

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE QUIMICA**



**USO DE LA DISPERSION DE HIPER RAYLEIGH PARA EL ESTUDIO  
Y CARACTERIZACION DE NANOPARTICULAS DE ORO**

Trabajo Especial de Grado presentado  
ante la Ilustre Universidad Central de  
Venezuela por la Br. Adriana Inés Pérez  
Graterol para optar al título de  
LICENCIADO EN QUIMICA

Caracas, Octubre de 2010

Yo, Dr. Hector Gutierrez, Profesor e Investigador del Laboratorio de Espectroscopia Laser de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela.

Certifico que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

**“Uso de la Dispersión de Hiper Rayleigh para el Estudio y  
Caracterización de Nanopartículas de Oro”**

Que presenta la Br. Adriana Inés Pérez Graterol, para aspirar al Título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Espectroscopía Láser en la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo mi dirección, durante los años 2009 y 2010, y con esta fecha autorizo su presentación.

Caracas, Octubre de 2010

---

Dr. Hector Gutierrez  
(Tutor)



Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado: **“Uso de la Dispersión de Hiper Rayleigh para el Estudio y Caracterización de Nanopartículas de Oro”**. Presentado por la Br. Adriana Inés Pérez Graterol, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

---

Hector Gutierrez  
(Tutor)

---

Emilio Squitieri  
(Jurado)

---

Lorenzo Echevarría  
(Jurado)

## RESUMEN

---

Las Nanopartículas (Nps) de oro manifiestan propiedades eléctricas y ópticas interesantes, útiles y únicas. Así mismo, las Nps de oro presentan efectos ópticos no lineales (ONL) de segundo orden. Por lo general, el comportamiento ONL de segundo orden de las Nps de oro es cuantificado en términos de la primera hiperpolarizabilidad, tensor  $\beta$ . Por su parte, la dispersión de Hiper Rayleigh (HRS) ha surgido como una técnica eficaz para medir los valores de  $\beta$  de Nps metálicas en soluciones tanto acuosas como orgánicas. Sin embargo, mientras que las propiedades ópticas lineales de las Nps de oro han sido ampliamente investigadas; el potencial de estos materiales para aplicaciones ópticas no lineales de segundo orden, por ejemplo, análisis biológico, telecomunicaciones, optoelectrónica, incluyendo aplicaciones fotónicas de segundo orden (hiper-fotónicos), etc., no se ha estudiado del todo.

Esta investigación fue enfocada en la caracterización y estudio de Nps de oro a través de la técnica de HRS. Inicialmente, las Nps de oro fueron generadas por ablación láser a partir de una placa de oro sumergida en solución acuosa de un surfactante aniónico, Dodecil Sulfato de Sodio (SDS). Posteriormente, se realizó un estudio para determinar el alcance e influencia de ciertas variables experimentales de la ablación láser, sobre los espectros de absorción, distribución de tamaños y propiedades ópticas no lineales (ONL) de las Nps de oro generadas. Las variables experimentales que se modificaron fueron: concentración del surfactante [SDS], irradiancia del láser y tiempo de ablación. Durante el proceso de ablación, se trabajó a la longitud de onda fundamental (1064 nm) y a una frecuencia fija de 10 Hz. La caracterización de dichas Nps de oro no funcionalizadas se llevó a cabo mediante Espectroscopía UV-Vis, Dispersión Dinámica de Luz (DLS) y Dispersión de Hiper Rayleigh (HRS).

Se observó que incrementos en el tiempo de ablación (15 minutos) generan altas concentraciones de nanopartículas en el medio. Así mismo, se encontró que fenómenos de fragmentación se manifiestan cuando se emplean irradiancias significativamente grandes; esta tendencia fue observada hasta un valor límite de irradiancia de 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, después del cual el diámetro medio aumentaba

nuevamente ocasionado por la agregación inducida por la gran cantidad de Nps presentes en el medio. Igualmente, se comprobó, para tres diferentes valores de irradiancia, que  $4.5 \times 10^{-02}$  M es la concentración más apropiada de SDS para obtener mayor cantidad de Nps de oro de menor diámetro y de mayor estabilidad en el tiempo. Por otro lado, se encontró una dependencia de la señal de HRS con la cantidad de Nps de oro no funcionalizadas presentes en el medio; cuanto mayor es la cantidad de Nps, mayor es la señal de HRS.

Posteriormente, las Nps de oro fueron generadas y funcionalizadas “in-situ” por ablación láser a partir de una placa de oro sumergida en una mezcla de soluciones de SDS y fluoróforo, es decir, SDS-Disodiofluoresceína (DSF) o SDS-Rodamina B (RB). Igualmente, la caracterización de dichas Nps de oro funcionalizadas se llevó a cabo mediante Espectroscopía UV-Vis, Espectroscopía de Fluorescencia, Dispersión Dinámica de Luz (DLS) y Dispersión de Hiper Rayleigh (HRS).

Comparando los agentes funcionalizadores, RB y DSF, se observó que ambos por igual producen importantes cambios espectrales UV-Vis. Se notó que a medida que la concentración de ambos fluoróforos aumenta, la absorbancia de las Nps también se ve incrementada. Además de la banda de PS, que se observó a 520 nm para los complejos Nps de oro-RB-SDS, una segunda banda de absorción apareció a 400-425 nm. Se cree que estos resultados se deban a pequeños aumentos en la constante dieléctrica del medio ambiente en el cual se hallan las Nps y a la agregación que experimentan las partículas por la adición de RB.

Por otro lado, la señal de HRS de las Nps funcionalizadas mejoró considerablemente con respecto a la señal proveniente de las partículas no funcionalizadas. Se determinó que el valor de la primera hiperpolarizabilidad de una nanopartícula de oro solitaria y sin modificación fue alrededor de  $1.9 \pm 2.5 \times 10^{-23}$  esu. Igualmente, se encontró que el valor del tensor  $\beta$  para los complejos Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS fue  $5.5 \pm 2.2 \times 10^{-22}$  y  $13.3 \pm 1.6 \times 10^{-23}$  esu, respectivamente. Es notorio, que las Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B poseen un mayor valor de hiperpolarizabilidad que aquellas partículas que fueron modificadas con Disodiofluoresceína. La Rodamina B realzó e incrementó más

efectiva y eficientemente, en un orden de magnitud, las propiedades ONL de las Nps de oro.

Así mismo, se realizaron varios estudios del quenching de la emisión de fluorescencia del agente funcionalizador como consecuencia del contacto con un quencher (Nps). Se notó un fuerte decaimiento de la emisión de fluorescencia para ambos fluoróforos, RB y DSF, debido a la gran cercanía entre las moléculas de estos y los núcleos metálicos de las Nps de oro. Las desviaciones encontradas en las gráficas de Stern-Volmer, para los complejos Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS, sugieren que el quenching observado no fue enteramente dinámico o estático, sino más bien una combinación de ambos.

La funcionalización, tal como se tenía previsto incrementó significativamente la señal de HRS de las Nps de oro bajo una marcada dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador, es decir, a medida que la concentración del fluoróforo aumenta, la señal de HRS se ve incrementada. Se piensa que este fenómeno se deba a: (i) como es lógico, a medida que aumenta la concentración del funcionalizador también, en la misma medida, las interacciones electrostáticas que se establecen entre las moléculas del fluoróforo y la superficie de la Nps incrementan, (ii) aumentos de la concentración del fluoróforo crean nuevas condiciones no-centrosimétricas en el sistema (iii) altas intensidades de las señales de HRS proveniente de las Nps de oro modificadas se pueden atribuir a procesos de agregación de las partículas.

Por último, la intensidad de HRS proveniente de los complejos Nps de oro-RB-SDS fue significativamente mayor que la señal de HRS proveniente de los complejos Nps de oro-DSF-SDS. Las moléculas de RB y la superficie de las nanopartículas establecen una mejor y mayor interacción electrostática, lo que a su vez, se ve reflejado en el realzamiento de la respuesta óptica no lineal de segundo orden de las Nps de oro.

## AGRADECIMIENTOS

---

Gracias Especialmente a:

Prof. Héctor Gutierrez y Prof. Jimmy Castillo por darme la oportunidad para realizar este Trabajo Especial de Grado en las instalaciones del Lab. de Espectroscopía Láser de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela. También al Prof. Héctor Gutierrez por guiarme durante la realización de esta investigación, hacer las correcciones apropiadas y oportunas de mi tesis, realizar la instalación del equipo de HRS y por explicarme los conceptos físicos involucrados en el fenómeno de HRS.

Prof. Jimmy Castillo, Prof. Josmery Vitta y Prof. Vincent Piscitelli por la ayuda y asesoramiento en Espectroscopía de Fluorescencia y UV-Vis. Todos aquellos en el Lab. de Espectroscopía Láser por ayudarme de una u otra forma. Prof. Gustavo Pérez por facilitar Cloruro de Rodamina tipo B para los experimentos de Nps de oro funcionalizadas.

Mi madre “La Gatubela”, mi padre y hermanos por ayudarme, escucharme, amarme, comprenderme y por su continuo apoyo financiero sin importar en donde me encuentre. También a Panchito por esperarme con sus bigotes largos y carita de “niño” cuando regreso a casa por las tardes. Mis mejores amigos en Caracas - Venezuela; Yisely Martínez “La Viejita”, Esther Gutierrez “La muñecona”, Tommy Gutierrez, Dayana Meléndez, Eli Halagui, Niurka Guillen, Johanny López, Clara Matheus y Katherine Yáñez por su apoyo y por siempre acordarse de mí. Mis mejores amigos en BASF AG (GKF/C - B001), Ludwigshafen - Alemania; Martina Ulrich y Lothar Wiedmann “Loota” por su amistad y por acordarse de mí, especialmente de mi cumpleaños, a pesar de que estemos tan lejos... Mis dos mejores compinches en Alemania; Joanne Favre-Bulle “La chica de Suiza” por ser tan amigable, por enseñarme a escalar y por cocinar mi postre favorito “Apfelkuchen” y Munirah Abdul Manan “La chica de Singapore” por ser tan buena gente, por su calidez y por siempre llamarme para ir juntas a Mannheim y así terminar destruyendo nuestras tarjetas de crédito. A todos muchas gracias.

Dedicado a:

*Los seres que más amo...Mis padres.*

## INDICE GENERAL

---

INDICE DE TABLAS.....	1
INDICE DE FIGURAS.....	4
LISTA DE ABREVIACIONES.....	15
INTRODUCCION.....	17
CAPITULO I.....	23
FUNDAMENTOS TEORICOS.....	23
<b>I.1    NANOPARTICULAS (NPS), CLASIFICACION Y PROPIEDADES....</b>	<b>23</b>
<i>I.1.1    Sistemas Nanométricos. Efectos de Tamaño y Superficie.....</i>	<i>24</i>
<i>I.1.2    Nps de Oro.....</i>	<i>25</i>
<b><i>I.1.3    Propiedades de las Nps de Oro.....</i></b>	<b><i>28</i></b>
<i>I.1.3.a. Propiedades Térmicas.....</i>	<i>29</i>
<i>I.1.3.b. Propiedades Magnéticas.....</i>	<i>29</i>
<i>I.1.3.c. Propiedades Ópticas.....</i>	<i>30</i>
<b>I.2.    ESTABILIZACION DE NPS EN SOLUCION.....</b>	<b>30</b>
<i>I.2.1    Estabilización Electrostática.....</i>	<i>31</i>
<i>I.2.2    Estabilización Estérica.....</i>	<i>31</i>
<b>I.3    APLICACIONES DE NPS DE ORO .....</b>	<b>34</b>
<b>I.4    RESONANCIA DE PLASMONES SUPERFICIALES (RPS) EN NPS DE ORO.....</b>	<b>35</b>
<i>I.4.1    Plasmones Superficiales y la Teoría de Mie.....</i>	<i>37</i>
<b><i>I.4.2    Posición Espectral de RPS. Parámetros que Influyen en la RPS.....</i></b>	<b><i>39</i></b>
<i>I.4.2.a. Influencia de la Forma de la Partícula.....</i>	<i>39</i>
<i>I.4.2.b. Influencia de la Funciones Dieléctricas.....</i>	<i>40</i>
<b>I.5    METODOS DE GENERACION DE NPS METALICAS.....</b>	<b>40</b>
<b><i>I.5.1    Ablación Láser.....</i></b>	<b><i>41</i></b>
<i>I.5.1.a. Láseres Usados en Ablación Láser. El láser Nd:YAG.....</i>	<i>43</i>
<i>I.5.1.b. Características y Ventajas de la Ablación Láser.....</i>	<i>44</i>
<i>I.5.1.c. Aplicaciones de la Ablación Láser.....</i>	<i>45</i>
<i>I.5.1.d. Influencia de las Condiciones Experimentales de la Ablación Láser sobre los Espectros de Absorción y Distribución de Tamaños de las Nps de Oro.....</i>	<i>46</i>
<b>I.6    CARACTERIZACION DE NPS DE ORO.....</b>	<b>53</b>
<i>I.6.1    Microscopia Electrónica.....</i>	<i>53</i>
<i>I.6.2    Espectroscopía UV-Vis.....</i>	<i>56</i>
<i>I.6.3    Dispersión Dinámica de Luz (DLS).....</i>	<i>57</i>
<b><i>I.6.4    Espectroscopía de Fluorescencia.....</i></b>	<b><i>58</i></b>
<i>I.6.4.a. Fluorescencia.....</i>	<i>59</i>
<i>I.6.4.b. Variables que Afectan la Fluorescencia.....</i>	<i>62</i>
<i>I.6.4.c. Incremento de la Fluorescencia por Efecto de un Metal (MEF).....</i>	<i>64</i>
<i>I.6.4.d. Fluoresceína, Disodiofluoresceína y Rodamina.....</i>	<i>65</i>
<b>I.7    FENOMENOS OPTICOS DE LOS MATERIALES.....</b>	<b>67</b>

I.7.1	<i>Fenómenos Ópticos Lineales.....</i>	68
I.7.2	<i>Fenómenos Ópticos No Lineales Coherentes.....</i>	68
<b>I.7.3</b>	<b><i>Fenómenos No Lineales Incoherentes. Basamento Teórico de la Dispersión de Hiper Rayleigh (HRS).....</i></b>	<b>69</b>
I.7.3.a.	<i>Descripción Fenomenológica y Microscópica de HRS.....</i>	69
I.7.3.b.	<i>Fenómenos Ópticos No Lineales (FONL) en Nps Metálicas según su Simetría.....</i>	74
I.7.3.c.	<i>Ventajas y Usos de HRS.....</i>	76
I.7.3.d.	<i>Estudio de las Propiedades Ópticas No Lineales (ONL) de Nps de Oro a través de la Dispersión de Hiper Rayleigh (HRS).....</i>	77
<b>CAPITULO II.....</b>		<b>83</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>		<b>83</b>
II.1	<i>Objetivos Generales.....</i>	83
II.2	<i>Objetivos Específicos.....</i>	83
<b>CAPITULO III.....</b>		<b>84</b>
<b>METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....</b>		<b>84</b>
<b>III.1. MATERIALES.....</b>		<b>84</b>
III.1.1	<i>Solventes.....</i>	84
III.1.2	<i>Reactivos.....</i>	84
III.1.3	<i>Equipos e Instrumental.....</i>	84
III.1.4	<i>Otros Materiales.....</i>	84
<b>III.2 OBTENCION DE NPS DE ORO POR ABLACION LASER.....</b>		<b>85</b>
III.2.1	<i>Preparación de las Muestras.....</i>	85
III.2.2	<i>Montaje Experimental.....</i>	85
III.2.3	<i>Determinación de la Irradiancia.....</i>	87
III.2.4	<i>Ablación Láser sobre la Placa de Oro.....</i>	88
<b>III.3 CARACTERIZACION DE NPS DE ORO.....</b>		<b>89</b>
III.3.1	<i>Espectroscopía UV-Vis.....</i>	89
III.3.2	<i>Dispersión Dinámica de Luz (DLS).....</i>	90
<b>III.3.3 Dispersión de Hiper Rayleigh (HRS).....</b>		<b>92</b>
III.3.3.a.	<i>Preparación de Soluciones. Calibración del Equipo Empleado para Medir la Señal de HRS.....</i>	92
III.3.3.b.	<i>Preparación de las Muestras.....</i>	92
III.3.3.c.	<i>Montaje Experimental.....</i>	93
<b>III.3.4 Estudio de la Disminución de la Emisión de Fluorescencia de Disodiofluoresceína (DSF) y Rodamina B (RB) Debido a la Presencia de Nps de Oro.....</b>		<b>95</b>
III.3.4.a.	<i>Metodología para la Realización del Estudio.....</i>	96
III.3.4.b.	<i>Obtención de los Espectros de Fluorescencia.....</i>	97
<b>CAPITULO IV.....</b>		<b>99</b>
<b>RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIONES.....</b>		<b>99</b>
<b>IV.1 INFLUENCIA DE LAS VARIABLES EXPERIMENTALES EN LA GENERACION DE NANOPARTICULAS DE ORO VIA ABLACION LASER.....</b>		<b>99</b>

IV.1.1	<i>Influencia de la Concentración del Surfactante.....</i>	99
IV.1.2	<i>Influencia de la Irradiancia.....</i>	111
IV.1.3	<i>Influencia del Tiempo de Ablación.....</i>	117
IV.1.4	<i>Correlación de la Longitud de Onda del Máximo de Absorbancia con el Diámetro de Partícula.....</i>	121
<b>IV.2</b>	<b>ESTABILIDAD DE LAS NPS DE ORO-NF-SDS EN EL TIEMPO.....</b>	<b>123</b>
<b>IV.3</b>	<b>ESTUDIO DE LA SEÑAL DEL SEGUNDO ARMONICO Y LA PRIMERA HIPERPOLARIZABILIDAD DE LAS NPS DE ORO NO FUNCIONALIZADAS.....</b>	<b>125</b>
<b>IV.3.1</b>	<b><i>Comportamiento de la Señal del Segundo Armónico Según el Sistema de Estudio.....</i></b>	<b>126</b>
IV.3.1.a.	<i>Señal de HRS de Nps de Oro, p-NA y Urea.....</i>	126
IV.3.1.b.	<i>Señal de HRS de Nps de Oro con y sin Funcionalización.....</i>	128
IV.3.2	<i>Influencia de la Cantidad de Nps No Funcionalizadas sobre la Señal del Segundo Armónico.....</i>	129
IV.3.3	<i>Determinación de la Primera Hiperpolarizabilidad de las Nps de Oro con y sin Modificación.....</i>	132
<b>IV.4</b>	<b>ESTUDIO DE LA SEÑAL DEL SEGUNDO ARMONICO Y LA PRIMERA HIPERPOLARIZABILIDAD DE LAS NPS DE ORO GENERADAS Y FUNCIONALIZADAS IN-SITU CON DISODIOFLUORESCINA (DSF) y RODAMINA B (RB) VIA ABLACION LASER.....</b>	<b>138</b>
IV.4.1	<i>Síntesis de Nanopartículas de Oro Funcionalizadas.....</i>	138
IV.4.2	<i>Influencia del Tiempo de Ablación y del Agente Funcionalizador sobre los Espectros de Absorbancia y la Señal de Segundo Armónico.....</i>	139
IV.4.3	<i>Influencia de la Naturaleza del Agente Funcionalizador, Concentración del estabilizante y la Irradiancia sobre la Señal del Segundo Armónico.....</i>	148
<b>IV.4.4</b>	<b><i>Influencia de la Concentración del Agente Funcionalizador sobre la Señal del Segundo Armónico.....</i></b>	<b>154</b>
IV.4.4.a.	<i>Efecto de la Variación de la Concentración de DSF sobre la Señal del Segundo Armónico.....</i>	154
IV.4.4.b.	<i>Efecto de la Variación de la Concentración de RB sobre la Señal del Segundo Armónico.....</i>	157
IV.4.5	<i>Correlación de la Primera Hiperpolarizabilidad con el Diámetro de Partícula.....</i>	166
<b>IV.5</b>	<b>ESTUDIO DE LA DISMINUCION DE LA EMISION DE FLUORESCENCIA DE DISODIOFLUORESCINA (DSF) Y RODAMINA B (RB) DEBIDO A LA PRESENCIA DE NPS DE ORO. DETERMINACION DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA DE LAS NPS DE ORO FUNCIONALIZADAS.....</b>	<b>168</b>
<b>IV.5.1</b>	<b><i>Determinación de los Espectros de Fluorescencia de los Complejos Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS.....</i></b>	<b>169</b>



IV.5.1.a. Estudio del Quenching de la Emisión de Fluorescencia de Disodiofluoresceína debido a la Presencia de Nps de Oro.....	169
IV.5.1.b. Estudio del Quenching de la Emisión de Fluorescencia de Rodamina B debido a la Presencia de Nps de Oro.....	172
<b>IV.5.2 Determinación de los Espectros de Absorbancia de los Complejos Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS.....</b>	<b>177</b>
IV.5.2.a. Espectros de Absorbancia de los Complejos Nps de Oro-DSF-SDS.....	177
IV.5.2.b. Espectros de Absorbancia de los Complejos Nps de Oro-RB-SDS.....	179
IV.5.3 Quenching Estático y Dinámico. Gráfica de Stern-Volmer. Correlación de $F_0/F$ con la Concentración de Nps de Oro en Muestras de Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS.....	182
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>189</b>
<b>PLAN DE TRABAJO.....</b>	<b>192</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>194</b>

## INDICE DE TABLAS

---

<b>Tabla N° 1:</b> Concentraciones preparadas de soluciones acuosas de SDS.....	85
<b>Tabla N° 2:</b> Características del laser Nd:YAG Continuum Surelite.....	86
<b>Tabla N° 3:</b> Valores de irradiancias que se emplearon para la generación de Nps de oro vía ablación láser .....	88
<b>Tabla N° 4:</b> Datos de las soluciones acuosas de SDS utilizadas.....	100
<b>Tabla N° 5:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (NF) (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Influencia de la concentración del estabilizante .....	101
<b>Tabla N° 6:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Influencia de la irradiancia.....	111
<b>Tabla N° 7:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Influencia del tiempo de ablación.....	118
<b>Tabla N° 8:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Dependencia de la longitud de onda del máximo de absorbancia con el diámetro de la Nps.....	122
<b>Tabla N° 9:</b> Condiciones para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Variables experimentales para la medida de la señal de HRS.....	128
<b>Tabla N° 10:</b> Determinación de la primera hiperpolarizabilidad de complejos Nps de oro con y sin funcionalización.....	133
<b>Tabla N° 11:</b> Cantidad de Nps de oro presentes en cada muestra preparada con su respectivo valor de primera hiperpolarizabilidad.....	137
<b>Tabla N° 12:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro sin y con funcionalización (Nps de oro-NF-SDS y Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Efecto del tiempo de ablación y la adición de un agente funcionalizador sobre los espectros UV-Vis.....	140
<b>Tabla N° 13:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B (Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Variables experimentales para la medida de la señal de HRS. Efecto del tiempo de ablación y la adición de un agente funcionalizador sobre la señal de HRS.....	146

<b>Tabla N° 14:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas (Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Efecto de la concentración del estabilizante, irradiancia del láser y la naturaleza del agente funcionalizador sobre los espectros UV-Vis y la señal de HRS.....	149
<b>Tabla N° 15:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador.....	155
<b>Tabla N° 16:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B (Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador.....	158
<b>Tabla N° 17:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador.....	160
<b>Tabla N° 18:</b> Preparación de los complejos Nps de oro-RB-SDS en un medio de agua-etanol. Dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador. Influencia de un solvente orgánico (etanol) presente en la solución coloidal de Nps de oro.....	162
<b>Tabla N° 19:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro sin funcionalización (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Variación del tensor $\beta$ con el diámetro de partícula.....	167
<b>Tabla N° 20:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Estudio de la disminución de la emisión de fluorescencia de DSF por la acción de un quencher (Nps de oro).....	170
<b>Tabla N° 21:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B (Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Estudio de la disminución de la emisión de fluorescencia de RB por la acción de un quencher (Nps de oro).....	173
<b>Tabla N° 22:</b> Muestras de Nps de oro-RB-SDS diluidas con EtOH. Estudio de la disminución de la emisión de fluorescencia de RB por la acción de un quencher (Nps de oro presentes en un medio de agua-etanol).....	175
<b>Tabla N° 23:</b> Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación	

láser. Determinación de los espectros de absorbanza de los complejos Nps de oro-DSF-SDS.....178

**Tabla N° 24:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B (Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Determinación de los espectros de absorbanza de los complejos Nps de oro-RB-SDS.....180

**Tabla N° 25:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con RB y DSF (Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser.....186

**Tabla N° 26:** Data para la construcción de la curva  $F_0/F$  en función de la concentración de las Nps de oro.....186

**Tabla N° 27:** Primera fase de la investigación: Estudio del efecto de las condiciones experimentales sobre la generación de Nps de oro-NF-SDS vía ablación láser.....193

**Tabla N° 28:** Segunda fase de la investigación: Generación y funcionalización in-situ de Nps de oro vía ablación láser, a partir de una placa de oro sumergida en una mezcla de soluciones de SDS y fluoróforo. Estudio del efecto de las condiciones experimentales sobre la generación de Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS vía ablación láser.....193

## INDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura 1:</b> Lista de algunos de los sistemas representativos de partículas coloidales, así como de los rangos típicos de tamaño.....	17
<b>Figura 2:</b> Variación del color de soluciones de Nps de oro con el incremento del tamaño de la partícula.....	18
<b>Figura 3:</b> (a) Copa de Lycurgus del Siglo IV, se ve verde con luz reflejada, pero se vuelve roja cuando la luz es transmitida a través del vidrio y (b) Nps de oro para pigmentar los vitrales en el siglo XVII. La foto muestra un ventanal de la Catedral de Notre Dame en París .....	19
<b>Figura 4:</b> Nps de oro funcionalizadas con un anti-cuerpo fluorescente, unidas a las células cancerosas haciéndolas brillar.....	20
<b>Figura 5:</b> Proceso de la ablación láser. Consecuencia de la interacción de la superficie metálica con el láser se crea una nube de partículas.....	21
<b>Figura 6:</b> Relación del Número de átomos de superficie /número total de átomos en función del diámetro de Nps de oro estructura FCC y distancia interatómica 0.288 nm.....	24
<b>Figura 7:</b> Evolución de los estados electrónicos, desde el átomo aislado hasta el material masivo .....	26
<b>Figura 8:</b> (a) Espectros de extinción para Nps de oro de diferentes radios, $r < 10$ nm, (b) Espectros de extinción para Nps de oro de diferentes radios, $r > 10$ nm, ambos tipos de Nps de oro están en heptano.....	27
<b>Figura 9:</b> (a) Esquema de una Nps de oro funcionalizada con diferentes agentes a través de grupos tiol, (b) TEM de una Nps de oro funcionalizada con grupos oligosacáridos.....	27
<b>Figura 10:</b> Esquema de una micela normal, la cabeza hidrofílica es soluble en agua y la cola hidrofóbica queda fuera de la solución acuosa.....	32
<b>Figura 11:</b> Estructura química del dodecil sulfato de sodio (SDS).....	32
<b>Figura 12:</b> Etapas del proceso de estabilización estérica para Nps de oro usando una solución acuosa de SDS.....	33
<b>Figura 13:</b> Esquema del fenómeno de la RPS, donde se observa una oscilación colectiva de los electrones confinados en las Nps metálicas.....	36
<b>Figura 14:</b> Variación de la longitud de onda del PS de las Nps de oro en función del tamaño de las partículas.....	36

- Figura 15:** Esquema del desplazamiento de los electrones de conducción de un metal al aplicar un campo electromagnético externo. El desplazamiento origina una fuerza restauradora, proporcional al desplazamiento..... 37
- Figura 16:** Esquema de una Nps metálica en situación de equilibrio (a) y de no equilibrio (b) al aplicar un campo electromagnético externo. El campo produce un desplazamiento de las cargas electrónicas, que se acumulan en la superficie de la Nps y producen un campo electromagnético que tiende a restaurar el equilibrio..... 38
- Figura 17:** Espectros de extinción ( $\log_{10}$  (transmisión)) de Nps metálicas con diferentes formas. Los espectros de extinción (c) de partículas planas en un sustrato de vidrio (a) cambia con una proporción cada vez mayor de a/c. Para las partículas alargadas (b) la extinción cambia con respecto a partículas esféricas.....40
- Figura 18:** TEM foto de un cráter producido por un laser pulsado sobre una superficie de cobre (Laser Nd:YAG a 266 nm)..... 41
- Figure 19:** Representación de las cuatro principales etapas involucradas en la síntesis de Nps metálicas vía ablación láser.....42
- Figura 20:** Representación de un plasma formado a partir de una blanco metálico vía ablación con láser. Cuatro combinaciones de especies líquido-metal puede ser identificados debido a la diferencia en temperatura, presión y composición. El \* indica especies excitadas y/o ionizados.....42
- Figura 21:** Espectros de absorbancia de Nps de oro generadas por ablación láser a 1064 nm y a 80 mJ/pulso en solución acuosa de SDS de concentración 0.0001, 0.001, 0.01 y 0.1 M, respectivamente.....47
- Figura 22:** TEM fotos y distribución de tamaños de las Nps de oro producidas por ablación láser, usando una longitud de onda fundamental de 1064 nm y 80 mJ/pulso en una solución acuosa de: (a) 0.01 M de SDS, (b)  $10^{-04}$  M de SDS y (c) subsecuente irradiación de las Nps de oro de (a) con láser a 532 nm, 50 mJ/pulso y por un espacio de tiempo de 60 minutos.....48
- Figura 23:** (a) Abundancia relativa de las Nps de oro como función del número de disparos del láser a 1064 nm y (b) a 532 nm. En (b), el poder del láser usado fue variado a 20 mJ/pulso (■), 30 mJ/pulso (○), 40 mJ/pulso (•), y 60 mJ/pulso (□), respectivamente. En (c), se puede apreciar la abundancia relativa de Nps de oro en función del poder del láser a 532 nm, donde el incremento es casi lineal con respecto al poder del láser.....49
- Figura 24:** (a) Diámetro promedio de Nps de oro despues de la fragmentación con un láser pulsado a 532 nm usando diferentes flujos de energía: (◆) 320, (•) 480, y (■) 1200 mJ/pulso.cm<sup>2</sup> como función de la [SDS], TEM fotos de Nps de oro generadas con un láser pulsado a 532 nm y 1200 mJ/pulso.cm<sup>2</sup> en una solución acuosa de [SDS] de (b)  $9 \times 10^{-4}$  M y (c) 0.05M. El tamaño promedio de las Nps obtenidas son de 3.4 y 1.7 nm a  $9 \times 10^{-4}$  M y 0.05 M, respectivamente.....50

<b>Figura 25: (A)</b> Espectros de absorbancia de Nps de oro generadas antes de la fragmentación (a) y después de la fragmentación con un láser pulsado a 532 nm y 1200 mJ/pulso.cm <sup>2</sup> en una solución acuosa de [SDS] de (b) $9 \times 10^{-4}$ M y (c) 0.05 M. <b>(B)</b> Espectro de absorbancia de Nps de oro con diferentes diámetros iniciales, antes de la reducción de tamaño inducido por láser: (a) 10.0 nm (línea azul continua), (b) 7.5 nm (línea negra continua) y (c) 6.0 nm (línea roja continua) y después de la reducción de tamaño inducido por láser (líneas azul, negra y roja punteadas).....	51
<b>Figura 26:</b> TEM fotos de Nps de plata preparadas por ablación láser a 532 nm e intensidad de 120 mJ/pulso y tiempo de ablación de 10 minutos; (a) Nps sin surfactante, (b) Nps en solución de $5.0 \times 10^{-3}$ M de SDS y (c) Nps en solución de $5.0 \times 10^{-4}$ M de CTAB .....	52
<b>Figura 27:</b> Espectro de absorción UV-Vis de Nps de plata sintetizadas vía ablación láser usando una longitud de onda de 532 nm, una intensidad de 120 mJ/pulso y tiempo de ablación de 10 minutos en una solución acuosa de: (a) $1.0 \times 10^{-2}$ M de SDS, (b) $1.0 \times 10^{-3}$ M de CTAB y (c) Nps de plata sin surfactante .....	53
<b>Figura 28:</b> Partes que conforman un MET .....	54
<b>Figura 29:</b> Comparación de las partes que conforman (a) un microscopio óptico, (b) TEM y (c) SEM, respectivamente .....	55
<b>Figura 30:</b> Espectro de absorbancia de Nps de oro, donde se observa el desplazamiento del máximo de absorbancia en función del tamaño de la partícula.....	57
<b>Figura 31:</b> Diagrama de las curvas de absorción (excitación) y de emisión (fluorescencia) para un compuesto. La diferencia entre ambos máximos es conocida como el desplazamiento de Stokes.....	60
<b>Figura 32:</b> (a) Diagrama de energía para un sistema fotolumiscente, donde se muestra la excitación de $S_0$ a $S_1$ y la emisión de $S_1$ a $S_0$ y (b) espectro de fluorescencia para 1 ppm de antraceno en alcohol, donde se aprecia (b.1) espectro de excitación, (b.2) espectro de emisión.....	61
<b>Figura 33:</b> Estructura química de (a) fluoresceína y (b) disodiofluoresceína.....	62
<b>Figura 34:</b> (a) Fluoresceína y (b) solución de fluoresceína bajo radiación de luz UV.....	66
<b>Figura 35:</b> (a) Rodamina 6G en polvo <sup>[82]</sup> , (b) solución de fluoresceína y rodamina 6G <sup>[83]</sup> , respectivamente bajo radiación de luz UV y (c) estructura química de la Rodamina 123 (clorhidrato de rodamina 123).....	67
<b>Figura 36:</b> Polarización del material producto de incidencia de un campo eléctrico externo ( $E_i(\omega)$ ) sobre la superficie del mismo.....	70
<b>Figura 37:</b> Dipolo inducido $p$ producto del sometimiento de una molécula del material a un campo eléctrico externo $E_i$ .....	71

**Figura 38:** FONL en Nps metálicas según su simetría; (a) para Nps centrosimétricas, la fuerza restauradora y la polarización son simétricas y sólo linealidades de orden impar están permitidas, (b) para Nps no-centrosimétricas, la fuerza restauradora y la polarización son no-simétricas y además de las linealidades de orden impar, también las linealidades de orden par existen, (c) microfotografía electrónica de una matriz centrosimétrica de Nps no-centrosimétricas, (d) matriz no-centrosimétrica de Nps no-centrosimétricas..... 75

**Figura 39:** Señal de HRS de Nps de ZnO en el tiempo, a tres diferentes resoluciones de tiempo; (●) 100 ms, (■) 50 ms y (+) 20 ms. Cuatro regiones pueden distinguirse: (I) reactivos, (II) nucleación, (III) crecimiento y (IV) maduración..... 77

**Figura 40:** Señales de HRS de Nps de oro e IgG-Nps de oro medidas a 532 nm. Justo después de añadir IgG a las soluciones de Nps de oro; el número de conjugados no-centrosimétricos de Nps-IgG incrementa con el tiempo, por lo que la señal de HRS incrementa también. Pero a medida que pasa el tiempo, las Nps de oro continúan absorbiendo moléculas de IgG llegando a un punto de saturación, causando una disminución de los conjugados no-centrosimétricos, decreciendo la señal de HRS..... 78

**Figura 41:** (a) Señal de la intensidad de HRS y absorbancia de los complejos BSA-biotin-Nps de oro de 40 nm de diámetro en función de la concentración de Streptavidina, (b) Espectro de absorción de complejos BSA-biotin-Nps de oro con y sin adición de Streptavidina..... 79

**Figura 42:** Espectro de absorción de Nps de oro en función de la [Py]; curva continua (no Py), curva de puntos y rayas (0.25 M), curva de rayas (0.30 M) y curva punteada (0.33 M)..... 80

**Figura 43:** (a) Espectro de absorción de Nps de oro a diferentes [Py], (b) señales de HRS en función de la [Py]..... 81

**Figura 44:** (a) Dependencia de la señal de HRS en función del cuadrado de la intensidad incidente para varias concentraciones de Nps de oro; (●)  $2.1 \times 10^{17} \text{cm}^{-3}$ ; (○)  $8.4 \times 10^{16} \text{cm}^{-3}$ ; (▼)  $4.2 \times 10^{16} \text{cm}^{-3}$ ; (◇)  $2.1 \times 10^{16} \text{cm}^{-3}$ ; (■)  $8.4 \times 10^{15} \text{cm}^{-3}$ ; (□)  $4.2 \times 10^{15} \text{cm}^{-3}$ ; (b) Efecto de la adición de NaCl sobre la intensidad de las señales de HRS y DR..... 81

**Figura 45:** Montaje experimental para la generación de Nps de oro por ablación láser; el segundo espejo dicróico está colocado a  $45^\circ$  y la lente acromática es usada para enfocar el haz sobre la placa de oro..... 86

**Figura 46:** Soluciones acuosas de complejos Nps de oro-SDS, en donde se observa una variada gama de tonalidades de color rosado; (a) Nps de oro usando diferentes valores de irradiancia (1.27, 1.29 y 1.34  $\text{GW}/\text{cm}^2$ ) y una [SDS] de 0.045M, (b) Nps de oro cambiando la [SDS] (0.045, 0.09 y 0.18 M) y usando una irradiancia de 1.88  $\text{GW}/\text{cm}^2$ , (c) Nps de oro cambiando la [SDS] (0.045, 0.09 y 0.18 M) y usando una irradiancia de 2.14  $\text{GW}/\text{cm}^2$  y (d) Nps de oro cambiando la [SDS] (0.0045, 0.045, 0.09, 0.18 y 0.36 M) y usando una irradiancia de 1.34  $\text{GW}/\text{cm}^2$ ..... 88



**Figura 47:** Elementos del equipo empleado para la obtención de espectros de absorción UV-Vis de las Nps de oro generadas; (1) lámpara de tungsteno de Ocean Optics Inc., (2) porta muestra, (3) espectrómetro UV-Vis USB 2000 Ocean Optics Inc., (4) computadora para la adquisición de la data..... 89

**Figura 48:** Espectro de absorbancia de Nps de oro presentes en solución acuosa de SDS.....90

**Figura 49:** Diagrama del equipo de Dispersión Dinámica de Luz (DLS) empleado para la obtención de la distribución de las Nps de oro y el diámetro medio de dicha distribución..... 91

**Figura 50:** Programa para la adquisición de datos, mostrando una distribución de Nps de oro y sus diámetros medios e hidrodinámicos..... 91

**Figura 51:** Diagrama de instalación del equipo usado para medir la señal de HRS proveniente de las Nps de oro generadas; (1) láser, (2) espejos dicróicos (E1 y E2), (3) lámina de retardo de longitud de onda media ( $LR\lambda/2$ ), (4) cubo polarizador (CP), (5) lámina metálica (LM) que bloquea una parte del haz incidente, (6) filtro (F) a 532 nm, (7) camino óptico equipado con un beam splitter (BS), (8) camino óptico equipado con un filtro de densidad neutra (FDN), (9) camino de luz equipado con un detector para la señal de referencia (fotodiodo (FD)), (10) camino de luz equipado con una lente (L) (distancia focal: 10 cm), (11) porta muestra (PM), (12) polarizador (P2), (13) filtro de absorción (FA) a 1064 nm y filtro de interferencia (FI) a 532 nm y (14) tubo fotomultiplicador (TFM) y (15) parte final del montaje (PFM) fabricado con cartón color negro para bloquear el haz incidente..... 94

**Figura 52:** Soluciones acuosas de complejos Nps de oro-DSF-SDS, en donde se observa una variada gama de tonalidades de color amarillo, marrón y verde. Los complejos fueron sintetizados vía ablación láser usando una longitud de onda de 1064 nm, irradiancia de 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y tiempo de ablación de 15 Min; (a) mezcla de soluciones de DSF-SDS (blanco), (b)  $1.4 \times 10^{-06}$  M, (c)  $4.1 \times 10^{-06}$  M, (d)  $6.0 \times 10^{-06}$  M, (e)  $9.1 \times 10^{-06}$  M, (f)  $1.4 \times 10^{-05}$  M, (g)  $2.0 \times 10^{-05}$  M, (h)  $3.0 \times 10^{-05}$  M, (i)  $4.0 \times 10^{-05}$  M, (j)  $5.0 \times 10^{-05}$  M, (k)  $2.2 \times 10^{-04}$  M, (l)  $2.8 \times 10^{-04}$  M, (m)  $3.6 \times 10^{-04}$  M y (n)  $5.9 \times 10^{-04}$  M de DSF..... 96

**Figura 53:** Soluciones acuosas de complejos Nps de oro-RB-SDS, en donde se observa una variada gama de tonalidades de color morado, rosado y vino tinto. Los complejos fueron sintetizados vía ablación láser usando una longitud de onda de 1064 nm, irradiancia de 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y tiempo de ablación de 15 Min; (a) mezcla de soluciones de RB-SDS (blanco), (b)  $1.1 \times 10^{-11}$  M, (c)  $2.2 \times 10^{-11}$  M, (d)  $4.7 \times 10^{-11}$  M, (e)  $1.2 \times 10^{-09}$  M, (f)  $1.9 \times 10^{-09}$  M, (g)  $2.4 \times 10^{-09}$  M, (h)  $2.9 \times 10^{-09}$  M, (i)  $3.4 \times 10^{-09}$  M, (j)  $1.0 \times 10^{-08}$  M, (k)  $1.3 \times 10^{-08}$  M, (l)  $1.6 \times 10^{-08}$  M, (m)  $2.0 \times 10^{-08}$  M y (n)  $2.1 \times 10^{-08}$  M de RB..... 97

**Figura 54:** Elementos que conforman el equipo empleado para la obtención de los espectros de fluorescencia de las Nps de oro funcionalizadas; (1) Láser de Argón, (2) receptángulo de la muestra, (3) espectrómetro UV-Vis USB 2000 Ocean Optics Inc., (4) computadora para la adquisición de la data..... 98

**Figura 55:** (a) Distribución de Nps de oro no funcionalizadas en función del diámetro de las mismas y (b) espectros de absorbancia de Nps de oro en función de la longitud de onda. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_1, 2, 3 y 4: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de 0.0045, 0.045, 0.09 y 0.18 M de SDS.....102

**Figura 56:** Complejos de Nps de oro-NF-SDS, (a) con luz reflectada y (b) con luz transmitida, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha, en ambas fotografías: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.0045, 0.045, 0.09, 0.18 M y 0.36 M de SDS.....103

**Figura 57:** (a) Variación del diámetro medio de la partícula con la concentración de SDS y (b) variación del pico de máxima absorbancia de la partícula con la concentración de SDS. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_1, 2, 3 y 4: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.0045, 0.045, 0.09 y 0.18 M de SDS.....105

**Figura 58:** (a) Distribución de Nps de oro no funcionalizadas en función del diámetro de las mismas y (b) espectros de absorbancia de Nps de oro en función de la longitud de onda. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_5, 6, 7, 8, 9 y 10: 117.4 mJ y 135.0 mJ, respectivamente, 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentraciones 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS..... 108

**Figura 59:** (a) Complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha: 117.4 mJ, 1.88 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS y (b) complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS.....109

**Figura 60:** (a) Variación del diámetro medio de la partícula con la concentración de SDS y (b) variación del pico de máxima absorbancia de la partícula con la concentración de SDS, usando dos diferentes valores de irradiancia. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_5, 6, 7, 8, 9 y 10: 117.4 mJ y 135.0 mJ, respectivamente, 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentraciones 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS. Los puntos rojos corresponden a los complejos Nps de oro-NF-SDS\_5, 6 y 7 generadas a 1.88 GW/cm<sup>2</sup> y los puntos azules corresponden a los complejos Nps de oro-NF-SDS\_8, 9 y 10 generados a 2.14 GW/cm<sup>2</sup>.....110

**Figura 61:** (a) Distribución de Nps de oro no funcionalizadas en función del diámetro de las mismas y (b) espectros de absorbancia de Nps de oro en función de la

longitud de onda. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS<sub>11</sub>, 12 y 13: 80.40, 80.90 y 84.00 mJ, respectivamente, 1.27, 1.29 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y solución acuosa de concentración 0.045 M de SDS.....112

**Figura 62:** (a) Distribución de Nps de oro no funcionalizadas en función del diámetro de las mismas y (b) espectros de absorbancia de Nps de oro en función de la longitud de onda. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS<sub>14</sub>, 15 y 16: 77.62, 79.00 y 84.00 mJ, respectivamente, 1.23, 1.28 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y solución acuosa de concentración 0.18 M de SDS..... 113

**Figura 63:** (a) Complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha: 84.00, 80.90 y 80.40 mJ, respectivamente, 1.34, 1.29 y 1.27 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y solución acuosa de concentración 0.045 M de SDS y (b) complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha: 84.00, 79.00 y 77.62 mJ, respectivamente, 1.34, 1.28 y 1.23 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y solución acuosa de concentración 0.18 M de SDS..... 114

**Figura 64:** (a) Variación del diámetro medio de la partícula con la concentración de SDS y (b) correlación del pico de máxima absorbancia de la partícula con la concentración de SDS. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS<sub>11</sub>, 12, 13, 14, 15 y 16: 80.40, 80.90, 84.00, 77.62, 79.00 y 84.00 mJ, respectivamente, 1.27, 1.29, 1.34, 1.23, 1.28 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.045 M y 0.18 M de SDS. Los puntos rojos corresponden a los complejos Nps de oro-NF-SDS<sub>11</sub>, 12 y 13 generadas a 1.27, 1.29 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup> y los puntos azules corresponden a los complejos Nps de oro-NF-SDS<sub>14</sub>, 15 y 16 generados a 1.23, 1.28 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>.....115

**Figura 65:** Complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales: energía del láser de 135.0 mJ, irradiancia de 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, en solución acuosa de 0.045 M de SDS y tiempo de ablación de izquierda a derecha: 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 15, 17 y 20 min, respectivamente.....117

**Figura 66:** Espectros de absorción de complejos Nps de oro-NF-SDS empleando distintos tiempos de ablación; (a) tiempo de ablación < 10 min y (b) tiempo de ablación > 10 min. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS<sub>17</sub> a 27: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y solución acuosa de 0.045 M de SDS. (c) Correlación del máximo de absorción de las Nps de oro con el tiempo de ablación.....119

**Figura 67:** Relación entre el diámetro medio de los complejos Nps de oro-NF-SDS y el tiempo de ablación. Condiciones experimentales de ablación para la generación

de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_17 a 27: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y solución acuosa de concentración 0.045 M de SDS..... 120

**Figura 68:** Complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales: (a) 1.23 GW/cm<sup>2</sup> y de izquierda a derecha, 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS, respectivamente, (b) 1.88 GW/cm<sup>2</sup> y de arriba abajo, 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS, respectivamente, (c) 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y de izquierda a derecha, 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS, respectivamente y (d) de arriba abajo; 1.34 GW/cm<sup>2</sup> y 0.045 M de SDS, 1.27 GW/cm<sup>2</sup> y 0.045 M de SDS, 1.29 GW/cm<sup>2</sup> y 0.045 M de SDS, 1.34 GW/cm<sup>2</sup> y 0.18 M de SDS y 1.27 GW/cm<sup>2</sup> y 0.18 M de SDS, respectivamente.....121

**Figura 69:** Correlación de la longitud de onda del valor máximo de absorbancia con el diámetro medio de la partícula.....123

**Figura 70:** Efecto de los procesos de agregación sobre la distribución de tamaños de las Nps de oro. Condiciones experimentales bajo las cuales se generaron las Nps de oro: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, concentración 0.18 M de SDS y tiempo de ablación de 15 minutos. La flecha amarilla indica la tendencia a la formación progresiva de agregados de Nps de oro en el tiempo.....124

**Figura 71:** Efecto de los procesos de agregación sobre los diámetros medio (a) e hidrodinámico (b) de las Nps de oro. Condiciones experimentales bajo las cuales se generaron las Nps de oro: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, concentración 0.18 M de SDS y tiempo de ablación de 15 minutos. Los puntos azules, verdes y rojos representan el número de replicas realizadas en una misma cantidad de horas..... 125

**Figura 72:** Correlación de la señal de HRS con la señal de referencia para una solución 0.1 M de urea (línea azul), una solución de 0.1 M de p-NA (línea roja) y una muestra de Nps de oro sin funcionalización (línea verde) (Nps de oro-NF-SDS\_8). Condiciones experimentales para la generación de la muestra Nps de oro-NF-SDS\_8: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación, y una concentración de 0.045 M de SDS. Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: lectura del laser: 120, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, barrido del ángulo de la LRA/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270° y ángulo del TFM 0°.....127

**Figura 73:** Correlación entre la señal de HRS con la señal de referencia para dos soluciones coloidales de Nps de oro sin y con funcionalización; línea azul (Nps de oro-NF-SDS\_8) y línea roja (Nps de oro-DSF-SDS\_3). Condiciones experimentales para la generación de la muestra no funcionalizada (Nps de oro-NF-SDS\_8): 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación, y una concentración de 0.045 M de SDS. Condiciones experimentales para la generación de la muestra funcionalizada (Nps de oro-DSF-SDS\_3): 80.40 mJ, 1.27 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación, una concentración final de  $2.8 \times 10^{-04}$  M de DSF en el vial y una concentración de 0.045 M de SDS..... 128

**Figura 74:** Relación entre la señal de HRS y la señal de referencia para una serie de soluciones de Nps de oro no funcionalizadas. . Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la

señal de HRS fueron: lectura del laser: 120, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, barrido del ángulo de la LRλ/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270° y ángulo del TFM 0°.....131

**Figura 75:** Variación de la señal de HRS con el cuadrado de la señal de referencia; (a) solución 0.1 M de p-NA, (b) complejos Nps de oro-NF-SDS, (c) complejos Nps de oro-RB-SDS y (d) complejos Nps de oro-DSF-SDS..... 135

**Figura 76:** Complejos de Nps de oro-RB-SDS, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, concentración de 0.045 M de SDS, 9.0x10<sup>-07</sup> M de RB en cada uno de los viales y tiempos de ablación de izquierda a derecha: 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 15, 17 y 20 minutos. El primer vial a la izquierda de la foto contiene una solución acuosa (blanco) de RB-SDS..... 139

**Figura 77:** (a) Espectros de absorción de complejos Nps de oro-NF-SDS, (b) espectros de absorción de complejos Nps de oro-RB-SDS y (c) comparación de los espectros de las Nps funcionalizadas con las Nps no funcionalizadas, empleando diferentes tiempos de ablación..... 141

**Figura 78:** Variación del máximo de absorción en función del tiempo de ablación, para complejos de Nps de oro-NF-SDS y Nps de oro-RB-SDS..... 142

**Figura 79:** Espectros de absorción de complejos Nps de oro-RB-SDS, empleando tres distintos tiempos de ablación..... 143

**Figura 80:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia para; (a) complejos de Nps de oro-NF-SDS variando el tiempo de ablación (t< 10 minutos) y (b) complejos de Nps de oro-NF-SDS variando el tiempo de ablación (t>10 minutos) .....145

**Figura 81:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia para; (a) complejos de Nps de oro-NF-SDS variando el tiempo de ablación y (b) complejos de Nps de oro-RB-SDS variando el tiempo de ablación y (c) señal de HRS proveniente de los complejos de Nps-NF-SDS y Nps-RB-SDS. Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: lectura del láser: 120, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, barrido del ángulo de la LRλ/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270° y ángulo del TFM 0°.....147

**Figura 82:** (a) Espectros de absorción de complejos Nps de oro-RB-SDS, (b) espectros de absorción de complejos Nps de oro-DSF-SDS y (c) comparación de los espectros de los complejos Nps-RB-SDS y Nps-DSF-SDS, empleando diferentes irradiancias y manteniendo una concentración 0.045 M de SDS para la generación de dichos complejos..... 150

**Figura 83:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia para complejos de Nps-NF-SDS, Nps-RB-SDS y Nps-DSF-SDS, respectivamente, usando irradiancias de 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación y empleando: (a) una concentración 0.045 M de SDS, (b) una concentración 0.09 M de SDS y (c) una concentración 0.135 M de SDS. Las condiciones que se establecieron en el montaje

experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: lectura del láser: 120, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, barrido del ángulo de la LRA/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270° y ángulo del TFM 0°.....152

**Figura 84:** Comparación del efecto de la naturaleza del funcionalizador y la irradiancia sobre la señal de HRS para complejos de Nps-NF-SDS, Nps-RB-SDS y Nps-DSF-SDS, respectivamente, usando irradiancias de 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación y empleando: (a) una concentración 0.045 M de SDS, (b) una concentración 0.09 M de SDS y (c) una concentración 0.135 M de SDS..... 153

**Figura 85:** Complejos de Nps de oro-DSF-SDS, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales: 1.88 GW/cm<sup>2</sup>, concentración de 0.045 M de SDS, 15 minutos de ablación y (a) de izquierda a derecha:  $2.9 \times 10^{-04}$  M,  $3.1 \times 10^{-04}$  M,  $2.7 \times 10^{-04}$  M y  $3.3 \times 10^{-04}$  M de DSF y (b) de izquierda a derecha:  $1.3 \times 10^{-06}$  M,  $2.1 \times 10^{-06}$  M,  $1.1 \times 10^{-05}$  M,  $2.1 \times 10^{-05}$  M,  $2.8 \times 10^{-05}$  M y  $8.2 \times 10^{-05}$  M de DSF.....154

**Figura 86:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia, correspondiente a diferentes complejos de Nps de oro-DSF-SDS. Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: barrido del ángulo de la LRA/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270°, ángulo del TFM 0° y tres diferentes rangos de intensidad de luz incidente; (a) 150 a 300 mV, (b) 300 a 500 mV y (c) 600 a 900 mV.....156

**Figura 87:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia, correspondiente a diferentes complejos de Nps de oro-RB-SDS. Influencia de la concentración de rodamina B sobre la señal de HRS..... 158

**Figura 88:** Complejos de Nps de oro-DSF-SDS, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha:  $2.7 \times 10^{-05}$  M,  $2.9 \times 10^{-05}$  M,  $3.1 \times 10^{-05}$  M,  $3.3 \times 10^{-05}$  M y  $3.6 \times 10^{-05}$  M de DSF, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, concentración de 0.045 M de SDS, 15 minutos de ablación..... 159

**Figura 89:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia, para diferentes complejos de Nps de oro-DSF-SDS. Influencia de la concentración de disodiofluoresceína sobre la señal de HRS..... 160

**Figura 90:** Efecto de la concentración de rodamina B y disodiofluoresceína sobre la señal de HRS.....161

**Figura 91:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia, correspondiente a los complejos Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-NF-SDS.....164

**Figura 92:** Esquema propuesto para explicar las etapas del proceso de generación y modificación in-situ de Nps de oro. AF se refiere al agente funcionalizador (RB o DSF)..... 165

**Figura 93:** Relación entre la hiperpolarizabilidad de los complejos Nps de oro-NF-SDS y el diámetro de partícula.....168

- Figura 94:** Espectros de fluorescencia para complejos Nps de oro-DSF-SDS y sus respectivos blancos DSF-SDS, (a) rango de concentraciones de DSF desde 2.9 a  $3.6 \times 10^{-04}$  M, (b) rango de concentraciones de DSF desde  $8.2 \times 10^{-05}$  a  $1.4 \times 10^{-04}$  M y (c) Relación entre la intensidad del máximo de fluorescencia y la concentración de DSF..... 171
- Figura 95:** Espectros de fluorescencia para complejos Nps de oro-RB-SDS y sus respectivos blancos RB-SDS, (a) rango de concentraciones de RB desde 2.7 hasta  $3.6 \times 10^{-05}$  M, (b) rango de concentraciones de RB desde  $5.5 \times 10^{-06}$  hasta  $1.4 \times 10^{-05}$  M y (c) relación entre la intensidad del máximo de fluorescencia y la concentración de RB..... 174
- Figura 96:** Espectros de fluorescencia para complejos Nps de oro-RB-SDS y sus respectivos blancos RB-SDS, ambas especies presentes en un medio agua-etanol, (a) rango de concentraciones de RB desde 1.1 hasta  $1.7 \times 10^{-05}$  M, (b) rango de concentraciones de RB desde  $6.5 \times 10^{-07}$  hasta  $3.5 \times 10^{-06}$  M y (c) relación entre la intensidad del máximo de fluorescencia y la concentración de RB..... 176
- Figura 97:** Complejos de Nps de oro-DSF-SDS, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha:  $1.36 \times 10^{-06}$  M,  $2.05 \times 10^{-06}$  M,  $1.91 \times 10^{-06}$  M,  $1.45 \times 10^{-06}$  M,  $1.55 \times 10^{-06}$  M,  $1.82 \times 10^{-06}$  M y  $1.28 \times 10^{-06}$  M de DSF, 1.23 GW/cm<sup>2</sup>, concentración de 0.045 M de SDS, 15 minutos de ablación. El primer vial a la izquierda de la foto contiene una solución de DSF-SDS..... 177
- Figura 98:** Espectros de absorción de complejos Nps de oro-DSF-SDS: (a) rango de concentración de DSF desde 1.82 a  $2.05 \times 10^{-06}$  M y (b) rango de concentración de DSF desde 1.28 a  $1.45 \times 10^{-06}$  M. Los complejos Nps de oro-NF-SDS y Nps de oro-DSF-SDS fueron generados bajo las siguientes condiciones experimentales: 1.23 GW/cm<sup>2</sup>, concentración 0.045 M de SDS y 15 minutos de ablación..... 179
- Figura 99:** Espectros de absorción de complejos Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-NF-SDS: (a) Nps con y sin funcionalización presentes en un medio acuoso. Rango de concentración de RB: desde  $9.1 \times 10^{-08}$  hasta  $5.5 \times 10^{-06}$  M y (b) Nps con funcionalización presentes en un medio agua-EtOH. Rango de concentración de RB: desde  $1.9 \times 10^{-09}$  hasta  $6.5 \times 10^{-07}$  M..... 181
- Figura 100:** Efectos de una nanopartícula metálica sobre las transiciones de un fluoróforo. Dependencia de  $K_m$ ,  $E_m$  y  $\Gamma_m$  con la distancia metal-fluoróforo..... 183
- Figura 101:** Gráfica de Stern-Volmer para complejos Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS. Relación entre  $F_0/F$  y la concentración de Nps de oro..... 187

## LISTA DE ABREVIACIONES

---

<b>BSA-Biotina</b>	Albúmina de Suero Bovino Biotina
<b>CMC</b>	Concentración Micelar Crítica
<b>CTAB</b>	Bromuro de Cetiltrimetilamonio
<b>DR</b>	Dispersión de Rayleigh
<b>DSF</b>	Disodiofluoresceína
<b>[DSF]</b>	Concentración de Disodiofluoresceína
<b>EFGR</b>	Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico
<b>ELT</b>	Espectroscopía de Lente Térmica
<b>EFISHG</b>	Campo Eléctrico Inducido por la Generación del segundo armónico
<b>FCC</b>	Cúbica Centrada en las Caras
<b>HR</b>	Hiper Rayleigh
<b>HRS</b>	Dispersión de Hiper Rayleigh
<b>LED</b>	Diodo Emisor de Luz
<b>MEF</b>	Incremento de la Fluorescencia por Efecto de un Metal
<b>m-NA</b>	m-nitroanilina
<b>NF</b>	No Funcionalizada
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>ns</b>	Nanosegundos
<b>NaCl</b>	Cloruro de Sodio
<b>[NaCl]</b>	Concentración de NaCl
<b>Nps</b>	Nanopartículas
<b>ONL</b>	Ópticos No Lineales
<b>p-NA</b>	p-Nitroanilina
<b>PONL</b>	Propiedades Ópticas No Lineales
<b>ppm</b>	Partes por Millón

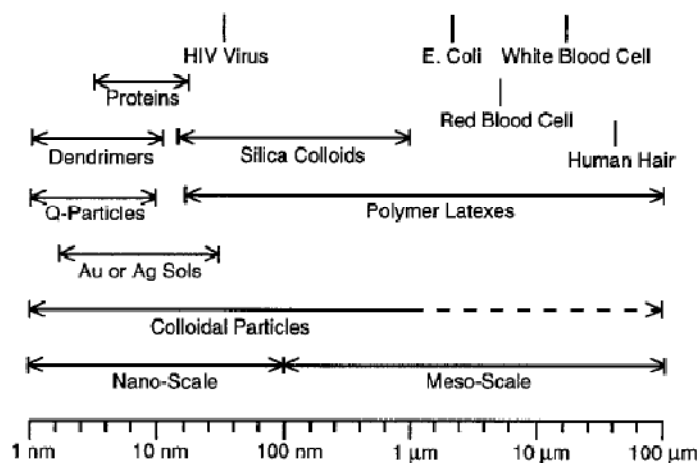


<b>Py</b>	Piridina
<b>[Py]</b>	Concentración de Piridina
<b>RB</b>	Rodamina B
<b>[RB]</b>	Concentración de Rodamina B
<b>RP</b>	Resonancia Plasmónica
<b>RPS</b>	Resonancia de Plasmón Superficial
<b>SDS</b>	Dodecil Sulfato de Sodio
<b>[SDS]</b>	Concentración de SDS
<b>SEM</b>	Microscopio Electrónico de Barrido
<b>SHG</b>	Generación del Segundo Armónico
<b>SLT</b>	Señal de la Lente Térmica
<b>SP</b>	Plasmón Superficial
<b>STM</b>	Microscopio de Efecto Túnel
<b>TEM</b>	Microscopía de Transmisión Electrónica
<b>TFM</b>	Tubo Fotomultiplicador
<b>TX-100</b>	Surfactante Triton X-100 ( $C_{14}H_{21}(OCH_2CH_2)_nOH$ (n = 9-10))
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta-Visible

## INTRODUCCION

En 1959, *Richard Feynman* fue el primero en hacer referencia a las posibilidades de la nanociencia y la nanotecnología en el célebre discurso “En el fondo hay espacio de sobra”<sup>[1]</sup>. La nanotecnología diseña, crea, sintetiza y manipula sistemas que posean una o más dimensiones del orden de 100 nm o menos<sup>[2a]</sup> y estudia fenómenos y propiedades de la materia a nanoescala<sup>[2b]</sup>.

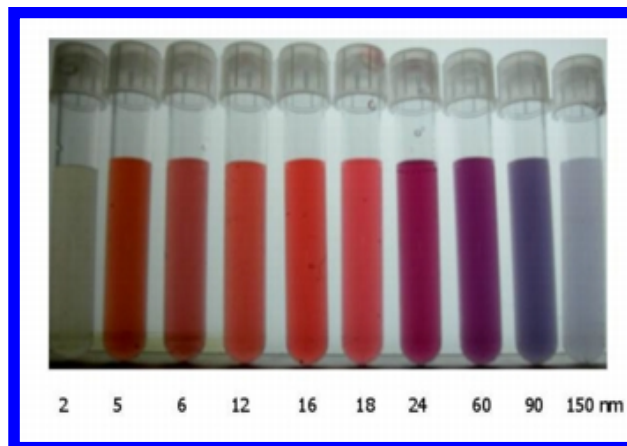
Las partículas coloidales de tamaño nanométrico, creadas o no por la nanotecnología, cubren una gama extremadamente amplia de sistemas aparentemente diferentes<sup>[3]</sup>. Algunos ejemplos simples y notorios son casos como el lodo, la arcilla, aerosoles, espumas, semiconductores nanocristalinos, coloides de sílice, o de látex en el campo de la química de polímeros, virus, bacterias o células<sup>[3]</sup>. Sin embargo, lo que estos sistemas tienen en común son sus componentes: objetos pequeños que tienen al menos similares rangos de tamaño característicos de 1 nm a 1 micrómetro<sup>[3]</sup>. Estos objetos normalmente se conocen como nanopartículas (Nps)<sup>[4]</sup>. La Figura 1 muestra una lista parcial de estos sistemas coloidales, junto a una gama típica de tamaño.



**Figura 1:** Lista de algunos de los sistemas representativos de partículas coloidales, así como de los rangos típicos de tamaño<sup>[5]</sup>.

Por otra parte, es evidente que la luz desempeña una función importante en nuestras vidas, por ello ha sido estudiada durante siglos. Sin embargo, no han dejado de aparecer fenómenos relacionados con la luz que dan lugar a nuevos

campos de investigación, por ejemplo la plasmónica<sup>[6]</sup>, la cual estudia las propiedades ópticas de Nps metálicas<sup>[7]</sup>. En particular, las Nps metálicas, además de reflejar la luz<sup>[8]</sup>, contienen un número determinado de electrones libres confinados en un espacio muy pequeño, lo que les confiere propiedades ópticas como la resonancia de plasmón superficial (RPS)<sup>[9]</sup>. El fenómeno de RPS se manifiesta cuando un haz de luz incide sobre Nps de oro, produciéndose una oscilación colectiva de electrones, lo que se traduce a su vez en la absorción de luz por parte de las Nps en una determinada zona del espectro UV-Vis con un pico a una determinada longitud de onda<sup>[10]</sup>. El color de esa luz emitida depende del tamaño<sup>[11a]</sup>, forma<sup>[11b]</sup> y propiedades de dichas Nps<sup>[11b]</sup>. Esta propiedad óptica se puede ver claramente en el caso específico del oro, donde soluciones de distintos tamaños de Nps presentan colores que van desde el púrpura hasta el marrón<sup>[12]</sup>. La Figura 2 muestra la variación del color de las Nps de oro en solución en función del incremento en el tamaño de la partícula.



**Figura 2:** Variación del color de soluciones de Nps de oro con el incremento del tamaño de la partícula<sup>[13]</sup>.

Cualquier superficie metálica; plana, esférica, cilíndrica o de cualquier otra forma, posee PS. En partículas metálicas, la longitud de onda a la que existen estos plasmones localizados depende del tipo de metal, del tamaño de la partícula y de la forma de esta<sup>[14]</sup>. En particular para Nps metálicas; cuando luz con longitud de onda igual a la de los plasmones localizados incide sobre dichas partículas, se produce un efecto resonante, que lleva asociado un aumento enorme de la intensidad del campo electromagnético en las proximidades de la partícula. Este fenómeno se

aprovecha desde hace siglos para la fabricación de vitrales en las iglesias y catedrales<sup>[15]</sup> (Figura 3). En ellas, algunos colores vienen determinados por la presencia de Nps de oro, o plata, en el interior del vidrio.

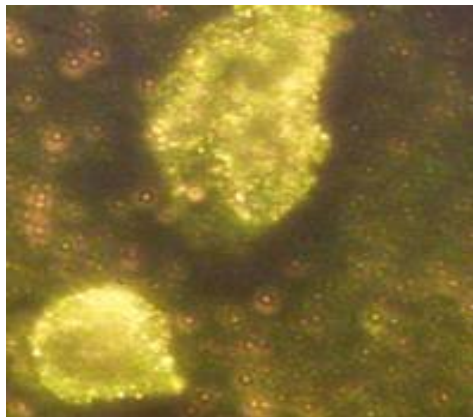


**Figura 3:** (Izquierda) Copa de Lycurgus del Siglo IV, se ve verde con luz reflejada, pero se vuelve roja cuando la luz es transmitida a través del vidrio y (Derecha) Nps de oro para pigmentar los vitrales en el siglo XVII. La foto muestra un ventanal de la Catedral de Notre Dame en París<sup>[15]</sup>.

A parte de la RPS, las Nps metálicas manifiestan propiedades ópticas no lineales interesantes, útiles y únicas. No obstante, mientras que las propiedades ópticas lineales de Nps metálicas han sido ampliamente investigadas; el potencial de estos materiales para aplicaciones ópticas no lineales de segundo orden, incluyendo aplicaciones fotónicas de segundo orden (hiper-fotónicos)<sup>[16]</sup>, no se ha estudiado del todo. En general, el comportamiento óptico no lineal (ONL) de segundo orden de las Nps metálicas es comúnmente cuantificado en términos de la primera hiperpolarizabilidad<sup>[16]</sup>, tensor  $\beta$ . La dispersión de Hiper Rayleigh (HRS) ha surgido en la última década como una técnica eficaz para medir los valores de  $\beta$  de especies en solución<sup>[16]</sup>. En particular, HRS se ha utilizado para estudiar las propiedades ONL de segundo orden de moléculas o Nps en soluciones tanto acuosas como orgánicas<sup>[16]</sup>. Básicamente, HRS es un fenómeno ONL de dispersión incoherente que es observado en soluciones isotrópicas, el cual tiene su origen en las fluctuaciones temporales y espaciales de la densidad o la orientación de las

moléculas o Nps, que instantáneamente rompe el centro de simetría promedio de los medios o sistemas isotrópicos<sup>[17]</sup>.

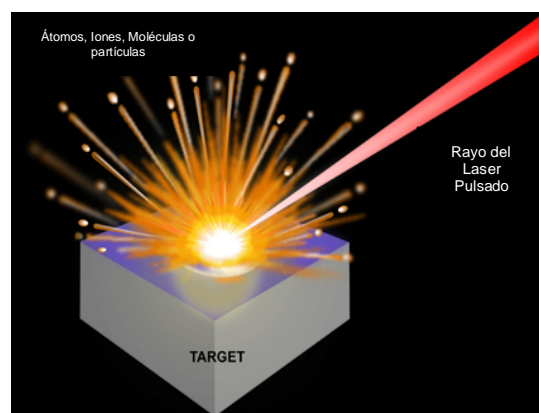
En la actualidad, las Nps de oro están siendo utilizadas en investigaciones biomédicas como marcadores que facilitan la identificación celular o molecular<sup>[18]</sup>, porque las Nps de oro son muy buenas dispersando y absorbiendo luz, principal cualidad que las hacen ser “agentes detectores” del cáncer mucho más eficientes<sup>[19]</sup>. En la fabricación de Nps de oro que van a utilizarse para la identificación de biomarcadores, lo que se persigue es que las propiedades cromáticas sean muy definidas<sup>[20]</sup>. La Figura 4 muestra Nps de oro funcionalizadas con un anti-cuerpo fluorescente y unidas selectivamente a células cancerosas haciéndolas brillar. Muchas células cancerosas tienen una proteína, conocida como receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)<sup>[20]</sup>, en su superficie, mientras que las células sanas no expresan esta proteína. Uniendo las Nps de oro a un anticuerpo contra el EGFR, se puede lograr que las Nps se unan de manera selectiva a las células cancerígenas<sup>[20]</sup>. De esta manera, si se agrega esta solución funcionalizada de Nps a células sanas y a células cancerosas, se puede constatar, mirando con un simple microscopio, que toda la célula cancerosa estará brillando<sup>[20]</sup>. Luego, una vez las Nps de oro estén fijadas a las células afectadas de cáncer, podrían posteriormente calentárseles hasta destruir el tumor maligno<sup>[20]</sup>.



**Figura 4:** Nps de oro funcionalizadas con un anti-cuerpo fluorescente, unidas a las células cancerosas haciéndolas brillar<sup>[20]</sup>.

Existe una amplia gama de métodos químicos y físicos para la generación de Nps metálicas, específicamente de metales de transición<sup>[21]</sup>. La ablación láser se

viene utilizando con mayor frecuencia por su simplicidad como un método físico para preparar Nps metálicas (Cu, Fe, Au, Pt, Pd, etc.), tanto en soluciones acuosas como orgánicas<sup>[21]</sup>. Básicamente, la técnica se usa para extraer el material de la superficie de un sólido mediante la irradiación de este con un rayo láser<sup>[21]</sup>. La interacción del material con el láser involucra el acoplamiento de la energía óptica que resulta en una combinación de varios procesos: vaporización, eyección de átomos, formación de iones, especies moleculares y fragmentos sólidos o líquidos, ondas de choque, formación y expansión de un plasma<sup>[22]</sup>. En general, cuando un láser pulsado interactúa con una superficie metálica, la energía del láser se transforma en calor<sup>[22]</sup>. La temperatura del material sólido aumenta, dando lugar a la fusión y la evaporación del material sólido<sup>[22]</sup>. La Figura 5 muestra el proceso de la ablación láser.



**Figura 5:** Proceso de la ablación láser. Consecuencia de la interacción de la superficie metálica con el láser se crea una nube de partículas<sup>[23]</sup>.

Mientras que las propiedades ópticas lineales de Nps metálicas han sido ampliamente investigadas; el potencial de estos materiales para aplicaciones en el campo del análisis biológico, telecomunicaciones, optoelectrónica, entre otros, no se ha estudiado a fondo. En particular, el propósito de este trabajo de investigación consiste en sintetizar Nps de oro, inicialmente en solución acuosa de dodecil sulfato de sodio (SDS) y posteriormente en una mezcla de soluciones de SDS y fluoróforo (Disodiofluoresceína (DSF) y Rodamina B (RB)); vía ablación láser para luego estudiar y cuantificar la magnitud absoluta de  $\beta$ , investigar la propiedades ONL de Nps de oro funcionalizadas y no funcionalizadas y caracterizar tanto microscópicamente como espectroscópicamente ambos tipos de Nps. Se tiene la visión de que posiblemente, los complejos de Nps de oro-SDS-RB y/o Nps de oro-SDS-DSF

tengan mejor comportamiento ONL y mejor valor de  $\beta$  con respecto a los complejos de Nps de oro-SDS no funcionalizados. La motivación de esta investigación toma en consideración el hecho de que hoy en día las principales aplicaciones de los PS de las Nps de oro residen en el campo de sensores moleculares, diagnóstico de enfermedades y genética, catálisis y óptica no lineal, por lo tanto, este trabajo de investigación pretende sintetizar Nps de oro funcionalizadas con definidas propiedades físicas; (i) óptimos valores de  $\beta$ , (ii) mejoradas propiedades ONL, (iii) mejoradas propiedades eléctricas y cromáticas, para su posterior aplicación en el campo de la nanomedicina y el análisis biológico.

# CAPITULO I

---

## FUNDAMENTOS TEORICOS

### I.1 NANOPARTICULAS (NPS), CLASIFICACION Y PROPIEDADES

Las Nps son generalmente de forma esférica, con dimensiones entre 1 y 100 nm. Las más comúnmente sintetizadas y estudiadas son las Nps de Au, Ag, Pt y Pd. Las Nps tienen propiedades tanto físicas como químicas que son diferentes a las que presenta el material en la escala de los centímetros. Existen diferentes tipos de Nps, entre las que destaca: semiconductoras, metálicas, magnéticas, dieléctricas, etc.,<sup>[24]</sup>.

Las Nps semiconductoras, conocidas como puntos cuánticos, en general, se forman de la mezcla de los elementos de la tabla periódica del grupo III con el grupo V, por ejemplo, fosfuro y arsenuro de indio; o de la composición de los grupos IV y VI, como son el selenuro, telurio y sulfuro de plomo. Una propiedad interesante de las Nps semiconductoras es la fotoluminiscencia<sup>[24]</sup>; capaz de absorber luz (fotones) para después emitirla en una longitud de onda diferente. Esta propiedad se obtiene cuando las Nps son expuestas a la luz UV<sup>[24]</sup>. La intensidad y el cambio en la longitud de onda de la luz irradiada sobre la partícula dan como resultado los espectros de absorción y emisión que constituyen una manifestación directa de los niveles de energía en los cuales los electrones se encuentran atrapados. Entre más pequeñas sean las Nps, se necesitará una energía más alta para que una transición electrónica se lleve a cabo (absorción)<sup>[24]</sup>. El regreso del electrón a su nivel de más baja energía, es decir, su estado fundamental, producirá la emisión de un fotón con energía dentro del intervalo de luz visible, por lo que las soluciones irradiadas presentan diferentes colores muy intensos, lo que las hace útiles en el marcaje y detección biológica<sup>[24]</sup>. Así por ejemplo, las Nps de sulfuro de cadmio emiten en azul cuando es cercano a 2 nm, y en naranja cuando son mayores a 5 nm<sup>[24]</sup>.

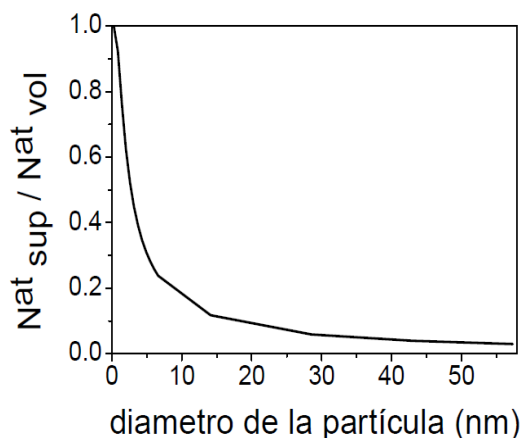
En el caso de las Nps metálicas su principal característica es que contienen un número determinado de electrones libres confinados en un espacio muy pequeño que a su vez pueden interactuar de manera específica con la luz. Esto les da



propiedades ópticas únicas tales como la resonancia plasmónica (RP)<sup>[24]</sup>. Existen otros tipos de Nps con diversos usos, como las magnéticas<sup>[24]</sup>, empleadas en el mejoramiento de imágenes en el diagnóstico médico y las dieléctricas<sup>[24]</sup>, las cuales han sido propuestas como modelos para su uso en la computación cuántica, porque pueden ser selectivamente excitadas por medio de pulsos ópticos.

### I.1.1 Sistemas Nanométricos. Efectos de Tamaño y Superficie

De entre todos los sistemas de tamaño nanométrico, uno de los más estudiados desde hace tiempo son las Nps. El interés reside en que presentan únicas propiedades físicas y químicas y tienen múltiples aplicaciones, la más interesante quizás en el campo de la biomedicina<sup>[25]</sup>. Una de las características más destacables de las Nps, es la gran fracción de átomos que están presentes en su superficie. De hecho, *Venta G. J.*<sup>[25]</sup> demostró que cuando el tamaño de las partículas disminuye, hay un incremento enorme en la fracción de átomos superficiales, por lo que llegó a concluir que en partículas de pocos nm los efectos de superficie adquieren mucha importancia<sup>[25]</sup>. La Figura 6 muestra la fracción de átomos de superficie respecto a los átomos de todo el volumen en función del tamaño de la partícula, para Nps con estructura cúbica centrada en las caras (FCC) y una distancia interatómica de 2.88 Å<sup>[25]</sup>.



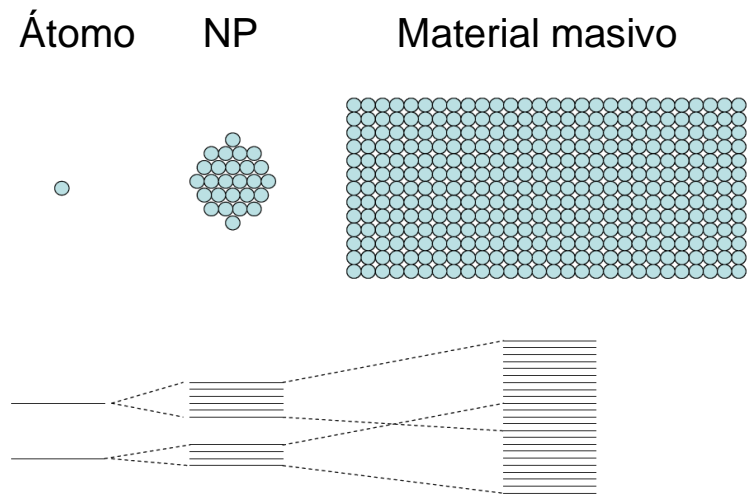
**Figura 6:** Relación del Número de átomos de superficie /número total de átomos en función del diámetro de Nps de oro estructura FCC y distancia interatómica 0.288 nm<sup>[25]</sup>.

Estos átomos localizados en la superficie tienen diferentes características que los de volumen, al tener menos coordinación y estar expuestos al medio. *Venta G. J.*<sup>[25]</sup> llegó a afirmar que las propiedades de los átomos de superficie se pueden modificar y ajustar mediante enlaces con otras especies moleculares que pueden alterar la estructura electrónica del material y, por tanto, todas las propiedades físicas que dependen de estos estados electrónicos<sup>[25]</sup>. Por lo tanto, cuando los átomos superficiales representan una fracción no despreciable frente al total del material, las propiedades de este último se pueden ver drásticamente modificadas<sup>[25]</sup>.

### I.1.2 Nps de Oro

Las Nps de oro manifiestan interesantes características electrónicas, ópticas y químicas que dependen de su tamaño. El hecho de que las Nps de oro pueden tener un diámetro 10.000 veces inferior al grueso de un cabello<sup>[25]</sup>, y que se puedan fabricar, tanto por métodos físicos como químicos<sup>[25]</sup>, con un tamaño homogéneo que va desde unos pocos nanómetros hasta las decenas<sup>[25]</sup>, las coloca en una dimensión comparable a una entidad biológica como una célula (10-100  $\mu\text{m}$ ), un virus (20-450 nm), una proteína (5-50 nm) o un gen (2 nm de ancho por 10-100 nm de largo)<sup>[25]</sup>.

Cuando el tamaño de las Nps de oro se encuentra en el orden de los nanómetros, entre 1 y 10 nm, existe una modificación en su estructura electrónica, de tal manera que se pierde la característica estructura de bandas del material masivo surgiendo niveles electrónicos discretos<sup>[25]</sup>. La Figura 7 muestra la evolución de los estados electrónicos, desde el átomo aislado hasta el material masivo. Esta nueva estructura electrónica les confiere una respuesta óptica, en particular la resonancia de plasmón superficial (RPS), que varía con el tamaño<sup>[25]</sup>. Por lo tanto, se pueden fabricar puntos cuánticos del mismo material que absorben luz en diferentes longitudes de onda dependiendo de su tamaño, por lo que son extremadamente útiles como marcadores biológicos<sup>[25]</sup>.

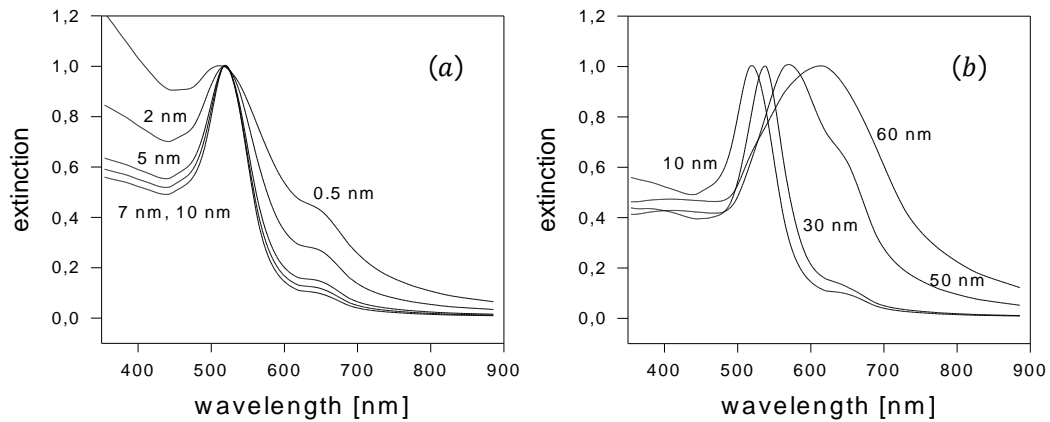


**Figura 7:** Evolución de los estados electrónicos, desde el átomo aislado hasta el material masivo<sup>[25]</sup>.

Cuando las dimensiones de las partículas de oro son del orden del nanómetro, o milésima de micrómetro, el número de átomos que las constituyen es del orden de centenas y la mayoría de ellos se encuentran situados en la superficie de las Nps<sup>[25]</sup>, de hecho, se ha reportado que en una Np de oro de 1.5 nm de tamaño tiene 55 átomos de oro, y un 76.4% de ellos están localizados sobre el área superficial<sup>[26]</sup>. Por lo tanto, las propiedades físicas de estas Nps de oro son muy distintas de las que se observan en el sistema masivo de tamaño macroscópico de la misma composición química<sup>[26]</sup>.

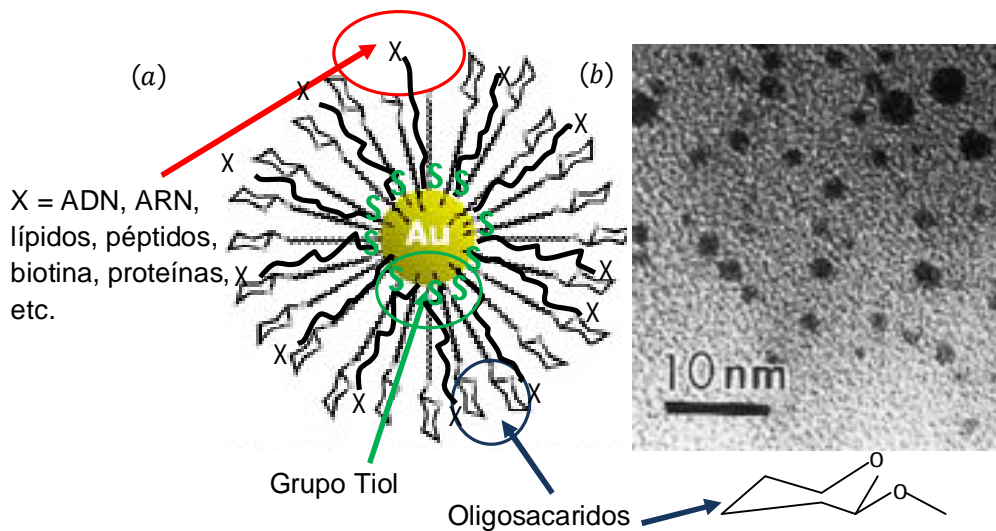
Por otro lado, resulta importante destacar que en las Nps de oro, los electrones que se hallan confinados en su superficie pueden moverse libremente<sup>[27]</sup>. Bajo ciertas condiciones, se consigue que dichos electrones se muevan de manera más o menos ordenada y no al azar<sup>[27]</sup>. Este movimiento colectivo (plasmón), origina que las Nps de oro en disolución presenten distintos colores según su tamaño<sup>[27]</sup>. En consecuencia, estos plasmones superficiales (PS) juegan un papel importante en las propiedades ópticas de las Nps de oro<sup>[27]</sup>. De hecho, el máximo de PS característico de Nps de oro se mantiene a 520 nm sin cambios importantes en la forma del espectro a medida que el radio de la Nps disminuye (para  $r_{(Nps)} < 10$  nm) (véase Figura 8 (a))<sup>[27]</sup>, sin embargo, el máximo del PS de Nps de oro se desplaza

hacia longitudes de onda mayores a medida que el radio de la nanopartícula aumenta (para  $r_{(Nps)} > 10$  nm) (véase Figura 8(b))<sup>[27]</sup>.



**Figura 8:** (a) Espectros de extinción para Nps de oro de diferentes radios,  $r < 10$  nm, (b) Espectros de extinción para Nps de oro de diferentes radios,  $r > 10$  nm, ambos tipos de Nps de oro están en heptano<sup>[27]</sup>.

Otra característica de las Nps de oro, es que reaccionan instantáneamente con el medio que les rodea. Presenta una gran capacidad de funcionalización con agentes químicos o biológicos a través de los fuertes enlaces que forma con el grupo tiol<sup>[28]</sup>, por ejemplo, la Figura 9 muestra la funcionalización de Nps de oro con grupos oligosacáridos y otros agentes químicos y biológicos.



**Figura 9:** (a) Esquema de una Nps de oro funcionalizada con diferentes agentes a través de grupos tiol, (b) TEM de una Nps de oro funcionalizada con grupos oligosacáridos<sup>[28]</sup>.

Esta funcionalización es usada en la mayoría de los casos para tratar de realzar o reforzar las propiedades ópticas no lineales características de las Nps de oro<sup>[28]</sup>. De hecho, existe una relación entre la intensidad de la interacción electrostática proveniente de moléculas protectoras (por ejemplo, surfactantes aniónicos, dodecil sulfato de sodio (SDS), etc.), agentes funcionalizadores (por ejemplo, rodamina B, disodiofluoresceína, etc.) y la superficie de las Nps de oro con las propiedades ópticas, electrónicas y magnéticas de dichas Nps recubiertas. Esta funcionalización obviamente afecta la banda de plasmón superficial (PS) de las Nps de oro en el espectro UV-VIS<sup>[28]</sup>. En el caso específico de aplicaciones en el campo de la biomedicina, la funcionalización de Nps de oro tiene como objetivo lograr Nps capaces de fijarse selectivamente en las células afectadas de cáncer, para posteriormente calentarlas hasta destruir tumores malignos<sup>[28]</sup>.

### **I.1.3 Propiedades de las Nps de Oro**

El origen de las propiedades físicas que presentan las Nps, a veces sorprendentes e inesperadas si las comparamos con el material masivo, es doble: (i) la reducción en tamaño, que produce cambios en los niveles electrónicos de las Nps y (ii) el incremento de los átomos de superficie respecto a los de volumen<sup>[29]</sup>. Las propiedades físicas de las Nps difieren substancialmente del material masivo de partida de donde se les forma. *Venta G. J.*<sup>[29]</sup> reportó una marcada dependencia para la relación del número de átomos de superficie con respecto a los de volumen con el tamaño de Nps de oro<sup>[29]</sup>. En particular, por debajo de 15 nm los átomos de superficie superan el 10% del total y su fracción aumenta rápidamente a medida que se sigue reduciendo el tamaño<sup>[29]</sup>. *Venta G. J.*<sup>[29]</sup> llegó a la conclusión que para estos tamaños tan pequeños, los átomos de superficie adquieren una gran importancia e incluso llegan a gobernar las propiedades físicas del sistema<sup>[29]</sup>. Así mismo, las propiedades magnéticas, térmicas, ópticas, eléctricas, químicas y mecánicas tienen una dependencia directa con el tamaño de las Nps y, por tanto, se ven afectadas seriamente por este parámetro<sup>[29]</sup>.

### I.1.3.a. Propiedades Térmicas

Quizás uno de los estudios más relevantes de la dependencia de las propiedades térmicas de las Nps metálicas con su tamaño es el de *Kelsall R. et al.*<sup>[30]</sup> el cual reportó que la temperatura del punto de fusión disminuye cuando el tamaño de las Nps también se hacen pequeñas<sup>[30]</sup>. Igualmente, *Kelsall R. et al.*<sup>[30]</sup> comentó que como consecuencia de que el tamaño de los materiales nanométricos disminuía y la cantidad de átomos superficiales aumentaban, se producía una significativa alteración de la reactividad química de las Nps<sup>[30]</sup>, por ejemplo, en catálisis, las Nps incrementaban la velocidad, selectividad, actividad y eficiencia de una reacción química<sup>[30]</sup>.

### I.1.3.b. Propiedades Magnéticas

Las Nps de oro presentan dos características relacionadas con las propiedades magnéticas: (i) la enorme fracción de átomos de superficie que presentan una simetría local distinta y, por tanto, una anisotropía magnética de distinto valor que el volumen<sup>[31]</sup> y (ii) una estructura del espectro de energía electrónica caracterizada por un mayor espaciado entre niveles<sup>[31]</sup>.

Se han observado en los últimos años algunos resultados muy sorprendentes relacionados con las propiedades magnéticas de nanoestructuras y superficies. Múltiples estudios, entre ellos el de *Venta G. J.*<sup>[31]</sup> señalan que Nps de diferentes materiales, en su estado masivo no presentan un comportamiento ferromagnético<sup>[31]</sup>, pero al reducir la escala muestran un comportamiento magnético<sup>[31]</sup>, por ejemplo, Nps de Pd, Ag, Cu, Au, todo tipo de óxidos e incluso superconductores<sup>[31]</sup>.

Pero quizás el hallazgo más sorprendente relacionado con estos efectos de superficie a escala nanométrica, sea el de *Gambardella P., et al.*<sup>[32]</sup> que mostraron la aparición de una anisotropía magnética gigante que bloquea los momentos magnéticos de átomos individuales de Co depositados en superficies de Pt<sup>[32]</sup>. Este experimento indicó que un átomo aislado puede constituir un imán, un imán que se podría denominar atómico<sup>[32]</sup>. En ese experimento, *Gambardella P., et al.*<sup>[32]</sup> señaló

que el átomo magnético está aislado aunque, en realidad, solo magnéticamente aislado ya que se encuentra enlazado a los átomos de platino, además del hecho de que el momento magnético del átomo de Co no fluctúe térmicamente sugirió que pueden reducirse a tamaños de los bits y que una nueva perspectiva de la física involucrada en el origen de la anisotropía magnética tiene que desarrollarse para esta escala<sup>[32]</sup>. *Gambardella P., et al.*<sup>[32]</sup> abrió la posibilidad de que los átomos aislados serán imanes en el futuro próximo.

### I.1.3.c . Propiedades Ópticas

Las propiedades ópticas de las Nps metálicas y semiconductoras, muestran grandes cambios, por ejemplo, las soluciones de Nps de oro adquieren diferentes colores según su tamaño, es decir, pueden adquirir coloraciones rojizas desplazándose hasta llegar al amarillo cuando el tamaño de la partícula incrementa. *Stephan L. y Mostaza A.*<sup>[33]</sup> estudiaron el desplazamiento de las bandas de absorción provenientes de soluciones Nps de oro y plata con rangos comprendidos entre 10 y 100 nm, encontrando que la temperatura del punto de fusión y los plasmones superficiales (PS) se veían afectados por la forma y tamaño de dichas Nps metálicas<sup>[33]</sup>. Atribuyeron las coloraciones intensas de algunas de esas soluciones de Nps al fenómeno conocido como absorción del PS<sup>[33]</sup>.

## I.2 ESTABILIZACION DE NPS EN SOLUCION

Los métodos de síntesis de Nps, tanto físicos como químicos, originan dos problemas físicos que deben ser controlados: (i) la distribución de tamaño y estructura de las Nps generadas y (ii) procesos de aglomeración que tienden a experimentar las Nps. Por lo general, las Nps sufren agregación, proceso en el cual unas Nps se unen con otras para formar estructuras de distinto tamaño y estabilidad. Para minimizar esa tendencia de agregación, es fundamental emplear reactivos capaces de estabilizar las Nps a través de dos vías, electrostática y estérica. Ambas formas de estabilización permiten obtener Nps mucho más estables en el tiempo.

### I.2.1 Estabilización Electrostática

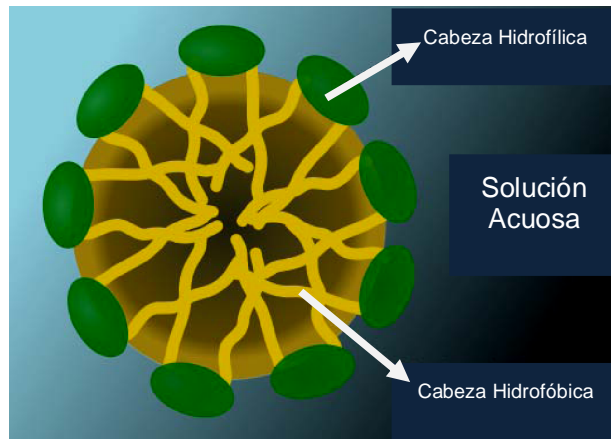
Este tipo de estabilización se basa en la adsorción de iones sobre la superficie electrofílica del metal con el fin de generar una distribución de partículas cargadas positiva y negativamente denominada doble capa eléctrica, originándose fuerzas de repulsión coulómbicas entre las partículas individuales<sup>[34]</sup>. Si el potencial eléctrico asociado con la doble capa es el adecuado, la repulsión electrostática generada evita la aglomeración de las Nps<sup>[34]</sup>.

La estabilización electrostática es efectiva para dispersiones acuosas y no acuosas<sup>[34]</sup> aunque se suele usar preferentemente en medios no polares donde la estabilidad electrostática o por carga es muy difícil de alcanzar<sup>[34]</sup>. Así mismo, la eficiencia de la estabilización electrostática está regida por la estructura de la especie adsorbida, por el espesor de la capa adsorbida y por el segmento preferentemente adsorbido y su densidad de adsorción<sup>[34]</sup>.

### I.2.2 Estabilización Estérica

La estabilización estérica de Nps usa surfactantes para evitar la agregación de las Nps. Los agentes surfactantes (agentes activo de superficie)<sup>[35]</sup>, son compuestos anfifílicos de naturaleza orgánica que poseen una parte hidrofílica (sus “cabezas” polares), las cuales permanecen en la fase acuosa y otra parte hidrofóbica (sus “colas” no polares), las cuales interactúan con la parte oleosa no soluble en agua<sup>[35]</sup>. Muchos surfactantes pueden reunirse en el seno de la disolución en forma de agregados “micelas”<sup>[36]</sup> (ver Figura 10). La dimensión y tamaño de las micelas formadas dependen de la estructura del surfactante y del ambiente físico-químico. En principio, dependiendo del tipo de disolvente, los surfactantes pueden formar micelas normales e inversas<sup>[36]</sup>. La concentración en la que los tensoactivos empiezan a formar micelas es conocida como la concentración micelar crítica (CMC)<sup>[36]</sup>.

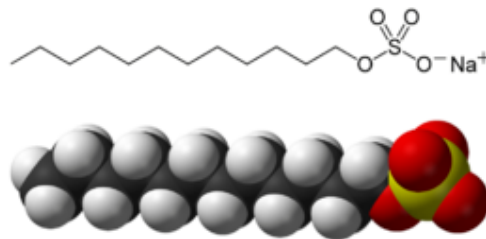




**Figura 10:** Esquema de una micela normal, la cabeza hidrofílica es soluble en agua y la cola hidrofóbica queda fuera de la solución acuosa<sup>[36]</sup>.

Los agentes tensoactivos pueden ser iónicos: (i) catiónicos<sup>[36]</sup>; con carga positiva sobre la parte más voluminosa de su estructura, (ii) aniónicos<sup>[36]</sup>; con carga negativa sobre esta última y (iii) anfóteros<sup>[36]</sup>; que se comportan como catiónicos a valores de pH ácidos o aniónicos en la zona alcalina. También pueden ser no iónicos<sup>[36]</sup>; usualmente se presentan en solución como iones no disociados, es decir, en partículas no cargadas eléctricamente.

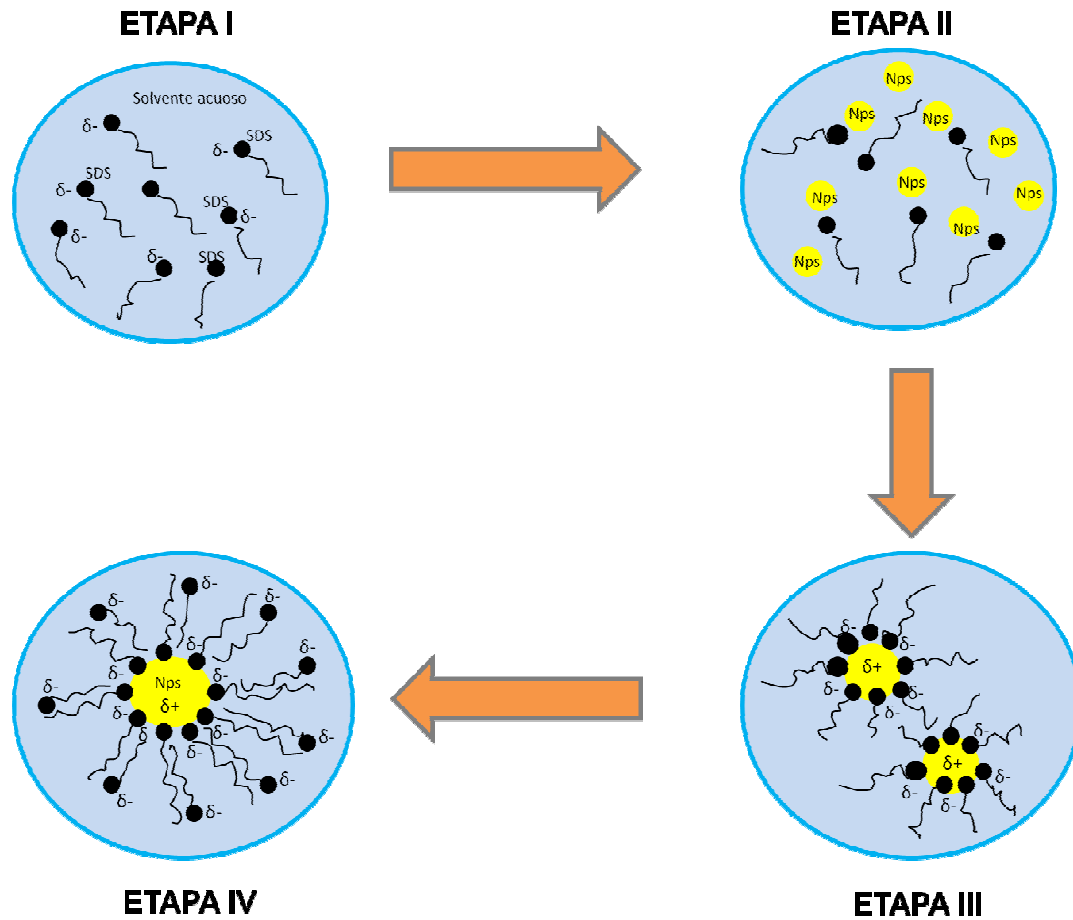
Para la preparación de las Nps de oro, con y sin modificación, vía ablación láser en este trabajo de investigación; se usará un surfactante aniónico (SDS) para protegerlas y evitar su aglomeración.



**Figura 11:** Estructura química del dodecil sulfato de sodio (SDS)<sup>[36]</sup>.

Al momento de la formación de las Nps en una solución acuosa de SDS, estas quedan atrapadas en por un conjunto de moléculas del surfactante, impidiendo y protegiendo la interacción entre las Nps evitando la formación de

agregados más grandes. En la Figura 12, se muestra las diferentes etapas involucradas en el proceso de estabilización estérica de Nps de oro usando SDS.



**Figura 12:** Etapas del proceso de estabilización estérica para Nps de oro usando una solución acuosa de SDS.

En la etapa I, antes del proceso de la ablación láser, las moléculas de SDS se encuentran formando coloides en la solución acuosa. Luego en la etapa II, una vez comenzado el proceso de ablación, las moléculas de SDS empiezan a aproximarse a las primeras Nps de oro ya formadas. Seguidamente, las interacciones electrostáticas comienza hacer presencia en la etapa III; las Nps de oro son cubiertas por una serie de moléculas del surfactante evitando que estas formen grandes agregados con otras Nps en el medio, donde las cabezas hidrofílicas del SDS (cargadas negativamente) quedan orientadas hacia la superficie metálica de las Nps, sobre las cuales se desarrolla una carga parcial positiva, y sus colas

carbonadas hidrofóbicas quedan dirigidas hacia el agua. Finalmente, en la etapa IV, las Nps de oro quedan completamente protegidas por el surfactante; algunas cabezas hidrofílicas del SDS interactúan electrosticamente con la superficie metálica de la nanopartícula y otras cabezas quedan orientadas hacia el medio acuoso, estableciéndose una interacción tipo Vander Waals entre una cadena carbonada hidrofóbica con su vecina.

### **I.3 APLICACIONES DE LAS NPS DE ORO**

En el campo de la biomedicina, el empleo de Nps semiconductoras, metálicas y magnéticas como agentes de contraste para marcaje, y el diseño de biosensores basados en Nps metálicas es toda una revolución científica. Uno de los primeros sistemas de Nps que se han propuesto para aplicaciones de marcaje celular e identificación de tumores son las Nps de oro<sup>[37]</sup>.

La utilización de Nps de oro tiene una incidencia transcendental en fenómenos como la hipertermia y el transporte selectivo de fármacos<sup>[37]</sup>, ambos de futuro prometedor en la terapia del cáncer. Para el empleo de Nps de oro como biomarcadores, es necesario colocar ciertas moléculas en la superficie de las Nps que les permitan localizar el tumor<sup>[37]</sup>, lo cual requiere colocar en la superficie del punto cuántico biomoléculas con afinidad selectiva hacia un compuesto específico de la zona a reconocer, es decir, la célula cancerosa. Hay ciertas proteínas o moléculas que se encuentran en mayor proporción en la membrana de las células cancerosas, como los receptores de ácido fólico o la hormona luteinizante, y que son características de cada tipo de cáncer<sup>[37]</sup>. Cuando los puntos cuánticos funcionalizadas con las biomoléculas, se acercan a una muestra que contiene dicha proteína, se produce una reacción de reconocimiento biomolecular<sup>[37]</sup>, de forma que se acumularán allí, permitiendo la detección mediante iluminación con luz UV y observando su emisión de fluorescencia característica<sup>[37]</sup>.

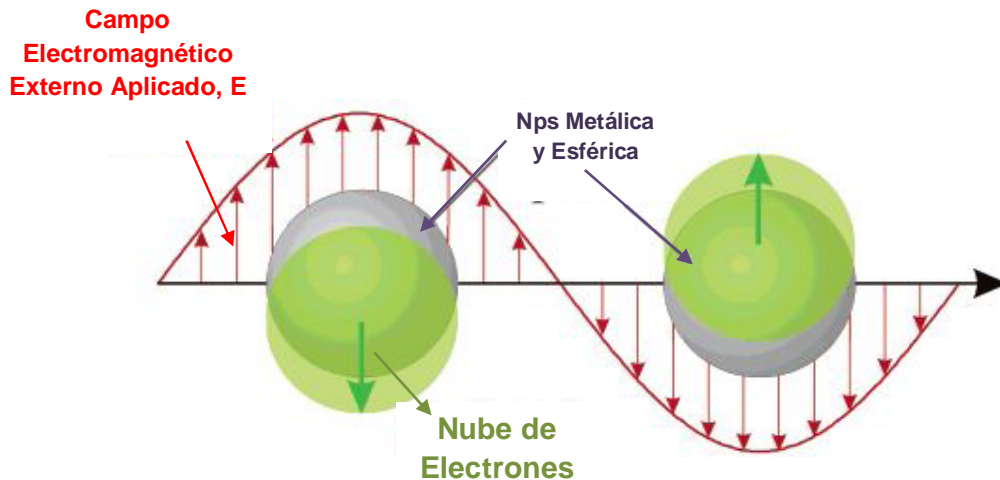
Las Nps de oro son de sumo interés en biomedicina por sus diversas aplicaciones: (i) transporte de drogas terapéuticas<sup>[37]</sup>, (ii) separadores magnéticos de células marcadas<sup>[37]</sup>, (iii) para el catabolismo de tumores vía hipertermia<sup>[37]</sup> (procedimiento terapéutico basado la elevación de la temperatura de una región del

cuerpo, afectada por un proceso maligno, con el fin de eliminar dicho proceso), y (iv) agentes de contraste en aplicaciones de resonancia magnética<sup>[37]</sup>.

Para el transporte de fármacos, científicos han propuesto usar Nps magnéticas con el fin de atacar sitios específicos dentro del cuerpo humano, por ejemplo, un tumor cancerígeno<sup>[37]</sup>. En una terapia dirigida magnéticamente, una droga citotóxica se enlaza a una Nps magnética que funciona como portador<sup>[37]</sup>. Así este complejo droga-Nps se inyecta al sistema sanguíneo del paciente, y cuando las Nps entran en el torrente sanguíneo se aplica un campo magnético externo para concentrarlas en algún sitio específico del cuerpo<sup>[37]</sup>. Una vez localizada en el objetivo deseado, la droga puede liberarse por medio de alguna actividad enzimática, por cambios en las condiciones fisiológicas, por variación de temperatura, etc., y ser absorbida por las células afectadas<sup>[37]</sup>. Por otro lado, en investigaciones más recientes sobre hipertermia tienen como objetivo estabilizar y homogeneizar la temperatura alrededor de 42-43 °C en la masa tumoral, aunque en una línea alternativa, termoablación magnética<sup>[37]</sup>, basada en el empleo de temperaturas de hasta 55 °C se han utilizado Nps magnéticas de óxido de hierro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$  ó  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) y Nps metálicas de Fe, Co, Au, etc., con diámetros entre 10-500 nm<sup>[37]</sup>.

#### **I.4 RESONANCIA DE PLASMONES SUPERFICIALES (RPS) EN NPS DE ORO**

RPS es la propiedad óptica más destacable de las Nps metálicas<sup>[38]</sup>. Cuando una nanopartícula metálica es mucho menor que la longitud de onda de la luz, se puede inducir una oscilación coherente de los electrones de la banda de conducción<sup>[38]</sup> debido a la interacción con el campo electromagnético, produciéndose así el fenómeno de la RPS<sup>[38]</sup>. La Figura 13 muestra claramente la oscilación colectiva de los electrones en el seno del material cuando son excitados con luz.



**Figura 13:** Esquema del fenómeno de la RPS, donde se observa una oscilación colectiva de los electrones confinados en las Nps metálicas<sup>[38]</sup>.

El fenómeno de RPS es muy sensible a cambios en la superficie del metal, en particular a cambios en la función dieléctrica del medio, por lo que se puede usar para la detección de moléculas adsorbidas en la superficie<sup>[38]</sup>. Aparecen así algunas de las aplicaciones, como son los chips de análisis de ADN y los dispositivos identificadores de proteínas<sup>[39]</sup>. La RPS en Nps metálicas produce una banda de absorción en el espectro UV-Vis, debido a la resonancia de las oscilaciones de los electrones<sup>[39]</sup>. Esta absorción varía desde el IR hasta el UV, dependiendo del material, del tamaño de las partículas, del índice de refracción del medio y de las moléculas que recubren y funcionalizan a las Nps. En general y como se observa en la Figura 14, la longitud de onda de la RPS de Nps de oro aumenta con el tamaño de partículas<sup>[39]</sup>.



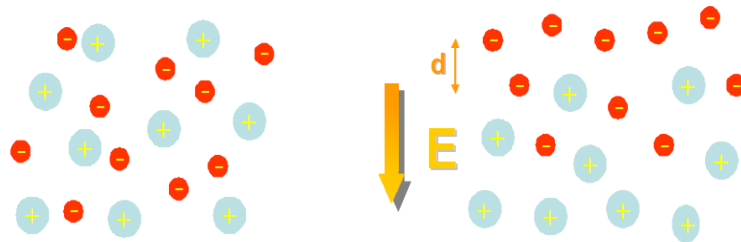
**Figura 14:** Variación de la longitud de onda del PS de las Nps de oro en función del tamaño de las partículas<sup>[39]</sup>.

La RPS es intensa en Nps de metales nobles, tales como Fe, Cu, Au, Ag, Pd, etc., con tamaños entre 5 y 40 nm así como en láminas delgadas con espesores en torno a los 50 nm<sup>[39]</sup>. Además, para estos metales nobles la frecuencia de resonancia cae en la parte visible del espectro<sup>[39]</sup>.

#### I.4.1 Plasmones Superficiales (PS) y la Teoría de Mie

Los PS describen fluctuaciones de la densidad electrónica superficial en las Nps<sup>[40]</sup> y la excitación de esos PS, por acción de luz incidente, se denota como resonancia de plasmón superficial (RPS)<sup>[41]</sup>, para superficies planas o esféricas metálicas de tamaño nanométrico<sup>[41]</sup>.

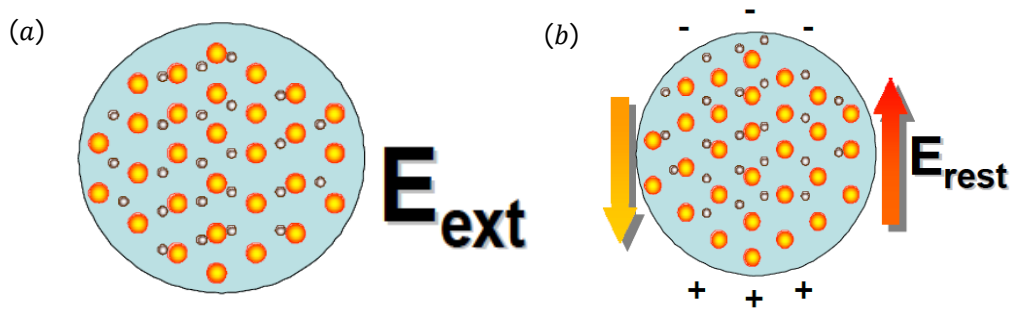
Al aplicar un campo electromagnético (luz) sobre un material metálico, los electrones de conducción se desplazan de su posición de equilibrio una distancia  $d$ . Entonces, aparece, como se muestra en la Figura 15, una fuerza recuperadora o restauradora, que tiende a restaurar el equilibrio, proporcional a esa distancia<sup>[41]</sup>. Este sistema se comporta como un oscilador, aunque dichas oscilaciones quedan ampliamente absorbidas por el material masivo<sup>[41]</sup>.



**Figura 15:** Esquema del desplazamiento de los electrones de conducción de un metal al aplicar un campo electromagnético externo. El desplazamiento origina una fuerza restauradora, proporcional al desplazamiento<sup>[41]</sup>.

Para el caso de Nps, al aplicar un campo electromagnético externo se produce una acumulación de carga en la superficie de las mismas<sup>[41]</sup>. Si hacemos incidir luz (ver Figura 16), el exceso de carga producido en la superficie de las Nps debido al movimiento de los electrones actúa como una fuerza restauradora, mientras el movimiento es amortiguado no sólo por interacciones con los núcleos atómicos sino también por la superficie de la Nps<sup>[41]</sup>. Bajo la incidencia de un campo

electromagnético externo muy fuerte, la fuerza restauradora depende no linealmente de ese campo y en consecuencia se producen los efectos ópticos no lineales<sup>[41]</sup>.



**Figura 16:** Esquema de una Nps metálica en situación de equilibrio (a) y de no equilibrio (b) al aplicar un campo electromagnético externo. El campo produce un desplazamiento de las cargas electrónicas, que se acumulan en la superficie de la Nps y producen un campo electromagnético que tiende a restaurar el equilibrio<sup>[41]</sup>.

Si se mantiene aplicado el campo electromagnético externo, el sistema se comporta como un oscilador amortiguado, caracterizado por una frecuencia de resonancia  $\omega$  que para la mayor parte de los metales de transición, tales como Fe, Co, Ag, Pt, Pd, Au, etc., cae en la región UV-Vis del espectro<sup>[41]</sup>. Cuando el tamaño de la Nps es suficientemente pequeño, el efecto de la superficie se hace más importante y el recorrido libre medio de los electrones se ve modificado por los choques con las paredes de la Nps, lo que aumenta el amortiguamiento de las oscilaciones plasmónicas<sup>[41]</sup>. Incluso en Nps con tamaños inferiores a 1 nm, la banda de absorción no aparece en los espectros<sup>[41]</sup>.

Una descripción teórica exacta del análisis de PS en Nps metálicas es la hecha por la Teoría de Mie, la cual es una solución completamente analítica a las ecuaciones de Maxwell para la dispersión de la radiación electromagnética por partículas esféricas<sup>[42,43]</sup>. La teoría se basa en tres hipótesis: (i) la energía de la luz incidente es la misma que la de la dispersada<sup>[43]</sup>, (ii) el principio de linealidad: se supone que la luz absorbida por N partículas<sup>[43]</sup>, es “n” veces la dispersada por una de ellas<sup>[43]</sup>, (iii) las Nps son esféricas y homogéneas<sup>[43]</sup>.

La Teoría de Mie fue desarrollada a principios del siglo pasado con el objeto de estudiar las propiedades de la RPS y calcular la absorción y dispersión de luz por Nps metálicas en el seno de una matriz dieléctrica<sup>[43]</sup>. Vale la pena destacar que, la

mayor desviación respecto a esta teoría, ocurre cuando se forman aglomerados de partículas o la forma de estas no es esférica<sup>[43]</sup>. Sin embargo, las Nps de oro preparadas vía ablación láser en este trabajo de investigación se espera que posean un tamaño aproximadamente esférico y una homogénea distribución de tamaños. Al mismo tiempo, surfactantes aniónicos como SDS serán usados para proteger las Nps de oro y evitar su aglomeración.

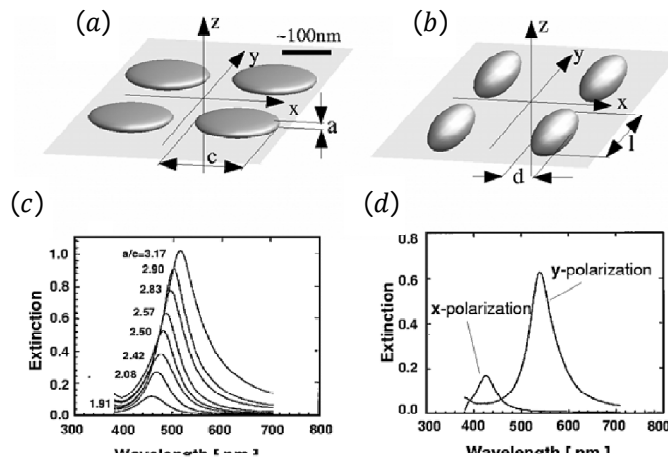
#### **I.4.2 Posición Espectral de RPS. Parámetros que Influyen en la RPS**

Existen tres principales parámetros que influyen en la RPS en Nps metálicas: (i) la forma de las partículas<sup>[44]</sup>, (ii) la función dieléctrica del metal<sup>[44]</sup>: y (iii) la función dieléctrica del medio ambiente que rodea la Nps<sup>[44]</sup>. Por lo tanto, la posición espectral del máximo pico de extinción o absorción de la RPS depende de dichos factores.

##### **I.4.2.a. Influencia de la Forma de la Partícula**

El desplazamiento del máximo pico de PS en el espectro UV-Vis de Nps metálicas se ve afectado por la asimetría de las mismas<sup>[44]</sup>. Si se considera partículas de forma no esféricas, por ejemplo, elipsoidales, su espectro cambiara con respecto al espectro de partículas esféricas<sup>[44]</sup>. La Figura 17 muestra los espectros de extinción de Nps metálicas planas y alargadas sobre un sustrato de vidrio.





**Figura 17:** Espectros de extinción ( $\log_{10}(\text{transmisión})$ ) de Nps metálicas con diferentes formas. Los espectros de extinción (c) de partículas planas en un sustrato de vidrio (a) cambia con una proporción cada vez mayor de  $a/c$ . Para las partículas alargadas (b) la extinción cambia con respecto a partículas esféricas<sup>[44]</sup>.

#### I.4.2.b. Influencia de la Funciones Dieléctricas

Nps de Ag tienen su resonancia de PS en longitud de onda menor que las Nps de Au de la misma forma, debido principalmente a la diferencia en la función dieléctrica de estos metales<sup>[44]</sup>. Además de esta dependencia con la función dieléctrica, también su dependencia con el tamaño juega un papel importante para partículas pequeñas<sup>[44]</sup>. Si el tamaño de la partícula logra ser más pequeña que el recorrido medio libre de los electrones presentes en el metal (aprox. 10 nm), la dispersión electrónica en la superficie de la partícula conduce a una modificación importante de la función dieléctrica<sup>[44]</sup>, afectando la resonancia de los PS y su ubicación en el espectro UV-Vis<sup>[44]</sup>. También la función dieléctrica del medio ambiente en el que se encuentran las Nps, influye en la posición espectral de los PS<sup>[44]</sup>. Incluso, un aumento en el índice de refracción del medio conduce a un desplazamiento de la resonancia de los PS<sup>[44]</sup>.

### I.5. METODOS DE GENERACION DE NPS DE ORO

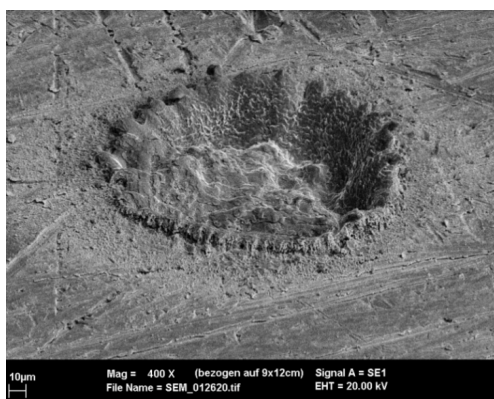
Los métodos de fabricación de Nps metálicas pueden clasificarse como químicos o físicos. Entre los métodos químicos destacan: desplazamientos de ligandos en complejos organometálicos, reducción de ácido úrico con borohidruro de

sodio para la generación de Nps de oro, reducción de metales de transición por vía electroquímica y fotoquímica, etc. Entre los estudios más relevantes para la generación de Nps de oro usando métodos químicos, se encuentra el de *Brust et al.*<sup>[45]</sup> el cual generó mediante síntesis química, Nps de oro protegidas por dodecanotiol, método que permitió obtener de forma relativamente sencilla Nps con tamaños bien definidos<sup>[45]</sup>. Otro ejemplo de métodos químicos que permite la fabricación de Nps metálicas, específicamente de Pd, es la reacción redox<sup>[45]</sup>, utilizando  $R_4N^+X^-$  como surfactante en tetrahidrofurano<sup>[45]</sup>. Como precursor del Pd se usa  $Pd(NO_3)_2$  en un exceso de acetato tetrabutilamonio, el nitrato es desplazado por ligandos de acetato que es más efectivo, lo que es seguido por la reducción del  $Pd^{+2}$  que mediante transferencia de electrones genera conjuntos de Nps estabilizadas de  $Pd^0$ <sup>[45]</sup>.

La molienda de partículas micrométricas, la nanolitografía o la pulverización catódica, evaporación térmica, y la ablación láser constituyen ejemplos de los métodos físicos más usados<sup>[46]</sup>. En particular, la ablación láser se ha convertido en el método físico más utilizado para generar Nps de Au y de otros metales como Ag<sup>[46]</sup>, Pd, Fe, Cu, etc., en soluciones tanto acuosas como orgánicas.

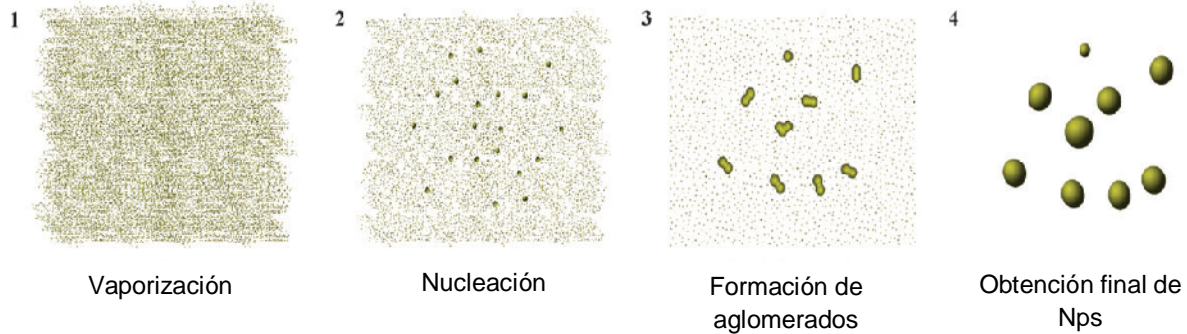
### I.5.1 Ablación Láser

La ablación láser es un procedimiento que se usa para extraer material de la superficie de un sólido mediante la irradiación de este con un rayo láser pulsado<sup>[47]</sup> (véase Figura 18).



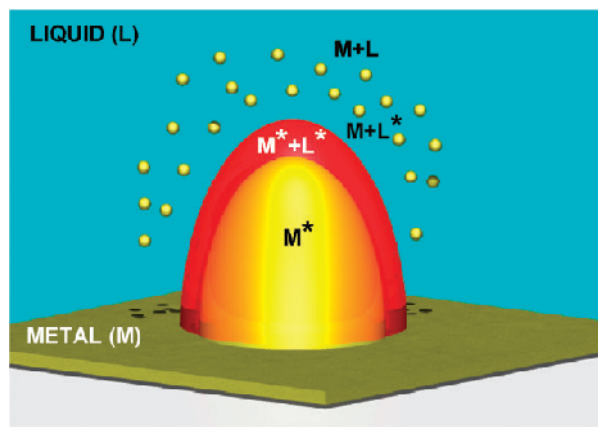
**Figura 18:** TEM foto de un cráter producido por un laser pulsado sobre una superficie de cobre (Laser Nd:YAG a 266 nm)<sup>[47]</sup>.

El proceso de la ablación láser se puede explicar a través de cuatro principales fases: (i) vaporización<sup>[48]</sup>, (ii) nucleación<sup>[48]</sup>, (iii) formación de aglomerados<sup>[48]</sup> y (iv) obtención final de Nps<sup>[48]</sup> (véase Fig. 19)



**Figure 19:** Representación de las cuatro principales etapas involucradas en la síntesis de Nps metálicas vía ablación láser<sup>[48]</sup>.

En la etapa 1, denominada vaporización, la energía del láser se transforma en calor, haciendo que se incremente la temperatura de la placa, provocando que una parte de este material se funda y luego se evapore<sup>[48]</sup>. Luego en la etapa 2, llamada nucleación, el material es convertido en un plasma donde existen combinaciones de diferentes especies de líquido-metal (ver Figura 20), las cuales presentan distinta temperatura, presión y composición<sup>[48]</sup>.



**Figura 20:** Representación de un plasma formado a partir de una blanco metálico vía ablación con láser. Cuatro combinaciones de especies líquido-metal puede ser identificados debido a la diferencia en temperatura, presión y composición. El \* indica especies excitadas y/o ionizados<sup>[48]</sup>.

Adicionalmente, en la etapa 2 o “nucleación”, se forma una densa nube de átomos alrededor de la zona de ablación<sup>[48]</sup>, siendo las interacciones entre dichos átomos tan fuertes por lo que de forma casi inmediata, comienzan a agregarse para formar Nps embriónicas<sup>[48]</sup>. Enseguida, en la etapa 3, conocida como formación de aglomerados o “clusters”, las Nps embriónicas experimentan procesos de aglomeración para formar Nps de mayor tamaño<sup>[48]</sup>, presentándose dos tipos de tipos de interacciones que compiten entre sí; las interacciones interpartícula Nps-Nps y las interacciones de las Nps de oro con el medio ambiente que rodea la partícula, ambos tipos de interacciones determinaran el diámetro final de la partícula. Finalmente, una vez culminada la etapa 3, ocurre la última etapa, es decir, la obtención final de Nps de oro<sup>[48]</sup>.

El proceso de ablación láser se lleva a cabo controlando la duración de los pulsos láser, que pueden variar entre unos milisegundos y unos femtosegundos, o controlando la intensidad del flujo<sup>[49]</sup>. Este control tan preciso hace que la técnica sea muy valiosa a nivel de investigación e industrial<sup>[49]</sup>. El fenómeno de la ablación laser es influenciado por la longitud de onda del láser usado. A mayor longitud de onda, mayor será la velocidad de ablación y menor el fraccionamiento. Cuando el flujo de radiación es bajo, la superficie del material se calienta al absorber la energía de los fotones del rayo y sublima, o se evapora<sup>[50a]</sup>. Cuando el flujo de radiación es muy intenso, usualmente, el material se transforma en un plasma<sup>[50a]</sup>. Durante el proceso de la ablación laser, se puede controlar la cantidad de energía absorbida y, de este modo, la cantidad de material que se puede extraer del material masivo por la aplicación de un simple pulso<sup>[50b]</sup>.

#### I.5.1.a. Características y Ventajas de la Ablación Láser

Entre las principales características de la ablación láser destacan: (i) las Nps ha obtenerse pueden tener una distribución de tamaño dispersos y desiguales, una consecuencia derivada de la tendencia que tienen las partículas a aglomerarse una vez que el láser incide sobre ellas<sup>[51]</sup>, (ii) las propiedades físicas de los nanomateriales obtenidos dependen del tamaño de las partículas que los integran<sup>[51]</sup>, (iii) es una herramientas poderosa usada para cambiar el tamaño y la estructura geométrica de Nps de oro, aprovechando el hecho de que las Nps de oro

tienen un intenso pico característico de PS centrado a 520 nm<sup>[51]</sup>, y (iv) el láser pulsado no requiere modificar la atmósfera en la que se va a desarrollar el trabajo<sup>[51]</sup> y no genera desechos<sup>[51]</sup> y (iv) no necesita grandes cantidades de material masivo para generar las Nps<sup>[51]</sup>.

#### I.5.1.b. Láseres Usados en Ablación Láser. El láser Nd:YAG

Existe una amplia línea de láseres comerciales que se emplean en la ablación láser; láser de gas de Ar, Kr, Xe, N, He-Ne<sup>[52]</sup>, etc., láseres químicos de fluoruro de hidrógeno, fluoruro de deuterio, etc., láseres de colorante, láseres de metal-vapor, láseres de estado sólido como el láser de rubí, láser de Nd:YAG<sup>[52]</sup>, etc., láseres de semiconductores como el láser de silicio híbrido<sup>[52]</sup>, entre otros.

Igualmente, láseres con pulsos del orden de los picosegundos, nanosegundos y femtosegundos pueden ser usados para la ablación láser<sup>[52]</sup>. Empleando láseres de picosegundos, la eficiencia de la ablación comparada con resultados obtenidos usando láseres de nanosegundos es significativamente alta<sup>[53]</sup>. Sin embargo, mayor cantidad de masa puede ser removida por unidad de energía empleando láseres con pulsos de femtosegundos<sup>[53]</sup>. Aparte de la ablación láser también se ha empleado la ablación térmica con pulsos de láser de nanosegundos. En ese proceso térmico, los electrones absorben energía directamente del láser, transfiriendo esa energía a la red atómica, produciendo fusión y vaporización de la muestra<sup>[53]</sup>.

Hoy en día, la gran mayoría de los trabajos de investigación sobre la generación de Nps metálicas vía ablación láser, emplean los láseres tipo Nd:YAG, debido principalmente a su bajo costo de operación es más bajo que otras técnicas, es menos abrasivo que otras técnicas<sup>[54]</sup>, permite evaporar compuestos de elevada complejidad<sup>[54]</sup>, fácil mantenimiento<sup>[54]</sup>, etc. El láser Nd: YAG (aluminio dopado con neodimio y granate de itrio; Nd: Y<sub>3</sub>Al<sub>5</sub>O<sub>12</sub>) es un cristal que se utiliza como un medio activo para láseres de estado sólido<sup>[54]</sup>. El dopante, triplemente ionizado de neodimio, por lo general sustituye a itrio en la estructura cristalina del granate de itrio aluminio (YAG)<sup>[54]</sup>, ya que son de tamaño similar. El láser de Nd: YAG normalmente emite luz con una longitud de onda de 1064 nm, en el infrarrojo

cercano<sup>[54]</sup>. También otras frecuencias ópticas del laser Nd:YAG como  $\lambda$  a 532, 355, 266 y 213 nm, pueden ser empleadas para el análisis químico con ablación. Sin embargo, también hay transiciones, cerca de 940, 1120, 1320 y 1440 nm. Láseres de Nd: YAG operar tanto en modo pulsado como continuo<sup>[54]</sup>.

#### I.5.1.c. Aplicaciones de la Ablación Láser

La más simple de las aplicaciones de la ablación láser es la eliminación de una capa superficial de un material mediante un proceso controlado, por ejemplo, el mecanizado de piezas por láser<sup>[55]</sup> y el grabado de superficies<sup>[55]</sup>. No obstante, han surgido nuevas aplicaciones de la ablación láser para eliminar materiales de nuevas maneras, que sólo son posibles mediante este procedimiento o muy complicados o dificultosos por otros caminos. Un ejemplo es la producción de nanotubos de carbono<sup>[55]</sup>.

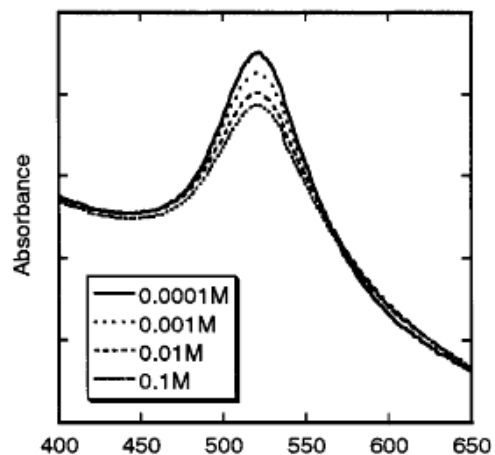
Otra aplicación de la ablación láser fue reportada por *Guo T., et al.*<sup>[56]</sup> quienes publicaron el uso del láser para ablacionar un bloque de grafito puro y, más tarde, grafito mezclado con metales como el Co, Nb, Pt, Ni, Co, usados en los procesos de catálisis<sup>[57]</sup>. Una variación de este tipo de aplicaciones es el uso de la ablación láser para crear recubrimientos o capas por ablación láser de la capa superficial de una fuente de material, permitiendo el depósito sobre la superficie que va ser recubierta<sup>[57]</sup>. Este procedimiento es una variación de la deposición física por vapor, y puede crear recubrimientos de materiales que no pueden ser evaporados por otros medios. Esta técnica es empleada para la manufactura de algunos tipos de superconductores de alta temperatura<sup>[57]</sup>.

Así mismo, la ablación láser se puede usar para transferir impulso a una superficie, ya que el material separado por ablación aplica un pulso de alta presión a la misma, mientras se expande<sup>[58]</sup>. El efecto es similar a golpear la superficie con un martillo. Este proceso se emplea en la industria para endurecer las superficies metálicas. Es también la base de la propulsión a partir de los pulsos láser para naves espaciales<sup>[58]</sup>. La ablación láser también se puede usar en aplicaciones de carácter biológico como la destrucción de nervios y otros tejidos<sup>[58]</sup>. Por otro lado, la ablación con láser pulsado de emisión en la región espectral del UV permite la eliminación selectiva de capas superficiales de material polimérico utilizado como recubrimiento en distintos tipos de objetos y superficies artísticas<sup>[58]</sup>. A través de una

selección cuidadosa de los parámetros láser tales como; fluencia, longitud de onda, número y duración de los pulsos láser, se pueden eliminar capas de material degradado asegurando una penetración mínima de la luz láser hacia el interior del sustrato<sup>[58]</sup> y por tanto una contribución mínima de los efectos térmicos o fotoquímicos<sup>[58]</sup>.

#### I.5.1.d. Influencia de las Condiciones Experimentales de la Ablación Láser sobre los Espectros de Absorción y Distribución de Tamaños de las Nps de Oro

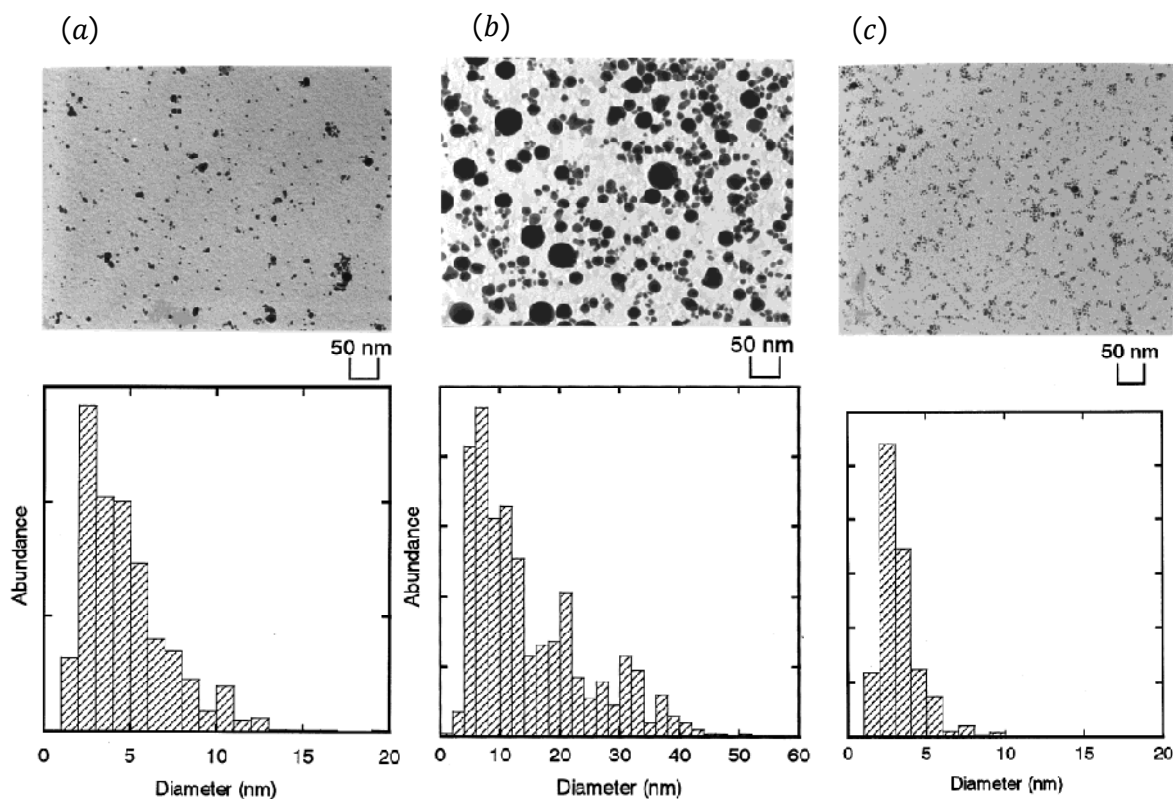
El proceso de ablación láser, usado para la generación de las Nps de oro, afecta significativamente no solo las propiedades físicas y químicas de dichas Nps sino también los espectros de absorción, la morfología, la distribución de tamaños y la cantidad de Nps producidas. En efecto, *Mafuné F., et al.*<sup>[59]</sup> estudiaron la generación de Nps de oro por ablación láser a partir de placas de oro en solución acuosa de SDS<sup>[59]</sup>; reportando no solo que el tamaño de las Nps decrecían con el incremento de la concentración de SDS ([SDS]) sino que también el pico característico de PS a 517 nm se convertían en un pico más amplio y menos prominente, con el aumento de la [SDS]<sup>[59]</sup>. También, el ensanchamiento del pico de máxima absorbancia fue atribuido al cambio de la distribución de tamaño de las Nps de oro producidas<sup>[59]</sup>. La Figura 21 muestra la influencia de la [SDS], observada por Mafuné y sus colaboradores, sobre la forma de los espectros de absorbancia de Nps de oro.



**Figura 21:** Espectros de absorción de Nps de oro generadas por ablación láser a 1064 nm y a 80 mJ/pulso en solución acuosa de SDS de concentración 0.0001, 0.001, 0.01 y 0.1 M, respectivamente<sup>[59]</sup>.

Con respecto a la distribución de tamaños de las Nps de oro producidas; encontraron partículas cuyo diámetro medio fue de aproximadamente 4.6 nm cuando la concentración de SDS fue de 0.01 M, mientras que cuando emplearon concentraciones de SDS de  $10^{-04}$  M, el diámetro medio de las Nps incrementó a 6.1 nm<sup>[59]</sup>. La Figura 22 muestra fotografías electrónicas de las Nps de oro generadas, donde claramente se puede observar que la distribución de tamaño de las Nps decrece con el aumento en la concentración de SDS.

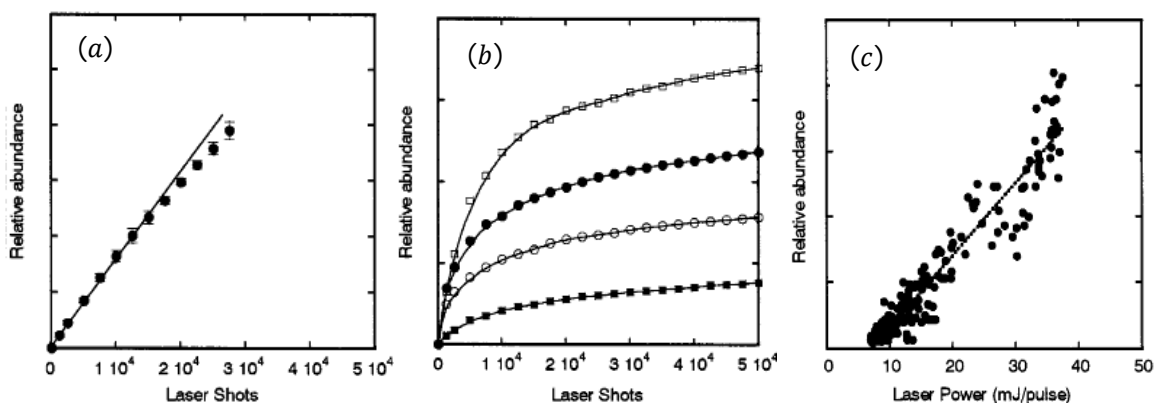




**Figura 22:** TEM fotos y distribución de tamaños de las Nps de oro producidas por ablación láser, usando una longitud de onda fundamental de 1064 nm y 80 mJ/pulso en una solución acuosa de: (a) 0.01 M de SDS, (b)  $10^{-04}$  M de SDS y (c) subsecuente irradiación de las Nps de oro de (a) con láser a 532 nm, 50 mJ/pulso y por un espacio de tiempo de 60 minutos<sup>[59]</sup>.

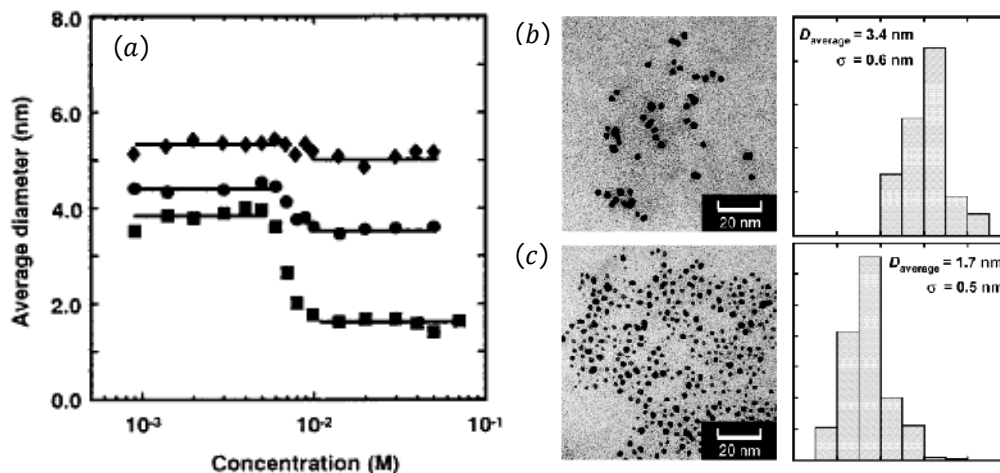
Por otro lado, *Mafuné F., et al.*<sup>[59]</sup> llevaron a cabo una subsecuente irradiación de las Nps de oro que se observan en la Fig. 22(a) con láser a 532 nm (50mJ/pulso) por un espacio de 60 minutos<sup>[59]</sup> (véase Fig. 22(c)); hallando que las Nps de oro que tenían diámetros superiores a los 5 nm<sup>[59]</sup> (véase Fig. 20(a)) habían sido pulverizadas hasta convertirse en Nps con diámetros de 1-5 nm<sup>[59]</sup> por efecto de la reducción de tamaño inducido por el láser<sup>[59]</sup>. Así mismo, investigaron cambios en el tamaño, abundancia y estabilidad de Nps de oro sintetizadas vía ablación láser cambiando la longitud de onda; encontrando que la ablación con láser a 532 nm (40 mJ/pulso) produce Nps de oro mucho más estable en el tiempo que aquellas producidas a 1064 nm (80 mJ/pulso)<sup>[59]</sup>. Además, revisaron la abundancia relativa de las Nps de oro producidas por la ablación con láser a 1064 nm y a 532 nm en función de una serie de disparos del láser (20, 30, 40 y 60 mJ/pulso); reportando que la abundancia relativa de las Nps de oro aumentaba casi linealmente tanto con

el número de disparos de láser<sup>[59]</sup> (véase Figura 23(a) y (b)) como con el poder del láser<sup>[59]</sup> (véase Figura 23(c)).



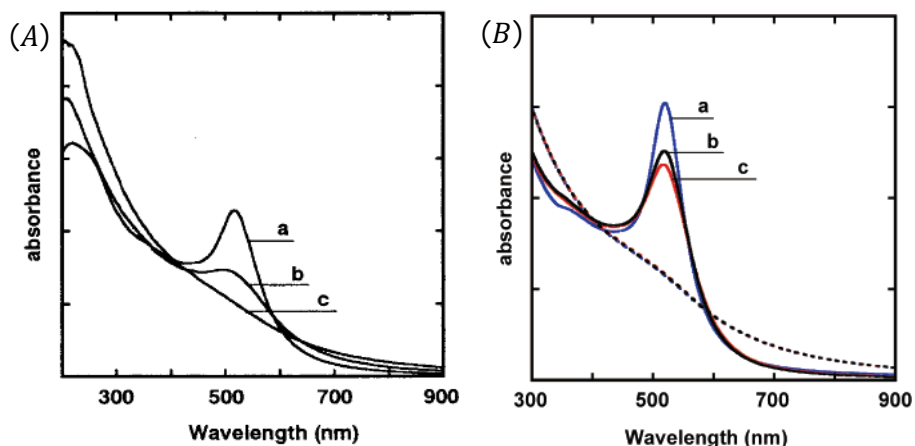
**Figura 23:** (a) Abundancia relativa de las Nps de oro como función del número de disparos del láser a 1064 nm y (b) a 532 nm. En (b), el poder del láser usado fue variado a 20 mJ/pulso (■), 30 mJ/pulso (○), 40 mJ/pulso (●), y 60 mJ/pulso (□), respectivamente. En (c), se puede apreciar la abundancia relativa de Nps de oro en función del poder del láser a 532 nm, donde el incremento es casi lineal con respecto al poder del láser<sup>[59]</sup>.

Casi paralelamente, *Mafuné F., et al.*<sup>[60]</sup> investigaron no solo la generación Nps de oro, con una amplia distribución de tamaños, por ablación con láser a partir de placas de oro en soluciones acuosas de SDS sino que también estudiaron la posterior fragmentación de esas Nps ocasionada por irradiación láser a 532 nm usando diferentes [SDS] y flujos de energía del láser (320, 480, y 1200 mJ/pulso.cm<sup>2</sup>)<sup>[60]</sup>; encontrando tanto una marcada dependencia del diámetro promedio de las Nps de oro con la [SDS] a 532 nm como también con el flujo de energía del láser<sup>[60]</sup>. A medida que el flujo del láser (véase Figura 24(a)) y la [SDS] aumentaban; (véase Figura 24(b) y (c)), el diámetro medio de las Nps de oro disminuía progresiva y considerablemente.



**Figura 24:** (a) Diámetro promedio de Nps de oro después de la fragmentación con un láser pulsado a 532 nm usando diferentes flujos de energía: (◆) 320, (●) 480, y (■) 1200 mJ/pulso.cm<sup>2</sup> como función de la [SDS], TEM fotos de Nps de oro generadas con un láser pulsado a 532 nm y 1200 mJ/pulso.cm<sup>2</sup> en una solución acuosa de [SDS] de (b)  $9 \times 10^{-4}$  M y (c) 0.05M. El tamaño promedio de las Nps obtenidas son de 3.4 y 1.7 nm a  $9 \times 10^{-4}$  M y 0.05 M, respectivamente<sup>[60]</sup>.

De igual manera, y como se aprecia en la Figura 25(A), *Mafuné F., et al.*<sup>[60]</sup> notaron cambios espectrales de absorción de las Nps producidas antes y después de la radiación de un láser a 532 nm en soluciones de SDS de  $9 \times 10^{-4}$  y 0.05 M. Dichos espectros mostraban un pico característico de la banda de PS a 520 nm y una porción de la cola del espectro que se extendía hacia el rango de longitudes de onda del UV notando que la anchura de dichos espectros se ampliaban y disminuían en altura por el efecto del flujo de energía del láser, y que los cambios más significativos fueron obtenidos a 0.05 M que a  $9 \times 10^{-4}$  M. Por otro lado, al igual que en la investigación de *Mafuné F., et al.*<sup>[59]</sup>; *Mafuné F., et al.*<sup>[60]</sup> prepararon Nps de oro con diferentes diámetros medios (10.0, 7.5 y 6.0 nm) por ablación láser a partir de placas de oro sumergidas en solución acuosa de SDS, las cuales fueron posteriormente sometidas a un proceso de reducción de tamaño inducido por láser<sup>[60]</sup>. En la Figura 25(B) se puede apreciar los espectros de absorción de Nps de oro antes y después de la irradiación con láser; *Mafuné F., et al.*<sup>[60]</sup> encontraron que las Nps de oro con distintos diámetros medios, antes de la irradiación con láser, exhiben una dependencia característica del tamaño con el pico máximo de absorbancia<sup>[60]</sup> en los espectros UV-Vis. Sin embargo, después de la irradiación con láser a 532 nm, todas las Nps de oro, indiferentemente de su diámetro, fueron fragmentadas hasta convertirse en pequeñas Nps de diámetros comparables<sup>[60]</sup>.

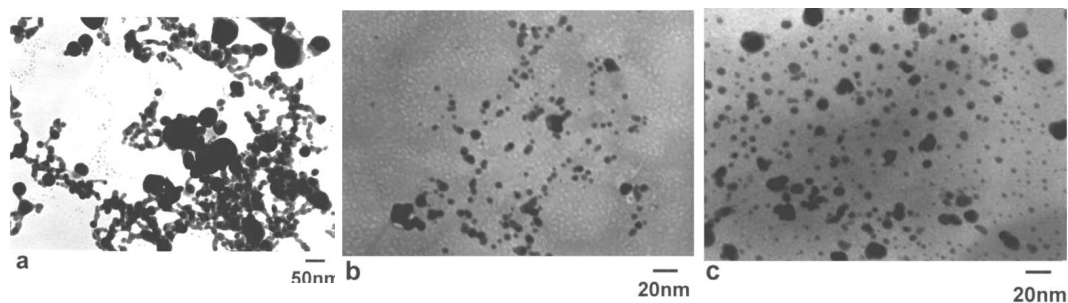


**Figura 25:** (A) Espectros de absorbancia de Nps de oro generadas antes de la fragmentación (a) y después de la fragmentación con un láser pulsado a 532 nm y 1200 mJ/pulso.cm<sup>2</sup> en una solución acuosa de [SDS] de (b)  $9 \times 10^{-4}$  M y (c) 0.05 M. (B) Espectro de absorbancia de Nps de oro con diferentes diámetros iniciales, antes de la reducción de tamaño inducido por láser: (a) 10.0 nm (línea azul continua), (b) 7.5 nm (línea negra continua) y (c) 6.0 nm (línea roja continua) y después de la reducción de tamaño inducido por láser (líneas azul, negra y roja punteadas)<sup>[60]</sup>.

Entonces, *Mafuné F., et al.*<sup>[60]</sup> concluyeron que: (i) se pueden preparar, de manera controlada, Nps de oro con un tamaño deseado a partir de Nps más grandes con solo seleccionar apropiadamente la energía del láser<sup>[60]</sup> y la concentración del surfactante<sup>[60]</sup> y (ii) la ablación láser en combinación con el control de tamaño inducido por láser proporciona un método físico de gran versatilidad para la preparación de Nps de oro con tamaños específicos<sup>[60]</sup>, sin la contaminación que acarrea un agente reductor<sup>[60]</sup>, el cual es inevitablemente usado en las técnicas químicas convencionales para la preparación de Nps metálicas.

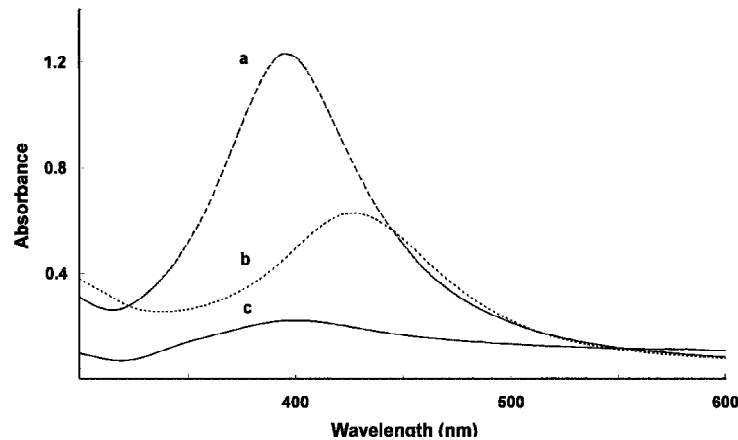
Por su lado, *Chen Y., y Yeh C.*<sup>[61]</sup> prepararon Nps de plata vía ablación láser a partir de una vara de plata sumergida en soluciones acuosas de SDS y (bromuro de cetiltrimetilamonio- surfactante catiónico) CTAB, usando una intensidad del láser de 120 mJ/pulso<sup>[61]</sup>. *Chen Y., y Yeh C.*<sup>[61]</sup> demostraron claramente que la interacción entre el láser pulsado y las Nps metálicas conduce a una severa agregación de las partículas y amplia distribución de tamaños cuando no se emplean surfactantes<sup>[61]</sup> (véase Figura 26(a)). Sin embargo, cuando ambos surfactantes fueron usados se produjeron cambios significativos en el diámetro medio de las Nps de plata generadas; *Chen Y., y Yeh C.*<sup>[61]</sup> encontraron Nps de plata de  $4.2 \pm 1.9$  nm cuando

fueron sintetizadas en solución de SDS<sup>[61]</sup> y Nps de oro de  $7.8 \pm 4.5$  nm cuando fueron preparadas en solución de CTAB<sup>[61]</sup> (véase Figura 26(b) y (c)).



**Figura 26:** TEM fotos de Nps de plata preparadas por ablación láser a 532 nm e intensidad de 120 mJ/pulso y tiempo de ablación de 10 minutos; (a) Nps sin surfactante, (b) Nps en solución de  $5.0 \times 10^{-03}$  M de SDS y (c) Nps en solución de  $5.0 \times 10^{-04}$  M de CTAB<sup>[61]</sup>.

Igualmente, *Chen Y.*, y *Yeh C.*<sup>[61]</sup> observaron que el tipo de surfactante y sus propiedades influyen substancialmente no solo sobre la formación de las Nps de plata y que tan monodispersas estas se encuentran en la solución sino que también el tipo de surfactante y su concentración afectan significativamente la banda de plasmón superficial de las Nps de plata<sup>[61]</sup>. En efecto, *Chen Y.*, y *Yeh C.*<sup>[61]</sup> notaron que las Nps preparadas en solución de SDS (surfactante aniónico) fueron menos aglomeradas con respecto a las Nps preparadas en CTAB<sup>[61]</sup> (surfactante catiónico) y que la banda de plasmón de las Nps de plata en CTAB se detectó a grandes longitudes de onda con respecto a la banda de plasmón de las Nps en SDS<sup>[61]</sup> (véase Fig. 27). *Chen Y.*, y *Yeh C.*<sup>[61]</sup> afirmaron que estos resultados espectrales reflejan la formación de grandes aglomerados de partículas de plata en CTAB, tal como se observó en la Fig. 26(c).



**Figura 27:** Espectro de absorción UV-Vis de Nps de plata sintetizadas vía ablación láser usando una longitud de onda de 532 nm, una intensidad de 120 mJ/pulso y tiempo de ablación de 10 minutos en una solución acuosa de: (a)  $1.0 \times 10^{-2}$  M de SDS, (b)  $1.0 \times 10^{-3}$  M de CTAB y (c) Nps de plata sin surfactante<sup>[61]</sup>.

## I.6 CARACTERIZACION DE NPS DE ORO

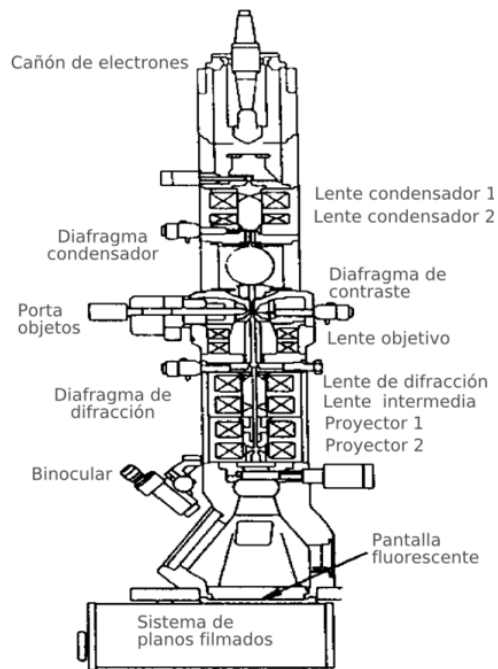
La caracterización de las Nps de oro puede llevarse a cabo mediante diversas técnicas, entre las que destacan: microscopía electrónica<sup>[62]</sup>, espectroscopía UV-Vis<sup>[62]</sup>, dispersión dinámica de luz (DLS)<sup>[62]</sup>, microscopio de fuerza atómica (AFM)<sup>[62]</sup>, microscopio de efecto túnel (STM)<sup>[62]</sup>, entre otras.

### I.6.1 Microscopia Electrónica

El microscopio electrónico usa electrones para iluminar la muestra y crear una imagen ampliada de la misma, la interacción del haz de electrones con la muestra permite obtener información sobre su morfología, composición y estructura<sup>[62]</sup>. Hay dos tipos básicos de microscopios electrónicos: el microscopio electrónico de transmisión (TEM)<sup>[62]</sup> y el microscopio electrónico de barrido (SEM)<sup>[62]</sup>. La que más comúnmente se requiere para cualquier estudio es la microscopía de transmisión electrónica (TEM) y la de alta resolución. Estas técnicas permiten (i) el estudio del tamaño de las Nps y de su dispersión<sup>[62]</sup> y (ii) la estructura y morfología de los átomos que se aglomeran formando la Nps<sup>[62]</sup>.

Un TEM permite la observación de muestra en cortes ultrafinos<sup>[63]</sup>. Un TEM dirige el haz de electrones hacia el objeto que se desea aumentar; una parte de los

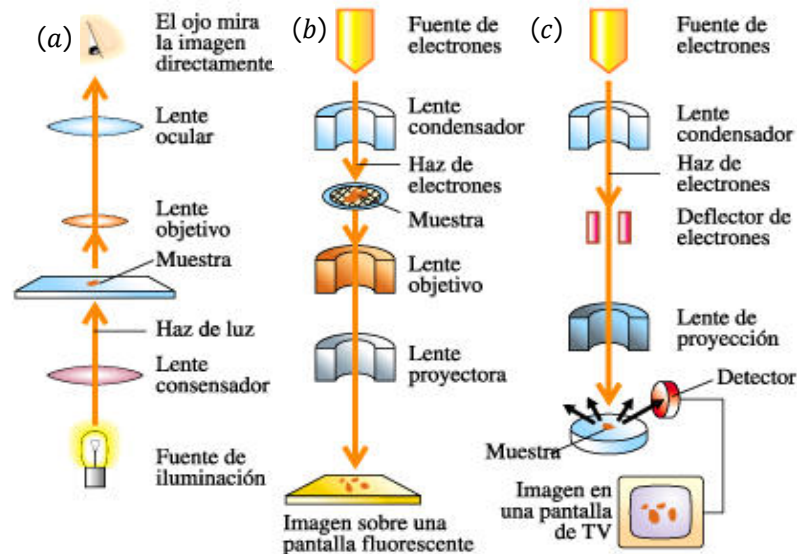
electrones rebotan o son absorbidos por el objeto y otros lo atraviesan formando una imagen aumentada del espécimen<sup>[63]</sup>. Para utilizar un TEM debe cortarse la muestra en capas finas, no mayores de un par de miles de ángstroms. Se coloca una placa fotográfica o una pantalla fluorescente detrás del objeto para registrar la imagen aumentada. Los TEM pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces<sup>[63]</sup>. La Figura 28 muestra los elementos básicos que conforman un MET.



**Figura 28:** Partes que conforman un MET<sup>[63]</sup>.

Las principales partes de un TEM son: (i) cañón de electrones, que emite los electrones que chocan o atraviesan el espécimen creando una imagen aumentada<sup>[63]</sup>, (ii) lentes magnéticas para crear campos que dirigen y enfocan el haz de electrones<sup>[63]</sup>, (iii) un sistema de vacío, es una parte muy importante, debido a que los electrones pueden ser desviados por las moléculas del aire, se debe hacer un vacío casi total en el interior del MET<sup>[63]</sup>, (iv) placa fotográfica o pantalla fluorescente que se coloca detrás del objeto a visualizar para registrar la imagen aumentada<sup>[63]</sup> y (v) sistema de registro que muestra la imagen que producen los electrones, que suele ser una computadora<sup>[63]</sup>.

Un SEM es similar al TEM<sup>[64]</sup>. Ambos tienen ciertas características comunes tales como un cañón de electrones donde se genera el haz de electrones, lentes condensadoras y sistema de vacío. La diferencia principal entre ellos es la manera en que forman y magnifican la imagen<sup>[64]</sup>. Mientras el TEM permite el estudio de la ultraestructura de muestras delgadas, el SEM posibilita conocer la morfología superficial<sup>[64]</sup>. El SEM explora la superficie de la imagen punto por punto, al contrario que el TEM, que examina una gran parte de la muestra. Su funcionamiento se basa en recorrer la muestra con un haz muy concentrado de electrones, de forma parecida al barrido de un haz de electrones por la pantalla de una televisión<sup>[64]</sup>. Los electrones del haz pueden dispersarse de la muestra o provocar la aparición de electrones secundarios. Los electrones perdidos y los secundarios son recogidos y contados por un dispositivo electrónico situado a los lados del espécimen. A medida que el haz de electrones barre la muestra, se presenta toda la imagen de la misma en el monitor<sup>[64]</sup>. Los SEM pueden ampliar los objetos 200.000 veces o más. Este tipo de microscopio es muy útil porque, al contrario que los TEM o los microscopios ópticos, produce imágenes tridimensionales realistas de la superficie del objeto<sup>[64]</sup>. La Figura 29 muestra una comparación de las diferentes partes de un microscopio óptico, TEM y SEM, respectivamente.



**Figura 29:** Comparación de las partes que conforman (a) un microscopio óptico, (b) TEM y (c) SEM, respectivamente<sup>[65]</sup>.

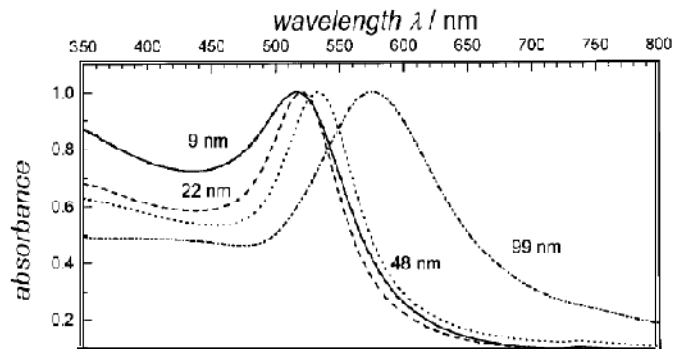


Diferentes sistemas biológicos y químicos se pueden estudiar mediante SEM, tales como: la morfología superficial de minerales<sup>[65]</sup>, catalizadores<sup>[65]</sup>, electrodepósitos<sup>[65]</sup>, la adherencia fibra-matriz en polímeros<sup>[65]</sup>, los cambios morfológicos de materiales sometidos a tratamientos químicos<sup>[65]</sup>, las formas de cristalización de minerales<sup>[65]</sup>, el control de calidad de catalizadores industriales<sup>[65]</sup>, la morfología superficial interna de partículas poliméricas<sup>[65]</sup>, la morfología de tejidos u órgano animales y vegetales<sup>[65]</sup>, estudio de moléculas y reconocimiento de fósiles<sup>[65]</sup>, entre otros sistemas.

### I.6.2 Espectroscopía UV-Vis

La espectroscopía UV-Vis aparece durante la 2<sup>da</sup> guerra mundial como una técnica estándar de investigación en bioquímica, biología y farmacéutica, la cual permite censar las transiciones electrónicas de las moléculas al absorber luz en el rango UV-Vis del espectro electromagnético<sup>[66]</sup>. Suele emplearse en el campo de la nanociencia y nanotecnología debido a las propiedades ópticas de la materia a nivel nano<sup>[66]</sup>. Es por ello, que la espectroscopía UV-Vis resulta indispensable para la caracterización de soluciones coloidales de Nps de oro.

Primeramente, para comprender el porque del uso de la espectroscopía de UV-Vis para la caracterización de Nps de oro es necesario explicar primero los fenómenos sensibles a esta técnica que están presentes en el sistema de las Nps. Como se mencionó anteriormente en la Secciones I.1.2, I.4 y I.4.1, las Nps de oro contienen un número determinado de electrones libres confinados en un espacio muy pequeño, lo que les confiere propiedades ópticas como la RPS. El fenómeno de la RPS se manifiesta cuando un haz de luz incide sobre las Nps de oro, produciéndose una oscilación colectiva de electrones, lo que se traduce a su vez en la absorción de luz por parte de las Nps en una determinada zona del espectro UV-Vis. El color de esa luz emitida depende del tamaño, forma y propiedades de dichas Nps. En la Figura 30 se puede observar, para el caso específico de Nps de oro, que soluciones de distintos tamaños de Nps presentan máximos de absorbancia a diferentes longitudes de onda.



**Figura 30:** Espectro de absorción de Nps de oro, donde se observa el desplazamiento del máximo de absorción en función del tamaño de la partícula<sup>[66]</sup>.

### I.6.3 Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

Otra técnica muy apropiada para la caracterización de las Nps de oro es la dispersión dinámica de luz (DLS) o también conocida como espectroscopía de correlación fotónica<sup>[67]</sup>, la cual permite determinar la distribución y el tamaño de dichas Nps<sup>[67]</sup>. Incluso, DLS puede ser utilizado para determinar el perfil de distribución de tamaño de polímeros en solución<sup>[67]</sup>, explorar el comportamiento de los fluidos complejos<sup>[67]</sup>, tales como soluciones de polímero concentrado<sup>[67]</sup>, entre otras aplicaciones.

Al incidir una fuente de luz, por ejemplo un láser, monocromático y coherente, sobre una solución que contiene partículas y que experimenta un movimiento browniano<sup>[68]</sup>, se produce un cambio en la dirección del haz incidente, esto ocurre gracias a la fluctuación de la constante dieléctrica en la solución<sup>[68]</sup>, la cual provoca a su vez un cambio en el campo eléctrico del haz<sup>[68]</sup>. Para detectar la dispersión de la luz incidente, un detector (fotomultiplicador) es colocado a un cierto ángulo<sup>[68]</sup>, recibiendo la radiación que sale dispersada a dicho ángulo de la solución de Nps y transformándola en una señal eléctrica, la cual es llevada a un computador y este a su vez, mediante una función de autocorrelación<sup>[68]</sup>, relaciona la fluctuación del campo eléctrico con la fluctuación de la constante dieléctrica de la solución<sup>[68]</sup>. Esta medida se realiza en tiempo real por lo que se obtiene un rango amplio de intensidades dependientes del tiempo. Las fluctuaciones de la constante dieléctrica son fluctuaciones no periódicas<sup>[68]</sup>, una gráfica de esta propiedad fluctuante en

función del tiempo, decae de forma exponencial<sup>[68]</sup>. Este decaimiento exponencial está relacionado con el movimiento de las partículas<sup>[68]</sup>, específicamente para el coeficiente de difusión ( $D$ ) de la solución y a su vez este último parámetro está relacionado mediante la ecuación de Stoke-Einstein con el tamaño de la partícula<sup>[68]</sup>.

#### **I.6.4 Espectroscopía de Fluorescencia**

La espectrometría de fluorescencia, también llamada fluorimetría o espectrofluorimetría<sup>[69]</sup>, es un tipo de espectroscopía electromagnética que analiza la fluorescencia de una muestra<sup>[69]</sup>. La espectroscopía de fluorescencia utiliza luz, normalmente UV, que excita a los electrones de las moléculas de ciertos compuestos provocando la emisión de luz de menor energía, generalmente luz visible<sup>[69]</sup>.

La espectrometría de fluorescencia se refiere principalmente a estados vibracionales y electrónicos. En general, las especies objeto de examen tienen un estado electrónico basal<sup>[69]</sup>, es decir, un estado de baja energía, y un estado electrónico excitado de mayor energía<sup>[69]</sup>. Dentro de cada uno de estos estados electrónicos existen diferentes estados vibracionales. En la espectroscopía de fluorescencia, primero se excita la muestra mediante la absorción de un fotón de luz, desde su estado electrónico basal a uno de los distintos estados vibracionales del estado electrónico excitado<sup>[69]</sup>. Las colisiones con otras moléculas causan que la molécula excitada pierda energía vibracional hasta que alcanza el estado vibracional más bajo del estado electrónico excitado<sup>[69]</sup>. Luego, la molécula desciende a uno de los distintos niveles de vibración del estado electrónico basal, emitiendo un fotón en el proceso<sup>[69]</sup>.

En la espectrometría de fluorescencia se utilizan dos tipos generales de instrumentos: (i) Fluorómetros de filtro<sup>[69]</sup>, los cuales utilizan filtros para aislar la luz incidente y la luz fluorescente y (ii) Espectrofluorómetros<sup>[69]</sup>, los cuales usan monocromadores de retículo de difracción para aislar la luz incidente y la luz fluorescente. Ambos tipos de instrumentos emplean luz como fuente de excitación que pasa a través de un filtro o monocromador, e incide sobre la muestra<sup>[69]</sup>. Luego, una parte de la luz incidente es absorbida por la muestra, y algunas de las moléculas de la muestra producen una fluorescencia<sup>[69]</sup>. Esa luz fluorescente es

emitida en todas las direcciones. Seguidamente, parte de esta luz fluorescente pasa a través de un segundo filtro o monocromador y llega a un detector, el cual a menudo se encuentra a 90° con respecto al haz de luz incidente para minimizar el riesgo de que la luz incidente reflejada o transmitida llegue al detector<sup>[69]</sup>.

No obstante, para entender más a profundidad este tipo de espectroscopía es necesario explicar dos fundamentos teóricos muy importantes como lo son: (i) la fluorescencia<sup>[69]</sup> y (ii) las variables que afectan la fluorescencia, entre las que destacan el incremento de la fluorescencia por efecto de un metal (MEF)<sup>[69]</sup>.

#### I.6.4.a. Fluorescencia

La fluorescencia es un proceso de emisión en el cual las moléculas son excitadas por la absorción de radiación electromagnética del tipo UV, rayos catódicos o rayos X<sup>[69]</sup>. Una de las características más atractivas de los métodos de fluorescencia es su sensibilidad, la cual es de uno a tres órdenes de magnitud mejor que las de la espectroscopía de absorción<sup>[69]</sup>. No obstante, los métodos de fluorescencia se aplican mucho menos que los métodos de absorción debido al número relativamente limitado de sistemas químicos que se pueden hacer fluorescer<sup>[69]</sup>.

La fluorescencia ocurre cuando una molécula, átomo o nanoestructuras se relajan volviendo a su estado fundamental<sup>[69]</sup> ( $S_0$ ) después de haber estado excitada eléctricamente<sup>[69]</sup> ( $S_1$ ), liberando su exceso de energía en forma de fotones<sup>[69]</sup>. Los procesos de excitación y fluorescencia (emisión) pueden ser expresados como sigue a continuación:



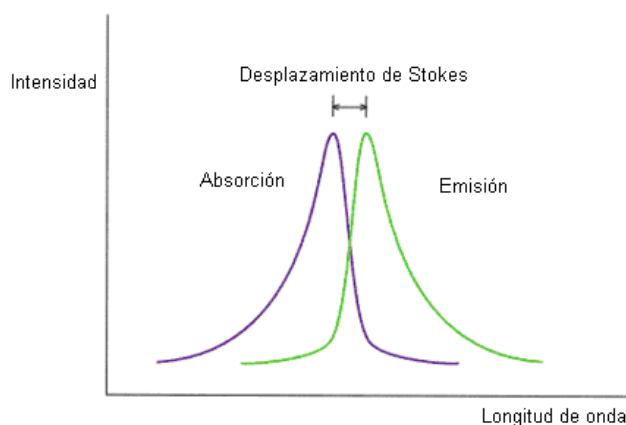
donde:

$h\nu$  es un término genérico para la energía del fotón, donde a su vez,  $h$  es la constante de Planck y  $\nu$  es la frecuencia de la luz.

Una molécula en estado de excitación,  $S_1$ , puede relajarse por diferentes formas a su estado basal. Esta puede sufrir una relajación no radiante y relajación

fluorescente<sup>[69]</sup>. La relajación no radiante puede ser de dos tipos: (i) relajación vibracional<sup>[69]</sup>, en la cual la energía de excitación es disipada como calor, es decir, vibraciones al medio y (ii) conversión interna<sup>[69]</sup>, en la cual ocurre un relajamiento no radiante entre el nivel vibracional inferior de un estado electrónico excitado y el nivel vibracional superior de otro estado electrónico. Por otro lado, en la relajación fluorescente, existen bandas de radiación que son producidas cuando las moléculas fluorescen debido a que las moléculas electrónicamente excitadas pueden relajarse volviendo a cualquiera de los estados vibracionales del estado electrónico fundamental<sup>[69]</sup>.

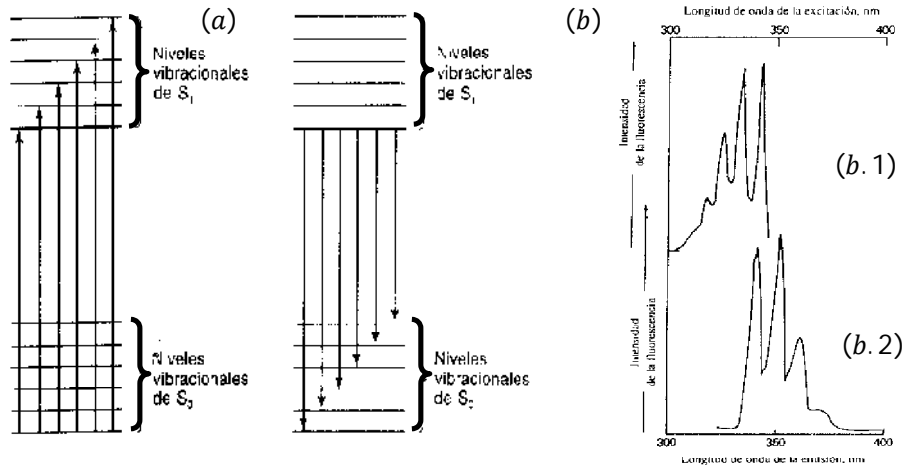
Por lo general, se observa que dichas bandas de radiación (bandas de fluorescencia) están formadas principalmente por bandas que tienen longitudes de onda más largas<sup>[69]</sup> y por tanto, energías menores que la banda de radiación responsable de su excitación<sup>[69]</sup>. Este desplazamiento hacia longitudes de onda mayores, tal como se aprecia en la Figura 31, se llama desplazamiento de Stokes<sup>[69]</sup>.



**Figura 31:** Diagrama de las curvas de absorción (excitación) y de emisión (fluorescencia) para un compuesto. La diferencia entre ambos máximos es conocida como el desplazamiento de Stokes<sup>[70]</sup>.

Debido a que las diferencias de energía entre los estados vibracionales es aproximadamente el mismo<sup>[71]</sup>, tanto para el estado fundamental como para el excitado, la absorción (espectro de excitación) y el espectro de emisión (fluorescencia) de un compuesto frecuentemente aparece como una imagen especular de uno a otro con una sobreposición que ocurre en la línea de resonancia<sup>[71]</sup>, por ejemplo, en la Figura 32 se puede apreciar las imágenes

especulares de los espectros de excitación y de emisión para 1 ppm de antraceno en alcohol.



**Figura 32:** (a) Diagrama de energía para un sistema fotoluminiscente, donde se muestra la excitación de  $S_0$  a  $S_1$  y la emisión de  $S_1$  a  $S_0$  y (b) espectro de fluorescencia para 1 ppm de antraceno en alcohol, donde se aprecia (b.1) espectro de excitación, (b.2) espectro de emisión<sup>[71]</sup>.

En la fluorescencia, el rendimiento cuántico muestra la eficiencia del proceso fluorescente<sup>[71]</sup>. Este rendimiento es definido como la relación de los fotones emitidos con respecto a los fotones absorbidos<sup>[71]</sup>, tal como sigue:

$$\Phi = \frac{\# \text{ fotones emitidos}}{\# \text{ fotones absorbidos}} \quad \text{Ec. I. 3}$$

Cuando el rendimiento cuántico de fluorescencia es 1 (100%); cada fotón absorbido resulta en un fotón emitido<sup>[71]</sup>. También, compuestos con rendimientos cuánticos de 0,10 son aun considerados bastante fluorescentes<sup>[71]</sup>. Por otro lado, el tiempo de vida de la fluorescencia se refiere al tiempo promedio que dura la molécula en su estado de excitación antes de emitir un fotón<sup>[71]</sup>. La fluorescencia típicamente sigue una cinética de primer orden<sup>[71]</sup>:

$$[S_1] = [S_1]_0 e^{-\Gamma t} \quad \text{Ec. I. 4}$$

donde:

$[S_1]$  define la concentración de moléculas en estado de excitación en el tiempo  $t$ .

$[S_1]_0$  define la concentración inicial y

$\Gamma$  es la tasa de decaimiento o el inverso del tiempo de vida de la fluorescencia.

Este es un caso de decaimiento exponencial. Varios procesos radiativos y no-radiativos pueden despoblar el estado excitado. En ese caso, la tasa de decaimiento total ( $\Gamma t$ ) es la suma de todas las tasas<sup>[71]</sup>:

$$\Gamma t = \Gamma_{rad} + \Gamma_{nrad} \quad \text{Ec. I.5}$$

donde:

$\Gamma t$  es la tasa de decaimiento total.

$\Gamma_{rad}$  es la tasa de decaimiento radiativo y

$\Gamma_{nrad}$  es la tasa de decaimiento no-radiativo.

#### I.6.4.b. Variables que Afectan la Fluorescencia

Existen diferentes factores que afectan el fenómeno de la fluorescencia, entre las que podemos destacar: (i) el rendimiento cuántico<sup>[71]</sup>, (ii) la estructura de los compuestos que presentan fluorescencia<sup>[71]</sup>, (iii) rigidez estructural<sup>[71]</sup>, (iv) temperatura del disolvente<sup>[71]</sup> y (v) efecto del pH<sup>[71]</sup>.

El rendimiento cuántico o también conocido como la eficacia cuántica de la fluorescencia, como ya se ha mencionado, indica simplemente una relación entre el número de moléculas que emiten fluorescencia respecto al número total de moléculas excitadas<sup>[71]</sup>. Las moléculas altamente fluorescentes, por ejemplo, la fluoresceína, tienen eficiencias cuánticas que, en ciertas condiciones, se aproximan a la unidad<sup>[71]</sup>. Las especies no fluorescentes tienen eficiencias que son prácticamente cero<sup>[71]</sup>.

En cuanto a la estructura de los compuestos; la fluorescencia más intensa es la que presentan los compuestos que contienen grupos funcionales aromáticos<sup>[71]</sup>. Los compuestos que contienen estructuras alifáticas<sup>[71]</sup> y alicíclicas de carbonilo<sup>[71]</sup> o estructuras con dobles enlaces muy conjugados pueden presentar fluorescencia<sup>[71]</sup>. La mayoría de los hidrocarburos aromáticos no sustituidos son fluorescentes en disolución, la eficacia cuántica aumenta con el número de anillos y con su grado de conjugación<sup>[71]</sup>. Incluso, la sustitución en un anillo aromático causa desplazamientos en la longitud de onda de absorción máxima y los cambios correspondientes en los picos de fluorescencia<sup>[71]</sup>.

Por otro lado, empíricamente se encuentra que la fluorescencia está particularmente favorecida en moléculas que poseen estructuras rígidas<sup>[71]</sup>, por ejemplo, los rendimientos cuánticos para el fluoreno y el bifenilo son próximos a 1.0 y 0.2, respectivamente<sup>[71]</sup>, bajo condiciones similares de medida. La influencia de la rigidez también tiene importancia en el aumento de la fluorescencia de ciertos quelatantes orgánicos cuando están formando un complejo con un ion metálico<sup>[71]</sup>, por ejemplo, la fluorescencia de la 8-hidroxiquinoleína es mucho menor que la de su complejo con zinc.

Así mismo, la eficacia cuántica de la fluorescencia disminuye en muchas moléculas con el aumento de la temperatura<sup>[71]</sup>, ya que el aumento de la frecuencia de las colisiones a temperatura elevada hace aumentar la probabilidad de desactivación no radiante<sup>[71]</sup>. Al igual, una disminución en la viscosidad del disolvente también aumenta la probabilidad de conversión externa y produce el mismo resultado<sup>[71]</sup>.

En lo que se refiere a los efectos del pH sobre la fluorescencia, se ha observado, en general, que la fluorescencia de un compuesto aromático con sustituyentes ácidos o básicos en el anillo depende del pH<sup>[71]</sup>. Tanto la longitud de onda como la intensidad de emisión son probablemente diferentes para la forma ionizada y no ionizada del compuesto<sup>[71]</sup>; por lo que en los métodos fluorimétricos, será muy frecuente el control estricto del pH<sup>[71]</sup>.



#### I.6.4.c. Incremento de la Fluorescencia por Efecto de un Metal (MEF)

A primera vista pareciera extraño el considerar usar superficies metálicas de tamaño nanométrico para incrementar la fluorescencia<sup>[71]</sup>. De hecho, los metales son conocidos por inhibir, es decir, provocar un “quenching” de la fluorescencia<sup>[72]</sup>, por ejemplo, superficies de plata de 50 Angstroms de grosor son usadas en microscopía para inhibir por quenching la emisión de regiones cercanas al metal<sup>[72]</sup>.

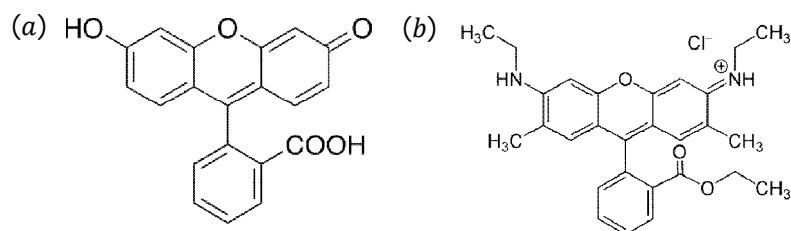
No obstante, se sabe que los metales también pueden incrementar la fluorescencia por varios mecanismos<sup>[72]</sup>. Incluso, las partículas metálicas además parecen incrementar las tasas de decaimiento radiativo<sup>[73]</sup>. Existen dos posibles efectos de los metales sobre la fluorescencia: (i) si el metal genera un aumento en la tasa de excitación<sup>[74]</sup>, esto produce un incremento en el brillo sin cambiar el rendimiento cuántico o el tiempo de vida de la fluorescencia<sup>[74]</sup> o (ii) si el metal genera un aumento en la tasa de decaimiento radiativo<sup>[74]</sup>, esto produce un incremento del rendimiento cuántico y una disminución del tiempo de vida de la fluorescencia<sup>[74]</sup>.

MEF es un efecto que aumenta considerablemente el rendimiento cuántico observado y reduce el tiempo de vida de la fluorescencia de las moléculas fluoróforas<sup>[75]</sup> (colorantes orgánicos) que se encuentran en las proximidades de superficies de metales nobles de tamaño nanométrico<sup>[75]</sup>. El efecto MEF se deriva de la interacción del momento dipolar del fluoróforo y el campo de los plasmones superficiales (PS) del metal<sup>[75]</sup>, dando como resultado un aumento tanto de la velocidad de desintegración radiactiva como de la emisión de fluorescencia<sup>[75]</sup>, mejorando considerablemente la intensidad de la luminiscencia<sup>[75]</sup>. MEF ofrece buenas perspectivas para una gran gama de aplicaciones; incluyendo LEDs<sup>[75]</sup>, tecnología de sensores<sup>[75]</sup>, microarreglos<sup>[75]</sup> y estudios de moléculas independientes<sup>[75]</sup>. MEF se vuelve aún más atractivo cuando se aplica a nanocristales coloidales semiconductores<sup>[75]</sup>, los cuales presentan propiedades ópticas dependientes de su tamaño<sup>[75]</sup>, alta estabilidad fotoquímica<sup>[75]</sup>, y se caracterizan por tener amplios espectros de excitación<sup>[75]</sup> y estrechas bandas de emisión<sup>[75]</sup>.

En 2005, *Alslan K., et al.*<sup>[76]</sup> estudiaron el fenómeno de MEF, por efecto de nanoestructuras de plata sobre la intensidad de las emisiones y fotoestabilidad de un fluoróforo, indocianina verde (ICG)<sup>[76]</sup>. Colocaron coloides de plata sobre un substrato de vidrio de manera homogénea y luego absorbieron en ellos moléculas de ICG<sup>[76]</sup>. Sus resultados mostraron que las interacciones de nanoestructuras de plata-ICG, mejoran significativamente las propiedades espectrales y la fotoestabilidad del fluoróforo<sup>[76]</sup>, aumentando los rendimientos cuánticos<sup>[76]</sup>, las tasa de excitación<sup>[76]</sup> y la transferencia de energía<sup>[76]</sup>. Concluyeron que dichas interacciones se debían a las transferencias de energía no radiactiva entre los estados excitados del fluoróforo ICG y los PS de los coloides de plata<sup>[76]</sup>. Un poco más temprano en 2004, *Gosh K., et al.*<sup>[77]</sup> estudiaron la influencia de Nps de oro en el comportamiento de emisión del fluoróforo, metilaminopireno (MAP)<sup>[77]</sup>. Reportando que las moléculas de MAP adsorbidas en la superficie de las Nps experimentaban un fuerte quenching de fluorescencia<sup>[77]</sup>. Además, señalaron que la eficiencia de dicho quenching era dependiente del tamaño de la nanopartícula<sup>[77]</sup>.

#### I.6.4.d. Fluoresceína, Disodiofluoresceína y Rodamina

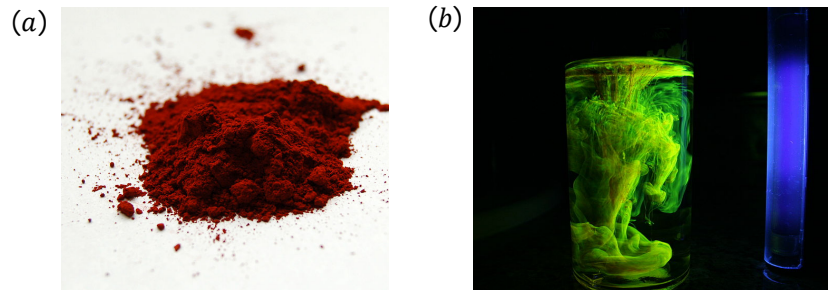
La fluoresceína se caracteriza por presentar una alta fluorescencia, teniendo un rendimiento cuántico del 95%<sup>[78,79]</sup>. La fluoresceína también es conocida como un aditivo colorante, llamado amarillo No 7 y la disodiofluoresceína es conocida como amarillo No 8<sup>[79]</sup>. En la Figura 33 se puede notar las estructuras químicas de ambas moléculas fluoróforas.



**Figura 33:** Estructura química de (a) fluoresceína y (b) disodiofluoresceína<sup>[79]</sup>.

La fluoresceína es una sustancia fluorófora hidrosoluble, de color rojo característico en su estado sólido pero que produce un color fluorescente verde

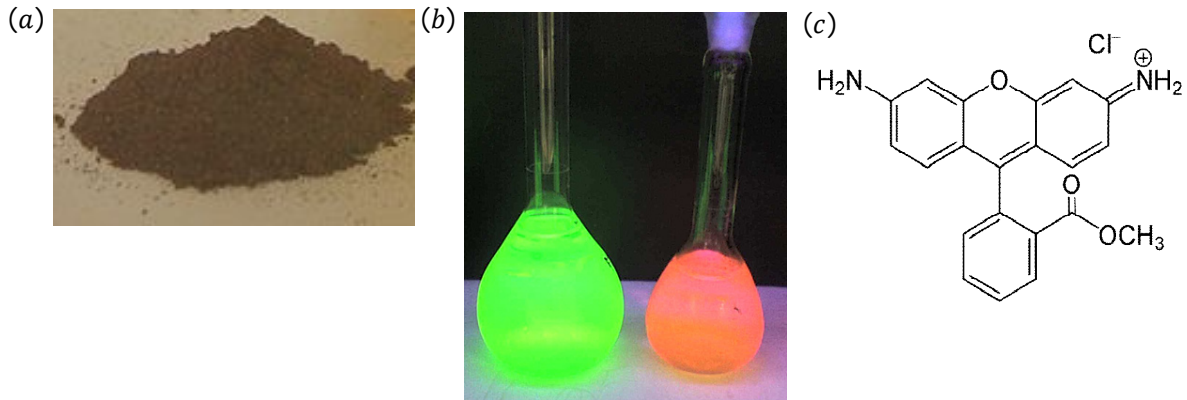
intenso en soluciones alcalinas<sup>[79]</sup> (véase Figura 34). Cuando se expone a la luz, la fluoresceína absorbe ciertas longitudes de onda y emite luz fluorescente de longitud de onda larga. En efecto, la fluoresceína tiene un máximo de absorción de 494 nm y un máximo de emisión de 521 nm (en agua)<sup>[80]</sup>.



**Figura 34:** (a) Fluoresceína y (b) solución de fluoresceína bajo radiación de luz UV<sup>[81]</sup>.

La fluoresceína es utilizada en el examen de los vasos sanguíneos del ojo<sup>[81]</sup>. En óptica, se emplea para comprobar las alteraciones en el epitelio corneal<sup>[81]</sup>, úlceras corneales<sup>[81]</sup>, infecciones por herpes corneal<sup>[81]</sup>, alteraciones en el sistema lagrimal<sup>[81]</sup>, permeabilidad de las vías lagrimales<sup>[81]</sup>, entre otros usos. De igual manera, la disodiofluoresceína es utilizada para el diagnóstico en el campo de la oftalmología y la optometría<sup>[81]</sup>.

La rodamina es otra sustancia fluorófora hidrosoluble, que posee una alta fluorescencia y gran rendimiento cuántico<sup>[82]</sup>. La rodamina es de color marrón característico en su estado sólido pero que produce un color fluorescente fucsia intenso en soluciones alcalinas<sup>[83]</sup>. La Figura 35 muestra dos soluciones acuosas de fluoresceína y rodamina G bajo radiación de luz UV.



**Figura 35:** (a) Rodamina 6G en polvo<sup>[82]</sup>, (b) solución de fluoresceína y rodamina 6G<sup>[83]</sup>, respectivamente bajo radiación de luz UV y (c) estructura química de la Rodamina 123 (clorhidrato de rodamina 123)<sup>[83]</sup>.

Por lo general, la rodamina se utiliza ampliamente en aplicaciones de la biotecnología<sup>[82]</sup>, como la microscopía de fluorescencia<sup>[82]</sup>, la espectroscopía de correlación de fluorescencia<sup>[82]</sup>, entre otras aplicaciones. Existen diferentes tipos de rodamina entre las cuales destacan la rodamina B, 6G y 123<sup>[83]</sup>. En particular, la rodamina 123 se utiliza en el campo de la bioquímica para inhibir la función mitocondrial<sup>[83]</sup>.

## I.7 FENOMENOS OPTICOS DE LOS MATERIALES

Las propiedades ópticas de los materiales usualmente provienen de la interacción entre un material y las radiaciones electromagnéticas en forma de ondas o partículas de energía. Estas radiaciones pueden tener características que entren en el espectro visible, o ser invisibles al ojo humano. Esta interacción produce una diversidad de efectos, como absorción, transmisión, reflexión, refracción y un comportamiento electrónico específico.

Al interactuar con la estructura electrónica o cristalina de un material, los fotones de una fuente externa crean varios fenómenos ópticos lineales (OL). No obstante, también pueden ocurrir fenómenos ópticos no lineales (ONL) coherentes tales como generación del segundo, tercer, cuarto etc., armónico o y fenómenos ópticos no lineales incoherentes<sup>[84]</sup>, como por ejemplo la generación del segundo armónico (SHG) incoherente<sup>[84]</sup>, conocido como Dispersión no lineal de Hiper Rayleigh (HRS)<sup>[84]</sup>.

### I.7.1 Fenómenos Ópticos Lineales

Cuando un campo electromagnético externo (luz incidente) interacciona con la materia, la luz emergente proveniente de dicho material puede ser: (i) luz transmitida, (ii) luz dispersada, (iii) luz reflejada y (iv) luz refractada. Si los fotones incidentes interactúan con los electrones de valencia pueden ocurrir varias cosas: (i) los fotones ceden energía al material, es decir, ocurre la absorción o (ii) puede ser que cuando los fotones aportan energía, de inmediato el material emite electrones de idéntica energía, es decir, ocurre la reflexión, o (iii) también puede que los fotones no interactúen con la estructura electrónica del material, en ese caso ocurre la transmisión. En cualquiera de estos tres casos, conocidos como fenómenos ópticos lineales, la velocidad de los fotones varía, lo cual propicia la refracción. Todos estos casos son conocidos como fenómenos ópticos lineales, en los cuales la intensidad de luz emergente ( $I_e$ ) es directamente proporcional a la intensidad de luz incidente ( $I_i$ ).

### I.7.2 Fenómenos Ópticos No Lineales (ONL) Coherentes

Al igual que los fenómenos OL ocurren, al aplicar un campo electromagnético (luz) sobre un material, también puede pasar fenómenos ONL del tipo coherente, en los cuales la intensidad de luz emergente es una función no lineal de la intensidad de luz incidente. Estos fenómenos ópticos se manifiestan como generación de armónicos, es decir, generación de armónicos de segundo orden (SHG), de tercer orden, etc. Todos ellos del tipo coherente debido principalmente a que la intensidad de luz emergente ( $I_e(2\omega)$ ), por ejemplo del segundo armónico, es directamente proporcional al cuadrado de la intensidad de la luz incidente ( $I^2(\omega)$ ).

El SHG es un proceso en el cual dos fotones a la frecuencia fundamental  $\omega$  son convertidos a un solo fotón a la frecuencia armónica  $\Omega = 2\omega$ <sup>[85]</sup>. Sin embargo, también puede que se presente un fenómeno conocido como generación de segundo armónico incoherente<sup>[85]</sup>, conocido como la dispersión no lineal de Hiper Rayleigh (HR)<sup>[85]</sup>. La dispersión de HR se explicará con más detalles en la próxima Sección I.7.3.

### **I.7.3 Fenómenos Ópticos No Lineales (ONL) Incoherentes. Basamento Teórico de la Dispersión de Hiper Rayleigh (HRS)**

HRS es considerado como un efecto ONL observado en soluciones isotrópicas<sup>[86]</sup>. En 1965, HRS fue usada por primera vez para la determinación de las hiperpolarizabilidades moleculares  $\beta$ , y desde principios de 1990 se convirtió en una opción para la determinación experimental de la polarizabilidad no lineal de segundo orden de moléculas no dipolares<sup>[86]</sup>, especies orgánicas<sup>[86]</sup> y organometálicas<sup>[86]</sup>, cromóforos cargados<sup>[86]</sup>, proteínas disueltas en medios isotrópicos<sup>[86]</sup>, etc. Recientemente, la aplicación de este método para estudiar sistemas de Nps en medios tanto acuosos como orgánicos, ha ganado una gran importancia debido a su alta sensibilidad frente a pequeños cambios en tamaño, estructura o forma de las Nps<sup>[86]</sup>.

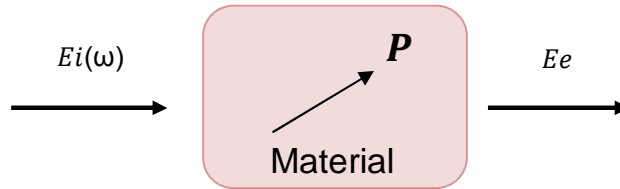
HRS se ha empleado no solo para estudiar la dependencia de las señales ópticas no lineales con el tamaño de las Nps de Au, Ag, Cu, CdS, CdSe, CdZnSe, y TiO<sub>2</sub><sup>[86]</sup>, sino que también se ha empleado para investigar y resolver la cinética y supervisar las diferentes etapas de formación de Nps de ZnO en etanol<sup>[87]</sup>.

#### **I.7.3.a. Descripción Fenomenológica y Microscópica de HRS**

La Dispersión de Rayleigh (DR) se basa en la dispersión de la luz por partículas mucho menores que la longitud de onda de los fotones dispersados<sup>[88]</sup>. Normalmente, ocurre cuando la luz viaja por sólidos y líquidos transparentes<sup>[88]</sup>, pero se ve con mayor frecuencia en los gases<sup>[88]</sup>, por ejemplo, el fenómeno DR de la luz solar en la atmósfera es la principal razón de que el cielo sea azul<sup>[88]</sup>. El color azul del cielo es ocasionado por la dispersión de la luz solar frente a las distintas especies moleculares presentes en la atmósfera<sup>[88]</sup>.

Por otro lado, en la dispersión de hiper rayleigh (HRS), la intensidad de luz emergente, es decir, luz dispersada en todas las direcciones<sup>[89]</sup>, por ejemplo para el SHG ( $I_d(2\omega)$ ), es directamente proporcional al cuadrado de la intensidad de luz incidente ( $I_i^2(\omega)$ )<sup>[89]</sup>. Para entender más a profundidad el fenómeno de HRS, es necesario hacer uso de la descripción fenomenológica y microscópica del mismo.

Desde el punto de vista de la fenomenología, HRS puede describirse como sigue: (i) cuando se hace incidir un campo eléctrico ( $E_i(\omega)$ ) sobre un material, se produce una cierta polarización  $P$  en dicho material, la cual se define como el número de dipolos inducidos por unidad de volumen (véase Figura 36).



**Figura 36:** Polarización del material producto de incidencia de un campo eléctrico externo ( $E_i(\omega)$ ) sobre la superficie del mismo.

Esta polarización  $P$  es definida como:

$$P \propto \chi \cdot E_i \quad \text{Ec. I. 6}$$

donde:

$\chi$  es la susceptibilidad eléctrica del material.

$E_i$  es el campo eléctrico incidente de frecuencia  $\omega$ .

(ii) en primera aproximación  $\chi$  es independiente de  $E_i$  y eso básicamente describe los fenómenos ópticos lineales donde la polarización  $P$  es directamente proporcional a  $E_i$  y  $E_e$ . Por lo tanto para los fenómenos ópticos lineales se define que:

$$P \propto E_i \quad \text{y} \quad P \propto E_e \quad \Rightarrow \quad E_e \propto E_i \quad \text{Ec. I. 7}$$

(iii) sin embargo, si el campo eléctrico fuera muy intenso, entonces  $\chi$  no sería independiente de  $E_i$ , por lo que se definiría la susceptibilidad eléctrica como una función de la magnitud del campo eléctrico incidente:

$$\chi = \chi(E_i) \quad \text{Ec. I. 8}$$

por consiguiente:

$$E_i \propto P \propto \chi(E_i) \quad \text{Ec. I. 9}$$

A mayor intensidad del campo eléctrico ( $Ei$ ), la polarización ( $P$ ) dependerá de forma no lineal con el mismo y en consecuencia se producen los efectos ONL.

La función  $\chi(Ei)$  se desarrolla en una serie de potencia de  $Ei$ , como la que sigue a continuación:

$$\chi(Ei) = \chi^{(0)} + \chi^{(1)}Ei + \chi^{(2)}Ei^2 + \chi^{(3)}Ei^3 + \dots + \chi^{(n)}Ei^n \quad \text{Ec. I. 10}$$

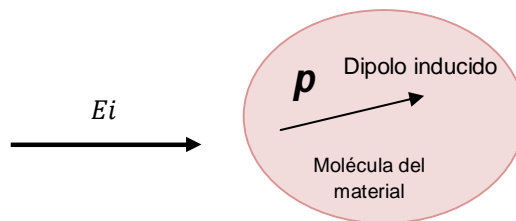
donde:

$\chi^{(0)}$  es la polarización permanente del material, normalmente cero.

$\chi^{(1)}(\omega)$  define los fenómenos lineales.

$\chi^{(2)}(2\omega)$  define los fenómenos no lineales de segundo orden tales como generación del segundo armónico o HR.

Desde el punto de vista microscópico, la dispersión de HR se puede describir como sigue: (i) como se muestra en la Figura 37; cuando se somete una molécula del material a un campo eléctrico externo  $Ei$ , se produce un fenómeno conocido como dipolo inducido,  $p$ . Los dipolos inducidos se manifiestan cuando al someter a una molécula neutra, a campos del tipo magnéticos, tiene efectos sobre la carga de la molécula. Las cargas negativas se concentraran en un punto y las positivas en otro opuesto generando así un dipolo.



**Figura 37:** Dipolo inducido  $p$  producto del sometimiento de una molécula del material a un campo eléctrico externo  $Ei$ .

Ese dipolo inducido  $p$  se define como:

$$p = \alpha.Ei \quad \text{Ec. I. 11}$$



donde:

$\alpha$  es la polarizabilidad.

$E_i$  es campo eléctrico incidente.

(ii) entonces, para describir los fenómenos ópticos lineales incoherente se define:

$$p = \alpha(E_i).E_i \quad \text{Ec.I. 12}$$

Al igual que  $\chi(E_i)$ ,  $\alpha(E_i)$  se desarrolla en serie de potencia de  $E_i$  como la siguiente a continuación:

$$\alpha(E_i) = \alpha E_i + \beta E_i^2 + \gamma E_i^3 + \dots \quad \text{Ec.I. 13}$$

donde:

$\alpha$  define la polarizabilidad lineal.

$\beta$  define la polarizabilidad no lineal de segundo orden o también conocido como primera hiperpolarizabilidad.

Cuantificar el valor de  $\beta$  de las Nps de oro con y sin funcionalización que se sintetizaran vía ablación láser, será uno de los objetivos de este trabajo de investigación. Primeramente, para entender el procedimiento a seguir para lograr dicho objetivo, es necesario exponer la siguiente ecuación:

$$I_{2\omega} = G (Ns\beta s^2 + Na\beta a^2)I_{\omega}^2 \quad \text{Ec.I. 14}$$

Como ya se mencionó en la Sección 1.7.3.a, la intensidad de luz emergente (luz dispersada en todas las direcciones o señal de HRS) es directamente proporcional al cuadrado de la intensidad de luz incidente ( $I^2(\omega)$ ).

donde:

$I_{2\omega}$  es la intensidad de la luz dispersada o señal de HRS.

$G$  Es un factor de proporcionalidad que depende de la dispersión geométrica y factores instrumentales del equipo donde se mide la señal de HRS.

$N_s$  Y  $N_a$  son los parámetros que definen el número de partículas del solvente o medio ambiente donde se encuentran el analito (en este caso agua) y el número de partículas del analito (en este caso las Nps de oro), respectivamente.

$\beta_s$  Y  $\beta_a$  son los valores de la primera hiperpolarizabilidad del solvente (agua) y del analito (Nps de oro), respectivamente.

$I_\omega$  Es la intensidad de la luz incidente o señal de referencia.

No obstante, para sistemas de moléculas o nanoestructuras que muestran absorción a  $2\omega$ , se deben hacer ciertas modificaciones:

$$I_{HRS} = G (N_s B_s^2 + N_a \beta_a^2) \exp(-[A_\Omega + 2A_\omega]) (I^2 \omega) \quad Ec. I. 15$$

donde:

$A_\Omega$  y  $A_\omega$  son las absorbancias de la solución acuosa de Nps de oro a las frecuencias armónicas de 532 nm y fundamental de 1064 nm.

Adicionalmente se sabe que la absorbancia a la frecuencia armónica (532 nm) y a la frecuencia fundamental (1064 nm), siendo la primera de ellas la que ejerce mayor contribución, están dadas por la siguiente ecuación:

$$A_i = \sigma_i N_c l \quad Ec. I. 16$$

donde:

$i = \Omega$  o  $\omega$  y  $l$  es la longitud de la celda que contiene el analito (solución de Nps de oro).

$\sigma_i$  Es el coeficiente de absortividad molar de una Nps de oro solitaria a la frecuencia armónica o fundamental.

$N_c$  Es el número de Nps de oro presentes en la solución.

Considerando ambas ecuaciones para la intensidad de HRS (*Ec. 14 y 15*), y además tomando en cuenta que existen valores de  $\beta$  reportados en la literatura para varios tipos de sustancias, por ejemplo, úrea, m-NA, p-NA, etc.; el valor de  $\beta$  de las Nps de oro sin funcionalización ( $Nps_{Au}$ ) se puede obtener a partir de las siguiente ecuación:

$$\frac{I_{2\omega (Nps Au)}}{I_{2\omega (p-NA)}} = \frac{G (Ns\beta s^2 + Nnps\beta nps^2)I^2\omega}{G (Ns\beta s^2 + Npna\beta pna^2)I^2\omega} \quad Ec. I. 17$$

En la literatura se reportan valores muy pequeños de  $\beta$  para el solvente (agua),  $0.56 \times 10^{-30}$  esu<sup>[90]</sup>, por lo que en general, se considera despreciable frente al valor de  $\beta$  de las Nps de oro no funcionalizadas. Entonces, la Ec. 17 queda como sigue:

$$\frac{I_{2\omega (Nps Au)}}{I_{2\omega (p-NA)}} = \frac{Nnps\beta nps^2}{Npna\beta pna^2} \quad Ec. I. 18$$

Igualmente, el valor de  $\beta$  de las Nps de oro funcionalizadas ( $Nps_{Au-Fun}$ ) se puede obtener de la misma manera que en la Ec.17:

$$\frac{I_{2\omega (Nps Fun)}}{I_{2\omega (Nps)}} = \frac{G (Ns\beta s^2 + Nnpsfun\beta npsfun^2)I^2\omega}{G (Ns\beta s^2 + Nnps\beta nps^2)I^2\omega} \quad Ec. I. 19$$

Considerando que el valor de  $\beta$  del agua es despreciable frente al valor de  $\beta$  de las Nps de oro funcionalizadas, la Ec. 19 queda como sigue:

$$\frac{I_{2\omega (Nps Fun)}}{I_{2\omega (Nps)}} = \frac{Nnpsfun\beta npsfun^2}{Nnps\beta nps^2} \quad Ec. I. 20$$

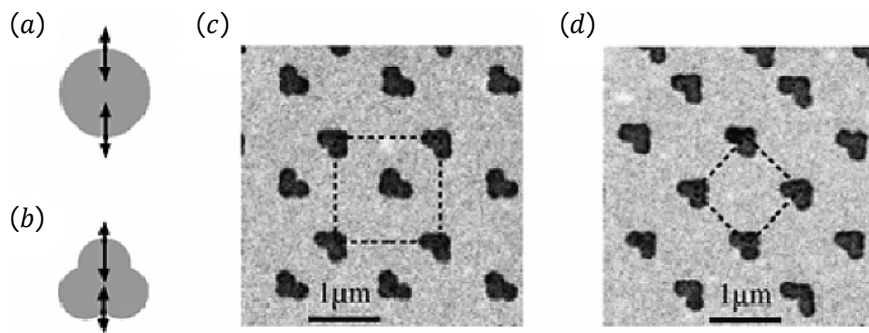
Finalmente, a través de las Ec. 18 y 20, se pueden conocer los valores correspondientes de la primera hiperpolarizabilidad de las Nps de oro con y sin modificación.

### I.7.3.b. Fenómenos Ópticos No Lineales (FONL) en Nps Metálicas según su Simetría

Como se describió previamente en la Sección I.4.1., RPS en Nps metálicas puede considerarse una primera aproximación de un modelo de oscilador simple<sup>[91]</sup>, donde los electrones libres de la nanopartícula se desplazan de forma coherente con respecto a los iones metálicos de fondo por la acción de un campo electromagnético aplicado<sup>[91]</sup>. En el caso de las Nps, al incidir el campo externo, produce una acumulación de carga en la superficie de las Nps, este exceso de

carga actúa como una fuerza restauradora, la cual responde linealmente al desplazamiento de la nube electrónica sólo a bajas intensidades del campo<sup>[91]</sup>. También como se mencionó en las Secciones I.4.1 y I.7.3.a, a mayor intensidad del campo, la fuerza restauradora y la polarización depende no linealmente del mismo<sup>[91]</sup> y los efectos ONL en consecuencia se producen.

No obstante, para explicar los efectos ONL en Nps metálicas, no solo hay que tomar en consideración la dependencia de la fuerza restauradora y la polarización con el campo electromagnético externo aplicado<sup>[92]</sup> sino que también hay que distinguir cualitativamente la interacción entre el campo y la forma o simetría de las Nps<sup>[92]</sup>. En principio, existen dos formas de Nps metálicas a tomar en cuenta; centrosimétricas<sup>[92]</sup> y no centrosimétricas<sup>[92]</sup> (véase Figura 38).



**Figura 38:** FONL en Nps metálicas según su simetría; (a) para Nps centrosimétricas, la fuerza restauradora y la polarización son simétricas y sólo linealidades de orden impar están permitidas, (b) para Nps no-centrosimétricas, la fuerza restauradora y la polarización son no-simétricas y además de las linealidades de orden impar, también las linealidades de orden par existen, (c) microfotografía electrónica de una matriz centrosimétrica de Nps no-centrosimétricas, (d) matriz no-centrosimétrica de Nps no-centrosimétricas<sup>[92]</sup>.

Para Nps centrosimétricas<sup>[92]</sup> (la partícula es simétrica con respecto a un centro de inversión), la fuerza restauradora y la polarización de las partículas en función de la aplicación de un campo electromagnético externo, se comportan totalmente simétricas alrededor del centro de la partícula<sup>[92]</sup> (ver Figura 38(a)). Cuando un campo armónico excita a tal tipo de oscilador, la polarización anarmónica dará lugar a la dispersión de la onda de excitación (fundamental) y la emisión de ondas con una frecuencia múltiple de número impar de la frecuencia fundamental (tercero, quinto armónicos, etc.)<sup>[92]</sup>. Para Nps no-centrosimétricas<sup>[92]</sup> (la partícula es no-simétrica con respecto a un centro de inversión), la fuerza

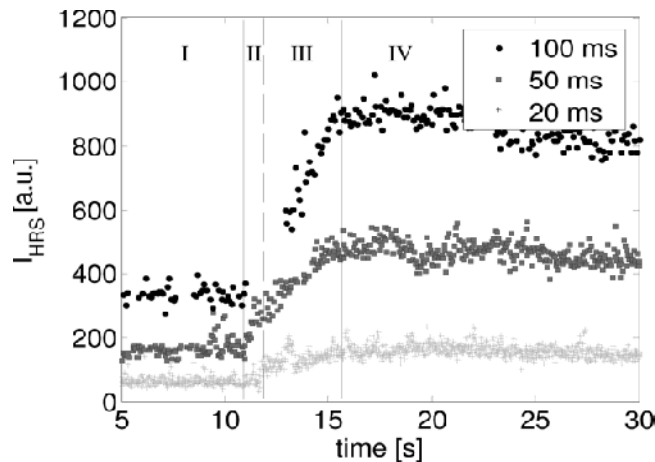
restauradora y la polarización de las partículas en función de la aplicación de un campo electromagnético externo, se comportan totalmente no-simétricas alrededor del centro de la partícula<sup>[92]</sup> (ver Figura 38(b)). Adicionalmente a los armónicos impares, las ondas armónicas (segundo, cuarto, etc., armónicos, prevaleciendo el segundo armónico) serán emitidas (dispersadas) por la partícula<sup>[92]</sup>. Es importante señalar, que no sólo las partículas, pero también la matriz en la que ellas se disponen deben mantener una forma no-centrosimétrica para producir efectos ONL<sup>[92]</sup> (véase Figuras 38(c) y (d)). En resumen, para poder observar los FONL o la dispersión de HR es necesario que el sistema de partículas de tamaño nanométrico y la matriz que las contengan posea condiciones estrictamente de no-centrosimetría<sup>[92]</sup>.

### I.7.3.c. Ventajas y Usos de HRS

Con respecto a otras técnicas, HRS parece ser la técnica más prometedora para el estudio de la hiperpolarizabilidad  $\beta$  de sistema de Nps, debido a su carácter incoherente y porque además el diámetro de las partículas por debajo de 5 nm no darían lugar a señales medibles por otros métodos<sup>[94]</sup>. HRS ofrece muchas otras ventajas; (i) se puede realizar en fase líquida sin la necesidad de aplicación de un campo eléctrico externo oscilante<sup>[94]</sup> y (ii) es superior respecto a otras técnicas para medir el valor de  $\beta$ , entre las que destacan el “campo eléctrico inducido por la generación de segundo armónico” (EFISHG)<sup>[94]</sup>. Desde que se comprobó que la técnica es ambas experimental y teóricamente mucho más simple y más ampliamente aplicable que otras técnicas, como la EFISHG, esta se convirtió en la técnica por escogencia para la determinación de la primera hiperpolarizabilidad de una amplia línea de cromóforos sintetizados<sup>[94]</sup>. En un experimento de EFISHG, la anisotropía de la muestra es inducida por la polarización de la muestra en un campo eléctrico, condiciones inadecuadas para los análisis de especies cargadas o no dipolares<sup>[94]</sup>. HRS no está limitada por estas restricciones e incluso se ha utilizado para investigar moléculas iónicas y no dipolares<sup>[94]</sup>.

HRS ha sido utilizado con éxito para estudiar propiedades ONL de cromóforos cargados<sup>[95]</sup>, cromóforos no dipolares<sup>[95]</sup>, y proteínas disueltas en medios isotrópicos<sup>[95]</sup> y, más recientemente, Nps semiconductoras<sup>[95]</sup>. HRS sirve no solo

para estudiar la dependencia de las señales ONL con el tamaño de las Nps sino que también permite investigar las etapas de formación de Nps metálicas en solución tanto acuosas como orgánicas<sup>[96]</sup>. De hecho, *Segets D., et al.*<sup>[96]</sup> emplearon HRS para resolver la cinética y supervisar las etapas en la formación de Nps de ZnO en etanol<sup>[96]</sup> (véase Figura 39). Este grupo de investigadores puso de manifiesto que no solo HRS sirve como una técnica eficiente para cuantificar  $\beta$  de Nps en solución<sup>[96]</sup> sino que también funciona como una técnica para monitorear las etapas involucradas en la síntesis de las mismas<sup>[96]</sup>.



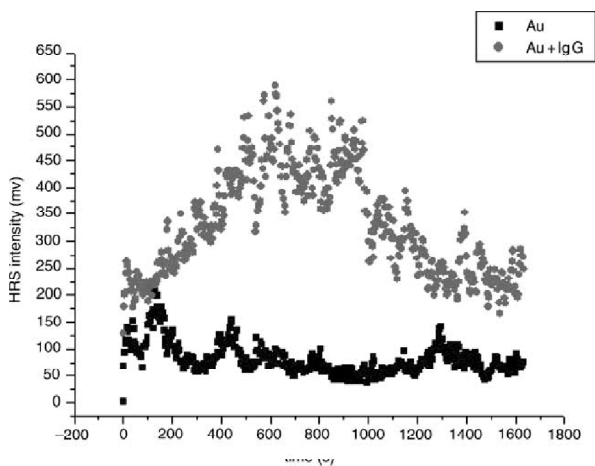
**Figura 39:** Señal de HRS de Nps de ZnO en el tiempo, a tres diferentes resoluciones de tiempo; (●) 100 ms, (■) 50 ms y (+) 20 ms. Cuatro regiones pueden distinguirse: (I) reactivos, (II) nucleación, (III) crecimiento y (IV) maduración<sup>[96]</sup>.

La gran sensibilidad de HRS frente al tamaño de las partículas y sus concentraciones le permitieron a *Segets D., et al.*<sup>[96]</sup> demostrar la capacidad de HRS para estudiar desde las primeras etapas de la síntesis de Nps de ZnO<sup>[96]</sup>, incluyendo nucleación<sup>[96]</sup>, crecimiento<sup>[96]</sup>, hasta la etapa final de maduración<sup>[96]</sup>.

#### I.7.3.d. Estudio de las Propiedades Ópticas No Lineales (ONL) de Nps de Oro a través de la Dispersión de Hiper Rayleigh (HRS)

Respecto al estudio de las propiedades ONL de Nps metálicas mediante HRS, pocas investigaciones han sido reportadas. Sin embargo, uno de los trabajos más extensos fue el realizado por *Zhang C. X., et al.*<sup>[97]</sup> quienes estudiaron las propiedades ONL de Nps de oro funcionalizadas con una proteína anti-humana de cabra (IgG) mediante HRS y la posible aplicación de estos sistemas en la

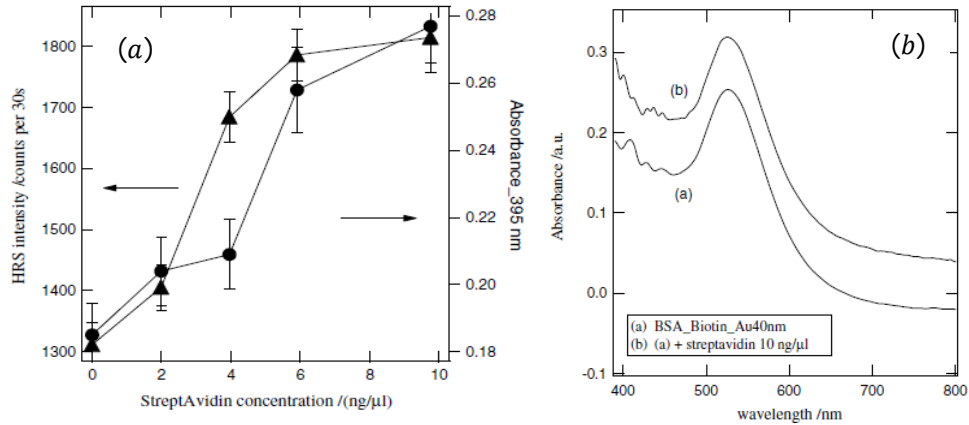
determinación de IgG humana en muestras acuosas<sup>[97]</sup>; reportando que las señales del HRS de los complejos IgG-Nps de oro fueron mayores que las señales de las Nps de oro no funcionalizadas; fenómeno que se explicó en base al efecto no-centrosimétrico<sup>[97]</sup> (Figura 40) y considerando que la intensidad de la señal de HRS era dependiente del tamaño de las Nps, estado de la superficie de las Nps, y la situación de agregación de las Nps<sup>[97]</sup>.



**Figura 40:** Señales de HRS de Nps de oro e IgG-Nps de oro medidas a 532 nm. Justo después de añadir IgG a las soluciones de Nps de oro; el número de conjugados no-centrosimétricos de Nps-IgG incrementa con el tiempo, por lo que la señal de HRS incrementa también. Pero a medida que pasa el tiempo, las Nps de oro continúan absorbiendo moléculas de IgG llegando a un punto de saturación, causando una disminución de los conjugados no-centrosimétricos, decreciendo la señal de HRS<sup>[97]</sup>.

Otros resultados parecidos a los de *Zhang C. X., et al.*<sup>[97]</sup> son los reportados por *Russier-Antoine I., et al.*<sup>[98]</sup> quienes también investigaron mediante la técnica de HRS la respuesta de la generación del segundo armónico (GSH) de Nps de oro cubiertas con proteínas de albúmina de suero bovino biotina (BSA-biotina)<sup>[98]</sup> y posteriormente modificadas por agregación inducida por adición de otra proteína (Streptavidina)<sup>[98]</sup>, la cual tiene alta afinidad con la biotina. El propósito de *Russier* era verificar si la técnica de HRS se podría usar como una herramienta para la detección de pequeños niveles de agregación de partículas metálicas en muestras líquidas. *Russier-Antoine I., et al.*<sup>[98]</sup> encontraron al igual que *Zhang C. X., et al.*<sup>[97]</sup>, altas intensidades de las señales de HRS proveniente de las Nps de oro modificadas<sup>[98]</sup> (Figura 41(a)), fenómeno que se atribuyó a la agregación de las Nps de oro a través de la unión de la BSA-biotina y Streptavidina<sup>[98]</sup>. Además,

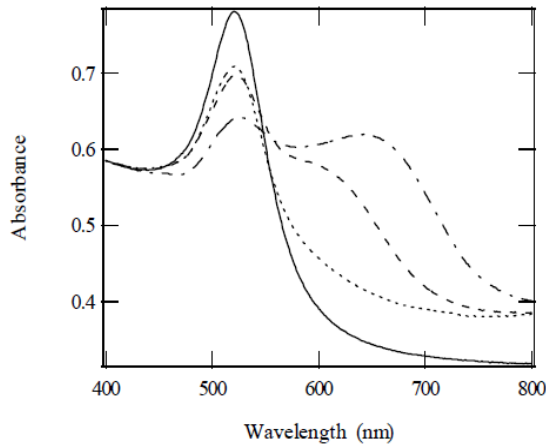
observaron una banda de RPS a 520 nm para los complejos BSA-biotin-Nps de oro<sup>[98]</sup>, reportando que después de la adición de Streptavidina a la concentración de 10 ng/μl, un importante aumento de la absorbancia se manifestaba sin ningún cambio importante en la forma del espectro<sup>[98]</sup>, ocasionado por un aumento pequeño de la constante dieléctrica del medio ambiente en el que se hallan las Nps de oro<sup>[98]</sup> (Figura 41(b)).



**Figura 41:** (a) Señal de la intensidad de HRS y absorbancia de los complejos BSA-biotin-Nps de oro de 40 nm de diámetro en función de la concentración de Streptavidina, (b) Espectro de absorción de complejos BSA-biotin-Nps de oro con y sin adición de Streptavidina<sup>[98]</sup>.

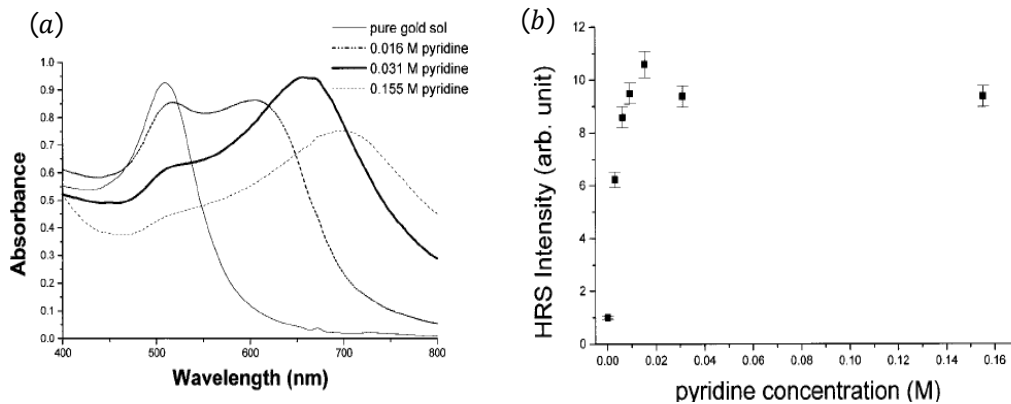
Por su lado, *Rouillat M-H., et al.*<sup>[99]</sup> realizaron un estudio de las señales de HRS de soluciones de Nps de oro de 20 nm de diámetro<sup>[99]</sup>, las cuales fueron recogidas a la longitud de onda armónica de 532 nm, reforzada por la excitación de los PS de las Nps. El propósito de *Rouillat* era medir la magnitud de la hiperpolarizabilidad  $\beta$  de las Nps de oro y evaluar los efectos de la modificación de la forma de estas Nps por agregación sobre los espectros de absorbancia UV-Vis, dicha agregación fue inducida por adición de piridina (Py) a las soluciones de Nps de oro, dando como resultado grandes nano-conjuntos con formas no esféricas<sup>[99]</sup>. *Rouillat M-H., et al.*<sup>[99]</sup> llegó a cuantificar y reportar la magnitud del tensor  $\beta$  de una sola Nps en  $15.3 \pm 2.3 \times 10^{-25}$  esu<sup>[99]</sup>. Incluso, reportó grandes valores de  $\beta$  para Nps de oro solitarias; explicando que grandes señales de HRS son atribuidas a la excitación de PS de las Nps<sup>[99]</sup>. Igualmente, señaló que existían desplazamientos de la banda de absorción de las Nps de oro a medida que la [Py] aumentaba<sup>[99]</sup>, tal como se demuestra en la Figura 42.





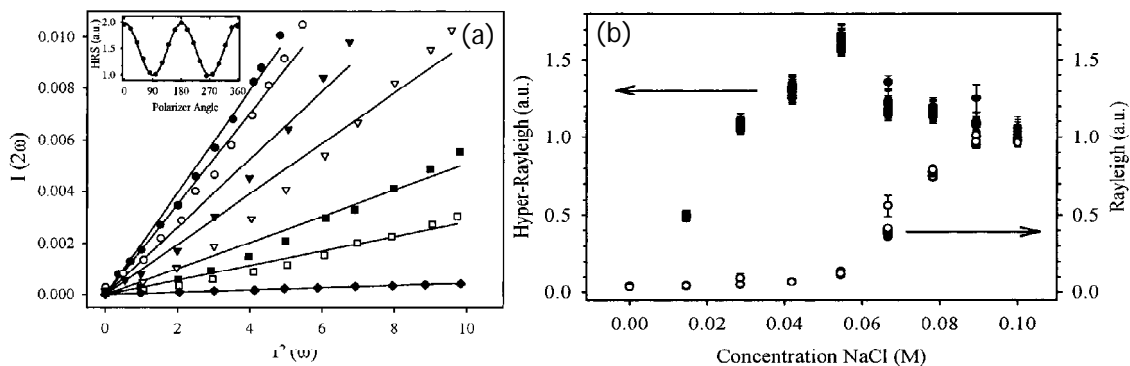
**Figura 42:** Espectro de absorción de Nps de oro en función de la [Py]; curva continua (no Py), curva de puntos y rayas (0.25 M), curva de rayas (0.30 M) y curva punteada (0.33 M)<sup>[99]</sup>.

Resultados similares han sido reportados por otros investigadores, tales como *Galleto P., et al.*<sup>[100]</sup> los cuales estudiaron los perfiles de extinción y las señales de HRS de Nps de oro de 22 nm de diámetro en presencia de Py<sup>[100]</sup>; señalando que un fuerte aumento de la señal de HRS se observa en presencia de grandes cantidades de Py<sup>[100]</sup> (Figura 43(a)), debido principalmente a que las señales de HR experimentan cierto tipo de ganancias gracias a la formación de grandes agregados<sup>[100]</sup>, es decir, la adsorción de la Py sobre las Nps de oro mejoraba sustancialmente el rendimiento general de la señal del segundo armónico proveniente de esas Nps. Así mismo, *Galleto P., et al.*<sup>[100]</sup> observaron desplazamientos de la banda de RPS (520 nm) de Nps de oro pura (sin Py) a medida que aumenta la [Py], desapareciendo por completo a una concentración de 0.155 M de Py<sup>[100]</sup> (Figura 43(b)); explicando posteriormente que esos resultados se derivaban de la agregación de las Nps por la adición de Py. Por otro lado y más recientemente, *Galleto P., et al.*<sup>[100]</sup> también han reportado una acusada dependencia del tensor  $\beta$  con el diámetro promedio de las Nps de oro<sup>[100]</sup>.



**Figura 43:** (a) Espectro de absorción de Nps de oro a diferentes [Py], (b) señales de HRS en función de la [Py]<sup>[100]</sup>.

Por último, otra importante investigación es la de *Vance F. W., et al.*<sup>[101]</sup> quienes utilizaron HRS para investigar suspensiones acuosas coloidales de Nps de oro de 13 nm de diámetro en términos de su hiperpolarizabilidad<sup>[101]</sup>. Demostraron que la respuesta del HRS ( $I(2\omega)$ ) y el cuadrado de la intensidad de la luz incidente ( $I^2(\omega)$ ), usando Nps de oro de 13 nm de diámetro a diferentes concentraciones, son lineal y directamente proporcionales<sup>[101]</sup> (Figura 44(a)) y demostraron que las señales de HRS son mucho más sensibles, que la dispersión de Rayleigh (DR), frente a procesos de agregación inducidos por la adición de solución acuosa de NaCl<sup>[101]</sup>. En efecto, reportaron que la intensidad de HRS es mucho mayor que la intensidad de DR a medida que la [NaCl] incrementaba, ocasionado por la formación de grandes agregados de Nps<sup>[101]</sup> (Figura 44(b)).



**Figura 44:** (a) Dependencia de la señal de HRS en función del cuadrado de la intensidad incidente para varias concentraciones de Nps de oro; (●)  $2.1 \times 10^{17} \text{ cm}^{-3}$ ; (○)  $8.4 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$ ; (▼)  $4.2 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$ ; (◇)  $2.1 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$ ; (■)  $8.4 \times 10^{15} \text{ cm}^{-3}$ ; (□)  $4.2 \times 10^{15} \text{ cm}^{-3}$ ; (b) Efecto de la adición de NaCl sobre la intensidad de las señales de HRS y DR<sup>[101]</sup>.

## CAPITULO II

---

### OBJETIVOS

#### II.1 Objetivos Generales

Generar Nps de oro funcionalizadas con óptimas propiedades ópticas no lineales (ONL) y cromáticas.

#### II.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar Nps de oro en una solución acuosa de dodecil sulfato de sodio (SDS) vía ablación láser. Determinar la influencia de ciertas variables experimentales de la ablación láser, tales como concentración del surfactante, irradiancia del láser y tiempo de ablación, sobre los espectros de absorción, distribución de tamaños y propiedades ONL de dichos complejos Nps de oro-SDS.
- Sintetizar y funcionalizar “in-situ” Nps de oro en una mezcla de soluciones de SDS y fluoróforo (SDS-Disodiofluoresceína (DSF) o SDS-Rodamina B (RB)) vía ablación láser.
- Estudiar el efecto de la funcionalización sobre las propiedades ONL, la forma y distribución de los tamaños de las Nps obtenidas y espectros de UV-Vis.
- Estudiar los cambios en la emisión de fluorescencia la DSF y RB al ponerlas en contacto con soluciones de Nps de oro.
- Estudiar y cuantificar el tensor  $\beta$  de los complejos Nps de oro-SDS no funcionalizados y de los complejos Nps de oro-SDS-DSF y Nps de oro-SDS-RB.
- Caracterizar las Nps de oro funcionalizadas y no funcionalizadas, por espectroscopía UV-Vis, espectroscopía de fluorescencia, dispersión dinámica de luz

(DLS), dispersión de hiper rayleigh (HRS) y microscopía electrónica de transmisión (TEM).

## CAPITULO III

---

### METODOLOGIA EXPERIMENTAL

#### III.1 MATERIALES

##### III.1.1 Solventes

- Agua destilada y Agua Desionizada 18mΩ
- Etanol absoluto 99.8% (Riedel-de Häen)
- Metanol absoluto 99.8% (Riedel-de Häen)

##### III.1.2 Reactivos

- Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) 95% (Scharlau SO 0450)
- Placas de oro
- Disodiofluoresceína. PM = 412,31 g/mol
- Urea 99.8% (Riedel-de Häen)
- p-Nitroanilina (p-NA) 99.8% (Riedel-de Häen)
- m-Nitroanilina (m-NA) 99.8% (Riedel-de Häen)

##### III.1.3 Equipos e Instrumental

- Laser Nd:YAG, aluminio dopado con neodimio y granate de itrio; Nd:  $Y_3Al_5O_{12}$  modelo Continuum Surelite, con pulsos de 8 ns de duración, frecuencia de 10 Hz, de longitud de onda variable: fundamental ( $\lambda=1064$  nm), segundo armónico ( $\lambda= 532$  nm), y tercer armónico ( $\lambda=355$  nm).
- Medidor de energía. Coherent J50, modelo FieldMax II Top.
- Espectrómetro UV-Vis Ocean Optics Inc., modelo LS-I.
- Equipo de Dispersión Dinámica de Luz.
- Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM).
- Equipo de Fluorescencia. Rango de emisión del LED: (410 +/- 10) nm.

##### III.1.4 Otros Materiales

- Espejos dicróicos.
- Lentes acromáticas.

- Celdas de vidrio, cuarzo y plástico.
- Filtro millipore de 0.45  $\mu\text{m}$  (Advantec CS045AS)
- Viales transparentes, pipetas, fiolas, beakers y balones aforados.

### III.2 OBTENCION DE NPS DE ORO POR ABLACIÓN LASER

#### III.2.1 Preparación de las Muestras

Para la estabilización de las Nps de oro generadas por ablación láser, se empleó Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) como surfactante. Se prepararon soluciones de SDS de diferentes concentraciones, las cuales se pueden apreciar en la Tabla N° 1.

**Tabla N° 1:** Concentraciones preparadas de soluciones acuosas de SDS.

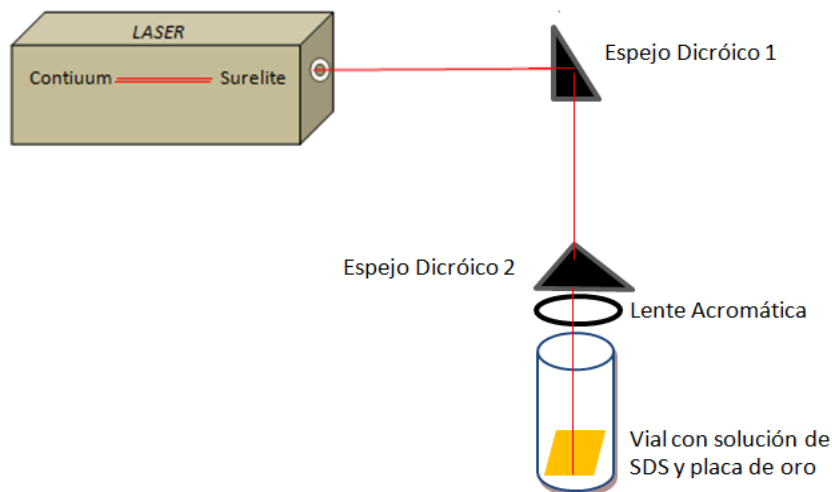
<b>Solvente Usado</b>	<b>Concentración de SDS (mol/L)</b>
Agua desionizada 18m $\Omega$	0.0045
Agua desionizada 18m $\Omega$	0.045
Agua desionizada 18m $\Omega$	0.09
Agua desionizada 18m $\Omega$	0.18
Agua desionizada 18m $\Omega$	0.36

Los viales y todo el material de vidrio, se lavan con etanol y se secan apropiadamente. Antes de añadir la solución de SDS en el vial, es necesario filtrarla, para ello se usa un filtro millipore de 0.45  $\mu\text{m}$  y una jeringa que se ajusta al mismo. También la placa de oro se lava con etanol y se deja secar antes de colocarla en el vial. Luego, en un vial limpio y seco, se coloca una placa pequeña de oro acompañada de 4.5 ml de la solución acuosa previamente filtrada de SDS. Es importante destacar, que no se debe agregar menos de 4.5 ml de SDS porque de lo contrario se corre el riesgo de posible evaporación del solvente debido a la ablación, afectando el camino óptico del láser hacia la placa de oro.

#### III.2.2 Montaje Experimental

Para la generación de las Nps de oro en solución acuosa a partir de placas de oro, se empleó la técnica de la ablación láser (véase Figura 45). En dicho

montaje se puede apreciar como el haz del láser incide sobre la placa de oro colocada dentro del vial de ablación.



**Figura 45:** Montaje experimental para la generación de Nps de oro por ablación láser; el segundo espejo dicróico está colocado a 45° y la lente acromática es usada para enfocar el haz sobre la placa de oro.

Para la remoción de material de la placa de oro, se empleó un láser pulsado de Nd:YAG, cuyas características se muestran en la Tabla N° 2.

**Tabla N° 2:** Características del láser Nd:YAG Continuum Surelite<sup>[102]</sup>.

Longitud de onda (nm)	1064	532	355
Energía (mJ)	650	300	100-160
Tiempo del pulso (ns)	5-7	4-6	4-6
Estabilidad	2.5%	3.5%	4.5%
Frecuencia de Repetición (Hz)	10	10	10

Como se aprecia en la Tabla N° 2, el láser pulsado usado puede generar radiación láser a tres diferentes longitudes de onda correspondientes a tres regiones del espectro electromagnético. En nuestro caso, se empleó radiación a 1064 nm debido a que a esa longitud de onda nos proporciona una energía suficiente como

para arrancar material de la placa de oro y así generar las Nps de oro. Es importante resaltar que, en el montaje de la Figura 45, el primer espejo dicróico fue colocado de tal manera que orienta el haz del láser directamente al segundo espejo dicróico, el cual fue colocado a 45° del plano de incidencia del haz sobre la placa, así mismo la lente acromática con una distancia focal de 5 cm, fue colocada de tal manera que enfocara el haz del láser directamente sobre la placa de oro.

### III.2.3 Determinación de la Irradiancia

Antes de comenzar el proceso de ablación, siempre es importante determinar la irradiancia ( $I$ ) del haz sobre la superficie de la placa de oro. Para ello, una vez estabilizado el láser por espacio de unos 30 minutos, se mide la energía de cada pulso del haz del láser usando un medidor de energía (Coherent J50, modelo FieldMax II Top). Luego, se determina el área del spot del láser colocando una lámina de sílice justo en el lugar donde se está enfocando el haz para la ablación y disparando un pulso sobre esta.

Entonces, una vez conocida la energía promedio de cada pulso, la duración de cada pulso y el área del spot del láser, se puede determinar la ( $I$ ) que está incidiendo sobre la placa de oro mediante la siguiente expresión:

$$I = \frac{\text{Energía del pulso (mJ)}}{\text{tiempo del pulso(seg)} \cdot \text{área del spot (cm}^2\text{)}} \quad \text{Ec. III. 1}$$

Se emplearon diferentes densidades de potencias del láser, las cuales se pueden apreciar en la Tabla N° 3.

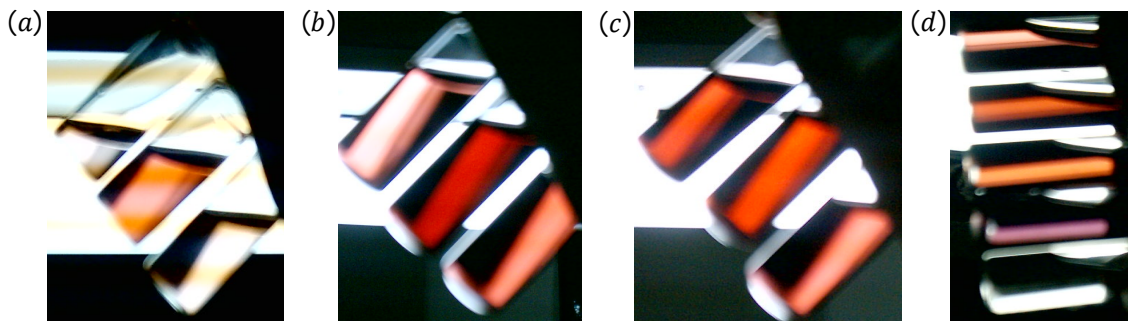


**Tabla N° 3:** Valores de irradiancias que se emplearon para la generación de Nps de oro vía ablación láser.

Energía Promedio (mJ)	Diametro del Spot (mm)	Tiempo del Pulso (ns)	I (GW/cm <sup>2</sup> )
77.62	0.40	8	1.23
80.40	0.45	8	1.27
80.90	0.48	8	1.29
84.00	0.55	8	1.34
117.40	0.75	8	1.88
135.00	1.00	8	2.14

### III.2.4 Ablación Láser sobre la Placa de Oro

Una vez determinada la  $I$ , se coloca el vial con la lámina de oro en la zona donde se encuentra enfocado el haz y se deja disparando el láser durante 15 minutos. Este tiempo de ablación es medido con un cronómetro. A medida que el láser incide sobre la placa de oro, se observa que la solución cambia de incolora a rosada, lo que indica la presencia de Nps en el medio, tal como se muestra en la Figura 46.



**Figura 46:** Soluciones acuosas de complejos Nps de oro-SDS, en donde se observa una variada gama de tonalidades de color rosado, de arriba hacia abajo: (a) Nps de oro usando diferentes valores de irradiancia (1.27, 1.29 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>) y una [SDS] de 0.045M, (b) Nps de oro cambiando la [SDS] (0.045, 0.09 y 0.18 M) y usando una irradiancia de 1.88 GW/cm<sup>2</sup>, (c) Nps de oro cambiando la [SDS] (0.045, 0.09 y 0.18 M) y usando una irradiancia de 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y (d) Nps de oro cambiando la [SDS] (0.0045, 0.045, 0.09, 0.18 y 0.36 M) y usando una irradiancia de 1.34 GW/cm<sup>2</sup>.

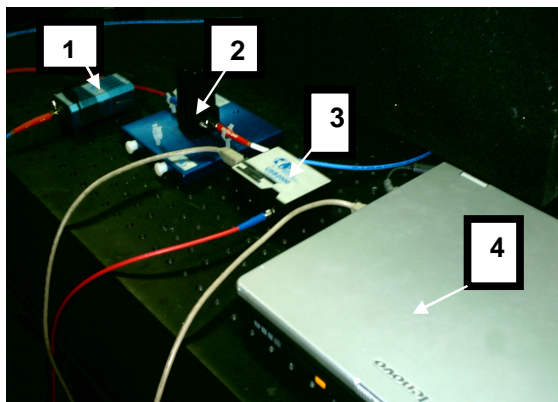
Una vez finalizada la ablación se retiraba el vial y se trasvasa la solución de las Nps a un vial limpio y previamente seco. Por último, el vial de la ablación y la lámina de oro se lavaban con etanol, y se guardaban para ser empleados posteriormente.

### III.3 CARACTERIZACION DE NPS DE ORO

Una vez generadas las Nps de oro, estas fueron caracterizadas por Espectroscopía de UV-Vis, Dispersión Dinámica de Luz, Dispersión de Hiper Rayleigh y Espectroscopía de Fluorescencia. Además, solo para algunas de las Nps se les caracterizo por Microscopía Electrónica de Transmisión.

#### III.3.1 Espectroscopía UV-Vis

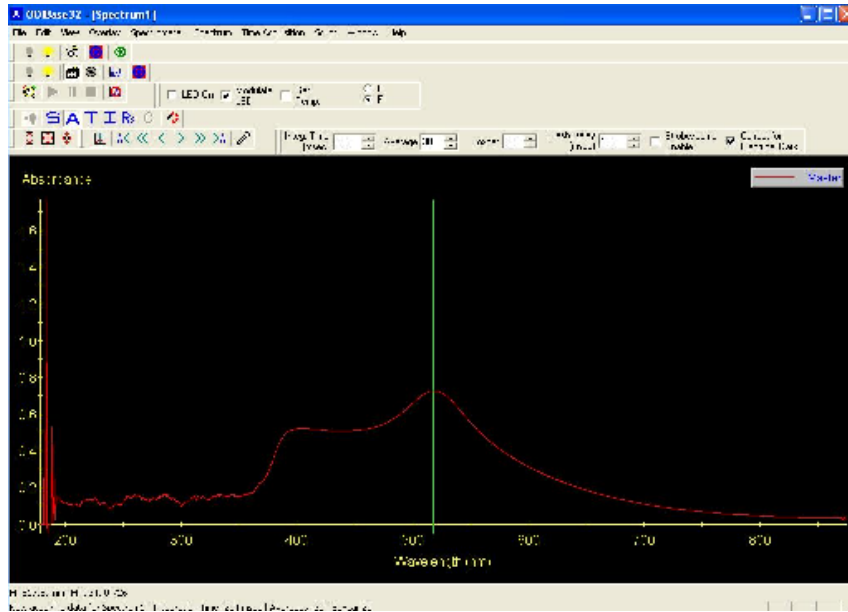
Para la caracterización de las Nps de oro generadas por ablación láser mediante espectroscopia UV-Vis, se requirió de un espectrofotómetro, el cual nos proporciona información acerca de la intensidad del máximo de absorbanca, la longitud de onda del máximo de absorbanca y la forma de los espectros de absorción de las Nps de oro generadas. El equipo empleado fue un Espectrofotómetro de UV-Vis Ocean Optics, modelo LS-I y el programa utilizado para la adquisición de datos fue el OOI Base32, v2.0.1.4 (véase Figura 47).



**Figura 47:** Elementos del equipo empleado para la obtención de espectros de absorción UV-Vis de las Nps de oro generadas; (1) lámpara de tungsteno de Ocean Optics Inc., (2) porta muestra, (3) espectrómetro UV-Vis USB 2000 Ocean Optics Inc., (4) computadora para la adquisición de la data.

Inicialmente, se tapa el camino óptico de la lámpara para tomar el negro y luego se realizan medidas de los espectros de las soluciones acuosas de SDS sin Nps de oro, para tomar los respectivos blancos. Posteriormente, se cambia y se coloca otra celda que contiene la muestra de Nps de oro. Para ello, se agrega 2 ml de solución de Nps de oro en una cubeta de cuarzo de 1 cm de ancho y se guarda

el espectro de absorción obtenido. La Figura 48 muestra un espectro característico de Nps de oro registrado en el programa de OOI Base32, v2.0.1.4.

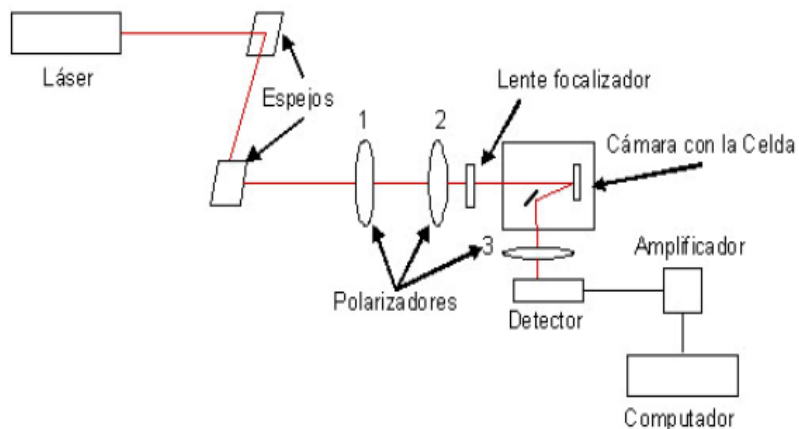


**Figura 48:** Espectro de absorbancia de Nps de oro presentes en solución acuosa de SDS.

Es importante destacar que, antes de colocar estas celdas de cuarzo en el camino óptico de la lámpara, se limpian adecuadamente de manera de minimizar posibles interferencias.

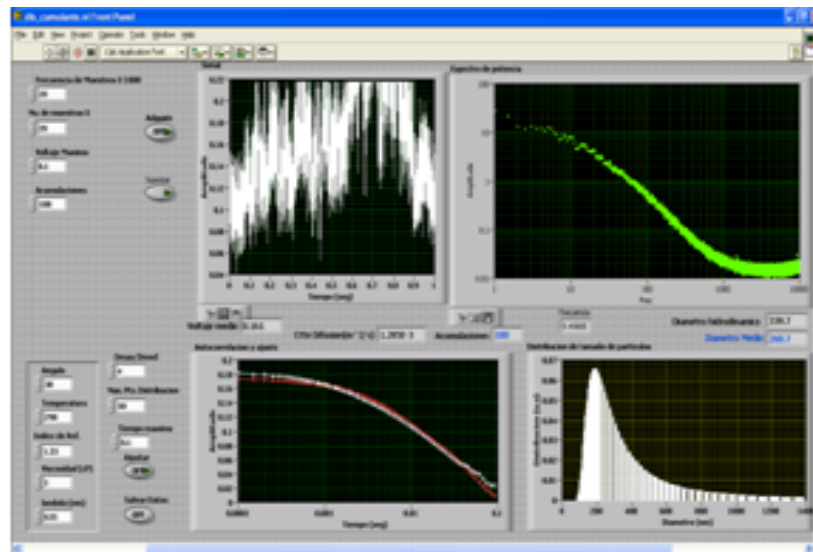
### III.3.2 Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

Para la caracterización de las Nps de oro generadas por ablación láser a través de la dispersión dinámica de luz, se empleó un equipo de DLS diseñado en el Laboratorio de Espectroscopía Láser de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela (véase Figura 49). Esta caracterización permite obtener datos acerca de la distribución de las Nps de oro y el diámetro promedio de dicha distribución.



**Figura 49:** Diagrama del equipo de Dispersión Dinámica de Luz (DLS) empleado para la obtención de la distribución de las Nps de oro y el diámetro medio de dicha distribución.

Para realizar la medición, se enciende primeramente el láser, se coloca la celda que contiene la muestra de Nps de oro en el porta muestra, se verifica que el equipo este alineado, se ajusta el ángulo al que se desea medir y se tapa herméticamente de tal manera que no entre luz interferente al equipo de DLS. Se abre el programa de adquisición de datos dls.cumulante.vi (Figura 50), se enciende el detector (TFM) y se aumenta el voltaje.



**Figura 50:** Programa para la adquisición de datos, mostrando una distribución de Nps de oro y sus diámetros medios e hidrodinámicos.

Seguidamente, se colocan las condiciones en las que se realiza la medida (ángulo, temperatura, índice de refracción del medio, viscosidad, longitud de onda del láser empleado, tiempo máximo, número de medidas, etc.). Una vez establecidas las condiciones, se adquiere la medida y se guarda el archivo de datos con la distribución de tamaños y el diámetro promedio.

### **III.3.3 Dispersión de Hiper Rayleigh (HRS)**

#### **III.3.3.a. Preparación de Soluciones. Calibración del Equipo Empleado para Medir la Señal de HRS**

Primeramente, antes de medir la señal de HRS de las Nps de oro, se debe calibrar el equipo de HRS que se muestra en la Figura 51. Para ello se preparó tres diferentes soluciones madres de 0.1 M de urea en agua destilada, 0.1 M de p-NA y 0.1 M de m-NA, estas últimas en metanol al 50%, acompañada de sus respectivos patrones de concentraciones 0.001, 0.01, 0.02, 0.05 y 0.08 M.

Luego, usando esos patrones, se midió la intensidad de la señal de HRS ( $I(2\omega)$ ) proveniente de las mismas, para seguidamente graficarla en función de la intensidad de la señal incidente ( $I(\omega)$ ) y en función de la concentración de los patrones usados.

Vale la pena destacar, que todos los viales donde se vierten las soluciones madres y patrones, son lavados con etanol y secados apropiadamente para evitar la presencia de polvo, pelos, y/o partículas extrañas. Igualmente, antes de cada medida, se debe aspirar todas las piezas que forman parte del montaje experimental de HRS para así eliminar la presencia de polvo interferente.

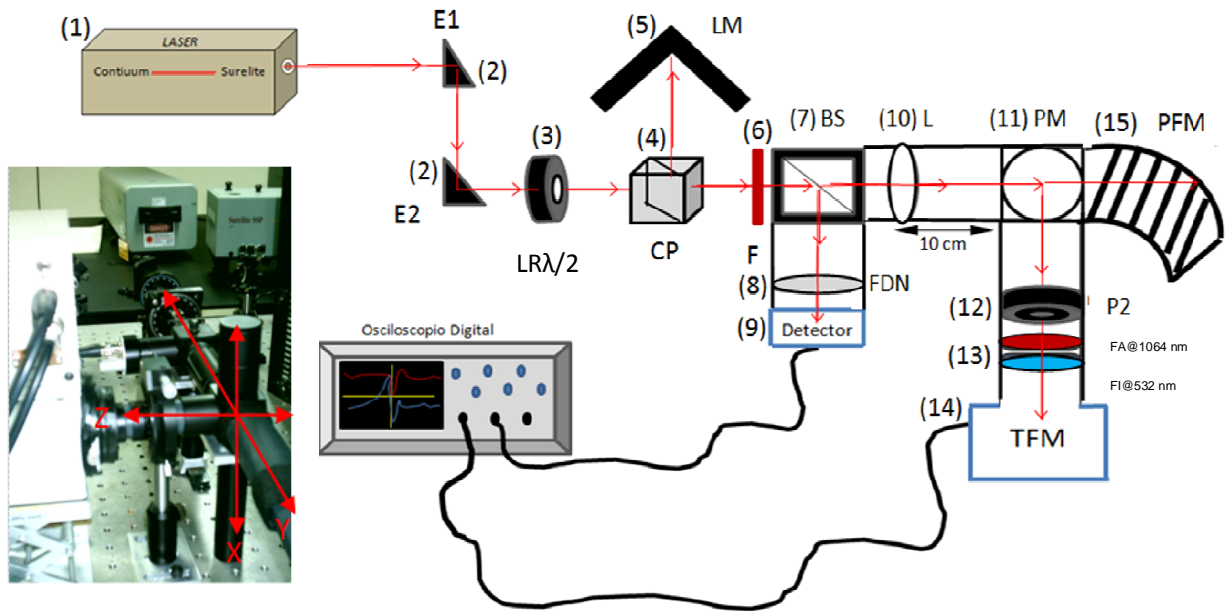
#### **III.3.3.b. Preparación de las Muestras**

La solución de Nps de oro con o sin funcionalización generadas vía ablación láser, se trasvasa a un nuevo vial, previamente lavado con etanol, y se procede a medir la señal  $I(2\omega)$  proveniente de las mismas. También es necesario, limpiar la superficie exterior del vial que contiene las Nps con etanol para luego ser colocado en el porta muestra del equipo usado para la medir la señal de HRS.

### III.3.3.c. Montaje Experimental

Para la caracterización de las Nps de oro usando la dispersión de Hiper Rayleigh, fue empleado el equipo mostrado en la Figura 51. Dicho equipo de HRS consta de tres principales partes, una fuente de láser Nd: YAG (Continuum; Surelite) con una duración de pulso de 8 ns y de 10 Hz de frecuencia a una longitud de onda de 1064 nm, un camino de luz, y un detector (tubo fotomultiplicador), así que el montaje resulta fácil de usar y configurar.

En la Figura 51, se puede apreciar los elementos que conforman el montaje experimental usado para medir la señal de HRS. La fotografía insertada no solo muestra la instalación actual de dicho montaje, sino además señala la propagación de la luz incidente en la dirección  $Y$ , la polarización en la dirección  $X$  y la propagación de la intensidad de la luz dispersada del segundo armónico u HRS en la dirección  $Z$ . Los ejes  $XYZ$  indican las coordenadas establecidas en el equipo de la Fig. 51, para medir la señal de HRS.



**Figura 51:** Diagrama de instalación del equipo usado para medir la señal de HRS proveniente de las Nps de oro generadas; (1) láser, (2) espejos dicróicos (E1 y E2), (3) lámina de retardo de longitud de onda media ( $LR\lambda/2$ ), (4) cubo polarizador (CP), (5) lámina metálica (LM) que bloquea una parte del haz incidente, (6) filtro (F) a 532 nm, (7) camino óptico equipado con un beam splitter (BS), (8) camino óptico equipado con un filtro de densidad neutra (FDN), (9) camino de luz equipado con un detector para la señal de referencia (fotodiodo (FD)), (10) camino de luz equipado con una lente (L) (distancia focal: 10 cm), (11) porta muestra (PM), (12) polarizador (P2), (13) filtro de absorción (FA) a 1064 nm y filtro de interferencia (FI) a 532 nm y (14) tubo fotomultiplicador (TFM) y (15) parte final del montaje (PFM) fabricado con cartón color negro para bloquear el haz incidente.

Los espejos dicróicos E1 y E2 están colocados de manera tal de dirigir el haz del láser de excitación a la muestra, asegurando que la radiación en su totalidad sea la proveniente de la longitud de onda fundamental de 1064 nm. La intensidad del haz incidente es regulada por la lámina de retardo de longitud de onda media ( $LR\lambda/2$ ) cuyo ángulo puede variarse desde  $50^\circ$  hasta  $90^\circ$  y la polarización de la luz incidente puede modificarse por medio del cubo polarizador (CP), colocando este último a  $180^\circ$  ó  $270^\circ$ . Para medir la señal de HRS proveniente de las Nps de oro con y sin funcionalización, se debe modificar el ángulo de la  $LR\lambda/2$  haciendo un barrido desde 50 a  $90^\circ$  y el ángulo del CP debe ser establecido a  $270^\circ$ . Luego, una vez establecidos los ángulos de la  $LR\lambda/2$  y del CP, la luz incidente es dividida en dos haces a través del beam splitter (BS); un haz se dirige al detector (THORLABS DET210), es decir, un fotodiodo (FD), que recoge la señal de referencia y el otro haz

es enfocado, por medio de una lente (L) de distancia focal de 10 cm, sobre el vial que contiene la solución de Nps de oro, ubicado en el porta muestra (PM). La polarización de la señal de HRS proveniente de las Nps puede ser modificada variando el ángulo del polarizador (P2) a la entrada del TFM, colocando este último a 0° o 90°; normalmente se coloca a 0° debido a que la intensidad de la señal de HRS es significativamente mayor con respecto a la que se detecta a 90°. Para discriminar y detectar solo la señal de HRS, se emplean dos filtros, uno de absorción (FA) a 1064 nm y otro de interferencia (FI) a 532 nm. Finalmente, la señal de HRS se mide con un TFM (Sciencetech Inc., modelo PMH-02) y ambas señales, es decir, referencia y HRS, son registradas con un osciloscopio digital (Tektronic TDS 3032 300 MHz 2.5 GS/s DPO).

Es importante señalar ciertos detalles experimentales del montaje que se muestra en la Fig. 51: (i) el filtro (F) a 532 nm es colocado convenientemente antes del beam splitter para prevenir la entrada de la señal de segundo armónico, proveniente del láser o de otros aparatos del montaje que estén localizados antes de dicho filtro, al camino óptico, (ii) el filtro de densidad neutra (FDN) es ubicado justo antes del fotodiodo para, primero, atenuar la intensidad de la señal incidente y esta no se sobresature y segundo, para discriminar la señal de referencia de la señal de segundo armónico y (iii) para detectar la señal de HRS es indispensable emplear un detector mucho más sensible que un fotodiodo, en este caso, el tubo fotomultiplicador (TFM), por su alta sensibilidad, resulta mucho más conveniente que el fotodiodo para registrar la señal de HRS.

#### **III.3.4 Estudio de la Disminución de la Emisión de Fluorescencia de Disodiofluoresceína (DSF) y Rodamina B (RB) Debido a la Presencia de Nps de Oro.**

Para el estudio de la transferencia de energía entre las Nps de oro y los dos agentes funcionalizadores usados (DSF y RB) se procedió a realizar varias tandas de experimentos donde se sintetizaron y funcionalizaron “in-situ”, en un mismo vial de ablación, las Nps de oro. Luego, se estudiaron los cambios espectrales de la emisión de fluorescencia de la DSF y RB, al ponerlas en contacto con las Nps de oro.



### III.3.4.a. Metodología para la Realización del Estudio

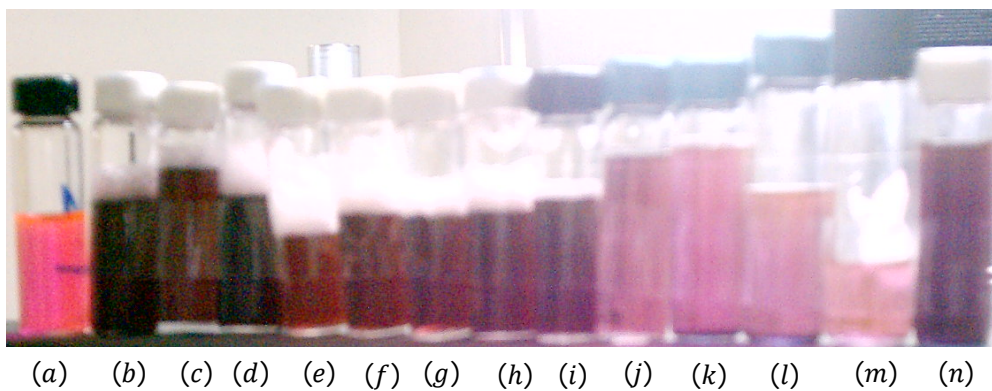
Primero, se prepararon dos soluciones concentradas de DSF y RB y se realizaron diferentes diluciones, a las cuales se les midió la fluorescencia para determinar a cual concentración la intensidad era máxima. Una vez determinada esa concentración ( $4.1 \times 10^{-05} \text{M}$ ), se prepararon dos soluciones acuosas de 25 mL de dicha concentración para cada sustancia fluorófora. Luego, usando estas dos últimas soluciones de DSF y RB y las soluciones de SDS, reportadas en la Tabla N°1, se prepararon diferentes mezclas de SDS-DSF y SDS-RB usando distintas relaciones de volumen. Estas mezclas servirían mas tarde, como el medio acuoso para la generación y funcionalización de las Nps de oro, vía ablación láser. Como se mencionó anteriormente en las Secciones III.2.3 y III.2.4, antes de comenzar el proceso de ablación, siempre es importante determinar la irradiancia ( $I$ ) del haz sobre la superficie de la placa de oro. Una vez determinada la  $I$ , se coloca el vial con la lámina de oro, sumergida en la mezcla de soluciones de SDS-DSF o SDS-RB, en la zona donde se encuentra enfocado el haz y se deja disparando el láser durante 15 minutos. Este tiempo de ablación es medido con un cronómetro. A medida que el láser incide sobre la placa de oro, se observa que la solución cambia de verde (color característico de la DSF en solución acuosa) a amarillo claro o marrón, tal como se muestra en la Figura 52.



(a) (b) (c) (d) (e) (f) (g) (h) (i) (j) (k) (l) (m) (n)

**Figura 52:** Soluciones acuosas de complejos Nps de oro-DSF-SDS, en donde se observa una variada gama de tonalidades de color amarillo, marrón y verde. Los complejos fueron sintetizados vía ablación láser usando una longitud de onda de 1064 nm, irradiancia de  $2.14 \text{ GW/cm}^2$  y tiempo de ablación de 15 Min; (a) mezcla de soluciones de DSF-SDS (blanco), (b)  $1.4 \times 10^{-06} \text{ M}$ , (c)  $4.1 \times 10^{-06} \text{ M}$ , (d)  $6.0 \times 10^{-06} \text{ M}$ , (e)  $9.1 \times 10^{-06} \text{ M}$ , (f)  $1.4 \times 10^{-05} \text{ M}$ , (g)  $2.0 \times 10^{-05} \text{ M}$ , (h)  $3.0 \times 10^{-05} \text{ M}$ , (i)  $4.0 \times 10^{-05} \text{ M}$ , (j)  $5.0 \times 10^{-05} \text{ M}$ , (k)  $2.2 \times 10^{-04} \text{ M}$ , (l)  $2.8 \times 10^{-04} \text{ M}$ , (m)  $3.6 \times 10^{-04} \text{ M}$  y (n)  $5.9 \times 10^{-04} \text{ M}$  de DSF.

Igualmente, a medida que el láser incide sobre la placa de oro, se observa que la solución cambia de fucsia (color característico de la RB en solución acuosa) a morado, lo que en ambos casos indica la presencia de Nps en el medio (ver Figura 53).

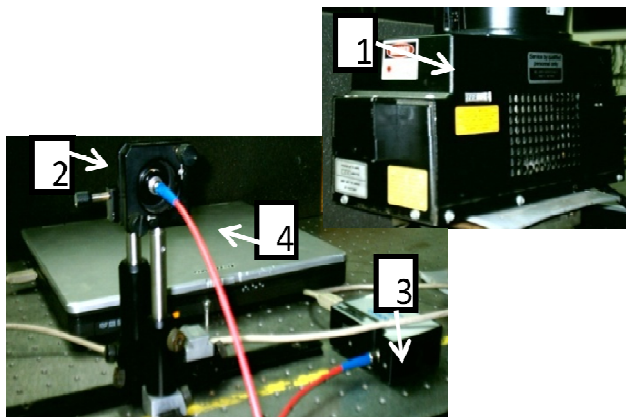


**Figura 53:** Soluciones acuosas de complejos Nps de oro-RB-SDS, en donde se observa una variada gama de tonalidades de color morado, rosado y vino tinto. Los complejos fueron sintetizados vía ablación láser usando una longitud de onda de 1064 nm, irradiancia de 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y tiempo de ablación de 15 Min; (a) mezcla de soluciones de RB-SDS (blanco), (b)  $1.1 \times 10^{-11}$  M, (c)  $2.2 \times 10^{-11}$  M, (d)  $4.7 \times 10^{-11}$  M, (e)  $1.2 \times 10^{-09}$  M, (f)  $1.9 \times 10^{-09}$  M, (g)  $2.4 \times 10^{-09}$  M, (h)  $2.9 \times 10^{-09}$  M, (i)  $3.4 \times 10^{-09}$  M, (j)  $1.0 \times 10^{-08}$  M, (k)  $1.3 \times 10^{-08}$  M, (l)  $1.6 \times 10^{-08}$  M, (m)  $2.0 \times 10^{-08}$  M y (n)  $2.1 \times 10^{-08}$  M de RB.

Una vez generadas varias soluciones de Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS, se procedió a realizar un estudio del quenching de fluorescencia; para ello, se compararon los espectros de fluorescencia de ambos complejos generados con los espectros de fluorescencia de los blancos usados (SDS-DSF y SDS-RB). Adicionalmente, ambos tipos de Nps de oro funcionalizadas fueron caracterizadas por espectroscopía UV-Vis, dispersión de hiper rayleigh (HRS) y dispersión dinámica de luz (DLS).

#### III.3.4.b. Obtención de los Espectros de Fluorescencia

Para la caracterización de las Nps de oro generadas por ablación láser mediante espectroscopía de fluorescencia, se utilizó un equipo diseñado en el Laboratorio de Espectroscopía Láser de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela (observar Figura 54). Esta caracterización permite observar la intensidad del máximo de fluorescencia, la longitud de onda del máximo de fluorescencia y la forma de los espectros de fluorescencia de las Nps de oro generadas y funcionalizadas “in-situ” vía ablación láser.



**Figura 54:** Elementos que conforman el equipo empleado para la obtención de los espectros de fluorescencia de las Nps de oro funcionalizadas; (1) Laser de Argón, (2) receptángulo de la muestra, (3) espectrómetro UV-Vis USB 2000 Ocean Optics Inc., (4) computadora para la adquisición de la data.

La metodología para la obtención del espectro de fluorescencia es similar a la utilizada para la obtención del espectro de absorción, lo único diferente en este caso es que se emplean muestras de Nps de oro-SDS-DSF y Nps de oro-SDS-RB.

## CAPITULO IV

---

### RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIONES

#### IV.1 EFECTO DE LAS CONDICIONES EXPERIMENTALES SOBRE LA GENERACION DE NANOPARTICULAS DE ORO VIA ABLACIÓN LASER

Primeramente, se realizó un estudio para determinar el alcance e influencia de ciertas condiciones o variables experimentales de la ablación láser, sobre los espectros de absorción, distribución de tamaños y propiedades ópticas no lineales de las Nps de oro generadas. Las variables experimentales que se modificaron fueron: concentración del surfactante ([SDS]), irradiancia del láser y tiempo de ablación. Se trabajó a la longitud de onda fundamental (1064 nm) y a una frecuencia fija de 10 Hz.

##### IV.1.1 Influencia de la Concentración del Surfactante

Como ya se mencionó en la Sección III.2.1, se utilizó un surfactante aniónico dodecil sulfato de sodio (SDS) para la estabilización de las Nps de oro generadas por ablación láser. Básicamente, el SDS proporciona una estabilización netamente estérica, a través de la cual permite tener control sobre la distribución de tamaños y estructura de las Nps generadas evitando, a su vez, los procesos de aglomeración que tienden a experimentar las Nps de oro.

Inicialmente se preparó una solución de SDS de concentración 0.36 M, y a partir de esta se realizaron una serie de diluciones de manera de obtener un amplio rango de concentraciones para así estudiar la influencia de estas en la síntesis de las Nps de oro. En la Tabla N° 1, Sección III.2.1, se puede apreciar el rango de concentraciones de SDS que se emplearon para la síntesis de Nps de oro por ablación láser. Sin embargo, la Tabla N° 4 muestra detalladamente las diluciones realizadas para la preparación de cada una de las soluciones de SDS.

**Tabla N° 4:** Datos de las soluciones acuosas de SDS utilizadas.

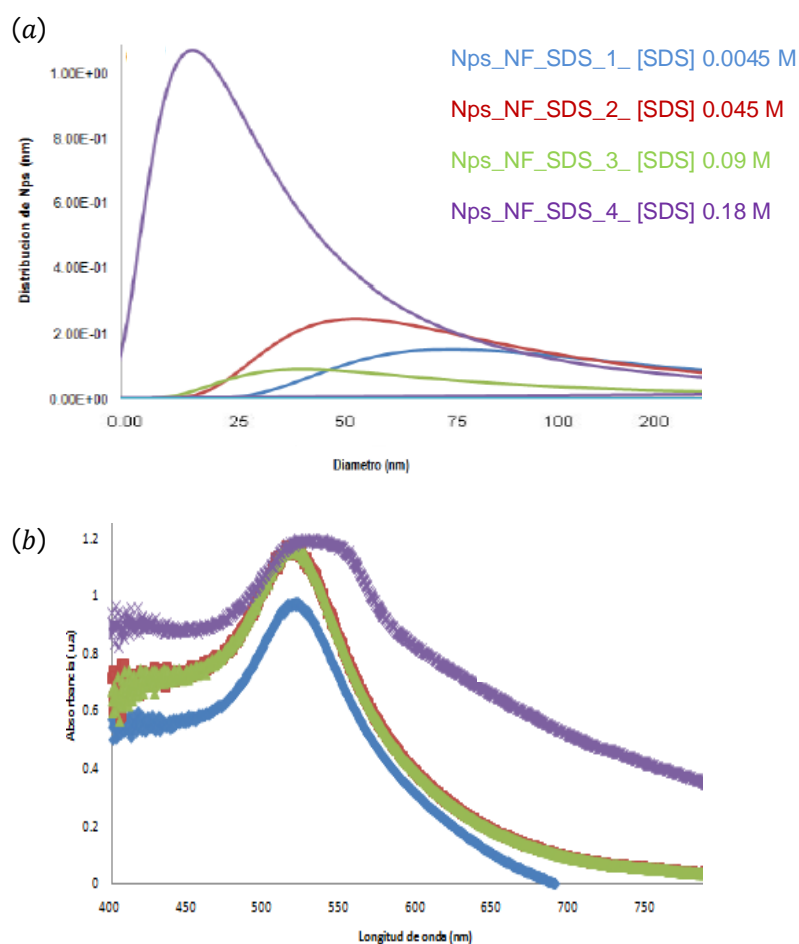
<b>Dilución Realizada (mL)</b>	<b>[SDS] (mol/L)</b>	<b>Volumen de Solución (mL)</b>
-	0.36	100
12.5 en 25	0.18	25
9.4 en 25	0.135	25
6.3 en 25	0.09	25
3.1 en 25	0.045	25
0.3 en 25	0.0045	25

Una vez preparadas las soluciones acuosas de SDS que se muestran en la Tabla N° 4, se llevo a cabo la síntesis de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser siguiendo el procedimiento previamente mencionado en la Sección III.2. Se probó cada concentración a un tiempo de ablación de 15 minutos y a diferentes valores de irradiancia, para esto último, se trabajó a cuatro distintos valores de energía del láser. La Tabla N° 3, en la Sección III.2.3, muestra más claramente el rango de irradiancias y valores de energía que se emplearon para la generación de las soluciones coloidales de Nps de oro. De igual manera, en la Tabla N° 5 se pueden observar el rango de concentraciones de SDS que se emplearon, las condiciones de generación de cada Nps de oro y sus diámetros promedios.

**Tabla N° 5:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (NF) (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Influencia de la concentración del estabilizante.

Nombre de la muestra	[SDS] (mol/L)	Energía (mJ)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de Ablación (Min.)	Pico de Absor. Max. (nm)	Dprom. ± 2 % (nm)
Nps-NF-SDS_1	0.0045	84.00	1,34	15	0.769	75,02
Nps-NF-SDS_2	0.045	84.00	1,34	15	1.003	50,43
Nps-NF-SDS_3	0.09	84.00	1,34	15	1.094	30,24
Nps-NF-SDS_4	0.18	84.00	1,34	15	1.934	20,14
Nps-NF-SDS_5	0.045	117.40	1,88	15	2.007	18.90
Nps-NF-SDS_6	0.09	117.40	1,88	15	1.643	50.23
Nps-NF-SDS_7	0.135	117.40	1,88	15	1.532	90.56
Nps-NF-SDS_8	0.045	135.00	2,14	15	2.513	10.00
Nps-NF-SDS_9	0.09	135.00	2,14	15	1.724	30.78
Nps-NF-SDS_10	0.135	135.00	2,14	15	0.740	75.60

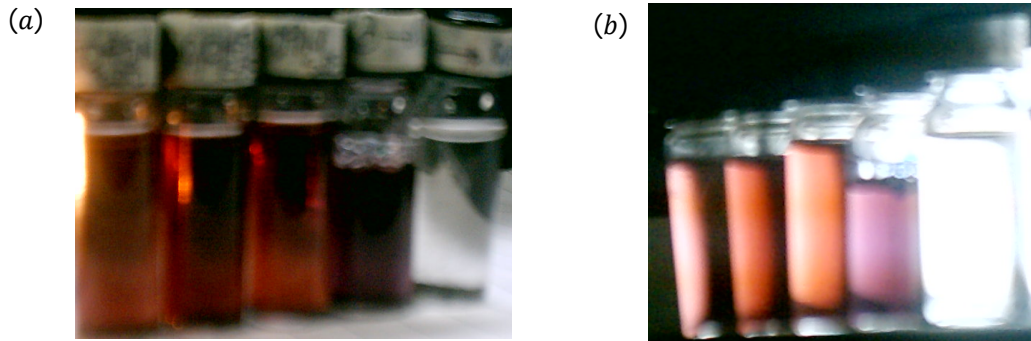
En la Figura 55(a) podemos observar la variación de la distribución de las Nps con el diámetro de las mismas y en la Figura 55(b) el espectro UV-Vis de las Nps de oro correspondientes a los complejos Nps-NF-SDS\_1, 2, 3 y 4. Estos complejos Nps de oro-NF-SDS fueron generados bajo las siguientes condiciones experimentales: (i) energía del láser de 84.00 mJ, (ii) irradiancia de 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, (iii) tiempo de ablación de 15 minutos y (iv) se emplearon cuatro diferentes concentraciones 0.0045, 0.045, 0.09 y 0.18 M de SDS.



**Figura 55:** (a) Distribución de Nps de oro no funcionalizadas en función del diámetro de las mismas y (b) espectros de absorbancia de Nps de oro en función de la longitud de onda. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_1, 2, 3 y 4: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de 0.0045, 0.045, 0.09 y 0.18 M de SDS.

En la Fig. 55(a), se aprecia que cuando se usa altos valores de irradiancia (1.34 GW/cm<sup>2</sup>); bajas concentraciones de SDS (0.0045 M) resultan ineficientes para proteger las Nps de oro, por lo tanto, usando bajas concentraciones del estabilizante acompañado de valores de irradiancias medianamente elevados, se pueden obtener grandes agregados. Por el contrario, elevadas concentraciones de SDS (0.18 M) protegen mejor y más efectivamente las Nps de oro generadas. Entonces, usando una concentración 0.18 M de SDS, se pueden preparar selectivamente Nps de oro con diámetros medios de  $20 \pm 2$  nm e hidrodinámicos dramáticamente inferiores de  $32 \pm 2$  nm (Nps de oro-NF-SDS\_4) con respecto a aquellas Nps sintetizadas en

soluciones acuosas de concentración 0.0045 M de SDS, cuyos diámetros medios e hidrodinámicos fueron de  $75 \pm 2$  nm y  $92 \pm 2$  nm (Nps de oro-NF-SDS\_1), respectivamente. La Figura 56 muestra los complejos Nps de oro-NF-SDS\_1, 2, 3 y 4.



**Figura 56:** Complejos de Nps de oro-NF-SDS, (a) con luz reflectada y (b) con luz transmitida, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha, en ambas fotografías: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.0045, 0.045, 0.09, 0.18 M y 0.36 M de SDS.

En la literatura se reporta que *Yamada K., et al.*<sup>[103]</sup> encontraron que a medida que la concentración de SDS disminuía hasta llegar a ser muy diluidas, estas favorecían los procesos de agregación de las Nps<sup>[103]</sup>, mientras que observaron que soluciones concentradas de SDS promovían la obtención de Nps de oro mucho más esféricas y de diámetro medio reducido<sup>[103]</sup>. Adicionalmente, *Yamada K., et al.*<sup>[103]</sup> destacaron que las Nps de oro presentaban una reducción de tamaño cuando sobrepasaba la concentración micelar crítica (CMC) característica del SDS<sup>[103]</sup>. Como se sabe, el SDS puede estar homogéneamente disuelto en agua formando coloides antes de alcanzar la CMC, pero una vez que sobrepasa esta concentración el SDS se reúne en el seno de la solución formando micelas.

En los espectros de absorbancia de la Fig. 55(b) se notan cuatro hechos relevantes: (i) un ínfimo desplazamiento de la banda de plasmón superficial (PS), (ii) incrementos en el pico de máxima absorción que pone de manifiesto la cantidad de Nps generadas en el medio, ya que por Ley de Beer, es sabido que la absorción es directamente proporcional a la cantidad de analito capaz de absorber radiación, (iii) a medida que se incrementa la concentración del estabilizante, el pico de máxima



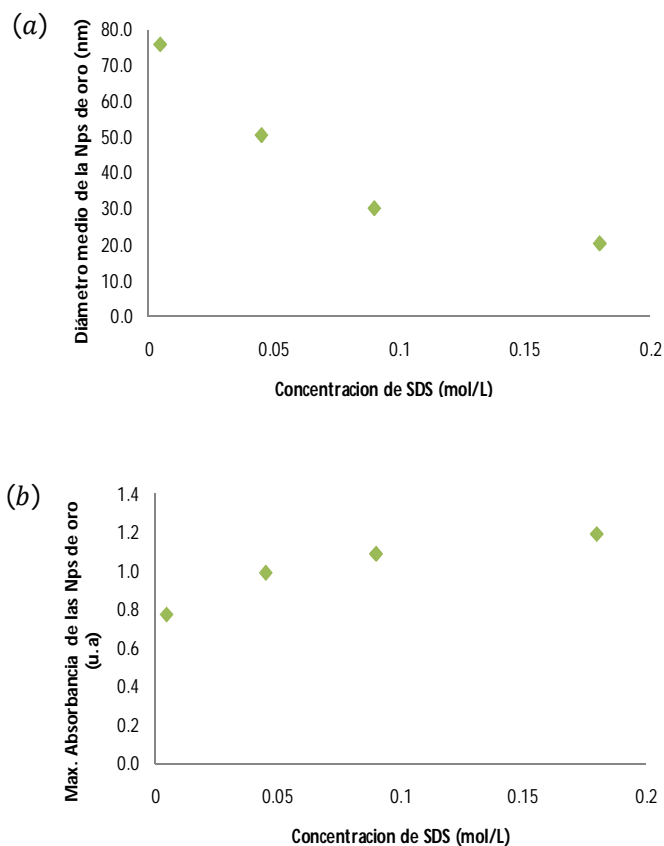
absorbancia de las Nps de oro también aumenta y (iii) la mayor cantidad de Nps de oro se obtuvo usando altas concentraciones del estabilizante (0.18 M de SDS).

Posiblemente el comportamiento (iii) se deba a la reducción de tamaño progresivo de las Nps inducido por aumentos en la concentración del estabilizante. A medida que las Nps disminuyen de tamaño son capaces de absorber más energía debido al aumento en su brecha de banda. Esta tendencia se observó en todos los espectros obtenidos en la Fig. 55(b), en particular, el espectro UV-Vis para la muestra Nps de oro-NF-SDS\_4 presenta cierta saturación y ensanchamiento, ocasionado principalmente por la gran cantidad de Nps de oro presentes en el medio. Adicionalmente, al observar el espectro obtenido para la muestra Nps de oro-NF-SDS\_1, sintetizadas en una solución acuosa de 0.0045 M de SDS, se ve que tiene un máximo de absorción considerablemente menos intenso que el resto de las muestras generadas al mismo tiempo de ablación (15 minutos). Esto evidencia que en esta muestra el solvente fue capaz de solvatar prácticamente todas las moléculas de SDS, permitiendo la libre agregación de las Nps de oro en coloides de un tamaño mucho mayor.

Así mismo, la estabilidad temporal de las Nps de oro, generadas en una solución acuosa de 0.18 M de SDS, fue también objeto de estudio. El hecho de que concentraciones tan elevadas de SDS prometen la obtención de Nps de oro con diámetros extremadamente pequeños, podría quizás afectar o sacrificar la estabilidad de las mismas a lo largo del tiempo, por lo tanto, esta investigación se planteó tal inquietud. Los resultados del estudio de la estabilidad en el tiempo de las Nps de oro generadas en un medio acuoso de 0.18 M de SDS se pueden observar en la próxima Sección IV.2.

En la Figura 57(a), se aprecia la correlación del diámetro de partícula con la concentración del SDS. Se puede notar como a medida que aumenta la concentración de SDS, el diámetro de las nanopartículas generadas disminuye. Adicionalmente, en la Figura 57(b), se puede notar la correlación del máximo de absorción de las Nps de oro generadas con la concentración de SDS. En dicha figura, se observa que a medida que la concentración del estabilizante aumenta, el

pico de máxima absorbancia se va incrementando, es decir, la cantidad de Nps de oro aumenta considerablemente a medida que la concentración de SDS incrementa.



**Figura 57:** (a) Variación del diámetro medio de la partícula con la concentración de SDS y (b) variación del pico de máxima absorbancia de la partícula con la concentración de SDS. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_1, 2, 3 y 4: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.0045, 0.045, 0.09 y 0.18 M de SDS.

En la Fig. 57(a), se puede notar que existe un valor máximo para el diámetro de las Nps de oro, el cual es alcanzado a una concentración de estabilizante dada. Después de este valor de concentración de SDS (0.0045 M), se produce un decrecimiento significativo del diámetro medio de las Nps de oro. Este comportamiento o tendencia en disminución en el tamaño, se puede explicar en una primera aproximación, al espacio ocupado por el estabilizante, es decir, existe un parámetro espacial, influenciado por el SDS, que a su vez afecta el entorno o matriz que contiene las Nps de oro, resultando en un decaimiento del diámetro medio de las mismas. A concentraciones más elevadas del estabilizante, se obtienen Nps de

de menor tamaño debido al mayor volumen que ocupan las moléculas de SDS en la solución.

Se sabe que una mayor concentración de SDS resulta en un mayor número de moléculas de dicho estabilizante en el medio acuoso. Considerando este notorio hecho, es lógico pensar que un mayor número de moléculas del surfactante en el medio impedirá más eficiente y efectivamente la formación de grandes agregados de partículas, pero también, un mayor número de moléculas de SDS se traduce en un mayor volumen ocupado por este dentro del medio, lo que a su vez limita en gran medida, el tamaño máximo de las Nps de oro, el cual, tal como se ve en la Fig. 57(a), se ve reducido a medida que la concentración del estabilizante aumenta.

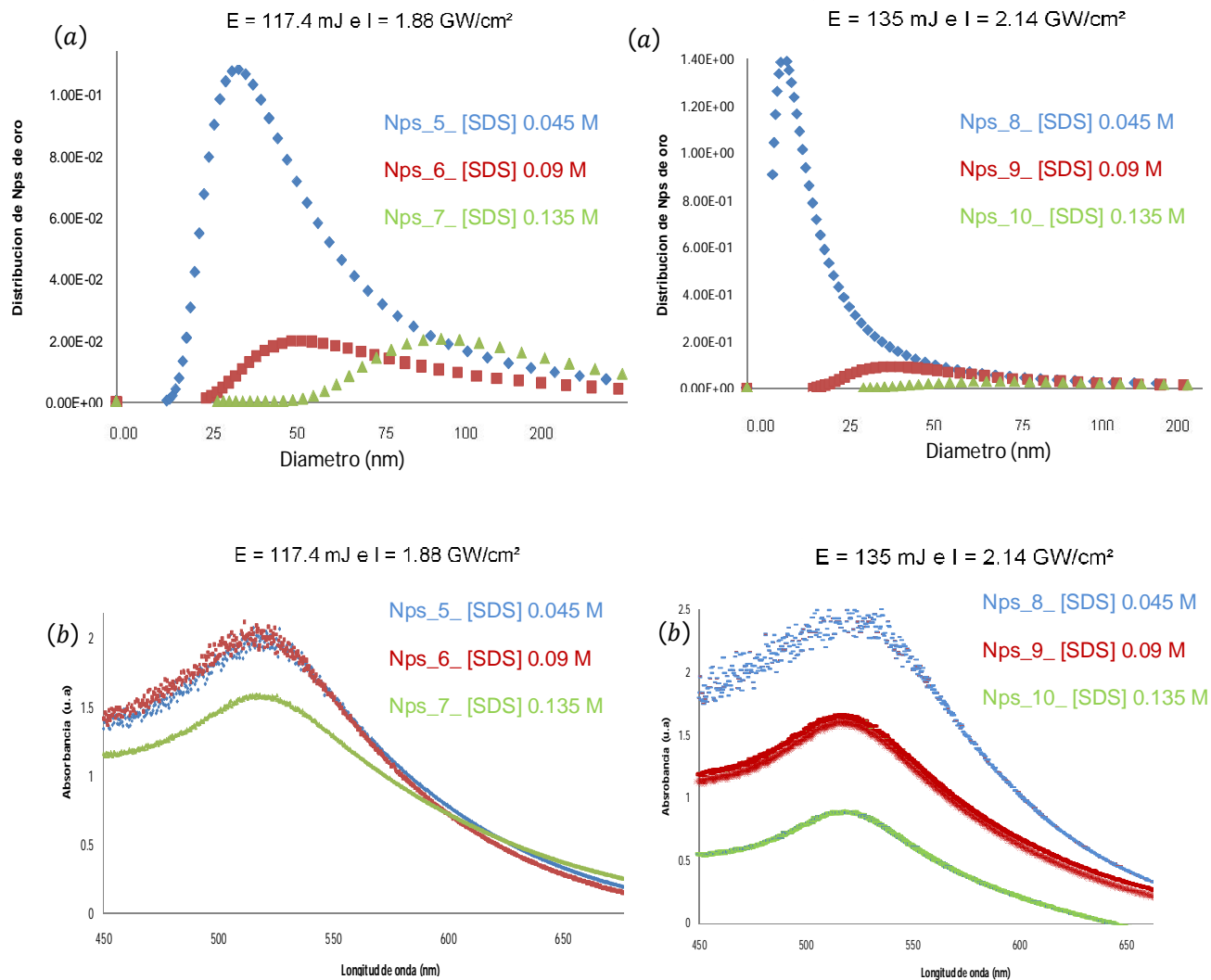
Tal como se expuso en la Sección I.5.1, una vez que comienza el proceso de la ablación sobre la placa de oro, justamente en la etapa 2 o también llamada “nucleación”, se forma una densa nube de átomos de oro alrededor de la zona de ablación, siendo las interacciones entre dichos átomos tan fuertes por lo que de forma casi inmediata, comienzan a agregarse para formar Nps de mayor diámetro. En este punto, se presentan dos tipos de interacciones que compiten entre sí, como lo son: (i) interacciones interpartícula Nps-Nps e (ii) interacciones de las Nps de oro con el medio, es decir, con la solución acuosa de SDS.

Como se describió previamente en las Secciones I.2 y I.2.2, en la etapa III, las moléculas de SDS comienzan a aproximarse y rodear la superficie metálica de las Nps ya formadas, evitando que estas formen grandes agregados con otras Nps en el medio. Lo que se cree, es que al encontrarse una mayor cantidad de moléculas de SDS en el medio, todas estas se aproximan a la Nps rodeándola masivamente y limitando a su vez dos cosas: (i) el crecimiento de las Nps de oro y (ii) procesos de aglomeración que pueden experimentar las partículas. De hecho, *Mafuné F., et al.*<sup>[104]</sup> en el año 2010, reportaron que a medida que la concentración de SDS disminuía, el tamaño de las Nps de plata aumentaba significativamente<sup>[104]</sup>. Estos investigadores adjudicaron este resultado a dos fenómenos: (i) el crecimiento de las Nps a partir de una partícula “embrionica”<sup>[104]</sup> y (ii) la competencia entre el crecimiento de las Nps y el cubrimiento de las partículas por parte del SDS<sup>[104]</sup>. Estos investigadores comentaron que justo en la etapa de nucleación del proceso

de ablación láser, una densa nube de átomos se formaba sobre la placa de plata<sup>[104]</sup>, luego, debido a que la interacción entre dichos átomos era mucho más fuerte que estos con el surfactante<sup>[104]</sup>, los átomos de plata se agregaban para formar finalmente las Nps<sup>[104]</sup>. *Mafuné F., et al.*<sup>[104]</sup> dijeron que esta rápida agregación promovía la formación de Nps embriónicas<sup>[104]</sup>. Una vez formadas estas Nps embriónicas, eran solvatadas por el SDS<sup>[104]</sup>, lo que a su vez producía que el crecimiento de dichas Nps se tornara más lento hasta que finalmente se detuviera<sup>[104]</sup>.

Así mismo, otro importante factor que podría ser determinante en la dependencia del diámetro medio de las Nps de oro con la concentración del SDS, es la CMC. Tal como se reporta en la literatura, la CMC del SDS es de 0.008 M, en la Fig. 57(a), podemos observar que un mayor aumento del diámetro se genera cuando la concentración de SDS es significativamente menor con respecto al valor de CMC. Las causas de este comportamiento pueden deberse a que a un rango de concentraciones menor al valor de CMC, las moléculas de SDS son solvatadas por el solvente y dejan de formar micelas, las cuales son las responsables de evitar la agregación de las Nps.

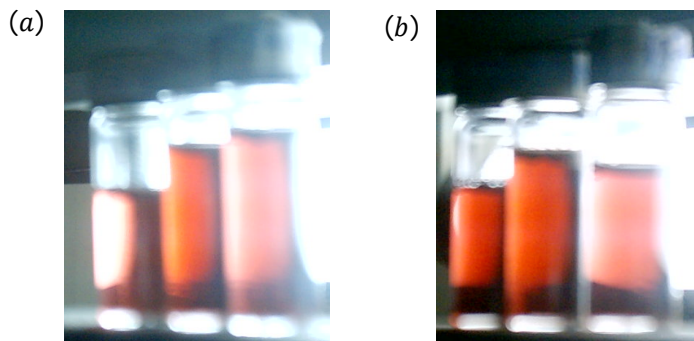
No obstante, otros resultados que resultan bastante interesantes son los que se muestran en la Figura 58. En esta figura, se pueden observar dos tandas de experimentos, donde se generaron Nps de oro empleando dos elevados valores de irradiancias y modificando a su vez la concentración del estabilizante. En la Figura 58(a) podemos observar la variación de la distribución de las Nps con el diámetro de las mismas y en la Figura 58(b) el espectro de absorbancia de las Nps de oro correspondientes a los complejos Nps de oro-NF-SDS\_5, 6, 7, 8, 9 y 10. Estos complejos fueron generados bajo las siguientes condiciones experimentales: (i) energía del láser de 117.4 mJ y 135.0 mJ, respectivamente, (ii) dos valores de irradiancia de 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, (iii) tiempo de ablación de 15 minutos y (iv) se emplearon tres diferentes concentraciones 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS.



**Figura 58:** (a) Distribución de Nps de oro no funcionalizadas en función del diámetro de las mismas y (b) espectros de absorbancia de Nps de oro en función de la longitud de onda. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_5, 6, 7, 8, 9 y 10: 117.4 mJ y 135.0 mJ, respectivamente, 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentraciones 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS.

Básicamente, lo interesante de las gráficas expuestas en la Figura 58, es que cuando se emplean, verdaderamente, altos valores de irradiancia (1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>); la concentración 0.045 M de SDS resulta significativamente eficiente para proteger las Nps de oro. Por lo tanto, y a diferencia de los resultados obtenidos en la Figura 55, usando concentraciones medianas del estabilizante (0.045 M) acompañado de elevadas irradiancias, se pueden obtener mayor cantidad de Nps de oro con diámetros medios relativamente pequeños. Tal vez, si se emplean

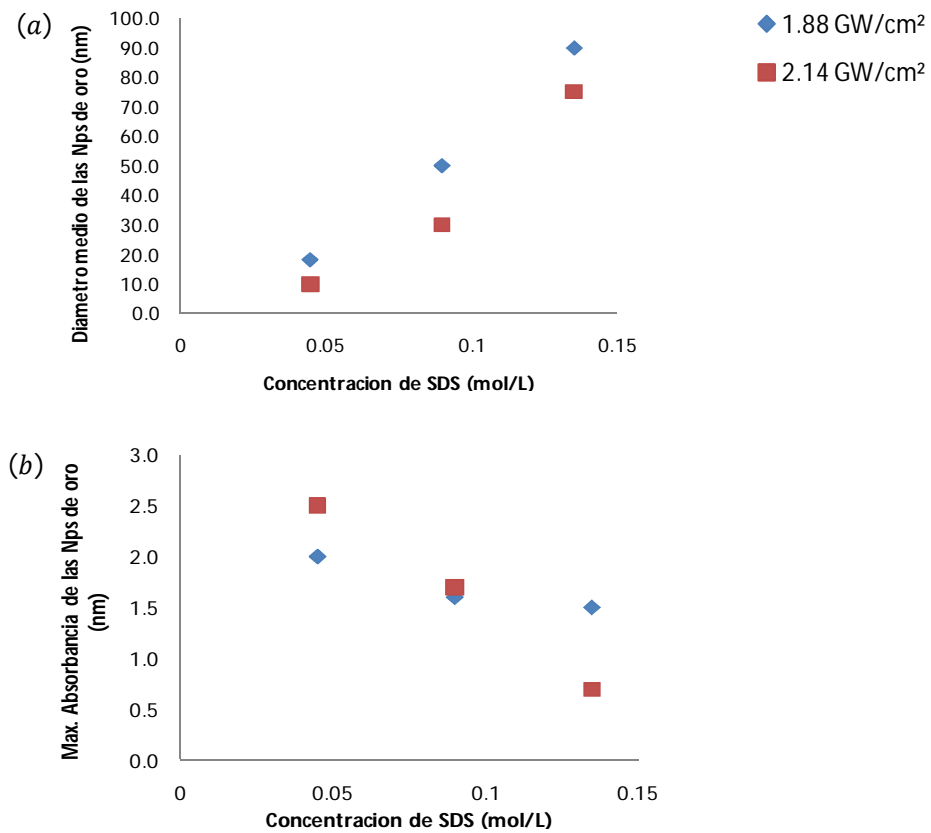
irradiancias muy altas con tiempos de ablación relativamente extensos (15 minutos) acompañados de elevadas concentraciones de SDS, se limitará significativamente la cantidad de material que se pueda extraer de la placa debido principalmente a la gran cantidad de moléculas de SDS que ocuparan mucho espacio dentro de la solución. Entonces, resulta razonable pensar que al haber gran cantidad de moléculas de SDS en el medio estas impedirán que elevados valores de irradiancia promuevan el fenómeno de refraccionamiento, mientras que al haber menor cantidad de moléculas de SDS en el medio, el fenómeno de fragmentación inducido por láser se producirá mejor y más fácilmente. El fenómeno de fragmentación inducida por láser se explicará con más detalle en la próxima Sección IV.1.2. La Figura 59 muestra los complejos Nps de oro-NF-SDS\_5, 6, 7, 8, 9 y 10.



**Figura 59:** (a) Complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha: 117.4 mJ, 1.88 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS y (b) complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS.

En la Figura 60(a), se aprecia más claramente la correlación del diámetro de la partícula con la concentración de SDS, usando dos diferentes valores de irradiancia. Solo en el caso de emplearse elevadas irradiancias, se puede notar que a medida que aumenta la concentración de SDS, el diámetro de las nanopartículas generadas aumenta. Adicionalmente, en la Figura 60(b), se puede notar la variación del máximo de absorción de las Nps de oro con la concentración de SDS, usando igualmente dos distintos valores de irradiancia. En esta última figura, se observa que a medida que la concentración del estabilizante aumenta, el pico de máxima

absorbancia de las Nps disminuye, es decir, la cantidad de Nps de oro disminuye considerablemente a medida que la concentración de SDS incrementa.



**Figura 60:** (a) Variación del diámetro medio de la partícula con la concentración de SDS y (b) variación del pico de máxima absorbancia de la partícula con la concentración de SDS, usando dos diferentes valores de irradiancia. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_5, 6, 7, 8, 9 y 10: 117.4 mJ y 135.0 mJ, respectivamente, 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentraciones 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS. Los puntos rojos corresponden a los complejos Nps de oro-NF-SDS\_5, 6 y 7 generadas a 1.88 GW/cm<sup>2</sup> y los puntos azules corresponden a los complejos Nps de oro-NF-SDS\_8, 9 y 10 generados a 2.14 GW/cm<sup>2</sup>.

Entonces, en base a los resultados obtenidos en las Figuras 55 y 58, las concentraciones de 0.045 M y 0.18 M de SDS permiten obtener espectros que presentan una mayor absorción, por lo que se puede afirmar que estas concentraciones ofrecen una estabilización mucho más efectiva de las nanopartículas generadas, responsables de la absorción observada.

#### IV.1.2 Influencia de la Irradiancia

En base a los resultados presentados en la Sección IV.1.1, se decidió trabajar, para esta parte de la investigación, no solo con dos concentraciones de 0.045 M y 0.18 M de SDS para la generación de las Nps de oro sino también se utilizó un amplio rango de irradiancias. Esto con el fin de lograr: (i) la mayor cantidad de Nps de oro, (ii) menor diámetro medio de partícula posible y (iii) evitar las agregaciones que se puedan producir con una concentración cercana o menor a la CMC del SDS. Después de haber decidido las concentraciones de SDS a emplear, se procedió a estudiar el efecto de la irradiancia tanto sobre la distribución de tamaños de las Nps de oro generadas así como también sobre sus espectros de absorbancia, para ello se prepararon los complejos Nps de oro-NF-SDS que se muestran en la Tabla N° 6.

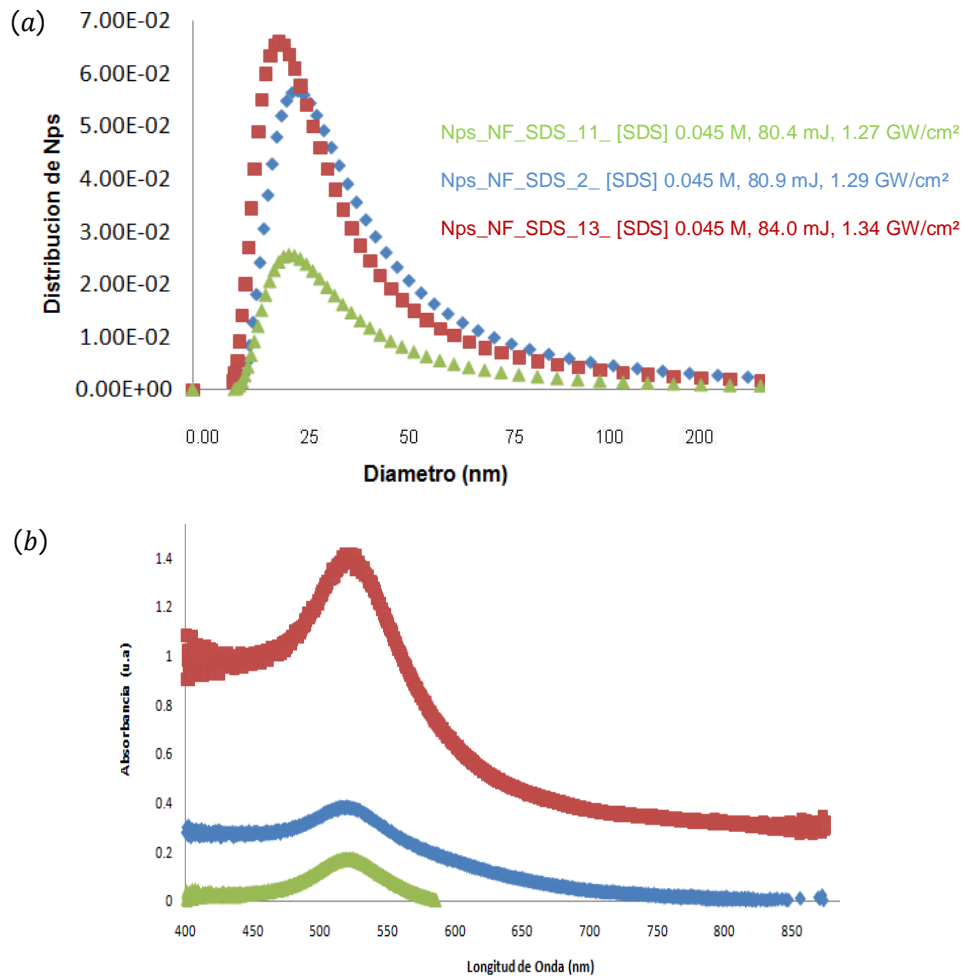
**Tabla N° 6:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Influencia de la irradiancia.

Nombre de la muestra	[SDS] (mol/L)	Energía (mJ)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de Ablación (Min.)	Pico de Absor. Max. (nm)	Dprom. ± 2 % (nm)
Nps-NF-SDS_11	0.045	80.40	1,27	15	0.986	25.65
Nps-NF-SDS_12	0.045	80.90	1,29	15	0.657	23.78
Nps-NF-SDS_13	0.045	84.00	1,34	15	1.498	21.10
Nps-NF-SDS_14	0.18	77.62	1,23	15	0.191	101.32
Nps-NF-SDS_15	0.18	79.00	1,28	15	0.403	80.28
Nps-NF-SDS_16	0.18	84.00	1,34	15	1.408	23.41

Se utilizó un rango de energías del láser desde 77.6 a 84.0 mJ e irradiancias desde 1.23 a 1.34 GW/cm<sup>2</sup>. En la Figura 61(a) podemos notar la variación de la distribución de las Nps con el diámetro de las mismas y en la Figura 61(b) el espectro de absorbancia de las Nps de oro correspondientes a los complejos Nps



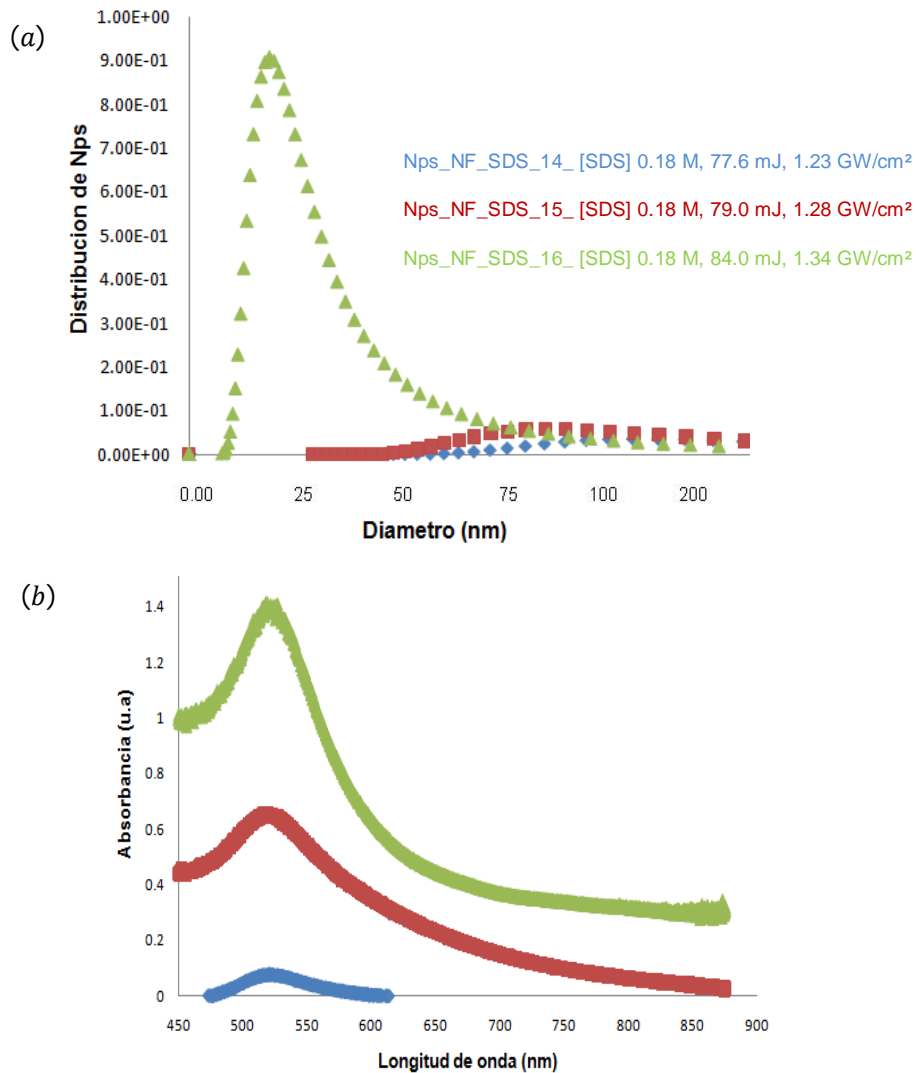
de oro-NF-SDS\_11, 12 y 13. Las Nps de oro de la Fig. 61 fueron generadas bajo las siguientes condiciones experimentales: (i) se emplearon tres diferentes energías del láser de 80.40, 80.90 y 84.00 mJ, respectivamente, (ii) se usaron tres distintos valores de irradiancia de 1.27, 1.29 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, (iii) tiempo de ablación de 15 minutos y (iv) una solución acuosa de concentración 0.045 M de SDS.



**Figura 61:** (a) Distribución de Nps de oro no funcionalizadas en función del diámetro de las mismas y (b) espectros de absorbancia de Nps de oro en función de la longitud de onda. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_11, 12 y 13: 80.40, 80.90 y 84.00 mJ, respectivamente, 1.27, 1.29 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y solución acuosa de concentración 0.045 M de SDS.

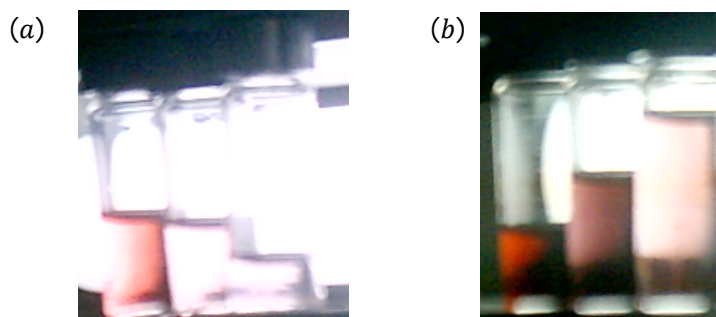
Igualmente, la Figura 62(a) muestra la distribución de las Nps de oro en función del diámetro de las mismas y en la Figura 62(b) el espectro UV-Vis de las

Nps correspondientes a los complejos Nps de oro-NF-SDS\_14, 15 y 16. En esta oportunidad, estas muestras fueron generadas bajo las siguientes condiciones experimentales: (i) tres diferentes energías del láser de 77.62, 79.00 y 84.00 mJ, respectivamente, (ii) tres distintos valores de irradiancia de 1.23, 1.28 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, (iii) tiempo de ablación de 15 minutos y (iv) una solución acuosa de concentración 0.18 M de SDS.



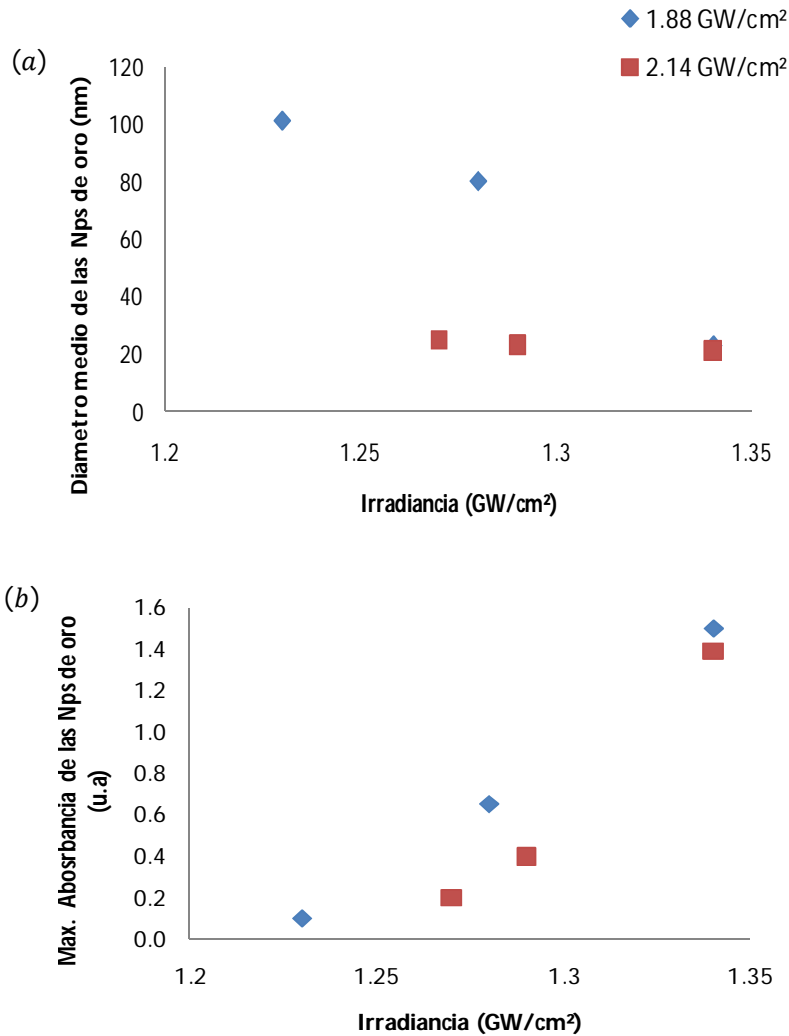
**Figura 62:** (a) Distribución de Nps de oro no funcionalizadas en función del diámetro de las mismas y (b) espectros de absorbancia de Nps de oro en función de la longitud de onda. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_14, 15 y 16: 77.62, 79.00 y 84.00 mJ, respectivamente, 1.23, 1.28 y 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y solución acuosa de concentración 0.18 M de SDS.

Tanto en la Fig. 61(a) como en la Fig. 62(a), se aprecia que a medida que se incrementa la irradiancia sobre la placa de oro se generan nanopartículas de menor diámetro, es decir, el diámetro medio de la partícula decae progresivamente con el aumento de la energía del láser y, obviamente, con el incremento de la irradiancia. Por otro lado, tanto en la Fig. 61(b) como en la Fig. 62(b), se puede observar que a medida que se incrementa la irradiancia, el pico de máxima absorción de las Nps de oro también aumenta. En la literatura se reportan resultados espectrales similares a los que se hallaron en las Figuras 61(b) y 62(b), adjudicándolos al fenómeno conocido como la “reducción de tamaño progresivo”; a medida que las nanopartículas disminuyen de tamaño son capaces de absorber más energía debido al aumento en su brecha de banda. La Figura 63 muestra los complejos Nps de oro-NF-SDS sintetizadas bajo las condiciones experimentales descritas en las figuras 61 y 62.



**Figura 63:** (a) Complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha: 84.00, 80.90 y 80.40 mJ, respectivamente, 1.34, 1.29 y 1.27 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y solución acuosa de concentración 0.045 M de SDS y (b) complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha: 84.00, 79.00 y 77.62 mJ, respectivamente, 1.34, 1.28 y 1.23 GW/cm<sup>2</sup>, respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y solución acuosa de concentración 0.18 M de SDS.

La Figura 64(a) muestra más claramente la relación entre el diámetro de la partícula y la irradiancia para ambas tandas de experimentos. Al observar esta figura, se nota una clara tendencia, a medida que aumenta la irradiancia, el diámetro de las nanopartículas disminuye.



**Figura 64:** (a) Variación del diámetro medio de la partícula con la concentración de SDS y (b) correlación del pico de máxima absorción de la partícula con la concentración de SDS. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_11, 12, 13, 14, 15 y 16: 80.40, 80.90, 84.00, 77.62, 79.00 y 84.00 mJ, respectivamente, 1.27, 1.29, 1.34, 1.23, 1.28 y 1.34 GW/cm², respectivamente, 15 minutos de exposición de la placa de oro al láser y soluciones acuosas de concentración 0.045 M y 0.18 M de SDS. Los puntos rojos corresponden a los complejos Nps de oro-NF-SDS\_11, 12 y 13 generadas a 1.27, 1.29 y 1.34 GW/cm² y los puntos azules corresponden a los complejos Nps de oro-NF-SDS\_14, 15 y 16 generados a 1.23, 1.28 y 1.34 GW/cm².

Adicionalmente, en la Figura 64(b), se puede notar la correlación de la irradiancia con el máximo de absorción de las Nps de oro. En esta figura, se aprecia que a medida que la irradiancia aumenta, el pico de máxima absorción de las Nps incrementa, es decir, la cantidad de Nps de oro aumenta considerablemente a medida que la irradiancia incrementa.

El resultado observado en la Fig. 64(a), se debe probablemente al refraccionamiento o fenómeno de fraccionamiento inducido por láser de las Nps de oro de diámetro promedio mayor, las cuales se encuentran ya formadas y presentes en el medio y que están siendo nuevamente irradiadas. Tal como se mencionó en la Sección I.5.1.d, *Mafuné F., et al.*<sup>[105]</sup>, en el año 2001, llegó a un resultado similar, a medida que se incrementaba la fluencia del láser, el tamaño de la partícula disminuía. Atribuyendo estos resultados al fenómeno de fragmentación inducido por láser<sup>[105]</sup>. Así mismo, *Mafuné F., et al.*<sup>[105]</sup>, reportaron que el diámetro de las Nps de oro se reduce drásticamente cuando se emplean altas fluencias del láser<sup>[105]</sup>, llamando este fenómeno como proceso de reducción de tamaño<sup>[105]</sup>. *Mafuné F., et al.*<sup>[105]</sup> comentaron que cuando el PS de la Nps de oro en una solución de SDS es excitado por la irradiación del láser, la energía del fotón es rápidamente transformada en modos internos de la Nps como calor<sup>[105]</sup>, durante un pulso, la nanopartícula absorbe muchos fotones<sup>[105]</sup>, aumentando su temperatura y posteriormente fragmentándose<sup>[105]</sup>. Después de un pulso del láser, el calor se difunde dentro de la solución y la temperatura de la Nps regresa a temperatura ambiente antes de que el siguiente pulso incida<sup>[105]</sup>. El calentamiento y enfriamiento ocurre entre pulso y pulso, resultando la velocidad de fragmentación incrementada con el aumento de la fluencia del láser<sup>[105]</sup> debido principalmente al incremento de la energía interna de la nanopartícula irradiada.

Igualmente, *Takami A., et al.*<sup>[106]</sup> describieron dicho fenómeno para Nps de oro irradiadas con láser. Cuando el láser irradia una nanopartícula de oro, el PS de esta comienza a absorber fotones y los electrones son excitados, producto de la absorción<sup>[106]</sup>. Una vez absorbidos, gran parte de la energía de estos fotones es convertida rápidamente en calor, lo que genera un incremento significativo en la temperatura de la nanopartícula<sup>[106]</sup>. La reducción de tamaño se origina debido a la vaporización de la partícula de oro<sup>[106]</sup>, cuando la temperatura de la solución coloidal de las Nps alcanza el punto de ebullición, átomos y pequeñas partículas son eyectados a través de la vaporización<sup>[106]</sup> y como resultado las partículas son reducidas de tamaño<sup>[106]</sup>. La cantidad de átomos eyectados depende de la energía del láser<sup>[106]</sup>.

### IV.1.3 Influencia del Tiempo de Ablación

Para esta parte de la investigación, se estudió como el tiempo de ablación influía sobre las características espectrales UV-Vis de las Nps de oro generadas. Los resultados obtenidos en las Secciones IV.1.1 y IV.1.2, sugerían que el uso de una concentración de 0.045 M de SDS y un elevado valor de irradiancia se traducen en una mayor cantidad de Nps generadas con menor diámetro medio. Por lo tanto, para este estudio se sintetizaron muestras de Nps de oro con un alto valor de irradiancia (2.14 GW/cm<sup>2</sup>), manteniéndose la concentración del estabilizante en 0.045 M y modificándose el tiempo de exposición de la placa de oro al láser (véase Tabla N° 7). Una vez que se inicia la ablación sobre la placa de oro y el tiempo de exposición transcurre, se observa que la solución cambia de incolora a diferentes tonalidades rosado-morado, lo que indica la presencia de Nps en el medio, tal como se muestra en la Figura 65.



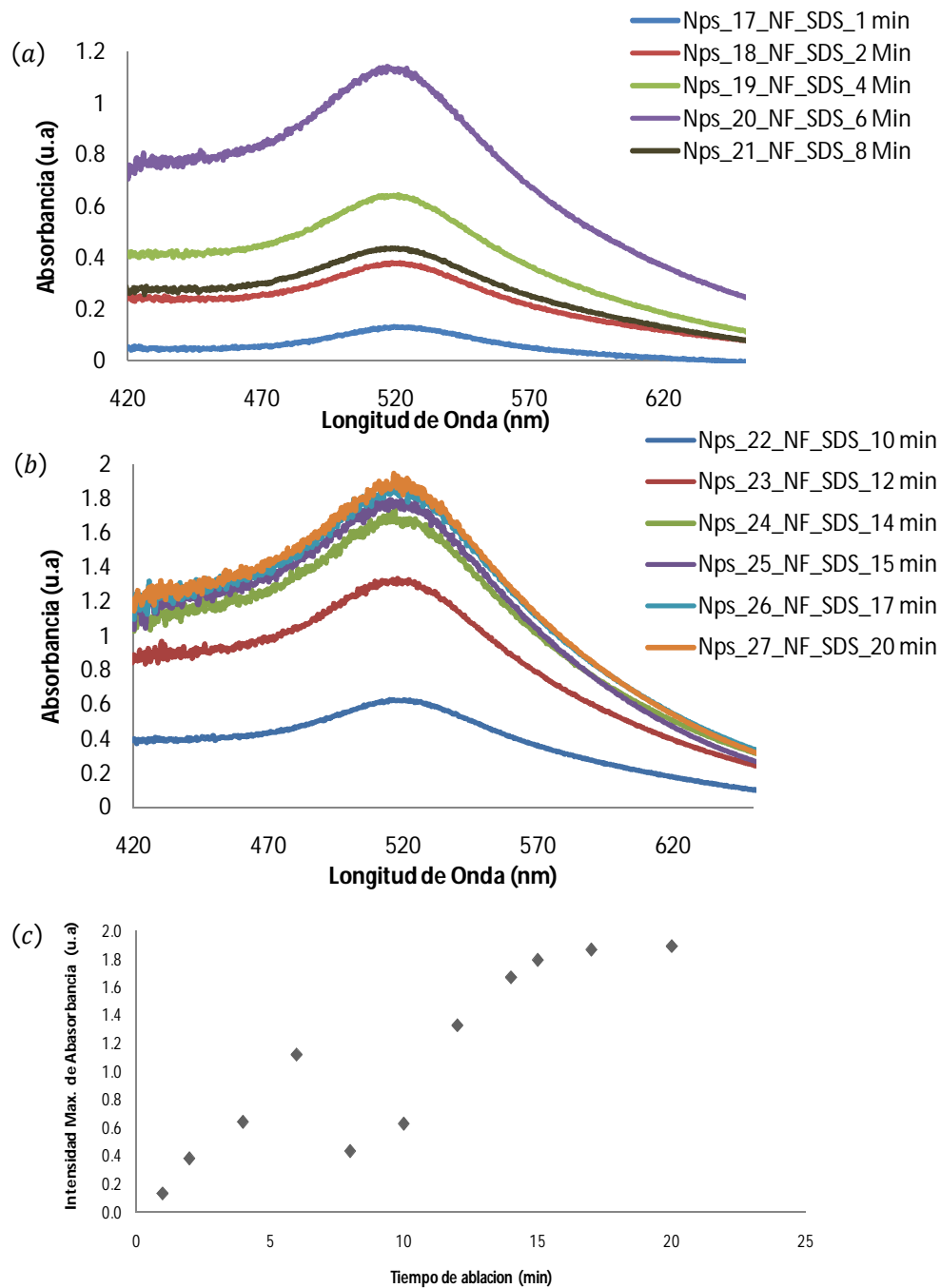
**Figura 65:** Complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales: energía del láser de 135.0 mJ, irradiancia de 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, en solución acuosa de 0.045 M de SDS y tiempo de ablación de izquierda a derecha: 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 15, 17 y 20 min, respectivamente.

En la Figura 65 se observan soluciones de Nps de oro de diferentes intensidades de color. Según el tiempo de exposición, la tonalidad de la solución coloidal de Nps de oro-NF-SDS varía significativamente, se puede apreciar soluciones de tonalidad más intensa indicando una mayor cantidad de partículas y por lo tanto presentando espectros de absorción más intensos (véase Figura 66). Los cambios de color de incoloro a rosado o a purpura indican desplazamientos en la longitud de onda del máximo de absorción debido a diferencias entre los diámetros promedio de partícula entre cada muestra.

**Tabla N° 7:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Influencia del tiempo de ablación.

Nombre de la Muestra	[SDS] (mol/L)	Energía (mJ)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	Dprom. ± 2 % (nm)	tiempo de Ablación (Min.)
Nps-NF-SDS_17	0.045	135.0	2.14	32.12	1
Nps-NF-SDS_18	0.045	135.0	2.14	38.00	2
Nps-NF-SDS_19	0.045	135.0	2.14	40.90	4
Nps-NF-SDS_20	0.045	135.0	2.14	52.34	6
Nps-NF-SDS_21	0.045	135.0	2.14	58.67	8
Nps-NF-SDS_22	0.045	135.0	2.14	60.89	10
Nps-NF-SDS_23	0.045	135.0	2.14	62.31	12
Nps-NF-SDS_24	0.045	135.0	2.14	76.89	14
Nps-NF-SDS_25	0.045	135.0	2.14	80.00	15
Nps-NF-SDS_26	0.045	135.0	2.14	80.30	17
Nps-NF-SDS_27	0.045	135.0	2.14	77.00	20

En las Figuras 66(a) y (b) se puede apreciar como el pico de máxima absorbancia de las Nps de oro generadas se desplaza a medida que aumenta el tiempo de ablación. Previamente, en la Sección IV.1.1, se mencionó que la reducción de tamaño progresivo de las Nps inducido por aumentos en la concentración del estabilizante, producen un aumento en la brecha de banda de las Nps de oro resultando a su vez en una mayor absorción de energía. Pero en este caso, se observa como las Nps de oro están absorbiendo más energía a medida que el tiempo de exposición de la placa de oro al láser incrementa. Esta tendencia esta asociada con el número de Nps presentes en el medio, tal como se destacó en la Sección IV.1.1, la absorción es directamente proporcional a la cantidad de Nps de oro en el medio. A medida que el tiempo de ablación incrementa la cantidad de Nps de oro que se generan aumentan significativamente.

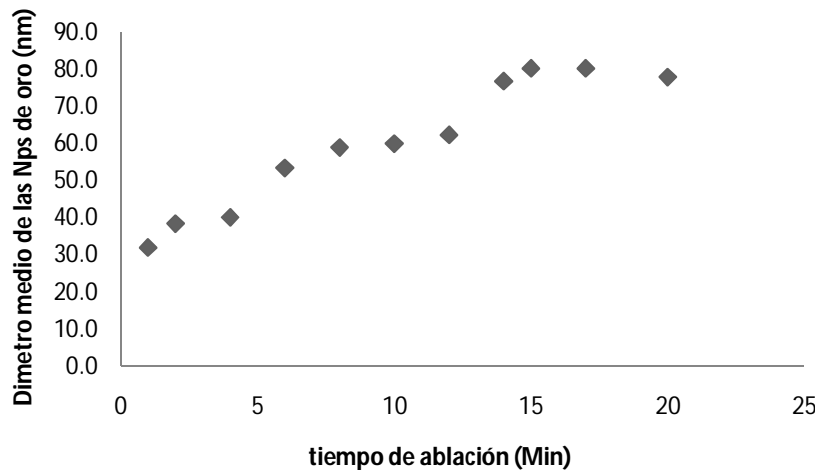


**Figura 66:** Espectros de absorción de complejos Nps de oro-NF-SDS empleando distintos tiempos de ablación; (a) tiempo de ablación < 10 min y (b) tiempo de ablación > 10 min. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_17 a 27: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y solución acuosa de 0.045 M de SDS. (c) Correlación del máximo de absorción de las Nps de oro con el tiempo de ablación.

En la Fig. 66(c), se aprecia como el tiempo de ablación afecta la cantidad de Nps de oro sintetizadas, siendo esta incrementada hasta un valor umbral. A pesar



de que se trabajó con un valor elevado de irradiancia, vale la pena destacar que, no se observó saturación o ensanchamiento de los espectros a los valores de tiempo relativamente extensos (17 ó 20 minutos). Por otro lado, en la Figura 67 se puede observar la relación entre el diámetro medio de las Nps de oro generadas y el tiempo de ablación.



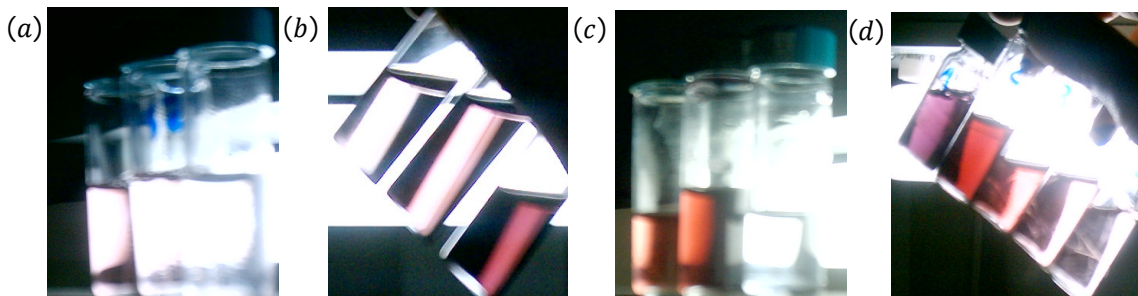
**Figura 67:** Relación entre el diámetro medio de los complejos Nps de oro-NF-SDS y el tiempo de ablación. Condiciones experimentales de ablación para la generación de los complejos Nps de oro-NF-SDS\_17 a 27: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y solución acuosa de concentración 0.045 M de SDS.

En la Fig. 67 se puede apreciar que el diámetro de la partícula incrementa a medida que aumenta el tiempo de ablación. Este resultado sugiere que cuando se emplean tiempos de ablación relativamente pequeños, el diámetro medio de las Nps se mantiene casi constante, variando solamente desde 32.0 hasta 40.1 nm máximo. Mientras que cuando el tiempo de ablación incrementa, por encima de 12 minutos, las Nps de oro experimentan cambios bastantes apreciables en su tamaño, es decir, de 12 a 15 minutos, el diámetro de las Nps varía desde 62.4 hasta 80.0 nm, alcanzando justamente a los 15 minutos, un valor umbral de 80.3 nm. Luego de este valor, se observa que el diámetro de partícula decae un poco cuando se emplean tiempos de ablación muy extensos (20 minutos).

#### IV.1.4 Correlación de la Longitud de Onda del Máximo de Absorbancia con el Diámetro de Partícula

El valor máximo de absorbancia, correspondiente a la banda de resonancia de plasmón superficial (RPS) de los complejos Nps de oro-NF-SDS resulta, por ley de Beer, proporcional a la cantidad de Nps presentes en el medio. En base a los resultados obtenidos en las Secciones IV.1.1, IV.1.2 y IV.1.3, se pueden establecer tres importantes variables que afectan la cantidad de Nps de oro generadas: (i) concentración del estabilizante, (ii) irradiancia y (iii) tiempo de ablación. En dichas secciones, se mencionó la correlación de estas tres variables con el valor de máxima absorción de las Nps de oro.

No obstante, resultaría interesante examinar la correlación que existe entre el diámetro medio de las Nps de oro y la longitud de onda del valor de máxima absorción. Para ello y en base a los resultados presentados en la Sección IV.1.3, se decidió trabajar, para esta parte de la investigación, con un tiempo de ablación de 15 minutos, modificando solo dos variables; irradiancia y concentración del estabilizante (véase Figura 68). Se empleó un amplio rango de irradiancias y concentraciones de SDS, sin embargo, para mayor detalle de las muestras y las condiciones de preparación de cada una de ellas se puede observar la Tabla N° 8.

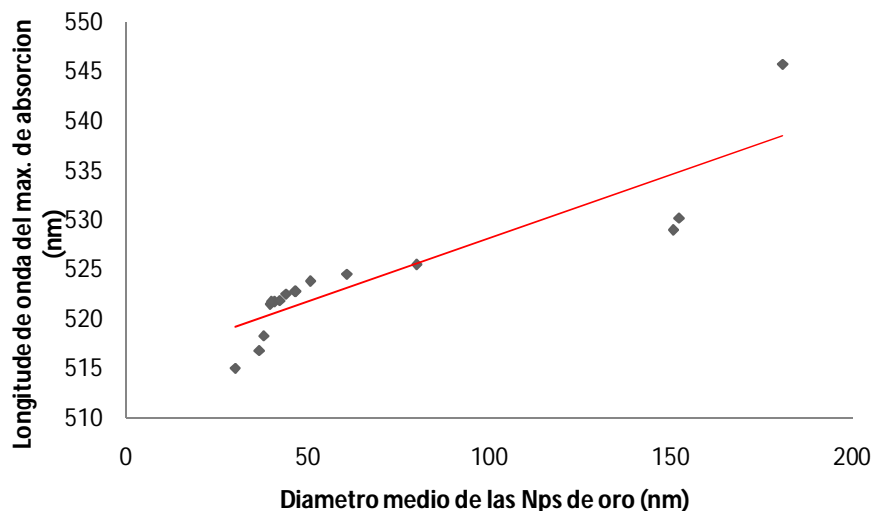


**Figura 68:** Complejos de Nps de oro-NF-SDS sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales: (a) 1.23 GW/cm<sup>2</sup> y de izquierda a derecha, 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS, respectivamente, (b) 1.88 GW/cm<sup>2</sup> y de arriba abajo, 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS, respectivamente, (c) 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y de izquierda a derecha, 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS, respectivamente y (d) de arriba abajo; 1.34 GW/cm<sup>2</sup> y 0.045 M de SDS, 1.27 GW/cm<sup>2</sup> y 0.045 M de SDS, 1.29 GW/cm<sup>2</sup> y 0,045 M de SDS, 1.34 GW/cm<sup>2</sup> y 0.18 M de SDS y 1.27 GW/cm<sup>2</sup> y 0.18 M de SDS, respectivamente.

**Tabla N° 8:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Dependencia de la longitud de onda del máximo de absorbancia con el diámetro de la Nps.

Nombre de la Muestra	[SDS] (mol/L)	Energía (mJ)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	Lambda Max. Absor. (nm)	Dprom. ± 2 % (nm)
Nps-NF-SDS_28	0.045	77.62	1.23	518.29	38.79
Nps-NF-SDS_29	0.09	77.62	1.23	522.80	46.57
Nps-NF-SDS_30	0.135	77.62	1.23	522.89	44.34
Nps-NF-SDS_31	0.045	117.40	1.88	521.50	39.10
Nps-NF-SDS_32	0.09	117.40	1.88	522.80	46.57
Nps-NF-SDS_33	0.135	117.40	1.88	525.50	80.93
Nps-NF-SDS_34	0.045	135.00	2.14	515.00	30.21
Nps-NF-SDS_35	0.09	135.00	2.14	516.80	36.00
Nps-NF-SDS_36	0.135	135.00	2.14	530.20	152.23
Nps-NF-SDS_37	0.045	84.00	1.34	521.75	40.02
Nps-NF-SDS_38	0.09	80.00	1.27	524.51	60.32
Nps-NF-SDS_39	0.135	80.90	1.29	529.00	150.46
Nps-NF-SDS_40	0.36	84.00	1.34	545.20	180.00
Nps-NF-SDS_41	0.045	78.82	1.27	521.75	50.10

En la Figura 69 se presenta la relación que existe entre la longitud de onda correspondiente al máximo de absorción con el diámetro medio de Nps de oro no funcionalizadas. En dicha figura, se puede apreciar como a medida que aumenta el diámetro de la partícula, la longitud de onda del máximo de absorbancia se va incrementando paulatina y progresivamente.



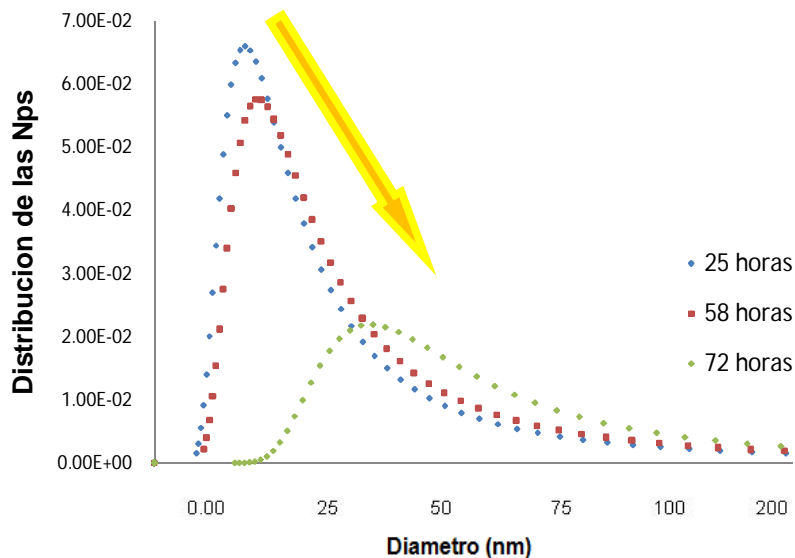
**Figura 69:** Correlación de la longitud de onda del valor máximo de absorbancia con el diámetro medio de la partícula.

El incremento, que se observa en la Fig. 69, de la longitud de onda del máximo de absorbancia a medida que el diámetro de partícula aumenta, se puede atribuir a un fenómeno reportado en la literatura como “fenómeno de cuantización del tamaño”, que consiste en la cuantización de las bandas de conducción y de valencia en una nanopartícula y también al aumento en su brecha de banda debido al confinamiento espacial de sus electrones. A medida que una nanopartícula se hace cada vez más pequeña, el confinamiento de sus electrones aumenta resultando en un incremento en el espaciado entre los niveles y en la brecha de banda. Entonces, mientras más pequeña sea una nanopartícula, más capaz será para absorber energía de mayor frecuencia y por lo tanto de una longitud de onda más corta, por el contrario, mientras más grande sea una nanopartícula, más capacitada estará para absorber energía de menor frecuencia y por lo tanto de una longitud de onda más larga.

#### **IV.2 ESTABILIDAD DE LAS NPS DE ORO-NF-SDS EN EL TIEMPO**

En el año 2006, *Taranseko N. et al.*<sup>[107]</sup>, estudiaron la estabilidad de una serie de complejos de Nps de oro, encontrando que la longitud de onda correspondiente al valor o pico de máxima absorción de dichas partículas, al finalizar la ablación, aumentaba producto de la agregación en el tiempo<sup>[107]</sup>.

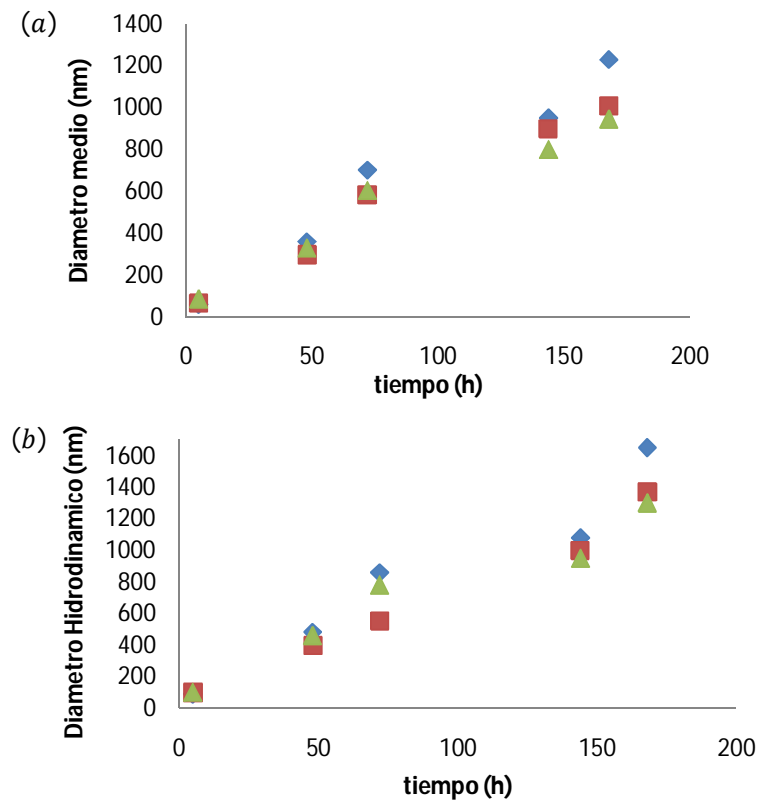
En esta parte de la investigación, se estudió la estabilidad temporal de las Nps de oro generadas en soluciones acuosas con altas concentraciones de SDS, para ello se seleccionó el complejo Nps de oro-NF-SDS\_4. Una vez que esta muestra fue sintetizada, se trasvasó a un nuevo vial y se estudiaron los cambios que se producen en sus diámetros (medio e hidrodinámico) con el tiempo. En la Figura 70 se puede notar un aumento progresivo del diámetro medio de las Nps de oro a medida que transcurre el tiempo. Esta tendencia sugiere que existen procesos de agregación que experimentan las Nps de oro durante una etapa que nosotros denominamos “maduración o envejecimiento de las Nps de oro”. Estos resultados demostraron contundentemente que los complejos Nps de oro no funcionalizados, generados en soluciones acuosas 0.18 M de SDS, resultaron dramáticamente inestables en el tiempo.



**Figura 70:** Efecto de los procesos de agregación sobre la distribución de tamaños de las Nps de oro. Condiciones experimentales bajo las cuales se generaron las Nps de oro: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, concentración 0.18 M de SDS y tiempo de ablación de 15 minutos. La flecha amarilla indica la tendencia a la formación progresiva de agregados de Nps de oro en el tiempo.

Entonces, a pesar que la concentración 0.18 M de SDS permite obtener mayor cantidad de Nps de oro con menor tamaño, sus diámetros medios e hidrodinámicos incrementan muy rápidamente a medida que transcurre el tiempo, tal como se muestra en la Figura 71. En la Fig 71(a) se aprecia la variación del diámetro medio y en la Fig. 71(b) la variación del diámetro hidrodinámico en función

del tiempo, ambas tendencias se deben a las razones anteriormente mencionadas para la Fig. 70.



**Figura 71:** Efecto de los procesos de agregación sobre los diámetros medio (a) e hidrodinámico (b) de las Nps de oro. Condiciones experimentales bajo las cuales se generaron las Nps de oro: 84 mJ, 1.34 GW/cm<sup>2</sup>, concentración 0.18 M de SDS y tiempo de ablación de 15 minutos. Los puntos azules, verdes y rojos representan el número de replicas realizadas en una misma cantidad de horas.

### IV.3 ESTUDIO DE LA SEÑAL DEL SEGUNDO ARMONICO Y LA PRIMERA HIPERPOLARIZABILIDAD DE LAS NPS DE ORO NO FUNCIONALIZADAS

En la literatura se reporta que las Nps de oro presentan efectos ópticos no lineales (ONL) de segundo orden y que dicho comportamiento se puede estudiar y cuantificar en términos de la primera hiperpolarizabilidad a través de la dispersión de hiper rayleigh (HRS). Por otro lado, se ha reportado una particular dependencia de HRS con la cantidad y tamaño de las partículas presentes en el medio. Por lo tanto, en esta parte del trabajo, se empleo la técnica de HRS para: (i) estudiar el comportamiento ONL de los complejos Nps de oro-NF-SDS generados vía ablación

láser, (ii) cuantificar su tensor  $\beta$  y (iii) estudiar la correlación de la primera hiperpolarizabilidad con el diámetro de partícula.

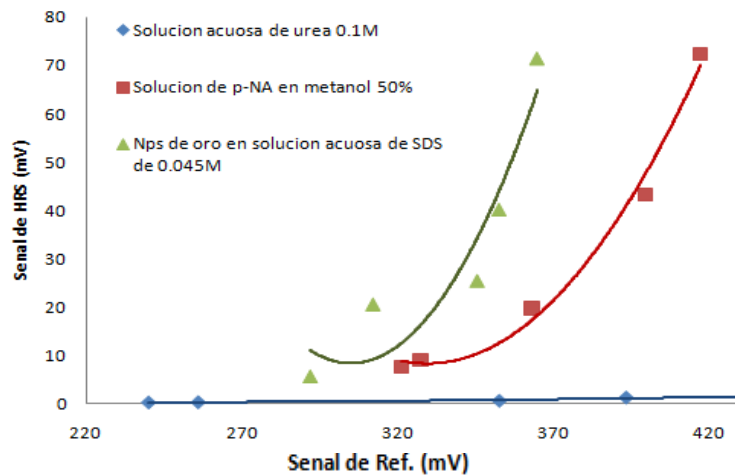
#### **IV.3.1 Comportamiento de la Señal del Segundo Armónico Según el Sistema de Estudio**

En la literatura se pueden encontrar gráficas experimentales donde resaltan diferentes comportamientos de la señal de HRS según el sistema que se este estudiando, por ejemplo, se reporta que la señal de HRS proveniente de una solución de Nps de oro superficialmente modificada con un determinado agente, es significativamente mayor a la señal proveniente de Nps de oro no modificadas<sup>[108]</sup>. Tal como se señaló en la Sección I.1.2, las funcionalizaciones realzan y refuerzan la señal de HRS característica de las Nps de oro<sup>[108]</sup>.

Para verificar esta aseveración, se prepararon diferentes soluciones de úrea y p-nitroanilina (p-NA) (véase las Secciones III.3.3.a y III.3.3.b), seguidamente, utilizando el montaje experimental expuesto en la Sección III.3.3.c, se estudió la señal de HRS proveniente de dichas soluciones y por último se comparó con la respuesta del segundo armónico de los complejos Nps de oro-NF-SDS.

##### **IV.3.1.a. Señal de HRS de Nps de oro, p-NA y Urea**

En la Figura 72 se aprecia la relación entre la señal de HRS,  $I(2\omega)$ , y la señal de incidencia o referencia  $I(\omega)$ , para tres diferentes sistemas de estudio; una solución acuosa de 0.1 M de urea, otra solución de 0.1 M de p-NA en etanol 50% y una solución coloidal de Nps de oro sin funcionalización (Nps de oro-NF-SDS\_8). Vale la pena destacar que, la muestra de Nps de oro-NF-SDS\_8 fue generada bajo las siguientes condiciones experimentales: energía del láser de 135.0 mJ, irradiancia de 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, tiempo de ablación de 15 minutos, y una concentración de 0.045 M de SDS.



**Figura 72:** Correlación de la señal de HRS con la señal de referencia para una solución 0.1 M de urea (línea azul), una solución de 0.1 M de p-NA (línea roja) y una muestra de Nps de oro sin funcionalización (línea verde) (Nps de oro-NF-SDS\_8). Condiciones experimentales para la generación de la muestra Nps de oro-NF-SDS\_8: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación, y una concentración de 0.045 M de SDS. Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: lectura del laser: 120, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, barrido del ángulo de la LRA/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270° y ángulo del TFM 0°.

En la Fig. 72, se puede notar claramente que la señal de HRS de la muestra de Nps de oro es significativamente superior a la señal proveniente de las soluciones de urea y/o p-NA. Este resultado se debe a que esta señal está convenientemente reforzada por la excitación de los plasmones superficiales de las Nps, produciendo una mayor respuesta del segundo armónico.

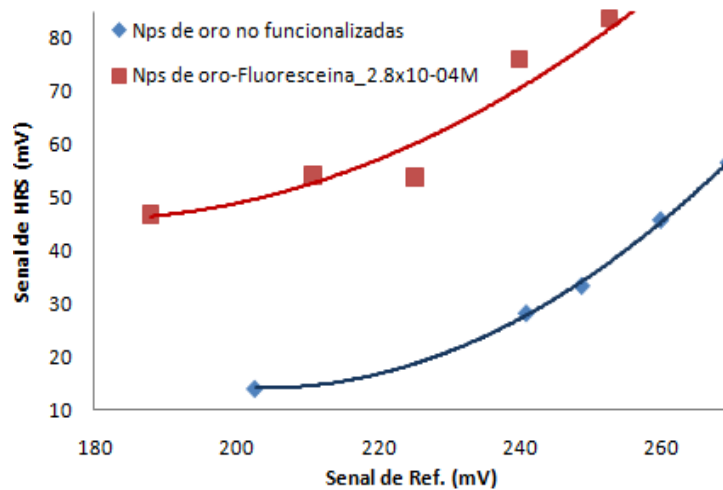
No obstante, la p-NA presenta una señal de HRS nada despreciable, debido a que este compuesto tiene un grupo amino donador y un grupo nitro aceptor de electrones, lo que ocasiona una transferencia de carga continua a través del anillo aromático. Esta transferencia de carga intra-molecular contribuye positivamente al valor del tensor  $\beta$ , el cual es reportado alrededor de  $16.8 \times 10^{-30}$  esu.

Para el caso de la urea, la señal de HRS que se detectó fue casi despreciable con respecto a la señal de las Nps, lo que pone de manifiesto que las Nps de oro generadas en este trabajo de investigación poseen mejores propiedades ONL que la urea.



#### IV.3.1.b. Señal de HRS de Nps de Oro con y sin Funcionalización

Una vez comparada la señal de HRS de las Nps de oro sin funcionalización con la señal proveniente de soluciones de urea y p-NA, se procedió a estudiar el efecto de la funcionalización sobre las propiedades ONL características de las Nps de oro, para ello, en la Figura 73, se comparó la señal del segundo armónico de las Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (DSF) (Nps de oro-DSF-SDS) con aquellas Nps no modificadas (Nps de oro-NF-SDS).



**Figura 73:** Correlación entre la señal de HRS con la señal de referencia para dos soluciones coloidales de Nps de oro sin y con funcionalización; línea azul (Nps de oro-NF-SDS\_8) y línea roja (Nps de oro-DSF-SDS\_3). Condiciones experimentales para la generación de la muestra no funcionalizada (Nps de oro-NF-SDS\_8): 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación, y una concentración de 0.045 M de SDS. Condiciones experimentales para la generación de la muestra funcionalizada (Nps de oro-DSF-SDS\_3): 80.40 mJ, 1.27 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación, una concentración final de  $2.8 \times 10^{-4} \text{ M}$  de DSF en el vial y una concentración de 0.045 M de SDS.

En la Fig. 73, se observa que las Nps de oro no modificadas presentan una buena señal de HRS pero significativamente inferior a la señal de las Nps funcionalizadas. Se puede apreciar como la funcionalización mejora dramáticamente las propiedades ONL de las Nps y con ello, la señal de HRS. Debido a las interacciones electrostáticas del agente funcionalizador con la superficie metálica de la partícula, la señal de HRS se ve incrementada sustancialmente. Adicionalmente, no se descarta que las moléculas de la DSF hayan cambiado el estado superficial de las Nps de oro, aumentando y creando a su vez nuevas condiciones no-centrosimétricas, con lo cual, la señal de HRS incrementa.

En efecto, en el año 2003, *Zhang X. C. et al.*<sup>[109]</sup>, reportaron que la interacción de una suspensión acuosa de nanopartículas de oro con una proteína anti-cuerpo IgG de cabra, producían incrementos de la señal de HRS<sup>[109]</sup>. Estos investigadores señalaron que un posible mecanismo que explicaba este fenómeno, podía envolver un cambio del estado de superficie de las Nps<sup>[109]</sup>. Además, creían que las interacciones de las Nps con las moléculas IgG cambiaron el estado superficial de las partículas<sup>[109]</sup> y probablemente crearon una nueva condición no-centrosimétrica en el sistema<sup>[109]</sup>. Más tarde en el 2008, *Russier-Antoine I. et al.*<sup>[110]</sup>, señalaron que importantes incrementos en la señal de HRS se detectaron para una serie de Nps de oro, modificadas con albúmina de suero bovino biotina (BSA-biotina) y posteriormente agregadas con una proteína llamada Streptavidina<sup>[110]</sup>. La adición e incremento de ciertas cantidades de Streptavidina a una suspensión de Nps de oro-BSA-biotina, no solo modificaban los espectros de absorbancia de las Nps<sup>[110]</sup> sino también la intensidad de HRS incrementaba dramáticamente<sup>[110]</sup>. *Russier-Antoine I. et al.*<sup>[110]</sup>, explicaron ambos resultados en base a los procesos de agregación que experimentaban las partículas<sup>[110]</sup> y a las modificaciones en las condiciones no-centrosimétricas de la suspensión<sup>[110]</sup>.

#### IV.3.2 Influencia de la Cantidad de Nps No funcionalizadas sobre la Señal del Segundo Armónico

Como se sabe, la intensidad de luz emergente (luz dispersada en todas las direcciones o señal de HRS ( $I_{2\omega}$ ) es directamente proporcional al cuadrado de la intensidad de luz incidente ( $I^2(\omega)$ ). Adicionalmente y tal como se mencionó en la Sección I.7.3, la intensidad de la señal de HRS es igualmente proporcional a la cantidad de Nps de oro generadas en el medio:

$$I_{2\omega} = G (Ns\beta s^2 + Na\beta a^2)I^2_{\omega} \quad Ec. IV. 1$$

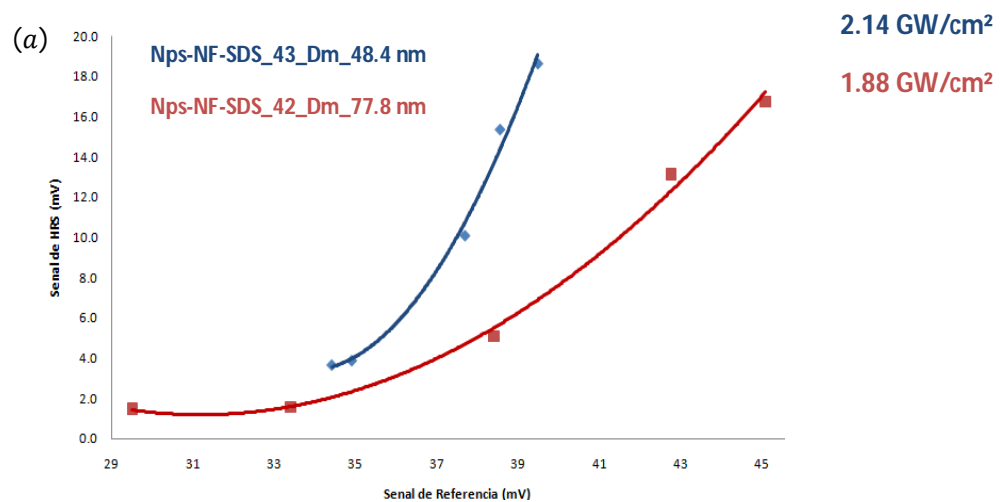
Al observar la *Ec. IV.1*, se puede notar como a medida que la cantidad de Nps presentes en la solución incrementa, la señal de HRS también aumenta. Para estudiar la variación de la señal de HRS en función de la cantidad de Nps de oro y sus diámetros, se procedió a sintetizar una serie de Nps de oro-NF-SDS y posteriormente a caracterizarlas según el procedimiento experimental expuesto en

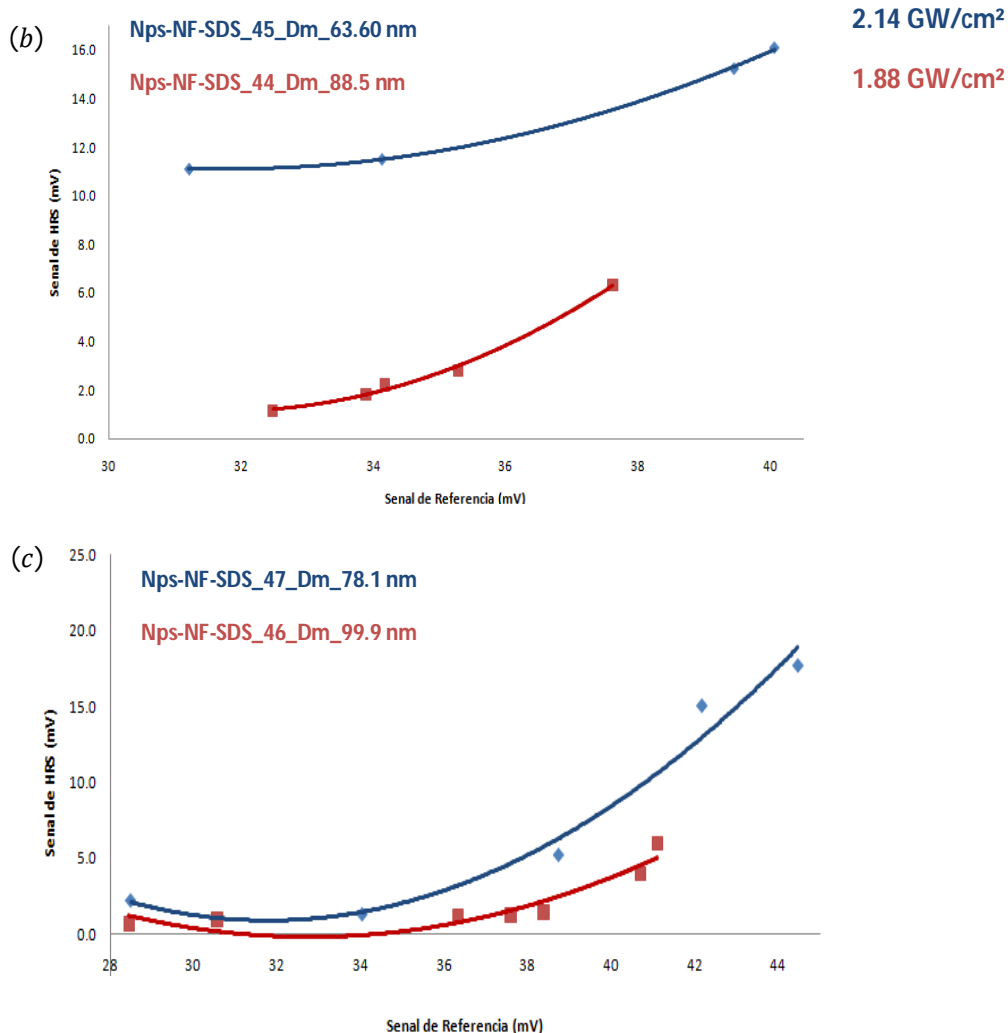
la Sección III.3.3.b. La Tabla N° 9 muestra las variables experimentales que se usaron para la generación de dichos complejos y las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS de las muestras.

**Tabla N° 9:** Condiciones para la generación de Nps de oro no funcionalizadas (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Variables experimentales para la medida de la señal de HRS.

Nombre de la Muestra	[SDS] (mol/L)	Energía (mJ)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	Dprom. ± 2 % (nm)	tiempo ablación (min)	Barrido de LR/2	Angulo CP	Angulo TFM
Nps-NF-SDS_42	0.045	117.4	1.88	77.88	15	50-90°	270°	0°
Nps-NF-SDS_43	0.045	135.0	2.14	48.44	15	50-90°	270°	0°
Nps-NF-SDS_44	0.09	117.4	1.88	88.50	15	50-90°	270°	0°
Nps-NF-SDS_45	0.09	135.0	2.14	63.60	15	50-90°	270°	0°
Nps-NF-SDS_46	0.135	117.4	1.88	99.9	15	50-90°	270°	0°
Nps-NF-SDS_47	0.135	135.0	2.14	78.10	15	50-90°	270°	0°

La Figura 74 muestra la dependencia de la señal de HRS con la cantidad de Nps de oro generadas vía ablación láser.





**Figura 74:** Relación entre la señal de HRS y la señal de referencia para una serie de soluciones de Nps de oro no funcionalizadas. Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: lectura del laser: 120, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, barrido del ángulo de la LRλ/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270° y ángulo del TFM 0°.

En la Fig. 74, se aprecia la misma tendencia que previamente fue mencionada en la Sección IV.1.2, a medida que aumenta la irradiancia, la cantidad de Nps de oro presentes en el medio se ve incrementa. Este resultado ya se explicó en base al refraccionamiento inducido por láser de las Nps de oro de mayor diámetro, las cuales una vez que se encuentran formadas, estas son de nuevo irradiadas, su temperatura se incrementa y por consiguiente se fragmentan en partículas de menor tamaño. No obstante, en la Fig. 74, también se ponen de manifiesto otros dos relevantes hechos: (i) desplazamientos e incrementos de la

señal de HRS proveniente de las Nps de oro generadas a una mayor irradiancia y (ii) las Nps de menor diámetro medio (Dm) presentan mayor señal de HRS. Al emplearse una mayor irradiancia, se incrementa la cantidad de Nps de oro generadas, provocando, a su vez, que la señal de HRS aumente significativamente.

En el año 2009, *Segets D. et al.*<sup>[111]</sup>, señalaron que incrementos en el tamaño de las partículas de ZnO producen aumentos significativos en el valor de su primera hiperpolarizabilidad<sup>[111]</sup>. A parte de esta investigación, no se reportan otros estudios de la dependencia de la señal de HRS con el tamaño de la partícula. Por lo tanto, el hecho de que en este trabajo de investigación se hayan encontrado que las partículas de oro más pequeñas presenten mayor señal de HRS, resulta ser bastante interesante, particular e innovador.

#### IV.3.3 Determinación de la Primera Hiperpolarizabilidad de las Nps de Oro con y sin Modificación

Con la finalidad de estudiar y comparar el efecto del agente funcionalizador sobre el valor de la primera hiperpolarizabilidad de las Nps de oro, se prepararon tres diferentes muestras de Nps; un complejo de Nps de oro-NF-SDS, otro de Nps de oro-Rodamina B (RB)-SDS y un último complejo de Nps de oro-Disodiofluoresceína (DSF)-SDS. Las variables experimentales para la generación de dichas Nps y las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS de las Nps, se pueden apreciar en la Tabla N° 10.

**Tabla N° 10:** Determinación de la primera hiperpolarizabilidad de complejos Nps de oro con y sin funcionalización.

Nombre de la Muestra	[SDS] (mol/L)	[Agente Func.] (mol/L)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	Absor. A 525 nm (u.a)	tiempo ablación (min)	Barrido de LR/2	Angulo CP	Angulo TFM
Nps-NF-SDS_48	0.045	-	1.34	1.131	15	50-90°	270°	0°
Nps-RB-SDS_49	0.045	9.0 E-07	2.14	0.061	15	50-90°	270°	0°
Nps-DSF-SDS_50	0.09	9.0 E-07	1.88	1.488	15	50-90°	270°	0°

Para determinar el valor experimental del tensor  $\beta$  de cada uno de estos complejos, se debe considerar lo que previamente se mencionó en la Sección I.4.1., acerca de la Teoría de Mie. Esta teoría permite realizar un análisis de los PS en una nanopartícula metálica. El Modelo de Mie que explica el fenómeno de la resonancia de plasmón superficial (RPS) se basa en la solución de las ecuaciones de Maxwell para la interacción de una onda electromagnética con pequeñas esferas metálicas. En la literatura se reporta que a través de esta teoría es posible calcular el coeficiente de extinción o coeficiente de absortividad molar de una nanopartícula aislada y metálica para la aproximación dipolar<sup>[112]</sup>. De hecho, se ha empleado la Teoría de Mie para el estudio de la absorbancia de esferas metálicas individuales<sup>[112]</sup>, cuyo diámetro es mucho menor que la longitud de onda, a la cual estas partículas presentan su banda de PS característica<sup>[112]</sup>. Solo en estos casos, se destaca que la oscilación dipolar contribuye al coeficiente de extinción de una partícula metálica<sup>[112]</sup>.

A través de la Teoría de Mie, se sabe que el coeficiente de extinción molar,  $\sigma_M$ , para partículas aisladas se puede determinar por medio de la siguiente expresión:

$$\sigma_M (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}) = \frac{\kappa \varepsilon_2^2}{\lambda (\varepsilon_1 + 2\varepsilon_m)^2 + \varepsilon_2^2} \quad \text{Ec. IV. 2}$$

donde:

$$\kappa = \frac{18 \times 10^{-3} \pi V_m \epsilon_m^{3/2}}{2.303} \quad \text{Ec. IV. 3}$$

y donde:

$\sigma_M$  es el coeficiente de extinción molar de una nanopartícula aislada.

$\epsilon_m$  es la constante dieléctrica del medio, en este caso, agua (78.5 a 298 K)

$V_M$  es el volumen molar del metal, en este caso, oro ( $10.19 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$  a 293 K).

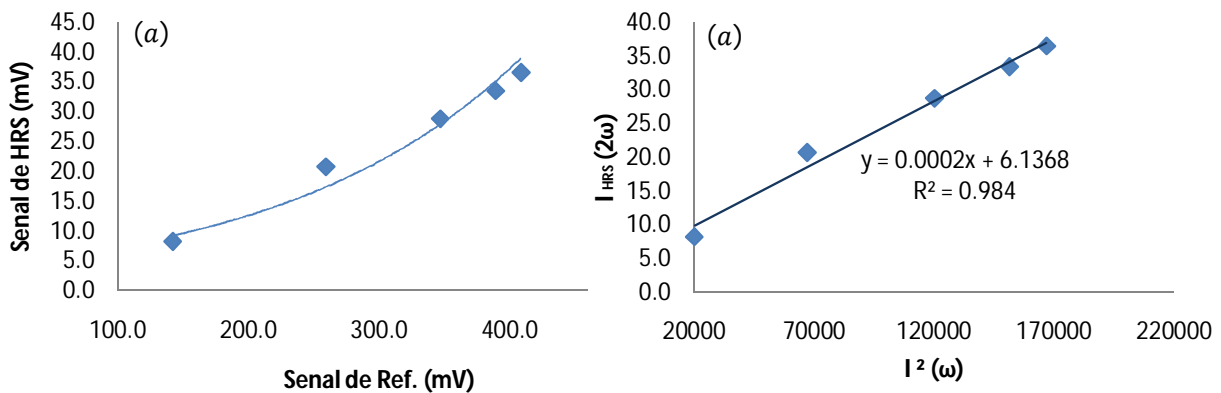
Justamente, cuando ocurre el fenómeno de la RPS, se considera que:

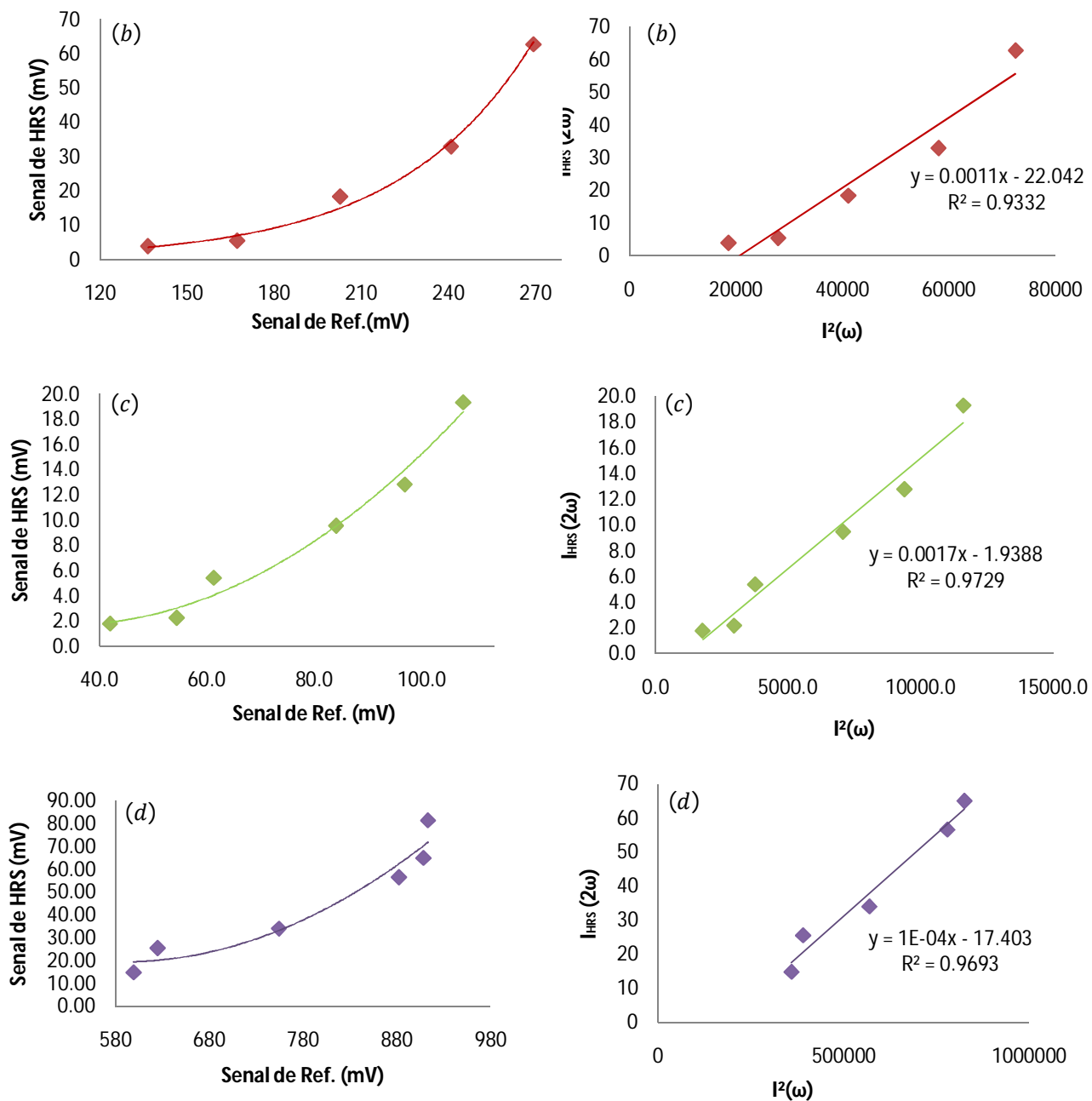
$$\epsilon_1(\omega) = -2\epsilon_m \quad \text{Ec. IV. 4}$$

Además, se sabe que la constante dieléctrica del metal (en este caso, oro) es compleja, posee una parte real y otra imaginaria, y viene dada por:

$$\epsilon(\omega) = \epsilon_1 + i\epsilon_2 \quad \text{Ec. IV. 5}$$

Entonces, considerando las Ec. IV.2 y IV.3, se determinaron los valores de  $K$  y  $\sigma_M$ , los cuales resultaron ser  $1.24 \times 10^2 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$  y  $2.37 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. A partir de la Ec. I.16 de la Sección I.7.3.a, empleando el valor calculado de  $\sigma_M$ , conociendo la absorbancia de las Nps a 525 nm y sabiendo que la longitud de la celda o camino óptico es de 1 cm; se determinó la cantidad de Nps de oro con y sin funcionalización. Seguidamente, se graficó para cada complejo de Nps de oro preparado, la intensidad de la señal de HRS en función del cuadrado de la intensidad de referencia, tal como se aprecia en la Figura 75.





**Figura 75:** Variación de la señal de HRS con el cuadrado de la señal de referencia; (a) solución 0.1 M de p-NA, (b) complejos Nps de oro-NF-SDS, (c) complejos Nps de oro-RB-SDS y (d) complejos Nps de oro-DSF-SDS.

Considerando la siguiente ecuación:

$$I_{2\omega} = G (Ns\beta s^2 + Na\beta a^2) I^2_{\omega}$$

Ec. IV.6



y tomando en cuenta que el tensor  $\beta$  del solvente es despreciable, se determinó que la pendiente,  $m$ , de cada una de las gráficas de la Fig. 75 se puede expresar como sigue:

$$mi = G Ni\beta i \quad \text{Ec. IV. 7}$$

donde  $i$  puede referirse a la solución de p-NA o a los complejos Nps-NF-SDS, Nps-RB-SDS o Nps-DSF-SDS.

Seguidamente, con el valor de la pendiente ( $m$ ) de la Fig. 75(a) y el tensor  $\beta$  de la p-NA reportado en la literatura, alrededor de  $16.8 \times 10^{-03} \text{ esu}^{[113]}$ , se determinó el valor del tensor  $\beta$  de cada complejo de Nps de oro preparado, a partir de las siguientes expresiones:

$$\beta_{\text{Nps-NF-SDS}} = [(m_{\text{Nps-NF-SDS}} \cdot N_{\text{p-NA}})/(m_{\text{p-NA}} \cdot N_{\text{Nps-NF-SDS}})] \cdot \beta_{\text{p-NA}} \quad \text{Ec. IV. 8}$$

$$\beta_{\text{Nps-RB-SDS}} = [(m_{\text{Nps-RB-SDS}} \cdot N_{\text{p-NA}})/(m_{\text{p-NA}} \cdot N_{\text{Nps-RB-SDS}})] \cdot \beta_{\text{p-NA}} \quad \text{Ec. IV. 9}$$

$$\beta_{\text{Nps-DSF-SDS}} = [(m_{\text{Nps-DSF-SDS}} \cdot N_{\text{p-NA}})/(m_{\text{p-NA}} \cdot N_{\text{Nps-DSF-SDS}})] \cdot \beta_{\text{p-NA}} \quad \text{Ec. IV. 10}$$

En la Tabla N° 11 se puede apreciar la cantidad de partículas calculadas para cada una de las muestras y el valor de la primera hiperpolarizabilidad correspondiente a cada complejo de Nps de oro preparado.

**Tabla N° 11:** Cantidad de Nps de oro presentes en cada muestra preparada con su respectivo valor de primera hiperpolarizabilidad.

Nombre de la Muestra	[SDS] (mol/L)	[Agente Func.] (mol/L)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	Absor. a 525 nm (u.a)	tiempo ablación (min)	Cantidad de Nps de oro (mol/L)	Valor de la pendiente <i>m</i> (ver Fig. 75)	Valor de $\beta$ (en agua) (esu)
Solución 0.1 M de p-NA	-	-	-	-	-	-	0.0002	16.8 E-30
Nps-NF-SDS_48	0.045	-	1.34	1.131	15	4.77E-07	0.0011	1.9 ± 2.5 E-23
Nps-RB-SDS_49	0.045	9.0 E-07	2.14	0.061	15	2.57E-06	0.0017	5.5 ± 2.2 E-22
Nps-DSF-SDS_50	0.09	9.0 E-07	1.88	1.488	15	6.27E-07	0.0001	13.3 ± 1.6 E-23

Entonces, observando la Tabla N° 11, se puede notar que el valor de la primera hiperpolarizabilidad de una nanopartícula de oro no funcionalizada fue alrededor de  $1.9 \pm 2.5 \times 10^{-23}$  esu, lo cual concuerda adecuadamente con lo que se reporta en la literatura. En efecto, *Rouillat H. et al.*<sup>[114]</sup> encontraron que el valor del tensor  $\beta$  fue  $13.5 \pm 2.3 \times 10^{-25}$  para nanopartículas de oro solitarias de 20 nm de diámetro<sup>[114]</sup>. Estos investigadores comentaron que, en general, se considera que esta magnitud ( $10^{-25}$  esu) indica que las Nps de oro poseen una simetría totalmente esférica. Así mismo, *Russier-Antoine et al.*<sup>[115]</sup> señalaron que habían sintetizado Nps de oro de 40 nm de diámetro cuyo tensor  $\beta$  fue  $9.0 \times 10^{-24}$  esu<sup>[115]</sup> y *Vance F. et al.*<sup>[116]</sup> determinaron el valor de  $\beta$  para dos tipos de Nps de oro, 30 y 20 nm de diámetro, en  $2.8 \times 10^{-33}$  esu y  $2.0 \times 10^{-33}$  esu, respectivamente<sup>[116]</sup>.

Grandes valores de hiperpolarizabilidad para una nanopartícula de oro solitaria sin modificación han sido reportados en el pasado. Sin embargo, observando la Tabla N° 11, resulta evidente que las Nps de oro generadas en este trabajo de investigación poseen un gran valor de hiperpolarizabilidad. Se cree que el origen de este resultado es el realzamiento e incremento de la resonancia atribuido a la excitación de los PS de las Nps de oro localizados a 520-525 nm. Estos mismos motivos han sido expuestos por otros investigadores, de hecho, *Rouillat H. et al.*<sup>[117]</sup> compararon el valor del tensor  $\beta$  de sus Nps de oro ( $13.5 \pm 2.3 \times 10^{-25}$  esu)<sup>[117]</sup> con la primera hiperpolarizabilidad de una sustancia llamada “Violeta Cristal o Crystal

Violet" ( $6.9 \pm 0.7 \times 10^{-27}$  esu)<sup>[117]</sup>, señalando que un mayor valor de  $\beta$  fue encontrado para las Nps de oro debido a su simetría esférica<sup>[117]</sup> y a los incrementos de resonancia<sup>[117]</sup> logrados por la conveniente excitación de los PS de las Nps de oro localizados a 520 nm<sup>[117]</sup>.

En cuanto al valor del tensor  $\beta$  de las Nps de oro modificadas, en la Tabla N° 11, se aprecia como nanopartículas de oro funcionalizadas con Rodamina B poseen un mayor valor de hiperpolarizabilidad ( $5.5 \pm 2.2 \times 10^{-22}$  esu) que aquellas que fueron modificadas con Disodiofluoresceína ( $13.3 \pm 1.6 \times 10^{-23}$  esu). Entonces, se puede deducir que la Rodamina B realza e incrementa más efectiva y eficientemente, en un orden de magnitud, las propiedades ópticas no lineales (ONL) de las Nps de oro, en cambio, la Disodiofluoresceína no modifica significativamente las propiedades ONL de las partículas. Más adelante en la Sección IV.4.2, se hablará más a profundidad sobre la influencia del agente funcionalizador y su concentración, sobre la intensidad del segundo armónico.

#### **IV.4 ESTUDIO DE LA SEÑAL DEL SEGUNDO ARMONICO Y LA PRIMERA HIPERPOLARIZABILIDAD DE LAS NPS DE ORO GENERADAS Y FUNCIONALIZADAS IN-SITU CON DISODIOFLUORESCINA (DSF) y RODAMINA B (RB) VIA ABLACION LASER**

##### **IV.4.1 Síntesis de Nanopartículas de Oro Funcionalizadas**

Se sintetizaron y funcionalizaron "in-situ" una serie de complejos de Nps de oro-RB-SDS y Nps-DSF-SDS vía ablación láser. Para ello, se empleó el procedimiento experimental previamente descrito en la Sección III.3.4.a, y considerando los resultados mostrados en la Sección IV.1, se usaron convenientes condiciones experimentales que permitieran obtener soluciones coloidales de distintas cantidades de Nps, diámetros y distribuciones de tamaños, diferentes características espectrales de absorción y de fluorescencia y particulares propiedades ONL.

#### IV.4.2 Influencia del Tiempo de Ablación y del Agente Funcionalizador sobre los Espectros de Absorbancia y la Señal de Segundo Armónico

Como ya se mencionó en la Sección IV.1.3, a medida que el tiempo de ablación incrementa, la cantidad de Nps de oro que se generan aumenta significativamente. Adicionalmente, se comentó que el valor de máxima absorbancia de las Nps de oro generadas se desplaza a medida que aumenta el tiempo de ablación e incrementa la cantidad de partículas en el medio.

No obstante, en esta parte del trabajo, lo que se desea es estudiar el efecto del tiempo de ablación y la adición de un agente funcionalizador sobre: (i) los espectros de absorbancia correspondientes a las Nps no funcionalizadas que se muestran en la Figura 66 (Sección IV.1.3) y (ii) el comportamiento de la señal de HRS de dichas partículas. Para este estudio, se prepararon una serie de Nps de oro funcionalizadas con RB (ver Figura 76), empleando una misma concentración ( $9.0 \times 10^{-07}$  M), una solución acuosa 0.045 M de SDS, una irradiancia de 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y diferentes tiempos de ablación.



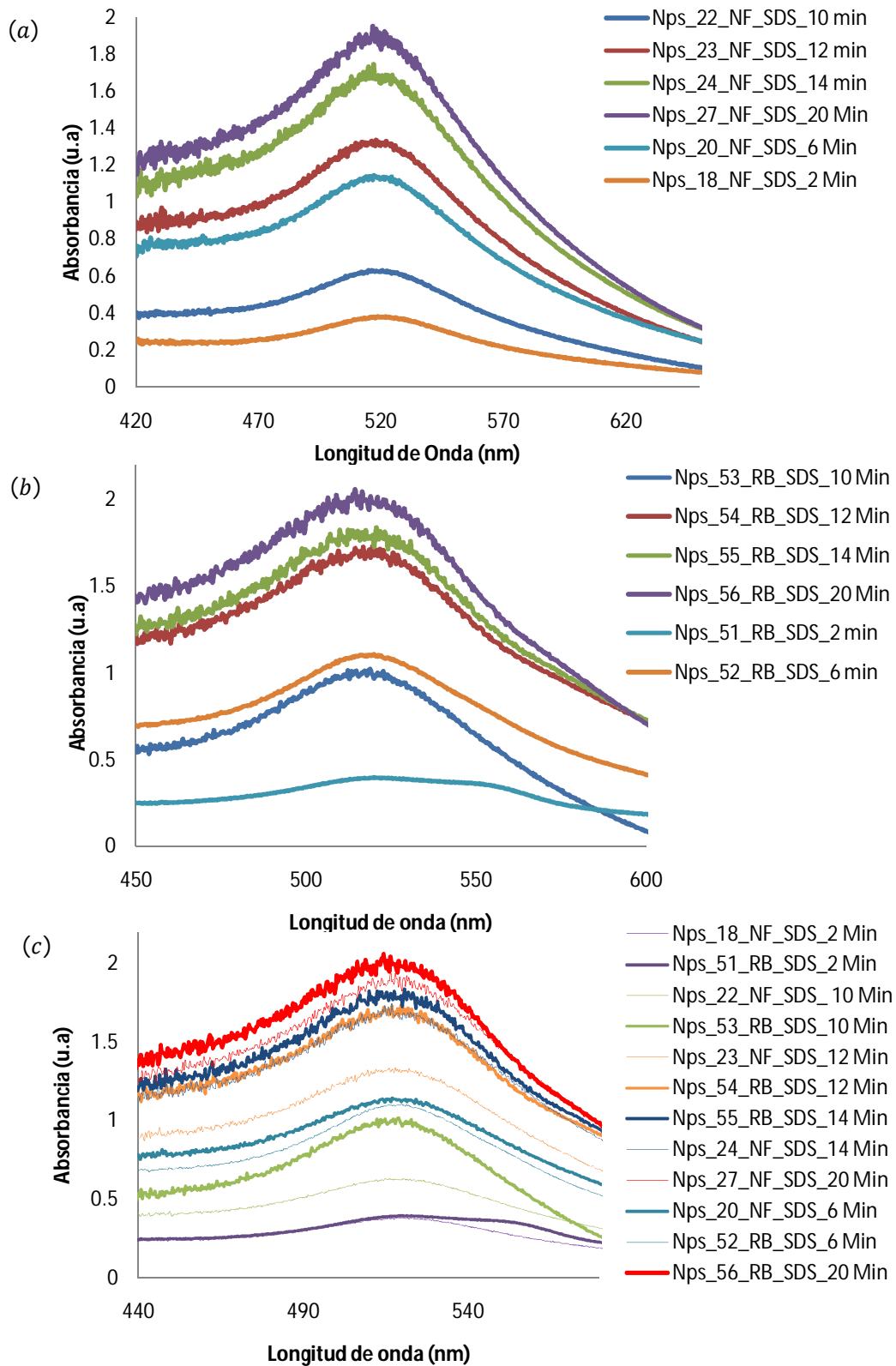
**Figura 76:** Complejos de Nps de oro-RB-SDS, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales: 135.0 mJ, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, concentración de 0.045 M de SDS,  $9.0 \times 10^{-07}$  M de RB en cada uno de los viales y tiempos de ablación de izquierda a derecha: 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 15, 17 y 20 minutos. El primer vial a la izquierda de la foto contiene una solución acuosa (blanco) de RB-SDS.

La Tabla N° 12 muestra más detalladamente las condiciones experimentales que se usaron para la generación de cada muestra preparada. Es importante destacar que, se escogieron solo algunas de las muestras de la Fig. 76 para las caracterizaciones por espectroscopía UV-Vis y HRS.

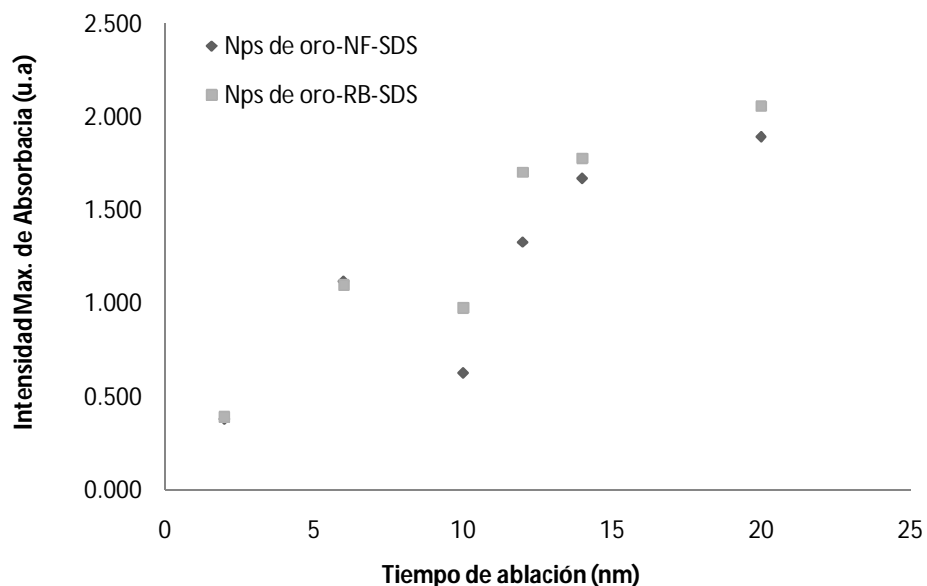
**Tabla N° 12:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro sin y con funcionalización (Nps de oro-NF-SDS y Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Efecto del tiempo de ablación y la adición de un agente funcionalizador sobre los espectros UV-Vis.

Nombre de la Muestra	[SDS] (mol/L)	Energía (mJ)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de Ablación (Min.)	Absorb. Max. (u.a)
Nps-NF-SDS_18	0.045	135.0	2.14	2	0.355
Nps-NF-SDS_20	0.045	135.0	2.14	6	1.104
Nps-NF-SDS_22	0.045	135.0	2.14	10	0.589
Nps-NF-SDS_23	0.045	135.0	2.14	12	1.289
Nps-NF-SDS_24	0.045	135.0	2.14	14	1.708
Nps-NF-SDS_27	0.045	135.0	2.14	20	1.896
Nps-RB-SDS_51	0.045	135.0	2.14	2	0.391
Nps-RB-SDS_52	0.045	135.0	2.14	6	1.099
Nps-RB-SDS_53	0.045	135.0	2.14	10	0.989
Nps-RB-SDS_54	0.045	135.0	2.14	12	1.688
Nps-RB-SDS_55	0.045	135.0	2.14	14	1.785
Nps-RB-SDS_56	0.045	135.0	2.14	20	2.027

En las Figuras 77(a) y (b), se puede apreciar como el pico de máxima absorbancia de las Nps con y sin funcionalización, se desplaza a medida que aumenta el tiempo de ablación. Así mismo, en las Figuras 77(c) y 78, se observa como la adición de un agente funcionalizador e incrementos del tiempo de ablación, producen considerables aumentos del pico de máxima absorción de las Nps.



**Figura 77:** (a) Espectros de absorción de complejos Nps de oro-NF-SDS, (b) espectros de absorción de complejos Nps de oro-RB-SDS y (c) comparación de los espectros de las Nps funcionalizadas con las Nps no funcionalizadas, empleando diferentes tiempos de ablación.

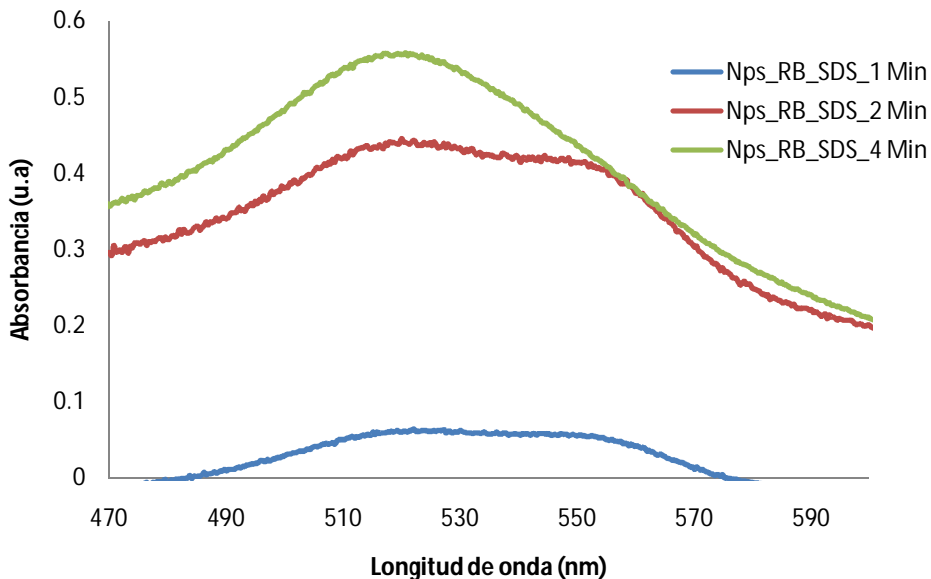


**Figura 78:** Variación del máximo de absorción en función del tiempo de ablación, para complejos de Nps de oro-NF-SDS y Nps de oro-RB-SDS.

Como se sabe, la posición, forma e intensidad de la banda de PS de las Nps de oro depende fuertemente de muchos factores: (i) la constante dieléctrica del medio, (ii) el tamaño y forma de las Nps y (iii) las interacciones electrónicas entre los ligandos estabilizantes o agentes funcionalizadores y la nanopartícula que altera la densidad electrónica dentro de la nanopartícula. Se ha determinado que la posición de la banda de PS depende de la densidad electrónica dentro de la nanopartícula, si esta se ve modificada por algún agente externo, es decir, un agente funcionalizador, la posición de la banda también se modifica. Este último hecho puede explicar en primera aproximación lo que se observa en la Figura 77(c). Al apreciar dicha figura, se puede notar que la posición de la banda de PS de la muestra Nps\_51\_RB\_SDS\_2 Min esta levemente desplazada con respecto a la banda de PS de la muestra Nps\_18\_NF\_SDS\_2 min.

Por otro lado, si se observa la Fig. 79, se puede notar claramente que existen dos bandas de absorción para las muestras Nps\_RB\_SDS\_1 min y Nps\_RB\_SDS\_2 min; una banda correspondiente a los PS ubicada a 525 nm y otra banda localizada a 560 nm. Pero luego, para la muestra Nps-RB-SDS\_4 Min, esa segunda banda

desaparece. Resulta bastante interesante observar que a bajos tiempos de ablación se presente un comportamiento espectral muy distinto al que se nota cuando este parámetro se ve incrementado. Tal como se mencionó Sección IV.1.4, mientras más pequeña sea una partícula, más capaz será para absorber energía de mayor frecuencia y por lo tanto de una longitud de onda más corta, por el contrario, mientras más grande sea una partícula, más capaz será de absorber energía de menor frecuencia y por lo tanto de una longitud de onda más larga. Entonces considerando este hecho, se puede deducir que al comienzo del proceso de ablación, probablemente se generen distribuciones de partículas donde hay Nps de mayor y otras de menor diámetro medio, siendo las Nps de menor tamaño las que absorban a 525 nm y las de mayor tamaño las que absorban alrededor de 560 nm.



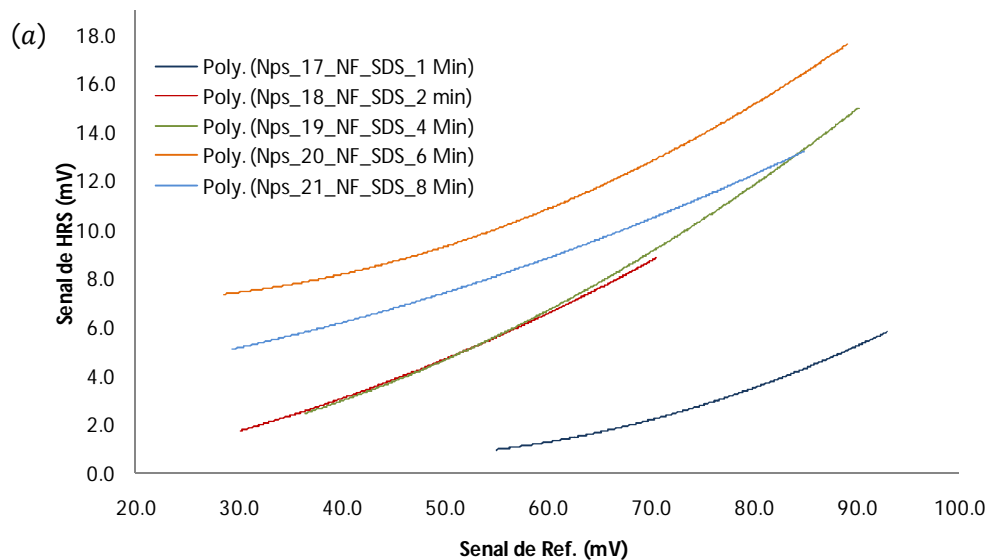
**Figura 79:** Espectros de absorción de complejos Nps de oro-RB-SDS, empleando tres distintos tiempos de ablación.

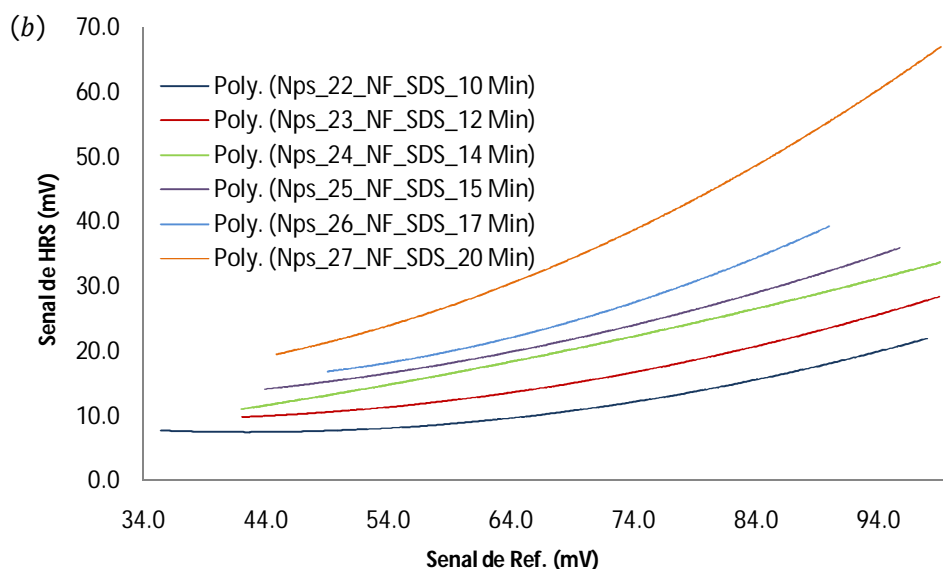
Adicionalmente, se cree que los resultados espectrales de la Fig. 77(c), se deban a: (i) pequeños aumentos de la constante dieléctrica del medio ambiente en el cual se hallan las Nps de oro, (ii) tanto las Nps de oro como las moléculas del fluoróforo absorben luz, por lo tanto, esas dos contribuciones posiblemente hacen que el pico de máxima absorción de las Nps de oro funcionalizadas se vea incrementada con respecto al pico de absorción de las Nps no funcionalizadas y (iii) posibles procesos de agregación de dichas Nps por la adición de RB al medio.



De hecho, varios investigadores han reportado el mismo comportamiento espectral de la Fig. 76(c), cuando se adiciona un agente funcionalizador a una solución acuosa coloidal de Nps de oro. *Zhang X. et al.*<sup>[118]</sup> funcionalizaron Nps de oro con una proteína anticuerpo IgG de cabra, encontrando que las Nps de oro funcionalizadas presentaban mayor absorbancia que las partículas no funcionalizadas<sup>[118]</sup>. *Zhang X. et al.*<sup>[118]</sup> explicaron que estos resultados se deben a la agregación inducida por la adición de esta proteína a las soluciones de Nps<sup>[118]</sup>. Por su parte, *Russier-Antoine I., et al.*<sup>[119]</sup> prepararon Nps de oro funcionalizadas con dos proteínas, BSA-biotina y Streptavidina, encontrando que las Nps de oro funcionalizadas presentaban mayor absorbancia que las Nps de oro no funcionalizadas<sup>[119]</sup>. Estos investigadores atribuyeron estos resultados espectrales a los aumentos de la constante dieléctrica del medio ambiente de las partículas<sup>[119]</sup>.

Por otro lado, también resulta importante estudiar y determinar si la adición de un agente funcionalizador (Rodamina B) y aumentos en el tiempo de ablación, puede producir significativos incrementos en la señal de HRS. En las Figuras 80(a) y (b) se puede apreciar el efecto del tiempo de ablación sobre la señal de HRS de Nps no funcionalizadas. Las condiciones experimentales de dichos complejos Nps de oro-NF-SDS se pueden apreciar en la Tabla N° 7, Sección IV.1.3.





**Figura 80:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia para; (a) complejos de Nps de oro-NF-SDS variando el tiempo de ablación ( $t < 10$  minutos) y (b) complejos de Nps de oro-NF-SDS variando el tiempo de ablación ( $t > 10$  minutos).

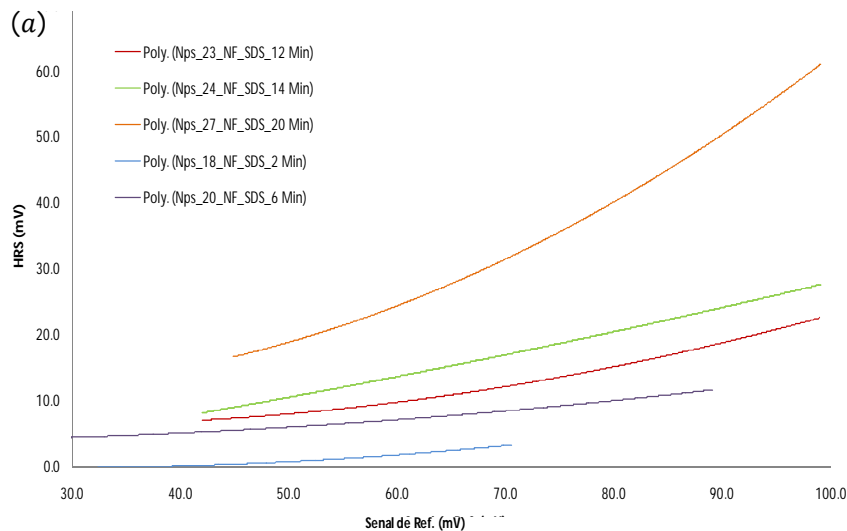
En ambas Figuras 80(a) y (b), se puede apreciar como a medida que el tiempo de ablación incrementa, la cantidad de Nps de oro no funcionalizadas que se generan aumenta significativamente, produciendo esto a su vez un crecimiento en la señal de HRS. Recordemos, que la señal de HRS es directamente proporcional a la cantidad de Nps o moléculas presentes en la solución. Por lo tanto, si el tiempo de ablación incrementa, la cantidad de Nps en solución aumenta y como consecuencia la señal de HRS crece.

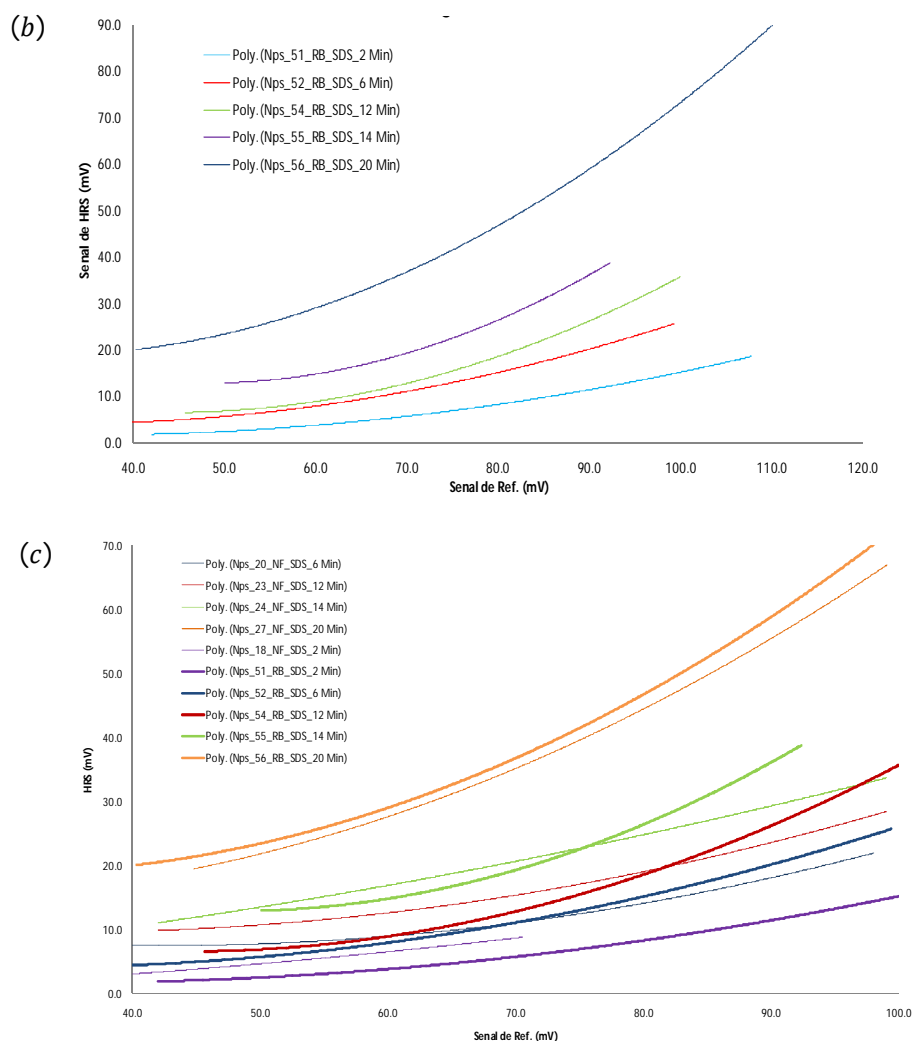
Por otro lado, en la Figura 81 se puede observar el efecto del tiempo de ablación y la adición de un agente funcionalizador sobre la señal de HRS. La Tabla N° 13 muestra las condiciones experimentales que se emplearon para la generación de cada muestra de Nps de oro funcionalizada con RB.

**Tabla N° 13:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B (Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Variables experimentales para la medida de la señal de HRS. Efecto del tiempo de ablación y la adición de un agente funcionalizador sobre la señal de HRS.

Nombre de la Muestra	[SDS] (mol/L)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de Ablación (Min.)	Barrido de LRA/2	Angulo CP	Angulo TFM
Nps-RB-SDS_51	0.045	2.14	2	50-90°	270°	0°
Nps-RB-SDS_52	0.045	2.14	6	50-90°	270°	0°
Nps-RB-SDS_54	0.045	2.14	12	50-90°	270°	0°
Nps-RB-SDS_55	0.045	2.14	14	50-90°	270°	0°
Nps-RB-SDS_56	0.045	2.14	20	50-90°	270°	0°

El mismo resultado observado en la Figura 80, se puede notar en las Figuras 81(a) y (b); a medida que el tiempo de ablación incrementa, la cantidad de Nps de oro no funcionalizadas que se generan aumenta significativamente, produciendo esto a su vez un crecimiento en la señal de HRS.





**Figura 81:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia para; (a) complejos de Nps de oro-NF-SDS variando el tiempo de ablación y (b) complejos de Nps de oro-RB-SDS variando el tiempo de ablación y (c) señal de HRS proveniente de los complejos de Nps-NF-SDS y Nps-RB-SDS. Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: lectura del láser: 120, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, barrido del ángulo de la LRM/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270° y ángulo del TFM 0°.

Tal como se mencionó en la Sección IV.3.3, las nanopartículas de oro funcionalizadas con Rodamina B poseen un mayor valor del tensor  $\beta$  ( $5.5 \pm 2.2 \times 10^{-22}$  esu) que aquellas partículas no funcionalizadas ( $1.9 \pm 2.5 \times 10^{-23}$  esu). Estos resultados concuerdan muy bien con la Figura 81(c), donde se aprecia que las Nps de oro funcionalizadas con rodamina B presentan una señal de HRS significativamente mayor con respecto a la señal proveniente de Nps no

funcionalizadas. Recordemos una vez más, que la señal de HRS es directamente proporcional no solo a la cantidad de Nps presentes en la solución sino también al tensor  $\beta$  de las mismas. Entonces, si el tiempo de ablación incrementa y adicionalmente se introduce un agente funcionalizador al medio, la cantidad de Nps en solución y su hiperpolarizabilidad aumenta respectivamente, provocando a su vez, un considerable crecimiento de la señal del segundo armónico.

#### IV.4.3 Influencia de la Naturaleza del Agente Funcionalizador, Concentración del Estabilizante y la Irradiancia sobre la Señal del Segundo Armónico

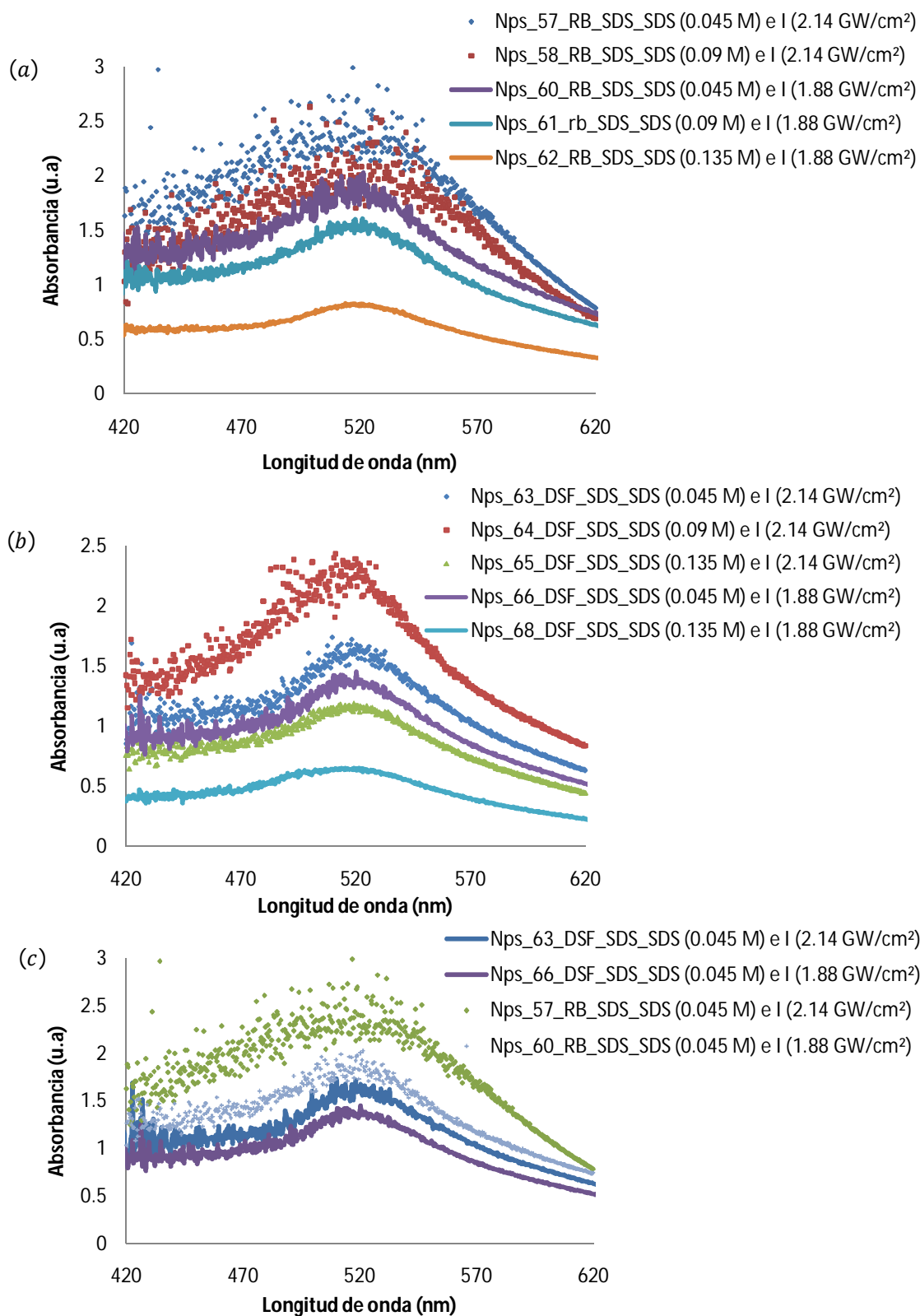
Como ya se mencionó en la Sección IV.1.2, a medida que se incrementa la irradiancia se generan mayor cantidad de nanopartículas de menor diámetro, es decir, el diámetro medio de la partícula decae progresivamente con el aumento de la energía del láser y de la irradiancia. Adicionalmente, se comentó que a medida que se incrementa la irradiancia, el pico de máxima absorción de las Nps de oro también aumenta, debido a la gran cantidad de partículas que se producen.

No obstante, en esta parte de la investigación, lo que se desea es estudiar el efecto de la concentración del estabilizante, la irradiancia del láser y la naturaleza del agente funcionalizador sobre: (i) los espectros UV-Vis de las Nps de oro funcionalizadas y (ii) el comportamiento de la señal de HRS de dichas partículas. Para dicho estudio, se prepararon una serie de Nps de oro funcionalizadas con RB y DSF, empleando una misma concentración para ambos fluoróforos ( $5.5 \times 10^{-6}$  M), se usaron tres soluciones acuosas de 0.045, 0.09 y 0.135 M de SDS, dos irradiancias de 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup> y un tiempo de ablación de 15 minutos. La Tabla N° 14 muestra más detalladamente las condiciones experimentales que se emplearon para la generación de cada muestra preparada.

**Tabla N° 14:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas (Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Efecto de la concentración del estabilizante, irradiancia del láser y la naturaleza del agente funcionalizador sobre los espectros UV-Vis y la señal de HRS.

Nombre de la Muestra	[SDS] (mol/L)	[RB] inicial (mol/L)	[DSF] Inicial (mol/L)	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	Vol. de SDS (ml)	Vol. de RB (ml)	Vol. de DSF (ml)	[RB] Final en el vial (ml)	[DSF] Final en el vial (ml)
Nps-RB-SDS_57	0.045	4.1E-05	-	2.14	3.9	0.6	-	5.5E-06	-
Nps-RB-SDS_58	0.09	4.1E-05	-	2.14	3.9	0.6	-	5.5E-06	-
Nps-RB-SDS_59	0.135	4.1E-05	-	2.14	3.9	0.6	-	5.5E-06	-
Nps-RB-SDS_60	0.045	4.1E-05	-	1.88	3.9	0.6	-	5.5E-06	-
Nps-RB-SDS_61	0.09	4.1E-05	-	1.88	3.9	0.6	-	5.5E-06	-
Nps-RB-SDS_62	0.135	4.1E-05	-	1.88	3.9	0.6	-	5.5E-06	-
Nps-DSF-SDS_63	0.045	-	4.1E-05	2.14	3.9	-	0.6	-	5.5E-06
Nps-DSF-SDS_64	0.09	-	4.1E-05	2.14	3.9	-	0.6	-	5.5E-06
Nps-DSF-SDS_65	0.135	-	4.1E-05	2.14	3.9	-	0.6	-	5.5E-06
Nps-DSF-SDS_66	0.045	-	4.1E-05	1.88	3.9	-	0.6	-	5.5E-06
Nps-DSF-SDS_67	0.09	-	4.1E-05	1.88	3.9	-	0.6	-	5.5E-06
Nps-DSF-SDS_68	0.135	-	4.1E-05	1.88	3.9	-	0.6	-	5.5E-06

En las Figuras 82(a) y (b), independientemente del tipo de fluoróforo, se puede apreciar como el pico de máxima absorbancia de dichas partículas se desplaza a medida la irradiancia aumenta y la concentración de SDS disminuye. Se observa como a medida que la irradiancia incrementa, la concentración 0.045 M de SDS permite obtener espectros que presentan una mayor absorción, por lo que se puede afirmar que esta concentración ofrece una estabilización mucho más efectiva de las nanopartículas generadas, responsables de la absorción observada.

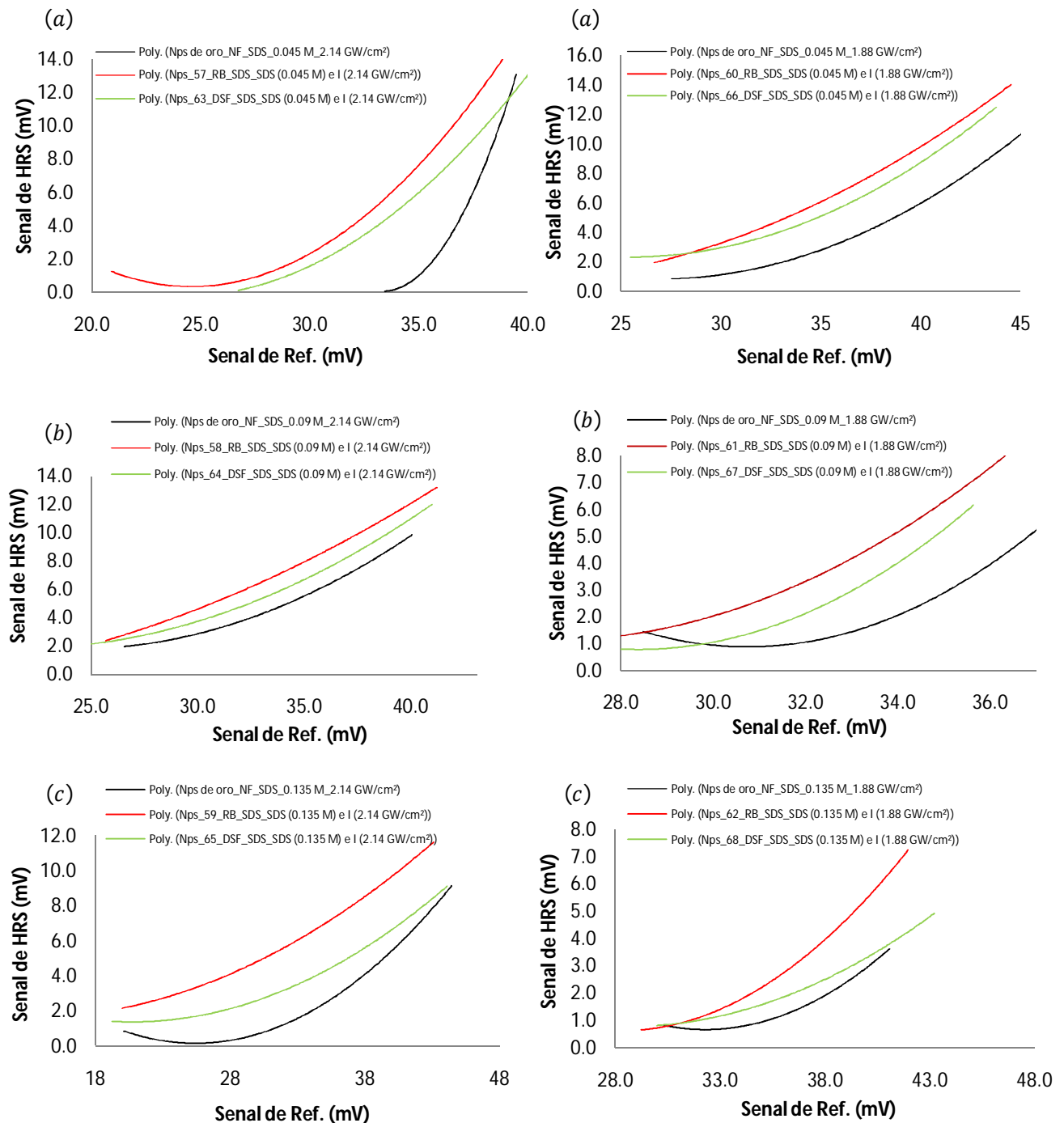


**Figura 82:** (a) Espectros de absorción de complejos Nps de oro-RB-SDS, (b) espectros de absorción de complejos Nps de oro-DSF-SDS y (c) comparación de los espectros de los complejos Nps-RB-SDS y Nps-DSF-SDS, empleando diferentes irradiancias y manteniendo una concentración 0.045 M de SDS para la generación de dichos complejos.

Al observar la Fig. 82(c), se puede notar que a medida que se incrementa la irradiancia, las partículas Nps-RB-SDS presentan mayor absorción que los complejos Nps-DSF-SDS. Estos resultados espectrales se pueden atribuir a que posiblemente, la rodamina B produzca un mayor cambio o aumento de la constante dieléctrica del medio ambiente en el cual se hallan las Nps de oro. Así mismo, no se descarta que las Nps de oro modificadas con RB absorban mucha más luz que aquellas Nps funcionalizadas con DSF, ocasionando que el pico de máxima absorción de los complejos Nps de oro-RB-SDS sea más pronunciado que el pico de absorbancia de las muestras Nps de oro-DSF-SDS.

Por otro lado, resulta igualmente interesante estudiar el efecto de la naturaleza del agente funcionalizador y la irradiancia sobre la respuesta del segundo armónico. En la Figura 83 se muestra la señal de HRS proveniente de los complejos Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-DSF-SDS. La Tabla N° 14 expone las condiciones experimentales que se emplearon para la generación de cada muestra de Nps de oro funcionalizada con RB y DSF. Al observar con detenimiento la Fig. 83, se puede notar que, independientemente de la concentración del estabilizante, las Nps de oro funcionalizadas con rodamina B presentan una señal de HRS significativamente mayor con respecto a la señal proveniente de Nps funcionalizadas con disodiofluoresceína o de las partículas no funcionalizadas.

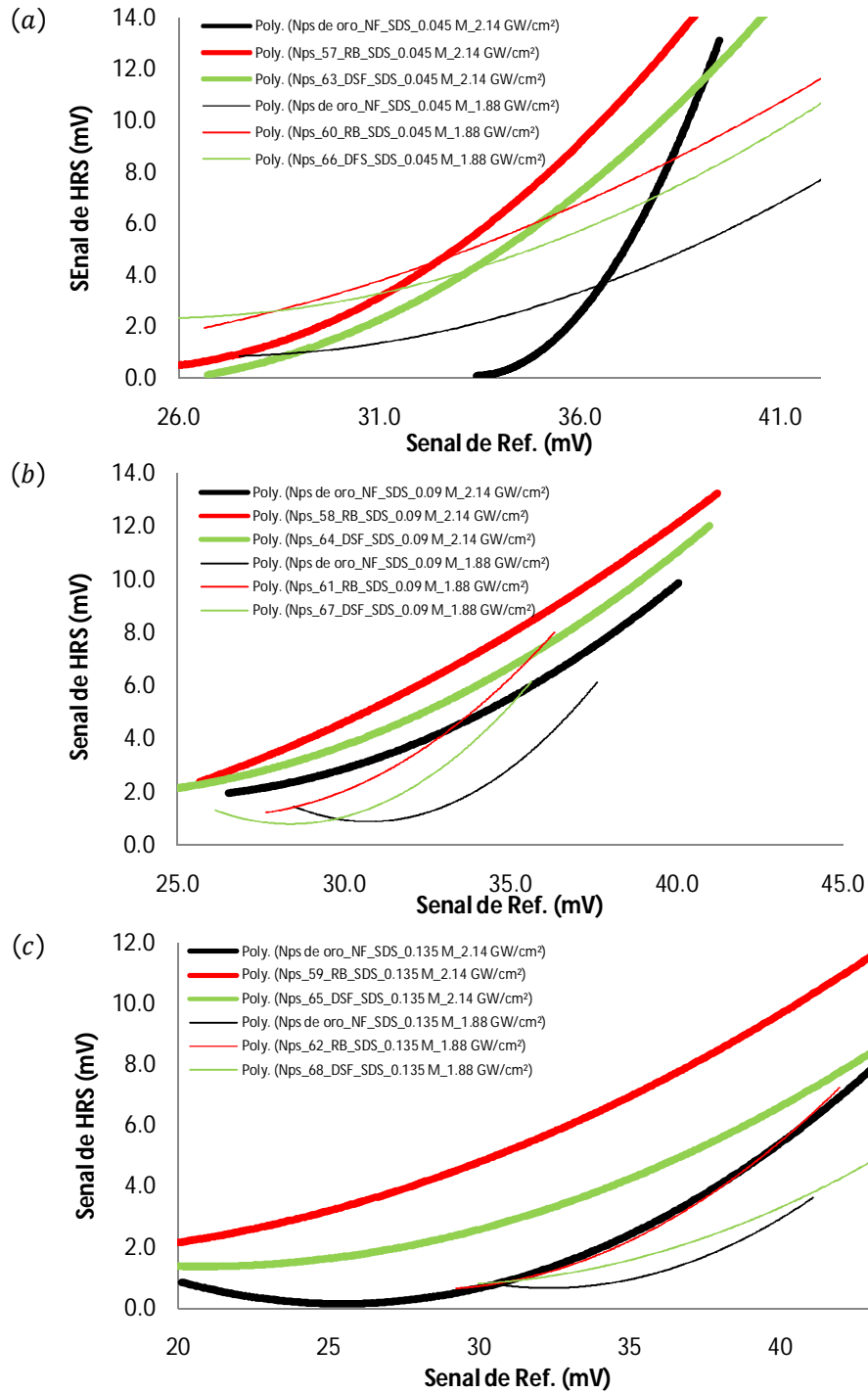




**Figura 83:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia para complejos de Nps-NF-SDS, Nps-RB-SDS y Nps-DSF-SDS, respectivamente, usando irradiancias de 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación y empleando: (a) una concentración 0.045 M de SDS, (b) una concentración 0.09 M de SDS y (c) una concentración 0.135 M de SDS. Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: lectura del láser: 120, 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, barrido del ángulo de la LRA/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270° y ángulo del TFM 0°.

Sin embargo, para estudiar más claramente el efecto de la naturaleza del funcionalizador y la irradiancia sobre la señal de HRS, se puede observar la

comparación hecha, en la Figura 84, de la respuesta del segundo armónico correspondiente a las muestras de Nps con y sin funcionalización.



**Figura 84:** Comparación del efecto de la naturaleza del funcionalizador y la irradiancia sobre la señal de HRS para complejos de Nps-NF-SDS, Nps-RB-SDS y Nps-DSF-SDS, respectivamente, usando irradiancias de 1.88 y 2.14 GW/cm<sup>2</sup>, 15 minutos de ablación y empleando: (a) una concentración 0.045 M de SDS, (b) una concentración 0.09 M de SDS y (c) una concentración 0.135 M de SDS.

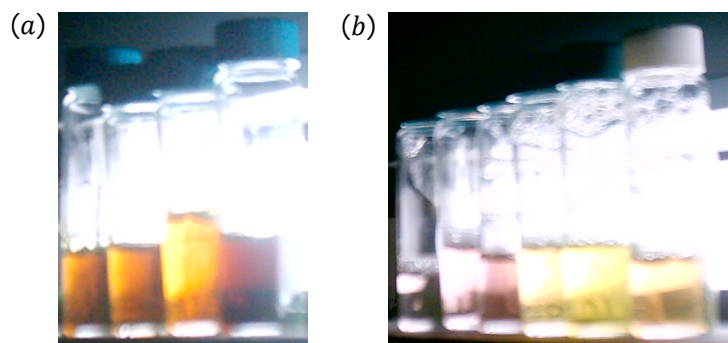
Los resultados observados en las Figuras 83 y 84 muestran que: (i) a medida que se incrementa la irradiancia, la cantidad de Nps de oro generadas y la señal de HRS aumentan y (ii) las Nps de oro funcionalizadas con rodamina B presentan mayor señal de HRS. Este último comportamiento es atribuido a una mejor y mayor interacción electrostática que existe entre las moléculas de RB y la superficie de las Nps de oro, produciendo un dramático realzamiento e incremento de la señal de HRS.

#### IV.4.4 Influencia de la Concentración del Agente Funcionalizador sobre la Señal del Segundo Armónico

Resulta relevante estudiar y comparar el efecto de la concentración de dos agentes funcionalizadores sobre la respuesta del segundo armónico. Para ello, usando un amplio rango de concentraciones de RB y DSF, se sintetizaron una serie de Nps de oro modificadas con ambos fluoróforos.

##### IV.4.4.a Efecto de la Variación de la Concentración de DSF sobre la Señal del Segundo Armónico.

Para esta parte de la investigación, se prepararon una serie de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (véase Figura 85), empleando el procedimiento experimental previamente expuesto en la Sección III.3.4.a.



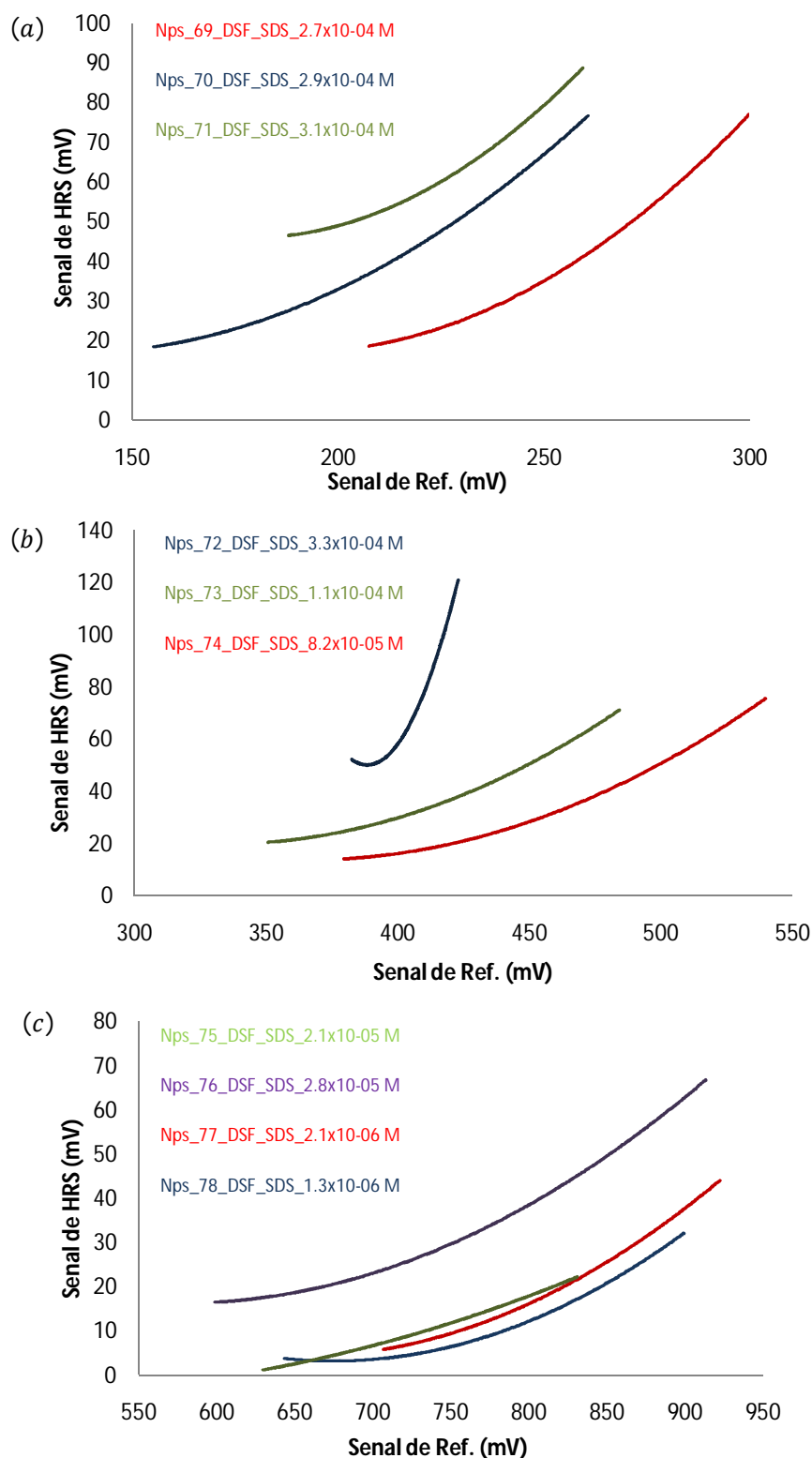
**Figura 85:** Complejos de Nps de oro-DSF-SDS, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales: 1.88 GW/cm<sup>2</sup>, concentración de 0.045 M de SDS, 15 minutos de ablación y (a) de izquierda a derecha:  $2.9 \times 10^{-4}$  M,  $3.1 \times 10^{-4}$  M,  $2.7 \times 10^{-4}$  M y  $3.3 \times 10^{-4}$  M de DSF y (b) de izquierda a derecha:  $1.3 \times 10^{-6}$  M,  $2.1 \times 10^{-6}$  M,  $1.1 \times 10^{-5}$  M,  $2.1 \times 10^{-5}$  M,  $2.8 \times 10^{-5}$  M y  $8.2 \times 10^{-5}$  M de DSF

En la Tabla N°15, se pueden observar las condiciones experimentales usadas para la generación de los complejos Nps de oro-DSF-SDS, la concentración del estabilizante y el rango de concentraciones del fluoróforo empleado.

**Tabla N° 15:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador.

Nombre de la Muestra	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[DSF] Inicial (mol/L)	Vol. de DSF en el vial (ml)	[DSF] final en el vial (mol/L)
Nps-NF-SDS_69	1.88	15	0.045	1.5	4.1E-04	3.0	2.7E-04
Nps-NF-SDS_70	1.88	15	0.045	1.3	4.1E-04	3.2	2.9E-04
Nps-NF-SDS_71	1.88	15	0.045	1.1	4.1E-04	3.4	3.1E-04
Nps-NF-SDS_72	1.88	15	0.045	0.9	4.1E-04	3.6	3.3E-04
Nps-NF-SDS_73	1.88	15	0.045	3.2	4.1E-04	1.3	1.1E-04
Nps-NF-SDS_74	1.88	15	0.045	3.6	4.1E-04	0.9	8.2E-05
Nps-NF-SDS_75	1.88	15	0.045	2.3	4.1E-05	2.3	2.1E-05
Nps-NF-SDS_76	1.88	15	0.045	1.4	4.1E-05	3.1	2.8E-05
Nps-NF-SDS_77	1.88	15	0.045	2.3	4.1E-06	2.3	2.1E-06
Nps-NF-SDS_78	1.88	15	0.045	3.1	4.1E-06	1.4	1.3E-06

En la Figura 86 se presenta la variación de la señal de HRS proveniente de los complejos Nps de oro-DSF-SDS en función de la señal de referencia. En dicha figura, se puede apreciar como a medida que aumenta la concentración de DSF, la intensidad de HRS se va incrementando progresivamente.



**Figura 86:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia, correspondiente a diferentes complejos de Nps de oro-DSF-SDS. Las condiciones que se establecieron en el montaje experimental (véase Sección III.3.3.c) para medir la señal de HRS fueron: barrido del ángulo de la LRM/2 desde 50 a 90°, ángulo del CP 270°, ángulo del TFM 0° y tres diferentes rangos de intensidad de luz incidente; (a) 150 a 300 mV, (b) 300 a 500 mV y (c) 600 a 900 mV.

En base a los resultados expuestos anteriormente en la Sección IV.3.1.b y los resultados gráficos de la Figura 86, se pueden destacar dos importantes hechos: (i) debido a las interacciones electrostáticas entre el agente funcionalizador y la superficie metálica de la partícula, la funcionalización mejora dramáticamente las propiedades ONL de las Nps e incrementa sustancialmente la señal de HRS y (ii) la señal de HRS presenta una marcada dependencia con la concentración del agente funcionalizador, es decir, a medida que la concentración de DSF aumenta, la intensidad de HRS se ve significativamente desplazada e incrementada. A medida que aumenta la concentración de DSF, también, en la misma proporción, el número de interacciones electrostáticas que se establecen entre las moléculas del fluoróforo y la superficie de las Nps se incrementan y por lo tanto, la señal de HRS crece.

Así mismo, como se sabe HRS es un fenómeno óptico no lineal de segundo orden que se basa en las condiciones no-centrosimétricas de las moléculas o Nps presentes en un determinado sistema. Por ello, es posible que al aumentar la concentración de DSF se modifique aun más el estado superficial de las partículas, creando nuevas condiciones no-centrosimétrica en el sistema nanométrico. Por otro lado, *Zhang X. et al.*<sup>[120]</sup> reportaron que altas intensidades en las señales de HRS proveniente de Nps de oro modificadas, se pueden atribuir a procesos de agregación que experimentaban las partículas, cuando estas interaccionaban con el agente funcionalizador<sup>[120]</sup>. Considerando este resultado, es posible que en nuestro caso no se descarte la formación de grandes agregados inducido por la adición de cierta cantidad de fluoróforo.

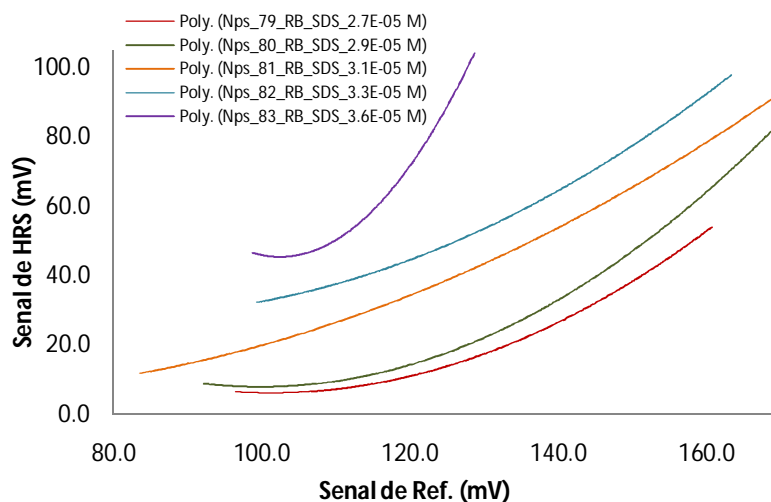
#### IV.4.4.b. Efecto de la Variación de la Concentración de RB sobre la Señal del Segundo Armónico.

Para esta otra parte de la investigación, se prepararon una serie de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B, empleando el procedimiento experimental previamente expuesto en la Sección III.3.4.a. En la Tabla N° 16, se pueden observar las condiciones experimentales usadas para la generación de los complejos Nps de oro-RB-SDS, la concentración del estabilizante y el rango de concentraciones del fluoróforo empleado.

**Tabla N° 16:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B (Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador.

Nombre de la Muestra	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[RB] Inicial (mol/L)	Vol. de RB en el vial (ml)	[RB] final en el vial (mol/L)
Nps-RB-SDS_79	2.14	15	0.045	1.5	4.1E-05	3.0	2.7E-05
Nps-RB-SDS_80	2.14	15	0.045	1.3	4.1E-05	3.2	2.9E-05
Nps-RB-SDS_81	2.14	15	0.045	1.1	4.1E-05	3.4	3.1E-05
Nps-RB-SDS_82	2.14	15	0.045	0.9	4.1E-05	3.6	3.3E-05
Nps-RB-SDS_83	2.14	15	0.045	0.6	4.1E-05	3.9	3.6E-05

En la Figura 87 se presenta la variación de la señal de HRS, proveniente de los complejos Nps de oro-RB-SDS, en función de la señal de referencia. En esta figura se puede apreciar la misma tendencia de la Figura 86, a medida que aumenta la concentración de rodamina B, la intensidad de HRS se va incrementando progresivamente.



**Figura 87:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia, correspondiente a diferentes complejos de Nps de oro-RB-SDS. Influencia de la concentración de rodamina B sobre la señal de HRS.

Tal como se comentó en la Sección IV.4.3, usando una misma concentración de RB o DSF, las Nps de oro funcionalizadas con rodamina B presentaban mayor señal de HRS que aquellas partículas funcionalizadas con disodiofluoresceína.

Tomando en cuenta este resultado y empleando un amplio rango de concentraciones para ambos fluoróforos, se estudió cuál de los dos agentes funcionalizadores logra mejorar e incrementar dramáticamente la señal de HRS. Entonces, una vez que los complejos Nps de oro-RB-SDS, reportados en la Tabla N° 16, fueron caracterizados por dispersión de hiper rayleigh, se prepararon una nueva serie de Nps de oro, pero esta vez, funcionalizadas con DSF (véase Figura 88). Luego, estas últimas muestras fueron igualmente caracterizadas a través de dispersión de hiper rayleigh, y finalmente, se compararon las señales de HRS provenientes de ambos tipos de complejos (Nps de oro-RB-SDS y Nps-DSF-SDS).



**Figura 88:** Complejos de Nps de oro-DSF-SDS, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha:  $2.7 \times 10^{-05}$  M,  $2.9 \times 10^{-05}$  M,  $3.1 \times 10^{-05}$  M,  $3.3 \times 10^{-05}$  M y  $3.6 \times 10^{-05}$  M de DSF,  $2.14 \text{ GW/cm}^2$ , concentración de 0.045 M de SDS, 15 minutos de ablación.

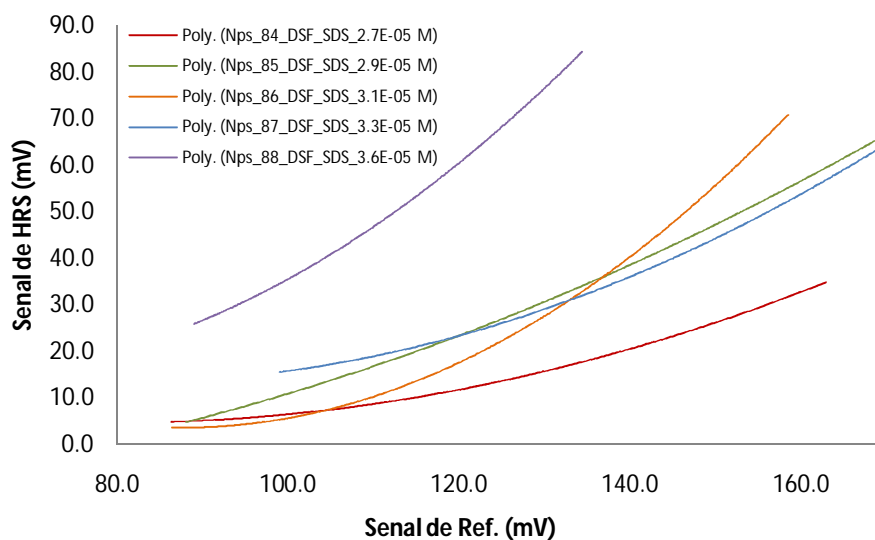
La Tabla N° 17, muestra las condiciones experimentales que se emplearon para la generación de cada muestra de Nps-DSF-SDS.



**Tabla N° 17:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador.

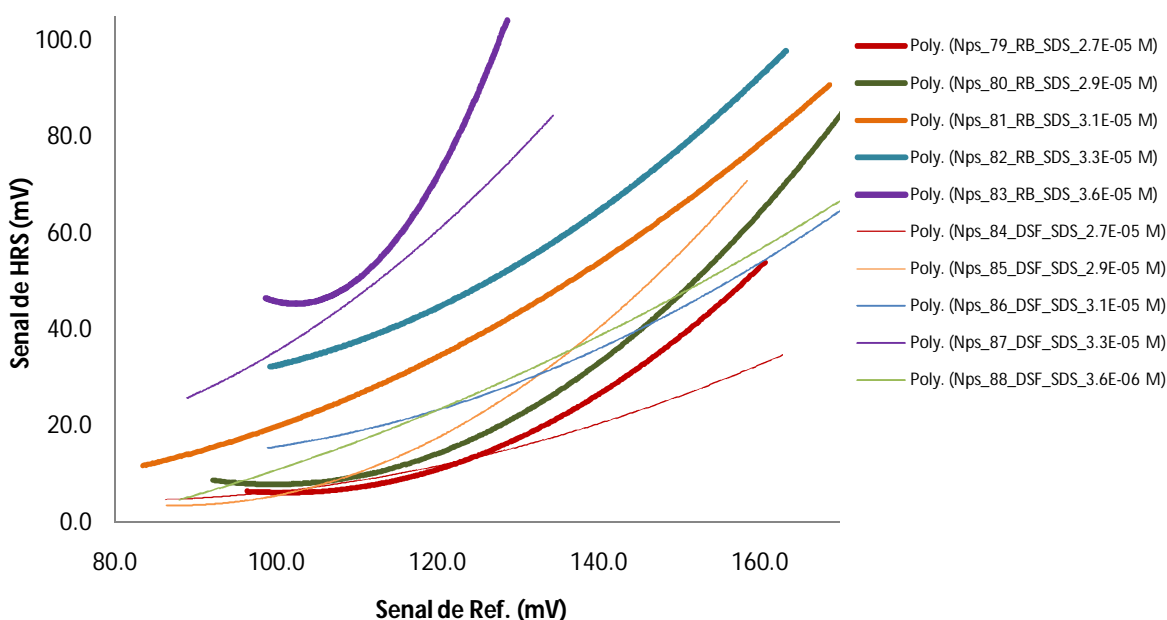
Nombre de la Muestra	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[DSF] Inicial (mol/L)	Vol. de DSF en el vial (ml)	[DSF] final en el vial (mol/L)
Nps-DSF-SDS_84	2.14	15	0.045	1.5	4.1E-05	3.0	2.7E-05
Nps-DSF-SDS_85	2.14	15	0.045	1.3	4.1E-05	3.2	2.9E-05
Nps-DSF-SDS_86	2.14	15	0.045	1.1	4.1E-05	3.4	3.1E-05
Nps-DSF-SDS_87	2.14	15	0.045	0.9	4.1E-05	3.6	3.3E-05
Nps-DSF-SDS_88	2.14	15	0.045	0.6	4.1E-05	3.9	3.6E-05

La Figura 89 muestra la variación de la señal de HRS, proveniente de los complejos Nps de oro-DSF-SDS, en función de la señal de referencia. En esta figura se puede observar el mismo resultado de la Figura 87, a medida que aumenta la concentración de disodiofluoresceína, la intensidad de HRS se va incrementando progresivamente.



**Figura 89:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia, para diferentes complejos de Nps de oro-DSF-SDS. Influencia de la concentración de disodiofluoresceína sobre la señal de HRS.

No obstante, en la Figura 90 se puede observar más claramente cuál de los dos agentes funcionalizadores incrementa significativamente la señal de HRS.



**Figura 90:** Efecto de la concentración de rodamina B y disodiofluoresceína sobre la señal de HRS.

Al observar la Figura 90, se pueden notar, una vez más, que las nanopartículas funcionalizadas con RB presentan mayor señal de HRS con respecto a aquellas Nps que fueron modificadas con DSF, este comportamiento se hace más notorio a medida que la concentración de RB aumenta. Tal como se mencionó en la Sección IV.4.3, este resultado se debe a que las moléculas de RB establecen una mejor interacción electrostática con las Nps, provocando un incremento significativo de la señal de HRS.

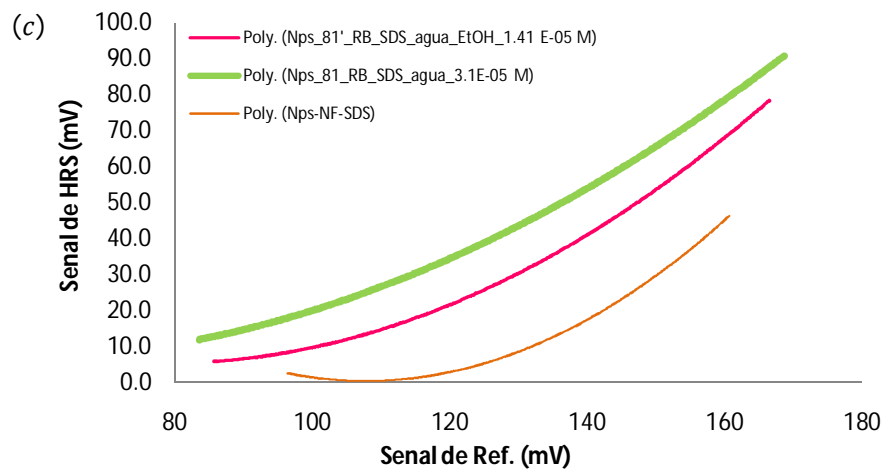
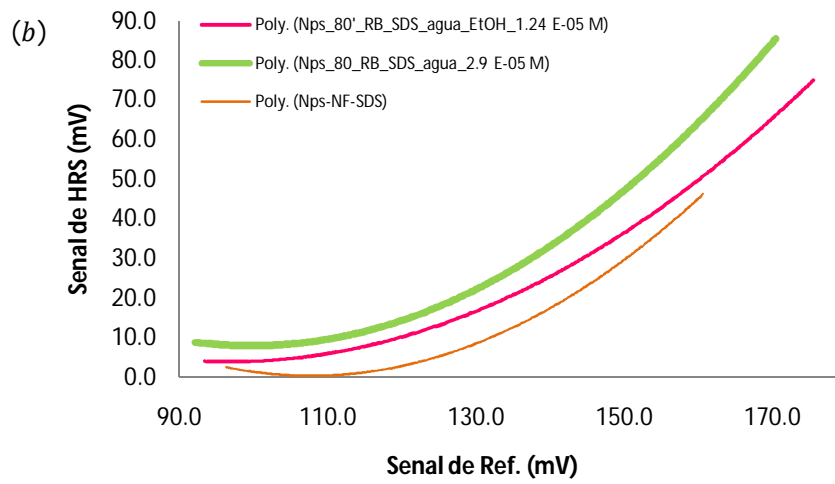
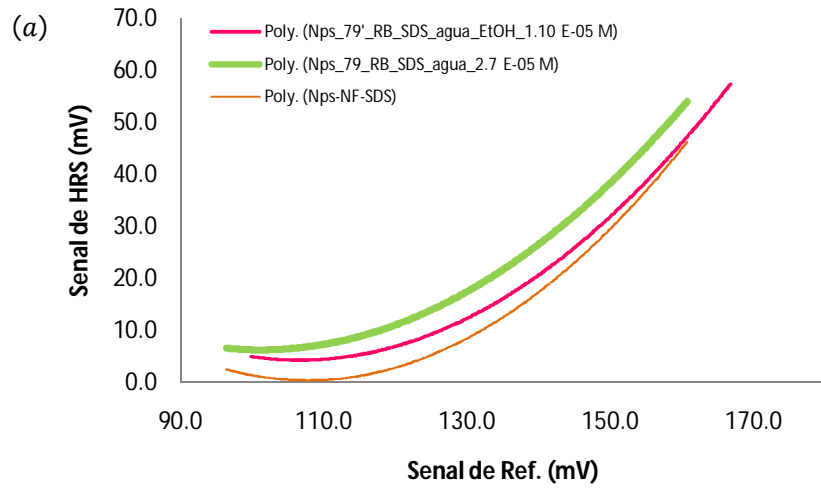
En otro orden de ideas, es importante destacar que, en la literatura se reporta que la rodamina B presenta una menor fluorescencia en agua que en etanol. Por tal motivo, para el estudio del quenching de fluorescencia de los complejos Nps de oro-RB-SDS, que se expondrán en la próxima Sección IV.5.1.c, se realizaron una serie de diluciones, una vez culminado el proceso de ablación láser, con etanol 99.8% de las muestras expuestas en la Tabla N° 16. Luego, estas nuevas muestras se caracterizaron igualmente por dispersión de hiper rayleigh para verificar el efecto de

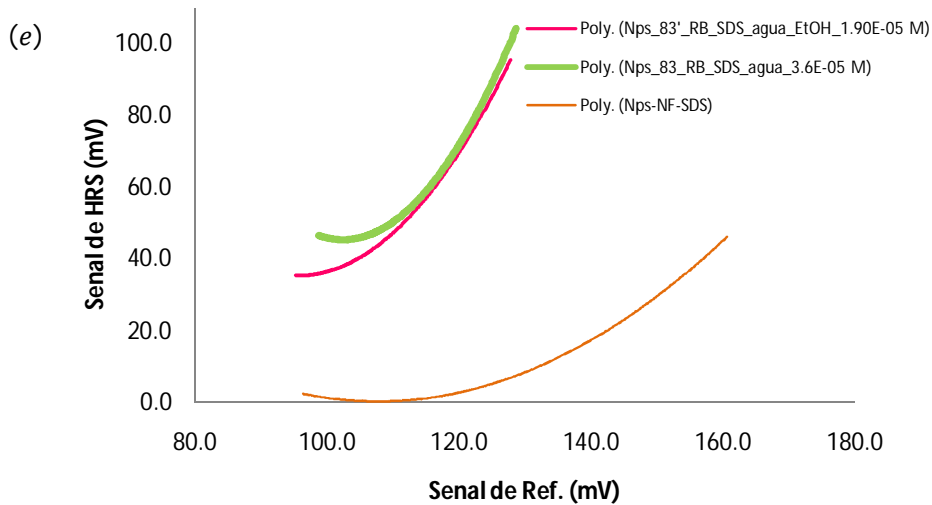
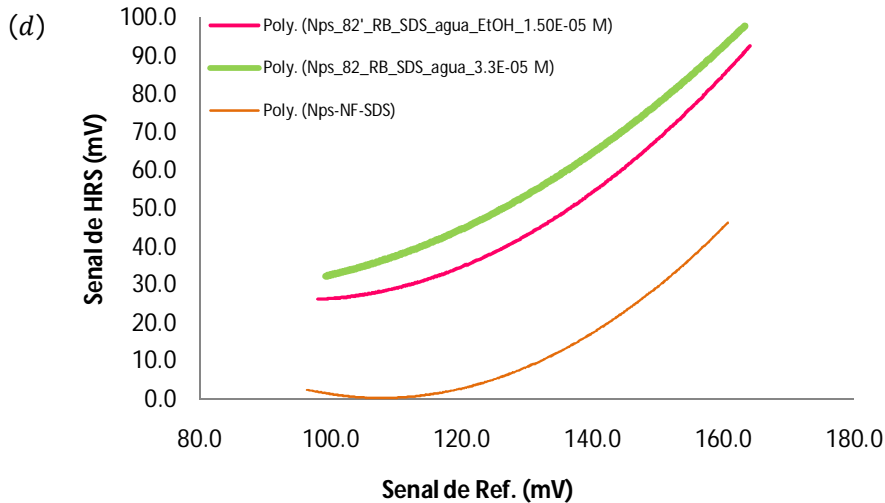
un solvente orgánico (etanol) sobre la señal del segundo armónico. La Tabla N° 18 muestra las diluciones realizadas y las nuevas concentraciones de cada una de las muestras de Nps-RB-SDS preparada.

**Tabla N° 18:** Preparación de los complejos Nps de oro-RB-SDS en un medio de agua-etanol. Dependencia de la señal de HRS con la concentración del agente funcionalizador. Influencia de un solvente orgánico (etanol) presente en la solución coloidal de Nps de oro.

Nombre de la Muestra	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[DSF] Inicial (mol/L)	Vol. de EtOH (50%) en el vial (ml)	[DSF] final en el vial (mol/L)
Nps-DSF-SDS_79'	2.14	15	0.045	1.5	2.7E-05	3.0	1.10E-05
Nps-DSF-SDS_80'	2.14	15	0.045	1.3	2.9E-05	3.2	1.24E-05
Nps-DSF-SDS_81'	2.14	15	0.045	1.1	3.1E-05	3.4	1.41E-05
Nps-DSF-SDS_82'	2.14	15	0.045	0.9	3.3E-05	3.6	1.50E-05
Nps-DSF-SDS_83'	2.14	15	0.045	0.6	3.6E-05	3.9	1.90E-05

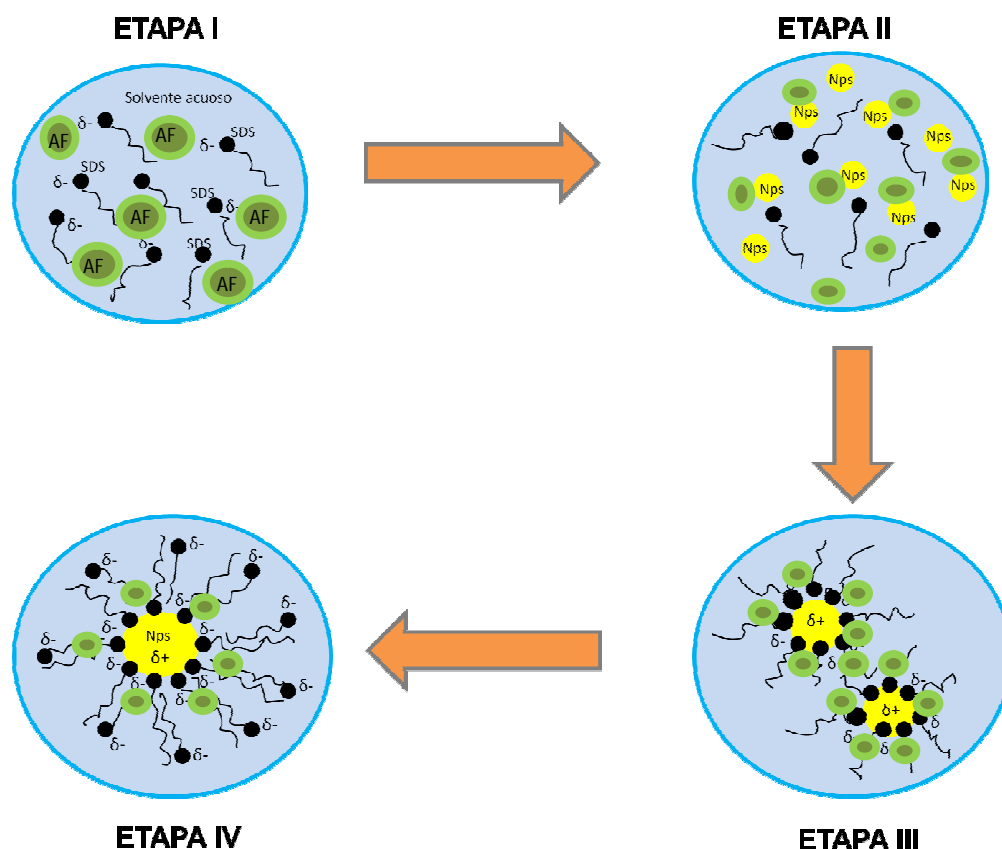
La tendencia que se observó previamente en la Figura 87, se puede notar de nuevo en la Figura 91; a medida que aumenta la concentración de rodamina B, la intensidad de HRS se va incrementando progresivamente. Al introducir etanol al medio que contiene las Nps, la concentración del agente funcionalizador, en este caso, rodamina B, se ve disminuida. Este decrecimiento en la [RB] produce a su vez un ínfimo decaimiento de la señal de HRS. Entonces, a medida que disminuye la concentración de RB, el número de interacciones electrostáticas que se establecen entre las moléculas del fluoróforo y la superficie de las Nps disminuyen y por lo tanto, la señal de HRS decae. Tal vez, la adición de etanol a la solución coloidal de Nps de oro-RB-SDS produzca mejores y significativos cambios espectrales de absorción y de fluorescencia (véase próxima Sección IV.5.1.c).





**Figura 91:** Variación de la señal de HRS con la señal de referencia, correspondiente a los complejos Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-NF-SDS.

Para futuras investigaciones, resultaría interesante estudiar a profundidad, mediante espectros RMN de  $^1\text{H}$ , de que manera o a través de que parte de la estructura química del fluoróforo, se establecen las interacciones electrostáticas con la superficie de la nanopartícula. Por lo pronto, como los espectros RMN de  $^1\text{H}$  no forman parte de las caracterizaciones de este trabajo de investigación, se propone un modelo que posiblemente pueda explicar a grosso modo como funciona el proceso de funcionalización.



**Figura 92:** Esquema propuesto para explicar las etapas del proceso de generación y modificación in-situ de Nps de oro. AF se refiere al agente funcionalizador (RB o DSF).

En la etapa I, antes del proceso de la ablación láser, en el medio se tiene cierta cantidad de moléculas de SDS y de fluoróforo o agente funcionalizador (AF). Luego en la etapa II, una vez comenzado el proceso de ablación, las moléculas de SDS y de AF se aproximan a las primeras Nps de oro ya formadas. Seguidamente, las interacciones electrostáticas y la modificación superficial comienzan hacer acto de presencia en la etapa III, las Nps de oro son cubiertas masiva y simultáneamente por una serie de moléculas del surfactante y del fluoróforo. Finalmente, en la etapa IV, las Nps de oro quedan completamente protegidas por el surfactante y funcionalizadas por el fluoróforo.

En la etapa III o IV o en la transición de una etapa a la siguiente, aun no es muy claro del todo, la rodamina B, más que la disodiofluoresceína, cambia sustancialmente el estado superficial de las Nps creando e incrementando las

nuevas condiciones no-centrosimétricas de la solución, produciendo a su vez un significativo crecimiento de la señal de HRS.

#### IV.4.5 Correlación de la Primera Hiperpolarizabilidad con el Diámetro de Partícula.

En la literatura se reporta que la correlación entre la hiperpolarizabilidad de Nps metálicas y el diámetro de partícula es casi directamente proporcional. En el año 2009, *Segets D. et al.*<sup>[121]</sup> demostraron que a medida que el tamaño de las Nps de ZnO aumentaba, el valor de la primera hiperpolarizabilidad o tensor  $\beta$  se veía igualmente incrementado<sup>[121]</sup>. *Segets D. et al.*<sup>[121]</sup> encontraron que el tensor  $\beta_{ZnO}$  presentaba un comportamiento parabólico en función del diámetro de partícula<sup>[121]</sup>.

Considerando este particular hallazgo, resulta profundamente interesante analizar la correlación de la primera hiperpolarizabilidad de las Nps de oro con el diámetro medio de las mismas. Para ello, primeramente, se prepararon una serie de complejos de Nps de oro-NF-SDS, empleando diferentes tiempos de ablación, una misma irradiancia (2.14 GW/cm<sup>2</sup>) y una misma concentración del estabilizante (0.045 M). Tal como se mencionó en la Sección IV.1.3, la variación e incremento del tiempo de exposición de la placa de oro al láser, permite la obtención de partículas con distintos tamaños.

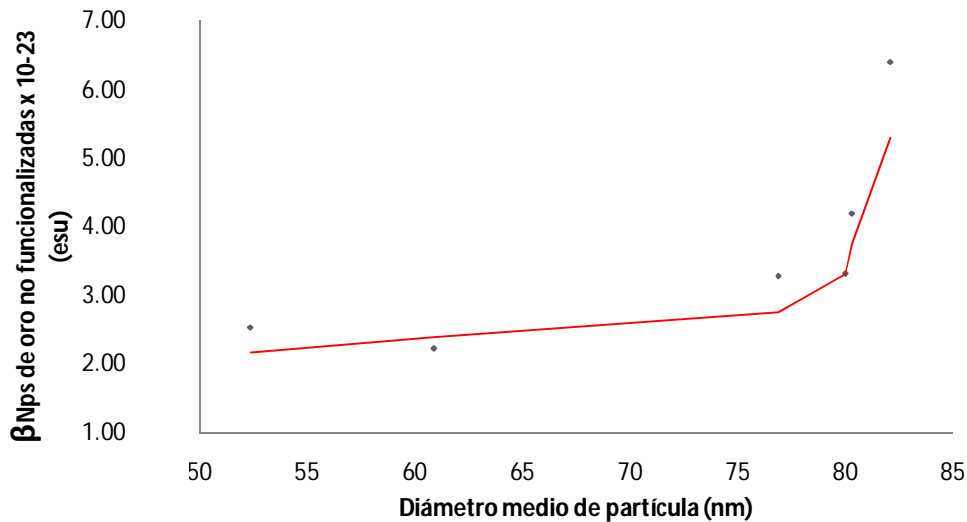
Empleando el valor del coeficiente de absortividad molar,  $\sigma_m$ , de una nanopartícula de oro solitaria, anteriormente calculado en la Sección IV.3.3, se determinó el número de Nps presentes en cada una de las muestras preparadas. Luego, siguiendo el procedimiento matemático previamente expuesto en esa misma sección (IV.3.3), se calculó el valor de la primera hiperpolarizabilidad de los complejos Nps de oro-NF-SDS. La Tabla N° 19 muestra las condiciones experimentales que se usaron para la generación de las Nps. Igualmente, en la Tabla N° 19, se puede apreciar la cantidad de partículas presentes en cada una de las muestras y el valor de la primera hiperpolarizabilidad correspondiente para cada complejo de Nps de oro preparado.

**Tabla N° 19:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro sin funcionalización (Nps de oro-NF-SDS) vía ablación láser. Variación del tensor  $\beta$  con el diámetro de partícula.

Nombre de la Muestra	tiempo de ablación (Min.)	Dprom. $\pm$ 2 % (nm)	Absor. A 525 nm (u.a)	Cantidad de Nps de oro (mol/L)	Valor de la pendiente (ver Ec. IV.5 Sección IV.3.3)	Valor de $\beta$ (en agua) (esu)
Nps-NF-SDS_17	1	32.12	0.981	0.42E-07	0.0009	0.18E-23
Nps-NF-SDS_20	6	52.34	1.106	4.64E-07	0.0014	2.53E-23
Nps-NF-SDS_22	10	60.89	1.256	5.27E-07	0.0014	2.23E-23
Nps-NF-SDS_24	14	76.89	1.687	7.17E-07	0.0028	3.28E-23
Nps-NF-SDS_25	15	80.00	1.754	7.59E-07	0.0030	3.32E-23
Nps-NF-SDS_26	17	80.30	1.879	8.00E-07	0.0040	4.19E-23
Nps-NF-SDS_27	20	82.00	1.993	8.02E-07	0.0061	6.40E-23

La Figura 93 muestra la variación de la primera hiperpolarizabilidad,  $\beta_{Nps}$ , en función del diámetro de partícula. En esta figura se puede observar como a medida que aumenta el diámetro de partícula, el valor del tensor  $\beta$  se va incrementando paulatinamente. El comportamiento de la curva en la Fig. 93, concuerda muy bien con los resultados reportados por *Segets D. et al.*<sup>[121]</sup>.





**Figura 93:** Relación entre la hiperpolarizabilidad de los complejos Nps de oro-NF-SDS y el diámetro de partícula.

#### IV.5 ESTUDIO DE LA DISMINUCION DE LA EMISION DE FLUORESCENCIA DE DISODIOFLUORESCEINA (DSF) Y RODAMINA B (RB) DEBIDO A LA PRESENCIA DE NPS DE ORO. DETERMINACION DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA DE LAS NPS DE ORO FUNCIONALIZADAS.

En la literatura se reportan una gran variedad de quenchers de fluorescencia, uno de los más conocidos es el oxígeno molecular<sup>[122]</sup>, el cual puede hacer un quenching muy completo de casi todos los fluoróforos conocidos<sup>[122]</sup>. También se reportan que aminas aromáticas y alifáticas son eficientes quenchers de muchas sustancias fluoróforas<sup>[122]</sup>, no obstante, el quenching de fluorescencia producido por nanopartículas metálicas, en particular, por Nps de oro ha sido ampliamente estudiado y utilizado para investigaciones bioquímicas<sup>[122]</sup>. En la actualidad, se sabe que superficies metálicas, como las de oro y plata, son capaces de inducir un fuerte quenching de fluorescencia. Las aplicaciones de quenching de fluorescencia producido por Nps metálicas, son muy variadas y no resulta muy práctico resumir todos esos usos.

Por lo pronto, en esta parte de la investigación, se estudiaron: (i) los cambios que se producían en los espectros de fluorescencia de RB y DSF, al usarlos como agentes modificadores de Nps de oro y (ii) los cambios que se producían en los espectros UV-Vis de las Nps de oro, al agregar una sustancia funcionalizadora.

#### **IV.5.1 Determinación de los Espectros de Fluorescencia de los Complejos Nps de Oro-DSF-SDS y Nps de Oro-RB-SDS**

Una vez que se sintetizaron y funcionalizaron “in-situ” una serie de complejos de Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS vía ablación láser, se emplearon los procedimientos experimentales previamente descritos en las Secciones III.3.1 y III.3.4.b, para las caracterizaciones vía espectroscopía UV-Vis y de fluorescencia, respectivamente.

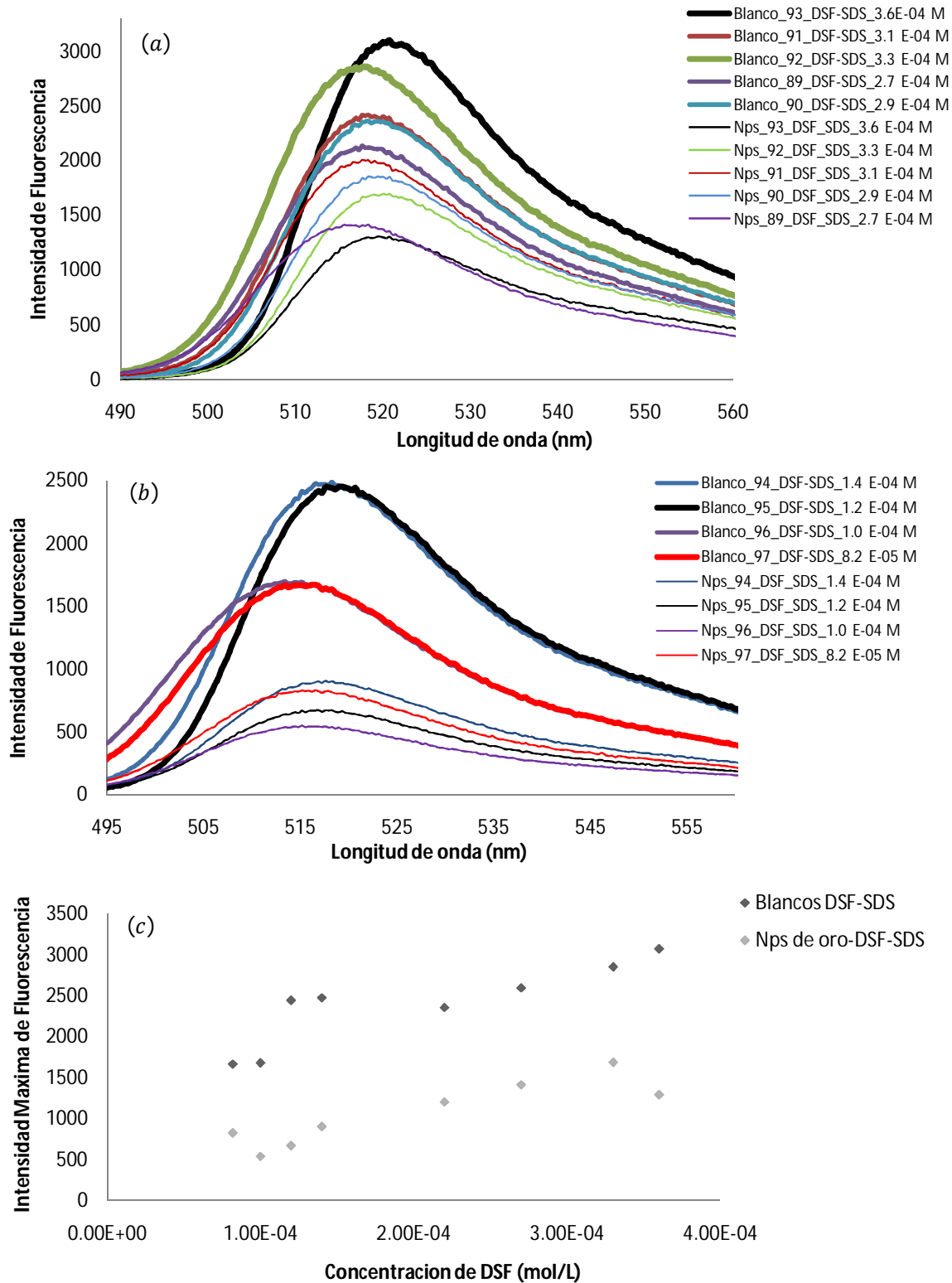
##### **IV.5.1.a Estudio del Quenching de la Emisión de Fluorescencia de Disodiofluoresceína debido a la Presencia de Nps de Oro**

Primeramente, se prepararon una serie de soluciones coloidales de Nps de oro funcionalizadas con DSF. La Tabla N° 20 muestra las condiciones experimentales que se emplearon para la preparación de cada una de las muestras.

**Tabla N° 20:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Estudio de la disminución de la emisión de fluorescencia de DSF por la acción de un quencher (Nps de oro).

Nombre de la Muestra	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[DSF] Inicial (mol/L)	Vol. de DSF en el vial (ml)	[DSF] final en el vial (mol/L)
Nps-DSF-SDS_89	1.88	15	0.045	1.5	4.1E-04	3.0	2.7E-04
Nps-DSF-SDS_90	1.88	15	0.045	1.3	4.1E-04	3.2	2.9E-04
Nps-DSF-SDS_91	1.88	15	0.045	1.1	4.1E-04	3.4	3.1E-04
Nps-DSF-SDS_92	1.88	15	0.045	0.9	4.1E-04	3.6	3.3E-04
Nps-DSF-SDS_93	1.88	15	0.045	0.6	4.1E-04	3.9	3.6E-04
Nps-DSF-SDS_94	1.88	15	0.045	3.0	4.1E-04	1.5	1.4E-04
Nps-DSF-SDS_95	1.88	15	0.045	3.2	4.1E-04	1.3	1.2E-04
Nps-DSF-SDS_96	1.88	15	0.045	3.4	4.1E-04	1.1	1.0E-04
Nps-DSF_SDS_97	1.88	15	0.045	3.6	4.1E-04	0.9	8.2E-05

Luego, una vez generadas estos complejos Nps de oro-DSF-SDS se procedió a realizar el estudio del quenching de la fluorescencia. Se compararon los espectros de fluorescencia de las Nps funcionalizadas generadas con los espectros de fluorescencia de los blancos usados (en este caso, SDS-DSF). En la Figura 94, se pueden apreciar los espectros de fluorescencia para cada muestra de Nps de oro-DSF-SDS y sus respectivos blancos.



**Figura 94:** Espectros de fluorescencia para complejos Nps de oro-DSF-SDS y sus respectivos blancos DSF-SDS, (a) rango de concentraciones de DSF desde  $2.9$  a  $3.6 \times 10^{-4}$  M, (b) rango de concentraciones de DSF desde  $8.2 \times 10^{-5}$  a  $1.4 \times 10^{-4}$  M y (c) Relación entre la intensidad del máximo de fluorescencia y la concentración de DSF.

En la Figura 94(c), se puede apreciar un fuerte y pronunciado decaimiento o quenching de la fluorescencia de las soluciones DSF-SDS, ocasionado por la presencia de nanopartículas de oro. Se cree que esto se deba a la gran cercanía que se establece entre las moléculas de DSF y los núcleos de las Nps de oro. El resultado de la Figura 94 se ajusta a lo reportado en la literatura. Algunos metales son muy bien conocidos por inhibir, es decir, provocar un “quenching” de la fluorescencia, un caso particular es la plata; superficies de plata de 50 Angstroms de grosor son usadas, usualmente, en microscopía para inhibir por quenching la emisión de regiones cercanas al metal.

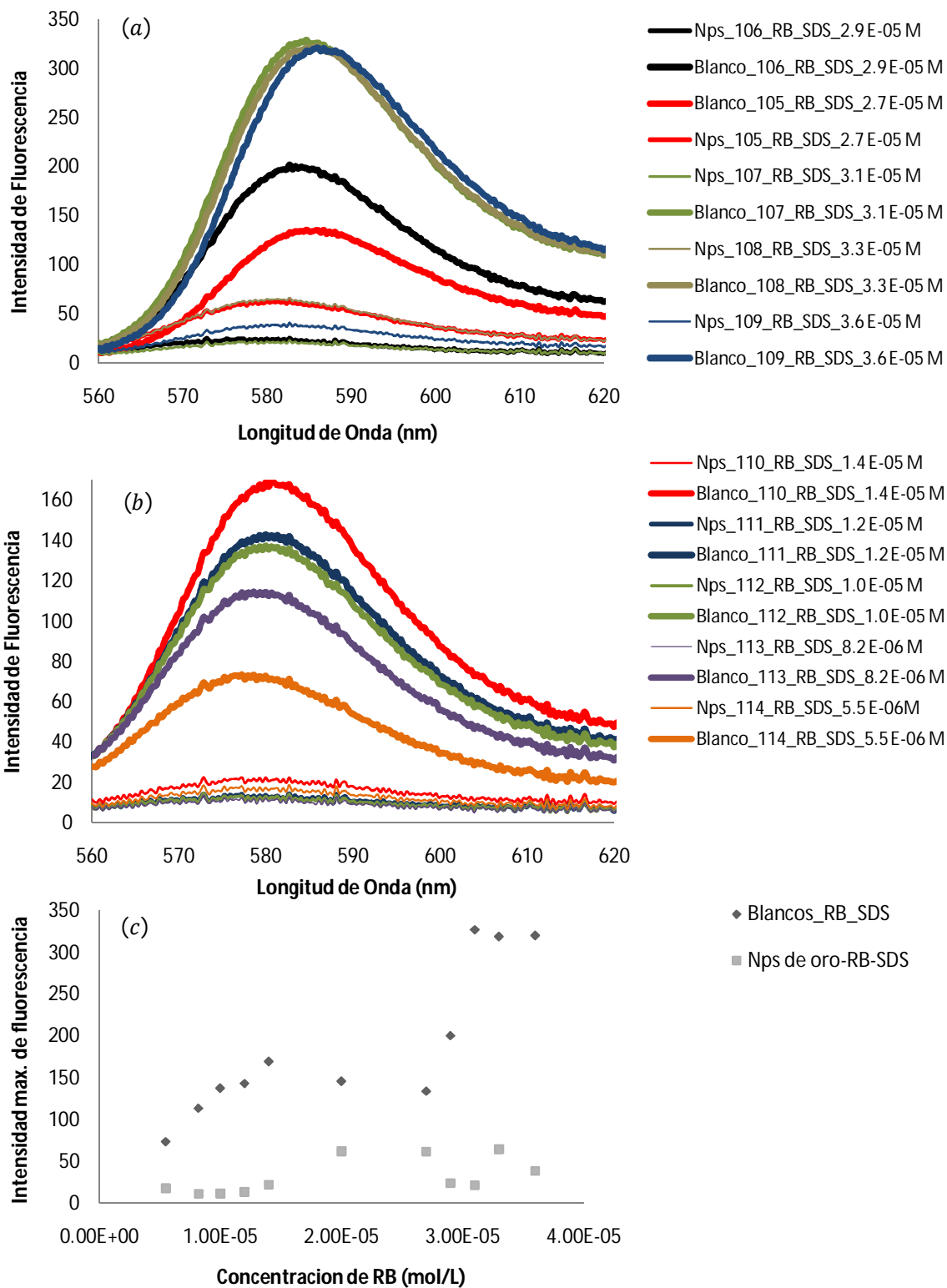
#### IV.5.1.b Estudio del Quenching de la Emisión de Fluorescencia de Rodamina B debido a la Presencia de Nps de Oro

Primeramente, se prepararon una serie de soluciones de Nps de oro funcionalizadas con RB. La Tabla N° 21 muestra las condiciones experimentales que se emplearon para la preparación de cada una de las muestras.

**Tabla N° 21:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B (Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Estudio de la disminución de la emisión de fluorescencia de RB por la acción de un quencher (Nps de oro).

Nombre de la Muestra	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[RB] Inicial (mol/L)	Vol. de RB en el vial (ml)	[RB] final en el vial (mol/L)
Nps-RB-SDS_105	2.14	15	0.045	1.5	4.1E-05	3.0	2.7E-05
Nps-RB-SDS_106	2.14	15	0.045	1.3	4.1E-05	3.2	2.9E-05
Nps-RB-SDS_107	2.14	15	0.045	1.1	4.1E-05	3.4	3.1E-05
Nps-RB-SDS_108	2.14	15	0.045	0.9	4.1E-05	3.6	3.3E-05
Nps-RB-SDS_109	2.14	15	0.045	0.6	4.1E-05	3.9	3.6E-05
Nps-RB-SDS_110	2.14	15	0.045	3.0	4.1E-05	1.5	1.4E-05
Nps-RB-SDS_111	2.14	15	0.045	3.2	4.1E-05	1.3	1.2E-05
Nps-RB-SDS_112	2.14	15	0.045	3.4	4.1E-05	1.1	1.0E-05
Nps-RB-SDS_113	2.14	15	0.045	3.6	4.1E-05	0.9	8.2E-06
Nps-RB-SDS_114	2.14	15	0.045	3.9	4.1E-05	0.6	5.5E-06

Luego, una vez generadas estos complejos Nps de oro-RB-SDS se procedió a realizar el estudio del quenching de la fluorescencia; para ello, se compararon los espectros de fluorescencia de las Nps funcionalizadas generadas con los espectros de fluorescencia de los blancos usados (RB-SDS). En la Figura 95, se pueden apreciar los espectros de fluorescencia para cada muestra de Nps de oro-RB-SDS y sus respectivos blancos.



**Figura 95:** Espectros de fluorescencia para complejos Nps de oro-RB-SDS y sus respectivos blancos RB-SDS, (a) rango de concentraciones de RB desde  $2.7 \times 10^{-5}$  M, (b) rango de concentraciones de RB desde  $5.5 \times 10^{-6}$  hasta  $1.4 \times 10^{-5}$  M y (c) relación entre la intensidad del máximo de fluorescencia y la concentración de RB.

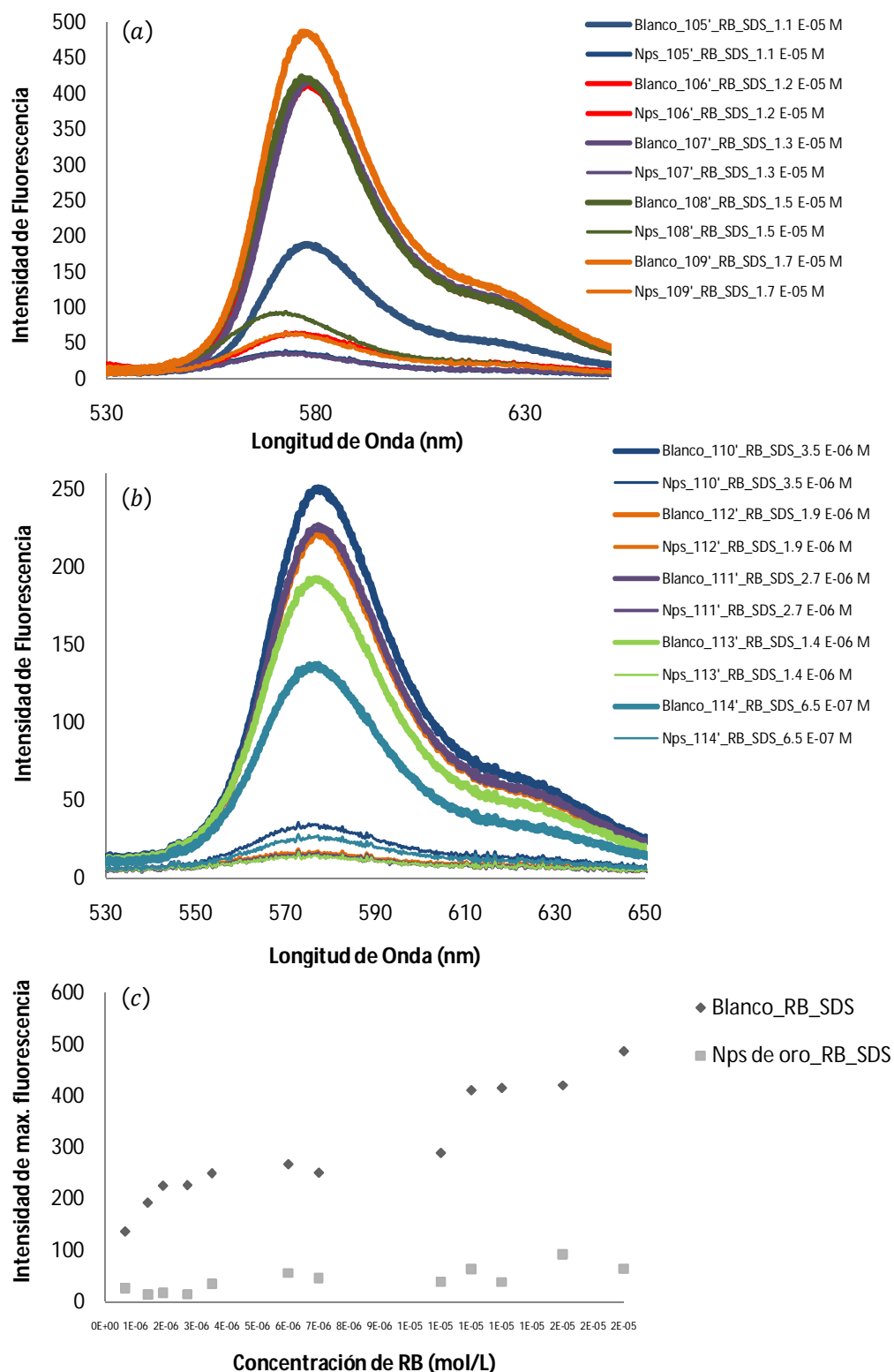
En la Figura 95(c) se aprecia un fuerte decaimiento o quenching de la fluorescencia de los blancos RB-SDS debido a la presencia de nanopartículas de oro y a la gran cercanía que se establece entre las moléculas de RB y los núcleos de las Nps de oro. Como se señaló en la Sección IV.4.4.b, la rodamina B exhibe una menor fluorescencia en agua que en etanol. Por tal motivo, para incrementar la emisión de fluorescencia de RB, se realizaron una serie de diluciones, una vez culminado el proceso de ablación láser, con etanol 99.8% de las muestras previamente expuestas en la Tabla N° 21. La Tabla 22 muestra la cantidad de etanol añadido a cada muestra.

**Tabla N° 22:** Muestras de Nps de oro-RB-SDS diluidas con EtOH. Estudio de la disminución de la emisión de fluorescencia de RB por la acción de un quencher (Nps de oro presentes en un medio de agua-etanol).

Nombre de la Muestra	Solventes presentes en el vial	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[RB] Inicial (mol/L)	Vol. de EtOH en el vial (ml)	[RB] final en el vial (mol/L)
Nps-RB-SDS_105'	Agua-EtOH	-	-	-	-	2.7E-05	3.0	1.1E-05
Nps-RB-SDS_106'	Agua-EtOH	-	-	-	-	2.9E-05	3.2	1.2E-05
Nps-RB-SDS_107'	Agua-EtOH	-	-	-	-	3.1E-05	3.4	1.3E-05
Nps-RB-SDS_108'	Agua-EtOH	-	-	-	-	3.3E-05	3.6	1.5E-05
Nps-RB-SDS_109'	Agua-EtOH	-	-	-	-	3.6E-05	3.9	1.7E-05
Nps-RB-SDS_110'	Agua-EtOH	-	-	-	-	1.4E-05	1.5	3.5E-06
Nps-RB-SDS_111'	Agua-EtOH	-	-	-	-	1.2E-05	1.3	2.7E-06
Nps-RB-SDS_112'	Agua-EtOH	-	-	-	-	1.0E-05	1.1	1.9E-06
Nps-RB-SDS_113'	Agua-EtOH	-	-	-	-	8.2E-06	0.9	1.4E-06
Nps-RB-SDS_114'	Agua-EtOH	-	-	-	-	5.5E-06	0.6	6.5E-07

En la Figura 96, se pueden apreciar los espectros de fluorescencia para cada muestra de Nps de oro-RB-SDS y sus respectivos blancos (RB-SDS), ambas especies presentes en un medio de agua-etanol.





**Figura 96:** Espectros de fluorescencia para complejos Nps de oro-RB-SDS y sus respectivos blancos RB-SDS, ambas especies presentes en un medio agua-etanol, (a) rango de concentraciones de RB desde  $1.1$  hasta  $1.7 \times 10^{-5}$  M, (b) rango de concentraciones de RB desde  $6.5 \times 10^{-7}$  hasta  $3.5 \times 10^{-6}$  M y (c) relación entre la intensidad del máximo de fluorescencia y la concentración de RB.

Al observar la Figura 96, se puede apreciar que el resultado espectral obtenido en la Figura 95 se vuelve a repetir, es decir, un fuerte decaimiento de la fluorescencia de los blancos RB-SDS, debido a la presencia de nanopartículas de oro y a la gran cercanía que se establece entre las moléculas de RB y los núcleos de las Nps de oro. Al comparar la Figura 95(c) con la Figura 96(c), se nota que el etanol efectivamente incrementó la emisión de fluorescencia de RB. Sin embargo, al observar simultáneamente las Figuras 94 y 96, se aprecia como la rodamina B posee una emisión de fluorescencia significativamente inferior con respecto a la fluorescencia de la disodiofluoresceína. Esta particular característica permite que las Nps de oro funcionalizadas con altas concentraciones de RB puedan ser fácilmente caracterizadas por espectroscopía UV-Vis frente a las Nps modificadas con elevadas concentraciones de DSF.

#### **IV.5.2 Determinación de los Espectros de Absorbancia de los Complejos Nps de Oro-DSF-SDS y Nps de Oro-RB-SDS**

##### **IV.5.2.a Espectros de Absorbancia de los Complejos Nps de Oro-DSF-SDS**

Por otro lado, para llevar cabo la caracterización espectroscopía UV-Vis, fue necesario preparar otras nuevas soluciones de Nps de oro funcionalizadas con DSF, pero esta vez, usando bajas concentraciones del fluoróforo (véase Figura 97). Se observó en muchas tandas de experimentos, que altas concentraciones de DSF producían una elevada fluorescencia en las soluciones de Nps, haciendo imposible este tipo de caracterización.



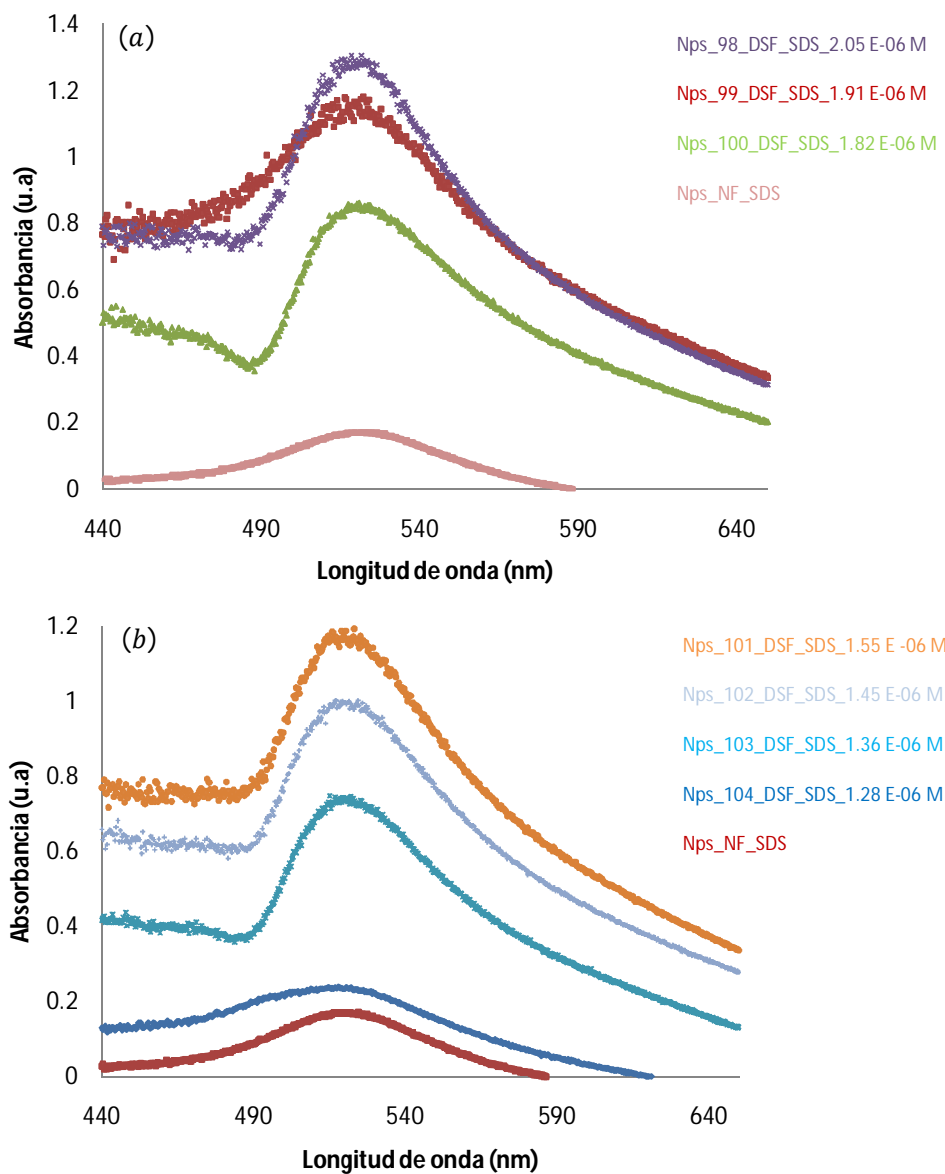
**Figura 97:** Complejos de Nps de oro-DSF-SDS, sintetizados bajo las siguientes condiciones experimentales, de izquierda a derecha:  $1.36 \times 10^{-06}$  M,  $2.05 \times 10^{-06}$  M,  $1.91 \times 10^{-06}$  M,  $1.45 \times 10^{-06}$  M,  $1.55 \times 10^{-06}$  M,  $1.82 \times 10^{-06}$  M y  $1.28 \times 10^{-06}$  M de DSF,  $1.23 \text{ GW/cm}^2$ , concentración de  $0.045 \text{ M}$  de SDS, 15 minutos de ablación. El primer vial a la izquierda de la foto contiene una solución de DSF-SDS.

La Tabla N° 23 muestra las condiciones experimentales y el rango de concentraciones de DSF empleados para la generación de las Nps.

**Tabla N° 23:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Disodiofluoresceína (Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser. Determinación de los espectros de absorbancia de los complejos Nps de oro-DSF-SDS.

Nombre de la Muestra	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[DSF] Inicial (mol/L)	Vol. de DSF en el vial (ml)	[DSF] final en el vial (mol/L)
Nps-DSF-SDS_98	1.23	15	0.045	2.25	4.1E-06	2.25	2.05E-06
Nps-DSF-SDS_99	1.23	15	0.045	2.35	4.1E-06	2.10	1.91E-06
Nps-DSF-SDS_100	1.23	15	0.045	2.45	4.1E-06	2.00	1.82E-06
Nps-DSF-SDS_101	1.23	15	0.045	2.75	4.1E-06	1.70	1.55E-06
Nps-DSF-SDS_102	1.23	15	0.045	2.85	4.1E-06	1.60	1.45E-06
Nps-DSF-SDS_103	1.23	15	0.045	2.95	4.1E-06	1.50	1.36E-06
Nps-DSF-SDS_104	1.23	15	0.045	3.10	4.1E-06	1.40	1.28E-06

La Figura 98 muestra los espectros de absorbancia para las muestras de Nps de oro funcionalizadas con DSF. Al observar esta figura, se puede notar como a medida que la concentración de fluoróforo aumenta, la absorbancia también se ve incrementada. Tal como se mencionó previamente en la Sección IV.4.3, estos resultados espectrales se pueden atribuir a: (i) aumentos de la constante dieléctrica del medio ambiente por la adición de un fluoróforo y (ii) las Nps de oro modificadas con altas concentraciones de DSF absorben mucha más luz que aquellas Nps funcionalizadas con bajas concentraciones del fluoróforo. Esto último, ocasiona que el pico de máxima absorción de los complejos Nps de oro-DSF-SDS\_98 y 101 sea más pronunciado que el pico de absorbancia de las Nps no funcionalizadas.



**Figura 98:** Espectros de absorción de complejos Nps de oro-DSF-SDS: (a) rango de concentración de DSF desde  $1.82$  a  $2.05 \times 10^{-06}$  M y (b) rango de concentración de DSF desde  $1.28$  a  $1.45 \times 10^{-06}$  M. Los complejos Nps de oro-NF-SDS y Nps de oro-DSF-SDS fueron generados bajo las siguientes condiciones experimentales:  $1.23 \text{ GW/cm}^2$ , concentración  $0.045 \text{ M}$  de SDS y  $15$  minutos de ablación.

#### IV.5.2.b Espectros de Absorbancia de los Complejos Nps de Oro-RB-SDS

Para esta caracterización, se prepararon una nueva serie de soluciones de Nps de oro funcionalizadas con RB, primeramente, sintetizadas en un medio acuoso y luego diluidas, una vez culminado el proceso de la ablación, con etanol  $99.8\%$ . La

Tabla N° 24 muestra las condiciones experimentales y el rango de concentraciones de RB empleado para la generación de las Nps.

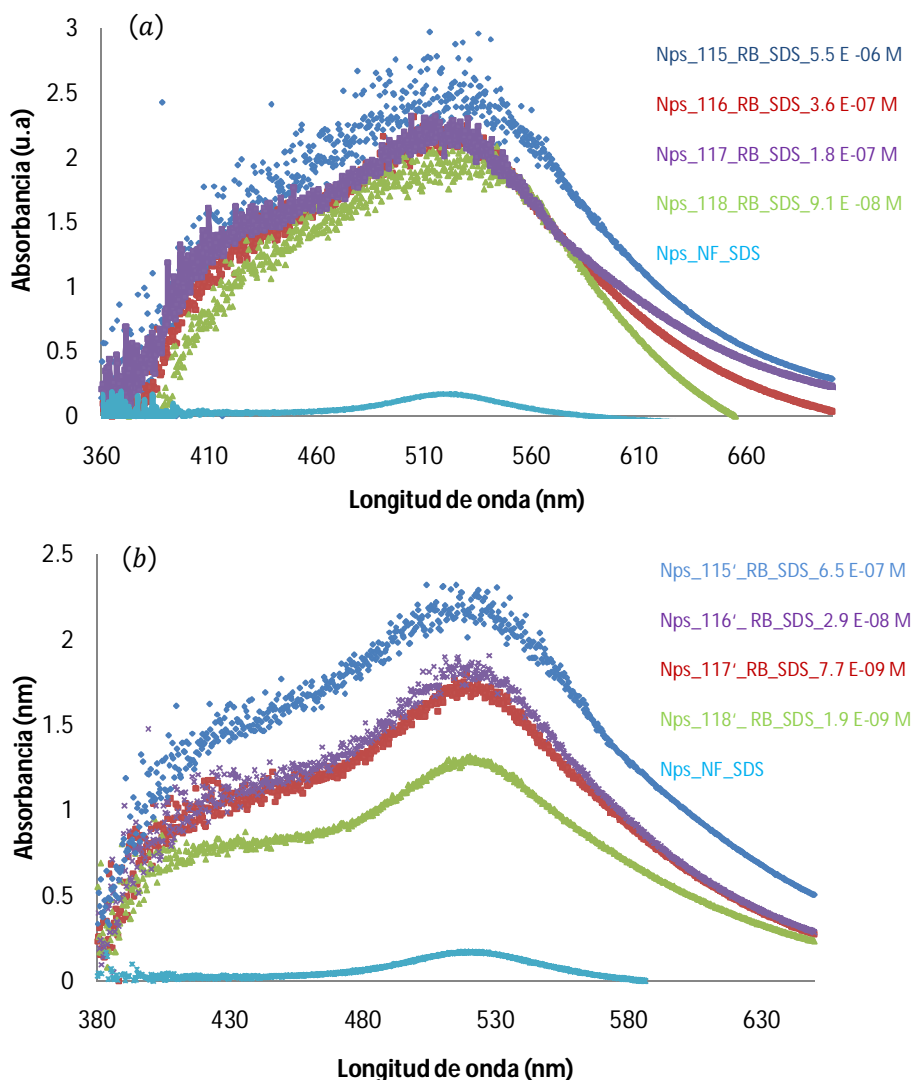
**Tabla N° 24:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con Rodamina B (Nps de oro-RB-SDS) vía ablación láser. Determinación de los espectros de absorbancia de los complejos Nps de oro-RB-SDS.

Nombre de la Muestra	Solventes presentes en el vial	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[RB] Inicial (mol/L)	Vol. de RB en el vial (ml)	Vol. de EtOH (ml)	[RB] final en el vial (mol/L)
Nps-RB-SDS_115	Agua	2.14	15	0.045	3.9	4.1E-05	0.6	-	5.5E-06
Nps-RB-SDS_116	Agua	2.14	15	0.045	4.1	4.1E-06	0.4	-	3.6E-07
Nps-RB-SDS_117	Agua	2.14	15	0.045	4.3	4.1E-06	0.2	-	1.8E-07
Nps-RB-SDS_118	Agua	2.14	15	0.045	4.4	4.1E-06	0.1	-	9.1E-08
Nps-RB-SDS_115'	Agua-EtOH	-	-	-	-	5.5E-06	-	0.6	6.5E-07
Nps-RB-SDS_116'	Agua-EtOH	-	-	-	-	3.6E-07	-	0.4	2.9E-08
Nps-RB-SDS_117'	Agua-EtOH	-	-	-	-	1.8E-07	-	0.2	7.7E-09
Nps-RB-SDS_118'	Agua-EtOH	-	-	-	-	9.1E-08	-	0.1	1.9E-09

La Figura 99 muestra los espectros de absorbancia para las muestras de Nps de oro funcionalizadas con RB. Al observar la Figura 99, no solo se puede notar como a medida que la concentración de RB aumenta, la absorbancia también se ve incrementada, sino también se aprecia la aparición de una segunda banda de absorción ubicada entre 400 y 425 nm. La aparición de esta banda en el lado “azul” del espectro, tal vez se derive de: (i) cambios en la constante dieléctrica del medio ambiente que contiene las nanopartículas ocasionado por la adición de RB al medio y (ii) aumentos en la densidad electrónica de la nanopartícula debido a las interacciones electrostáticas de esta con las moléculas de SDS y RB.

Como se sabe, la posición, forma e intensidad de la banda depende fuertemente de muchos factores: la constante dieléctrica del medio, el tamaño y forma de la nanopartícula y las interacciones electrónicas entre los ligandos estabilizantes o funcionalizadores (moléculas de SDS o de RB) y la nanopartícula, que altera la densidad electrónica dentro de la misma. Dado que la posición de la banda del PS depende de la densidad electrónica dentro de la nanopartícula, si está

de alguna manera cambia, se modifica la posición de la banda. Un aumento de la densidad electrónica causa un “blue shift”, es decir, un corrimiento a frecuencias más altas, mientras que una disminución en la densidad electrónica causa un corrimiento al rojo “red shift”, corrimiento a frecuencias más bajas.



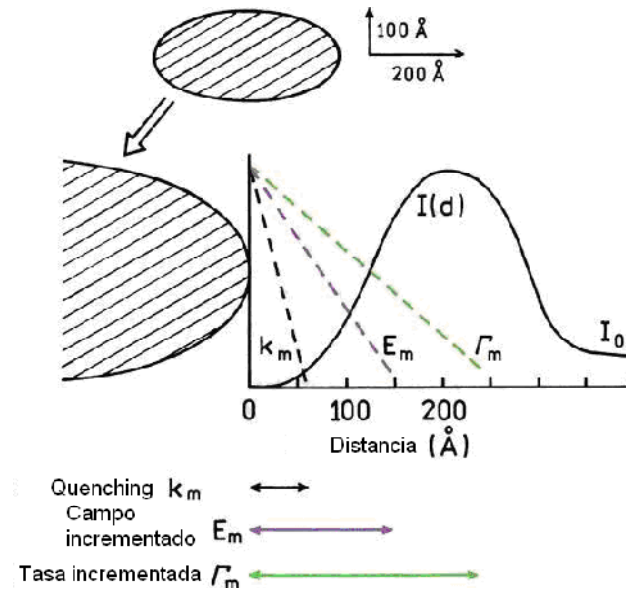
**Figura 99:** Espectros de absorción de complejos Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-NF-SDS: (a) Nps con y sin funcionalización presentes en un medio acuoso. Rango de concentración de RB: desde  $9.1 \times 10^{-08}$  hasta  $5.5 \times 10^{-06}$  M y (b) Nps con funcionalización presentes en un medio agua-EtOH. Rango de concentración de RB: desde  $1.9 \times 10^{-09}$  hasta  $6.5 \times 10^{-07}$  M.

#### IV.5.3 Quenching Estático y Dinámico. Gráfica de Stern-Volmer. Relación entre $F_0/F$ y la Concentración de Nps de Oro en Muestras de Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-DSF-SDS.

Los resultados espectrales obtenidos en las Secciones IV.5.1.a y IV.5.1.c sugieren que el quenching de la emisión de fluorescencia de DSF y RB, es debido a la presencia de nanopartículas de oro en el medio, sin embargo, aun cuando se conocen las causas de esta disminución de fluorescencia, hasta ahora no está muy claro, cual es la naturaleza del quenching observado.

Tal como se mencionó en la Sección I.6.4.a, la excitación de la RPS del metal genera un incremento en la tasa de absorción del mismo<sup>[123]</sup>. Igualmente, cuando el dipolo de emisión molecular interactúa con la RP genera un incremento en la tasa de decaimiento radiativo. Adicionalmente, la parte no radiativa del decaimiento genera un efecto de disminución adicional<sup>[123]</sup>. El fenómeno de quenching de fluorescencia se puede observar cuando este último efecto sobrepasa el incremento en la tasa de decaimiento radiativo<sup>[123]</sup>.

Un fluoróforo puede sufrir quenching cuando se encuentra a una distancia cercana del metal ( $k_m$ )<sup>[123]</sup>. Puede haber un incremento en la tasa de excitación ( $E_m$ )<sup>[123]</sup> o puede haber un incremento en la tasa de decaimiento radiativo ( $\Gamma_m$ )<sup>[123]</sup>. Estos fenómenos tienen una importante dependencia con la distancia metal-fluoróforo<sup>[123]</sup> como se observa en la Figura 100.



**Figura 100:** Efectos de una nanopartícula metálica sobre las transiciones de un fluoróforo. Dependencia de  $k_m$ ,  $E_m$  y  $\Gamma_m$  con la distancia metal-fluoróforo<sup>[124]</sup>.

En nuestro caso, el fenómeno que se observó en las Figuras 94, 97 y 98, fue básicamente un quenching de fluorescencia, lo que indica que la distancia nanopartícula-DSF o nanopartícula-RB es considerablemente pequeña.

El fenómeno de quenching o decaimiento de fluorescencia, se refiere a cualquier proceso que disminuya la intensidad de fluorescencia de una muestra determinada (en la mayoría de los casos, sustancias fluoróforas con altos rendimientos cuánticos). Una extensa gama de interacciones pueden generar quenching, entre las cuales destacan: (i) transferencias de energía<sup>[123]</sup>, (ii) rearrreglos moleculares<sup>[123]</sup>, (iii) quenching colisional<sup>[123]</sup> y (iv) formación de complejos de estado fundamental<sup>[123]</sup>, entre otros. Existen tres tipos de quenching: quenching estático<sup>[123]</sup>, dinámico o colisional<sup>[123]</sup> y combinación estático-dinámico<sup>[123]</sup>, todos ellos requieren del contacto molecular o electrostático entre el fluoróforo (en nuestro caso, DSF o RB) y el quencher (Nps de oro).

En el quenching colisional, el quencher (Nps de oro) tendrá que difundirse al fluoróforo (RB o DSF) durante el tiempo de vida del estado excitado<sup>[123]</sup>, una vez que ambos entre en contacto, el fluoróforo regresa al estado fundamental sin emitir un



fotón<sup>[123]</sup>. El quenching colisional de fluorescencia esta descrito por la ecuación de Stern-Volmer<sup>[123]</sup>.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \Gamma_0 [Q] = 1 + K_D [Q] \quad \text{Ec. IV. 10}$$

donde:

$F_0$  y  $F$  son las intensidades de fluorescencia en la ausencia y en presencia del quencher, respectivamente.

$k_q$  es la constante de quenching bimolecular.

$\Gamma_0$  es el tiempo de vida del fluoróforo en la ausencia de quencher y

$Q$  es la concentración del quencher.

La constante de quenching de Stern-Volmer esta dada por  $K_D = k_q \Gamma_0$ . La constante  $k_q$  refleja la accesibilidad del fluoróforo al quencher. Un quenching controlado por difusión generalmente muestra valores de  $k_q$  de  $1.0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Valores superiores de  $k_q$  indican algún tipo de interacción de enlace o acoplamiento<sup>[123]</sup>.

En el caso del quenching estático, normalmente se forma un complejo fluoróforo-quencher [F-Q]<sup>[123]</sup>. Este complejo no presenta fluorescencia y cuando absorbe luz, este vuelve inmediatamente al estado fundamental sin la emisión de un fotón<sup>[123]</sup>. El quenching estático esta dado por:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_S [Q] \quad \text{Ec. IV. 11}$$

donde:

$$K_S = \frac{[F-Q]}{[F][Q]} \quad \text{Ec. IV. 12}$$

donde:

$K_S$  relaciona la concentración del complejo fluoróforo-quencher [F-Q] con las concentraciones libres del fluoróforo [F] y del quencher [Q]. Al igual que en el

quenching dinámico, en la Ec. IV.11, se puede apreciar que la dependencia de  $F_0/F$  con  $[Q]$  es lineal.

En el caso de un quenching combinado estático-dinámico, por lo general se observa una desviación de la linealidad de la gráfica  $F_0/F$ <sup>[123]</sup>. La ecuación de Stern-Volmer que describe este tipo de quenching es la que sigue:

$$\frac{F_0}{F} = (1 + k_D [Q])(1 + k_S [Q]) \quad \text{Ec. IV.13}$$

Vale la pena destacar, que esta nueva ecuación de Stern-Volmer, es de segundo orden en  $[Q]$ . La desviación de la linealidad es debida al quenching dinámico y estático que ocurren para un mismo fluoróforo<sup>[123]</sup>.

En esta parte de la investigación, primeramente, se prepararon una serie de Nps de oro funcionalizadas con RB y DSF (véase Tabla N° 25). Luego, las muestras fueron caracterizadas simultáneamente por espectroscopía UV-Vis y de fluorescencia. Seguidamente, empleando el valor del coeficiente de absortividad molar,  $\sigma_M$ , de una nanopartícula de oro solitaria, anteriormente calculado en la Sección IV.3.3, se determinó el número de Nps presentes en cada una de las muestras preparadas (véase Tabla N° 26) y finalmente, se evaluó la relación que existe entre el  $F_0/F$  y la cantidad de Nps de oro generadas.

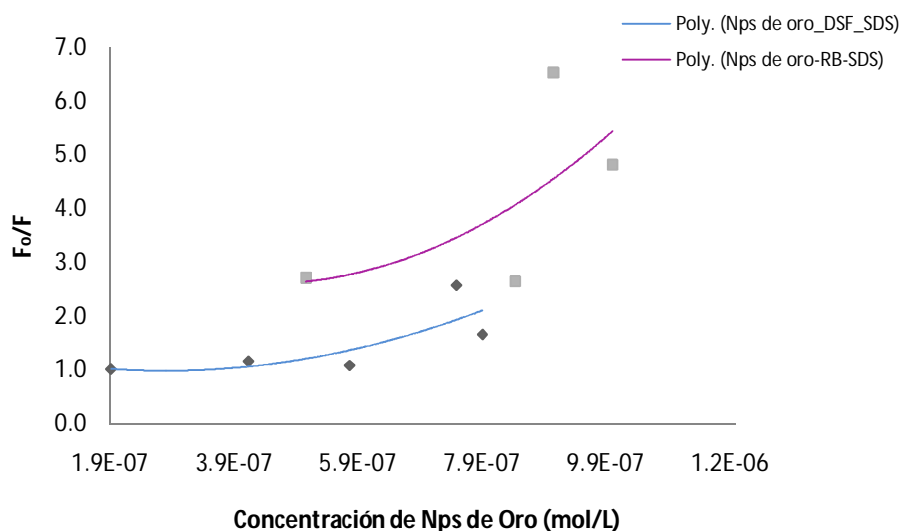
**Tabla N° 25:** Condiciones experimentales empleadas para la generación de Nps de oro funcionalizadas con RB y DSF (Nps de oro-RB-SDS y Nps de oro-DSF-SDS) vía ablación láser.

Nombre de la Muestra	Irradiancia (GW/cm <sup>2</sup> )	tiempo de ablación (min)	[SDS] (mol/L)	Vol. de SDS en el vial (ml)	[RB] Inicial (mol/L)	Vol. de RB en el vial (ml)	[DSF] inicial (mol/L)	Vol. de DSF en el vial (ml)	[RB] final en el vial (mol/L)
Nps-RB-SDS_119	2.14	15	0.045	3.9	4.1E-06	0.6	-	-	5.5E-07
Nps-RB-SDS_120	2.14	15	0.045	4.1	4.1E-06	0.4	-	-	3.6E-07
Nps-RB-SDS_121	2.14	15	0.045	4.3	4.1E-06	0.2	-	-	1.8E-07
Nps-RB-SDS_122	2.14	15	0.045	4.4	4.1E-06	0.1	-	-	9.1E-08
Nps-DSF-SDS_123	1.23	15	0.045	3.9	-	-	4.1E-06	0.6	5.5E-07
Nps-DSF-SDS_124	1.23	15	0.045	4.1	-	-	4.1E-06	0.5	4.6E-07
Nps-DSF-SDS_125	1.23	15	0.045	4.3	-	-	4.1E-06	0.4	3.6E-07
Nps-DSF-SDS_126	1.23	15	0.045	4.4	-	-	4.1E-06	0.3	2.7E-07
Nps-DSF-SDS_127	1.23	15	0.045	3.9	-	-	4.1E-06	0.2	1.8E-07

**Tabla N° 26:** Data para la construcción de la curva  $F_0/F$  en función de la concentración de las Nps de oro.

Nombre de la Muestra	Valor de $F_0$	Valor de F	Relación $F_0/F$	Absorbancia de las Nps a 525 nm	Nnps de oro generadas (mol/L)
Nps-RB-SDS_119	266.786	55.456	4.8106	2.373	1.0E-06
Nps-RB-SDS_120	130.966	20.078	6.5228	2.146	9.1E-07
Nps-RB-SDS_121	100.093	37.921	2.6395	2.000	8.4E-07
Nps-RB-SDS_122	28.034	10.345	2.7112	1.200	5.1E-07
Nps-DSF-SDS_123	662.852	401.224	1.6520	1.875	7.9E-07
Nps-DSF-SDS_124	1036.846	404.14	2.5655	1.776	7.5E-07
Nps-DSF-SDS_125	510.428	473.682	1.0775	1.367	5.8E-07
Nps-DSF-SDS_126	50.681	43.902	1.1544	0.981	4.1E-07
Nps-DSF-SDS_127	18.14	17.254	1.0077	0.455	1.9E-07

En la Figura 101, se puede apreciar la relación entre el parámetro  $F_0/F$  y la concentración de Nps de oro funcionalizadas presentes en el medio.



**Figura 101:** Gráfica de Stern-Volmer para complejos Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS. Relación entre  $F_0/F$  y la concentración de Nps de oro.

Al observar la Figura 101, se puede notar, para ambos tipos de complejos, que las curvas presentan comportamientos parabólicos, esto sugiere que el quenching observado no es enteramente dinámico o estático, sino más bien una combinación de ambos. En general, las desviaciones de la ecuación de Stern-Volmer, como la obtenida en la Fig. 101, se observan cuando la magnitud del quenching es grande, lo cual concuerda muy bien con los resultados observados en las Figuras 94(c), 95(c) y 96(c).

Algunas veces, el componente estático se debe a una distancia muy pequeña entre el quencher y el fluoróforo al momento de la excitación<sup>[123]</sup>. Los pares fluoróforo-quencher, muy cercanos entre sí, pueden sufrir un quenching inmediato<sup>[123]</sup>. Cuando el fluoróforo y la nanopartícula se encuentran a una distancia muy pequeña, existe una elevada probabilidad de que el quenching ocurra antes de que ambas especies se difundan y se alejen una de la otra<sup>[123]</sup>. A medida que la concentración de la nanopartícula aumenta, incrementa la probabilidad de que exista un quencher dentro de la primera capa de solvente del fluoróforo al momento de la excitación<sup>[123]</sup>.

Este tipo de quenching aparentemente estático es estudiado en términos de una esfera de acción<sup>[124]</sup>, en la cual la probabilidad de quenching es la unidad<sup>[124]</sup>. Una modificación de la ecuación de Stern-Volmer que describe esta situación es la que sigue:

$$\frac{F_0}{F} = (1 + k_D [Q]) \exp\left(\frac{[Q]VN}{1000}\right) \quad \text{Ec. IV. 14}$$

donde:

V es un parámetro que define el volumen de la esfera<sup>[124]</sup>.

## CONCLUSIONES

---

La técnica de ablación láser es una vía altamente eficiente, muy rápida, de fácil manejo, extremadamente sencilla pero altamente costosa, que permite generar nanopartículas metálicas. En esta investigación, se prepararon inicialmente, por medio de esta técnica, alrededor de 56 diferentes soluciones de Nps de oro en un entorno acuoso de dodecil sulfato de sodio (SDS) y posteriormente, se generaron y funcionalizaron "in-situ", aproximadamente otras 71 soluciones de Nps de oro en una mezcla de agente funcionalizador - SDS.

La dispersión de hiper rayleigh (HRS) es una técnica eficaz que sirve no solo para estudiar el comportamiento óptico no lineal (ONL) de segundo orden de las Nps de oro sino que también permite cuantificar el valor del tensor  $\beta$  de las mismas. Se determinó que el valor de la primera hiperpolarizabilidad de una nanopartícula de oro solitaria y no funcionalizada fue  $1.9 \pm 2.5 \times 10^{-23}$  esu. Así mismo, se encontró que el valor del tensor  $\beta$  para los complejos Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS fue  $5.5 \pm 2.2 \times 10^{-22}$  y  $13.3 \pm 1.6 \times 10^{-23}$  esu, respectivamente. La Rodamina B realizó e incrementó más efectiva y eficientemente, en un orden de magnitud, las propiedades ONL de las Nps de oro.

Concentraciones de 0.045 M y 0.18 M de SDS permiten obtener mayor cantidad de Nps de oro y espectros que presentan una mayor absorción. Las Nps generadas en una solución acuosa 0.18 M de SDS, forman grandes agregados en menos de 58 horas. Por el contrario, empleando una concentración 0.045 M de SDS, se pueden obtener Nps de oro con tamaños relativamente mucho más pequeños, manifestando procesos de agregación a largo plazo, estas partículas pueden encontrarse eficientemente estabilizadas por largos periodos de tiempo (máx. 3 ó 4 días).

La cantidad de Nps de oro generadas se ve afectada por tres importantes variables: (i) concentración del estabilizante, (ii) irradiancia y (iii) tiempo de ablación. Aumentos en la irradiancia influye positivamente en la cantidad de Nps generadas en el medio; a medida que se incrementa la irradiancia, aumenta la cantidad de Nps

y disminuye el diámetro medio de partícula. Aumentos en el tiempo de ablación generan altas concentraciones de Nps en el medio, incrementándose, a su vez, el diámetro de partícula. Cuando se emplean tiempos de ablación relativamente pequeños, el diámetro medio de las Nps se mantiene casi constante. A medida que se incrementa el tiempo de ablación, por encima de 12 minutos, las Nps de oro experimentan significativos cambios en su tamaño, alcanzando justamente a los 15 minutos, un diámetro medio umbral. Luego de este valor, se observa que el diámetro de partícula decae un poco cuando se emplean tiempos de ablación muy extensos (20 minutos).

Se comprobó la correlación entre la longitud de onda del máximo de absorción de las Nps de oro y el diámetro promedio de estas. Nanopartículas de mayor diámetro promedio absorben energía a una frecuencia menor y por tanto, a longitudes de onda más grande y nanopartículas con menor diámetro promedio absorben energía a una frecuencia mayor y por tanto, longitudes de onda más pequeña. Se cree que este comportamiento es debido al fenómeno de cuantización de tamaño, que no es más que la cuantización del filo de las bandas de conducción y de valencia en una nanopartícula de oro y al aumento de su brecha de banda ocasionado por el confinamiento espacial de los electrones. A medida que el diámetro promedio de la nanopartícula disminuye, el confinamiento espacial de sus electrones aumenta resultando en un aumento en el espaciado entre los niveles y en su brecha de banda.

Se demostró que existe una notoria dependencia: (i) entre la señal de HRS y la cantidad de Nps presentes en el medio, (ii) entre la primera hiperpolarizabilidad y el diámetro de partícula y (iii) entre la señal de HRS y la concentración del agente funcionalizador, a medida que se incrementa la concentración del agente modificador, la señal de HRS aumenta.

La señal de HRS de las Nps funcionalizadas incrementó considerablemente con respecto a la señal proveniente de las no funcionalizadas. Tal como se tenía previsto, el agente funcionalizador optimizó las propiedades ONL de las Nps de oro. Por otro lado, la intensidad de HRS proveniente de los complejos Nps de oro-RB-SDS fue significativamente mayor que la señal de HRS proveniente de los

complejos Nps de oro-DSF-SDS. Este fenómeno se debe a una mejor y mayor interacción electrostática entre las moléculas de RB y la superficie de la nanopartícula de oro, lo que a su vez resulta en un mejor realzamiento y optimización del comportamiento ONL de las Nps.

Comparando los agentes funcionalizadores, RB y DSF, se observó que ambos por igual producen importantes cambios espectrales UV-Vis. A medida que la concentración de ambos fluoróforos aumenta, la absorbancia también se ve incrementada. Además de la banda de PS, que se observó a 520 nm para los complejos de Nps de oro-RB-SDS, una segunda banda de absorción apareció a 400-425 nm. Estos resultados espectrales pueden atribuirse a pequeños incrementos en la constante dieléctrica del medio ambiente que contiene las Nps de oro y a procesos de agregación que experimentan las partículas debido a la adición de RB.

El fenómeno de quenching de fluorescencia ha sido ampliamente utilizado en múltiples investigaciones bioquímicas. Las aplicaciones son numerosas y variadas. Particularmente, en esta investigación, se notó que las Nps de oro son capaces de producir un dramático quenching en la emisión de fluorescencia de Rodamina B y de Disodiofluoresceína, ocasionado por la gran cercanía entre las moléculas del fluoróforo y los núcleos metálicos de las Nps.



## PLAN DE TRABAJO

---

Este trabajo de investigación fue llevado a cabo en el Laboratorio de Espectroscopía Láser de la Facultad de Ciencias en la Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela por un periodo de 9 meses. La descripción detallada sobre las actividades y el calendario para llevar a cabo cada uno de los dos principales objetivos de este proyecto están cubiertos en las siguientes tablas.

La primera etapa de esta investigación consistió en determinar el alcance e influencia de ciertas variables experimentales, tales como concentración del estabilizante, irradiancia del láser y tiempo de ablación de la ablación láser, sobre los espectros de absorción, distribución de tamaños y propiedades ópticas no lineales de las Nps de oro generadas (véase Tabla N° 27). La segunda etapa consistió en la generación y funcionalización in-situ de Nps de oro vía ablación láser, a partir de una placa de oro sumergida en una mezcla de soluciones de SDS y fluoróforo, para posteriormente, estudiar: (i) el efecto de la concentración del estabilizante, irradiancia del láser, tiempo de ablación y la variación de la concentración de RB y DSF sobre la respuesta del segundo armónico o señal de HRS, (ii) los cambios que se producían en los espectros de fluorescencia de RB y DSF, al usarlos como agentes modificadores de Nps de oro y (ii) los cambios que se producían en los espectros UV-Vis de las Nps de oro, al agregar una sustancia funcionalizadora (véase Tabla N° 28).

**Tabla N° 27:** Primera fase de la investigación: Estudio del efecto de las condiciones experimentales sobre la generación de Nps de oro-NF-SDS vía ablación láser.

Actividades	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Revisión bibliográfica	■					
Instalación del equipo de HRS junto al Prof. Gutierrez	■	■				
Medida y estudio de la señal de HRS de urea y sus patrones			■			
Medida y estudio de la señal de HRS de m-NA y sus patrones				■		
Medida y estudio de la señal de HRS de p-NA y sus patrones					■	
Tratamiento de los datos de señal de HRS de urea, m-NA y p-NA			■	■		
Estudio y escogencia de las condiciones experimentales del montaje empleado para medir la señal de HRS			■	■	■	
Estudio y escogencia de condiciones experimentales para el proceso de ablación con láser				■		
Estudio de la influencia de la concentración de SDS para Nps de oro-NF-SDS					■	
Medida de la señal de HRS de las Nps de oro-NF-SDS					■	
Tratamiento de los datos de señal de HRS de Nps de oro-NF-SDS					■	
Instalación y comprensión del equipo de Espectroscopía UV-Vis					■	
Caracterización de Nps de oro -NF-SDS via Espectroscopía UV-Vis					■	
Caracterización de Nps de oro -NF-SDS via DLS					■	
Estudio de la influencia de la irradiancia para Nps de oro-NF-SDS						■
Estudio de la influencia del tiempo de ablacion para Nps de oro-NF-SDS						■
Estudio de la correlación de la longitud de onda del máximo de absorbancia con el diámetro de partícula						■
Estudio de la estabilidad de las Nps de oro-NF-SDS en el tiempo						■
Estudio de la señal de HRS de Nps de oro con y sin funcionalización						■
Estudio de la influencia de la cantidad de Nps no funcionalizadas sobre la señal del segundo armónico						■
Determinación del valor de la primera hiperpolarizabilidad de las Nps de oro con y sin modificación						■
Preparación del seminario de investigación			■	■	■	
Preparación de la presentación del seminario de investigación					■	

**Tabla N° 28:** Segunda fase de la investigación: Generación y funcionalización in-situ de Nps de oro vía ablación láser, a partir de una placa de oro sumergida en una mezcla de soluciones de SDS y fluoróforo. Estudio del efecto de las condiciones experimentales sobre la generación de Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS vía ablación láser.

Actividades	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
Revisión bibliográfica	■					
Síntesis de Nanopartículas de Oro Funcionalizadas	■					
Caracterización de Nps de oro funcionalizadas por HRS	■					
Estudio de la influencia del tiempo de ablacion y del agente funcionalizador sobre los espectros de absorbancia y la señal de HRS		■				
Estudio de la influencia de la naturaleza del agente funcionalizador, concentración del estabilizante y la irradiancia sobre la señal del segundo armónico		■		■		
Estudio del efecto de la variación de la concentración de DSF sobre la señal del segundo armónico		■				
Estudio del efecto de la variación de la concentración de RB sobre la señal del segundo armónico		■				
Tratamiento de los datos de señal de HRS de Nps de oro funcionalizadas			■			
Estudio y determinación de la correlación de la primera hiperpolarizabilidad con el diámetro de partícula			■			
Caracterización de Nps de oro funcionalizadas por Espectroscopía de Fluorescencia			■			
Instalación del equipo de Espectroscopía de Fluorescencia	■					
Estudio del quenching de la emisión de fluorescencia de disodiofluoresceína debido a la presencia de Nps de oro	■					
Estudio del quenching de la emisión de fluorescencia de rodamina B debido a la presencia de Nps de oro	■					
Caracterización de Nps de oro funcionalizadas via Espectroscopía UV-Vis		■				
Determinación de los espectros de absorbancia de los complejos Nps de Oro-DSF-SDS		■				
Determinación de los espectros de absorbancia de los complejos Nps de Oro-RB-SDS		■				
Estudio del quenching estático y dinámico. Gráfica de Stern-Volmer para complejos de Nps funcionalizadas con DSF y RB		■				
Estudio de la correlación de Fo/F con la concentración de Nps de oro en muestras de Nps de oro-DSF-SDS y Nps de oro-RB-SDS			■			
Estudio del tamaño y distribución de las Nps de oro modificadas via TEM						■
Preparación del proyecto de tesis	■					
Preparación de la presentación final de tesis					■	

## BIBLIOGRAFIA

---

- [1] Younan X., Byron G., Yadong Y., y Yu L., **“Monodispersed Colloidal Spheres: Old Materials with New Applications”**. Adv. Mater. **12** (2000) 693 - 713.
- [2] (a) <http://es.wikipedia.org/wiki/Nanotecnología>. **“Nanotecnología”**. Febrero (2010).  
(b) <http://blogs.creamoselfuturo.com/nano-tecnologia>. **“Nanotecnología”**. Junio (2006).
- [3] <http://www.conacyt.mx>. Ciencia y desarrollo. **“Nanopartículas, Principios y Aplicaciones”**. Conacyt. Julio (2008).
- [4] Ver referencia [2a].
- [5] Ver referencia [3].
- [6] Ver referencia [2b].
- [7] Ver referencia [3].
- [8] García Vidal F., y Martín Moreno L., **“Plasmones Superficiales”**. Revista de Investigación y ciencia, Octubre (2008) 66-76.
- [9] Ver referencia [1].
- [10] Zhang C., Zhang Y., Wang X., Tang Z., y Lu Z., **“Hyper-Rayleigh Scattering of Protein-Modified Gold Nanoparticles”**. Anal. Biochem. **320** (2003) 136 - 140.
- [11] (a) <http://www.solociencia.com>. **“Biosensor Basado en Nps para Detectar Hormonas Ilegales”**. España, Marzo (2003).  
(b) <http://www.dicyt.com>. **“El Laser de Físicas Produce Nps de Oro para su Uso en Investigaciones Biomédicas”**. España, Diciembre (2004).
- [12] Ver referencia [1].
- [13] Ver referencia [3].
- [14] Ver referencia [2].
- [15] Ver referencia [2].
- [16] Ver referencia [8].
- [17] Ver referencia [1].

- [18] Ver referencia [10].
- [19] Ver referencia [11b].
- [20] Ver referencia [1].
- [21] **“Determinación del Tamaño de Micro y Nanopartículas por Scattering de Luz”**. Dr. Lucia B. Scaffardi. Centro de Investigaciones Ópticas (CONICET-CIC). Dpto. de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería, Universidad de la Plata. Argentina, Mayo (2008).
- [22] Ver referencia [8].
- [23] **“Propiedades Ópticas de Nanopartículas”**. Curso de Nanotecnología Dpto. de Ingeniería Química. Universidad Tecnológica Nacional - Facultad Regional La Plata. Argentina, Febrero (2009).
- [24] Ver referencia [1].
- [25] **“Propiedades Magnéticas de Nanopartículas de Oro”**. José de la Venta Granda. Tesis para optar al grado de doctor en Ciencias Físicas por la Universidad Complutense de Madrid. España, Enero (2009).
- [26] **“Obtención de Nanopartículas de Oro y Caracterización Empleando Métodos Ópticos”**. María Alejandra Ortega Machuca. Tesis para optar el título de Licenciada en química en la Universidad Central de Venezuela. Abril (2007).
- [27] Segets D., Tomalino L.M, Gradl J., y Peukert W., **“Real-Time Monitoring of the Nucleation and Growth of ZnO Nanoparticles Using an Optical Hyper-Rayleigh Scattering Method”**. *J. Phys. Chem. C* **113** (2009) 11995 – 12001.
- [28] Ver referencia [25].
- [29] Ver referencia [25].
- [30] Kelsall R., Hamley I. W., y Geoghegan M., **“Nanoscale Science and Technology”** Chapter 1. Section 1.3.3.3, page 26.
- [31] Ver referencia [25].
- [32] Gambardella P., Rusponi S., Veronese M., Dhési S. S., Grazioli C., Dallmeyer A., Cabria I., Zeller R., Dederichs P. H., Kern K., Carbone C. y Brune H., **“Giant Magnetic Anisotropy of Single Cobalt Atoms and Nanoparticles”**. *Science* **300** (2003) 1130.
- [33] Stephan L., y Mostaza E., **“Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods”**. *J. Phys. Chem. B* **103** (1999), 8410.

- [34] Ver referencia [26].
- [35] **“Estabilización de la Dispersión de un Material Particulado en un Medio Fluido”**. Dpto. de Ingeniería Química Cátedra Protección de Materiales. Universidad Tecnológica Nacional - Facultad Regional La Plata. Argentina, Marzo (2008).
- [36] <http://en.wikipedia.org/wiki/Surfactant>. **“Surfactant”**. Febrero (2010).
- [37] Grande A. H., **“Nanotecnología y Nanopartículas Magnéticas: La Física Actual En Lucha Contra La Enfermedad”**. Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. España. VIII Programa de Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica. **101** (2007) 321-327.
- [38] Ver referencia [23].
- [39] Ver referencia [25].
- [40] Brongersma M., y Kik P., **“Surface Plasmon Nanophotonics”**. Cap. 2. Hohenau A., Leitner A., y Aussenegg F., **“Near-Field and Far-Field Properties of Nanoparticle Arrays”**. Institute of Physics and Erwin Schrödinger Institute for Nanoscale Research at the Karl-Franzens University, Graz, Austria. Libro publicado por Editores Springer, The Netherlands, (2007) 11-25.
- [41] Ver referencia [25].
- [42] Ver referencia [40].
- [43] [http://en.wikipedia.org/wiki/Mie\\_theory](http://en.wikipedia.org/wiki/Mie_theory). **“Mie Theory”**. Febrero (2010).
- [44] Ver referencia [40].
- [45] Ver referencia [37].
- [46] Chen Y., y Yeh C., **“Laser Ablation Method: Use of Surfactants to Form the Dispersed Ag Nanoparticles”**. Colloids Surf., A Physicochemical and Engineering Aspects. **197** (2002) 133–139.
- [47] <http://www.ors-labs.com/laserablation.html>. **“Laser Ablation”**. Julio (2003).
- [48] Amendola V., y Meneghetti M., **“Laser Ablation Synthesis in Solution and Size Manipulation of Noble Metal Nanoparticles”**. Phys. Chem. Chem. Phys., **11**. (2009) 3805–3821.
- [49] Ver referencia [37].
- [50] (a) [http://en.wikipedia.org/wiki/Laser\\_ablation](http://en.wikipedia.org/wiki/Laser_ablation). **“Laser Ablation”**. Febrero (2010).

- (b) <http://www.appliedspectra.com/LIBS.html>. **“Laser Ablation”**. Applied Spectra, Inc. (2004).
- [51] Ver referencia [37].
- [52] <http://www.ors-labs.com/laserablation.html>. **“Laser Ablation”**. Julio (2003).
- [53] Ver referencia [26].
- [54] [http://en.wikipedia.org/wiki/Nd:YAG\\_laser](http://en.wikipedia.org/wiki/Nd:YAG_laser). **“Nd:YAG Laser”**. Febrero (2010).
- [55] Ver referencia [50].
- [56] Guo T., Nikolaev P., Rinzler D., Tomanek D.T., Colbert D.T., Smalley R.E., **“Self-Assembly of Tubular Fullerenes”**. J. Phys. Chem. **99** (1995) 10694–10697.
- [57] Guo T., Nikolaev P., Thess A., Colbert D.T., Smalley R.E., **“Catalytic Growth of Single-Walled Nanotubes by Laser Vaporization”**. Chem. Phys. Let. **243**. (1995) 49.
- [58] Ver referencia [50].
- [59] Mafuné F., Kohno J., Takeda Y., y Kondow T., **“Formation of Gold Nanoparticles by Laser Ablation in Aqueous Solution of Surfactant”**. J. Phys. Chem. B **105** (2001) 5114-5120.
- [60] Mafuné F., Kohno J., Takeda Y., y Kondow T., **“Full Physical Preparation of Size-Selected Gold Nanoparticles in Solution: Laser Ablation and Laser-Induced Size Control”**. J. Phys. Chem. **106** (2002) 7576-7577.
- [61] Ver referencia [46].
- [62] Ver referencia [37].
- [63] [http://es.wikipedia.org/wiki/Microscopio\\_electrónico\\_de\\_transmisión](http://es.wikipedia.org/wiki/Microscopio_electrónico_de_transmisión). **“Microscopio Electrónico de Transmisión”** Marzo (2010).
- [64] Ver referencia [37].
- [65] Ver referencia [63].
- [66] Ver referencia [23].
- [67] Berne, B. J., y R. Pecora. **“Dynamic Light Scattering with Application to Chemistry, Biology and Physics”**. 1ra Edición, Wiley, New York. (1976).
- [68] **“Estudio de la Transferencia de Energía entre Nanopartículas de Oro Generadas por Ablación Láser y Moléculas Fluoróforas”**. Irving Alberto Marquez Cruz. Tesis para optar el título de Licenciado en Química en la Universidad Central de Venezuela.

- [69] **“Espectroscopía de Fluorescencia Molecular”**. Universidad de Granada. Grupo de Investigación de Biofísica y Biotecnología Molecular. España (2009).
- [70] Ver referencia [68].
- [71] Ver referencia [69].
- [72] Axelrod D., y Hellen E.H., **“Total Internal Reflection Fluorescent”**. Topics in Fluorescence Spectroscopy. Edición JR Lakowicz. Plenum Press, New York **3** (1992) 289-343.
- [73] Zhang H., y Lakowicz J. R., **“Metal-Enhanced Fluorescence of an Organic Fluorophore Using Gold Particles”**, *Opt. Express* **15** (2007) 2598-2606.
- [74] Aslan K., Lakowicz J.R., y Geddes C.D. **“Metal-Enhanced Fluorescence Using Anisotropic Silver Nanostructures: Critical Progress to Date”**. *Anal. Bioanal. Chem.* **382** (2005) 926–933.
- [75] Pompa P.P., Martiradonna L., Della Torre A., Della Sala F., Manna L., De Vittorio M., Calabi F., Cingolani R., y Rinaldi R., **“Metal-Enhanced Fluorescence of Colloidal Nanocrystals with Nanoscale Control”** *Nature Nanotechnology* **1** (2006), 126–130.
- [76] Ver referencia [74].
- [77] Gosh S.K., Pal A., Kundu S., Nath S., y Pal T. **“Fluorescence Quenching of 1-Methylaminopyrene Near Gold Nanoparticles: Size Regime Dependence of the Small Metallic Particles”**. *Chem. Phys. Lett.* **395** (2007) 366-372.
- [78] Ver referencia [68].
- [79] <http://en.wikipedia.org/wiki/Fluorescein>. **“Fluorescein”**. Junio (2010).
- [80] Ver referencia [68].
- [81] Ver referencia [79].
- [82] Ver referencia [68].
- [83] <http://en.wikipedia.org/wiki/Rhodamine>. **“Rhodamine”**. Julio (2010).
- [84] [http://es.wikipedia.org/wiki/Dispersi3n\\_de\\_Rayleigh](http://es.wikipedia.org/wiki/Dispersi3n_de_Rayleigh). **“Dispersi3n de Rayleigh”**. Febrero (2010).
- [85] Clays K., Wostyn K, y Persoons A., **“Nonlinear Light Scattering by Organic Molecules and Materials”** *Adv. Funct. Mater.* **12** (2002) 557-563.
- [86] Ledoux, I., Zyss, J., **“Molecular Engineering of Molecules and Materials for Quadratic Nonlinear Optics”** *C. R. Phys.* **3** (2002) 407-427.

- [87] Ver referencia [27].
- [88] Ver referencia [84].
- [89] Ver referencia [85].
- [90] Russier-Antoine I., Huang J., Benichou E., Bachelier G., Jonin C., y Brevet P., ***“Hyper Rayleigh Scattering of Protein-Mediated Gold Nanoparticles Aggregates”*** Chem. Phys. Lett. **450** (2008) 345–349.
- [91] Ver referencia [25].
- [92] Ver referencia [40].
- [93] Ver referencia [27].
- [94] Johnson R., Li J., Hupp J., y Schatz G., ***“Hyper-Rayleigh Scattering Studies of Silver, Copper, and Platinum Nanoparticles Suspensions”***. Chem. Phys. Lett. **356** (2002) 534 - 540.
- [95] Ver referencia [10].
- [96] Ver referencia [27].
- [97] Ver referencia [10].
- [98] Ver referencia [90].
- [99] Rouillat M., Russier-Antoine I., Benichou E., Brevet P., ***“Resonant Hyper Rayleigh Scattering of Single and Aggregated Gold Nanoparticles”*** Analytical Science **17** (2001) i235-i238.
- [100] Galletto P., Brevet P., y Girault H., ***“Enhancement of the Second Harmonic Response by Adsorbates on Gold Colloids: The Effect of Aggregation”***. J. Phys. Chem. B **103** (1999) 8706-8710.
- [101] Vance F., Lemon B., y Hupp J., ***“Enormous Hyper-Rayleigh Scattering from Nanocrystalline Gold Particle Suspensions”***. J. Phys. Chem. B **102** (1998) 10091-10093.
- [102] Ver referencia [26].
- [103] Yamada K., Tokumoto Y., Nagata T., Mafuné F., ***“Mechanism of laser-induced size-reduction of gold nanoparticles as studied by nanosecond transient absorption spectroscopy”*** J. Phys. Chem. B., **110** (2006) 11751-11756.



- [104] Mafuné F., Kohno J., Takeda Y., y Kondow T., **“Formation and Size Control of Silver Nanoparticles by Laser Ablation in Aqueous Solution”**. J. Phys. Chem. **104** (2000) 9111-9117.
- [105] Ver referencia [59].
- [106] Takami A., Kurita H., y Koda S., **“Laser induced size reduction of noble metal particles in aqueous solutions”** J. Phys. Chem. B., **103** (1999) 1226-1232.
- [107] Tarenseko N., Butsen A., Nevar E., Savastenko N., **“Synthesis of nanosized particles during laser ablation of gold in water”**. Appl. Surf. Science, **252** (2006) 4439-4444.
- [108] Ver referencia [25].
- [109] Ver referencia [10].
- [110] Ver referencia [90].
- [111] Ver referencia [27].
- [112] (a) Ozin G. y Arsenault A. C., **“Nanochemistry: A chemical approach to Nanomaterials”**. RSC Publishing (2005).  
(b) Cao G., **“Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications”**. Imperial College Press (2004).
- [113] Kodaira T., Watanabe A., Osamu I., Matsuda M., Clays K., y Persoons A., **“Hyper-Rayleigh Scattering Studies of an Ionic Species Solvent Effect on Hyperpolarizability of 1-anilinonaphthalene-8-sulfonic Acid Ammonium Salt”**. J. Chem. Soc., Faraday Trans., **93** (1997) 3039 - 3044
- [114] Ver referencia [99].
- [115] Ver referencia [90].
- [116] Ver referencia [101].
- [117] Ver referencia [99].
- [118] Ver referencia [10].
- [119] Ver referencia [90].
- [120] Ver referencia [10].
- [121] Ver referencia [27].
- [122] Lakowicz R. J., **“Principles of Fluorescence Spectroscopy”. Cap. 9. “Quenching of Fluorescence”**. Libro publicado por Plenum Press, New York, (1983) 257-301.

[123] Lakowicz R. J., ***“Principles of Fluorescence Spectroscopy”***. **Cap. 1 “Introduction to Fluorescence” y Cap. 10 “Energy Transfer”**. Libro publicado por Plenum Press, New York, (1983) 1-17 y 303-339.

[124] Ver referencia [68]