



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Síntesis de nanopartículas esféricas de oro mediante quitosano de tres pesos moleculares para la evaluación de su estabilidad temporal

Tesis presentada al

Colegio de Física

Requisito para la obtención del grado de

Licenciado en Física

Por

Esmeralda Aguilar Martínez

Directores de tesis

Dr. Victor Manuel Altuzar Aguilar
Dra. Claudia Oliva Mendoza Barrera

Junio 2021

Puebla, Pue. México

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Físico Matemáticas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por la formación brindada.

Al CONACYT, por la beca otorgada para el desarrollo de esta tesis a través de los proyectos CB-2016 Nos. 286652, 286647 y CB-2018 No. A1-S-31186.

Al Dr. Víctor Manuel Altuzar Aguilar y la Dra. Claudia Mendoza Barrera de la FCFM-BUAP por su respaldo y asesoría en la realización de esta tesis.

Al Dr. José Juan Gervacio Arciniega por su apoyo en la caracterización por microscopia de fuerza atómica.

Al M.I.A. Josué F. Perzabal Domínguez, por todo su apoyo técnico.

A los profesores revisores de esta tesis.

Dedicatorias

A mis padres y hermanos por su cariño y apoyo incondicional.

A mis amigos, que hicieron que esta travesía fuera más divertida y un poco menos difícil.

A mis asesores, por toda la paciencia y apoyo brindado.

Y a mi familia, por confiar en mí.

Resumen

Las nanopartículas de oro presentan propiedades físico-químicas que son intrínsecas a su tamaño, lo cual las hace excelentes candidatas para su empleo en sensado biológico y químico. Presentan propiedades optoelectrónicas que pueden ser ajustadas mediante el control de su tamaño, morfología y ambiente circundante. En este trabajo de tesis se sintetizaron nanopartículas esféricas de oro mediante ruta química, por la reducción de ácido tetracloroáurico y los biopolímeros de quitosano de bajo, medio y alto pesos moleculares como agente reductor/estabilizador, durante y después del proceso de síntesis. Se evaluaron la influencia de la velocidad de agregación de la sal de oro, así como de la temperatura durante el proceso de síntesis. Comparativamente, se fabricaron nanopartículas de oro cuando la velocidad de agregación no se controló. El estudio mediante espectroscopía UV-Vis y microscopía de fuerza atómica de la estabilidad temporal de las nanoestructuras sintetizadas bajo dos temperaturas de almacenamiento (4 y 20 °C) por seis meses, indicó la presencia de una sola banda plasmónica en los tres tipos de protocolos, independientemente de la temperatura y tiempo de almacenamiento. Ello indica la formación de nanoestructuras esféricas, que fue confirmada por microscopía de fuerza atómica. Se determinó que las mejores condiciones de fabricación y almacenamiento por seis meses corresponden al empleo de quitosano de medio peso molecular como agente reductor/estabilizador; velocidad de agregación $v = 30 \text{ mL/h}$; temperaturas de síntesis inicial $T_1 = 100 \text{ °C}$ y final $T_2 = 130 \text{ °C}$ y temperatura de almacenamiento de 4 °C. Así mismo, las eficiencias de extinción, dispersión y absorción en función de la longitud de onda máxima, determinadas por simulación computacional, indicaron que no varía con o sin la capa de quitosano.

Palabras clave: *Quitosano, nanopartículas de oro, UV-VIS, AFM.*

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la estabilidad temporal de nanopartículas esféricas de oro fabricadas con quitosano de tres pesos moleculares, como agente reductor/estabilizador, y la influencia temporal en su diámetro promedio.

Objetivos Específicos

- Sintetizar nanopartículas esféricas de oro empleando el biopolímero quitosán de bajo, medio y alto peso molecular como agente reductor/estabilizador.
- Estudiar la influencia de la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico durante el proceso de síntesis.
- Estudiar la estabilidad temporal de la variación del diámetro de las nanopartículas bajo dos temperaturas de almacenamiento (4 y 20 °C) mediante espectroscopía UV-visible (UV-Vis) y microscopía de fuerza atómica (AFM).
- Caracterizar la morfología y tamaño de las nanopartículas por microscopía de fuerza atómica.
- Determinar el diámetro promedio de nanopartícula empleando la teoría de Mie.

Introducción

El uso de nanoestructuras se incorporó desde hace siglos, los primeros ejemplos que se tienen son de aplicaciones en utensilios. No queda muy claro el momento en que se comenzaron a aprovechar las ventajas que tienen los materiales de dimensiones nanométricas. Se sabe que en el siglo IV a.C. los artesanos vidrieros romanos fabricaban cristales que contenían metales nanométricos [1]. Ejemplo de ello es la copa de Licurgo, que se considera entre los objetos de cristal más sofisticados producidos antes de la era moderna. Su color es verde, si la luz es reflejada, y cambia a rojo si la luz es transmitida a través de ella [2]. Otro ejemplo son los vitrales de las catedrales europeas, que deben sus colores a incrustaciones de nanopartículas de oro y otros óxidos metálicos. Ambos tipos de materiales se basaron en la compresión empírica, manipulación de los precursores, así como el uso de altas temperaturas como paso común en los procesos para producirlos [3].

En 1857 Faraday descubrió el oro coloidal, demostrando que el oro nanoestructurado bajo ciertas condiciones de luz produce soluciones de diferentes colores. En 1959 Richard Feynman propuso la idea del concepto de Nanotecnología, al sugerir el desarrollo de máquinas moleculares construidas con precisión atómica, durante su icónica conferencia titulada “There’s plenty of room at the bottom” [3]. Desde esa época hasta la fecha, se han logrado grandes avances.

Desde el punto de vista de su composición, existen diversos tipos de nanomateriales, entre ellos los cerámicos, metálicos, semiconductores, poliméricos o combinaciones de estos. Entre ellos se encuentran las nanopartículas (NPs), que son materiales de dimensión cero dado que sus tres dimensiones se encuentran en el régimen nanométrico. En especial las nanopartículas metálicas resultan interesantes por las propiedades mecánicas, eléctricas, magnéticas, ópticas y químicas que presentan [4].

El método de reducción de complejos metálicos, como en soluciones diluidas es uno de los métodos de síntesis de nanopartículas metálicas (NPMs) más utilizado. El tamaño uniforme de las nanopartículas se logra en la mayoría de los casos, por la combinación de un soluto o sal metálica que es el precursor y un agente reductor, como un polímero adherido durante el crecimiento de la nanopartícula [5].

En el caso de las nanopartículas esféricas de oro (AuNPs), se presenta un sólo espectro de absorción, y un máximo de absorción alrededor de 520 nm, que depende del tamaño y el medio dieléctrico que lo rodea, explicado por la teoría de Mie. La frecuencia y la anchura de la banda plasmónica dependen tanto del tamaño, como de la forma de la NP y del medio en el que estén suspendidas [6].

Las dispersiones de estas nanopartículas muestran un color intenso debido a la absorción que presentan y que se atribuye a la oscilación colectiva de electrones de conducción que es inducido por el campo eléctrico de la intensidad de la luz incidente [7].

El presente trabajo de tesis tiene como objetivo general, estudiar la estabilidad temporal de nanopartículas esféricas de oro fabricadas mediante ruta química empleando el biopolímero quitosano de tres pesos moleculares (PM) como agente reductor/estabilizador y su caracterización temporal mediante espectroscopía UV-visible (UV-VIS) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), bajo dos temperaturas de almacenamiento (4 y 20 °C)

En el Capítulo 1 se abordan los antecedentes, métodos de síntesis de nanopartículas y aspectos teóricos.

En el Capítulo 2 se describe la metodología y desarrollo experimental, que incluyen los reactivos y equipos, así como las técnicas de caracterización empleadas en este trabajo.

El Capítulo 3 presenta y discute los resultados experimentales y su correlación teórica con la determinación del diámetro de nanopartícula mediante la teoría de Mie.

En este trabajo de tesis se determinó que las mejores condiciones de fabricación y almacenamiento por seis meses corresponden al empleo de quitosano de medio peso molecular como agente reductor/estabilizador y temperatura de almacenamiento de 4 °C. Así mismo, las eficiencias de extinción, dispersión y absorción en función de la longitud de onda máxima, determinadas por simulación computacional, indicaron que no varía con o sin la capa de quitosano.

Nomenclatura y Abreviaturas

QPB	Quitosano de bajo peso molecular
QPM	Quitosano de medio peso molecular
QPA	Quitosano de alto peso molecular
AuNPs	Nanopartículas de oro
Ac. Ac.	Ácido acético
<i>H AuCl₄ · 3H₂O</i>	Ácido tetracloroáurico tri-hidratado
mM	Milimolar
AFM	Microscopía de Fuerza Atómica
UV-Vis	Espectroscopía Ultravioleta Visible
kDa	Kilodalton
nN	Nanonewton
λ_{spr}	Máximo de la banda del plasmón superficial localizado
A_{spr}	Máximo de absorbancia del plasmón superficial localizado
Q_{ext}	Eficiencia de extinción
Q_{abs}	Eficiencia de absorción
Q_{sca}	Eficiencia de dispersión

Índice General

Agradecimientos	I
Dedicatorias	II
Resumen.....	III
Objetivos	IV
Introducción	V
Nomenclatura y Abreviaturas	VII
Capítulo 1	1
Antecedentes	1
1.1 Teoría de Mie	1
1.1.1 Fundamentos	1
1.1.2 Solución general de la ecuación de onda.....	9
1.1.3 Coeficientes de Mie.....	9
1.1.4 Esfera recubierta	10
1.2 Resonancia de plasmones superficiales localizados	13
1.3 Síntesis de nanoestructuras	14
1.4 Técnicas de Caracterización	15
1.4.1 Microscopía de Fuerza Atómica	15
1.4.2 Espectroscopía ultravioleta-visible	16
Capítulo 2	19
Metodología y desarrollo experimental.....	19
2.1 Materiales	19
2.1.1 Reactivos	19
2.1.2 Equipos.....	20
2.2 Desarrollo experimental.....	22
2.2.1 Protocolo 1	22
2.2.2 Protocolo 2	22
2.2.3 Protocolo 3	23
2.2.4 Caracterizaciones	24
Espectroscopía UV-Vis (UV-Vis).....	24
Microscopia de fuerza atómica (AFM)	24

Capítulo 3	25
Resultados y discusión	25
3.1 Síntesis de AuNPs almacenadas a 20 °C y su caracterización mediante espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)	25
3.1.1 Síntesis y caracterización óptica: Protocolo 1	27
3.1.2 Síntesis y caracterización óptica: Protocolo 2	29
3.1.3 Síntesis y caracterización óptica: Protocolo 3	32
3.2 Estabilidad temporal de AuNPs coloidales almacenadas a 4 °C.....	35
3.2.1 Estabilidad temporal de AuNPs coloidales mediante UV-Vis: Protocolo 1	35
3.2.2 Estabilidad temporal de AuNPs coloidales mediante UV-Vis: Protocolo 2	36
3.2.3 Estabilidad temporal de AuNPs coloidales mediante UV-Vis: Protocolo 3	39
3.3 Microscopia de fuerza atómica y simulaciones en MiePlot	41
3.3.1 Caracterización por AFM	41
Determinación del tamaño de las AuNPs.....	42
Micrografías AFM	43
Histogramas de los radios promedio, obtenidos con el método manual.	49
Resumen de los radios promedio con los dos métodos utilizados	51
3.3.2 Simulaciones en MiePlot	52
Conclusiones	59
Bibliografía	60

Índice de Tablas

Tabla 1. Valores de absorbancia y transmitancia.	17
Tabla 2. Rotulación de muestras coloidales de oro sintetizadas con <i>Protocolo 1</i> y almacenadas a 20 °C y 4 °C.	22
Tabla 3. Rotulación de muestras coloidales de oro sintetizadas con <i>Protocolo 2</i> , almacenadas a T = 20 °C.	23
Tabla 4. Rotulación de muestras coloidales de oro sintetizadas con <i>Protocolo 2</i> con quitosano de medio peso molecular, a diferente velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico y almacenadas a T = 4 °C.	23
Tabla 5. Rotulación de muestras del <i>Protocolo 3</i> almacenadas a T = 20 °C.	23
Tabla 6. Rotulación de muestras coloidales de oro sintetizadas con <i>Protocolo 3</i> con quitosano de medio peso molecular, a diferente velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico y almacenadas a T = 4 °C.	24
Tabla 7. Se muestra los intervalos de tiempo en que se realizaron las mediciones de los espectros UV-Vis coloidales de AuNPs dado en horas, días, semanas y meses con el respectivo logaritmo natural del tiempo dado en horas.	26
Tabla 8. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras AuNPs sintetizadas con el <i>Protocolo 1</i>	29
Tabla 9. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con el <i>Protocolo 2</i>	32
Tabla 10. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con el <i>Protocolo 3</i>	34
Tabla 11. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con QMP aplicando el <i>Protocolo 1</i>	36
Tabla 12. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con QMP aplicando <i>Protocolo 2</i>	38
Tabla 13. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con QMP aplicando el <i>Protocolo 3</i>	41
Tabla 14. Radio promedio de las muestras PMP1R y PMP1.	43
Tabla 15. Radio promedio de las muestras PMP215 almacenadas a 20 °C y sintetizadas con 15 mL/h de velocidad de agregación de AuCl ₄ H 3H ₂ O.	45
Tabla 16. Radio promedio de las muestras PMP230, PMP330 y PMP330R sintetizadas con 30 mL/h de velocidad de agregación de AuCl ₄ H 3H ₂ O.	47
Tabla 17. Radio promedio de las muestras PMP270 almacenadas a 20 °C y sintetizadas con 70 mL/h de velocidad de agregación de AuCl ₄ H 3H ₂ O.	47
Tabla 18. Comparación de los datos teóricos y experimentales.	54

Índice de figuras

Figura 1. El campo incidente (E_i, H_i) da lugar a un campo dentro de la partícula (E_1, H_1) y un campo dispersado (E_s, H_s) en el medio que rodea la partícula.	2
Figura 2. Coordenadas esféricas polares de un sistema centrado en una partícula esférica de radio a	5
Figura 3. Esfera recubierta.	11
Figura 4. Resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR)	14
Figura 5. Diagrama esquemático de AFM. 1. Diodo láser; 2. Cantilever; 3. Espejo; 4. Fotodetector sensible a la posición; 5. Electrónica; 6. Escáner con muestra.	16
Figura 6. Luz incidente y transmitida a través de la celda de muestra.	17
Figura 7. Esquema de un espectrofotómetro convencional.	18
Figura 8. Estructura química del quitosano.	19
Figura 9. Espectrofotómetro Nanodrop One C.	20
Figura 10. Bomba de infusión KDS-100.	21
Figura 11. Microscopio de fuerza atómica Park XE7.	21
Figura 12. Proceso de síntesis de las AuNPs esféricas de la muestra PAP1 (<i>Protocolo 1</i>). Se muestran los cambios de tonalidades en los tiempos de síntesis de (a) 2 min, (b) 24 min, (c) 66 min y (d) 105 min.	25
Figura 13. Espectros de absorbancia de la banda de plasmones localizados típicos de la muestra coloidal PBP1 (<i>Protocolo 1</i>). Se muestran espectros en la primera hora, séptima hora, primer día, séptimo día, primer mes y quinto mes.	27
Figura 14. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el Protocolo 1 y almacenadas a $T= 20$ °C. (a) Máximos de absorbancia A_{SPR} vs $\ln t$, (b) máximos de la longitud de onda máxima λ_{SPR} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.	28
Figura 15. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el Protocolo 2 y almacenadas a $T= 20$ °C. (a), (b), (c) Máximos de absorbancia A_{SPR} vs $\ln t$; (d), (e), (f) máximos de la longitud de onda máxima λ_{SPR} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.	30
Figura 16. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el Protocolo 3 y almacenadas a $T= 20$ °C. (a), (b), (c) Máximos de absorbancia A_{SPR} vs $\ln t$; (d), (e), (f) Máximos de la longitud de onda máxima λ_{SPR} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.	33
Figura 17. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el Protocolo 1 usando quitosano de peso molecular medio y almacenadas a $T= 4$ °C. (a) Máximos de absorbancia A_{SPR} vs $\ln t$, (b) máximos de la longitud de onda máxima λ_{SPR} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.	36
Figura 18. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el protocolo 2 usando quitosano de peso molecular medio y almacenadas a $T= 4$ °C. (a) Máximos de	

absorbancia A_{SPR} vs $\ln t$, (b) máximos de la longitud de onda máxima λ_{SPR} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.....	38
Figura 19. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el Protocolo 3 usando quitosano de peso molecular medio y almacenadas a $T= 4\text{ }^{\circ}\text{C}$. (a) Máximos de absorbancia A_{SPR} vs $\ln t$, (b) máximos de la longitud de onda máxima λ_{SPR} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.....	40
Figura 20. Micrografía AFM y perfil del sustrato limpio de película de oro /vidrio.....	41
Figura 21. (a) Topografía de la muestra, (b) Implementación del algoritmo Watershed para la detección de los bordes.	42
Figura 22. Selección de los ejes de forma manual. mamualmente..	43
Figura 23. Imágenes AFM de (A) sustrato de vidrio con película de oro, (B) quinto mes de la segunda síntesis de PMP1R (refrigerada), (C) sexto mes de la primera síntesis de PMP1 (sin refrigerar). La columna izquierda muestra la topografía, en el centro la topografía 3D y la columna de la derecha corresponde a la fase.	44
Figura 24. Imágenes AFM de (A) sustrato limpio de vidrio con película de oro, (B) primera semana de la segunda síntesis (refrigerada) de PMP215, (C) sexto mes de la primera síntesis (sin refrigerar) de PMP215. La columna izquierda muestra la topografía, en el centro la topografía 3D y a la derecha la fase.	45
Figura 25. Micrografías AFM de: (A) sustrato limpio de película de oro/vidrio, (B) primera semana de la segunda síntesis (sin refrigerar) de PMP230, (C) sexto mes de la primera síntesis (sin refrigerar) de PMP230, (D) primer mes de la segunda síntesis (sin refrigerar) de PMP330 y (E) primer mes de la segunda síntesis de PMP330R (refrigerada). La columna izquierda muestra la topografía, al centro la topografía 3D y a la derecha la fase.	46
Figura 26. Micrografías AFM de (A) sustrato de vidrio con película de oro limpio, (B) primer mes de la segunda síntesis de PMP270 (sin refrigerar), (C) sexto mes de la primera síntesis de PMP270 (sin refrigerar). La columna de la izquierda muestra la topografía, al centro el perfil 3D de la topografía y a la derecha la fase.	48
Figura 27. Histogramas de la distribución de los radios promedio de las AuNPs.....	50
Figura 28. Radios promedio determinados con el algoritmo Watershed.....	51
Figura 29. Radios promedio obtenidos de forma manual.	52
Figura 30. Simulación computacional de Q_{ext} , Q_{sca} o Q_{abs} vs longitud de onda de las muestras de AuNPs coloidales PMP1R (refrigerada) y PMP1 (sin refrigerar). a) Quinto mes y b) sexto mes.....	54
Figura 31. Simulación computacional de Q_{ext} , Q_{sca} o Q_{abs} vs longitud de onda de la muestra PMP215 (sin refrigerar). a) Primera semana y b) sexto mes.	55
Figura 32. Simulación computacional de Q_{ext} , Q_{sca} o Q_{abs} vs longitud de onda de PMP230 (sin refrigerar) y PMP330R (refrigerada). a) Primera semana, b) Sexto mes, c) primer mes y d) primer mes.....	56
Figura 33. Simulación computacional de Q_{ext} , Q_{sca} o Q_{abs} vs longitud de onda de PMP270 (sin refrigerar). a) Primer mes y b) sexto mes.	56

Capítulo 1

Antecedentes

En este capítulo se hace una revisión de los fundamentos de la Teoría de Mie, así como de las técnicas de fabricación y caracterización de nanopartículas de oro sintetizadas por ruta química.

1.1 Teoría de Mie

1.1.1 Fundamentos

La primera teoría planteada sobre la dispersión esférica fue planteada en 1908 por Gustav Mie [8]. En ella, se describe clásicamente la interacción de una onda electromagnética plana con un dieléctrico esférico. La teoría de Mie se basa en las ecuaciones de Maxwell, a partir de las cuales se obtiene la ecuación de onda vectorial en coordenadas esféricas. Para los campos eléctrico y magnético de la onda incidente, su solución se puede expresar en forma de funciones matemáticas. En el caso de los campos dispersados a diferentes distancias de la esfera, la sección transversal de dispersión y la sección de extinción se determinan en función de una serie infinita que tienen asociados los polinomios de Legendre y las funciones de Bessel. Como no existe una solución analítica al problema, se hace uso de programas computacionales que permiten hacer los cálculos numéricos de las funciones y coeficientes.

Las ecuaciones de Maxwell para el campo electromagnético macroscópico en los puntos interiores en la materia vienen dadas por [9]:

$$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho \quad (1)$$

$$\nabla \times \mathbf{E} + \frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} = 0 \quad (2)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0 \quad (3)$$

$$\nabla \times \mathbf{H} = \mathbf{J} + \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} \quad (4)$$

donde t es el tiempo, \mathbf{E} el campo eléctrico, \mathbf{H} el campo magnético, \mathbf{D} el desplazamiento eléctrico, ρ la densidad de carga y \mathbf{J} la densidad de corriente. Todas las cantidades de las

ecuaciones (1), (2), (3), y (4) son funciones del tiempo y coordenadas espaciales. En las ecuaciones de Maxwell está implícita la ecuación de continuidad,

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \quad (5)$$

y para determinar de manera única el campo eléctrico y magnético de una distribución de cargas y corrientes debemos complementarlas con las relaciones constitutivas,

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E} \quad (6)$$

$$\mathbf{D} = \varepsilon \mathbf{E} \quad (7)$$

$$\mathbf{B} = \mu \mathbf{H} \quad (8)$$

donde σ es la conductividad, ε la permitividad eléctrica y μ la permeabilidad.

El problema por resolver es que, dada una partícula de tamaño, forma y propiedades ópticas específicas, que es iluminada por una onda monocromática polarizada arbitrariamente, buscamos determinar el campo electromagnético en todos los puntos de la partícula y en todos los puntos del medio homogéneo en el que está embebida la partícula.

El campo dentro de la partícula se denota por $(\mathbf{E}_1, \mathbf{H}_1)$. El campo $(\mathbf{E}_2, \mathbf{H}_2)$ en el medio que rodea la partícula, es la superposición del campo incidente $(\mathbf{E}_i, \mathbf{H}_i)$ y el campo dispersado $(\mathbf{E}_s, \mathbf{H}_s)$ (Figura 1),

$$\mathbf{E}_2 = \mathbf{E}_i + \mathbf{E}_s, \quad \mathbf{H}_2 = \mathbf{H}_i + \mathbf{H}_s. \quad (9)$$

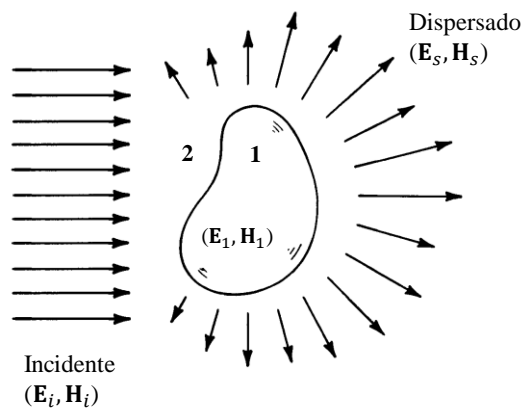


Figura 1. El campo incidente $(\mathbf{E}_i, \mathbf{H}_i)$ da lugar a un campo dentro de la partícula $(\mathbf{E}_1, \mathbf{H}_1)$ y un campo dispersado $(\mathbf{E}_s, \mathbf{H}_s)$ en el medio que rodea la partícula. Tomada de [9].

Sea el campo electromagnético incidente un armónico en el tiempo:

$$\mathbf{E}_i = \mathbf{E}_0 \exp(i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x} - i\omega t), \quad \mathbf{H}_i = \mathbf{H}_0 \exp(i\mathbf{k} \cdot \mathbf{x} - i\omega t) \quad (10)$$

donde \mathbf{k} es el vector de onda apropiado para el medio circundante.

Los campos deben satisfacer las ecuaciones de Maxwell,

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = 0 \quad (11)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{H} = 0 \quad (12)$$

$$\nabla \times \mathbf{E} = i\omega\mu\mathbf{H} \quad (13)$$

$$\nabla \times \mathbf{H} = -i\omega\varepsilon\mathbf{E} \quad (14)$$

en todos los puntos donde ε y μ son continuos. Aplicando el operador rotacional a las ecuaciones (13) y (14), y haciendo uso de la identidad vectorial para el triple producto cruz (15),

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{A}) = \nabla(\nabla \cdot \mathbf{A}) - \nabla \cdot (\nabla \mathbf{A}), \quad (15)$$

obtenemos la ecuación vectorial de onda para los campos \mathbf{E} y \mathbf{H} .

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = i\omega\mu \nabla \times \mathbf{H} \mapsto \nabla^2 \mathbf{E} = -k^2 \mathbf{E} \quad (16)$$

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{H}) = -i\omega\varepsilon \nabla \times \mathbf{E} \mapsto \nabla^2 \mathbf{H} = -k^2 \mathbf{H} \quad (17)$$

donde $k^2 = \omega^2 \varepsilon \mu$ y libre de divergencias.

Generalizando el problema a una partícula esférica de radio a e índice de refracción arbitrarios, donde para un campo electromagnético armónico en el tiempo físicamente realizable (\mathbf{E}, \mathbf{H}) en un medio lineal, isotrópico y homogéneo se debe satisfacer la ecuación de onda (16) y (17)

$$\nabla^2 \mathbf{E} + k^2 \mathbf{E} = 0, \quad \nabla^2 \mathbf{H} + k^2 \mathbf{H} = 0.$$

y ecuaciones de divergencia (11) y (12)

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = 0, \quad \nabla \cdot \mathbf{H} = 0.$$

Además, \mathbf{E} y \mathbf{H} se relacionan por,

$$\nabla \times \mathbf{E} = i\omega\mu\mathbf{H}, \quad \nabla \times \mathbf{H} = -i\omega\varepsilon\mathbf{E}.$$

Supongamos que, dada una función escalar ψ y un vector constante arbitrario \mathbf{c} , podemos construir una función vectorial \mathbf{M}

$$\mathbf{M} = \nabla \times (\mathbf{c}\psi),$$

donde

$$\nabla \cdot \mathbf{M} = 0. \quad (18)$$

Dado que,

$$\nabla \times (\mathbf{A} \times \mathbf{B}) = \mathbf{A}(\nabla \cdot \mathbf{B}) - \mathbf{B}(\nabla \cdot \mathbf{A}) + (\mathbf{B} \cdot \nabla)\mathbf{A} - (\mathbf{A} \cdot \nabla)\mathbf{B} \quad (19)$$

$$\nabla(\mathbf{A} \cdot \mathbf{B}) = \mathbf{A} \times (\nabla \times \mathbf{B}) + \mathbf{B} \times (\nabla \times \mathbf{A}) + (\mathbf{B} \cdot \nabla)\mathbf{A} + (\mathbf{A} \cdot \nabla)\mathbf{B} \quad (20)$$

tenemos

$$\nabla^2 \mathbf{M} + k^2 \mathbf{M} = \nabla \times [\mathbf{c}(\nabla^2 \psi + k^2 \psi)]. \quad (21)$$

Por lo tanto, \mathbf{M} satisface la ecuación vectorial de onda si ψ es una solución de la ecuación de onda escalar

$$\nabla^2 \psi + k^2 \psi = 0 \quad (22)$$

También podemos escribir $\mathbf{M} = -\mathbf{c} \times \nabla \psi$, lo que muestra que \mathbf{M} es perpendicular a \mathbf{c} .

Sea \mathbf{N} otra función vectorial que depende de \mathbf{M} ,

$$\mathbf{N} = \frac{\nabla \times \mathbf{M}}{k} \quad (23)$$

y con divergencia cero, que también satisface la ecuación de onda vectorial

$$\begin{aligned} \nabla^2 \mathbf{N} + k^2 \mathbf{N} &= 0 \\ \nabla^2 \mathbf{M} + k^2 \mathbf{M} &= 0. \end{aligned} \quad (24)$$

Entonces, una solución para la ecuación de onda vectorial satisface que

$$\mathbf{M} = \nabla \times (\mathbf{c}\psi) \quad (25)$$

y

$$\nabla \times \mathbf{N} = k\mathbf{M}. \quad (26)$$

Por lo tanto, \mathbf{M} y \mathbf{N} tienen todas las propiedades requeridas de un campo electromagnético: 1) Satisfacen la ecuación de onda vectorial, 2) están libres de divergencia, 3) el rotacional de \mathbf{M} es proporcional a \mathbf{N} y 4) el rotacional de \mathbf{N} es proporcional a \mathbf{M} . Entonces, el problema de

encontrar soluciones a las ecuaciones de campo se reduce al problema de determinar las soluciones a la ecuación de onda escalar.

Llamaremos a la función escalar ψ una función generadora de los armónicos vectoriales \mathbf{M} y \mathbf{N} , mientras que el vector \mathbf{c} se denomina vector guía o piloto. La elección de funciones generadoras viene dictada por la simetría que pueda existir en el problema.

En esta tesis, nos interesa la dispersión por una esfera metálica; por lo tanto, elegimos funciones ψ que satisfagan la ecuación de onda en coordenadas esféricas r, θ, ϕ (**Figura 2**). La elección del vector piloto \mathbf{c} , lo hacemos si tomamos

$$\mathbf{M} = \nabla \times (\mathbf{r}\psi), \quad (27)$$

donde \mathbf{r} es el radio vector. Entonces \mathbf{M} es una solución a la ecuación vectorial de onda en coordenadas esféricas. Por la simetría del problema de interés, tomaremos \mathbf{M} dado en (27) y la \mathbf{N} asociada, como nuestras soluciones fundamentales para las ecuaciones de campo. Se debe tener en cuenta que \mathbf{M} es en todas partes tangencial a cualquier esfera $|\mathbf{r}| = \text{constante}$ ($\mathbf{r} \cdot \mathbf{M} = 0$).

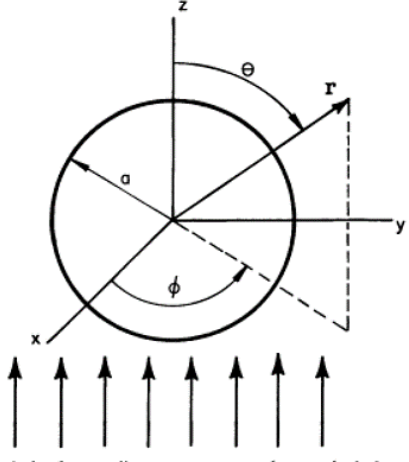


Figura 2. Coordenadas esféricas polares de un sistema centrado en una partícula esférica de radio a . Tomada de [9].

La ecuación de onda escalar en coordenadas esféricas está dada por

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial \psi}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2 \sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin \theta \frac{\partial \psi}{\partial \theta} \right) + \left(\frac{1}{r^2 \sin^2 \theta} \frac{\partial^2 \psi}{\partial \phi^2} \right) + k^2 \psi = 0. \quad (28)$$

Y los operadores gradiente y laplaciano en coordenadas esféricas son,

$$\nabla\psi = \frac{\partial\psi}{\partial r}\hat{e}_r + \frac{1}{r}\frac{\partial\psi}{\partial\theta}\hat{e}_\theta + \frac{1}{r\sin\theta}\frac{\partial\psi}{\partial\phi}\hat{e}_\phi \quad (29)$$

$$\nabla^2\psi = \frac{1}{r^2}\frac{\partial}{\partial r}\left(r^2\frac{\partial\psi}{\partial r}\right) + \frac{1}{r^2\sin\theta}\frac{\partial}{\partial\theta}\left(\sin\theta\frac{\partial\psi}{\partial\theta}\right) + \left(\frac{1}{r^2\sin^2\theta}\frac{\partial^2\psi}{\partial\phi^2}\right). \quad (30)$$

Para resolver este problema, muy conocido en la teoría electromagnética, utilizamos el método de separación de variables. Se propone una solución de (28) de la forma

$$\psi(r, \theta, \phi) = R(r)\Theta(\theta)\Phi(\phi)$$

la cual se reduce a

$$\frac{1}{R}\frac{\partial}{\partial r}\left(r^2\frac{\partial R}{\partial r}\right) + \frac{1}{\Theta\sin\theta}\frac{\partial}{\partial\theta}\left(\sin\theta\frac{\partial\Theta}{\partial\theta}\right) + k^2r^2 - \frac{m^2}{\sin^2\theta} = 0 \quad (31)$$

donde se separan como tres ecuaciones de variables independientes,

$$-m^2 = \frac{1}{\Phi}\frac{\partial^2\Phi}{\partial\phi^2} \quad (32)$$

$$\frac{1}{R}\frac{d}{dr}\left(r^2\frac{\partial R}{\partial r}\right) + k^2r^2 = \text{const.} = n(n+1) \quad (33)$$

$$\frac{1}{\Theta\sin\theta}\frac{d}{d\theta}\left(\sin\theta\frac{d\Theta}{d\theta}\right) - \frac{m^2}{\sin^2\theta} = -n(n+1), \quad (34)$$

donde n es un número entero. O, equivalentemente

$$\frac{d}{dr}\left(r^2\frac{dR}{dr}\right) + [k^2r^2 - n(n+1)]R = 0, \quad (35)$$

$$\frac{1}{\sin\theta}\frac{d}{d\theta}\left(\sin\theta\frac{d\Theta}{d\theta}\right) + \left[n(n+1) - \frac{m^2}{\sin^2\theta}\right]\Theta = 0, \quad (36)$$

$$\frac{d^2\Phi}{d\phi^2} + m^2\Phi = 0, \quad (37)$$

Haciendo $\xi = \cos\theta$ en la ecuación (36), se obtiene (38) cuyas soluciones son los polinomios de Legendre dados por (39)

$$\frac{d}{d\xi}\left[(1-\xi^2)\frac{d\Theta}{d\xi}\right] + \left[n(n+1) - \frac{m^2}{1-\xi^2}\right]\Theta = 0 \quad (38)$$

$$\Theta = P_n^m(\xi) = P_n^m(\cos \theta). \quad (39)$$

La ecuación (37) presenta soluciones

$$\Phi = a_m \cos m\phi + b_m \sin m\phi \quad (40)$$

donde a_l y b_l son constantes arbitrarias que se determinan usando las condiciones de frontera.

En la ecuación (35), se realizan los cambios de variable $\rho = kr$ y $Z = R\sqrt{\rho}$, obteniendo

$$\rho \frac{d}{d\rho} \left(\rho \frac{dZ}{d\rho} \right) + \left[\rho^2 - n \left(n + \frac{1}{2} \right)^2 \right] Z = 0. \quad (41)$$

Las soluciones linealmente independientes de la ecuación (41), son las funciones esféricas de Bessel de primer y segundo tipo de orden $n + \frac{1}{2}$ dadas por

$$j_n(\rho) = \sqrt{\frac{\pi}{2\rho}} J_{n+\frac{1}{2}}(\rho) \quad (42)$$

$$y_n(\rho) = \sqrt{\frac{\pi}{2\rho}} Y_{n+\frac{1}{2}}(\rho), \quad (43)$$

donde el factor $\sqrt{\frac{\pi}{2}}$ se introduce por conveniencia. Las funciones esféricas de Bessel (42) y (43) satisfacen las relaciones de recurrencia

$$z_{n-1}(\rho) + z_{n+1}(\rho) = \frac{2n+1}{\rho} z_n(\rho), \quad (44)$$

$$(2n+1) \frac{d}{d\rho} z_n(\rho) = n z_{n-1}(\rho) - (n+1) z_{n+1}(\rho), \quad (45)$$

donde z_n es j_n o y_n . Para los dos primeros órdenes tenemos,

$$\begin{aligned} j_0(\rho) &= \frac{\sin \rho}{\rho}, & j_1(\rho) &= \frac{\sin \rho}{\rho^2} - \frac{\cos \rho}{\rho}, \\ y_0(\rho) &= -\frac{\cos \rho}{\rho}, & y_1(\rho) &= -\frac{\cos \rho}{\rho^2} - \frac{\sin \rho}{\rho}. \end{aligned}$$

Las funciones de orden superior se pueden generar con las relaciones de recurrencia. Para todos los órdenes n , $y_n(kr)$ se vuelve infinito a medida que r se acerca al origen.

Nótese que cualquier combinación lineal de j_n y y_n , también es una solución de (35). Entonces, es posible tomar como soluciones fundamentales para (35) dos cualesquiera

combinaciones linealmente independientes. Sean soluciones entonces, las funciones esféricas de Bessel de tercer tipo (funciones de Hankel) dadas por

$$h_n^1(\rho) = j_n(\rho) + iy_n(\rho), \quad (46)$$

$$h_n^2(\rho) = j_n(\rho) - iy_n(\rho). \quad (47)$$

De esta forma, las funciones generadoras que satisfacen la ecuación de onda escalar en coordenadas polares esféricas vienen dadas por

$$\psi_{emn} = \cos m\phi P_n^m(\cos \theta) z_n(kr) \quad (48)$$

$$\psi_{omn} = \sin m\phi P_n^m(\cos \theta) z_n(kr) \quad (49)$$

donde z_n es cualquiera de las cuatro funciones esféricas de Bessel j_n , y_n , h_n^1 o h_n^2 .

Las funciones de Hankel de primera y segunda especie son usadas para representar las soluciones de ondas entrantes y salientes de una ecuación con simetría cilíndrica y esférica.

Además, debido a la integridad de las funciones $\cos m\phi$, $\sin m\phi$, $P_n^m(\cos \theta)$ y $z_n(kr)$, cualquier función que satisfaga la ecuación de onda escalar en coordenadas esféricas puede expandirse como una serie infinita en las funciones (48)-(49). Los vectores armónicos esféricos generados por ψ_{emn} (par) y ψ_{omn} (impar) corresponden a

$$\mathbf{M}_{emn} = \nabla \times (\mathbf{r}\psi_{emn}), \quad \mathbf{M}_{omn} = \nabla \times (\mathbf{r}\psi_{omn}),$$

$$\mathbf{N}_{emn} = \frac{\nabla \times \mathbf{M}_{emn}}{k}, \quad \mathbf{N}_{omn} = \frac{\nabla \times \mathbf{M}_{omn}}{k},$$

que en componentes pueden ser escritos como

$$\mathbf{M}_{emn} = \frac{-m}{\sin \theta} \sin m\phi P_n^m(\cos \theta) z_n(\rho) \hat{\mathbf{e}}_\theta - \cos m\phi \frac{dP_n^m(\cos \theta)}{d\theta} z_n(\rho) \hat{\mathbf{e}}_\phi, \quad (50)$$

$$\mathbf{M}_{omn} = \frac{m}{\sin \theta} \cos m\phi P_n^m(\cos \theta) z_n(\rho) \hat{\mathbf{e}}_\theta - \sin m\phi \frac{dP_n^m(\cos \theta)}{d\theta} z_n(\rho) \hat{\mathbf{e}}_\phi, \quad (51)$$

y

$$\begin{aligned} \mathbf{N}_{emn} = & \frac{z_n(\rho)}{\rho} \cos m\phi n(n+1) P_n^m(\cos \theta) \hat{\mathbf{e}}_r \\ & + \cos m\phi \frac{dP_n^m(\cos \theta)}{d\theta} \frac{1}{\rho} \frac{d}{d\rho} [\rho z_n(\rho)] \hat{\mathbf{e}}_\theta \\ & - m \sin m\phi \frac{P_n^m(\cos \theta)}{\sin \theta} \frac{1}{\rho} \frac{d}{d\rho} [\rho z_n(\rho)] \hat{\mathbf{e}}_\phi, \end{aligned} \quad (52)$$

$$\begin{aligned}
\mathbf{N}_{omn} &= \frac{z_n(\rho)}{\rho} \sin m\phi n(n+1) P_n^m(\cos\theta) \hat{\mathbf{e}}_r \\
&+ \sin m\phi \frac{dP_n^m(\cos\theta)}{d\theta} \frac{1}{\rho} \frac{d}{d\rho} [\rho z_n(\rho)] \hat{\mathbf{e}}_\theta \\
&+ m \cos m\phi \frac{P_n^m(\cos\theta)}{\sin\theta} \frac{1}{\rho} \frac{d}{d\rho} [\rho z_n(\rho)] \hat{\mathbf{e}}_\phi.
\end{aligned} \tag{53}$$

1.1.2 Solución general de la ecuación de onda

Dadas las soluciones individuales para cada coordenada, la solución general de la función escalar propuesta $\psi(r, \theta, \phi)$, corresponde a

$$\psi(r, \theta, \phi) = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n P_n^m(\cos\theta) (c_n j(kr) + d_n y(kr)) * (a_m \cos m\phi + b_m \sin m\phi). \tag{54}$$

Debido a las soluciones periódicas presentes, habrá una solución par ψ_{emn} y otra impar ψ_{omn}

$$\psi_{emn} = \cos m\phi P_n^m(\cos\theta) z_n(kr) \tag{55}$$

$$\psi_{omn} = \sin m\phi P_n^m(\cos\theta) z_n(kr) \tag{56}$$

donde cualquier combinación lineal de estas funciones es solución de la ecuación de onda escalar.

1.1.3 Coeficientes de Mie

En la dispersión y absorción por una esfera, se deben considerar algunas cantidades observables que varían con el tamaño y las propiedades ópticas de la esfera, y el medio que la rodea. Los coeficientes de dispersión se simplifican tomando en cuenta que la permeabilidad magnética de la partícula y el medio circundante presentan el mismo valor (*i.e.* materiales diamagnéticos)

$$a_n = \frac{m\psi_n(mx)\psi_n'(x) - \psi_n(x)\psi_n'(mx)}{m\psi_n(mx)\zeta_n'(x) - \zeta_n(x)\psi_n'(mx)} \tag{57}$$

$$b_n = \frac{\psi_n(mx)\psi_n'(x) - m\psi_n(x)\psi_n'(mx)}{\psi_n(mx)\zeta_n'(x) - m\zeta_n(x)\psi_n'(mx)} \tag{58}$$

donde $\psi_n = \rho j_n(\rho)$ y $\zeta_n = \rho h_n^{(1)}(\rho)$ son las funciones de Riccati-Bessel, $m = \frac{n_1}{n}$ es el índice de refracción relativo, n_1 el índice de refracción de la partícula esférica, n el índice de

refracción del medio que lo rodea, x es el parámetro de tamaño y a el radio de la partícula tal que $x = ka = \frac{2\pi a}{\lambda}$ para una longitud de onda incidente λ .

La sección transversal de extinción para una esfera se calcula dividiendo la razón neta W_s , en la cual la energía electromagnética es dispersada cuando cruza a través de la superficie de la esfera, y la irradiancia de luz incidente I_i

$$\sigma_{ext} = \frac{W_s}{I_i} = \frac{2\pi}{k^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \Re(a_n + b_n) \quad (59)$$

Similarmente, la sección transversal de dispersión es

$$\sigma_{sca} = \frac{2\pi}{k^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \quad (60)$$

$$\sigma_{abs} = \sigma_{ext} - \sigma_{sca}. \quad (61)$$

Las eficiencias de dispersión relacionan las secciones eficaces con el área de la partícula, $A = \pi a^2$,

$$Q_{ext} = \frac{\sigma_{ext}}{\pi R^2} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1) \Re(a_n + b_n) \quad (62)$$

$$Q_{sca} = \frac{\sigma_{sca}}{\pi R^2} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \quad (63)$$

$$Q_{abs} = Q_{ext} - Q_{sca}. \quad (64)$$

1.1.4 Esfera recubierta

El campo dispersado por cualquier partícula esféricamente simétrica compuesta de materiales descritos por las relaciones constitutivas (6) y (8), tienen la misma forma que el dispersado por la esfera homogénea considerada anteriormente. Sin embargo, la forma funcional de los coeficientes a_n y b_n depende de la variación radial de ε y μ . Consideraremos el problema de la dispersión de una esfera homogénea recubierta con una capa homogénea de espesor uniforme, cuya solución fue obtenida por primera vez por Aden y Kerker (1951) [9]. El ejemplo de una partícula con índice de refracción espacialmente variable (ver **Figura 3**), se puede generalizar a una esfera con varias capas.

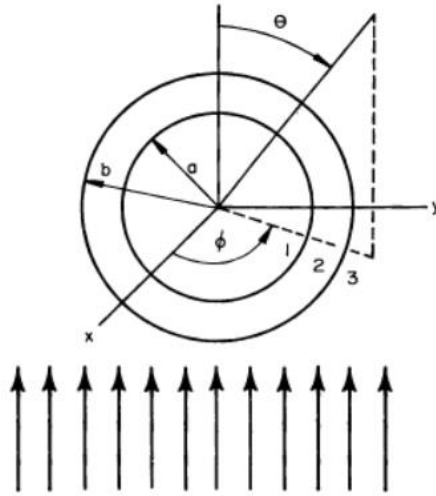


Figura 3. Esfera recubierta. Tomada de [9].

Supongamos que una onda electromagnética dada por (65) y (66), incide sobre una esfera recubierta con radio interior a y radio exterior b (**Figura 3**)

$$\mathbf{E}_i = E_0 \sum_{n=1}^{\infty} i^n \frac{2n+1}{n(n+1)} (\mathbf{M}_{oln}^{(1)} - i\mathbf{N}_{eln}^{(1)}) \quad (65)$$

$$\mathbf{H}_i = \frac{-k}{\omega\mu} E_0 \sum_{n=1}^{\infty} i^n \frac{2n+1}{n(n+1)} (\mathbf{M}_{eln}^{(1)} + i\mathbf{N}_{oln}^{(1)}). \quad (66)$$

El campo electromagnético ($\mathbf{E}_1, \mathbf{H}_1$) en la región $0 \leq r \leq a$ viene dado por (67), (68) y el campo disperso ($\mathbf{E}_s, \mathbf{H}_s$) por (69), (70). Debido al requisito de existencia en el origen, la parte radial de las funciones (48), (49) que generan los armónicos vectoriales en la expansión de ($\mathbf{E}_1, \mathbf{H}_1$) está restringido a j_n

$$\mathbf{E}_1 = \sum_{n=1}^{\infty} E_n (c_n \mathbf{M}_{oln}^{(1)} - i d_n \mathbf{N}_{eln}^{(1)}) \quad (67)$$

$$\mathbf{H}_1 = \frac{-k_1}{\omega\mu_1} \sum_{n=1}^{\infty} E_n (d_n \mathbf{M}_{eln}^{(1)} + i c_n \mathbf{N}_{oln}^{(1)}) \quad (68)$$

$$\mathbf{E}_s = \sum_{n=1}^{\infty} E_n (i a_n \mathbf{N}_{eln}^{(3)} - b_n \mathbf{M}_{oln}^{(3)}) \quad (69)$$

$$\mathbf{H}_s = \frac{k}{\omega\mu} \sum_{n=1}^{\infty} E_n (i b_n \mathbf{N}_{oln}^{(3)} + a_n \mathbf{M}_{eln}^{(3)}). \quad (70)$$

Sin embargo, en la región $a \leq r \leq b$ ($a \neq 0$) ambas funciones esféricas de Bessel, j_n y y_n , son finitas. Como consecuencia, la expansión del campo $(\mathbf{E}_2, \mathbf{H}_2)$ en esta región es

$$\mathbf{E}_2 = \sum_{n=1}^{\infty} E_n \left[f_n \mathbf{M}_{oln}^{(1)} - i g_n \mathbf{N}_{eln}^{(1)} + v_n \mathbf{M}_{oln}^{(2)} - i w_n \mathbf{N}_{eln}^{(2)} \right] \quad (71)$$

$$\mathbf{H}_2 = \frac{k_2}{\omega \mu_2} \sum_{n=1}^{\infty} E_n \left[g_n \mathbf{M}_{eln}^{(1)} + i f_n \mathbf{N}_{oln}^{(1)} + w_n \mathbf{M}_{eln}^{(2)} + i v_n \mathbf{N}_{oln}^{(2)} \right] \quad (72)$$

donde los armónicos vectoriales \mathbf{M}_{emn} , \mathbf{M}_{omn} , \mathbf{N}_{emn} y \mathbf{N}_{omn} generados por funciones de la forma (48), (49) con dependencia radial $y_n(k_2 r)$.

Las condiciones de frontera (73) y (74)

$$(\mathbf{E}_2 - \mathbf{E}_1) \times \hat{\mathbf{e}}_r = 0, \quad (\mathbf{H}_2 - \mathbf{H}_1) \times \hat{\mathbf{e}}_r = 0, \quad r = a \quad (73)$$

$$(\mathbf{E}_s + \mathbf{E}_i - \mathbf{E}_2) \times \hat{\mathbf{e}}_r = 0, \quad (\mathbf{H}_s + \mathbf{H}_i - \mathbf{H}_2) \times \hat{\mathbf{e}}_r = 0, \quad r = b \quad (74)$$

se obtienen las ecuaciones (78) a (85), para $a_n, b_n, c_n, d_n, f_n, g_n, v_n, w_n$

$$f_n m_1 \psi_n(m_2 x) - v_n m_1 \chi_n(m_2 x) - c_n m_2 \psi_n(m_1 x) = 0 \quad (75)$$

$$w_n m_1 \chi_n'(m_2 x) - g_n m_1 \psi_n'(m_2 x) + d_n m_2 \psi_n'(m_1 x) = 0 \quad (76)$$

$$v_n \mu_1 \chi_n'(m_2 x) - f_n \mu_1 \psi_n'(m_2 x) + c_n \mu_2 \psi_n'(m_1 x) = 0 \quad (77)$$

$$g_n \mu_1 \psi_n(m_2 x) - w_n \mu_1 \chi_n(m_2 x) - d_n \mu_2 \psi_n(m_1 x) = 0 \quad (78)$$

$$m_2 \psi_n'(y) - a_n m_2 \xi_n'(y) - g_n \psi_n'(m_2 y) + w_n \chi_n'(m_2 y) = 0 \quad (79)$$

$$m_2 b_n \xi_n(y) - m_2 \psi_n(y) + f_n \psi_n(m_2 y) - v_n \chi_n(m_2 y) = 0 \quad (80)$$

$$\mu_2 \psi_n(y) - a_n \mu_2 \xi_n(y) - g_n \mu \psi_n(m_2 y) + w_n \mu \chi_n(m_2 y) = 0 \quad (81)$$

$$b_n \mu_2 \xi_n'(y) - \mu_2 \psi_n'(y) + f_n \mu \psi_n'(m_2 y) - v_n \mu \chi_n'(m_2 y) = 0 \quad (82)$$

donde m_1 y m_2 son los índices de refracción el núcleo y el revestimiento en relación con el medio circundante; μ, μ_1, μ_2 son las permeabilidades del medio circundante, el núcleo y el revestimiento, respectivamente; y $x = ka$, $y = kb$. La función de Riccati-Bessel $\chi_n(z)$ es $-zy_n(z)$.

Supongamos el caso en que $\mu = \mu_1 = \mu_2$. Resolviendo las ecuaciones (75)-(82) para los coeficientes de dispersión a_n y b_n , tenemos

$$a_n = \frac{\psi_n(y)[\psi'_n(m_2 y) - A_n \chi'_n(m_2 y)] - m_2 \psi'_n(y)[\psi_n(m_2 y) - A_n \chi_n(m_2 y)]}{\xi_n(y)[\psi'_n(m_2 y) - A_n \chi'_n(m_2 y)] - m_2 \xi'_n(y)[\psi_n(m_2 y) - A_n \chi_n(m_2 y)]} \quad (83)$$

$$b_n = \frac{m_2 \psi_n(y)[\psi'_n(m_2 y) - B_n \chi'_n(m_2 y)] - \psi'_n(y)[\psi_n(m_2 y) - B_n \chi_n(m_2 y)]}{m_2 \xi_n(y)[\psi'_n(m_2 y) - B_n \chi'_n(m_2 y)] - \xi'_n(y)[\psi_n(m_2 y) - B_n \chi_n(m_2 y)]} \quad (84)$$

$$A_n = \frac{m_2 \psi_n(m_2 x) \psi'_n(m_1 x) - m_1 \psi'_n(m_2 x) \psi_n(m_1 x)}{m_2 \chi_n(m_2 x) \psi'_n(m_1 x) - m_1 \chi'_n(m_2 x) \psi_n(m_1 x)} \quad (85)$$

$$B_n = \frac{m_2 \psi_n(m_1 x) \psi'_n(m_2 x) - m_1 \psi_n(m_2 x) \psi'_n(m_1 x)}{m_2 \chi'_n(m_2 x) \psi_n(m_1 x) - m_1 \psi'_n(m_1 x) \chi_n(m_2 x)}. \quad (86)$$

Si $m_1 = m_2$, entonces $A_n = B_n = 0$ y los coeficientes (85), (86) se reducen a los de una esfera homogénea. También tenemos $\lim_{a \rightarrow 0} A_n = \lim_{a \rightarrow 0} B_n = 0$; por lo tanto, en el límite del radio cero del núcleo, los coeficientes (85) y (86) se reducen a los de una esfera de radio b con índice de refracción relativo m_2 , según se requiera. Cuando $m_2 = 1$, los coeficientes se reducen a los de una esfera de radio a y un índice de refracción relativo m_1 .

1.2 Resonancia de plasmones superficiales localizados

Si a nanopartículas esféricas de oro re-suspendidas en un medio acuoso se le hace incidir luz, se emitirán una variedad de tonos del rojo rubí hasta púrpura, resultado de una oscilación colectiva de electrones de la banda electrónica de conducción cerca del nivel de Fermi. Esta propiedad óptica es la resonancia de plasmones superficiales localizados (SPRL) [10] que se observa en espectroscopía UV-Visible como una única banda máxima de absorción. La ubicación de la banda SPRL es característica para el material, el tamaño, la forma y el medio circundante de las nanopartículas.

Cuando el campo eléctrico de la luz interacciona con la nanopartícula metálica, este produce movimiento de los electrones de conducción que se desplazarán hacia la superficie generando un dipolo eléctrico cuyo campo eléctrico es opuesto al de la luz, forzando el retorno de los electrones a la posición de equilibrio (**Figura 4**). La oscilación de la densidad electrónica a una cierta frecuencia origina una banda de absorción conocida como banda de

plasmones de superficie localizados, que para nanopartículas de oro (AuNPs) se observa en la región visible a partir de 500 nm.

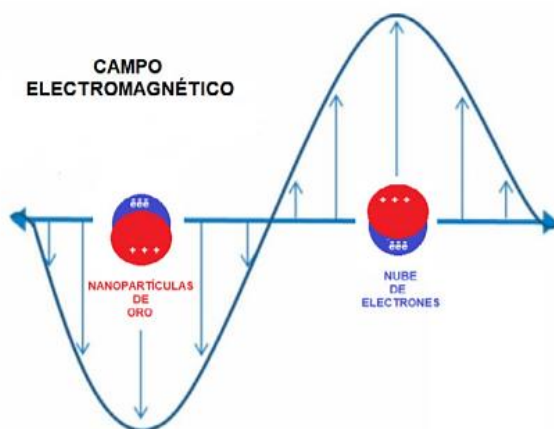


Figura 4. Resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR). Tomada de [10].

1.3 Síntesis de nanoestructuras

Los métodos para obtener una amplia gama de nanoestructuras, generalmente se dividen en dos rutas:

1. Los métodos que reducen partículas macroscópicas a un tamaño nanométrico, se les conoce como “top-down”.
2. Por otro lado, a los métodos que inician con átomos que se agregan en una solución o en fase gaseosa para formar partículas de tamaño nanométrico se les conoce como “bottom-up”.

En ellos, las rutas para la síntesis de nanomateriales se pueden clasificar en tres grandes métodos: 1) químicos, 2) físicos y 3) biológicos.

A diferencia de los métodos físicos donde por ejemplo puede tomarse un blanco y desbstarlo (ablación láser), los métodos químicos implican transformaciones químicas, generalmente de reducción de iones metálicos para la formación de nanopartículas metálicas. Por su parte, los métodos biológicos emplean organismos vivos, por ejemplo hongos, para su obtención [11]. En esta tesis se empleó una ruta de síntesis de reducción química de una sal, para la fabricación de AuNPs empleando un biopolímero de tres pesos moleculares como agente reductor y estabilizador.

1.4 Técnicas de Caracterización

El tamaño y la estructura a escala atómica de las NPs dependen del método de fabricación, la temperatura empleada durante la síntesis y entornos a los que están expuestos posteriormente [12]. En general, junto al tamaño, la forma de una nanopartícula tiene gran influencia en el espectro de absorción. Para la caracterización morfológica, composicional y óptica se emplean diversas técnicas físicas y químicas. En este trabajo se empleó espectroscopía UV-Vis (UV-Vis), para la determinación de las bandas plasmónicas y la isoterma de absorbancia vs tiempo fueron determinadas, mientras que la morfología y tamaño de partícula fueron determinadas mediante microscopía de fuerza atómica (AFM).

1.4.1 Microscopía de Fuerza Atómica

La microscopía de fuerza atómica es una técnica que no sólo nos permite ver y medir la morfología de la superficie con una resolución atómica, sino también permite investigar varias propiedades de las muestras, en particular propiedades mecánicas [13].

El microscopio de fuerza atómica fue inventado en 1986 por Binnig, Quate y Gerber. Este funciona según el principio de interacciones mecánicas en lugar de electrónicas entre la punta (montada en una micropalanca, voladizo o *cantilever*) y la superficie de la muestra. A medida que la punta se acerca a unas pocas decenas de nanómetros, entra en el régimen de una fuerza atractiva de van der Waals. La punta es atraída débilmente hacia la superficie de la muestra y, a medida que se acerca a la muestra, la punta se encuentra en el régimen repulsivo en términos del potencial de Lennard-Jones, donde la punta es repelida fuertemente de la superficie de la muestra. Si se mide la fuerza de atracción o de repulsión mediante la mecánica del resorte que refleja la interacción de la punta con la superficie de la muestra, se puede reproducir el mapa del contorno de la superficie de la muestra en términos de su altura [14].

En la **Figura 5** se muestra un diagrama esquemático de un AFM, la punta se encuentra montada en una micropalanca, a la cual se le hace incidir un láser. Así, cada vez que la punta sube o baja debido a la interacción con la superficie que se encuentra analizando, la micropalanca refleja la desviación del láser a un fotodetector y es interpretada por el software del instrumento, generando una imagen [15].

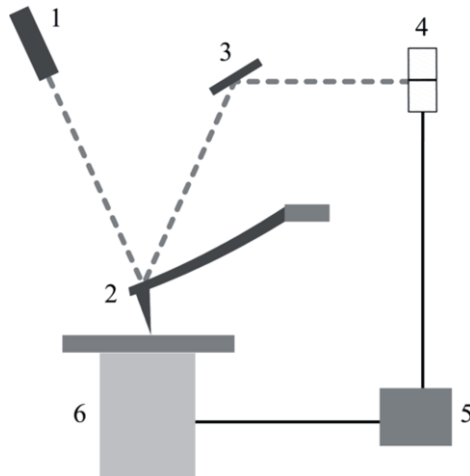


Figura 5. Diagrama esquemático de AFM. 1. Diodo láser; 2. Cantilever; 3. Espejo; 4. Fotodetector sensible a la posición; 5. Electrónica; 6. Escáner con muestra. Tomada de [16].

El microscopio puede trabajar en los siguientes modos:

- *Modo de contacto:* Es el método más directo, donde la punta se pone en contacto con la superficie de la muestra y la deflexión del cantilever se mantiene constante durante el escaneo [16].
- *Modo de no-contacto:* La punta es levemente distanciada de la muestra, mientras que el cantilever se excita cerca de su frecuencia de resonancia de modo que vibre cerca de la superficie de la muestra, por lo que la interacción entre punta-muestra varía.
- *Modo intermitente (tapping mode):* La superficie de la muestra se escanea mientras el cantilever oscila a una frecuencia cercana a su frecuencia de resonancia. La amplitud de estas vibraciones se ve afectada por las interacciones entre la punta y la superficie. Las imágenes topográficas se obtienen gracias a estas diferencias en amplitud o fase. Este modo es más suave con la punta a diferencia del modo de contacto [17].

1.4.2 Espectroscopía ultravioleta-visible

La espectroscopía ultravioleta-visible o espectrofotometría UV-Vis es una técnica que se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y visible) que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente.

Un espectrofotómetro UV-Vis es un instrumento para medir la transmitancia o absorbancia de una muestra, en función de la longitud de onda de la radiación electromagnética.

Para cada longitud de onda de luz que pasa a través del espectrofotómetro, se mide la intensidad de la luz que pasa a través de la celda de la muestra. A esta cantidad se le denomina I_0 (luz incidente) y a la cantidad de luz que atraviesa la celda de muestra y emerge por el otro lado se le llama I (luz transmitida), como se observa en la **Figura 6**.

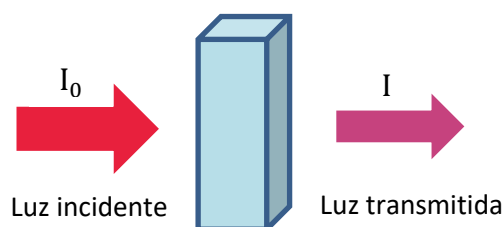


Figura 6. Luz incidente y transmitida a través de la celda de muestra.

Cuando se calcula el porcentaje de transmitancia (%T), se relacionan estos dos valores mediante $\% T = \left(\frac{I}{I_0}\right) * 100\%$, que es una medida de la luz que atraviesa la muestra para después incidir en el detector. Si I es menor que I_0 quiere decir que la muestra ha absorbido luz. La absorbancia A , es la cantidad de luz que absorbe la muestra, y se relaciona con la transmitancia T por

$$A = -\log T = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) \quad (87)$$

En la **Tabla 1** se muestran los valores de absorbancia y transmitancia.

Tabla 1. Valores de absorbancia y transmitancia.

Absorbancia	Transmitancia
0	1
0.1	0.79
0.25	0.56
0.5	0.32
0.75	0.18
0.9	0.13
1	0.1
2	0.01
3	0.001

Los espectrofotómetros pueden tener una configuración ya sea de haz simple o de haz doble. En un espectrofotómetro de haz sencillo, el haz de luz sigue una única trayectoria entre la fuente y el detector. La muestra estándar o de referencia se mide primero para tener una lectura de base y posteriormente se analiza la muestra.

En un espectrofotómetro de haz doble la luz proveniente de la fuente es dividida en dos haces después de salir del monocromador mediante un sistema de espejos divisores. Esta división produce dos haces de luz, uno de ellos se dirige a la celda de referencia, que contiene el blanco, y el otro haz se dirige hacia la celda de muestra. Los dos haces de luz después de atravesar la celda de referencia y la de muestra llegan a detectores separados para obtener la señal correspondiente [18].

Las componentes básicas de un espectrofotómetro (**Figura 7**) son:

- Una fuente que genera una banda ancha de radiación electromagnética.
- Un dispositivo de dispersión que selecciona una longitud de onda particular de la radiación de la fuente.
- Un área de muestra.
- Uno o más detectores para medir la intensidad de la radiación.
- Otros componentes ópticos, como lentes ópticos o espejos, transmiten la luz a través del instrumento [19].

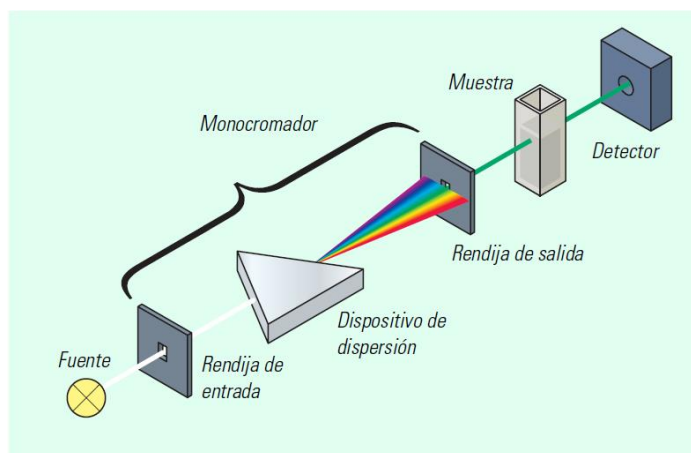


Figura 7. Esquema de un espectrofotómetro convencional. Tomada de [19].

Capítulo 2

Metodología y desarrollo experimental

En este capítulo se describe la metodología aplicada en la realización del presente trabajo de tesis, incluyendo los reactivos y protocolos empleados para la síntesis de las nanopartículas de oro y los equipos de fabricación y caracterización de las muestras.

2.1 Materiales

2.1.1 Reactivos

Quitosano

El quitosano o quitosán es un copolímero natural, amino-polisacárido catiónico y N-acetilglucosamida obtenido por la desacetilación alcalina de la quitina, que es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza y se encuentra en crustáceos y algunos hongos. El quitosano es un biopolímero mucoadhesivo no tóxico, biodegradable, biocompatible y cargado positivamente. Las condiciones utilizadas para la desacetilación determinarán el peso molecular promedio y el grado de desacetilación [20]. El quitosano tiene tres tipos de grupos funcionales reactivos, un grupo amino/acetamido, así como grupos hidroxilo primarios y secundarios [21]. La **Figura 8** muestra la fórmula estructural del quitosano.

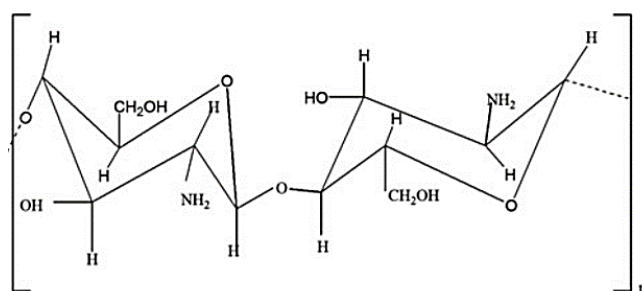


Figura 8. Estructura química del quitosano. Tomada de [20].

En este trabajo de tesis se emplea la ruta de síntesis química por reducción de ácido tetracloroáurico tri-hidratado para la fabricación de nanopartículas de oro (AuNPs), empleando al quitosano como agente reductor/estabilizador durante y después del proceso de fabricación de las muestras. En esta tesis se proponen emplear tres diferentes pesos moleculares (PM, Sigma Aldrich) de quitosano, derivando en tres protocolos:

- Quitosano de bajo peso molecular (QPB). PM: 50-190 KDa.

- Quitosano de medio peso molecular (QPM). PM: 190-310 KDa.
- Quitosano de alto peso molecular (QPA). PM: 310-375 KDa.

Ácido acético glacial (Ac.Ac)

El ácido acético (CH_3COOH , Sigma Aldrich, CAS 64-19-7) es un líquido incoloro con un olor agrio a vinagre. Es uno de los ácidos carboxílicos más simples y es un reactivo químico ampliamente utilizado para modificar el pH de soluciones [22].

Ácido tetracloroáurico tri-hidratado

El ácido tetracloroáurico tri-hidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Sigma Aldrich, CAS 16961-25-4, 393.83 g/mol) es un compuesto inorgánico, sólido y de color amarillo anaranjado [23]. Es el precursor metálico empleado para la fabricación de las AuNPs durante este trabajo de tesis.

2.1.2 Equipos

Espectrofotómetro UV-Vis

El espectrofotómetro UV-Vis (**Figura 9**) fue utilizado para medir la absorbancia a diferentes longitudes de onda ($\lambda = 190$ a 850 nm) de las disoluciones coloidales sintetizadas. Las características técnicas del espectrofotómetro Nanodrop One C (Thermo Scientific) incluyen:

- Camino óptico de la cubeta de cuarzo: 10 mm
- Fuente de luz: lámpara de xenón
- Intervalo de longitud de onda: 190-850 nm
- Precisión de onda: 0.5 nm
- Volumen de la cubeta de cuarzo: 0.75 mL



Figura 9. Espectrofotómetro Nanodrop One C. Tomada de [24].

Bomba de infusión

La bomba de infusión KDS-100 (kD Scientific, **Figura 10**) fue utilizada para dosificar los reactivos de manera controlada, específicamente el ácido tetracloroáurico, durante el proceso de fabricación de las nanoestructuras. El volumen de la jeringa que usa varía de 10 μL a 60 mL.



Figura 10. Bomba de infusión KDS-100. Tomada de [25].

Microscopio de Fuerza Atómica

El microscopio de fuerza atómica Park XE7 (Park Systems, **Figura 11**) se empleó para la caracterización de la morfología y determinación del tamaño de las nanopartículas. El software Gwyddion 2.54 fue utilizado para la visualización y el análisis de los datos.



Figura 11. Microscopio de fuerza atómica Park XE7. Tomada de [26].

2.2 Desarrollo experimental

2.2.1 Protocolo 1

Las AuNPs fueron sintetizadas mediante la reducción de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 1 mM en una disolución de quitosano-ácido acético. Se realizaron tres ensayos distintos con quitosano de bajo (QPB), medio (QPM) y alto peso molecular (QPA). Se pesaron 0.25 g del quitosano correspondiente, agregándolo por pipeteo a una disolución de 9 mL de Ac.Ac. al 1% bajo agitación constante durante 15 h. Posteriormente, se sometieron a sonicación durante 15 min. A la disolución previa se agregó una alícuota de 3 mL de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 1 mM en proporción 1:3, manteniéndola bajo agitación mecánica a 80 °C durante 45 min. Transcurrido este tiempo, la temperatura se aumentó a 100 °C por 105 min [27].

Cuando la reacción concluyó, las disoluciones coloidales se almacenaron en frascos ámbar y se guardaron bajo dos temperaturas: 20 °C y 4 °C. En la **Tabla 2** se presentan las muestras fabricadas, el PM del quitosano y la temperatura de almacenamiento.

Tabla 2. Rotulación de muestras coloidales de oro sintetizadas con *Protocolo 1* y almacenadas a 20 °C y 4 °C.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Nombre de la muestra	Peso molecular del quitosano
20	PBP1	Bajo
	PMP1	Medio
	PAP1	Alto
4	PBP1R	Bajo
	PMP1R	Medio
	PAP1R	Alto

2.2.2 Protocolo 2

La síntesis se realizó también empleando quitosano de bajo, medio y alto pesos moleculares como agente reductor/estabilizador, siguiendo el mismo procedimiento descrito en el *Protocolo 1*, con las siguientes modificaciones: Se empleó una bomba de infusión KDS-100 y una jeringa de 27GX30 mm, con el propósito de controlar la velocidad ($v = 15, 30$ y 70 mL/h) y la forma de la gota al agregar el $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. La temperatura de la parrilla se ajustó a 80 °C durante 45 min, e incrementándolo a 100 °C por 105 min [27]. Cuando la

reacción concluyó, las disoluciones coloidales se almacenaron en frascos ámbar y se guardaron bajo las mismas dos temperaturas del *Protocolo 1*: 20 °C y 4 °C. En la **Tabla 3** y **Tabla 4** se especifican los nombres, la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico (mL/h), el peso molecular del quitosano utilizado y la temperatura a la que fueron almacenadas las muestras.

Tabla 3. Rotulación de muestras coloidales de oro sintetizadas con *Protocolo 2*, almacenadas a T = 20 °C.

Nombre de la muestra	Velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico (mL/h)	Peso molecular del quitosano
PBP215	15	Bajo
PBP230	30	
PBP270	70	
PMP215	15	Medio
PMP230	30	
PMP270	70	
PAP215	15	Alto
PAP230	30	
PAP270	70	

Tabla 4. Rotulación de muestras coloidales de oro sintetizadas con *Protocolo 2* con quitosano de medio peso molecular, a diferente velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico y almacenadas a T = 4 °C.

Nombre de la muestra	Velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico (mL/h)	Peso molecular del quitosano
PMP215R	15	Medio
PMP230R	30	
PMP270R	70	

2.2.3 Protocolo 3

Se empleó el *Protocolo 2*, incrementando la temperatura inicial a 100 °C durante 45 min, y la segunda temperatura ajustándola a 130 °C por 105 min [27]. Cuando la reacción concluyó las soluciones coloidales se almacenaron bajo las mismas condiciones de temperatura que en los protocolos previos: 20 °C y 4 °C.

Tabla 5. Rotulación de muestras del *Protocolo 3* almacenadas a T = 20 °C.

Nombre de la muestra	Velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico (mL/h)	Peso molecular del quitosano
PBP315	15	

PBP330	30	Bajo
PBP370	70	
PMP315	15	Medio
PMP330	30	
PMP370	70	
PAP315	15	Alto
PAP330	30	
PAP370	70	

En la **Tabla 5** y **Tabla 6** se especifican los nombres, la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico (mL/h), el peso molecular del quitosano utilizado y la temperatura a la que fueron almacenadas las muestras.

Tabla 6. Rotulación de muestras coloidales de oro sintetizadas con *Protocolo 3* con quitosano de medio peso molecular, a diferente velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico y almacenadas a $T = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Nombre de la muestra	Velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico (mL/h)	Peso molecular del quitosano
PMP315R	15	Medio
PMP330R	30	
PMP370R	70	

2.2.4 Caracterizaciones

Espectroscopía UV-Vis (UV-Vis)

Se empleó UV-Vis para monitorear la absorbancia de la banda plasmónica a diferentes longitudes de onda ($\lambda=190$ a 850 nm), de las disoluciones coloidales sintetizadas. Todas las muestras se monitorearon cada hora durante las primeras siete horas, posteriormente una medición diaria durante siete días, después una medición cada semana por cuatro semanas y, finalmente, una medición cada mes por seis meses.

Microscopía de fuerza atómica (AFM)

En la observación de la morfología y determinación del tamaño de las nanopartículas fabricadas por los diversos protocolos se empleó AFM (imagen y fase en modo tapping). Las muestras que fueron monitoreadas con esta técnica son: PMP1, PMP1R, PMP215, PMP230, PMP230R y PMP270.

Capítulo 3

Resultados y discusión

En este capítulo se presentan los resultados de la síntesis y caracterización morfológica y de tamaño de las nanopartículas de oro fabricadas, por espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis) Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), así como su estabilidad temporal. Los resultados por UV-Vis y AFM muestran que las AuNPs sintetizadas por cualquier protocolo propuesto son esféricas, siendo las condiciones QPM; $v = 30 \text{ mL/h}$; $T_1 = 100 \text{ }^\circ\text{C}$ y $T_2 = 130 \text{ }^\circ\text{C}$; almacenada a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ las que mostraron valores de A_{spr} constantes durante los 6 meses que duró el monitoreo. La simulación computacional permitió determinar que la presencia de un recubrimiento que QN sobre la AuNPs no modifica su banda plasmónica.

3.1 Síntesis de AuNPs almacenadas a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ y su caracterización mediante espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)

En el primer proceso de síntesis de nanopartículas de oro esféricas coloidales (AuNPs) se llevaron a cabo mediante los tres protocolos descritos en el capítulo 2 [29], donde se utilizaron los tres pesos moleculares del quitosano (bajo, medio y alto) y se almacenaron las muestras a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ por seis meses.

En la **Figura 12** se presentan los cambios de tonalidades durante el proceso de síntesis de las AuNPs de la muestra PAP1, que corresponde al *Protocolo 1* con quitosano de alto peso molecular. La coloración típica que presenta la muestra coloidal de AuNPs esféricas al final de la reacción es de un rojo rubí ($t = 105 \text{ min}$, **Figura 12 (d)**).

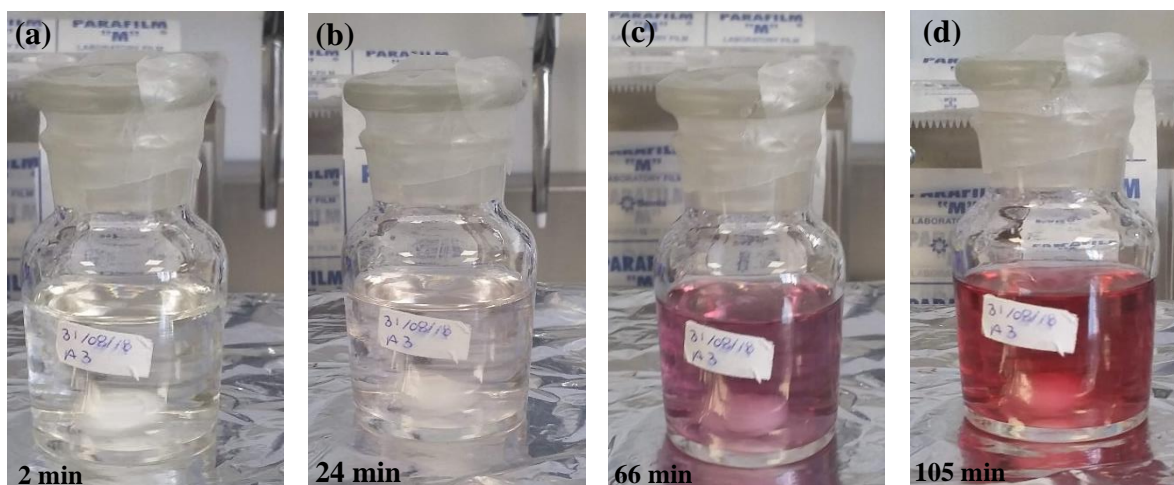


Figura 12. Proceso de síntesis de las AuNPs esféricas de la muestra PAP1 (*Protocolo 1*). Se muestran los cambios de tonalidades en los tiempos de síntesis de (a) 2 min, (b) 24 min, (c) 66 min y (d) 105 min.

La caracterización óptica de las muestras se realizó mediante espectroscopía UV-Vis, donde se considera a $t = 0$ h, cuando finalizó el proceso de síntesis de las AuNPs coloidales. Los espectros de absorción se midieron para intervalos específicos, con el fin de medir la cinética de la síntesis (**Tabla 7**). Se tomó una medición cada hora durante las primeras siete horas, posteriormente una medición diaria durante siete días, después una medición cada semana por cuatro semanas y, finalmente, una medición cada mes por seis meses.

Tabla 7. Se muestra los intervalos de tiempo en que se realizaron las mediciones de los espectros UV-Vis coloidales de AuNPs dado en horas, días, semanas y meses con el respectivo logaritmo natural del tiempo dado en horas.

Tiempo				Logaritmo natural del tiempo en horas
Horas (h)	Días	Semanas	Meses	$\ln t(h)$
1				0
2				0.6931
3				1.0986
4				1.3862
5				1.6094
6				1.7917
7				1.9459
24	1			3.1780
48	2			3.8712
72	3			4.2766
96	4			4.5643
120	5			4.7874
144	6			4.9698
168	7	1		5.1239
336	14	2		5.8171
504	21	3		6.2225
672	28	4	1	6.5102
1344	56	8	2	7.2034
2016	84	12	3	7.6088
2688	112	16	4	7.8965
3360	140	20	5	8.1196
4032	168	24	6	8.3020

En la **Figura 13** se muestran los espectros de absorbancia A (unidades arbitrarias (u.a.)) vs longitud de onda λ (nm) de las muestras AuNPs esféricas coloidales PBP1. En esta gráfica,

se observan las bandas de absorbancia de plasmones localizados típicas en los tiempos: $t = 1$ h, $t = 7$ h, $t = 24$ h, $t = 168$ h (séptimo día), $t = 672$ h (primer mes) y $t = 3360$ h (quinto mes).

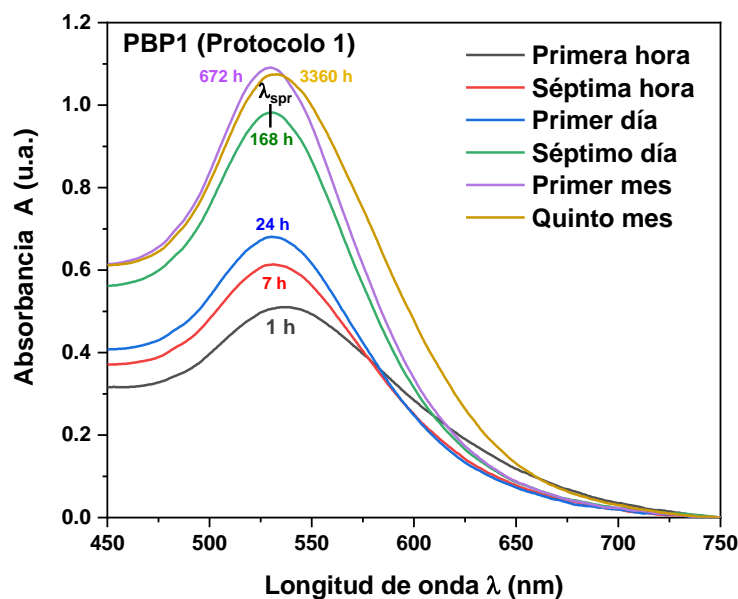


Figura 13. Espectros de absorbancia de la banda de plasmones localizados típicos de la muestra coloidal PBP1 (*Protocolo 1*). Se muestran espectros en la primera hora, séptima hora, primer día, séptimo día, primer mes y quinto mes.

Posteriormente se obtuvieron los datos de absorbancia máxima a los que se les llamaron A_{spr} y de longitud de onda máxima λ_{spr} de estos espectros.

Los máximos de absorbancia y de longitud de onda se obtuvieron con el programa Origin, y dichos máximos se graficaron respecto al logaritmo natural del tiempo dado en horas. En la **Tabla 7** se muestra la equivalencia en horas.

3.1.1 Síntesis y caracterización óptica: Protocolo 1

La **Figura 14** muestra las gráficas de los valores de absorbancia y longitud de onda máximas de la banda de plasmones localizados, al término de la reacción y después de almacenar las disoluciones coloidales de AuNPs esféricas a temperatura ambiente ($T \sim 20$ °C) por 6 meses. Dichos valores se graficaron respecto al logaritmo natural del tiempo dado en horas $\ln t(h)$.

Se incluyen las muestras coloidales sintetizadas con el *Protocolo 1*, y quitosano de pesos moleculares bajo (PBP1), medio (PMP1) y alto (PAP1), respectivamente. En la **Figura 14**

(a) se observa que la máxima absorbancia A_{spr} de las tres muestras aumentó en el periodo de 0 a 6 meses. Esto indica, por la ley de Beer-Lambert, que la concentración de AuNPs en la disolución aumentó. Esto se puede atribuir a que las AuNPs sintetizadas siguen aún en proceso de formación de nanopartículas por una semana después de ser sintetizadas, y encontramos que la absorbancia se mantuvo estable desde la semana 1 a la semana 24, por lo tanto, también la concentración de AuNPs. En la **Figura 14 (b)** se representan los valores de longitud de onda máximo de la banda de plasmones localizados vs el $\ln(t)$. Se observa que dichos valores no se mantienen constantes para las tres muestras, eso significa que las bandas se fueron desplazando hacia el infrarrojo. Se ha reportado que, a mayor longitud de onda, el diámetro de la partícula aumenta, ya que nanopartículas de mayor tamaño, interactúan con longitudes de onda mayores [28].

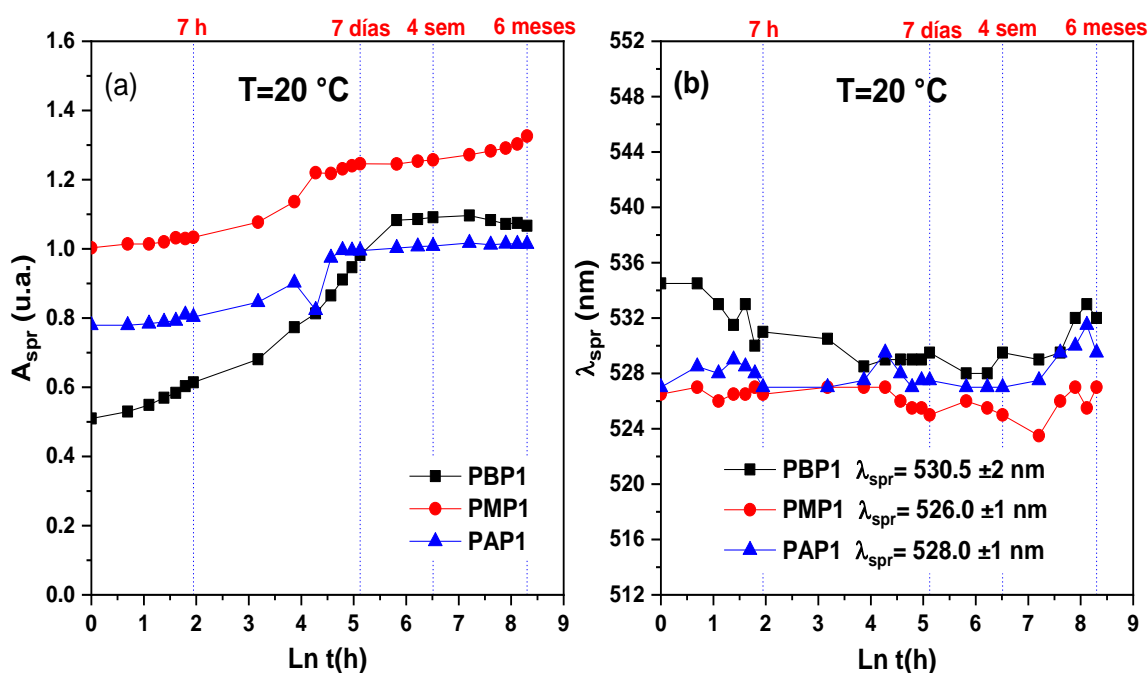


Figura 14. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el *Protocolo 1* y almacenadas a $T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$. (a) Máximos de absorbancia A_{spr} vs $\ln t$, (b) máximos de la longitud de onda máxima λ_{spr} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.

En la **Tabla 8** se muestran los promedios de las longitudes de onda máximas para las muestras del *Protocolo 1* y las desviaciones estándar σ , correspondientes. La muestra PBP1 muestra un promedio de $\lambda_{\text{max}} = 530.5 \pm 2\text{ nm}$, la muestra PMP1 una $\lambda_{\text{max}} = 526 \pm 1\text{ nm}$ y la muestra PAP1 una $\lambda_{\text{max}} = 528 \pm 1\text{ nm}$. Entonces, empleando el *Protocolo 1* es factible

sintetizar nanopartículas de oro de mayor diámetro mediante la agregación de quitosano de bajo peso molecular y nanopartículas más pequeñas mediante el uso de quitosano de medio peso molecular.

Tabla 8. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras AuNPs sintetizadas con el *Protocolo 1*.

Muestra	Promedio λ_{spr} (nm)	Desviación estándar σ (nm)
PBP1	530.5	2
PMP1	526.0	1
PAP1	528.0	1

3.1.2 Síntesis y caracterización óptica: Protocolo 2

En la **Figura 15** se muestran las gráficas de los valores de absorbancia A_{spr} y longitud de onda máxima λ_{spr} de la banda de plasmones de superficie al término de la reacción y después de almacenar las soluciones de AuNPs a temperatura ambiente ($T \sim 20^\circ\text{C}$) por 6 meses, dichos valores se graficaron respecto al logaritmo natural del tiempo dado en horas $\ln t(\text{h})$ (ver **Tabla 7**).

En la **Figura 15** se representan los valores de absorbancia de las muestras sintetizadas bajo condiciones del *Protocolo 2*. En dicho protocolo se controla la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico a 15, 30 y 70 mL/h, respectivamente. Los últimos dos dígitos de los nombres de las muestras hacen referencia a la velocidad empleada. Las muestras se sintetizaron con quitosano de bajo peso molecular (QPB, **Figura 15 (a)**), medio peso molecular (QPM, **Figura 15 (b)**) y alto peso molecular (QPA, **Figura 15 (c)**). En la muestra PBP215, **Figura 15 (a)**, se observa que la absorbancia máxima se mantiene estable en el tiempo, por lo que la concentración de AuNPs también se mantuvo estable. Por su parte, la longitud de onda máxima (**Figura 15 (d)**) se mantiene estable desde el principio de la síntesis hasta el segundo mes ($\ln t = 7.2034$). Para las muestras PBP230 y PBP270 se observa que durante las primeras 7 horas, la absorbancia se mantiene estable y presenta valores de 1.1 u.a. y 0.9 u.a., respectivamente. La muestra PBP270 incrementa su absorbancia de 1.1 u.a. a 1.3 u.a. en los primeros tres días, durante los siguientes cuatro días no hay cambio y a los 6 meses se ve un descenso gradual.

Por otro lado, la muestra PMP215 (**Figura 15 (b)**) no presenta mucha variación en la absorbancia máxima, por lo que la concentración de AuNPs en solución no tuvo grandes cambios. Para PMP230 sucede casi lo mismo, pero se observa que en los últimos 4 meses la absorbancia desciende, lo cual podría indicar la formación de precipitado. PMP270 exhibe una débil absorbancia que va aumentando considerablemente en el tiempo, lo que indica que sigue el proceso de formación de AuNPs, hasta que se mantuvo estable en los últimos cuatro meses.

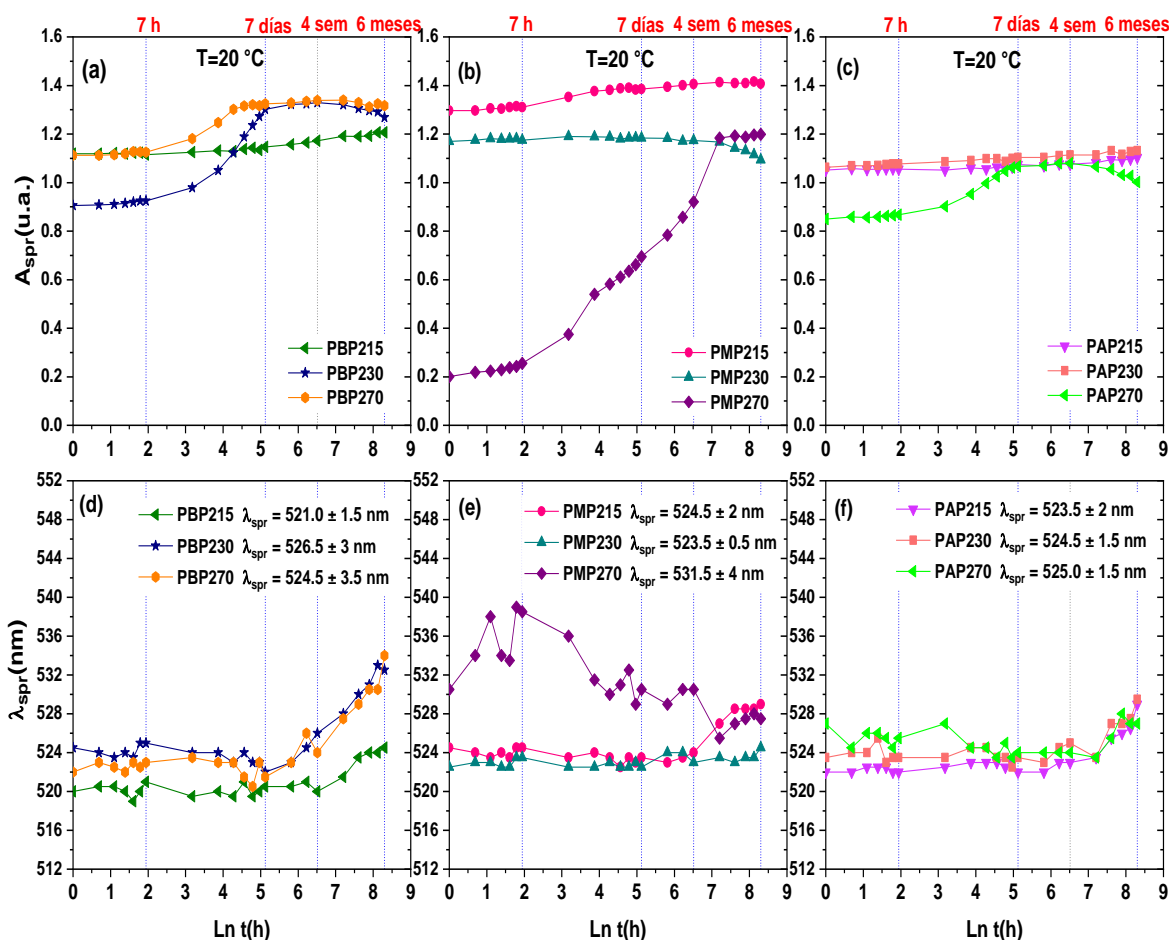


Figura 15. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el *Protocolo 2* y almacenadas a $T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$. (a), (b), (c) Máximos de absorbancia A_{spr} vs $\ln t$; (d), (e), (f) máximos de la longitud de onda máxima λ_{spr} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.

En la **Figura 15 (c)** se presentan las muestras sintetizadas con QPA. PAP215 y PAP230 exhiben el mismo comportamiento, con la absorbancia constante y por lo tanto la concentración de AuNPs en la solución también constante. PAP270 empieza con un

crecimiento gradual en absorbancia en los primeros siete días y después se aprecia la disminución de absorbancia, lo que indica la formación de precipitado.

En la **Figura 15 (d)**, **(e)** y **(f)** se presentan los valores de longitud de onda de la banda de plasmones de superficie de las muestras QPB, QPM y QPA, respectivamente. Para QPB (**Figura 15 (d)**), se observa que durante las dos primeras semanas la banda de absorción no se desplazó. A partir de la tercera semana y hasta el sexto mes, se observa un corrimiento de la banda de absorbancia. Es por eso, por lo que los valores de λ_{spr} aumentaron de 524 nm a 534 nm en PBP230 y PBP270, y en B1P270 de 520 nm a 524 nm. Esto se puede relacionar con un aumento en el tamaño de partícula.

En la **Figura 15 (e)**, se observa que PMP215 donde los espectros de absorbancia no presentaron corrimiento hasta el primer mes, donde λ_{spr} empieza a tomar valores más grandes. En PMP230, λ_{spr} se mantiene constante, eso significa que no hubo corrimiento en los espectros de absorción, y si los viéramos en una gráfica estos se verían sobrepuestos, como si sólo fuera una única banda de absorción. Esta muestra tiene un buen comportamiento, estabilidad de tamaño de partícula y concentración en el tiempo.

En la **Figura 15 (f)** se presentan las muestras con QPA, en los tres casos: PAP215, PAP230 y PAP270 tienen un comportamiento parecido, donde los valores que toma λ_{spr} en las primeras horas se mantiene constante; después empieza a disminuir gradualmente hasta el séptimo día, mientras que en las siguientes tres semanas se mantiene constante y en los últimos cuatro meses vuelve a aumentar su valor. En la **Tabla 9** se muestran los promedios de las longitudes de onda máximas para las muestras del *Protocolo 2*, y las desviaciones estándar σ correspondientes. Se observa que la muestra PMP230 es la que presenta el menor valor de desviación estándar, es decir, el promedio de la longitud de onda tuvo menos variaciones. Se observa de manera general que, independientemente del peso molecular del quitosano usado, la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico influye en el diámetro de las nanopartículas de oro.

Tabla 9. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con el *Protocolo 2*.

Nombre de la Muestra	Velocidad agregación AuCl ₄ H 3H ₂ O (mL/h)	Promedio λ_{spr} (nm)	Desviación estándar σ (nm)
PBP215	15	521.0	1.5
PBP230	30	525.5	3.0
PBP270	70	524.5	3.5
PMP215	15	524.5	2.0
PMP230	30	523.0	0.5
PMP270	70	531.5	4.0
PAP215	15	523.5	2.0
PAP230	30	524.5	1.5
PAP270	70	525.0	1.5

3.1.3 Síntesis y caracterización óptica: Protocolo 3

En la **Figura 16**, se muestran las gráficas de los valores de absorbancia y longitud de onda de la banda de plasmones de superficie al término de la reacción, y después de almacenar las soluciones de AuNPs a temperatura ambiente ($T \sim 20$ °C) por 6 meses, sintetizadas bajo el *Protocolo 3*. Dichos valores se graficaron respecto al logaritmo natural del tiempo dado en horas, $\ln t(h)$.

En la **Figura 16 (a), (b), (c)** se representan los valores de absorbancia de las muestras sintetizadas con velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico de 15, 30 y 70 mL/h. A diferencia del segundo protocolo, la temperatura a la que se ajusta la parrilla es mayor. Los últimos dos dígitos de los nombres de las muestras corresponden a la velocidad empleada.

En la **Figura 16 (a)** se aprecian las muestras sintetizadas con QPB. Se observa que el comportamiento de PBP330 y PBP370 es muy similar, donde el valor de la absorbancia máxima de la banda plasmónica es muy parecido y se mantiene constante en el tiempo con un valor de 1. Entonces, la concentración de AuNPs no aumentó, pero al aplicar mayor temperatura durante el proceso de síntesis, aumentó la velocidad de reacción. Esto permitió obtener AuNPs en menor tiempo. Por su parte la muestra PBP315 mantiene estable su A_{spr} hasta el primer mes, con absorbancia de 1.0 u.a. y a partir de ahí el valor empieza a incrementar hasta 1.2 u.a. durante los siguientes meses.

En la **Figura 16 (b)**, que son las muestras sintetizadas con QPM, se puede observar un comportamiento muy similar con un ligero cambio en el valor de la absorbancia. PMP330 y PMP370 con 1.1 u.a. y PMP315 con un valor de 1.2 u.a., manteniendo las tres muestras un valor constante en la absorbancia. Nuevamente entonces, al controlar la velocidad de agregación del precursor y al aumentar la temperatura, se incrementa la velocidad de reacción y se reduce el tiempo de síntesis de las nanopartículas, no aumentando su concentración en la disolución coloidal.

En la **Figura 16 (c)** se grafican las muestras sintetizadas con QPA. Estas exhiben un buen comportamiento, dado que también la absorbancia se mantiene constante en el tiempo, PAP315 y PAP330 con un valor de 0.9 u.a. y PAP370 con un valor de 1 u.a.

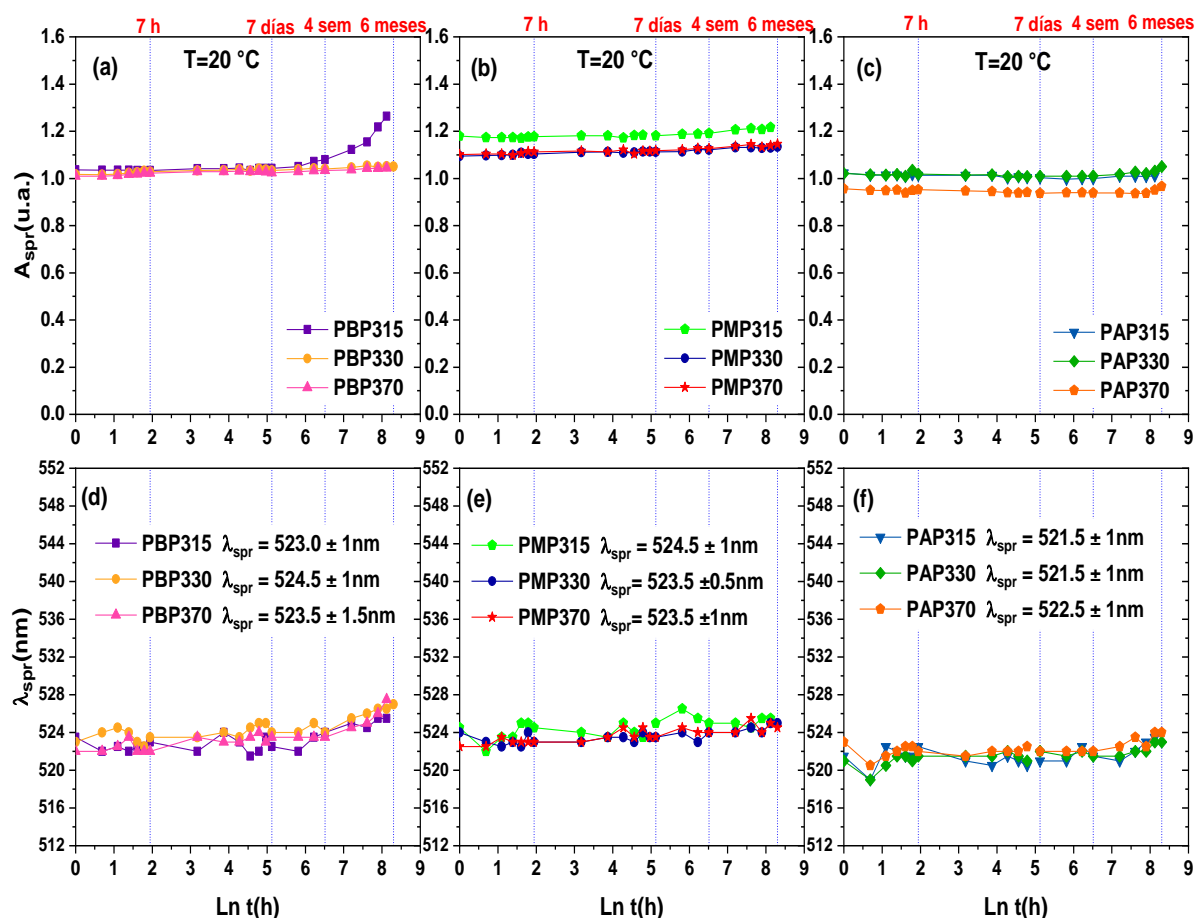


Figura 16. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el *Protocolo 3* y almacenadas a $T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$. (a), (b), (c) Máximos de absorbancia A_{spr} vs $\ln t$; (d), (e), (f) Máximos de la longitud de onda máxima λ_{spr} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.

En la **Figura 16 (d), (e), (f)** se presentan los valores de longitud de onda de la banda de plasmones de superficie. Para las muestras sintetizadas con QPB de la **Figura 16 (d)**, se observa que no hay corrimiento en los espectros de absorción hasta el primer mes, que es donde el valor de λ_{spr} comienza a aumentar ligeramente. En el caso de PBP315 va de 524 nm a 526 nm (523 ± 1), en PBP330 cambia de 523 nm a 527 nm (524.5 ± 1) y en PBP370 de 522 nm a 528 nm (523.5 ± 1.5).

En la **Figura 16 (e)**, que son las muestras sintetizadas con QPM, no hay corrimiento de los espectros de absorción, lo que podría indicar que no hubo cambio en el tamaño de las AuNPs. La muestra PMP315 presenta un promedio de $\lambda_{\text{max}} = 524.5 \pm 1$ nm; la muestra PMP330 una $\lambda_{\text{max}} = 523.5 \pm 0.5$ nm y la muestra PMP370 una $\lambda_{\text{max}} = 523.5 \pm 1$ nm.

En el caso de la **Figura 16 (f)** que son las muestras sintetizadas con QPA, se observa que a la segunda hora hay un ligero corrimiento en las bandas de absorción y a partir de la tercera hora se mantiene constante el valor de λ_{spr} . Al llegar al primer mes comienza a aumentar ligeramente en las tres muestras. La muestra PAP315 tiene un promedio de $\lambda_{\text{max}} = 521.5 \pm 1$ nm, la muestra PAP330 una $\lambda_{\text{max}} = 521.5 \pm 1$ nm y la muestra PAP370 una $\lambda_{\text{max}} = 522.5 \pm 1$ nm.

En la **Tabla 10** se presentan los promedios de las longitudes de onda máximas para las muestras del *Protocolo 3* y las desviaciones estándar correspondientes. Aquellas sintetizadas con QPB, presentaron la mayor desviación estándar.

Tabla 10. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con el *Protocolo 3*.

Nombre de la Muestra	Velocidad agregación AuCl ₄ H 3H ₂ O (mL/h)	Promedio de λ_{spr} (nm)	Desviación estándar σ (nm)
PBP315	15	523.0	1.0
PBP330	30	524.5	1.0
PBP370	70	523.5	1.5
PMP315	15	524.5	1.0
PMP330	30	523.5	0.5
PMP370	70	523.5	1.0
PAP315	15	521.5	1.0
PAP330	30	521.5	1.0
PAP370	70	522.5	1.0

Con los resultados de la primera síntesis de AuNPs coloidales, se realizó otra síntesis de repetición que denominamos segunda síntesis. Para esta segunda síntesis solamente se eligió el quitosano de medio peso molecular, que es el que mostró mejor comportamiento en las muestras de la primera síntesis. Nuevamente, se aplicaron los tres protocolos ya descritos, pero esta vez se almacenaron las muestras coloidales a una temperatura de 4 °C.

3.2 Estabilidad temporal de AuNPs coloidales almacenadas a 4 °C

3.2.1 Estabilidad temporal de AuNPs coloidales mediante UV-Vis: Protocolo 1

En la **Figura 17** se muestran las gráficas de los valores de absorbancia máxima y longitud de onda máxima de la banda de plasmones de superficie al término de la reacción de AuNPs coloidales, sintetizadas con el *protocolo 1* usando QPM y almacenadas en refrigeración (T = 4 °C) en oscuridad por 6 meses. Dichos valores se graficaron respecto al logaritmo natural del tiempo dado en horas, $\ln t(\text{h})$. Estas muestras se compararon con las almacenadas a T = 20 °C.

En la **Figura 17 (a)** se representan los valores de A_{spr} de la muestra sintetizada siguiendo el *Protocolo 1* con quitosano de medio peso molecular. Se observa que la A_{spr} se mantiene constante hasta las primeras 7 horas (20 °C) y la primera semana (4 °C), y a partir de ahí comienza a aumentar gradualmente ambas muestras durante las siguientes fechas de monitoreo. Esto significa que la concentración de AuNPs en disolución aumentó. Por su parte, en la **Figura 17 (b)** podemos observar los valores que va tomando λ_{spr} a diferentes tiempos. Dichos valores se mantienen estables en el tiempo por lo que las bandas de absorción no tuvieron corrimiento y presentan un valor de longitud de onda promedio de $526 \pm 1 \text{ nm}$ (20 °C) y $527 \pm 0.5 \text{ nm}$ (4 °C), respectivamente.

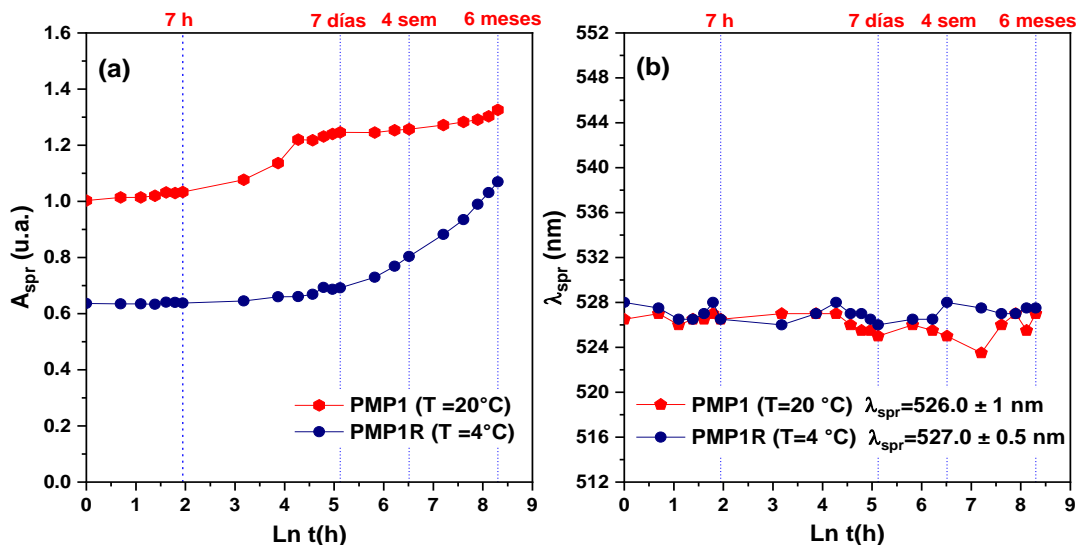


Figura 17. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el *Protocolo 1* usando quitosano de peso molecular medio y almacenadas a $T = 4$ °C. (a) Máximos de absorbancia A_{spr} vs $\ln t$, (b) máximos de la longitud de onda máxima λ_{spr} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.

En la **Tabla 11** se muestran los promedios de las longitudes de onda máximas para las muestras del *Protocolo 1* usando quitosano de medio peso molecular PMP1 (almacenada a 20 °C) y PMP1R (almacenada a 4 °C). Comparando ambas muestras, se observa que tienen un promedio de longitud de onda máxima de 526 nm y 527 nm, respectivamente. La desviación estándar de PMP1 (muestra no refrigerada) es 1 y PMP1R (muestra refrigerada) tiene un valor de 0.5 u.a., eso significa que almacenar las muestras a una menor temperatura $T = 4$ °C mantiene más estable a la muestra y la longitud de onda máxima muestra menor variación.

Tabla 11. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con QMP aplicando el *Protocolo 1*.

Nombre de la muestra	T de almacenado (°C)	Promedio λ_{spr} (nm)	Desviación estándar σ (nm)
PMP1R	4	527	0.5
PMP1	20	526	1.0

3.2.2 Estabilidad temporal de AuNPs coloidales mediante UV-Vis: Protocolo 2

Las gráficas de la **Figura 18**, representan los valores de absorbancia máxima y longitud de onda máxima de la banda de plasmones de superficie de las muestras sintetizadas bajo el *Protocolo 2*, al término de la reacción y después de almacenar las disoluciones de AuNPs en

refrigeración ($T = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 6 meses y se compararon con las muestras almacenadas $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dichos valores se graficaron respecto al $\ln t(h)$.

En la **Figura 18 (c)** se presentan los valores de absorbancia cuando se controló la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico (15, 30 y 70 mL/h) y se empleó QPM ($T = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$). Se observa que las tres muestras exhiben un comportamiento similar, pero con diferente valor de la absorbancia máxima. Entonces conforme se aumentó la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico, incrementó el valor de A_{spr} . Durante las primeras horas y los primeros siete días, se mantuvo constante, pero a partir de la segunda semana el valor empezó a incrementar. Esto indica que continuó el proceso de formación de AuNPs. En la **Figura 18 (d)** se muestran los valores que va tomando λ_{spr} a través del tiempo. PMP215R exhibe un valor constante en las primeras horas, y a partir de los siguientes días y meses empieza a incrementar ligeramente de 518 nm a 520 nm. Esto da lugar a un corrimiento en las bandas de absorción hacia el infrarrojo. Por su parte, la muestra PMP230R tiene un ligero aumento y a partir del sexto día se puede ver que crece. Para PMP270R se observa que el valor de λ_{spr} se mantiene constante hasta la tercera semana en donde se aprecia el corrimiento λ_{spr} hacia la izquierda de la banda de absorción.

Aquí, nuevamente se compararon con las almacenadas a $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$, que corresponden a la **Figura 18 (a)-(b)**, se puede observar que, a una menor temperatura de almacenamiento, las muestras mantienen mayor estabilidad.

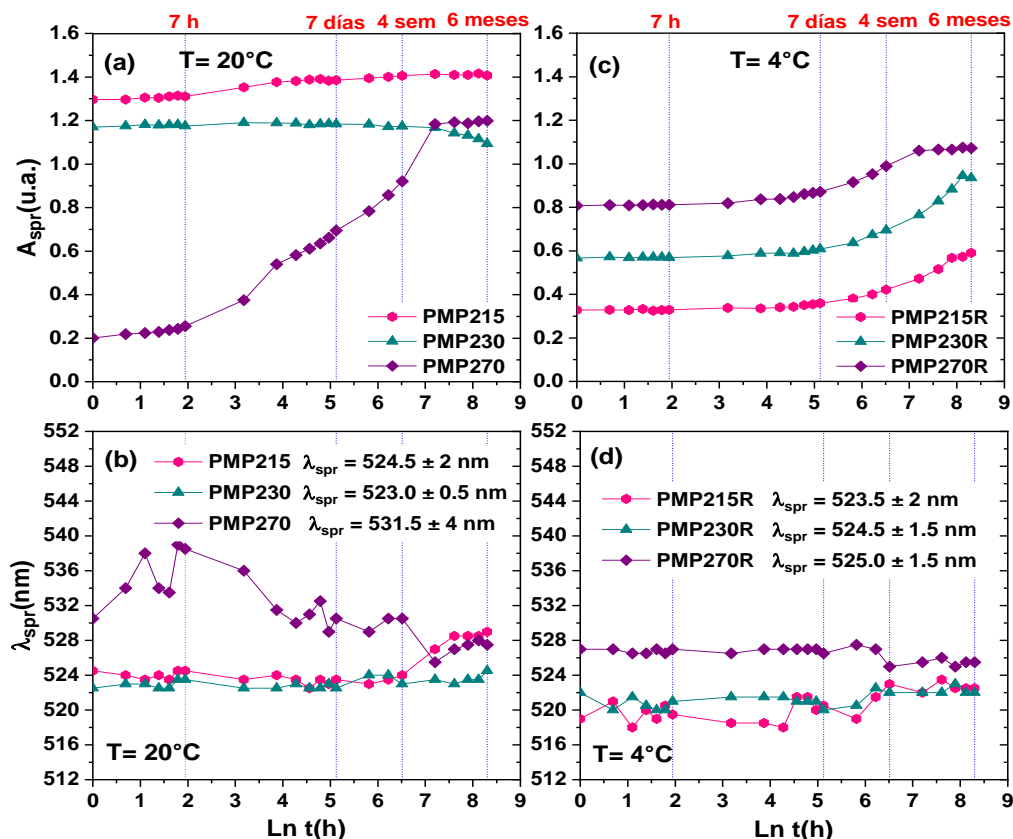


Figura 18. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el *protocolo 2* usando quitosano de peso molecular medio y almacenadas a $T=4^\circ\text{C}$. (a) Máximos de absorbancia A_{spr} vs $\ln t$, (b) máximos de la longitud de onda máxima λ_{spr} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.

En la **Tabla 12** se muestran los promedios de las longitudes de onda máximas para las muestras del *Protocolo 2* y sus desviaciones estándar correspondientes. Encontramos que se obtienen mayores tamaños de nanopartículas estables cuando se sintetizan usando QMP y una velocidad de agregación de ácido tetracloroáurico de 70 mL/h.

Tabla 12. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con QMP aplicando *Protocolo 2*.

Muestra refrigerada (4°C)	Velocidad agregación $\text{AuCl}_4\text{H } 3\text{H}_2\text{O}$ (mL/h)	Promedio λ_{spr} (nm)	Desviación estándar σ (nm)
PMP215R	15	520.5	2.0
PMP230R	30	521.0	1.0
PMP270R	70	526.5	0.5

3.2.3 Estabilidad temporal de AuNPs coloidales mediante UV-Vis: Protocolo 3

La **Figura 19** muestra las gráficas de línea de los valores de absorbancia y longitud de onda de la banda de plasmones de superficie de muestras sintetizadas con metodología del *Protocolo 3*, al término de la reacción y después de almacenar las disoluciones de AuNPs en refrigeración ($T = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 6 meses, dichos valores se graficaron respecto al $\ln t(\text{h})$.

En la **Figura 19 (c)** se representan los valores de absorbancia máxima A_{spr} de las muestras sintetizadas, controlando la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico a 15, 30 y 70 mL/h. Nuevamente, a diferencia del segundo protocolo, la temperatura a la que se ajusta la parrilla es mayor. Se observa que la muestra PMP370R exhibe valores de A_{spr} constantes en el tiempo, y por lo tanto también lo es la concentración de las AuNPs. En los casos de PMP315R y PMP330R, el valor de la absorbancia comienza a incrementar gradualmente a partir de la primera semana, por lo que la formación de AuNPs sigue en proceso. En la **Figura 19 (d)** se representan los valores de λ_{spr} y se puede observar que se mantiene constante en los tres casos. Entonces, se puede decir que el tamaño de las AuNPs se mantiene estable en los seis meses de estudio.

Y comparando las muestras a con las almacenadas a $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (**Figura 19 (a)** y **(c)**) se puede observar que siguen manteniendo su estabilidad.

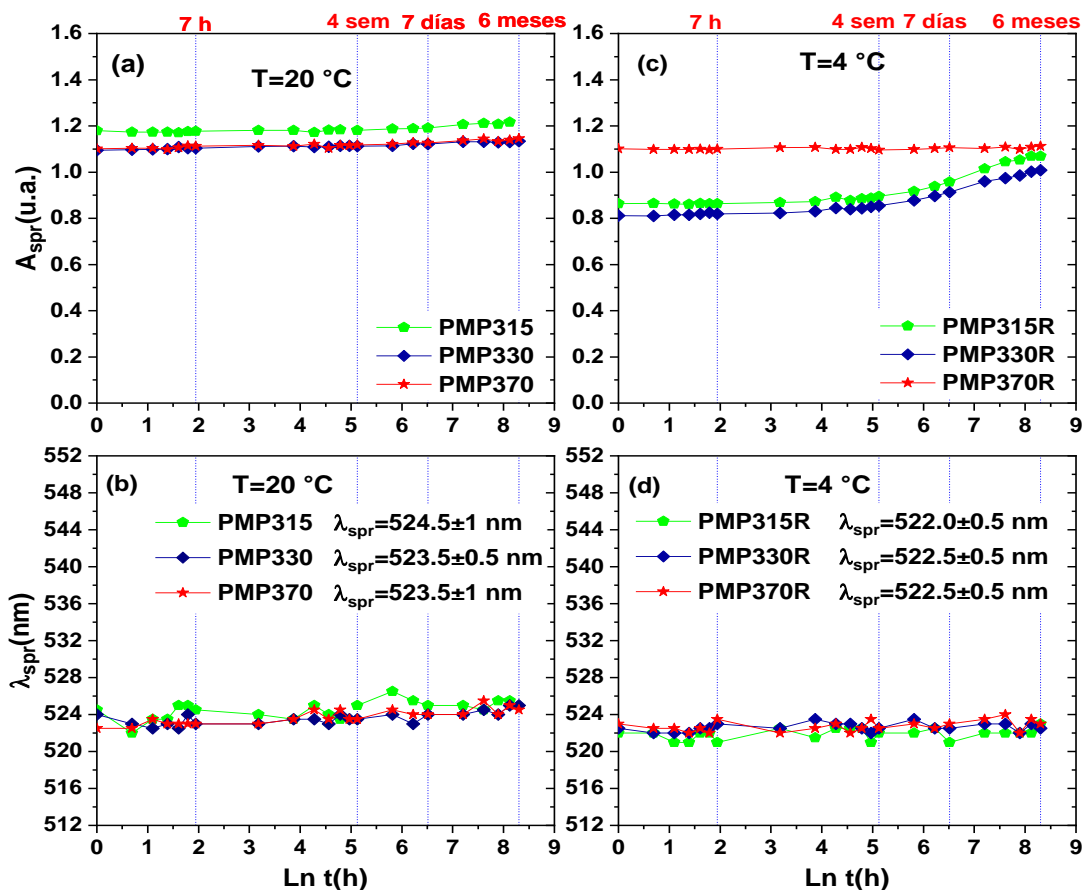


Figura 19. Muestras de AuNPs esféricas coloidales sintetizadas con el *Protocolo 3* usando quitosano de peso molecular medio y almacenadas a $T=4\text{ }^\circ\text{C}$. (a) Máximos de absorbancia A_{spr} vs $\ln t$, (b) máximos de la longitud de onda máxima λ_{spr} vs $\ln t$ de la banda de plasmón localizado.

En la **Tabla 13** se muestran los promedios de las longitudes de onda máximas para las muestras del protocolo 3 y las desviaciones estándar correspondientes. Los valores λ_{spr} de las muestras PMP315R, PMP330R y PMP370R son $522 \pm 0.5\text{ nm}$, $522.5 \pm 0.5\text{ nm}$ y $522.5 \pm 0.5\text{ nm}$, respectivamente. Entonces, cuando se guardan en refrigeración a $4\text{ }^\circ\text{C}$ las muestras presentan una gran estabilidad temporal. Se observa que se obtiene el mismo máximo de la longitud de onda plasmónica λ_{spr} , y por tanto el mismo radio de las AuNPs sintetizadas.

Tabla 13. Longitud de onda máxima promedio y desviación estándar de las muestras sintetizadas con QMP aplicando el *Protocolo 3*.

Muestra refrigerada (4 °C)	Velocidad agregación AuCl ₄ H 3H ₂ O (mL/h)	Promedio λ_{spr} (nm)	Desviación estándar σ (nm)
PAP315R	15	522.0	0.5
PAP330R	30	522.5	0.5
PAP370R	70	522.5	0.5

3.3 Microscopia de fuerza atómica y simulaciones en MiePlot

3.3.1 Caracterización por AFM

La microscopía de fuerza atómica AFM nos proporciona imágenes topográficas que se pueden visualizar en tres dimensiones, por lo que brinda información sobre el tamaño de nanopartícula y su morfología. Para la caracterización de las muestras se utilizó un microscopio de fuerza atómica de la marca Park Systems.

Antes de la medición, a las muestras de AuNPs se les realizó un protocolo de lavado para eliminar el exceso de quitosano, posteriormente se depositó una microgota (1 μ L) de cada una de las muestras sobre sustratos de vidrio con película de oro de baja rugosidad ± 2 nm (película de oro/vidrio).

En la **Figura 20** se presenta una micrografía AFM de un área de (1 μ m \times 1 μ m) y el perfil del sustrato limpio de oro/vidrio. El perfil indica una rugosidad de ± 2 nm, por lo que es posible observar las AuNPs.

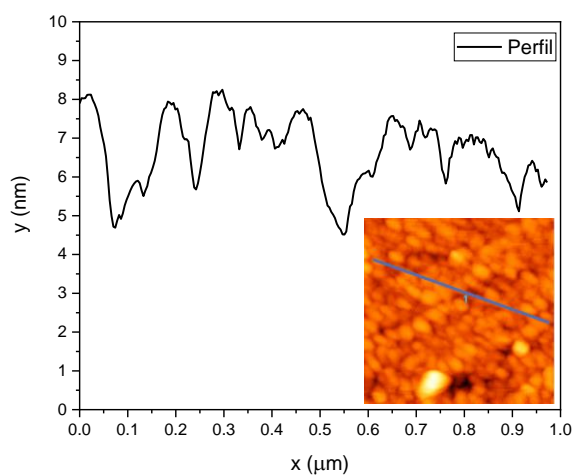


Figura 20. Micrografía AFM y perfil del sustrato limpio de película de oro /vidrio.

Después de las mediciones se determinó el tamaño de las nanopartículas utilizando Gwyddion 2.54, programa que permite la visualización, el procesamiento y análisis de los datos, particularmente tamaño de grano [29].

Determinación del tamaño de las AuNPs

Para determinar el tamaño de las nanopartículas se utilizaron dos métodos:

1. Algoritmo *Watershed*

Este es un algoritmo llamado *Watershed* implementado en Gwyddion, el cual, a partir de las micrografías ($1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$) de topografía de la muestra **Figura 21 (a)**, detecta y marca los bordes de las partículas como en la **Figura 21 (b)**, de esta manera, nos da un promedio para el tamaño de grano. Con la aplicación de este algoritmo se detectan alrededor de 100 nanopartículas.

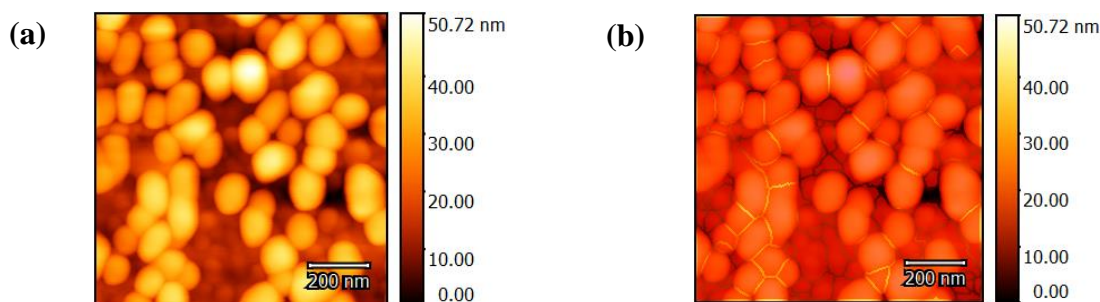


Figura 21. (a) Topografía de la muestra, (b) Implementación del algoritmo *Watershed* para la detección de los bordes.

2. Manualmente

A partir de las micrografías ($1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$) de topografía de la muestra se marcaron manualmente los ejes mayor y menor, ya que las AuNPs son no completamente esféricas, como en la **Figura 22**, posteriormente se hizo un promedio de dichos ejes y se dividió entre dos para obtener el radio promedio. Con este método se pueden marcar desde 25 hasta 100 AuNPs.

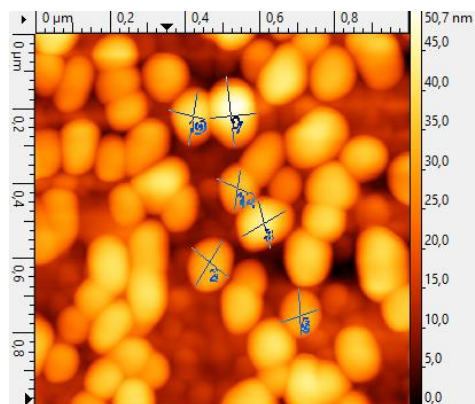


Figura 22. Selección de los ejes de forma manual.

Micrografías AFM

En la **Figura 23** se muestran las imágenes de AFM de áreas de 1 μm x 1 μm, la topografía en 3D y la fase del sustrato limpio de película de oro/vidrio donde se depositaron las muestras de AuNPs coloidales PMP1R (refrigerada) y PMP1 (sin refrigerar). Con la topografía podemos comprobar que las AuNPs son esféricas, así como que hay regiones con aglomeración de quitosano. Estas últimas se observaron mediante el modo fase de AFM. En la **Figura 23 (A)** se puede apreciar que la fase no cambia, por lo que no hay presencia de otro material en el sustrato. En **Figura 23 (B)** y **(C)**, donde hay depósito de AuNPs, la fase cambia.

En la **Tabla 14** se muestran los radios promedios obtenidos a partir de la implementación de los dos métodos descritos anteriormente de las muestras PMP1R y PMP1 de la segunda (refrigerada) y primera síntesis (sin refrigerar). Los tiempos en que se tomaron las mediciones fueron el quinto y sexto mes, respectivamente.

Tabla 14. Radio promedio de las muestras PMP1R y PMP1.

Muestra	T de almacenamiento (°C)	Tiempo de medición (mes)	Radio promedio (nm) Algoritmo <i>Watershed</i>	Radio promedio (nm) Manualmente
PMP1R	4	Quinto	25.34 ± 1.5	25.7 ± 7
PMP1	20	Sexto	21.94 ± 2	33 ± 4

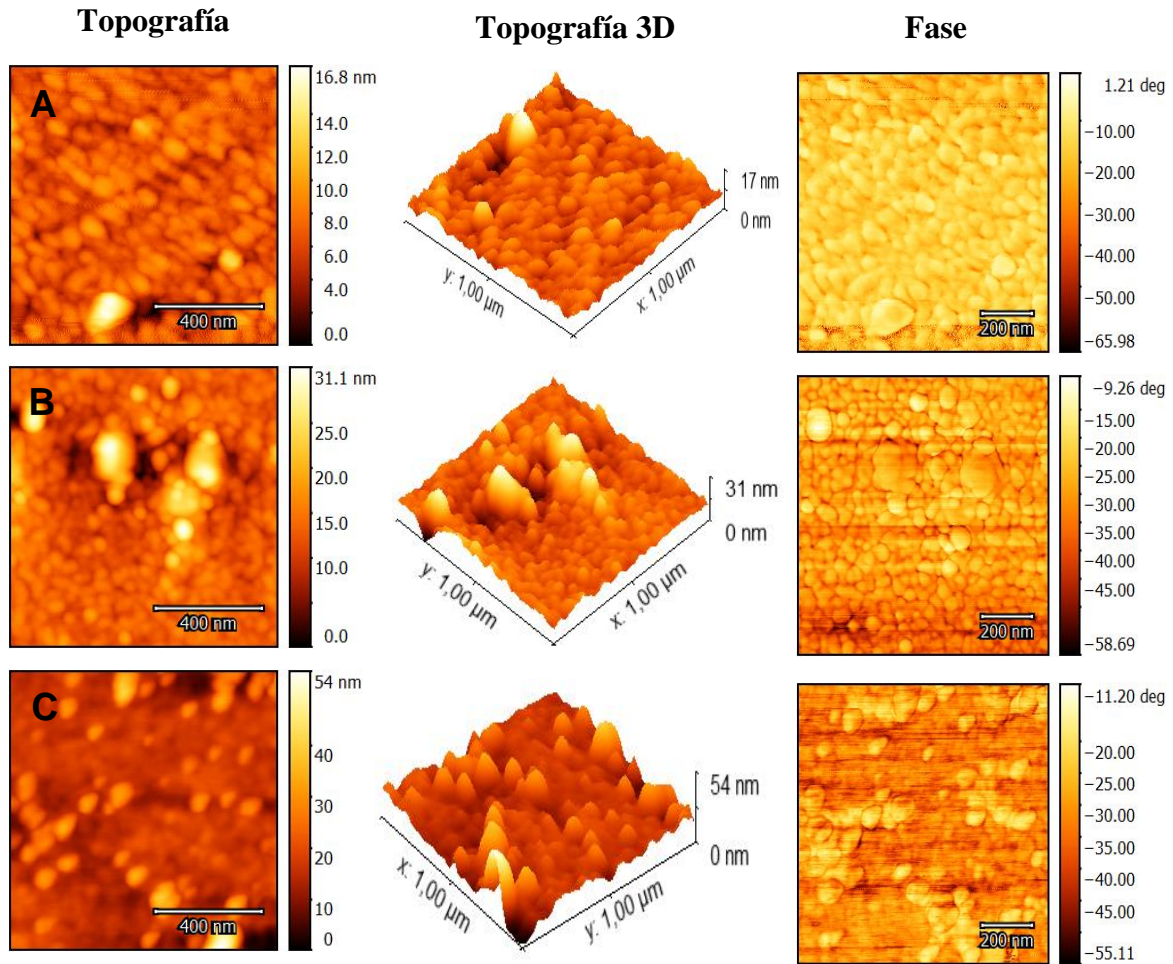


Figura 23. Imágenes AFM de (A) sustrato de vidrio con película de oro, (B) quinto mes de la segunda síntesis de PMP1R (refrigerada), (C) sexto mes de la primera síntesis de PMP1 (sin refrigerar). La columna izquierda muestra la topografía, en el centro la topografía 3D y la columna de la derecha corresponde a la fase.

En la **Figura 24** se muestran las imágenes de AFM de áreas de $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$, la topografía en 3D y la fase del sustrato limpio con película de oro/vidrio, y de la muestra PMP215 de la primera (sin refrigerar) y segunda síntesis (refrigerada), realizando la medición al sexto mes y a la primera semana. Nuevamente, se observa que las nanopartículas son esféricas.

Como la fase depende de la interacción entre la punta y la superficie, en las imágenes se observa que hay cambios correspondientes al sustrato y a la presencia de AuNPs con trazas de quitosano.

La **Tabla 15** resume los radios promedios de las muestras PMP215 (sin refrigerar) en la primera semana y en el sexto mes de la segunda y primera síntesis, respectivamente. Las

comparaciones se hicieron respecto a la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico, a 15 mL/h. Se puede observar que hay gran diferencia en los radios promedios al implementar los dos métodos, esto se debe a que, cuando se usa el algoritmo *Watershed*, este detecta bordes que pertenecen al sustrato y los toma como AuNPs eso hace que el promedio disminuya.

Tabla 15. Radio promedio de las muestras PMP215 almacenadas a 20 °C y sintetizadas con 15 mL/h de velocidad de agregación de AuCl₄H 3H₂O.

Muestra	Tiempo de Medición	Radio promedio (nm) Algoritmo <i>Watershed</i>	Radio promedio (nm) Manualmente
PMP215	Primera semana	24.6 ± 1.5	44.15 ± 7
PMP215	Sexto mes	27.69 ± 2.5	72.84 ± 11

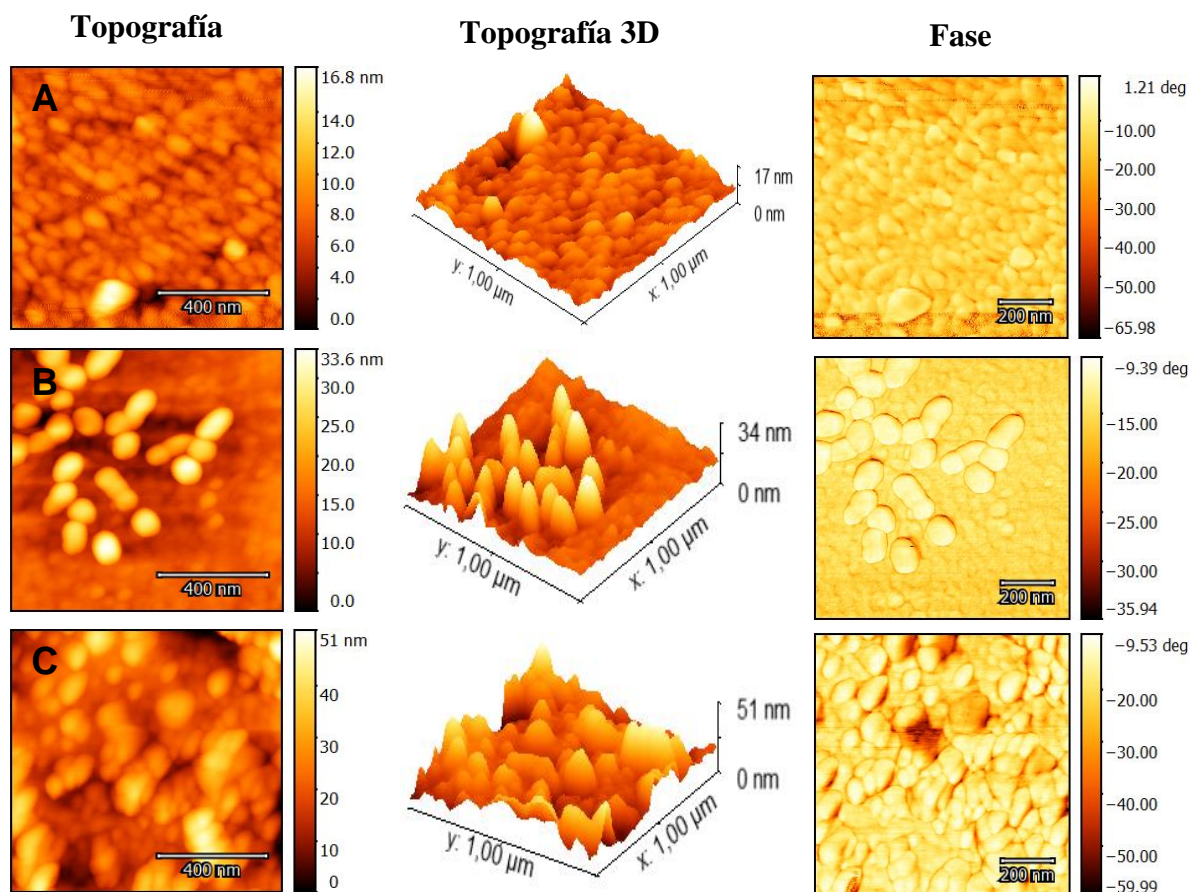


Figura 24. Imágenes AFM de (A) sustrato limpio de vidrio con película de oro, (B) primera semana de la segunda síntesis (refrigerada) de PMP215, (C) sexto mes de la primera síntesis (sin refrigerar) de PMP215. La columna izquierda muestra la topografía, en el centro la topografía 3D y a la derecha la fase.

La **Figura 25** corresponde a micrografías AFM (1 μm x 1 μm), la topografía en 3D y la fase del sustrato limpio con película de oro/vidrio y de AuNPs coloidales de la muestra PMP230, PMP330 y PMP330R de la primera (sin refrigerar) y segunda síntesis (refrigerada).

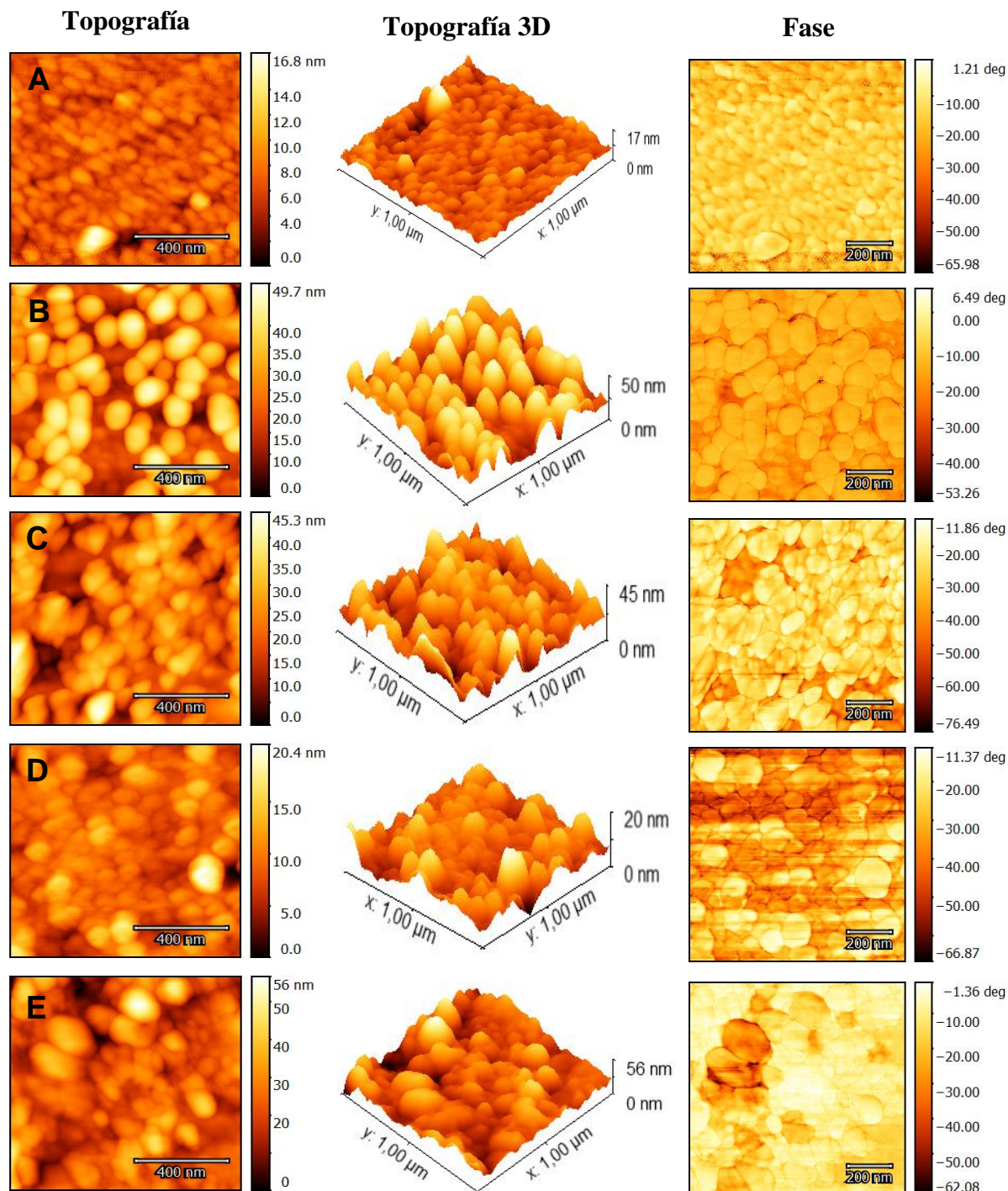


Figura 25. Micrografías AFM de: (A) sustrato limpio de película de oro/vidrio, (B) primera semana de la segunda síntesis (sin refrigerar) de PMP230, (C) sexto mes de la primera síntesis (sin refrigerar) de PMP230,

(D) primer mes de la segunda síntesis (sin refrigerar) de PMP330 y (E) primer mes de la segunda síntesis de PMP330R (refrigerada). La columna izquierda muestra la topografía, al centro la topografía 3D y a la derecha la fase.

La velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico en estas muestras fue de 30 mL/h. En (B), muestra PMP230, se observa que las AuNPs están mejor distribuidas, comparadas con (E), muestra PMP330R, la cual muestra exceso de quitosano. Por los cambios en la fase, se observa que hay regiones con distintas propiedades cuando la punta pasa del sustrato a las AuNPs.

La **Tabla 16** corresponde a los radios promedios de las muestras PMP230 en la primera semana y en el sexto mes de la segunda y primera síntesis, PMP330 y PMP330R en el primer mes de la segunda síntesis. En estas muestras la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico fue de 30 mL/h.

Tabla 16. Radio promedio de las muestras PMP230, PMP330 y PMP330R sintetizadas con 30 mL/h de velocidad de agregación de AuCl₄H 3H₂O.

Muestra	T de almacenamiento (°C)	Tiempo de Medición	Radio promedio (nm) Algoritmo <i>Watershed</i>	Radio promedio (nm) Manualmente
PMP230	20	Primera semana	31.57 ± 3.5	49.25 ± 6
PMP230	20	Sexto mes	38.13 ± 3.5	43.83 ± 8
PMP330	20	Primer mes	21.94 ± 3	31.79 ± 5
PMP330R	4	Primer mes	31.78 ± 3	29.37 ± 7

Por su parte, las imágenes de AFM (1 μm x 1 μm), la topografía en 3D y la fase del sustrato limpio con película de oro/vidrio de la muestra PMP270 de la segunda y primera síntesis con velocidad de agregación de ácido tetracloroáurico de 70 mL/h se muestran en la **Figura 26**. Los radios promedio de PMP270 determinados en el primer y sexto mes, respectivamente, utilizando los dos métodos se muestran en la **Tabla 17**.

Tabla 17. Radio promedio de las muestras PMP270 almacenadas a 20 °C y sintetizadas con 70 mL/h de velocidad de agregación de AuCl₄H 3H₂O.

Muestra	Tiempo de Medición	Radio promedio (nm) Algoritmo <i>Watershed</i>	Radio promedio (nm) Manualmente
PMP270	Primer mes	25 ± 2	46.05 ± 8
PMP270	Sexto mes	30 ± 1	55.22 ± 15

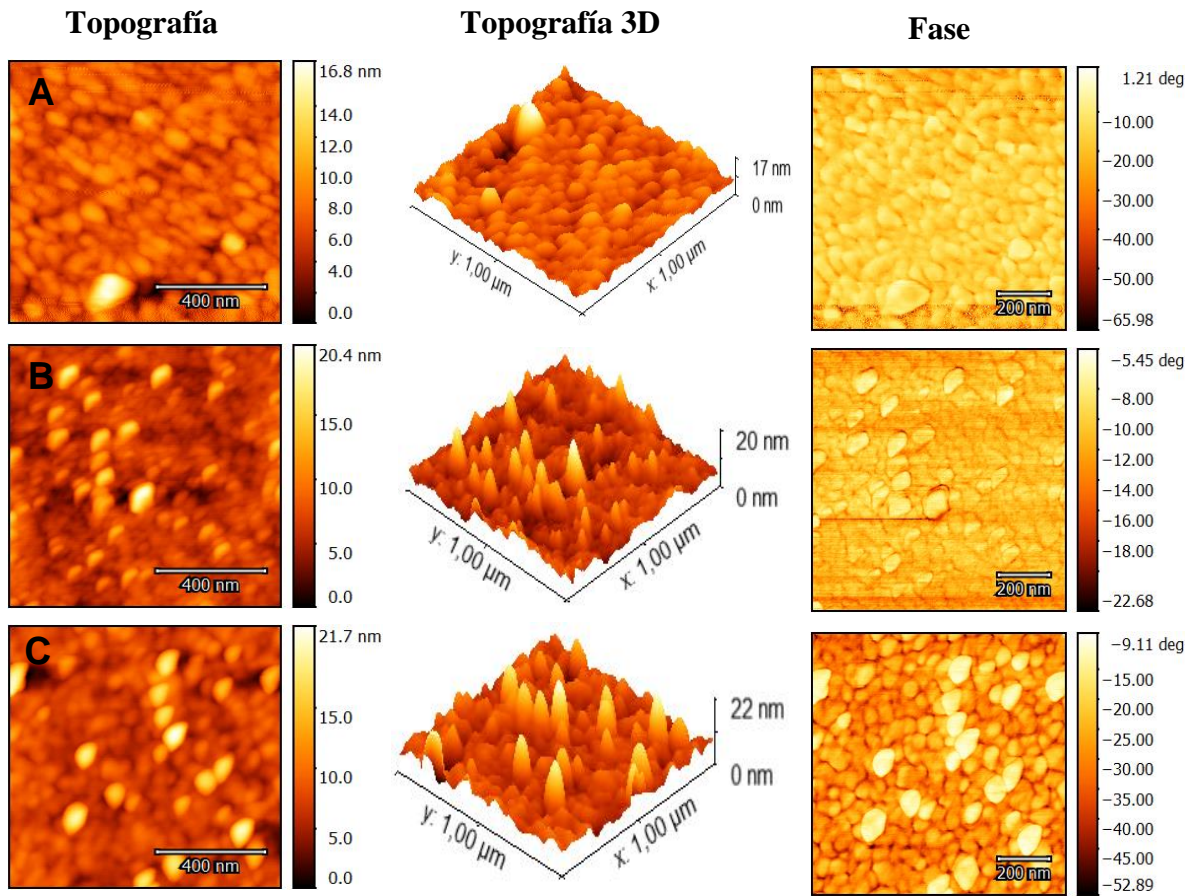
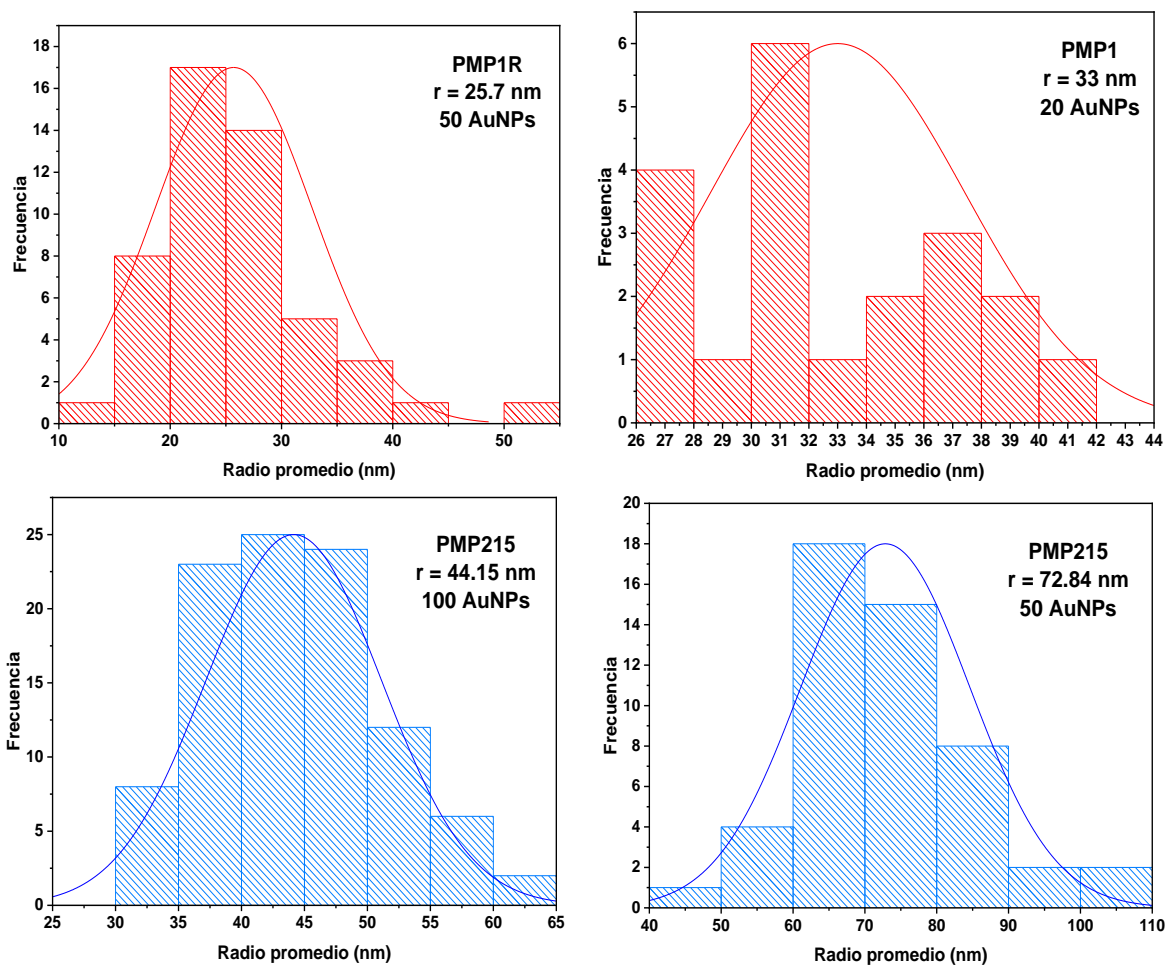


Figura 26. Micrografías AFM de (A) sustrato de vidrio con película de oro limpio, (B) primer mes de la segunda síntesis de PMP270 (sin refrigerar), (C) sexto mes de la primera síntesis de PMP270 (sin refrigerar). La columna de la izquierda muestra la topografía, al centro el perfil 3D de la topografía y a la derecha la fase.

Histogramas de los radios promedio, obtenidos con el método manual.

En la **Figura 27** se observan los histogramas de frecuencia que corresponden a los radios promedio de las AuNPs que se obtuvieron con el recuento manual, en este sentido, el análisis gráfico de los histogramas provee información sobre la homogeneidad entre los distintos tamaños. El recuento manual mostró resultados con algunas diferencias significativas respecto al recuento automático.



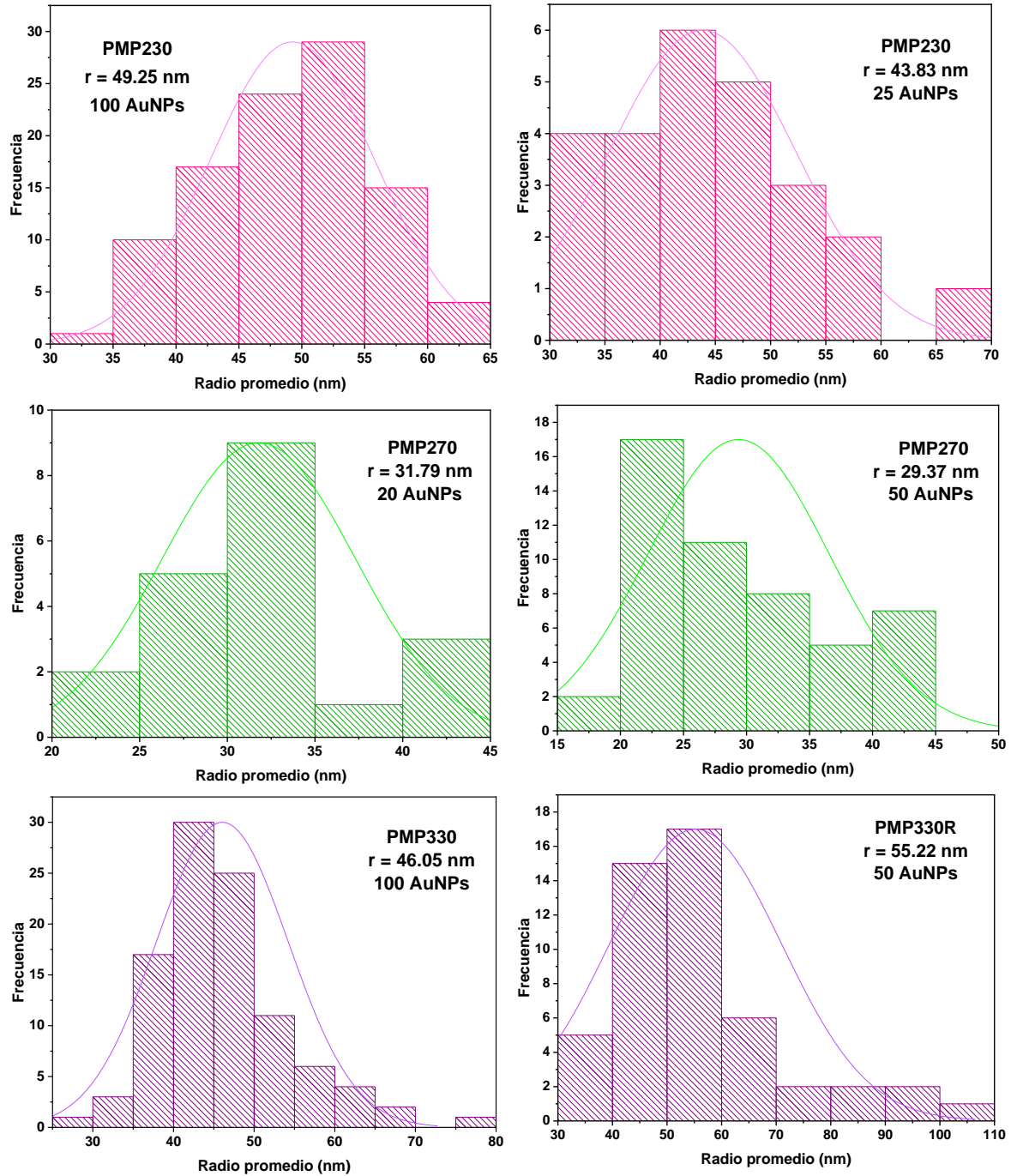


Figura 27. Histogramas de la distribución de los radios promedio de las AuNPs.

Resumen de los radios promedio con los dos métodos utilizados

En la **Figura 28** se hace un resumen de los radios promedio de las AuNPs que se encontraron con el algoritmo Watershed, se pueden visualizar 10 muestras que se sintetizaron con quitosano de medio peso molecular y que fueron analizadas en los distintos tiempos mencionados en cada caso. En la **Figura 29** se presentan los radios promedio que se obtuvieron de forma manual. En las dos figuras, eje **x** corresponde a la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico, el eje **y** al protocolo utilizado y el eje **z** al radio promedio dado en nm.

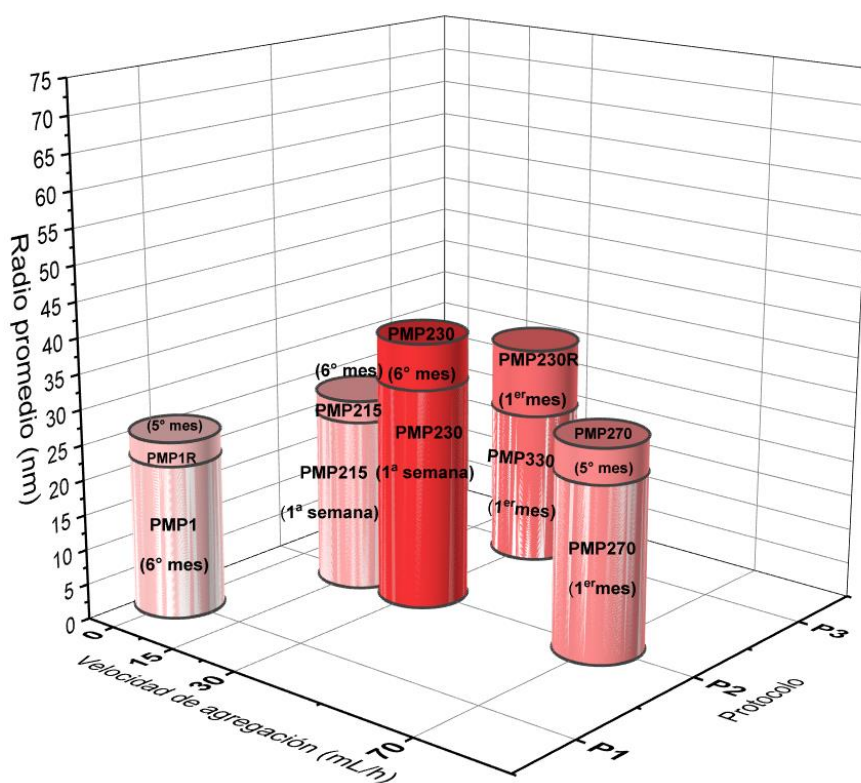


Figura 28. Radios promedio de AuNPs determinados con el algoritmo Watershed.

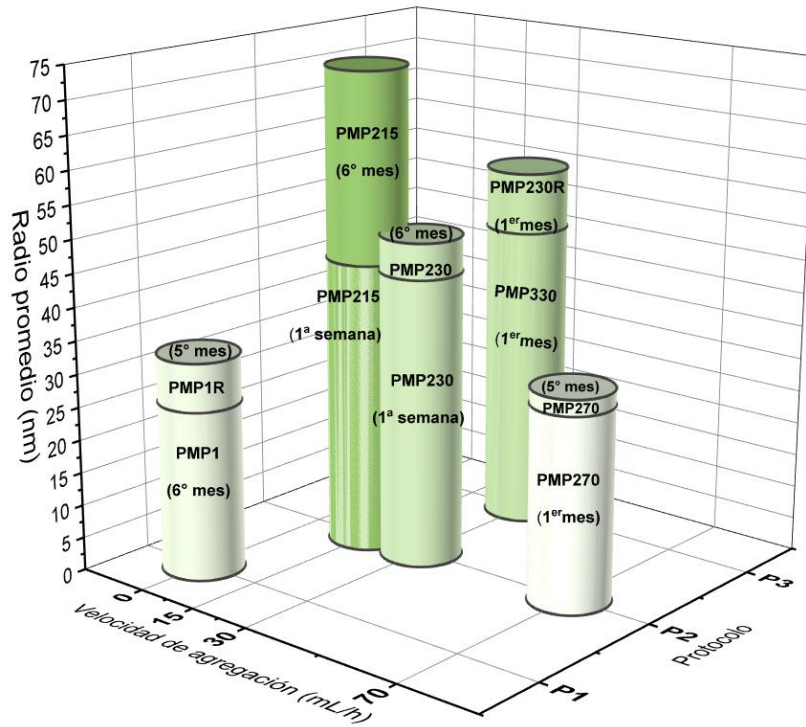


Figura 29. Radios promedio de AuNPs obtenidos de forma manual.

3.3.2 Simulaciones en MiePlot

Las predicciones teóricas de la banda de Resonancia del Plasmón de Superficie de las soluciones se determinaron utilizando el software MiePlot v4 [30]. En este modelo se obtuvieron las eficiencias de extinción, dispersión y absorción en función de la longitud de onda incidente sobre la nanopartícula. Las simulaciones se hicieron para nanopartículas de oro con y sin capa de quitosano.

En el caso de las simulaciones de las nanopartículas de oro sin la capa de quitosano, se consideraron las condiciones:

1. Material: Oro.
2. Radio de la estructura: Los determinados experimentalmente por AFM a partir del algoritmo Watershed.
3. Medio circundante: Agua.
4. Rango de longitud de onda: 450 a 650 nm.
5. Número de pasos: 1000

Por su parte, para el caso de las nanopartículas de oro con capa de quitosano, además de los datos anteriores, adicionalmente se consideró:

1. Material de la capa: Quitosano
2. Radio del núcleo y de la capa.
3. Índice de refracción del núcleo y de la capa: el índice de refracción del oro se tomó de la base de datos del software y el índice de refracción del quitosano se tomó de [31].

Las gráficas correspondientes de este modelo se compararon con los datos de los espectros de absorbancia obtenidos experimentalmente, empleando la absorbancia de una disolución que contiene NPs cuando se hace incidir radiación electromagnética a una longitud de onda específica (λ):

$$A = -\log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (88)$$

donde I_0 y I son la intensidad de la luz incidente y transmitida que atraviesa la disolución, respectivamente. La relación puede expresarse además en términos de la eficiencia de extinción Q_{ext} , longitud del camino óptico l , densidad numérica N y radio R de la NPs como [32]:

$$A = \frac{\pi R^2 Q_{\text{ext}} l N}{2.303} \quad (89)$$

donde $Q_{\text{ext}} = \frac{\sigma_{\text{ext}}}{\pi R^2}$, σ_{ext} es la sección transversal de extinción de las partículas.

Dado que la absorbancia A y la eficiencia de extinción Q_{ext} son proporcionales, es factible comparar la longitud de onda máxima λ_{SPR} , obtenida a partir de las mediciones experimentales UV-Vis, con la longitud de onda máxima de la banda de la eficiencia de extinción mediante teoría de Mie Q_{ext} (**Tabla 18**).

En las disoluciones de AuNPs con capa de quitosano, se varió el espesor de la capa (dado el radio del núcleo se fue aumentando el radio de la capa cada 2 nm, así hasta obtener cuatro simulaciones por cada muestra), y se observó que no hubo cambios significativos en la longitud de onda máxima, por lo que sólo se reportó un solo valor. Todas las simulaciones se hicieron para AuNPs resuspendidas en agua.

Tabla 18. Comparación de los datos teóricos y experimentales.

Muestra	T_{almac} (°C)	$t_{medición}$	λ_{spr} de Q_{ext} (sin capa de QN) (nm)	λ_{spr} de Q_{ext} (con capa de QN) (nm)	λ_{spr} experimental (nm)	R_{prom} (nm) Algoritmo Watershed	R_{prom} (nm) Manual
PMP1R	4	5° mes	530.60	530.63	527.5	25.37 ± 1.5	25.7 ± 7
PMP1	20	6° mes	527.10	527.07	527.0	21.94 ± 2	33 ± 4
PMP215	20	1ª semana	529.85	529.61	522.0	24.6 ± 1.5	44.15 ± 7
PMP215	20	6° mes	533.37	533.44	529.0	27.69 ± 2.5	72.84 ± 11
PMP230	20	1ª semana	538.69	538.59	521.5	31.57 ± 3.5	49.25 ± 6
PMP230	20	6° mes	548.47	548.52	524.5	38.13 ± 3.5	43.83 ± 8
PMP270	20	1er mes	530.18	530.12	530.5	25 ± 2	31.79 ± 5
PMP270	20	6° mes	536.41	536.27	527.5	30 ± 1	29.37 ± 7
PMP330	20	1er mes	526.60	526.56	524.0	21.94 ± 3	46.05 ± 8
PMP330R	4	1er mes	538.95	538.85	522.5	31.78 ± 3	55.22 ± 15

En la **Figura 30** se muestran las simulaciones de las eficiencias de extinción Q_{ext} , absorción Q_{abs} y dispersión Q_{sca} en función del tamaño de partícula obtenido por AFM y basados en la teoría de Mie para las muestras PMP1R (refrigerada, quinto mes) y PMP1 (sin refrigerar, sexto mes). En estos resultados se pudo observar un corrimiento del máximo principal hacia longitudes de onda mayores (infrarrojo), a medida que se aumentaba el tamaño.

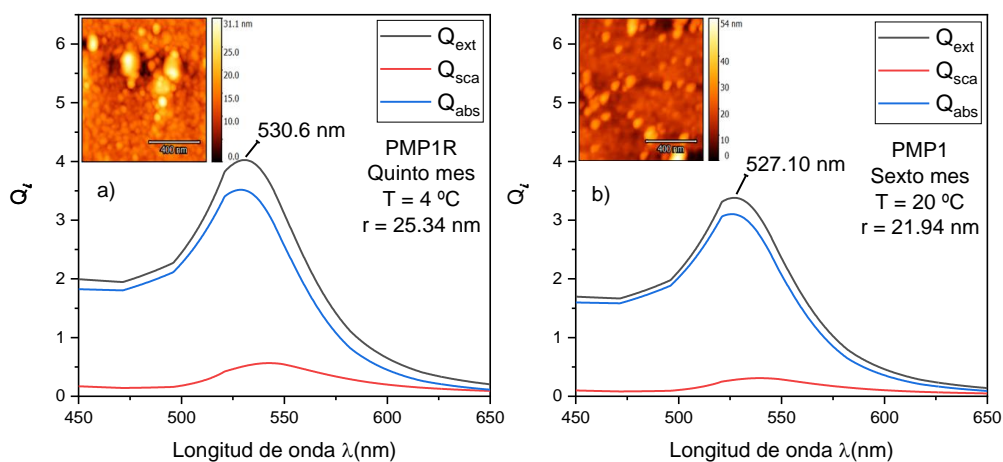


Figura 30. Simulación computacional de Q_{ext} , Q_{sca} o Q_{abs} vs longitud de onda de las muestras de AuNPs coloidales PMP1R (refrigerada) y PMP1 (sin refrigerar). a) Quinto mes y b) sexto mes.

Por su parte, la **Figura 31** corresponde a las simulaciones de las eficiencias de extinción Q_{ext} , absorción Q_{abs} y dispersión Q_{sca} en función del tamaño de partícula (obtenido por AFM), basados en la teoría de Mie para el primer y sexto mes de la muestra PMP215 almacenada a 20 °C. Nuevamente, se observa un corrimiento hacia el rojo de la longitud de onda del máximo principal, a medida que aumenta el tamaño de las nanopartículas.

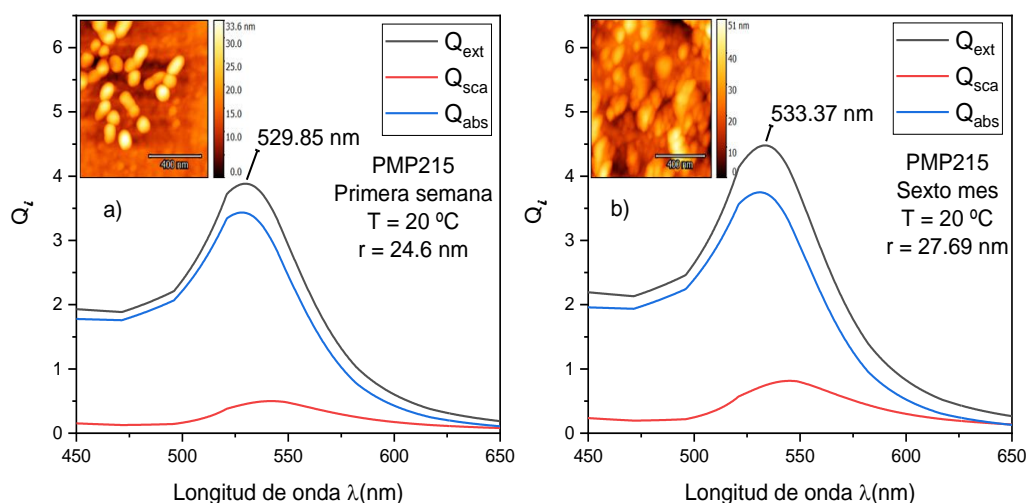


Figura 31. Simulación computacional de Q_{ext} , Q_{sca} o Q_{abs} vs longitud de onda de la muestra PMP215 (sin refrigerar). a) Primera semana y b) sexto mes.

Así mismo, las simulaciones computacionales correspondientes a las muestras PMP230 (almacenada sin refrigerar) en la primera semana, primer mes y sexto mes y la muestra PMP330R (almacenada en refrigeración) en el primer mes (**Figura 32**), se observa que a medida que aumenta el tamaño de las nanopartículas hay corrimiento hacia el rojo de los máximos principales.

Finalmente, las simulaciones de las eficiencias de extinción, absorción y dispersión en función del tamaño de partícula de las muestras PMP270 (almacenada a 20 °C) en el primer y sexto mes (**Figura 33**), se observa que a medida que aumenta el tamaño de las nanopartículas hay corrimiento hacia el rojo de los máximos principales.

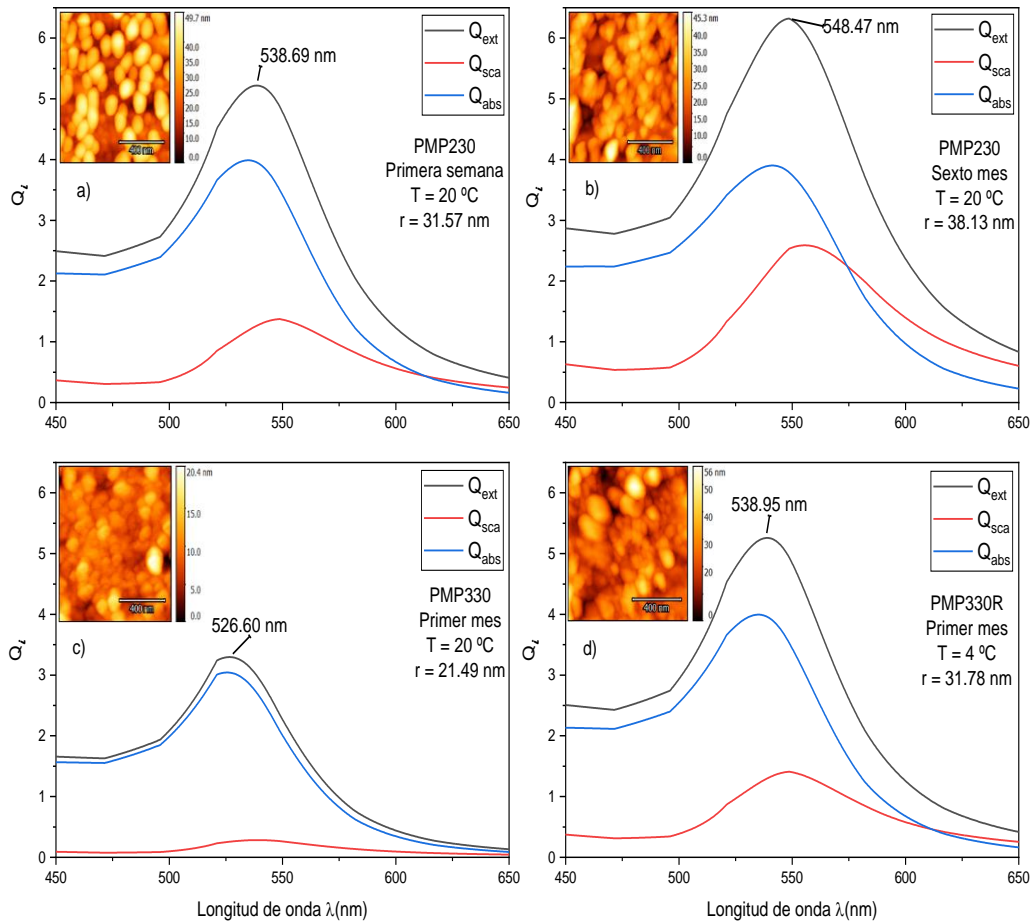


Figura 32. Simulación computacional de Q_{ext} , Q_{sca} o Q_{abs} vs longitud de onda de PMP230 (sin refrigerar) y PMP330R (refrigerada). a) Primera semana, b) Sexto mes, c) primer mes y d) primer mes.

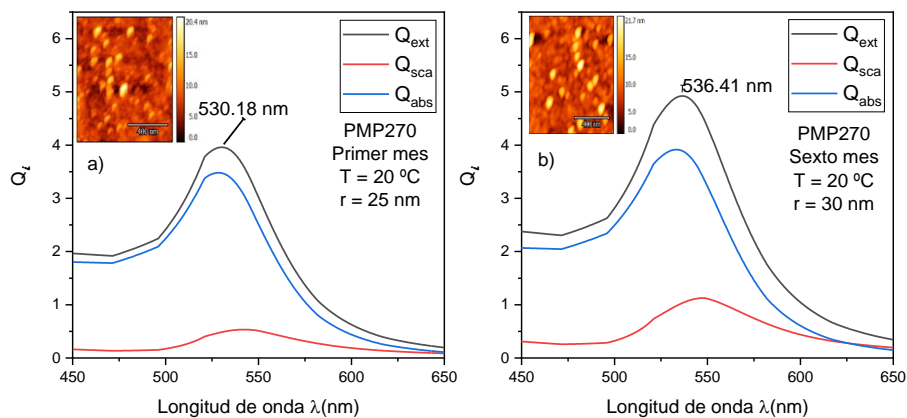


Figura 33. Simulación computacional de Q_{ext} , Q_{sca} o Q_{abs} vs longitud de onda de PMP270 (sin refrigerar). a) Primer mes y b) sexto mes.

Entonces, los resultados de UV-Vis muestran que empleando la síntesis del *Protocolo 1* (QPB, QPM, QPA; sin velocidad controlada; $T_1 = 80\text{ }^\circ\text{C}$ y $T_2 = 100\text{ }^\circ\text{C}$; almacenadas a $20\text{ }^\circ\text{C}$), se observa que la absorbancia de las tres muestras fue en aumento. Es decir, el proceso de formación de AuNPs continuaba dado que quedaba presencia de reactivos en la solución precursora. Después de la primera semana de iniciada la síntesis, se mantiene estable en absorbancia.

En el *Protocolo 2* (QPB, QPM, QPA; $v = 15, 30$ y 70 mL/h ; $T_1 = 80\text{ }^\circ\text{C}$ y $T_2 = 100\text{ }^\circ\text{C}$; almacenadas a $20\text{ }^\circ\text{C}$), se observa que al controlar la velocidad de agregación del ácido tetracloroáurico las muestras presentan mayor estabilidad en el tiempo. De las nueve muestras fabricadas, PMP230 (QPM; $v = 30\text{ mL/h}$) tiene un comportamiento de su banda plasmónica más uniforme.

Por su parte, el *Protocolo 3* (QPB, QPM, QPA; $v = 15, 30$ y 70 mL/h ; $T_1 = 100\text{ }^\circ\text{C}$ y $T_2 = 130\text{ }^\circ\text{C}$; almacenadas a $20\text{ }^\circ\text{C}$) indica que, al aumentar la temperatura durante el proceso de síntesis, aumenta la velocidad de reacción y se obtienen AuNPs en menor tiempo. Entonces, la absorbancia se mantiene estable en el tiempo y por ende el tamaño de partícula.

Con los resultados de la primera síntesis de AuNPs coloidales, se elige el quitosano de medio peso molecular para realizar una segunda síntesis. Aquí, nuevamente, se aplican los tres protocolos, pero esta vez las muestras coloidales se almacenan a una temperatura de $4\text{ }^\circ\text{C}$.

Comparando los resultados de la primera y segunda síntesis del *Protocolo 1* se observa que almacenar las muestras a una menor temperatura ($4\text{ }^\circ\text{C}$) mantiene más estable a la muestra con el tiempo, dado que la longitud de onda máxima de la absorbancia muestra menor variación.

En el caso del *Protocolo 2* de la segunda síntesis, se observa que a una mayor velocidad de agregación (70 mL/h) de ácido tetracloroáurico, la muestra es más estable en el tiempo. Esto se confirma dado un menor valor de desviación estándar σ (nm).

Por su parte, el *Protocolo 3* de la segunda síntesis muestra valores de A_{spr} y λ_{spr} constantes en el tiempo. Particularmente, la muestra PMP370R (QPM; $v = 30\text{ mL/h}$; $T_1 = 100\text{ }^\circ\text{C}$ y

$T_2 = 130\text{ }^\circ\text{C}$; almacenada a $4\text{ }^\circ\text{C}$) mostró valores de A_{SPR} constantes durante los 6 meses que duró el monitoreo, y por lo tanto también lo es la concentración de las AuNPs.

Lo que se logró con el *Protocolo 3* es que se obtuvieran AuNPs en menos tiempo ya que al incrementar la temperatura durante la síntesis hizo que aumentara la velocidad de reacción.

La presencia de una sola banda plasmónica A_{SPR} empleando los tres tipos de protocolos, independientemente de la temperatura y tiempo de almacenamiento, indica la formación de nanoestructuras esféricas.

La morfología esférica de las AuNPs empleando los protocolos propuestos, se corroboró empleando microscopia de fuerza atómica (AFM).

Los radios obtenidos a partir de la implementación del algoritmo Watershed son menores a los obtenidos manualmente, esto se debe a que el algoritmo detecta y marca bordes del sustrato y los cuenta como AuNPs, que en tamaño son más pequeñas, esto implica que al hacer el promedio de todas las nanopartículas disminuya su valor.

Finalmente, las simulaciones permitieron obtener las eficiencias de extinción, dispersión y absorción en función de la longitud de onda. Se realizaron para AuNPs con y sin capa de quitosano, empleando la teoría de Mie. Se determinó que con y sin la capa de quitosano el valor de λ_{SPR} de la banda de Q_{ext} de las AuNPs no varía. Esto se puede atribuir a que el índice de refracción del quitosano es muy cercano al índice de refracción del agua.

Conclusiones

Se sintetizaron nanopartículas de oro empleando quitosano de bajo, medio y alto pesos moleculares coloidales mediante la técnica de reducción química, variando las velocidades de agregación de la sal de oro y de las rampas de temperatura de síntesis, las cuales se almacenaron a dos temperaturas (4 y 20 °C).

Con los espectros de absorbancia UV-Vis se determinó que, en todos los casos, las AuNPs sintetizadas presentan una única banda plasmónica, por lo cual presentan una estructura esférica.

Los colores que presentaron las disoluciones coloidales de AuNPs muestran que las propiedades ópticas de los materiales a escalas nanométricas son diferentes al material en bulto, dado que varían las bandas plasmónicas de absorción λ_{SPR} en el espectro UV-Vis.

Se determinó la longitud de onda de resonancia de plasmón superficial λ_{SPR} en cada muestra, concluyendo que las muestras sintetizadas con quitosano de medio peso molecular, velocidad de agregación de la sal de oro de 30 mL/h, rampas de temperatura de 100 y 130 °C, almacenadas a 4 °C, y monitoreadas hasta por 6 meses, presentan mayor estabilidad en su morfología y tamaño respecto de las otras condiciones de fabricación.

En las simulaciones, el valor de Q_{ext} para las AuNPs aumenta a medida que aumenta el tamaño de la nanopartícula. Esta tendencia refleja la dependencia directa de la sección transversal de extinción, así como la contribución relativa de la dispersión.

Con un aumento del diámetro de las AuNPs hay un ligero desplazamiento al rojo en el valor de λ_{SPR} , que indica un aumento en el tamaño de las partículas.

Se observó un aumento de la absorbancia cuando se incrementa el tiempo de interacción. El incremento de la absorbancia podría verse influido por un aumento en la cantidad de especies absorbentes. La estabilidad resulta de una barrera potencial que se desarrolla como resultado de la competencia entre las fuerzas débiles de atracción de Van der Waals y la repulsión electrostática.

Las diferencias en los tamaños de partícula obtenidos se debieron a la alta dispersidad de la muestra y a la acumulación de quitosano.

Bibliografía

- [1] B. J. Alonso Gutierrez, A. López Meléndez, C. Y. Rodríguez Liñan, and D. A. Lázaro López, “La nanotecnología a 40 años de su aparición: Logros y tendencias,” 2015.
- [2] I. Freestone, N. Meeks, M. Sax, and H. Catherine, “The Lycurgus Cup - A Roman Nanotechnology,” *Gold Bull.*, vol. 40, no. 4, pp. 270–277, 2007.
- [3] “Nanotechnology Timeline | Nano.” <https://www.nano.gov/timeline> (accessed Oct. 12, 2020).
- [4] F. Chaparro Chaparro and R. Quintero Reyes, “Nanociencia, nanotecnología, nanomateriales...La Revolución Industrial del Siglo XXI,” *Let. Concienc. TecnoLógica*, pp. 62–74, 2018, [Online]. Available: <https://revistas.itc.edu.co/index.php/letras/article/view/41/40>.
- [5] A. Corzo Lucioni, “SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO OBTENIDAS POR REDUCCIÓN DE H[AuCl]₄.”
- [6] M. E. Stewart *et al.*, “Nanostructured plasmonic sensors,” *Chemical Reviews*, vol. 108, no. 2, pp. 494–521, Feb. 2008, doi: 10.1021/cr068126n.
- [7] A. M. Anaya Osorio, J. J. Fajardo Manrique, and Ó. Cornejo Sánchez, “ESTUDIO TEÓRICO DEL PLASMÓN EN NANOESFERAS DE ORO,” 2019.
- [8] H. Horvath, “Gustav Mie and the scattering and absorption of light by particles: Historic developments and basics,” *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, vol. 110, no. 11, pp. 787–799, 2009, doi: 10.1016/j.jqsrt.2009.02.022.
- [9] C. F. Bohren and D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley Science Paperback Series, 1998.
- [10] A. Mar, O. Anaya, and M. Fajardo, “ESTUDIO TEÓRICO DEL PLASMÓN EN NANOESFERAS DE ORO,” *Rev Soc Quím Perú*, vol. 85, no. 4, pp. 432–439, 2019.
- [11] G. López Téllez *et al.*, *Nanoestructuras metálicas*. 2013.
- [12] R. M. R. Kenneth J. Klabunde, *Nanoscale Materials in Chemistry*, vol. 10, no. 2. New Jersey, Estados Unidos: Wiley, 2009.
- [13] B. Cappella, *Mechanical Properties of Polymers Measured through AFM Force-Distance Curves*. 2016.
- [14] ATSUSHI IKAI, *THE WORLD OF NANO-BIOMECHANICS Mechanical Imaging and Measurement by Atomic Force Microscopy*. 1386.
- [15] “Microscopio de Fuerza Atómica (ATM).” http://www.linan-ipcicyt.mx/Microscopio_de_Fuerza_Atómica.html (accessed Aug. 26, 2020).

- [16] D. Ricci and P. C. Braga, *Atomic Force Microscopy Biomedical Methods and*, vol. 242, no. 2. 2004.
- [17] J. Veselý, *Nanoscale AFM and TEM Observations of Elementary Dislocation Mechanisms*. 2017.
- [18] “INSTRUMENTOS ÓPTICOS EN MEDIDAS DE ABSORBANCIA.” https://repositorio.innovacionumh.es/Proyectos/P_22CursoMateriales/Miguel_Angel_Sogorb/Wimba/Espectroscopia_04.htm (accessed Oct. 13, 2020).
- [19] T. Owen, *Principios y aplicaciones de espectroscopía Uv-visible*. 2000.
- [20] A. Gandini and H. Cheradame, *Chitosan for Biomaterials I*, no. 34–35. 1980.
- [21] A. OU, L. H, A. PI, A. OC, N. EI, and O. EF, “The Chemistry of Chitin and Chitosan Justifying their Nanomedical Utilities,” *Biochem. Pharmacol. Open Access*, vol. 07, no. 01, pp. 1–6, 2018, doi: 10.4172/2167-0501.1000241.
- [22] “64-19-7 | CAS DataBase.” https://www.chemicalbook.com/CASEN_64-19-7.htm (accessed Jan. 25, 2021).
- [23] “Gold(III) Chloride Trihydrate | AMERICAN ELEMENTS ®.” <https://www.americanelements.com/gold-iii-chloride-trihydrate-16961-25-4> (accessed Oct. 12, 2020).
- [24] “Thermo Scientific NanoDrop OneC Espectrofotómetro UV-Vis de microvolumen NanoDrop | Fisher Scientific.” <https://www.fishersci.com/shop/products/nanodrop-one-spec-w-cuvette/13400519> (accessed Oct. 12, 2020).
- [25] “Bomba de infusión de jeringa única - Serie KDS 100.” <https://www.kdscientific.com/kds-100-legacy-syringe-pump.html> (accessed Oct. 12, 2020).
- [26] “Park XE7 - Overview | Park Atomic Force Microscope.” <https://parksystems.com/products/small-sample-afm/park-xe7/overview> (accessed Oct. 12, 2020).
- [27] Valdivia Rodríguez; Alejandra, “Síntesis de nanopartículas de oro empleando quitosano de bajo, medio y alto peso molecular,” Universidad Veracruzana, 2014.
- [28] W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, and D. G. Fernig, “Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra,” *Anal. Chem.*, vol. 79, no. 11, pp. 4215–4221, Jun. 2007, doi: 10.1021/ac0702084.
- [29] D. N. (Yeti) *et al.*, “Gwyddion.” 2019, [Online]. Available: <http://gwyddion.net/>.
- [30] P. Laven, “MiePlot.” 2018, [Online]. Available: <http://www.philiplaven.com/mieplot.htm>.
- [31] M. Koralewski, K. H. Bodek, K. Marczewska, I. Fیزیki, and U. a Mickiewiczza, “4. Optical Properties of Chitosan in Aqueous Solution,” *Polish Chitin Soc.*, vol. XI, pp.

29–39, 2006.

- [32] D. Acharya, B. Mohanta, S. Deb, and A. K. Sen, “Theoretical prediction of absorbance spectra considering the particle size distribution using Mie theory and their comparison with the experimental UV–Vis spectra of synthesized nanoparticles,” *Spectrosc. Lett.*, vol. 51, no. 3, pp. 139–143, 2018, doi: 10.1080/00387010.2018.1442351.