

**PROPUESTA PARA EL DESARROLLO DE UN QUIMIOSENSOR  
COLORIMÉTRICO PARTIENDO DE NANOPARTÍCULAS DE ORO  
MODIFICADAS CON LIGANDOS L-CISTEÍNA Y L-GLUTATIÓN, PARA LA  
DETECCIÓN DE IONES MERCURIO (Hg<sup>+2</sup>) EN MEDIO ACUOSO**

**MARIA CAMILA PARRA SAMPER**

**FUNDACION UNIVERSIDAD DE AMERICA  
FACULTAD DE INGENIERIAS  
PROGRAMA DE INGENIERIA QUIMICA  
BOGOTDA D.C.**

**2020**

**PROPUESTA PARA EL DESARROLLO DE UN QUIMIOSENSOR  
COLORIMÉTRICO PARTIENDO DE NANOPARTÍCULAS DE ORO  
MODIFICADAS CON LIGANDOS L-CISTEÍNA Y L-GLUTATIÓN, PARA LA  
DETECCIÓN DE IONES MERCURIO (Hg<sup>+2</sup>) EN MEDIO ACUOSO**

**MARIA CAMILA PARRA SAMPER**

**Proyecto integral de grado para optar al título de  
INGENIERO QUIMICO**

**Director**

**Gilma Granados Oliveros**

**Doctora en Química Ph.D**

**FUNDACION UNIVERSIDAD DE AMERICA**

**FACULTAD DE INGENIERIAS**

**PROGRAMA DE INGENIERIA QUIMICA**

**BOGOTDA D.C.**

**2020**

Nota de aceptación

---

---

---

---

---

---

---

Ing. Felipe Correa Mahecha

Jurado

---

Ing. Miguel Fernando Jiménez Jiménez

Jurado

Bogotá D.C., Febrero 2020

## **DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD**

Presidente Institucional y Rector del Claustro

Dr. Mario Posada García-Peña

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y De Posgrados (E)

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Secretaria General

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Decano Facultad de Ingenierías

Ing. Julio Cesar Fuentes Arismendi

Director Programa Ingeniería Química

Ing. Leonardo de Jesús Herrera Gutiérrez

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

## DEDICATORIA

*Este proyecto de grado lo dedico especialmente a mi mama Lucero Samper, por el apoyo incondicional que me dio durante mi etapa de formación profesional, ya que ella es el motor de mi esfuerzo y trabajo. Se lo dedico a mis hermanos Ivan Samper, Carolina Lara, Sergio Samper, Yesica Parra y Isabel Parra que cada uno de ellos desde su manera me brindaron consejos y me alentaron para llegar a la meta de culminar mi carrera de ingeniería.*

*Por otro lado lo dedico a mi papa Jorge Parra, por siempre apoyarme a mis ideas y aconsejarme a tomar las dediciones que a futuro me pueda enfrentar.*

*Por ultimo a todas esas personas que me apoyaron y aportaron en esta etapa de mi vida que se preocuparon por mí cuando más lo necesitaba y me dieron la mano para superar los obstáculos tanto personales como profesionales.*

*María Camila Parra Samper*

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Colombia por abrir sus puertas y dejarme investigar en sus instalaciones del departamento de química, por brindarme conocimiento en cada uno de sus espacios.

A la doctora Gilma Granados por brindarme la oportunidad de desarrollar esta investigación para mi pregrado en ingeniería química y dejarme formar parte de su grupo de investigación Nano-Inorgánica, además de darme todo su apoyo y conocimiento.

Al profesor José Carriazo del grupo Diseño y Reactividad de Estructuras Solidas de la Universidad Nacional por haberme abierto las puertas en las instalaciones de su laboratorio para el desarrollo de la parte experimental de mi proyecto.

Al profesor Álvaro Duarte y a los integrantes del Grupo de Investigación Nuevos Materiales Nano y Supramoleculares de la Universidad Nacional por haberme prestado el Fluorometro que es parte esencial de este proyecto.

Al personal encargado de la coordinación y el manejo de los laboratorios de ciencias de la Universidad Nacional, por su colaboración en las medidas de UV-vis, FT-IR, DR-X y RMN. Además, a la Fundación Santa Fe de Bogotá por su colaboración en la medida del TEM para mi proyecto.

A José Luis Casas H. por apoyarme en el transcurso de este proyecto, por sus consejos en la parte profesional que han forjado carácter en mi vida personal con enfoque a mis estudios y por haberme orientado por el camino de la investigación y la academia que bien ha sido enriquecedora.

Al ingeniero Bolívar Andrés Monroy M. por ayudarme en la construcción de este proyecto por escucharme y aconsejarme en todo el camino hacia la culminación de este trabajo que bien gracias a él tomo forma y excelencia.

## CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	19
OBJETIVOS	21
1. MARCO TEÓRICO	22
1.1 PROPIEDADES DE LAS NANOPARTICULAS	23
1.2 COMPORTAMIENTO DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO	25
1.3 CONFINAMIENTO CUÁNTICO DE NANOPARTICULAS DE ORO	26
1.4 FLUORESCENCIA	28
1.5 PROPIEDADES FÍSICAS DE LAS NANOPARTICULAS	29
1.6 PROPIEDADES ÓPTICAS	29
1.7 PROPIEDADES MECÁNICAS	30
1.8 ASPECTOS QUÍMICOS DE LA NANOPARTICULAS DE ORO	30
1.9 MÉTODOS DE SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS	31
1.9.1 Reducción química de una sal metálica.	32
1.9.2 Descomposición térmica, fotoquímica o sonoquímica.	32
1.9.3 Síntesis por deposición química de vapor.	32
1.9.4 Síntesis Electroquímica.	33
1.9.5 Desplazamiento de ligandos de compuestos organometálicos (aproximación organometálica).	33
1.9.6 Sol-Gel	33
1.10 SÍNTESIS VERDE PARA NANOPARTICULAS METÁLICAS	33
1.11 TAMAÑOS DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO	35
1.12 REDUCCIÓN QUÍMICA POR UNA SAL-METÁLICA	36
1.13 LIGANDOS DE NATURALEZA TIOL (TIODERIVADOS)	37
1.14 LIGANTES ORGÁNICOS POLIFUNCIONALES	38
1.15 QUIMIO SENSORES CON NANOPARTICULAS METÁLICAS	39
1.16 SENSORES CROMOGÉNICOS	41
1.17 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO	43
1.18 PROPIEDADES ÓPTICAS	44
1.18.1 Ley de Lambert Beer.	44
1.18.2 Rendimiento Cuántico de Fluorescencia.	45
1.19 PROPIEDADES ESTRUCTURALES	46
1.19.1 Espectroscopia de transmisión infrarroja con transformada de Fourier.	46
1.19.2 Difracción de Rayos X.	46
1.19.3 Cálculos del diámetro de un cristal por DRX.	47
1.19.4 Microscopia Electrónica de Transmisión.	48
1.19.5 Espectrometría de resonancia magnética nuclear.	49

1.20	IMPACTO AMBIENTAL CON MERCURIO EN COLOMBIA	50
2.	DISEÑO METODOLOGICO	
2.1	REACTIVOS	55
2.2	SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE ORO EN BAÑO FRIO	55
2.3	SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE ORO A REFLUJO	57
2.4	CARACTERIZACIÓN DE LA NANOPARTICULAS DE ORO LIGADAS CON L-GLUTATIÓN Y L-CISTEÍNA	59
2.4.1	Propiedades Ópticas UV-Vis y Fluorescencia.	59
2.4.2	Propiedades Estructurales FTIR, DRX, TEM.	59
2.5	EVALUACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LA NANOPARTICULA DE ORO CON LOS LIGANDOS (GLU Y CIS)	59
2.6	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL MERCURIO SOBRE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO	60
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
3.1	PROPIEDADES ÓPTICAS	63
3.1.1	UV-Vis.	63
3.1.2	Fluorescencia.	63
3.2	PROPIEDADES ESTRUCTURALES	64
3.2.1	Espectroscopia de transmisión infrarroja con transformada de Fourier	64
3.2.2	Difracción de Rayos X.	66
3.2.3	Microscopia Electrónica de Transmisión.	68
3.2.4	Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.	70
3.2.4.1	RMN DOSY 2D.	71
3.3	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL MERCURIO, SOBRE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO	74
4.	CONCLUSIONES	81
5.	RECOMENDACIONES	83
	BIBLIOGRAFIA	84
	ANEXOS	89

## LISTA DE GRAFICAS

	pág.
<b>Gráfica 1.</b> Espectros UV-VIS (Azul – Glu, Rojo- Cis)	63
<b>Gráfica 2</b> Espectro de Fluorescencia (Rojo-Glu y Azul-Cis).	64
<b>Gráfica 3</b> FT-IR Glutati3n	64
<b>Gráfica 4</b> FT-IR de la AuNp (rojo – GLU, azul – CIS)	65
<b>Gráfica 5</b> Referencia de difractograma de rayos X de la banda del oro (Au).	66
<b>Gráfica 6</b> DRX de AuNp con CIS y AuNp con Glu.	67
<b>Gráfica 7</b> TEM – CIS y TEM- GLU	68
<b>Gráfica 8</b> Histograma de AuNp – Glu	69
<b>Gráfica 9</b> Histograma AuNp + L-Cis	70
<b>Gráfica 10</b> RMN 1H prot3nico del ligando L-cisteína, RMN de AuNp + L-CIS	70
<b>Gráfica 11</b> RMN 1H prot3nico del ligando L-Glutati3n y RMN AuNp + L-GLu	71
<b>Gráfica 12</b> DOSY RMN (Glutati3n), DOSY RMN (AuNp+L-Glu)	72
<b>Gráfica 13</b> DOSY RMN (Cisteina), DOSY RMN (AuNp+L-Cis)	73
<b>Gráfica 14</b> Espectros de absorci3n de las AuNp + L-Glu a diferentes concentraciones de Hg <sup>2+</sup>	74
<b>Gráfica 15</b> Espectros de Fluorescencia	75

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1:</b> Escala de tamaños dependiendo del material micro-nano-A	22
<b>Figura 2:</b> Tipos de Nanoparticulas y sus diversas geometrías	24
<b>Figura 3:</b> Resonancia plasmónica (polarización) de una nano partícula metálica	25
<b>Figura 4:</b> Fenómeno de confinamiento cuántico de las nanopartículas	27
<b>Figura 5:</b> Bandas de Conducción y Bandas de Valencia	27
<b>Figura 6:</b> Espectro visible UV, infrarrojo y visible	28
<b>Figura 7:</b> Procesos químico-físicos en la producción de nano partículas OAW	32
<b>Figura 8:</b> Esquemas de las nanoparticulas de oro en clusters	34
<b>Figura 9:</b> Tamaños de nanoparticulas de oro según su color de síntesis	35
<b>Figura 10:</b> Ilustración del Tetrahidruoborato de sodio	36
<b>Figura 11:</b> Modelo de las Cisteína y el Glutatión	39
<b>Figura 12:</b> Molécula final de la nanopartícula de oro	41
<b>Figura 13:</b> Nanopartícula cromófora y cambio en la banda de transmisión	42
<b>Figura 14:</b> Espectro electromagnético de la luz visible	44
<b>Figura 15:</b> Fluorescencia de Nanoparticulas de oro con CD	45
<b>Figura 16:</b> Espectroscopia Infrarroja	46
<b>Figura 17:</b> Difracción de Rayos X	47
<b>Figura 18:</b> Ecuación de Scherrer	47
<b>Figura 19:</b> MET Microscopio Electrónico de Transmisión.	48
<b>Figura 20:</b> Bruker para RMN	49
<b>Figura 21:</b> Ciclo del mercurio y minería ilegal	51
<b>Figura 22:</b> Síntesis de AuNp en baño frío	55
<b>Figura 23:</b> Diagrama de flujo de la síntesis de AuNp en baño frío	56
<b>Figura 24:</b> Reflujo de las AuNp	57
<b>Figura 25:</b> Diagrama de flujo de la síntesis de AuNp a reflujo	58

## LISTA DE ECUACIONES

	<b>pág.</b>
<b>Ecuación 1</b> Mecanismo de reacción de la síntesis de las nanopartículas de oro	41
<b>Ecuación 2</b> Emisión de fluorescencia	44
<b>Ecuación 3.</b> Rendimiento Cuántico	45
<b>Ecuación 4</b> Remplazo en el rendimiento cuántico	45
<b>Ecuación 5</b> Ley de bragg	47
<b>Ecuación 6</b> RMN DOSY	71
<b>Ecuación 7</b> Modelo stern volmer	76
<b>Ecuación 8</b> Limite de detección	76

## LISTA DE TABLAS

	<b>pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Longitud de onda, colores absorbido y complementario	36
<b>Tabla 2.</b> Evaluación de los costos para la detección de sensores cromogenicos	43
<b>Tabla 3</b> Comparación de ligando de acuerdo al tamaño de partículas	69

## LISTA DE CUADROS

	pág.
<b>Cuadro 1</b> Comparación de síntesis de nanoparticulas con cada variable	52

## ABREVIATURAS

AuNp	Nanopartículas de Oro
Nps	Nanopartículas
GLU	Glutación
CIS	Cisteína
L-GLU	Ligando de glutación
L-CIS	Ligando de cisteína
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
DRX	Difracción de Rayos X
TEM	Transmission Electron Microscopy
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
Min	Minutos
$\mu$ L	Micro litro
mL	Mililitro
mmol	Mili mol
$\mu$ M	Micro molar
nm	Nanómetro
DOSY	Diffusion Ordered Spectroscopy
UV-vis	Ultravioleta-Visible
LD	Límite de Detección
nM	Nano molar

## LISTA DE ANEXOS

	<b>pág.</b>
Anexo A Interpretación de gráficas y modelos de enlace químico de las nanopartículas de oro	89
Anexo B Procedimiento para hallar el rendimiento cuántico de las nanopartículas de oro	93

## RESUMEN

Se sintetizaron dos quimiosensores colorimétricos (fluorescentes), partiendo de nanopartículas de oro (AuNp) de carácter hidrofílico, que en su superficie están ligadas con un aminoácido (L-cisteína) Cys y un oligopeptido (L-glutatió) GSH el cual al interactuar con la AuNp por medio de un enlace covalente coordinado con el azufre de los ligandos (dimerización de puentes de disulfuro), este demostró cambiar las propiedades ópticas de las nanopartículas. Los quimiosensores se sintetizaron por medio del método de Bottom Up, el cual se planteó de dos maneras, baño en frío y a reflujo (no mayor a 40 °C), además se llevaron a caracterización de las propiedades ópticas por UV-vis y Fluorescencia, y para las propiedades estructurales por FT-IR, DRX, RMN Y TEM. Las propiedades ópticas por fluorescencia fueron calculadas y determinadas demostrando un rendimiento cuántico del 5% para una nanopartícula con GSH y 4% para una nanopartícula con Cys. Se evaluó el efecto de las propiedades ópticas de las nanopartículas cuando son acopladas con los iones de mercurio  $Hg^{2+}$  en medio acuoso. Para los dos quimiosensores se presenta quenching off (apagamiento de la fluorescencia) en presencia del  $Hg^{2+}$ , además, se evidencia un corrimiento hacia el infrarrojo en las bandas de absorción del plasmon de resonancia y de emisión para la superficie de la nanopartícula. Se propuso un mecanismo de detección de las AuNp y  $Hg^{2+}$  de acuerdo a los cambios que se presentaron en las propiedades ópticas y estructurales de las nanopartículas, el cual se ve una afinidad del  $Hg^{2+}$  hacia el GSH, por otro lado también se ve como se incorpora el  $Hg^{2+}$  con el Au (amalgama) dentro de la estructura. Se evaluó la detección de  $Hg^{2+}$  mediante la constante de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) que me permite evidenciar si el modelo es lineal y el límite de detección experimental (LD) con el analito de mercurio. Con un  $K_{sv}$ :  $12095 \times 10^5 M^{-1}$  y LD: 0,66 nM.

## PALABRAS CLAVE

Nanopartículas de Oro, Fluorescencia, Ligandos, Límite de Detección.

## ABSTRACT

Two colorimetric (fluorescent) chemosensors were synthesized, starting from gold nanoparticles (AuNp) of hydrophilic character, which on their surface are linked with an amino acid (L-cysteine) Cys and an oligopeptide (L-glutathione) GSH which when interacting with AuNp by means of a covalent bond coordinated with the sulfur of the ligands (dimerization of disulfide bridges), this proved to change the optical properties of the nanoparticles. The chemosensors were synthesized by means of the Bottom Up method, which was proposed in two ways, cold bath and reflux (not greater than 40 ° C), also led to characterization of the optical properties by UV-vis and Fluorescence, and for the structural properties by FT-IR, DRX, NMR and TEM. The fluorescence optical properties were calculated and determined by demonstrating a quantum yield of 5% for a nanoparticle with GSH and 4% for a nanoparticle with Cys. The effect of the optical properties of the nanoparticles when they are coupled with the mercury ions  $Hg^{2+}$  in aqueous medium was evaluated. For the two chemosensors, quenching off (decrease in fluorescence) is presented in the presence of  $Hg^{2+}$ , in addition, there is an infrared shift in the absorption and emission bands. A mechanism for the detection of AuNp and  $Hg^{2+}$  was proposed according to the changes that may occur in the optical and structural properties of the nanoparticles, which shows an affinity of  $Hg^{2+}$  towards the GSH, on the other hand See how  $Hg^{2+}$  is incorporated with Au (amalgam) within the structure. The detection capacity of  $Hg^{2+}$  was characterized by the Stern-Volmer constant (Ksv) and the experimental detection limit (LD). With a Ksv:  $61 \times 10^5 M^{-1}$  y LD: 0,74 nM.

## KEYWORDS

Gold nanoparticles, Fluorescence, Ligands, Limit of Detection.

## INTRODUCCION

Colombia es uno de los principales productores de metales preciosos como el oro, las cifras que se estiman aproximadamente por los mineros Colombianos la organización legal (SIMCO) los departamentos más afectados en el país por la minería ilegal son Antioquia, Choco, Bolívar, Cauca, Caldas y Nariño, se extraen entre 40 a 50 toneladas/año, en el 2018 aproximadamente 45 toneladas/año de oro fueron obtenidos de la minería artesanal<sup>1</sup>.

La Red Por La Justicia Ambiental Colombiana, han demostrado que a nivel nacional las actividades industriales y mineras contienen en sus residuos iones de metales pesados como el mercurio; específicamente la actividad minera hace que los índices de contaminación se eleven, las técnicas aplicadas para la extracción de este metal, el mercurio se adhiere al oro, formando una amalgama que facilita su separación de la roca, arena u otro material<sup>2</sup>, posterior a esto, se calienta la amalgama para que se evapore el mercurio y el producto final sea oro. Este proceso de producción tiene repercusiones a largo plazo, generando problemas de salud graves por intoxicación, en Colombia existe uno de los niveles más altos en impacto ambiental por mercurio, liberando al ecosistema entre 50 a 100 Toneladas/Año, esto lo hace uno de los países que más libera contaminación ambiental pero a su vez el crecimiento económico hace que siga aumentando la escala de toxicidad ambiental<sup>3</sup>.

El proyecto se orienta en el desarrollo y la aplicación de un procedimiento sencillo y económico para la detección de mercurio en medio acuoso como el agua, en la que cualquier persona pueda acceder y verificar en tiempo real que hay presencia de mercurio en el medio acuoso. Y de este modo, evaluar la comparación de los métodos analíticos tradicionales, los cuales requieren de un equipo especializado y en algunos casos costoso, para el mismo propósito. La propuesta a desarrollar emplea nanopartículas de oro que se caracterizan por sus propiedades ópticas, las cuales se modifican con la captura de mercurio generando cambios de coloración y cambios en las propiedades fluorescentes<sup>4</sup>.

Las nanopartículas no son tóxicas ni peligrosas, su obtención se realizará por síntesis verde empleando reactivos no contaminantes a presión atmosférica y

---

<sup>1</sup> Mercurio en la minería del oro: impacto en las fuentes hídricas destinadas para consumo humano, Farith A. Díaz-Arriaga Department of Civil, Architectural and Environmental Engineering, Cockrell School of Engineering. The University of Texas at Austin, U.S.A.

<sup>2</sup> Porosimetría del mercurio con métodos físicos, normativa, proceso y procedimiento experimental, Universidad de CEDEX.

<sup>3</sup> Red de la Justicia Ambiental Colombiana, resoluciones nacionales, 2018.

<sup>4</sup> Granados, Oliveros G. *Síntesis y caracterización de las propiedades ópticas de puntos cuánticos de CdSe y CdSe/ZnS*. 31 Mayo del 2017.

temperatura controlada<sup>5</sup>. La interacción del mercurio se realizará empleando ligandos tiofílicos que pueden incorporarse en la superficie.

---

<sup>5</sup> Sistema de detección de "fluencia" basado en nanopartículas de oro para la detección selectiva de iones de mercurio en solución acuosa, por los autores Sohee Choi y Youngmi Kim, del Departamento de Química, Instituto de Nanosensores y Biotecnología, Universidad Dankook 448-701

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un quimiosensor colorimétrico partiendo de nanopartículas de oro modificadas con ligandos L-Cisteína y L-Glutatión, para la detección de iones mercurio ( $\text{Hg}^{+2}$ ) en medio acuoso.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Seleccionar los parámetros del proceso de síntesis de nanopartículas de oro.
2. Sintetizar las nanopartículas de oro, elucidando la estructura y propiedades ópticas mediante técnicas de caracterización.
3. Determinar experimentalmente la interacción que tenga la mayor afinidad entre los ligandos (L-cisteína y L-glutatión) y las nanopartículas de oro, que reconozcan los iones mercurio en la superficie de estas.
4. Evaluar la respuesta del quimiosensor colorimétrico de nanopartículas de oro, con pruebas cuantitativas para un rango de detección establecido.

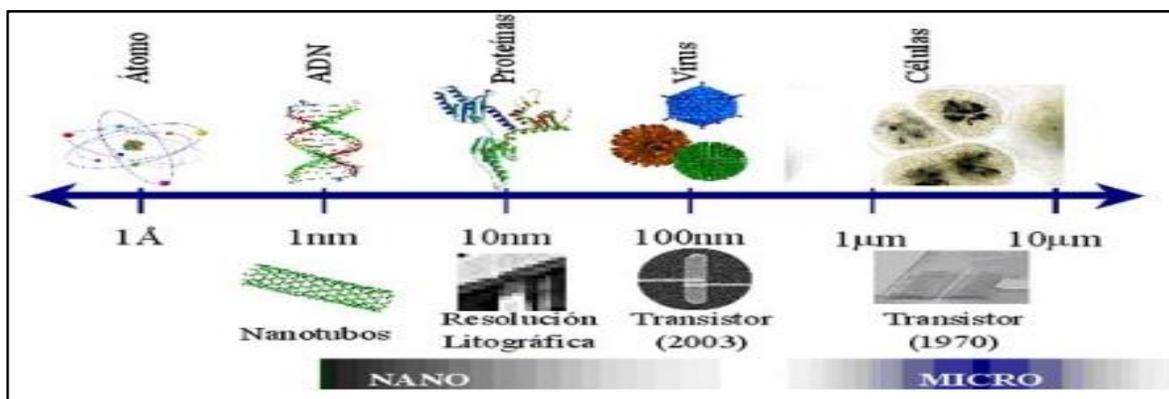
## 1. MARCO TEÓRICO

La nanotecnología es el área que se dedica al desarrollo y análisis de materiales a escala nanométrica nm. Se ha necesitado el desarrollo de metodologías y técnicas de diseño para la manipulación de estos sistemas nanométricos.

El interés en esta ciencia radica en las nuevas posibilidades que ofrece la miniaturización de los sistemas y en las novedosas propiedades que presentan éstos frente a los materiales en estado masivo.<sup>6</sup>

Es la rama del saber que estudia los fenómenos, la escala nanométrica comprendida entre 0,1-100 nm y por ende estos materiales supramoleculares se acomodan a esta magnitud. Su estudio se centra en las propiedades que presenta cada material supra molecular y que por ende estas cumplen ciertas dimensiones y variables de control que nos permitan manipular estos materiales que cabe resaltar algunos son complejos en su tratamiento químico.<sup>7</sup>

**Figura 1.** Escala de tamaños dependiendo del material micro-nano-A



**Fuente:** CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

El origen de la nanociencia se podría situar en 1959, cuando el estadounidense Richard Feynman, premio Nobel de Física en 1965, impartió en la American Physical Society la conferencia "There's plenty of room at the bottom". En esta conferencia, Feynman planteó lo beneficioso que sería para la sociedad la capacidad de trabajar con átomos y moléculas y fabricar dispositivos con una

<sup>6</sup> Nahima Echevarria. Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro. Universidad de País Vasco. Julio 2015.

<sup>7</sup> Nuevas Tecnologías y Materiales. Laureano Cornejo. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

precisión de unos pocos nanómetros, aunque la falta de microscopios electrónicos de mayor resolución en ese momento obstaculizó poder trabajar a dicha escala.<sup>8</sup>

## 1.1 PROPIEDADES DE LAS NANOPARTICULAS

Existen varios factores que interfieren en la nanopartículas ya sea cuando estén siendo sintetizadas, por su aplicación o por su naturaleza química, que las hacen tan versátiles pero a la vez dependen mucho de su tamaño, principalmente son prácticamente la mayor área superficial que brinda cada una de ellas, el confinamiento cuántico que algunos materiales poseen en la banda de valencia y conducción, las interfaces químicas que permiten el acoplamiento de la superficie hacia el núcleo del material supramolecular.

Las nanopartículas tienen una relación área de la superficie/volumen (masa) muy grande ya que el efecto de estas puede aumentar o disminuir la escala molecular que tenga en dimensión. El incremento en su área superficial debido por aglomeraciones. El incremento del número de átomos en su superficie por efecto de ligandos o complejos que estén en presencia.

Estos efectos incrementan la reactividad química de la superficie de las nanopartículas que dependen claramente del tamaño, forma, composición química, estructura electrónica, estructura de la superficie con complejos o ligandos, defectos, energía de superficie de las caras de los nanocristales que en este caso es fundamental para determinar las propiedades ópticas supramoleculares, interacciones con los átomos vecinos y con su entorno químico con otro complejo reactante como los puntos de carbono o puntos cuánticos.<sup>9</sup>

La reactividad química de los materiales supramoleculares incrementa la energía libre de superficie por medio de un gradiente de pH o complejos y su tendencia a combinarse; los átomos de superficie son termodinámicamente meta estables o inestables, tienden a estar insaturados con una coordinación no electrónica equivalente, poseen una energía asociada a la superficie y presentan una configuración cuasi aleatoria.

Cuando el tamaño varía en los nanomateriales en sus enlaces químicos hay un fenómeno que permite que estos se acoplen y son las fuerzas de atracción de Van der Waals ya que por medio de un activante o por sí mismas tiende a atraerse entre sí y a aglomerarse reduciéndose su reactividad química ya que entre más energía consume estas no serán capaces de atrapar electrones que se encuentren en su

---

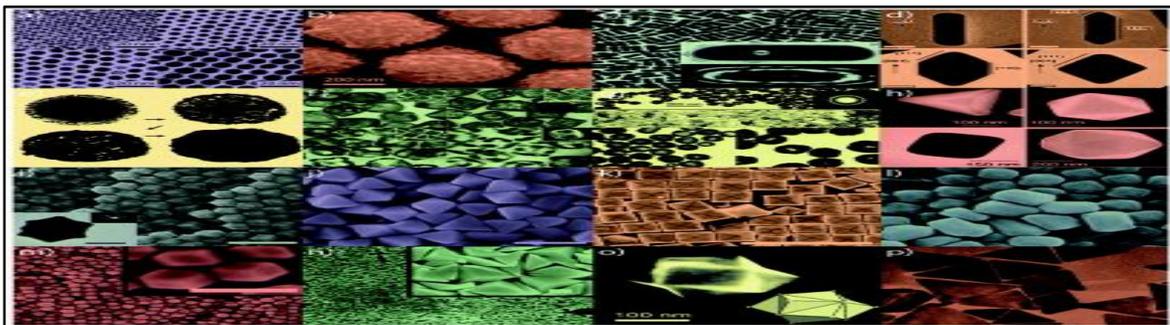
<sup>8</sup> Feynman, R. There's plenty of room at the bottom. Engineering and science, 1959.

<sup>9</sup> Nuevas Tecnologías y Materiales. Laureano Cornejo. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

medio; para evitar este efecto no deseado, se debe reducir su energía superficial libre, de modo que se acoplen estructuralmente siguiendo una ruta química predeterminada que tenga el ligando, complejo o en esta aplicación un analito metálico generando una estructura atómica que va asociada a unas concretas propiedades que se desean para los materiales nano estructurados en la parte estructural. <sup>10</sup>

Para los nanomateriales el área superficial relativa incrementa por las interacciones con metales que pueden formar selectividad y procederá la catálisis; por medio de la superficie puede generarse un enlace o dependencia por microorganismos; la actividad química baja el punto de ebullición para no afectar las propiedades estructurales y de fusión para lograr actividad química en pirolisis; las propiedades mecánicas como lo es la dureza, rigidez y densidad.

**Figura 2.** Tipos de Nanopartículas y sus diversas geometrías.



**Fuente:** CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

Las nanopartículas y los materiales supramoleculares que tienen la interacción de los electrones bloqueados al estar sometidos a un confinamiento cuántico en esa dirección por la disminución de energía. Como consecuencia del confinamiento electrónico manifiestan propiedades: ópticas, electrónicas, electromagnéticas, magnéticas y eléctricas, diferentes a las partículas de mayor tamaño del mismo material. <sup>11</sup>

Las nanopartículas de metales nobles (nanopartículas de oro (AuNPs)), presentan unas excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son intrínsecas a su tamaño nanométrico (1 a 100nm), los sistemas supramoleculares más

<sup>10</sup> GRANADOS, Oliveros G. Síntesis y caracterización de las propiedades ópticas de puntos cuánticos de CdSe y CdSe/ZnS. 31 Mayo del 2017.

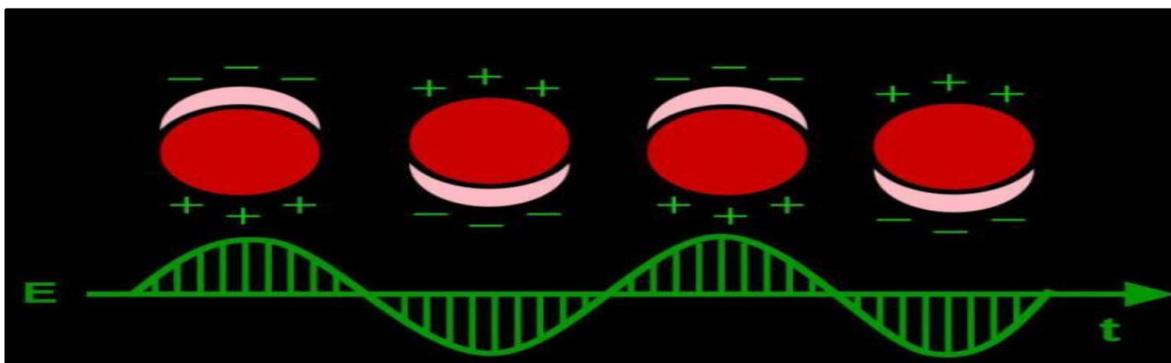
<sup>11</sup>Laureano Cornejo. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

estudiados han sido aquellos compuestos por metales, semiconductores y materiales magnéticos y entre otros metales, cabe destacar el oro y la plata debido a su alta estabilidad y a la facilidad con la que pueden ser acoplados en su superficie. Las AuNPs pueden ser producidas con distintos tamaños y formas y ser fácilmente funcionalizadas con un amplio contenido de ligandos (anticuerpos, polímeros, tioderivados, fármacos, material genético, etc.).<sup>12</sup>

## 1.2 COMPORTAMIENTO DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO

El oro es químicamente estable, se puede sintetizar fácilmente, no es tóxico y es biocompatible. Debido a los efectos de confinamiento cuántico, la densidad de estados continuos de un metal en masa (tipo bulk) se transforma en niveles de energía discretos, efecto de igual naturaleza al presentado dentro de los semiconductores. Adicionalmente, los nanopartículas metálicas se caracterizan por sus propiedades de resonancia del plasmón de superficie. Esta propiedad se origina por la presencia de electrones libres en la banda de conducción de la superficie de las nanopartículas metálicas hacen que se genere mas energía y tenga un efecto de vibraciones deslocalizada en la superficie, las cuales al recibir un energía en este caso por la luz incide en la superficie y se genera mayor energía que es detectada fácilmente por un cambio del complejo coloreado de las nanopartículas.<sup>13</sup>

**Figura 3.** Resonancia plasmónica (polaritrones) de una nano partícula metálica.



**Fuente:** CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

<sup>12</sup> AL-QADI SONIA; REMUÑÁN CARMEN. Nanopartículas metálicas: Oro. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. P223. 2013

<sup>13</sup> Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro, universidad del país vasco, Junio 2015.

La excitación electromagnética se llama polaritón del plasmón de superficie; en la figura 3. Observamos el polaritón que se encuentra de color rojo y es una casi-partícula híbrida resultante del fuerte acoplamiento entre la luz y los electrones libres en la superficie de un nanocrystal.

El fenómeno que es creado por la vibración en la superficie de la nanopartícula produce un acoplamiento entre las frecuencias de la onda incidente y de la oscilación del polaritón sin embargo estas son des localizadas y son emitidas en cierta longitud de onda que prácticamente lo detecta en la región infrarroja, este fenómeno se llama resonancia del plasmón de superficie RPS y tiene la capacidad de absorber determinadas frecuencias de la luz incidente y de transmitir las frecuencias no absorbidas que se asocian a un determinado color. <sup>14</sup>

### **1.3 CONFINAMIENTO CUÁNTICO DE NANOPARTICULAS DE ORO**

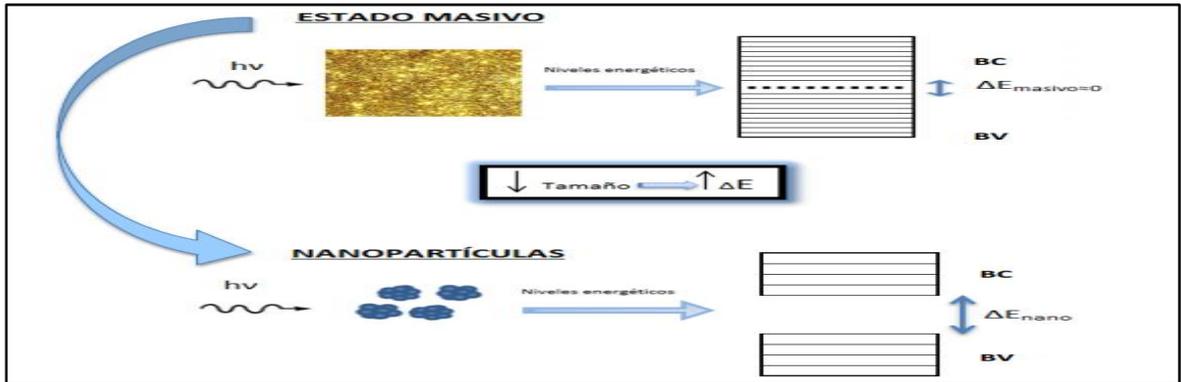
De acuerdo con la Teoría de Bandas, en el oro en estado bulk tiene en su enlace químico los electrones en la banda de conducción que están separados pero pueden viajar libremente por la molécula, debido a que los niveles energéticos bastante cerca, y estos pueden absorber radiación electromagnética si es propiciada por una fuente energética. Sin embargo, el fenómeno de absorción cambia cuando se lleva al material a una escala supramolecular o nano, debido a que los electrones superficiales sufren un confinamiento cuántico y baja los niveles de energía que anteriormente ya poseía. Este efecto ocurre cuando la longitud de onda asociada a estos electrones es del mismo orden que el tamaño de la partícula queda atrapados por alguna clase de defecto superficial o en su entorno químico consume su energía para que esta pueda absorber. <sup>15</sup>

---

<sup>14</sup> GRANADOS, Oliveros G. Síntesis y caracterización de las propiedades ópticas de puntos cuánticos de CdSe y CdSe/ZnS. 31 Mayo del 2017.

<sup>15</sup> ECHEVARRIA Nahima. Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro, universidad del país vasco, Junio 2015.

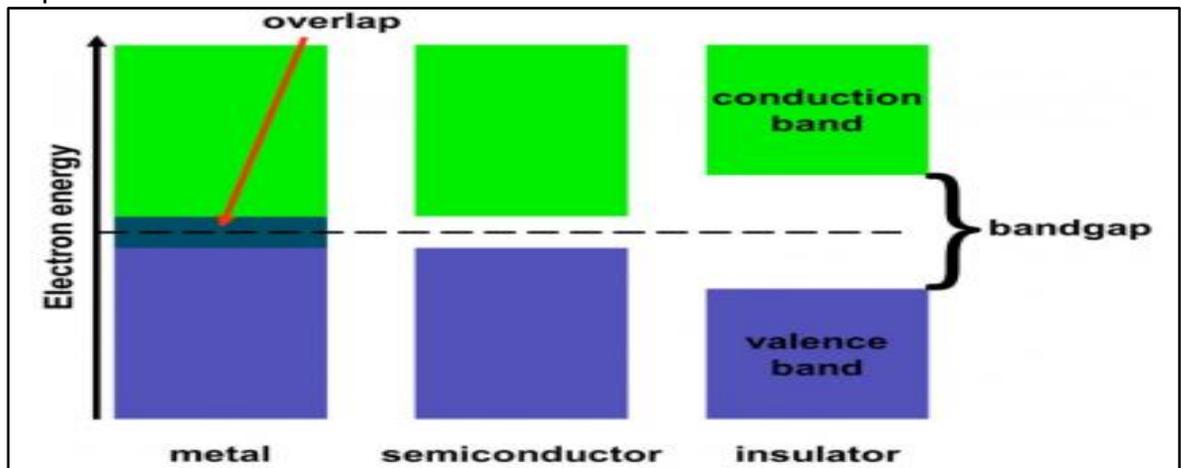
**Figura 4.** Fenómeno de confinamiento cuántico de las nanopartículas.



**Fuente:** ECHEVARRIA Nahima. Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro, universidad del país vasco, Junio 2015.

Las estructuras de las bandas electrónicas de los metales, de los semiconductores y de los materiales dieléctricos son diferentes, los metales poseen bandas de valencia y de conducción que están cargadas de electrones que pueden moverse libremente en la banda de conducción que están en la superficie de estos materiales metálicos. En los semiconductores existe entre la valencia y de conducción un espacio de banda de energía.<sup>16</sup>

**Figura 5.** Bandas de Conducción y Bandas de Valencia de materiales supramoleculares.



**Fuente:** CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

<sup>16</sup> CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

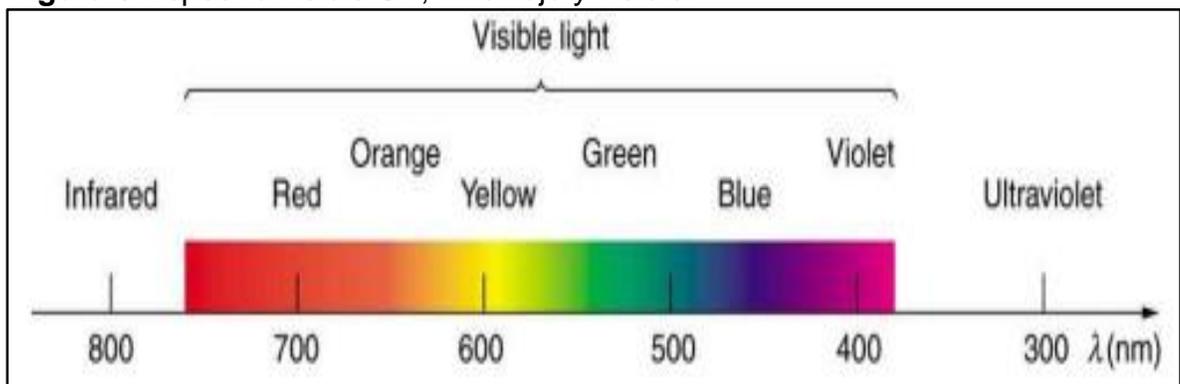
El tamaño de las nanopartículas influyen bastante en cuanto su estado cristalino que lo representa ya sea un material conductor o un semiconductor o aislantes. Cuando es más pequeño el tamaño del nanomaterial semiconductor esta incrementa el apagamiento de los electrones, posterior a esto se incrementa la energía de la banda por ende puede absorber más electrones y su longitud de onda será menor.

Entre las energía tenga la nanopartícula este puede dar salto a la banda de conducción de manera más fácil, sin embargo entre estas hay una región determinada como Bandgap óptico que es que la misma energía puede ser tan grande que la sobre pase o sea igualada y pueda quedar retenida en esta área, por ende solo se podrá determinar la energía asociada con métodos espectroscópicos y relacionar las bandas que determinan la región en la que absorbe y cuanto se solapan si se compara con una banda sin excitar.

#### 1.4 FLUORESCENCIA EN LAS NANOPARTICULAS

La fluorescencia puede darse por un fenómeno que existe entre la banda de conducción y la banda de valencia de los materiales que posean energía en la superficie de su estructura o molécula. Los materiales conductores como AuNp en una solución coloidal que tenga algún precursor o complejo en la superficie tiene la capacidad de absorber radiaciones electromagnéticas ( rayos x, rayos gamma, rayos laser, luz azul ) de una determinada longitud de onda.<sup>17</sup>

**Figura 6.** Espectro visible UV, infrarrojo y visible.



**Fuente:** CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

<sup>17</sup> GRANADOS, Oliveros G. Síntesis y caracterización de las propiedades ópticas de puntos cuánticos de CdSe y CdSe/ZnS. 31 Mayo del 2017.

Para que el plasmón de resonancia de superficie (RPS) tenga las condiciones adecuadas de absorber energía depende la distribución espacial que posea la solución y su geometría al momento del proceso de síntesis y variables de control. Generalmente, en una dispersión coloidal de nanopartículas de oro de tamaño influye de manera especial al momento de ver si el diámetro afecta la región en la que el RPS absorba la energía propiciada como en 30 nm, la RPS absorbe la luz de la zona visible del espectro electromagnético de color azul-verde ( $\lambda = 450$  a  $500$  nm) y producen una luz reflejada de color rojo ( $\lambda \approx 600$ - $1000$  nm), tomando la disolución coloidal un color rojo intenso. En muchos tipos de nanopartículas, los picos de las bandas pueden desplazarse con el tamaño, forma y el estado de agregación de las nanopartículas.

En la figura 6. Vemos la región del campo visible el cual está dividida en secciones que son la región ultravioleta, visible e infrarroja, el desplazamiento al ultravioleta azul es una respuesta óptica de fenómeno electromagnético hacia las longitudes de onda más cortas de mayor energía que se encuentran entre  $250$ nm y  $500$ nm. El Desplazamiento hacia el rojo se refiere a los picos de las bandas que se van hacia longitudes de onda más largas que se encuentran en la región infrarroja que se encuentran entre  $600$ nm a  $1000$ nm.<sup>18</sup>

## **1.5 PROPIEDADES FÍSICAS DE LAS NANOPARTICULAS**

Las propiedades estructurales son importantes para los nanomateriales ya que por diferentes métodos y variables control se pueden estimar algunas propiedades físicas que puedan tener en respuesta hacia el desarrollo de los materiales, el punto de fusión disminuye, como consecuencia de su gran área superficial específica y selectiva y mayor cantidad de moléculas y átomos en la superficie que afecta las propiedades termodinámicas como el  $K_{ps}$ . Los átomos de la superficie necesitan menos energía para moverse ya que las fuerzas intermoleculares de atracción lo logran por medio de complejos o ligantes.

## **1.6 PROPIEDADES ÓPTICAS**

Las propiedades ópticas de las nano partículas de algunos metales como: oro, plata y los semiconductores, se da el fenómeno dependiendo de la cantidad que pueda absorber de energía y esta interactuar con el RSP produciendo la energía necesaria para dar un respuesta en una región del espectro visible, produciendo un efecto cuántico por el cambio en su estructura electrónica por el tamaño y la forma de la nano partícula.

---

<sup>18</sup> GRANADOS, Oliveros G. Síntesis y caracterización de las propiedades ópticas de puntos cuánticos de CdSe y CdSe/ZnS. 31 Mayo del 2017.

El color que adquiere una nano partícula dependen prácticamente de su forma y dimensión específica ya que al ser más grades al absorber un rayo de luz blanca que se encuentra en la regio ultravioleta de 200 a 800 nm. <sup>19</sup>

La longitud de onda absorbida de energía hace que el RSP de las AuNp vibre con la misma longitud de onda que la onda absorbida. La longitud de onda del conjunto de electrones de la superficie (plasmón) se puede variar con el tamaño y la forma de la nanoparticulas (surface plasmon resonance).<sup>0</sup>

- Algunas propiedades físicas que se destacan de las nanoparticulas son:
- Super paramagnetismo (Fe, Co)
- Conversion de materiales semiconductores o aislantes.
- Fluidos con propiedades magnéticas.
- Fotoluminiscencias y efectos cuánticos.
- Conductividad elestrica y térmica alta.
- Modificacion de las porpiedades electrónicas de las nanoparticulas respecto a su tamaño.

## **1.7 PROPIEDADES MECÁNICAS DE LAS NANOPARTICULAS**

Las propiedades mecánicas de los materiales supramoleculares y nano cambian con el tamaño, forma y dimensiones. La escala nano métrica se modifica haciéndose más resistentes y tomando propiedades mecánicas mayores a las de los macro materiales. Para un determinado material, a escala nano métrica, se incrementan su dureza y su resistencia, siguiendo, generalmente, un crecimiento inversamente proporcional a su diámetro ( $1/(\sqrt{d})$ ) (Ley de Hall Petch). <sup>20</sup>

Las nanopartículas tienen la capacidad de soportar tensiones externas muy elevadas, sin que se produzca la dislocación de la estructura del nanocrystal y sin que se manifiesten fisuraciones o fracturas. El mecanismo por el cual se llega a la fractura frágil, sin zona de transición dúctil, no está aún muy claro. <sup>21</sup>

## **1.8 ASPECTOS QUÍMICOS DE LA NANOPARTICULAS DE ORO**

La manipulación de las condiciones de síntesis permite el control total del tamaño y la forma de las nanopartículas y les permite adaptarse las propiedades de los materiales a una aplicación específica. Las nanoparticulas pueden presentarse de diferentes formas (esféricas, semiesféricas, triangulares, hexagonales, etc.),

---

<sup>19</sup> Nuevas Tecnologías y Materiales. Laureano Cornejo. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/)

<sup>20</sup> Feynman, R. There's plenty of room at the bottom. Engineering and science, 1959.

<sup>21</sup> Nuevas Tecnologías y Materiales. Laureano Cornejo. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/)

dependiendo de cómo se sintetizen además pueden darse con diámetros desde 1nm a 100nm, esto nos indica que es una molécula grande.

Se selecciona un material conductor como lo es el oro (Au), por sus propiedades electrónicas que le permite desarrollar un plasmon de resonancia magnética, ya que tiene la ventaja de absorber en determinadas ondas de luz y de transmitir las frecuencias no absorbidas que se asocian a un determinado color.<sup>22</sup>

Se va emplea una síntesis verde por el método de Bottom Up, Se comienza con moléculas, iones o átomos y mediante un proceso de montaje, se crea un mecanismo para dar origen a un material supramolecular, donde se agregan y se cristalizan<sup>23</sup>, Se prepara una solución coloidal mono dispersa en fase líquida por solvente polares, orgánicos y apolares, de metales, óxido de metales y tioles.

## 1.9 MÉTODOS DE SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

La fabricación y síntesis de las nanopartículas, puede ser realizada por dos procedimientos:

1. Por fase sólida (arriba-abajo, top-down)
2. De abajo-arriba (bottom-up)

En el método más utilizado es el de arriba-abajo, donde se parte de una "micropartícula que es sometida a un proceso de molienda con un grado de intensidad variable, según sea el grado de conminación deseado."<sup>24</sup>

Con este método se producen nanopartículas de un mayor tamaño sin embargo las propiedades como la temperatura, presión y purificación limitan la geometría de la nanopartícula, además las fuerzas electromagnéticas de los átomos y de las moléculas por medio de la energía desarrollada permiten el acoplamiento de complejos selectivos en la superficie, esto con el fin de evitar aglomeración, de las nanopartículas y de su tamaño, con mayor cantidad de impurezas que utilizando el método de abajo-arriba.

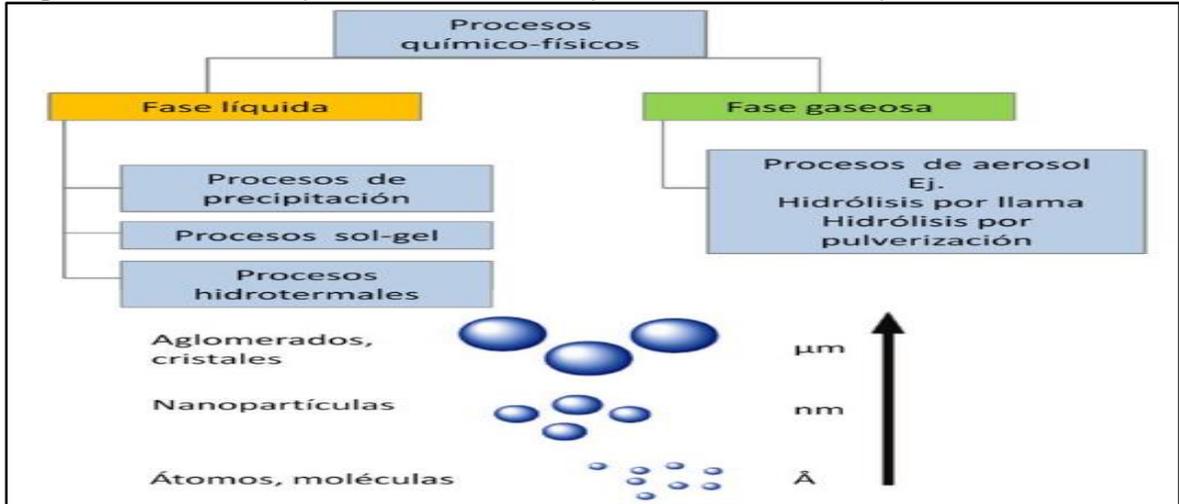
---

<sup>22</sup> Materiales al día – Novedades en Ingeniería de Materiales. Dep. Ciencia de Materiales - UPM [En línea]. Consultado el 22 de Agosto 2019. [www.madrimasd.org/blogs/ingenieriamateriales/2012/04/20/380/](http://www.madrimasd.org/blogs/ingenieriamateriales/2012/04/20/380/).

<sup>23</sup> F. GÓMEZ VILLARRAGA, Síntesis de complejos y estabilización de nanopartículas de paladio con ligandos híbridos pirazólicos y carbenos Nheterocíclicos y su aplicación en catálisis, tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, 2013.

<sup>24</sup> Nuevas Tecnologías y Materiales. Laureano Cornejo. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

**Figura 7.** Procesos químico-físicos en la producción de nano partículas OAW



**Fuente:** CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

**1.9.1 Reducción química de una sal metálica.** Consiste en la reducción química de sales de metales con agentes reductores que también a su vez pueden ser metales y sales en soluciones coloidales que en presencia de estabilizantes o complejos evitan la agregación o aglomeración de la solución metálica.<sup>25</sup>

**1.9.2 Descomposición térmica, fotoquímica o sonoquímica.** Consiste en la descomposición de compuestos organometálicos bien sea por la variación de la temperatura, fenómenos ópticos en presencia del medio ambiente en el que descansa, bajas energías a cero Valente que da lugar a las partículas, protegidas por un estabilizante. <sup>26</sup>

**1.9.3 Síntesis por deposición química de vapor.** El método consiste en la evaporación de precursores metálicos en soluciones coloidales y la posterior reacción o descomposición para dar lugar a los coloides metálicos sobre un sustrato, que también esta síntesis ayuda a eliminar contaminantes tóxicos, y además el porcentaje de residuos es más bajo.<sup>27</sup>

<sup>25</sup> <sup>24</sup> A. Roucoux, J. Schulz y H. Patin, Chem. Rev., 2002, 102, 3757-3778.

<sup>27</sup> M. T. Swihart, Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 2003, 8, 127-133.

**1.9.4 Síntesis Electroquímica.** Consiste en utilizar como fuente de los átomos metálicos un ánodo específico (para metales fácilmente oxidables como Cu o Ni). Este ánodo es oxidado en presencia de una sal de amonio cuaternario que puede ser tratado como un estabilizante y los cationes metálicos se dirigen hacia el cátodo donde son reducidos en su banda de valencia produciendo que los átomos que formarán parte de las nanopartículas.<sup>28</sup>

**1.9.5 Desplazamiento de ligandos de compuestos organometálicos (aproximación organometálica).** Este método consiste en la reducción y remoción de ligandos de algunos complejos organometálicos, preferiblemente cerivalentes. Al reducir o remover los ligandos, los átomos metálicos son liberados y mediante el uso de un agente estabilizante se generan las nanopartículas. <sup>29</sup>

**1.9.6 Sol-Gel.** Estos métodos son usados principalmente para la fabricación de materiales (óxidos de metales) empezando de una solución química, que actúa como el precursor de una red integrada (gel) de partículas discretas o redes de polímeros. El método más simple es dando tiempo para que ocurra la sedimentación, y después vaciar el líquido sobrante. La centrifugación también puede ser utilizada para acelerar el proceso de la separación de fases.<sup>30</sup>

## 1.10 SÍNTESIS VERDE PARA NANOPARTICULAS METÁLICAS

Las síntesis coloidales de nanopartículas de oro se puede preparar por medio de surfactantes donde los más usados son: CTAB, Acido Mercaptopropionico, Tolueno, TiO<sub>2</sub>, 1-Dodecanotiol, se realiza una separación de fases donde la fase orgánica contiene las nanopartículas y la otra fase es desechada, posterior a esto se realiza un lavado con solventes apolares y se llevan a precipitación, que finalmente obtendremos las nanopartículas de oro en fase sólida.

Sin embargo estas síntesis coloidales presentan una serie de inconvenientes que son:

1. Temperatura de la síntesis
2. Desechos generados al final de la síntesis.

---

<sup>28</sup> M. T. Reetz, W. Helbig y S. A. Quaiser, Active Metals: Preparation, Characterization, Applications, A. Fürstner, Ed., VCH, New York, 1996.

<sup>29</sup> B. Chaudret y K. Philippot, Oil Gas Sci. Tech., 2007, 62, 799-817.

<sup>30</sup> Brinker, C.J. and Scherer, G.W. Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel. (1990).

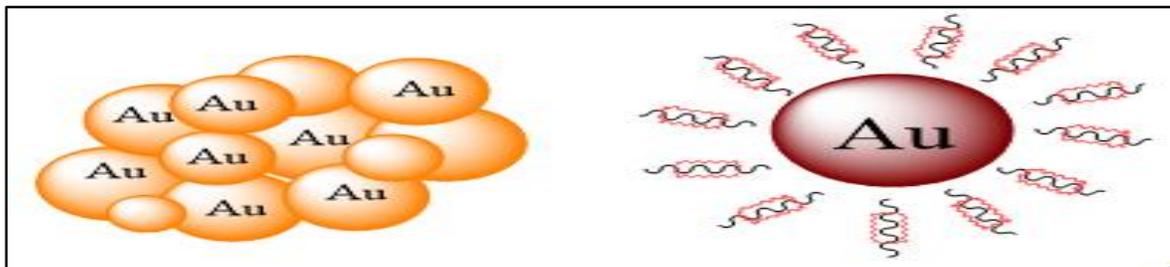
La Temperatura es uno de los factores más importantes en la síntesis ya que si preparamos nanoparticulas con un diámetro que se ajuste a la aplicación que posteriormente se le vaya dar, debemos tener un control óptimo de 4°C a 45°C, ya que si la temperatura empieza a sobrepasarse de 45°C a 50°C estas se aglomeran y disminuyen sus propiedades ópticas y de difícil comprensión de sus propiedades estructurales, se establece además un límite inferior de temperatura de refrigeración de 4°C ya que a esta temperatura se deben conservar las nanoparticulas además que también evita la aglomeración a bajas temperaturas o condensación de las mismas, según los antecedentes podemos corroborar estos parámetros sobre el control de la temperatura.<sup>31</sup>

Los desechos que se generan en la separación de la fase orgánica (con AuNp) que es conservada y la fase acuosa (otros solventes) que el a desechada, esta tiene un alto grado de toxicidad por los surfactes utilizados para el medio ambiente, además el precipitado que queda atrapado en el beaker o embudo de decantación no es aprovechado totalmente ya que este puede quedar con trazas de impurezas y se desechan o puede irse trazas de nanoparticulas en los surfactantes.

El Método de Síntesis verde es el desarrollo de una técnica ecológica que permite sintetizar las nanopartículas metálicas sin generar residuos peligrosos controlando variable de proceso que son provechosos para el medio ambiente una de estas variables es la temperatura del proceso. El método de fisicoquímica verde es un método no convencional y amigable que nos puede brindar la posibilidad de preparar nanopartículas de oro.

El objetivo es la reducción de la temperatura de la reacción, utilizar una atmosfera del medio ambiente, el tiempo de reacción de las nanoparticulas será indispensable para el tamaño controlado de la solución, el aprovechamiento de toda la solución coloidal de la síntesis, y no generar residuos tóxicos.

**Figura 8.** Esquemas de las nanoparticulas de oro en clusters.



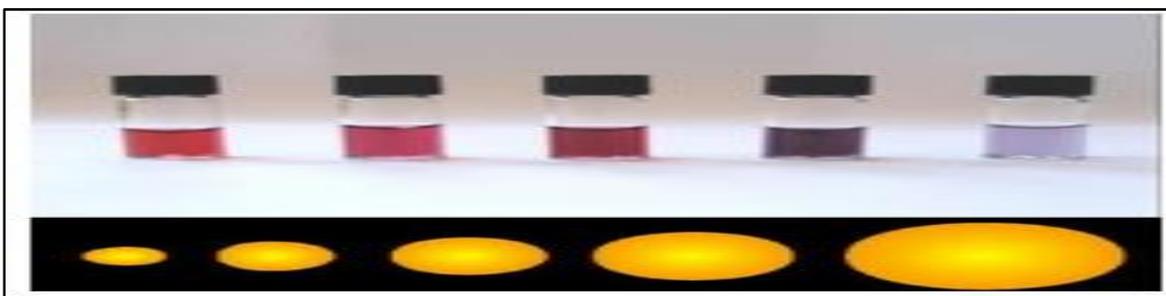
**Fuente:** Elaboración propia.

<sup>31</sup> Liying Yu, Lingyu Zhang, Guojuan Ren, Shuang Li. Multicolorful fluorescent-nanoprobe Composed of Au Nanocluster and Carbon Dots for Colorimetric and Fluorescent Sensing Hg<sup>2+</sup> and Cr<sup>6+</sup>. 23-1-2018.

## 1.11 TAMAÑOS DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO

Las nanopartículas de oro puede variar sus tamaños y esto se debe al tipo de síntesis que se aplique y que la temperatura de reacción sea la más adecuada para un tamaño óptimo. Las nanopartículas de oro aumentan su tamaño, la longitud de onda del RPS, que se relaciona con la cantidad de energía que puede absorber en el campo de la región del espectro visible si las longitudes de onda mayores quiere decir que se van al color rojo y si se absorbe la luz roja y se refleja la luz azul y la solución coloidal presentará una coloración hacia el azul. Como se ve en la figura 9.

**Figura 9.** Tamaños de nanopartículas de oro según su color de síntesis.



**Fuente:** CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevastecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

Cuando el tamaño de la nanopartícula de oro aumenta de más de 50nm las longitudes de onda de la RPS empieza a vibrar de mayor magnitud y tienen un desplazamiento hacia la zona infrarroja y la mayor parte de las longitudes de onda del campo visible no son absorbidas, presentando la dispersión coloidal un color claro translúcido como anteriormente se mencionó en la figura 9.

Si las nanopartículas metálicas tienen un diámetro  $d < 20$  nm, estudia la teoría de Mie estudia la dispersión coloidal de las radiaciones electromagnéticas producidas por nanopartículas de forma esférica cuando el plasmon de resonancia absorbe y emite una cantidad de energía elevada en banda de conducción cuando está en presencia de un complejo o ligante.<sup>32</sup>

<sup>32</sup> NAHIMA ECHEVARRIA GARCIA. Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro. Universidad de País Vasco. Julio 2015.

**Tabla 1.** Longitud de onda, colores absorbido y emitidos de las nanoparticulas

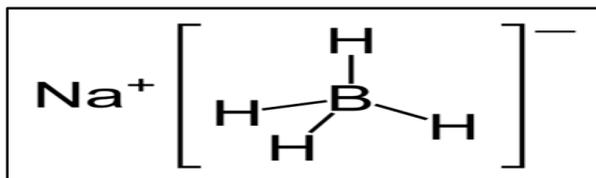
Longitud de onda	Color Absorbido	Color complementario
650-780	rojo	azul-verde
595-650	naranja	azul verdoso
560-595	amarillo-verde	purpura
500-560	verde	rojo-purpura
490-500	verde azulado	rojo
480-490	azul verdoso	naranja
435-480	azul	amarillo
380-435	violeta	amarillo-verde

**Fuente:** CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).

### 1.12 REDUCCIÓN QUÍMICA POR UNA SAL-METÁLICA

Para la síntesis verde se utilizara un agente reductor de naturaleza inorgánica que es el boro hidruro de sodio, la concentración del agente reductor es constante y en exceso, debido a esto el tamaño de la nanopartícula aumenta; esto es a que el agente reductor se acopla al soluto en menor concentración que está en la solución a demás depende del solvente que se está utilizando para garantizar que los enlaces químicos tengan afinidad e interacción, en este caso los puentes de hidrogeno cuando se utiliza como disolvente el agua. En último obtendremos conglomerados más grandes que se ven favorecidos con un crecimiento cristalino apropiado<sup>33</sup>

**Figura 10.** Ilustración del Tetrahidruroborato de sodio.



**Fuente:** Merck- sales de Boro [en línea] Consultado el 7 de marzo 2019. Disponible: [www.merckmillipore.com/CO/es/product/Sodium borohydride,MDA\\_CHEM-806373](http://www.merckmillipore.com/CO/es/product/Sodium borohydride,MDA_CHEM-806373)

<sup>33</sup> Corzo Lucioni. Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H[AuCl<sub>4</sub>]. Rev. Soc. Quím. Perú v.78 n.2 Lima abr./jun. 2012.

### 1.13 LIGANDOS DE NATURALEZA TIOL (TIODERIVADOS)

La síntesis verde de nanopartículas de oro en medio acuoso es parecida a la síntesis orgánica (surfactantes) ya que utiliza el mismo agente reductor en medio acuoso, sin embargo lo que cambia es el ligante que se vaya a utilizar.

Por lo general, se sintetizan ligantes que contengan grupos funcionales en un extremo y de cadenas largas, como tioles, aminas y carboxilatos que se pueden coordinar a la superficie de una nanopartícula, en el otro extremo el ligante también puede presentar un grupo funcional polar que tenga un enlace covalente coordinado con el metal en el último estado de valencia que este posea y que incremente la solubilidad en el solvente en estado acuoso.<sup>34</sup>

Para esta síntesis se utilizara un ligante de grupo tiol. Los tioles son un compuesto que contiene el grupo funcional formado por un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno (-SH). Siendo el azufre análogo de un grupo hidroxilo (-OH), este grupo funcional es llamado grupo tiol o grupo sulfhídrico.

Para las nanopartículas de oro es importante contar con el ligante en la superficie ya que cumple con dos funciones:

1. Desarrollo de un quimiosensor usando fluoróforos y cromóforos orgánicos acoplados a un analito de mercurio generando enlaces Hg-C, Hg-N y Hg-S (Selectividad y Sensibilidad).
2. Toxicodinamia del mercurio. ( Interacción molecular de coordinación ) Se debe a la afinidad en estructuras que posean -S, ya que el metal bloquea los grupos sulfhídricos (-SH) de proteínas y enzimas.

El grupo Tiol se acoplara a la nanopartícula por medio de un aminoácido y un oligopeptido como lo son la cisteína y el glutatión, el cual al interactuar en la superficie le dará alta estabilidad y demostrara interactuar con los iones de mercurio en medio acuoso.

Además de esto, el glutatión es un ácido carboxílico oligopéptido formado por aminoácidos (glutamato, cisteína y glicina) que es importante en toda la parte orgánica de la célula de los seres vivos como en la desintoxicación de plantas y bacterias por metales pesados como el mercurio, permitiendo el crecimiento de

---

<sup>34</sup> Kim, H. N.; Ren, W. X.; Kim, J. S.; Yoon, J. Fluorescent and Colorimetric Sensors for Detection of Lead, Cadmium, and Mercury Ions. Chem. Soc. Rev.2012, 41 (8), 3210–3244.

estos en suelos tóxicos, además que estos ácidos están presentes en la estructura celular del encéfalo de los vertebrados.<sup>35</sup>

#### 1.14 LIGANTES ORGÁNICOS

Para los materiales supramoleculares es importante tener en cuenta los ligantes orgánicos que puedan interactuar en la superficie de estos, algunos ligantes son de carácter selectivo por ciertos precursores de naturaleza metal orgánica o sales metálicas que son usados en la mayoría de aplicaciones biológicas para la detección de analitos o como precursores de mejorar la actividad óptica de un material, debido a que le confieren estabilidad, solubilidad y miscibilidad en medios polares principalmente acuosos.

La mayoría de estos ligantes son de carácter orgánicos y pueden ser poli funcionales estos significa que pueden ser acoplados para biomedios que se encuentre selectivos a un ion especifico o microorganismo que sea capaz de adaptarse a estos. Los ligantes que se utilizaran para esta investigación son de carácter tioderivados que son sensibles a metales pesados en especial mercurio. Entre los ligantes polifuncionales que más se han utilizado en aplicaciones con analitos metálicos son de caracter aminoácidos, péptidos, mercaptanos y tioderivados, proteínas, etc...<sup>36</sup>

Los ligandos son asociados a la constante de coordinación de especificidad con el enlace de Hg-S se ha estimado ser 10 órdenes de magnitud más grande que con otros nucleófilos presentes en el medio como pueden ser en este caso el glutatión y la cisteína.<sup>37</sup>

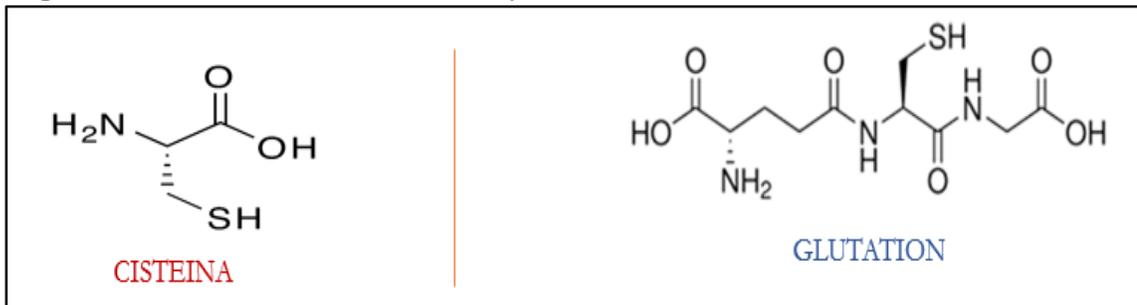
---

<sup>35</sup> GRANADOS, Oliveros G. Síntesis y caracterización de las propiedades ópticas de puntos cuánticos de CdSe y CdSe/ZnS. 31 Mayo del 2017.

<sup>36</sup> Pomeransky, A. A.; Khriplovich, I. B. Equations of Motion of Spinning Relativistic Particle in External Fields. *Surv. High Energy Phys.* 1999, 14 (1), 145–173.

<sup>37</sup> Zhu, X.; Zhao, Z.; Chi, X.; Gao, J. Facile, Sensitive, and Ratiometric Detection of Mercuric Ions Using GSH-Capped Semiconductor Quantum Dots. *Analyst* 2013, 138 (11), 3230.

**Figura 11.** Modelo de las Cisteína y el Glutatión.



**Fuente:** elaboración propia.

### 1.15 QUIMIO SENSORES CON NANOPARTICULAS METÁLICAS

Los sensores supramoleculares y quimiosensores son moléculas de origen abiótico que pueden enlazarse de forma específica y reversible a un analito con un cambio en las propiedades del sistema coloidal, indicativa de que la interacción receptor-analito se ha producido.<sup>38</sup>

Las nanopartículas metálicas actualmente son desarrolladas y puestas en práctica a una aplicación específica de detección como en sensores electroquímicos y biosensores. Las propiedades ópticas y estructurales que posee son únicas como una mayor área superficial dependiendo de su geometría, actividad catalítica y una mejor transferencia de masa aumentan la sensibilidad y selectividad cuando se aplican en sensores electroquímicos por lo que es posible lograr límites de detección más bajos.

Los quimiosensores fluorescentes de puntos cuánticos, pueden detectar una especie química (analito), por medio de un cambio fluorescente como respuesta a este analito. Por lo general este analito provoca un cambio químico o físico, que es traducido como un cambio fluorescente.<sup>39</sup>

Para detectar los fenómenos en las propiedad ópticas y estructurales de las nanopartículas se especifican de ciertos equipos para la señalización, expresadas por cambios en las propiedades de esa unidad de manera energética, siendo los cambios en las propiedades redox, cromogénicas o fluorescentes, los que

<sup>38</sup> TÁRRAGA TOMÁS. Sensores moleculares: un reto para el químico, una demanda social. Academia de ciencias de la región de Murcia, Octubre de 2012.

<sup>39</sup> Ganesabaskaran, S.; Kandasamy, K. Chemosensors for Hg Ions: A Review of Literature. Biosens. J.2015, s4 (2), 1–9.

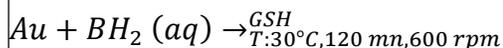
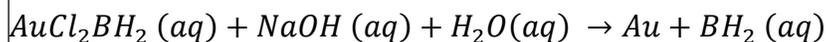
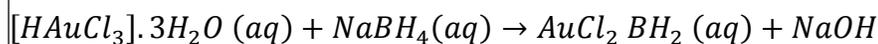
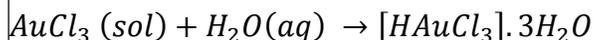
proporcionan la señal para los sensores moleculares, electroquímicos, colorimétricos y fluorescentes.

El mecanismo de reacción que sigue la metodología de reducción por sales metálicas como en este caso el agente reductor es el boro hidruro de sodio, implementando ligandos orgánicos selectivos para el acople en la superficie del material conductor (oro), debe seguir estrictamente unas variables de proceso que son el control de la temperatura que no sobrepase los 40°C esto es importante no solo para el control del tamaño de la nanopartícula ni de la aglomeración de estas, es importante tener en cuenta que el boro hidruro de sodio posee propiedades físicas en donde se puede encontrar soluble a 25°C en solución acuosa, una ventaja adicional es que su punto de fusión es a 400°C así que podemos manipular la sal sin correr ningún riesgo, además el GLU también podemos encontrarlo soluble a 25°C.

La capacidad redox del boro hidruro es la más importante ya que hay que tener en cuenta que al entrar en contacto con la sal metálica  $\text{AuCl}_3$ , esta interactúa con el último orbital del oro haciendo que este pierda electronegatividad ya que todas las bandas de valencia fueron ocupadas, sin embargo es importante tener en cuenta que las trampas superficiales que tiene la sal metálica afecta la reacción redox ya que encontramos la molécula en estado de valencia (-3) que es lo ideal, pero podemos encontrar también que la molécula tenga estados de valencia después de actuar con el agente reductor de (-3, -2, -1 y 0) esto se debe a el agente reductor no entro en contacto con todas la moléculas (el último orbital de valencia) entonces se puede encontrar moléculas de oro con estados de oxidación diferentes.

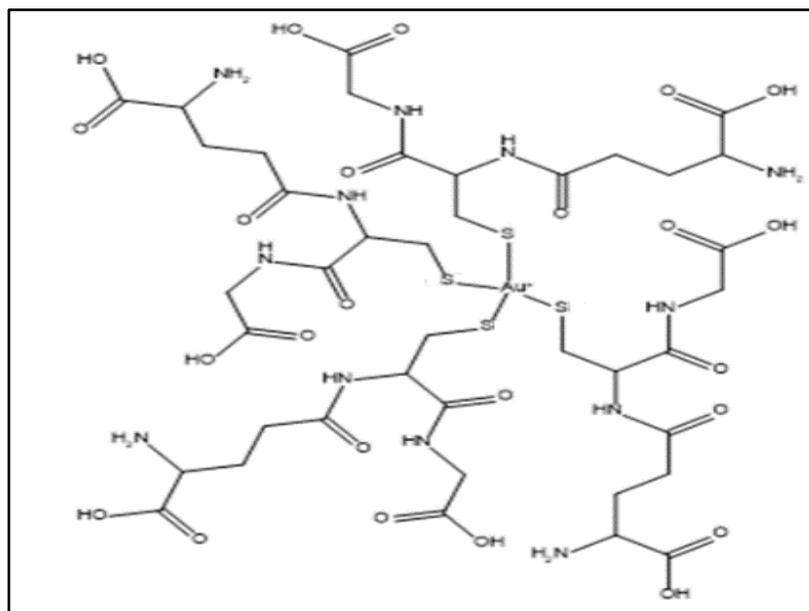
Los ligandos de naturaleza tiol y poli funcionales son importantes cuando se agrega a la reacción ya que al ser bastante selectivo por su extremo  $\text{SH}^-$ , entra en contacto con la superficie con la sal metálica o con el oro ya en su último estado de oxidación o también con otras especies de oro (-3, -2, -1) cabe resalta que este ligando tiene la capacidad acoplarse con todas las especies de oro, no le afecta las trampas superficiales de la molécula ya que está en si busca la energía más alta para poder conformar un enlace covalente coordinado. Es importante resaltar que las trampas superficiales de la nanopartícula ya conformada afectan las propiedades ópticas ya que se puede demostrar por medio de un espectro óptico que las especies oxidantes de las nanopartícula se encuentran en otra región del espectro ultravioleta diferentes reportadas con los antecedentes, ya que idealmente se interpreta que el plasmon de resonancia de superficie de la nanopartícula se encuentra en los 520-540 nm, pero también se evidencia que puede aparecer en otra longitud de onda.

**Ecuación 1.** Mecanismo de reacción de la síntesis de las nanopartículas de oro



**Fuente:** elaboración propia.

**Figura 12.** Molécula final de la nanopartícula de oro.



**Fuente:** elaboración Propia.

## 1.16 SENSORES CROMOGENICOS

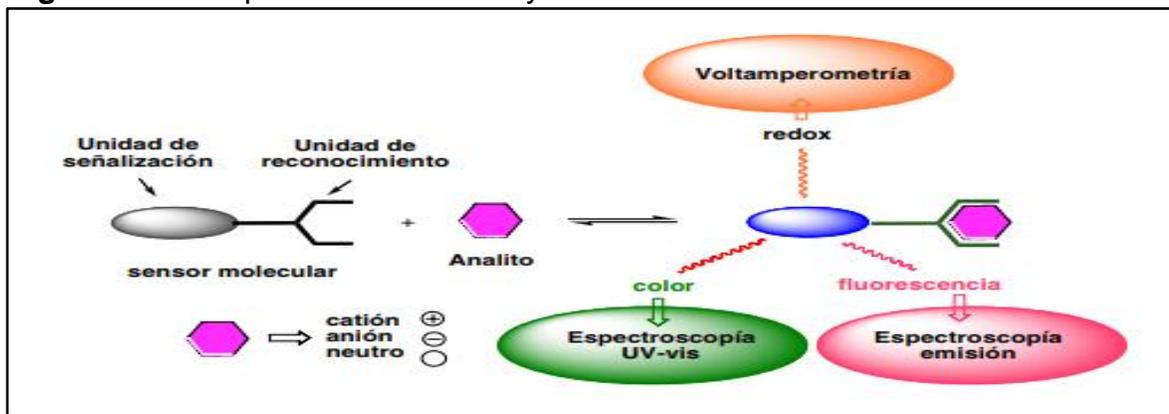
La química supramolecular aplicada al desarrollo de sensores químicos generalmente se compone de dos unidades, una unidad coordinante y una unidad indicadora que puede ser un analito de naturaleza química organometalica.<sup>40</sup>

<sup>40</sup> Abalos Aguado Tatiana. Sensores cromógenos y fluorogénicos para la detección de cationes y aniones. Universidad Politécnica de Valencia. 2011.

La definición de sensor se acopla a dos unidades: de reconocimiento y de señalización que puede ser detectada por medio de equipos desde lámparas ultravioletas hasta espectrofotómetros especializados en analitos específicos.<sup>41</sup>

Los sistemas de reconocimiento molecular con señales de salida ópticas son especialmente atractivos en relación con la transducción de una señal modulada ya que la detección utilizada suele ser mucho más barata, fácil de manejar, y con el uso de instrumentación muy accesible. Como ya se ha mencionado, una de las ventajas que los sensores cromogénicos presentan es que ofrece la posibilidad de la llamada "detección a simple vista" para la determinaciones semicuantitativas, ya sea como paso preliminar en un estudio o como paso final de un proceso, tal como ocurre en muchas determinaciones analíticas reportadas en la bibliografía, en donde el último paso es la formación de un compuesto coloreado que es indicativo de la presencia de un determinado analito y que han servido de inspiración para el diseño de sensores cromogénicos. Los compuestos coloreados presentan bandas de absorción en la zona comprendida entre los 380 y 770 nm aproximadamente y que corresponden al rango de radiaciones electromagnéticas visibles para el ojo humano.<sup>42</sup>

**Figura 13.** Nanopartícula cromofora y cambio en la banda de transmisión



**Fuente:** Universidad Nacional de Colombia. Estudio de la preparación y evaluación de receptores cromogénicos. [En línea]. Consultado el 3 de junio del 2019. Disponible: [www.bdigital.unal.edu.co/view/subjects/54.html](http://www.bdigital.unal.edu.co/view/subjects/54.html).

La fluorescencia permite dar una señal de emisión ya que las moléculas son excitadas por la absorción de energía de electrones que quieren saltar a la banda

<sup>41</sup> Estudio de la preparación y evaluación de receptores cromogénicos, universidad de valencias, por Luis Santos Figueroa , 2016

<sup>42</sup> Ibid. P 01

de conducción y volver a su estado fundamental de energía inicial que es la más mínima.

Los métodos de fluorescencia tienen una ventaja grande y es la sensibilidad que tiene por algunas especies químicas que posean alto niveles de energía, la cual es con frecuencia, de uno a tres órdenes de magnitud mejor que las de la espectroscopia de absorción.<sup>43</sup>

## 1.17 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO

**Tabla 2.** Evaluación de los costos para la detección de sensores cromogenicos

<b>Costos de métodos aplicados en sensores cromogenicos</b>	
Métodos Espectroscópicos	Costos por hora en equipos
Espectrofotómetro UV-Vis	\$ 60.000
Espectrofotómetro Fluorómetro	\$ 110.000
Ensayos Electroquímicos	\$ 80.000 - 120.000
Lámparas Ultravioletas	\$ 10.000

**Fuente:** elaboración propia.

Anteriormente mencionado los sensores cromogenicos presentan una señal cuando están expuestos a un analito ya sea selectivo o no como puede tratarse de una impureza, además de esto los sensores cromogenicos tiene la capacidad de dar una respuesta en las propiedades ópticas de la molécula, para dar reconocimiento y análisis a estos cambios ópticos se necesita implementar de métodos espectroscópicos. En la gráfica 1, se mencionan varios equipos en los cuales se obtienen los resultados de manera rápida y optima ya que los espectros pueden verse en la pantalla del mismo equipo, dependiendo del tipo de sensor cromogenico que se obtenga se escogerá un equipo que se adecue a los cambios ópticos como por ejemplo en el caso de las nanoparticulas tendremos cambios en el plasmon de resonancia (superficie) por medio de los ligandos de especie orgánica, se optara por Espectrofotómetro UV-VIS, para analizar las bandas en las que se excitan y aparece el PLRS, además se tendrá en cuenta que agregando el analito en este caso será el Mercurio Hg<sup>2+</sup>, tendremos cambios en las bandas de valencia del ultimo orbital del oro ligado al GLU, por ende puede que estas bandas tengan un alto grado de energía y puedan pasar a la banda de conducción sin problema y luego vuelvan a su esta inicial de energía en este paso se da el fenómeno óptico de fluorescencia el cual es este caso optaremos con un

<sup>43</sup> Abalos Aguado Tatiana. Sensores cromógenos y fluorogenicos para la detección de cationes y aniones. Universidad Politécnica de Valencia. 2011.

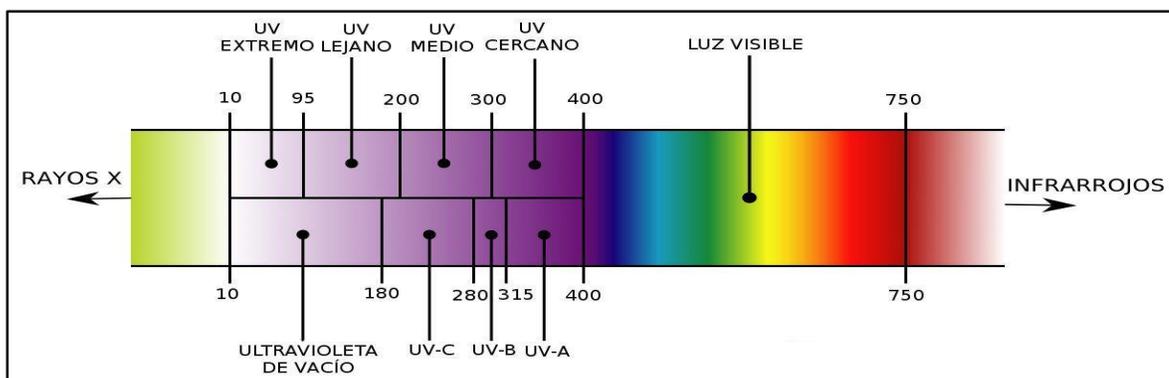
espectrofotómetro Fluorómetro para determinar la banda más alta de fluorescencia y determinar el rendimiento cuántico de estas nanopartículas.

## 1.18 PROPIEDADES ÓPTICAS

### Espectroscopia Ultra Violeta Visible

Esta técnica se basa en la absorción de energía en forma de radiación de todo el campo ultravioleta-visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 160 y 780 nm). La absorción excita a los electrones haciendo que estos tengan algún tipo de desplazamiento, vibración, apagamiento o emisión que es producido por algún fenómeno óptico que pueden ser enlaces. La espectroscopia UV-Vis se utiliza para la identificación de los grupos funcionales presentes en una molécula.<sup>44</sup>

**Figura 14.** Espectro electromagnético de la luz visible.



**Fuente:** VILADOMAT Mariette. Espectroscopia Uv-visible [En línea]. Consultado el 10 de marzo del 2019. Disponible: [www.es.slideshare.net/manuelgug/expo-espectroscopica](http://www.es.slideshare.net/manuelgug/expo-espectroscopica).

**1.18.1 Ley de Lambert Beer.** Los métodos espectroscópicos de análisis están basados en la medida de la radiación electromagnética que es absorbida o emitida por una sustancia. En función de ello se clasifican fundamentalmente en: Métodos de absorción y Métodos de emisión. Prácticamente el material supramolecular es excitado por otro tipo de energía (térmica, electromagnética).

#### **Ecuación 2. Emisión de fluorescencia**

$$A = \epsilon b c$$

**Fuente:** García Andrea, Determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia por métodos indirectos. Universidad de Oviedo, julio del 2015-pag 07.

<sup>44</sup> Servicios Técnicos de investigación. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE [En línea]. Consultado el 11 de Septiembre 2019.

Donde  $c$  se expresa en mol/L,  $b$  es la longitud del camino óptico (anchura de la célula que contiene la disolución de la sustancia) y se expresa en cm, y  $\epsilon$  es la absorción molar ( $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).<sup>45</sup>

**1.18.2 Rendimiento Cuántico de Fluorescencia.** El rendimiento cuántico de fluorescencia es óptico que relaciona la capacidad de vibración que tiene el RSP en la banda de conducción, esta es la cantidad de fotones emitidos sobre los fotones absorbidos a la longitud de onda de excitación de la muestra.<sup>46</sup>

**Ecuación 3.** Rendimiento Cuántico

$$\Phi_f = \frac{N_{em}(\lambda_{ex})}{N_{abs}(\lambda_{ex})}$$

**Fuente:** García Andrea, Determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia por métodos indirectos. Universidad de Oviedo, julio del 2015 pag 07.

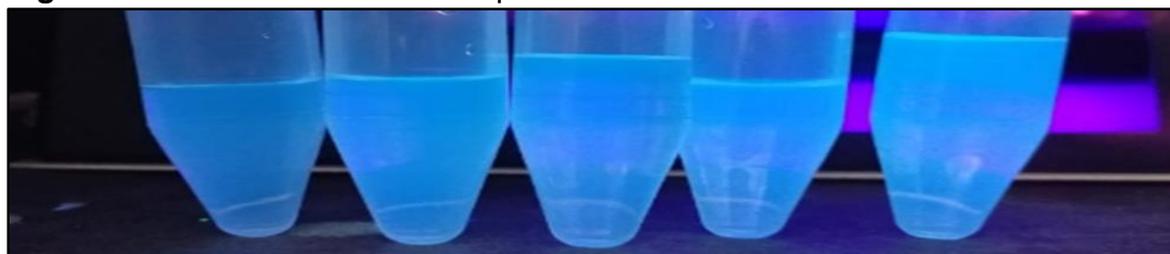
El espectro de la bandas de absorción y emisión tienen que compararse con un estándar que ya aparece reportado en la bibliografía y esta tiene características importantes dando respuestas ópticas de fluorescencia grandes, este debe ser muy parecido al de la muestra de nanopartículas que se vaya a medir. La expresión que provee la IUPAC para determinar el rendimiento cuántico por el método relativo es la siguiente:

**Ecuación 4.** Reemplazo en el rendimiento cuántico de las nanopartículas de oro.

$$\Phi_x = \Phi_{st} \frac{1-10^{-A_{st}}}{1-10^{-A_x}} \times \frac{\eta_x^2}{\eta_{st}^2} \times \frac{I_x}{I_{st}} = \Phi_{st} \frac{\eta_x^2}{\eta_{st}^2} \times \frac{M_x}{M_{st}} \text{ (ec.7)}$$

**Fuente:** García Andrea, Determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia por métodos indirectos. Universidad de Oviedo, julio del 2015 pag 07.

**Figura 15:** Fluorescencia de Nanopartículas de oro con CD.



**Fuente:** elaboración propia.

<sup>45</sup> Harris, D. C. Análisis Químico Cuantitativo. 3ª ed. Capítulo 18. Ed. Reverté, 2007.

<sup>46</sup> Gómez Piñeros Brayan. Nano-sensores fluorescentes basados en puntos cuánticos de CdSe/ZnS para la detección de mercurio. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Químicas; 2018.

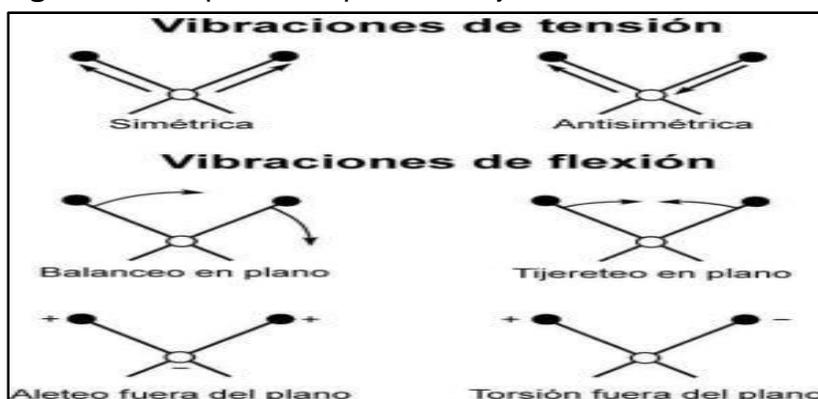
## 1.19 PROPIEDADES ESTRUCTURALES

### 1.19.1 Espectroscopia de transmisión infrarroja con transformada de Fourier.

Esta espectroscopia se fundamenta en la absorción de la radiación IR por las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para que se de una transición vibracional de la molécula. Es decir, la molécula comienza a vibrar una determinada manera gracias a la energía que se le suministra mediante luz infrarroja.<sup>47</sup>

Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de tensión y de flexión. Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces. En la siguiente figura se representan los diferentes tipos de vibraciones moleculares.

Figura 16. Espectroscopia Infrarroja.



**Fuente:** Caracterización de materiales cristalinos practica guiada. Técnicas de Caracterización IR. [En línea]. Consultado el 16 de julio 2019. Disponible: [www.ehu.eus/imacris/PIE06/web/IR.htm](http://www.ehu.eus/imacris/PIE06/web/IR.htm).

**1.19.2 Difracción de Rayos X.** La difracción de rayos X es uno de los fenómenos físicos que se producen al interaccionar un haz de rayos X, de una determinada longitud de onda, con una sustancia cristalina. La difracción de rayos X se basa en la dispersión coherente del haz de rayos X por parte de la materia (se mantiene la longitud de onda de la radiación) y en la interferencia constructiva de las ondas que están en fase y que se dispersan en determinadas direcciones del espacio.

<sup>47</sup> Rubinson K.A., Rubinson J.F., "Análisis Instrumental", Ed. Pearson Educación, 2000.

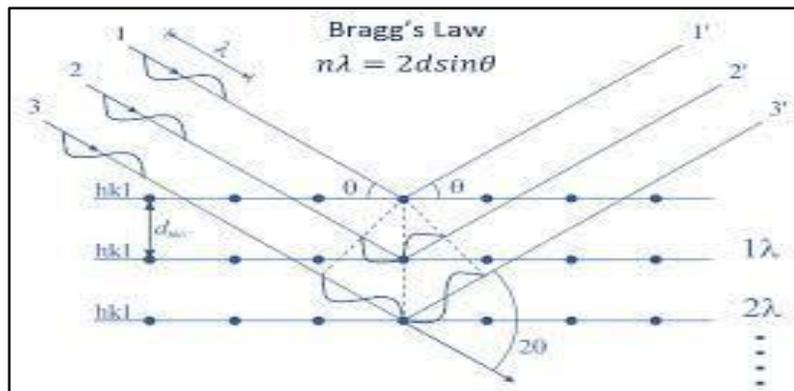
El fenómeno de la difracción puede describirse con la Ley de Bragg, que predice la dirección en la que se da interferencia constructiva entre haces de rayos X dispersados coherentemente por un cristal:

**Ecuación 5.** Ley de bragg

$$n\lambda = ds \text{ en}\theta$$

**Fuente:** García Andrea, Determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia por métodos indirectos. Universidad de Oviedo, julio del 2015.

**Figura 17.** Difracción de Rayos X



**Fuente:** Caracterización de materiales cristalinos practica guiada. Técnicas de Caracterización IR. [En línea]. Consultado el 16 de julio 2019. Disponible: [www.ehu.eus/imacris/PIE06/web/IR.htm](http://www.ehu.eus/imacris/PIE06/web/IR.htm).

**1.19.3 Cálculos del diámetro de un cristal por DRX.** Ecuación de Scherrer. Esta ecuación nos permite evidenciar el diámetro aproximado que tiene un cristalito.

**Figura 18.** Ecuación de Scherrer

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta}$$

**Fuente:** Materiales Nanoestructurados: Síntesis y Caracterización – Seminarios. [En línea]. Consultado el 10 de marzo 2019. Disponible: [www.uco.es/docencia/mejoradocente/docientia/material/semi-materiales-nanoestructurados-sintesis-caracterizacion/](http://www.uco.es/docencia/mejoradocente/docientia/material/semi-materiales-nanoestructurados-sintesis-caracterizacion/).

$k$  es una función de forma la cual tiene un valor de 0.94

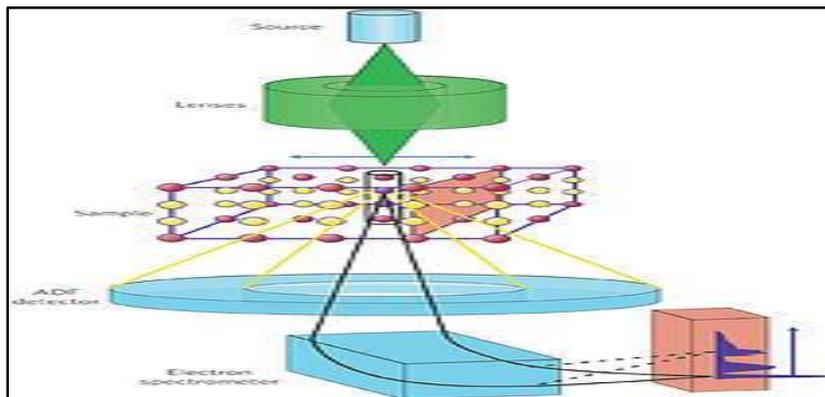
$\lambda$  es la longitud de onda de la radiación ( $\text{CuK}\alpha = 0.154178 \text{ nm}$ )

$\beta$  fue determinado de la integración del ancho medio del pico experimental (FWHM) con un valor de 0,4 (GSH) 0,45(CIS)

$\theta$  es el ángulo de incidencia con un valor de 31,8

**1.19.4 Microscopia Electrónica de Transmisión.** El microscopio electrónico de transmisión (TEM) es un instrumento que aprovecha los fenómenos físico-atómicos que se producen cuando un haz de electrones suficientemente acelerado colisiona con una muestra delgada convenientemente preparada. Cuando los electrones colisionan con la muestra, en función de su grosor y del tipo de átomos que la forman, parte de ellos son dispersados selectivamente, es decir, hay una gradación entre los electrones que la atraviesan directamente y los que son totalmente desviados. La información que se obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que se corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes.<sup>48</sup>

**Figura 19.** MET Microscopio Electrónico de Transmisión.



**Fuente:** SILVA Héctor. Microscopios Electrónicos de Transmisión (TEM). [En línea]. Consultado el 10 de marzo 2019. Disponible: [www.linan-ipicyt.mx/Microscopio\\_HR-TEM.html](http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio_HR-TEM.html).

<sup>48</sup> Servicio de Microscopía Electrónica. Universidad Politécnica de Valencia. [En línea] Consultado el 4 de Septiembre 2019. [www.upv.es/entidades/SME/info/753329normalc.html](http://www.upv.es/entidades/SME/info/753329normalc.html).

**1.19.5 Espectrometría de resonancia magnética nuclear.** Es una técnica que explota las propiedades magnéticas de ciertos núcleos. Las aplicaciones más importantes para su uso en química orgánica son la espectrometría RMN de protones y la de carbono-13. En principio, la RMN es aplicable a cualquier núcleo que posea espín.

Cuando los materiales supramoleculares se encuentran en un entorno químico con variables y condiciones ideales, los diferentes protones en una molécula al ser excitadas por una fuente de energía en este caso electromagnética estas resuenan a frecuencias ligeramente diferentes, ya que estas se puede desplazar directamente proporcionales a la fuerza del campo magnético en la que se encuentre los electrones que interactúan con la superficie y el complejo con el cual se encuentra funcionalizado, este campo se vuelve independiente en la región electromagnética y se le da valor adimensional conocido como desplazamiento químico.<sup>49</sup>

**Figura 20.** Bruker para RMN.



**Fuente:** Espectrometría de resonancia magnética nuclear. Espectrometria.com. [En Línea]. Consultado el 4 septiembre 2019. [www.espectrometria.com/espectrometra\\_de\\_resonancia\\_magntica\\_nuclear](http://www.espectrometria.com/espectrometra_de_resonancia_magntica_nuclear).

---

<sup>49</sup> Espectrometría de resonancia magnética nuclear. Espectrometria.com. [En Línea]. Consultado el 4 septiembre 2019. [www.espectrometria.com/espectrometra\\_de\\_resonancia\\_magntica\\_nuclear](http://www.espectrometria.com/espectrometra_de_resonancia_magntica_nuclear)

## 1.20 IMPACTO AMBIENTAL CON MERCURIO EN COLOMBIA

Colombia es uno de los principales productores de metales preciosos como el oro, según cifras del Sistema de Información Minero Colombiano (SIMCO), en los últimos cinco años, prácticamente todo el oro producido en el país fue extraído por los departamentos de Antioquia, Choco, Bolívar, Cauca, Caldas y Nariño, se extraen entre 40 a 50 toneladas/año, en el 2018 aproximadamente 45 toneladas/año de oro fueron obtenidos de la minería artesanal<sup>50</sup>.

La Red Por La Justicia Ambiental Colombiana, han demostrado que a nivel nacional las actividades industriales y mineras contienen en sus residuos iones de metales pesados como el mercurio; específicamente la actividad minera hace que los índices de contaminación se eleven, independientemente de la técnica aplicada en extracción (artesanal o industrial), el mercurio se adhiere al oro, formando una amalgama que facilita su separación de la roca, arena u otro material<sup>51</sup>, posterior a esto, se calienta la amalgama para que se evapore el mercurio y el producto final sea oro. Este proceso de producción tiene repercusiones a largo plazo, generando problemas de salud graves por intoxicación, en Colombia existe uno de los niveles más altos en impacto ambiental por mercurio, liberando al ecosistema entre 50 a 100 Toneladas/Año.<sup>52</sup>.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) destaca que el consumo de agua contaminada por mercurio tiene un estándar de concentración menor a 0,02 ppm para que sea apta para el consumo humano, no obstante, se ha detectado que en varios municipios de Colombia hay un índice de concentración de 0,03 ppm y en regiones donde hay explotación minera es hasta de 0,08 ppm. El Ministerio de Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial en la resolución 2115 del 2007, establece el valor máximo aceptable del mercurio es de 0,01ppm.

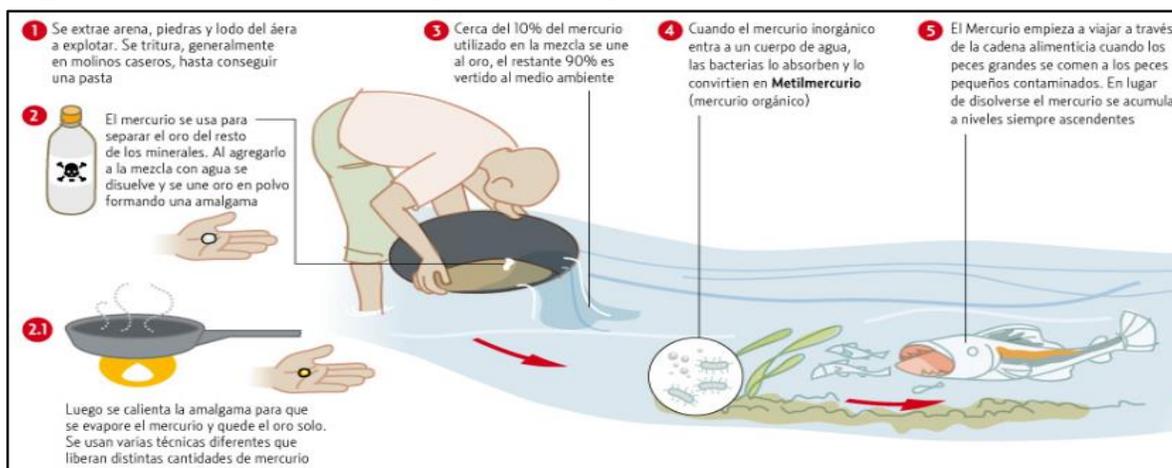
---

<sup>50</sup> Mercurio en la minería del oro: impacto en las fuentes hídricas destinadas para consumo humano, Farith A. Díaz-Arriaga Department of Civil, Architectural and Environmental Engineering, Cockrell School of Engineering. The University of Texas at Austin, U.S.A.

<sup>51</sup> Porosimetría del mercurio con métodos físicos, normativa, proceso y procedimiento experimental, Universidad de CEDEX.

<sup>52</sup> Red de la Justicia Ambiental Colombiana, resoluciones nacionales, [En Línea]. Consultado el 2 de Septiembre. [www.justiciaambientalcolombia.org/herramientas-juridicas/mercurio/](http://www.justiciaambientalcolombia.org/herramientas-juridicas/mercurio/)

**Figura 21.** Ciclo del mercurio y minería ilegal.



**Fuente:** Contaminación de mercurio en el medio ambiente. Disponible: Services, H. Toxicological Profile for Mercury. In *ATSDR's Toxicological Profiles*; CRC Press, 2002.

El proyecto se orienta en el desarrollo y la aplicación de un procedimiento sencillo y económico para la detección de mercurio en muestras de agua, en la que cualquier persona pueda acceder y verificar en tiempo real que hay presencia de mercurio en el medio acuoso. Y de este modo, evaluar la comparación de los métodos analíticos tradicionales, los cuales requieren de un equipo especializado y en algunos casos costoso, para el mismo propósito. La propuesta a desarrollar emplea nanopartículas de oro que se caracterizan por sus propiedades ópticas, las cuales se modifican con la captura de mercurio generando cambios de coloración y cambios en las propiedades fluorescentes<sup>53</sup>, perceptibles incluso cualitativamente. Las nanopartículas no son tóxicas ni peligrosas, su obtención se realizará por síntesis verde empleando reactivos no contaminantes a presión atmosférica y temperatura controlada<sup>54</sup>. La interacción del mercurio se realizará empleando ligandos tiofílicos que pueden incorporarse en la superficie de las nanopartículas y además coordinar el mercurio, para realizar mediciones cuantitativas y cualitativas.

A continuación en la tabla 2, de acuerdo a los antecedentes se evidencian los tipos de síntesis que se realizaron en cada investigación, evaluando el precursor en este caso el  $\text{HAuCl}_4$ , o en algunas síntesis también se evaluaron con puntos de carbono CD, los ligandos para el acople en la superficie que fueron L-GLU, L-CIS, L-MET. Se evaluaron precursores de especie inorgánica con el fósforo u otros metales como la

<sup>53</sup> Granados, Oliveros G. *Síntesis y caracterización de las propiedades ópticas de puntos cuánticos de CdSe y CdSe/ZnS*. 31 Mayo del 2017.

<sup>54</sup> Sistema de detección de "fluencia" basado en nanopartículas de oro para la detección selectiva de iones de mercurio en solución acuosa, por los autores Sohee Choi y Youngmi Kim, del Departamento de Química, Instituto de Nanosensores y Biotecnología, Universidad Dankook 448-701.

plata y el hierro que le dan el soporte selectivo a la superficie del material supramolecular.

Además, se evaluaron las variables de proceso más importantes que influyen en la parte óptica de los materiales supramoleculares, en este caso tenemos la temperatura que anteriormente se ha mencionado que es la variable más importante a controlar ya que las nanopartículas pueden sufrir de aglomeración y afectar las propiedades ópticas al momento de medir el espectro en el equipo, en conclusión con los antecedentes la temperatura óptima de síntesis es de 20 a 40 °C solo para las nanopartículas de oro si estas se acoplan con otro material supramolecular como se referencia los puntos de carbono necesitan otra temperatura de síntesis solo para estas que pueden ser de 100 a 180°C dependiendo el precursor de carbono que se aplique, es importante tener en cuenta que cuando se realiza la síntesis por microondas la temperatura se puede graduar y la variable del tiempo disminuye a lo que es el tiempo óptimo de reacción que en este caso es de 1 a 8 horas, también evaluando la síntesis si tiene más de un precursor que necesite mayor tiempo de reacción.

La conservación de los materiales supramoleculares depende mucho de la temperatura de refrigeración, ya que esta variable es importante al momento en que el material posee defectos superficiales y esta lo que hace es que “frena” el proceso de defectos superficiales, ya que no se genera aglomeraciones ni disoluciones, la temperatura óptima es la de refrigeración que está entre 2 a 4°C.

**Cuadro 1.** Comparación de síntesis de nanopartículas con cada variable

<b>Químico</b>	<b>Síntesis</b>	<b>Variables de operación</b>	<b>Referencia</b>
<b>AuNC-CD's</b>	Síntesis a reflujo, con precursor de HAuCl <sub>4</sub> y reductor NaOH.	Soluciones equimolares 1:1 Temperatura: 37 °C Tiempo : 12 horas Refrigeración: 4 °C Agitación: 300 rpm	Multicolorful fluorescent-nanoprobe Composed of Au Nanocluster and Carbon Dots for Colorimetric and Fluorescent Sensing Hg <sup>2+</sup> and Cr <sup>6+</sup> .
<b>CD - AuNC + GLU</b>	Síntesis en baño frío, con precursor de HCL y Au <sup>III</sup> , ligando GSH	Soluciones equimolares 1:2 Temperatura: 5 °C Tiempo : 1 hora Refrigeración: 3 °C Agitación: 800 rpm	Carbon dot cluster as an efficient “off-on” fluorescent probe to detect AU(III) and glutathione.

Cuadro 1. (Continuación)

<b>Quimisor</b>	<b>Síntesis</b>	<b>Variables de operación</b>	<b>Referencia</b>
<b>CD - AuNC + CIS</b>	Síntesis a reflujo, con precursor CD y H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> , (C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> ·H <sub>2</sub> O), Ligando Cisteína.	Soluciones equimolares 1:1 Temperatura: 30 - 180°C Tiempo : 8 horas Refrigeración: 3 °C Agitación: 800 rpm	Fluorescent probes for “off-on” highly sensitive detection of Hg <sup>2+</sup> and L-cysteine based on nitrogen-doped carbon dots.
<b>CD - AuNC Radio</b>	Síntesis a temperatura ambiente, con precursor H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> , PBS, Ligando GSH.	Soluciones equimolares 3:1 Temperatura: 22 °C T.A Tiempo:microwaving 8 mn Refrigeración: 4 °C Agitación: 900 rpm	Ratiometric fluorescence sensor based on dithiothreitol modified carbon dots-gold nanoclusters for the sensitive detection of mercury ions in water samples, Sensors.
<b>GQD - AuNp</b>	Síntesis a temperatura ambiente, con precursor H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> , Ligando GSH-QD.	Soluciones equimolares 1:1 Temperatura: 15 °C Tiempo:microwaving 10 mn Refrigeración: 4 °C Agitación: 900 rpm	Interfacing watersoluble nanomaterials with fluorescence chemosensing: Graphene quantum dot to detect Hg <sup>2+</sup> in 100% aqueous solution
<b>AuNp-L-Methionine</b>	Síntesis a temperatura ambiente, con precursor H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> , P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , Ligando metionina.	Soluciones equimolares 1:1 Temperatura: 15 °C Tiempo: 30 mn Refrigeración: 4 °C Agitación: 850 rpm	Phosphorus-doped carbon dots for sensing both Au (III) and L-methionine

**Cuadro 1.** (Continuación)

<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Au Nanoparticles of detection Hg</b>	Síntesis a reflujo, con precursor HAuCl <sub>4</sub> , Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , Ligando GSH - CYS	Soluciones equimolares 1:2 Temperatura: 45 °C Tiempo: 3 horas Refrigeración: 4 °C Agitación: 500 rpm	DNA Modified Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -Au Magnetic Nanoparticles as Selective Probes for Simultaneous Detection of Heavy Metal Ions
AuNp + GLU	Síntesis a reflujo y baño en frío, con precursor HAuCl <sub>4</sub> , NaBH <sub>4</sub> Ligando GSH - CYS.	Soluciones equimolares 1:1 Temperatura: 30 °C Tiempo: 2 horas Refrigeración: 4 °C Agitación: 600 rpm	ESTE PROYECTO

**Fuente:** elaboración propia.

## 2. DISEÑO METODOLÓGICO

### 2.1 REACTIVOS

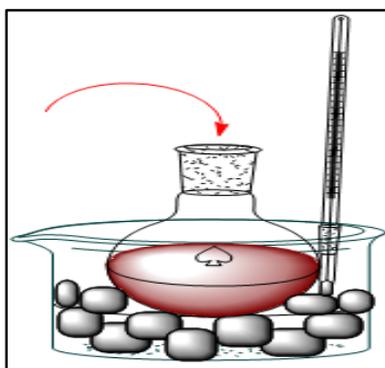
Se obtuvo de Sigma Aldrich (EE.UU.) Cloruro de Oro ( $\text{AuCl}_3$ ), Borohidruro de Sodio ( $\text{NaBH}_4$ ), Glutation (Glu), Cisteína (CIS), Sulfato de Quinina ( $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ ), Cloruro de Mercurio ( $\text{HgCl}_2$ ), todos estos en estado puro.

Se obtuvo de Panreac (Colombia) Hexano, cloroformo, acetato de Etilo, etanol y metanol al 99,8% y agua desionizada, todo grado analítico.

### 2.2 SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE ORO EN BAÑO FRIO

Se prepararon AuNp ligados con Glutación y Cisteína, por el método de Bottom Up, en dispersión coloidal a baño en frío.

**Figura 22.** Síntesis de AuNp en baño frío.



**Fuente:** elaboración propia.

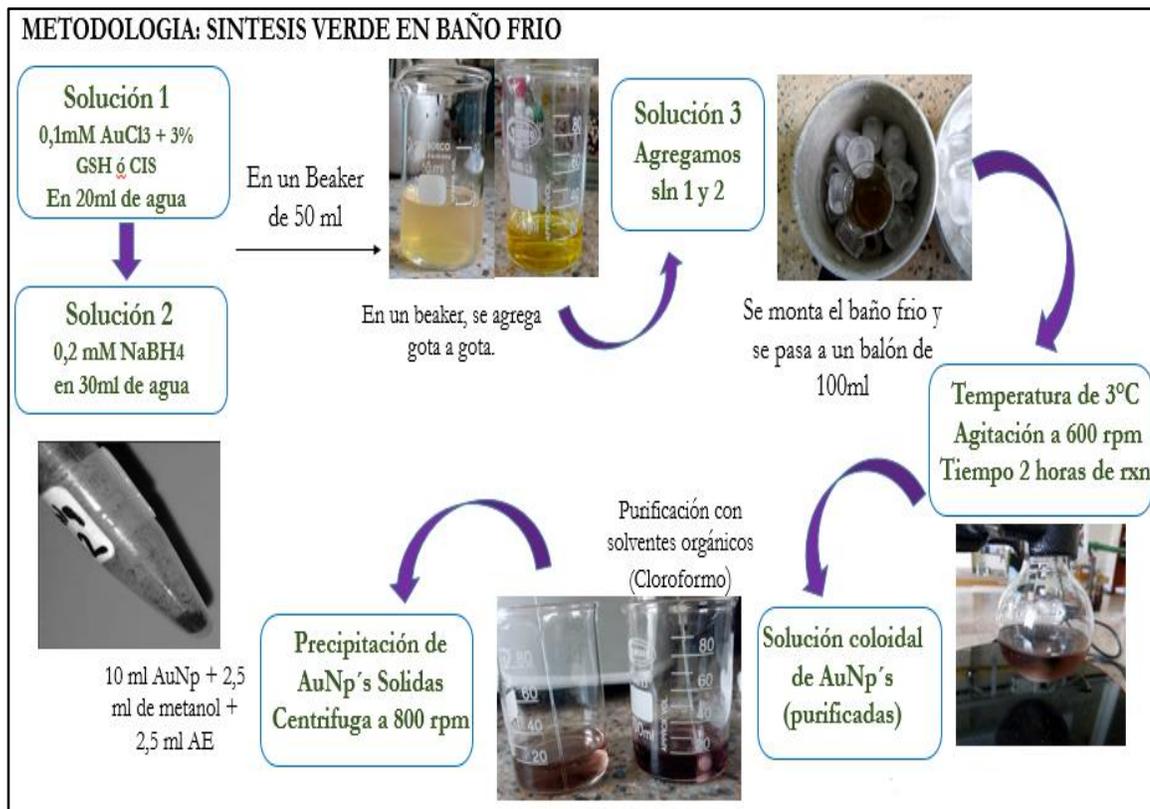
Esta metodología que se presenta a continuación es propia del grupo de investigación Nano-Inorgánica, las variables del proceso fueron definidas anteriormente en el capítulo 1, para la validación de las BPL se basaron en los antecedentes donde se podrá replicar el método continuamente.<sup>55</sup>

Para ello, se preparó 30 mL de una solución de 0.2 mM de borohidruro de sodio y se añaden a un balón de fondo redonde de 100 ml, con agitación magnética y colocándolo en un baño de hielo por 20 minutos. En otro balón de 100 ml se añade 20 mL de una solución 0.1 mM de precursor del metal ( $\text{HAgCl}_4$ ). Esta solución se coloca en un baño de hielo y se añade 3 mL de la solución del ligando al 3% con

<sup>5555</sup> Liying Yu, Lingyu Zhang, Guojuan Ren, Shuang Li. Multicolorful fluorescent-nanoprobe Composed of Au Nanocluster and Carbon Dots for Colorimetric and Fluorescent Sensing  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$ . 23-1-2018.

agitación magnética. Posteriormente, se añade la solución de  $\text{NaBH}_4$  helada, gota a gota a la solución del metal. La reacción se deja a temperatura ambiente manteniendo la agitación. La solución se purifica con cloroformo para eliminar impurezas, finalmente se centrifugan las nanopartículas.

**Figura 23.** Diagrama de flujo de la síntesis de AuNp en baño frío.

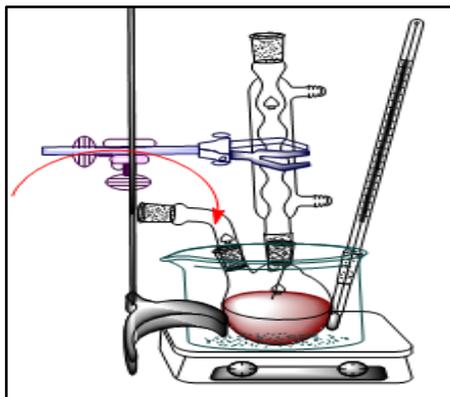


**Fuente:** elaboración propia.

### 2.3 SÍNTESIS DE NANOPARTICULAS DE ORO A REFLUJO

Se prepararon AuNp ligados con Glutati3n y Cisteína, por el método de Bottom Up, en dispersi3n coloidal a reflujo.

**Figura 24.** Reflujo de las AuNp.



**Fuente:** elaboraci3n propia.

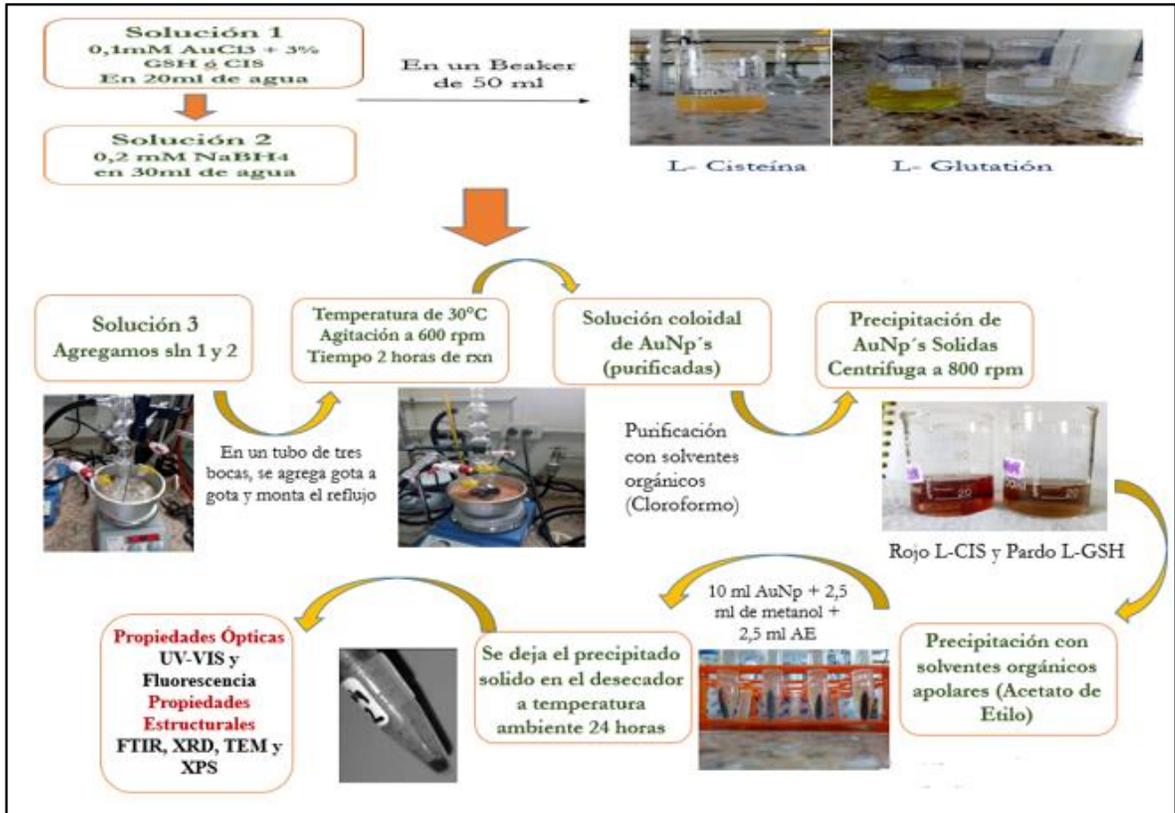
Para ello, se prepar3 30 mL de una soluci3n de 0.2 mM de borohidruro de sodio y se a±aden a un bal3n de fondo redondo de 100 ml, con agitaci3n magn3tica por 20 minutos. En otro bal3n de 100 ml se a±ade 20 mL de una soluci3n 0.1 mM de precursor del metal ( $\text{HAuCl}_4$ ). Esta soluci3n se coloca a reflujo y se a±ade 3 mL de la soluci3n del ligando al 3% con agitaci3n magn3tica. Posteriormente, se a±ade la soluci3n de  $\text{NaBH}_4$ , gota a gota a la soluci3n del metal con 3l ligando. La reacci3n se deja a temperatura de  $30^\circ\text{C}$ , manteniendo la agitaci3n. La soluci3n se purifica con un embudo de decantaci3n con cloroformo para eliminar impurezas, finalmente se centrifugan las nanopartículas a 800 rpm.<sup>56</sup>

Para la obtenci3n de los materiales supramoleculares como las nanopartículas de oro siguen el método de sntesis bottom Up, ya que estas empiezan desde átomos y mol3culas como en este caso la mol3cula de Cloruro de Oro ( $\text{AuCl}_3$ ) que por medio del control de variables del proceso de sntesis llegan a crecer como partícula supramoleculares. La reducci3n por una sal metálica se produce por medio del Borohidruro de Sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) que reduce el precursor de  $\text{AuCl}_3$  a varios estados de valencia que presenta el metal Oro (Au).

---

<sup>56</sup> Liying Yu, Lingyu Zhang, Guojuan Ren, Shuang Li. Multicolorful fluorescent-nanoprobe Composed of Au Nanocluster and Carbon Dots for Colorimetric and Fluorescent Sensing  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$ . 23-1-2018.

**Figura 25.** Diagrama de flujo de la síntesis de AuNp a reflujo.



**Fuente:** elaboración propia.

La síntesis que se presenta en la figura 23 y 24, menciona las condiciones óptimas para que lleguen a la escala nanométrica sin que sufran ningún tipo de transformación en la parte estructural ni en sus propiedades ópticas, por eso al controlar la temperatura a 30°C y 3°C nos aseguramos que no se modificaran las propiedades ópticas y ni posibles aglomeraciones mientras el precursor de H[AuCl<sub>3</sub>] entra en contacto con el ligante de L-GLU con una agitación de 600 rpm donde se encuentra estabilizada y en solución coloidal, al agregar el agente reductor este necesita agregarse en función del tiempo el cual necesita alimentar la solución en un intervalo de 10 segundos (gota a gota) para que este al incorporarse a la solución reaccione completamente con el precursor y el ligante ya que este busca la reducción del estado de oxidación de la molécula de oro para llevar a cabo el proceso de, primero el tamaño de partícula y segundo llegar al estado de oxidación óptimo que es su mayoría sería Au (-) al cabo de un tiempo de 2 horas.

## **2.4 CARACTERIZACIÓN DE LA NANOPARTICULAS DE ORO LIGADAS CON L-GLUTATIÓN Y L-CISTEÍNA**

Todos los equipos utilizados para la elucidación de las propiedades ópticas y estructurales pertenecen a la Universidad Nacional de Colombia por lo tanto las referencias de cada equipo son únicas y posterior a esto cada equipo se encuentra calibrado sin margen de error.

**2.4.1 Propiedades Ópticas UV-Vis y Fluorescencia.** Para elucidar los espectros de absorción de complejos coloreados de las nanoparticulas se utilizó el espectrofotómetro UV-Vis EMC-11-UV con una lámpara de tungsteno. Las absorbancias de las AuNp se midieron según la ley de Beer-Lambert el cual se realizó por cada uno de los ligandos utilizados.

Los espectros de fluorescencia se midieron en el espectrofluorómetro Cary Eclipse, con una lámpara de Xenón como fuente de excitación. Se utilizó Sulfato de Quinina como solución estándar del rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\Phi_{FI}$ ) el cual para el sulfato de quinina es de 0.94 disuelta en ácido clorhídrico, el cual la longitud de excitación es de 360 nm.

**2.4.2 Propiedades Estructurales FTIR, DRX, TEM.** El análisis Espectroscopia de transmisión infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) de las AuNp se midieron en un espectro Thermo Scientific Nicolet iS10; para el análisis de difracción de rayos X (DRX) de las AuNp se hicieron en un difractómetro PANalytical modelo X'pert PRO-MPD, con tubos de generación de rayos X con ánodos de Cu (cobre), Mo (Molibdeno) y Fe (Hierro), operando a 45 kV y 40 mA con una  $\lambda = \text{Cu-K}\alpha$  (1.54Å).

Para el análisis de Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) de las AuNp se hicieron en un microscopio de transmisión de la fundación Santa Fe de Bogotá, el microscopio electrónico de transmisión emite un haz de electrones dirigido hacia el objeto que se desea aumentar ya que los electrones rebotan o son absorbidos por la membrana y otros lo atraviesan formando una imagen aumentada de las AuNp.

## **2.5 EVALUACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LA NANOPARTICULA DE ORO CON LOS LIGANDOS (GLU Y CIS)**

Por medio de Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN), se elucidara la estructura molecular del ligando y el enlace del cluster de oro, por medio del coeficiente de difusión en 2D (DOSY).

Por último el análisis de RMN  $^1\text{H}$  protonico se hicieron en un espectrómetro de RMN Bruker 400 UltraShield equipado con una sonda de observación de banda ancha

(BBO) de gradiente z de 5 mm que funciona a 400 MHz (para la frecuencia  $^1\text{H}$ ). Para los experimentos de difusión en RMN 2D (DOSY) Diffusion Ordered Spectroscopy, bajo una secuencia básica de pulsos (PFGSE) Pulsed Field Gradient Spin-echo Experiment.

- Se preparan muestras purificadas y en estado sólido ( Np L-GSH y Np L-CIS ) en los tubos de RMN con Cloroformo Deuterado.
- Según los resultados obtenidos mediante la técnica se analiza el estado de la estructura por medio de un análisis de coeficiente de difusión (DOSY).
- Se propone un mecanismo de reacción para la interacción del mercurio con las nanoparticulas.

## **2.6 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL MERCURIO SOBRE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO**

La evaluación del efecto del mercurio en las nanoparticulas de oro, tiene como efecto la modificación de las propiedades ópticas en la superficie de la nanopartícula que serán analizadas por el espectrofotómetro UV-VIS y Fluorómetro que registrara la respuesta en la banda de valencia del analito que interfiere con una cadena de ácido carboxílico de glutatión.

Se escogió la síntesis a reflujo con precursor de H  $[\text{AuCl}_3]$  y L-GLU, ya que esta tuvo un porcentaje de precipitados de nanoparticulas del 89 % a comparación de la síntesis en baño en frío que tuvo un porcentaje del 68%. Según los antecedentes se requiere que la síntesis que se llevan a aplicaciones para sensores cromogénicos, tenga un alto grado de dispersión coloidal y tamaño de partícula constante en entre una colonia de 120 moléculas, ya que para llevarlas a un proceso en función del tiempo estas deben reacción por 20 minutos a 400 rpm y a temperatura ambiente, ya que por medio de estas operaciones no se generaran aglomeración o contaminación en la solución. En la superficie de los materiales supramoleculares los analitos se pueden acoplar debido a la selectividad que tenga con estos, en este caso el mercurio como anteriormente mencionamos tiene gran afinidad con el oro, sin embargo para que este reaccione en su totalidad hay que agregar a la solución precursora un volumen específico para garantiza el acople, para una muestra con  $0,1 \mu\text{M}$  de precursor debe agregarse el analito 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 y 1:5.

Se preparó una solución acuosa de AuNp con L-Glutatión en un volumen de solución acuosa de  $Hg^{2+}$  para obtener una mezcla de AuNp 130 ppm en una concentración de  $0.001\mu M$ ,  $0.002\mu M$ ,  $0.003\mu M$ ,  $0.004\mu M$  y  $0.005\mu M$ , se dejan a agitación magnética por 20 minutos a 400 rpm, posterior a esto se midió la intensidad de fluorescencia a 420 nm, además se midieron las absorbancias, midiendo a 260 nm aparece el plasmon de resonancia.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las AuNp se sintetizaron por el método de síntesis verde por solución coloidal en baño frío y a reflujo, el cual en baño en frío a 2 °C en constante agitación se obtuvo una nanopartícula con un diámetro estable, además se sintetizaron a reflujo a 40 °C en constante agitación donde la nanopartícula aumentó de diámetros sin embargo se mantuvo estable.

Para la purificación de las AuNp se realiza con cloroformo para eliminar impurezas, posterior a esto se llevan a centrifugación por 20 minutos a 800 rpm, dejando algunas nanopartículas en el fondo del vaso de precipitados, tenemos que tener en cuenta que por ser un metal que tiene un peso molecular de 196.9 g/mol pero no solo se tiene el oro puro además este está con una sal AuCl<sub>3</sub> con un peso molecular 303.33 g/mol, las nanopartículas tienen a precipitar por ellas mismas en un determinado tiempo de 20 minutos, para aumentar el nivel de precipitado utilizamos solvente apolares como en este caso Acetato de Etilo y Metanol, se llevaron a centrifugación por 20 minutos a 800 rpm y se observa que una gran cantidad de nanopartículas han precipitado en el fondo, sin embargo para obtenerlas en fase sólida, se requiere dejarlas reposar a temperatura ambiente por 24 horas para que se evapore las trazas de agua o de solventes, pasado el tiempo se obtiene un polvillo de color marrón oscuro y muy fino, si se dejan más tiempo al medio ambiente por un largo periodo de tiempo estos tienden a formar cristales.

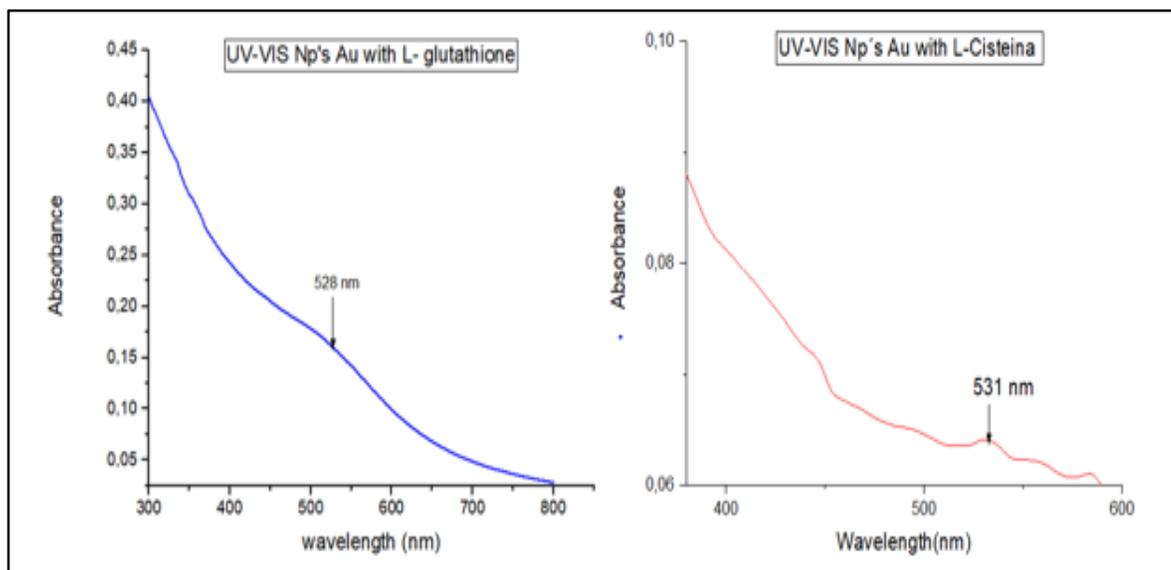
Para la síntesis con los ligandos tioderivados glutatión y cisteína se alcanza el objetivo de que este se acople a la superficie de la nanopartícula por medio de una interacción de enlace covalente coordinado, este ligante hace que las propiedades ópticas de la AuNp se modifiquen en cuando a la absorción de esta y la emisión. En fluorescencia la excitación está en una longitud de onda de 360 nm y la emisión en 420nm el cual me indica que la nanopartícula posee una leve fluorescencia que se determinó por el rendimiento cuántico, esto es debido a que la AuNp posee un plasmon de resonancia magnética y este le permite absorber y liberar en forma de vibraciones el cual en la región del ultravioleta se ve reflejado.

El alcance de este proyecto es evaluar la interacción que el mercurio provoca en las AuNp, el cual ya anteriormente mencionado por ser un material conductor le permite absorber fotones para emitirlos en un rango terminado del espectro visible, por ende se opta por evaluar un quimio sensor colorimétrico – Fluorescente que me permita evidenciar el fenómeno físico-químico de la fluorescencia que es el Quenching (el aumento o disminución de la fluorescencia en un material).

### 3.1 PROPIEDADES ÓPTICAS

**3.1.1 UV-Vis.** A partir de los espectros de absorción de las AuNp, el pico de absorción óptico más alto es de 528nm con ligando de glutatión y 531nm con ligando de cisteína, que se encuentra en la región visible. Podemos decir que ha aparecido el Plasmon de resonancia de las AuNp en esa banda de absorción. Ver en la gráfica 1.

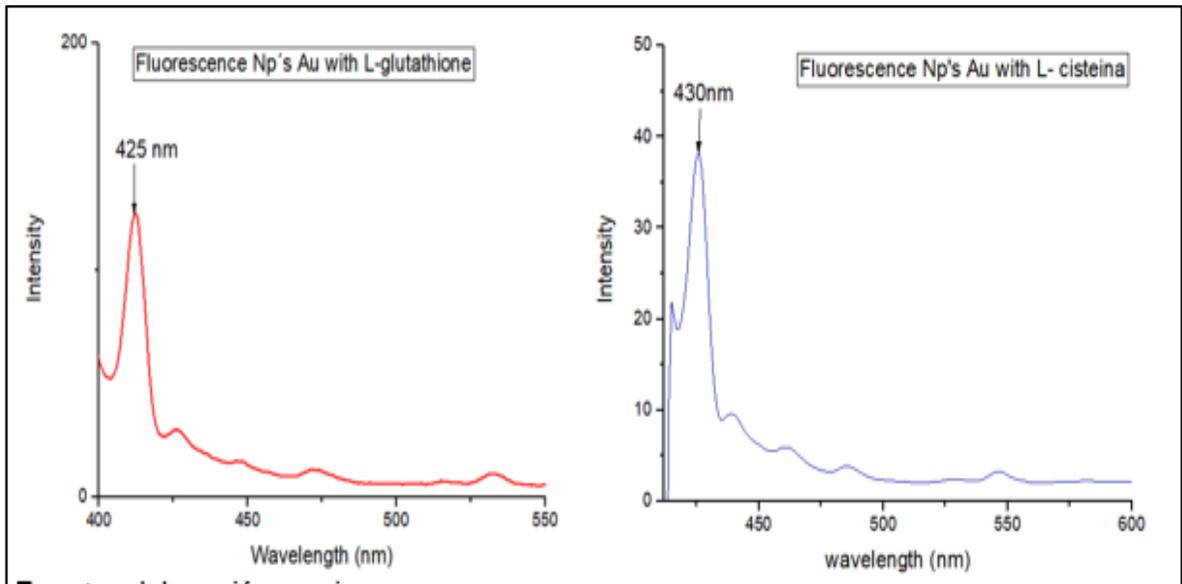
**Gráfica 1.** Espectros UV-VIS (Azul – Glu, Rojo- Cis)



**Fuente:** elaboración propia.

**3.1.2 Fluorescencia.** El rendimiento cuántico fluorescente de las nanopartículas en la gráfica 2 se determina con una excitación a 360 nm como estándar el sulfato de quinina disuelto en ácido sulfúrico (0,5 M), que entra en un rango de los 360nm a 450 nm y se evidencia un pico máximo en 425nm para las AuNp con Glu y de 430nm para las AuNp con Cis. Obtenemos un rendimiento cuántico del  $\Phi=5\%$  AuNp-Glu y  $\Phi=7\%$  AuNp-Cis. Ver en la gráfica 2.

**Gráfica 2.** Espectro de Fluorescencia (Rojo-Glu y Azul-Cis).

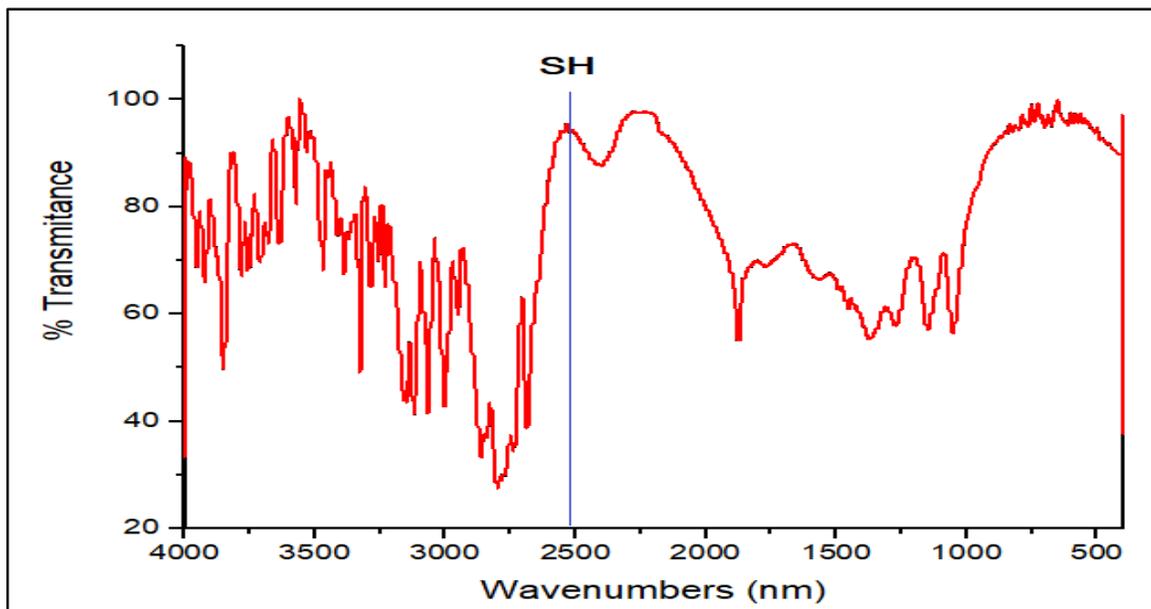


Fuente: elaboración propia.

### 3.2 PROPIEDADES ESTRUCTURALES

#### 3.2.1 Espectroscopia de transmisión infrarroja con transformada de Fourier

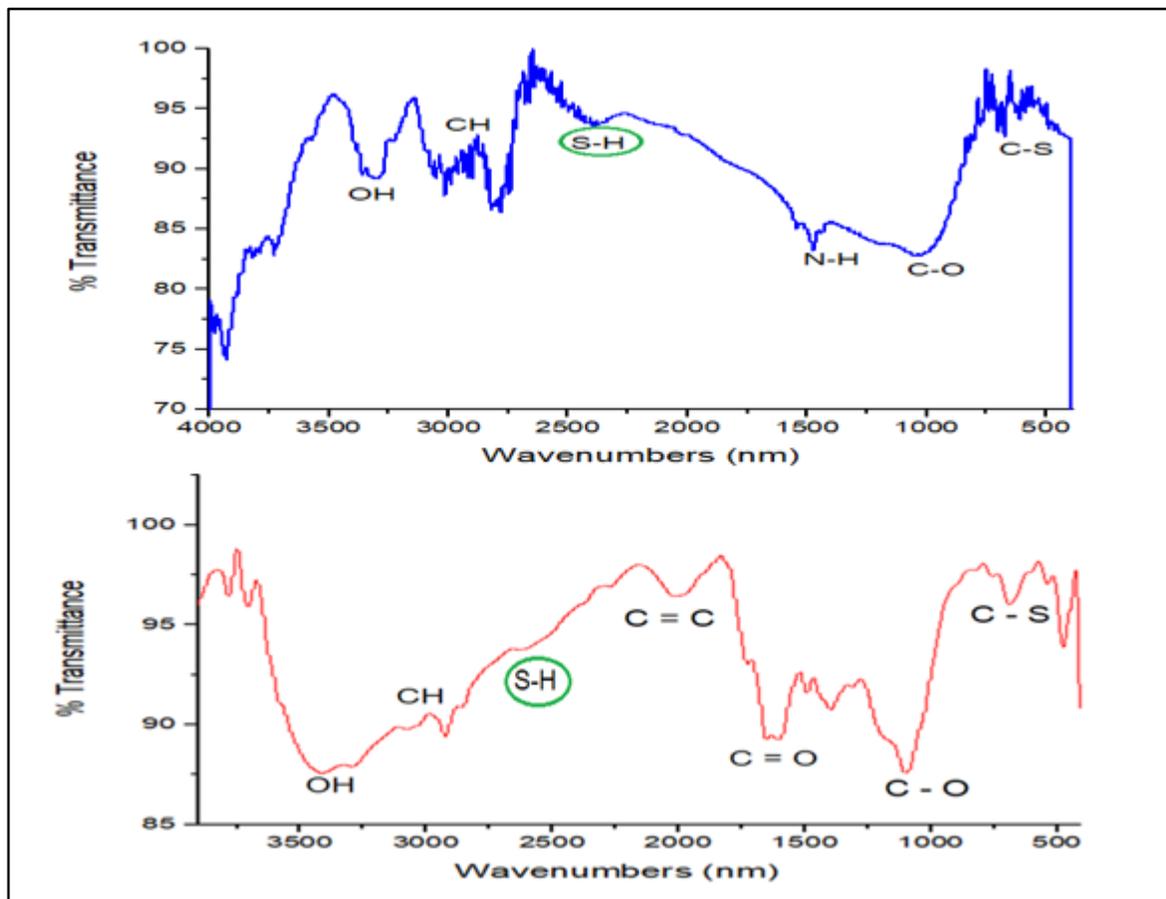
**Gráfica 3.** FT-IR Glutati6n.



Fuente: elaboraci6n propia.

El espectro FT-IR, en la gráfica 3 se muestra el pico centrado característico del ácido carboxílico Glutathion y cisteína, en la región de  $2500\text{ cm}^{-1}$  donde se encuentra el grupo tiol SH, que es de gran importancia cuando se acopla a la superficie de la nanopartícula de oro ya que por medio de un enlace covalente coordinado se enlaza en el último orbital del oro con una configuración electrónica de  $4F14\ 5d9\ 6p2$  y en su extremo con el grupo tiol con estado de oxidación  $S-H^{-1}$ .

**Gráfica 4.** FT-IR de la AuNp (rojo – GLU, azul – CIS).



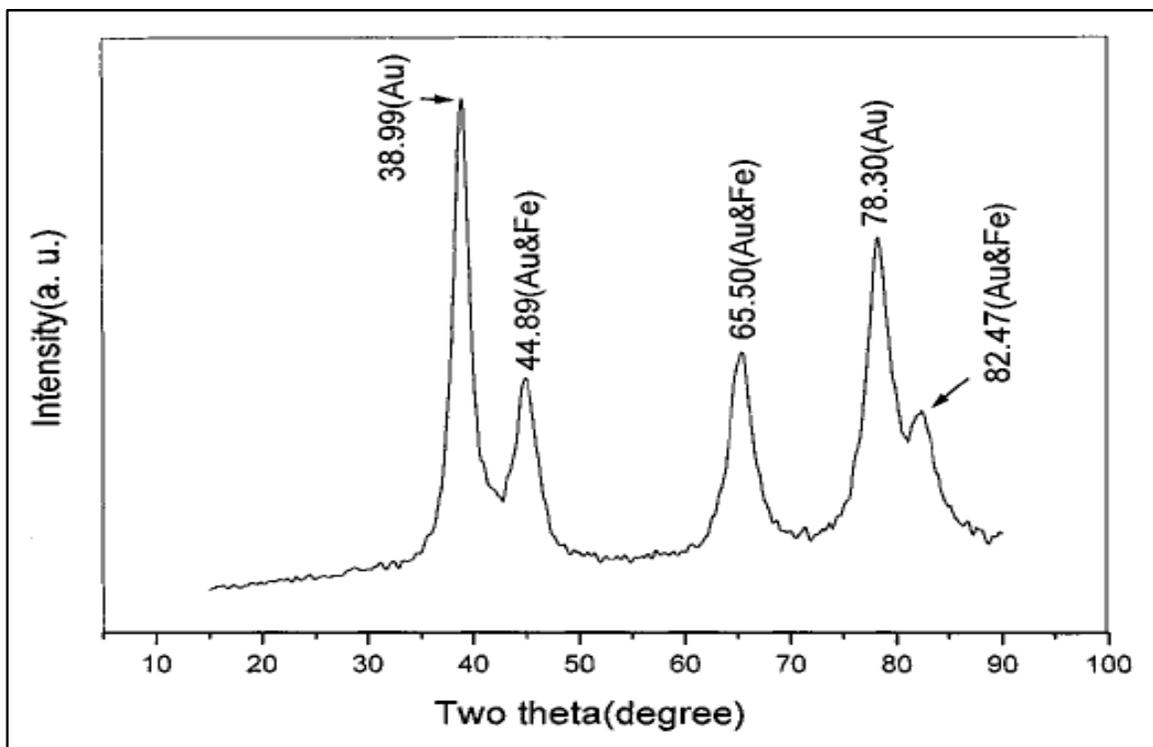
**Fuente:** elaboración propia.

El espectro FT-IR, en la gráfica 4 se muestran los picos centrados en  $3334$  y  $1635\text{ cm}^{-1}$ . La amplia e intensa absorción a  $3332\text{ cm}^{-1}$  es la característica del grupo funcional hidroxilo en alcoholes y compuestos fenólicos que regular la acidez de la nanopartícula y hace parte de la cadena de los ácidos carboxílicos del ligante orgánico. La banda a  $1635\text{ cm}^{-1}$  puede asignarse a la banda de amida  $C = O$  por las proteínas que el ligando (L-glutathión) se ha unido a la superficie de las

nanopartículas, en  $3002\text{ cm}^{-1}$  está el grupo CH, la banda en  $2103\text{ cm}^{-1}$  representa el benceno aromático C = C y en  $756\text{ C} = \text{S}$ .

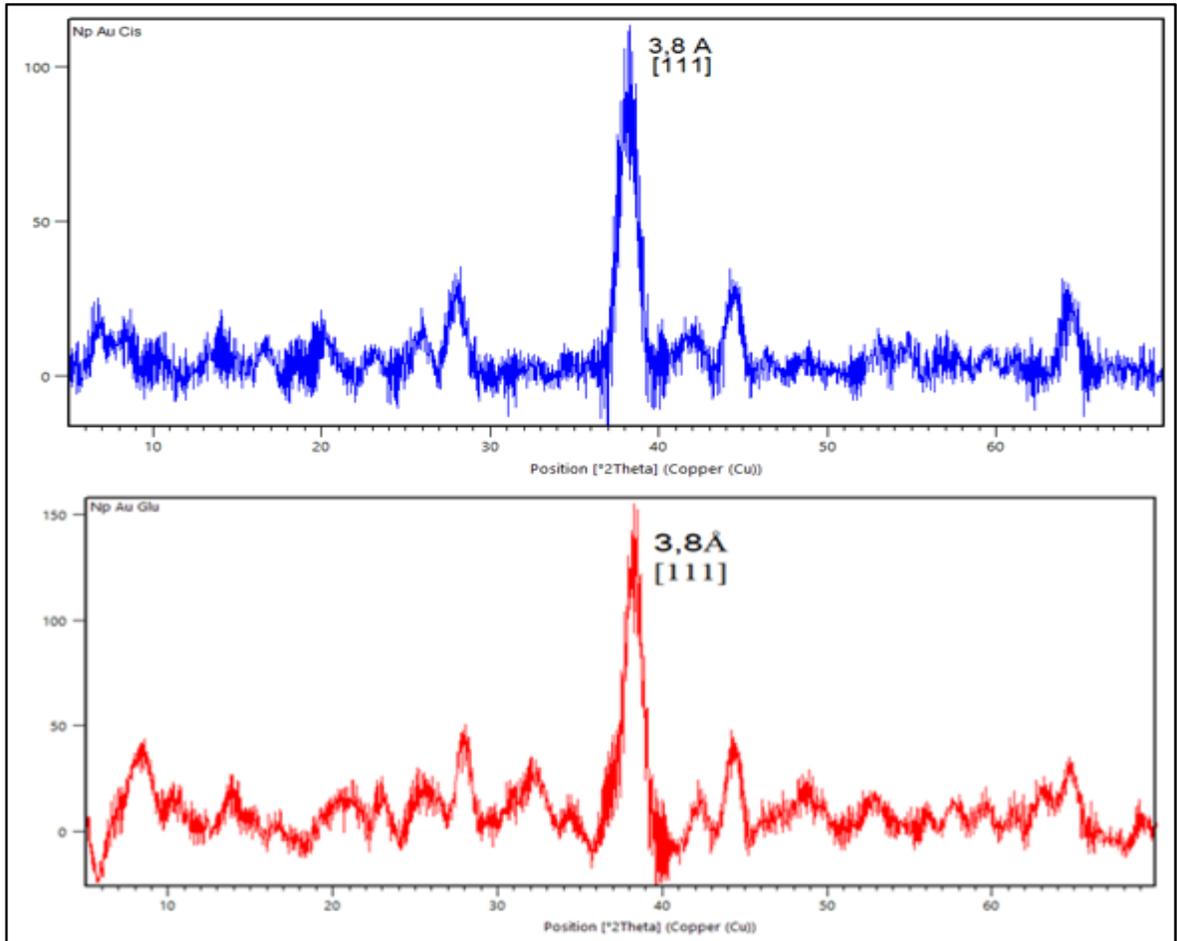
**3.2.2 Difracción de Rayos X.** El difractograma de rayos X, la gráfica 6, muestra un pico en la región de  $3.8\text{ \AA}$ . Por los Índices de Miller nos da a entender que se encuentra el oro una dirección de deslizamiento de [111], correspondientes a la celda cúbica centrada en las caras del Au, con 4 átomos por celda, factor de empaquetamiento de 0,74, constante de red  $0,408\text{ nm}$  y un radio atómico de  $0,144\text{ nm}$ , con la ecuación de Scherrer se sabe que el tamaño de la nanopartícula es aproximadamente de  $21,54\text{ nm}$  y  $19,18\text{ nm}$ . Ver grafica 5.

**Gráfica 5.** Referencia de difractograma de rayos X de la banda del oro (Au).



**Fuente:** Gold-Coated Iron (Fe@Au) Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Magnetic Field-Induced Self-Assembly. Disponible: Journal of Solid State Chemistry 159, 26}31 (2001).

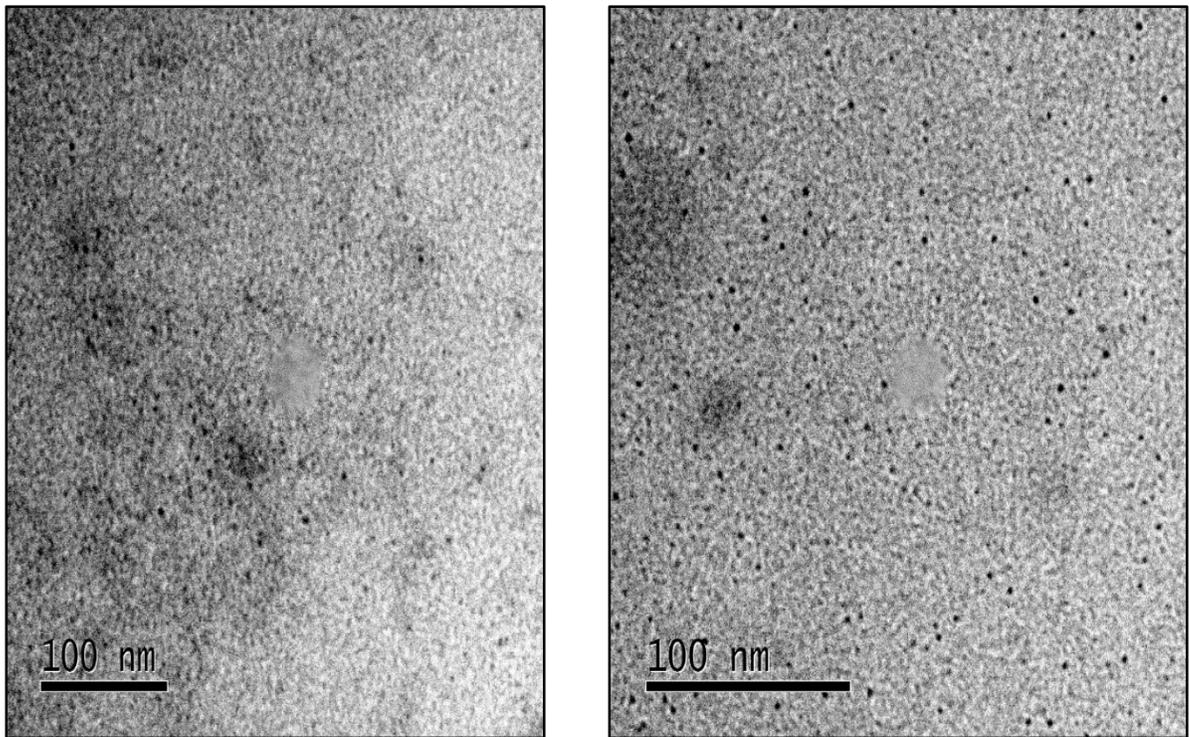
**Gráfica 6.** DRX de AuNp con CIS y AuNp con Glu.



**Fuente:** elaboración propia.

**3.2.3 Microscopia Electrónica de Transmisión.** Se determinó el diámetro de partícula por medio del software ImageJ, el cual se mide la escala nanométrica y se ajusta a la superficie de la micrografía, por medio una red de interface se ajusta a los granos que sigan el rango de la escala especificada y esta cuenta las colonias y arroja un promedio estándar de diámetro que tomo el software. Además, se determinó el diámetro de partícula de forma manual con el mismo software pero esta vez solo tomando la escala nanométrica y manualmente se van ajustando a los granos que tomemos o consideremos “nanopartícula” sin tomar espacios no deseados. Ver gráfica 7.

**Gráfica 7.** TEM – CIS y TEM- GLU



**Fuente:** elaboración propia.

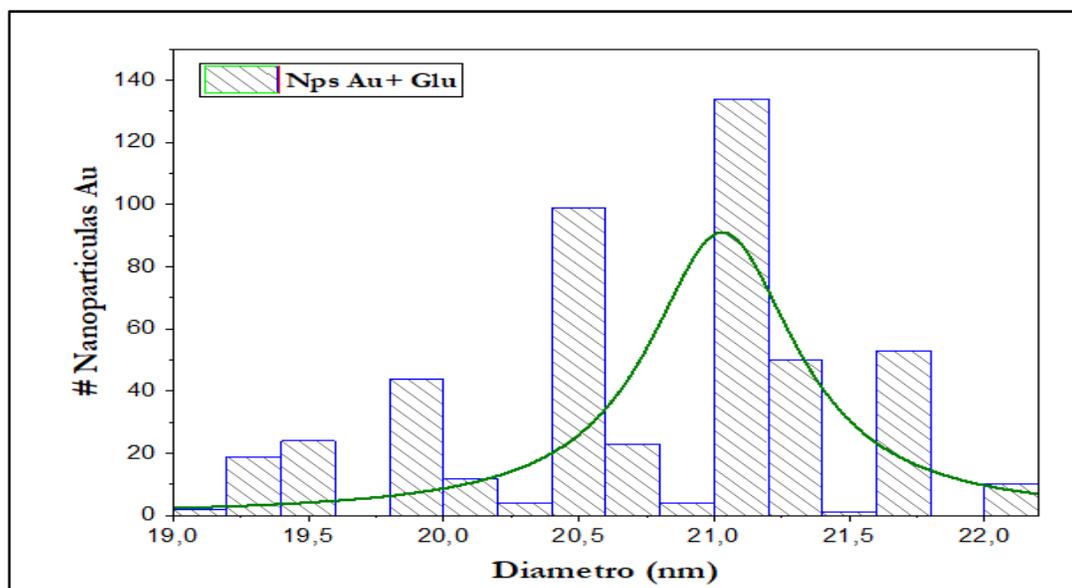
**Tabla 3.** Comparación de ligando de acuerdo al tamaño de partícula

LIGANDO	Diámetro de partícula (nm)	Std. Dev. (%)	Desviación del software	Desviación manual
L-Glutatión	21,1	12,4	0,77	0,35
L-Cisteína	18,9	10,5	0,63	0,56

**Fuente:** elaboración propia.

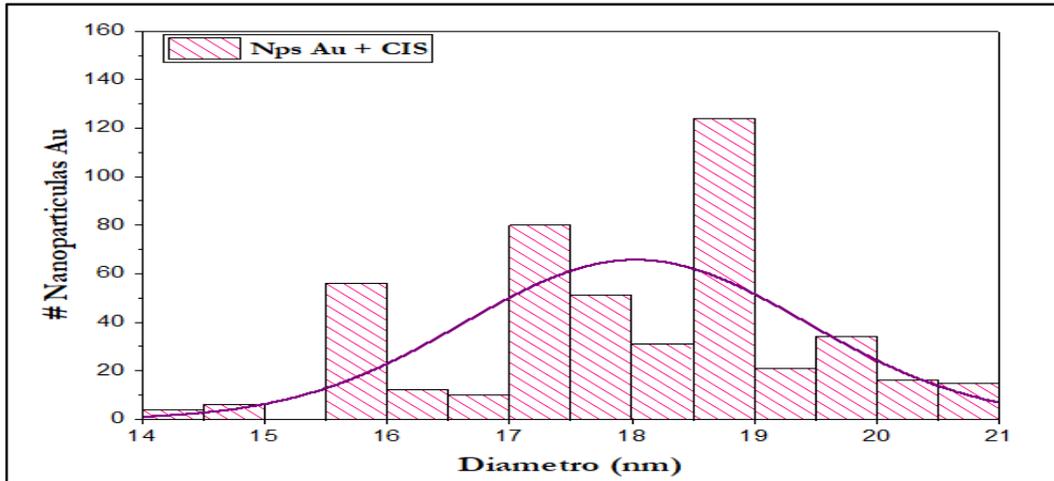
La Micrografía se evidencia en la gráfica 7, la homogeneidad en la dispersión de las partículas expuestas, con un análisis de frecuencia vs tamaño de partícula en cual da como resultado que para las nanoparticulas ligadas con glutatión el diámetro de estas es de 21,1nm, mientras que las nanoparticulas ligadas con cisteína tienen un diámetro de 18,9nm.

**Gráfica 8.** Histograma de AuNp – Glu



**Fuente:** elaboración propia.

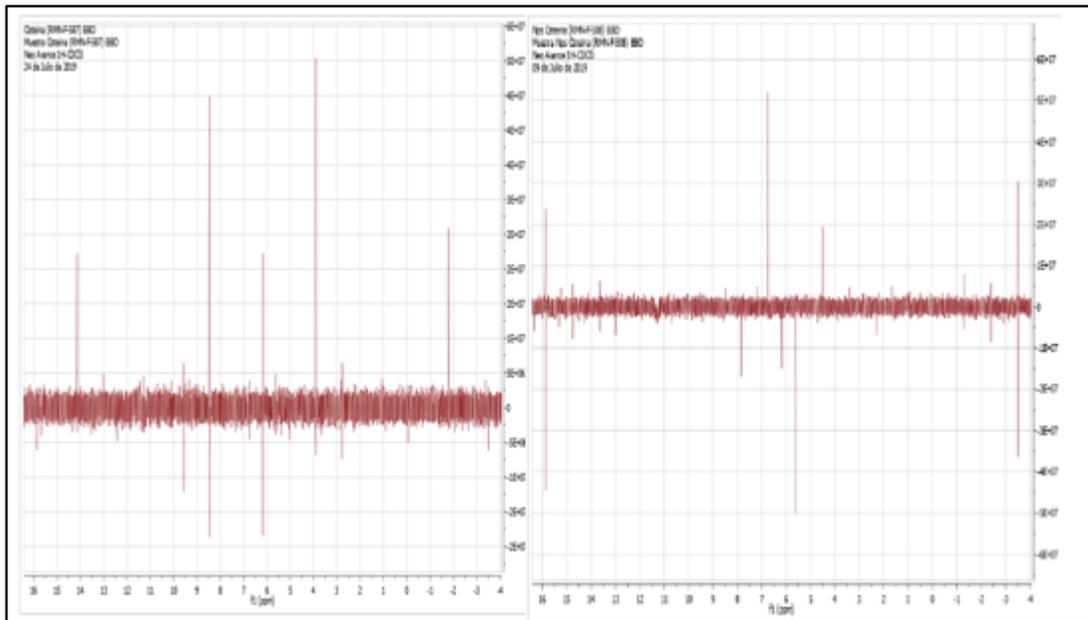
**Gráfica 9.** Histograma AuNp + L-Cis



Fuente: elaboración propia.

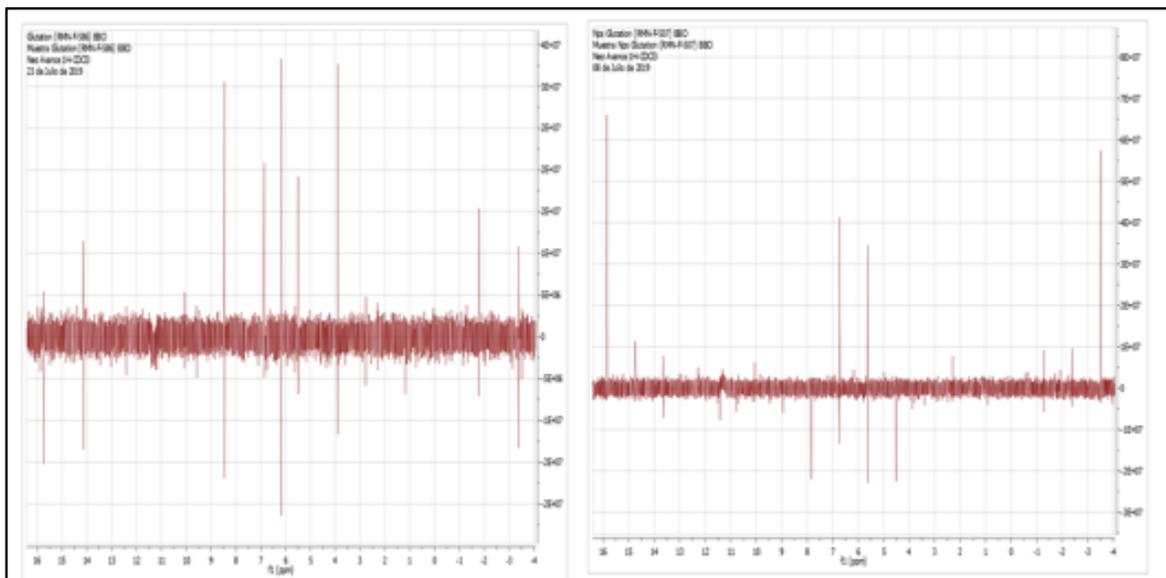
**3.2.4 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.** Los espectros de RMN protónicos de los ligandos señalizan los tres picos típicos de la Cisteína pura se evidencian de manera pronunciada, se denotan variaciones en desplazamientos químicos, debido a enlaces de carácter electrostáticos con complejos diferentes de la cisteína, generando un efecto de protección/desprotección en la banda de conducción donde se encuentran los electrones del oro.

**Gráfica 10.** RMN  $^1\text{H}$  protónico del ligando L-cisteína, RMN de AuNp + L-CIS



Fuente: elaboración propia.

**Gráfica 11.** RMN 1H protónico del ligando L-Glutatión y RMN AuNp + L-GLU



**Fuente:** elaboración propia.

Los espectros de RMN protónicos de los ligandos señalizan los seis picos típicos del Glutatión puro, se denotan variaciones en desplazamientos químicos, debido a enlaces de carácter electrostáticos con complejos diferentes del glutatión, generando un efecto de protección/desprotección en la banda de conducción donde se encuentran los electrones del oro.

**3.2.4.1 RMN DOSY 2D.** Las interacciones que se generan entre un ligante con la superficie de la nanoparticulas de oro, se puede emplear con la técnica RMN 2D DOSY. La técnica se evidencia cuando hay presencia de la baja señalización de la variación del gradiente magnético, se puede estimar la constante de difusión del nanomaterial.

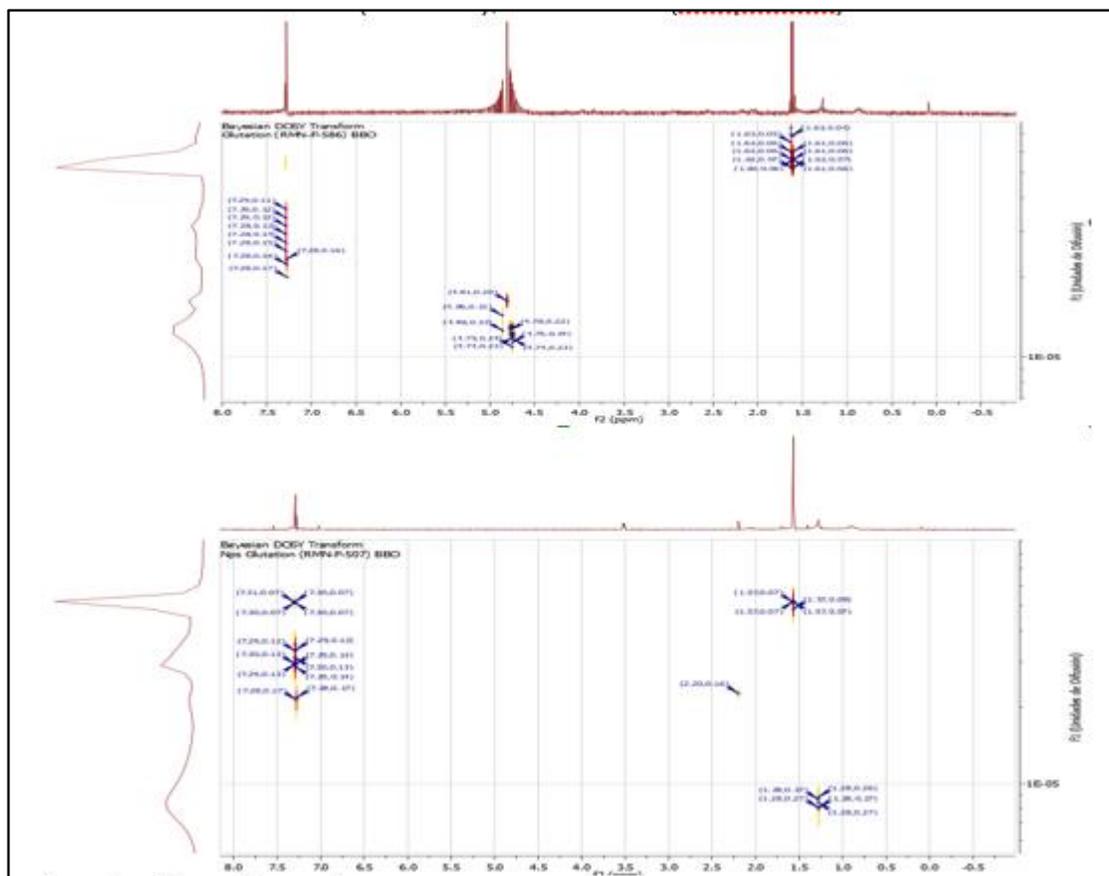
**Ecuación 6.** RMN DOSY

$$\frac{A}{A_0} = \exp^{-\gamma^2 G_z^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right) D}$$

**Fuente** Santos Leonardo. Espectroscopia difusional, separación e identificación de componentes en un solo espectro. Mayo del 2013.

Determinando los valores de la ecuación y con el software que permite manipular el espectro calculando la constante de difusión por medio de pulsos de energía que el nanomaterial presenta por medio de los protones en función de la intensidad por ende el pico de RMN sigue el modelo de una función exponencial bajo una constante de decaimiento que es directamente proporcional a la constante de difusión, uniendo estas funciones se genera un transformada de Laplace que es el resultado del mapa 2D – denominado en RMN – DOSY , en donde en el eje X tenemos el desplazamiento químico ( $\delta$ ) y en el eje Y la constante de difusión (D).<sup>57</sup>

**Gráfica 12.** DOSY RMN (Glutati6n), DOSY RMN (AuNp+L-Glu)

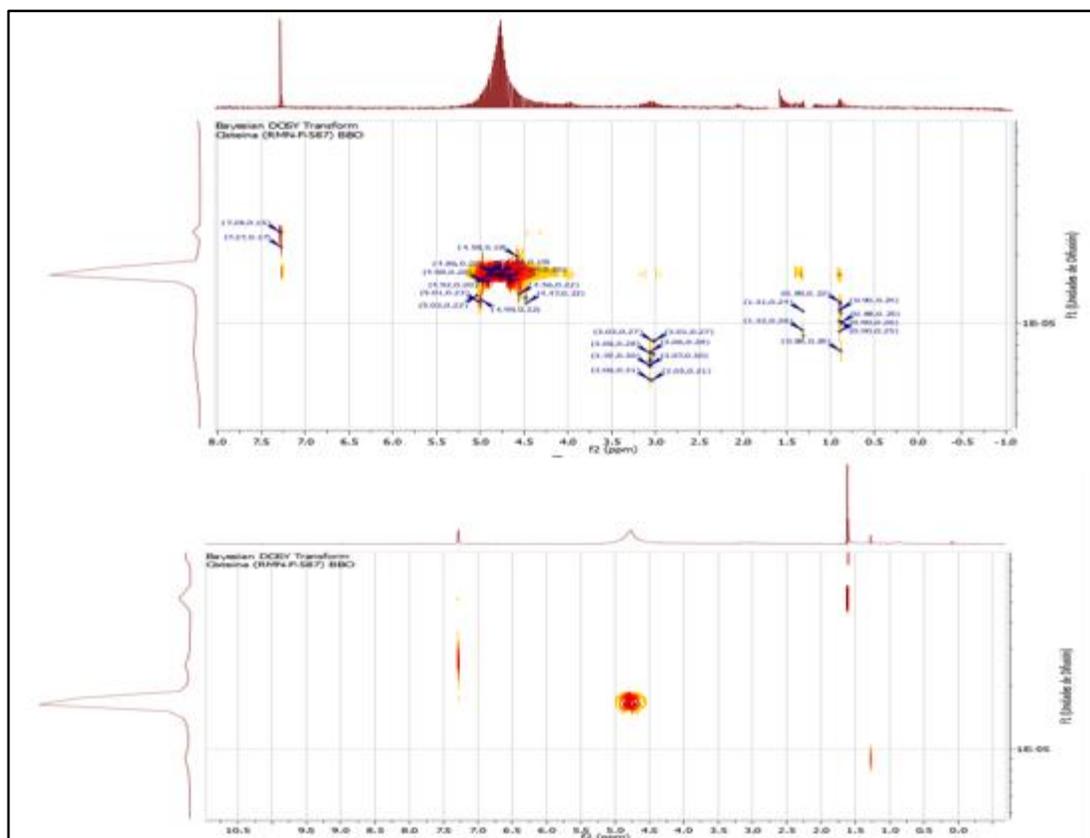


**Fuente:** elaboraci6n propia.

<sup>57</sup> Zhao, C.; Bai, Z.; Liu, X.; Zhang, Y.; Zou, B.; Zhong, H. Small GSH-Capped CuInS<sub>2</sub> Quantum Dots : MPA-Assisted Aqueous Phase Transfer and Bioimaging Applications. 2015, 1–27.

El espectro nos arroja un coeficiente de difusión por medio de una transformada Bayesiana, el cual el espectro nos indica que para el glutatión en la regio en 1,67 ppm el DOSY:  $4 \times 10^{-4}$ , cuando interactúa con el clúster de oro por medio de un enlace coordinado covalente la constante se ve desplaza ligeramente en la región de 1,50ppm y DOSY:  $7 \times 10^{-4}$ .

**Gráfica 13.** DOSY RMN (Cisteína), DOSY RMN (AuNp+L-Cis)



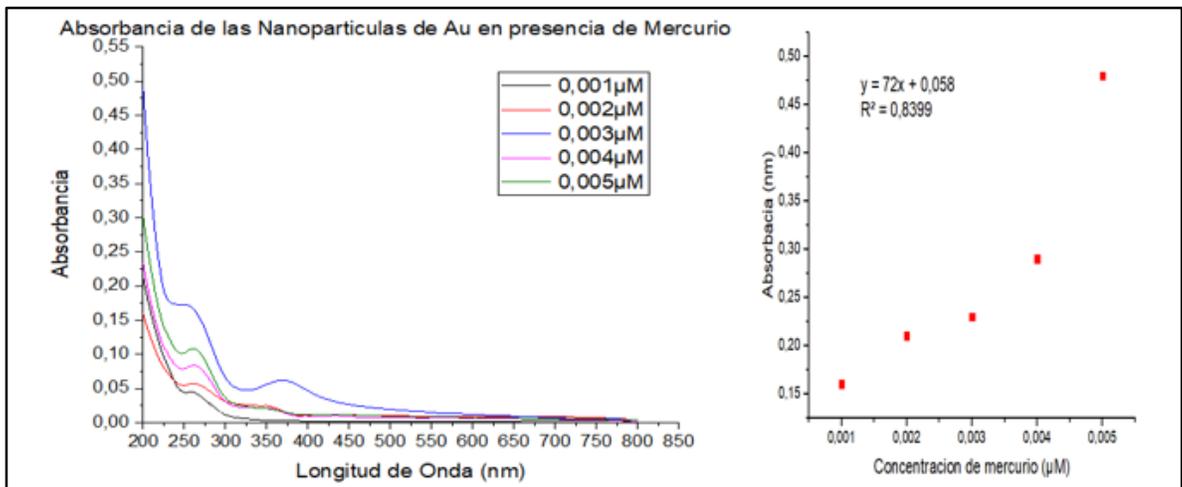
**Fuente:** elaboración propia.

El espectro nos arroja un coeficiente de difusión por medio de una transformada Bayesiana, el cual el espectro nos indica que para la Cisteína en la regio en 1,32 ppm el DOSY:  $2 \times 10^{-5}$ , cuando interactúa con el clúster de oro por medio de un enlace coordinado covalente la constante se ve desplaza totalmente en la región de 1,54ppm y DOSY:  $3 \times 10^{-4}$ .

### 3.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL MERCURIO, SOBRE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO

La evaluación de la respuesta de la nanopartícula de oro cuando esta se encuentra con el mercurio se observa que el  $\text{Hg}^{2+}$  disminuye la fluorescencia de la AuNp ligada con L-Glu, además, induce un corrimiento hacia el ultravioleta azul de la banda de emisión, esta es una respuesta electromagnética hacia las longitudes de onda más cortas que están en la superficie de la nanopartícula de oro, de mayor frecuencia y energía como lo es el RSP por medio de vibraciones. Así, que el enlace competitivo entre el  $\text{Hg}^{2+}$  con el azufre del tiol en el glutatión, provoca que la superficie de la AuNp ligada con L-Glu quede libre, resultando la acoplaje de manera transitoria y las dislocaciones superficiales de las AuNp van aumentando, provocando la disminución de la fluorescencia de la AuNp.

**Gráfica 14.** Espectros de absorción de las AuNp + L-Glu a diferentes concentraciones de  $\text{Hg}^{2+}$ , y la variación de la longitud de onda de emisión y del primer plasmon de resonancia.



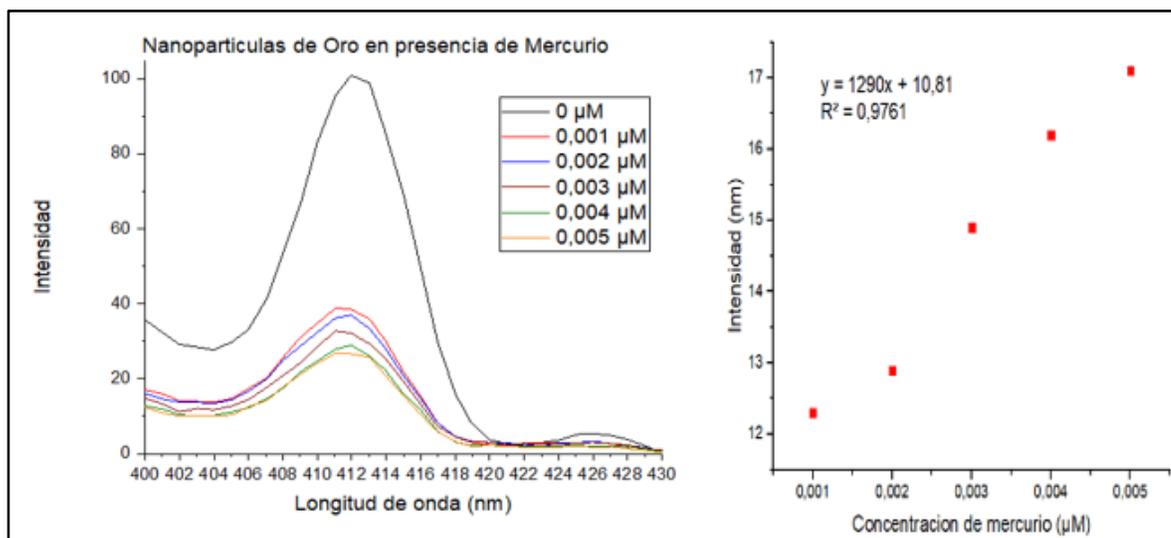
**Fuente:** elaboración propia.

A continuación se muestra la gráfica de comparación de la fluorescencia con respecto al modelo de Stern Volmer como las primeras bandas donde aparece el plasmon de resonancia interactuando con el analito de mercurio en la superficie.

La respuesta de los fenómenos ópticos, se debe a la formación del complejo coloreado entre  $\text{Hg}^{2+}$ +Glu y los cambios físicos generados en el quimiosensor de AuNp con L-Glu, se propone el siguiente mecanismo de detección de mercurio por

las AuNps. Esta fuerte afinidad del glutati3n por el mercurio, que compite con la interacci3n del Au de la AuNp, es por el enlace de grupo SH.<sup>58</sup>

**Gr3fica 15.** Espectros de Fluorescencia excitados a 360nm, y la variaci3n de la longitud de onda de emisi3n y del primer plasmon de resonancia.



**Fuente:** elaboraci3n propia.

Las nanopartículas de oro presentan mayor selectividad a los enlaces de covalentes del Hg, ya que este le brinda m3s estabilidad al material ya que termodin3micamente la constante de solubilidad es de  $(K_{ps}(\text{HgS}) = 1,6 \times 10^{-52})$  y  $(K_{ps}(\text{AuHg}) = 2,0 \times 10^{-13})$ ,<sup>59</sup> es to se debe a que busca formar el proceso químico de amalgamaci3n de oro y Hg, sin embargo no olvidar la naturaleza ti3derivada del ligando que tiene especificidad por los iones SH, formando as3, un complejo coloreado de Hg<sup>2+</sup> y Glu que se observa indirectamente a altas concentraciones de mercurio.

La fluorescencia como anteriormente lo mencionamos da la respuesta energ3tica que en este caso el fen3meno 3ptico detectado es el apagamiento de la fluorescencia, teniendo encuentro que el rendimiento cuántico de las nanopartículas es bajo del 7%, sin embargo en presencia del analito el receptor de oro tiende a enlazarse y pierde su energ3a o su desactivaci3n. Para tener cuenta este proceso podr3a considerarse de manera lineal ya que a mayor concentraci3n de analito menor es la se3al de fluorescencia lo que indica que el tiempo de vida media dependen del estado de excitaci3n del material, lo cual puede seguir el modelo

<sup>58</sup> Pearson, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. J. Am. Chem. Soc. 1963, 85 (22), 3533–3539.

<sup>59</sup> Dean, J. A. Lange's Handbook of Chemistry; McGraw-Hill, 1990; Vol. 5.

matemático que propone Otto Stern y Max Volmer.<sup>60</sup> El modelo se interpreta con la ecuación:

#### **Ecuación 7.** Modelo stern volmer

$$(I_0 / I_{[Q]}) = 1 + K_{sv} [Q]$$

**Fuente:** J. R. Lakowicz. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (1999). pg 1.

Las constantes

$I_0$  es la intensidad de fluorescencia.

$I_{[Q]}$  es la intensidad de fluorescencia.

$K_{sv}$  es la constante de Stern Volmer

$[Q]$  es la concentración del analito de mercurio

La detección de  $Hg^{2+}$  se representa con el límite de detección experimental del quimiosensor (LD) que también sigue un modelo lineal en señalización. Este puede variar de manera directa o indirectamente proporcional ya que este demuestra el nivel de sensibilidad del quimiosensor fluorescente ( $K_{sv}$ ) que con Stern Volmer es la desviación estándar de los datos obtenidos, y los blancos de analitos y de nanopartículas son indispensables para evaluar el decaimiento del complejo.

#### **Ecuación 8.** Limite de detección

$$LD = 3\sigma_{residual} (K_{sv})^{-1}$$

**Fuente:** J. R. Lakowicz. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (1999). pg 1.

Con las ecuaciones anteriores se desarrolló el modelo lineal del efecto de un analito metálico (Hg) con las nanopartículas de oro el cual demostró que para las propiedades ópticas se señalaron cambios en el nivel de energía que necesita la nanopartícula para funcionalizarse con el analito como receptor, en la fluorescencia hay una relación lineal de  $I_0/I$  vs la concentración de  $Hg^{2+}$ .

El modelo lineal de Stern Volmer se ajusta muy bien a los datos experimentales, se encontró una linealidad de ( $R^2 = 0,98$ ) para las AuNp + L-Glu, con un rango lineal de 0 a 0,005  $\mu M$ .

---

<sup>60</sup> Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, 2006.

La especificidad está representada con la constante de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) para las AuNp + L-Glu que fue de  $72 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1}$ . El límite de detección experimental (LD) de  $\text{Hg}^{2+}$  es de 0,066 ppm y 66 ppb (66,25  $\mu\text{M}$ ), teniendo en cuenta la desviación estándar residual ( $\sigma$  residual) de la curva de calibración experimental, que para las AuNps fue de 0,00159.

Se han reportado varios estudios sobre la detección de mercurio empleando nanopartículas de oro acopladas con ligantes, puntos de carbono, polímeros etc, que se han mencionado en este trabajo, sin embargo ninguno de ellos ha realizado la síntesis verde de las AuNp, además se estudió de las propiedades ópticas que han demostrado ser estables tanto con la absorción como la emisión de fluorescencia ya sea acopladas con el ligante o en presencia de mercurio. Las AuNp demostraron ser una alternativa para una detección de mercurio a nivel de trazas por un método fluorescente directo, sensible y económico, comparado a los métodos actualmente usados.

Se presenta a continuación la tabla 4, que desde el capítulo 1 se describió los diferentes tipos de síntesis que se evaluaron para obtener los parámetros de nuestro químico sensor, para cada antecedente se aplicó una técnica de detección de un analito en específico en este caso el mercurio, además que se funcionalizaron las nanopartículas con otros precursores para elevar el rendimiento cuántico o la absorción en el pasmón de resonancia de las nanopartículas.

La detección de mercurio en un rango lineal de detección tiende a ser desde 0  $\mu\text{M}$  – 100  $\mu\text{M}$ , en diferentes concentraciones entre precursor y analito, que puede llegar a variar de 1:1 o 1:10, según corresponda. Es importante destacar que esta investigación limita en un rango establecido de 1:1 a 1:5 de precursor y analito, para que la interacción de la nanopartícula estabilizada en la superficie tenga un cambio óptico más sensible cuando el mercurio entra en la superficie de esta y que pueda des-estabilizar el ligando por su gran afinidad al grupo tiol, o forme la amalgama mercurio-oro que a nivel energético presenta más estabilidad ( $K_{ps}$ ).

El límite de detección que se obtuvo en este trabajo para ver la competitividad de químico sensor fluorescente, obtuvo un LD de 66 nM, lo que al compararlo con los antecedentes se superó el rango de detección con un nivel de sensibilidad más alto, cabe resaltar con respecto a los principales parámetros de síntesis desde el inicio obtuvo mayor rendimiento cuántico cada vez que la nanopartícula obtuviera el tamaño adecuado, y el estado de oxidación en su mayoría fuera de  $\text{Au}^-$ .

Los equipos que estuvieron involucrados para obtener los datos de LD, fueron los espectrofotómetros UV-vis y Fluorómetro el cual al compararlo con otros equipos que cumplen la función de medir directamente el mercurio como el “analyzer de mercurio RA-915M” que es una tecnología moderna, los espectrofotómetros tienen

la ventaja de ser más accesibles a las personas, mucho más económico y que nos puede arrojar los datos a tiempo real y verídicos.

**Tabla 4.** Comparación del límite de detección LD de los quimio sensores con AuNp más recientes.

Quimisensor	Rango Lineal	Límite de Detección	Referencia
AuNC- CD's	0,001 - 0,005 $\mu\text{M}$	13,4 nM	Multicolorful fluorescent-nanoprobe Composed of Au Nanocluster and Carbon Dots for Colorimetric and Fluorescent Sensing Hg <sup>2+</sup> and Cr <sup>6+</sup> .
CD - AuNC + GLU	0 - 10 $\mu\text{M}$	1,86 nM	Carbon dot cluster as an efficient "off-on" fluorescent probe to detect AU(III) and glutathione.
CD - AuNC + CIS	0 - 10 $\mu\text{M}$	1,65 nM	Fluorescent probes for "off-on" highly sensitive detection of Hg <sup>2+</sup> and L-cysteine based on nitrogen-doped carbon dots.
CD - AuNC Radio	0 - 1 $\mu\text{M}$	8,7 nM	Ratiometric fluorescence sensor based on dithiothreitol modified carbon dots-gold nanoclusters for the sensitive detection of mercury ions in

water samples,  
Sensors.

**Tabla 4.** (Continuación)

Quimiser or	Rango Lineal	Límite de Detección	Referencia
GQD - AuNp	0 -60 µM	3,36 nM	Interfacing watersoluble nanomaterials with fluorescence chemosensing: Graphene quantum dots to detect Hg <sup>2+</sup> in 100% aqueous solution
AuNp- L- Methionine	1 - 6 µM	8 nM	Phosphorus-doped carbon dots for sensing both Au (III) and L-methionine
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> - Au Nanoparticles of detection Hg	0 - 5 µM	3,4 nM	DNA Modified Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -Au Magnetic Nanoparticles as Selective Probes for Simultaneous Detection of Heavy Metal Ions
AuNp + GLU	0 - 0,005 µM	66 nM	PROPUESTA PARA EL DESARROLLO DE UN QUIMIOSENSOR COLORIMÉTRICO PARTIENDO DE NANOPARTÍCULAS DE ORO MODIFICADAS CON LIGANDOS L-CISTEÍNA Y L-GLUTATIÓN, PARA LA DETECCIÓN DE IONES MERCURIO (Hg <sup>+2</sup> ) EN MEDIO ACUOSO

**Fuente:** elaboración propia.

Actualmente los quimio sensores evaluados para la detección directa de cationes de metales pesados son cada vez más, involucrando tecnologías como la cromatografía líquida, la espectroscopia de absorción atómica o con vapor frío, el cual tiene un alto rango de sensibilidad al momento de elucidar las muestras.

Esta investigación tiene el soporte adecuado para desarrollar un quimio sensor selectivo que es de obtención sencilla, es amigable para el medio ambiente por que no genera residuos peligrosos en la síntesis, tiene propiedades ópticas únicas para un material supramolecular que actualmente es tendencia a nivel mundial, las propiedades estructurales se ajustan precisamente hacia un modelo sensible al acoplamiento de complejos, ligandos y demás precursores en la superficie de estas y por ende al aplicarlo a un analito específico como lo son metales pesados hacen que estas propiedades presenten cambios y se vean reflejados por fenómenos ópticos y superficiales que son evidenciados por equipos que se tienen en un laboratorio o de fácil acceso como espectrómetros UV-vis que determino el complejo coloreado partiendo de los cambios de las bandas de espectro electromagnético visible en la superficie de las nanopartículas por medio de vibraciones que presenta la cuasi partícula plasmon de resonancia superficial y el Fluorómetro que determino el pico óptico más alto en donde las moléculas del oro saltaron a la banda de conducción y relajarse transmitieron energía evaluada por el rendimiento cuántico y límite de detección.

#### 4. CONCLUSIONES

- Los parámetros seleccionados para la síntesis de verde bottom up fueron puestos en práctica experimental por 2 métodos de síntesis uno en reflujo y otro en baño frío a condiciones estándar: Temperatura (Menor a 40°C), Tiempo (La reacción se estabiliza en 2 horas, cuando la solución coloidal presenta un color pardo), Purificación (Por solventes apolares) y Almacenamiento (Refrigeración a 4 a 5 °C) ya que estas no permiten que la nanopartículas presenten aglomeraciones y reaccionen en su totalidad.
- La síntesis de nanopartículas de oro fueron funcionalizadas con ligandos tiofilicos ( cisteína y glutatión) por los dos métodos el cual el que mejores resultados obtuvo fue en la síntesis en reflujo por las condiciones estándar que se plantearon , ya que estas al ser evaluadas por técnicas de caracterización demostraron que no tenían impurezas en la superficie y que la solución coloidal no se aglomero a lo largo del tiempo, se de obtuvo un tamaño de partícula adecuado de 21,54nm y 19,18nm para la interacción con el ligante tiofilico. Demostrando que las nanopartículas tienen la capacidad de emitir fluorescencia con una excitación de 380nm y emitir en 425 – 430nm, que será clave para el quimiosensor pueda detectar la presencia de mercurio y evidenciarla cualitativa y cuantitativamente.
- La técnica de RMN demuestra la mayor interacción entre los ligandos tiofilicos (GSH y CIS), que tenga mejor afinidad con la nanopartícula de oro, formando un enlace coordinado covalente o electrostático, ya que para coordinar el mercurio, el grupo –SH debe permanecer en la superficie de la AuNp, por ende la constante de difusión debe desplazarse de banda y generar el enlace más fuerte, que este caso demostró ser el L-GSH. Para este experimento se utilizó el solvente de Cloroformo deuterado que presento los siguientes resultados DOSY (GSH  $4 \times 10^{-4}$  y  $7 \times 10^{-4}$ ) (CIS  $2 \times 10^{-5}$  y  $3 \times 10^{-4}$ ) en una región de 1,5 ppm y 1,3 ppm. Se espera que repitiendo la metodología con Agua deuterada tenga mejores resultados con la constante de difusión y los corrimientos de banda.
- Para el acoplamiento en medio acuoso del mercurio y las nanopartículas se presenta un fenómeno en las propiedades ópticas por la fluorescencia llamado Quenching, cualitativamente se evidencia el cambio en la intensidad en una longitud de onda determinada entre los 415nm, donde esta presenta un corrimiento hacia la región ultravioleta que se da por el efecto de la absorción de una longitud de onda corta y está al caer en la nube de electrones (polaritrones) de la AuNp por medio de vibraciones emite en hacia la región ultravioleta cercana.

El límite de detección del quimiosensor es de 0,074 ppm el cual abarca una gran gama de espectros que puede detectar en la región del espectro ultravioleta visible, por ende se determinó que el quimiosensor tiene altas capacidades para utilizarse en otros medios (Sólido – Gel) o para detectar más iones de metales pesados.

## 5. RECOMENDACIONES

- El límite de detección que se evaluó en esta investigación para el quimiosensores fluorescentes basados en las AuNp + L-GLU obtenido (~66 nM), es posible detectar  $\text{Hg}^{2+}$  en muestras en medio acuoso, se proyecta que se midan en muestras fisiológicas, (orina humana, que tiene un límite de seguridad del  $\text{Hg}^{2+}$  de (~250 nM)). La detección se podría hacer de manera directa, sensible y económica. A partir de la investigación realizada es posible que las AuNp tengan gran afinidad con otros cationes como Pb, Cd, Ni, Cu, Zn, La, Fe y demás para la detección en aguas pesadas, ya que pueden ser detectados por las AuNp por medio de su absorbancia (color) por la región en la que absorba la luz de la onda que reciba plasmon de resonancia, este mismo procedimiento se podrá realizar con las AuNp + L-CIS, ya que el quimiosensor entra en la clasificación de colorimétrico por absorbancia.

## BIBLIOGRAFIA

- A. Roucoux, J. Schulz y H. Patin, *Chem. Rev.*, 2002, 102, 3757-3778
- ABALOS AGUADO TATIANA. Sensores cromógenos y fluorogénicos para la detección de cationes y aniones. Universidad Politécnica de Valencia. 2011.
- AL-QADI SONIA; REMUÑÁN CARMEN. Nanopartículas metálicas: Oro. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. P223. 2013.
- B. Chaudret y K. Philippot, *Oil Gas Sci. Tech.*, 2007, 62, 799-817.
- Brinker, C.J. and Scherer, G.W. *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel*. (1990).
- Chapter 36 Mercury. In *Comprehensive Analytical Chemistry*; Elsevier, 1996; Vol. 30, pp 517–542.
- CORNEJO Laureano. Nuevas Tecnologías y Materiales. [En línea]. Consultado el 20 de Agosto 2019. [www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/](http://www.nuevatecnologiasymateriales.com/metodos-de-sintesis-de-las-nano-particulas/).
- Corzo Lucioni. Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H[AuCl<sub>4</sub>]. *Rev. Soc. Quím. Perú* v.78 n.2 Lima abr./jun. 2012.
- Dean, J. A. *Lange's Handbook of Chemistry*; McGraw-Hill, 1990; Vol. 5.
- ELIAS E. ELEMIKE, Damian C. Onwudiwe, Nirasha Nundkumar, Moganavelli Singh, Osaro Iyekowa. Green synthesis of Ag, Au and Ag-Au bimetallic nanoparticles using *Stigmaphyllon ovatum* leaf extract and their *in vitro* anticancer potential. 7 February 2019.
- ENCARNACIÓN CABALLERO-DÍAZ and Miguel Valcárcel. Toxicity of Gold Nanoparticles. Department of Analytical Chemistry, University of Córdoba, Córdoba, Spain. 2015.
- ESPECTROMETRÍA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR. *Espectrometria.com*. [En Línea]. Consultado el 4 septiembre 2019. [www.espectrometria.com/espectrometria\\_de\\_resonancia\\_magntica\\_nuclear](http://www.espectrometria.com/espectrometria_de_resonancia_magntica_nuclear).
- F. GÓMEZ VILLARRAGA, Síntesis de complejos y estabilización de nanopartículas de paladio con ligandos híbridos pirazólicos y carbenos Nheterocíclicos y su aplicación en catálisis, tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, 2013.

FARITH A. DÍAZ-ARRIAGA. Mercurio en la minería del oro: impacto en las fuentes hídricas destinadas para consumo humano. Department of Civil, Architectural and Environmental Engineering, Cockrell School of Engineering. The University of Texas at Austin, U.S.A. 2016

FEYNMAN, R. There's plenty of room at the bottom. Engineering and science, 1959.

FIGUEROA LUIS Estudio de la preparación y evaluación de receptores cromogenicos, universidad de valencias, 2016.

GANESABASKARAN, S.; KANDASAMY, K. Chemosensors for Hg Ions: A Review of Literature. Biosens. J.2015, s4 (2), 1–9.

GOLD-COATED IRON (FE@AU) NANOPARTICLES: Synthesis, Characterization, and Magnetic Field-Induced Self-Assembly. Disponible: Journal of Solid State Chemistry 159, 26-31 (2001).

GÓMEZ PIÑEROS BRAYAN. Nano-sensores fluorescentes basados en puntos cuánticos de CdSe/ZnS para la detección de mercurio. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Químicas; 2018.

GRANADOS, Oliveros G. Síntesis y caracterización de las propiedades ópticas de puntos cuánticos de CdSe y CdSe/ZnS. 31 Mayo del 2017.

Harris, D. C. Análisis Químico Cuantitativo. 3ª ed. Capítulo 18. Ed. Reverté, 2007.

HEDIYEH GHOLAMALI A, AZIZOLLAH SHAFIEKHANI. Synthesis of Ag and Au nanoparticles embedded in carbon film: Optical, crystalline and topography analysis. Department of Physics, Science and Research Branch, Islamic Azad University. 2017.

Hongsheng Fan, Ming Cheng, Lei Wang, Yuanjun Song, Yimin Cui and Rongming Wang, Extraordinary electrocatalytic performance for formic acid oxidation by the synergistic effect of Pt and Au on carbon black, Nano Energy, <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2018.03.018>

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Compendio de normas para trabajos escritos. NTC-1486-6166. Bogotá D.C.: El instituto, 2018. ISBN 9789588585673 153 p.

Jiangjiang Gu, Donghua Hu, Weina Wang, Qiuhong Zhang, Zhen Meng, Xudong Jia, KAI XI. Carbon dot cluster as an efficient "off-on" fluorescent probe to detect AU(III) and glutathione. 9 December 2014.

KIM, H. N.; REN, W. X.; KIM, J. S.; YOON, J. Fluorescent and Colorimetric Sensors for Detection of Lead, Cadmium, and Mercury Ions. Chem. Soc. Rev.2012, 41 (8), 3210–3244.

LAKOWICZ, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, 2006.

LIYING YU, LINGYU ZHANG, GUOJUAN REN. Multicolorful fluorescent-nanoprobe Composed of AuNanocluster and Carbon Dots for Colorimetric and Fluorescent Sensing Hg<sup>2+</sup> and Cr<sup>6+</sup>. 23-1-2018.

M. T. Reetz, W. Helbig y S. A. Quaiser, Active Metals: Preparation, Characterization, Applications, A. Fürstner, Ed., VCH, New York, 1996.

M. T. Swihart, Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 2003, 8, 127-133.

Materiales al día – Novedades en Ingeniería de Materiales. Dep. CIENCIA DE MATERIALES - UPM [En línea]. Consultado el 22 de Agosto 2019. [www.madrimasd.org/blogs/ingenieriamateriales/2012/04/20/380/](http://www.madrimasd.org/blogs/ingenieriamateriales/2012/04/20/380/).

MOHAMMAD AMJADI, ROGHAYEH SHOKRI, TOOBA HALLAJ. A new turn-off fluorescence probe based on graphene quantum dots for detection of Au(III) ion. Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz 5166616471.

NAHIMA ECHEVARRIA GARCIA. Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro. Universidad de País Vasco. Julio 2015.

NUR FADZILAH A RAZAKA, MUSTAFFA SHAMSUDDINA, Siew Ling Leea. Department. Adsorption kinetics and thermodynamics studies of gold(III) ions using thioctic acid functionalized silica coated magnetite nanoparticles. 2017.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. J. Am. Chem. Soc. 1963, 85 (22), 3533–3539.

POMERANSKY, A. A.; KHRIPLOVICH, I. B. Equations of Motion of Spinning Relativistic Particle in External Fields. Surv. High Energy Phys. 1999, 14 (1), 145–173.

Porosimetría del mercurio con métodos físicos, normativa, proceso y procedimiento experimental, UNIVERSIDAD DE CEDEX. 2015.

RED DE LA JUSTICIA AMBIENTAL COLOMBIANA, resoluciones nacionales, [En Línea]. Consultado el 2 de Septiembre. [www.justiciaambientalcolombia.org/herramientas juridicas/mercurio/](http://www.justiciaambientalcolombia.org/herramientas juridicas/mercurio/).

RODRÍGUEZ SADDYS, Obtención de nanopartículas y nanoordenamientos metálicos empleando la química de los compuestos de inclusión. Universidad de Chile. Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas. Agosto 2007.

RUBINSON K.A., RUBINSON J.F., "Análisis Instrumental", Ed. Pearson Educación, 2000.

SERVICES, H. Toxicological Profile for Mercury. In ATSDR's Toxicological Profiles; CRC Press, 2002.

Servicio de Microscopía Electrónica. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA. [En línea] Consultado el 4 de Septiembre 2019. [www.upv.es/entidades/SME/info/753329normalc.html](http://www.upv.es/entidades/SME/info/753329normalc.html).

SERVICIOS TÉCNICOS DE INVESTIGACIÓN. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE [En línea]. Consultado el 11 de Septiembre 2019.

Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro, universidad del país vasco, Junio 2015.

SOHEE CHOI Y YOUNGMI KIM, Sistema de detección de "fluencia" basado en nanopartículas de oro para la detección selectiva de iones de mercurio en solución acuosa, del Departamento de Química, Instituto de Nanosensores y Biotecnología, Universidad Dankook 448-701.

TÁRRAGA TOMÁS. Sensores moleculares: un reto para el químico, una demanda social. Academia de ciencias de la región de Murcia, Octubre de 2012.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. Estudio de la preparación y evaluación de receptores cromogénicos. Consultado el 3 de junio del 2019. Disponible: [www.bdigital.unal.edu.co/view/subjects/54.html](http://www.bdigital.unal.edu.co/view/subjects/54.html).

Van-Duong Dao, Po Eun Kim, Seunghyeon Baek et al. Facile synthesis of carbon dot-Au nanoraspberries and their application as highperformance counter electrodes in quantum dot-sensitized solar cells. 5 September 2015.

VILADOMAT Mariette. Espectroscopia Uv-visible. [en línea] Consultado el 10 de marzo del 2019. Disponible: [www.es.slideshare.net/manuelgug/expo-espectroscopica](http://www.es.slideshare.net/manuelgug/expo-espectroscopica).

Weilie Zhou, A. Kumbhar, J. Wiemann, Jiye Fang, E. E. Carpenter, and C. J. O'Connor. Gold-Coated Iron (Fe@Au) Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Magnetic Field-Induced Self-Assembly. May 4, 2001.

Wen Liu, Xiaoyan Wang, Yunqing Wang, Jinhua Li, Dazhong Shen, Qi Kang, Lingxin Chen, Ratiometric fluorescence sensor based on dithiothreitol modified carbon dots-gold nanoclusters for the sensitive detection of mercury ions in water samples, Sensors.2018.01.22.

X. Lin, H. Chen, Z. Hu, Y. Hou, W. Dai, Enhanced visible light photocatalysis of TiO<sub>2</sub> by Co-modification with Eu and Au nanoparticles, Solid State Sciences (2018), doi: 10.1016/j.solidstatesciences.2018.07.

Xiangyang Shi,<sup>\*,†</sup> Kai Sun,<sup>‡</sup> and James R. Baker, Jr. Spontaneous Formation of Functionalized Dendrimer-Stabilized Gold Nanoparticles. March 21, 2008.

Yi Zhang, Peipei Cui, Feng Zhang, Xiaoting Feng, Yaling Wang, Yongzhen Yang, Xuguang Liu. Fluorescent probes for “off-on” highly sensitive detection of Hg<sup>2+</sup> and L-cysteine based on nitrogen-doped carbon dots. 5 February 2016.

Zhao, C.; Bai, Z.; Liu, X.; Zhang, Y.; Zou, B.; Zhong, H. Small GSH-Capped CuInS<sub>2</sub> Quantum Dots: MPA-Assisted Aqueous Phase Transfer and Bioimaging Applications. 2015, 1–27.

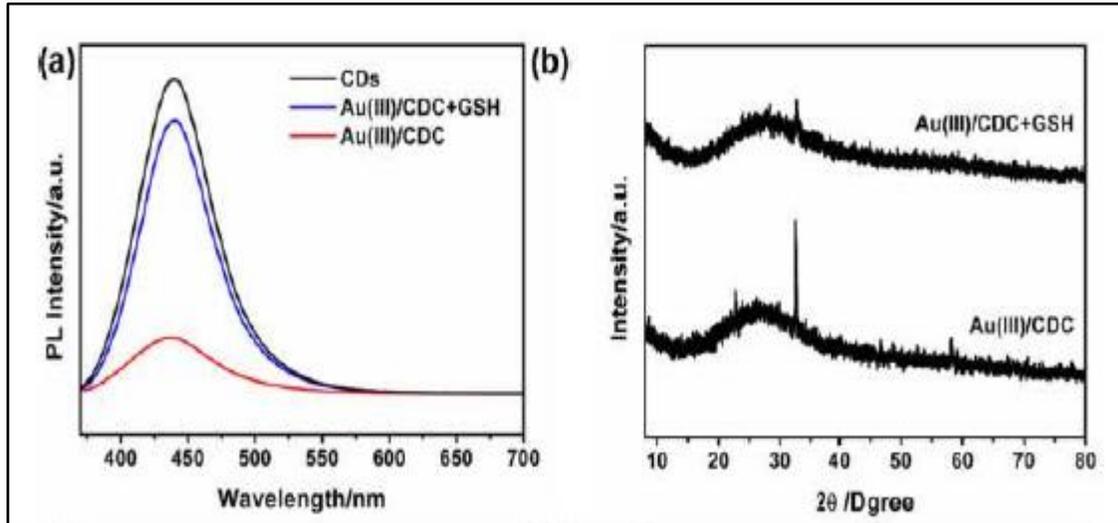
Zhu, X.; Zhao, Z.; Chi, X.; Gao, J. Facile, Sensitive, and Ratiometric Detection of Mercuric Ions Using GSH-Capped Semiconductor Quantum Dots. *Analyst* 2013, 138 (11), 3230.

## **ANEXOS**

## ANEXO A.

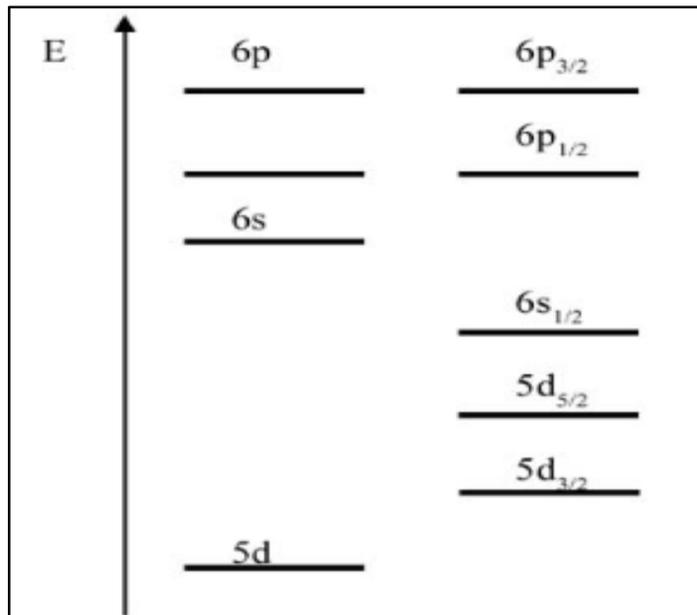
### INTERPRETACIÓN DE GRÁFICAS Y MODELOS DE ENLACE QUÍMICO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO

**Grafica 1.** Fluorescencia y DRX teórico de las nanopartículas de oro



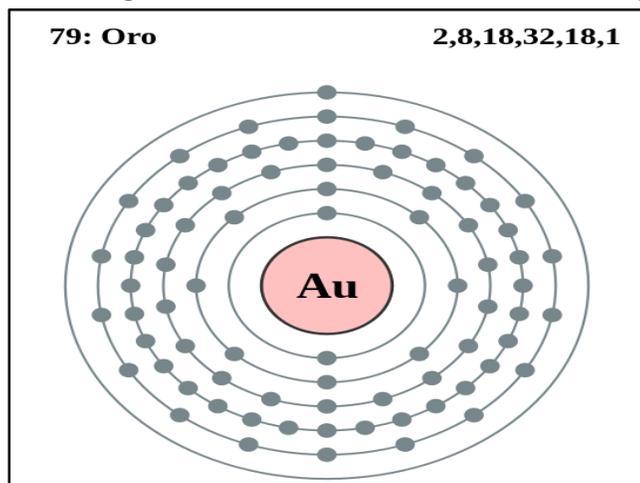
**Fuente:** Chapter 36 Mercury. In Comprehensive Analytical Chemistry; Elsevier, 1996; Vol. 30, pp 517–542.

**Grafica 2.** Referencia de espectros de UV-vis y Difractograma DR



**Fuente:** Chapter 36 Mercury. In Comprehensive Analytical Chemistry; Elsevier, 1996; Vol. 30, pp 517–542.

Grafica 3. Niveles Energéticos de Valencia en Metales Oro (Au)



**Fuente:** Chapter 36 Mercury. In Comprehensive Analytical Chemistry; Elsevier, 1996; Vol. 30, pp 517–542.

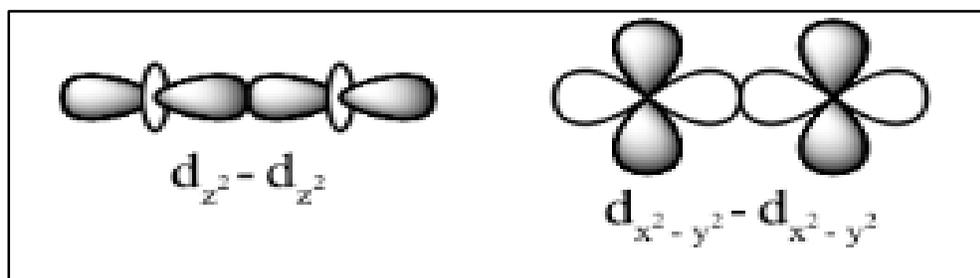
Niveles de valencia del Oro.

Electrones por nivel. La configuración electrónica del oro:  $4f^{14} 5d^9 6s^2$

El oro puede tener valencia 1+ o 3+ en sus compuestos. La tendencia a formar complejos es tan fuerte que todos los compuestos de oxidación 3+ son complejos. Los compuestos del estado de oxidación 1+ no son muy estables y tienden a oxidarse al estado 3+ o reducirse a oro metálico. Todos los compuestos de cualquier estado de oxidación se reducen con facilidad.

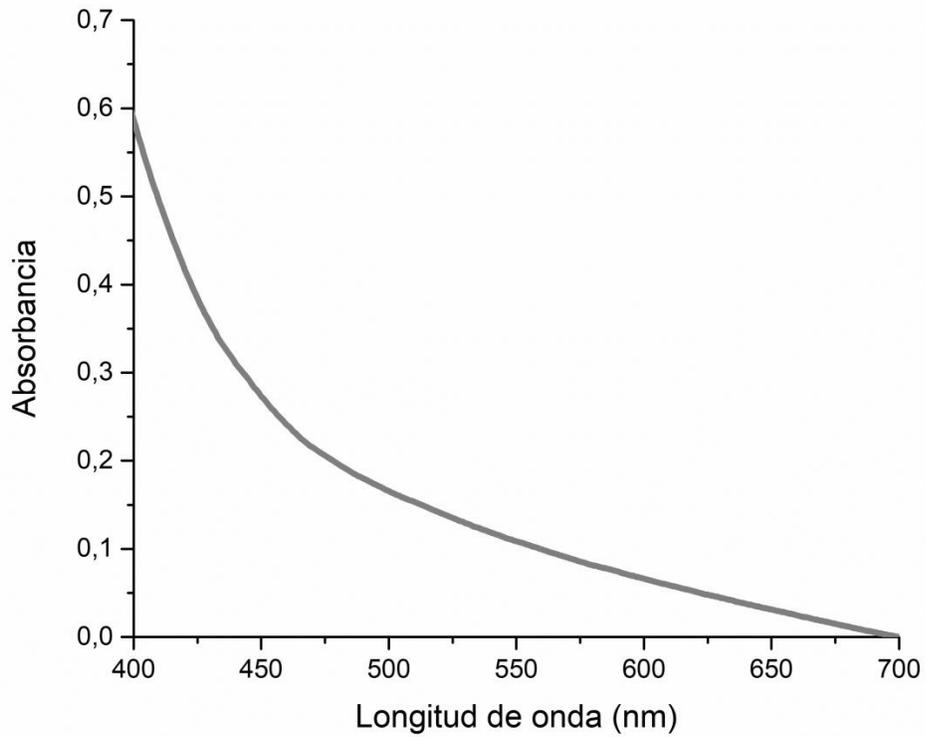
En sus complejos el oro forma enlaces más fácilmente y más estables con los halógenos y el azufre, menos estables con oxígeno y fósforo y muy débiles con nitrógeno. Los enlaces entre oro y carbono son normalmente estables, como en los complejos de cianuro y varios compuestos orgánicos.

**Grafica 4.** Enlace químico de formación



**Fuente:** Chapter 36 Mercury. In Comprehensive Analytical Chemistry; Elsevier, 1996; Vol. 30, pp 517–542.

**Grafica 5.** Complejo de Glutati3n con mercurio



**Fuente** G3mez Piñeros Brayan. Nano-sensores fluorescentes basados en puntos cu3nticos de CdSe/ZnS para la detecci3n de mercurio. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Qu3micas; 2018.

## ANEXO B

### PROCEDIMIENTO PARA HALLAR EL RENDIMIENTO CUÁNTICO DE LAS NANOPARTICULAS DE ORO

Rendimiento Cuántico: Nano partículas de Au con solución estándar de Sulfato de Quinina.

Emission <sup>a</sup>	Excitation <sup>b</sup>	Solvent/ medium	$\lambda_{exc}^c$	Value	Ref.	Year	Comment
<b>Quinine sulfate</b>							
380–580 (451)	280–380 (347)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0.5 M	366	0.546	[8–10]	1961	25 °C; value is corrected for self-quenching
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0.05 M	366	0.53 ± 0.02	[11]	1977	Optoacoustic; chloride quenching demonstrated
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0.05 M	350	0.52 ± 0.02	[12]	2009	Integrating sphere; 5 × 10 <sup>-3</sup> M
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0.05 M	350	0.60 ± 0.02	[12]	2009	Integrating sphere; 10 <sup>-5</sup> M
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0.05 M		0.52 ± 0.02	[10]	1983	Relative to QS in H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0.5 M
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0.05 M		0.51 ± 0.02	[13]	2004	25 °C; Comparative measurement to NIST SRM 936 (next entry)
		HClO <sub>4</sub> , 0.1 M	347.5	0.60 ± 0.02	[14]	1980	NIST SRM 936

**Fuente:** Chapter 36 Mercury. In Comprehensive Analytical Chemistry; Elsevier, 1996; Vol. 30, pp 517–542.

$$\phi_x = \phi_{st} \times \frac{nx^2}{nst^2} \times \frac{M_{st}}{Mx}$$

$$\phi_{npAu} = 0,546 \times \frac{1,33^2}{1,33^2} \times \frac{53,12654}{25,01548}$$

$$\Phi_{npAu} = 1,15956$$

1-5

Área: 5858,77

$$\phi_x = \phi_{st} \times \frac{nx^2}{nst^2} \times \frac{M_{st}}{Mx}$$

$$\phi_{npAu} = 0,546 \times \frac{1,33^2}{1,41^2} \times \frac{87816,92}{5858,77}$$

$$\Phi_{1-5} = 7,28$$

1-4

Área: 6647,15

$$\Phi x = \Phi_{st} \times \frac{nx^2}{nst^2} \times \frac{M_{st}}{Mx}$$

$$\Phi_{npAu} = 0,546 \times \frac{1,33^2}{1,41^2} \times \frac{87816,92}{6647,15}$$

$$\Phi_{1-4} = 6,42$$

1-3

Área: 7673,20

$$\Phi x = \Phi_{st} \times \frac{nx^2}{nst^2} \times \frac{M_{st}}{Mx}$$

$$\Phi_{npAu} = 0,546 \times \frac{1,33^2}{1,41^2} \times \frac{87816,92}{7673,20}$$

$$\Phi_{1-3} = 5,56$$

1-2

Área: 9175,25

$$\Phi x = \Phi_{st} \times \frac{nx^2}{nst^2} \times \frac{M_{st}}{Mx}$$

$$\Phi_{npAu} = 0,546 \times \frac{1,33^2}{1,41^2} \times \frac{87816,92}{9174,25}$$

$$\Phi_{1-2} = 4,65$$

1-1

Área: 9711,95

$$\Phi x = \Phi_{st} \times \frac{nx^2}{nst^2} \times \frac{M_{st}}{Mx}$$

$$\Phi_{npAu} = 0,546 \times \frac{1,33^2}{1,41^2} \times \frac{87816,92}{9711,95}$$

$$\Phi_{1-1} = 4,39$$

Sulfato de quinina

Area: 87816,92

Límite de Detección:

$$(I_0 / I_{[Q]}) = 1 + K_{sv} [Q]$$

$$(I_0 / I_{[Q]}) = 1 + 72 \times 10^{-6} (2)$$

$$LD = 36_{\text{residual}} (K_{sv})^{-1}$$

$$LD = 3 (0,001581139 (72 \times 10^{-6})^{-1})$$

$$LD = 66,25 \mu M$$

$$LD = 3 (0,001581139 (1290 \times 10^{-6})^{-1})$$

$$LD = 3,70 \mu M$$