BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE FÍSICA “LUIS RIVERA TERRAZAS”

“ESTUDIO DE LOS COMPOSITOS DE FERRITAS DE NÍQUEL Y NANOPARTÍCULAS DE PLATA COMO SUSTRATOS SERS”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS
(EN LA ESPECIALIDAD DE CIENCIA DE MATERIALES)

PRESENTA
I.Q. Dalila Huerta Rosales

DIRECTOR DE TESIS
Dr. Enrique Sánchez Mora

No. de CVU: 1164531

Febrero 2025

2025-Dalila Huerta Rosales

Derechos Reservados

Agradecimientos

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Enrique Sánchez Mora, por haber sido una guía durante el desarrollo de esta tesis. Gracias por su tiempo, su dedicación y su paciencia, por cada consejo, cada explicación, cada corrección que sin duda fueron fundamentales en este trabajo. Su enseñanza ha dejado una huella imborrable en mi desarrollo académico, y llevaré sus enseñanzas conmigo en cada paso de mi camino profesional.

Agradezco a mis padres Adrian Huerta y Silvia Rosales, y a toda mi familia Huerta Rosales por su amor y apoyo incondicional en todo momento, por estar conmigo en cada paso de esta etapa y por su constante motivación, este logro también es de ustedes.

Agradezco a Adrian Tecpoyotl Pablo, por su apoyo incondicional, por su comprensión y su cariño brindado. Por toda la motivación en los días difíciles, por su paciencia y por siempre tener palabras y abrazos que reconfortan. Gracias por las risas compartidas y por creer en mí siempre, por hacerme saber que soy capaz de lograr lo que me proponga. Gracias por estar siempre a mi lado.

A Ale de La Rosa, mi amiga de la maestría, gracias por los días de estudio, las risas y la experiencia compartida.

A mis compañeros de laboratorio de Eco-campus: Al Dr. Ismael Santos, a la Dra. Paulina De León, al Dr. Abel, a la M.C. Mary Amador y a la M.C. Azury Nava, gracias por siempre estar dispuestos a ayudarme en lo académico, pero también por brindarme su amistad y cariño.

Agradezco a la Dra. Eunice de Anda y a la Dra. Anabel López por su disposición para usar los equipos del laboratorio central de Eco-campus y la disposición de materiales y reactivos en el laboratorio de Química de Eco-campus. Gracias también por la convivencia y la amistad brindada.

Agradezco al Dr. N. Rutilo Silva González, del Instituto de Física de la BUAP, por su ayuda para la obtención de imágenes SEM de las muestras, también al Dr. Ulises Salazar Kuri del Instituto de Física de la BUAP, por los análisis de DRX de las muestras.

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca de maestría 1164531.

Dedicatoria

Dedico con todo mi corazón esta tesis a mis padres: Adrián Huerta Tapia y Silvia Rosales Medel. Su amor incondicional y sus sabios consejos me han hecho una persona perseverante y capaz de alcanzar mis sueños.

Dedico esta tesis a Arturito García Huerta, por su inmenso amor. Cada abrazo y cada palabra han sido una fuente de alegría y motivación en los días felices, pero también en los días tristes y difíciles.

Dedico también esta tesis a Dios por mostrarme su infinito amor en todo momento y por darme la fuerza y perseverancia para completar esta etapa de mi vida.

ESTUDIO DE LOS COMPOSITOS DE FERRITAS DE NÍQUEL Y NANOPARTÍCULAS DE PLATA COMO SUSTRATOS SERS

Resumen

Los métodos para cuantificar compuestos orgánicos, incluyendo los fármacos, tienen limitaciones en cuanto a la sensibilidad de detección, por ejemplo, en concentraciones muy pequeñas (pico-molar (pM)), es por ello que la técnica SERS se presenta como una alternativa para detectar estas concentraciones.

En este trabajo se reporta la síntesis y caracterización de las nanopartículas de plata (NPs-Ag), nanopartículas de ferritas de níquel (NPs-$NiFe_2O_4$) y el composito de nanopartículas de Ag-$NiFe_2O_4$, y la aplicación como sustrato SERS de estos materiales, utilizando como molécula de prueba a la Tiroxina.

La síntesis de las NPs-Ag se llevó a cabo mediante el método de reducción química. Los resultados mostraron que las NPs-Ag son esféricas, estables y presentan una carga superficial negativa debida al ácido tánico que rodea a la superficie de la NP metálica. El tamaño promedio de las NPs-Ag fue de 18.1 nm con una desviación estándar de 2.3 nm; presentan una banda de absorción en 417 nm, esta absorción se debe a la resonancia de los plasmones de superficie; también muestra una estructura cristalina cúbica centrada en las caras, con un tamaño del cristalito de 12.2 nm; presentan un diámetro hidrodinámico promedio de 32.7 nm con una desviación estándar de 5.3 nm, este tamaño es más grande que el diámetro determinado por SEM debido a la interacción de las NPs con el estabilizante, además de que están en solución acuosa y las moléculas de agua rodean a las NPs. La concentración final de las NPs-Ag lavadas fue de 14.8 ppm.

Por otro lado, las NPs-$NiFe_2O_4$ se sintetizaron por el método hidrotermal y se trataron térmicamente a 300, 500 y 700°C con el objetivo de estudiar el efecto de este parámetro sobre las diferentes propiedades de las muestras. La morfología de las NPs sin tratamiento térmico fue cuasi esférica y las NPs se encuentran aglomeradas debido a su carácter magnético; con un diámetro promedio de aproximante 58.4 nm. A medida que se aumenta el tratamiento térmico, el tamaño de partícula aumenta hasta 72.0 nm, debido a que las partículas coalescen, esto quiere decir que las partículas se fusionan parcialmente para formar una sola. En cuanto a la estequiometria, todas las muestras presentan una desviación a la estequiometría, sin embargo, las NPs tratadas a 500°C muestran menor desviación. El band gap indirecto de las muestras sin tratar y tratadas térmicamente

se mantuvo constante (1.95 eV), excepto el de la muestra tratada a 500°C, en el cual su band gap fue de 1.69 eV, debido a que hay menos FeOOH presente. Las muestras sin tratar y tratadas térmicamente presentan la estructura cristalina cúbica centrada en las caras de la $NiFe_2O_4$, también presentan la estructura cristalina romboédrica del FeOOH en menor proporción y no hubo cambios significativos en la estructura cristalina ni en el tamaño del cristalito. Por otro lado, en los espectros Raman de todas las muestras se observaron las bandas Raman características de la $NiFe_2O_4$ y solamente el espectro Raman de la muestra tratada a 700°C se observan claramente las bandas debidas al FeOOH, con estos resultados se concluyó que a medida que se aumenta la temperatura de tratamiento térmico, la $NiFe_2O_4$ se oxida.

El composito Ag-$NiFe_2O_4$ fue sintetizado utilizando las NPs-$NiFe_2O_4$ tratadas a 500°C y se adicionaron durante la síntesis de las NPs-Ag. Los resultados mostraron que las NPs-Ag, mantienen la morfología esférica, sin embargo, su tamaño aumentó a 48.3 nm, estas se encuentran depositadas sobre las NPs-$NiFe_2O_4$, pero su distribución sobre la superficie no es uniforme y las propiedades estructurales no cambian significativamente con respecto a las NPs-Ag y NPs-$NiFe_2O_4$ individuales.

Finalmente, la aplicación de NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$ como sustratos SERS utilizando como molécula de prueba la Tiroxina (T4) a concentraciones de 1 pM hasta 1 mM, mostraron que los EF de las bandas Raman de la T4 con los sustratos SERS de las NPs-Ag son mayores (10^4) que los EF de la T4 con los sustratos SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ (10^2) y de igual magnitud que el del composito (10^4). Por otro lado, el Factor de Realce (EF) aumenta a medida que aumenta la concentración de T4, pero su comportamiento no es lineal. A concentraciones pequeñas (1 pM) de T4, el EF es grande (10^4) utilizando el sustrato SERS de NPs-Ag, en comparación con el sustrato SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ (10^1) y el composito (10^2); mientras que a concentraciones altas de T4 (1 mM) el EF es de (10^4) utilizando el sustrato SERS de NPs-Ag, en comparación con el EF del sustrato SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ (10^2) y el EF del composito (10^4).

En la literatura aún no se ha reportado el uso de las NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$ como sustratos SERS como sensores de T4, aunque en el primero el EF es relativamente pequeño y el del composito es comparable con el EF de las NPs-Ag.

STUDY OF NICKEL FERRITE-SILVER NANOPARTICLE COMPOSITES AS SERS SUBSTRATES

Abstract

Methods to quantify organic compounds, including drugs, have limitations in detection sensitivity, for example, at minimal concentrations (pico-molar (pM)), which is why the SERS technique is presented as an alternative to detect these concentrations.

In this work, we report the synthesis and characterization of silver (NPs-Ag) nanoparticles, nickel ferrite nanoparticles (NPs-$NiFe_2O_4$), and Ag-$NiFe_2O_4$ nanoparticle composites and their application as SERS substrates, using Thyroxine as a test molecule.

The synthesis of the Ag-NPs was carried out by the chemical reduction method. The results showed that the Ag-NPs are spherical, stable, and present a negative surface charge due to the tannic acid surrounding the metal NP surface. The average size of the Ag-NPs was 18.1 nm with a standard deviation of 2.3 nm; they present an absorption band at 417 nm, this absorption is due to surface plasmon resonance; it also shows a face-centered cubic crystal structure, with a crystallite size of 12. 2 nm; they present an average hydrodynamic diameter of 32.7 nm with a standard deviation of 5.3 nm, this size is larger than the diameter determined by SEM due to the interaction of the NPs with the stabilizer, in addition to the fact that they are in aqueous solution and water molecules surround the NPs. The final concentration of the washed Ag-NPs was 14.8 ppm.

On the other hand, the NPs-$NiFe_2O_4$ were synthesized by the hydrothermal method and heat treated at 300, 500, and 700°C to study the effect of this parameter on the different properties of the samples. The morphology of the NPs without heat treatment was quasi-spherical and the NPs are agglomerated due to their magnetic character; with an average diameter of approximately 58.4 nm. As the heat treatment is increased, the particle size increases up to 72.0 nm, because the particles coalesce, meaning that the particles partially merge to form a single particle. Regarding stoichiometry, all samples show a deviation from stoichiometry, however, the NPs treated at 500°C show less deviation. The indirect band gap of the untreated and heat-treated samples remained constant (1.95 eV), except that of the sample treated at 500°C, in which its band gap was 1.69 eV, due to less FeOOH being present. The untreated and heat-treated samples present the cubic crystalline structure centered on the faces of $NiFe_2O_4$, they also present the rhombohedral crystalline

structure of FeOOH in smaller proportion and there were no significant changes in the crystalline structure nor the crystallite size. On the other hand, in the Raman spectra of all the samples the characteristic Raman bands of $NiFe_2O_4$ were observed and only the Raman spectrum of the sample treated at 700°C clearly shows the bands due to FeOOH, with these results it concluded that as the heat treatment temperature increases, $NiFe_2O_4$ is oxidized.

The Ag-$NiFe_2O_4$ composite was synthesized using the NPs-$NiFe_2O_4$ treated at 500°C and added during the synthesis of the Ag-NPs. The results showed that the NPs-Ag maintained the spherical morphology, however, their size increased to 48.3 nm, they are deposited on the NPs-$NiFe_2O_4$, but their distribution on the surface is not uniform and the structural properties do not change significantly with respect to the individual NPs-Ag and NPs-$NiFe_2O_4$.

Finally, the application of NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$, and the Ag-$NiFe_2O_4$ composite as SERS substrates using Thyroxine (T4) as test molecule at concentrations from 1 pM to 1 mM, showed that the EFs of the Raman bands of T4 with the SERS substrates of NPs-Ag is higher (10^4) than the EFs of T4 with the SERS substrates of NPs-$NiFe_2O_4$ (10^2) and of equal magnitude to that of the composite (10^4). On the other hand, the enhancement factor (EF) increases with increasing T4 concentration, but its behavior is not linear. At small concentrations (1 pM) of T4, the EF is large (10^4) using the SERS substrate of NPs-Ag, compared to the SERS substrate of NPs-$NiFe_2O_4$ (10^1) and the composite (10^2); while at high concentrations of T4 (1 mM) the EF is (10^4) using the SERS substrate of NPs-Ag, compared to the EF of the SERS substrate of NPs-$NiFe_2O_4$ (10^2) and the EF of the composite (10^4).

The literature has not yet reported the use of NPs-$NiFe_2O_4$ and the Ag-$NiFe_2O_4$ composite as SERS substrates as T4 sensors, although in the former the EF is relatively small and that of the composite is comparable to the EF of NPs-Ag.

Participación en eventos

- Study of the Photocatalytic Activity of Ag-$NiFe_2O_4$ Composites.

Dalila Huerta Rosales, Enrique Sánchez Mora, María Eunice de Anda Reyes y Anabel Romero López. 32nd International Materials Research Congress. Cancún, México (2024).

32nd INTERNATIONAL MATERIALS RESEARCH CONGRESS 2024

Sociedad Mexicana de Materiales A.C.

MRS MATERIALS RESEARCH SOCIETY

The Organizing Committee
Acknowledges the Participation of

Dalila Huerta Rosales

in the

32nd International Materials Research Congress
held in Cancun, Mexico
from August 18 to 23, 2024

Dr. Jesús González Hernández
SMMater President

Sociedad Mexicana de Materiales A.C.

August 2024

TO WHOM IT MAY CONCERN
P r e s e n t

This is to certify that *Dalila Huerta Rosales, Enrique Sánchez Mora, María Eunice de Anda Reyes, Anabel Romero* presented the contribution: **STUDY OF THE PHOTOCATALYTIC ACTIVITY OF Ag-$NiFe_2O_4$ COMPOSITES** as **Poster** modality, in the *D2. Functional Metal and Related Oxide Nanomaterials: Synthesis, Characterization, and Applications* Symposium at the **32nd International Materials Research Congress** held in Cancun, Mexico from August 18th to 23th, 2024.

Sincerely,

Jesús González Hernández
President

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO 1 ..... *12*

INTRODUCCIÓN *12*

CAPÍTULO 2 ..... *15*

MARCO TEÓRICO *15*

2.1 NPs-Ag **15**

2.1.1 Métodos de síntesis 16

2.1.2 Aplicaciones 16

2.2 NPs-$NiFe_2O_4$ **17**

2.2.1 Métodos de síntesis 18

2.2.2 Aplicaciones 19

2.3 Composito Ag-$NiFe_2O_4$ **20**

2.4 SERS **22**

2.4.1 Teoría Electromagnética y química de SERS 23

2.5 Tiroxina **25**

CAPÍTULO 3 ..... **28**

METODOLOGÍA **28**

3.1 Síntesis de las NPs-Ag **28**

3.2 Síntesis de las NPs-$NiFe_2O_4$ mediante el método hidrotermal **29**

3.3 Síntesis del composito de NPs de Ag-$NiFe_2O_4$ **31**

3.4. Técnicas de caracterización de las NPs de Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$ **31**

3.4.1 Espectroscopia UV-Visible 31

3.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido 32

3.4.3 Difracción de Rayos-X 33

3.4.4 Dispersión Dinámica de Luz y Potencial Z 33

3.4.5 Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) 34

3. 4.6 Espectroscopía Raman 34

3.4.7 Espectroscopía de Absorción Atómica 35

3.5. Preparación de los sustratos SERS y cuantificación de la Tiroxina **36**

CAPÍTULO 4 ..... *38*

RESULTADOS Y DISCUSIÓN *38*

4.1 NPs de Ag **38**

4.1.1 Espectroscopia UV-Visible 38

4.1.2 Microscopía Electrónica de Barrido 39

4.1.3 Difracción de Rayos-X 40

4.1.4 Dispersión Dinámica de Luz 41

4.1.5 Potencial Z 41

4.1.6 Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier 43

4.1.7 Espectroscopía de Absorción atómica 44

4.2 NPs-$NiFe_2O_4$ **46**

4.2.1 Microscopía Electrónica de Barrido 47

4.2.2 Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier 50

4.2.3 Difracción de Rayos-X 51

4.2.4 Espectroscopía Raman 52

4.2.5 Espectroscopia UV-Visible 55

4.3 NPs del composito de Ag-$NiFe_2O_4$ **57**

4.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido 57

4.3.2 Difracción de Rayos-X 59

4.3.3 Espectroscopía Raman 60

4.4 Estudio SERS para la cuantificación de la Tiroxina **60**

4.4.1 Sustratos SERS de NPs-Ag 60

4.4.2 Sustratos SERS de NPs-$NiFe_2O_4$ 67

4.4.3 Sustratos SERS del composito Ag-$NiFe_2O_4$ 71

CONCLUSIONES **76**

ANEXOS *78*

BIBLIOGRAFÍA *88*

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

El suministro continuo de agua limpia y libre de contaminantes es un reto social crucial. Debido al rápido desarrollo de la industria y aumento de la población, la demanda de recursos de agua dulce aumenta día a día. Se prevé que el problema asociado al acceso al agua dulce se agravará en el futuro.

Las actividades causadas por el ser humano, así como los procesos naturales tienen un impacto significativo en el medio ambiente, aportando varios contaminantes en el agua, haciéndola no potable y no apta para el consumo humano, animal y vegetal. El consumo de este tipo de agua puede acarrear consecuencias para la salud que varían desde efectos leves hasta peligrosos e incluso la muerte de los consumidores, dependiendo de la naturaleza del contaminante [1-3].

En las aguas residuales urbanas se encuentran diversos tipos de contaminantes que no están regulados y son potencialmente dañinos para la salud. Entre los contaminantes emergentes destacan los fármacos que son desechados tanto por humanos como por animales [4]. Entre estos fármacos se encuentra la Tiroxina que se ha encontrado como contaminante en los lagos de México y Canadá en concentraciones del orden de nano molar (nM) [5].

Las tecnologías de tratamiento convencionales pueden no ser económicas, sobre todo cuando se escalan. También pueden dar lugar a productos secundarios con concentraciones muy pequeñas (del orden de nano y micro Molar) que pueden ser incluso más dañinos. Por lo tanto, se están desarrollando tecnologías mejoradas de tratamiento del agua para que los procesos sean eficaces, seguros, accesibles y económicos [6]

En cuanto a las técnicas para cuantificar los fármacos se han reportado los métodos biológicos en los cuales están los procedimientos basados en inmunoensayos y análisis microbiológicos; también están los métodos químicos como la cromatografía de gases (GC), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC/MS).

En los métodos biológicos uno de los problemas es su especificidad y la sensibilidad de análisis los cuales dependen del antibiótico o analito a analizar, además de que siempre se tendrá que utilizar métodos de confirmación los cuales permiten obtener información adicional para la cuantificación e identificación inequívoca del analito.

En los métodos químicos, los principales inconvenientes son los altos costos, tales como el equipamiento, la capacitación técnica, la infraestructura de los laboratorios, el mantenimiento, tiempo entre la recolección y el resultado; destacando la dificultad de analizar grandes volúmenes de muestras en tiempos reducidos, los cuales son indispensables para llevar a cabo programas de vigilancia y control efectivos, por lo que es necesario desarrollar nuevos métodos simples y rápidos [7].

Uno de los métodos que se propone para la cuantificación de medicamentos como contaminantes orgánicos en concentraciones muy pequeñas (pico Molar) es la dispersión Raman intensificada en superficie (SERS), debido a que es una herramienta de detección analítica sensible y no destructiva que puede detectar analitos incluso de una sola molécula [7]. Las nanoestructuras de metales nobles (como Ag o Au) han sido ampliamente investigadas como sustrato SERS debido a la mejora del campo electromagnético cercano a la superficie de los clusters de nanoestructuras metálicas, que puede amplificar en gran medida la señal Raman [8].

Las nanopartículas metálicas (NPs-M) se utilizan como sustratos SERS debido a su efecto plasmónico superficial. Entre ellas, las NPs de oro y plata son las más utilizadas. El tamaño de partícula de las NPs-M está estrechamente relacionado con el campo eléctrico local de la NP-M, desempeñando así un papel importante en el efecto SERS. Las NPs-Ag muestran un fuerte efecto SERS, sin embargo, su superficie es susceptible a la oxidación, lo que reduce en gran medida su efecto SERS [9], por lo tanto, se ha intentado preparar compositos de NPs-M con diversos materiales como los dieléctricos, los semiconductores y los metales. Un ejemplo es el biocomponente de oro y plata que mejora la estabilidad antioxidante de estas nanopartículas, debido a las interacciones electrónicas entre estos dos componentes. También se han preparado NPs-Ag recubiertas de oro o poliimida que tiene una elevada actividad SERS [10].

También se han utilizado óxidos y ferritas metálicas como sustratos SERS. En el caso de óxidos metálicos, se ha reportado que el ZnO [11] alcanza un EF de 10^3 a una concentración del analito de $\sim 10^{-3}$ M; mientras que el Cu_2O y el MoO_3 presentaron un EF de 1.8×10^7 a una concentración de 10^{-9} M de Rodamina (R6G) [12]. En las ferritas metálicas como $AgFeO_2$ para la detección de Rodamina (R6G) se reportó un EF de $1.6x10^{10}$ a una concentración del analito de 1 pM [13].

Recientemente, las nanoestructuras híbridas metal noble-semiconductor se han vuelto prometedoras como sustratos SERS en virtud de explotar los dos mecanismos (químico y

electromagnético) responsables del efecto SERS. En la literatura se han reportado compositos metal-ferrita, como es el caso de los sistemas Ag@$CoFe_2O_4$/Fe_2O_3 [14] y Ag-$CuFe_2O_4$ para la detección de Rodamina (R6G) [15], donde el efecto de mejora del campo electromagnético (EM) procedente de las nanopartículas metálicas plasmónicas, inducen un proceso de transferencia de carga (TC) en la interfaz del sistema [13].

El composito Ag/$NiFe_2O_4$ se ha utilizado en la fotodegradación de azul de metileno [15], sin embargo, no se ha reportado su uso como sustrato SERS para la cuantificación de moléculas orgánicas.

En esta tesis se sintetizaron y se caracterizaron las NPs-Ag esféricas mediante el método de reducción química, las NPs-$NiFe_2O_4$ esféricas mediante el método hidrotermal y se estudió el efecto de la temperatura de tratamiento térmico en las propiedades fisicoquímicas de este compuesto. También se preparó el composito de NPs de Ag-$NiFe_2O_4$ a partir de las NPs-$NiFe_2O_4$ tratadas a 500°C y la reducción química de la solución precursora de $AgNO_3$. Estos tres sistemas se utilizaron como sustratos SERS para la cuantificación de Tiroxina (T4) en concentraciones de 1 pM, 1 nM, 1 μM y 1 mM. Los resultados obtenidos del composito se compararon con los resultados de los sustratos SERS de las NPs-Ag y las NPs-$NiFe_2O_4$.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

En este capítulo se presenta el marco teórico de los materiales utilizados, así como sus propiedades físicas, químicas, ópticas y las aplicaciones como sustratos SERS de las NPs-Ag, las NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag- $NiFe_2O_4$. También se presentan las propiedades químicas y las aplicaciones de la tiroxina que se utilizó como molécula de prueba para su aplicación en SERS.

2.1 NPs-Ag

Las NPs-Ag tienen propiedades ópticas, eléctricas y catalíticas únicas. Una de las propiedades más interesantes de las NPs-Ag es el fenómeno derivado de la interacción de los fotones con la superficie de las NPs, en el que los electrones libres externos en la banda de conducción forman plasmones localizados. La resonancia plasmónica superficial es la excitación colectiva de electrones libres cerca de la superficie de las NPs. Los electrones están restringidos a determinados modos de oscilación debido al tamaño y la forma de la partícula, y sólo determinadas longitudes de onda de luz hacen oscilar a los electrones externos. Cuando se producen estas resonancias, la intensidad de absorción y dispersión son mucho mayores que la de las mismas partículas sin propiedades plasmónicas [17].

Las NPs-Ag esféricas sólo muestran un pico de resonancia. Por otra parte, los picos de resonancia dipolar se desplazarán al rojo al aumentar el tamaño de la partícula debido a la menor frecuencia de la oscilación colectiva en las NPs más grandes. En comparación con la absorción de resonancia dipolar de las NPs pequeñas, en las NPs de mayor tamaño se observa una absorción adicional a mayor longitud de onda originada por el modo cuádrupolar. Por tanto, las propiedades de las NPs pueden ajustarse con precisión controlando los parámetros de su estructura física [18].

Las NPs-Ag presentan una absorción de resonancia plasmónica superficial que depende de muchos factores, como las constantes dieléctricas del metal y de la superficie, la distancia entre partículas, la forma y el tamaño de las partículas. En el caso de las NPs-Ag esféricas, la absorción plasmónica se centra en ~400 nm, y la posición exacta de la banda de absorción depende del tamaño de las partículas [19].

2.1.1 Métodos de síntesis

Las propiedades intrínsecas de las nanoestructuras metálicas pueden modificarse controlando su tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura en función de las condiciones experimentales [17]. Se han utilizado varios métodos físicos y químicos para sintetizar y estabilizar las NPs-Ag. La mayoría de estos métodos están aún en fase de desarrollo y los problemas experimentados son la estabilidad y agregación de las NPs, el control del crecimiento de los cristales, la morfología, el tamaño y la distribución del tamaño. Los enfoques químicos más populares, incluyen la reducción química utilizando una variedad de agentes reductores orgánicos e inorgánicos [20] y se necesita un agente estabilizador para controlar el tamaño de las NPs y evitar su agregación [21].

La síntesis de las NPs-Ag en disolución (disolución coloidal) se lleva a cabo mediante el empleo de los siguientes componentes: precursor metálico, agente reductor y agente estabilizante. El mecanismo de formación de las disoluciones coloidales a partir de la reducción de los iones plata consta de dos etapas: nucleación y crecimiento. El proceso de nucleación requiere una alta energía de activación mientras que el proceso de crecimiento requiere una baja energía de activación. El tamaño y la forma de las NPs dependerá de las velocidades relativas de estos procesos que pueden ser controladas a través de la modificación de los parámetros de reacción (concentración, temperatura, pH, poder reductor, etc.). (Figura 2.1) [22]. (Monge, 2009)

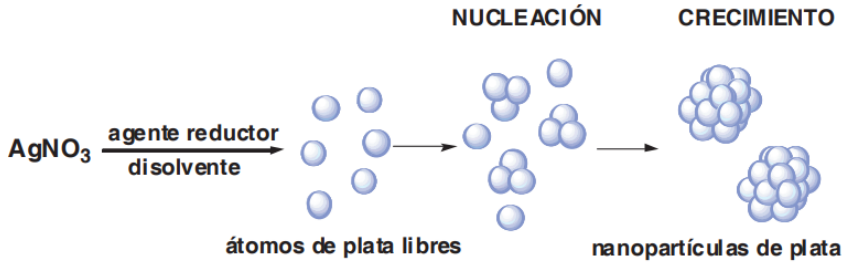


Figura 2.1. Mecanismo de formación de las NPs-Ag mediante el método de reducción química a partir del $AgNO_3$ [22].

2.1.2 Aplicaciones

Las NPs-Ag se han utilizado ampliamente como agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos y antivirales. Otras aplicaciones de las NPs-Ag en la industria médica y farmacéutica son la purificación y la gestión de la calidad del aire y el agua, los sistemas de administración de fármacos, los

revestimientos para la absorción de energía solar, los materiales de intercalación para receptores ópticos, las baterías y los catalizadores en reacciones químicas, para el etiquetado y los implantes biológicos (como las válvulas cardiacas) [23].

Por sus propiedades ópticas y electromagnéticas también se han utilizado como sustratos SERS ya que podrían soportar la resonancia de plasmón superficial localizada (LSPR). Por ejemplo, las excitaciones LSPR son los factores más importantes para generar campos ópticos intensos en estas nanoestructuras [24].

Aunque los sustratos SERS de metales nobles suelen producir factores de mejora electromagnética, siendo ésta la mayor contribución de mejora, ésta sigue presentando desventajas como su elevado coste, su fácil agregación y oxidación, y su escasa afinidad con biomoléculas y contaminantes orgánicos. Para ello se ha investigado el desarrollo de nuevos sustratos SERS híbridos, que combinan metales nobles plasmónicos con materiales semiconductores. En comparación con los sustratos SERS de metales nobles, estos materiales híbridos mejoran sinérgicamente las actividades SERS a través de efectos de acoplamiento plasmónico o efectos de la mejora química [25].

2.2 NPs-$NiFe_2O_4$

En los últimos años se ha prestado mucha atención a la comprensión de los materiales nanoestructurados (como multicapas, nanocables, nanopartículas, así como materiales compuestos), que presentan interesantes propiedades ópticas, eléctricas, químicas y magnéticas. Estas propiedades, junto con su gran estabilidad química y física, que los diferencian de sus homólogos en bulto, hacen que estos materiales sean de gran interés científico y tecnológico.

Las nano ferritas magnéticas se expresan como MFe_2O_4, donde M denota Ni, Co o Cu, que son emplazamientos tetraédricos de cationes divalentes típicos. En la estructura de espinela inversa, todos los iones M^{2+} ocupan sitios octaédricos, con la mitad de los iones Fe^{3+} ocupando el mismo sitio y la otra mitad permaneciendo en el sitio tetraédrico. En el caso de la ferrita de níquel, los iones (Ni^{2+}) se encuentran en su totalidad en el sitio octaédrico, mientras que los iones Fe (Fe^{3+}) se encuentran tanto en el sitio tetraédrico como en el sitio octaédrico (Figura 2.2). La ferrita de níquel tiene una estructura espinela completamente invertida, es una red cúbica centrada en las caras [26].

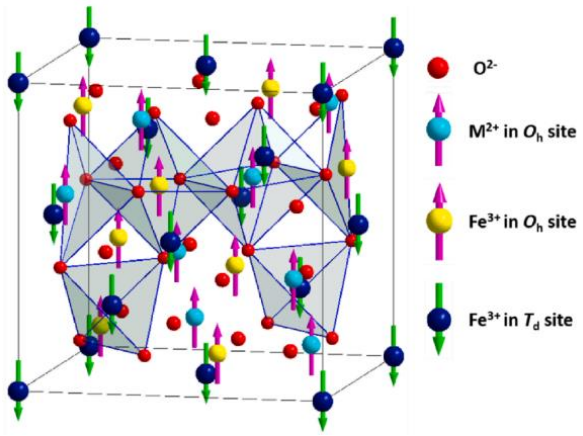


Figura 2.2. Estructura cristalográfica de la espinela MFe_2O_4 (M = Ni^{2+}, Co^{2+} o Cu^{2+}) [27].

El $NiFe_2O_4$ muestra propiedades notables, como una mayor tasa de estabilidad electroquímica, dureza mecánica, comportamiento catalítico y fácil abundancia en la naturaleza [28], alta magnetización de saturación, bajas pérdidas por corrientes parásitas y alta resistividad [29].

2.2.1 Métodos de síntesis

Se han utilizado diferentes métodos para preparar las ferritas metálicas, con diferentes tamaños y forma de partículas y con diferentes propiedades ópticas, eléctricas, químicas, magnéticas, entre otras que son muy interesantes.

A medida que el tamaño de partícula se reduce a escala nanométrica, las propiedades magnéticas de las ferritas cambian drásticamente [30]. Estos factores como el tamaño, la forma y las propiedades de los nanomateriales están muy controlados por el procedimiento de preparación, que a su vez afecta a la eficacia de la actividad catalítica. En general, la síntesis de los nanomateriales se puede clasificar en dos métodos: descendente y ascendente. En el método descendente, las sustancias químicas de gran tamaño se trituran para formar nanomateriales diminutos, mientras que, en el método ascendente, los iones más pequeños sufren una reacción y luego se combinan para formar un nanomaterial. Los métodos descendentes más utilizados son: el fresado mecánico y la ablación por láser, mientras que en los métodos ascendentes están: la coprecipitación, los métodos hidrotérmicos, solvotérmicos, sol-gel, de microemulsión, de descomposición térmica, asistidos por microondas, sonoquímicos y electroquímicos. Entre estos dos métodos, el método ascendente es el

más utilizado para sintetizar nanomateriales y, además, cada método de preparación tiene sus propias cualidades, que son inevitables [31].

En la tabla 2.1, se presentan las morfologías y tamaños de partículas para diferentes métodos de síntesis del $NiFe_2O_4$.

Tabla 2.1 Comparación de la morfología y tamaños de partículas de $NiFe_2O_4$ dependiendo del método de síntesis.

Método	Morfología	Tamaño de partícula (nm)	Referencia
Sonoelectroquímica	Esférica	12 a 33	[32]
Electroquímica	Esférica	10 a 60	
Co-precipitación	Forma irregular	60 a 80	[33]
Co-precipitación	Esférica	30 a 54	[34]
Co-precipitation	Forma de lámina	108	[35]
Reacción en estado sólido	Esférica	18-33	[36]
Hidrotermal	Octaedros	40-90	[37]
Hidrotermal	Cuasicubos	40-60	[38]

Entre estos métodos, la síntesis hidrotermal es una técnica donde el tamaño de partícula, la morfología, y otras características pueden ser controlados por ajuste de temperatura, tiempo y valor de pH [39]. En los procesos hidrotermales, el hierro generalmente se encuentra en un estado de oxidación (Fe^{3+}) que se origina a partir de precursores como $Fe(CH_3COO)_3$, $Fe(NO)_3$ y $FeCl_3$ y la relación molar típica de Fe:Ni es cercana a 2:1. Además porque a pH alto se mejora la cristalización de la ferrita de níquel [40].

2.2.2 Aplicaciones

Las aplicaciones de las ferritas de níquel se describen en la tabla 2.2:

Tabla 2.2. Aplicaciones del $NiFe_2O_4$ [35].

Aplicaciones generales	Aplicaciones específicas
Magnéticas	Núcleos de inductores, transformadores y dispositivos de microondas.
Catalíticas	Catalizador de alta actividad y sensibilidad al CH_4 y catalizador en la oxidación fotocatalítica de agua.

Fotocatalíticas	Degradación de una amplia gama de contaminantes
Sensores	Sensores para detectar gases oxidantes como el cloro.
Dieléctricos	El $NiFe_2O_4$ también tiene una estructura dieléctrica con granos y límites de granos de diferentes propiedades conductoras.
Antimicrobianas	Propiedades antibacterianas contra S. aureus y P. aeruginosa.
Biomédicas	La hipertermia de fluidos magnéticos, la liberación de fármacos y excitación termal de vías metabólicas dentro de una sola célula. La estimación in vitro de citotoxicidad utilizando diferentes líneas celulares de cáncer (células de cáncer de cuello uterino (HeLa) y la célula cancerosa de próstata (PC-3).

Las NPs-$NiFe_2O_4$ tienen propiedades únicas como respuesta a la luz visible, propiedades magnéticas, excelente estabilidad, band gap estrecho y disponibilidad de numerosos sitios fotoactivos [41]. Las NPs-$NiFe_2O_4$ tiene un band gap directo de 2.19 eV [42], aunque también se han reportado valores de entre 1.45 a 2.78 eV para diferentes temperaturas de sinterización [43].

Otra de las aplicaciones de las ferritas de níquel son como sustratos SERS debido a que la trasferencia de carga es el mecanismo responsable del aumento de las señales en la espectroscopía Raman. La trasferencia se puede producir desde el óxido metálico a la molécula prueba o viceversa, a través de diferentes mecanismos. Los semiconductores tienen una brecha energética entre la banda de valencia (VB) y la banda de conducción (CB); por lo tanto, la transferencia de carga entre los nanomateriales semiconductores y las moléculas depende de sus niveles energéticos (incluyendo la CB, la VB, el orbital molecular de mayor ocupación (HOMO) y el orbital molecular de menor desocupación (LUMO) y del acoplamiento entre sus niveles energéticos [44].

2.3 Composito Ag-$NiFe_2O_4$

Un material composito se define como el conjunto de dos o más materiales cuyo conjunto final tiene propiedades diferentes a las propiedades de cada uno de los materiales constituyentes. En la actualidad, los materiales compositos se denominan comúnmente como arreglos de refuerzo (también llamados rellenos) que están incrustados en una matriz. La matriz garantiza la cohesión y la orientación de la carga. Además, permite transmitir a la carga las tensiones a las que está sometido el material composito. Los materiales así obtenidos son heterogéneos y a menudo anisótropos. En

los materiales compositos se combinan componentes con propiedades físicas y mecánicas complementarias [45].

Los metales nobles se han combinado con materiales semiconductores tradicionales y se han convertido en un punto de interés en la investigación SERS debido a su recuperación relativamente sencilla y su excelente rendimiento. En las estructuras metal noble-semiconductor, los metales nobles presentan un fuerte efecto SPR en la región visible, lo que puede ampliar la absorción de la luz. Al mismo tiempo, los metales nobles suelen tener un nivel de Fermi más bajo que el de los semiconductores, por lo que pueden favorecer el efecto de separación de los electrones fotogenerados y los huecos y contribuir a la promoción de la eficiencia de la transferencia de carga entre metales.

Se han diseñado una serie de sistemas para estudiar el mecanismo químico de SERS, entre los que se incluyen nanocompuestos de Ag/CuO (Ag/Óxido de cobre) y complejos Ag/4-MPH/TiO_2 (Ag/4-mercaptofenol/Dióxido de Titanio), ensamblajes de Au/ZnO/PATP/Ag (Oro/Óxido de Zinc/*p*-Aminotiofenol/Plata) y TiO_2-MBA-Au (TiO_2/Ácido 4-Mercaptobenzoico/Oro), etc. En el composito de Cu/ZnO/PATP/Ag (Cu/ZnO/*p*-Aminotiofenol/Ag) se observó que ajustando los cambios de nivel de energía se podían extraer conclusiones experimentales fiables basadas en las diferencias espectrales SERS relacionadas con las propiedades del material. Cuando el láser ilumina el sistema, si los niveles de energía entre los distintos materiales unitarios coinciden, se genera para la molécula un efecto de resonancia de transferencia de carga del semiconductor a la molécula o de la molécula al semiconductor, aumentando así la intensidad de dispersión Raman de la molécula. El sustrato preparado puede utilizarse no sólo para preparar sustratos SERS altamente activos para la detección de fármacos, sino también para aplicaciones de propiedades ópticas, propiedades magnéticas, fotodegradación y celdas solares [44].

Cuando un semiconductor como la $NiFe_2O_4$ está en contacto con un metal noble (Ag), el mecanismo electromagnético y mecanismo químico del metal, puede actuar como donante o aceptor de electrones en el sistema. En este caso, es necesario que la diferencia de energía del nivel de Fermi del metal y la energía entre el borde de la banda de valencia o conducción del semiconductor (barrera de Schottky) sea posible la transferencia de electrones [46].

2.4 SERS

La espectroscopia Raman utiliza la dispersión inelástica de la luz láser por los enlaces químicos para producir espectros vibracionales únicos que sirven como huellas moleculares, proporcionando información sobre la estructura de las especies individuales. La espectroscopia Raman convencional se ha utilizado ampliamente en el análisis cuantitativo de compuestos orgánicos, pero está limitada por su baja sensibilidad. Para superar este problema, la tecnología SERS aprovecha el aumento de las señales de dispersión Raman ($\sim 10^4$-10^{14}) de las moléculas (incluidos los ligandos que capturan metales) adsorbidas en las superficies nanoestructuradas. Este aumento se deriva de una compleja interacción entre el aumento electromagnético y los procesos de transferencia de carga en la superficie de los sustratos SERS, lo que permite detectar y diferenciar sutiles diferencias en las especies químicas incluso en concentraciones muy pequeñas [47].

En la Figura 2.3 se observa la diferencia de la señal Raman y la señal SERS, también se presenta un espectro Raman de la diferencia de estas intensidades.

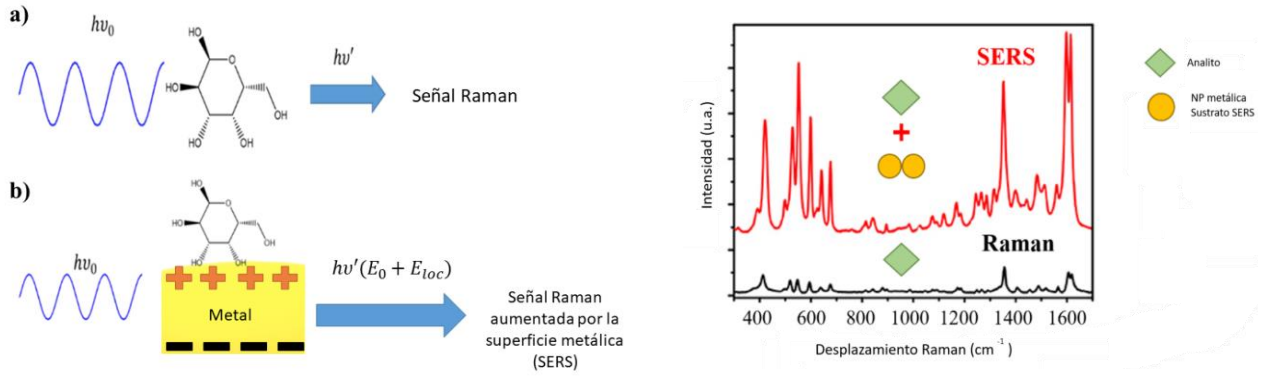


Figura 2.3. a) Diferencias entre el Raman convencional y SERS [48], **b)** Diferencias de las intensidades en los espectros Raman (negro) y SERS (rojo) de un compuesto orgánico [49].

En comparación con las técnicas convencionales, SERS ofrece importantes ventajas para el análisis de especiación. La técnica SERS puede aplicarse para medir varias formas de especies relevantes para el medio ambiente, es decir, iones, moléculas y partículas, ya que todas participan en la dispersión Raman en diferentes grados. Los sustratos SERS también pueden modificarse fácilmente variando su composición y funcionalización para adaptar el mecanismo de detección a diferentes propiedades analíticas y entornos químicos. Dado que las mediciones SERS son rápidas (en cuestión de segundos) y mínimamente destructivas, es posible analizar una amplia gama de tipos de muestras

(suelos, aguas y secciones biológicas) en tiempo real sin dañarlas. En general, estas propiedades convierten al SERS en una atractiva adición al conjunto de herramientas de análisis de especiación [47].

SERS es una técnica espectroscópica excepcionalmente sensible empleada para detectar y analizar las características vibratorias de las moléculas. Al adsorber moléculas de muestra en las superficies de nanoestructuras metálicas, SERS amplifica significativamente la señal de dispersión Raman, lo que permite la detección de moléculas de baja concentración o incluso moléculas individuales. Esta técnica se caracteriza por su alta sensibilidad, selectividad y capacidades de detección rápida, por lo que se puede aplicar en diversos campos, incluidos la química, la ciencia de materiales y la biomedicina; además es particularmente valiosa en el reconocimiento molecular, monitoreo ambiental y en la biodetección. A diferencia de otros métodos, SERS ofrece una selectividad y sensibilidad superiores, combinando la especificidad molecular de la espectroscopia Raman con la mejora de la señal de las nanoestructuras plasmónicas [50].

2.4.1 Teoría Electromagnética y química de SERS

La técnica SERS amplifica la señal Raman de sustancias en sustratos específicos, lo que resulta en un aumento de la intensidad de la señal de 10^4 a 10^{11} veces, y por lo tanto mejora significativamente la sensibilidad de la espectroscopia Raman. El factor de realce (EF) para la detección de una sola molécula puede incluso alcanzar más de 10^{14} órdenes de magnitud. La mejora SERS se clasifica en electromagnética y química, entre las cuales la mejora electromagnética se considera la principal forma de mejora [25].

La mejora electromagnética se produce por el aumento del campo eléctrico causado por la LSPR de los metales nobles, que están directamente relacionados con SERS porque la intensidad SERS es proporcional a la cuarta potencia de la intensidad del campo eléctrico, que también es el factor dominante en la mejora SERS. En la LSPR, la frecuencia de vibración general de los electrones libres en la superficie de las NPs de metales nobles coincide con la frecuencia de los fotones incidentes cuando la luz incide sobre las NPs (Figura 2.4). En ese caso, las NPs de metales nobles tienen un fuerte efecto de absorción de la energía de los fotones, lo que puede crear campos eléctricos locales mejorados en la superficie de las NPs. En los bordes, puntas o huecos internos de los materiales plasmónicos anisotrópicos existen cargas de alta densidad, conocidas como «puntos calientes», que

pueden generar una energía electromagnética extremadamente potente. Cuando se colocan moléculas Raman activas en la región de campo cercano de estos campos eléctricos, sus señales Raman aumentan significativamente.

La excitación de esta absorción plasmónica produce un fuerte aumento del campo electromagnético local en las proximidades de las NPs. Este aumento del campo electromagnético local es el responsable del mayor aumento en los espectros Raman de las moléculas cerca de la superficie de las partículas metálicas [51].

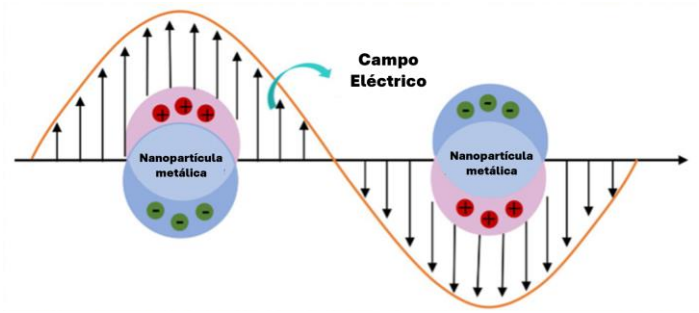


Figura 2.4. Ilustración gráfica de la resonancia de plasmón superficial localizado (LSPR) [51].

La teoría de la mejora química (CE) ofrece una perspectiva diferente sobre la mejora de la dispersión Raman. Esta teoría implica principalmente la creación de estados de transferencia de carga entre la molécula quimisorbida y la plataforma activa Raman. Estos estados energéticamente favorables proporcionan una vía para la excitación resonante que, a su vez, aumenta la probabilidad de una transición Raman. Sin embargo, la generación de estados de transferencia de carga depende de los niveles de energía de las moléculas del analito y de las plataformas activas Raman [46].

De hecho, hay cuatro factores principales que pueden contribuir al efecto total de mejora de SERS en función de las condiciones experimentales (Figura 2.5):

1. La mejora electromagnética (EM) resultante de la excitación del metal.
2. La transferencia de carga del metal al adsorbato resultante de la excitación del metal.
3. Mecanismo de resonancia (espectroscopia Raman resonante) en el que la excitación corresponde a una transición electrónica en la molécula.
4. Aumento de la resonancia (normalmente descrito como excitación a estados virtuales) debido a la interacción metal-adsorbato [19].

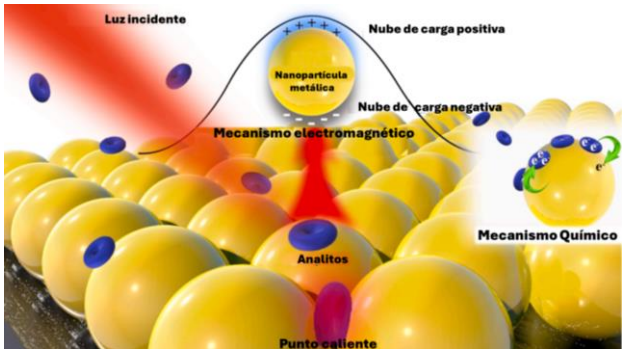


Figura 2.5. Ilustración esquemática de los mecanismos SERS dominados por la mejora electromagnética, la mejora química y los puntos calientes correspondientes [25].

2.5 Tiroxina

A principios del siglo XX, Kendall y Harington, cada uno trabajando de forma independiente, contribuyeron al descubrimiento de la tiroxina como principal agente de acción de la hormona tiroidea [52]. La tiroxina (T4, levotiroxina L-T4, T4 racémica) es la hormona sintetizada y secretada por la glándula tiroides para controlar el crecimiento y la diferenciación de los tejidos, el consumo de oxígeno de los tejidos, la síntesis y el metabolismo de los lípidos y las proteínas, se utiliza habitualmente como agente farmacéutico para tratar la actividad de la glándula tiroides o los trastornos metabólicos [53]. En la figura 2.6 se muestra la estructura de la tiroxina en bidimensional y tridimensional.

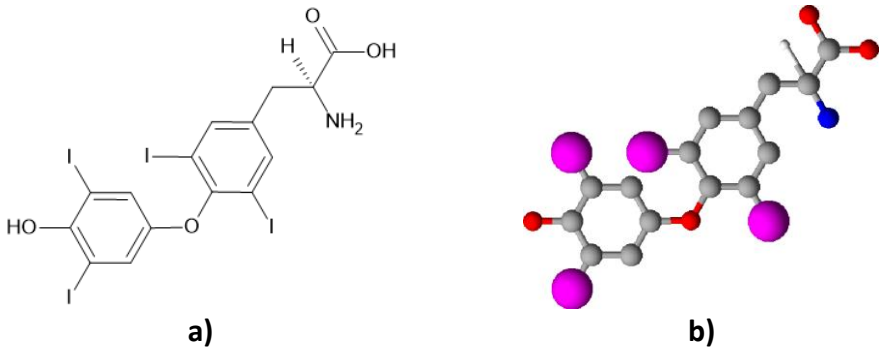


Figura 2.6. Estructura química de la Tiroxina. a) bidimensional, b) tridimensional. Las esferas grises son átomos de carbono, blanco-hidrógeno, las rojo -oxígeno, azul-nitrógeno y rosa-yodo.

La hormona tiroidea (TH) desempeña importantes funciones reguladoras en el metabolismo, la homeostasis y el desarrollo al unirse y alterar las propiedades reguladoras transcripcionales de dos receptores nucleares (RN) relacionados, los receptores de la hormona tiroidea (TR) y la mayor parte de la TH producida en la glándula tiroides se secreta en forma de tiroxina [54].

La L-tiroxina (T4) es un biomarcador hapteno con un peso molecular de 777 g/mol. Se trata de una hormona estimulante del tiroides que interviene en la regulación del metabolismo y la temperatura corporal. La retroalimentación negativa suprime la secreción excesiva de T4 en el organismo, permitiendo el mantenimiento de la homeostasis de los niveles de T4. Cuando falla la retroalimentación negativa, la secreción excesiva de T4 promueve la actividad metabólica, dando lugar a trastornos tiroideos y a la disfunción autoinmune. Por lo tanto, la cuantificación de la T4 es importante para regular el metabolismo, diagnosticar enfermedades, incluidos el hipotiroidismo y el hipertiroidismo, y controlar la eficacia del tratamiento sustitutivo con T4. Se han utilizado métodos cromatográficos y de espectrometría de masas para detectar T4 con alta sensibilidad. Sin embargo, estos análisis son caros y requieren equipos complejos y personal altamente calificado para realizar análisis complicados [55].

Por lo tanto, se busca mejorar la precisión y exactitud de las mediciones a bajas concentraciones mediante la búsqueda de métodos sencillos y fiables por lo que una alternativa es SERS. Es por ello por lo que en esta tesis se propone utilizar sustratos SERS de NPs-Ag, para cuantificar concentraciones muy pequeñas de T4 del orden de mM, µM, nM y pM.

Por otro lado, la T4 como contaminante en agua ha despertado un interés en los últimos años, debido a que pertenece a las sustancias químicas alteradoras endocrinas (SAE), éstas tienen una toxicidad en dosis bajas, su reactividad ambiental y su neurointerferencia. La frecuencia media de detección de contaminantes endocrinos en fuentes superficiales de agua potable ha aumentado del 44.8% al 95.6% en las últimas décadas, y los tipos de hormonas endocrinas se han ampliado del estrógeno a la hormona tiroxina (TH) [5].

Ma et al., [5], reportaron la concentración de 14 hormonas esteroides (entre ellas la TH) que alcanzó aproximadamente 40 ng/L (51.48 nM) en las aguas superficiales de Canadá y México. Además, se detectó TH en diferentes tipos de fuentes de agua potable, como ríos, lagos y aguas subterráneas, con la mayor frecuencia de detección por encima del 58%.

La mayor concentración de TH fue de 18 ng/L (23.17 nM) en el lago Taihu en China, lo que supone un alto riesgo para la salud de las personas que beben este tipo de agua micro contaminada. Cabe mencionar que la presencia y los efectos de las hormonas en el agua son complejos y pueden variar significativamente en función de las prácticas locales de tratamiento del agua, las condiciones ambientales y el nivel de contaminación. El consumo a largo plazo de agua micro contaminada con TH por los aldeanos que viven a lo largo de los ríos contaminados inducirá trastornos del sistema nervioso, principalmente debido a la toxicidad de dosis a una concentración de 1.0 ng/L (1.29 nM) [5]. Debido a la concentración tan pequeña de T4 es importante su detección y su cuantificación por lo que la técnica SERS se presenta como alternativa para su cuantificación.

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

En este capítulo se presenta la metodología empleada en la síntesis de las NPs-Ag mediante el método de reducción química, la síntesis de las NPs-$NiFe_2O_4$ mediante el método hidrotermal y la síntesis del composito Ag-NPs-$NiFe_2O_4$; también se presentan las técnicas empleadas en la caracterización de los materiales y por último la metodología empleada para la preparación de estos materiales como sustratos SERS.

3.1 Síntesis de las NPs-Ag

La síntesis de las NPs-Ag se llevó a cabo mediante el método reportado por *De León Portilla, et al.,* [48]. El método consistió en reducir nitrato de plata utilizando citrato de sodio y estabilizarlas con ácido tánico, usando el siguiente procedimiento: se mezclaron 50 ml (0.1 mM) de ácido tánico (Sigma Aldrich, 99%) con 50 ml (5 mM) de citrato de sodio (J. T. Baker al 99.98%) y se calentaron a 90°C, después se agregó 1 ml (25 mM) de la solución de nitrato de plata (J. T. Baker al 99.98%) y se dejó reaccionar durante 10 min; posteriormente se enfrió el sistema hasta temperatura ambiente. Enseguida se centrifugó la solución a 20,000 rpm durante 15 min, esto con el fin de sedimentar las NPs y extraer el solvente con los subproductos. Después se redispersaron las NPs en 20 ml de agua desionizada en un baño sónico por 10 min. Este último procedimiento se repitió 2 veces. En la figura 3.1 se muestra el diagrama de flujo de la síntesis de las NPs-Ag y en la figura 3.2 se muestra una imagen de la solución coloidal de las NPs-Ag obtenidas.

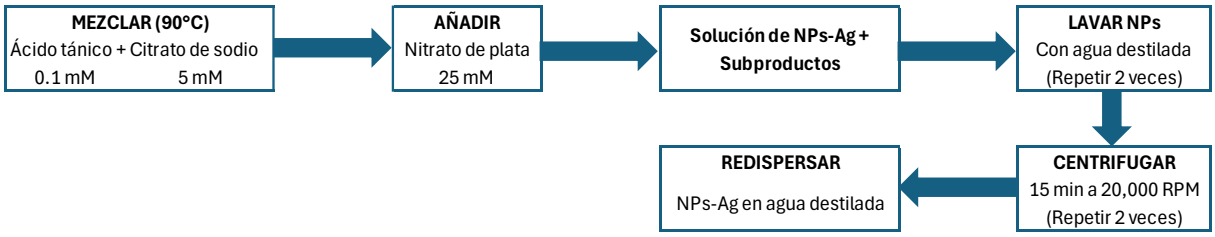


Figura 3.1. Diagrama de flujo de la síntesis de las NPs-Ag.

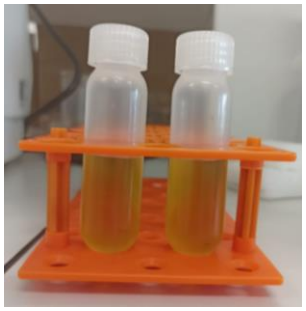


Figura 3.2. Imagen de la solución coloidal de las NPs-Ag.

En las siguientes ecuaciones se muestra la reacción general de la reducción de la sal de plata con los agentes reductores y los subproductos de la reacción:

$$2\ AgNO_3 + C_{76}H_{52}O_{46} \rightarrow 2\ Ag + C_{76}H_{50}O_{46} + 2\ HNO_3$$

$$AgNO_3 + Na_3C_6H_5O_7^{3+} + 5H_2O \rightarrow Ag + 6CO_2 + NO_3 + 15H^+$$

3.2 Síntesis de las NPs-$NiFe_2O_4$ mediante el método hidrotermal

La síntesis de las NPs-$NiFe_2O_4$, se llevó a cabo en dos partes, la primera parte fue obtener el intermediario $Ni(C_{12}H_{25}NaO_4S)_2$ ($Ni(DS)_2$) y la segunda parte para obtener las NPs-$NiFe_2O_4$.

La síntesis del $Ni(DS)_2$ se llevó a cabo mediante el procedimiento reportado por *Liu et al.,* [56]. Para esto, se prepararon las siguientes soluciones: 50 ml de Dodecilsulfato de sodio (Sigma Aldrich, 98.5%) 0.4 M; 50 ml de acetato de níquel (Sigma Aldrich, 99%) a una concentración de 0.212 M. Estas se mezclaron y se enfriaron a una temperatura de 5°C por 24 h. Enseguida se filtró el precipitado, se lavó 5 veces con agua destilada y etanol y se secó a 30°C por 2 h. La reacción general fue la siguiente:

$$Ni(CH_3COO)_2 + 2\ (C_{12}H_{25}NaO_4S) \rightarrow Ni(C_{12}H_{25}O_4S)_2 + 2\ NaCH_3COO$$

Para obtener las NPs-$NiFe_2O_4$ se utilizó el método reportado por *Liu, et al*., [40], el cual consistió en añadir 0.88 g de $Ni(DS)_2$ a 10 mL de agua destilada y se calentó a 50 °C con agitación hasta asegurar la disolución completa de $Ni(DS)_2$. Enseguida se adicionaron 0.81 g de $FeCl_3$ (Sigma Aldrich, 97%) y se agitó la disolución. Después se añadió 10 ml de solución de NaOH a 2.5 M, y se agitó durante 15 min. La mezcla resultante se vertió a un vaso de teflón de 35 ml y después se colocó en una autoclave de acero inoxidable. Este sistema se calentó a una temperatura de 120°C durante 8 h. El precipitado obtenido se lavó 5 veces con agua destilada y etanol, se centrifugó a 20,000 rpm durante

10 min para precipitar las NPs y eliminar los subproductos de reacción. También se midió el pH antes y después de lavar las NPs-$NiFe_2O_4$, los cuales fueron de 13 y 7, respectivamente. Enseguida, las NPs-$NiFe_2O_4$ se secaron en un horno a una temperatura de 60°C por 2 h, esta muestra se etiquetó como FN STT. La reacción general es la siguiente:

$$Ni(C_{12}H_{25}O_4S)_2 + \ FeCl_3 + \ NaOH \ \rightarrow \ NiFe_2O_4 + subproductos$$

Finalmente se llevaron a cabo tratamientos térmicos a 300°C, 500°C y 700°C en un horno tubular con atmósfera de aire, con una rampa de calentamiento de 10°C/min por 2 h. Estas muestras se etiquetaron como FN-300, FN-500 y FN-700.

En las figuras 3.3 y 3.4 se muestran el diagrama de flujo de la síntesis de las NPs-$NiFe_2O_4$ y la imagen de las NPs-$NiFe_2O_4$.

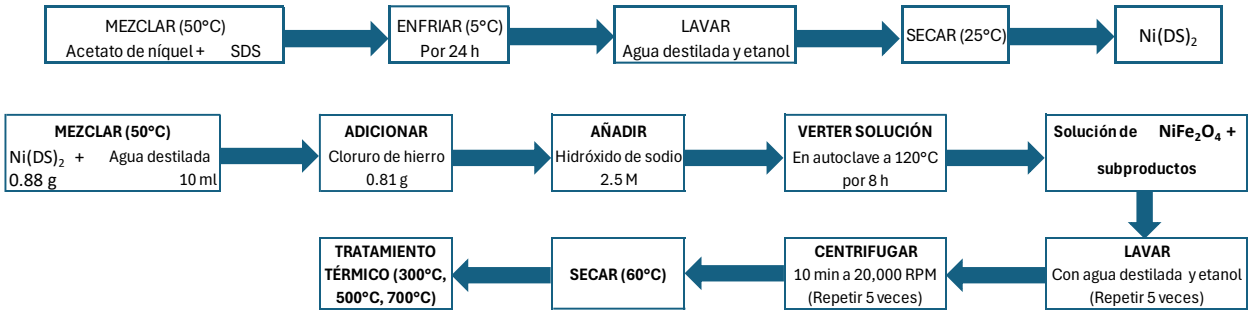
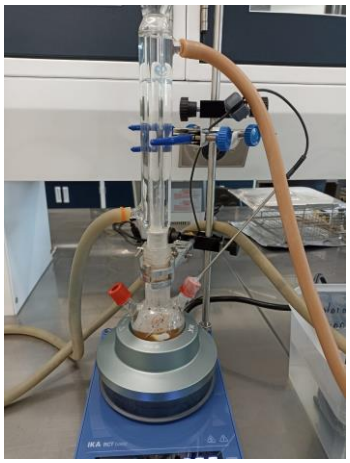


Figura 3.3. Diagrama de flujo de la síntesis de las NPs- $NiFe_2O_4$



a)

b)

Figura 3.4. a) Sistema utilizado para la síntesis de NPs-$NiFe_2O_4$, **b)** NPs-$NiFe_2O_4$

3.3 Síntesis del composito de NPs de Ag-$NiFe_2O_4$

Una vez preparadas las NPs-$NiFe_2O_4$, de acuerdo con el procedimiento indicado en la sección 3.2, se utilizó la muestra FN-500 (debido a que esta muestra presentó una estequiometria de Ni:Fe:O muy cercana a 1:2:4 respectivamente, como se mostrará en sección de resultados) para obtener el composito Ag-$NiFe_2O_4$. La proporción para formar el composito fue de 95 % NPs-$NiFe_2O_4$ y 5% NPs-Ag en peso, este cálculo se llevó a cabo considerando la concentración obtenida de las NPs-Ag, determinadas por espectroscopía de absorción atómica. El procedimiento de la obtención del composito se llevó a cabo mediante el procedimiento indicado en la sección 3.1, y al final se añadió 22.43 mg de FN-500. Cuando el sistema se enfrió a temperatura ambiente, se colocó en un baño ultrasónico por 10 min y enseguida se llevaron a cabo 2 lavados mediante centrifugación como se indicó en la sección 3.1. Finalmente se secó la muestra a 60°C con atmósfera de nitrógeno, esta muestra se etiquetó como AgFN-COM.

En la figura 3.5 se muestra el diagrama de flujo de la síntesis del AgFN-COM.

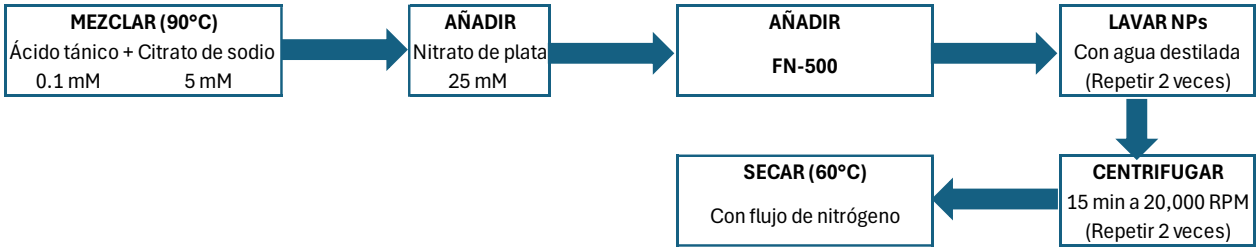


Figura 3.5. Diagrama de flujo de la síntesis del composito AgFN-COM.

3.4. Técnicas de caracterización de las NPs de Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$

A continuación, se presentan las técnicas de caracterización que se llevaron a cabo para determinar las propiedades ópticas, físicas y químicas de los materiales sintetizados.

3.4.1 Espectroscopia UV-Visible

Para conocer las propiedades ópticas de los materiales se utilizó el Espectrofotómetro UV-Vis (Varian, modelo Cary-100) (Figura 3.6) utilizando los accesorios de líquidos y de reflectancia difusa, en el rango de longitudes de onda de 200 a 800 nm, en el cual se midió absorbancia y reflectancia difusa para las diferentes muestras.

Figura 3.6. Espectrofotómetro UV-Vis (Varian, Cary-100), Eco-campus IFUAP-BUAP.

3.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido

Para determinar la morfología de las muestras se utilizó el Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM) (JSM-7800F, marca JEOL) (Figura 3.7) que permite ver detalles morfológicos de hasta nanómetros. Este equipo también está acoplado con un sistema X-Max (Oxford Instruments) que permite realizar análisis elemental por espectroscopía de energía dispersa (EDS). Las condiciones de medición fueron las siguientes: Todas las muestras fueron soportadas en una oblea de silicio cristalino, un voltaje de aceleración de 15 kV, en vacío de $1.9X10^{-4}$ Pa, todas las muestras fueron analizadas empleando electrones secundarios y se analizaron a diferentes amplificaciones.

Figura 3.7. Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM) (JSM-7800F, JEOL). Laboratorio de Análisis de superficies, IFUAP-BUAP.

3.4.3 Difracción de Rayos-X

Para determinar la estructura cristalina y las fases presentes en cada muestra se utilizó el Difractómetro de Rayos-X (Panalytical–Empyrean), (Figura 3.8), para análisis de polvos, con una radiación de Co Kα λ=0.178901 nm en un intervalo de 10 a 100° de 2θ.

Figura 3.8. Difractometro de Rayos-X (Panalytical–Empyrean).
Laboratorio de Difracción de Rayos X, IFUAP-BUAP.

3.4.4 Dispersión Dinámica de Luz y Potencial Z

Para determinar el tamaño de partícula y la carga superficial de las muestras en medio acuoso, se utilizó Dispersión Dinámica de Luz (DLS) y potencial Z (PZ) con el equipo Malvern Zetasizer Nano Series, modelo ZS90 (Figura 3.9).

Figura 3.9. Dispersión dinámica de luz y Zetasizer
(Malvern, Nano Series ZS90). Eco-campus IFUAP-BUAP.

3.4.5 Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Para determinar los modos vibracionales que están presentes en las muestras se utilizó un espectrofotómetro FTIR (Pekin Elmer modelo Spectrum One) (Figura 3.10). Las mediciones se realizaron en el rango 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}.

Figura 3.10. Espectrofotómetro FTIR (Pekin Elmer, Spectrum One). Facultad de Ingeniería Química, BUAP

3. 4.6 Espectroscopía Raman

Para determinar los modos de vibración presentes en la muestra se utilizó el espectrómetro de Raman (LabRAM HR) (Figura 3.11). El equipo presenta las siguientes características técnicas, un láser de He-Ne (632.8 nm), resoluciones máximas espacial y espectral de 6 µm y 0.5 cm^{-1}, respectivamente, un detector CCD enfriado termoeléctricamente, un microscopio óptico (10, 50 y 100X) y una videocámara para enfoque.

Las muestras de las NPs-$NiFe_2O_4$ se analizaron con una amplificación de 50X, con un filtro D1, 1 seg y 2 ciclos. Los sustratos SERS se analizaron con una amplificación de 100X a 2 seg.

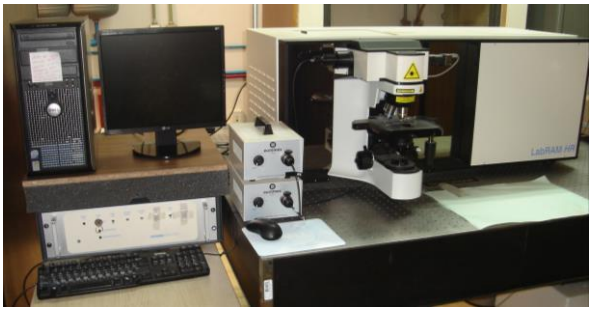


Figura 3.11. Espectrómetro Raman (LabRAM HR). Laboratorio Central IFUAP-BUAP.

3.4.7 Espectroscopía de Absorción Atómica

Para determinar la concentración de Ag presente en las muestras a partir de la síntesis de las NPs-Ag, en la reacción final y antes de lavar las NPs-Ag se tomó una alícuota de 10 ml, y se denominó Muestra1-Ag. Después en el primer lavado se tomó una alícuota de 10 ml de solución y se etiquetó como Muestra2-Ag. Enseguida en el tercer lavado se tomó una alícuota de 10 ml y esta muestra se denominó Muestra3-Ag.

Para determinar la concentración de NPs-Ag presente en las tres muestras se llevó a cabo una digestión ácida, para ello se siguió el procedimiento descrito a continuación: Se prepararon las soluciones de ácido nítrico (Sigma Aldrich al 66% de pureza) al 2% en un volumen de 250 ml y ácido clorhídrico (Sigma Aldrich al 38% de pureza) al 2% en un volumen de 100 ml.

Enseguida se tomó 2 ml de la Muestra1-Ag, se vertió en un vaso de precipitado y se agregó 9 ml de la solución de HNO_3 al 2% y 3 ml de HCl al 2%, (relación 3:1 de HNO_3 y HCl) y se calentó a 100°C. Se dejó reaccionar por 30 min y la cantidad obtenida de muestra fue de 10 ml. Se llevó a cabo el mismo procedimiento para las muestras 2 y 3. En la siguiente ecuación se presenta la reacción química de la digestión ácida que se llevó a cabo:

$$Ag + HNO_3 + HCl \xrightarrow{\Delta} Ag^+ + NO_3^- + Cl^-$$

La curva de calibración se obtuvo a partir de una solución madre de 10 ppm de $AgNO_3$ y se aforó a 100 ml con las soluciones de HNO_3 y HCl, al 2%, relación 3:1. Posteriormente, a partir de la solución madre se prepararon los estándares de soluciones de $AgNO_3$ a 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 1.2 ppm.

La concentración de las NPs-Ag se determinó mediante un espectrofotómetro de absorción atómica de llama (Perkin Elmer, modelo HGA 900a) (Figura 3.12) una longitud de onda de 328.07 nm y un slit de entrada/salida de 2.7/0.8 nm, con un flujo de aire/acetileno a 10 l/min y 2.5 l/min respectivamente.

Figura 3.12. Espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer-HGA 900a). Facultad de Ingeniería Química, BUAP.

3.5. Preparación de los sustratos SERS y cuantificación de la Tiroxina

El estudio de las NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag- $NiFe_2O_4$ como sustratos SERS para la cuantificación de T4 a concentraciones de pM a mM se llevó a cabo con el siguiendo el procedimiento propuesto por *De León Portilla, et al.,*[46], el cual es el siguiente:

Se usaron obleas de silicio cristalino (1 cm^2) como soportes, las cuales se lavaron con los solventes xileno, acetona, etanol y agua desionizada, cada uno en un baño ultrasónico durante 10 min y posteriormente se secaron a 100°C en una mufla durante 1 h. Sobre la oblea de Si (Ob-Si), se depositó 50 µL de una solución de tiroxina 1 pM, después se secó a 60°C, con flujo de nitrógeno durante 30 min para evaporar el solvente. Una vez que la muestra fue obtenida, se llevó a cabo el análisis Raman. Este procedimiento se realizó también para concentraciones de T4 de 1 nM, 1 µM y 1 mM.

La preparación de las NPs-Ag como sustratos SERS, se llevó a cabo utilizando un volumen de 500 µL con una concentración de 14.8 ppm y se depositaron sobre las obleas de silicio; enseguida se secaron los sustratos a 60°C con atmósfera de N_2 durante 30 min, posteriormente se depositó 50 µL de solución 1 pM de T4 y se secó a 80°C durante 30 min. Se obtuvo el espectro Raman. Este procedimiento se llevó a cabo utilizando concentraciones de 1 nM, 1 µM y 1 mM de T4.

Para el estudio de las NPs-$NiFe_2O_4$ como sustrato SERS se depositaron 100 µL de NPs-$NiFe_2O_4$ (1 mg disperso en agua desionizada) sobre la oblea de silicio; posteriormente se secó a 60°C durante 10 min. Después se depositó 50 µL de solución 1 pM de T4 y se secó a 80°C durante 30 min. Se obtuvo el espectro Raman. Este procedimiento se llevó a cabo utilizando concentraciones de 1 nM, 1 µM y 1 mM de T4.

El procedimiento anterior se llevó a cabo para evaluar las NPs del composito Ag-$NiFe_2O_4$ como sustrato SERS con diferentes concentraciones de T4.

Los resultados obtenidos anteriormente se compararon con las intensidades de las bandas Raman de la T4 en ausencia de NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$. Finalmente se determinó el factor de realce SERS (SERS-EF) para cada concentración y para cada sustrato SERS.

CAPÍTULO 4

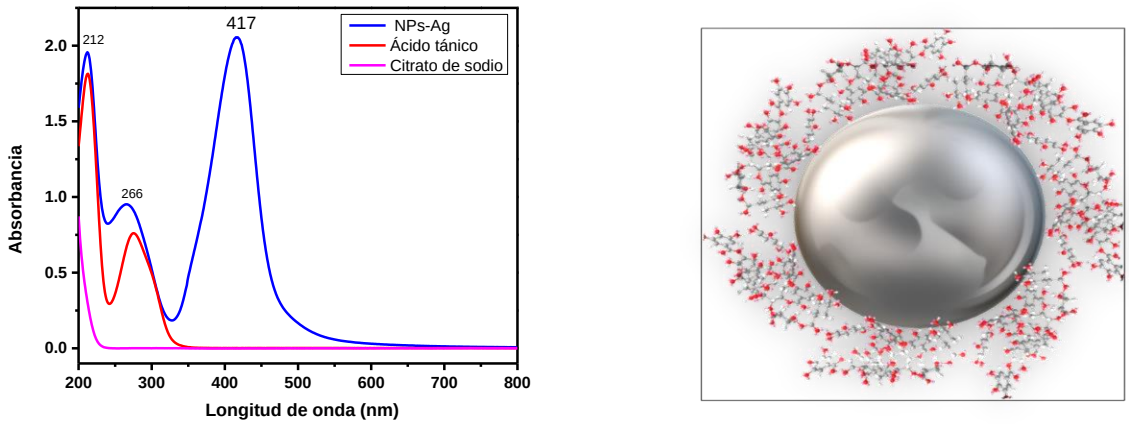
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados de las propiedades ópticas, morfológicas, químicas y su estabilidad química de las NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$. Finalmente se reportan los resultados de la aplicación en SERS de las NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$ para cuantificar la Tiroxina, así como el factor de realce EF.

4.1 NPs de Ag

4.1.1 Espectroscopia UV-Visible

En la figura 4.1.a se presenta el espectro de absorción de la solución coloidal de las NPs-Ag lavadas y de las soluciones del ácido tánico y del citrato de sodio. En el espectro de la solución de las NPs-Ag se observan tres bandas de absorción cuyos máximos se encuentran en 417, 266 y 211 nm. La banda ubicada en 417 nm es atribuida a la excitación plasmónica superficial de las NPs-Ag [19]. Las bandas ubicadas a 266 y 211 nm se asocian al ácido tánico debido a que el espectro de absorción del ácido tánico presenta estas bandas. Las NPs metálicas tienen electrones libres, lo que da lugar a la resonancia de plasmón superficial (SPR). Esta resonancia se debe a la vibración combinada de los electrones de las nanopartículas metálicas con la radiación electromagnética. Debido a que el espectro de absorción de las NPs-Ag presenta las bandas del ácido tánico, se concluye que las NPs-Ag están funcionalizadas con este compuesto orgánico (Figura 4.1.b).



a) b)

Figura 4.1. a) Espectro de absorbancia de las NPs-Ag. También se presentan los espectros de absorción de las soluciones del ácido tánico y del citrato de sodio empleadas en la síntesis de las NPs-Ag. **b)** NP-Ag funcionalizada con ácido tánico en forma de quinona [48].

4.1.2 Microscopía Electrónica de Barrido

En la figura 4.2 a) se presenta la micrografía de las NPs-Ag, a una amplificación de 100,000X, en la cual las partículas presentan una morfología esférica distribuidas en la superficie. En la figura 4.2 b) se presenta el histograma de la distribución del tamaño de partícula, en la que las NPs-Ag tienen un diámetro promedio de 18.1 nm con una desviación estándar de 2.3 nm.

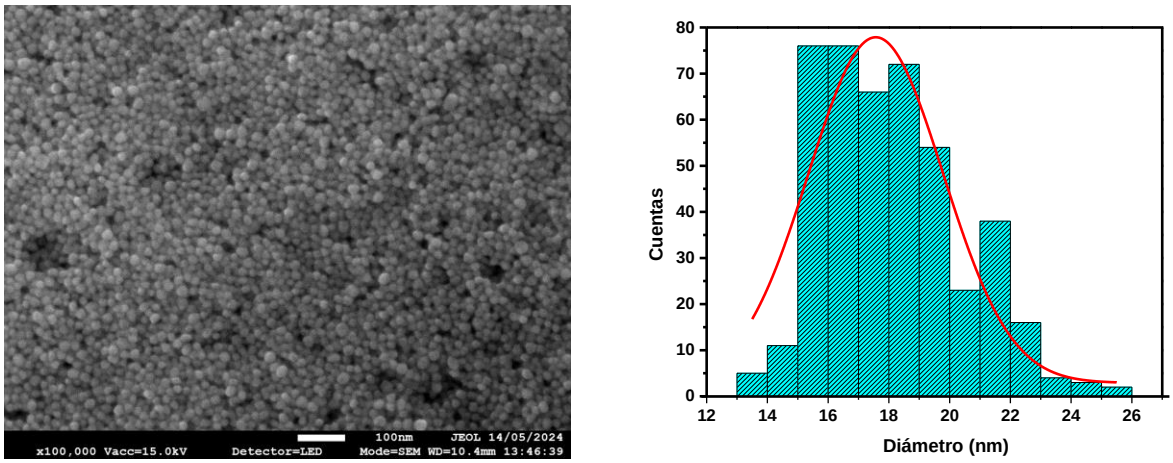


Figura 4.2. a) Micrografía de las NPs de Ag y **b)** Histograma de tamaño de las NPs-Ag.

En la Figura 4.3 se puede observar el espectro de energía dispersa de Rayos-X (EDS) de las NPs-Ag cuya composición elemental es plata, también hay una señal de silicio que corresponde al material en el que fue depositada las NPs-Ag.

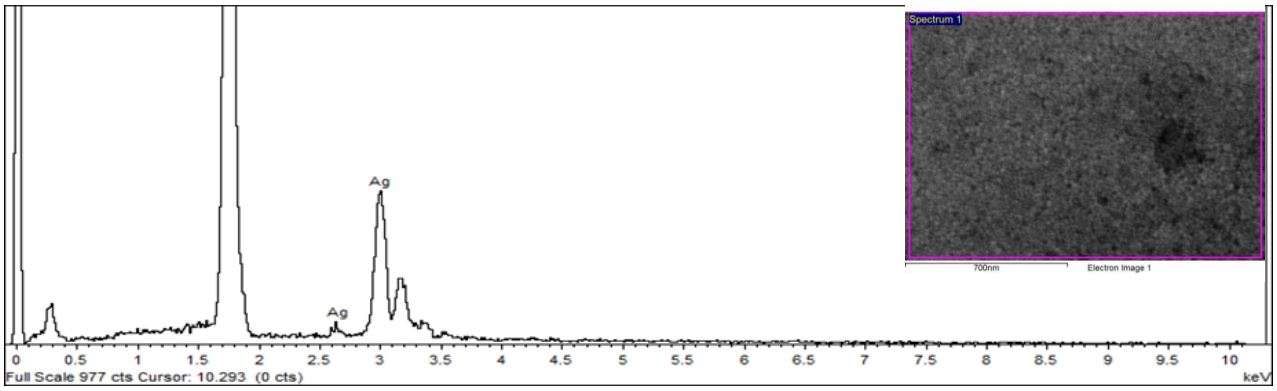


Figura 4.3. Espectro de energía dispersa y micrografía de las NPs-Ag.

4.1.3 Difracción de Rayos-X

En la figura 4.4, se muestra el difractograma de rayos-X de las NPs-Ag, el cual corresponde a la plata con una estructura cristalina cúbica con grupo espacial Fm-3m (JCDD 01-071-4613). El pico ubicado en 63° en 2θ corresponde a la fase de Ag_2O grupo espacial P-3m1 (JCPDS 72-2108) [57].

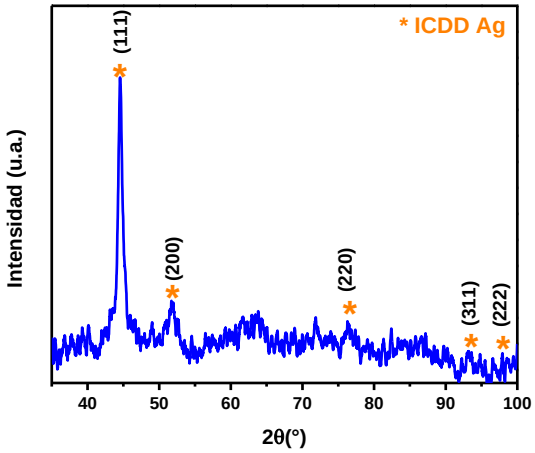


Figura 4.4. Difractrograma de Rayos X de las NPs- Ag.

Para calcular el tamaño del cristal a partir del ancho medio de cada uno de los picos de difracción, se utilizó la ecuación de Scherrer (Ecuación 1) [58], la cual relaciona la forma de la reflexión de un plano de átomos y la dimensión del cristal en la dirección de ese plano [59]. Se analizó un pico el cual fue los más intenso y dio un valor de 12.25 nm.

$$D = \frac{k\,\alpha}{\beta \cos\theta} \qquad \textbf{(1)}$$

Donde:

D=Tamaño del cristalito (nm).

K=Constante de Scherrer. Está en función de la forma de partículas: (Esferas=0.89 y cubos=0.83-0.91).

α=Longitud de onda de la radiación utilizada (λ_{Co}= 0.178901 nm).

β= FWHM (Full Witdth at Half Maximum) ancho medio del pico de difracción de la muestra.

θ=Posición angular del pico DRX.

4.1.4 Dispersión Dinámica de Luz

En la Figura 4.5 se muestra la curva de distribución del diámetro hidrodinámico de las NPs-Ag. El diámetro promedio es de 32.7 nm, con una desviación estándar de ±5.3 nm. Este diámetro promedio es casi el doble del diámetro obtenido mediante SEM y podría ser debido a que las NPs-Ag se encuentran principalmente como dímeros en la solución coloidal.

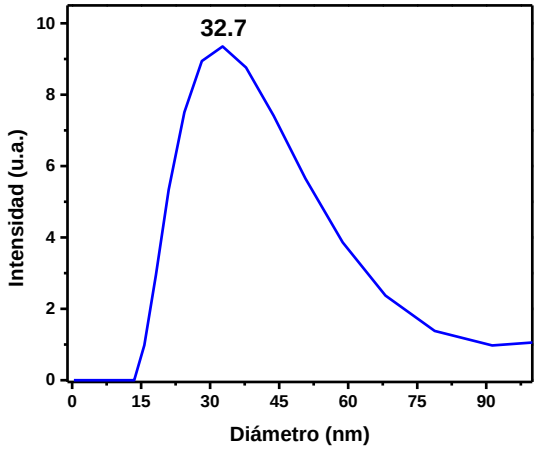


Figura 4.5. Gráfica de la curva de distribución del Diámetro hidrodinámico de las NPs-Ag determinadas mediante DLS.

4.1.5 Potencial Z

En la figura 4.6 se presenta la gráfica de la distribución de carga de las NPs-Ag. El máximo indica que la mayoría de las partículas de Ag presentan una carga superficial de -45.2 mV. Este resultado indica que la solución coloidal es estable.

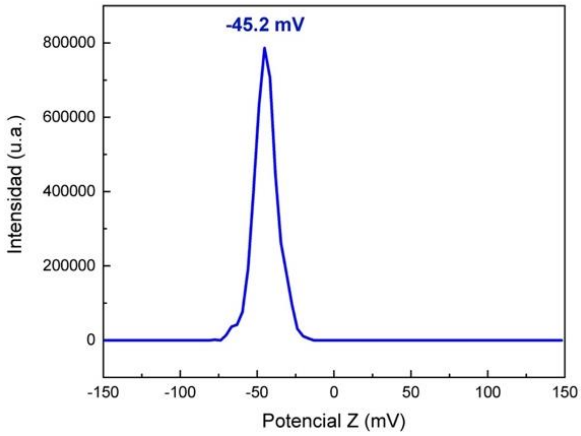


Figura 4.6. Gráfica de potencial Z de las NPs-Ag.

El mecanismo de reducción del ion Ag^+ y estabilización de la NPs-Ag fue propuesto por *Gangwar et al.* [60]. El ácido tánico está formado por un núcleo de glucosa que está conectado a cinco unidades de ácido di-gálico a través de cinco grupos -OH, formando ésteres. No contiene grupos carboxílicos libres, ya que éstos están unidos covalentemente para formar grupos ésteres que pueden hidrolizarse parcialmente en condiciones ácidas o básicas en unidades de ácido gálico y/o pirogalol como se muestra en la figura 4.7 y/o pueden formar derivados intermedios de quinona [61].

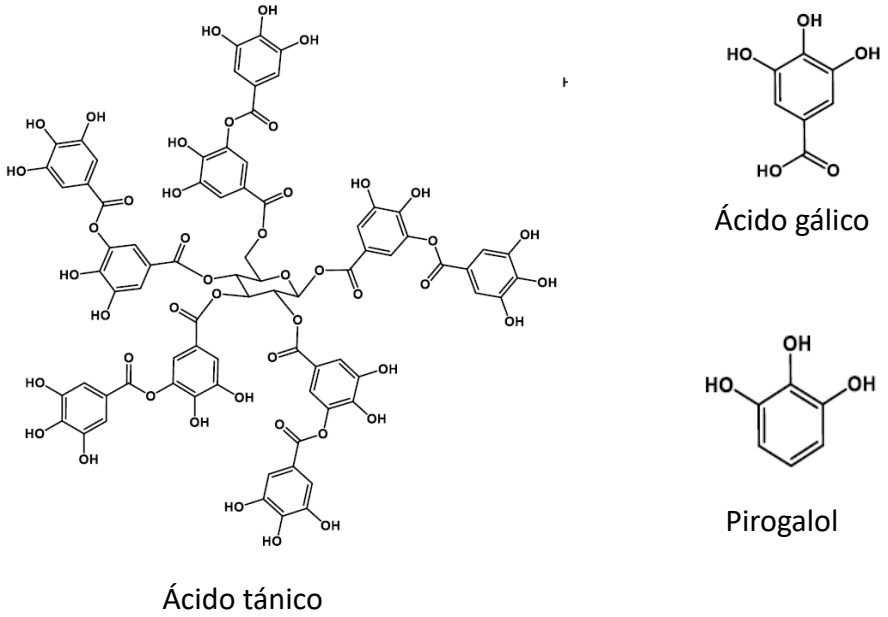


Figura 4.7. Estructura química de Ácido tánico (AT) y compuestos hidrolizados como ácido gálico y/o pirogalol.

La quinona se forma como intermediario para el mecanismo de reducción del ion Ag^+ y estabilización de la NPs-Ag, a continuación, se presenta el mecanismo de reacción:

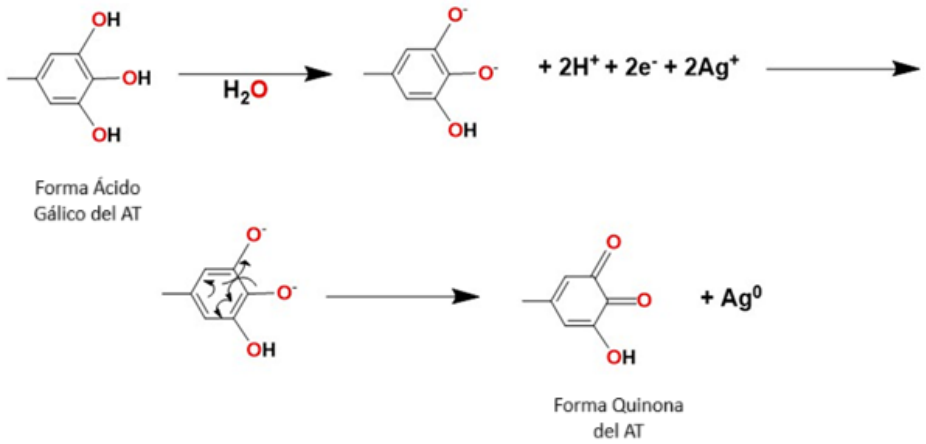


Figura 4.8. Mecanismo químico de la reducción y estabilización de las NPs-Ag.

Donde el ácido tánico en forma de quinona se encuentra sobre la superficie de la NP y la carga negativa es debida a los grupos OH unidos al benceno de la quinona como se muestra en la figura 4.1 b).

Las NPs-Ag presentan una carga superficial negativa la cual es debida a la desprotonación del grupo OH de los grupos fenólicos de la capa de ácido tánico que se encuentran en disolución acuosa (Figura 4.9).

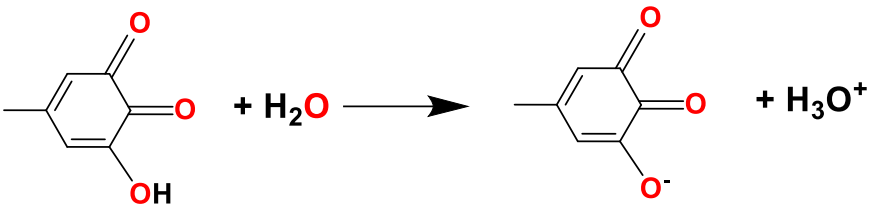


Figura 4.9. Desprotonación del grupo OH del ácido tánico.

4.1.6 Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier

Para comprobar los grupos funcionales que están presentes en la superficie de las NPs-Ag, se obtuvo el espectro FTIR, el cual se muestra en la figura 4.10 a). En el espectro se observan 3 bandas ubicadas en 3306, 1641 y 570 cm^{-1} las cuales corresponden a la vibración de estiramiento del enlace O-H del grupo funcional ácido carboxílico, la vibración de estiramiento del enlace C=O del grupo carbonilo y al modo vibracional de los enlaces simples C-C y/o C-O, respectivamente. En la Fig. 4.10 b, se presentan las NPs-Ag funcionalizadas con la quinona del ácido tánico [62]. La banda ubicada en 2105 cm^{-1} corresponde a la vibración de alargamiento del enlace C=O del grupo funcional cetona o al CO_2 del ambiente [63].

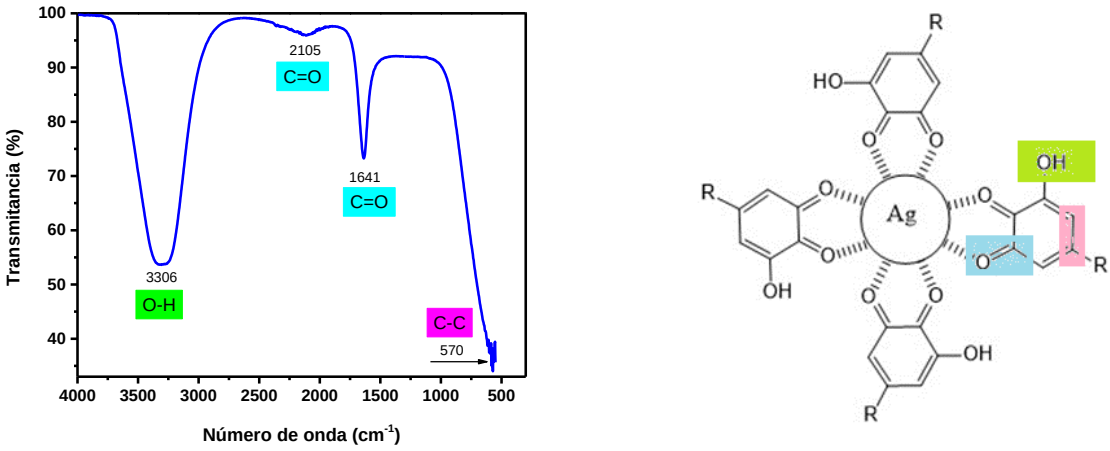


Figura 4.10. a) Espectro FTIR de las NPs-Ag funcionalizadas con el ácido tánico en forma de cetona, **b)** Estructura química de NPs-Ag estabilizadas con quinona.

4.1.7 Espectroscopía de Absorción atómica

La concentración de NPs-Ag obtenidas mediante el procedimiento descrito en la sección 3.4.7, se determinó mediante espectrofotometría de absorción atómica. En la figura 4.11 se muestra la curva de calibración de las soluciones de nitrato de plata, la cual presenta un aumento de la absorbancia a medida que aumenta la concentración del ión Ag^+ y presenta un comportamiento lineal con una pendiente de 0.08001; ordenada al origen en -0.004 y un coeficiente de correlación de 0.96.

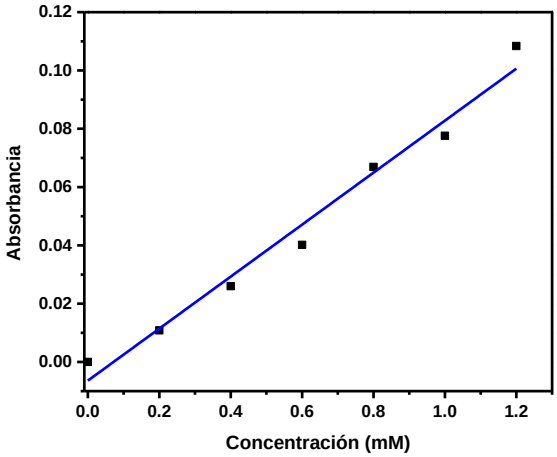


Figura 4.11. Curva de calibración de iones de Ag.

La concentración reportada por el equipo para la Muestra1-Ag fue de 7.75 ppm, por lo que fue necesario diluir 1 ml de muestra hasta 10 ml, debido a que la concentración estaba fuera de rango de valores del ajuste lineal. Una vez llevado a cabo la dilución el valor obtenido fue de 1.54 ppm

obtenido mediante extrapolación. Para las Muestra 2 y 3 no fue necesario diluirlas. En la tabla 4.1, se reportan los resultados de las 3 muestras, calculados con la ecuación de dilución, esto debido a la preparación de las muestras con HNO_3 y HCl:

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad \textbf{(2)}$$

Donde: C_1 son las concentraciones iniciales de las muestras Muestra1-Ag, Muestra2-Ag y Muestra3-Ag. V_1 son los volúmenes iniciales las muestras Muestra1-Ag, Muestra2-Ag y Muestra3-Ag. C_2 es la concentración final (después de la digestión ácida) y V_2 es el volumen final (después de la digestión ácida).

Tabla 4.1. Concentraciones de las NPs-Ag sin lavar y lavadas determinadas mediante absorción atómica.

Nombre	Concentración de la solución de las NPs-Ag (ppm)	Concentración de la solución de las NPs-Ag calculada mediante la ecuación 2 (ppm)
Muestra1-Ag	1.54*	77.1**
Muestra2-Ag	3.08	15.4
Muestra3-Ag	2.95	14.8

* Resultado de la concentración de la solución de las NPs-Ag después de haberse tratado con HNO_3 y HCl y diluida con agua desionizada.
** Resultado de la concentración de la solución de NPs-Ag considerando la Ec. 2

La concentración de NPs-Ag sin lavar fue de 77.1 ppm y después del primer lavado fue de 15.4 ppm por lo que en el primer lavado se pierde el 80.0 %. Este resultado corresponde a las NPs-Ag transformadas en Ag^+ y a los iones Ag^+ que no reaccionaron durante la síntesis. Por otro lado, la concentración de NPs-Ag entre el primer lavado y el segundo lavado corresponde a una disminución de la concentración de 3.9%. Estos resultados muestran que los lavados son importantes para la purificación de las muestras.

4.2 NPs-$NiFe_2O_4$

En la figura 4.12 se muestran las imágenes de los reactivos de acetato de níquel, del SDS y del $Ni(DS)_2$. Como se muestra en la imagen el $Ni(DS)_2$ purificado es un compuesto sólido de color azul verdoso.

Figura 4.12. a) Imágenes de las soluciones de acetato de níquel y SDS, **b)** Imagen del $Ni(DS)_2$ purificado.

En la figura 4.13 se muestran los espectros de absorción de las solución del SDS (línea roja), acetato de níquel (línea azul) y del $Ni(DS)_2$ (línea negra). El espectro de absorción del $Ni(DS)_2$, presenta una banda de absorción bien definida ubicada en 395 nm y dos bandas poco intensas y traslapadas ubicadas en 656 y 728 nm. Este espectro es similar al espectro del acetato de níquel aunque la intensidad de las bandas es menor lo que indica que el SDS interacciona con el níquel para formar $Ni(DS)_2$. La banda ubicada a 395 nm es debida a la transición $^3A_2(F) \rightarrow {}^3T_1(P)$y las bandas ubicadas a 656 y 728 nm han sido asignadas a las transiciones $^3A_2(F) \rightarrow {}^1E(D)$ y $^3A_2(F) \rightarrow {}^3T_1(F)$, respectivamente [64].

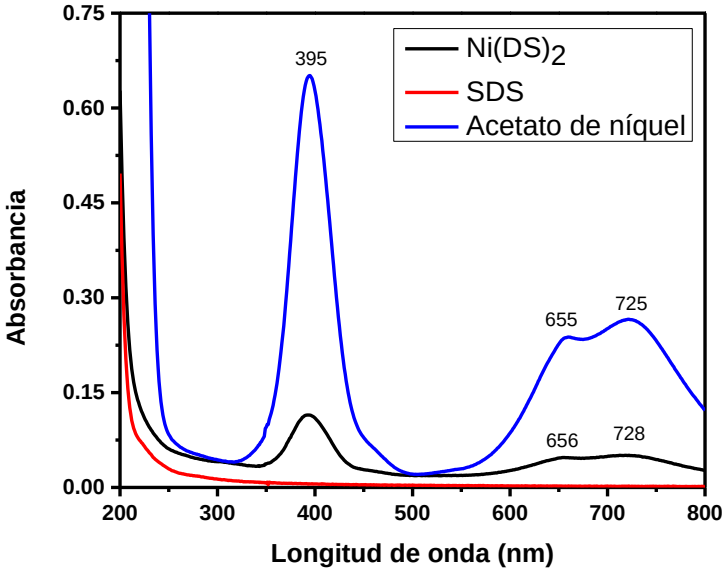
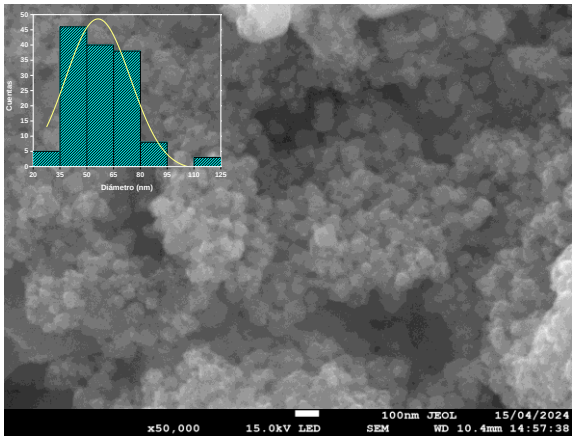


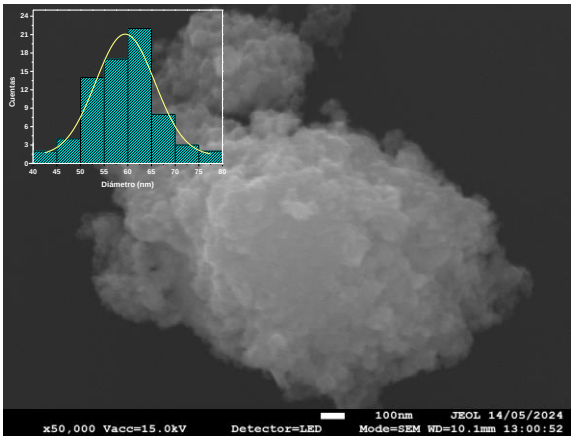
Figura 4.13. Espectros de absorción de la solución de SDS (línea roja), acetato de níquel (línea azul) y del $Ni(DS)_2$ (línea negra).

4.2.1 Microscopía Electrónica de Barrido

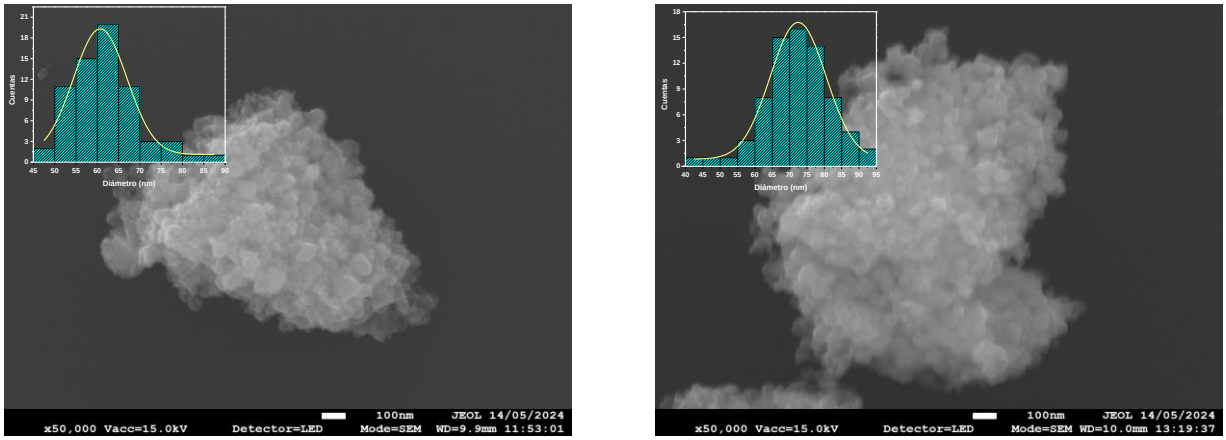
Las micrografías SEM de las muestras FN-STT, FN-300, FN-500 y FN-700 a amplificaciones de 50,000X se presentan en la figura 4.14. en la que se observan aglomerados de partículas con morfologías cuasi esféricas y en los insertos de estas imágenes se muestran las gráficas de la distribución de tamaño de las partículas. En la Tabla 4.2 se presentan los tamaños de partícula promedio y las desviaciones estándar de las muestras de NPs-$NiFe_2O_4$ sin tratar y tratadas térmicamente a diferentes temperaturas.



a)



b)



c) **d)**

Figura 4.14. Micrografía SEM de las muestras FN-STT, FN-300, FN-500 y FN-700 a 50,000X. En los insertos de las imágenes se presentan los correspondientes histogramas de tamaño de partícula.

Los resultados indican que, al aumentar la temperatura de tratamiento térmico, el tamaño de las NPs-$NiFe_2O_4$ aumenta ligeramente desde 58.2 hasta 72.0 nm debido a la sinterización de las partículas y a la coalescencia parcial entre partículas.

Tabla 4.2. Tamaños de partícula promedio y las desviaciones estándar de las muestras de NPs-$NiFe_2O_4$ sin tratar y tratadas térmicamente a diferentes temperaturas.

MUESTRA	Tamaño promedio de partícula (nm)	Desviación estándar (nm)
FN-STT	58.4	16.4
FN-300	59.6	7.1
FN-500	62.1	7.8
FN-700	72.0	9.4

En la Figura 4.15 se muestra el espectro de energía dispersiva de Rayos-X (EDS) de la NPs-$NiFe_2O_4$ sin tratar térmicamente (FN-STT) y la zona de la muestra donde se realizó el análisis (inserto de la Fig. 4.15). Este espectro presenta picos que corresponden a los diferentes elementos presentes en la muestra; también se muestran picos no etiquetados ubicados en 0.35 keV y 1.75 keV correspondientes al carbono de SDS y al Silicio que fue donde se soportó la NPs-$NiFe_2O_4$, respectivamente.

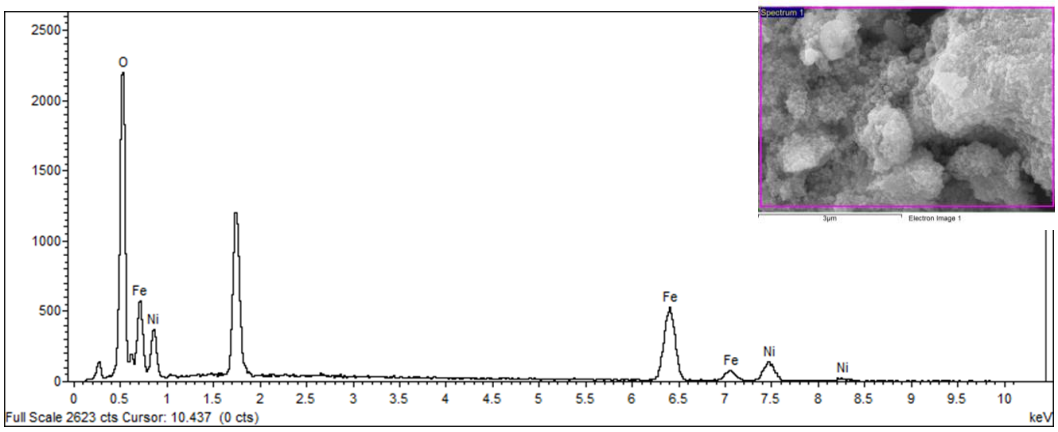


Figura 4.15. Espectro de energía dispersiva de Rayos-X (EDS) de la NPs-$NiFe_2O_4$ sin tratar térmicamente (FN-STT).

Los espectros EDS de la NPs-$NiFe_2O_4$ tratadas térmicamente presentan un espectro análogo al de la figura 4.15, por lo que no se muestran en este trabajo. Para cuantificar el porcentaje atómico de cada elemento presente en el material se realizó el análisis en dos zonas diferentes de cada muestra, por lo que en la Tabla 4.3 se presentan los porcentajes promedios de cada elemento. También se muestra el porcentaje teórico de cada elemento de las NPs-$NiFe_2O_4$.

Los resultados del análisis elemental de las NPs-$NiFe_2O_4$ muestran que estas presentan un exceso de oxígeno y una ligera deficiencia de Fe y de Ni. Esto podría ser debido a que la NPs-$NiFe_2O_4$ sin tratar térmicamente, y que se obtuvo en medio acuoso, están parcialmente hidróxiladas en la superficie y que al tratarlas térmicamente en presencia de oxígeno se lleva a cabo la perdida de los grupos OH (deshidroxilación) como lo muestran los resultados de espectrofotometría IR. También podría llevarse la oxidación de la superficie de las ferritas para formar el FeOOH, como lo muestran los resultados de Rayos-X. Los resultados FTIR y de DRX se muestran en las siguientes secciones.

Tabla 4.3. Porcentajes atómicos promedio de los elementos de las NPs-$NiFe_2O_4$ sin tratamiento térmico y tratadas térmicamente a diferentes temperaturas en presencia de oxígeno.

ELEMENTO % ATÓMICO PROMEDIO	FN-STT	FN-300	FN-500	FN-700	% TEÓRICO
OXÍGENO	64.84	68.66	68.88	65.58	57.14
HIERRO	24.37	17.82	18.86	25.90	28.57
NÍQUEL	9.29	13.53	12.26	8.52	14.29

4.2.2 Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier

Para determinar los grupos funcionales superficiales presentes en las NPs-$NiFe_2O_4$, las muestras se caracterizaron mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). En la figura 4.16 se muestra el espectro FTIR de las FN-STT, FN-300, FN-500 y FN-700.

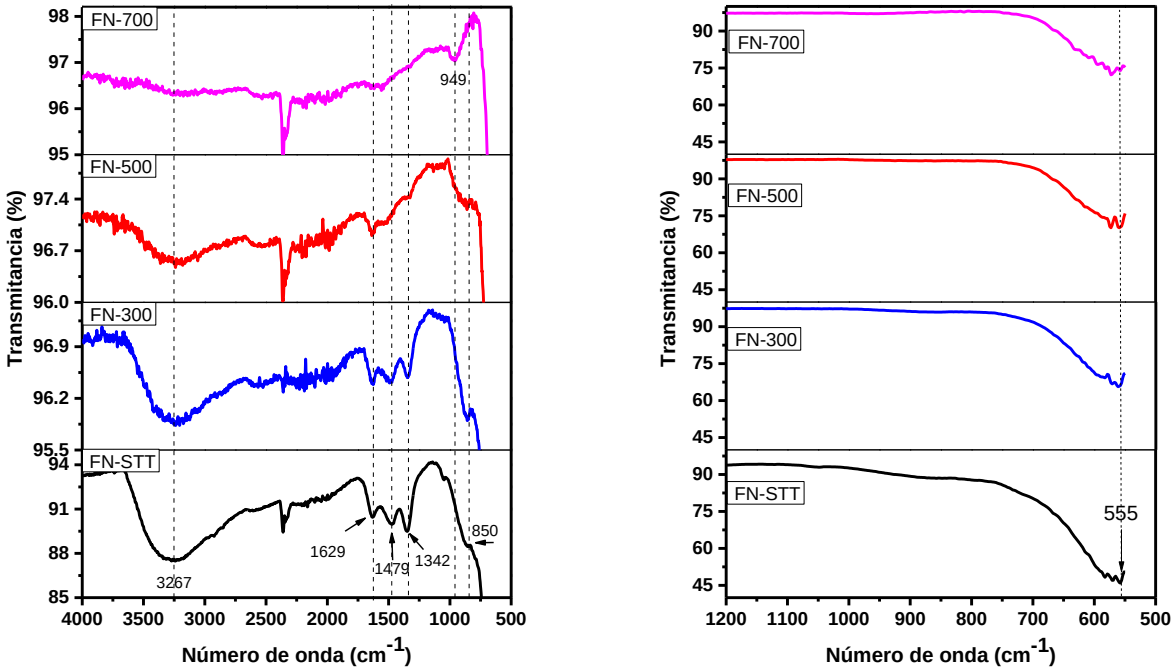


Figura 4.16. Espectros FTIR de las NPs-$NiFe_2O_4$ FN-STT (línea negra), FN-300 (línea azul), FN-500 (línea roja) y FN-700 (línea rosa). La gráfica de la derecha corresponde a la región de 1200 a 500 cm^{-1} de las mismas muestras.

El espectro IR de la muestra FN-STT presenta 6 bandas de absorción ubicadas en 3267, 1629, 1479, 1342, 850 y 555 cm^{-1}. Las bandas ubicadas en 3267 y 1342 cm^{-1} han sido asignadas a las vibraciones de estiramiento y flexión del enlace O-H [65]. Como esta muestra no se trató térmicamente, además de que se obtuvo en un medio acuoso, los grupos OH se encuentran en la superficie de las NPs-$NiFe_2O_4$. Por otro lado, las bandas de absorción situadas en 1629 y 1479 corresponden a las vibraciones de estiramiento simétrico del enlace C-H de los grupos metileno del SDS, debido a que aún puede tener remanentes de este compuesto en las NPs-$NiFe_2O_4$ y la banda ubicada en 2355 cm^{-1} corresponde a la vibración del enlace C-O del CO_2 del medio ambiente.

La banda ubicada en 850 cm^{-1} puede corresponder a una vibración M-O, pero no perteneciente a la estructura de espinela inversa, sino a otra fase formada [66].

Por último, la banda de absorción ubicada en 555 cm^{-1} se debe a la vibración de flexión del enlace M_T-O-M_O donde M_T y M_O se refieren al metal en posición tetraédrica y octaédrica respectivamente [66].

También se observa que a medida que aumenta la temperatura de tratamiento térmico a 300 y 500°C, disminuye la intensidad de todas las bandas de absorción. Mientras que, en la muestra tratada a 700°C ya no aparecen esas bandas es decir a esta temperatura se ha deshidroxidado la superficie, pero se ha oxidado esta muestra formando el FeOOH, como lo muestran los resultados de DRX que a continuación se mencionan.

4.2.3 Difracción de Rayos-X

En la figura 4.17, se muestran los difractogramas de Rayos-X, de las NPs-$NiFe_2O_4$, sin tratar y tratadas térmicamente. Los difractogramas se compararon con las fichas cristalográficas ICDD, en el que se identificaron los planos de la red cristalina característicos de la ferrita de níquel ($NiFe_2O_4$) ICDD 01-086-2267, el cual presenta una estructura cristalina cúbica y grupo espacial Fd-3m.

También se presentan picos de difracción que corresponden al FeOOH (ICDD 01-076-0182), el cual presenta una estructura cristalina romboédrica y grupo espacial R-3c.

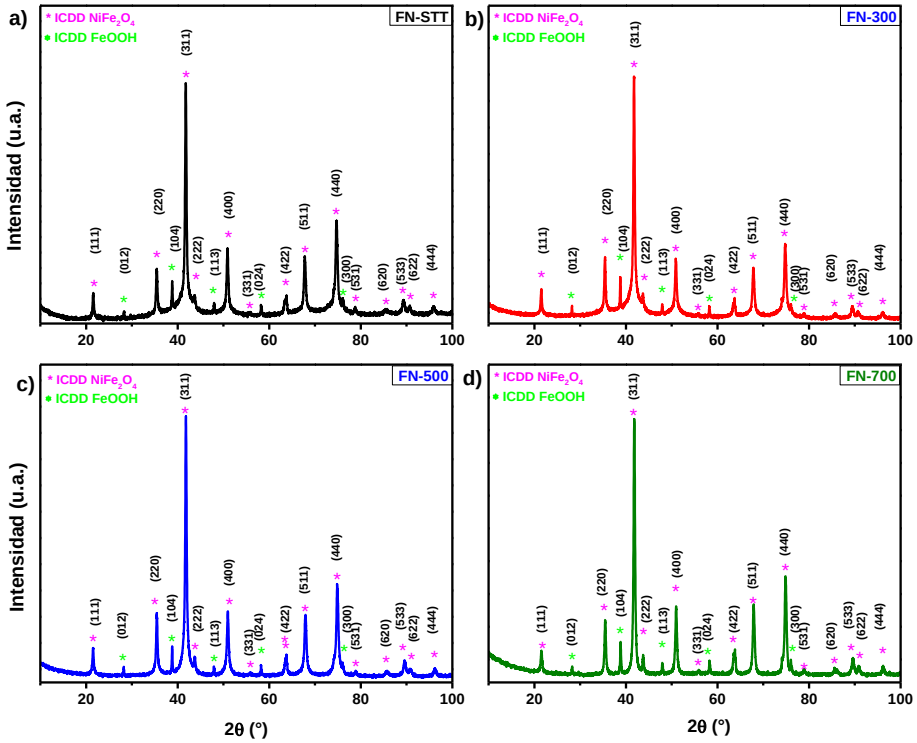


Figura 4.17. Difractogramas de Rayos-X de las NPs-$NiFe_2O_4$, a) FN-STT, b) FN-300, c) FN-500 y d) FN-700.

Al comparar los difractogramas de Rayos-X no se observa un cambio significativo tanto en las NPs-$NiFe_2O_4$ como del FeOOH a medida que se aumenta la temperatura de tratamiento térmico.

A partir de los difractogramas se determinó el tamaño del cristal considerando los cuatro picos de difracción más intensos ((311), (400), (511) y el (440)) de cada muestra en el que se utilizó la ecuación de Scherrer (Ecuación 1), descrita en la sección 4.1.3. En la tabla 4.4 se presenta el promedio del diámetro del cristal, así como la desviación estándar de cada muestra.

Tabla 4.4. Tamaño del cristal de las diferentes muestras de NPs-$NiFe_2O_4$, calculado mediante la ecuación de Sherrer.

Muestra	Diámetro promedio del cristal (nm)	Desviación estándar (nm)
FN-STT	22.6	1.67
FN-300	22.4	1.11
FN-500	22.7	1.34
FN-700	24.2	1.50

De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 4.4 se concluye que no hay un efecto significativo en el diámetro promedio del cristal, a medida que aumenta la temperatura de tratamiento térmico de las NPs-$NiFe_2O_4$.

4.2.4 Espectroscopía Raman

En la figura 4.18 se muestran los espectros Raman de las NPs-$NiFe_2O_4$ sin tratar y tratadas térmicamente.

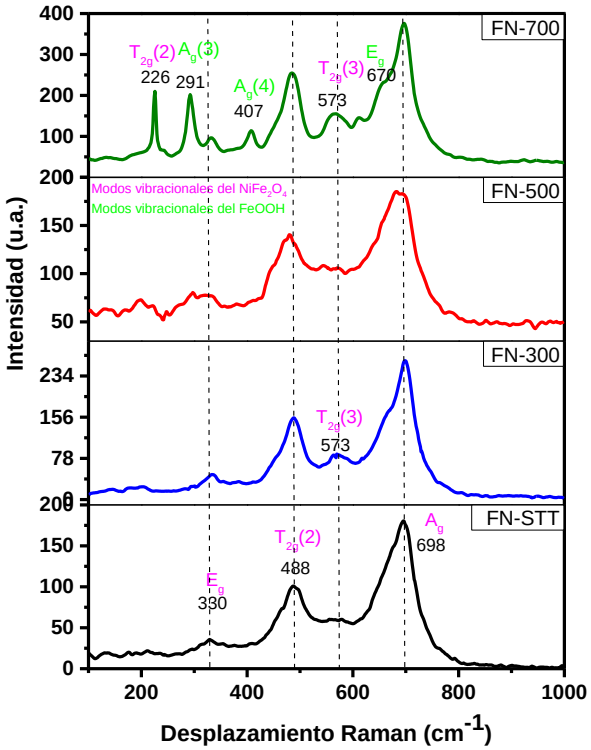


Figura 4.18. Espectro Raman de las NPs-$NiFe_2O_4$ FN-STT (línea negra), FN-300 (línea azul), FN-500 (línea roja) y FN-700 (línea verde).

En el espectro Raman de la muestra de NPs-$NiFe_2O_4$ sin tratamiento térmico (FN-STT) se observan 3 bandas ubicadas en 330, 488 y 698 cm^{-1}, las cuales corresponden a los modos vibracionales de flexión simétrico $E_g(2)$, de estiramiento antisimétrico $T_{2g}(2)$ y de estiramiento simétrico A_{1g} de los enlaces O-Fe y O-Ni de las NPs-$NiFe_2O_4$ respectivamente [67-68].

Al tratar térmicamente las NPs-$NiFe_2O_4$ a 300 y 500 ºC, los espectros no muestran cambios significativos; sin embargo, la muestra tratada a 700 ºC en el espectro Raman se observan 4 bandas adicionales bien definidas ubicadas en 226, 291, 407 y 573 cm^{-1} y un hombro ubicado en 670 cm^{-1}. Las bandas ubicadas en 226 y 573 corresponden a las vibraciones T2g(2) y T2g(3) de los enlaces O-Fe de las NPs-$NiFe_2O_4$. Las bandas ubicadas en 291, 407 y 670 cm^{-1} han sido reportadas experimental y teóricamente por *Abrashev et al.,* [69] y corresponden a los modos vibracionales Ag(3), Ag(4) y E_g del enlace Fe-O (de alargamiento y flexión) de la α-FeOOH (Figura 4.19). Estos autores también reportaron bandas debidas a las vibraciones de los enlaces O-H de flexión (cerca de 1000 cm^{-1}) y de alargamiento (por arriba de 3000 cm^{-1}), las cuales nos son mostradas en este trabajo.

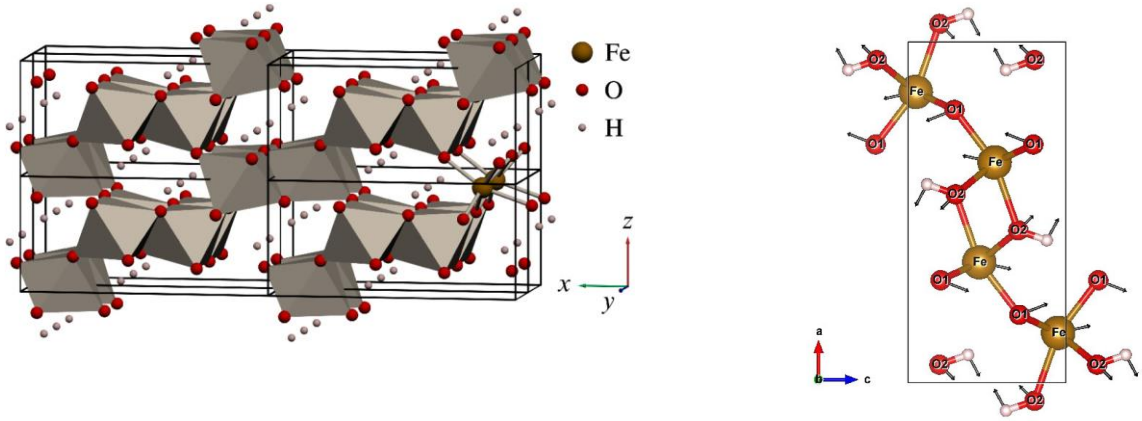
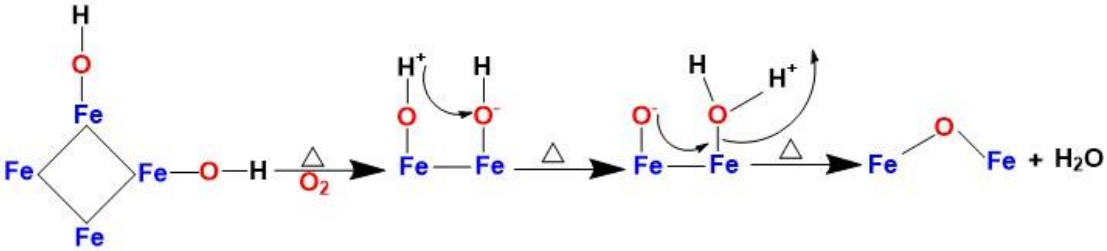
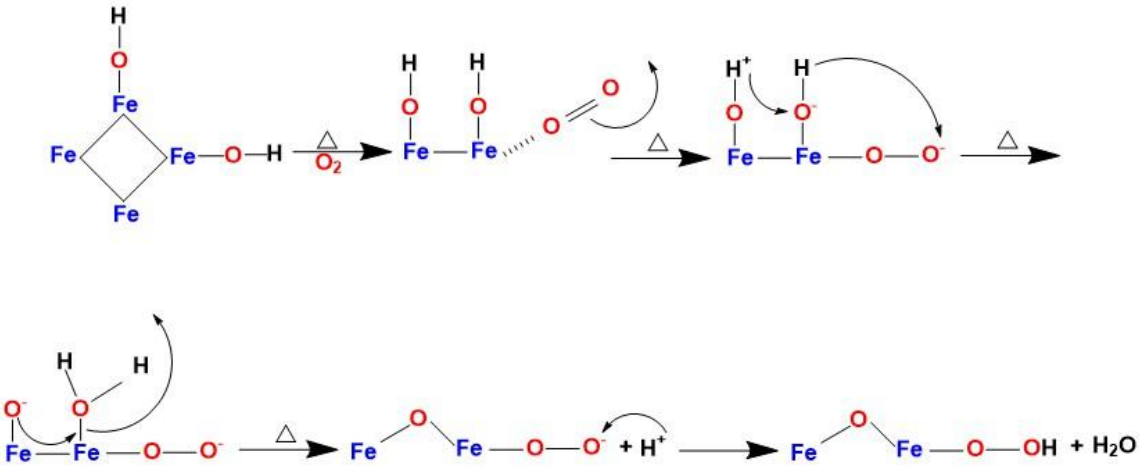


Figura 4.19. Estructura cristalina del FeOOH y los modos normales de vibración de los enlaces [69].

De acuerdo con los resultados de SEM, EDS, FTIR, DRX y Raman, se propone el siguiente diagrama que indica el proceso de deshidroxilación y oxidación de la superficie de las NPs-$NiFe_2O_4$ para formar el FeOOH superficial y como subproducto el H_2O.



Mecanismo de reacción 1



Mecanismo de reacción 2

Figura 4.20. Proceso de deshidroxilación de la superficie de las NPs-$NiFe_2O_4$.

4.2.5 Espectroscopia UV-Visible

Por otro lado, en la figura 4.21, se muestran los espectros de reflectancia difusa de las NPs-$NiFe_2O_4$ sólidas, FN-STT (línea negra), FN-300 (línea roja), FN-500 (línea azul) y FN-700 (línea rosa). Los espectros de todas las muestras presentan un ascenso pronunciado del borde de reflexión en el intervalo de 570 a 750 nm lo cual se atribuye a la transición electrónica desde el orbital 2p del oxígeno (banda de valencia) hacia el orbital 3d del Fe (banda de conducción) [70].

En la gráfica se observa que el borde de reflexión de las muestras FN-STT, FN-300 y FN-700 son muy similares excepto la FN-500 en la cual se observa un desplazamiento hacia mayor longitud de onda (menor energía) esto puede deberse a que hay una menor cantidad de FeOOH en esta muestra comparada con las otras muestras, como se discutió en los resultados de EDS y Raman en las secciones 4.2.1 y 4.2.4 respectivamente.

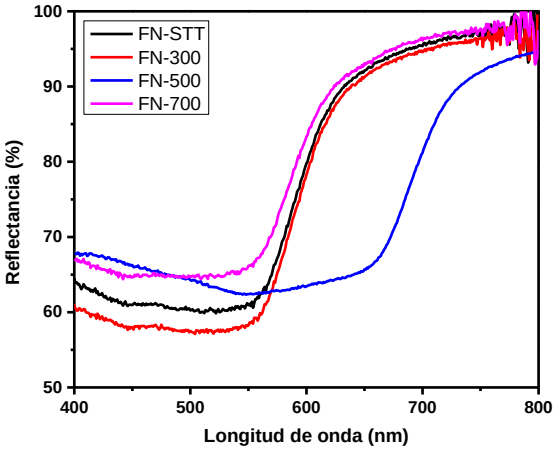


Figura 4.21. Espectros de reflectancia difusa de las NPs-$NiFe_2O_4$ (sólido). FN-STT (línea negra), FN-300 (línea roja), FN-500 (línea azul) y FN-700 (línea rosa).

A partir de los espectros de reflexión se determinó el band gap de las NPs- $NiFe_2O_4$ mediante el método de Tauc y Kubelka Munk. El método Tauc se basa en el supuesto de que el coeficiente de absorción α es dependiente de la energía, la cual se puede expresar mediante la ecuación 3:

$$(\alpha h\nu) = B(h\nu - Eg)^{n/2} \quad \textbf{(3)}$$

Donde α es el coeficiente de absorción, h es la constante de Planck, ν es la frecuencia del fotón, Eg es la energía de la banda prohibida (band gap), B es una constante y n es un factor que

depende de la naturaleza de la transición electrónica y es igual a 1/2 o 2 para el band gap de transición directa e indirecta, respectivamente [71].

De acuerdo con la teoría de P. Kubelka y F. Munk presentada en 1931, los espectros de reflectancia medidos se pueden transformar en los correspondientes espectros de absorción aplicando la función de Kubelka-Munk $F(R_\infty)$, expresada en la ecuación 4 [72].

$$F(R_\infty) = \frac{K}{S} = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty} \quad \textbf{(4)}$$

Donde $F(R_\infty) = \frac{R_{muestra}}{R_{estándar}}$ es la reflectancia de una muestra infinitamente gruesa; K y S son los coeficientes de absorción y dispersión, respectivamente. Al poner $F(R_\infty)$ en lugar de α en la ecuación 3 se obtiene la ecuación 5 [73].

$$(F(R_\infty)hv)^{1/n} = B(hv - Eg) \quad \textbf{(5)}$$

Debido a que varios autores reportan valores de band gap considerando una estructura de bandas directa e indirecta [42] [74], en nuestro caso se determinó ambos casos.

En las figuras 4.22 a) y 4.22 b) se presentan los gráficos de $(F(R)hv)^2$ (estructura de bandas directa) y $(F(R)hv)^{(1/2)}$ (estructura de bandas indirecta) en función de la energía de luz incidente (hv), se llevó una regresión lineal en la región donde se observa el borde de reflexión y para obtener el band gap se extrapoló la línea en donde la absorción es igual a cero.

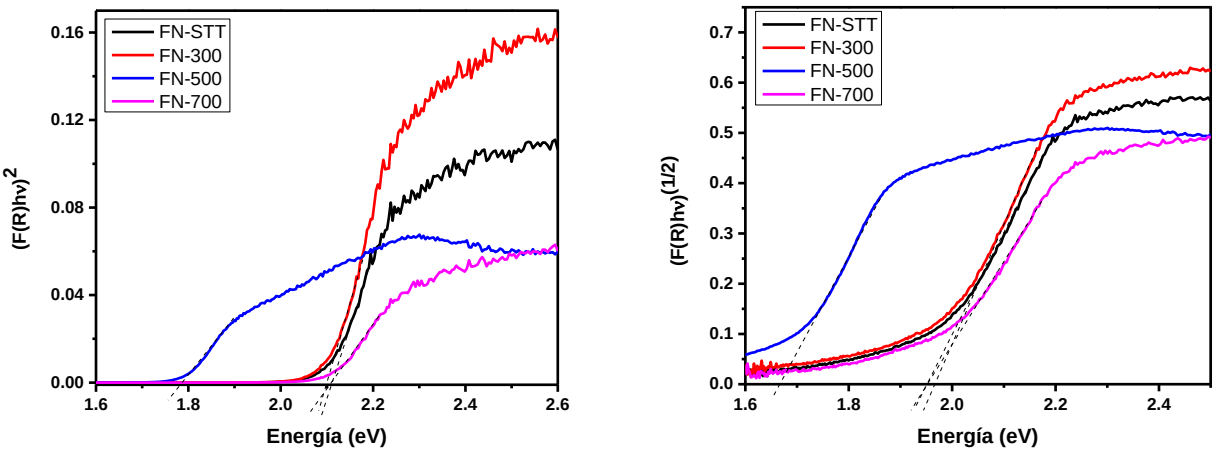


Figura 4.22 Gráficas de $(F(R)hv)^2$ y $(F(R)hv))^{(1/2)}$ en función de la energía de acuerdo al método de Kubelka-Munk de los compuestos FN-STT, FN-300, FN-500 y FN-700.

En la tabla 4.5 se presentan los valores de band gap considerando la estructura de bandas directa e indirecta. El band gap directo es mayor respecto al band gap indirecto. Las FN-STT tiene un band gap indirecto de 1.94 y las muestras FN-300 y FN-700 tienen un bad gap de 1.95, estos valores son muy similares, mientras que la FN-500 presentan un band gap de 1.69 eV, esto puede deberse a que, como se mencionó anteriormente hay una menor cantidad de FeOOH en esta muestra comparada con las otras muestras. Los valores de band gap directo son comparables con los reportados por *Joshi et. al* ., [75] en el cual obtuvieron valores de 1.9 eV para band gap directo y 1.45 eV para band gap indirecto; estos autores también reportaron que el band gap es afectado directamente por factores como el tamaño de partícula, parámetros de red y la presencia de impurezas en el material.

Tabla 4.5. Valores de Band gap directo e indirecto de las NPs-$NiFe_2O_4$, tratadas a diferentes temperaturas, obtenidas a partir del modelo de Kubelka-Munk y Tauc.

Muestra	Band gap directo (eV)	Band gap indirecto (eV)
FN-STT	2.09	1.94
FN-300	2.10	1.95
FN-500	1.79	1.69
FN-700	2.10	1.95

4.3 NPs del composito de Ag-$NiFe_2O_4$

4.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido

En la figura 4.23 a) se presenta la micrografía SEM con una amplificación de 50,000 X del AgFN-COM en el que se observa que el material se encuentra aglomerado con morfología fibrosa y compacta; además en la superficie de este material se encuentran depositadas las NPs-Ag con morfología esférica de distintos tamaños, estas partículas no se encuentran distribuidas uniformemente sobre la superficie de la ferrita de níquel. En la figura 4.23 b) se presenta el histograma de tamaño de partícula del AgFN-COM el cual tiene un diámetro promedio de 48.3 nm con una desviación estándar de 9.6 nm. Este valor es más grande que el diámetro de las NPs-Ag individuales y podría ser debido a que no se observa un contraste en el color de las NPs-Ag y las NPs-

$NiFe_2O_4$, por lo que es necesario llevar a cabo una caracterización Microscopía Electrónica de Trasmisión.

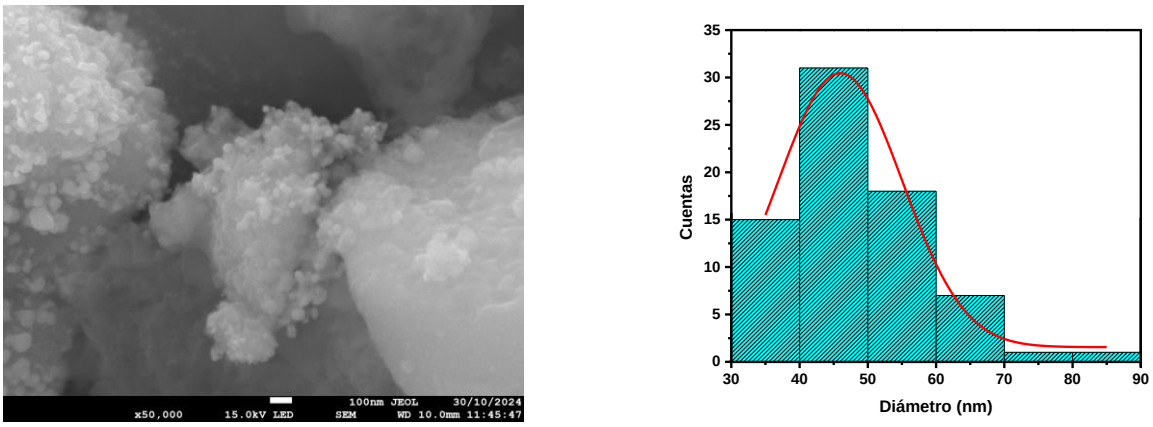


Figura 4.23. a) Micrografía SEM del AgFN-COM y **b)** Histograma de tamaño de partícula.

En la figura 4.24 se presenta el espectro de energía dispersa de Rayos-X (EDS) del AgFN-COM, en el que se pueden observar picos característicos del oxígeno, del hierro, del níquel y de la plata, también se observa un pico intenso de carbono, este puede deberse al ácido tánico que rodea las NPs-Ag, así mismo se observa una señal de silicio que corresponde al material en el que fue depositado el AgFN-COM.

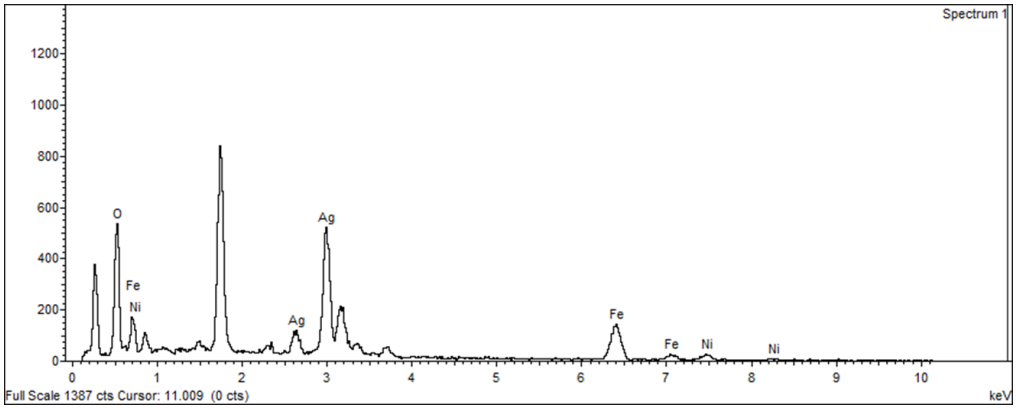


Figura 4.24. Espectro de energía dispersiva de Rayos-X (EDS) del AgFN-COM.

En la tabla 4.6 se muestra el porcentaje en peso teórico y experimental de cada elemento del AgFN-COM, esto para poder cuantificar el porcentaje atómico de cada elemento presente en el material, se realizó el análisis en dos zonas diferentes de la muestra.

Tabla 4.6. Porcentajes atómicos promedio de los elementos presentes en el AgFN-COM y determinados por EDS.

ELEMENTO	% PESO EXPERIMENTAL	% PESO TEÓRICO
OXÍGENO	36.36	54.28
HIERRO	45.35	27.14
NÍQUEL	14.82	13.57
PLATA	3.47	5.01

De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 4.6, el porcentaje atómico de plata corresponde a un porcentaje en peso de 3.47%, este resultado es cercano al valor nominal propuesto en la síntesis (5 % en peso), pero sí hay desviación en la estequiometría debida a que no hay una distribución uniforme en el material.

4.3.2 Difracción de Rayos-X

En la figura 4.25 se presenta el difractograma de Rayos-X del AgFN-COM. Los picos de difracción presentes en el difractograma corresponden a los del $NiFe_2O_4$ y del FeOOH como se discutió en la sección 4.2.3. Los picos de difracción de las NPs-Ag se discutieron en la sección 4.1.3 (Figura 4.3), en este difractograma solamente se observa un pico de difracción en 77° que corresponde a las NPs-Ag; los otros picos no se observan debido a que se encuentran traslapados con los picos de difracción del $NiFe_2O_4$ y del FeOOH.

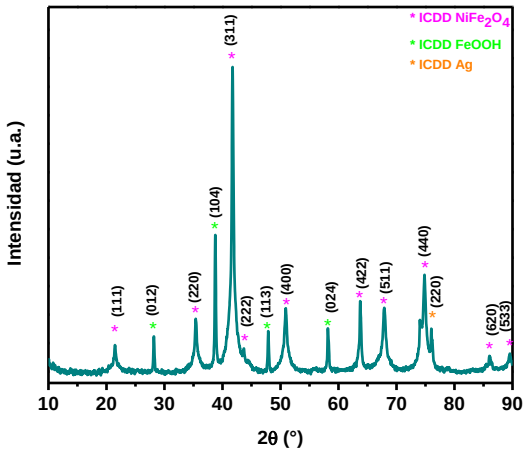


Figura 4.25. Difractograma de Rayos-X del AgFN-COM.

4.3.3 Espectroscopía Raman

El espectro Raman del AgFN-COM se presenta en la figura 4.26, se observan las bandas correspondientes a los modos vibracionales de las NPs-$NiFe_2O_4$ tratadas a 500ºC y el FeOOH como se discutió en la sección 4.2.4. Adicional a las bandas correspondientes a las NPs-$NiFe_2O_4$ y el FeOOH se observan bandas ubicadas en 658 y 823 cm^{-1}, las cuales corresponden a los modos vibracionales de torsión del enlace C–C del pirogalol del ácido tánico, el cual es el agente funcionalizante que rodea a las NPs-Ag [76-77].

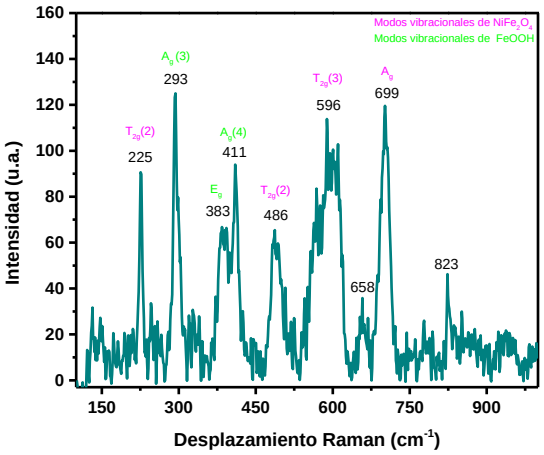


Figura 4.26. Espectro Raman del Ag-FN COM

4.4 Estudio SERS para la cuantificación de la Tiroxina

4.4.1 Sustratos SERS de NPs-Ag

En la Figura 4.27 se presentan los espectros Raman de la oblea de Silicio (Ob-Si) y de diferentes volúmenes de NPs-Ag soportadas en la Ob-Si, las cuales se utilizaron como sustratos SERS. En la figura 4.27 a) se presenta el espectro Raman de la Ob-Si en que se observan 3 bandas ubicadas en 302, 521 y 945 cm^{-1}, características del silicio, siendo la banda a 521 cm^{-1} la más intensa [78].

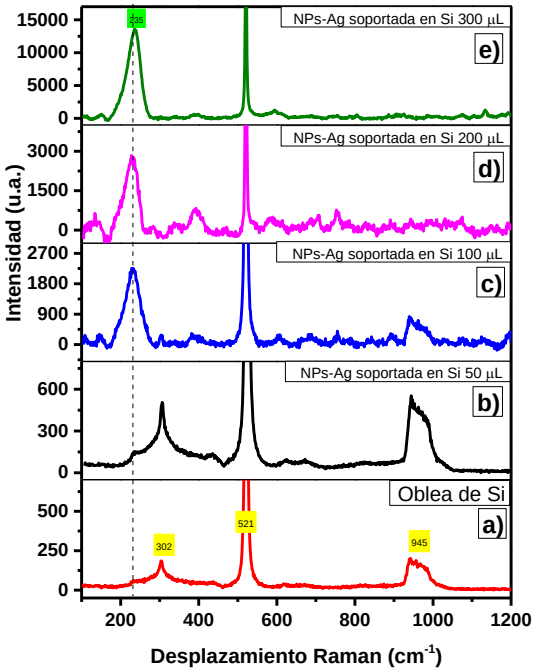


Figura 4.27. Espectros Raman de la a) oblea de silicio; y de las NPs-Ag con volúmenes de b) 50 µL, c) 100 µL, d) 200 µL y e) 300 µL, soportadas sobre Ob-Si.

En la figura 4.27 b-e, se presentan los espectros Raman de los sustratos SERS (NPs-Ag depositadas en la Ob-Si) con diferentes volúmenes de NPs-Ag, las cuales tienen una concentración de 14.8 ppm. En los espectros se observan las bandas correspondientes al silicio y una banda ubicada en 235 cm^{-1} que aumenta de intensidad a medida que se incrementa el volumen de las NPs-Ag. Se ha reportado una banda poco intensa en el intervalo de 200 a 250 cm^{-1} que corresponde al pirogalol [77]. El incremento de la intensidad de la banda podría deberse a que las NPs metálicas ejercen un efecto SERS sobre el ácido tánico que rodea la NPs.

Por otro lado, en la figura 4.28 se presentan los espectros Raman de la Tiroxina (50 µL) a diferentes concentraciones (1 pM, 1 nM, 1 µM y 1 mM) depositadas sobre las Ob-Si. En todos los espectros solamente se observan las bandas que corresponden a los modos vibracionales del Si, excepto en la muestra con una concentración de 1 mM de T4, en el cual se observa una banda muy pequeña en 192 cm^{-1}(Fig.4.28 d) que ha sido asignada a la vibración de flexión del enlace C-C-I [48].

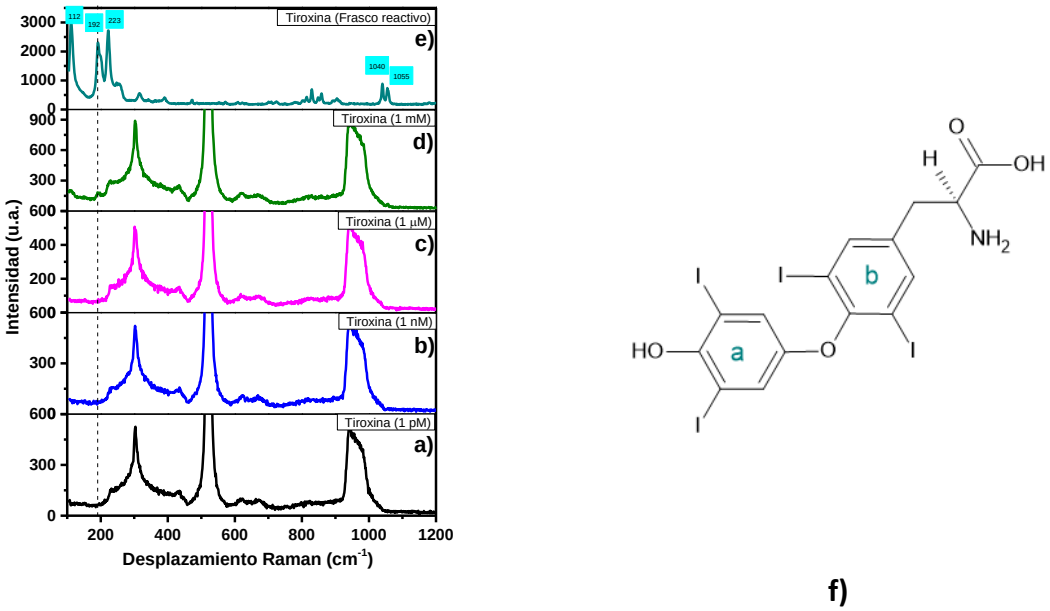


Figura 4.28. Espectros Raman de la tiroxina soportadas sobre obleas de Silicio con concentraciones de a) 1 pM, b) 1 nM, c) 1 μM y d) 1 mM. También se presenta el espectro de los cristales de la tiroxina del frasco reactivo (e). A la derecha se presenta la estructura química de la T4 (f).

En la figura 4.28.e), se presenta el espectro Raman de la Tiroxina del frasco reactivo, en el cual se observan bandas bien definidas ubicadas en 112, 192, 223, 1040 y 1056 cm^{-1}. La asignación de los modos vibracionales de la T4 ha sido reportada por *De León Portilla et al.,*[48] los cuales son los siguientes: las bandas ubicadas en el intervalo de 100 a 190 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de alargamiento asimétrico del enlace (I-C). Mientras que las bandas ubicadas de 200 a 300 cm^{-1} son debidas a las vibraciones del enlace del anillo benceno a(C-C-I), las bandas ubicadas en el intervalo de 300-700 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de alargamiento simétrico del enlace (C-I) y del anillo benceno a(C-C-N). Las bandas en la región de 700 a 950 cm^{-1} se deben a las vibraciones de alargamiento asimétrico del enlace (O-C-C-C), de alargamiento asimétrico del enlace del anillo del benceno a(C-C-C), de alargamiento simétrico del enlace (C-C), de deformación del enlace (C-H) y de torsión del enlace (H-C-C-C). Las bandas 1044 cm^{-1} y 1056 cm^{-1} son ocasionadas por las vibraciones de alargamiento simétrico del enlace (C-O) y del anillo benceno a(C-N); mientras que las bandas de 1100 a 1250 cm^{-1} son contribuciones de anillo benceno a(H-C-C), b(H-N-C) y vibraciones simétricas de alargamiento simétrico (C-O). Las letras a y b corresponden a los anillos de benceno indicados en la Figura 4.28 f).

En la figura 4.29 a-e se presentan los espectros Raman de la Tiroxina a concentraciones de 1 pM, 1 nM, 1 µM y 1 mM depositadas en los sustratos SERS (NPs-Ag con un volumen de 500 µL y concentración de 14.8 ppm), en el intervalo de 100 a 175 cm^{-1}, porque de acuerdo con el espectro Raman de la T4 presentado en la figura 4.29.e), se observan las bandas más intensas de este compuesto.

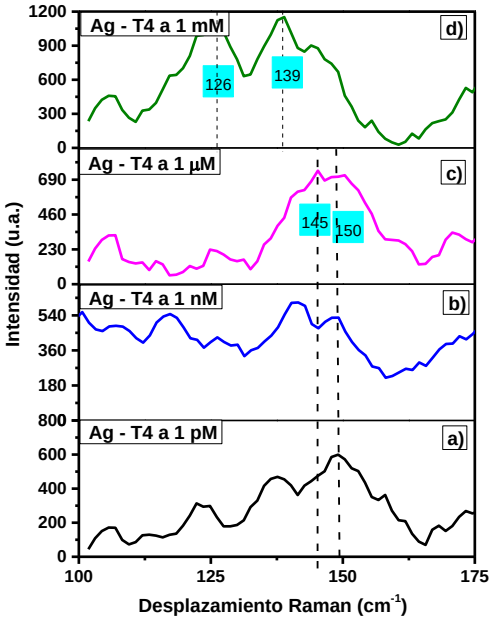


Figura 4.29. Espectros Raman de la Tiroxina a concentraciones de 1 pM, 1 nM, 1 µM y 1 mM depositadas en los sustratos SERS (NPs-Ag con un volumen de 500 µL y concentración de 14.8 ppm).

En los espectros Raman se observan bandas ubicadas en 145 y 150 cm^{-1} a concentraciones de T4 de 1 pM, 1 nM y 1 µM, mientras que a concentración de 1 mM las bandas se ubican en 129 y 136 cm^{-1}; el desplazamiento de estas bandas es debida a la interacción de la T4 con las NPs-Ag, en el caso de la concentración a 1 mM, el desplazamiento es aún mayor debido a que hay mayor concentración de T4 depositada en los sustratos SERS. También se observa que, a medida que aumenta la concentración de T4, la intensidad de las bandas Raman se incrementa.

La interacción de las NPs-Ag con la tiroxina es debida a que los hidrógenos de los grupos $-NH_2$ y -OH de la T4 interaccionan con los oxígenos de los grupos -OH de la quinona que rodea la superficie de las NPS-Ag formando enlaces de puentes de hidrógeno, quedando la molécula de T4 adsorbida sobre la superficie de las NP-Ag verticalmente, como se ilustra en la Figura 4.30.

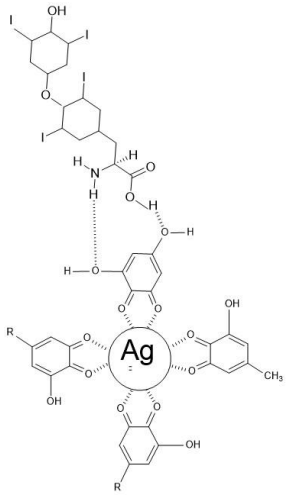


Figura 4.30. Interacción de las NPs-Ag estabilizadas con la quinona del Ácido tánico y la molécula de la T4.

A partir de los espectros Raman de la T4 a diferentes concentraciones, se seleccionó la banda ubicada en 150 cm^{-1} para el cálculo del factor de realce (EF) dada por la ecuación 6 [79]:

$$EF = \frac{I_{SERS}/N_{SERS}}{I_{RAMAN}/N_{RAMAN}} \quad \textbf{(6)}$$

Donde I_{RAMAN} e I_{SERS} son la intensidad de la banda Raman de la T_4 en ausencia y presencia de las NPs-Ag; N_{Raman} y N_{SERS}, son el número de moléculas excitadas de T4 en el área del spot del láser.

Para calcular el N_{RAMAN}, se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

1. Un depósito homogéneo de moléculas de T4 sobre la superficie de la Ob-Si.
2. Las moléculas de T4 pueden formar monocapas o multicapas, dependiendo de la concentración del compuesto.
3. Las moléculas de T4 están orientadas verticalmente sobre la Ob-Si y cada molécula ocupa un área.
4. Las moléculas de T4 excitadas, son las que son iluminadas por el área del láser (spot de láser)

Para determinar el número de moléculas de T4 que se depositaron verticalmente sobre la oblea de Si, se calcularon las dimensiones de la molécula utilizando el software ChemDraw, donde se determinó que la molécula tiene la forma de un prisma rectangular como se muestra en la figura 4.31.

La altura fue de 11.47 Å (1.147 nm), y las longitudes de la base fueron de 8.37 Å (0.837 nm) y 8.06 Å (0.806 nm), por lo que el área de la base fue de 67.46 $Å^2$ (0.6746 nm^2).

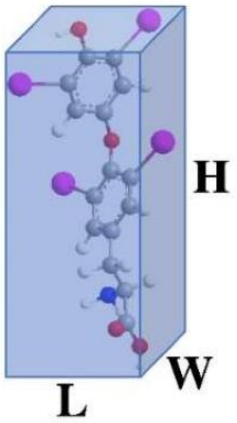


Figura 4.31. Molécula de tiroxina dentro de un un prisma rectangular, con H=11.47 Å, W=8.37 Å y L=8.06 Å.

Debido a que los espectros Raman se obtuvieron con el objetivo del microscopio de 100X, este presenta un spot de láser de 538634.8 nm^2. También se consideró el número de Avogadro, la concentración y el volumen depositado de T4.

N_{RAMAN} se calculó mediante la siguiente expresión (Ecuación 7) [79]:

$$N_{Raman} = \frac{(N_c)x(LxW)}{Área\ del\ spot\ de\ láser} \quad \textbf{(7)}$$

Los resultados se muestran en la tabla 4.7

Tabla 4.7 Datos utilizados para el calculó de N_{RAMAN} de acuerdo con la ecuación 7.

Concentración de T4	Concentración de T4 (Molar)	Número de Moles de T4	Número de moléculas de T4 (N_C)	Número de capas de moléculas (N_L)	Moléculas excitadas en el spot de láser (N_{RAMAN})
1 pM	$1.0x10^{-12}$	$5.0x10^{-17}$	$3.0x10^{7}$	$3.0x10^{-7}$	3.8
1 nM	$1.0x10^{-9}$	$5.0x10^{-14}$	$3.0x10^{10}$	$3.0x10^{-4}$	$3.8x10^{3}$
1 µM	$1.0x10^{-6}$	$5.0x10^{-11}$	$3.0x10^{13}$	$3.0x10^{-1}$	$3.8x10^{6}$
1 mM	$1.0x10^{-3}$	$5.0x10^{-8}$	$3.0x10^{16}$	$3.0x10^{2}$	$3.8x10^{9}$

Para el cálculo de N_{SERS} se consideró lo siguiente:

1. Un depósito homogéneo de moléculas de tiroxina sobre la superficie de las NPs-Ag (Sustrato SERS) y se consideró solo la media esfera superior de las NPs.
2. Las moléculas de T4 pueden formar monocapas o multicapas, dependiendo de la concentración del compuesto.
3. Las moléculas de T4 están orientadas verticalmente sobre las NPs-Ag y cada molécula ocupa un área.
4. Las moléculas de T4 excitadas, son las que son iluminadas por el área del láser (spot de láser).
5. Se consideraron el número de partículas de Ag dentro del spot de láser (Figura 4.32).

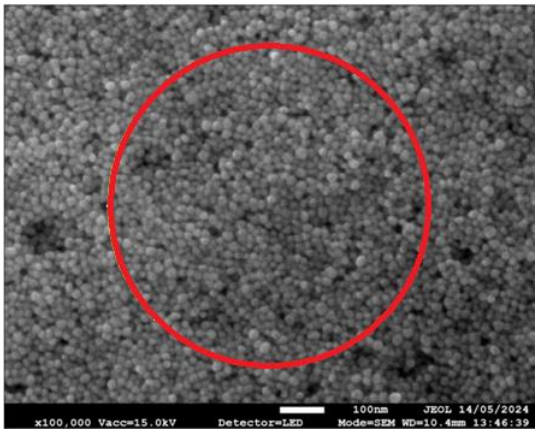


Figura 4.32. Micrografía SEM a un aumento de 100,000X del sustrato SERS de 500 µl de NPs-Ag.

Para calcular el área de las NPs en el spot de láser (538634.8 nm^2) se consideró el diámetro promedio de las NPs-Ag (18.1 nm) obtenido de la imagen SEM de la figura 4.2, también se consideró el área del hemisferio superior de las NPs-Ag (510.1 nm^2), el número de partículas de Ag en el spot de láser (1056)

Considerando el procedimiento para calcular N_{RAMAN} y el área de las NPs en el spot de láser se obtuvieron los resultados de N_{SERS} mostrados en la tabla 4.8.

Tabla 4.8. Datos utilizados para el calculó de N_{SERS}.

Concentración de T4	Concentración de T4 (Molar)	Número de Moles de T4	Número de moléculas de T4 (N_C)	Número de capas de moléculas (N_L)	Moléculas excitadas en el spot de láser (N_{SERS})
1 pM	$1.0x10^{-12}$	$5.0x10^{-17}$	$3.0x10^{7}$	$3.0x10^{-7}$	$1.4x10^{-1}$

1 nM	$1.0x10^{-9}$	$5.0x10^{-14}$	$3.0x10^{10}$	$3.0x10^{-4}$	$1.4x10^{2}$
1 µM	$1.0x10^{-6}$	$5.0x10^{-11}$	$3.0x10^{13}$	$3.0x10^{-1}$	$1.4x10^{5}$
1 mM	$1.0x10^{-13}$	$5.0x10^{-8}$	$3.0x10^{16}$	$3.0x10^{2}$	$1.4x10^{8}$

Con los resultados de I_{RAMAN}, I_{SERS}, N_{RAMAN} y N_{SERS} se determinó los EF Raman mostrados en la tabla 4.9.

Tabla 4.9. Factor de relace EF de la T4 a diferentes concentraciones con el sustrato SERS de las NPs-Ag (500 µL a una concentración de 14.8 ppm)

Concentración de T4	I_{RAMAN}	I_{SERS}	N_{RAMAN}	N_{SERS}	EF
1 pM	1	572	3.8	$1.4x10^{-1}$	$1.5x10^{4}$
1 nM	1	545	$3.8x10^{3}$	$1.4x10^{2}$	$1.5x10^{4}$
1 µM	1	719	$3.8x10^{6}$	$1.4x10^{5}$	$1.9x10^{4}$
1 mM	1	1151	$3.8x10^{9}$	$1.4x10^{8}$	$3.1x10^{4}$

De los resultados obtenidos en la tabla 4.12 se observa que los EF son relativamente pequeños a comparación con los reportados en la literatura; también se observa que a medida que aumenta la concentración de T4, el EF aumenta un orden de magnitud debido a que a la concentración de 1 mM se cubre mejor la superficie del sustrato SERS y hay mayor número de moléculas de T4 excitadas.

4.4.2 Sustratos SERS de NPs-$NiFe_2O_4$

En la figura 4.32 a) se presenta el espectro Raman de la Tiroxina a diferentes concentraciones depositada en la OB-Si en el rango de 100 a 175 cm^{-1}, en el cual solo se observa ruido, sin señales características de la Ferrita de Níquel, ya que las bandas de este compuesto aparecen a partir de 226 cm^{-1}

En la figura 4.33 a-d, se presentan los espectros Raman de la Tiroxina a concentraciones de 1 pM, 1 nM, 1 µM y 1 mM depositadas en los sustratos SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ en el rango de 100 a 175 cm^{-1}. En los espectros se observa la banda ubicada entre 108 a 115 cm^{-1} que corresponde a la vibración de alargamiento asimétrico del enlace (I-C) de la T4, la intensidad de esta banda aumenta conforme aumenta la concentración de T4.

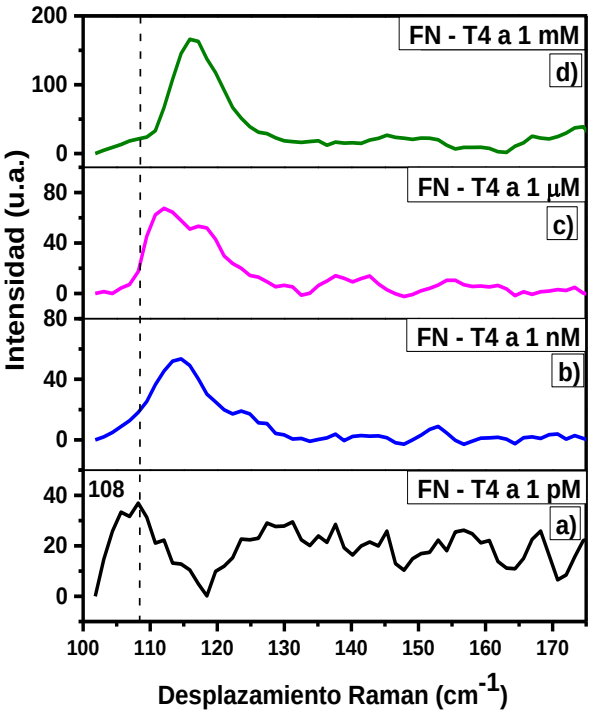


Figura 4.33. Espectros Raman de la Tiroxina a concentraciones de 1 pM (a), 1 nM (b), 1 µM (c) y 1 mM (d) depositadas en los sustratos SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$.

El desplazamiento de la banda ubicada en 108 cm^{-1} hasta 115 cm^{-1} podría deberse a la interacción de la T4 con las NPs-$NiFe_2O_4$, como se muestra en la figura 4.34. Como se mencionó en la sección 4.2, las NPs-$NiFe_2O_4$ presentan una capa de FeOOH por lo que la interacción de estas con la T4 es debida a que los oxígenos del grupo -OH de la T4 interaccionan con los hidrógenos de grupo -OH del FeOOH formando enlaces de puente de hidrógeno, quedando la molécula de T4 adsorbida verticalmente sobre la superficie de las $NiFe_2O_4$.

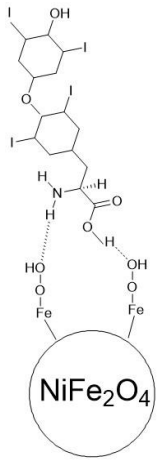


Figura 4.34. Interacción de las NPs-$NiFe_2O_4$ y la molécula de T4.

A partir de los espectros Raman de la T4 a diferentes concentraciones (Figura 4.33 a-d), se seleccionó la banda ubicada en 112 cm^{-1} para el cálculo del factor de realce (EF) dada por la ecuación 6.

Para el cálculo de N_{RAMAN} se tomaron las consideraciones descritas en la sección 4.4.1 y los resultados se muestran en la tabla 4.10.

Para el cálculo de N_{SERS} se consideró lo siguiente:

1. Las moléculas de tiroxina están depositadas homogéneamente sobre la superficie del sustrato SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ y se consideró solo la media esfera superior de las NPs.
2. Las moléculas de T4 pueden formar monocapas o multicapas, dependiendo de la concentración del compuesto.
3. Las moléculas de T4 están orientadas verticalmente sobre las NPs-$NiFe_2O_4$ y cada molécula ocupa un área de la base de 0.6746 nm^2.
4. Las moléculas de T4 excitadas, son las que son iluminadas por el área del láser (spot de láser).
5. Se consideraron el número de partículas de $NiFe_2O_4$ dentro del spot de láser (Figura 4.35).

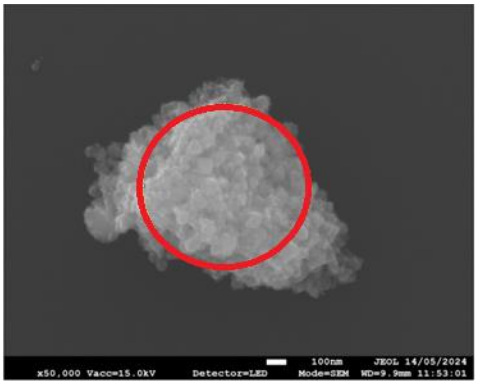


Figura 4.35. Micrografía SEM a 50,000X del sustrato SERS de NPs-$NiFe_2O_4$.

Para calcular el área de las NPs en el spot de láser (538634.8 nm^2) se consideró el diámetro promedio de las NPs-$NiFe_2O_4$ (62.1 nm) obtenido de la imagen SEM de la figura 4.14 c, también se consideró el área del hemisferio superior de las NPs-$NiFe_2O_4$ (6057.6 nm^2), el número de partículas de $NiFe_2O_4$ en el spot de láser (50 NPs). I_{RAMAN} e I_{SERS} son las intensidades de la T4 obtenidos de los espectros Raman (Figura 4.28 y 4.33) respectivamente.

Los resultados de I_{RAMAN}, I_{SERS}, N_{RAMAN} y N_{SERS} se presentan en la tabla 4.10 y a partir de estos se determinaron los EF de T4 con los sustratos SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$.

Tabla 4.10. Valores de I_{RAMAN}, I_{SERS}, N_{RAMAN}, N_{SERS} y Factor de relace (EF) con diferentes concentraciones de T4 utilizando el sustrato SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$

Concentración de T4	I_{RAMAN}	I_{SERS}	N_{RAMAN}	N_{SERS}	EF
1 pM	1	37	$2.8x10^{-1}$	$1.6x10^{-1}$	$7.5x10^{1}$
1 nM	1	53	$2.8x10^{2}$	$1.6x10^{2}$	$1.1x10^{2}$
1 µM	1	68	$2.8x10^{5}$	$1.6x10^{5}$	$1.4x10^{2}$
1 mM	1	165	$2.8x10^{8}$	$1.6x10^{8}$	$3.4x10^{2}$

Los resultados de la tabla 4.10 muestran que el EF aumenta ligeramente conforme se incrementa la concentración de T4, la cual fue de hasta dos órdenes de magnitud para concentraciones de 1 nM hasta 1 mM. Este resultado es debido a que, de acuerdo con la teoría descrita en el capítulo 1, el EF dado por mecanismo químico del semiconductor (NPs-$NiFe_2O_4$) es menor que el realce dado por el mecanismo electromagnético.

4.4.3 Sustratos SERS del composito Ag-$NiFe_2O_4$

En la figura 4.36 a-d, se presentan los espectros Raman de la Tiroxina a concentraciones de 1 pM, 1 nM, 1 µM y 1 mM depositadas en los sustratos SERS del composito Ag-$NiFe_2O_4$ en el rango de 100 a 175 cm^{-1} en el que se observa la banda característica de la tiroxina en 112 cm^{-1}.

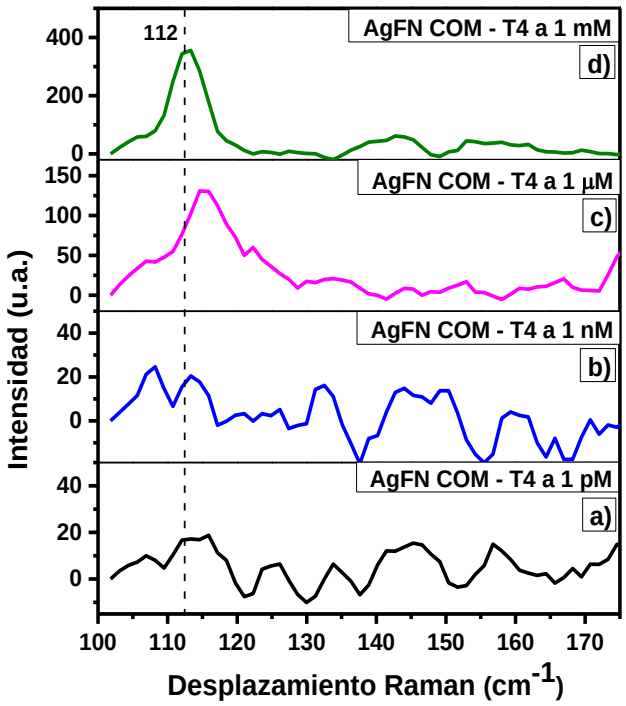


Figura 4.36. Espectros Raman de la Tiroxina a concentraciones de 1 pM (a), 1 nM (b), 1 µM (c) y 1 mM (d) depositadas en los sustratos SERS del composito Ag-$NiFe_2O_4$.

En la figura 4.37 se presenta la imagen que ilustra la interacción del composito Ag-$NiFe_2O_4$ con la T4. La interacción de las NPs-$NiFe_2O_4$ con las NPs-Ag es debida a los oxígenos del grupo -OH del FeOOH, situada en la superficie de las NPs-$NiFe_2O_4$ con los hidrógenos del grupo -OH del grupo quinona situada en la superficie de las NPs-Ag; la cual se da por enlaces de puente de hidrógeno. Como se discutió en la sección 4.3.2. las NPs-Ag están depositadas sobre la superficie de las NPs-$NiFe_2O_4$ por lo que la T4 interacciona con las NPs-Ag así como con las NPs-$NiFe_2O_4$, como se indicó anteriormente (Figura 4.34).

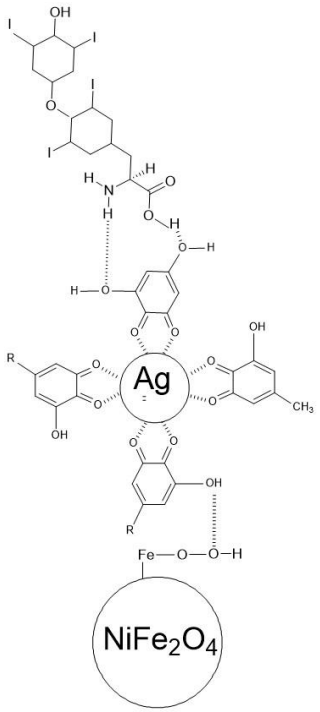


Figura 4.37. Interacción del composito Ag-$NiFe_2O_4$ y la molécula de la T4.

A partir de los espectros Raman de la T4 a diferentes concentraciones (Figura 4.35 a-d), se seleccionó la banda ubicada en 112 cm^{-1} para el cálculo del factor de realce (EF).

Para el cálculo de N_{RAMAN} se tomaron las consideraciones descritas en la sección 4.4.1 y se utilizó la ecuación 7 para el cálculo.

Para el cálculo de N_{SERS} se tomaron las consideraciones descritas en la sección 4.4.2. Se consideró el diámetro promedio (48.3 nm), también el área del hemisferio superior (3664.5 nm^2) y el número de NPs (67) situadas en el spot de láser. Estos valores fueron determinados a partir de la imagen SEM del composito Ag-$NiFe_2O_4$ mostrada en la figura 4.38.

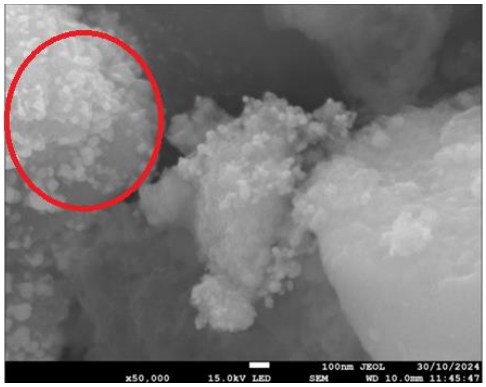


Figura 4.38. Micrografía SEM a 50,000X del sustrato SERS del composito Ag-$NiFe_2O_4$.

Los resultados de I_{RAMAN}, I_{SERS}, N_{RAMAN} y N_{SERS} se presentan en la tabla 4.11 y a partir de estos se determinaron los EF de T4 con los sustratos SERS del composito Ag-$NiFe_2O_4$.

Tabla 4.11. Valores de I_{RAMAN}, I_{SERS}, N_{RAMAN}, N_{SERS} y Factor de relace (EF) con diferentes concentraciones de T4 utilizando el sustrato SERS del composito Ag-$NiFe_2O_4$

Concentración de T4	I_{RAMAN}	I_{SERS}	N_{RAMAN}	N_{SERS}	EF
1 pM	1	16	7.5	$1.3x10^{-1}$	$9.3x10^{2}$
1 nM	1	20	$7.5x10^{3}$	$1.3x10^{2}$	$1.2x10^{3}$
1 µM	1	131	$7.5x10^{6}$	$1.3x10^{5}$	$7.6x10^{3}$
1 mM	1	356	$7.5x10^{9}$	$1.3x10^{8}$	$2.1x10^{4}$

De la tabla 4.11 se observa que, a medida que aumenta la concentración de T4, se incrementa el EF, desde 10^2 hasta 10^4 para las concentraciones de pM a mM.

Para una mejor discusión de los resultados en la tabla 4.12 y la figura 4.39 se presentan los EF de la T4 a diferentes concentraciones (1 pM, 1 nM, 1 µM y 1 mM) con los sustrato SERS de NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$.

En la figura 4.39 se observa que, a medida que aumenta la concentración de T4, aumenta el EF con los sustratos SERS de las NPs-Ag y el composito Ag-$NiFe_2O_4$, sin embargo, el EF con el sustrato SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ aumenta ligeramente. El sustrato SERS formado por las NPs-Ag presenta un mayor EF de la T4 (10^4) comparado con los EF utilizando el sustrato SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ (desde 10^1 hasta 10^2) y del composito Ag-$NiFe_2O_4$ (desde 10^2 hasta 10^4).

A bajas concentraciones (pM) el EF de la T4 del sustrato SERS de las NPs-Ag ($1.5x10^4$) es mayor que el EF del sustrato SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ ($7.5x10^1$) y del composito Ag-$NiFe_2O_4$ ($9.3x10^2$), mientras que, a altas concentraciones (mM) el EF de la T4 del sustrato SERS de las NPs-Ag ($3.1x10^4$) es similar al EF del sustrato SERS del composito Ag-$NiFe_2O_4$ ($2.1x10^4$) y estos valores son mayores que el EF de la T4 con el sustrato SERS de las NPs-$NiFe_2O_4$ ($3.4x10^2$).

Estos resultados son debidos probablemente a que el mecanismo electromagnético del metal noble (NPs-Ag) juega un papel más importante que el mecanismo químico. Otro factor que puede afectar en los resultados es la distribución no homogénea de NPs-Ag con las NPs-$NiFe_2O_4$ en el composito, por ello no se obtuvieron mejores resultados con este último sustrato SERS.

Tabla 4.12. Factor de Realce (EF) de la T4 a diferentes concentraciones con los sustratos SERS de NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$.

SUSTRATO SERS	Factor de realce (EF)			
	1 pM	1 nM	1 µM	1 mM
NPs-Ag	$1.5x10^4$	$1.5x10^4$	$1.9x10^4$	$3.1x10^4$
NPs-$NiFe_2O_4$	$7.5x10^1$	$1.1x10^2$	$1.4x10^2$	$3.4x10^2$
Composito Ag-$NiFe_2O_4$	$9.3x10^2$	$1.2x10^3$	$7.6x10^3$	$2.1x10^4$

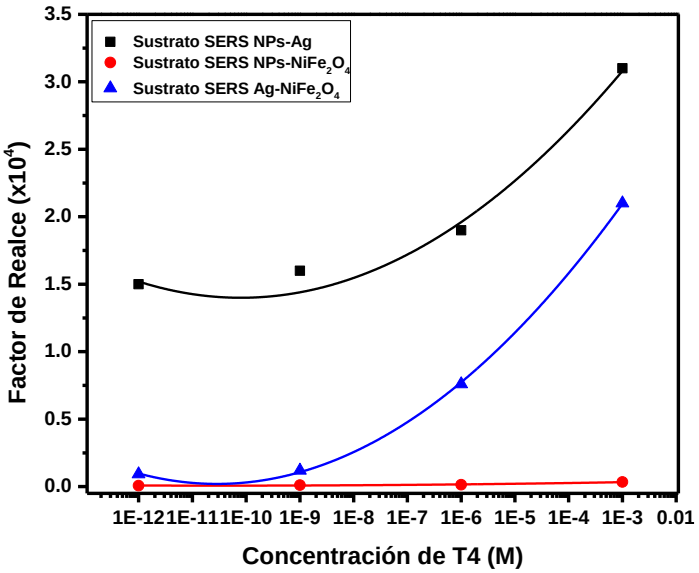


Figura 4.39. Gráfica del EF de la T4 a diferentes concentraciones con los sustratos SERS de NPs-Ag, NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$.

Con los resultados obtenidos se comprueba que los metales nobles (NPs-Ag), los semiconductores (NPs-$NiFe_2O_4$) y los compositos formados por metal noble-semiconductor (Ag-$NiFe_2O_4$) se pueden utilizar como sustratos SERS para cuantificar moléculas orgánicas (como la Tiroxina) a concentraciones muy bajas; sin embargo, los EF no fueron altos comparados con los resultados reportados en la literatura.

CONCLUSIONES

Las conclusiones de este trabajo son las siguientes:

1. Las NPs-Ag se obtuvieron mediante el método de reducción química; presentan una morfología esférica con un diámetro de partícula de 18.1 nm; una carga superficial negativa debida al ácido tánico, son estables y presentan una banda de absorción en 417 nm, la cual es asignada al plasmón de superficie. También presentan una estructura cúbica con un tamaño de cristalito de 12.2 nm y la concentración final de las NPs-Ag lavadas fue de 14.8 ppm.
2. Las NPs-$NiFe_2O_4$ se sintetizaron por el método hidrotermal y se trataron térmicamente a 300, 500 y 700°C. Estas presentan una morfología cuasi esférica, se encuentran aglomeradas y la estructura cristalina es cúbica centrada en las caras. A medida que aumenta la temperatura de tratamiento térmico, el tamaño de la partícula y el band gap no cambian significativamente, sin embargo, las muestra se oxida parcialmente y forman FeOOH, excepto la muestra tratada a 500°C la cual presenta menor oxidación y el band gap es de 1.69 eV.
3. El composito Ag-$NiFe_2O_4$ mostró una morfología esférica que corresponde a las NPs-Ag soportadas sobre las NPs-$NiFe_2O_4$ con un diámetro de 48.7 nm, pero su distribución sobre la superficie no es uniforme. Las propiedades estructurales no cambian significativamente con respecto a las NPs-Ag y NPs-$NiFe_2O_4$ individuales.
4. El EF de la T4 con las NPs-Ag presentan mejores EF comparados con las NPs-$NiFe_2O_4$ y similares a los EF con el composito Ag-$NiFe_2O_4$, sin embargo, en la literatura no se ha reportado el uso de las NPs-$NiFe_2O_4$ y el composito Ag-$NiFe_2O_4$ como sustrato SERS.
5. Las NPs-Ag y el composito Ag-$NiFe_2O_4$ podrían ser buenos sustratos SERS para la cuantificación de diversas moléculas orgánicas a muy bajas concentraciones.

TRABAJO A FUTURO

De acuerdo con los resultados obtenidos de los sustratos SERS se propone lo siguiente:

1. Sintetizar las NPs-$NiFe_2O_4$, evitando la oxidación de la superficie de estas, utilizando un gas inerte como el N_2 o el Argón, para evitar la interferencia del FeOOH en los estudios SERS y que haya una interacción directa entre las NPs-$NiFe_2O_4$ con la molécula orgánica (Tiroxina).
2. Sintetizar el composito variando la relación en masa de las NPs-Ag con las NPs-$NiFe_2O_4$. Aumentar el tiempo de sonicación para una distribución uniforme de las NPs-Ag sobre la superficie de las NPs-$NiFe_2O_4$, asegurando una mejor interacción del composito con la molécula orgánica y un mejor factor de realce.

ANEXOS

TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE

La espectroscopia UV-VIS se basa en el fenómeno de absorción de la luz, la cantidad de luz absorbida es directamente proporcional a la cantidad de analito presente en una solución de muestra. A medida que aumenta la concentración de analito, la absorción de luz también aumenta linealmente. En la región UV-VIS, la absorción de la radiación depende de la configuración electrónica de las especies absorbentes, como átomos, moléculas, iones o complejos. Un nivel de energía electrónica consta de varios niveles de energía vibracional, mientras que un nivel de energía vibracional consta de varios niveles de energía rotacional. Cuando un fotón interactúa con una molécula, puede inducir una transición en los niveles de energía electrónica si la energía proporcionada por el fotón coincide con la diferencia de energía en estos niveles. La cantidad de radiaciones absorbidas por el analito se mide y se representa gráficamente frente a la longitud de onda de la radiación electromagnética para obtener el espectro. Así, un espectro UV-VIS típico es un trazado de la longitud de onda o frecuencia frente a la intensidad de absorción.

En una molécula, los electrones están asociados a más de un núcleo y participan en la formación de enlaces entre los distintos átomos. Estos electrones de enlace son susceptibles de transiciones en varios niveles de energía bajo la provocación de radiaciones apropiadas.

Transiciones electrónicas

La absorción de niveles de energía electrónica (radiaciones UV-VIS) de una molécula orgánica está asociada a la excitación de los electrones de valencia, desde el estado básico al estado excitado (Figura 1). Tras la absorción de energía, las transiciones electrónicas se producen generalmente desde el estado excitado que contiene el orbital molecular más alto (este fenómeno se conoce como antibonding). La longitud de onda de la radiación absorbida depende de la diferencia de energía entre el orbital (E2) que ocupa originalmente el electrón (estado básico) y el orbital al que es promovido (E1) [80].

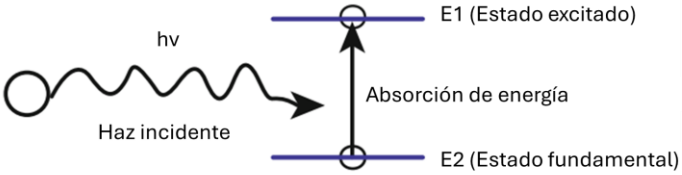


Figura 1. Representación esquemática de los niveles de energía electrónica [76].

MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

El SEM es un instrumento avanzado y versátil que se emplea en gran medida para observar los fenómenos superficiales de los materiales. La muestra se dispara en un SEM utilizando electrones de alta energía y se analizan los electrones/rayos X salientes. Estos electrones/rayos X salientes proporcionan información sobre la topografía, morfología, composición, orientación de los granos, información cristalográfica, etc. de un material. La morfología indica la forma y el tamaño, mientras que la topografía indica las características de la superficie de un objeto o «su aspecto», su textura, suavidad o rugosidad. Asimismo, por composición se entienden los elementos y compuestos que constituyen el material, mientras que por cristalografía se entiende la disposición de los átomos en los materiales. El SEM es el principal aparato capaz de obtener una imagen visual detallada de una partícula con una alta calidad y una resolución espacial de 1 nm. Los aumentos de este tipo de aparato pueden llegar hasta 300.000 veces. El SEM puede utilizarse para caracterizar las características cristalográficas, magnéticas y eléctricas de la muestra y para determinar si se ha producido algún cambio morfológico de la partícula tras modificar la superficie de la muestra con otras moléculas. El SEM es capaz de proporcionar diversa información cualitativa de la muestra [81].

Principios de funcionamiento del SEM

La fuente de electrones forma un haz de electrones que se acelera hacia la muestra mediante un potencial eléctrico positivo. El haz de electrones se confina y enfoca mediante aberturas metálicas y lentes magnéticas en un haz fino, enfocado y monocromático. Los electrones del haz interactúan con los átomos de la muestra, produciendo señales que contienen información sobre la topografía de su superficie, su composición y otras propiedades eléctricas. Estas interacciones y efectos se detectan y transforman en una imagen.

Interacción del haz de electrones con la muestra

Cuando el haz de electrones primario interactúa con la muestra, los electrones pierden energía por dispersión aleatoria repetida y absorción dentro de un volumen en forma de lágrima de la muestra conocido como volumen de interacción, que se extiende desde menos de 100 nm hasta aproximadamente 10 µm dentro de la muestra. El tamaño del volumen de interacción depende de la energía de aterrizaje del electrón, del número atómico de la muestra y de su densidad. El intercambio de energía entre el haz de electrones y la muestra da lugar a la reflexión de electrones retrodispersados de alta energía por dispersión elástica, la emisión de electrones secundarios de baja energía por dispersión inelástica y la emisión de radiación electromagnética (rayos X y catodoluminiscencia), cada una de las cuales puede ser detectada por los detectores respectivos. La corriente del haz absorbida por la muestra también puede detectarse y utilizarse para crear imágenes de la distribución de la corriente de la muestra. Para amplificar las señales se utilizan amplificadores electrónicos de varios tipos, y los detectores electrónicos convierten las señales en imágenes digitales que se muestran en un monitor de ordenador (Figura 2) [81].

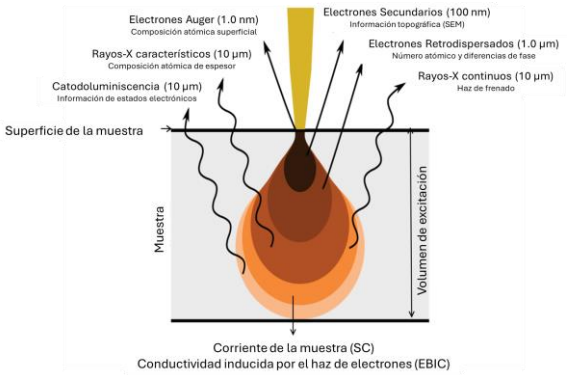


Figura 2. Haz de electrones incidentes [82].

ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X POR DISPERSIÓN DE ENERGÍA (EDS)

La emisión de rayos X es un fenómeno producido por la excitación de la capa interna con electrones incidentes y se inicia con la expulsión de un electrón de la capa interna para formar una vacante. Desde este estado excitado, un electrón de la capa superior cae en la vacante de la capa interna. Se genera un rayo X con una energía igual a la diferencia entre las energías de la capa de electrones. Los rayos X se generan en la mayor parte del volumen de interacción del haz de electrones con la muestra (Figura 3) [83].

.

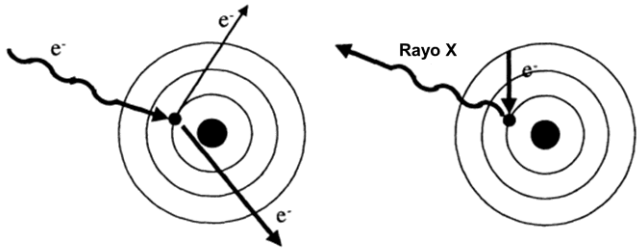


Figura 3. Generación de rayos X: Generación de la vacante de nivel energético interno (izquierda) y llenado de la vacante de un nivel superior con generación de rayos X (derecha) [83].

Dado que hay muchos electrones en los diferentes niveles de energías, se pueden inducir diversas ionizaciones en el átomo, que pueden ir seguidas de diferentes formas de rellenar la vacante creada. Esto significa que obtenemos diversas emisiones de rayos X de un átomo (Figura 4). Existen dos formas de denominar las transiciones electrónicas: aunque la IUPAC recomienda especificar los niveles electrónicos implicados en la emisión de rayos X, la forma más común de expresar las distintas emisiones es la nomenclatura no sistemática de Siegbahn. Al descender un electrón de la capa L a la capa K para llenar el hueco que allí había, dejará su propio hueco que también tiene que ser llenado por algún electrón situado en una capa superior, preferentemente el de la capa superior inmediata que viene siendo la capa M. Esta transición de la capa M a la capa L produce su propia línea característica en el espectro de rayos-X, la línea designada como L_{α}. Y si el electrón que llenará el hueco en la capa L procede no de la capa M sino de la capa N, entonces se producirá la línea característica designada como L_{β}. De este modo, se van generando las líneas características del espectro de rayos-X que corresponde al descenso de un electrón de una capa superior a la capa del átomo que corresponde a su estado basal [84].

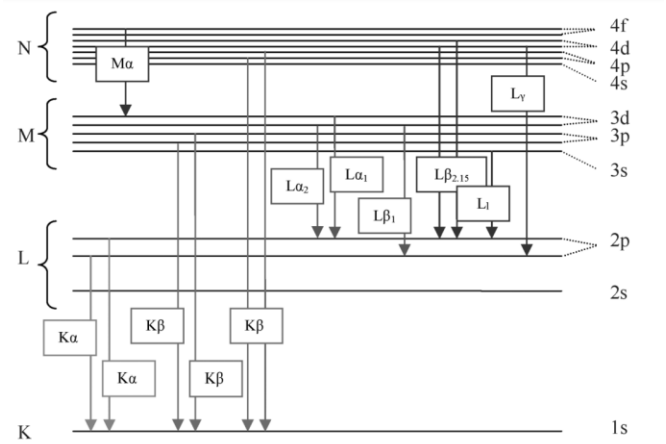


Figura 4. Nombres de las emisiones de rayos X según los niveles electrónicos implicados [84].

DIFRACCIÓN DE RAYOS-X (DRX)

La difracción de rayos X se basa en la interferencia constructiva de rayos X monocromáticos y una muestra cristalina. Estos rayos X son generados por un tubo de rayos catódicos, filtrados para producir radiación monocromática, colimados para concentrarlos y dirigidos hacia la muestra (Figura 5). La interacción de los rayos incidentes con la muestra produce interferencia constructiva (y un rayo difractado) cuando las condiciones satisfacen la ley de Bragg [85]:

$$n\lambda = 2d sin\theta$$

Donde:

n es un número entero

λ es la longitud de onda de los rayos X

d es la separación interplanar que genera la difracción

θ es el ángulo de difracción

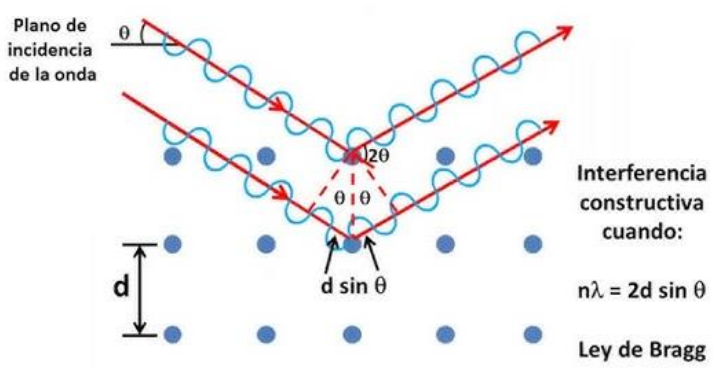


Figura 5. interacción de los rayos incidentes con la muestra [85].

Esta ley relaciona la longitud de onda de la radiación electromagnética con el ángulo de difracción y la separación de la red en una muestra cristalina. Estos rayos X difractados se detectan, procesan y cuentan. Al escanear la muestra a través de un rango de ángulos 2θ, todas las posibles direcciones de difracción de la red deberían alcanzarse debido a la orientación aleatoria del material en polvo. La conversión de los picos de difracción en espaciamientos d permite la identificación del compuesto, ya que cada compuesto tiene un conjunto de espaciamientos d únicos. Normalmente, esto se consigue comparando los espaciamientos d con patrones de referencia estándar [85].

DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ (DLS)

La técnica de dispersión de luz dinámica permite determinar el tamaño de partículas en suspensión hasta rangos del orden de los nanómetros, el uso del movimiento Browniano de las partículas en suspensión permite alcanzar estos límites de sensibilidad, adicionalmente este método no altera de ninguna manera la matriz de estudio debido a que es una técnica no destructiva [86].

El principio básico de la dispersión dinámica de la luz (DLS) consiste en la medición resuelta en el tiempo de la luz coherente dispersada por objetos dispersantes, como grandes moléculas o partículas finas. Las señales de medición se evalúan con respecto a sus fluctuaciones, que pueden tener varios orígenes. La DLS se ocupa de esas fluctuaciones, causadas por el movimiento térmico de los objetos dispersores y que se producen en escalas de tiempo bastante pequeñas (microsegundos e incluso nanosegundos). La aplicación más frecuente de la DLS es el análisis del tamaño de partículas en el rango submicrométrico. Aprovecha el movimiento browniano de las partículas, que provoca una reorganización espacial permanente que afecta a la interferencia de las señales de dispersión individuales y, en consecuencia, da lugar a una señal fluctuante en el detector.

La atribución de las fluctuaciones de la señal al movimiento browniano presupone la insignificancia de otros micro procesos, que coinciden con un desplazamiento de las partículas o afectan en general a la configuración espacial, como la sedimentación o la aglomeración, o que reducen la coherencia de la señal luminosa, como la dispersión múltiple. Esto restringe la aplicación de la DLS al análisis granulométrico a suspensiones o emulsiones diluidas y bien estabilizadas de partículas muy finas ($\ll$10 µm) [87].

POTENCIAL ZETA (ZP)

Es una medida de la estabilidad de una partícula e indica el potencial que se requiere para penetrar la capa de iones circundante en la partícula para desestabilizarla. Por lo tanto, el potencial zeta es la potencia electrostática que existe entre la separación de las capas que rodean a la partícula [88].

El Potencial Zeta (ZP) es el potencial en el plano de deslizamiento/cizallamiento de una partícula coloide que se mueve bajo un campo eléctrico. El potencial eléctrico de una superficie es la cantidad de trabajo que hay que realizar para llevar una carga positiva unitaria desde el infinito hasta la superficie sin ninguna aceleración. El ZP refleja la diferencia de potencial entre la EDL (doble capa eléctrica) de partículas electroforéticamente móviles y la capa de dispersante que las rodea en el plano de deslizamiento. 3.1.1. Cuando se dispersa una partícula cargada, se desarrolla en su superficie una doble capa adsorbida, a menudo denominada EDL (Figura 6). La capa interna está formada predominantemente por iones/moléculas con carga opuesta a la de la partícula (capa de Stern). Más allá de la capa de Stern, los efectos electrostáticos debidos a la carga superficial de las partículas disminuyen según la ley de Debye, que establece que con la distancia de cada longitud de Debye el campo disminuye en un factor de 1/e. Aunque matemáticamente este efecto electrostático se extiende hasta el infinito, experimentalmente sólo está presente hasta unos pocos nm de la superficie de la partícula. Debido al campo electrostático de las NPs cargadas, una capa difusa consistente en iones/moléculas con carga igual y opuesta crece más allá de la capa de Stern que junto con la capa de Stern forma la EDL. La composición de esta capa difusa es dinámica y varía en función de diversos factores, como el pH, la fuerza iónica, la concentración, etc. Cuando se aplica un campo eléctrico a dicha dispersión, las partículas cargadas se desplazan hacia el electrodo opuesto (electroforesis). Dentro de esta capa difusa existe un plano hipotético que actúa como interfaz entre las partículas en movimiento y la capa de dispersante que la rodea durante la electroforesis. Este plano es el plano de deslizamiento/cizallamiento característico y ZP es el potencial en esta interfase partícula-fluido [88].

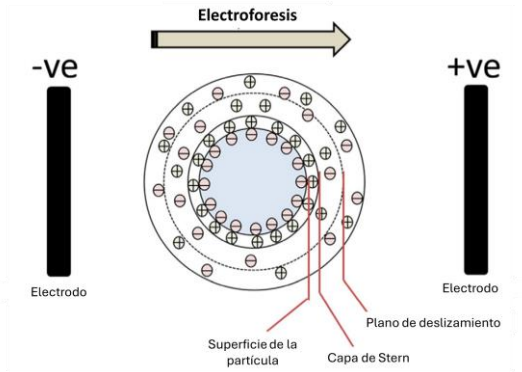


Figura 6. EDL en una partícula cargada negativamente. Ilustrando la capa de Stern y el plano de deslizamiento. [88].

ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

La espectroscopia infrarroja sondea las vibraciones moleculares. Los grupos funcionales pueden asociarse a bandas de absorción infrarroja características, que corresponden a las vibraciones fundamentales de los grupos funcionales. Un modo normal de vibración es infrarrojo activo (es decir, absorbe la luz infrarroja incidente) si hay un cambio en el momento dipolar de la molécula durante el curso de la vibración. Así pues, las vibraciones simétricas no suelen detectarse en infrarrojos. En particular, cuando una molécula tiene un centro de simetría, todas las vibraciones que son simétricas con respecto al centro son inactivas en infrarrojos. En cambio, se detectan las vibraciones asimétricas de todas las moléculas. Esta falta de selectividad permite sondear las propiedades de casi todos los grupos químicos de una muestra y, en particular, de los aminoácidos y las moléculas de agua, que apenas pueden observarse con otras técnicas espectroscópicas. Se observan fuertes absorciones IR para grupos con un dipolo permanente (es decir, para enlaces polares) [89].

ESPECTROSCOPÍA RAMAN

La espectroscopia Raman, fue observada experimentalmente por primera vez por Raman y Krishnan en 1928. Se especializa en medir el desplazamiento de frecuencia de la luz dispersada inelásticamente de los materiales cuando los fotones de luz incidentes inciden en una molécula y producen un fotón dispersado. La diferencia de frecuencia entre la luz incidente y la dispersa proporciona información sobre las vibraciones de la red [90].

La espectroscopia Raman se basa en un fenómeno de dispersión inelástica de la luz para detectar un analito a través de las vibraciones de los enlaces moleculares. Cuando una muestra se expone a la luz láser, se dispersa un pequeño número de fotones. La mayor parte de la dispersión es

luz dispersada elásticamente (es decir, dispersión de Rayleigh) que tiene la misma frecuencia que la luz incidente. Aproximadamente 1 de cada 10^6-10^8 fotones se dispersan de forma inelástica (es decir, dispersión Raman), lo que da lugar a cambios de frecuencia (es decir, desplazamientos Raman) entre los fotones incidentes y los dispersados a medida que se transfiere energía entre el fotón y la molécula. En este caso, o bien se gana energía del fotón de luz incidente transfiriendo energía de las moléculas a los fotones (dispersión Raman anti-Stokes), o bien se pierde energía del fotón de luz incidente transfiriendo energía de los fotones a las moléculas (dispersión Raman Stokes)

Los espectros Raman se obtienen a partir de los desplazamientos Raman detectados. Cada pico Raman del espectro es característico de un enlace molecular específico, lo que permite la identificación molecular de un analito mediante la generación de una huella dactilar vibracional específica [91].

ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La técnica de espectrometría de absorción atómica consiste en dirigir un haz luminoso a través de una llama hacia un monocromador y sobre un detector que mide la cantidad de luz absorbida por el elemento atomizado en la llama. Dado que cada metal tiene su propia longitud de onda y por ende absorción característica, se utiliza como fuente luminosa una lámpara de cátodo hueco compuesta de dicho elemento; esto proporciona un método relativamente libre de interferencias espectrales o de radiación. La cantidad de energía absorbida en la llama a una longitud de onda característica es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, en un intervalo de concentraciones limitado.

El espectrómetro de absorción atómica consiste en una fuente luminosa que emite el espectro de líneas de un elemento (lámpara de cátodo hueco), un dispositivo para vaporizar la muestra (normalmente una llama), medio de aislamiento de la línea de absorción (monocromador o filtro y rejilla ajustable) y un detector fotoeléctrico (tubo multiplicador) con su equipo electrónico de amplificación y medida asociado.

Absorción atómica de llama

La mayor parte de los espectrómetros de llama utilizan un mechero de premezcla, caracterizado porque el combustible, el oxidante y la muestra se mezclan antes de introducirlos en la

llama. La disolución de la muestra se introduce con un nebulizador neumático haciendo pasar un flujo del oxidante (normalmente, aire) por el extremo de un capilar, por el que se aspira la muestra. El líquido se rompe en una fina niebla de gotas a medida que sale del capilar. El nebulizado se proyecta a gran velocidad contra una bola de vidrio (esfera de impacto), donde las gotas se rompen en partículas aún más pequeñas. La formación de estas gotas se llama nebulización. La suspensión de partículas líquidas (o sólidas) en un gas se llama aerosol. La finalidad del nebulizador es transformar la muestra líquida en un aerosol. La niebla formada, el oxidante y el combustible chocan con pantallas impelente, que aumentan el grado de mezcla y retienen las gotas más gruesas. El exceso de líquido se va recogiendo en el fondo de la cámara de nebulización y se elimina por drenaje. La combinación más frecuente de combustible-oxidante es acetileno y aire, que produce una llama con una temperatura de 2400-2700 ° K. Cuando se necesita generar mayor energía de ionización para atomizar elementos de alto punto de ebullición, se usa acetileno y óxido nitroso (>3000°K). La llama consta de una región de precalentamiento, por donde penetra el gas procedente de la cabeza del mechero y que se calienta por conducción y radiación de la zona primaria de reacción (el cono azul de la llama). La combustión se completa en el cono exterior, donde llega aire arrastrado hacia la llama. Las gotas que llegan a la llama se evaporan; entonces el sólido que queda se vaporiza y se descompone en átomos. Muchos elementos forman óxidos e hidróxidos a medida que ascienden por el cono exterior. Las moléculas no tienen el mismo espectro que los átomos, de modo que la señal atómica disminuye. Si la llama es relativamente rica en combustible, el carbón en exceso tiende a reducir los óxidos e hidróxidos metálicos y por tanto aumenta la sensibilidad. Una llama pobre, es decir, con exceso de oxidante, es más caliente. Para determinar un elemento en su forma óptima se precisa una llama determinada, rica o pobre, según los casos, a dicha relación entre el oxidante y el reductor se le denomina “estequiometria de la llama” y la optimización de esta es fundamental para un buen análisis. La altura en la llama en la cual se observa la máxima emisión o absorción atómica depende del elemento que se mida y de los caudales de muestra, combustible y oxidante [92].

BIBLIOGRAFÍA

[1] Nadeem, N., Zahid, M., Tabasum, A., Mansha, A., Jilani, A., Bhatti, I. and Bhatti, H. Degradation of reactive dye using heterogeneous photo-Fenton catalysts: $ZnFe_2O_4$ and GO-$ZnFe_2O_4$ composite. Mater. Res. Express. 7 (1), 2020.

[2] Mushtaq, F., Zahid, M., Mansha, A., Bhatti, I., Mustafa, G., Nasir, S. and Yaseen, M. $MnFe_2O_4$/coal fly ash nanocomposite: a novel sunlight-active magnetic photocatalyst for dye degradation. Int. J. Environ. Sci. Technol. 17:4233–4248, 2020.

[3] Tabasum, A., Bhatti, I.A., Nadeem, N., Zahid, M., Rehan, Z.A., Hussain, T. and Jilani, A. Degradation of acetamiprid using graphene-oxide-based metal (Mn and Ni) ferrites as Fenton-like photocatalysts. Water Sci. Technol. 81 (1):178–189, 2020.

[4] Jaime-Urbina, J.; Vera-Solano, J. Los contaminantes emergentes de las aguas residuales de la industria farmacéutica y su tratamiento por medio de la ozonización. Informador Técnico, 84(2):249-263, 2020. https://doi.org/10.23850/22565035.2305

[5] Ma, W., Lian, J., Rene, E., Zhang, P. and Liu, X. Enhanced thyroxine removal from micro-polluted drinking water resources in a bio-electrochemical reactor amended with TiO_2@GAC particles: Efficiency, mechanism and energy consumption. Environmental Research. 237(2), 2023.

[6] Zahid, M., Nadeem, N., Hanif, M., Bhatti, I., Bhatti, H. and Mustafa, G. Metal Ferrites and their Graphene-Based Nanocomposites: Synthesis, Characterization, and Applications in Wastewater Treatment. In: Magnetic Nanostructures. Springer, 1:181–212, 2019.

[7] Talero-Pérez, V., Medina, O. y Rozo-Núñez, W. Técnicas analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y cloranfenicol. Universitas Scientiarum, 19(1): 11-28, 2014.

[8] Li, J., Zhang, Y., Ding, S., Panneerselvam, R. and Tian, Z. Core-shell nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy, Chem. Rev. 117:5002-5069, 2017.

[9] Barbillon, G. Latest Novelties on Plasmonic and Non-Plasmonic Nanomaterials for SERS Sensing Nanomaterials, 10:1200, 2010. https://doi.org/10.3390/nano10061200.

[10] Peng, J., Song, Y., Lin, Y., and Huang, Z. Introduction and Development of Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Substrates: A Review. Nanomaterials, 14:1648, 2024.

[11] Yang, L., Yang, Y., Ma, Y., Li, S., Wei, Y., Huang, Z., and Long, N. Fabrication of Semiconductor ZnO Nanostructures for Versatile SERS Application, Nanomaterials, 7, 398, 2017.

[12] Wu, H., Wang, H., and Li, G. Metal oxide semiconductor SERS-active substrates by defect engineering, Analyst, 142, 326–335, 2017.

[13] Limaye, M., Pramanik, M., Singh, S., Paik, G. and Singh, P. Application of Delafossite $AgFeO_2$ Nanoparticles as SERS Substrate and Antimicrobial Agent. Biological Chemistry & Chemical Biology, 6: 2678–2686, 2021.

[14] Bian, L., Liu, Y., Zhu, G., Yan, C., Zhang, J. and Yuan, A. Ag@$CoFe_2O_4$/Fe_2O_3 nanorod arrays on carbon fiber cloth as SERS substrate and photo-Fenton catalyst for detection and degradation of R6G, Ceramics International, 44(7): 7580-7587, 2018. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.01.172

[15] Kamal, S., Chowdhury, A. and Yang, T. Ultrasensitive SERS detection of Rhodamine 6G using a silver enriched MOF-derived $CuFe_2O_4$ microcubes substrate. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 270, 2022.

[16] Zhang, D., Pu, X., Du, K., Moon Y., Jeong Shim, J., Cai, P., Kim, S. and Jin Seo, H. Combustion synthesis of magnetic Ag/$NiFe_2O_4$ composites with enhanced visible-light photocatalytic properties. Technology 137:82–85, 2014.

[17] Rena, A., Malik, V., Haji, G. and Mammad, I. Synthesis of silver nanoparticles based on the sol-gel process and their characteristics. Chemical Sciences, 2022.

[18] Chen, W. Silver nanoclusters: size-controlled synthesis and size-dependent properties. Nanotechnology science and technology: silver nanoparticles synthesis, uses and health concerns, 16-34, 2013.

[19] Stamplecoskie, K., and Scaiano, J. Optimal Size of Silver Nanoparticles for Surface-Enhanced RamanSpectroscopy. The Journal of Physical Chemistry, 115:1403–1409, 2011. https://doi.org/10.1021/jp106666t

[20] Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. and Zolfaghari, B. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. Research in Pharmaceutical Sciences, 9(6): 385-406, 2014.

[21] Ducca, R., Leyva, M., Nakagomi, F., Neto, E., Dos Santos, I., Marques, P. and Oliveira, A. Antimicrobial properties of silver/graphene oxide nanocomposite prepared by redox chemical reaction. El Seiver, 2024. http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4978491

[22] Monge, M. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. Real Sociedad Española de Química, 105(1):33−41, 2009.

[23] Patela, K., Bharatiya, B., Mukherjee, T., Soni, T., Shukla, A. and Suhagia, B. Role of stabilizing agents in the formation of stable silver nanoparticles in aqueoussolution: Characterization and stability study. Journal of dispersion science and technology, 38 (5):626–63, 2017.

[24] De Barros, E., Vaughn, N. Aparecido, F. and Odone, I. Silver nanoparticles: green synthesis, selfassembled nanostructures and their application as SERS substrates. New J. Chem., 39:2839-2846, 2015.

[25] Li, B., Liu, S., Huang, L., Jin, M. and Wang, J. Nanohybrid SERS substrates intended for food supply chain safety, Coordination Chemistry Reviews, 494, 2023.

[26] Praveena, M. and Mohammed, E. Tailoring the structural, morphological, optical, cytotoxicity, and antibacterial properties of low temperature calcined nickel ferrite nanoparticles. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 100:496–505, 2021. https://doi.org/10.1007/s10971-021-05660-5

[27] Ortiz-Quinonez, J., Das, S. and Pal, U. Catalytic and pseudocapacitive energy storage performance of metal (Co, Ni, Cu and Mn) ferrite nanostructures and nanocomposites. *Progress in Materials Science*, 13, 2022.

[28] Patil, D., Patil, D., Jadhav, A., Jadhav, S., Kadam, A., Dandwate, S., Shinde, B. Spinel nickel ferrite (NiFe2O4) materials synthesized via spray-pyrolysis for electrochemical supercapacitor application. Discover Electrochemistry, 1(2), 2024. https://doi.org/10.1007/s44373-024-00003-9

[29] Ahmad, U., Afzia, M., Shah, F., Ismail, B., Rahim, A., Khan, R. Improved magnetic and electrical properties of transition metal doped nickel spinel ferrite nanoparticles for prospective applications. Materials Science in Semiconductor Processing, 148, 2022.

[30] Majid, F., Rauf, J., Ata, S., Bibi, I., Malik, A., Ibrahim, S., Ali, A., Iqbal, M. Synthesis and characterization of $NiFe_2O_4$ ferrite: Sol–gel and hydrothermal synthesis routes effect on magnetic, structural and dielectric characteristics. Materials Chemistry and Physics, 258, 2021.

[31] Arumughama, N., Mariappana, A., Eswarana, J., Daniel, S., Kanthapazhamd, R., Kathirvel, P. Nickel ferrite-based composites and its photocatalytic application–A review. Journal of Hazardous Materials Advances, 8, 2022.

[32] Galindo González, M. Síntesis y caracterización de ferrita de níquel y su aplicación como material de electrodo. Tesis doctoral. Universidad de Guanajuato y Universidad Autónoma De Madrid. Madrid, España, 2013.

[33] Dippong, T., Levei, E. and Cadar, O. Recent Advances in Synthesis and Applications of MFe_2O_4 (M = Co, Cu, Mn, Ni, Zn) Nanoparticles. Nanomaterials, 11:1560, 2021.

[34] Ali Khoso, W., Haleem, N., Anwar Baig, M. and Jamal, Y. Synthesis, characterization and heavy metal removal efficiency of nickel ferrite nanoparticles (NFN's). *Scientific Reports*, 11:3790, 2021.

[35] Kocan, F. Preparation and Magnetic Properties of $NiFe_2O_4$ Plate Nanoparticles. The Minerals, Metals & Materials Society, 73(12), 2021.

[36] Zhang, Z., Liu, Y., Yao, G., Zu,G. and Hao, Y. Synthesis and Characterization of $NiFe_2O_4$ Nanoparticles via Solid-State Reaction. Int. J. Appl. Ceram. Technol., 10 (1): 142–149, 2013.

[37] Cheng, Y., Zheng, Y., Wang, Y., Bao, F. and Qin, Y. Synthesis and magnetic properties of nickel ferrite nano-octahedra. Journal of Solid-State Chemistry, 178(7): 2394-2397, 2005.

[38] Liu, Q., Huang, H., Lai, L., Sun, J., Shang, T., Zhou, Q. and Xu. Hydrothermal synthesis and magnetic properties of $NiFe_2O_4$ nanoparticles and nanorods. J Mater Sci, 44:1187–1191, 2009.

[39] Rák, Z. and Brenner, D. Negative Surface Energies of Nickel Ferrite Nanoparticles under Hydrothermal Conditions. Journal of Nanomaterials, 2019.

[40] Chen, D., Chen, D., Jiao, X., Zhao, Y. and He, M. Hydrothermal synthesis and characterization of octahedral nickel ferrite particles. Powder Technology, 133: 247-250, 2003.

[41] Patar, S., Mittal, R., Yasmin, F., Kmar, B. and Jyoti, L. Photocatalytic degradation of antibiotics by N-doped carbon nanoflakes-nickel ferrite composite derived from algal biomass. Chemosphere, 363, 2024. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142908

[42] Joshi, S., Kumar, M., Chhoker, S., Srivastava, G., Jewariya, M. and Singh, V. Structural, magnetic, dielectric and optical properties of nickel ferrite nanoparticles synthesized by co-precipitation method. Journal of Molecular Structure 1076:55–62, 2014.

[43] Joshi, H. and Dixit, G. Investigation of structural, optical, electrical and magneticproperties of magnetoelectric composite of $NiFe_2O_4$ and $YMnO_3$. Ferroelectrics, 618(4):1044–1061, 2024. https://doi.org/10.1080/00150193.2023.2300614

[44] Yang, B., Jin, S., Guo, S., Park, Y., Chen, L., Zhao, B. and Jung, Y. Recent Development of SERS Technology: Semiconductor-Based Study. ACS Omega, 4: 20101−20108, 2019. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05371

[45] Hsissou, R., Seghiri, R., Benzekri, Z., Hilali, M., Rafik, M. and Elharf, A. Polymer composite materials: A comprehensive review. Composite Structures, 262, 2021. https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.113640

[46] Demirel, G., Usta, H., Yilmaz, M., Celik, M., Alidagibe, H. and Buyukserin, F. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): an adventure from plasmonic metals to organic semiconductors as SERS platforms. Journal of Materials Chemistry C, 6, 5314, 2018.

[47] Youden, B., Yang, D., Carrier, A., Oakes, K., Servos, M., Jiang, R., and Zhang, X. Speciation Analysis of Metals and Metalloids by Surface EnhancedRaman Spectroscopy. Environmental Science & Technology, 2024. https://doi.org/10.1021/acs.est.4c06906

[48] De León Portilla, P., González Ronquillo, A. y Sánchez Mora, E. Estudio de compositos SiO_2–Au y SiO_2–Ag como substratos SERS de Glucosa y Tiroxina. Tesis Doctoral. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México, 2022.

[49] Petersen, M. Yu, Z., and Lu, X. Application of Raman Spectroscopic Methods in Food Safety: A Review. Biosensors, 11, 187, 2021. https://doi.org/10.3390/bios11060187

[50] Wu, Y., Chen, X., Liu, L., Jiang, S., Xia, L., Li, D., Wu, G., Sun, Z., Zhang, Z., and Li, Y. Low-Temperature Substrate: Detection of Viruses on Cold Chain Food Packaging Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. ACS Materials Lett., 6: 4649-4657, 2024

[51] Wang, B., Han, Y., Zhang, L., Chen, Z., Zhang, W., Ren, M., Shid, J., Xue, X. and Yang, Y. Surface-enhanced Raman scattering based on noble metal nanoassemblies fordetecting harmful substances in food. taylor & Francis Group, llC, 2024. https://doi.org/10.1080/10408398.2024.2413656

[52] Dratman, M. and Martin, J. The many faces of thyroxine. Neuroscience, 7(1): 17–29, 2020.

[53] Katrusiak, A. and Katrusiak, A. Thyroxine Revisited. Journal of Pharmaceutical Sciences, 93(12), 2004.

[54] Sandler, B., Webb, P., Apriletti, J., Huber, R., Togashi, M., Cunha-Lima, S., Juric, S., Nilsson, S., Wagner, R., Fletterick, R. and Baxter, J. Thyroxine-Thyroid Hormone Receptor Interactions. The journal of biological chemistry, 279 (53): 55801–55808, 2004.

[55] Hyun, Y., Hanool, Y. and Hee, J. Establishment of a Quenchbody-based L-thyroxine detection method and its comparison with ELISA systems. Analytical and Bioanalytical Chemistry, Springer Nature, 2024. https://doi.org/10.1007/s00216-024-05558-5

[56] Liu, Q., Ni, Y., Yin, G., Hong, J. and Xu, Z. High yield synthesis of PbS nanocubes using one-step solid-state reaction in the presence of an anionic surfactant. Materials Chemistry and Physics, 89(2-3):379–382, 2005. https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2004.09.017

[57] Hosseinpour, M. and Ramezani, M. Silver and silver oxide nanoparticles: Synthesis and characterization by thermal decomposition. Materials Letters 130: 259–262, 2014.

[58] Monshi, A., Foroughi, M. and Monshi, M. Modified Scherrer Equation to Estimate More Accurately Nano-Crystallite Size Using XRD. World Journal of Nano Science and Engineering, 2:154-160, 2012.

[59] Aparicio, M. y Carbajal, G. Utilidad de la Difracción de Rayos Xen las nanociencias. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología, 3(2), 2021.

[60] Gangwar, C., Yaseen, B., Kumar, I., Singh, N. and Naik, R. Growth Kinetic Study of Tannic Acid Mediated Monodispersed Silver Nanoparticles Synthesized by Chemical Reduction Method and Its Characterization, Omega, 6, 22344−22356, 2021. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03100

[61] Spina, R., Mehn, D., Fumagalli, F., Holland, M., Reniero, F., Rossi, F., and Gilliland, D. Synthesis of Citrate-Stabilized Silver Nanoparticles Modified by Thermal and pH Preconditioned Tannic Acid. Nanomaterials, 10, 2020. https://doi.org/10.3390/nano10102031

[62] Ranoszek-Soliwoda, K., Tomaszewska, E., Socha, E., Krzyczmonik, P., Ignaczak, A., Orlowski, P., Krzyzowska, M., Celichowski, G. and Grobelny, J. The role of tannic acid and sodium citrate in the synthesis of silver nanoparticles. J Nanopart Res, 19: 273, 2017.

[63] Sohail, H. Nazneen, A. Crystallization behavior of electro-spun Ag-SnO_2 nanofibers through voltage-dependent alteration in Sn-interstitials. Nano-Structures & Nano-Objects, 39, 2024.

[64] Narayana,P., Mehra, A. and Venkateswa, P. Electronic absorption spectrum of nickel acetate tetrahydrate. Canadian Journal of Physics, 46, 1968.

[65] Song, X. and Boily, J. Surface and Bulk Thermal Dehydroxylation of FeOOH Polymorphs. Phys. Chem. A, 120:6249−6257, 2016.

[66] Prieto, F., Gordillo, A., Rivera, E. y Méndez, M. Síntesis y evaluación de ferrita de níquel obtenida por mecanosíntesis y su comparación con ferrita de manganeso. Dyna, vol. 76(158): 55-68, 2009.

[67] Nandan, B., Bhatnagar, M. and Kashyap, S. Cation distribution in nanocrystalline cobalt substituted nickel ferrites: X-ray diffraction and Raman spectroscopic investigations. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 2019.

[68] Divya, S., Sivaprakash, P., Raja, S., Esakki, S., Eed, E., Arumugam, S., Hwan, T. Temperature-dependent dielectric and magnetic properties of $NiFe_2O_4$ nanoparticles. Applied Nanoscience, 13:1327–1336, 2023. https://doi.org/10.1007/s13204-021-02026-9

[69] Abrashev, M., Ivanov, V., Stefanov, B., Todorov, N., Rosell, J. and Skumryev, V. Raman spectroscopy of alpha-FeOOH (goethite) near antiferromagnetic to paramagnetic phase transitionJ. Appl. Phys. 127, 205108, 2020. https://doi.org/10.1063/5.0006352

[70] Peng, T., Zhang, X., Lv, H. and Zan, L. Preparation of $NiFe_2O_4$ nanoparticles and its visible-light-driven photoactivity for hydrogen production. Catalysis Communications, 28:116–119, 2012.

[71] Rosales-Gonzalez, O., Bolarín-Miró, A., Cortés-Escobedo, C., Pedro-García, J., Patiño-Pineda, J. and Sánchez-De Jesús, F. Synthesis of a magnetically removable visible-light photocatalyst based on nickel-doped zinc ferrite. CeramicsInternational, 2022. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.10.101

[72] Domínguez, J., Jiménez, J, Salinas, J., Meléndez, M., López-Ortiz, A. and Collins, V. Optical properties determination of $NiFe_2O_4$ nanoparticles and their photocatalytic evaluation towards hydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 42(51): 30242-30248, 2017

[73] Macyk, W. How To Correctly Determine the Band Gap Energy of ModifiedSemiconductor Photocatalysts Based on UV−Vis Spectra. J. Phys. Chem. Lett., 9, 6814−6817, 2018.

[74] Himcinschi, C., Vrejoiu, I., Salvan, G., Fronk, M., Talkenberger, A., Zahn, D. R. T., Kortus, J. Optical and magneto-optical study of nickel and cobalt ferrite epitaxial thin films and submicron structures. Journal of Applied Physics, 113(8), 084101, 2013.

[75] Joshi, S., Kumar, M., Chhoker, S., Srivastava, G., Jewariya, M. and Singh, V. Structural, magnetic, dielectric and optical properties of nickel ferrite nanoparticles synthesized by co-precipitation method. Journal of Molecular Structure, 1076: 55–62, 2014.

[76] Mir, M., Manhas, F., Andrews, K., Hasnain, S., Iqbal, A., Sehar, S. and Younis, A. Molecular dynamic, Hirshfeld surface, molecular docking and drug likeness studies of a potent antioxidant, anti-malaria and anti-Inflammatory medicine: Pyrogallol. Results in Chemistry, 5, 2023.

[77] Brehm, S., Kraus, J., Himcinschi, C. and Kortus, J. A Raman spectroscopic study of the pyrolysis of lactose and tannin. J Raman Spectrosc, 53:1361–1370, 2022.

[78] Rruff database of raman spectroscopy, x-ray diffraction and chemistry of minerals.

[79] De León-Portilla, P., Gónzalez, A. Sánchez-Mora, E. Thyroxine Quantification by Using Plasmonic Nanoparticles as SERS Substrates. Chemosensors 11(10), 516; 2023. https://doi.org/10.3390/chemosensors11100516

[80] Akash, M. and Rehman, K. Ultraviolet-Visible (UV-VIS) Spectroscopy. In: Essentials of Pharmaceutical Analysis. Springer, Singapore, 2020.

[81] Akhtar, K., Khan, S.A, Khan, S.B., Asiri, A.M. Scanning Electron Microscopy: Principle and Applications in Nanomaterials Characterization. In: Sharma, S. (eds) Handbook of Materials Characterization. Springer, Cham, 2018.

[82] Subramanian, K., Janavi, G., Marimuthu, S., Kannan, M., Raja, K., Haripriya, S., Jeya, D. and Sathya, P. Scanning Electron Microscopy. Principle, Components and Applications: Fundamentals and applications of nanotechnology, Astral, 2018.

[83] Energy Dispersive Spectroscopy: Failure Analysis of Integrated Circuits, 494, ISBN : 978-1-4613-7231-8, 1999.

[84] Del Castillo, H. and Strivay, D. X-Ray Methods. Archaeometry, 59–113, 2012.

[85] Bunaciu, A., Udristioiu, E., and Aboul-Enein, H. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 45:289–299, 2015.

[86] Babick, F. Dynamic light scattering (DLS). Characterization of Nanoparticles, Elsevier Inc. 2020. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814182-3.00010-9

[87] Sandoval Yoval, L., Montellano Palacios, L., Piña Soberanis, M. y Sánchez Guzmán, L. Potencial zeta como una herramienta para determinar la aglomeración de las partículas en la reducción del volumen del lodo a disponer. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.

[88] Bhattacharjee, S. DLS and zeta potential–What they are and what they are not?. Journal of Controlled Release, 235:337–351, 2016.

[89] Berthomieu, C. and Hienerwadel, R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. Photosynth Res, 101:157–170, 2009.

[90] Moon, J., Li, M., Ramirez-Cuesta, A. and Wu, Z. Raman Spectroscopy. Advanced Catalyst Characterization. Springer Handbooks, 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-031-07125-6

[91] Petersen M., Yu, Z. and Xiaonan, L. Application of Raman Spectroscopic Methods in Food Safety: A Review. Biosensors, 11:187, 2021. https://doi.org/10.3390/bios11060187

[92] Segura Beltrán, A. Implementación del método cuantitativo de Absorción Atómica para Cromo y Plomo con estándares trazables en muestras ambientales. Trabajo de Grado. Pontificia Universidad Javeriana Facultad De Ciencias Básicas Microbiología Industrial. Bogotá D. C. Colombia, 2015.