



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
Facultad de Ciencias Exactas

TRABAJO FINAL
Licenciatura en Química

**“Síntesis de nanopartículas de plata para su
empleo como sustrato en espectroscopia SER(R)S”**

Autor:
CARLINA LANCIONI

Director:
Dra. ROSANA M. ROMANO

~ 2014 ~



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
Facultad de Ciencias Exactas

TRABAJO FINAL
Licenciatura en Química

“Síntesis de nanopartículas de plata para su
empleo como sustrato en espectroscopia SER(R)S”

Autor:
CARLINA LANCIONI

Director:
Dra. ROSANA M. ROMANO

~ 2014 ~

Este trabajo final fue realizado en el Centro de Química Inorgánica
Dr. Pedro J. Aymonino, CEQUINOR, Departamento de Química,
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La
Plata, bajo la dirección de la Dra. Rosana M. Romano.

Agradecimientos:

Al Dr. Carlos O. Della Védova y la Dra. Rosana M. Romano por haberme permitido desarrollar este trabajo final en el CEQUINOR.

A la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, principalmente a todos los docentes por el conocimiento brindado.

A la Comisión de Investigaciones Científicas, CIC, por haberme otorgado una beca de entrenamiento durante este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio por todos sus consejos, en particular a Eugenia por haberme proporcionado la adaptación al lugar de trabajo y la respuesta a interminables consultas, y a Lorena por el inmenso interés en la temática del trabajo y por dedicar parte de su tiempo a la lectura y corrección del mismo.

A todos mis compañeros y amigos de la facultad por las horas compartidas: desde aquellos con los que tuve la posibilidad de compartir el curso de ingreso y las primeras materias, hasta los que estuvieron en las últimas. En especial a Maky por la infinidad de graciosas anécdotas y los consejos de vida, y a Giselle por tantas charlas, risas y por la gran cantidad de horas de estudio compartidas durante los últimos años.

A mis amigos de Pinto, especialmente a Flor, mi compañera de aventuras.

A mi familia, entre ellos a mí cuñado Nicolás, a mis hermanos Neri y Ornela, y a mi mamá por todo el esfuerzo, apoyo y por nunca dejar de confiar en mí.

ÍNDICE

Introducción -----	2
Objetivos -----	4
Capítulo 1 - Técnicas experimentales	
1.1 Introducción-----	6
1.2 Interacción de radiación electromagnética con la materia -----	6
1.2.1 Procesos dispersivos -----	6
1.2.1.1 Dispersión inelástica o Raman -----	7
1.2.1.2 Intensificación de la dispersión Raman: Efecto SERS -----	10
1.3 Espectroscopia UV-Visible -----	14
1.4 Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) -----	16
1.5 Espectroscopia Raman -----	17
1.5.1 Instrumentación Raman -----	20
1.6 Referencias -----	26

Capítulo 2 - Nanopartículas como sustratos SER(R)S

2.1 Introducción	28
2.2 Síntesis de nanomateriales	29
2.2.1 Métodos descendentes, “de arriba hacia abajo” o top-down	30
2.2.2 Métodos ascendentes, “de abajo hacia arriba” o bottom-up	31
2.3 Selección de los métodos para la preparación de las nanopartículas de plata	33
2.3.1 Síntesis de AgNPs por el método de Lee-Meisel	34
2.3.2 Síntesis de AgNPs por el método de Creighton	34
2.4 Referencias	35

Capítulo 3 - Detección de cationes metálicos

3.1 Introducción	39
3.2 Selección del metal	39
3.3 Selección del ligando	40
3.3.1 Síntesis del ligando $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{SK}$	41
3.3.2 Caracterización del ligando $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{SK}$	42
3.4 Complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$	42

3.4.1 Síntesis del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ -----	43
3.4.2 Caracterización del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ --	44
3.5 Referencias -----	44

Capítulo 4 - Preparación de muestras para la medida de espectros Raman

4.1 Selección del analito para la evaluación de la capacidad de las AgNPs para producir efecto SERS -----	46
4.2 Muestras para la detección de cationes metálicos -----	49
4.2.1 Ensayos previos con el complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ -----	49
4.2.2 Preparación de las muestras conteniendo el complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ -----	51
4.3 Manipulación de las muestras -----	52
4.4 Referencias -----	53

Capítulo 5 - Resultados y discusión

5.1 Nanopartículas de plata (AgNPs) -----	55
5.1.1 Preparación de AgNPs -----	55
5.1.1.1 Preparación de AgNPs por el método de Lee-Meisel -----	55

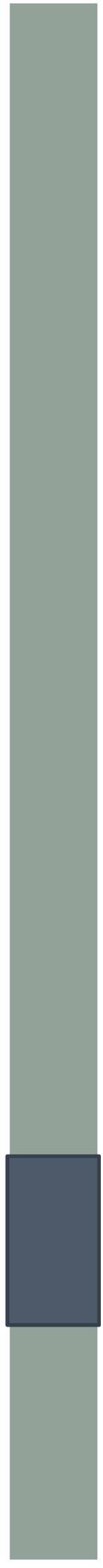
5.1.1.2 Preparación de AgNPs por el método de Creighton -----	56
5.1.2 Caracterización de AgNPs -----	59
5.1.2.1 Caracterización de AgNPs preparadas por el método de Lee-Meisel -----	59
5.1.2.2 Caracterización de AgNPs preparadas por el método de Creighton -----	60
5.1.3 Evaluación de la estabilidad de las AgNPs -----	62
5.1.4 Capacidad de las AgNPs como sustratos para producir efecto SERS -----	66
5.1.4.1 Capacidad de las AgNPs sintetizadas por el método de Lee-Meisel como sustratos para producir efecto SERS -----	67
5.1.4.2 Capacidad de las AgNPs sintetizadas por el método de Creighton como sustratos para producir efecto SERS -----	68
5.2 Aplicación a la detección de cationes metálicos -----	72
5.2.1 Caracterización del ligando $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{SK}$ -----	72
5.2.2 Caracterización del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ -----	74

5.2.3 Evaluación de la aplicación de la técnica SERS a la detección de Ni(II) a nivel de trazas -----	75
5.3 Referencias -----	78

Conclusiones y perspectivas

Conclusiones -----	80
Perspectivas futuras -----	82

Introducción



INTRODUCCIÓN

En este trabajo final se presenta la preparación de nanopartículas de plata por diferentes métodos y la evaluación de las mismas para su aplicación como sustratos para espectroscopias SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy – Espectroscopia Raman intensificada por superficie) y SERRS (Surface Enhanced Resonance Raman Spectroscopy – Espectroscopia Raman resonante intensificada por superficie). Ambas técnicas presentan una elevada sensibilidad debido a la intensificación de la señal producida por la interacción de la radiación incidente y la dispersada por el analito con la superficie sobre la cual está adsorbido el mismo, además del fenómeno de resonancia en el caso de SERRS.

En una primera etapa se prepararon sustratos sobre los cuales adsorber el/los analitos de interés. Para ello, se sintetizaron nanopartículas de plata (AgNPs) por distintos métodos de reducción químicos. Las AgNPs fueron caracterizadas por espectrofotometría ultravioleta-visible. Además, se realizó un seguimiento de la estabilidad de las mismas en el tiempo y bajo dos modos de almacenamiento.

En una segunda etapa se prepararon soluciones de compuestos pertenecientes a la familia de las rodaminas (sustancias seleccionadas como analito de prueba para evaluar a la capacidad de las AgNPs preparadas como sustratos SERS) de distintas concentraciones para adsorberla sobre las nanopartículas sintetizadas previamente y realizar las medidas SER(R)S.

Finalmente se analizó la posible aplicación de la técnica a la medida indirecta de cationes de metales de transición a nivel de trazas por complejación de los mismos con xantatos como ligandos.

Objetivos



OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo final consiste en la síntesis de nanopartículas de plata activas como sustrato para las técnicas espectroscópicas Raman y Raman resonante intensificadas por superficie (SERS y SERRS, respectivamente).

Los objetivos particulares incluyen:

- ✓ Puesta a punto de la preparación de nanopartículas de plata por varios métodos de reducción química.
- ✓ Caracterización y seguimiento de la estabilidad de las dispersiones de nanopartículas mediante medidas espectrofotométricas en las regiones ultravioleta-visible.
- ✓ Verificación de la capacidad de las nanopartículas previamente sintetizadas para producir efecto SERS, empleando como analitos de prueba compuestos pertenecientes a la familia de las rodaminas.
- ✓ Evaluación de la aplicación de la técnica a la detección de cationes de metales de transición de forma indirecta, a través de una etapa previa de formación de complejos.

Capítulo 1

Técnicas experimentales

1 - TÉCNICAS EXPERIMENTALES

1.1 Introducción

En el presente trabajo se emplearon varias técnicas experimentales, particularmente espectroscopias ópticas, que involucran la interacción de la radiación electromagnética con los materiales y/o moléculas, con el objeto de identificar y caracterizar los sistemas de interés.

El instrumental empleado se encuentra en el Centro de Química Inorgánica Dr. Pedro J. Aymonino, CEQUINOR, en la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata.

A continuación se ofrece una breve descripción de los detalles y fundamentos teóricos de los mismos.

1.2 Interacción de radiación electromagnética con la materia

La radiación electromagnética, está compuesta por un campo eléctrico y un campo magnético que oscilan en fase en dos planos perpendiculares entre sí y respecto de la dirección de propagación. Al incidir un haz de radiación electromagnética sobre un material o molécula, la luz puede sufrir varios fenómenos según el tipo de interacción que se produzca. Estos fenómenos pueden ser: reflexión, refracción, absorción (con la posibilidad de una posterior reemisión en forma de fluorescencia o fosforescencia) y dispersión.

1.2.1 Procesos dispersivos

Según sea la interacción involucrada, se pueden presentar diversos tipos de dispersión, como se representa en la Figura 1.1. En un caso se conserva la energía de la radiación incidente, es decir se trata de una dispersión elástica, también conocida como dispersión Rayleigh. En el segundo tipo de proceso dispersivo la energía de la

radiación dispersada no coincide con la de la radiación incidente, o lo que es lo mismo se produce una dispersión inelástica, originando el fenómeno Raman.

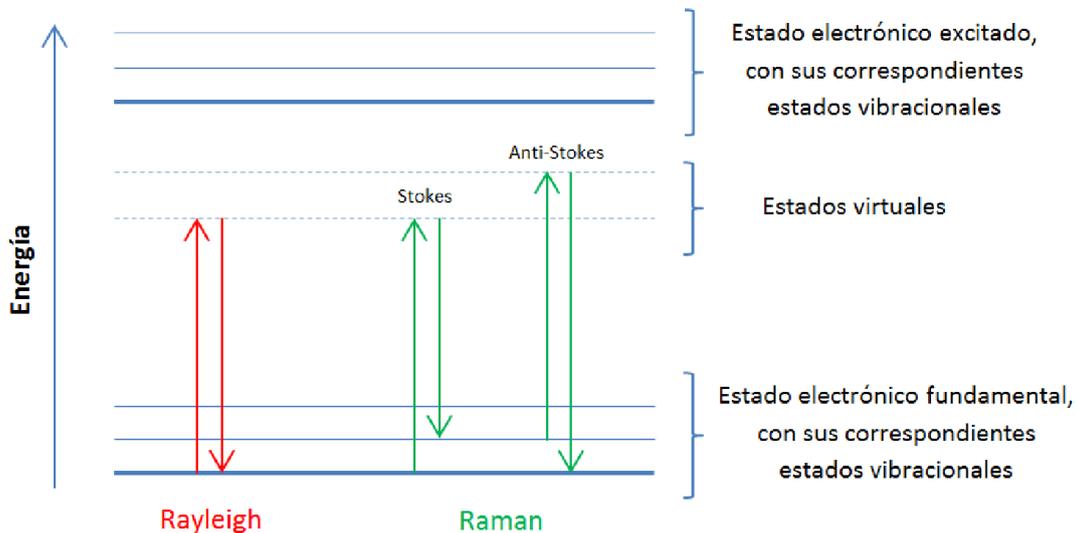


Figura 1.1 Representación esquemática de los fenómenos dispersivos.

1.2.1.1 Dispersión inelástica o Raman

Si se considera un sistema en el que se produce la interacción entre un haz de luz monocromático con una molécula inicialmente en un estado vibracional dado, el fenómeno Raman se produce cuando, luego de la interacción con la radiación, el estado vibracional de la molécula es diferente al inicial, modificando la frecuencia de la luz dispersada respecto de la incidente. Si consideramos que la energía de luz incidente es $h\nu_0$ y la diferencia de energía entre los dos estados vibracionales es $h\nu_{vib}$, entonces la energía de la radiación dispersada $h\nu_R$, también llamada radiación Raman, estará dada por la siguiente expresión:

$$h\nu_R = h\nu_0 - h\nu_{vib}$$

Como se mencionó anteriormente, si los estados vibracionales inicial y final son iguales, la energía de la radiación dispersada coincide con la de la radiación incidente, es decir se trata de una dispersión elástica, que se denomina dispersión Rayleigh. Este

proceso, que es el más probable de los procesos dispersivos, se representa en la Figura 1.1 con flechas de color rojo.

Si la molécula se encuentra inicialmente en un estado vibracional fundamental y luego de la interacción inelástica con la radiación pasa a un estado vibracional excitado, entonces la energía de la radiación dispersada será menor que la incidente. Este proceso se denomina Raman Stokes y se simboliza gráficamente en la Figura 1.1. Dicho proceso es muy poco eficiente con respecto a la radiación Rayleigh. Otra posibilidad es que el estado inicial corresponda a un estado vibracional excitado, y que luego de la interacción inelástica con la radiación el estado final corresponda a un estado vibracional fundamental. En este caso la energía de la radiación dispersada será mayor que la de la radiación incidente. Este proceso, conocido como Raman anti-Stokes, se representa en la Figura 1.1. Debido a que la población relativa de los niveles vibracionales depende de la ley de distribución de Maxwell-Boltzmann (es decir de la diferencia de energía entre los niveles y de la temperatura), la relación de intensidades de las bandas Stokes y anti-Stokes también dependerá de esta distribución.

Por lo tanto, la información que puede ser obtenida a través de la espectroscopia Raman, es decir la diferencia de energía entre los niveles vibracionales de una molécula, coincide con la información obtenible a partir de la espectroscopia infrarroja. Sin embargo, existe una diferencia muy importante en las reglas de selección de ambas espectroscopias. Mientras que para que una vibración sea activa en IR es necesario que se produzca un cambio en el momento dipolar de la molécula con la coordenada normal de la vibración, para que sea activa en Raman debe producirse un cambio en la polarizabilidad de la molécula, es decir:

$$\left(\frac{\delta\alpha}{\delta q}\right)_0 \neq 0$$

donde α simboliza la polarizabilidad de la molécula y q una coordenada normal. De esta manera, el espectro Raman de una molécula contiene información estructural de la misma.

Si la energía de la radiación incidente coincide con la diferencia de energía entre un estado electrónico excitado y el estado electrónico fundamental de la

molécula, el fenómeno Raman puede ocurrir en resonancia con la transición electrónica, y el proceso se denomina Raman resonante. Como consecuencia, algunos modos vibracionales normales, en particular aquellos relacionados con la transición electrónica pueden sufrir una intensificación con respecto a su intensidad en el espectro Raman “normal” o no resonante. Así, además de otorgarle una mayor sensibilidad a la técnica, el efecto de resonancia permite obtener información electrónica de las moléculas o materiales analizados. Si en cambio, la radiación incidente se aproxima a la energía de una transición electrónica en lugar de coincidir con la misma, el fenómeno se denomina Raman pre-resonante o post resonante, según corresponda, y como consecuencia las intensidades también se encuentran intensificadas. [1] Estos procesos se representan esquemáticamente en la Figura 1.2.

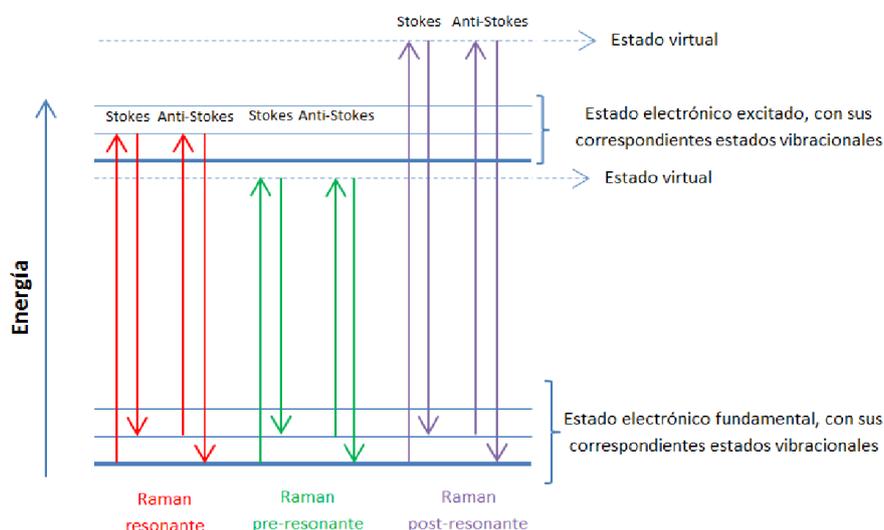


Figura 1.2 Representación esquemática de los fenómenos dispersivos Raman resonante y pre-resonante

No obstante, los procesos de dispersión Raman de la radiación no son muy eficientes (en procesos no resonantes solo un fotón de aproximadamente 10^7 es dispersado por la muestra) y esto resulta en una baja intensidad de las bandas en los espectros. Por este motivo surgió la forma de incrementar las señales mediante el empleo de nanoestructuras metálicas, dando origen a una variante de la espectroscopia Raman o Raman resonante, denominada SERS o SERRS por sus siglas en inglés: Surface-Enhanced Raman Spectroscopy o Surface-Enhanced Resonance Raman Spectroscopy. [2]

1.2.1.2 Intensificación de la dispersión Raman: Efecto SERS

El efecto SERS fue descubierto en 1974 por Fleischman et al. [3] al intentar registrar el espectro Raman de la piridina sobre un electrodo de plata sometido a varios ciclos de oxidación-reducción. En un primer momento la intensificación del espectro se atribuyó a un incremento del área superficial, consecuencia de la aplicación de los ciclos de oxidación-reducción. Tres años más tarde, se proporcionó una explicación científica del fenómeno, demostrando que la intensificación no era debida al incremento del área superficial, como se había propuesto anteriormente.

Este efecto consiste en la enorme intensificación de la emisión Raman procedente de una molécula cuando la misma se encuentra en contacto o cerca de una superficie metálica nanoestructurada, y proviene de la interacción de la luz con los electrones de conducción situados en la superficie del metal, dado que se generan plasmones superficiales.

Un plasmón superficial puede definirse como una oscilación de electrones que se da en la interfase entre dos materiales, generalmente un metal nanoestructurado y un dieléctrico. Cuando la oscilación de los electrones es colectiva, se dice que están en resonancia. Para determinar experimentalmente la longitud de onda de resonancia de una estructura plasmónica es posible realizar un barrido del espectro electromagnético, generalmente en la región UV-Visible con un espectrofotómetro, en búsqueda de un proceso de absorción. Dado que el espectro obtenido depende de la geometría y composición de la nanoestructura, además del medio que la rodea, puede emplearse como técnica para caracterizar un sistema coloidal.

En el caso de las espectroscopias ópticas, la energía de una onda electromagnética incidente (luz) excita a los electrones de la banda de valencia del metal a la banda de conducción, además de polarizar y magnetizar el medio. Esto hace que el fotón incidente se acople tanto a los electrones como a las condiciones del medio. La propagación de los mismos a lo largo de la interfase metal-dieléctrico da origen a los plasmones superficiales mencionados anteriormente, que son responsables en parte, del uno de los mecanismos involucrados en el efecto SERS,

dato que se generan regiones de gran intensidad de campo eléctrico cerca de la superficie de nanoestructuras.

Se acepta actualmente que la amplificación SERS se debe a dos mecanismos fundamentales: Mecanismo electromagnético (EM) y mecanismo químico (CE, Chemical Enhancement). El primero se considera excluyente, en el sentido de que en ausencia de él, el efecto SERS no tiene lugar; mientras que el otro mecanismo puede participar o no, dependiendo de la naturaleza de la molécula y de las condiciones experimentales, ya que requiere que exista un enlace químico entre la molécula y el sustrato.

El mecanismo EM se encuentra relacionado con el fenómeno de resonancia de plasmones superficiales de la nanoestructura, que generan una intensificación del campo electromagnético; tanto del incidente sobre la molécula, como el de la radiación Raman dispersada por la molécula. En la Figura 1.3 se presenta un esquema descriptivo del fenómeno: El campo electromagnético incidente (E_i) se incrementa debido a la adición de un campo electromagnético dispersado ($E_{i,s}$) proveniente de la polarización de la nanopartícula; resultando un campo electromagnético $E_i + E_{i,s}$ que excita los modos Raman activos del analito. Luego, el campo electromagnético de la radiación Raman dispersada (E_R), también resulta intensificado mediante el mismo mecanismo.

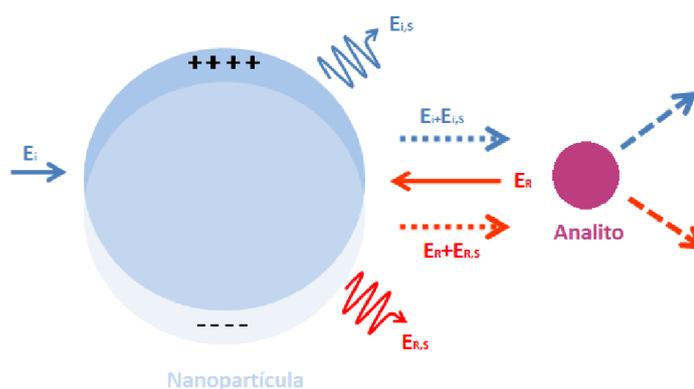


Figura 1.3 Representación esquemática del mecanismo de intensificación EM.

Los parámetros que determinan la intensificación SERS, son aquellos de los que depende la resonancia de los plasmones superficiales (constante dieléctrica del medio; tamaño, forma y composición de las nanopartículas), y otros relacionados con el

analito y el sustrato (distancia entre los mismos y orientación del adsorbato sobre la superficie). También se ha reportado que en sistemas donde las nanopartículas se encuentran agregadas se observa una mayor intensificación SERS, ya que en los intersticios entre dos nanopartículas se generan nuevos tipos de “hot spots” (puntos calientes) que pueden definirse como puntos donde la intensidad del campo electromagnético es muy elevada. [4]

El campo electromagnético exterior sobre una superficie metálica está fuertemente polarizado en la dirección perpendicular a la misma. Por ello, los modos vibracionales del adsorbato que son perpendiculares a la superficie, presentan una mayor intensificación respecto a los que son paralelos. Por este motivo, los espectros SERS también proporcionan información importante que permite deducir la posible orientación del analito con respecto a la superficie.

El mecanismo de amplificación químico, CE, surgió ante la necesidad de explicar por qué todos los analitos no sufren la misma intensificación SERS. Se propuso que el origen del mismo se debe a una transferencia de carga (CT) entre el adsorbato y el sustrato. Este modelo de transferencia de carga se aplica a un pequeño grupo de moléculas y, aunque existen otros modelos teóricos, es el más utilizado para describir comportamientos de sistemas nanoestructurados.

Las moléculas pueden adsorberse sobre el metal mediante quimisorción o fisorción. Si interacciona débilmente (fisorción) la modificación de la polarizabilidad de la molécula es pequeña y el perfil del espectro SERS es similar al espectro Raman “normal”, aunque no así las intensidades relativas de las bandas, ya que la orientación de la molécula es un factor determinante, como se mencionó anteriormente. Por el contrario, si la interacción molécula-superficie tiene energía comparable a la de un enlace químico (quimisorción), la polarización de la molécula es significativa formándose un complejo superficial con simetría diferente y nuevos estados electrónicos. La quimisorción afecta solo a la primera capa de adsorción, de modo que las moléculas que interaccionan con el metal pueden tener transiciones electrónicas por transferencia de carga, susceptibles de ser excitadas por una radiación externa. En este proceso, la molécula es excitada hasta un nuevo estado estacionario (tal como en

el mecanismo de resonancia Raman) y la intensidad del espectro registrado en estas condiciones se intensifica notablemente. Este es otro de los motivos por los que los espectros SERS y el Raman “normal” de una especie molecular no son por lo general idénticos.

La transferencia de carga puede ocurrir desde el orbital HOMO del analito hasta el nivel de Fermi del metal, o desde éste al LUMO del adsorbato según el caso siendo este último generalmente el más común (Figura 1.4). De todas formas, el proceso que tenga lugar se encuentra directamente relacionado con la naturaleza del adsorbato y del metal.

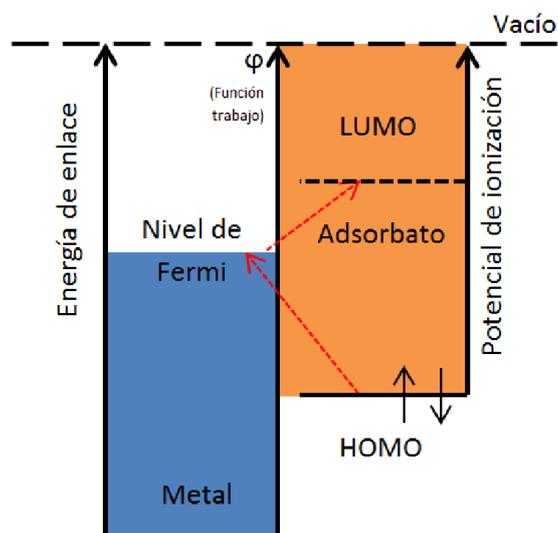


Figura 1.4 Representación esquemática de los posibles mecanismos de intensificación por transferencia de carga

La intensificación de señales encontrada en la espectroscopia SERRS, se basa en el mismo principio físico que el efecto SERS descrito anteriormente, solo que la intensificación alcanzada es superior ya que se combina la resonancia de los plasmones superficiales con la resonancia electrónica del compuesto molecular. En esta técnica, altamente sensible, es posible alcanzar niveles de detección de hasta una única molécula. [5]

1.3 Espectroscopia UV-Visible

La espectroscopia UV-Visible fue empleada en la caracterización de nanopartículas en solución luego de la síntesis. Además, se empleó para estudiar la estabilidad en el tiempo de los sistemas coloidales empleados. Los espectros obtenidos presentan bandas de absorción debido a los plasmones superficiales de las nanopartículas que entran en resonancia con la radiación electromagnética de excitación.

En una medida de un espectro UV-Visible típica, se registran los fotones transmitidos por la muestra (ya sea expresado como absorbancia o transmitancia) en función de la longitud de onda de excitación. La transmitancia, T , se define como el cociente entre el número de fotones que atraviesan la muestra (I) y el número de fotones incidentes (I_0). Es decir:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Y la relación entre esta y la absorbancia, A , es de tipo logarítmica:

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0}$$

Las medidas experimentales se realizaron utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Shimadzu UV-2600 disponible en el CEQUINOR, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de camino óptico (Figura 1.5). El mismo presenta una configuración de doble haz con fuentes de excitación de tungsteno y deuterio que cubren un rango espectral de 185 a 900 nm y un tubo fotomultiplicador como sistema de detección. Los resultados se analizaron con el software UV-probe versión 2.43.

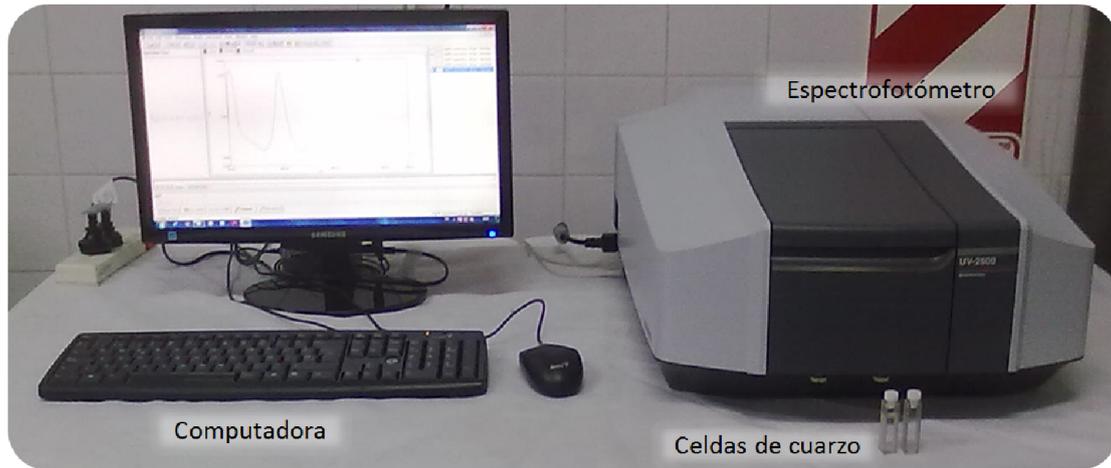


Figura 1.5 Espectrofotómetro Shimadzu UV-2600

En la Figura 1.6 puede observarse un esquema simplificado del equipo. La radiación continua emitida por la fuente es seleccionada por el sistema óptico, que contiene un monocromador; al salir de este sistema el haz de radiación se enfoca sobre un divisor de haz que lo separa en dos caminos. Uno de los haces pasa a través del compartimiento de la muestra, en tanto que el otro atraviesa la celda de referencia. A continuación, los haces se enfocan en el detector para la adquisición de los datos necesarios para la obtención del espectro.

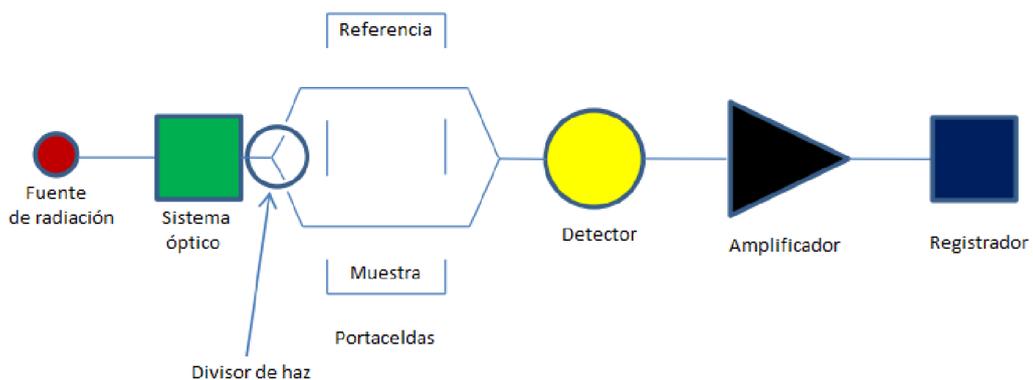


Figura 1.6. Esquema de un espectrofotómetro con configuración de doble haz.

1.4 Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La técnica de espectroscopia FTIR fue utilizada para la identificación y determinación de la pureza del n-propilxantato de potasio y el complejo preparado entre este último y el catión Ni(II): $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$.

Los espectros obtenidos presentan bandas de absorción que corresponden a transiciones entre niveles vibracionales, como se representa esquemáticamente en la Figura 1.7.

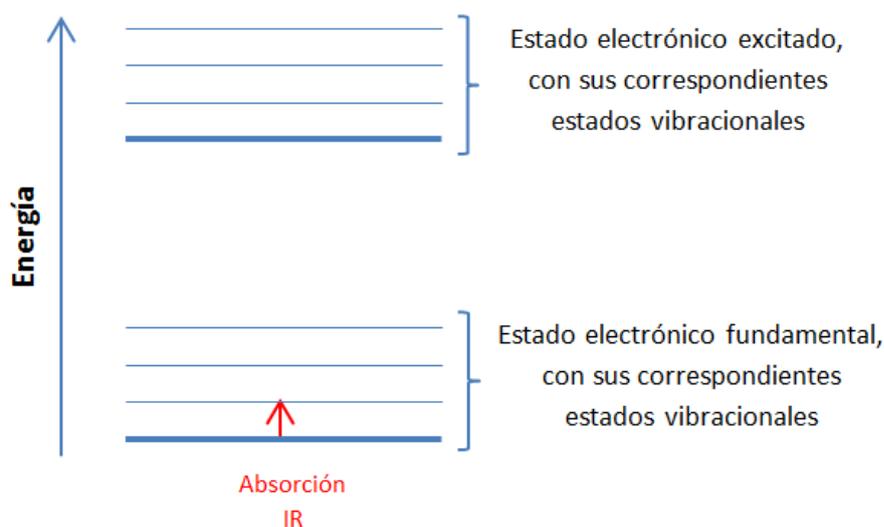


Figura 1.7. Representación del fenómeno de absorción IR

En los espectros IR se registra generalmente la transmitancia porcentual o la absorbancia en función del número de ondas de la radiación.

Para que una molécula pueda ser identificada por este tipo de espectroscopia debe presentar modos vibracionales activos en la región IR, de modo que se produzca la absorción. Como se mencionó anteriormente, para que un modo vibracional sea activo en el espectro IR debe producir un cambio en el momento dipolar durante esta vibración.

Las medidas experimentales se realizaron en un espectrofotómetro Thermo Scientific Nicolet 6700 FTIR (Figura 1.8), preparando pastillas de KBr. El equipo posee

una fuente de temperatura controlada electrónicamente ETC EverGlo para la excitación, y un detector DTGS (Sulfato de Triglicina Deuterada) con ventanas de KBr. El mismo permite realizar medidas de espectros en la región de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} (IR medio). Los espectros se analizaron mediante el software OMNIC 8.2.0.387.



Figura 1.8 Espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700 FTIR

1.5 Espectroscopia Raman

Esta técnica se utilizó ampliamente en el presente trabajo final, teniendo en cuenta el objetivo general del mismo. Se midieron los espectros Raman de los analitos estudiados, las dispersiones de nanopartículas de plata preparadas y finalmente los analitos en las dispersiones de nanopartículas, con el fin de investigar la producción del fenómeno SERS y/o SERRS.

En los espectros Raman se registra la intensidad de la radiación dispersada en función del desplazamiento del número de ondas ($\Delta\tilde{\nu}$) definido como la diferencia de energía, en número de ondas (cm^{-1}), de la radiación dispersada respecto a la de excitación. Para que una molécula pueda ser identificada por esta técnica debe presentar modos de vibración activo en Raman, es decir que se produzca cambio en la polarizabilidad con la coordenada normal de vibración, como se mencionó anteriormente. Esta diferencia fundamental entre la actividad Raman e IR de un modo

vibracional es lo que hace que estas técnicas sean complementarias, aunque las dos brinden información sobre las diferencias de energía de los niveles vibracionales.

Los espectros Raman se obtienen al irradiar una muestra con una fuente láser de radiación monocromática, ya sea esta en la región visible, infrarroja o ultravioleta del espectro. Durante la excitación se registra el espectro de la radiación dispersada a un ángulo dado respecto de la radiación incidente (generalmente 90° o 180°).

Dado que las intensidades de las bandas Raman son bajas respecto de la intensidad de la fuente, la detección resulta más difícil que en espectroscopia IR. Considerando además que las bandas anti-Stokes son aún menos intensas que las bandas Stokes, suele utilizarse principalmente la región Stokes del espectro. Sin embargo, dado que estas bandas aparecen a número de ondas menores que los de la fuente de excitación, es notable como la fluorescencia puede interferir.

Para la obtención de espectros SER(R)S, no se requiere la modificación de la disposición del espectrómetro; la única diferencia se encuentra en la preparación de la muestra, en la que el analito debe adsorberse sobre el sustrato. [6]

Las medidas experimentales se realizaron en el equipo Horiba Jobin Yvon T64000 (Figuras 1.9 y 1.10) disponible en el CEQUINOR, empleando capilares de vidrio de 1,40 mm de diámetro interno para contener las muestras que se colocan sobre un portamuestra, el cual posteriormente se ubica en la platina del microscopio confocal del que dispone el equipo. El mismo posee un triple monocromador que puede adaptarse a dos configuraciones ópticas, doble sustractiva o triple aditiva, y dos fuentes de excitación láser intercambiables de iones argón y kriptón, con líneas monocromáticas en el rango espectral de 450 nm a 650 nm, las cuales se detallan con sus correspondientes potencias en la Tabla 1.1. La detección se lleva a cabo con un detector CCD (Charge Coupled Device) criogénico de alta sensibilidad, enfriado con nitrógeno líquido a -133°C . Los resultados se analizaron empleando el software LabSpec 5.

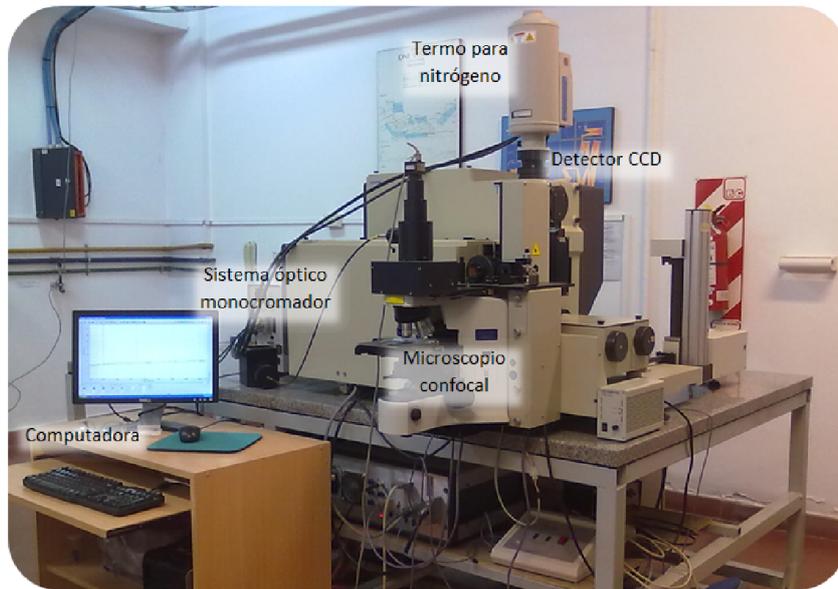


Figura 1.9 Espectrofotómetro Raman Horiba Jobin Yvon T64000

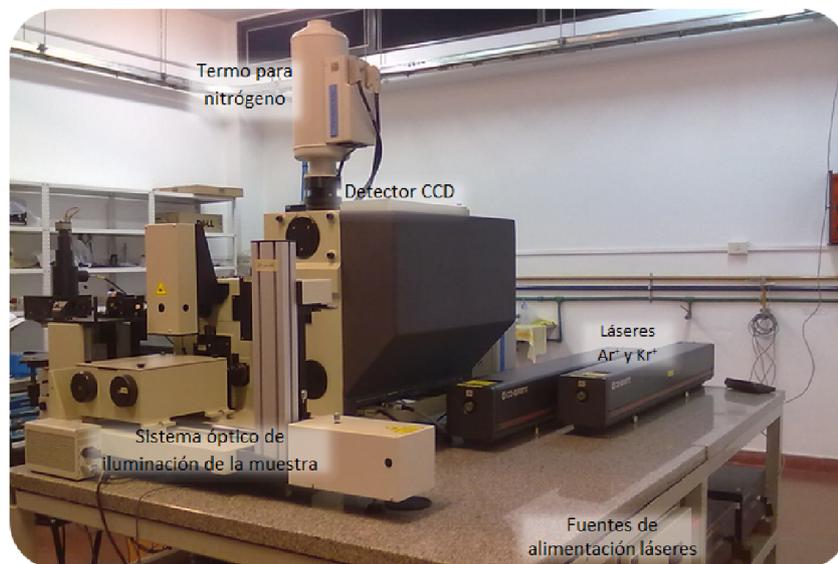


Figura 1.10 Espectrofotómetro Raman Horiba Jobin Yvon T64000

Tabla 1.1 Líneas de los láseres Ar⁺ y Kr⁺. Entre paréntesis se detalla la corriente.

Láser	λ (nm)	Potencia (mW)
Ar ⁺ (i=50A)	454,5	50
	457,9	640
	465,8	230
	472,7	370
	476,5	1300
	488,0	3300
	496,5	1380
	501,7	770
	514,5	4470
	528,7	75
Kr ⁺ (i=40A)	647,1	1000
	676,4	297

1.5.1 Instrumentación Raman

Los principales componentes de un espectrofotómetro Raman son:

- Fuente

Las más utilizadas son fuentes láseres (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation), debido a su alta intensidad, necesaria para producir dispersión Raman lo suficientemente intensa como para ser posible su medida con una relación señal/ruido razonable. Los componentes característicos de una fuente láser se representan en la Figura 1.11.

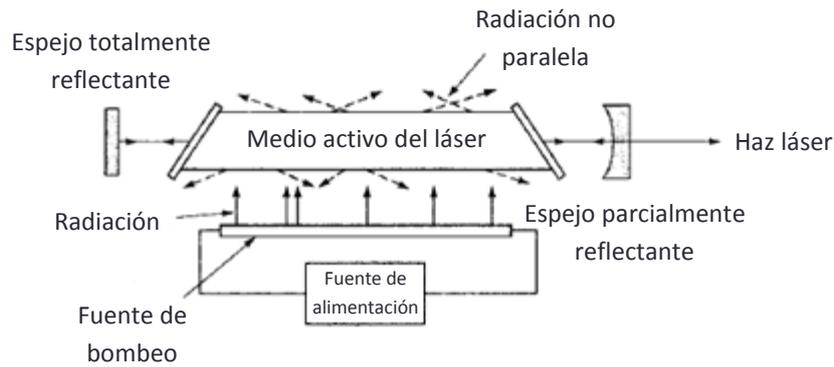


Figura 1.11 Componentes característicos de una fuente láser

La parte más importante del dispositivo mostrado en la Figura 1.11 es el medio capaz de generar la emisión de radiación. Puede ser un cristal sólido (Rubí), un semiconductor (GaAs), una disolución de un colorante orgánico, o un gas (Ar o Kr). El material láser se activa a menudo por medio de una radiación procedente de una fuente externa, de modo que algunos fotones de energía adecuada desencadenen la formación de una cascada de fotones de igual energía; el bombeo o activación también se puede realizar con una corriente eléctrica o con una descarga eléctrica. En el caso de los láseres gaseosos, en vez de una fuente de bombeo, la fuente de alimentación se conecta a un par de electrodos introducidos en una celda rellena con el gas.

En general un láser funciona como un oscilador o un resonador, en el sentido que la radiación producida por el funcionamiento del láser se hace pasar varias veces a través del medio en ambos sentidos con la ayuda de un par de espejos, tal como se muestra en la Figura 1.12. En cada recorrido se generan fotones adicionales, lo que da lugar a una gran amplificación. Además el paso repetido produce también un haz muy paralelo, ya que la radiación no paralela escapa por los lados, después de reflejarse unas pocas veces.

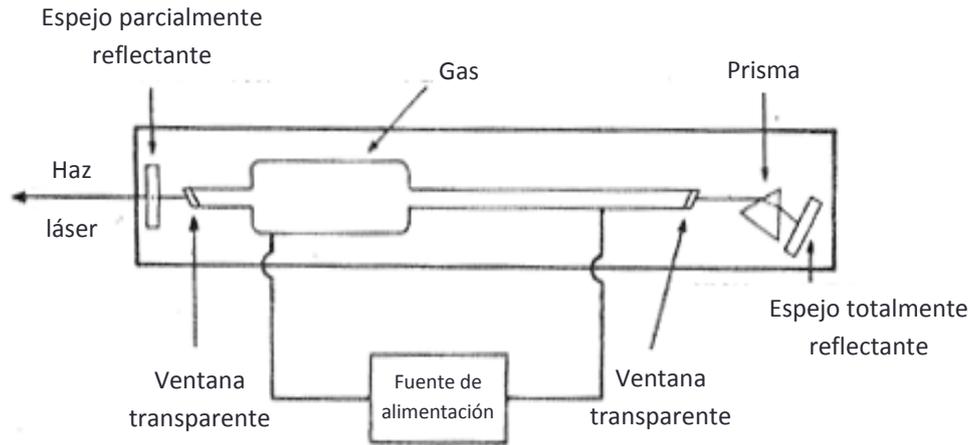


Figura 1.12 Esquema de una fuente láser con un gas como medio activo.

El mecanismo de funcionamiento involucra cuatro procesos:

a) Bombeo: la especie activa del láser se excita por medio de una descarga eléctrica, poblando varios niveles de energía electrónicos y vibracionales de la especie activa, cuyos tiempos de vidas son cortos, motivo por el cual se produce una relajación al fundamental.

b) Emisión espontánea o fluorescencia.

c) Emisión estimulada: las especies del láser excitadas son alcanzadas por fotones que poseen exactamente la misma energía que los producidos por emisión espontánea. Las colisiones de este tipo producen la inmediata relajación de la especie excitada al estado energético inferior y, al mismo tiempo, la emisión de un fotón de exactamente la misma energía que la del fotón que estimuló el proceso; el cual se propaga exactamente en la misma dirección y está en fase con el fotón que desencadenó la emisión.

d) Absorción: compite con la emisión estimulada. En este caso se absorben dos fotones con energías exactamente iguales para originar un estado excitado metaestable, que es idéntico al alcanzado por bombeo. [6]

- Sistema de iluminación de la muestra

Debido a la baja intensidad del efecto Raman, el haz del láser debe ser perfectamente enfocado sobre la muestra, y la radiación dispersada debe colectarse eficientemente. Esto es posible mediante el empleo de varias configuraciones ópticas: Dos de los métodos de iluminación más comunes son a 90 o 180 grados (Figura 1.13a y 1.13b, respectivamente).

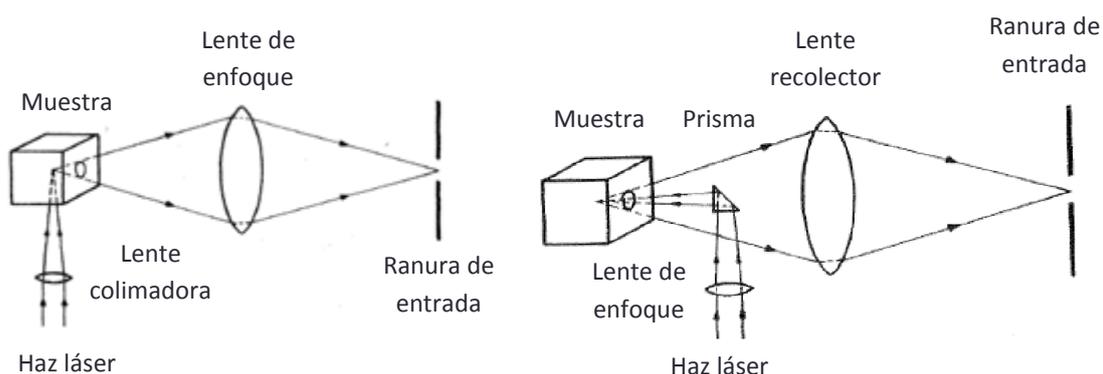


Figura 1.13 Métodos de iluminación de la muestra: a) 90° y b) 180°.

El método de dispersión a 90 grados es el encontrado comúnmente en laboratorios Raman, aunque existen algunas ventajas asociadas con el método de 180 grados. Por simplicidad en cada una de las figuras se ha indicado que la radiación dispersada se colecta mediante un único lente. Sin embargo, la óptica de colección puede variar ampliamente. En otras configuraciones se emplea un microscopio, como se observa en la Figura 1.14. [7]

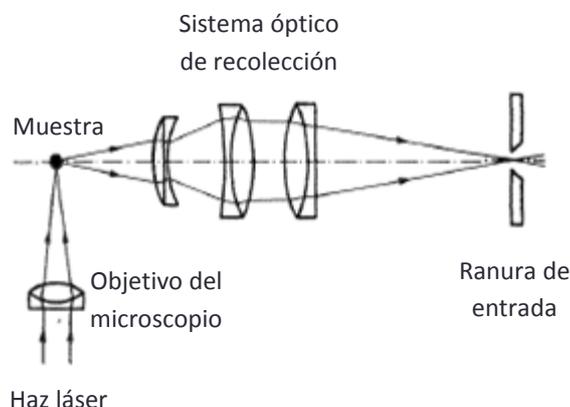


Figura 1.14 Sistema de iluminación de la muestra, con un microscopio

- Triple monocromador

Este tipo de sistema óptico conformado por tres monocromadores, permite un excelente rechazo de luz parásita, y además es posible medir líneas Raman extremadamente cercanas a la línea Rayleigh.

Hay dos configuraciones posibles: doble sustractiva o triple aditiva. El espectrómetro Raman del CEQUINOR cuenta con ambas posibilidades. La primera de ellas fue la utilizada en este trabajo, mientras que la configuración triple aditiva se utiliza para medidas de elevada resolución.

En el diagrama de la Figura 1.15 se representa la configuración doble sustractiva. La radiación policromática ingresa en el primer monocromador a través de una primera ranura (S_1) y es difractada por la primera red (Grating 1). La ranura de salida del primer monocromador (ranura de entrada del segundo monocromador, Grating 2) $S_{i1/2}$ selecciona un paso de banda entre λ_1 y λ_2 . La segunda red recombina todas las radiaciones difractadas en la ranura de salida $S_{i2/3}$ dando nuevamente un haz de radiación policromático, pero limitado solo al intervalo espectral entre λ_1 y λ_2 . Finalmente la radiación alcanza el tercer monocromador (Grating 3) que actúa como dispersor de la radiación que finalmente es enfocada hacia el detector. [7,8]

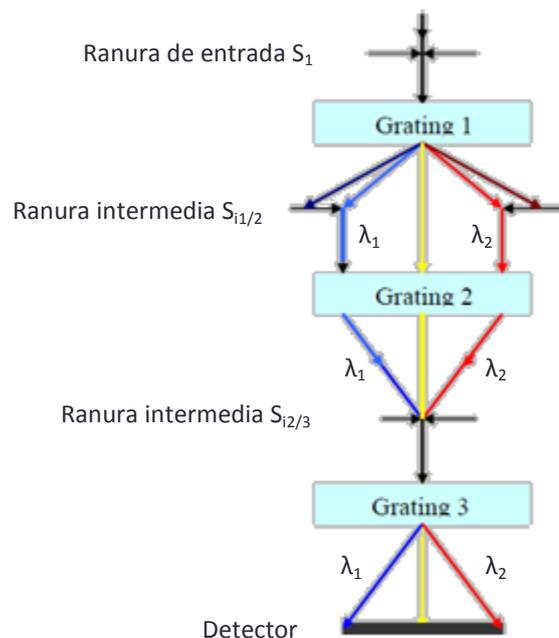


Figura 1.15 Triple monocromador: configuración doble sustractiva.

- Sistema de detección

Hasta comienzos de los años ochenta, los espectrómetros Raman empleaban fotomultiplicadores como detectores; sin embargo, en la actualidad, la mayoría de los espectrómetros que se comercializan presentan dispositivos de acoplamiento de carga, también conocidos como detectores CCD (charge-couple device). Este tipo de detector, pertenece a los de tipo de fotones multicanal: estos constan de una serie de pequeños elementos fotoeléctrico-sensibles dispuestos en una estructura lineal o bidimensional en un único chip semiconductor. El chip, que suele ser de silicio, también contiene los circuitos electrónicos que hacen posible determinar la señal de salida eléctrica de cada elemento fotosensible tanto secuencial como simultáneamente.

Para estudios espectroscópicos, estos detectores multicanal se suelen situar en el plano focal del espectrómetro para que los distintos elementos del espectro dispersado puedan ser detectados y medidos simultáneamente. El CCD funciona recogiendo las cargas fotogeneradas en distintas zonas de la superficie del transductor y posteriormente midiendo la cantidad de carga acumulada en un breve período de tiempo.

En resumen, el CCD detecta la señal difractada por el sistema monocromador y captura el espectro dispersado completo. La señal adquirida es digitalizada y transferida a una computadora; para esto, el CCD convierte fotones en carga eléctrica y guarda temporalmente esta carga, que finalmente es leída y convertida en cuentas por segundo.

Los componentes de ruido más importantes en un CCD son el ruido de lectura y la corriente de oscuridad. El primero se genera durante la lectura y digitalización de la señal, y para reducir su efecto es conveniente trabajar con tiempos largos de adquisición e intensidades de señal elevadas en vez de promediar un elevado número de lecturas. En cuanto al segundo componente de ruido, se genera térmicamente, y se debe a fluctuaciones de la carga en el

silicio del dispositivo cuando la radiación óptica de entrada es nula. Esta se puede disminuir enfriando el dispositivo con nitrógeno líquido.

1.6 Referencias

- [1] R. M. Romano, Tesis doctoral: “Preparación, estudios estructurales y espectroscópicos en compuestos N-sulfinilimínicos (R-NSO)”, Universidad Nacional de La Plata, **1998**.
- [2] E. Cortés, Tesis doctoral: “Construcción y propiedades de sistemas moleculares ensamblados sobre superficies lisas, nanoestructuradas y nanopartículas”, Universidad Nacional de La Plata, **2013**.
- [3] M. Fleischmann, P.J. Hendra, A.J. McQuillan; Raman Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode, *Chemical Physics Letters*, **1974**, 26 (2).
- [4] E. del Puerto Nevado, Tesis doctoral: “Detección y caracterización de quinacridonas de altas prestaciones mediante espectroscopias moleculares (Raman y fluorescencia) intensificadas por nanopartículas metálicas”, Universidad de Valladolid, **2012**.
- [5] R. Aroca, *Surface-enhanced Vibrational Spectroscopy*, John Wiley & Sons, **2006**.
- [6] D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman; *Principios de Análisis Instrumental*, Mc Graw Hill, quinta edición, **2001**.
- [7] D.P. Strommen, K- Nakamoto; *Laboratory Raman Spectroscopy*, John Wiley & Sons, **1989**.
- [8] T64000 User’s Training Course, Horiba Jobin Yvon.

Capítulo 2

Nanopartículas como
sustratos SER(R)S

2 - NANOPARTÍCULAS COMO SUSTRATOS SER(R)S

2.1 Introducción

El prefijo "nano" denota el orden de escala de 10^{-9} . En dimensiones espaciales, significa estar únicamente un orden de magnitud por encima de las dimensiones típicas de los diámetros atómicos, del orden del ångström ($1\text{Å} = 1 \times 10^{-10} \text{ m}$). Se define por lo tanto a los nanomateriales como aquellos materiales que tienen características estructurales de por lo menos una de sus dimensiones entre 1 y 100 nm.

De acuerdo al número de dimensiones del material que se encuentren en escala nanométrica, es posible realizar la siguiente clasificación de los nanomateriales:

- Materiales de tres dimensiones: esta categoría incluye los sólidos tridimensionales formados por unidades nanométricas.
- Materiales de dos dimensiones: con áreas de tamaño indefinido, mantienen su espesor entre 1 y 100 nm. Este es el caso de películas delgadas.
- Materiales de una dimensión: tienen una longitud variable conservando solo una dimensión en el orden de los nanómetros. Los nanoalambres y los nanotubos pertenecen a este grupo.
- Materiales de dimensión cero: en este caso las tres 3 dimensiones están en régimen nanométrico. A este grupo corresponden las nanopartículas.

Los materiales en la escala de los nanómetros exhiben propiedades físicas que difieren significativamente de aquellas del material masivo o macrométrico.[1]

En particular, las nanopartículas de plata (AgNPs) son materiales ampliamente estudiados, debido a sus propiedades funcionales únicas, las cuales conducen a aplicaciones variadas en las áreas de catálisis, fotónica de plasmones, medicina, biología y de especial interés en este trabajo final, su aplicación en la técnica de espectroscopia Raman o Raman resonante intensificadas por superficie, SER(R)S.[2] Además, estas propiedades diferenciadas dependen del tamaño o forma de las

nanopartículas, por lo que se han desarrollado una gran variedad de métodos para la síntesis.

2.2 Síntesis de nanomateriales

La manipulación de las condiciones de síntesis permite el control racional de la morfología de las nanopartículas y provee los medios para adaptar las propiedades de los nanomateriales durante el proceso de preparación. Otro aspecto fundamental de la síntesis de nanopartículas es su estabilización, de tal manera que pueda mantenerse su tamaño y su forma en función del tiempo.

Los avances en los procesos de síntesis han permitido el control preciso sobre los parámetros estructurales que gobiernan la formación de los nanomateriales, lo que ha posibilitado adaptar las propiedades de los mismos de acuerdo con su uso específico. Los métodos de síntesis de nanomateriales suelen agruparse en dos categorías: las aproximaciones top-down o «de arriba hacia abajo» y las bottom-up o «de abajo hacia arriba». Ambos presentan tanto ventajas como desventajas. [1]

En el método descendente, o de arriba hacia abajo, se comienza de una pieza de material base de la cual se remueve la fracción que no es requerida hasta conseguir la forma deseada. Para lograr tal objetivo existen diversas técnicas que pueden ser tanto químicas como mecánicas. En el último caso se obtienen nanomateriales con superficies imperfectas, y hasta se pueden llegar a observar daños cristalográficos significativos.

El método de abajo hacia arriba, también conocido como ascendente, consiste en la construcción del nanomaterial átomo por átomo o molécula por molécula, dando como resultado nanomateriales con menos imperfecciones superficiales y con una composición química más homogénea. [3]

2.2.1 Métodos descendentes, “de arriba hacia abajo” o top-down

A continuación se mencionan los métodos descendentes más representativos:

- Molienda: se realiza la molienda de partículas de tamaño macro o micrométrico, mediante molinos de alta eficiencia. Las partículas resultantes se clasifican por medios físicos, recuperándose las de tamaño nanométrico.
- Depósito químico en fase vapor: se produce el depósito de un sólido, como producto de las reacciones químicas entre los reactivos en estado gaseoso sobre una superficie que se encuentra a una elevada temperatura. Este tipo de reacciones pueden activarse por diferentes vías (llama, horno eléctrico, láser, plasma, etc) y pueden ser de carácter homogéneo si se producen en fase gaseosa, y/o heterogéneo, si se producen cerca de la superficie caliente. Como resultado se obtienen polvos o películas delgadas, respectivamente.
Este método requiere el uso de reactores y/o sistemas de vacío sofisticados.
- Preparación de clusters gaseosos: en esta técnica se utiliza un láser pulsado de alta potencia para producir vapores atómicos metálicos que son transportados con un gas inerte para ser depositados posteriormente sobre un sustrato, bajo condiciones de ultra alto vacío.
- Evaporación térmica: consiste en el calentamiento del material que se pretende depositar, hasta alcanzar la evaporación del mismo. El procedimiento se lleva a cabo en una cámara de vacío en la que se condensa el vapor sobre una lámina fría, controlando en todo momento que las condiciones de crecimiento sean tales que no se produzca modificación de la morfología de la capa depositada.
- Implantación de iones: consiste en que los iones de un material puedan ser implantados en un sólido (sustrato), cambiando como resultado las propiedades fisicoquímicas de este último, ya que el o los iones implantados pueden ser de un elemento distinto al que lo compone.

También pueden causar cambios estructurales en el sólido implantado, puesto que la estructura cristalina del objetivo puede ser dañada. La implantación de los iones requiere de una fuente de iones, un acelerador electrostático mediante el cual los iones alcanzan una energía elevada, y una cámara donde estos impactan sobre el objetivo (sustrato).

2.2.2 Métodos ascendentes, “de abajo hacia arriba” o bottom-up

Dentro del grupo de métodos ascendentes, los más utilizados son aquellos que emplean procedimientos químicos. En general, estos inician con la reducción de iones metálicos a átomos metálicos, seguido por una etapa de crecimiento que consta de la agregación controlada de estos átomos.

Los métodos ascendentes más representativos son:

- Método coloidal: es un método eficiente para la producción de nanopartículas. En el mismo se disuelve una sal del precursor metálico a preparar, un reductor y un estabilizante en una fase continua o dispersante (un líquido). En algunos casos una misma sustancia puede actuar simultáneamente como reductor y estabilizante.

El tamaño promedio, la distribución de tamaños y la morfología de las nanopartículas pueden controlarse mediante la variación de los reactivos y del estabilizante así como la naturaleza del medio dispersante.

- Reducción fotoquímica y radioquímica: en estos casos se modifica el sistema químico por medio de altas energías, como resultado de la generación de reductores fuertes altamente activos (especies excitadas, radicales y electrones solvatados).

La reducción fotoquímica (fotólisis) y la radicación química (radiólisis) difieren en el nivel de energía utilizado. En el primer caso la formación

de reductores se induce por exposición a radiación UV, mientras que en el segundo caso se induce mediante rayos gama de alta energía.

Debido a la generación del reductor in situ, estos métodos producen nanopartículas de alta pureza, si se compara con aquellos métodos en los que se utilizan reductores químicos. Además, permiten producir nanopartículas en condiciones de estado sólido y a bajas temperaturas.

- Irradiación con microondas: esta técnica produce nanopartículas con una distribución de tamaño muy estrecha, aunque no se logra un control muy preciso en cuanto a la morfología.

Las microondas actúan como campos eléctricos de alta frecuencia, siendo capaces de calentar cualquier material conteniendo cargas eléctricas, tales como las moléculas polares en un solvente o iones conductores en un sólido. Este calentamiento es una alternativa atractiva para la síntesis de nanomateriales, ya que el proceso de calentamiento es muy rápido, uniforme y efectivo; y permite incrementar las cinéticas de reacción en uno o dos órdenes de magnitud.

- Utilización de dendrímeros: la síntesis de nanopartículas puede llevarse a cabo dentro de nanorreactores tales como micelas, emulsiones y dendrímeros (macromoléculas tridimensionales de construcción arborescente) permitiendo la obtención de partículas de tamaño y forma definidos. El tamaño de los dendrímeros varía de 2 a 15 nm y representan nanorreactores naturales. Los grupos terminales de los dendrímeros pueden ser modificados para variar las características de las nanopartículas obtenidas; pudiendo ser estar monometálicas o bimetálicas.
- Síntesis solvotermal: a esta clasificación pertenecen varias técnicas en la que un precursor metálico disuelto en un líquido y contenidos en un recipiente cerrado, se calienta por encima de su punto de ebullición, lo que genera una presión superior a la atmosférica. En este tipo de técnicas, el objetivo es lograr una mejor disolución de los componentes de un sistema y/o hacer reaccionar especies muy poco solubles en

condiciones habituales. En estos métodos generalmente los tiempos de reacción son largos.

- Método sol-gel: es un proceso químico en fase húmeda ampliamente utilizado para fabricar nanomateriales, generalmente óxidos metálicos. Se inicia la síntesis con un sol (suspensión estable de partículas sólidas coloidales en un líquido) que actúa como precursor de una red integrada de partículas discretas o de polímeros. Los precursores sufren varias reacciones de hidrólisis y policondensación para formar una dispersión coloidal, que luego de una polimerización lenta forma un gel (red sólida tridimensionalmente porosa interconectada que se expande hasta obtener una conformación estable en medio líquido, y sólo se ve limitada por el tamaño del contenedor). Finalmente este material es deshidratado completamente para obtener el material final nanoestructurado.

Este método permite preparar una gran variedad de materiales nanoestructurados, y es particularmente atractivo porque involucra procesos a baja temperatura y los productos son de alta pureza y homogeneidad.

2.3 Selección de los métodos para la preparación de las nanopartículas de plata

Dentro de los métodos para la síntesis de nanomateriales, los agrupados dentro de la clasificación descendente son generalmente, utilizados para la preparación de films delgados, o bien de nanopartículas soportadas sobre sustratos. Además de esto, exceptuando la molienda, las técnicas pertenecientes a este grupo, requieren de instrumentación compleja que las hace costosas, y solo se encuentran disponibles en los laboratorios que se dedican al estudio específico de nanomateriales. Es por este motivo que este tipo de métodos de preparación no fueron considerados para la síntesis del sustrato a emplear en las medidas SER(R)S.

Por el contrario, las técnicas ascendentes o “de abajo hacia arriba” son habitualmente aplicadas a la síntesis de nanopartículas, motivo por el cual los métodos para la preparación de nanopartículas seleccionados en este trabajo pertenecen a esta clasificación.

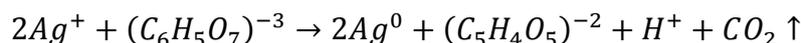
Dentro de las distintas posibilidades, se optó por el método coloidal dado que es uno de los más estudiados, simples y que requieren tanto de instrumental como de reactivos de fácil acceso y disponibilidad en cualquier laboratorio. En la literatura se reportan numerosas alternativas de este método, como se describe en las referencias 4 a 13. Los métodos seleccionados para la síntesis de nanopartículas de plata fueron los conocidos como método de Lee-Meisel y método de Creighton, en los que los iones Ag^+ son reducidos a Ag empleándose como agentes reductores citrato de sodio y borohidruro de sodio, respectivamente.

2.3.1 Síntesis de nanopartículas de plata por el método de Lee-Meisel

En el método original, Lee y Meisel reportaron la preparación de nanopartículas de plata, según el cual se disuelve la sal nitrato de plata en agua y se lleva la solución así obtenida a ebullición. En una segunda etapa se realiza el agregado de una solución de citrato de sodio de concentración 1%p/p, y se mantiene en ebullición por aproximadamente una hora. [11]

El escaso detalle de las condiciones experimentales dio lugar a variantes del método propuesto, en lo que refiere a concentraciones de los reactivos, temperaturas alcanzadas y velocidad de agitación, de agregado del reductor, y de enfriamiento.

La reacción involucrada puede describirse por la siguiente ecuación, propuesta en la referencia [8]:

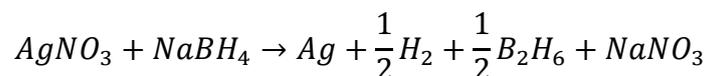


2.3.2 Síntesis Ag-NPs por el método de Creighton

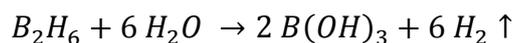
Creighton y colaboradores reportaron la preparación de nanopartículas de plata según el siguiente procedimiento: se reduce una solución de nitrato de plata de concentración $1 \times 10^{-3} \text{M}$ con un exceso de una solución de borohidruro de sodio de concentración $2 \times 10^{-3} \text{M}$ enfriada en un baño de agua-hielo. Las soluciones de estas sales se mezclan rápidamente con agitación vigorosa. [13]

A partir de este método de síntesis, surgieron con posterioridad una serie de modificaciones del mismo, tales como cambios en el modo de mezcla de las soluciones de AgNO_3 y NaBH_4 , y velocidad de agitación. Sin embargo, no fue posible modificar la concentración relativa de los reactivos, dado que llevaba a la inestabilidad de la dispersión de nanopartículas obtenida. [14]

La reacción involucrada puede describirse por la siguiente ecuación, propuesta en la referencia [10]:



Inmediatamente el diborano, B_2H_6 , sufre un proceso de hidrólisis:



2.4 Referencias

- [1] G. Cao, Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis, Properties & Applications, Imperial College Press, **2004**.
- [2] J. Morales, J. Morán, M. Quintana, W. Estrada; Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta Sol-Gel a partir de nitrato de plata; Revista de la Sociedad Química del Perú, **2009**, 75 (2).

- [3] R. Zanella, Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño, *Mundo Nano: Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* (Universidad Nacional Autónoma de México), **2012**, 5 (1).
- [4] R.Geethalakshmi, D.V.L. Sarada; Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using *Trianthema decandra* extract and evaluation of their anti microbial activities, *International Journal of Engineering Science and Technology*, **2010**, 2 (5).
- [5] R. Stiufiuc, C. Iacovita, C.M. Lucaciu, G. Stiufiuc, A.G. Dutu, C. Braescu, N. Leopold; SERS-active silver colloids prepared by reduction of silver nitrate with short-chain polyethylene glycol, *Nanoscale Research Letters*, **2013**, 8 (47).
- [6] B. Zhang, P. Xu, X. Xie, H. Wei, Z. Li, N.H. Mack, X. Han, H. Xu, H.L. Wang; Acid-directed synthesis of SERS-active hierarchical assemblies of silver nanostructures, *Journal of Materials Chemistry*, **2011**, 21 (8).
- [7] M. Fan, A.G. Brolo; Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2009**, 11.
- [8] F.A. McClary, S. Gaye-Campbell, A.Y. Hai Ting, J.W. Mitchel; Enhanced localized surface plasmon resonance dependence of silver nanoparticles on the stoichiometric ratio of citrate stabilizers, *Journal of Nanoparticles Research*, **2013**, 15.
- [9] D. Lierop, Ž. Krpetić, L. Guerrini, I. A. Larmour, J. A. Dougan, K. Faulds, D.Graham; Positively charged silver nanoparticles and their effect on Surface-enhanced Raman scattering of dye-labelled oligonucleotides, *The Royal Society of Chemistry*, **2012**.
- [10] S.D. Solomon, M. Bahadory, A.V. Jeyarajasingam, S.A. Rutkowsky, C. Boritz; Synthesis and Study of Silver Nanoparticles, *Journal of Chemical Education*, **2007**, 84 (2).
- [11] P.C. Lee, D. Meisel; Adsorption and Surface-Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols, *Journal of Physical Chemistry*, **1982**, 86.
- [12] I.E. Pavel, K.S. Alnajjar, J.L. Monahan, A. Stahler, N.E. Hunter, K.M. Weaver, J.D. Baker, A.J. Meyerhoefer, D.A. Dolson; Estimating the Analytical and Surface

Enhancement Factors in Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS): A Novel Physical Chemistry and Nanotechnology Laboratory Experiment, *Journal of Chemical Education*, **2012**, 89.

[13] J.A. Creighton, C.G. Blatchford, M.G. Albrecht; Plasma Resonance Enhancement of Raman Scattering by Pyridine Adsorbed on Silver or Gold Sol Particles of Size Comparable to the Excitation Wavelength, *Journal of the Chemical Society*, **1979**, 75.

[14] G.C. Weaver, K. Norrod; A Novel Physical Chemistry Experiment for the Undergraduate Laboratory, *Journal of Chemical Education*, **1998**, 75 (5).

Capítulo 3

Detección de cationes
metálicos



3 - DETECCIÓN DE CATIONES METÁLICOS

3.1 Introducción

Las espectroscopias Raman y Raman resonante intensificadas por superficie son técnicas con una amplia aplicabilidad a la detección de analitos presentes en muestras a nivel de trazas por ser las mismas ultrasensibles. Aunque se han reportado muchos ejemplos, los mismos corresponden mayoritariamente a compuestos orgánicos.

La detección de iones metálicos no es factible mediante espectroscopias Raman, dado que un único átomo no posee un espectro vibracional. Sin embargo, es posible realizarla indirectamente añadiendo una etapa de complejación del ión con un ligando.

En este trabajo se optó por emplear complejos formados por un catión perteneciente a los metales de transición, y ligandos pertenecientes a la familia de los xantatos. La elección de los ligandos fue realizada en base a la experiencia de los integrantes del grupo de investigación en la síntesis de tales complejos y por otro lado, por la importancia de contar con una técnica aplicable a detección de metales nocivos para la salud a nivel de trazas, como es el caso del níquel. En particular, el ligando y el complejo de coordinación elegidos están siendo extensamente estudiado por la Lic. Luciana Juncal, quien desarrolla la última etapa de su trabajo doctoral en el grupo de investigación en el que se realizó este trabajo. [1]

3.2 Selección del metal

El níquel es uno de los metales traza ampliamente distribuidos en el medio ambiente, siendo éste liberado tanto por fuentes naturales como por actividades antropogénicas. Las fuentes naturales de níquel incluyen emisiones volcánicas, incendios forestales, polvo arrastrado por el viento, derivados de la erosión de rocas y suelo; mientras que las fuentes antropogénicas resultan de la combustión de carbón y

combustibles derivados del petróleo, incineración de desechos, y aguas residuales, entre otros.

Las concentraciones de níquel puede variar considerablemente en el intervalo de $1,7 \times 10^{-10}$ M y $1,3 \times 10^{-5}$ M en aire, dependiendo de las áreas, y en el agua potable generalmente contiene concentraciones menores a $1,7 \times 10^{-7}$ M [2]. Dado que la exposición humana a ambientes contaminados con níquel puede producir una gran variedad de efectos patológicos (alergias de la piel, fibrosis pulmonar, cáncer del tracto respiratorio) [3,4] y considerando los bajos valores de concentración, la aplicación de espectroscopia Raman intensificada por superficie es de especial interés.

3.3 Selección del ligando

Como se mencionó anteriormente, se seleccionó como ligando para complejar al catión metálico un anión perteneciente a la familia de los xantatos. Los xantatos son sales con la fórmula general $\text{ROC(S)}\text{S}^-\text{M}^+$, siendo R: alquilo y M^+ : Na^+ , K^+ (Figura 3.1). Su nombre deriva del griego *xanthos*, que significa amarillo, y se debe a que la mayoría de estos presentan tal coloración. IUPAC recomienda no usar esta nomenclatura, y denominarlos ditiocarbonatos.

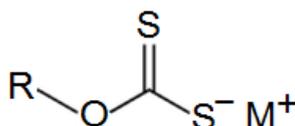


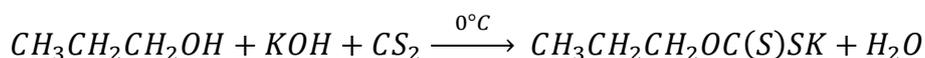
Figura 3.1 Estructura química general de los xantatos

Estos compuestos se utilizan habitualmente como agentes colectores en el proceso de flotación de minerales, ya que actúan como ligandos donores a través de los átomos de azufre, pudiendo presentar diferentes patrones de coordinación. [5] En este caso se optó por el n-propilxantato de potasio, teniendo en cuenta cuestiones relacionadas a la solubilidad, que se abordarán posteriormente.

3.3.1 Síntesis del ligando $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC(S)SK}$

Para la preparación del n-propilxantato de potasio, se disolvió lentamente bajo agitación magnética constante 2,8050 g (50 mmoles) de hidróxido de potasio, KOH, en 30,40 ml (400 mmoles) de n-propanol, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$. Una vez lograda la disolución completa, se colocó en un baño de agua-hielo para disminuir la temperatura hasta 0°C aproximadamente (Figura 3.2). Al alcanzar el equilibrio térmico, se adicionó gota a gota 3,00 ml (50 mmoles) de sulfuro de carbono, CS_2 . Durante este proceso se observó la aparición de coloración amarillo pálido y la posterior formación de una masa densa.

La reacción involucrada puede describirse mediante la siguiente ecuación:



Durante la purificación, se eliminó el exceso de solvente por filtración con vacío en embudo Buchner, y a continuación se recrystalizó el sólido: se disolvió el mismo en el menor volumen posible de acetona, $\text{CH}_3\text{C(O)CH}_3$, y luego se precipitó por agregado de éter etílico, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$. El sólido purificado se filtró nuevamente con vacío en embudo Buchner lavando con éter etílico frío. De las aguas madres obtenidas en las filtraciones previas, se recuperó sólido por repetición de la recrystalización, previa evaporación de los solventes en rotavapor.

El n-propilxantato de potasio obtenido, sólido de color amarillo pálido y olor desagradable, se almacenó a baja temperatura en frasco seco y al resguardo de la humedad para evitar su descomposición característica. [5]



Figura 3.2 Disposición del material utilizado para la síntesis del ligando

3.3.2 Caracterización del ligando $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC(S)SK}$

La identificación y pureza del n-propilxantato de potasio se verificó por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier a temperatura ambiente, preparando pastillas de bromuro de potasio, KBr, para medir la región de 4000 a 400 cm^{-1} . Además se realizó un espectro Raman convencional de una solución acuosa del mismo. La pureza de la muestra fue evaluada por comparación con espectros obtenidos por L.C. Juncal. [1]

3.4 Complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC(S)S})_2$

La química del níquel (I) y níquel (III) es bien conocida, y complejos con níquel en estados de oxidación +1 y +3 han sido reportados hace varios años. Sin embargo, el níquel con estado de oxidación +2 ha dominado tanto la industria como la literatura científica. Los complejos de Ni(II) poseen una configuración electrónica d^8 y presentan típicamente geometrías cuadrada plana u octaédrica. En el caso del complejo formado entre Ni(II) y el n-propilxantato, la geometría es cuadrada plana y la configuración electrónica es d^8 de bajo espín. [6]

3.4.1 Síntesis del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$

La preparación del complejo puede llevarse a cabo mediante una reacción de precipitación cuantitativa a partir de una solución acuosa del ligando y otra solución acuosa de cualquier sal de Ni(II) soluble en agua, tal como se indica para la síntesis del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}(\text{S})\text{S})_2$ en literatura. [6]

Se pesó 0,7130 g (3 mmoles) de cloruro de níquel (II) hexahidratado, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, y se disolvió en 24 ml de agua destilada con agitación magnética. Una vez logrado esto se colocó la solución en baño de agua hielo y se añadió lentamente una solución de n-propilxantato de potasio preparada previamente por pesada de 1,0430 g (6 mmoles) del ligando y disolución en 24 ml de agua destilada. La disposición del material se presenta en la Figura 3.3a. Durante este proceso, en el que se mantuvo la agitación, se observó la aparición de un precipitado verde amarronado.

Luego de una hora, se procedió al aislamiento y purificación del complejo por filtración en embudo Buchner con vacío (enjuagando el sólido con agua milli Q a 0°C) y posterior cristalización por disolución en acetona, filtración en embudo cónico y evaporación del solvente bajo campana. Los cristales de producto final purificado (Figura 3.3b), de coloración verde oliva, se almacenaron en freezer, cerrados herméticamente, para su conservación.

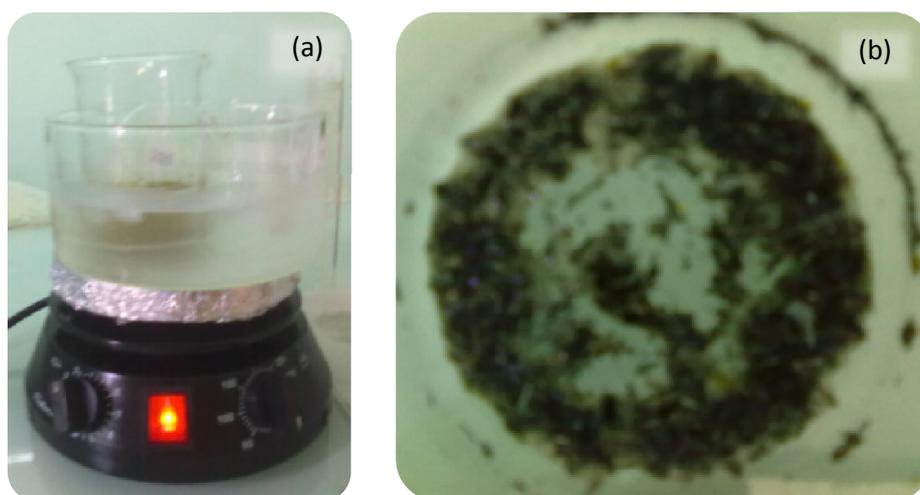


Figura 3.3 Complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}(\text{S})\text{S})_2$: a) Disposición del material utilizado para la síntesis. b) Cristales del producto purificado.

3.4.2 Caracterización del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$

La identificación y determinación de la pureza del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ se verificó por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier a temperatura ambiente y preparando pastillas de bromuro de potasio, KBr para medir la región de 4000 a 400 cm^{-1} . También se realizó un espectro Raman convencional de una muestra sólida del mismo, con el fin de identificar las bandas características del mismo. La pureza de la muestra fue evaluada por comparación con los espectros obtenidos en la referencia [1].

3.5 Referencias

- [1] L.C. Juncal, Tesis doctoral (en curso).
- [2] V.Bencko, Nickel: A review of its occupational and environmental toxicology, *Journal of Hygiene Epidemiology Microbiology and Immunology*, 1983, 27 (2).
- [3] K.S. Kasprzak, F.W. Sunderman, K. Salnikow; Nickel carcinogénesis, *Mutation Research*, **2003**, 533.
- [4] J.J. Cott Fordsmand, Toxicity of nickel to soil organisms in Denmark, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **1997**, 148.
- [5] Y. A. Tobón Correa, Tesis doctoral: “Estudio vibracional, conformacional y teórico de moléculas sulfenilcarbonílicas, sulfeniltiocarbonílicas y relacionadas”, Universidad Nacional de La Plata, **2008**.
- [6] A. Piquette, The Fabrication of Nanometric Metal Sulfides from Xanthate Precursors, ProQuest, **2007**.

Capítulo 4

Preparación de muestras
para la medida de
espectros Raman

4 - PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA LA MEDIDA DE ESPECTROS RAMAN

4.1 Selección del analito para la evaluación de la capacidad de las AgNPs para producir efecto SERS

Con el fin de evaluar la capacidad de las dispersiones de nanopartículas de producir intensificación de las señales Raman de una muestra, se seleccionaron como analito de prueba moléculas pertenecientes a la familia de las rodaminas. Estos son compuestos orgánicos heterocíclicos fluorescentes, empleados habitualmente como sustancias sonda para testear la eficiencia de amplificación de nanosustratos, ya que presentan un fuerte efecto de resonancia cuando se excita con radiación de energía correspondiente a su banda de absorción en el visible.

La estructura general de las rodaminas se presenta en la Figura 4.1.

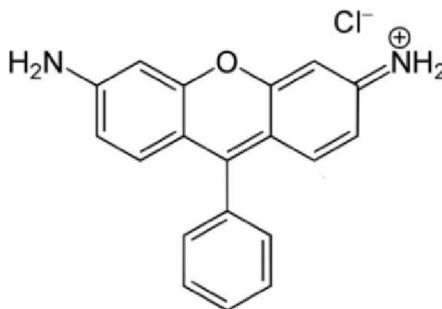


Figura 4.1 Estructura general de las rodaminas

Para evaluar la capacidad de las nanopartículas sintetizadas por el método de Lee-Meisel como sustratos SERS se seleccionó como analito de prueba a la rodamina B. La estructura y espectro UV-visible de la misma se presentan en la Figura 4.2 a) y b), respectivamente. El espectro UV-Visible se tomó de una solución acuosa del analito de concentración $1,00 \times 10^{-6}$ M, empleando agua milli Q para realizar la línea de base.

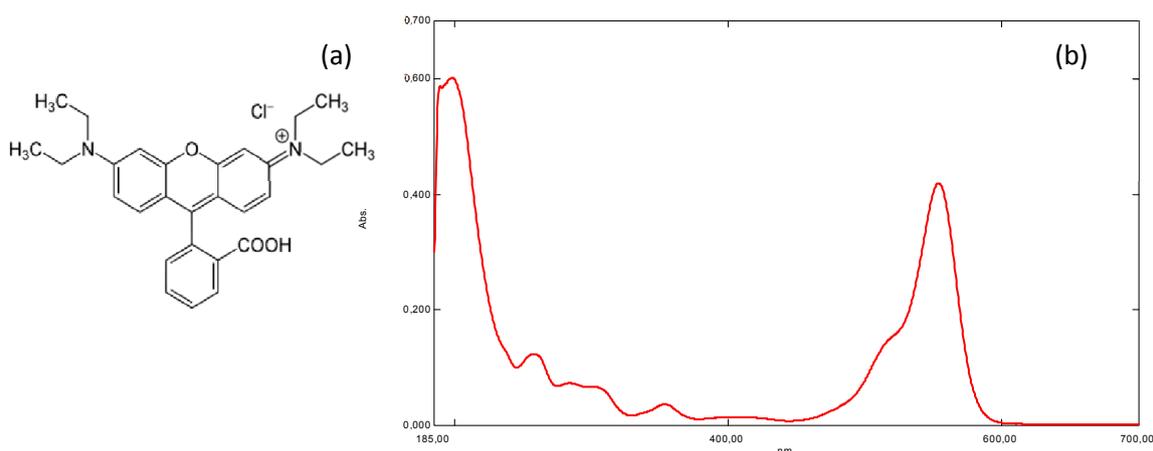


Figura 4.2 Rodamina B: a) Estructura química y b) espectro UV-Visible.

Las muestras que se prepararon fueron:

- Dilución de la dispersión de nanopartículas obtenidas luego de la síntesis (1,25 ml en 10,00 ml).
- Solución acuosa de rodamina B aproximadamente 1×10^{-3} M
- Solución acuosa de rodamina B aproximadamente 1×10^{-6} M
- Dilución de la dispersión de nanopartículas + solución acuosa de rodamina B (concentración final del orden de 1×10^{-6} M) + solución acuosa de KBr como agente agregante (concentración final 5×10^{-2} M)
- Dilución de la dispersión de nanopartículas + solución acuosa de rodamina B (concentración final del orden de 1×10^{-6} M) + agua milli Q (en reemplazo del volumen de la solución de agente agregante)

Para la preparación de las muestras de rodamina B en presencia de las nanopartículas de plata, se modificó el procedimiento descrito por I. E. Pavel y colaboradores [1]. Inicialmente se realizó una dilución de la dispersión de nanopartículas obtenidas empleando 1,25 ml de dicha dispersión en un volumen final de 10,00 ml. Sobre 1,00 ml de la dispersión diluida se añadieron 0,90 ml de la solución de rodamina B y 0,10 ml de solución de agente agregante (KBr) o agua milli Q, según la muestra en cuestión.

Previamente, se preparó una solución acuosa de KBr, de concentración 1,00 M y las soluciones de rodamina B, de concentraciones $1,00 \times 10^{-3}$ M y $2,0 \times 10^{-6}$ M. Estas soluciones fueron empleadas para la preparación de las muestras.

Se procedió de forma similar para la preparación de muestras con el fin de evaluar la capacidad de las nanopartículas sintetizadas por el método de Creighton para actuar como sustratos SERS. Se seleccionó como analito de prueba a la rodamina 6G, sugerida por I. E. Pavel y colaboradores, [1] bibliografía adoptada para la preparación de las muestras. La estructura y espectro UV-visible de la rodamina 6G se presentan en la Figura 4.3 a y b, respectivamente. El espectro UV-Visible se tomó de una solución acuosa del analito de concentración $1,962 \times 10^{-5}$ M, empleando agua milli Q para realizar la línea de base.

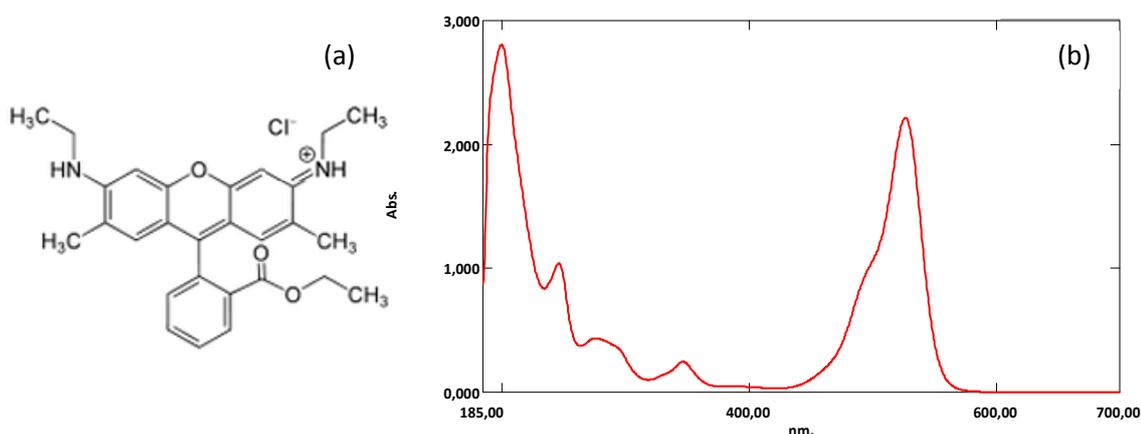


Figura 4.3 Rodamina 6G: a) Estructura química y b) espectro UV-Visible.

Las muestras que se prepararon fueron:

- Dispersión de nanopartículas obtenidas luego de la síntesis (sin dilución).
- Solución de rodamina 6G aproximadamente 1×10^{-3} M.
- Solución de rodamina 6G aproximadamente 1×10^{-6} M.
- Dispersión de nanopartículas + solución acuosa de rodamina 6G (concentración final del orden de 1×10^{-6} M) + solución acuosa de KBr como agente agregante (Concentración final 5×10^{-2} M).

- Dispersión de nanopartículas + solución acuosa de rodamina 6G (concentración final del orden de 1×10^{-6} M) + agua milli Q (En reemplazo de la solución de agente agregante).

Para la preparación de las muestras, al igual que en el caso de las preparadas a partir de las soluciones de nanopartículas sintetizadas por el método de Lee-Meisel descrito anteriormente, se empleó el procedimiento sugerido por I. E. Pavel y colaboradores [1] con algunas modificaciones. Sobre 1,00 ml de la dispersión de nanopartículas (sin diluir), se añadieron 0,90 ml de la solución de rodamina 6G y 0,10 ml de solución de agente agregante (KBr) o agua milli Q, según la muestra.

Previamente, se preparó la solución acuosa de KBr, de concentración 1,00 M y soluciones de rodamina 6G de concentraciones $9,81 \times 10^{-4}$ M y $2,0 \times 10^{-6}$ M, las que fueron empleadas para la preparación de las muestras.

4.2 Muestras para la detección de cationes metálicos

4.2.1 Ensayos previos con el complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$

La preparación de las muestras del complejo de Ni(II) en presencia de nanopartículas constituyó un punto crítico en el trabajo, ya que se debió buscar una relación de compromiso entre la solubilidad del complejo y la estabilidad de las nanopartículas. Por este motivo no fue posible la preparación de las muestras del complejo tal como se realizó cuando se emplearon rodamina B y 6G como analitos.

Por un lado, el complejo resultó soluble en acetona y metanol e insoluble en agua, medio en el que se preparó la dispersión de nanopartículas. Por otro, se conoce que el cambio en la constante dieléctrica del medio, al igual que en la fuerza iónica, puede afectar la estabilidad de las dispersiones de nanopartículas, causando la agregación de las mismas. Por este motivo se decidió realizar ensayos de estabilidad del sistema coloidal ante la adición de distintos volúmenes de los solventes metanol y acetona, así como también ensayos de solubilidad del complejo en mezclas de acetona-agua y metanol-agua, con el fin de compatibilizar los sistemas.

Para los ensayos de agregación de nanopartículas ante el cambio de la constante dieléctrica del medio, se colocaron en tubos de ensayo 1,00 ml de la dispersión de nanopartículas de plata tal como se obtuvo luego de la reacción, y se añadieron alícuotas de 0,50 ml de metanol o acetona, prestando especial atención a los cambios de coloración ante cada alícuota de solvente agregada. Por medio de este ensayo, se encontró que el metanol comenzaba a agregar las nanopartículas al adicionar un volumen de 2,50 ml, ya que comenzó a oscurecerse la coloración amarilla de la dispersión. Al añadir 4,00 ml de solvente se observó una coloración grisácea característica de la plata macrométrica, lo que indicó la agregación completa de la suspensión. Por el contrario, al adicionar acetona no se produjo agregación de las nanopartículas ante el agregado de un volumen total de 12,00 ml. Esto pudo confirmarse por la permanencia de la coloración amarilla de la solución, que si bien disminuía su intensidad, esto se debía a la dilución de las mismas (Figura 4.4).



Figura 4.4 Ensayos de agregación de AgNPs:
Acetona (izquierda) y metanol (derecha)

Aprovechando la estabilidad de las nanopartículas de plata en mezclas acetona-agua, se decidió verificar la solubilidad del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}(\text{S})\text{S})_2$, objeto de estudio, en la misma mezcla de solventes. Para esto se prepararon soluciones del complejo de níquel en acetona pura, de diferentes concentraciones: se preparó una solución de concentración $\sim 2 \times 10^{-3}$ M por pesada del complejo y disolución en acetona,

y a partir de esta se realizaron diluciones hasta llegar a una solución de concentración $\sim 2 \times 10^{-6}$ M. A continuación, se colocó un volumen de 0,50 ml en un tubo de ensayo y se añadió un volumen igual de agua milli Q, no observando precipitación del complejo.

Por último, se verificó la estabilidad de las nanopartículas y la solubilidad del complejo al preparar el sistema AgNP-complejo en mezclas acetona-agua a diferentes concentraciones del complejo. Para esto se procedió del mismo modo que en los ensayos de solubilidad del complejo en mezclas acetona-agua (50:50), pero reemplazando el volumen de agua por el mismo volumen de la dispersión de nanopartículas. Se realizó el ensayo para las concentraciones extremas preparadas, sin observar formación de precipitado ni agregación de nanopartículas. De este modo se concluyó que es posible preparar las muestras para las medidas SERS en mezclas acetona-agua 50:50 para las mismas concentraciones empleadas con la rodamina 6G (menores o iguales a 1×10^{-3} M).

4.2.2 Preparación de las muestras conteniendo el complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$

Las muestras que se prepararon fueron:

- Solución del complejo en acetona-agua (50:50) aproximadamente 1×10^{-3} M.
- Solución del complejo en acetona-agua (50:50) aproximadamente 1×10^{-6} M.
- Dispersión de nanopartículas (síntesis de Creighton) + solución del complejo en acetona (concentración final del orden de 1×10^{-3} M).
- Dispersión de nanopartículas (síntesis de Creighton) + solución del complejo en acetona (concentración final del orden de 1×10^{-6} M).

Para la preparación de las muestras descritas fue necesario preparar dos soluciones del complejo en acetona pura, una de concentración $2,01 \times 10^{-3}$ M, y a partir esta otra de concentración $2,0 \times 10^{-6}$ M mediante diluciones consecutivas. A partir de cada una de estas se prepararon dos muestras, una para medida Raman convencional adicionando 1,00 ml de agua milli Q a 1,00 ml de la solución del complejo y otra para medida SER(R)S adicionando 1,00 ml de la dispersión acuosa de nanopartículas a 1,00

ml de la solución del complejo. De este modo, el solvente de las cuatro muestras resultó ser una mezcla de agua y acetona en una relación 50:50.

4.3 Manipulación de las muestras

Para la medida experimental de los espectros Raman correspondientes a cada una de las muestras preparadas como se detalló previamente, las mismas se cargaron en capilares de vidrio de 1,40mm de diámetro interno. Para esto se puso en contacto uno de los extremos del capilar con la muestra, permitiendo que la misma ascienda por capilaridad (con un centímetro de ascenso, o incluso menos resulta suficiente). A continuación se inclinó el capilar de modo que la solución se ubique en el centro del mismo, y se cerraron ambos extremos empleando la llama de un encendedor o mechero. Este procedimiento se muestra en la Figura 4.5.



Figura 4.5 Llenado y sellado de tubos capilares para contener las muestras.

Finalmente se dispusieron los capilares cargados, con su identificación correspondiente, en un portaobjetos, como se muestra en la Figura 4.6, para facilitar la

ubicación en la platina del microscopio confocal del que dispone el espectrómetro Raman.



Figura 4.6 Disposición de los capilares conteniendo las muestras sobre un portaobjetos

4.4 Referencias

[1] I.E. Pavel, K.S. Alnajjar, J.L. Monahan, A. Stahler, N.E. Hunter, K.M. Weaver, J.D. Baker, A.J. Meyerhoefer, D.A. Dolson; Estimating the Analytical and Surface Enhancement Factors in Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS): A Novel Physical Chemistry and Nanotechnology Laboratory Experiment, *Journal of Chemical Education*, **2012**, 89.

Capítulo 5

Resultados y discusión



5 - RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Nanopartículas de plata (AgNPs)

5.1.1 Preparación de AgNPs

Las nanopartículas de plata se prepararon por dos métodos de reducción químicos. A continuación se describirán los detalles experimentales.

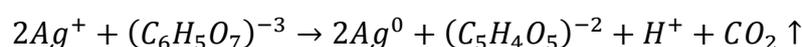
5.1.1.1 Preparación de AgNPs por el método de Lee-Meisel

En la síntesis se utilizó agua milli Q y material de vidrio lavado previamente con agua regia (HCl(c):HNO₃(c) 3:1), para evitar que residuos metálicos, iones y materia orgánica posiblemente presentes produzcan la agregación de las nanopartículas o actúen como sitios de nucleación y/o crecimiento de las mismas.

Se preparó una solución acuosa de nitrato de plata, AgNO₃, de concentración 1,00 mM y se colocaron 200 ml de la misma en un balón de doble boca. Este se recubrió con papel aluminio para proteger de la luz a la mezcla de reacción, y se ubicó dentro de un baño de glicerina dispuesto sobre una platina calefactora. En una de las bocas se colocó un refrigerante y en la otra un tapón de vidrio. Se procedió al calentamiento a ebullición manteniendo agitación magnética vigorosa (Figura 5.1a).

Una vez alcanzada la ebullición de la solución de nitrato de plata, se añadieron rápidamente 8,00 ml de solución de citrato de sodio, Na₃C₆H₅O₇, de concentración 1,00 %p/v preparada con anterioridad. La mezcla de reacción se mantuvo a ebullición hasta observar coloración amarilla con apariencia luminiscente, momento en el cual se detuvo el calentamiento. Manteniendo la agitación se dejó que la mezcla de reacción se enfríe hasta llegar a temperatura ambiente. [1]

Como se mencionó en el Capítulo 2, la reacción involucrada puede describirse por la siguiente ecuación [2]:



Esto es consistente con la formación de pequeñas burbujas observadas durante la reacción, que pueden atribuirse a la liberación de dióxido de carbono gaseoso.

La solución de nanopartículas obtenida, de coloración amarilla/verdosa con aspecto turbio (Figura 5.1b), se almacenó en ambiente fresco y protegido de la luz para evitar su agregación.

La síntesis debió realizarse varias veces para poner a punto la misma y establecer las condiciones óptimas, en lo que se refiere a la limpieza del material de vidrio, protección de la luz (por ser la plata fotosensible), pureza del agua empleada, velocidad de agitación y velocidad de agregado del agente reductor.

La caracterización de las nanopartículas se realizó por espectrofotometría UV-Visible. Además se verificó la capacidad de producir efecto SER(R)S empleando Rodamina B, $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$, como sustancia de prueba bajo condiciones encontradas en literatura, ligeramente modificadas.



Figura 5.1 Síntesis AgNPs por el método de Lee-Meisel:
a) Disposición del material y b) producto obtenido.

5.1.1.2 Preparación de AgNPs por el método de Creighton

Al igual que en la síntesis descrita anteriormente, en la preparación de nanopartículas mediante el método de Creighton se utilizó agua milli Q y material de vidrio lavado previamente con agua regia.

Se preparó una solución acuosa de borohidruro de sodio, NaBH_4 , de concentración 2,00 mM empleando agua milli Q fría (aproximadamente a 0°C) y se colocaron 30 ml de esta en un Erlenmeyer recubierto con papel aluminio, para proteger de la luz la mezcla de reacción. El mismo se sumergió en un baño de agua-hielo con agitación magnética moderada (Figura 5.2a). A continuación se añadieron gota a gota desde bureta 5,00 ml de solución acuosa 1,00 mM de nitrato de plata, AgNO_3 , previamente enfriada en baño de agua hielo. Durante esta etapa, se observó la aparición de coloración amarilla, característica de la suspensión coloidal de nanopartículas de plata.

La velocidad de goteo fue lenta (aproximadamente 1 gota/3 segundos) para permitir que todos los cationes plata, Ag^+ , se reduzcan y se produzca por lo tanto la formación de nanopartículas.

Una vez concluido el agregado de la solución de AgNO_3 , se mantuvo el Erlenmeyer en el baño de agua-hielo con agitación moderada durante 50 minutos.

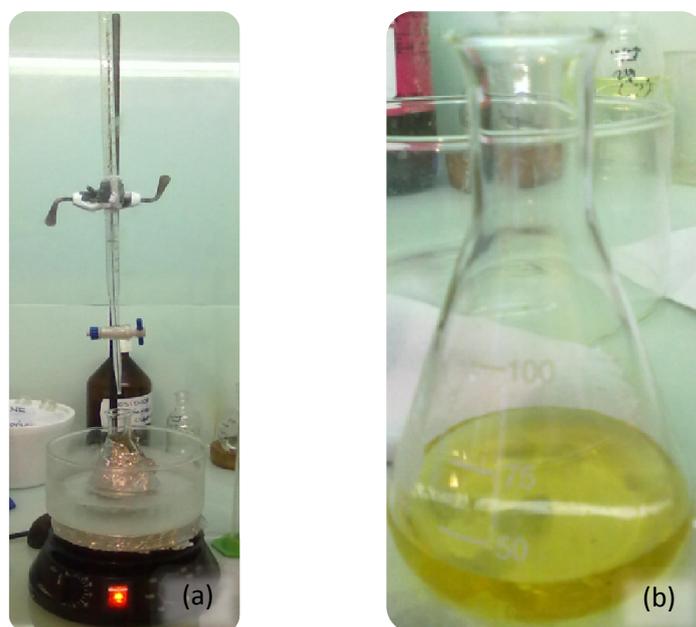


Figura 5.2 Síntesis de AgNPs por el método de Creighton:
a) Disposición del material y b) producto obtenido

5.1.2 Caracterización de AgNPs

La caracterización de las nanopartículas preparadas por ambos métodos, se realizó a través de la medida de los espectros UV-Visible, tal como se indicó en la sección de técnicas experimentales. Se utilizaron espectros disponibles en literatura, correspondientes a nanopartículas preparadas por los mismos métodos seleccionados en el presente trabajo, con el objeto de inferir la morfología de las mismas. Esto es posible dado que en los trabajos previos disponibles se utilizaron diversas microscopías para determinar la forma y tamaños de las mismas, además se realizó la obtención de los espectros UV-Visible.

5.1.2.1 Caracterización de AgNPs sintetizadas por el método de Lee-Meisel

En la Figura 5.4a puede observarse el espectro UV-Visible experimental de la suspensión de nanopartículas que se obtuvo luego de la síntesis (línea roja) en el espectrofotómetro Shimadzu UV2600, empleando cubetas de cuarzo y realizando la línea de base con agua milli Q. El máximo de absorción del espectro, correspondiente a la energía de resonancia de los plasmones superficiales es de 442,5 nm y el ancho de banda a mitad de altura de 126 nm.

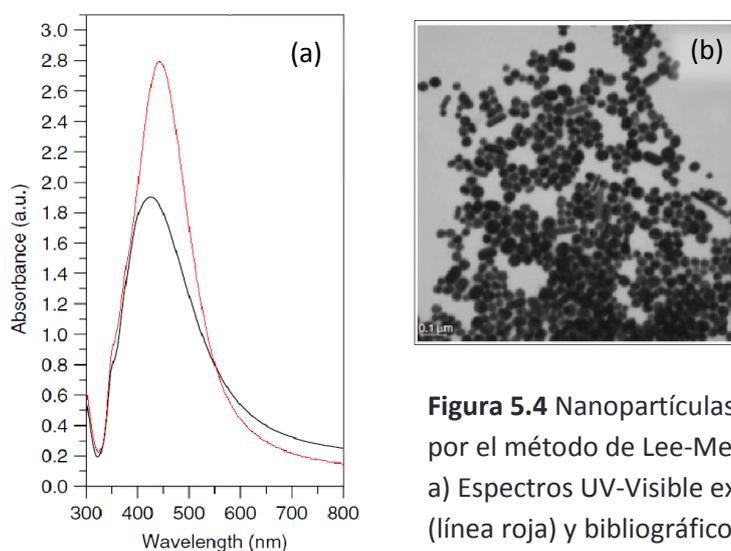


Figura 5.4 Nanopartículas sintetizadas por el método de Lee-Meisel.
a) Espectros UV-Visible experimental (línea roja) y bibliográfico (línea negra)
b) imagen TEM de literatura [4]

En la Figura 5.4a, superpuesto al espectro UV-Visible obtenido en este trabajo, se muestra el espectro de otra suspensión de nanopartículas (línea negra) también obtenida por el método de reducción con citrato de sodio, extraído de bibliografía. [4] El espectro reportado presenta un máximo de absorción a 421,0 nm y un ancho de banda a mitad de altura de 147 nm. Como puede verse en la Figura 5.4b, que muestra una imagen obtenida por microscopía electrónica de transmisión (TEM), las nanopartículas de plata reportadas en la referencia [4] presentan una morfología esférica.

Si bien se encontraron diferencias en los valores de absorbancias en el espectro medido en este trabajo y el de la referencia [4], esto puede ser una consecuencia de las diferentes condiciones de reacción. No obstante, es posible inferir que la forma de las nanopartículas obtenidas es esférica, dado que la forma del espectro experimental es de características similares al bibliográfico.

En cuanto a las dimensiones de las nanopartículas, la imagen TEM de bibliografía da una distribución de tamaños con máximo en 70 nm de diámetro, asociada a la posición del máximo de absorbancia (421,0 nm). En el espectro de la dispersión preparada en este trabajo, el máximo se encontró a mayores longitudes de onda (442,5 nm), lo que indica un mayor diámetro promedio de las nanopartículas. Esto se explica debido a que los electrones de conducción cercanos a la superficie de cada nanopartícula se delocalizan más y se comparten con nanopartículas vecinas, requiriendo como consecuencia de menores energías para alcanzar la oscilación de los mismos, es decir, alcanzar la resonancia de los plasmones superficiales.

5.1.2.2 Caracterización de AgNPs preparadas por el método de Creighton

Al igual que para los coloides obtenidos mediante el método de Lee-Meisel, se realizó el espectro UV-Visible de la suspensión de nanopartículas preparadas por el método de Creighton en el espectrofotómetro Shimadzu UV2600. Se emplearon cubetas de cuarzo y se realizó la línea de base con agua milli Q. El espectro puede

observarse en la Figura 5.5a (línea roja). Se encontró un máximo de absorción, correspondiente a la energía de resonancia de los plasmones superficiales, a 392,5 nm con ancho de banda a mitad de altura de 49 nm. Al igual que en la caracterización de las nanopartículas preparadas por el método de reducción con citrato, se superpuso en la Figura 5.5a el espectro de una suspensión de nanopartículas obtenidas por el mismo método, extraído de literatura. [3] En este caso el máximo de absorción se encuentra a 400 nm, y el ancho de banda a media altura es de 51 nm.

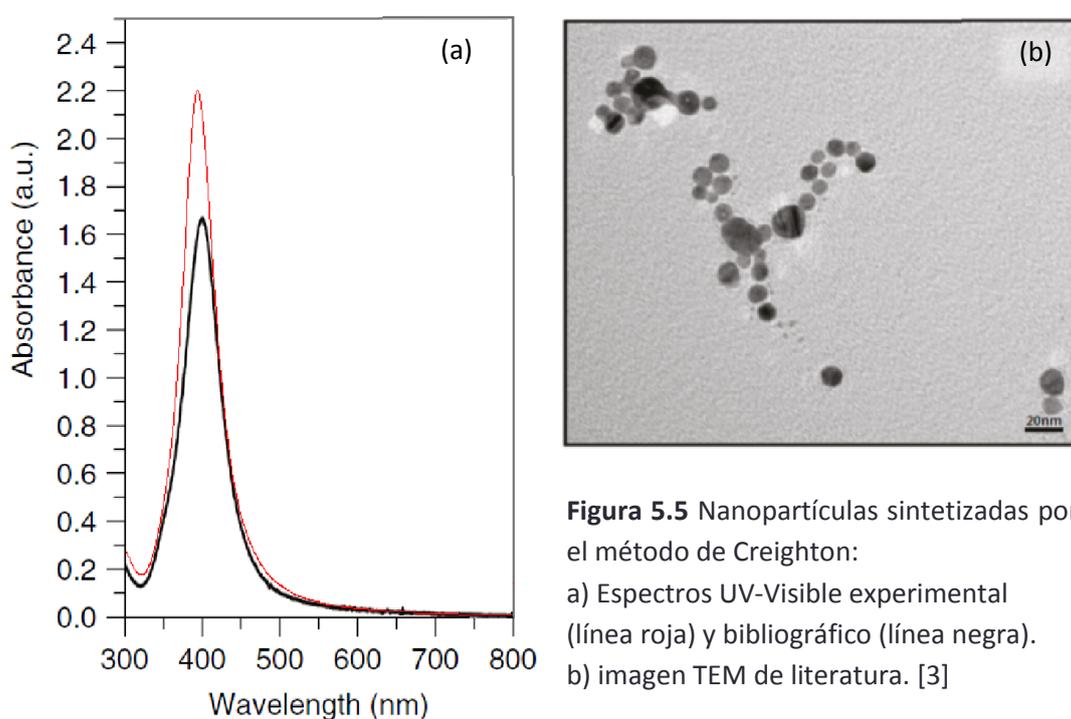


Figura 5.5 Nanopartículas sintetizadas por el método de Creighton:
a) Espectros UV-Visible experimental (línea roja) y bibliográfico (línea negra).
b) imagen TEM de literatura. [3]

Las diferencias en las intensidades de absorbancias, pueden deberse a las condiciones de reacción, tales como tiempo y velocidad de agitación. A pesar de esto se observó que la forma de las bandas de absorción por resonancia de plasmones superficiales son similares, por lo que se puede inferir que las nanopartículas obtenidas fueron esféricas, tal como se observó en la imagen por microscopía electrónica de transmisión correspondiente al espectro bibliográfico (Figura 5.5b).

En cuanto a las dimensiones de las nanopartículas, imágenes TEM reportadas en la referencia [3] revelaron una distribución de tamaño con un máximo en 10 nm de diámetro, asociada a la posición del máximo de absorbanza (400,0 nm). Como se mencionó anteriormente, en el espectro UV-Visible de las nanopartículas sintetizadas en este trabajo por el método de Creighton, el máximo se observa a menores longitudes de onda (392,5 nm), lo que estaría indicando la presencia de nanopartículas con diámetro promedio menor a 10 nm.

5.1.3 Evaluación de la estabilidad de las AgNPs

La estabilidad de las nanopartículas se estudió por espectroscopia UV-Visible. Se evaluó la estabilidad en función del tiempo para dos modos de almacenamiento: a temperatura ambiente o refrigerada (en ambas situaciones, contenidas en recipientes de vidrio recubiertos con papel aluminio). Esto es de particular interés en su uso como sustrato para la espectroscopia Raman intensificada por superficie, ya que uno de los objetivos actuales de estas técnicas ultrasensibles es su utilización con fines cuantitativos, motivo por el cual se requiere de la estabilidad de los sustratos.

En este trabajo se optó por el seguimiento de las nanopartículas sintetizadas por el método de Creighton, dado que resultaron con una distribución de tamaños menos polidispersa que las preparadas según el procedimiento de Lee-Meisel, como puede verse en los espectros presentados en las Figuras 5.4 y 5.5.

Los espectros UV-Vis de la dispersión de nanopartículas sintetizadas por el método de Creighton y almacenada a temperatura ambiente, obtenidos con el transcurso del tiempo, se muestran en la Figura 5.6. Además se presentan los valores de absorbanzas y longitudes de onda del máximo de absorción en la Tabla 5.2.

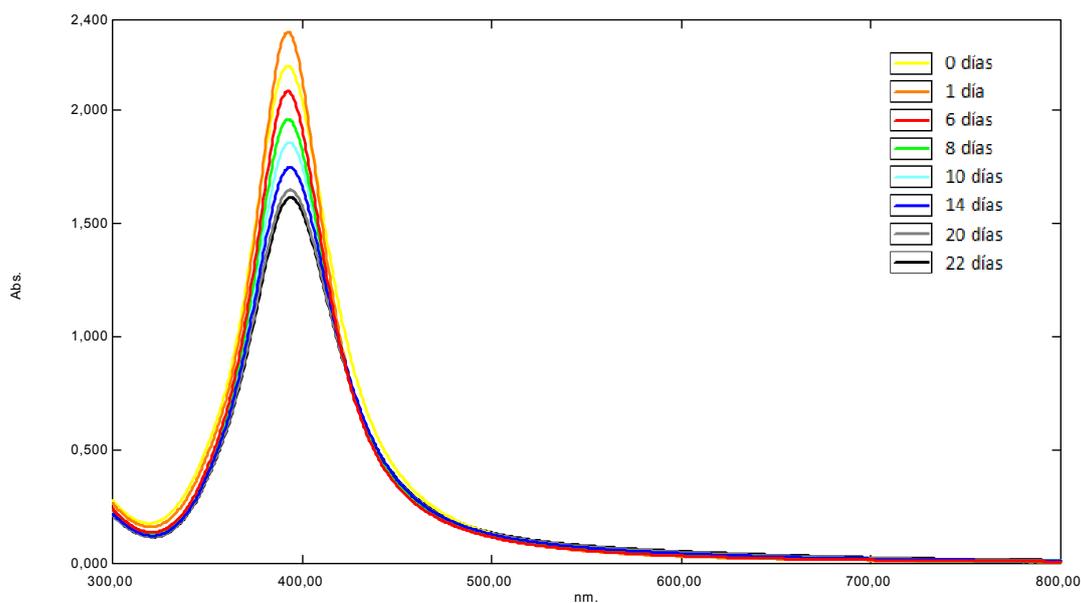


Figura 5.6 Espectros UV-Visible de las nanopartículas de plata preparadas por el método de Creighton almacenadas a temperatura ambiente.

Tabla 5.2 Variación de $\lambda_{\text{máx}}$ y $A_{\text{máx}}$ del espectro UV-Visible de las nanopartículas de plata preparadas por el método de Creighton en función del tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.

Tiempo/días	$\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$	$A_{\text{máx}}/\text{a.u.}$
0	392,5	2,197
1	392,5	2,346
6	392,5	2,085
8	392,5	1,962
10	393,0	1,859
14	393,5	1,749
20	394,0	1,650
22	394,0	1,617

Como puede verse en la Figura 5.6, se observó en el espectro UV-Visible tomado un día después de la síntesis de nanopartículas un incremento de la

absorbancia con respecto al espectro tomado inmediatamente después de preparadas. Es probable que este comportamiento se deba al progreso de la reacción durante tal período. Durante los días siguientes, el máximo de absorbancia comenzó a disminuir indicando una reducción en la cantidad de nanopartículas estables. También se observó un leve desplazamiento del máximo de absorción hacia el rojo, es decir, hacia mayores longitudes de onda, lo que se interpretó como una agregación de las nanopartículas. Este comportamiento puede interpretarse mejor gráficamente (Figura 5.7).

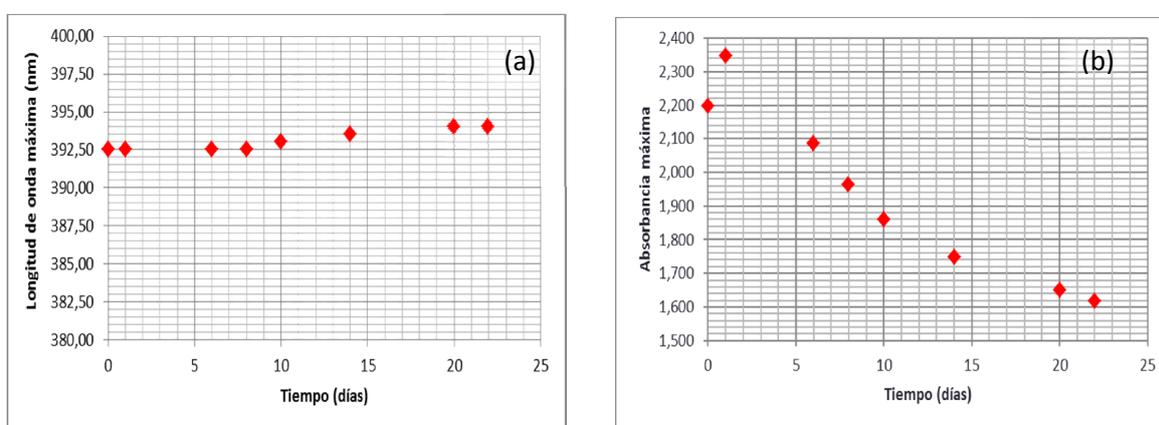


Figura 5.7 Variación en función del tiempo de: a) $\lambda_{\text{máx}}$ y b) $A_{\text{máx}}$ de los espectros UV-visible de las nanopartículas de plata preparadas por el método de Creighton almacenadas a temperatura ambiente

Esto está de acuerdo con el hecho de que las dispersiones de nanopartículas son termodinámicamente metaestables, como resultado de su elevada área superficial; motivo por el cual tienden a aumentar su tamaño como consecuencia del proceso de maduración de Ostwald (Ostwald ripening).

En cuanto al almacenamiento bajo refrigeración, en principio podría esperarse un comportamiento igual al observado al conservar la dispersión de nanopartículas a temperatura ambiente, aunque con una velocidad menor. Sin embargo, esto no fue lo observado a partir de los espectros UV-Visible; en su lugar, se encontró que no existía una dependencia entre la absorbancia y longitudes de onda del máximo de absorción

debida a la resonancia de los plasmones superficiales. Esto se presenta en la Figura 5.8 y en la Tabla 5.2, donde se presentan los valores máximos.

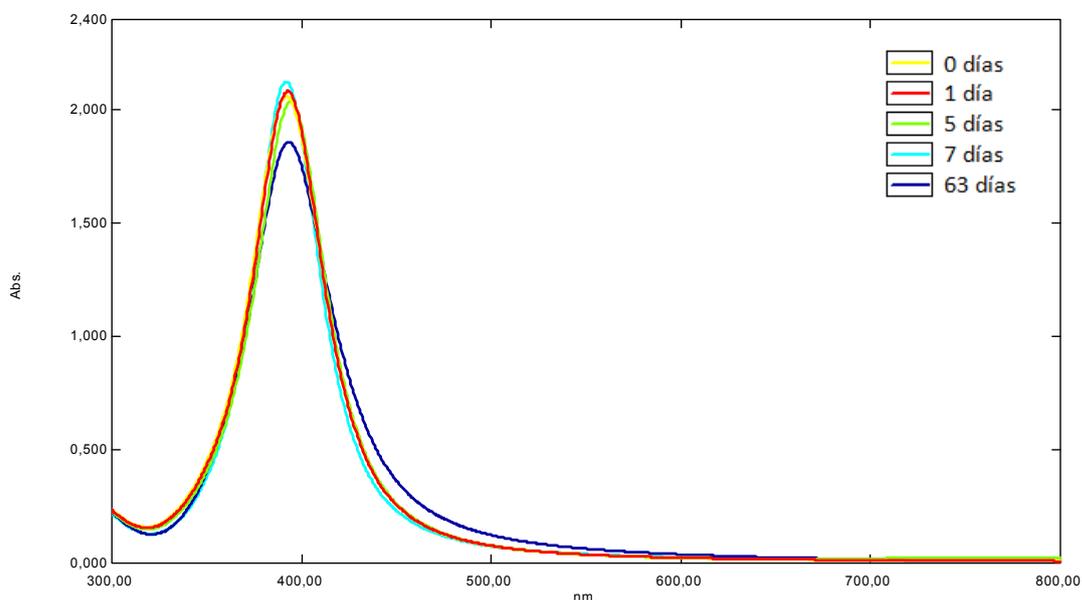


Figura 5.8 Espectros UV-Visible de las nanopartículas de plata preparadas por el método de Creighton almacenadas a bajo refrigeración.

Tabla 5.2 Variación de $\lambda_{\text{máx}}$ y $A_{\text{máx}}$ del espectro UV-Visible de las nanopartículas de plata preparadas por el método de Creighton en función del tiempo de almacenamiento bajo refrigeración.

Tiempo/días	$\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$	$A_{\text{máx}}/\text{a.u.}$
0	392,5	2,061
1	393,0	2,084
5	394,0	2,039
7	392,0	2,125
63	393,0	1,859

No obstante, se llegó a la conclusión de que con este modo de almacenamiento las nanopartículas son más estables (2 meses aproximadamente), ya que el cambio de

absorbancia no superó el 15 % del valor máximo alcanzado. Por otra parte, el cambio en la posición del máximo de absorbancia no siguió un patrón regular. Esto puede visualizarse de un mejor modo en los gráficos de estos parámetros en función del tiempo (Figura 5.9).

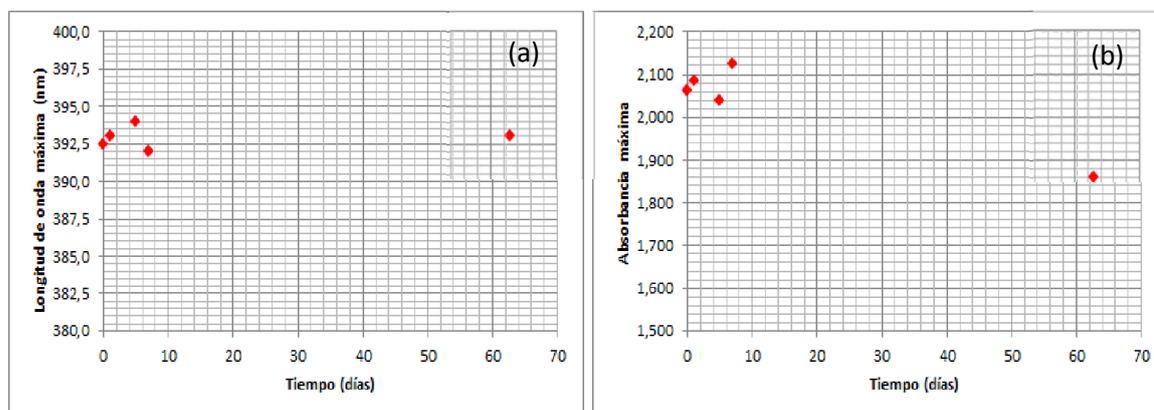


Figura 5.9 Variación en función del tiempo de: a) $\lambda_{\text{máx}}$ y b) $A_{\text{máx}}$ de los espectros UV-visible de las nanopartículas de plata preparadas por el método de Creighton almacenadas bajo refrigeración.

5.1.4 Capacidad de las AgNPs como sustratos para producir efecto SERS

Con el fin de verificar la capacidad de producción de efecto SERS de las nanopartículas sintetizadas por los dos métodos seleccionados, se realizaron las medidas de los espectros Raman de dos soluciones del analito seleccionado en iguales concentraciones, pero en presencia y ausencia de nanopartículas con el fin de comparar los espectros y observar si el correspondiente a la muestra conteniendo nanopartículas presentaba mayor intensidad de las bandas Raman del analito que en la solución de la muestra sin las nanopartículas. Las características de las muestras fueron las detalladas en el capítulo previo.

En todos los casos en los que se realizaron medidas de espectros Raman, previamente se realizó la selección de la línea de excitación y se fijó la potencia de la misma. A continuación se procedió a la alineación del haz de luz monocromática proveniente del láser. Posteriormente, se colocó en la platina del microscopio una muestra de una sustancia calibrante caracterizada por presentar un espectro Raman

característico, con el fin de realizar la calibración del desplazamiento en número de ondas, que puede descalibrarse por movimientos mecánicos del monocromador. En estos casos se utilizó tetracloruro de carbono, CCl_4 , como sustancia calibrante, cuyo espectro Raman se presenta en la Figura 5.10 y donde se observa que la banda más intensa del mismo se encuentra a 459 cm^{-1} .

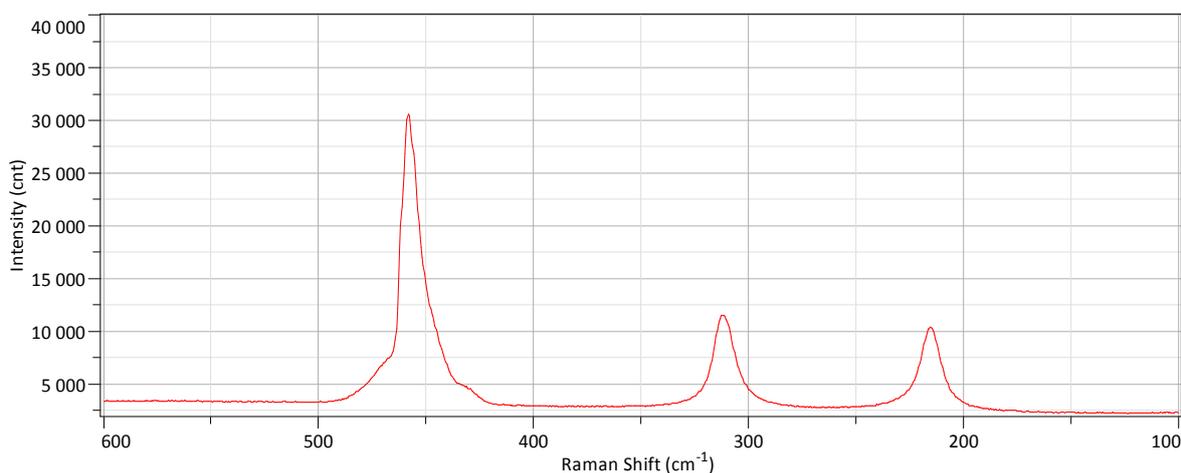


Figura 5.10 Espectro Raman experimental de CCl_4 tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5 \text{ nm}$, potencia láser = 1 W, Objetivo = 10x, $t_{\text{adquisición}} = 10 \text{ s}$, acumulaciones = 2

5.1.4.1 Capacidad de las AgNPs sintetizadas por el método de Lee-Meisel como sustratos para producir efecto SERS

En principio se realizó la medida de la muestra de rodamina B de concentración $1,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, empleando como fuente de excitación la línea de 514,5 nm del láser de Ar^+ . La obtención del espectro Raman no fue posible como consecuencia de la elevada fluorescencia de la muestra, que produce la elevación de la línea de base, observándose como una banda muy ancha de alta intensidad. La alternativa para evitar el fenómeno de fluorescencia fue la de excitar con una línea más alejada de la banda de absorción, como la línea de 476,5 nm (color azul) del láser de Ar^+ . Sin embargo, los resultados no se vieron modificados.

A continuación se procedió a la medida de las muestras de rodamina B de concentración $1,0 \times 10^{-6}$ (sin NPs) y $9 \times 10^{-7} \text{ M}$ (una con NPs y KBr como agente agregante y otra en ausencia de este último), empleando como fuente de excitación la línea de

476,5 nm del láser de Ar⁺. En estos tres casos no se observó fluorescencia por la baja concentración de rodamina B, pero tampoco fue posible la obtención del espectro Raman normal o SER(R)S del analito de prueba. Es posible entonces concluir que las nanopartículas sintetizadas por el método de Lee-Meisel bajo las condiciones de preparación de las muestras no presentan capacidad de producir efecto de intensificación de señales Raman.

5.1.4.2 Capacidad de las nanopartículas de plata sintetizadas por el método de Creighton como sustratos para producir efecto SERS

Se realizó la medida de las muestras de rodamina 6G empleando como fuente de excitación la línea de 476,5 nm (color azul) del láser de Ar⁺ a potencia fija. En primer lugar se midió la muestra de concentración $9,81 \times 10^{-4}$ M (sin NPs), pero nuevamente no fue posible la obtención del espectro Raman de la rodamina 6G, como consecuencia de la elevada fluorescencia, que además de observarse en el espectro como una elevación de la línea de base (Figura 5.11), se observaba en la propia muestra, ya que la emisión fluorescente de la misma era visualizable por su coloración amarilla (Figura 5.12a).

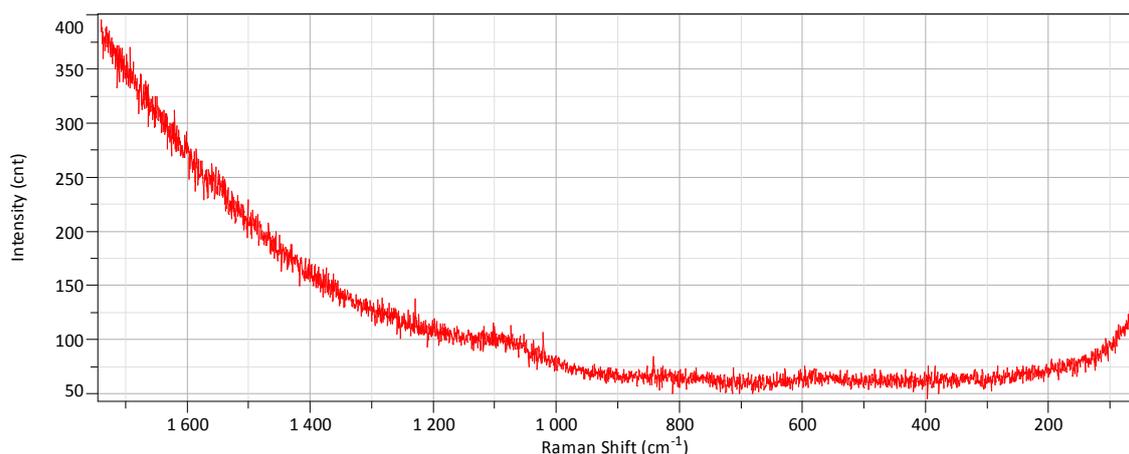


Figura 5.11 Espectro Raman de una solución acuosa (concentración $9,81 \times 10^{-4}$ M) de rodamina 6G, tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5$ nm, potencia del láser (salida) = 200 mW, potencia del láser (sobre la muestra) ~ 1 mW, Objetivo = 50x, $t_{\text{adquisición}} = 50$ s, acumulaciones = 10. La elevación de la línea de base corresponde a la emisión de fluorescencia.

En segundo lugar se realizó la medida de la muestra de rodamina 6G de concentración 9×10^{-7} M (en ausencia de nanopartículas y de KBr). En este caso, no se observaron señales Raman; sin embargo, a diferencia de la muestra anterior, no se observó emisión de fluorescencia en el espectro, ni visualmente a partir de la muestra (Figura 5.12b).

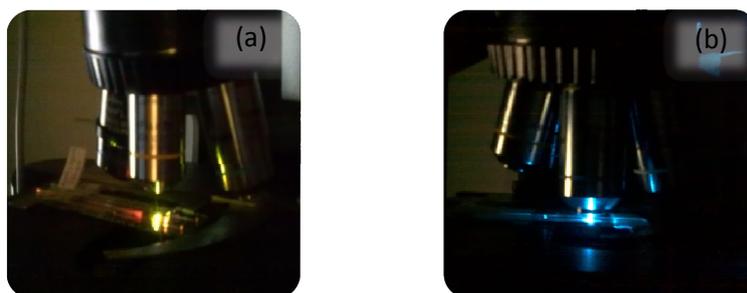


Figura 5.12 Toma del espectro Raman ($\lambda_{\text{exc}} = 476,5$ nm, color azul) de soluciones acuosas de rodamina 6G: a) concentración $9,81 \times 10^{-4}$ M, donde se observa fluorescencia, y b) concentración 9×10^{-7} M, donde no se observa fluorescencia.

El mismo comportamiento presentó la muestra de rodamina 6G conteniendo nanopartículas de plata y KBr como agente agregante. Por el contrario, la muestra de rodamina 6G sin agente agregante permitió la obtención del espectro de la rodamina 6G, intensificado por efecto SERRS. Inicialmente se registró una amplia región (60 a 3700 cm^{-1}) acumulando dos espectros de 1 segundo de exposición, con fin de encontrar las bandas correspondientes al analito. En base a esto, se midió el espectro de la región de interés (60 a 1740 cm^{-1}) con un tiempo de adquisición de 50 segundos y fijando un total de 10 acumulaciones. El mismo se presenta en la Figura 5.13.

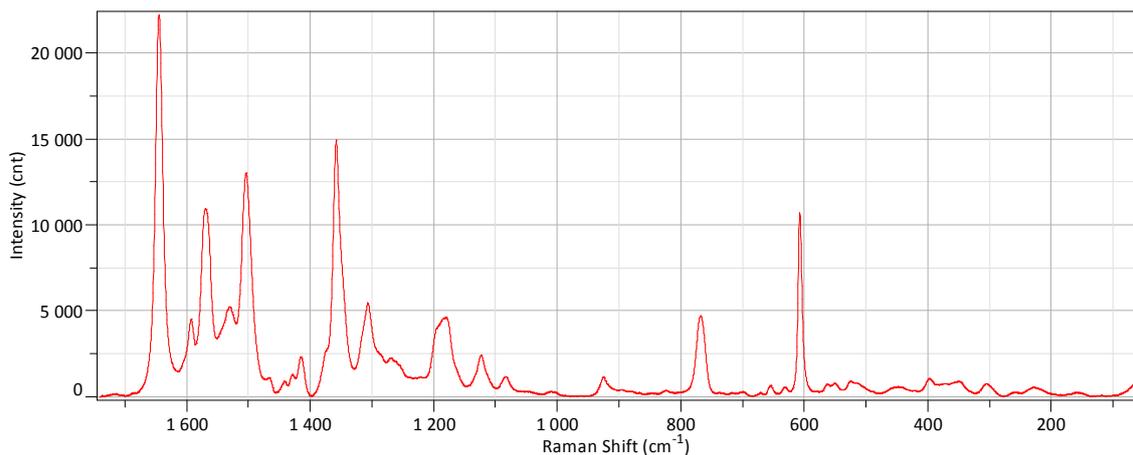


Figura 5.13 Espectro SERRS de una solución acuosa (concentración 9×10^{-7} M) de rodamina 6G en presencia de AgNPs sin agente agregante, tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5$ nm, potencia del láser(salida) = 200 mW, potencia del láser (sobre la muestra) ~ 1 mW, Objetivo = 50x, $t_{\text{adquisición}} = 50$ s, acumulaciones = 10

Adicionalmente, se realizó el espectro de la dispersión de nanopartículas, en el que se observaron solamente dos bandas de muy baja intensidad correspondientes al agua, entre 3150 y 3500 cm^{-1} , como se muestra en la Figura 5.14.

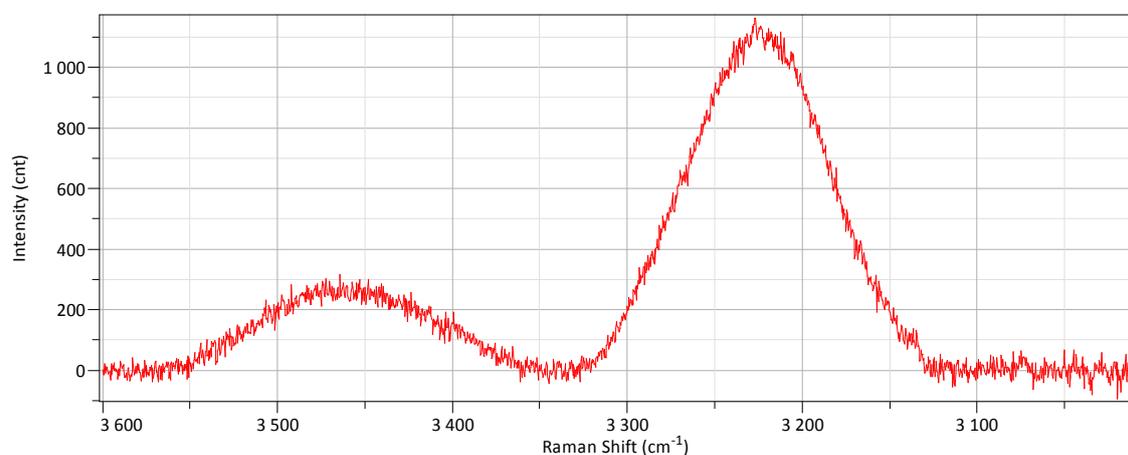


Figura 5.14 Espectro Raman de la dispersión de nanopartículas de plata obtenidas mediante el método de Creighton tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5$ nm, potencia del láser (salida) = 200 mW, potencia del láser (sobre la muestra) ~ 1 mW, $t_{\text{adquisición}} = 50$ s, acumulaciones = 5.

De esta forma pudo verificarse la ausencia de bandas provenientes de la dispersión de nanopartículas en el espectro mostrado en la Figura 5.13, concluyendo

entonces que la dispersión de nanopartículas de plata no interfiere en las medidas realizadas.

Posteriormente, con intenciones de obtener el límite de detección de la técnica, se preparó una nueva dispersión de nanopartículas a partir de la cual se repitió el procedimiento de preparación de muestras en presencia de nanopartículas, para la solución de concentración 9×10^{-7} M tanto con KBr como agente agregante, como sin este. Sin embargo al medir no se obtuvo espectro alguno. Dado que resultó difícil la interpretación de este resultado, se procedió nuevamente a la preparación de otra dispersión de nanopartículas y las mismas muestras a partir de éstas. En este caso, no fue posible la obtención del espectro SERRS de la muestra de concentración 9×10^{-7} M en ausencia de agente agregante (como sí había sido posible anteriormente); no obstante, en presencia de KBr como agente agregante pudo obtenerse el espectro SERRS. El mismo se presenta en la Figura 5.15. Los parámetros de medida coinciden con los del primer espectro. Las intensidades de las bandas de la rodamina 6G fueron mucho menores que en el primer espectro.

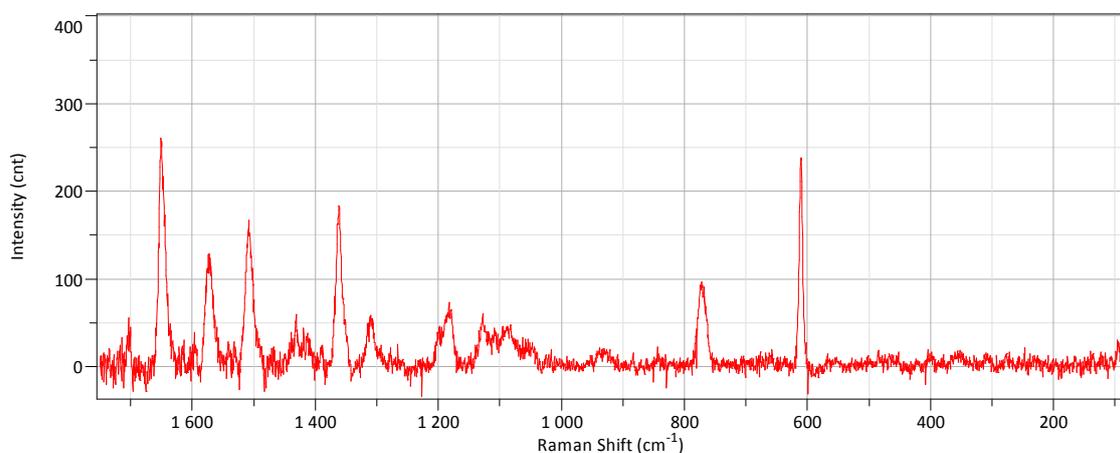


Figura 5.15 Espectro SERRS de una solución acuosa (concentración 9×10^{-7} M) de rodamina 6G en presencia de AgNPs y KBr como agente agregante (Región de 80 a 1750 cm^{-1}), tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5 \text{ nm}$, potencia del láser (salida) = 200 mW, potencia del láser (sobre la muestra) $\sim 1 \text{ mW}$, Objetivo = 50x, $t_{\text{adquisición}} = 50 \text{ s}$, acumulaciones = 10

Es posible concluir en esta etapa que el efecto SERS de las nanopartículas depende fuertemente de las características de las mismas, y que a su vez se ven afectadas en gran medida por las condiciones de reacción que no pueden controlarse con precisión, tales como son la velocidad de agitación y la velocidad de agregado de la solución de plata. Esto además de la complejidad que conlleva el enfoque manual de la muestra con el microscopio confocal del que dispone el espectrómetro Raman.

5.2 Aplicación a la detección de cationes metálicos

5.2.1 Caracterización del ligando $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC(S)SK}$

La identificación del n-propilxantato de potasio, y la determinación de pureza se realizó por medida de su espectro IR, el cual se presenta en la Figura 5.16 y comparación del mismo con el reportado en la referencia [5].

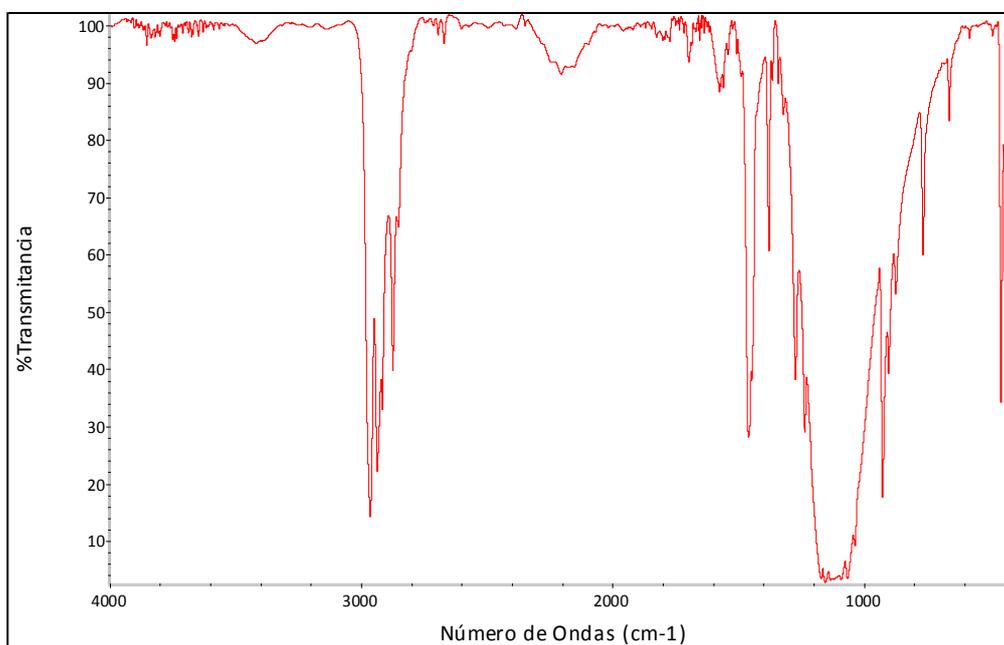


Figura 5.16 Espectro IR del n-propilxantato de potasio

Adicionalmente, se realizó con el mismo fin, el espectro Raman normal de una solución acuosa del ligando, con excitación a 476,5 nm empleando el láser de Ar^+ . En

principio, se realizó el espectro en una amplia región (80 a 3500 cm^{-1}) con un tiempo de exposición de 1 segundo y 2 acumulaciones; el espectro obtenido se muestra en la Figura 5.17. A continuación, se tomaron los espectros de las regiones 100 - 1750 cm^{-1} y 2500 a 3700 cm^{-1} , que fue donde se encontraron bandas Raman. En estos espectros se estableció como tiempo de exposición 20 segundos, y 4 acumulaciones. Los espectros obtenidos se presentan en las Figuras 5.18 y 5.19, y como en el caso del espectro IR, fueron comparados con los espectros reportados en la referencia [5].

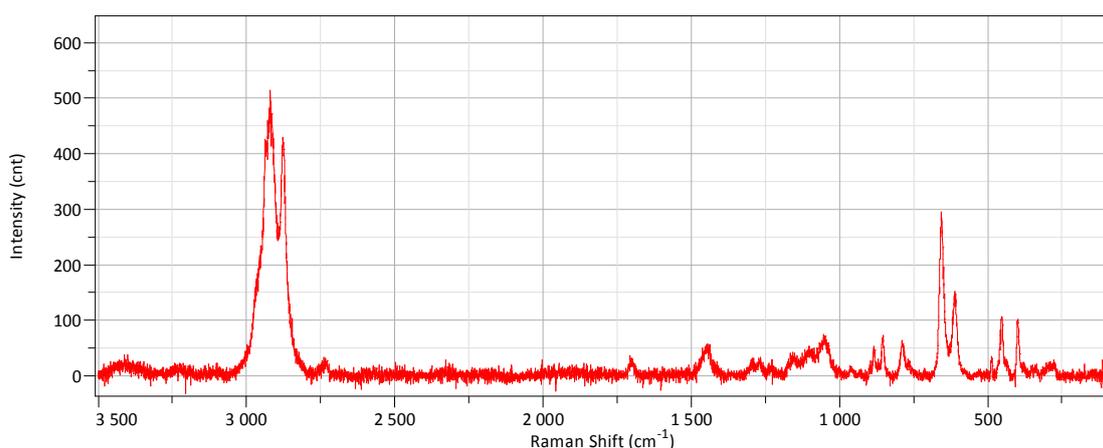


Figura 5.17 Espectro Raman de una solución acuosa de n-propilxantato de potasio (Región de 80 a 3500 cm^{-1}), tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5\text{ nm}$, potencia del láser (salida) = 200 mW , potencia del láser (sobre la muestra) $\sim 1\text{ mW}$, Objetivo = $50\times$, $t_{\text{adquisición}} = 1\text{ s}$, acumulaciones = 2 .

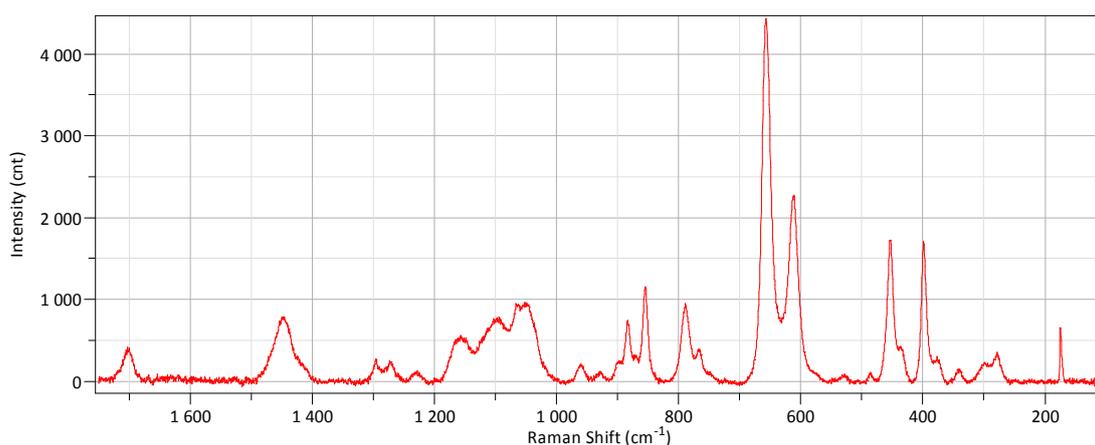


Figura 5.18 Espectro Raman de una solución acuosa de n-propilxantato de potasio (Región de 100 a 1750 cm^{-1}), tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5\text{ nm}$, potencia del láser (salida) = 200 mW , potencia del láser (sobre la muestra) $\sim 1\text{ mW}$, Objetivo = $50\times$, $t_{\text{adquisición}} = 20\text{ s}$, acumulaciones = 4

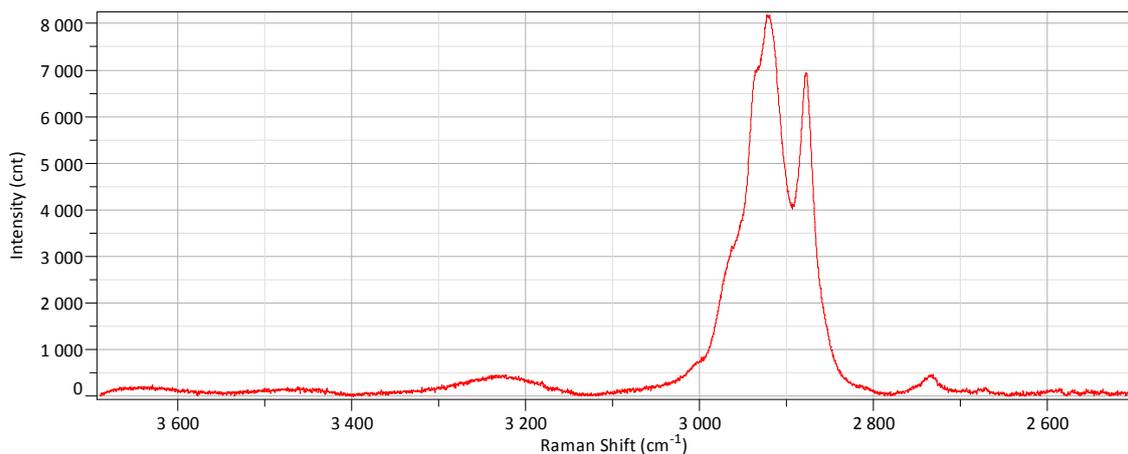


Figura 5.19 Espectro Raman de una solución acuosa de n-propilxantato de potasio (Región de 2500 a 3700 cm^{-1}), tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5$ nm, potencia del láser (salida) = 200 mW, potencia del láser (sobre la muestra) ~ 1 mW, Objetivo = 50x, $t_{\text{adquisición}} = 20$ s, acumulaciones = 4

5.2.2 Caracterización del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$

La identificación del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$, y la determinación de su pureza se realizó por medida de su espectro IR, el cual se presenta en la Figura 5.20, y comparación del mismo con el reportado en la referencia [6].

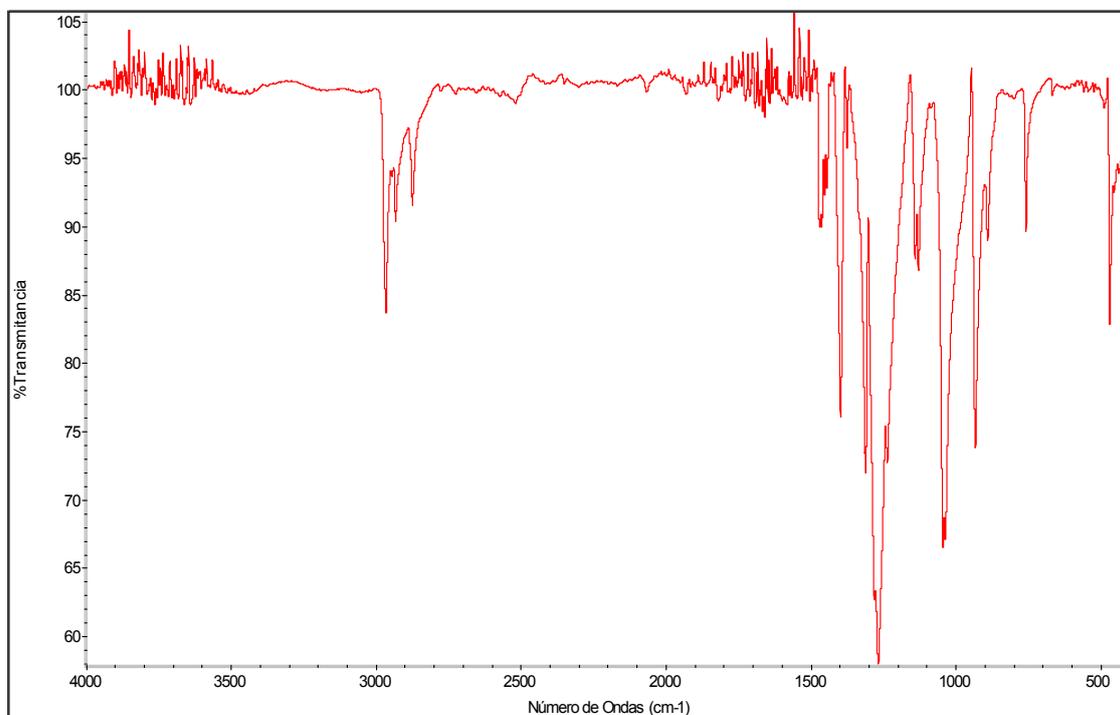


Figura 5.20 Espectro IR del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$.

También se realizó la medida del espectro Raman empleando la línea 476,5 nm del láser de Ar⁺, en la región de 100 a 1800 cm⁻¹. En el mismo, que se presenta en la Figura 5.21, se fijaron los parámetros tiempo de exposición en 50 segundos y un número total de 10 acumulaciones. Como en el caso del espectro IR, el espectro obtenido fue comparado con los espectros reportados en la referencia [6].

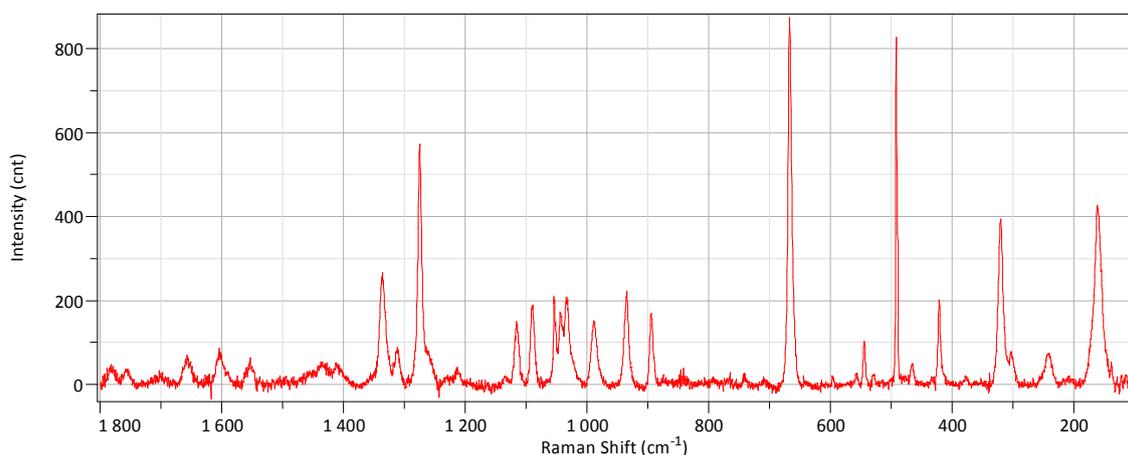


Figura 5.21 Espectro Raman de una muestra sólida del complejo Ni(CH₃CH₂CH₂OC(S)S)₂ (Región de 100 a 1800 cm⁻¹), tomado bajo las siguientes condiciones experimentales: $\lambda_{\text{exc}} = 476,5$ nm, potencia del láser (salida) = 200 mW, potencia del láser (sobre la muestra) ~ 1 mW, Objetivo = 50x, $t_{\text{adquisición}} = 50$ s, acumulaciones = 10.

5.2.3 Evaluación de la aplicación de la técnica SERS a la detección de Ni(II) a nivel de trazas

Para evaluar la posible aplicación de la técnica SERS a la detección de Ni(II) a nivel de trazas bajo condiciones similares a las que se obtuvo intensificación empleando rodamina 6G como analito, se midieron los espectros de las muestras del complejo Ni(CH₃CH₂CH₂OC(S)S)₂ en presencia de nanopartículas preparadas por el método de Creighton.

Para la muestra SER(R)S más concentrada del complejo ($1,01 \times 10^{-3}$ M) los parámetros de medida fijados fueron:

- Longitud de onda de excitación (Láser): 476,5 nm (Ar⁺)
- Potencia láser (constante): a la salida 200 mW, sobre la muestra ~ 1 mW

- Objetivo: 50x
- Tiempo de adquisición: 50
- Número de acumulaciones: 2
- Pinhole: 200 μm

Mientras que para la muestra SER(R)S del complejo más diluida (1×10^{-6} M), los parámetros de medida fijados fueron:

- Longitud de onda de excitación (Láser): 476,5 nm (Ar^+)
- Potencia láser (constante): A la salida 200 mW, sobre la muestra ~ 1 mW
- Objetivo: 100x
- Tiempo de adquisición: 200 s
- Número de acumulaciones: 2
- Pinhole: 200 μm

Los espectros obtenidos se presentan superpuestos en las Figuras 5.22 y 5.23 para las regiones 100 a 650 cm^{-1} y 650 a 1400 cm^{-1} , respectivamente. En la Figura 5.24 para todo el intervalo de longitudes de onda. En las tres figuras, los espectros fueron desplazados verticalmente para una mejor visualización. Además se añadió el espectro de acetona pura.

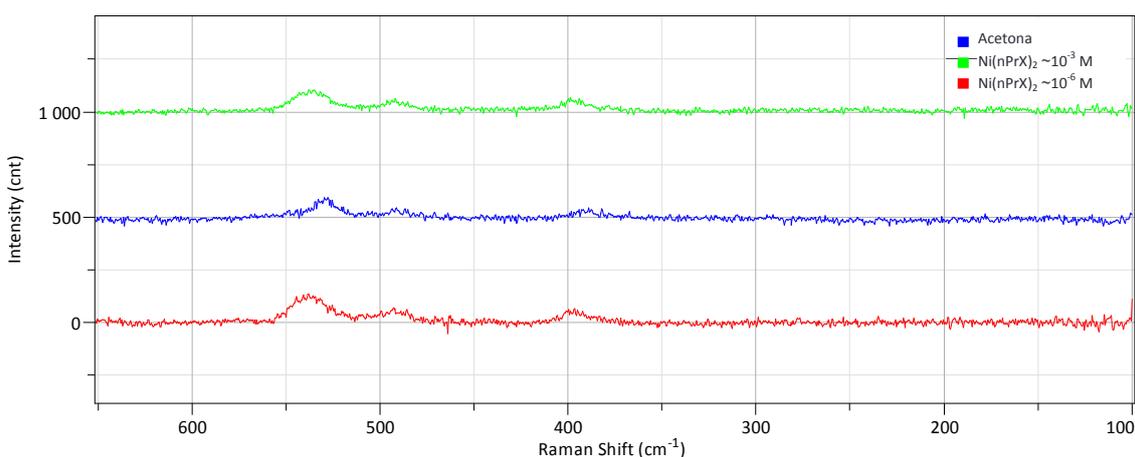


Figura 5.22 Espectros Raman de dos muestras del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ de distintas concentraciones, y de acetona pura (Región de 100 a 650 cm^{-1}), tomados bajo las condiciones experimentales detalladas anteriormente. Los espectros fueron desplazados verticalmente para una mejor visualización.

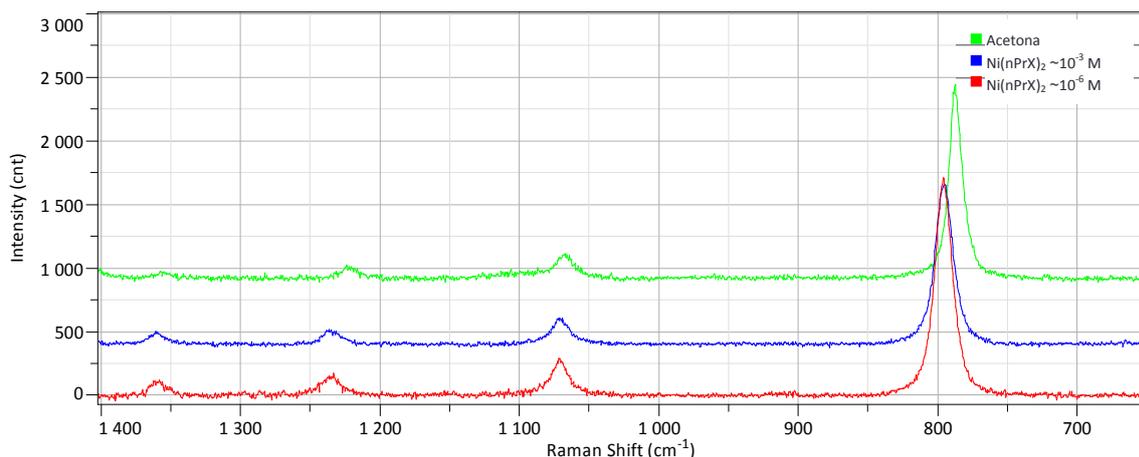


Figura 5.23 Espectro Raman de dos muestras del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ de distintas concentraciones, y de acetona pura (Región de 650 a 1400 cm^{-1}), tomados bajo las condiciones experimentales detalladas anteriormente. Los espectros fueron desplazados verticalmente para una mejor visualización.

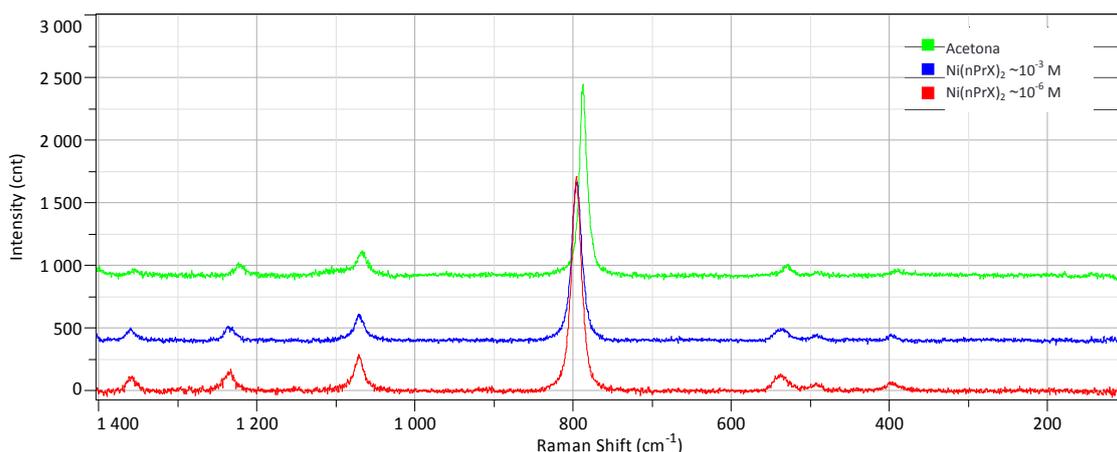


Figura 5.24 Espectro Raman de dos muestras del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ de distintas concentraciones, y de acetona pura (Región de 100 a 1400 cm^{-1}), tomados bajo las condiciones experimentales detalladas anteriormente. Los espectros fueron desplazados verticalmente para una mejor visualización.

En los espectros obtenidos no fue posible la detección de bandas Raman asociadas a vibraciones del complejo. Las bandas que pudieron visualizarse corresponden a vibraciones moleculares de la acetona. El pequeño desplazamiento que se observa en las bandas de las muestras del complejo respecto a las de la acetona pura se debe a las interacciones acetona-agua, que en realidad es el solvente de las mismas.

5.3 Referencias

[1] M. Fan, A.G. Brolo; Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2009**, 11.

[2] F.A. McClary, S. Gaye-Campbell, A.Y. Hai Ting, J.W. Mitchel; Enhanced localized surface plasmon resonance dependence of silver nanoparticles on the stoichiometric ratio of citrate stabilizers, *Journal of Nanoparticles Research*, **2013**, 15.

[3] I.E. Pavel, K.S. Alnajjar, J.L. Monahan, A. Stahler, N.E. Hunter, K.M. Weaver, J.D. Baker, A.J. Meyerhoefer, D.A. Dolson; Estimating the Analytical and Surface Enhancement Factors in Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS): A Novel Physical Chemistry and Nanotechnology Laboratory Experiment, *Journal of Chemical Education*, **2012**, 89.

[4] S. Schlücker, *Surface Enhanced Raman Spectroscopy – Analytical, Biophysical and Life Science Applications*, Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, **2011**.

[5] L.C. Juncal, R.M. Romano; Estudio Raman prerresonante de compuestos moleculares derivados del xantato de n-propilo, XVII Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica, **2011**.

[6] L.C. Juncal, E. Ferrer, P. Williams, C.O. Della Védova, R.M. Romano; Preparación y caracterización de complejos de Ni(II) con ligandos xantato y donores de N, XVIII Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica, **2013**.

Conclusiones y perspectivas



CONCLUSIONES

En el presente trabajo se abordó por primera vez en el Centro de Química Inorgánica, CEQUINOR, la obtención de nanopartículas de plata para su aplicación como sustratos en espectroscopias Raman Intensificadas por Superficie (SERS y/o SERRS).

Los principales resultados obtenidos fueron los siguientes:

- Se prepararon nanopartículas de plata por dos métodos químicos: método de Lee-Meisel por reducción de Ag^+ con citrato de sodio y método de Creighton por reducción de Ag^+ con borohidruro de sodio.
- Se realizó la caracterización de las mismas por espectroscopia UV-visible, y se compararon los espectros obtenidos con los disponibles en literatura, encontrando bandas de absorción de forma similar, lo que permitió inferir que las nanopartículas eran de forma esférica como se reportó en las imágenes TEM de bibliografía.

Además se observaron algunas diferencias en las bandas de absorción, tanto en el valor máximo de absorbancia como de la posición del mismo y en el ancho de banda a mitad de altura, el cual resultó en el caso de las AgNPs preparadas por el método de Lee-Meisel, menor que el informado indicando una menor polidispersidad de la distribución de tamaños, que la informada en literatura.

- Las nanopartículas preparadas por el método de Creighton resultaron menos dispersas en cuanto a tamaños, respecto a las obtenidas por el método de Lee-Meisel (anchos de banda a mitad de altura 49 nm y 126 nm, respectivamente). También presentaron un menor tamaño promedio según la posición del máximo de absorbancia, que se encontró a menores longitudes de onda (392,5 nm y 442,5 nm, respectivamente).
- Se realizó un seguimiento de la estabilidad de la dispersión de nanopartículas preparadas por el método de Creighton en función del

tiempo, bajo dos formas de almacenamiento: a temperatura ambiente o bajo refrigeración.

Para el almacenamiento a temperatura ambiente se encontró una rápida disminución de la absorbancia máxima, acompañada de un pequeño aumento de la posición del máximo que es indicio de agregación de las nanopartículas. En un período de 8 días, la absorbancia máxima sufrió una disminución superior al 15%. Por el contrario, al almacenar la dispersión bajo refrigeración esta resultó más estable, variando el máximo de absorbancia en un 12,5 % durante un período de 63 días.

- Se evaluó la capacidad de producir efecto SERS de ambas dispersiones de nanopartículas, resultando positivo (bajo determinadas condiciones) solo para el caso de aquellas preparadas por reducción con borohidruro de sodio, empleando rodamina 6G como analito.

El efecto SERS no fue reproducible, presumiblemente como consecuencia de las condiciones de agitación y agregado de la solución sal de plata durante la preparación de las nanopartículas (ya que no pudieron controlarse con precisión al momento de repetir la síntesis) o bien como resultado de la dificultad de enfoque manual de la muestra con el microscopio confocal del que dispone el espectrómetro Raman.

- Se sintetizaron y purificaron satisfactoriamente el ligando n-propilxantato de potasio y a partir de este el complejo con níquel (II), con el objeto de evaluar la posible aplicación de la técnica SERS a la detección indirecta de níquel a nivel de trazas.
- Se realizaron ensayos de solubilidad del complejo $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{S})\text{S})_2$ y de estabilidad de las nanopartículas en medios con diferentes constantes dieléctricas y fuerza iónica. Mediante estos ensayos se compatibilizaron los sistemas para la preparación de las muestras SERS.
- No fue posible la detección del complejo mediante espectroscopia SERS bajo las condiciones de preparación y de medida.

PERSPECTIVAS FUTURAS

En función de los resultados obtenidos, se propone continuar con el estudio de diversos métodos de preparación de nanopartículas de plata, para seleccionar aquél que proporcione mayor estabilidad y reproducibilidad del producto, y como consecuencia mayor reproducibilidad en los factores de intensificación SERS.

Además se propone la profundización en la investigación de diferentes condiciones de medida y de preparación de las muestras para la aplicación de las técnicas Raman incrementadas por superficie a la detección de contaminantes potenciales a nivel de trazas, con efectos nocivos sobre la salud.

Por otra parte, dos aspectos a considerar serían:

- Preparación de nanopartículas de plata en solventes alternativos al agua para su aplicación como sustrato SERS para analitos insolubles en medio acuoso.
- Preparación de nanopartículas de metales tales como Au, Cu y/o Ni (estudios previos confirman que proporcionan intensificación de señales Raman en la región visible, debido a la resonancia de plasmones superficiales), para su empleo como sustratos capaces de producir efecto SERS.