Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ingeniería Química

Colegio de Ingeniería en Materiales

Crecimiento de nanopartículas de oro por el método de Turkevich-Frens y caracterización de sus propiedades ópticas

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

INGENIERO EN MATERIALES

Presenta

Mariana Colón Figueroa

Asesor

Dr. Umapada Pal

Febrero de 2015

BUAP

Oficio No. FIQ/AC/1131/2014
Asunto: Registro de Tema de Tesis

C. COLÓN FIGUEROA MARIANA
PASANTE
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN MATERIALES
PRESENTE:

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Materiales cuyo titulo es el siguiente:

"CRECIMIENTO DE NANOPARTÍCULAS DE ORO POR EL MÉTODO TURKEVICH-FRENS Y CARACTERIZACIÓN DE SUS PROPIEDADES ÓPTICAS"

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	**ANTECEDENTES**
CAPÍTULO 2	**METODOLOGÍA**
CAPÍTULO 3	**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA

Director de Tesis: Dr. Umapada Pal

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO.**

A t e n t a m e n t e
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., 6 de noviembre del 2014

M.I.C. MA. GPE. TITA VÁZQUEZ E. DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADÉMICA

C.c.p. Director de Tesis: Dr. Umapada Pal
Minutario Facultad de Ingeniería Química

Facultad de Ingeniería Química
Av. San Claudio s/N, Col. San Manuel, Ciudad Universitaria, Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00
Ext. 7250 y 7251

Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA

ASUNTO:
AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESIS

LIC. Ma. Cristina Laura Gómez Aguirre.
Directora de la Administración Escolar
De la BUAP.
Presente

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería en Materiales

Mariana Colón Figueroa

Quién presenta como tema de tesis:

Crecimiento de nanopartículas de oro por el método Turkevich-Frens y caracterización de sus propiedades ópticas.

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE
"Pensar Bien, para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., a 6 de Marzo de 2015

Director de Tesis
Dr. Umapada Pal

Agradecimientos

Al Dr. Umapada Pal, por la dirección de esta tesis, el apoyo y conocimiento brindado para realizar este trabajo. Al IFUAP, por haberme facilitado el acceso a las instalaciones e infraestructuras para desarrollar este trabajo. Al CUVyTT de la BUAP, por otorgarme una beca por medio del proyecto de innovacion (DITCo-2014-03) y a CONACyT, México por su apoyo financiero para la adquisición de materiales consumibles (proyecto # CB-2010-161767), sin cuales no se hubiera logrado terminar este trabajo.

Agradezco profundamente a mi mama, mis abuelos, tíos y primos sus consejos, cariño y apoyo incondicional, fundamentales en mi desarrollo personal y profesional.

A mis compañeros de carrera por su apoyo y amistad que fueron parte importante durante esa carrea, y a mis compañeros del Laboratorio de Nanoestructuras, IFUAP, por sus consejos durante el desarrollo de esta tesis.

A los miembros del comité revisor de esta tesis, Dr. Alejandro Escobedo Morales y Dra. Ma. De Lourdes Ruiz Peralta, por sus consejos para mejorar este trabajo.

Dedicatorias

A

Mi Mamá

Y

Mis Abuelos

Índice general

Introducción…..…… 1

Objetivo general…….. 2

Objetivo específico……. 3

Capítulo 1 Antecedentes..……..……... 4

1.1 Método de Turkevich……..… 6

1.1.1 Efecto de la razón molar de citrato a iones de oro…….…..... 7

1.1.2 Efecto del pH de la solución de reacción…….…… 9

1.2 Síntesis de nanopartículas de oro usando de semillas …….. 13

Capítulo 2 Síntesis de las nanopartículas de oro y técnicas de caracterización…….…. 15

2.1 Síntesis de NPs de Au variando la relación molar RM Cit:Au^{3+}……. 15

2.2 Síntesis de NPs de Au variando el pH……... 17

2.3 Crecimiento de NPs de Au utilizando semillas ……..…….. 19

2.4 Técnicas de caracterización……... 20

2.4.1 Microscopia Electrónica de Transmisión…….……... 21

2.4.2 Espectroscopia de absorción UV-Vis-NIR……. 22

2.5 Teoría de Mie……..... 23

2.5.1 Teoría de Mie para la estimación de tamaño…….. 25

Capítulo 3 Resultados y discusión…..……... 26

3.1 Caracterización de NPs de Au variando la R.M. Cit:Au^{3+}…….. 26

3.2 Caracterización de NPs de Au variando el pH…… 33

3.3 Caracterización de NPs de Au utilizando semillas…….. 41

3.4 Estabilidad de las NPs…… 48

Conclusiones…..…… 49

Referencias..…… 50

Índice de figuras

Fig. 1. Vaso de Licurgo, a) luz reflejada y b) luz transmitida……... 4

Fig. 2. Presentación esquemática del método de Turkevich para crecimiento de NPs de Au…… 6

Fig. 3 Ilustración esquemática de las dos vías de reacción para la síntesis de nanopartículas de oro…… 8

Fig. 4 Orden inverso de adicción de los reactivos en el método de Turkevich……. 8

Fig. 5. Mecanismo de reacción propuesto para medios ácidos, a) sustitución de ligando, b) reacción acido-base, c) conversión interna d) estado de transición……..……..… 12

Fig. 6. Fotografía del sistema utilizado para la preparación de nanopartículas de oro……... 16

Fig. 7. Fotografía de los coloides de nanopartículas de oro sintetizados a diferentes razones molares de Cit: Au^{3+}…..……..…… 17

Fig. 8. Fotografías de los coloides de nanopartículas de oro sintetizados variando el pH de la solución…….. 18

Fig. 9. Fotografía de los coloides de nanopartículas de oro crecidas a partir de semillas…….. 20

Fig. 10. Diagrama del haz de electrones en un microscopio electrónico de transmisión convencional…… 21

Fig. 11. Representación esquemática del origen de la resonancia de plasmón superficial debido a la interacción coherente de los electrones con la luz incidente…… 23

Fig. 12. Espectros de absorción de UV-Vis de las muestras coloidales preparadas a diferente RM de Cit:Au^{3+}..... 27

Fig. 13. Espectros de absorción experimental y sus ajustes teóricos de las muestras preparadas a diferente RMs de Cit:Au^{3+}..... 28

Fig. 14 Imagenes de micrografías TEM de las distintas muestras de NPs de Au preparadas a diferentes RMs Cit:Au^{3+}: a) A10, b) A20, c) A40 y d) A50..... 29

Figura 15. Histogramas de distribución de tamaño de las muestras a) A10, b) A20, c) A40 y d) A50..... 31

Figura 16. Espectros de absorción de UV-Vis de las muestras coloidales preparadas a diferente pH..... 34

Fig. 17. Espectros de absorción UV-Vis experimental y sus ajustes teóricos de las muestras, a) B1, sin ajuste de pH, b) B2, pH 5, c) B3, pH 6.5 y d) B4, pH 7.5..... 35

Fig. 18. Imágenes de TEM de las NPs de Au, a) B1, sin ajuste de pH, b) B2, pH 5, c) B3, pH 6.5, d) B4, pH 7.5 y e) B5, pH 9..... 37

Fig. 19. Histogramas de distribución de tamaño de las NPS de las muestras preparadas con diferentes valores del pH de la reacción: a) B1, sin ajuste de pH, b) B2, pH 5, c) B3, pH 6.5, d) B4, pH 7.5 y e) B5, pH 9.....40

Fig. 20. Espectros de absorción UV-Vis de las muestras preparadas por crecimiento de semillas. Se utilizó la muestra B3 como semilla para el paso 1 y la muestra obtenida en este paso se utilizó como semilla para el siguiente paso.... 42

Fig. 21. Imagen de las suspensiones coloidales preparadas con semillas: a) CS3 luz transmitida, b) CS3 luz reflejada, c) CS4 luz transmitida y CS4 luz reflejada.. 43

Fig. 22. Espectros de absorción experimental y sus ajustes teóricos de las muestras ocupando semillas, a) CS1, b) CS2, c) CS3 y d) CS4..... 44

Fig. 23. Imágenes de TEM del crecimiento de las NPs de Au preparadas usando semillas, a) CS1, b) CS2, c) CS3 y d) CS4…… 46

Fig. 24 Histogramas de distribución de tamaño de las muestras a) CS1, b) CS2, c) CS3 y d) CS4…… 47

Índice de tablas

Tabla 1. Estructuras dominantes del complejo áurico y del ion citrato a diferentes valores de pH…….. 10

Tabla 2. Parámetros experimentales utilizados para la preparación de la serie con diferente RM de Cit:Au^{3+}..…… 16

Tabla 3. Parámetros experimentales utilizados para la preparación de las muestras a diferentes valores de pH..……... 18

Tabla 4. Parámetros experimentales utilizados para el aumento del tamaño de nanopartícula utilizando semillas..……. 20

Tabla 5. Tamaño promedio y su desviación estándar estimados por el ajuste teórico a los espectros experimentales de las NPs de Au crecidas a diferentes RMs…….29

Tabla 6. Comparación entre el tamaño obtenido por el ajuste teórico y el experimental por TEM de las muestras a diferente RMs de Cit:Au^{3+}……..…….. 33

Tabla 7. Tamaño promedio y su desviación estándar para las NPs de Au preparadas a diferentes pHs de la solución de reacción……..……. 36

Tabla 8. Comparación entre el tamaño obtenido por el ajuste teórico y el experimental de las muestras a diferente pH…….. 41

Tabla 9. Tamaño promedio de las NPs de Au en las muestras crecidas utilizando semilla por ajuste teórico de sus espectros de absorción maños teóricos de las NPs de Au a diferente RM……..……... 45

Introducción

La nanotecnología se centra en el estudio, diseño y manipulación de los materiales con dimensiones en escala nanométrica (1 nm = $1x10^{-9}$ m). El interés por los materiales nanométricos radica en sus propiedades únicas y novedosas en comparación con los materiales en bulto. Estas propiedades se modifican según su tamaño, morfología y composición, lo que permite diseñarlos para aplicaciones específicas. Los nanomateriales se pueden clasificar en cuatro tipos, dependiendo del número de dimensiones que se encuentren en escala nanométrica: cero dimensionales (0D), cuando sus tres dimensiones se encuentran el rango nanométrico, como las nanopartículas; uno dimensionales (1D), cuando dos de sus dimensiones presentan en escala nanométrica, como los nanotubos, nanovarillas y nanoalambres; dos dimensionales (2D), cuando solo una de sus dimensiones se presenta en escala nanométrica, como el caso de las películas delgadas, superredes, etc.; y los tres dimensionales (3D), son los nanocompuestos apreciables en todas de sus dimensiones, pero que contienen por lo menos una fase en escala nanométrica [1].

En particular, los científicos muestran gran interés en fabricar y estudiar nanopartículas (NPs) metálicas debido a que presentan propiedades mecánicas, eléctricas, magnéticas, químicas, y principalmente ópticas adecuadas para una variedad de aplicaciones, además de que son fáciles de fabricar y modificar químicamente [2,3].

El interés en el estudio de las propiedades ópticas de las NPs metálicas se debe a la oscilación colectiva de los electrones libres (plasmón) en la superficie del metal provocada por la interacción con la radiación electromagnética incidente de una frecuencia característica, gracias a la cual las NPs metálicas, llamadas también NPs plasmónicas, pueden dispersar o absorber esta radiación. Debido a la fuerte dispersión y absorción de la radiación electromagnética, las NPs

metálicas, como las de oro (Au), tienen un potencial para diversas aplicaciones, tales como imagen molecular [4], foto-diagnóstico [5] y terapia foto-térmica selectiva [6]. Sin embargo, para utilizar NPs de oro en estas aplicaciones, es importante tener un control preciso de su tamaño, con una baja dispersión de tamaño, debido a que las nanopartículas de tamaño pequeño presentan absorción de la luz, en tanto que las nanopartículas grandes favorecen una fuerte dispersión de la luz junto con la absorción [7].

A pesar de que se han reportado varias técnicas físicas y químicas para la síntesis de nanopartículas plasmónicas [8], aún no se ha entendido por completo el mecanismo asociado al control de su tamaño, dispersión y morfología; otra cuestión a considerar es que se requiere de NPs de una alta estabilidad y baja toxicidad.

Con base en lo anterior, en este trabajo de tesis se pretende sintetizar nanopartículas de oro de diferentes tamaños con baja dispersión, utilizando el método de reducción por citrato; además se propone crecer NPs de Au de mayor tamaño utilizando NPs de oro antes crecidas como semilla. La forma y tamaño de las semillas de oro se controlarán mediante la variación de la relación molar (RM) del reductor con respecto al precursor de oro y la variación del pH de la solución de reacción.

Objetivo general

- Sintetizar nanopartículas de oro utilizando el método Turkevich-Frens controlando el proceso de crecimiento para obtener nanopartículas de oro de distintos tamaños a partir del uso de semillas.

Objetivos específicos

- Aplicar el método Turkevich-Frens modificado como procedimiento para el crecimiento de semillas de NPs de Au.
- Aplicar el método de Turkevich-Frens variando el pH de la solución de reacción para crecer las semillas de NPs de Au.
- Crecer NPs de Au de mayores tamaños utilizando semillas de Au prefabricadas.
- Estudio de las propiedades ópticas de las NPs de Au sintetizadas por la técnica de espectroscopia de absorción óptica UV-Vis.
- Determinar el tamaño promedio y dispersión de tamaño de las nanoparticulas sintetizadas por microscopia electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés, *transmission electron microscopy*) y el ajuste teórico de Mie a partir de los espectros de absorción.

Capítulo 1 Antecedentes

Pese a que el estudio de las nanopartículas de oro alcanzó un mayor interés en las últimas décadas, hay antecedentes que el uso de nanopartículas de oro se remonta al siglo V a.C. en Egipto y en China, donde se explotaban sus propiedades curativas y estéticas para teñir la porcelana [9]. Sin embargo fue un siglo después cuando los romanos le dieron mayor importancia a sus propiedades ópticas en la coloración de vidrio y cerámica. Un ejemplo es la copa de Licurgo (Fig. 1), que sorprende debido al cambio de coloración que presenta según su interacción con la luz: cuando se refleja la luz sobre la copa, presenta una tonalidad verdosa, mientras que si la luz es transmitida se observa un color rojo brillante; esto se debe a una mezcla de nanopartículas de oro y plata en una matriz de vidrio [9].

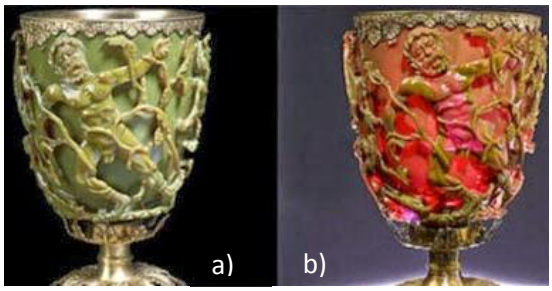

Fig. 1. Vaso de Licurgo en a) luz reflejada y b) luz transmitida.

Al paso de los siglos se hallan más antecedentes del uso de nanopartículas de oro como coloide para diferentes aplicaciones, principalmente medicinales, pero en el año de 1857 cuando Michael Faraday realizó la primera síntesis de una suspensión de nanopartículas de oro a partir de la reducción de una sal de oro con fósforo en bisulfato de carbono. Con este estudio, Faraday concluyó que el característico color del coloide se debe al tamaño que presentaban las partículas de oro [10].

Desde el trabajo pionero de Faraday, se han reportado distintas rutas de síntesis de NPs de Au como la condensación de vapores metálicos en disolventes [11], o la descomposición térmica de los compuestos metálicos suspendidos en líquidos [8], por mencionar algunos. Estos procesos implican la reducción del compuesto de oro en medio acuoso o no acuoso. Por esta razón es importante el uso de un agente reductor adecuado para la producción de las NPs de Au, ya que algunos de éstos pueden desempeñar múltiples funciones durante la síntesis de las nanopartículas, como reductor, estabilizador o modificador del pH, que impactan en las características del producto final. Algunos de los agentes reductores más utilizados son: borohidruros, ácidos orgánicos, aldehídos, alcoholes, azúcares y aminas [12].

Pese a que se cuenta con muchos reportes de la síntesis de NPs de Au con estos agentes reductores, solo en algunos de ellos se ha analizado en detalle el proceso de formación, y por lo tanto, no se conoce completamente qué efectos tiene en las NPs de Au el cambio en las variables más relevantes, tales como la concentración de los reactivos, la temperatura, el pH o el orden de adición de los precursores.

Uno de los métodos más ampliamente utilizados y estudiados para entender el proceso de formación de NPs de Au es el método propuesto por Turkevich [13], que usa como reductor el citrato de sodio, agente que no es tóxico, para aplicaciones biológicas; además este procedimiento es sencillo para producir NPs de Au con una alta estabilidad por la adsorción de iones de citrato, que pueden ser intercambiados con otros ligandos con mayor afinidad al oro para su uso en determinadas aplicaciones.

1.1 Método de Turkevich

El método más usado para la síntesis de nanopartículas de oro es el propuesto por Turkevich en 1951 [13], el cual se lleva a cabo a partir de la reducción de ácido cloroáurico ($HAuCl_4$) a 80ºC por medio de la adición de citrato de sodio ($Na_3C_6H_5O_7$) (Fig. 2). Turkevich reportó la fabricación de NPs de Au con un diámetro promedio entre 10 a 20 nm y con una distribución de tamaño del 10%. Turkevich propone un proceso de nucleación en el cual el agente reductor y los iones de oro forman macromoléculas que, en alguna etapa de la reacción, sufren un arreglo molecular para producir partículas de oro metálico acompañado de subproductos; sin embargo, este mecanismo no es convincente. Frens [14] demostró que se pueden obtener nanopartículas de diferentes diámetros, entre 10 y 150 nm utilizando el método que propuso Turkevich, pero variando la concentración (únicamente) del citrato de sodio. Sin embargo, no explicó con precisión la reacción que ocurre durante la síntesis, ni cómo se comportan los reactivos.

Fig. 2. Presentación esquemática del método de Turkevich para crecimiento de NPs de Au.

Desde entonces, se han propuesto variantes en el protocolo experimental, como el cambio de la relación molar (RM) de citrato de sodio con la sal de oro ($Cit:Au^{3+}$) [15]; el control del pH de la solución de reacción [16]; el cambio en la secuencia de adición de los reactivos [17], entre otros, y se ha estudiado cómo

estos cambios en los parámetros afectan la síntesis de NPs de Au, observándose que el parámetro clave en el proceso de reducción es el pH. Esto se debe a que afecta la estructura molecular del citrato y del complejo de oro y por lo tanto modifican la reacción de reducción, y los procesos de nucleación y crecimiento, influyendo en la distribución final del tamaño de partícula.

1.1.1 Efecto de la razón molar de citrato con iones de oro.

En los distintos estudios acerca del proceso de formación de NPs de Au se ha observado que el citrato de sodio cumple un triple propósito: agente reductor, estabilizador y mediador de pH [18]. Ello se debe a que el aumento en la concentración de citrato de sodio, al ser una base débil que no se disocia completamente cambia el pH de la solución, generando cambios en el potencial de reducción de los compuestos, que afecta el proceso de nucleación y crecimiento.

El principal cambio que se observa al variar la razón molar entre el citrato y el precursor de oro es en el proceso de formación de las NPs de Au, el cual consta de dos puntos de transformación [3] conforme la concentración de citrato aumenta; el primero se encuentra a bajas concentraciones de citrato, por lo que mantiene el pH de la solución ácido, de esa manera el mecanismo de crecimiento de las NPs consta de tres pasos: i) nucleación, ii) agregación aleatoria resultando en la formación de nanoalambres y iii) madurez intrapartícula de los nanoalambres resultando en la formación de las nanopartículas ovaladas; el segundo cambio se observa cuando se usan altas concentraciones de citrato [15] y el pH de la solución cambia a pH básico; a pH mayores a 6.5, el proceso de crecimiento de las NPs es consistente con el de nucleación-crecimiento propuesto por Lamer [19]; estos procesos de crecimiento se muestran en la Fig. 3.

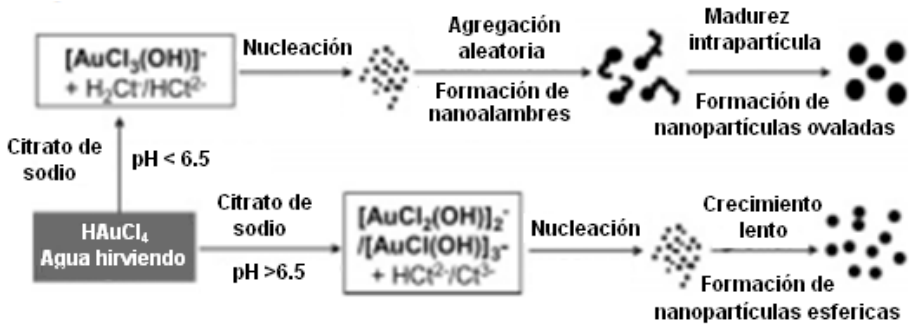

Fig. 3. Ilustración esquemática de las dos vías de reacción para la síntesis de nanopartículas de oro.

La variación en la RM de Cit:Au^{3+} cambia el tamaño final de partícula así como su morfología; conforme se aumente la RM de Cit:Au^{3+}, el tamaño de las NPs disminuye y se observan partículas cuasi esféricas [18].

Estudios recientes han encontrado que al variar la concentración de citrato y el orden de adición de los reactivos se produce una disminución en el tamaño promedio de las NPs, entre 5 y 10 nm, con una baja dispersión de tamaño y mejor control sobre el tamaño y morfología de las NPs de Au, es decir, la adición de la sal de oro a una solución hirviendo de citrato de sodio, como se muestra en la Fig. 4.

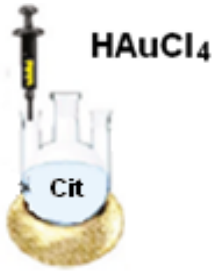

Fig. 4. Orden inverso de adición de los reactivos en el método de Turkevich.

El efecto favorable que presenta invertir el orden de adición de los reactivos se debe a que el citrato sufre una oxidación parcial al ser calentado, generando los iones de dicarboxíl acetona, que es mejor reductor del complejo de oro en comparación con el citrato. La mezcla de ambos reactivos, el citrato y el ion

dicarboxíl acetona en la solución aumentan la tasa de nucleación lo que disminuye el tamaño y la dispersión de las NPs de Au.

1.1.2 Efecto del pH de la solución de reacción.

El cambio en el pH de la solución de reacción tiene un efecto drástico en la morfología, el tamaño y la dispersión de las nanopartículas, esto se da como consecuencia de usar como agente reductor y estabilizador una base débil, como el citrato de sodio en el método de Turkevich.

El pH de la solución desempeña un papel importante en la síntesis de NPs, ya que al variar el pH del sistema de reacción, los reactivos sufren un cambio estructural que modifica su reactividad.

El cambio en la estructura molecular se considera el primer efecto del pH sobre el ligando libre de la estructura molecular que puede formar un enlace; en el caso de pH ácidos menores a 6.5, la molécula que sufre un mayor cambio es la del citrato, debido a que el ácido cloroáurico, al disociarse en un medio acuoso, libera un protón (H^+) que es aceptado por el ion citrato. La protonación del citrato está en función del pH de la solución y la saturación de protones en la solución. En caso contrario, si el pH de la solución es neutro o básico por la adición de una base como hidróxido de sodio (NaOH), se observa una neutralización de la acidez de la solución con ácido cloroáurico, lo cual conduce a la formación de un complejo de oro distinto, que contiene como ligandos al OH^-, como resultado de la sustitución gradual del cloro y sigue la ecuación 1 [12].

$$[AuCl_x(OH)_{4-x}]^- + OH^- \rightarrow [AuCl_{x-1}(OH)_{5-x}]^- + Cl^- \qquad (1)$$

De esta manera se han determinado las especies dominantes según las condiciones de pH y las constantes de equilibrio de los reactivos, variando los potenciales redox de ambas moléculas. En la Tabla 1 se presentan las especies

dominantes de ambos reactivos según el pH del medio. Se observa que, a condiciones ácidas, el complejo áurico no sufre un cambio en su estructura molecular, en tanto el ion citrato sufre una protonación de sus tres grupos carboxílicos. Si el pH del medio aumenta a valores intermedios entre 6.5 y 7.5, se observa un cambio en la estructura del complejo cloroáurico, al sufrir la sustitución de dos de sus ligantes de Cl^- por dos de OH^- y el citrato sufre sólo la protonación de uno de sus grupos carboxílicos. A pH básico, se observa que la molécula del complejo de oro sufre la sustitución de sus cuatro Cl^- por OH^- y el citrato no sufre la protonación de sus grupos carboxílicos [20].

Tabla 1. Estructuras dominantes del complejo áurico y del ion citrato a diferentes valores de pH, [20].

Rangos de pH	Estructura del citrato	Estructura áurica
< 3.1	$C_6H_8O_7$	$[AuCl_4]^-$
3.1-4.8	$[C_6H_7O_7]^-$	$[AuCl_4]^-$
4.8-5.4	$[C_6H_6O_7]^{2-}$	$[AuCl_4]^-$
5.4-6.4	$[C_6H_6O_7]^{2-}$	$[AuCl_3OH]^-$
6.5-7.5	$[C_6H_5O_7]^{3-}$	$[AuCl_2(OH)_2]^-$
7.6-8.3	$[C_6H_5O_7]^{3-}$	$[AuCl(OH)_3]^-$
>8.3	$[C_6H_5O_7]^{3-}$	$[Au(OH)_4]^-$

Estos cambios en los potenciales redox y en la estructura de la molécula llevan a variaciones en el mecanismo de reacción durante la síntesis de NPs de Au por el método de Turkevich.

Diversos estudios han propuesto mecanismos de reacción de acuerdo al pH del medio, sin embargo, estos mecanismos pueden explicarse de manera general como un proceso que consta de cuatro pasos para la reacción, que son:

i. **Cambio de ligando:** el primer paso consiste en la sustitución de un Cl^- del complejo de oro por un grupo carboxílico de la molécula de citrato (Fig. 5 a); este proceso no se ve alterado por el cambio en el pH de la solución.

ii. **Reacción ácido-base:** este paso se observa cuando el segundo grupo más ácido en la molécula del citrato sufre una desprotonación (Fig. 5 b)**,** esto sucede a través de una reacción ácido-base, ya que la coordinación con el átomo de metal cambia las propiedades ácido-base del grupo carboxílico. Este proceso sucede cuando la reacción se lleva a cabo en medios ácidos; en medio básicos y neutros, este grupo ya se encuentra desprotonado.

iii. **Conversión interna:** el siguiente paso es la conversión interna para la coordinación del ligando de citrato con el complejo de oro, en el cual se produce la sustitución de un ligando del grupo carboxílico del paso uno por uno del grupo hidroxilo de la molécula de citrato, lo que genera un complejo de oro pentacoordinado, que mediante un rápido proceso de equilibrio, forma un complejo de oro tetracoordinado como se muestra en la Fig. 5 c.

iv. **Estado de transición:** por último, antes de la formación de las nanopartículas, se observa un estado de transición, donde se genera la oxidación del citrato al ion dicarboxíl acetona [20], el cual forma un complejo polimolecular junto con las moléculas del complejo auroso (Au (I)) [21], llevando a la localización de altas concentraciones de oro Au (I) y que permite la transferencia de electrones a través de la desprotonación del Au(I) a oro metálico (Au(0)) y el complejo áurico (Au(III)), como se puede observar en la Fig. 5 d.

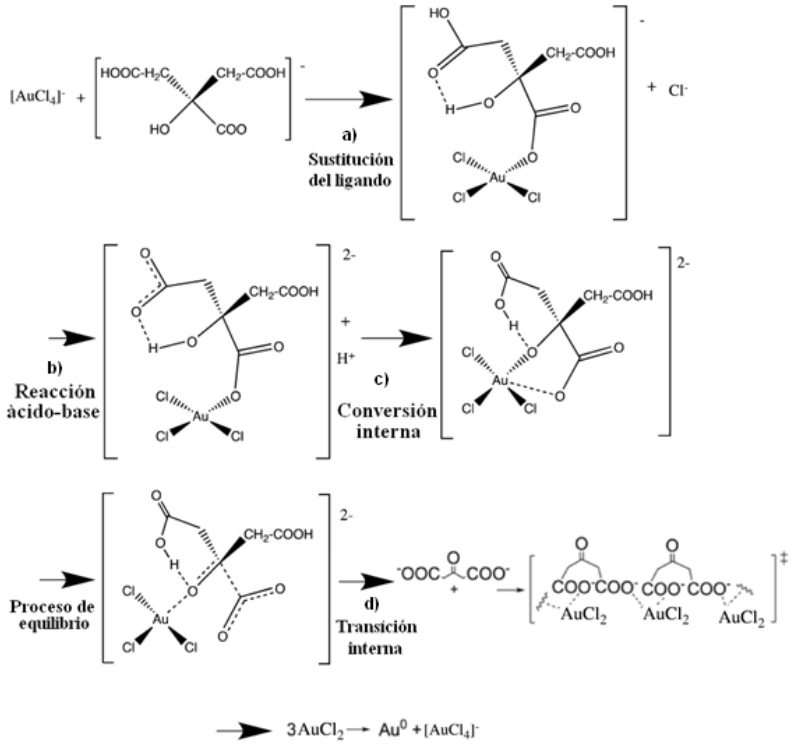

Fig. 5 Mecanismo de reacción propuesto para medios ácidos, a) sustitución de ligando, b) reacción ácido-base, c) conversión interna d) estado de transición. [18, 20]

A partir de esta sobresaturación de átomos de oro se produce el proceso de nucleación y posteriormente el de crecimiento para formar nanopartículas de oro. El pH de la solución afecta los procesos: modifica su velocidad de nucleación y crecimiento lo cual a su vez genera partículas con una alta dispersión de tamaño y una morfología no homogénea, debido a que el cambio en la carga del ion de citrato afecta su capacidad de estabilizar las NPs; se pueden obtener nanopartículas poliédricas a pH bajo (menores a 5); partículas cuasi-esféricas a pH altos (mayores a 6) y nanopartículas elípticas a pH entre 5 y 6 [16].

1.2 Síntesis de nanopartículas de oro utilizando semillas

Para la síntesis de NPs de oro de tamaños mayores a 50 nm se ha encontrado una manera versátil con el uso de semillas. Este procedimiento permite un mayor control en la cinética de reacción para obtener la morfología y tamaño deseados.

El proceso típico de crecimiento usando semillas se realiza empleando nanopartículas previamente formadas (semillas), posteriormente se diluyen las semillas en una solución de crecimiento con la adición del precursor metálico, agentes de reducción, y tensoactivos [22], para iniciar el crecimiento en la semilla y evitar la nucleación secundaria, es decir, la formación de nuevas nanopartículas. Para ello es necesario controlar las variables más importantes de la síntesis: la relación entre la semilla y el precursor metálico, la concentración del reductor y la temperatura de reacción [23].

Otro aspecto importante a controlar es la velocidad a la que se agregan los reactivos, ya que de este factor dependerá la forma en que el precursor metálico reaccione con la solución: si se agrega lentamente, es muy probable que se observe la maduración de Ostwald donde las partículas de menor tamaño se disuelven y se depositan para formar una partícula de mayor tamaño [24]; si la velocidad de agregación es muy rápida, no se podrá evitar la nucleación secundaria, sin embargo, a una velocidad moderada se observa un incremento en el diámetro de la semilla y se impide la formación de nuevas partículas [24].

Revisando lo anterior y con modificaciones a los protocolos propuestos en la literatura, este trabajo muestra cómo se crecieron NPs de oro en el rango de tamaño de 5-80 nm. El proceso consta de dos etapas: la primera es la síntesis de las semillas de Au variando la razón molar del citrato a iones de oro (Au^{3+}) y el pH de la solución; la segunda etapa consiste en el crecimiento de las NPs utilizando las semillas fabricadas anteriormente. Para la segunda etapa, se escogieron las NPs de Au (semillas) con una morfología más homogénea y con menor dispersión de tamaño. Para incrementar el tamaño de estas partículas se mantuvo una

relación fija entre la concentración de semillas y la cantidad de iones de oro agregados, así como la relación entre el citrato y los iones de oro.

Capítulo 2 Síntesis de nanopartículas de oro y técnicas de caracterización

En este capítulo se describen los procesos de síntesis de las nanopartículas de oro usados para modificar su tamaño utilizando el método Turkevich-Frens. Para fabricar NPs de Au de diferentes tamaños se utilizaron semillas, se prepararon diferentes muestras a diferentes concentraciones del citrato de sodio y a diferentes valores de pH de la solución de reacción. Por último, para aumentar el tamaño de las nanopartículas empleadas como semillas, se utilizó el proceso a altas concentraciones de citrato de sodio. Posteriormente se expondrán los principios básicos de las técnicas utilizadas para la caracterización de las muestras preparadas en esta investigación.

2.1 Síntesis de NPs de Au variando la relación molar (RM) de Cit:Au^{3+}

El método utilizado para obtener un tamaño controlado de nanopartícula es el propuesto por Jiménez y colaboradores [25], que consistente en invertir el orden de adición de los reactivos y aumentar la concentración del agente reductor, que según reportan lleva a la obtención de NPs de Au con un tamaño controlado y una baja distribución de tamaño.

Para la síntesis de las nanopartículas de oro a diferentes RM de Cit:Au^{3+}, se calentaron 50 ml de una solución acuosa de citrato de sodio a diferentes concentraciones (1, 2, 4 y 5 mM) hasta alcanzar una temperatura de 95°C, la cual se mantuvo durante 30 minutos con agitación vigorosa utilizando un refrigerante para evitar la evaporación del disolvente (Fig. 6). Posteriormente se agregó 1 ml de una solución acuosa de $HAuCl_4$ de 25 mM, dejándolo reaccionar durante 30

minutos más. Todos los materiales se limpiaron en una solución de agua regia ($HCl:HNO_3$ a 3:1), y se lavaron con H_2O desionizada antes de su utilización.

Fig. 6. Fotografía del sistema utilizado para la preparación de nanopartículas de oro.

Finalmente, se dejó enfriar la solución coloidal hasta temperatura ambiente y se almacenó en refrigeración. En la tabla 2 se presentan los parámetros del crecimiento utilizados en las distintas muestras, así como la nomenclatura que se emplea a lo largo del texto para su identificación

Tabla 2. Parámetros experimentales utilizados para la preparación de la serie con diferente RM de $Cit:Au^{3+}$.

Nombre de la muestra	Concentración del citrato (50 ml)	Concentración de los iones Au^{3+} (1 ml)	Razón molar (RM) ($Cit:Au^{3+}$)	Temperatura de reacción
A10	1 mM	25 mM	2:1	95°C
A20	2 mM	25 mM	4:1	95°C
A40	4 mM	25 mM	8:1	95°C
A50	5 mM	25 mM	10:1	95°C

En la Fig. 7 se ilustran las muestras coloidales de oro preparadas en las cuales no se aprecia un cambio significativo del color para las muestras A10-A40 a

pesar del incremento de la concentración del citrato. Sin embargo, sí se ve un ligero cambio en el color de la muestra A50.

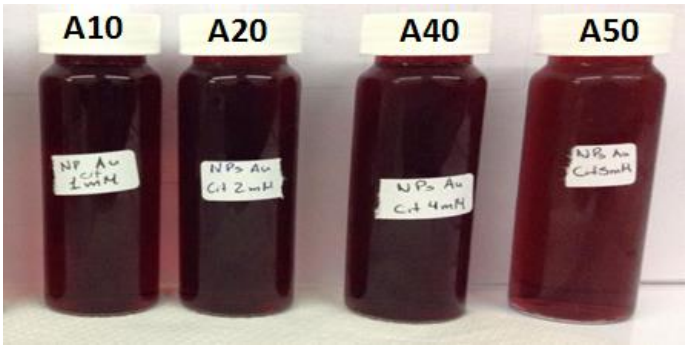

Fig. 7. Fotografía de los coloides de nanopartículas de oro sintetizados a diferentes razones molares de Cit:Au^{3+}.

2.2 Síntesis de NPs de Au variando el pH

Patungwasa [16] ha reportado que el pH del medio modifica la morfología de las NPs de Au, así como su tamaño y distribución, por esta razón se decidió que las muestras se prepararan con pH ácido (pH 3 y 5), pH casi neutro (pH 6.5 y 7.5) y pH básico (pH 9) para observar cómo afecta esto a las características de las nanopartículas finales.

Para la síntesis de coloides de oro variando el pH de la solución se utilizaron 50 ml de agua a la cual se le agregó 1 ml de iones de Au^{3+} (25 mM) y se ajustó el pH utilizando hidróxido de sodio (1.0 M). Se calentó la solución hasta alcanzar una temperatura de 95-100°C, bajo agitación vigorosa y un sistema de reflujo para evitar la evaporación del disolvente. Posteriormente se agregaron 3 ml de una solución acuosa de citrato de sodio (17 mM) para mantener una RM 2:1 de Cit:Au^{3+}. La reacción se mantuvo a la temperatura de ebullición durante 30 minutos. Por último, se dejó enfriar libremente la solución coloidal obtenida hasta temperatura ambiente y se almacenó en refrigeración. En la tabla 3 se presentan

los parámetros utilizados para el crecimiento de las distintas muestras, así como la nomenclatura que se emplea a lo largo del texto para su identificación.

Tabla 3. Parámetros experimentales utilizados para la preparación de las muestras a diferentes valores del pH.

Nombre de la muestra	pH de la solución	RM (Cit:Au^{3+})	Temperatura ºC
B1	3.1*	2:1	100
B2	4.93	2:1	100
B3	6.55	2:1	100
B4	7.30	2:1	100
B5	9.22	2:1	100

*Sin ajustar el pH.

En la Fig. 8, se muestra la fotografía de las NPs a las que se le cambio el pH, en las cuales se observa un cambio significativo en el color a pH básico, sin embargo, a pH ácido y casi neutro, sólo se aprecia un cambio sutil en el color.

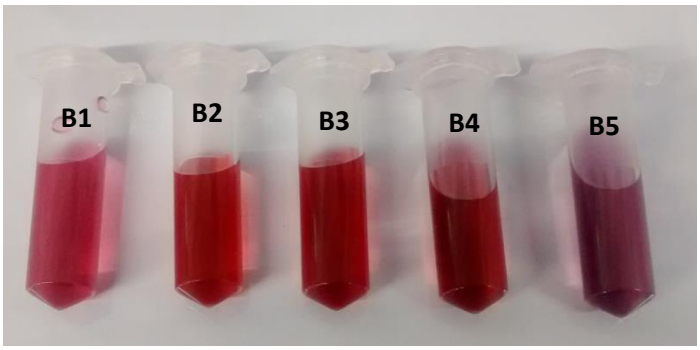

Fig. 8. Fotografías de los coloides de nanopartículas de oro sintetizados variando el pH de la solución.

2.3 Crecimiento de NPs de Au utilizando semillas

Un estudio reciente realizado por Bastús demostró que se pueden obtener nanopartículas cuasi esféricas con una estrecha distribución de tamaño hasta de 200 nm controlando la concentración de semillas con respecto al precursor de oro y la concentración del agente reductor [26].

En este trabajo, para la síntesis NPs de oro usando semillas, se emplearon 10 ml de la solución que contiene las semillas, a la cual se agregó H_2O para alcanzar un volumen total de 47 ml aprox. Se calentó la solución hasta alcanzar una temperatura de 80°C, con agitación vigorosa y un sistema de reflujo para evitar la evaporación del disolvente. Posteriormente se agregaron 2 ml de una solución acuosa de citrato de sodio (17 mM) para mantener una RM 3:1 de Cit:Au^{3+} y finalmente se agregó a velocidad media 0.4 ml de una solución acuosa de Au^{3+} (25 mM) y una relación de precursor metálico a semilla de (Au^{3+}:Semilla) 2:1.

Las nanopartículas de Au obtenidas se usaron como nuevas semillas para el siguiente crecimiento, y este procedimiento se repitió en tres ocasiones más variando la RM de 5:1 para el segundo crecimiento y 7:1 para el tercer y cuarto crecimiento de Cit:Au^{3+} y la relación de 3:1 de Au^{3+}:Semilla para todas las reacciones.

En cada síntesis, se dejó enfriar libremente la solución de nanopartículas hasta temperatura ambiente y se almacenó en refrigeración. En la tabla 4 se presentan los parámetros de crecimiento utilizados en las distintas muestras, así como la nomenclatura que se emplea a lo largo del texto para su identificación.

Tabla 4. Parámetros experimentales utilizados para el aumento del tamaño de nanopartícula utilizando semillas.

Nombre de la muestra	Semilla	Semilla (ml)	H_2O (ml)	Cit. (ml)	Au^{3+} (ml)	Au^{3+}:Semilla	Cit:Au^{3+}
CS1	B2 pH 6.5	10	37.85	1.76	0.4	2:1	3:1
CS2	CS1	10	36.99	2.65	0.36	3:1	5:1
CS3	CS2	10	36.74	2.96	0.3	3:1	7:1
CS4	CS3	10	37.4	2.4	0.2	3:1	7:1

En la Fig. 9 se exponen las muestras, en las que se observa un cambio significativo en el color, lo cual posiblemente indica un cambio en el diámetro de las NPs de Au.

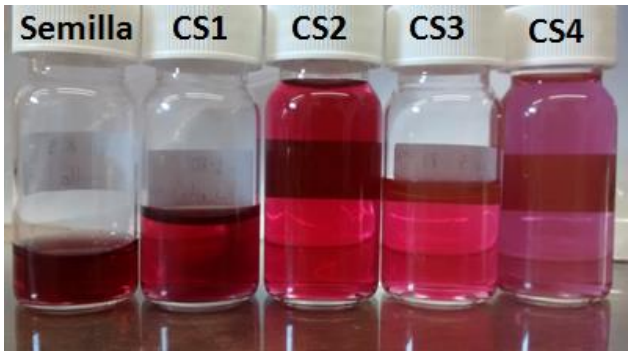

Fig. 9. Fotografía de los coloides de nanopartículas de oro crecidas a partir de semillas.

2.4 Técnicas de caracterización

En este apartado se presentan los principios y detalles de las técnicas de caracterización. Para el estudio de la morfología y tamaño de las NPs de Au se usó microscopia electrónica de transmisión. Para el estudio de las propiedades ópticas, se utilizó espectroscopia de absorción ultravioleta-visible-infrarrojo (UV-Vis-NIR) cercano, y para estimar el tamaño promedio de las partículas se empleó el ajuste teórico de Mie.

2.4.1 Microscopia Electrónica de Transmisión

La microscopia electrónica de transmisión (TEM por sus siglas en inglés, *transmission electron microscopy*) es una de las principales herramientas para estudiar la microestructura interna de los materiales a escala nanométrica, pues se obtienen imágenes con resoluciones de unos cuantos nanómetros en regiones específicas de la muestra analizada [27]. Esta técnica brinda información acerca del tamaño, la morfología y la estructura cristalina de los materiales, incluso la presencia de defectos como dislocaciones o impurezas.

El microscopio electrónico de transmisión es un instrumento que utiliza un haz de electrones acelerados para irradiar una muestra por una de sus caras, generando una imagen que se forma por los electrones que se transmiten por la cara contraria, es decir, las imágenes se forman por medio de los electrones que atraviesan la muestra [28].

Los electrones provenientes de una fuente (cañón de electrones), penetran en la muestra, se dispersan al pasar a través de ella y se enfocan con una lente objetivo a un plano focal; posteriormente se amplifican por una lente proyectora y finalmente se produce la imagen (Fig. 10).

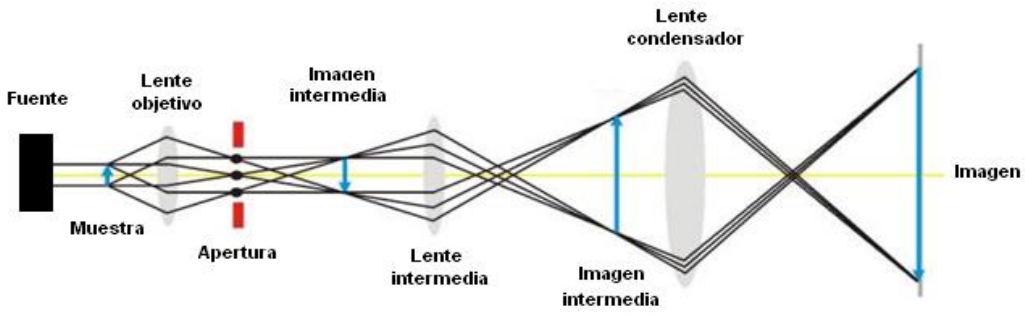

Fig. 10. Diagrama del haz de electrones en un microscopio electrónico de transmisión convencional.

En un microscopio electrónico de transmisión convencional, las imágenes de las muestras se obtienen mediante la manipulación de los patrones SAED (área seleccionada de difracción de electrones) a través de la lente de proyección; el efecto obtenido es análogo a una transformada de Fourier del patrón SAED.

La TEM posee una importante ventaja por su capacidad de resolución en comparación con la microscopia electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), ya que puede alcanzar hasta 1 Å.

En este trabajo, para el estudio de la morfología de las NP's de Au se utilizó un microscopio de electrones de emisión de campo JEOL JEM-1200F. Las muestras se analizaron dispersando una gota del coloide de oro sobre una rejilla de cobre cubierta con carbón utilizando un voltaje de aceleración de 200 kV.

2.4.2 Espectroscopia de absorción UV-Vis-NIR

La espectroscopia de absorción UV-Vis-NIR consiste en la medición de la atenuación de un haz de luz después de pasar a través de una muestra o después de la reflexión de una muestra sobre su superficie [29] en el rango del ultravioleta al infrarrojo cercano. Por lo tanto, esta técnica espectroscópica es útil para la exploración de las propiedades ópticas de los materiales y se utiliza con frecuencia para caracterizar nanopartículas plasmónicas [30].

El efecto físico de la absorción de la luz por las nanopartículas metálicas en los líquidos es la oscilación coherente de los electrones en respuesta a su interacción con el campo electromagnético (Fig. 11) y es conocida como Resonancia de plasmones de superficie (RPS). Este fenómeno óptico depende principalmente de factores como el tipo de metal, el tamaño y la forma de las NPs, el medio circundante y la sustancia adsorbida en la superficie.

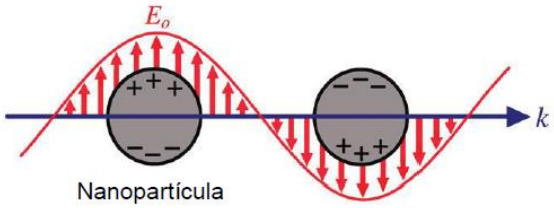

Fig. 11. Representación esquemática del origen de la resonancia de plasmón superficial debida a la interacción coherente de los electrones con la luz incidente.

Los espectros de absorción óptica proporcionan información sobre el tamaño promedio de las NPs, por lo general, si el tamaño de partícula decrece, la longitud de onda máxima λ_{max} de la banda de absorción se desplaza a longitudes de onda más cortas, y si el tamaño aumenta, la longitud de onda máxima se desplaza a longitudes de onda mayores y se observa la aparición de hombros.

Los espectros de absorción UV-Vis de los coloides de oro se realizaron con un espectrofotómetro Shimadzu UV-3101PC, de doble haz en el intervalo de 200-800 nm.

2.5 Teoría de Mie

Gustav Mie, en 1908 [31], propone una solución analítica de las ecuaciones de Maxwell para la dispersión de onda electromagnéticas en partículas esféricas:

$$\nabla \cdot D(r,t) = \rho_i(r,t) \qquad (2)$$

$$\mathrm{E} = -\frac{\partial \mathrm{B}}{\partial \mathrm{t}} \qquad (3)$$

$$\nabla \cdot \mathrm{B}(\mathrm{r},\mathrm{t}) = 0 \qquad (4)$$

$$\nabla \mathrm{x} \mathrm{H}(\mathrm{r},\mathrm{t}) = \mathrm{J_i}(\mathrm{r},\mathrm{t}) + \frac{\partial \mathrm{D}(\mathrm{r},\mathrm{t})}{\partial \mathrm{t}} \qquad (5)$$

Siendo ρ_i *y* J_i las densidades de carga y corriente asociadas a los electrones libres o de conducción

En el caso de partículas con morfología esférica, las ecuaciones se pueden resolver de manera analítica. A partir de estas soluciones se pueden calcular las secciones eficaces de absorción (σ_{abs}), dispersión (σ_{dis}) y de extinción (σ_{ext}), siendo esta última la suma de las dos primeras. De acuerdo a esta teoría, para una partícula esférica metálica de radio r y una permitividad eléctrica $\varepsilon_p=n_p^2$ que debe expresarse con números complejos en las partículas metálicas para poder describir el fenómeno de absorción, que se encuentra inmersa en un medio con permitividad $m \approx n_m^2$ y en la cual incide una onda electromagnética plana con frecuencia $\omega = 2\pi/\lambda$ y $\lambda = k/n_m$, donde n_p es el índice de refracción de la partícula, n_m es el índice de refracción del medio, k es el coeficiente de absorción y λ es la longitud de onda electromagnética. Las secciones eficaces σ_{dis}, σ_{abs} y σ_{ext} se pueden calcular mediante las siguientes series:

$$\sigma_{dis} = \frac{2\pi}{k^2}\sum_{j=1}^{\infty}(2j+1)Re\left(a_j + b_j\right) \qquad (6)$$

$$\sigma_{ext} = \frac{2\pi}{k^2}\sum_{j=1}^{\infty}(2j+1)\left(\left|a_j\right|^2 + \left|b_j\right|^2\right) \quad (7)$$

$$\sigma_{abs} = \sigma_{ext} - \sigma_{dis} \quad (8)$$

Donde:

$$a_j = \frac{m\psi_j(mx)\psi_j{}'(x) - \psi_j(x)\psi_j{}'(mx)}{m\psi_j(mx)\xi_j{}'(x) - \xi_j(x)\psi_j{}'(mx)} \quad (9)$$

$$b_j = \frac{\psi_j(mx)\psi_j{}'(x) - m\psi_j(x)\psi_j{}'(mx)}{\psi_j(mx)\xi_j{}'(x) - m\xi_j(x)\psi_j{}'(mx)} \quad (10)$$

Las funciones ψ_j y ξ_j *(x)* son las funciones Ricatti-Bessel.

Estas ecuaciones permiten estimar las dependencias de σ_{dis}, σ_{abs} y σ_{ext} en función del material de la partícula y su diámetro a través de m y x, el medio en el que se encuentra y la longitud de onda de la radiación incidente.

2.5.1 Teoría de Mie para la estimación de tamaño

La teoría de Mie no da fórmulas concretas para la posición de las resonancias plasmónicas, sin embargo proporciona un método para calcular teóricamente los coeficientes de absorción y de extinción, y por lo tanto, los correspondientes espectros en función del tamaño de las partículas, y la permitividad dieléctrica del medio y del material de las nanopartículas.

Para la estimación de tamaño de las nanopartículas de oro se usó el programa libre MieLab [32, 33], el cual simula la dispersión de la radiación electromagnética por esferas usando la teoría de Mie a partir de la comparación de los espectros de absorbancia adquiridos experimentalmente de las muestras coloidales.

Capítulo 3 Resultados y discusión

En este capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos de las caracterizaciones de las muestras coloidales de NPs de Au sintetizadas con los diferentes métodos expuestos en el capítulo 2. Las técnicas de caracterización fueron espectroscopia UV-Vis para determinar la banda de absorción debida a la resonancia del plasmón superficial de las NPs de Au y microscopia electrónica de transmisión para determinar su morfología y estimar el tamaño promedio y dispersión de tamaño. El análisis de los resultados se centra en los efectos que causan la variación en la razón molar entre citrato de sodio y oro en solución de reacción, variación del pH de la solución de reacción y su posterior uso como semillas para aumentar el diámetro de las NPs.

3.1 Caracterización de NPs de Au variando la RM de Cit:Au^{3+}

Para el estudio del efecto de la RM de Cit:Au^{3+} en el tamaño y forma de las NPs de Au se utilizaron las técnicas de absorción UV-Vis y TEM. La Fig. 12 muestra los espectros de absorción en la región comprendida entre 200 nm y 800 nm para las muestras coloidales de Au. La banda de absorción asociada a la resonancia del plasmón superficial (RPS), que aparece alrededor de 521 nm, confiere un color rojo brillante en las cuatro soluciones coloidales. Las muestras A20, A40 y A50 presentan un cambio en la posición de la banda RPS (522 nm, 522.5 nm y 522.5 nm, respectivamente) con respecto a la muestra A10 (519.5 nm), hacia longitudes de onda mayores debido a que las nanopartículas son de mayor tamaño.

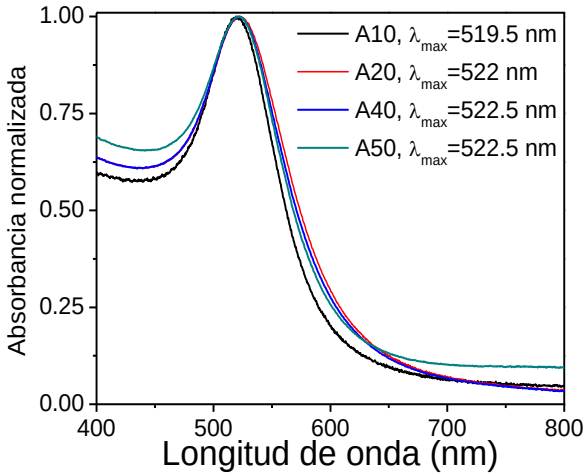

Fig. 12. Espectros de absorción UV-Vis de las muestras coloidales preparadas a diferentes RMs de Cit:Au^{3+}.

Estos datos experimentales permiten compararlos con los calculados por la teoría de Mie; para ello se usó el paquete MieLab para simular los espectros de absorción de nanopartículas esféricas que se observan en la Fig. 13; esto permite obtener el tamaño aproximado de las nanopartículas debido a que la posición y anchura de la banda de absorción dependen principalmente del tamaño, dispersión y forma de partículas [31].

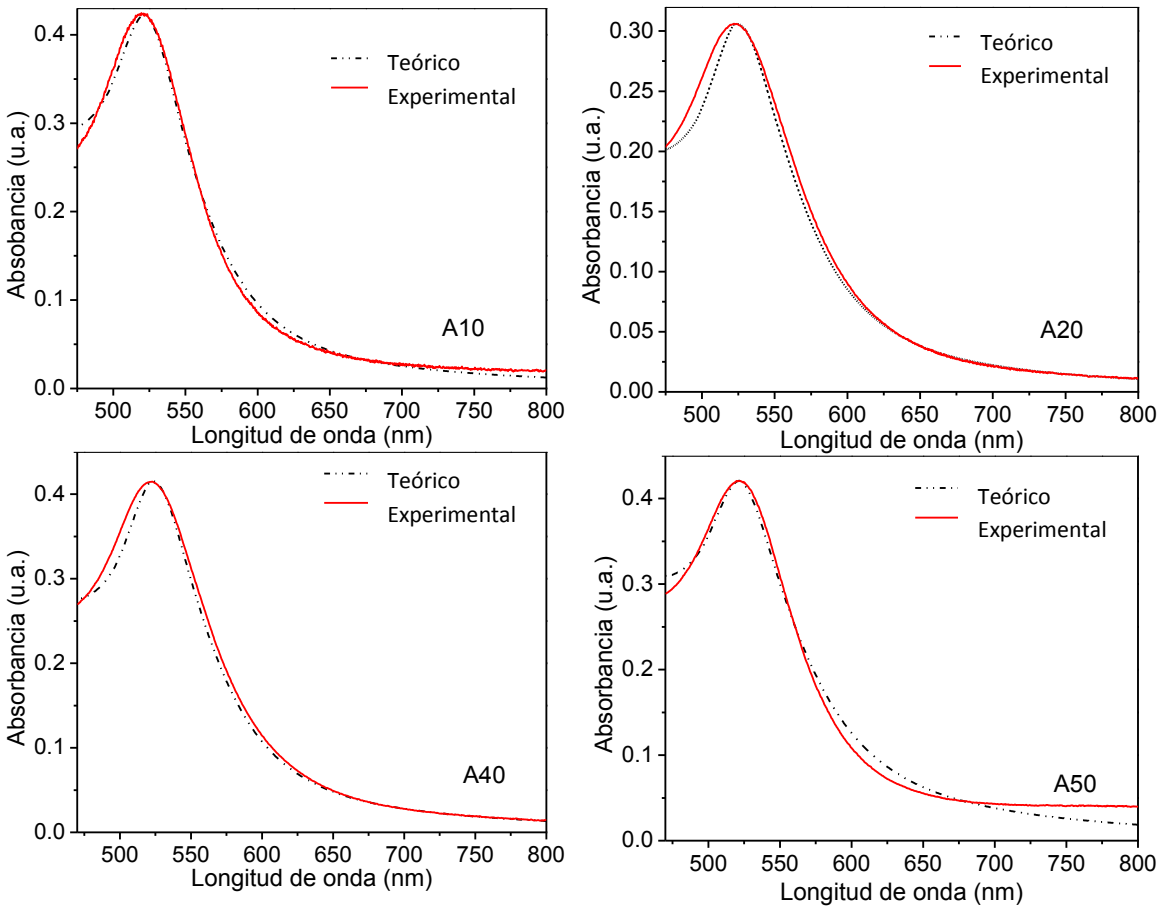

Fig. 13. Espectros de absorción experimental y sus ajustes teóricos de las muestras preparadas a diferente RMs de Cit:Au^{3+}.

Los ajustes teóricos a los espectros experimentales proporcionaron los diámetros promedio (Dp) y su desviación estándar (σ) de las NPs de Au, que se presenta en la tabla 5.

Tabla 5. Tamaño promedio y su desviación estándar estimados por el ajuste teórico a los espectros experimentales de las NPs de Au crecidas a diferentes RM's de Cit:Au^{3+}.

Muestra	Dp (nm)	σ (nm)
A10	9.5	0.5
A20	8.5	0.3
A40	8.6	0.2
A50	20	0.3

El análisis de las muestras a través de las imágenes de TEM, expuestas en la Fig. 14, reveló que las NPs de Au presentan una morfología principalmente elipsoidal, con algunas de forma triangular.

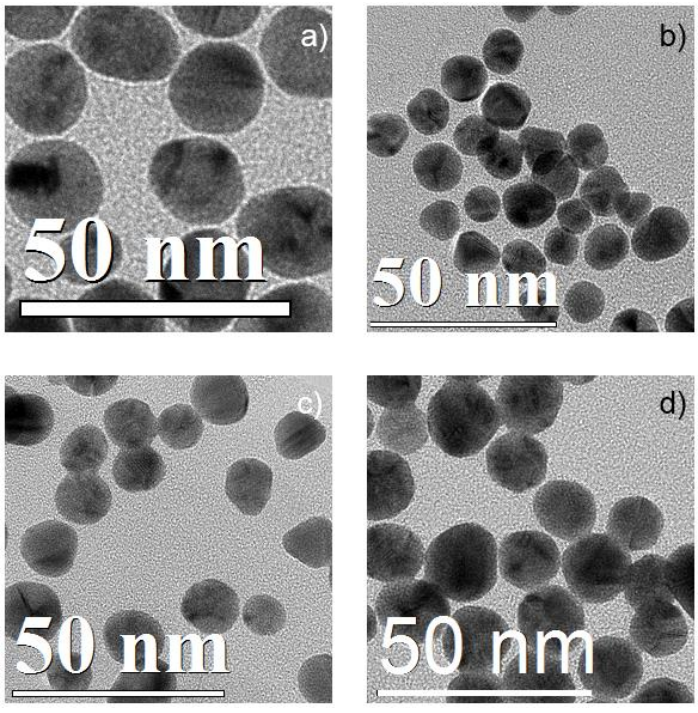

Fig. 14. Imágenes de micrografías TEM de las distintas muestras de NPs de Au preparadas a diferentes RMs de Cit:Au^{3+}: a) A10, b) A20, c) A40 y d) A50.

En la imagen TEM de la muestra A10 se observa que la morfología de las nanopartículas no es uniforme y existe una mezcla de partículas elipsoidales y triangulares con una alta dispersión de tamaño (Fig. 14 a), lo que indica que el proceso de nucleación y crecimiento de las partículas no es homogéneo, pero al aumentar la concentración de citrato (Fig. 14 b, c y d) se produce una menor presencia de partículas triangulares y elipsoidales, y un gran número de partículas cuasi esféricas y de un tamaño más uniforme.

Para comprobar que al aumentar la concentración de citrato disminuye la desviación estándar, se realizaron los histogramas de distribución de tamaño que se muestran en la Fig. 15, los cuales se realizaron a partir de las imágenes TEM de las distintas muestras de NPs de Au.

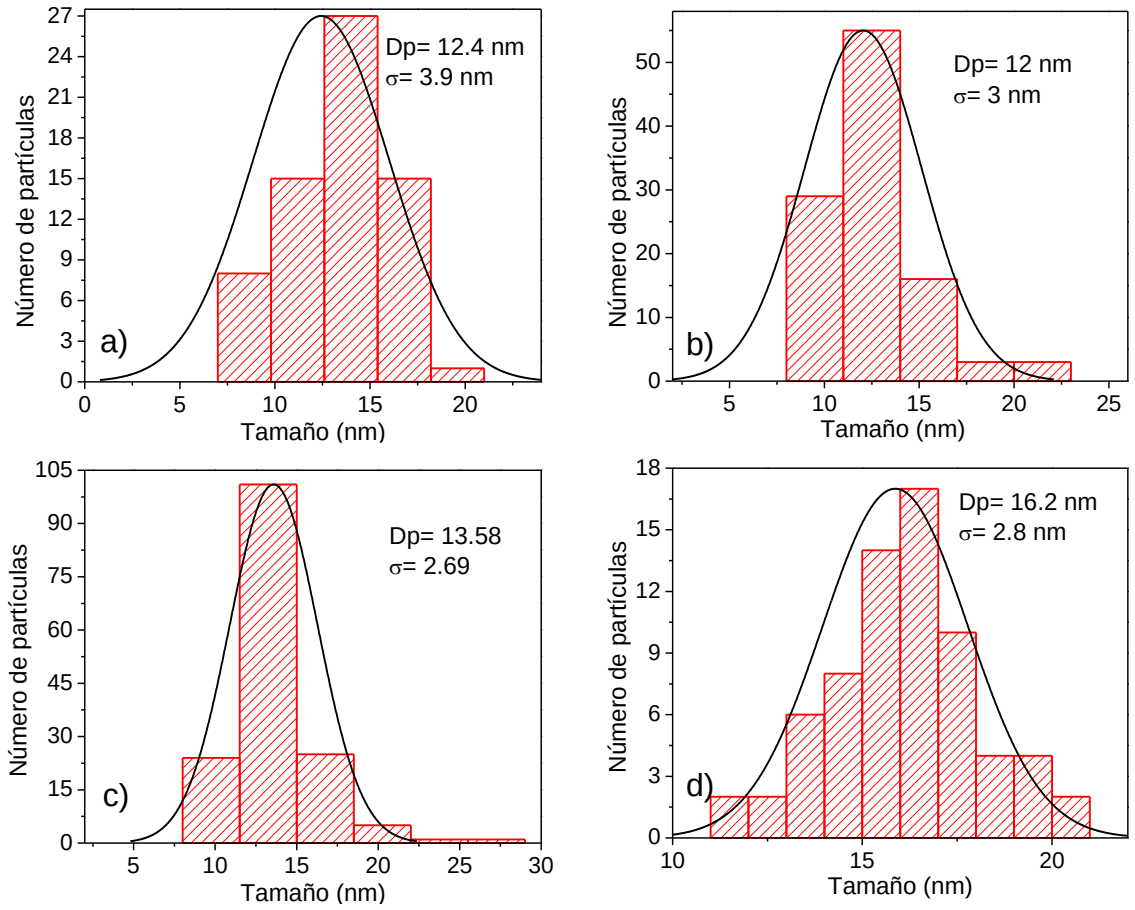

Figura 15. Histogramas de distribución de tamaño de las muestras a) A10, b) A20, c) A40 y d) A50.

En las muestras crecidas con RM menores a 5 (A10 y A20), las NP's formadas tienen mayor dispersión de tamaño. El diámetro promedio (Dp) de la muestra A10 está alrededor de 12.4 nm y la desviación estándar (σ) de 3.9 nm, que equivale a un 31.6 % de desviación (σ%); la muestra A20 presenta un Dp de 12 nm y una σ de 3 nm, que representa un 25.6% de dispersión. Sin embargo, en las muestras con una RM mayor a 5 (A40 y A50) se nota un aumento en el diámetro promedio de las nanopartículas y una disminución en su desviación estándar. La muestra A40 tiene un Dp de 13.6 nm y σ de 2.7 nm, que representa el 19.8% de desviación en tamaño. La muestra A50 presenta un Dp de 16.2 nm y σ de 2.8 nm, equivalente al 17.2% de dispersión en tamaño.

La disminución en la desviación de tamaño en las muestras crecidas con mayores RMs de Cit:Au^{3+} se debe al cambio del pH de la solución de reacción al aumentar la concentración del citrato [21]. A menores concentraciones (RM menor a 5) del citrato, el pH de la solución de reacción se mantiene ácido, ocasionando una protonación de los grupos carboxílicos de la molécula del citrato, que a su vez genera una baja reactividad, lo cual implica que tiende a ser menos propenso al paso de oxidación/descarboxilación y a disminuir la velocidad de reacción, que afecta de manera directa al proceso de nucleación y crecimiento. Por lo mismo, el tamaño y morfología de las NPs no es homogéneo. Sin embargo, a altas concentraciones del citrato (RM mayores a 5), el pH de la solución es neutro o casi neutro, por lo tanto los grupos carboxílicos del citrato no sufren una protonación presentando mayor reactividad de oxidación/descarboxilación del citrato, que genera más iones de dicarboxíl acetona, los cuales funcionan como organizadores del complejo metálico, y que acelera la reducción, favoreciendo el proceso de nucleación y crecimiento de las NPs, que resulta en una disminución en la distribución de tamaño, así como en una morfología uniforme [25].

La tabla 6 presenta una comparación entre los valores de diámetro promedio (Dp) de las NPs obtenidos de manera experimental y teórica de las muestras crecidas a diferentes RM de citrato a sal de oro. Los valores de tamaños obtenidos por estos dos métodos presentan una diferencia, debido a que cuando se hace el ajuste teórico, las posiciones de la banda RPS coinciden bien con las de los experimentales, pero el ancho de la banda no coincide por completo, ya que la morfología de las NPs no es esférica imposibilita obtener un resultado exacto o cercano al real, debido a que el ajuste de Mie realizado es únicamente para partículas perfectamente esféricas.

Tabla 6. Comparación entre el tamaño obtenido por el ajuste teórico y el experimental por TEM de las muestras a diferentes RMs de Cit:Au^{3+}.

Muestra	Teórico		Experimental	
	Dp (nm)	σ (nm)	Dp (nm)	σ (nm)
A10	9.5	0.5	12.4	3.9
A20	8.5	0.3	12	3.1
A40	8.6	0.2	13.6	2.7
A50	20.3	0.6	16.2	2.8

3.2 Caracterización de NPs de Au variando el pH

Las muestras a las cuales se le realizó un cambio en el pH presentaron una variación en el color al aumentar el pH, principalmente en la muestra a pH básico; en la Fig. 16 se muestran los espectros de absorción de UV-Vis, que se caracterizaron por la excitación de resonancia de plasmón cercana a 525 nm. La muestra a la cual no se le hizo ajuste de pH (presenta el medio más ácido, de 3.1) mostró su absorción máxima en 527.5 nm a longitudes de onda más grandes y una banda ancha, lo que indica una alta distribución de tamaño, a diferencia de las muestras a pH menos ácido (pH de 5) y casi neutro (pH de 6.5 y 7.5), las cuales presentan una absorción de plasmón característica de las NP's de Au sintetizadas por el método de Turkevich tradicional, y sus bandas son angostas, lo cual indica una escasa dispersión de tamaño. Por el contrario, la muestra preparada a pH básico (pH de 9) presenta un máximo de absorción en 527.5 nm, lo que indica la presencia de partículas con diámetros pequeños, sin embargo algunas partículas más grandes causan un "hombro" en el espectro hacia altas longitudes de onda, que indica una alta dispersión de tamaño. Por lo tanto, podemos concluir que en la muestra B5 hay una mezcla de partículas pequeñas y grandes que posteriormente se confirmarán por las imágenes TEM. La coloración violeta del

coloide se debe a las partículas más grandes, a pesar de ser relativamente menos abundantes que las partículas más pequeñas.

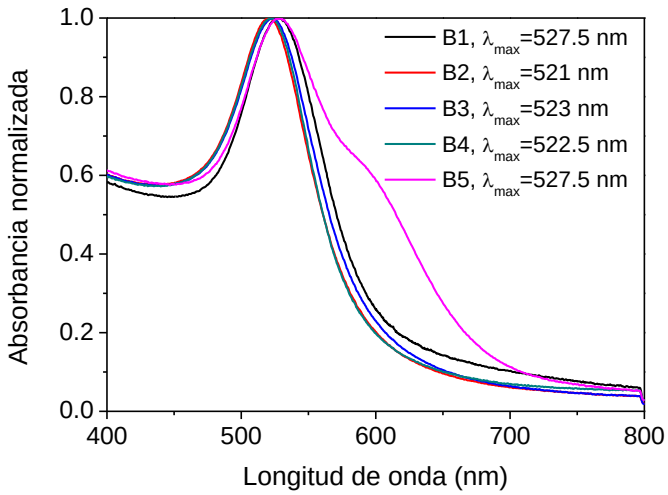

Figura 16. Espectros de absorción de UV-Vis de las muestras coloidales preparadas a diferente pH.

De la misma manera que con las NPs anteriores, se realizó el cálculo del Dp y σ de las muestras de pH 3.1, 5, 6.5 y 7.5 con el programa MieLab, cuyo resultado se muestra en la Fig. 17, sin embargo, en la muestra preparada a pH 9 no se pudo ajustar el espectro con la teoría de Mie debido a que esta muestra presentó una mezcla de morfología y tamaño de las partículas.

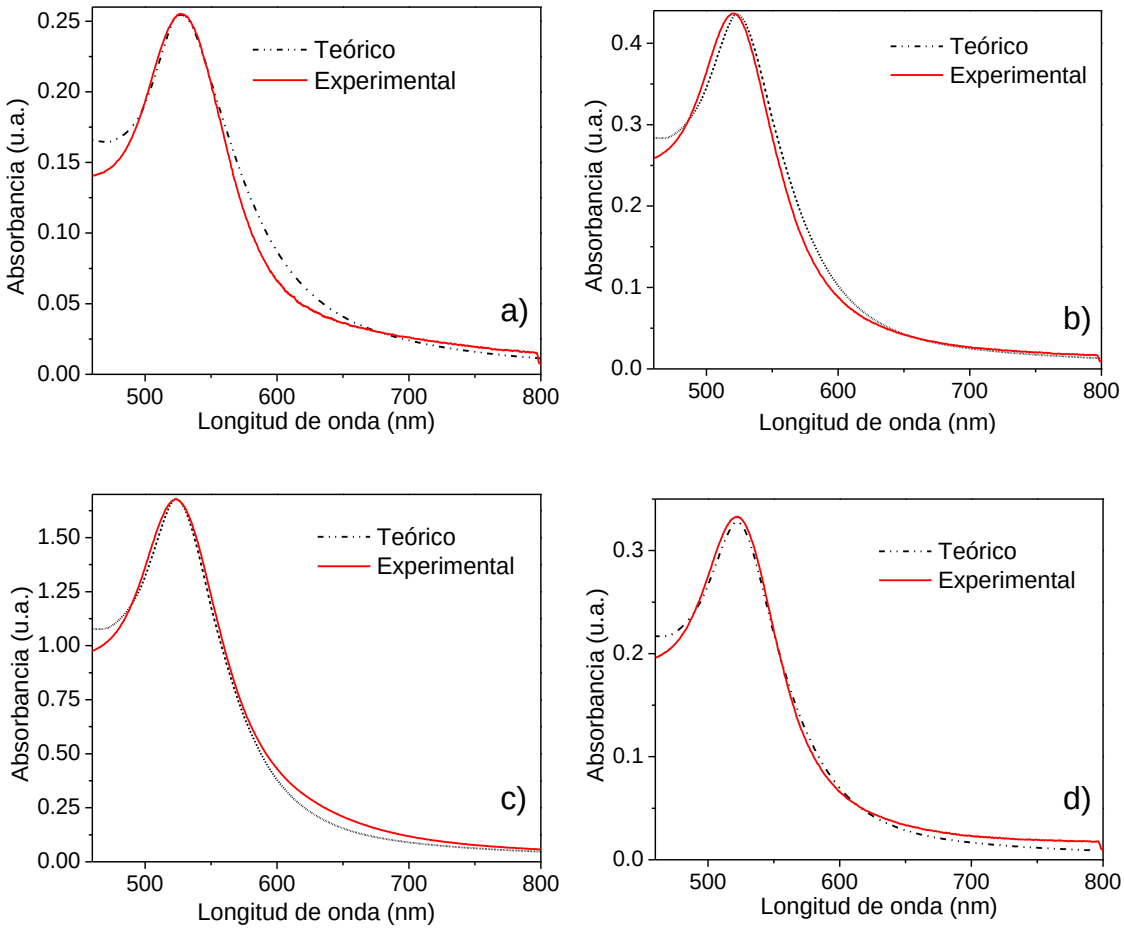

Fig. 17. Espectros de absorción UV-Vis experimental y sus ajustes teóricos de las muestras a) B1, sin ajuste de pH, b) B2, pH 5, c) B3, pH 6.5 y d) B4, pH 7.5.

El tamaño promedio y su desviación estándar que se obtuvo por el ajuste teórico de las distintas muestras preparadas a diferente pH se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Tamaño promedio y su desviación estándar de las NPs de Au preparadas a diferentes pHs de la solución de reacción.

Muestra	Dp (nm)	σ (nm)
B1 pH 3.1	36.8	11.9
B2 pH 5	6.7	0.1
B3 pH 6.5	11	0.3
B4 pH 7.5	14.3	0.3
B5 pH 9	___	___

Con la finalidad de verificar si los valores de tamaño promedio y su dispersión obtenidos por ajustes teóricos de los espectros de absorción de las muestras son cercanos al tamaño real de las NPs, se realizó el análisis TEM de las muestras, cuyas imágenes se presentan en la Fig. 18. Se observó que a un pH ácido, la mayoría de las NPs presentan una morfología elipsoidal y son altamente dispersas en tamaño. A pH 5 (ligeramente ácido), la morfología es cuasi-esférica. A pH 6.5 y pH 7.5, cercano al neutro, se obtienen NPs esféricas o cuasi-esféricas. Al contrario, si el pH es básico, como en la muestra B5, se producen NPs de Au sin morfología definida, con una mezcla de formas esféricas, elípticas y triangulares truncadas. La literatura reporta observaciones similares para reacciones con altos valores de pH [17].

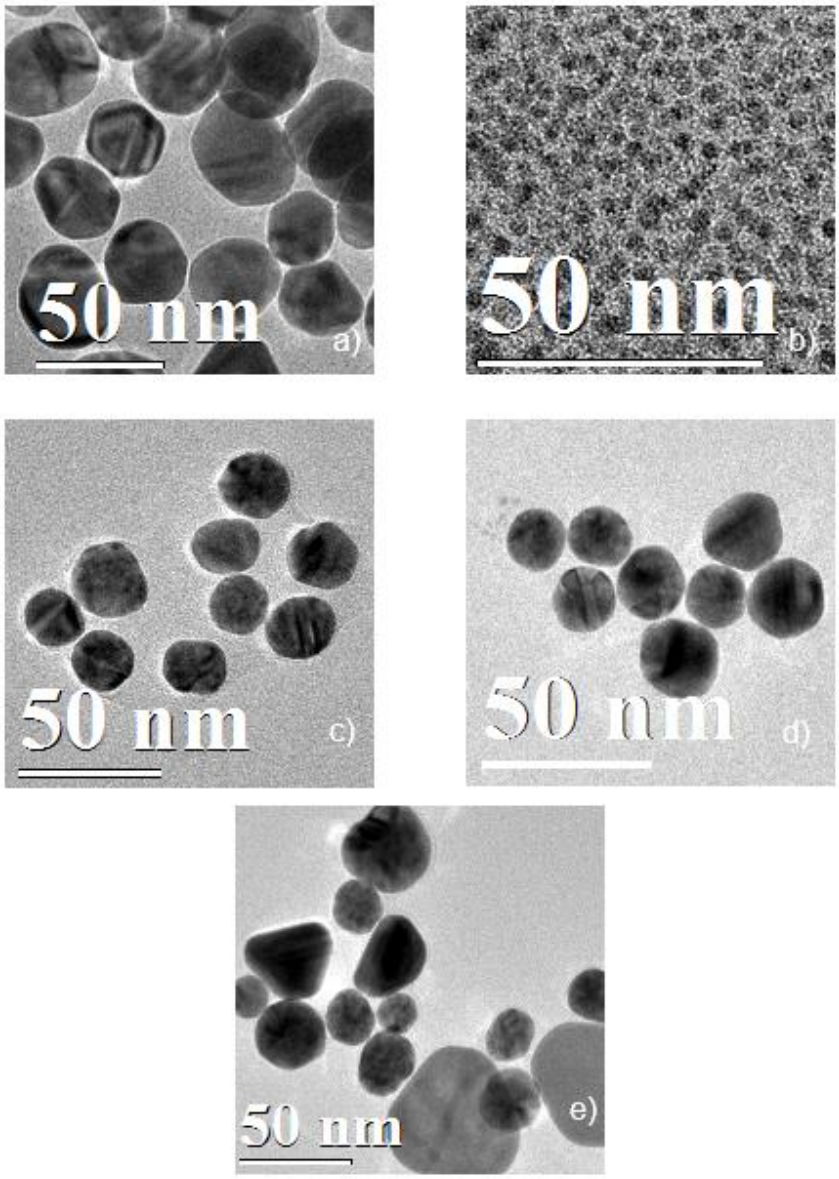

Fig. 18. Imágenes TEM de las NPs de Au: a) B1, sin ajuste de pH, b) B2, pH 5, c) B3, pH 6.5, d) B4, pH 7.5 y e) B5, pH 9.

En la Fig. 19 se presentan los histogramas de distribución de tamaño de las NPs de Au preparadas a distintos pHs de reacción. Como se aprecia, la muestra B1, sin ajuste de pH, está compuesta de NPs grandes con Dp cerca de 34.6 nm y una desviación estándar de 3.7 nm, equivalente a una dispersión del 10.8%. La muestra B2, a pH 5, son NPs de menores tamaños, con morfología esférica y Dp

alrededor de 4.8 nm, con σ alrededor de 1.1 nm, equivalente al 23.6 %. Un pH intermedio de la solución de reacción, como la muestra B3, a pH 6.5, son NPs con Dp de 24.1 nm y σ de 2.3 nm, pero su morfología no es completamente esférica, a pesar de ser la muestra con menor dispersión de tamaño (9.52%). Las NPs de la muestra B4, preparada a pH 7.5, tienen una Dp de 20 nm, con una morfología cuasi esférica con σ de 2.7 nm, que equivalen al 13.42% de dispersión en tamaño. Por último, la muestra B5, preparada a pH 9, produjo NPs de mayor dispersión, con σ de 9.3 nm (32.39% de dispersión en tamaño), con Dp cerca de 28.6 nm. Los resultados obtenidos demuestran que el tamaño promedio de las NPs de Au adquiridos presenta un mínimo de tamaño a pH de 5, que sufre un aumento en el tamaño promedio conforme el pH aumenta con NPs de Au uniformes [16] y a valores de pH mayores a 7.5 disminuye la homogeneidad en la morfología de las NPs y aumenta la distribución de tamaño [35].

Estos resultados determinan que a pHs extremos, como son los muy ácidos o los muy básicos, no se observa una morfología homogénea. Si el pH es básico, la solución de ácido cloroáurico sufre un cambio en su potencial de reducción por la adición de hidróxido, ya que este ion OH^- toma la posición del cloro en el complejo de Au provocando que la reducción del Au por citrato sea más lento, ya que necesita mayor energía para desplazar al OH^- del complejo de oro en comparación al Cl^-, lo cual afecta directamente al proceso de nucleación y crecimiento, los cuales no serán homogéneos, y por lo tanto, se producen partículas muy dispersas con una morfología variada, como sucede en la muestra B5. Cuando el pH de la solución es muy ácido, el citrato sufre un proceso de protonación, que disminuye la velocidad de reacción y su capacidad de estabilizar las NPs de Au durante la reacción, por esta razón la muestra B1 no presenta una morfología esférica ni una alta distribución de tamaño. Sin embargo, si la solución se encuentra a un pH intermedio, entre 5 y 7.5, como es el caso de las muestras B2 a B4, se obtienen NPs con una baja distribución de tamaño y una morfología más homogénea, casi esférica, esto se da porque a estos rangos de pH ambos

reactivos (citrato y el precursor de Au) presentan una reactividad media, generando que la velocidad de nucleación y crecimiento sea la adecuada para que los iones de citrato se adsorban en las NPs y logren la estabilidad.

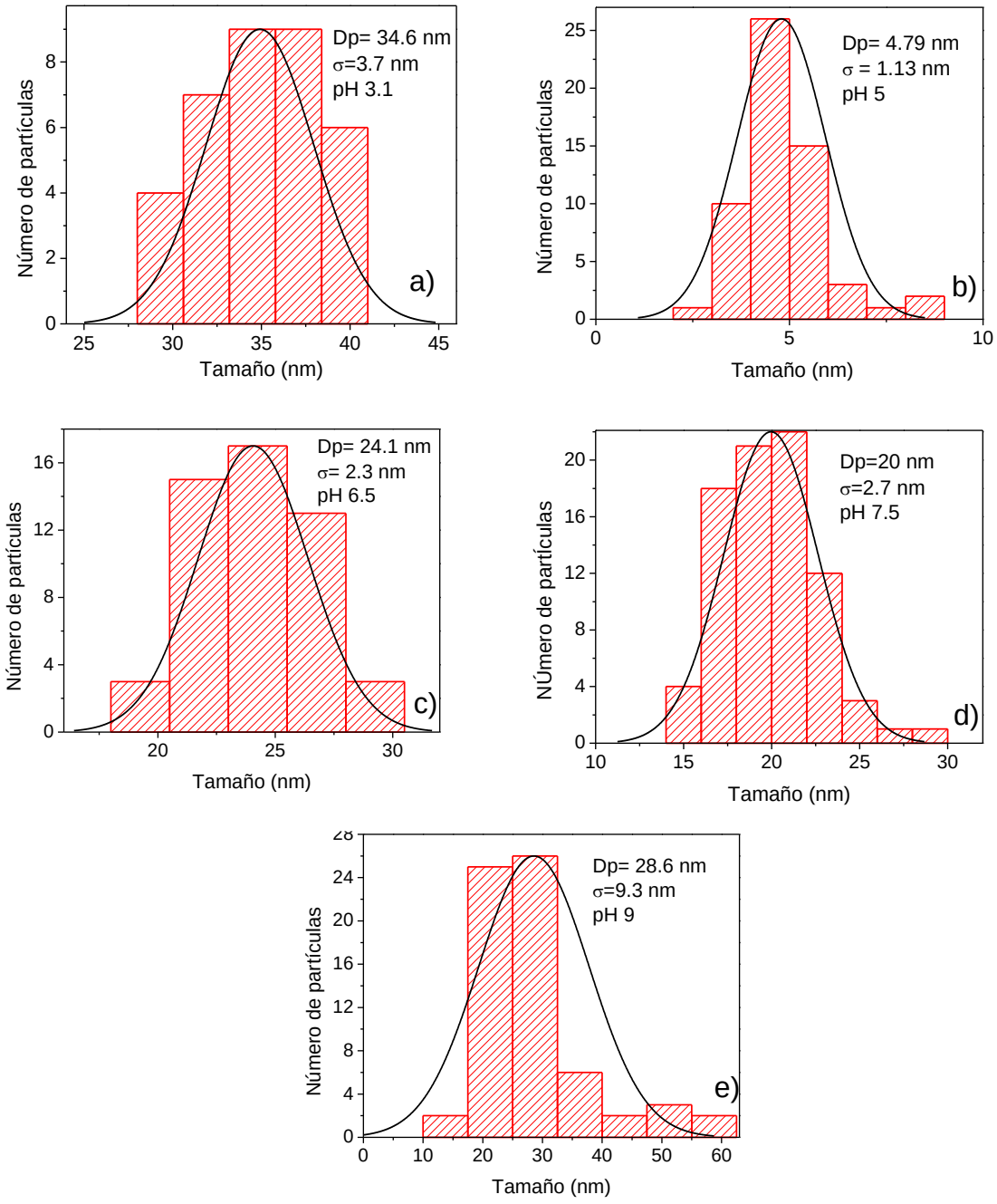

Fig. 19. Histogramas de distribución de tamaño de las NPs de las muestras preparadas con diferentes valores del pH de la reacción: a) B1, sin ajuste de pH, b) B2, pH 5, c) B3, pH 6.5, d) B4, pH 7.5 y e) B5, pH 9.

La tabla 8 presenta una comparación de los tamaños (Dp) de NPs de las muestra B1 a B4 estimados experimentalmente (por medio de las imágenes TEM) y por ajuste teórico de sus espectros de absorción. Como se puede ver, los resultados obtenidos por ajustes son muy cercanos a los experimentales en las muestras B1 y B2, debido a que las NPs obtenidas son cuasi esféricas, lo que permite un mejor ajuste teórico a los espectros experimentales de absorción utilizando la teoría de Mie, que se desarrolló para NPs esféricas. Sin embargo, en las muestras B3 y B4, el ajuste no se acerca al tamaño real (valor experimental). Esto se debe a causa del pH de la solución, la superficie de las nanopartículas puede presentar cargas distintas debido al cambio en la reactividad del citrato con el cambio de pH, que cambia el índice de refracción del medio.

Tabla 8. Comparación entre el tamaño obtenido por el ajuste teórico y el experimental de las muestras a diferente pH.

Muestra	Teórico		Experimental	
	Dp (nm)	σ (nm)	Dp (nm)	σ (nm)
B1 pH 3.1	36.9	11.9	34.6	3.7
B2 pH 5	6.7	0.1	4.8	1.1
B3 pH 6.5	11	0.3	24.2	2.7
B4 pH 7.5	14.3	0.3	20	2.7
B5 pH 9	-	-	28.6	9.3

3.3 Caracterización de NPs de Au utilizando semillas

Para el crecimiento de las NPs más grandes de Au se decidió usar como semilla la muestra B3, debido a que presenta menor dispersión de tamaño y una morfología cuasi-esfericas, que facilita su crecimiento hacia morfología esférica.

Los espectros de absorción de las muestras preparadas a partir de las semillas seleccionadas se presentan en la Fig. 20; se normalizaron la intensidad (absorbancia) de los espectros con el fin de facilitar su comparación. La banda

RPS de las muestras se desplaza gradualmente hacia longitudes de onda mayores conforme aumenta el tamaño promedio de las NPs. La posición de la banda RPS en la primera muestra obtenida, denominada CS1, aparece alrededor de 525.5 nm y la banda RPS de la última muestra, que es CS4, aparece alrededor de 550 nm.

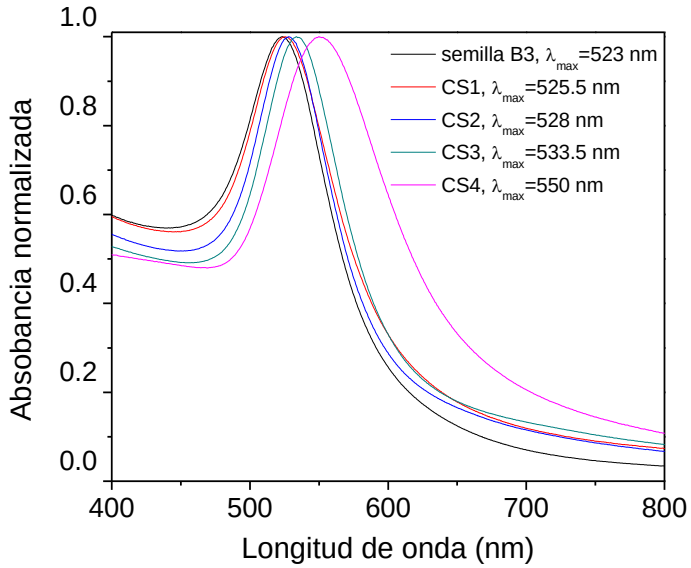

Fig. 20. Espectros de absorción UV-Vis de las muestras preparadas por crecimiento de semillas. Se utilizó la muestra B3 como semilla para el paso 1 y la muestra obtenida en este paso se utilizó como semilla para el siguiente paso.

Las muestras CS1 y CS2 presentan una absorción máxima (λ_{max}) correspondiente al RPS en 525.5 y 528 nm respectivamente; a pesar del desplazamiento de la posición de la banda RPS hacia longitud de onda mayor, no se aprecia que sus colores sean significativamente distintos del color de la semilla. Sin embargo, sí se puede afirmar que el incremento en la longitud de onda representa un pequeño aumento en el tamaño de las NPs, así como el ligero ensanchamiento de la banda de absorción indica un posible aumento en la dispersión de tamaño de las NPs de Au, lo cual se confirma por las imágenes TEM que posteriormente se presentarán.

Las muestras CS3 y CS4 presentan un máximo de absorción en 533.5 y 550 nm respectivamente, con un aumento en el ancho de la banda de absorción; a diferencia de los crecimientos anteriores (CS1 y CS2), estas muestras sí presentan un cambio considerable en el color y un color distinto por exposición a la luz natural (solar). En la muestra CS3 se aprecia una coloración fucsia cuando la luz es transmitida, pero cuando la luz es reflejada se observa una coloración café claro (Fig. 21 a y b). La muestra CS4, al transmitir la luz presenta una coloración morada, pero al reflejar la luz aparece una tonalidad anaranjada (Fig. 21 c y d).

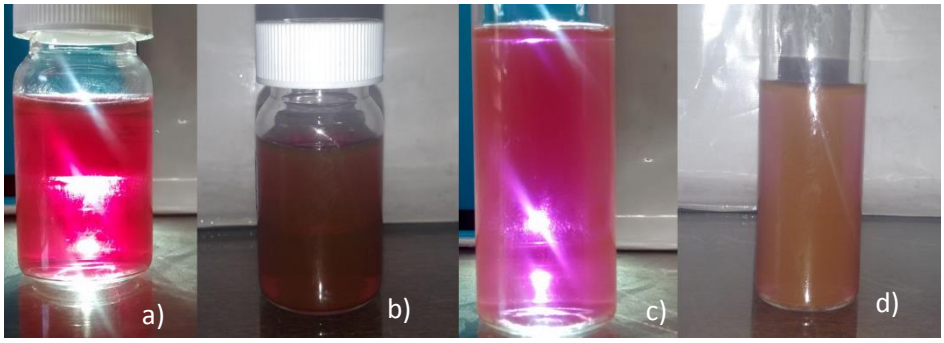

Fig. 21. Imagen de las suspensiones coloidales preparadas con semillas: a) muestra CS3, en luz transmitida, b) muestra CS3, en luz reflejada, c) muestra CS4, en luz transmitida y d) muestra CS4, en luz reflejada.

Para determinar el Dp y σ para las muestras crecidas utilizando semilla, se realizó el ajuste teórico a sus espectros de absorción (bandas RPS). Para eso se usó el programa MieLab. En la Fig. 22 se muestran los ajustes teóricos a los espectros experimentales de las muestras CS1 a CS4.

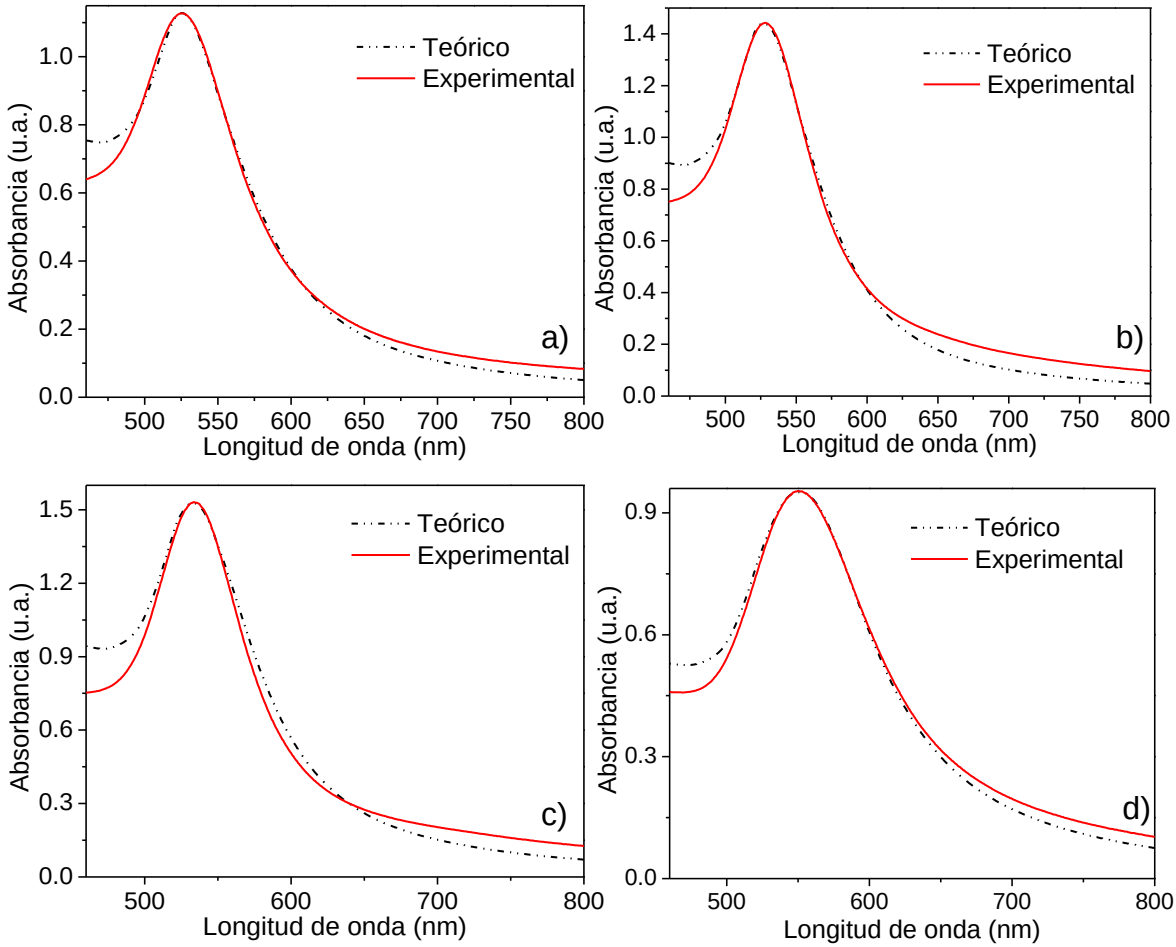

Fig. 22. Espectros de absorción experimental y sus ajustes teóricos de las muestras crecidas usando semillas, a) CS1, b) CS2, c) CS3 y d) CS4.

El ajuste teórico de los espectros de absorción experimental da el tamaño promedio de las NPs de Au y su desviación estándar para cada muestra, estos son presentados en la Tabla 9.

Tabla 9. Tamaño promedio de las NPs de Au en las muestras crecidas utilizando semilla por ajuste teórico de sus espectros de absorción.

Muestra	Dp (nm)	σ (nm)
CS1	40	16
CS2	66.1	10
CS3	104	1.5
CS4	110.8	2.9

Posteriormente se compararon estos tamaños teóricos con el tamaño obtenido a través de las imágenes TEM de las muestras correspondientes (Fig. 23). Se puede observar que el primer crecimiento (muestra CS1) presenta una mayor cantidad de NPs elípticas (Fig. 23 a), las cuales se deben a un proceso de nucleación y crecimiento no uniforme de las NPs presentes en la solución, (semillas) probablemente debido a una baja concentración del precursor de oro (iones de Au^{3+}) [34]. En los posteriores crecimientos (Fig. 23 b, c y d) se observa la presencia de un mayor número de NPs cuasi esféricas. Cabe señalar que se utilizó una mayor concentración del precursor de oro (iones de Au^{3+}) para el crecimiento de las semillas.

Por lo tanto es importante controlar la concentración del precursor de oro con respecto a la semilla para mantener una morfología esférica y evitar la formación de NPs con distintas morfologías. Para mantener una morfología homogénea se debe considerar mantener una RM alta de citrato respecto a la sal de oro y disminuir la temperatura para reducir la velocidad de reacción que permita a los iones de oro agregados que se incorporen a las NPs presentes en la solución en vez de generar nucleaciones secundarias que den origen a nuevas NPs.

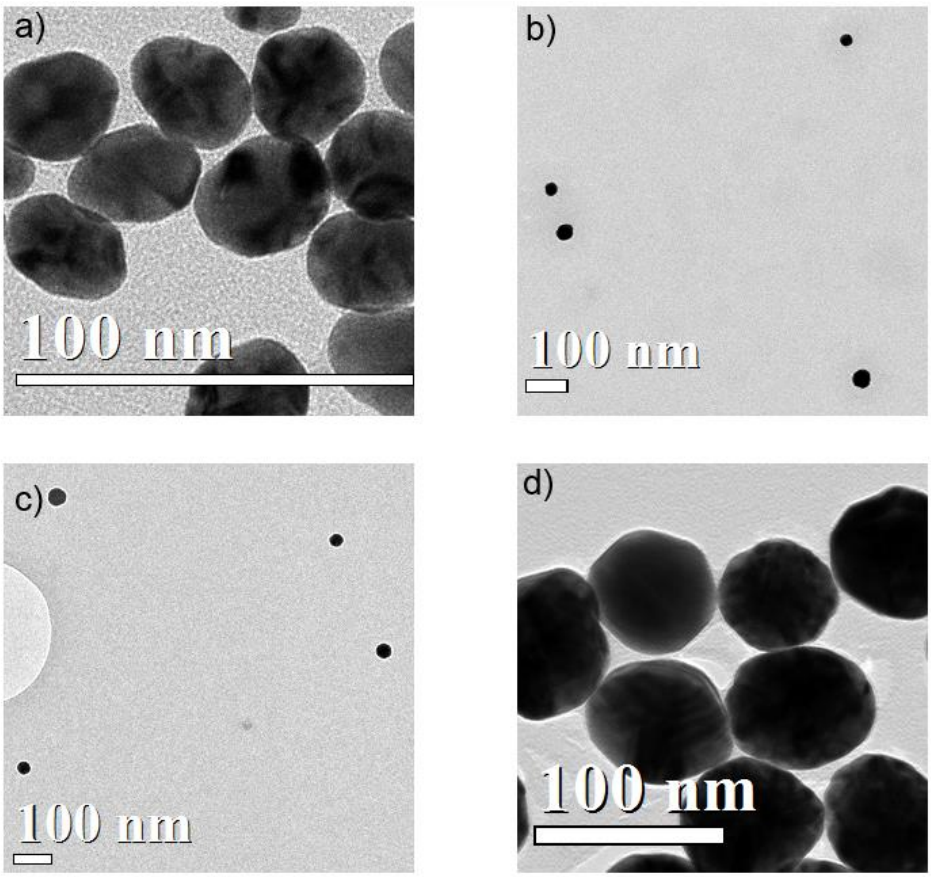

Figura 23. Imágenes TEM de las NPs de Au preparadas usando semillas: a) muestra CS1, b) muestra CS2, c) muestra CS3 y d) muestra CS4.

En la Fig. 24 se presentan los histogramas de distribución de tamaño obtenidos a partir del análisis de las imágenes TEM de las muestras preparadas usando semillas.

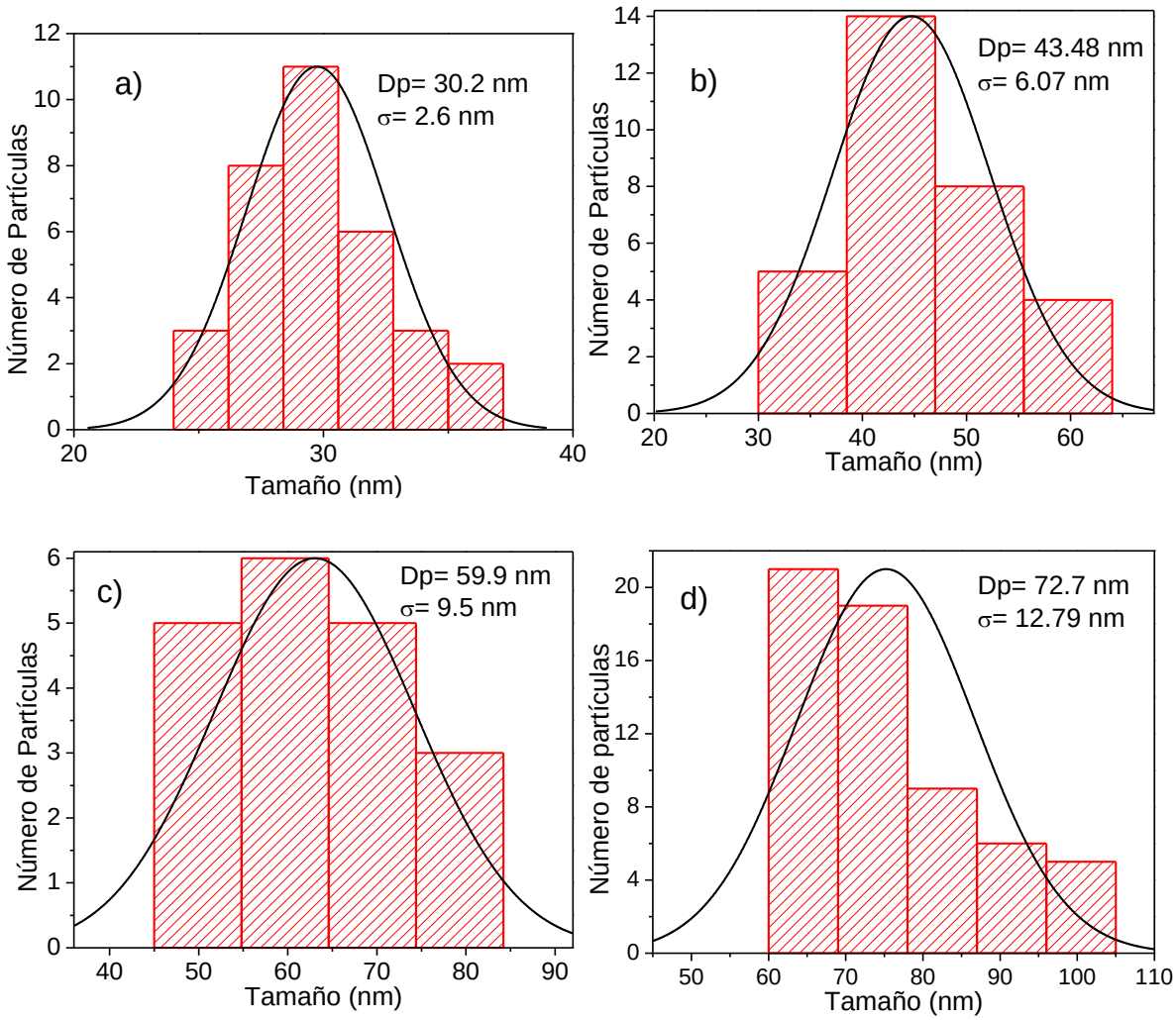

Figura 24. Histogramas de distribución de tamaño de las muestras: a) CS1, b) CS2, c) CS3 y d) CS4.

En las dos primeras muestras (CS1 y CS2), que no presentan un cambio significativo en el tamaño, se debe recordar que para el primer crecimiento, CS1, se usaron las NPs de Au de la muestra B3 crecidas a pH 6.5 como semillas, las cuales presentaron un Dp de 24.2 nm y un σ de 2.7 nm. Este diámetro aumentó hasta Dp = 30.2 nm con un σ = 2.6 nm (muestra CS1), lo que equivale a un 8.50% de desviación y un incremento de 6.0 nm (24.2 %) en tamaño. En la muestra CS2, para cual se usó como semilla la muestra CS1, se estimó un Dp de 43.5 nm,

equivalente a un incremento en tamaño de 13.3 nm (43.97%) y un σ de 6.1 nm, equivalente de un 13.96% dispersión.

El aumento en el porcentaje de crecimiento de la segunda muestra corresponde al aumento en la RM de Au^{3+}:Semilla de 3:1 en comparación al de la muestra CS1, que presenta una RM de Au^{3+}:Semilla de 2:1. De esta manera, el aumento en la RM del precursor de oro a la semilla se traduce en una mayor concentración de átomos de oro para el incremento del tamaño de las NPs.

En la muestra CS3, que corresponde al tercer crecimiento, se obtuvo un Dp de 59.9 nm y un σ de 9.5 nm, lo que corresponde a 16.39 nm (37.7%) de incremento en tamaño y 15.93% de dispersión. Por último, para la muestra CS4 se usó la muestra CS3 como semilla. Esta muestra reveló un Dp de 72.7 nm y un σ de 12.8 nm, que significa un incremento en tamaño de 21.43 % con 17.6 % de dispersión en tamaño.

La disminución en el porcentaje de crecimiento en las NP's se debe a que durante la reacción, el crecimiento no es homogéneo y disminuye a medida que el tamaño de la partícula aumenta [26]. Así pues, la razón del crecimiento de las partículas está determinado por la relación entre el tamaño de las NPs utilizadas como semillas y la cantidad de solución de oro añadido; pero si se excede la cantidad del precursor de oro de un valor óptimo, se generarían nuevas nucleaciones que originarán la aparición de nuevas partículas con un tamaño menor [24].

3.4 Estabilidad de las NPs

La estabilidad de las NPs de Au representa un aspecto importante a considerar para sus diversas aplicaciones, debido a que existen varios tipos de interacciones atractivas entre las partículas coloidales, como las fuerzas de Van der Waals, que pueden generar la agregación irreversible o la coalescencia de las

partículas, provocando su precipitación [36]. Por esta razón es importante estabilizar las NP's por medio de la adsorción de los iones o ligandos más adecuados, que proporcionen fuerzas repulsivas electrostáticas y estéricas. Uno de los métodos más comunes de estabilización de NPs de Au es generar cargas eléctricas en su superficie por adsorción de iones específicos, como el citrato, que evita su aglomeración.

La adsorción de iones de citrato genera una estabilidad electrostática [37], la cual provoca una fuerza electrostática repulsiva entre las NPs de oro cercanas, evitando su aglomeración. Sin embargo, si se encuentran en rangos de pH extremos, ácidos o básicos, la intensidad de esta fuerza disminuye y el citrato pierde su capacidad para estabilizar las nanopartículas, lo cual genera un aumento en el tamaño de las NPs y su dispersión [38].

Las muestras preparadas en rangos de RM entre 2 y 10 y a diferente pH entre rangos de 3 y 7.5 presentan una buena estabilidad (mayor a 4 meses), considerando que se almacenaron en refrigeración y sin exposición a la luz; esto se debe al ordenamiento que sufren las moléculas de citrato protonadas, las cuales generan puentes de hidrógeno con otra molécula de citrato, lo que aumenta el grosor de la capa estabilizadora. Sin embargo, esto no sucede en la muestra B5 a pH de 9, en la cual, después de unos meses, se observa un cambio en la coloración que indica la aglomeración de las partículas, esto se debe a que el citrato no sufre un proceso de protonación, por lo tanto, el espesor de la capa estabilizadora es menor. Las muestra de NPs crecidas con semillas presenta una buena estabilidad, pero por su masa las partículas se precipitaron en menos de un mes; sin embargo pudieron redispersarse fácilmente por sonicación.

Conclusiones

Por los resultados obtenidos de esta investigación se puede concluir lo siguiente:

- Invertir el orden de adición de los reactivos del método de Turkevich es mejor opción para obtener NPs de Au de manera controlada.
- El método inverso de Turkevich requiere una alta concentración del citrato (RM > 5) para mantener una baja distribución de tamaño de las NPs de Au.
- A pH muy ácido (pH<5.0) y muy básico (pH>7.5), se obtienen NPs de Au con alta dispersión de tamaño y morfologías variadas.
- Las NPs de Au obtenidas por el método de reducción por citrato a pH básico (pH>7.5) tienen baja estabilidad.
- En rangos de pH entre 5 y 7.5 se obtienen NPs de Au cuasi esféricas, con baja dispersión de tamaño y alta estabilidad.
- Para el crecimiento de NPs de Au utilizando semillas, es importante controlar el volumen de semillas con respecto a la cantidad de precursor de oro y una alta concentración del citrato, además la velocidad de adición del precursor (de oro) para evitar la formación de nuevas partículas (núcleos).
- Para mantener una morfología esférica o cuasi esférica de las NPs de Au en el crecimiento a partir de semillas, se debe de disminuir la temperatura de reacción para disminuir la velocidad de su crecimiento.

Referencias

[1] Velázquez, A. M. (2010) *Una revolución en miniatura: Nanotecnología al servicio de la humanidad.* España, Universidad de Valencia.

[2] Pillai, Z. S. y Kamat, P. V. (2004) “What factors control the size and shape of silver nanoparticles in the citrate ion reduction method?”. *J. Phys. Chem.. B* Vol. 108, 945-951.

[3] Sardar, R.; Funston, A. M.; Mulvaney, P. y Murray, R. W. (2009) “Gold nanoparticles: past, present and future”. *Langmuir* Vol. 25, 13840-13851.

[4] Hu, R.; Yong, K. T; Roy, I.; Ding, H.; He, S. y Prasad, P. N.(2009) “Metallic nanostructures as localized plasmon resonance enhanced scattering probes for multiplex dark-field targeted imaging of canca er cells”. *J. Phys. Chem. C,* Vol. 113, 2676–2684.

[5] Jain, P. K.; Huang, X.; El-Sayed, I. H. y El-Sayed, M. A. (2008) “Noble metals on the nanoscale: Optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine”. *Acc. Chem.l Res.* Vol. 41, 1578-1586.

[6] Huang, X. y El-Sayed, M. A (2010) “Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy”. *J. Adv. Res.,* Vol. 1, 13-28.

[7] Jain, P. K.; Huang, X.; El-Sayed, I. H. y El-Sayed, M. A. (2007) “Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems”. *Plasmonics* Vol. 2, 107–118.

[8] Bradley, J. S. (1994) *Clusters and Colloids.* Weinhwim, G. Schimid.

[9] Moores, A. y Goettmann, F. (2006) “The plasmon band in noble metal nanoparticles: An introduction to theory and applications”. *New J. Chem.* Vol. 30, 1121–1132.

[10] Faraday, M. (1857). “Experimental relations of gold (and other metals) to light”. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* Vol. 147, 145-181.

[11] Malasa, O. y Seshadri, R. (2004) “Synthesis routes for large volumes of nanoparticles”. *Annu. Rev. Mater. Res.* Vol. 34, 41-81.

[12] Goia, D. V. y Matijevic, E. (1999) “Tailoring the particle size of monodispersed colloidal gold”. *Colloids Surf. A.* Vol. 146, 139–15.

[13] Turkevich, J.; Stevenson, P. C. y Hillier, J. (1951) “A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloial gold”. *J. Discuss. Faraday Soc.* Vol. 11, 55-75.

[14] Frens, G. (1973) “Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions”. *Nature Phy. Sci*. Vol. 241, 20-21.

[15] Ji, X.; Song, X.; Li, J.; Bai, Y.; Yang, W. y Peng, X. (2007) “Size Control of Gold Nanocrystals in Citrate Reduction: The Third Role of Citrate”. *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 129, 13939-13948.

[16] Patungwasa, W. y Hodak, J. H. (2007) “pH tunable morphology of the gold nanoparticles produced by citrate reduction”. *Materials Chem. Phy.* Vol. 108, 45-54.

[17] Sirvaraman, S. K.; Kumar, S. y Santhaman, V. (2011) “Monodisperse sub-10 nm gold nanoparticles by reversing the order of addition in Turkevich method – The role of chloroauric acid”. *J. Colloid Interface Sci.* Vol. 361, 543–547.

[18] Jimenéz, I. O.; Romero, F. M.; Bastús, N. G. y Puntes, V. (2010) “Small gold nanoparticles synthesized with sodium citrate and heavy water: Insights into the reaction mechanism”. *J. Phys. Chem. C* Vol. 114, 1800-1804.

[19] LaMer, V. K. y Dinegar, R. H. (1950) “Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols”. *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 72, 4847-4854.

[20] Jimenez, I. O y Campanera, M. (2011) “Molecular modeling of the reduction mechanism in the citrate-mediated synthesis of gold nanoparticles”. *J. Phy. Chem. C* Vol. 116, 23682-23691.

[21] Schulz, F.; Homolka, T.; Bastús, N. G.; Puntes, V.; Weller, H. y Vossmeyer, T. (2014) “Little adjustments significantly improve the Turkevich synthesis of gold nanoparticles”. *Lamgmuir* Vol. 30, 10779-10784.

[22] Wu., H.; Ji, X.; Zhao, L.; Yang, S.; Xie, R. y Yang, W. (2012) “Shape evolution of citrate capped gold nanoparticles in seedin approach”. *Colloids Surf. A.* Vol. 415, 174-179.

[23] Gao, C.; Goebl, J. y Yin, Y. (2013) “Seed growth route to noble metal nanostructures”. *J. Mater. Chem. C* Vol.1, 3898-3909.

[24] Zong, R.; Wang, X.; Shi, S. y Zhu, Y. (2014) “Kinetically controlled seed-mediated growth of narrow dispersed silver nanoparticles up to 120 nm: Secondary nucleation, size focusing and Ostwald ripening”. *Phys. Chem. Chem. Phys.* Vol. 16, 4236-4241.

[25] Jiménez, I. O.; Bastús, N. G. y Puntes, V. (2011) “Influence of the sequence of the reagents addition in the citrate-mediated synthesis of gold nanoparticles”. *J. Phys. Chem. C* Vol. 115, 15752-15757.

[26] Bastús, N. G.; Comenge, J. y Puntes, V. (2011) “Kinetically controlled seeded growth synthesis of citrate-stabilized gold nanoparticles of up to 200 nm: Size focusing versus Ostwald ripening”. *Langmuir* Vol. 27, 11098-11105.

[27] Williams, D. B. y Carter, C. B. (2009) *“Transmission electron microscopy”.* Springer Science Business Media, New York.

[28] Nin, G. V. y Echeverría, O. *Introducción a la microscopia electrónica aplicada a las ciencias biológicas.* Universidad Autónoma de México, México, 2000.

[29] Kaufmann, E. N.; Abaschian, R. y Barnes, P. A. (2003) *Characterization of materials.* Wile Interscience John Wiley & Sons Publishers, United States of America.

[30] Chen, F. E. O. (2012). "Inorganic nanostructures for photoelectrochemical and photocatalytic water splitting". *Chem. Soc.* Vol. 42**,** 2294-2320.

[31] Mie, G. (1908) “Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen” *Ann. Phys.* Vol. 25, 377-445.

[32] Peña, O. R. (s.f.). Software: MieLab. Recuperado el 23 Julio del 2014, del sitio web de sourceforge: http://sourceforge.net/projects/scattering/files/MieLab/

[33] Peña, O. R, González, P. P. P. y Pal U. (2011) “MieLab: A software tolos to perform calculation on the scattering of the electromagnetic waves by multilayered spheres”. *Int. J. of Spectroscopy* Vol. 2011, 1-10.

[34] Ziegler, C. y Eychmüller, A. (2011) “Seeded growth synthesis of uniform gold nanoparticles with diameters of 15-300 nm”. *J. Phys. Chem. C* Vol. 115, 4502-4506.

[35] Wang, S.; Qiam, K.; Bi, X. Z. y Huang, W. (2009) “Influence of speciation of aqueous $HAuCl_4$ on the synthesis, structure and property of Au colloids”. *J. Phy. Chem. C.* Vol.113, 6505-6510.

[36] Akein, J. D.; Lin, Y. y Finke, R. G. (1996) “A perspective on nanocluster catalysis: polyoxoanion and $(n\text{-}C_4H_9)_4N^+$ stabilized $Ir(0)_{\sim 300}$ nanocluster ‘soluble heterogeneous catalysts”. *J. Mol. Cat. A: Chem.* Vol. 114, 28-51.

[37] Sperling, R. A. y Parak, W. J. (2010) “Surface modification, fictionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles”. *Philos. Trans. R. Soc. A* Vol. 368, 1333-1383.

[38] Hornstein, B. J. y Finke, R. G. (2004) “Transition-metal nanocluster kinetic and mechanistic studies emphasizing nanocluster agglomeration: Demonstration of a kinetic method that allow monitoring of all three phases of nanocluster formation and aging”. *Chem. Mater.* Vol. 16, 139-151.