durante mucho tiempo [61].

Surgen varias preguntas clave al respecto: ¿Las AuNPs conservan sus propiedades originales a medida que envejecen? ¿Siguen siendo las mismas AuNPs con el tiempo, o experimentan cambios en su estructura o composición? ¿El crecimiento observado está regulado por algún

mecanismo específico? ¿El entorno en el que se encuentran las NPs influye en el proceso de envejecimiento?

Todas las muestras con pH de 5 fueron almancenadas en una caja oscura a condiciones ambientales, a pesar de ello sufren cambios (uno más que otros) en el tamaño hidrodinámico y el potencial zeta de las AuNPs a medida pasa el tiempo generando agregados e incluso precipitados. Para las muestras con borohidruro de sodio y CTAB al día 30, a pesar de ser sonicados durante 10 min no sufrieron cambios significativos de las AuNPs en la solución. Esto determina que las muestras H10, H11 y H12 mantuvieron una estabilidad coloidal y diámetro hidrodinámico en los 30 días de monitoreo.

En otros estudios, estas AuNPs se sintetizarón con diferentes agentes reductores y fueron excepcionalmente estables durante largos tiempos de envejecimiento en soluciones a pH 4 y superiores [62]. También el efecto del envejecimiento es una característica general de las AuNPs, que se atribuyó a la reorganización de la superficie. Proponemos que las AuNPs frescas tienen sitios defectuosos (por ejemplo, tiolatos de oro menos coordinados en la capa externa no conectados en red con las otras «grapas» de oro de la capa externa). Estos sitios son los más reactivos. Durante el envejecimiento, los tiolatos de oro «defectuosos» se coordinan mejor y se conectan con los demás átomos de Au. Este proceso no afecta al número de sitios defectuosos, pero reduce su reactividad [63].

La morfología de las partículas sugiere que el principal mecanismo de esta evolución es una maduración de Ostwald, aunque también se observó la fusión de partículas. El envejecimiento tiene potencial para proporcionar la forma y el tamaño deseado a las NPs, si se controlan adecuadamente los procesos de crecimiento [64].

4.4. Comparación del diámetro físico y el diámetro hidrodinámico de las AuNPs

La comparación entre el diámetro físico calculado (D_{F}) mediante tres métodos distintos y el diámetro hidrodinámico medido experimentalmente (D_{H}) revela importantes diferencias. El Método 1 muestra una subestimación significativa del diámetro físico, indicando que este método puede no capturar adecuadamente los efectos de la aglomeración y la estabilidad en la solución, resultando en valores menores que D_{H}. El Método 2, aunque más cercano a D_{H} que el Método 1, todavía presenta discrepancias notables, lo que sugiere que, aunque mejora la aproximación, sigue sin reflejar completamente las condiciones reales del sistema (Figura 4.7).

Además, para obtener la longitud de onda máxima de absorción de cada muestra, fue necesario ajustar el espectro de absorbancia. Estos ajustes se realizaron para asegurar que las

medidas de absorción fueran precisas y representativas del comportamiento óptico de las AuNPs. Los detalles y los gráficos de los ajustes realizados se encuentran en el anexo de la tesis.

MUESTRA	$\lambda_{\text{máx}}$	D_F (Método 1)	D_F (Método 2)	D_F (Método 3)	D_H
H1	539	59	62	66	597
	693	445	204	154	
H2	549	84	78	80	512
H3	539	59	62	66	192
H4	533	44	50	54	38
H5	536	51	56	60	42
H6	538	56	60	64	69
H7	527	28	36	39	42
H8	527	28	36	39	32
H9	538	56	60	64	39
	797	706	262	175	
H10	525	23	30	32	62
H11	528	31	39	41	52
H12	526	26	33	35	97
H7b	527	28	36	39	53
H10b	526	26	33	35	43

Tabla 4.7: Datos de las muestras con longitud de onda máxima ($\lambda_{\text{máx}}$), díametro físico (D_F) para tres métodos y diámetro hidrodinámico (D_H).

El método 1 destaca como el mejor entre los tres, ya que los diámetros físicos calculados se acercan más al diámetro hidrodinámico medido. Esto sugiere que el método 1 considera de manera más efectiva los efectos de la dispersión y las interacciones en la solución, proporcionando una estimación más precisa del tamaño real de las AuNPs. La diferencia entre D_{F} y D_{H} en todos los métodos subraya la importancia de considerar los efectos de aglomeración y las condiciones experimentales en la evaluación del tamaño de las AuNPs.

Capítulo 5

Conclusiones

- Con la técnica de caracterización UV-Vis se observó que la longitud de onda máxima para las AuNPs varió según el agente reductor y la concentración del precursor $HAuCl_4$, la cual reveló que la mayoría de las muestras presentan una única banda plasmónica con una longitud de onda máxima entre 525 y 558 nm característica de las AuNPs esféricas. Además, el método 1 propuesto por Iqbal y colaboradores en el 2016, es el que mejor se ajusta a los datos experimentales, ya que proporciona diámetros físicos más consistentes (el diámetro físico debe ser menor al diámetro hidrodinámico) que se correlacionan con los datos ajustados en la longitud de onda máxima de cada muestra. En las muestras con borohidruro de sodio, al aumentar la concentración del precursor, el desplazamiento es considerable de la banda de absorbancia máxima hacia longitudes de onda menores indica AuNPs más pequeñas; con un diámetro físico de 59 nm para la concentración de 0,500 mM (H3) del precursor. Por otro lado, en las muestras con ácido ascórbico a medida que aumenta la concentración del precursor, se observó un desplazamiento considerable de la banda de absorbancia máxima hacia longitudes mayores lo que indica un incremento en el tamaño de las AuNPs; con un diámetro físico de 44 nm para la concentración de 0,125 mM (H4) del precursor. También para las muestras de borohidruro de sodio con ácido cítrico, se observó que cuando aumenta la concentración del precursor hay un desplazamiento considerable de la banda de absorbancia máxima hacia mayores longitudes de onda, lo que indica un aumento en el tamaño de las AuNPs; con un diámetro físico de 28 nm para las concentraciones de 0,125 y 0,250 mM (H7 y H8, respectivamente) del precursor. Para las muestras de CTAB con borohidruro de sodio, hay un desplazamiento significativo de la banda de absorbancia máxima hacia longitudes de onda mayores, lo que indica el aumento en el tamaño de las AuNPs; con un diámetro físico de 23 nm para la concentración de 0,125 mM (H10) del precursor. Por lo tanto, podemos decir que las muestras H7 y H10

tienen las AuNPs esféricas con menor diámetro físico con 28 y 23 nm respectivamente con 0,125 mM del precursor, indicando un tamaño adecuado para aplicaciones que requieren alta resolución y eficiencia.

- Para la técnica de caracterización DLS se examinó que el diámetro hidrodinámico para las AuNPs varió según el agente reductor y la concentración del precursor $HAuCl_4$. La polidispersidad se mantuvo entre 24,9 y 32,9 % para todas las muestras, esto sugiere que las AuNPs tienen una distribución de tamaño relativamente uniforme, lo que es crucial para garantizar propiedades consistentes y garantizar la monodispersidad de las AuNPs. El diámetro hidrodinámico de las AuNPs disminuyó con el aumento de la concentración del precursor en las muestras con borohidruro de sodio, especialmente en H3, donde el diámetro hidrodinámico fue menor con 192 nm y polidispersidad de 24,9 %. Las muestras con ácido ascórbico de las AuNPs el diámetro hidrodinámico está directamente relacionado con la concentración del precursor, para H4 con menor diámetro hidrodinámico de 38 nm y una polidispersidad de 31,0 %. Las muestras con borohidruro de sodio y ácido cítrico mostraron tamaños pequeños independientemente de la concentración del precursor de 42 nm del diámetro hidrodinámico y una polidispersidad de 26,5 % para la muestra H7. En contraste, las muestras con CTAB mostraron un aumento del diámetro hidrodinámico con la concentración del precursor, con 62 nm y polidispersidad de 29,3 % para la muestra H10. Todo esto sugiere que las muestras H7 y H10 con 0,125 mM del precursor, tienen una menor aglomeración y un buen control del tamaño para su funcionalización superficial y su comportamiento dinámico en el medio, lo cual es esencial para diversas aplicaciones tecnológicas y biomédicas.

- La técnica de caracterización PZ mide el potencial electrostático superficial de las AuNPs y es un indicador crucial de la estabilidad coloidal. Valores absolutos mayores a ±30 mV suelen indicar una buena estabilidad coloidal, ya que las partículas se repelen mutuamente debido a su potencial superficial. Las muestras con borohidruro de sodio mostraron un aumento en el potencial superficial a medida aumenta el precursor, con H1 mostrando un valor negativo -6,99 mV y H3 un valor positivo +14,55 mV, lo que sugiere inestabilidad coloidal de las AuNPs. Las muestras con ácido ascórbico presentaron potenciales zeta negativos cerca a 0 mV, con H4 siendo moderadamente estable con -21,24 mV. Las muestras con borohidruro de sodio y ácido cítrico mostraron potenciales zeta negativos más pronunciados independiente de la concentración del precursor, alcanzando -25,32 mV en H8, lo que sugiere una estabilidad coloidal moderada. Las muestras con CTAB y borohidruro de sodio fueron las más estables, con potenciales zeta entre +34,55 y +45,61 mV para las muestras H10 y H12 respectivamente, proporcionando una estabilidad electrostática que previene la aglomeración posterior y asegura una dispersión más estable y uniforme de las AuNPs para futuras aplicaciones en la ecotoxicología o biocompatibilidad.

- En las replicadas H7b y H10b solo logró mantener la banda de absorbancia máxima en 526 y 527 nm respectivamente, lo que significa que se logro mantener el diámetro físico. Es decir el diámetro físico de la AuNPs se mantiene en las réplicas, pero difieren en el diámetro hidrodinámico y potencial zeta, sin embargo, en la en la muestra H10b logró mantener características óptimas, con un diámetro hidrodinámico de 43 nm, una polidispersidad del 30,9 % y una estabilidad coloidal con una carga superficial de +44.02 mV. Estas propiedades indican un buen control en la síntesis de las AuNPs utilizando CTAB y $NaBH_4$, confirmando la reproducibilidad del proceso. La baja polidispersidad sugiere una distribución de tamaño homogénea, mientras que la alta estabilidad coloidal refleja una eficaz protección contra la aglomeración y un potencial electrostática favorable. Estos resultados corroboran que el uso de CTAB es eficaz para mantener las propiedades físicas de las AuNPs en el proceso de síntesis.

- Durante el monitoreo a través del tiempo de las AuNPs para todas las muestras durante 30 días, nos permitió saber el tiempo que las propiedades físicas se mantienen estables. Se observó que las muestras con borohidruro de sodio las AuNPs se agregaron y sedimentaron a los 5 minutos después de la síntesis, generando una segunda banda de absorbancia desde el día 15 causado por la aglomeración de las AuNPs. Para las muestras con ácido ascórbico las AuNPs se agregaron y sedimentaron en los primeros días después de la síntesis, se generó una segunda banda de absorbancia en el día 30 debido a la aglomeración de las AuNPs. En las muestras con borohidruro de sodio y ácido cítrico se pudo ver una variación en sus propiedades físicas a partir del día 15. Por otro lado las AuNPs sintetizadas con CTAB y borohidruro de sodio (H10, H11 y H12) demostraron una estabilidad coloidal notable en sus propiedades físicas, manteniendo una banda de absorbancia máxima constante a 525 nm, un diámetro hidrodinámico inferior a 100 nm y un potencial zeta superior a +35 mV. Estos resultados no solo aseguran la eficacia del proceso de síntesis y durabilidad de las propiedades físicas de las AuNPs, sino que también indican una buena estabilidad coloidal y una dispersión uniforme de las AuNPs en la solución.

Bibliografía

[1] S. Saallah and W. Lenggoro, "Nanoparticles Carrying Biological Molecules: Recent Advances and Applications," *KONA Powder and Particle Journal*, vol. 2018, Feb. 2018.

[2] T. Poh, N. Ali, M. Mac Aogáin, M. Hussain, M. Setyawati, K. Ng, and S. Chotirmall, "Inhaled nanomaterials and the respiratory microbiome: clinical, immunological and toxicological perspectives," *Particle and Fibre Toxicology*, vol. 15, Nov. 2018.

[3] L. Freitas, G. Varca, J. Batista, and A. Lugao, "An Overview of the Synthesis of Gold Nanoparticles Using Radiation Technologies," *Nanomaterials*, vol. 8, p. 939, Nov. 2018.

[4] D. Alba-Molina, J. J. Giner-Casares, and M. Cano, "Bioconjugated Plasmonic Nanoparticles for Enhanced Skin Penetration," *Topics in Current Chemistry*, vol. 378, p. 8, Dec. 2019.

[5] F. Ali, M. Hamza, M. Iqbal, B. Basha, N. Alwadai, and A. Nazir, "State-of-art of silver and gold nanoparticles synthesis routes, characterization and applications: a review," *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, vol. 236, pp. 291–326, Mar. 2022. Publisher: De Gruyter (O).

[6] K. Pate and P. Safier, "12 - Chemical metrology methods for CMP quality," in *Advances in Chemical Mechanical Planarization (CMP)* (S. Babu, ed.), pp. 299–325, Woodhead Publishing, Jan. 2016.

[7] J. P. Oliveira, A. R. Prado, W. J. Keijok, M. R. N. Ribeiro, M. J. Pontes, B. V. Nogueira, and M. C. C. Guimarães, "A helpful method for controlled synthesis of monodisperse gold nanoparticles through response surface modeling," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 13, pp. 216–226, Jan. 2020.

[8] A. Woźniak, A. Malankowska, G. Nowaczyk, B. F. Grześkowiak, K. Tuśnio, R. Słomski, A. Zaleska-Medynska, and S. Jurga, "Size and shape-dependent cytotoxicity profile of gold nanoparticles for biomedical applications," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 28, p. 92, May 2017.

[9] E. C. Vicuña Galindo, "Uso de espectros de absorción de luz visible-UV para la caracterización y evaluación de la cinética de crecimiento de nanopartículas de oro producida

por síntesis química," *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 2023. Accepted: 2023-09-05T21:21:27Z Publisher: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

[10] T. Misono, "Dynamic Light Scattering (DLS)," in *Measurement Techniques and Practices of Colloid and Interface Phenomena* (M. Abe, ed.), pp. 65–69, Singapore: Springer, 2019.

[11] A. Rahman, A. Rahman, W. Ghann, H.-G. Kang, and J. Uddin, "Terahertz multispectral imaging for the analysis of gold nanoparticles' size and the number of unit cells in comparison with other techniques," *International Journal of Biosensors & Bioelectronics*, vol. 4, June 2018.

[12] M. Iqbal, G. Usanase, K. Oulmi, F. Aberkane, T. Bendaikha, H. Fessi, N. Zine, G. Agusti, E.-S. Errachid, and A. Elaissari, "Preparation of gold nanoparticles and determination of their particles size via different methods," *Materials Research Bulletin*, vol. 79, pp. 97–104, July 2016.

[13] W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, and D. G. Fernig, "Determination of size and concentration of gold nanoparticles from uv-vis spectra," *Analytical Chemistry*, vol. 79, pp. 4215–4221, June 2007. Publisher: American Chemical Society.

[14] N. G. Khlebtsov, "Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from Extinction Spectra," *Analytical Chemistry*, vol. 80, pp. 6620–6625, Sept. 2008. Publisher: American Chemical Society.

[15] A. Selmani, R. Jeitler, M. Auinger, C. Tetyczka, P. Banzer, B. Kantor, G. Leitinger, and E. Roblegg, "Investigation of the Influence of Wound-Treatment-Relevant Buffer Systems on the Colloidal and Optical Properties of Gold Nanoparticles," *Nanomaterials*, vol. 13, p. 1878, Jan. 2023. Number: 12 Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[16] B. Bartosewicz, K. Bujno, M. Liszewska, B. Budner, P. Bazarnik, T. Płociński, and B. J. Jankiewicz, "Effect of citrate substitution by various α-hydroxycarboxylate anions on properties of gold nanoparticles synthesized by Turkevich method," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 549, pp. 25–33, July 2018.

[17] F. Alshammari, B. Alshammari, A. Moin, A. Alamri, T. Al Hagbani, A. Alobaida, A. Baker, S. Khan, and S. M. D. Rizvi, "Ceftriaxone Mediated Synthesized Gold Nanoparticles: A Nano-Therapeutic Tool to Target Bacterial Resistance," *Pharmaceutics*, vol. 13, p. 1896, Nov. 2021. Number: 11 Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[18] N. E. Larm, J. B. Essner, K. Pokpas, J. A. Canon, N. Jahed, E. I. Iwuoha, and G. A. Baker, "Room-Temperature Turkevich Method: Formation of Gold Nanoparticles at the

Speed of Mixing Using Cyclic Oxocarbon Reducing Agents," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 122, pp. 5105–5118, Mar. 2018. Publisher: American Chemical Society.

[19] J. Su-Gallegos, L. Magallón-Cacho, J. Ramírez-Aparicio, and E. Borja-Arco, "Synthesis of Gold Nanoparticles from Gold Coatings Recovered from E-Waste Processors," *Materials*, vol. 15, p. 7307, Jan. 2022. Number: 20 Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[20] A. E. F. Oliveira, A. C. Pereira, M. A. C. Resende, and L. F. Ferreira, "Gold Nanoparticles: A Didactic Step-by-Step of the Synthesis Using the Turkevich Method, Mechanisms, and Characterizations," *Analytica*, vol. 4, pp. 250–263, June 2023. Number: 2 Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[21] D. Alvarado, C. Aldama-Reyna, and J. Agreda-Delgado, "Tratamiento Magnético de Nanoparticulas de Oro Sintetizadas por Abla-ción Laser," *Revista CIENCIA Y TECNOLOGÍA*, vol. 16, pp. 191–197, Feb. 2020. Number: 1.

[22] J. R. Sifuentes Becerra, "Síntesis de nanoestructuras de oro y el modelado computacional de sus propiedades ópticas," Oct. 2021. Accepted: 2021-10-06T18:43:58Z Publisher: Pontificia Universidad Católica del Perú.

[23] N. Elahi, M. Kamali, and M. H. Baghersad, "Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review," *Talanta*, vol. 184, pp. 537–556, July 2018.

[24] Á. Camacho and M. Zapata, "¿QUÉ ES UN NANOMATERIAL?," *MOMENTO*, pp. 57–66, Mar. 2017. Number: 54E.

[25] Z. Issaabadi, H. Arabi, H. Bazgir, and R. Dehghan, "Chapter 13 - Green approaches for nanotechnology," in *Green Functionalized Nanomaterials for Environmental Applications* (U. Shanker, C. M. Hussain, and M. Rani, eds.), Micro and Nano Technologies, pp. 365–398, Elsevier, Jan. 2022.

[26] A. L. Gómez-Gómez, A. L. Martínez-Ayala, D. d. R. Moguel-Concha, J. E. Borges-Martínez, M. d. J. Perea-Flores, and G. Dávila-Ortiz, "Relationship of Nanomaterials' Structure Based on Their Application in the Food Industry: Physicochemical and Techno-Functional Characteristics," *Applied Sciences*, vol. 13, p. 7167, Jan. 2023. Number: 12 Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[27] K. Bharadwaj, B. Rabha, S. Pati, T. Sarkar, B. Choudhury, A. Barman, D. Bhattacharjya, A. Srivastava, D. Baishya, H. Edinur, Z. Kari, and n. h. mohd noor, "Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using Plant Extracts as Beneficial Prospect for Cancer Theranostics," *Molecules*, vol. 26, p. 6389, Oct. 2021.

[28] Z. He, F. Li, P. Zuo, and H. Tian, "Principles and Applications of Resonance Energy Transfer Involving Noble Metallic Nanoparticles," *Materials*, vol. 16, p. 3083, Jan. 2023. Number: 8 Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[29] S. Saif, S. F. Adil, A. Chaudhry, and M. Khan, "Chapter 14 - Microbial synthesis of magnetic nanomaterials," in *Agri-Waste and Microbes for Production of Sustainable Nanomaterials* (K. A. Abd-Elsalam, R. Periakaruppan, and S. Rajeshkumar, eds.), Nanobiotechnology for Plant Protection, pp. 323–356, Elsevier, Jan. 2022.

[30] L. C. Ortiz-Dosal, *Identificación no-invasiva de sustancias biológicas por medio de espectroscopía Raman.* PhD thesis, Nov. 2014.

[31] R. Sandhu, N. Singh, J. Dhankhar, K. Gandhi, and R. Sharma, "Dynamic light scattering (DLS) technique, principle, theoretical considerations and applications," pp. 135–137, Jan. 2018.

[32] C. Yah, "The toxicity of Gold Nanoparticles in relation to their physiochemical properties.," *Biomedical Research*, vol. 24, pp. 400–413, July 2013.

[33] A. Sani, C. Cao, and D. Cui, "Toxicity of gold nanoparticles (AuNPs): A review," *Biochemistry and Biophysics Reports*, vol. 26, p. 100991, July 2021.

[34] A. M. Keene and K. M. Tyner, "Analytical characterization of gold nanoparticle primary particles, aggregates, agglomerates, and agglomerated aggregates," *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 13, pp. 3465–3481, Aug. 2011.

[35] T. Hendel, M. Wuithschick, F. Kettemann, A. Birnbaum, K. Rademann, and J. Polte, "In Situ Determination of Colloidal Gold Concentrations with UV–Vis Spectroscopy: Limitations and Perspectives," *Analytical Chemistry*, vol. 86, pp. 11115–11124, Nov. 2014. Publisher: American Chemical Society.

[36] H. S. Mahdi, A. Parveen, and A. Azam, "Synthesis and structural properties of gold nanoparticles by the chemical reduction method using sodium borohydride," *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, vol. 577, p. 012034, Nov. 2019. Publisher: IOP Publishing.

[37] P. Selvakannan, S. Mandal, S. Phadtare, R. Pasricha, and M. Sastry, "Capping of Gold Nanoparticles by the Amino Acid Lysine Renders Them Water-Dispersible," *Langmuir*, vol. 19, pp. 3545–3549, Apr. 2003. Publisher: American Chemical Society.

[38] J. Polte, R. Erler, A. F. Thünemann, S. Sokolov, T. T. Ahner, K. Rademann, F. Emmerling, and R. Kraehnert, "Nucleation and growth of gold nanoparticles studied via in situ small angle X-ray scattering at millisecond time resolution," *ACS nano*, vol. 4, pp. 1076–1082, Feb. 2010.

[39] M. Y. Marcelino, F. A. Borges, L. Scorzoni, J. de Lacorte Singulani, B. C. Garms, J. C. Niemeyer, N. B. Guerra, G. S. Pegorin Brasil, C. U. Mussagy, F. A. de Oliveira Carvalho, M. Scontri, M. J. S. Mendes-Giannini, A. M. Fusco-Almeida, and R. D. Herculano, "Synthesis and characterization of gold nanoparticles and their toxicity in alternative methods to the use of mammals," *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 9, p. 106779, Dec. 2021.

[40] D. Philip, "Synthesis and spectroscopic characterization of gold nanoparticles," *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 71, pp. 80–85, Nov. 2008.

[41] Z. Zhang and Y. Wu, "Investigation of the NaBH4-Induced Aggregation of Au Nanoparticles," *Langmuir*, vol. 26, pp. 9214–9223, June 2010. Publisher: American Chemical Society.

[42] S. Bhattacharjee, "DLS and zeta potential – What they are and what they are not?," *Journal of Controlled Release*, vol. 235, pp. 337–351, Aug. 2016.

[43] S. Karimi, A. Moshaii, and M. Nikkhah, "Controlled synthesis of colloidal monodisperse gold nanoparticles in a wide range of sizes; investigating the effect of reducing agent," *Materials Research Express*, vol. 6, p. 1150f2, Nov. 2019. Publisher: IOP Publishing.

[44] K. Sun, J. Qiu, J. Liu, and Y. Miao, "Preparation and characterization of gold nanoparticles using ascorbic acid as reducing agent in reverse micelles," *Journal of Materials Science*, vol. 44, pp. 754–758, Feb. 2009.

[45] M. Luty-Błocho, K. Fitzner, V. Hessel, P. Löb, M. Maskos, D. Metzke, K. Pacławski, and M. Wojnicki, "Synthesis of gold nanoparticles in an interdigital micromixer using ascorbic acid and sodium borohydride as reducers," *Chemical Engineering Journal*, vol. 171, pp. 279–290, June 2011.

[46] I. Ielo, G. Rando, F. Giacobello, S. Sfameni, A. Castellano, M. Galletta, D. Drommi, G. Rosace, and M. R. Plutino, "Synthesis, Chemical–Physical Characterization, and Biomedical Applications of Functional Gold Nanoparticles: A Review," *Molecules*, vol. 26, p. 5823, Sept. 2021.

[47] S. Rastegarzadeh and S. Abdali, "Colorimetric determination of thiram based on formation of gold nanoparticles using ascorbic acid," *Talanta*, vol. 104, pp. 22–26, Jan. 2013.

[48] A. S. Patel, S. Juneja, P. K. Kanaujia, V. Maurya, G. V. Prakash, A. Chakraborti, and J. Bhattacharya, "Gold nanoflowers as efficient hosts for SERS based sensing and bio-imaging," *Nano-Structures & Nano-Objects*, vol. 16, pp. 329–336, Oct. 2018.

[49] M. H. Hussain, N. F. Abu Bakar, A. N. Mustapa, K.-F. Low, N. H. Othman, and F. Adam, "Synthesis of Various Size Gold Nanoparticles by Chemical Reduction Method with Different Solvent Polarity," *Nanoscale Research Letters*, vol. 15, p. 140, July 2020.

[50] S. Annur, S. J. Santosa, and N. H. Aprilita, "pH Dependence of Size Control in Gold Nanoparticles Synthesized at Room Temperature," *Oriental Journal of Chemistry*, vol. 34, pp. 2305–2312, Oct. 2018.

[51] L. Malassis, R. Dreyfus, R. J. Murphy, L. A. Hough, B. Donnio, and C. B. Murray, "One-step green synthesis of gold and silver nanoparticles with ascorbic acid and their versatile surface post-functionalization," *RSC Advances*, vol. 6, no. 39, pp. 33092–33100, 2016. Publisher: Royal Society of Chemistry.

[52] H. TYAGI, A. KUSHWAHA, A. KUMAR, and M. ASLAM, "pH-DEPENDENT SYNTHESIS OF STABILIZED GOLD NANOPARTICLES USING ASCORBIC ACID," *International Journal of Nanoscience*, Apr. 2012. Publisher: World Scientific Publishing Company.

[53] Z. Khan, T. Singh, J. I. Hussain, and A. A. Hashmi, "Au(III)–CTAB reduction by ascorbic acid: Preparation and characterization of gold nanoparticles," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 104, pp. 11–17, Apr. 2013.

[54] O. B. Adewale, H. Davids, L. Cairncross, and S. Roux, "Toxicological Behavior of Gold Nanoparticles on Various Models: Influence of Physicochemical Properties and Other Factors," *International Journal of Toxicology*, vol. 38, pp. 357–384, Sept. 2019. Publisher: SAGE Publications Inc.

[55] A. Tabrizi, F. Ayhan, and H. Ayhan, "Gold Nanoparticle Synthesis and Characterisation," *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, vol. 37, pp. 217–226, Aug. 2009. Number: 3 Publisher: Hacettepe University.

[56] Y. Shiraishi, H. Tanaka, H. Sakamoto, S. Ichikawa, and T. Hirai, "Photoreductive synthesis of monodispersed Au nanoparticles with citric acid as reductant and surface stabilizing reagent," *RSC Advances*, vol. 7, no. 11, pp. 6187–6192, 2017. Publisher: Royal Society of Chemistry.

[57] S. Yang, Y. Wang, Q. Wang, R. Zhang, and B. Ding, "UV irradiation induced formation of Au nanoparticles at room temperature: The case of pH values," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 301, pp. 174–183, July 2007.

[58] D.-L. Xia, Y.-F. Wang, N. Bao, H. He, X.-d. Li, Y.-P. Chen, and H.-Y. Gu, "Influence of Reducing Agents on Biosafety and Biocompatibility of Gold Nanoparticles," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 174, pp. 2458–2470, Dec. 2014.

[59] J. Piella, N. G. Bastús, and V. Puntes, "Size-Dependent Protein–Nanoparticle Interactions in Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles: The Emergence of the Protein Corona," *Bioconjugate Chemistry*, vol. 28, pp. 88–97, Jan. 2017. Publisher: American Chemical Society.

[60] S. Simeonova, P. Georgiev, K. S. Exner, L. Mihaylov, D. Nihtianova, K. Koynov, and K. Balashev, "Kinetic study of gold nanoparticles synthesized in the presence of chitosan and citric acid," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 557, pp. 106–115, Nov. 2018.

[61] H. J. Kang, S. Patra, J. Das, A. Aziz, J. Jo, and H. Yang, "Effect of aging on the electrocatalytic activity of gold nanoparticles," *Electrochemistry Communications*, vol. 12, pp. 1245–1248, Sept. 2010.

[62] C. M. Burtt and G. Senanayake, "Efecto de reductores y estabilizadores sobre el envejecimiento de nanopartículas de oro a pH 2–12 y aplicación de nanooro para estudiar la lixiviación sin cianuro en soluciones de hipoclorito/cloruro de sodio mediante espectroscopia UV-Visible," *Hydrometallurgy*, vol. 164, pp. 166–176, Sept. 2016.

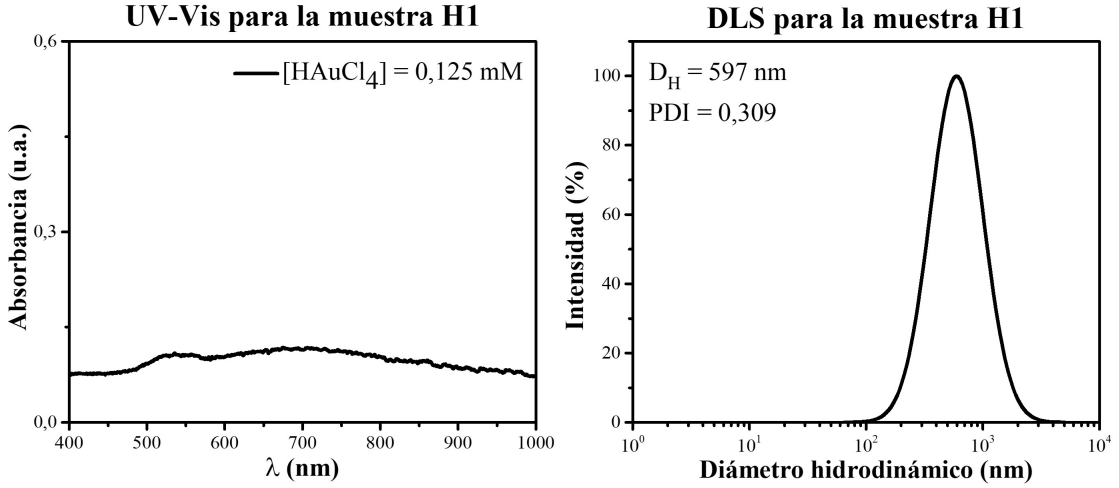
[63] Y. Ma and V. Chechik, "Aging of Gold Nanoparticles: Ligand Exchange with Disulfides," *Langmuir*, vol. 27, pp. 14432–14437, Dec. 2011. Publisher: American Chemical Society.

[64] J. Gubicza, J. L. Lábár, L. M. Quynh, N. H. Nam, and N. H. Luong, "Evolution of size and shape of gold nanoparticles during long-time aging," *Materials Chemistry and Physics*, vol. 138, pp. 449–453, Mar. 2013.

Anexo A. Resultados originales UV-Vis, DLS y PZ para cada muestra

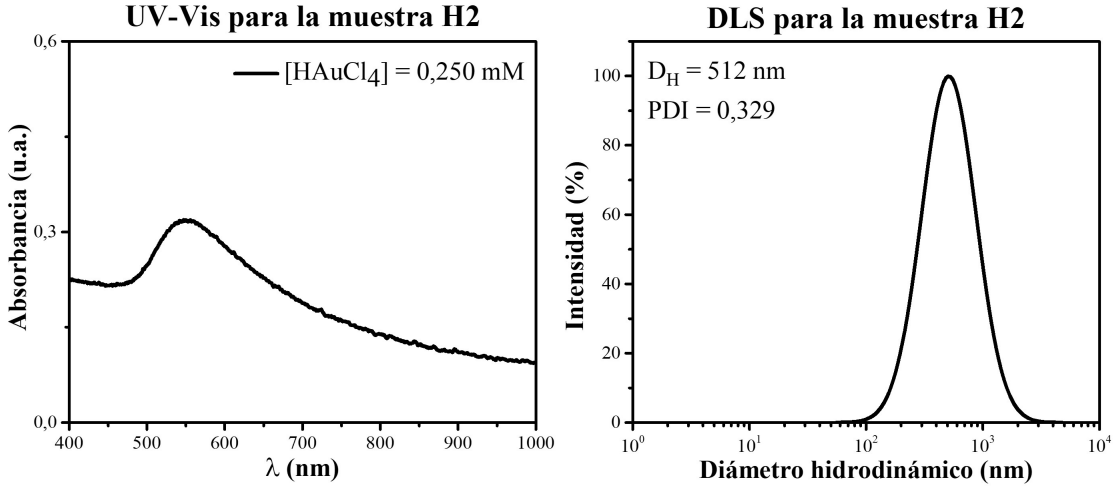
En el presente anexo se incluyen los resultados originales obtenidos durante el desarrollo experimental de esta investigación. La razón de su inclusión en este apartado es proporcionar un acceso transparente y completo a los datos crudos, evitando saturar el cuerpo principal de la tesis con información técnica detallada. Los resultados aquí presentados son fundamentales para respaldar los análisis y conclusiones discutidos en los capítulos previos. Su disposición en los anexos facilita la consulta y revisión exhaustiva de las mediciones experimentales, gráficos y tablas que, si bien son esenciales para validar el trabajo, no son indispensables para la comprensión general de los hallazgos.

Sean los resultados obtenidos para cada muestra:



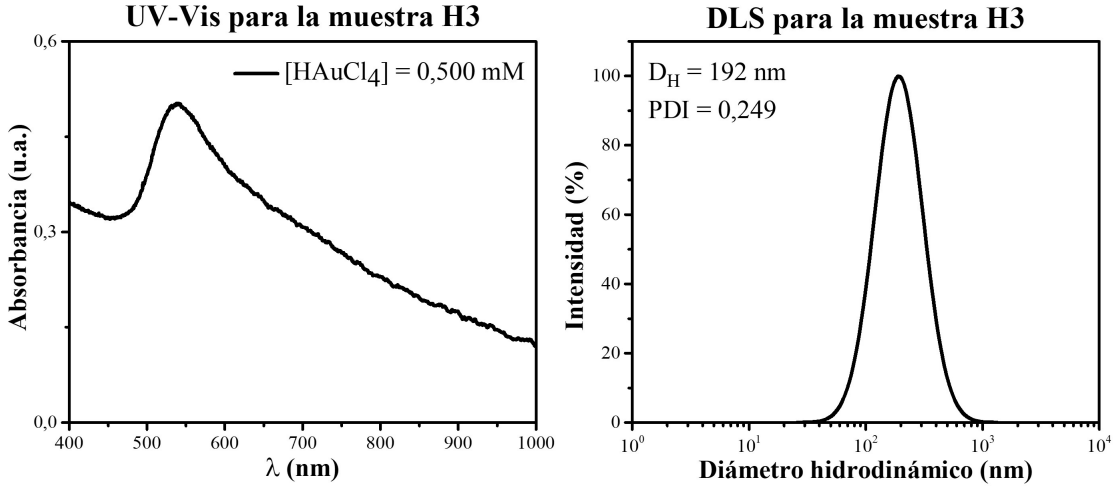
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H1 - 1	-12.43	-0.97	520	1,258	2,600	8.2483E-02
H1 - 2	6.08	0.48	511	1,258	2,600	4.1763E-02
H1 - 3	-6.06	-0.47	502	1,258	2,600	5.8925E-02
H1 - 4	-13.90	-1.09	499	1,258	2,600	4.7169E-02
H1 - 5	-7.63	-0.60	494	1,258	2,600	3.2969E-02
H1 - 6	-5.57	-0.43	493	1,258	2,600	5.9248E-02
H1 - 7	-6.53	-0.51	495	1,258	2,600	8.3138E-02
H1 - 8	-7.45	-0.58	492	1,258	2,600	3.8314E-02
H1 - 9	-6.01	-0.47	488	1,258	2,600	5.5709E-02
H1 - 10	-10.42	-0.81	486	1,258	2,600	8.3707E-02
Mean:	-6.99	-0.55	498	1,258	2,600	5.8343E-02
Std Err:	1.71	0.13	3	0	0	6.0496E-03
Std Dev:	5.42	0.42	11	0	0	1.9130E-02

Figura 1: Resultados originales para la muestra H1.



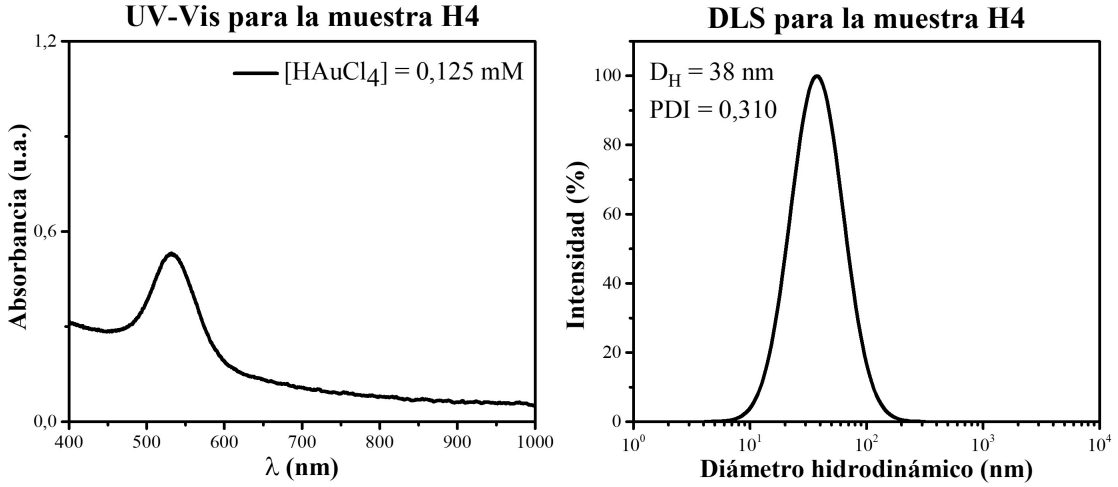
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H2 - 1	-4.99	-0.39	1,134	894	2,632	5.9402E-02
H2 - 2	1.15	0.09	1,146	894	2,632	7.0364E-02
H2 - 3	5.63	0.44	1,174	894	2,632	4.3769E-02
H2 - 4	4.56	0.36	1,152	894	2,632	3.2942E-02
H2 - 5	-8.17	-0.64	1,153	894	2,632	5.1025E-02
H2 - 6	2.83	0.22	1,170	894	2,632	5.0335E-02
H2 - 7	5.65	0.44	1,172	894	2,632	5.4831E-02
H2 - 8	5.33	0.42	1,169	894	2,632	8.0554E-02
H2 - 9	3.63	0.28	1,184	894	2,632	5.9062E-02
H2 - 10	1.92	0.15	1,174	894	2,632	8.5948E-02
Mean:	1.75	0.14	1,163	894	2,632	5.8823E-02
Std Err:	1.49	0.12	5	0	0	5.1498E-03
Std Dev:	4.71	0.37	16	0	0	1.6285E-02

Figura 2: Resultados originales para la muestra H2.



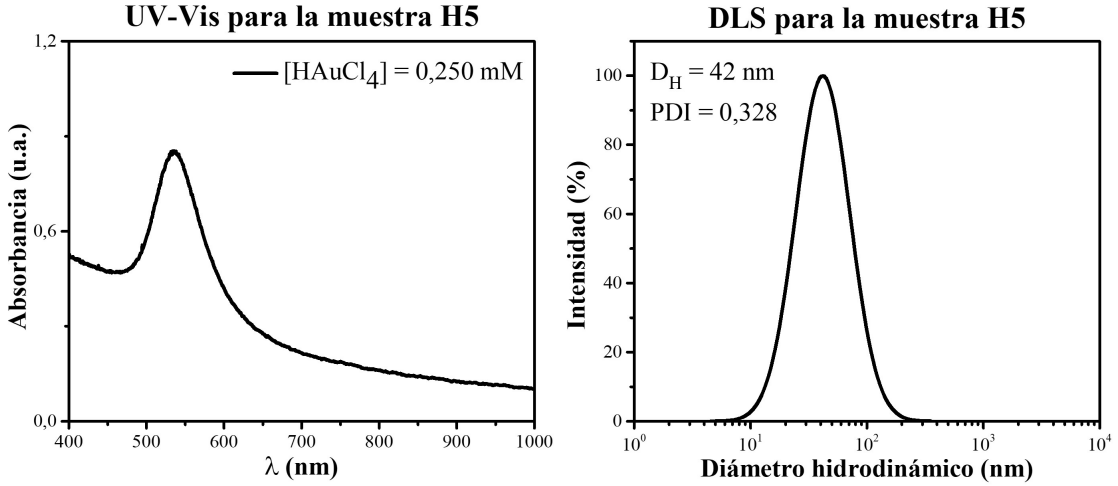
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H3 - 1	14.98	1.17	673	1,375	2,199	8.2108E-02
H3 - 2	13.52	1.06	666	1,375	2,199	8.1778E-02
H3 - 3	13.21	1.03	659	1,375	2,199	7.0531E-02
H3 - 4	4.69	0.37	652	1,375	2,199	7.4185E-02
H3 - 5	30.69	2.40	648	1,375	2,199	9.1097E-02
H3 - 6	9.08	0.71	643	1,375	2,199	5.8412E-02
H3 - 7	6.02	0.47	641	1,375	2,199	6.2492E-02
H3 - 8	21.75	1.70	647	1,375	2,199	7.0531E-02
H3 - 9	27.94	2.18	643	1,375	2,199	8.4178E-02
H3 - 10	3.66	0.29	620	1,375	2,199	9.1663E-02
Mean:	14.55	1.14	649	1,375	2,199	7.6697E-02
Std Err:	3.01	0.23	5	0	0	3.5915E-03
Std Dev:	9.50	0.74	15	0	0	1.1357E-02

Figura 3: Resultados originales para la muestra H3.



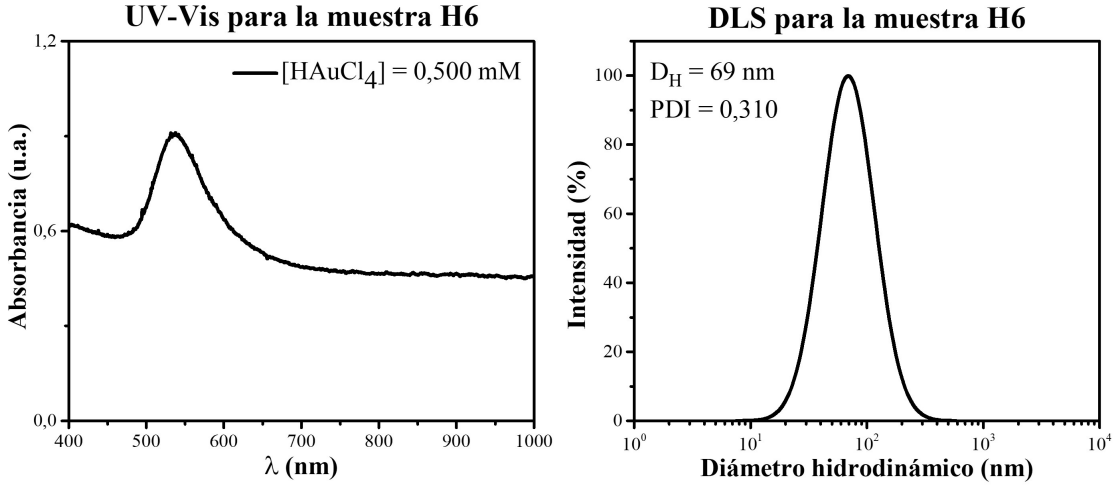
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H4 - 1	-23.90	-1.87	591	1,395	2,250	7.4427E-02
H4 - 2	-21.12	-1.65	573	1,395	2,250	8.1822E-02
H4 - 3	-26.65	-2.08	578	1,395	2,250	1.1648E-01
H4 - 4	-20.70	-1.62	591	1,395	2,250	1.2113E-01
H4 - 5	-11.82	-0.92	571	1,395	2,250	8.9646E-02
H4 - 6	-23.19	-1.81	593	1,395	2,250	9.1431E-02
H4 - 7	-13.95	-1.09	599	1,395	2,250	1.2468E-01
H4 - 8	-27.69	-2.16	604	1,395	2,250	7.2468E-02
H4 - 9	-13.28	-1.04	604	1,395	2,250	6.6702E-02
H4 - 10	-30.10	-2.35	599	1,395	2,250	9.6978E-02
Mean:	-21.24	-1.66	590	1,395	2,250	9.3576E-02
Std Err:	2.02	0.16	4	0	0	6.6291E-03
Std Dev:	6.38	0.50	12	0	0	2.0963E-02

Figura 4: Resultados originales para la muestra H4.



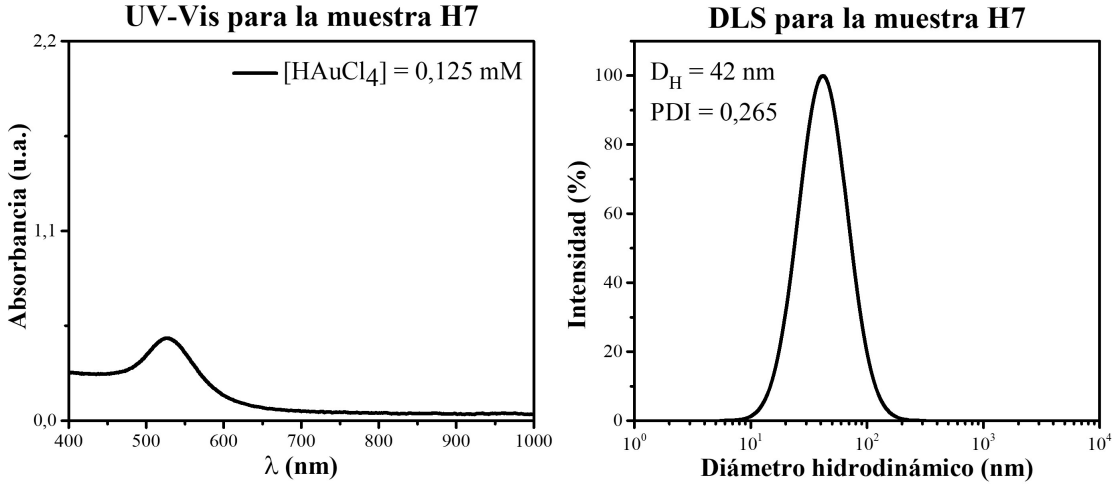
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H5 - 1	2.97	0.23	849	1,198	3,041	8.6891E-02
H5 - 2	-12.35	-0.96	842	1,198	3,041	7.3827E-02
H5 - 3	10.66	0.83	849	1,198	3,041	7.6658E-02
H5 - 4	20.91	1.63	872	1,198	3,041	9.2401E-02
H5 - 5	3.72	0.29	862	1,198	3,041	9.9173E-02
H5 - 6	-5.03	-0.39	869	1,198	3,041	8.9870E-02
H5 - 7	-14.84	-1.16	864	1,198	3,041	7.4229E-02
H5 - 8	-5.54	-0.43	822	1,198	3,041	9.1307E-02
H5 - 9	7.53	0.59	854	1,198	3,041	7.4632E-02
H5 - 10	-12.64	-0.99	864	1,198	3,041	5.2164E-02
Mean:	-0.46	-0.04	854	1,198	3,041	8.1115E-02
Std Err:	3.68	0.29	5	0	0	4.3050E-03
Std Dev:	11.63	0.91	15	0	0	1.3614E-02

Figura 5: Resultados originales para la muestra H5.



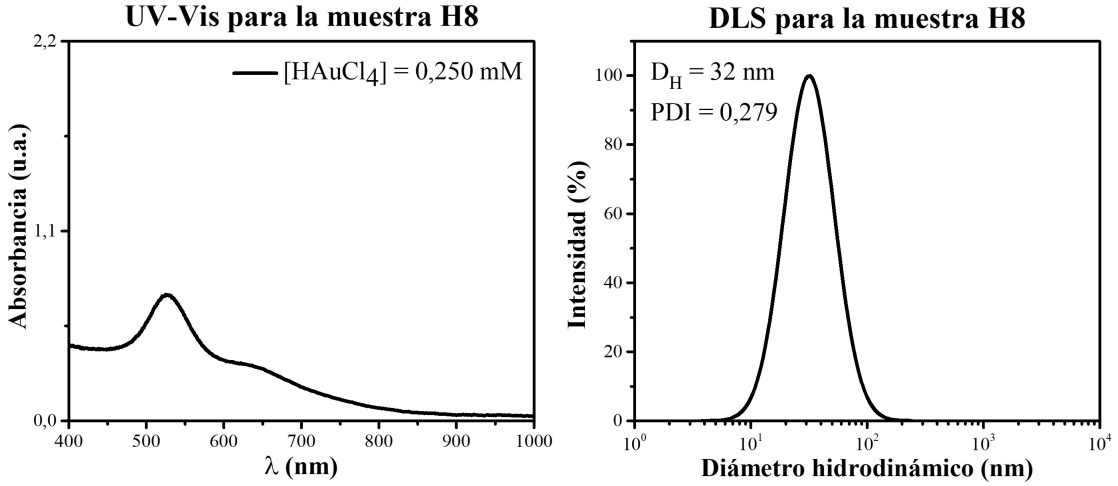
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H6 - 1	-3.72	-0.29	1,506	371	2,614	3.5613E-02
H6 - 2	3.39	0.26	1,500	371	2,614	4.4935E-02
H6 - 3	2.91	0.23	1,512	371	2,614	4.6912E-02
H6 - 4	1.01	0.08	1,512	371	2,614	6.2370E-02
H6 - 5	-3.96	-0.31	1,515	371	2,614	3.5752E-02
H6 - 6	0.71	0.06	1,545	371	2,614	6.8562E-02
H6 - 7	-3.31	-0.26	1,533	371	2,614	1.0050E-01
H6 - 8	11.91	0.93	1,507	371	2,614	1.2194E-01
H6 - 9	-7.49	-0.58	1,547	371	2,614	6.4101E-02
H6 - 10	-16.90	-1.32	1,540	371	2,614	8.1430E-02
Mean:	-1.54	-0.12	1,522	371	2,614	6.6212E-02
Std Err:	2.41	0.19	6	0	0	8.9611E-03
Std Dev:	7.61	0.59	18	0	0	2.8337E-02

Figura 6: Resultados originales para la muestra H6.



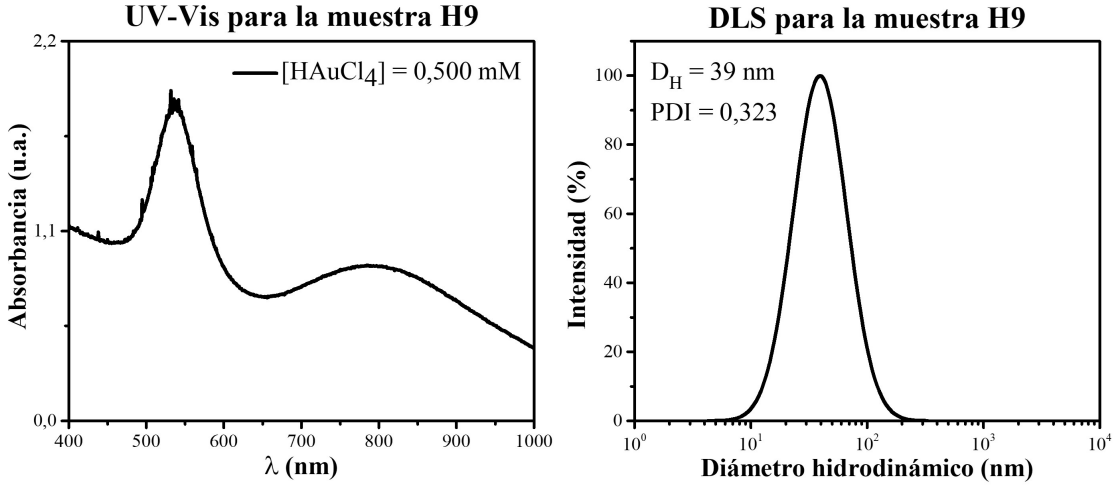
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H7 - 1	-8.04	-0.63	404	583	2,262	4.9945E-02
H7 - 2	6.69	0.52	397	583	2,262	2.2073E-01
H7 - 3	-34.71	-2.71	399	583	2,262	7.9357E-02
H7 - 4	-3.40	-0.27	393	583	2,262	1.9039E-01
H7 - 5	-17.82	-1.39	391	583	2,262	1.0841E-01
H7 - 6	-26.07	-2.04	393	583	2,262	8.3206E-02
H7 - 7	-26.33	-2.06	382	583	2,262	1.3660E-01
H7 - 8	-16.26	-1.27	389	583	2,262	4.9446E-02
H7 - 9	-24.38	-1.90	389	583	2,262	2.1808E-01
H7 - 10	-24.26	-1.90	389	583	2,262	8.5278E-02
Mean:	-17.46	-1.36	393	583	2,262	1.2214E-01
Std Err:	3.97	0.31	2	0	0	2.0865E-02
Std Dev:	12.54	0.98	6	0	0	6.5980E-02

Figura 7: Resultados originales para la muestra H7.



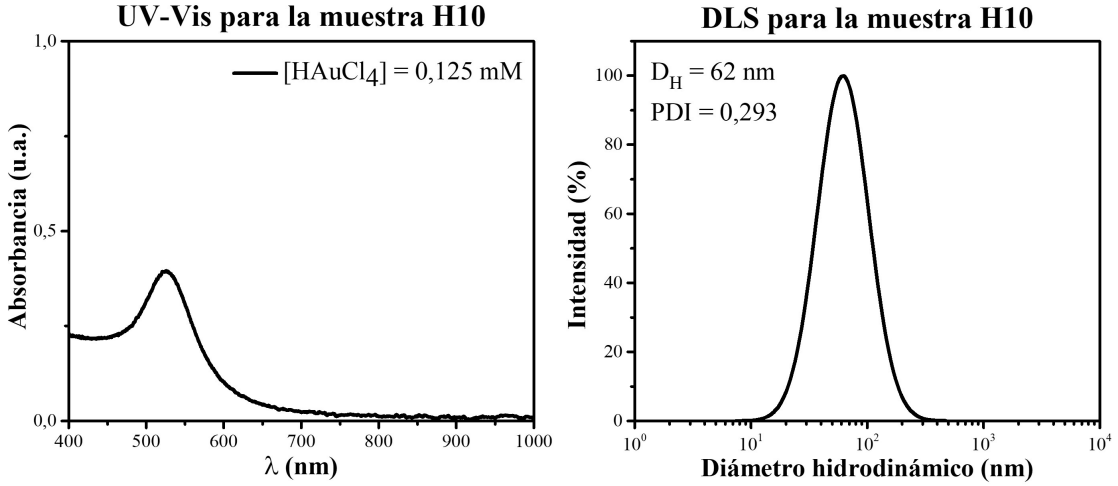
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H8 - 1	-22.09	-1.73	533	1,230	2,340	1.8352E-01
H8 - 2	-10.96	-0.86	534	1,230	2,340	1.6299E-01
H8 - 3	-12.89	-1.01	529	1,230	2,340	1.3977E-01
H8 - 4	-28.02	-2.19	534	1,230	2,340	1.1030E-01
H8 - 5	-35.22	-2.75	535	1,230	2,340	8.0878E-02
H8 - 6	-18.45	-1.44	533	1,230	2,340	1.0941E-01
H8 - 7	-34.51	-2.70	526	1,230	2,340	8.3947E-02
H8 - 8	-35.27	-2.76	529	1,230	2,340	2.1923E-01
H8 - 9	-33.16	-2.59	530	1,230	2,340	1.0354E-01
H8 - 10	-22.67	-1.77	525	1,230	2,340	1.1586E-01
Mean:	-25.32	-1.98	531	1,230	2,340	1.3094E-01
Std Err:	2.94	0.23	1	0	0	1.4238E-02
Std Dev:	9.28	0.73	4	0	0	4.5026E-02

Figura 8: Resultados originales para la muestra H8.



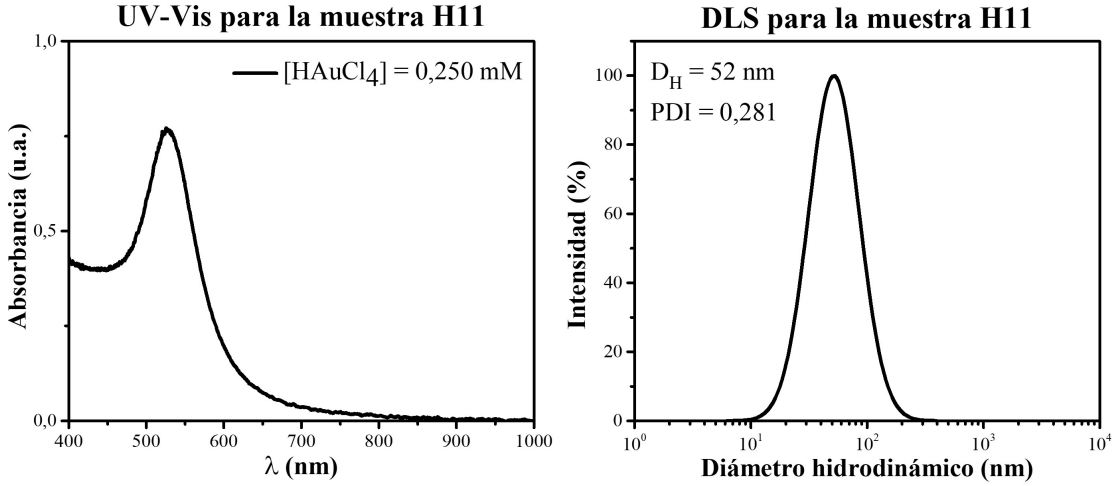
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H9 - 1	-16.13	-1.26	1,110	1,183	2,896	7.2483E-02
H9 - 2	-23.03	-1.80	1,113	1,183	2,896	8.6758E-02
H9 - 3	-24.18	-1.89	1,096	1,183	2,896	5.5143E-02
H9 - 4	-14.55	-1.14	1,128	1,183	2,896	7.4941E-02
H9 - 5	19.47	1.52	1,113	1,183	2,896	1.9886E-01
H9 - 6	-23.72	-1.85	1,109	1,183	2,896	8.0479E-02
H9 - 7	-10.75	-0.84	1,148	1,183	2,896	9.1064E-02
H9 - 8	-32.96	-2.58	1,152	1,183	2,896	9.8869E-02
H9 - 9	-10.99	-0.86	1,150	1,183	2,896	1.6327E-01
H9 - 10	-14.57	-1.14	1,116	1,183	2,896	6.4690E-02
Mean:	-15.14	-1.18	1,123	1,183	2,896	9.8655E-02
Std Err:	4.44	0.35	6	0	0	1.4545E-02
Std Dev:	14.03	1.10	20	0	0	4.5995E-02

Figura 9: Resultados originales para la muestra H9.



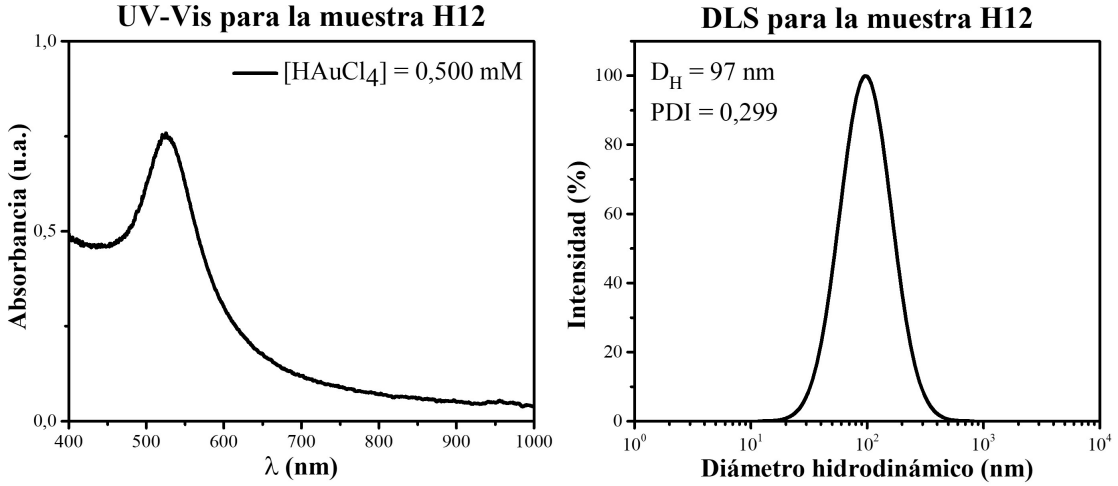
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H10 - 1	38.72	3.03	369	557	2,162	5.0000E-02
H10 - 2	18.02	1.41	371	557	2,162	1.3672E-01
H10 - 3	38.71	3.02	364	557	2,162	1.4508E-01
H10 - 4	47.04	3.68	371	557	2,162	8.4692E-02
H10 - 5	34.29	2.68	370	557	2,162	7.0637E-02
H10 - 6	22.61	1.77	370	557	2,162	6.3123E-02
H10 - 7	37.11	2.90	370	557	2,162	6.5485E-02
H10 - 8	38.48	3.01	371	557	2,162	1.2565E-01
H10 - 9	29.55	2.31	370	557	2,162	7.8558E-02
H10 - 10	40.99	3.20	370	557	2,162	9.7414E-02
Mean:	34.55	2.70	370	557	2,162	9.1735E-02
Std Err:	2.78	0.22	1	0	0	1.0525E-02
Std Dev:	8.79	0.69	2	0	0	3.3283E-02

Figura 10: Resultados originales para la muestra H10.



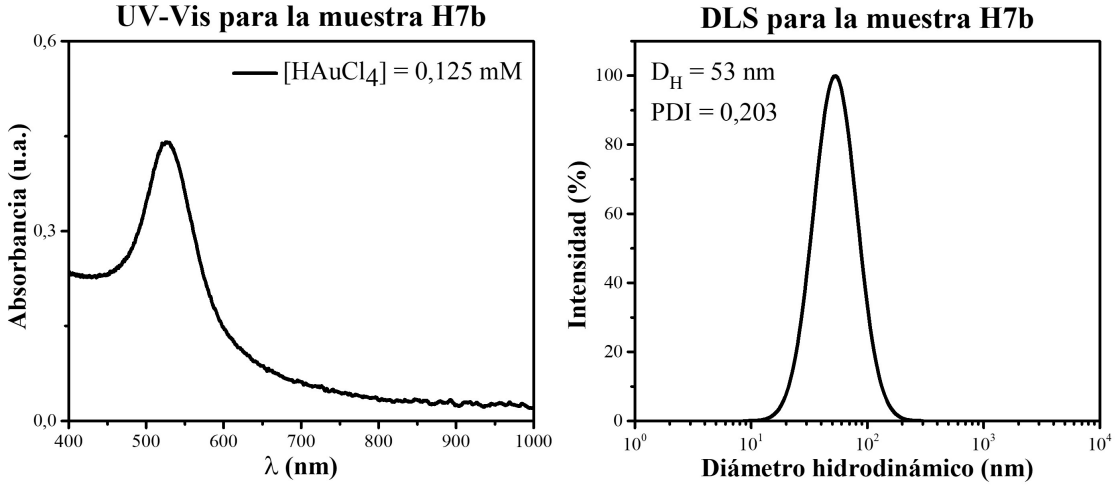
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H11 - 1	36.92	2.88	410	1,169	2,398	5.3539E-02
H11 - 2	41.92	3.28	410	1,169	2,398	6.5667E-02
H11 - 3	26.63	2.08	410	1,169	2,398	1.7589E-01
H11 - 4	22.00	1.72	401	1,169	2,398	1.3734E-01
H11 - 5	33.13	2.59	408	1,169	2,398	6.7228E-02
H11 - 6	29.31	2.29	408	1,169	2,398	5.6080E-02
H11 - 7	51.60	4.03	402	1,169	2,398	8.0934E-02
H11 - 8	31.85	2.49	398	1,169	2,398	1.5337E-01
H11 - 9	35.01	2.74	397	1,169	2,398	1.6379E-01
H11 - 10	40.73	3.18	399	1,169	2,398	1.0697E-01
Mean:	34.91	2.73	404	1,169	2,398	1.0608E-01
Std Err:	2.68	0.21	2	0	0	1.5075E-02
Std Dev:	8.46	0.66	5	0	0	4.7672E-02

Figura 11: Resultados originales para la muestra H11.



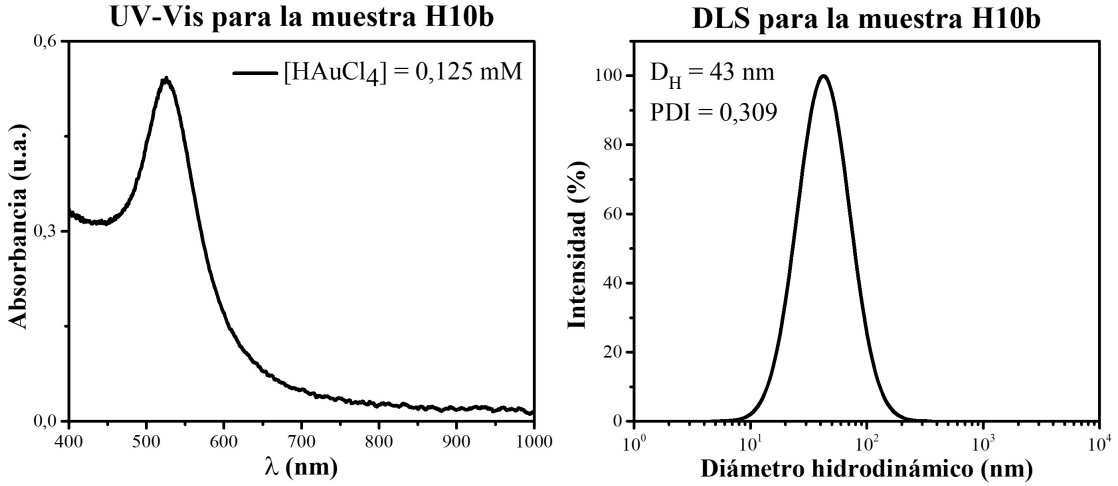
Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H12 - 1	53.21	4.16	583	972	2,510	1.3456E-01
H12 - 2	36.90	2.88	581	972	2,510	7.1482E-02
H12 - 3	54.16	4.23	567	972	2,510	1.0899E-01
H12 - 4	44.43	3.47	573	972	2,510	1.0724E-01
H12 - 5	43.34	3.39	574	972	2,510	6.8873E-02
H12 - 6	39.99	3.12	566	972	2,510	1.0496E-01
H12 - 7	36.64	2.86	563	972	2,510	7.4244E-02
H12 - 8	59.89	4.68	567	972	2,510	1.8037E-01
H12 - 9	41.20	3.22	561	972	2,510	1.0598E-01
H12 - 10	46.32	3.62	564	972	2,510	8.3576E-02
Mean:	45.61	3.56	570	972	2,510	1.0403E-01
Std Err:	2.47	0.19	2	0	0	1.0750E-02
Std Dev:	7.81	0.61	8	0	0	3.3994E-02

Figura 12: Resultados originales para la muestra H12.



Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H7b- 1	12.71	0.99	377	1,481	2,422	8.5867E-02
H7b - 2	14.90	1.16	371	1,481	2,422	6.0019E-02
H7b - 3	18.76	1.47	370	1,481	2,422	9.5160E-02
H7b - 4	17.40	1.36	367	1,481	2,422	5.2973E-02
H7b - 5	15.46	1.21	370	1,481	2,422	6.9087E-02
H7b - 6	17.59	1.37	369	1,481	2,422	7.0765E-02
H7b - 7	20.30	1.59	374	1,481	2,422	6.5806E-02
H7b - 8	14.91	1.17	371	1,481	2,422	5.4431E-02
H7b - 9	16.32	1.28	367	1,481	2,422	1.1825E-01
H7b - 10	19.67	1.54	360	1,481	2,422	7.8068E-02
Mean:	16.80	1.31	370	1,481	2,422	7.5043E-02
Std Err:	0.75	0.06	1	0	0	6.3899E-03
Std Dev:	2.39	0.19	4	0	0	2.0207E-02

Figura 13: Resultados originales para la muestra H7b.

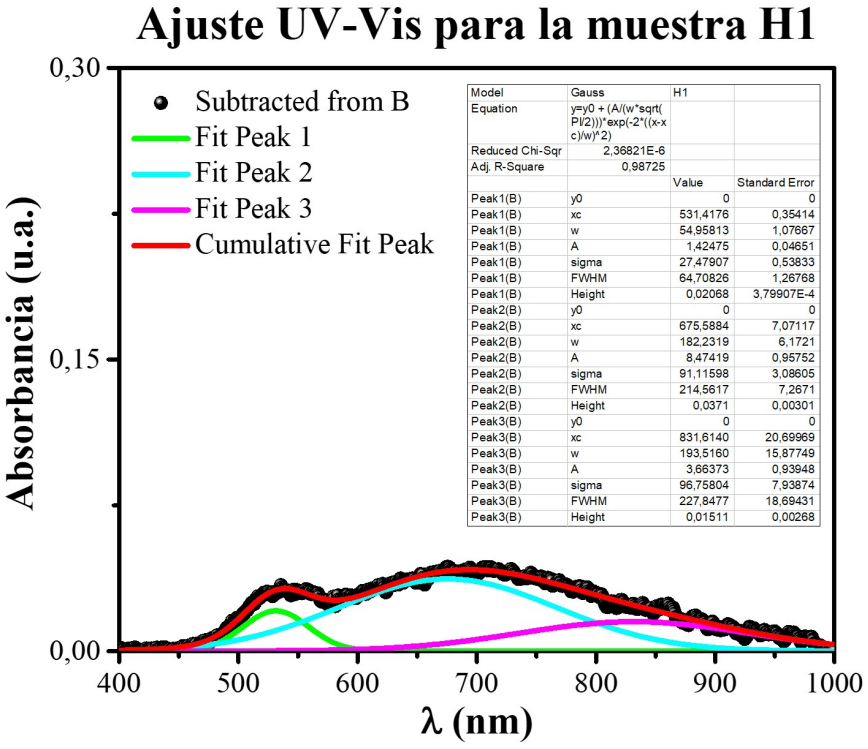


Sample ID	Zeta Potential (mV)	Mobility (µ/s)/(V/cm)	Conductance (µS)	Sample Count Rate (kcps)	Ref. Count Rate (kcps)	RMS Residual
H10b - 1	36.11	2.82	385	945	2,559	1.0722E-01
H10b - 2	28.18	2.20	389	945	2,559	1.3021E-01
H10b - 3	47.95	3.75	388	945	2,559	7.6606E-02
H10b - 4	46.58	3.64	388	945	2,559	2.1864E-01
H10b - 5	32.01	2.50	388	945	2,559	1.2765E-01
H10b - 6	73.24	5.72	388	945	2,559	1.5698E-01
H10b - 7	26.48	2.07	388	945	2,559	7.2442E-02
H10b - 8	48.08	3.76	384	945	2,559	1.2657E-01
H10b - 9	35.71	2.79	377	945	2,559	1.7342E-01
H10b - 10	65.87	5.15	388	945	2,559	1.2393E-01
Mean:	44.02	3.44	386	945	2,559	1.3137E-01
Std Err:	4.95	0.39	1	0	0	1.3820E-02
Std Dev:	15.65	1.22	4	0	0	4.3702E-02

Figura 14: Resultados originales para la muestra H10b.

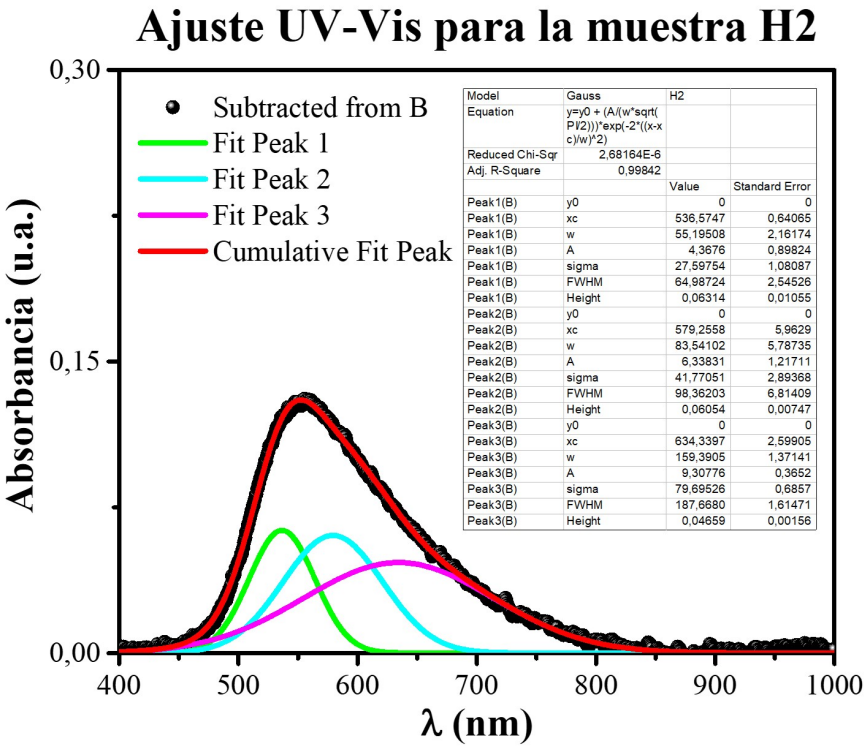
Anexo B. Ajuste UV-VIS con Origin9 para cada muestra

En el estudio de las muestras con AuNPs, se llevaron a cabo ajustes gaussianos en la banda de absorbancia utilizando el software OriginPro 9. Estos ajustes permitieron analizar y caracterizar con mayor precisión los perfiles espectrales, proporcionando información detallada sobre las propiedades ópticas de las AuNPs. La utilización de la técnica de ajuste gaussiano en la banda de absorbancia facilitó la identificación de la longitud de onda para una máxima absorción y la cuantificación de la misma, contribuyendo así a una comprensión más completa de las características espectroscópicas de las muestras estudiadas.



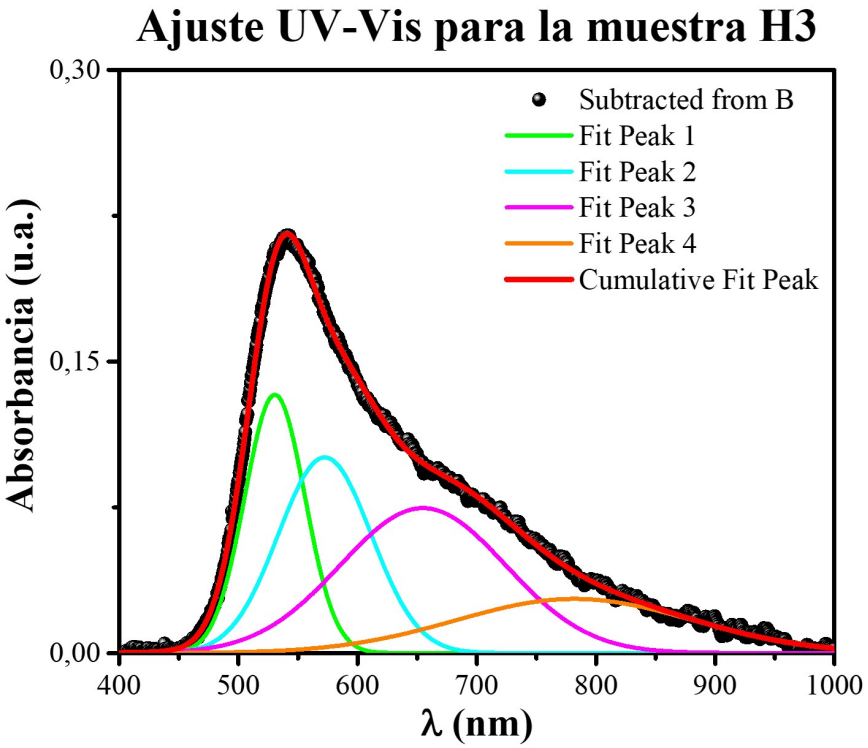
Model	Gauss	H1	
Equation	y=y0 + (A/(w*sqrt(PI/2)))*exp(-2*((x-xc)/w)^2)		
Reduced Chi-Sqr	2,36821E-6		
Adj. R-Square	0,98725		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	0	0
Peak1(B)	xc	531,4176	0,35414
Peak1(B)	w	54,95813	1,07667
Peak1(B)	A	1,42475	0,04651
Peak1(B)	sigma	27,47907	0,53833
Peak1(B)	FWHM	64,70826	1,26768
Peak1(B)	Height	0,02068	3,79907E-4
Peak2(B)	y0	0	0
Peak2(B)	xc	675,5884	7,07117
Peak2(B)	w	182,2319	6,1721
Peak2(B)	A	8,47419	0,95752
Peak2(B)	sigma	91,11598	3,08605
Peak2(B)	FWHM	214,5617	7,2671
Peak2(B)	Height	0,0371	0,00301
Peak3(B)	y0	0	0
Peak3(B)	xc	831,6140	20,69969
Peak3(B)	w	193,5160	15,87749
Peak3(B)	A	3,66373	0,93948
Peak3(B)	sigma	96,75804	7,93874
Peak3(B)	FWHM	227,8477	18,69431
Peak3(B)	Height	0,01511	0,00268

Figura 15: Ajuste UV-VIS a la muestra H1.



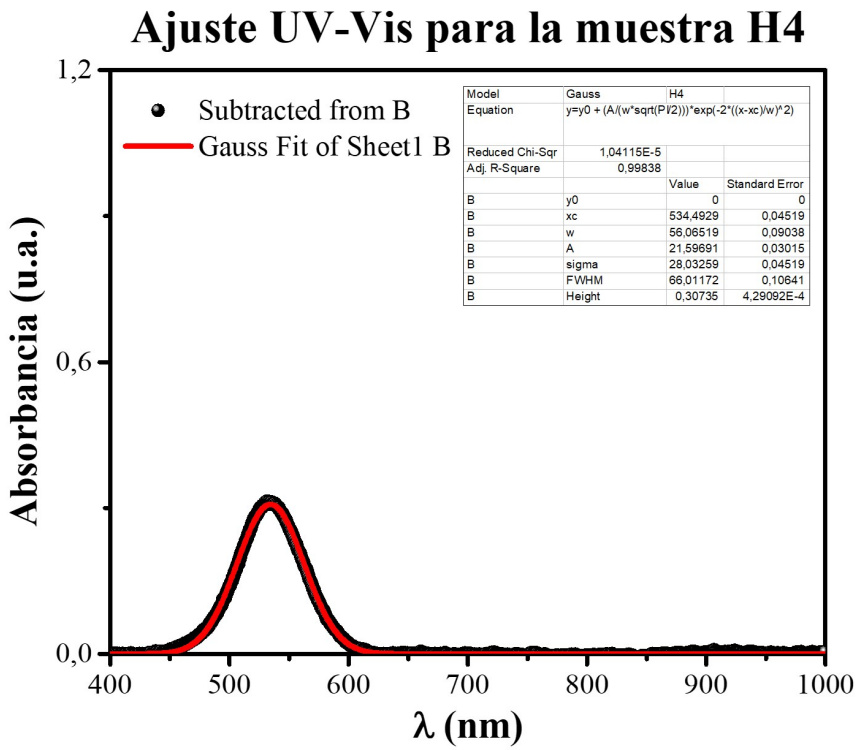
Model	Gauss	H2	
Equation	y=y0 + (A/(w*sqrt(PI/2)))*exp(-2*((x-xc)/w)^2)		
Reduced Chi-Sqr	2,68164E-6		
Adj. R-Square	0,99842		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	0	0
Peak1(B)	xc	536,5747	0,64065
Peak1(B)	w	55,19508	2,16174
Peak1(B)	A	4,3676	0,89824
Peak1(B)	sigma	27,59754	1,08087
Peak1(B)	FWHM	64,98724	2,54526
Peak1(B)	Height	0,06314	0,01055
Peak2(B)	y0	0	0
Peak2(B)	xc	579,2558	5,9629
Peak2(B)	w	83,54102	5,78735
Peak2(B)	A	6,33831	1,21711
Peak2(B)	sigma	41,77051	2,89368
Peak2(B)	FWHM	98,36203	6,81409
Peak2(B)	Height	0,06054	0,00747
Peak3(B)	y0	0	0
Peak3(B)	xc	634,3397	2,59905
Peak3(B)	w	159,3905	1,37141
Peak3(B)	A	9,30776	0,3652
Peak3(B)	sigma	79,69526	0,6857
Peak3(B)	FWHM	187,6680	1,61471
Peak3(B)	Height	0,04659	0,00156

Figura 16: Ajuste UV-VIS a la muestra H2.



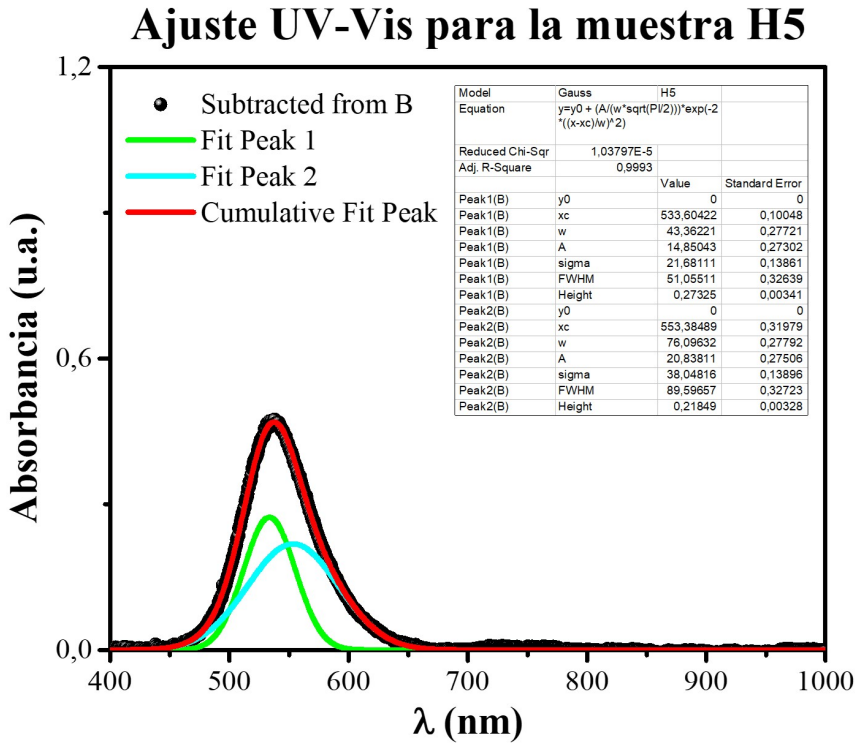
Model	Gauss	H3	
Equation	y=y0 + (A/(w*sqrt(PI/2)))*exp(-2*((x-xc)/w)^2)		
Reduced Chi-Sqr	4,46564E-6		
Adj. R-Square	0,99884		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	0	0
Peak1(B)	xc	530,55752	0,38867
Peak1(B)	w	50,50745	1,35287
Peak1(B)	A	8,40963	1,20726
Peak1(B)	sigma	25,25373	0,67644
Peak1(B)	FWHM	59,46798	1,59289
Peak1(B)	Height	0,13285	0,01557
Peak2(B)	y0	0	0
Peak2(B)	xc	572,43802	4,56575
Peak2(B)	w	78,00115	6,8013
Peak2(B)	A	9,84371	2,40843
Peak2(B)	sigma	39,00058	3,40065
Peak2(B)	FWHM	91,83934	8,00791
Peak2(B)	Height	0,10069	0,0159
Peak3(B)	y0	0	0
Peak3(B)	xc	654,81322	5,299
Peak3(B)	w	138,85766	11,10746
Peak3(B)	A	12,98144	2,67514
Peak3(B)	sigma	69,42883	5,55373
Peak3(B)	FWHM	163,4924	13,07803
Peak3(B)	Height	0,07459	0,00954
Peak4(B)	y0	0	0
Peak4(B)	xc	781,92571	21,96793
Peak4(B)	w	198,95358	16,50065
Peak4(B)	A	6,9602	1,61147
Peak4(B)	sigma	99,47679	8,25033
Peak4(B)	FWHM	234,24994	19,42804
Peak4(B)	Height	0,02791	0,00421

Figura 17: Ajuste UV-VIS a la muestra H3.



Model	Gauss	H4	
Equation	y=y0 + (A/(w*sqrt(PI/2)))*exp(-2*((x-xc)/w)^2)		
Reduced Chi-Sqr	1,04115E-5		
Adj. R-Square	0,99838		
		Value	Standard Error
B	y0	0	0
B	xc	534,4929	0,04519
B	w	56,06519	0,09038
B	A	21,59691	0,03015
B	sigma	28,03259	0,04519
B	FWHM	66,01172	0,10641
B	Height	0,30735	4,29092E-4

Figura 18: Ajuste UV-VIS a la muestra H4.



Model	Gauss	H5	
Equation	y=y0 + (A/(w*sqrt(PI/2)))*exp(-2*((x-xc)/w)^2)		
Reduced Chi-Sqr	1,03797E-5		
Adj. R-Square	0,9993		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	0	0
Peak1(B)	xc	533,60422	0,10048
Peak1(B)	w	43,36221	0,27721
Peak1(B)	A	14,85043	0,27302
Peak1(B)	sigma	21,68111	0,13861
Peak1(B)	FWHM	51,05511	0,32639
Peak1(B)	Height	0,27325	0,00341
Peak2(B)	y0	0	0
Peak2(B)	xc	553,38489	0,31979
Peak2(B)	w	76,09632	0,27792
Peak2(B)	A	20,83811	0,27506
Peak2(B)	sigma	38,04816	0,13896
Peak2(B)	FWHM	89,59657	0,32723
Peak2(B)	Height	0,21849	0,00328

Figura 19: Ajuste UV-VIS a la muestra H5.

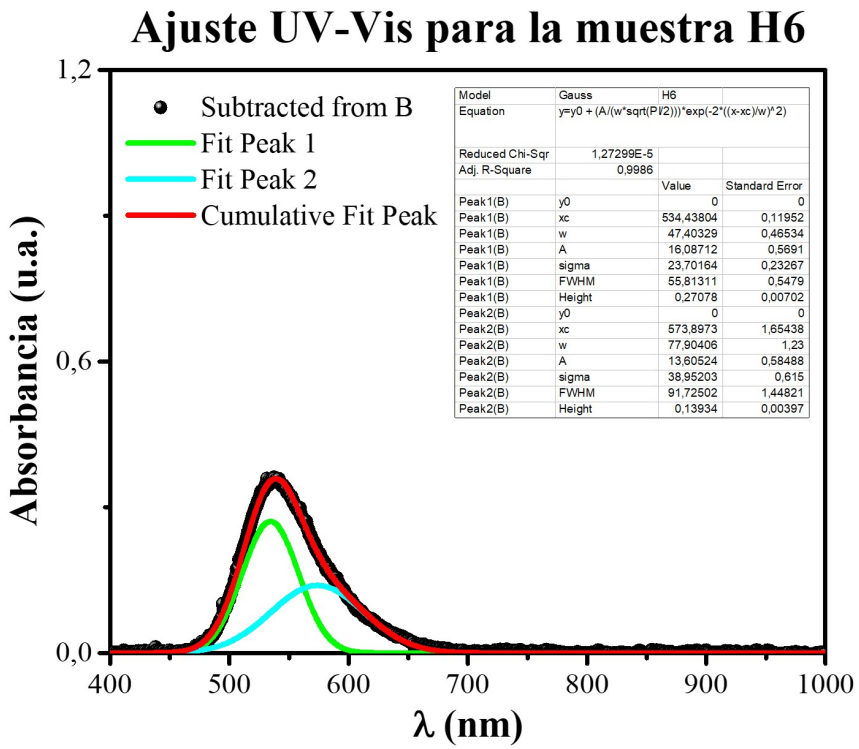


Figura 20: Ajuste UV-VIS a la muestra H6.

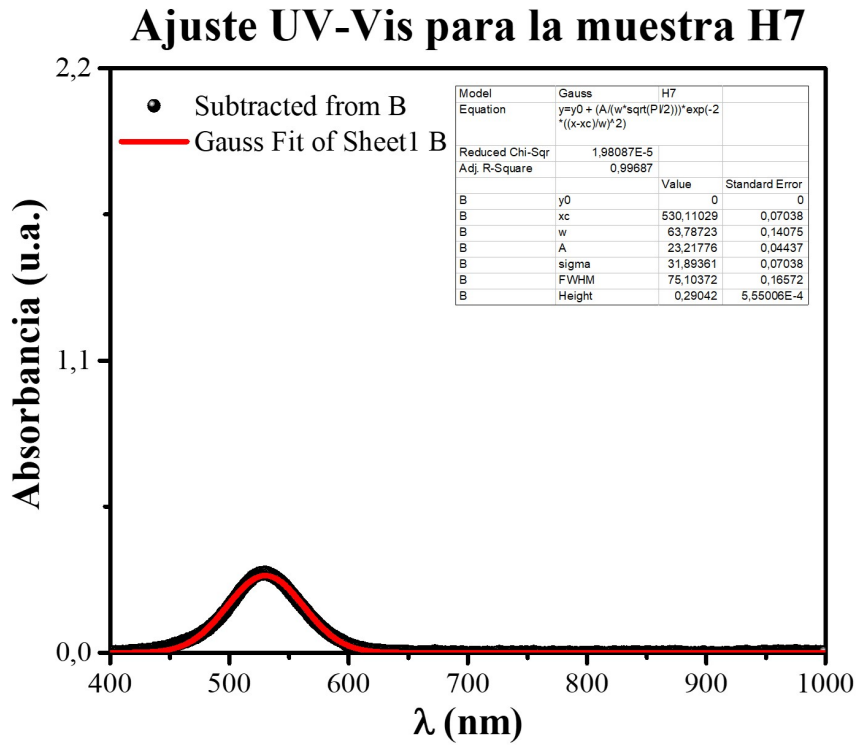
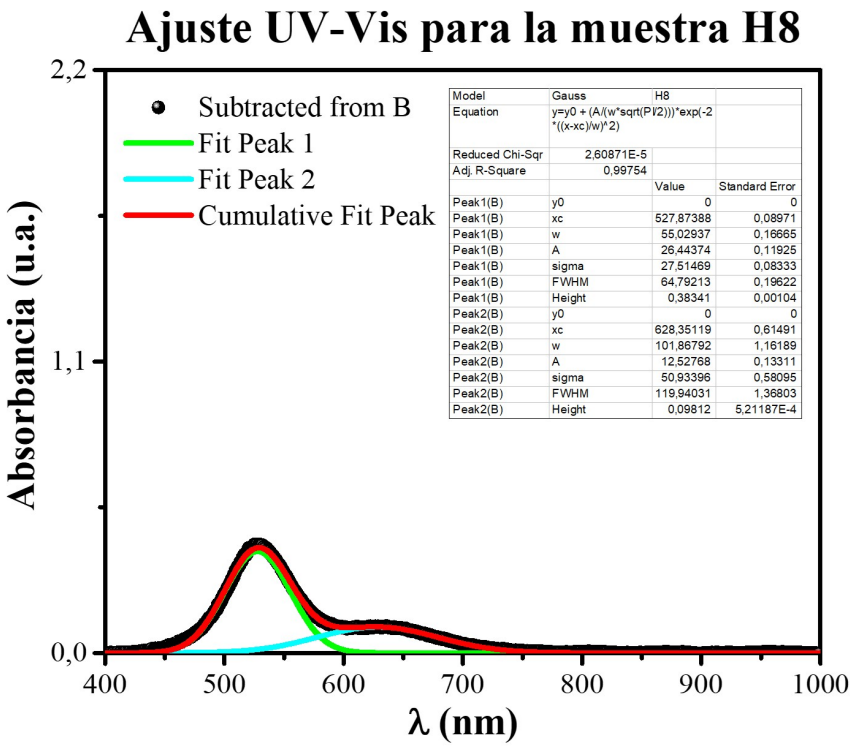
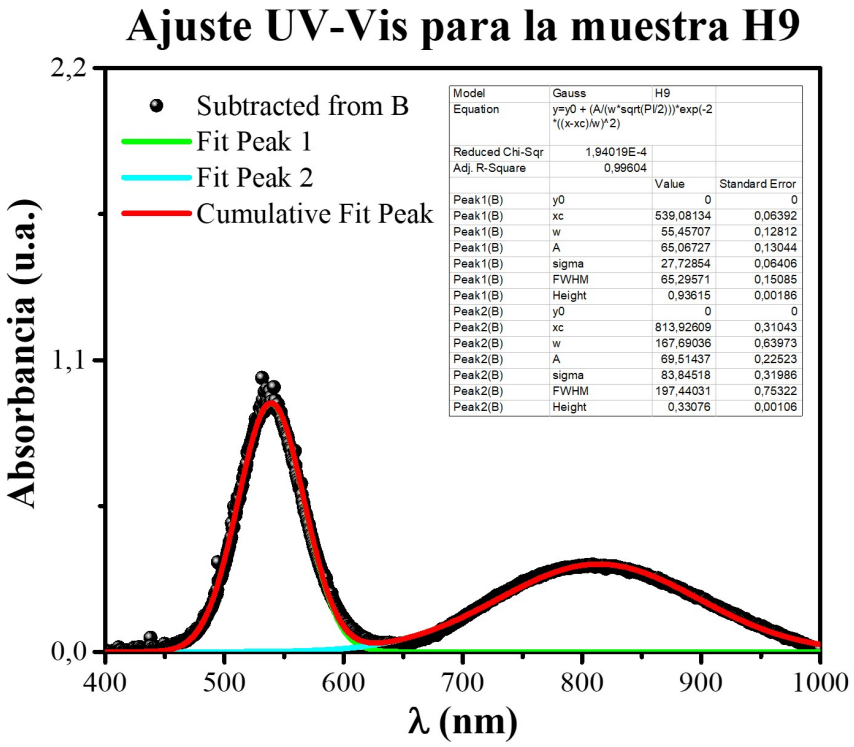


Figura 21: Ajuste UV-VIS a la muestra H7.



Model	Gauss	H8	
Equation	y=y0 + (A/(w*sqrt(PI/2)))*exp(-2*((x-xc)/w)^2)		
Reduced Chi-Sqr	2,60871E-5		
Adj. R-Square	0,99754		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	0	0
Peak1(B)	xc	527,87388	0,08971
Peak1(B)	w	55,02937	0,16665
Peak1(B)	A	26,44374	0,11925
Peak1(B)	sigma	27,51469	0,08333
Peak1(B)	FWHM	64,79213	0,19622
Peak1(B)	Height	0,38341	0,00104
Peak2(B)	y0	0	0
Peak2(B)	xc	628,35119	0,61491
Peak2(B)	w	101,86792	1,16189
Peak2(B)	A	12,52768	0,13311
Peak2(B)	sigma	50,93396	0,58095
Peak2(B)	FWHM	119,94031	1,36803
Peak2(B)	Height	0,09812	5,21187E-4

Figura 22: Ajuste UV-VIS a la muestra H8.



Model	Gauss	H9	
Equation	y=y0 + (A/(w*sqrt(PI/2)))*exp(-2*((x-xc)/w)^2)		
Reduced Chi-Sqr	1,94019E-4		
Adj. R-Square	0,99604		
		Value	Standard Error
Peak1(B)	y0	0	0
Peak1(B)	xc	539,08134	0,06392
Peak1(B)	w	55,45707	0,12812
Peak1(B)	A	65,06727	0,13044
Peak1(B)	sigma	27,72854	0,06406
Peak1(B)	FWHM	65,29571	0,15085
Peak1(B)	Height	0,93615	0,00186
Peak2(B)	y0	0	0
Peak2(B)	xc	813,92609	0,31043
Peak2(B)	w	167,69036	0,63973
Peak2(B)	A	69,51437	0,22523
Peak2(B)	sigma	83,84518	0,31986
Peak2(B)	FWHM	197,44031	0,75322
Peak2(B)	Height	0,33076	0,00106

Figura 23: Ajuste UV-VIS a la muestra H9.

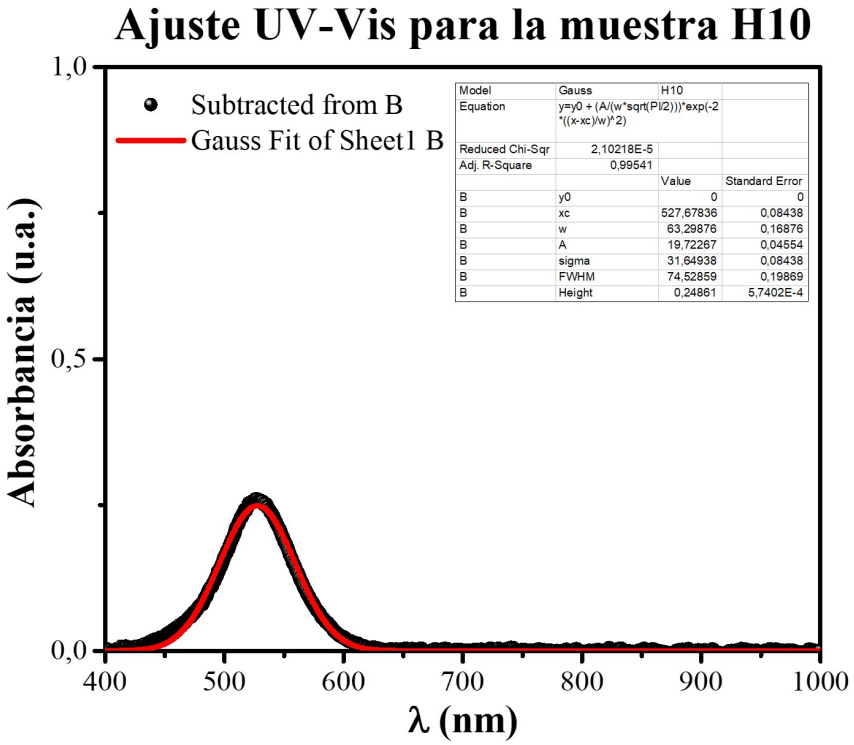


Figura 24: Ajuste UV-VIS a la muestra H10.

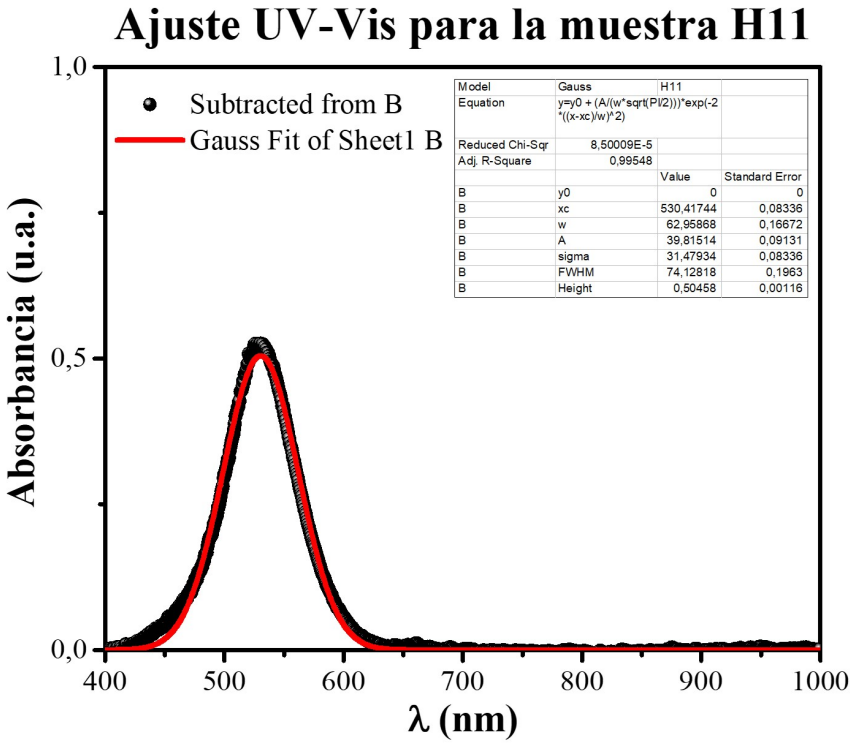


Figura 25: Ajuste UV-VIS a la muestra H11.

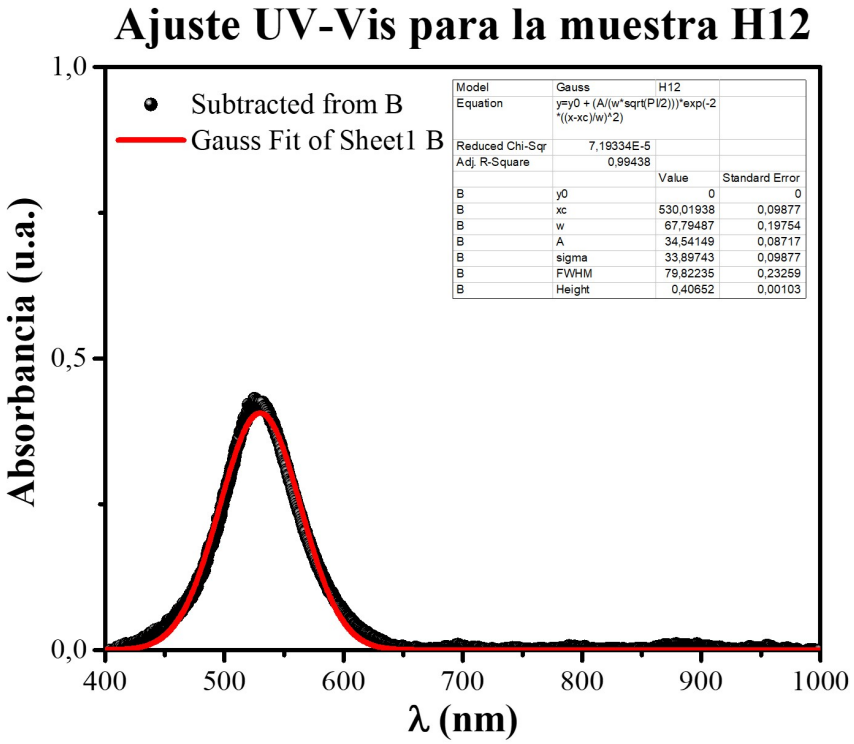


Figura 26: Ajuste UV-VIS a la muestra H12.

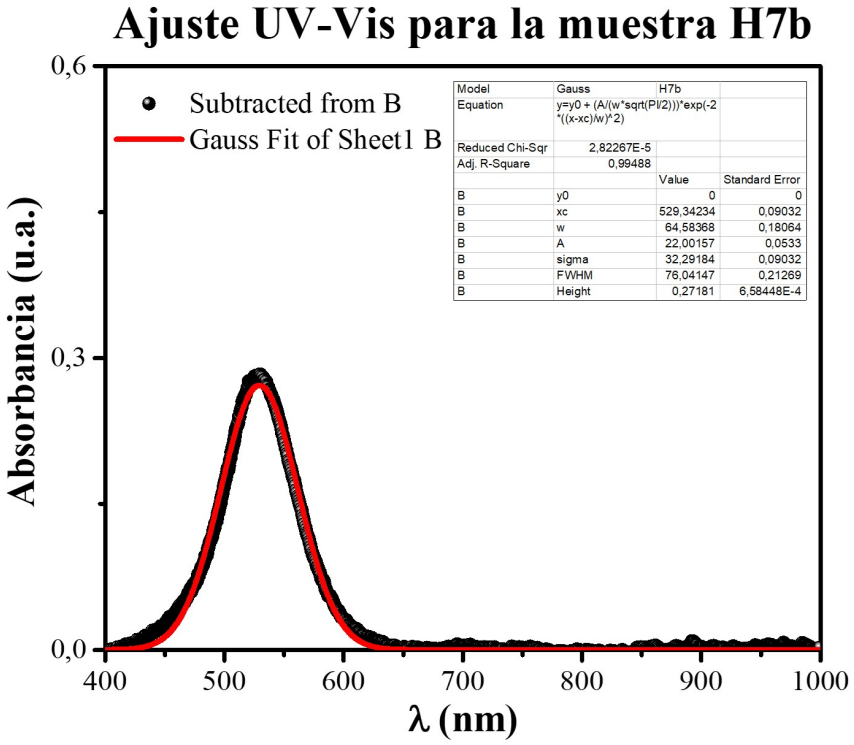


Figura 27: Ajuste UV-VIS a la muestra H7b.

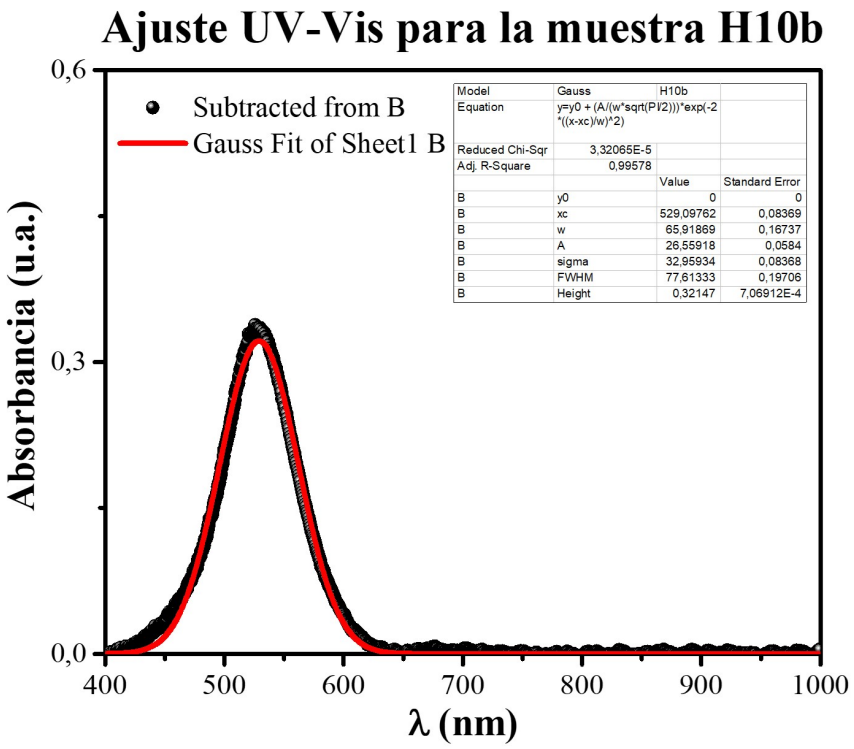


Figura 28: Ajuste UV-VIS a la muestra H10b.