



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA

TESIS

**Síntesis y caracterización del sistema l-glutathión reducido-
nanopartículas de oro/nanotubos de carbono (GSH-
AuNPs/NTCs)**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

JORGE BRUNO DÍAZ HURTADO

ASESOR:

Dr. en Química JAVIER LARA ROMERO

CO-ASESOR:

Dra. en Ciencias JANETT BETZABE GONZÁLEZ CAMPOS

Morelia Michoacán; Agosto 2013

ÍNDICE

Capítulo I. Introducción	1
Justificación	6
Hipótesis	6
Objetivos	7
Objetivos específicos	6
Capítulo II. Marco Teórico	8
2.1 Biosensor	8
2.1.1 Clasificación de los biosensores	9
2.1.1.1 Biosensores electroquímicos	10
2.1.1.1.1 Biosensores potenciométricos	11
2.1.1.1.2 Biosensores amperométricos	11
2.1.1.2 Biosensores calorimétricos	11
2.1.1.3 Biosensores ópticos	10
2.1.1.4 Biosensores acústicos	12
2.1.1.5 Inmunosensores	13
2.2 Nanotubos de carbono	14
2.2.1 Aplicaciones y propiedades de los nanotubos de carbono	16
2.2.1.1 Electrónica	16
2.2.1.2 Materiales	17
2.2.1.3 Energía	18
2.2.1.4 Biotecnología y química	19
2.2.1.4.1 Adsorción y absorción	19
2.2.1.4.2 Catálisis	19
2.2.1.5 Medicina	20
2.2.1.5.1 Liberación de fármacos	20
2.2.1.5.2 Prótesis	21
2.2.2 Uso como biosensores	21
2.2.2.1 Electroodos enzimáticos	22
2.2.2.2 Monitoreo de glucosa	22
2.2.2.3 Sensores electroquímicos de ADN	23
2.2.2.4 Biosensores de cáncer	24
2.2.3 Toxicidad	26
2.2.4 Métodos de obtención de nanotubos de carbono	27
2.2.4.1 Método de descarga de arco	27
2.2.4.2 Método de vaporización láser o ablación láser	28
2.2.4.3 Método de deposición química de vapor (CVD)	29
2.2.4.4 Método de alta presión (HiPCO)	29
2.2.4.5 Método de spray-pirólisis	29
2.3 Nanopartículas de oro	30
2.3.1 La historia del oro	31
2.3.2 La química del oro	31
2.3.3 Síntesis de nanopartículas de oro	32
2.4 Nanopartículas de oro sobre nanotubos de carbono (AuNPs/NTCs)	33
2.4.1 Nanopartículas de oro sobre nanotubos de carbono como biosensores	35
2.5 Glutación (GSH) y su uso en biosensores	35
2.6 Técnicas de caracterización	38
2.6.1 Microscopía electrónica	38
2.6.1.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	39
2.6.1.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	41
2.6.2 Espectroscopia Raman	43
2.6.2.1 Espectroscopia Raman y MWCNTs	45
2.6.3 Espectroscopia Infrarroja (IR)	47
2.6.4 Difracción de Rayos X	50
2.6.5 Análisis Termogravimétrico (TGA)	52

Capítulo III. Metodología	54
3.1 Síntesis de nanotubos de carbono por el método de spray-pirólisis	54
3.2 Purificación de los nanotubos de carbono	56
3.3 Funcionalización de los nanotubos de carbono	58
3.4 Decoración de los MWCNTs con AuNPs	60
3.4.1 Dispersión de los MWCNTs en el surfactante	61
3.4.2 Reducción del Au ³⁺ a Au ⁰	62
3.4.3 Síntesis de las AuNPs/MWCNTs por microondas	63
3.4.4 Procedimiento de síntesis	64
3.5 Metodología experimental de síntesis de AuNPs/MWCNTs	65
3.5.1 Método de microemulsión	66
3.5.1.1 Síntesis en agua con citrato de sodio	67
3.5.1.2 Síntesis en isopropanol con citrato de sodio	68
3.5.2 Método de microondas	68
3.5.2.1 Síntesis en agua con citrato de sodio	69
3.5.2.2 Síntesis en isopropanol con citrato de sodio	70
3.5.2.3 Síntesis en agua con AOT	70
3.5.2.4 Síntesis en isopropanol con AOT	71
3.6 Síntesis de las AuNPs/MWCNTs con Glutación (GSH)	72
Capítulo IV. Resultados y Discusión	73
4.1 Caracterización de los NTCs sintetizados	73
4.2 Caracterización de los NTCs purificados y funcionalizados	79
4.3 Síntesis y caracterización de AuNPs/MWCNTs	82
4.3.1 Síntesis por microemulsión en agua con citrato de sodio	83
4.3.2 Síntesis por microemulsión en isopropanol con citrato de sodio	84
4.3.3 Síntesis por microondas en agua con citrato de sodio	85
4.3.4 Síntesis por microondas en isopropanol con citrato de sodio	87
4.3.5 Síntesis por microondas en isopropanol con AOT	89
4.3.6 Síntesis por microondas en agua con AOT	91
4.4 Síntesis del sistema GSH-Au/NTCs	93
Capítulo V. Conclusiones	97
Recomendaciones	98
Bibliografía	99
Referencias Bibliográficas	99
Tablas y figuras	107

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Fig. 1.1	Tamaños comparativos de algunas nanopartículas en comparación con algunas moléculas biológicas	2
Fig. 1.2	Configuraciones típicas usadas en nano-bio materiales aplicados a problemas médicos o biológicos.	4
Fig. 2.1	Esquema general de un biosensor	8
Fig. 2.2	Clasificación general de los biosensores	10
Fig. 2.3	Ejemplo de un biosensor electroquímico	10
Fig. 2.4	Esquema de un biosensor óptico	12
Fig. 2.5	Esquema de un sensor acústico	13
Fig. 2.6	Diagrama de un inmunosensor	14
Fig. 2.7	Regiones de las cuales se compone un nanotubo de carbono, tubo y domo	14
Fig. 2.8	Representación de un nanotubo de carbono de pared sencilla y un nanotubo de carbono de pared múltiple a partir de una lámina de grafito	15
Fig. 2.9	Comportamiento del nanotubo de carbono dependiendo del enrollamiento	16
Fig. 2.10	Fotografía de un circuito integrado basado en NTC depositado en un soporte plástico.	17
Fig. 2.11	Catálisis. Imagen SEM de partículas hidrofílicas de polidimetilsiloxano (PDMS)	20
Fig. 2.12	Liberación específica de fármacos	21
Fig. 2.13	Arreglo de un electrodo de nanotubos de pared simple de glucosa oxidasa	23
Fig. 2.14	Uso de un arreglo de electrodos de nanotubos de carbono para la detección de hibridación de ADN	24
Fig. 2.15	Interacción de los nanotubos de carbono con células	27
Fig. 2.16	Método de descarga de arco	28
Fig. 2.17	Método de ablación láser	28
Fig. 2.18	Método de deposición química de vapor (CVD)	29
Fig. 2.19	Mecanismos teóricos de crecimiento de los nanotubos de carbono sobre un catalizador metálico	30
Fig. 2.20	Estructura molecular del L-Glutatión reducido	36
Fig. 2.21	Esquema del inmunoensayo de AuNPs/Ab ₂ para detección de PSA por colorimetría	37
Fig. 2.22	Fotografía de la mezcla Glu-AuNPs-Ab ₂ / rojo de metilo para la detección de diferentes concentraciones de PSA	38
Fig. 2.23	Componentes de un microscopio electrónico de barrido	40
Fig. 2.24	Componentes de un microscopio electrónico de transmisión	42
Fig. 2.25	Esquemas transicionales Raman	44
Fig. 2.26	Espectros Raman del grafito, MWCNTs, SWCNTs y HOPG (Grafito Pirolíticamente Altamente Orientado)	45
Fig. 2.27	Bandas vibracionales en el espectro infrarrojo	48
Fig. 2.28	Representación esquemática de difracción de rayos X en un material cristalino	51
Fig. 2.29	Curva de TGA para la sílica gel	53
Fig. 2.30	Forma diferencial de la curva TGA para la sílica gel	53
Fig. 3.1	Diagrama del sistema spray-pirólisis	55
Fig. 3.2	Diagrama del sistema de purificación	58
Fig. 3.3	Ejemplos de grupos funcionales en un nanotubo de carbono debido a su oxidación	60
Fig. 3.4	Representaciones del mecanismo por el cual los surfactantes ayudan a dispersar a los MWCNTs	61
Fig. 3.5	Reducción del Au ³⁺ por acción de un reductor	62
Fig. 3.6	Tipos de surfactantes y su acción en la formación de AuNPs	62
Fig. 3.7	Síntesis de AuNPs/MWCNTs	65
Fig. 3.8	Representación de las GSH/AuNPs/MWCNTs	72
Fig. 4.1	Imágenes SEM de a) la sección transversal de los NTCs multicapa con los NTCs adheridos al sustrato de cuarzo y b) amplificación de la película de NTCs formada	74

Fig. 4.2	Imágenes HR-TEM de los NTCs sintetizados	75
Fig. 4.3	a) Imagen ampliada de los NTC sintetizados, b) Análisis FFT	76
Fig. 4.4	Análisis termogravimétrico de los NTC sintetizados	77
Fig. 4.5	Espectro Raman de los NTC donde se muestran las posiciones de las bandas D, G y G'	79
Fig. 4.6	Análisis Raman de los NTC antes y después de purificarlos y funcionalizarlos	80
Fig. 4.7	. Análisis de Infrarrojo de los NTC antes y después de purificarlos y funcionalizarlos, a) región 1000-2000 cm^{-1} , b) región 2800-3800 cm^{-1}	81
Fig. 4.8	TEM microemulsión en agua con citrato de sodio	83
Fig. 4.9	Espectroscopia Raman del sistema de microemulsión en agua-citrato de sodio	84
Fig. 4.10	TEM microemulsión en isopropanol con citrato de sodio	84
Fig. 4.11	Espectroscopia Raman del sistema de microemulsión en isopropanol-citrato de sodio	85
Fig. 4.12	TEM microondas agua - citrato de sodio	86
Fig. 4.13	Análisis Raman del sistema agua-citrato de sodio por microondas	86
Fig. 4.14	TEM sistema isopropanol-citrato de sodio por microondas	87
Fig. 4.15	Análisis Raman del sistema isopropanol-citrato de sodio por microondas	88
Fig. 4.16	EDX sistema isopropanol-citrato de sodio por microondas	88
Fig. 4.17	TEM isopropanol – AOT por microondas	89
Fig. 4.18	Análisis Raman del sistema isopropanol-AOT por microondas	90
Fig. 4.19	EDX del sistema isopropanol-AOT por microondas	90
Fig. 4.20	TEM del sistema agua-AOT por microondas	91
Fig. 4.21	Análisis Raman del sistema agua-AOT por microondas	92
Fig. 4.22	EDX sistema agua-AOT por microondas	92
Fig. 4.23	Histograma de distribución de tamaño de las AuNPs/MWCNTs	93
Fig. 4.24	IR de los sistemas GSH, Au/MWCNTs y GSH/Au/MWCNTs en el rango de 500 a 1000 cm^{-1}	95
Fig. 4.25	IR de los sistemas GSH, Au/MWCNTs y GSH/Au/MWCNTs en el rango de 1000 a 2000 cm^{-1}	95
Fig. 4.26	IR de los sistemas GSH, Au/MWCNTs y GSH/Au/MWCNTs en el rango de 2000 a 4000 cm^{-1}	96
Tabla 2.1	Frecuencias de absorción infrarroja típicas de compuestos y grupos funcionales comunes	49
Tabla 4.1	Valores de las relaciones de intensidades de las bandas D/G y G'/G	80
Tabla 4.2	Asignación de las frecuencias de vibración IR de los NTC sintetizados, purificados y funcionalizados	82
Tabla 4.3	Aparición de bandas en los diferentes sistemas	94

RESUMEN

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA L-GLUTATIÓN REDUCIDO-NANOPARTÍCULAS DE ORO/NANOTUBOS DE CARBONO (GSH-AuNPs/CNTs)

Por:

Jorge Bruno Díaz Hurtado

Agosto 2013

Maestro en Ciencias en Ingeniería Química

Dirigida por: Dr. Javier Lara Romero y Dra. J. Betzabé González Campos

En la actualidad, a pesar de los avances que se han hecho en el campo de la detección de enfermedades, los métodos empleados siguen siendo poco selectivos, costosos y en ocasiones invasivos para el paciente. El desarrollo de la nanotecnología ha tomado interés en las aplicaciones de los nanomateriales en el área de los biosensores, debido a que han demostrado ser ultrasensibles y altamente selectivos. Algunos de los sistemas estudiados son aquellos compuestos por nanopartículas de oro (AuNPs), metal utilizado debido a sus excelentes propiedades de conducción eléctrica, térmica y a que puede ser enlazada fácilmente a compuestos biológicos y pueden ser adsorbidas sobre nanotubos de carbono (NTCs) para lograr una buena dispersión y aprovechar las propiedades eléctricas de los mismos. Este trabajo propone la síntesis, caracterización y análisis de las AuNPs decoradas con L-glutati3n reducido (GSH) y soportadas sobre NTCs de pared múltiple (MWCNTs). Los MWCNTs se sintetizaron por el método de spray – pirolisis, y se estudió el soporte de las AuNPs mediante microemulsión y microondas utilizando un surfactante ani3nico. Este nanomaterial se analizó mediante SEM, TEM, Raman y EDX. A este sistema se le adicionó el GSH mediante una diluci3n en ácido acético y metanol. El composito completo se analizó por IR para detectar la presencia del GSH sobre el sistema AuNPs/MWCNTs. La ruta de síntesis que resultó en un mejor control del tama3o de las AuNPs así como en una buena dispersi3n de las mismas sobre los MWCNTs fue la realizada por microondas en soluci3n acuosa, con borohidruro de sodio como reductor y dioctilsulfosuccinato de sodio como surfactante.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF THE L-GLUTATHIONE REDUCED-GOLD NANOPARTICLES/CARBON NANOTUBES (GSH-AuNPs/CNTs) SYSTEM

By:

Jorge Bruno Díaz Hurtado

August 2013

Master of Science in Chemical Engineering

Advice by: Dr. Javier Lara Romero and Dra. J. Betzabé González Campos

In these times, even with the technological advances in the disease detection field, the current methods still present low selectivity, high costs and sometimes they are invasive for the patient. Nanotechnology development has focused in the nanomaterials applications in the biosensors field, because they have proven to be ultrasensitive and highly selective. Some of these studied systems are the ones composed by gold nanoparticle (AuNPs), metal used because of its excellent properties as electrical and thermal conductivity, and by the fact that it can be linked easily to biological molecules and can be adsorbed on carbon nanotubes (CNTs) to achieve good dispersion and take advantage of the electrical properties of the CNTs. This research work proposes the synthesis, characterization and analysis of the AuNPs decorated with L-glutathione reduced (GSH) and supported on multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs). The MWCNTs were synthesized by the spray-pyrolysis method, and the AuNPs support was made by the microemulsion and microwave method using an anionic surfactant. This nanomaterial was analyzed by SEM, TEM, Raman and EDX. GSH was added to this system via a dilution in acetic acid and methanol. The complete composite was analyzed by IR to detect the presence of GSH on the AuNPs/MWCNTs. The best synthesis route which yielded a better AuNPs size control and good dispersion of them over the MWCNTS was the one made by microwave in aqueous solution, using sodium borohydride as reductor and sodium dioctylsulfosuccinate as a surfactant.

A mi madre.

**Síntesis y caracterización del sistema l-glutati6n reducido-
nanopartículas de oro/nanotubos de carbono (GSH-
AuNPs/NTCs)**

Introducci6n

La nanotecnologí a es el entendimiento y control de la materia en el rango de dimensi6n de 1 a 100 nm. Las tendencias actuales en nanotecnologí a han permitido el desarrollo desde dispositivos inorgánicos para la óptica y almacenamiento de energí a y transporte, hasta técnicas novedosas en medicina, incluyendo técnicas de detecci6n y tratamiento contra el cÁncer.

Los materiales en nivel nanométrico tienen propiedades diferentes que sus contrapartes macrosc6picas, aun cuando estén compuestos por el mismo elemento. Por ejemplo, pueden tener valores de capacidad calorífica mayores debido a su gravedad especí fica, o pueden acoplarse de una forma diferente a la radiaci6n. Tambi6n, debido a su tamaño, composici6n o morfologí a, pueden viajar a través del cuerpo sin ser impedidos por el sistema inmunol6gico, garantizando el acceso a varias partes del cuerpo o a células individuales que de otra forma serí a imposible. AdemÁs, existe una amplia variedad de nanomateriales que pueden ser usados para que mÚltiples componentes funcionales puedan ser ańadidos para que sean selectivos a ciertos objetivos. Una alternativa para las terapias destructoras de tumores es el uso de nanopartículas para reducir los efectos no deseados de la quimioterapia actual.

Algunos nanomateriales tienen propiedades antibacterianas y antivirales que pueden ser usadas para desactivar infecciones cr6nicas que puedan conducir al desarrollo de cÁncer en tejidos sensibles, o ayudar en la reducci6n de las infecciones secundarias provocadas por la disminuci6n de la respuesta inmune debido a la quimioterapia.

En adición a su uso como agentes benéficos, algunas nanopartículas pueden tener un propósito doble al actuar como agentes de contraste para detección al registrar el progreso del sistema hacia el sitio del tumor [1].

La aplicación de la nanotecnología en la medicina trata sobre el uso de materiales a esta escala para el desarrollo de modalidades novedosas de terapia y diagnóstico. Los nanomateriales tienen propiedades fisicoquímicas únicas, tales como tamaño ultra pequeño, una alta relación entre área superficial y masa y alta reactividad. Estas propiedades pueden usarse para superar algunas de las limitaciones encontradas en los agentes terapéuticos y de diagnóstico tradicionales [2].

Estas partículas son lo suficientemente pequeñas para entrar prácticamente a cualquier parte del cuerpo, incluyendo células y orgánulos. Los organismos vivos están contruidos por células que tienen una dimensión típica de $10\ \mu\text{m}$ [Fig. 1.1].

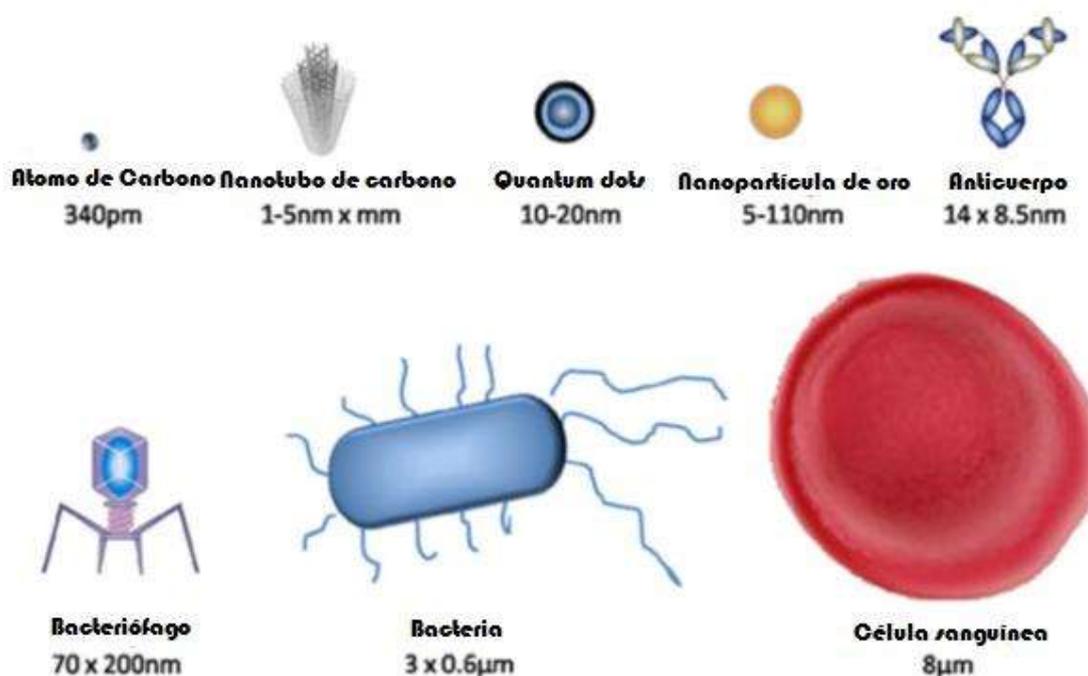


Fig. 1.1. Tamaños comparativos de algunas nanopartículas en comparación con algunas moléculas biológicas.

Sin embargo, los componentes celulares son mucho más pequeños y se encuentran en el dominio de los sub-micrones. Aún más pequeñas son las proteínas, con un tamaño típico de 5nm, lo cual es comparable con las dimensiones de las nanopartículas más pequeñas hechas por el hombre. Esta comparación de tamaños da una idea del uso de nanopartículas como pruebas muy pequeñas que permiten la observación de la maquinaria celular sin introducir mucha interferencia [3]. El entendimiento de los procesos biológicos al nivel de nanoescala es un área de mucho interés detrás del desarrollo de la nanotecnología [4].

Algunas aplicaciones de los nanomateriales en la biología o medicina son los siguientes:

- Marcadores biológicos fluorescentes [5,6, 7].
- Liberación de genes y fármacos [8, 9].
- Bio detección de patógenos [10].
- Detección de proteínas [11].
- Exploración de estructuras de ADN [12].
- Ingeniería de tejidos [13, 14].
- Destrucción tumoral por calentamiento (hipertermia) [15].
- Separación y purificación de moléculas biológicas y células [16].
- Mejora en el contraste en imágenes por resonancia magnética [17].
- Estudios fagocinéticos [18].

El hecho de que las nanopartículas existan en el mismo dominio que las proteínas hacen que los nanomateriales sean adecuados como biomarcadores. Para poder interactuar con un objetivo biológico, un recubrimiento biológico o molecular que actúe como una interface bioinorgánica debe unirse a la nanopartícula. Algunos ejemplos de recubrimientos orgánicos incluyen anticuerpos, biopolímeros como el colágeno [19], o monocapas de moléculas pequeñas que hagan a las nanopartículas biocompatibles [20].

Además, como las técnicas de detección óptica son ampliamente utilizadas en investigación biológica, las nanopartículas pueden fluorescer o cambiar sus propiedades ópticas. [Fig. 1.2]



Fig. 1.2. Configuraciones típicas usadas en nano-bio materiales aplicados a problemas médicos o biológicos.

Usualmente la nanopartícula forma el núcleo del nanobiomaterial. Puede ser usada como una superficie conveniente para ensamble molecular y puede estar compuesta por materiales inorgánicos y poliméricos. Puede estar también en forma de una nanovesícula rodeada de una membrana. La forma es normalmente esférica, pero otras formas como cilíndrica, de plato y otras son posibles. El tamaño y la distribución son importantes en algunos casos, por ejemplo, si se requiere la penetración a través de una estructura porosa o una membrana celular.

Esto se vuelve crítico cuando los efectos cuantizados son usados para controlar las propiedades del material. Un buen control del tamaño promedio de las partículas y una distribución de tamaños reducida permiten crear sondas fluorescentes muy eficientes que emiten luz en un amplio rango de longitudes de onda. Esto ayuda a crear biomarcadores con muchos y bien distinguidos colores.

El núcleo en sí mismo puede tener muchas capas y ser multifuncional. Por ejemplo, combinando capas magnéticas y luminiscentes se puede detectar y manipular a las partículas. El núcleo de la partícula muchas veces está protegido por muchas capas de material inerte, por ejemplo sílice. Las moléculas orgánicas que son adsorbidas o quimisorbidas sobre la superficie de la partícula también se utilizan con este propósito.

La misma capa protectora puede actuar como un material biocompatible. Sin embargo, usualmente se requiere una capa adicional de moléculas enlazadoras para proceder con la funcionalización. Esta molécula lineal enlazadora tiene grupos reactivos en ambas terminales. Un grupo se enfoca a unir al enlazador a la superficie de la nanopartícula y el otro se usa para enlazar varias fracciones como biocompatibles (dextran), anticuerpos, fluoróforos, etc., dependiendo de la función requerida por la aplicación [21].

En este trabajo se muestra la síntesis de un nanomaterial que aprovecha las propiedades tanto de las nanopartículas de oro como de los nanotubos de carbono enlazadas a un compuesto biológico que servirá como punto de unión a moléculas orgánicas tales como anticuerpos, cadenas de ADN y ARN que permitan el reconocimiento molecular para desarrollar biosensores altamente específicos y ultra sensibles.

Justificación

Los métodos actuales de detección de muchas enfermedades que aquejan al hombre son invasivos, costosos y no completamente confiables. Con este trabajo de investigación se pretende desarrollar nanopartículas funcionalizadas y soportadas sobre nanotubos de carbono con las cuales puedan construirse biosensores que logren alcanzar niveles de detección más altos que los utilizados actualmente.

Hipótesis

Las nanopartículas de oro soportadas sobre nanotubos de carbono de pared múltiple tendrán un tamaño de partícula y una dispersión homogénea a lo largo de los nanotubos. El l-glutati6n se enlazar6 a las nanopartículas de oro por medio del enlace covalente con el azufre presente en el l-glutati6n.

Objetivos

Objetivo general

Sintetizar nanopartículas de oro, soportarlas sobre los nanotubos de carbono y enlazarlas con l-glutatin con potencial uso como plataforma para unir anticuerpos que lograrán reconocer a sus antígenos correspondientes para el desarrollo de biosensores altamente específicos.

Objetivos específicos

- Sintetizar las nanopartículas de oro a partir del HAuCl_4 y soportarlas sobre los nanotubos de carbono por microondas evaluando diferentes medios de dispersión y agentes reductores.
- Caracterizar los nanotubos de carbono con las nanopartículas de oro ya soportadas por medio de TEM, Raman, IR y difracción de rayos X para analizar la distribución y tamaño de las nanopartículas sobre los nanotubos de carbono.
- Enlazar el l-glutatin a las nanopartículas de oro soportadas sobre los nanotubos de carbono y caracterizar el sistema por IR.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1.- Biosensor

Un biosensor es un sistema analítico compuesto por un material biológico que está inmovilizado, ya sean enzimas, anticuerpos, cadenas de ADN, etc. Este material biológico está en contacto con un sistema transductor adecuado que convierte la señal bioquímica una señal eléctrica que se puede cuantificar. Las señales eléctricas que se producen pueden ser continuas o discontinuas. Se emplea un transductor porque es un dispositivo capaz de transformar o convertir un determinado tipo de energía de entrada, en otra diferente a la salida. La elección del componente biológico va a depender del analito que se quiera analizar o cuantificar, y a su vez, el transductor dependerá del biocomponente [Fig. 2.1].

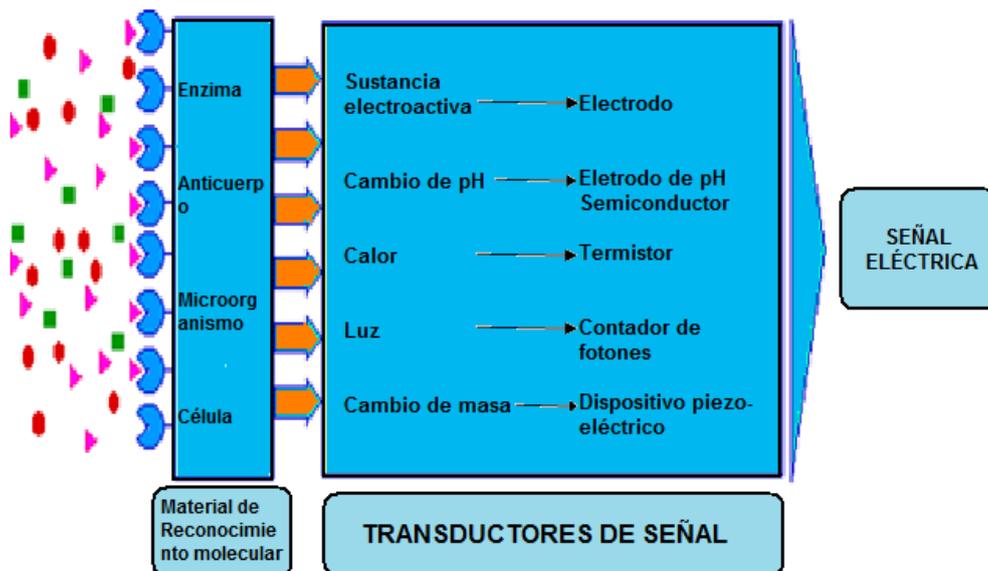


Fig. 2.1. Esquema general de un biosensor.

En contraste con los bioensayos convencionales, los biosensores permiten la detección de interacciones moleculares mientras se llevan a cabo, sin requerir procedimientos auxiliares, haciéndolos altamente atractivos para aplicaciones biotecnológicas.

Con el uso de los biosensores se incrementa la sensibilidad y la precisión. No es necesario manipular las muestras ni utilizar una gran cantidad de reactivos, sin embargo, es posible hacer cientos o miles de medidas con un solo biosensor, bajando los costos de los ensayos, aumentando la rapidez del proceso y facilitando su uso.

A pesar de esto, los biosensores presentan dos limitaciones principales: la inestabilidad de los compuestos biológicos, ya que éstos pueden perder su actividad en horas o días, esto depende de la naturaleza de la molécula, del pH, de la temperatura y de la fuerza iónica del compuesto biológico. La segunda limitación se debe a que la señal que puede registrar el biosensor está en un rango muy pequeño, desde nanómetros a micrómetros. Esto puede mejorarse sustituyendo los dispositivos de transducción fisicoquímica por dispositivos de transducción biológicos [22].

2.1.1. Clasificación de los biosensores

Los biosensores pueden clasificarse de la siguiente manera [Fig. 2.2]:

- En función del bioreceptor
 - Catalíticos (enzimáticos, celulares)
 - Afinidad (Anticuerpos, ADN)
- En función del método de inmovilización:
 - Químico (Enlace covalente, enlace cruzado)
 - Físico (Adsorción, atrapamiento, confinamiento, encapsulación)
- En función del transductor:
 - Electroquímicos (Potenciométricos, amperométricos)
 - Ópticos (Colorimétricos, fotométricos)
 - Calorimétricos/térmicos
 - Acústicos/térmicos
 - Piezoeléctricos

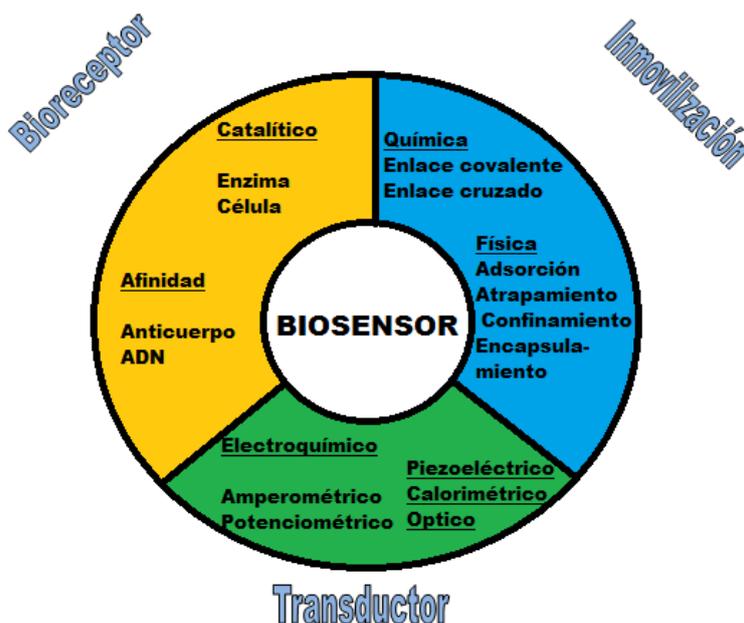


Fig. 2.2. Clasificación general de biosensores.

2.1.1.1. Biosensores electroquímicos

Los biosensores electroquímicos se basan en el monitoreo de especies electroactivas que son producidas o consumidas por la acción de los componentes biológicos (enzimas, células) [23]. La transducción de la señal puede llevarse a cabo usando uno de los dos principales métodos: Biosensores potenciométricos y biosensores amperométricos [Fig. 2.3].

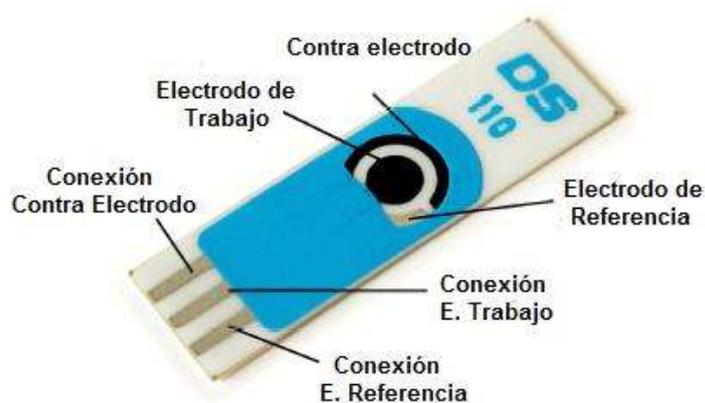


Fig. 2.3. Ejemplo de un biosensor electroquímico.

2.1.1.1.1 Biosensores potenciométricos

Se basan en el monitoreo del potencial de un sistema en un electrodo en funcionamiento con respecto a un electrodo de referencia preciso, bajo condiciones de flujo de corriente cero. En el proceso, las medidas potenciométricas se relacionan a la actividad del analito. Los biosensores potenciométricos pueden operar en un amplio rango de concentraciones.

2.1.1.1.2 Biosensores amperométricos

El principio de operación de los biosensores amperométricos se define por un potencial constante aplicado entre un electrodo de referencia y uno de prueba. El potencial aplicado resulta en reacciones redox, lo que ocasiona el flujo de una corriente neta. La magnitud de esta corriente es proporcional a la concentración de especies electroactivas presentes en la muestra y tanto las reacciones catódicas (reducción) y aniónicas (oxidación) pueden ser monitoreadas amperométricamente. Muchos de los biosensores amperométricos usan enzimas como elemento de bioreconocimiento. Típicamente, la oxidasa y deshidrogenasa son los catalizadores más utilizados para este tipo de biosensores [23].

2.1.1.2 Biosensores calorimétricos

La mayoría de las reacciones bioquímicas son acompañadas ya sea por absorción o producción de calor. Los sensores basados en la transducción calorimétrica están diseñados para detectar el calor generado o consumido durante una reacción biológica utilizando dispositivos sensibles para detección de calor [24].

2.1.1.3 Biosensores ópticos

Estos sensores se basan en la medición de las respuestas a la iluminación o emisión de luz. Los biosensores ópticos [Fig. 2.4] pueden emplear una variedad de técnicas para detectar la presencia de un analito objetivo basándose en métodos como quimiluminiscencia, fluorescencia, absorbancia de luz, fosforescencia, técnicas fototérmicas, resonancia de plasmón superficial, polarización y rotación, y reflectancia interna total [25].

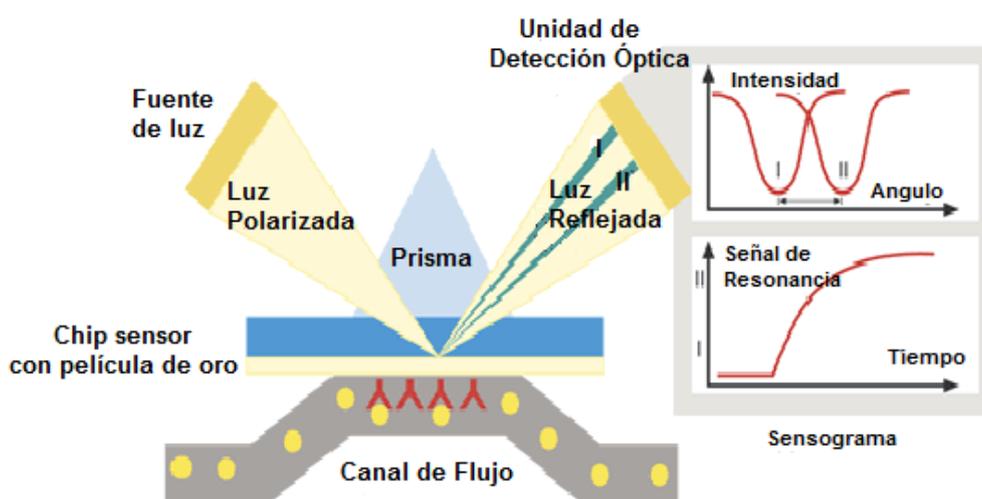


Fig. 2.4. Esquema de un biosensor óptico.

2.1.1.4 Biosensores acústicos

Estos sensores basan su mecanismo de detección en una onda mecánica o acústica. Mientras la onda acústica se propaga a través o por la superficie del material, cualquier cambio en las características de la ruta de propagación afecta la velocidad y/o amplitud de la onda. Los cambios en la velocidad pueden ser monitoreados midiendo la frecuencia o fase características del sensor y después pueden correlacionarse a la cantidad física correspondiente que se está midiendo [Fig. 2.5].

Prácticamente todos los sensores de ondas acústicas usan un material piezoeléctrico para generar la onda acústica. La piezoelectricidad se refiere a la producción de cargas eléctricas por la aplicación de estrés mecánico. Los sensores piezoeléctricos de ondas acústicas aplican un campo eléctrico oscilante para crear una onda mecánica, la cual se propaga a través del sustrato y luego es convertida de nuevo en un campo eléctrico para su medición [26].

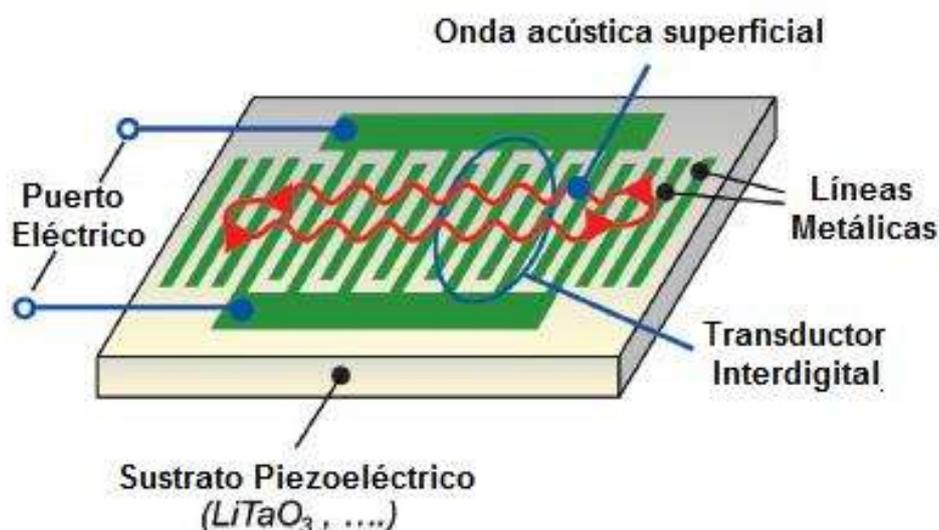


Fig. 2.5. Esquema de un sensor acústico.

2.1.1.5 Inmunosensores

Los inmunosensores se basan en explotar la interacción específica de anticuerpos con antígenos [Fig. 2.6]. Típicamente los inmunoensayos emplean un marcador (enzima, anticuerpo, marcador fluorescente) para detectar la reacción inmunológica. El uso de plataformas de biosensores, unidas a un formato de inmunoensayo ofrece una ruta hacia mediciones rápidas y precisas de una gran variedad de analitos objetivo [27].

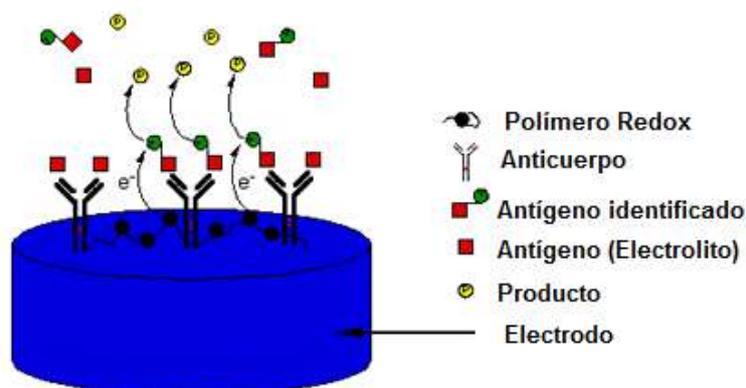


Fig. 2.6. Diagrama de un inmunosensor.

2.2 Nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono (NTCs) constituyen una forma alotrópica del carbono, tal como el grafito, el grafeno, el diamante y los fullerenos. Los NTCs están constituidos por unidades de carbono sp^2 - sp^3 y presentan una estructura con redes hexagonales de carbono, estructuradas en forma de tubos, cuyo diámetro y longitud es del orden de algunos nanómetros. Los NTCs son estructuras cerradas que presentan dos regiones bien definidas con propiedades claramente diferentes, el tubo y el domo, el cual es parecido a la mitad de una molécula de fullereno con defectos topológicos que en este caso son principalmente la presencia de pentágonos [Fig. 2.7].

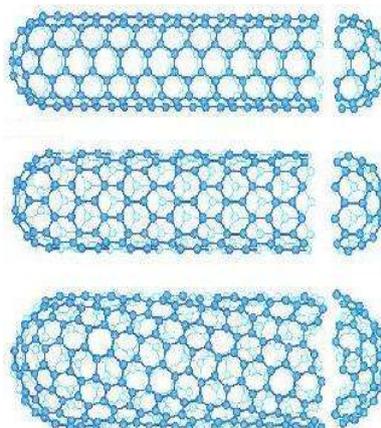


Fig. 2.7. Regiones de las cuales se compone un nanotubo de carbono, tubo y domo.

Son sistemas ligeros, huecos y porosos, exhiben alta resistencia mecánica e interesantes propiedades eléctricas, y por lo tanto interesantes para el reforzamiento estructural de materiales y formación de composites de bajo peso, alta resistencia a la tracción y gran elasticidad.

Básicamente existen dos grupos de NTCs, de pared múltiple (MWCNTs) y los de pared sencilla (SWCNTs) [Fig. 2.8]. Los MWCNTs pueden ser visualizados como túbulos concéntricos y cerrados de grafito con múltiples láminas de grafitos que definen un hueco de 2 a 25 nm separadas por una distancia de aproximadamente 0.34nm. Los SWCNTs consisten de una lámina sencilla de grafito enrollada la cual define un cilindro de 1 a 2 nm de diámetro [28].

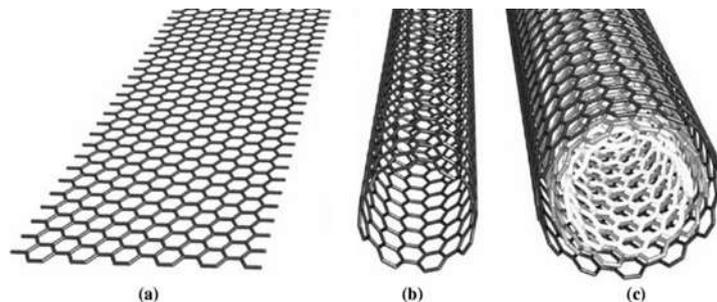


Fig. 2.8. Representación de un nanotubo de carbono de pared sencilla (b) y un nanotubo de carbono de pared múltiple (c) a partir de una lámina de grafito (a).

Una capa de grafito es un semi-metal, esto quiere decir que tiene propiedades intermedias entre semiconductores y metales. Cuando se enrolla una capa de grafito en un nanotubo, además de tener que alinearse los átomos de carbono alrededor de la circunferencia del tubo, también las funciones de onda estilo mecánica cuántica de los electrones se ajustan [29]. Dependiendo de la forma en la que se enrolla, el nanotubo puede comportarse como un semiconductor o un metal [Fig. 2.9].

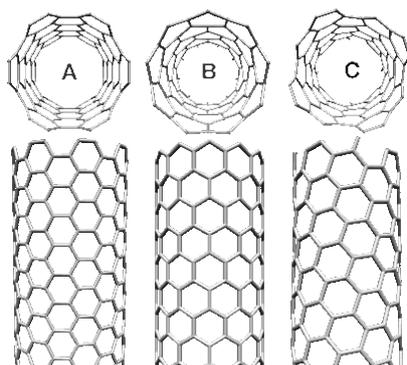


Fig. 2.9. Comportamiento del nanotubo de carbono dependiendo del enrollamiento. (a) Armchair – Metálico. (b) Zig-Zag – Semiconductor de band gap pequeña. (c) Semiconductor.

2.2.1 Aplicaciones y propiedades de los nanotubos de carbono

Desde el principio la teoría predijo excepcionales propiedades para los nanotubos de carbono, que han podido ser comprobadas experimentalmente a medida que ha evolucionado la instrumentación científica. Las propiedades son diferentes en los SWCNT y los MWCNT. Dependen, además, fuertemente de sus dimensiones (diámetro y longitud) y de los defectos presentes en el nanotubo (vacantes o impurezas ocupando el lugar de un átomo de carbono, deformaciones, inclinaciones). Pero también dependen de la forma en que están dispuestos los hexágonos de la lámina de grafito, es decir, de cómo se enrollaría la hipotética lámina de grafito que daría lugar al nanotubo [30].

2.2.1.1 Electrónica

A pesar de las extraordinarias propiedades mecánicas y térmicas de los nanotubos de carbono, sus primeras aplicaciones prácticas han sido electrónicas, planteándose como una posible revolución en determinadas áreas como la informática [Fig. 2.10]. Las peculiares propiedades electrónicas de los nanotubos de carbono son las que han permitido utilizarlos en aplicaciones electrónicas.

La tendencia actual en electrónica es la miniaturización de los dispositivos para mejorar las prestaciones: aumento de velocidad, densidad y eficiencia. Los nanotubos también son excelentes conductores del calor, lo que los hace ideales disipadores del calor que se produce en los sistemas electrónicos [31].

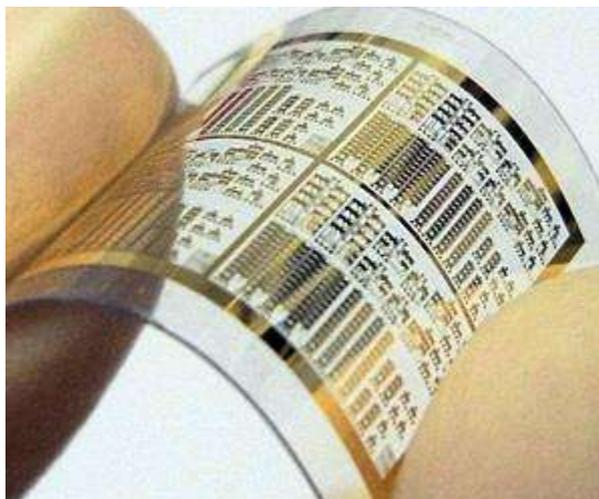


Fig.2.10. Fotografía de un circuito integrado basado en NTC depositado en un soporte plástico.

2.2.1.2 Materiales

Los NTCs pueden ser la base para la formación de nuevos materiales y pueden hacerlo de dos formas: o bien agrupándose para formar haces o bien, mezclándose con otros materiales para formar composites.

En el caso de los haces el resultado será una fibra con diámetro nanoscópico y longitud mucho mayor que el radio. Así, mientras los NTCs individuales son preferidos para ciertas aplicaciones como la electrónica molecular, los haces son mejores para aplicaciones estructurales [32].

Algunas propiedades de los nanotubos que los hacen ideales para su uso en materiales son:

- Mecánicas: Los NTCs poseen alta dureza, tenacidad, resistencia mecánica, flexibilidad y elasticidad y son muy ligeros.
- Hidrófobas: Los NTCs repelen el agua. Esta característica puede dar lugar al desarrollo de compuestos que se comporten de la misma manera.
- Químicas: Al ser polímeros de carbono puro permiten el acoplamiento de estructuras químicas tanto en sus paredes como en los extremos, lo que provoca un cambio en sus propiedades.
- Térmicas: Además de ser muy estables a altas temperaturas, presentan una altísima conductividad térmica (superior a la del diamante) en la dirección del eje. Sin embargo, si se les aplica calor en dirección perpendicular al eje, lo reflejan.

2.2.1.3 Energía

Una de las problemáticas que existen en los sistemas de gestión de la energía es el almacenamiento de ésta. Los sistemas al uso a día de hoy, básicamente baterías, tienen limitaciones tanto de vida de almacenamiento como de consumo energético para su recarga, siendo poco eficientes. Los NTCs pueden aportar mejoras debido a no sólo a su elevada superficie específica que puede garantizar sistemas de almacenamiento ligeros, sino que sus propiedades mecánicas los hacen más resistentes.

Su uso también se extiende a sistemas de conversión de energía tales como celdas de combustible, baterías de ión litio y celdas solares [33].

2.2.1.4.- Biotecnología y química

2.2.1.4.1.- Adsorción y absorción

Los NTCs tienen capacidad para adsorber ciertas sustancias. Esto, unido a su gran área superficial, los hace aptos para su uso en la filtración de líquidos y gases. En concreto sus aplicaciones en el filtrado de agua y aire hacen de ellos un material prometedor para solucionar múltiples problemas medioambientales [34].

Los NTCs que se rellenan con otras sustancias pueden ser absorbentes, normalmente debido a reacciones químicas que se realizan entre la sustancia contenida en el nanotubo y la que se pretende absorber. Se están estudiando cómo los NTCs que contienen galio en su interior pueden absorber vapor de cobre que se deposita en el interior del nanotubo formando una aleación con el galio. Esta aplicación podría utilizarse para eliminar sustancias tóxicas o radiactivas [35].

2.2.1.4.2.- Catálisis

En muchos casos los catalizadores deben ir acompañados por materiales soporte por diversos motivos: para inmovilizar al catalizador, para aumentar la superficie de contacto del catalizador con las sustancias reactivas, para estabilizar el catalizador y prevenir aglomeraciones, y para no tener que separar el catalizador de los productos cuando concluye la reacción. Dado que los soportes de los catalizadores suelen ser materiales porosos para que la catálisis se realice en su interior, los NTCs pueden ejercer este papel [36]. Además, los NTCs pueden por sí solos ser catalizadores, debido a que pueden oxidarse y reducirse con facilidad. [Fig. 2.11]

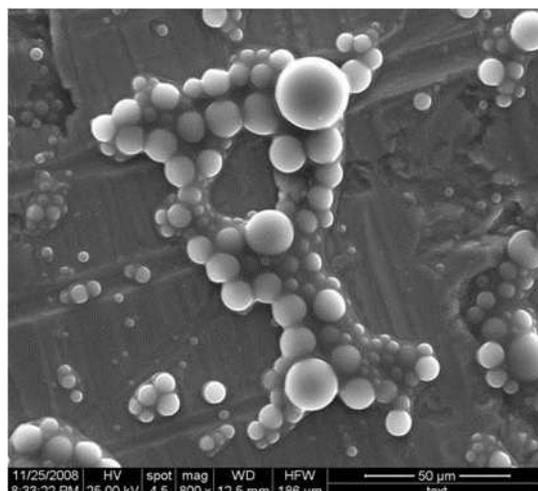


Fig. 2.11. Catálisis - Imagen SEM de partículas hidrofílicas de polidimetilsiloxano (PDMS).

2.2.1.5 Medicina

2.2.1.5.1 Liberación de fármacos

Medicinas encapsuladas en el interior de NTCs podrían ser ingeridas y transportadas a través del torrente sanguíneo hasta el punto donde tienen que ser administradas [Fig. 2.12]. Además de conseguir gran efectividad en los medicamentos, se evitarían los efectos secundarios presentes en la mayoría de los fármacos que se consumen actualmente, mejorando la calidad de vida de personas sometidas a agresivos tratamientos contra ciertas enfermedades como el cáncer [37].

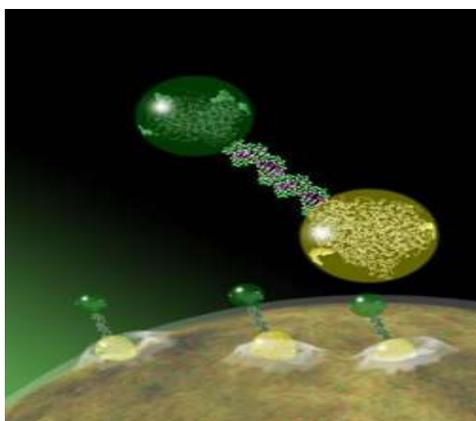


Fig. 2.12. Liberación específica de fármacos.

2.2.1.5.2 Prótesis

Los tejidos óseos son unos compuestos naturales de fibras de colágeno e hidroxiapatita cristalina. Se ha demostrado que los NTCs pueden imitar el rol del colágeno como soporte para inducir el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita. Tratando químicamente los nanotubos, sería posible atraer los iones de calcio y así promover el proceso de cristalización [38].

2.2.2.- Uso como biosensores

Estudios recientes han demostrado que los NTCs pueden mejorar la reactividad electroquímica de biomoléculas importantes [39,40], y pueden promover las reacciones de transferencia de electrones de las proteínas. [41,42]. Además de la reactividad electroquímica mejorada, los electrodos de NTCs modificados han demostrado ser útiles para acumular biomoléculas [43].

La extraordinaria sensibilidad de la conductividad de los NTCs a los adsorbatos superficiales permite su uso como sensores altamente sensibles a nanoescala. Estas propiedades los hacen extremadamente atractivos para un amplio rango de biosensores electroquímicos, desde electrodos amperométricos enzimáticos a biosensores de hibridación de ADN. A continuación se presentan algunos ejemplos.

2.2.2.1. Electrodos enzimáticos

Los electrodos enzimáticos combinan la especificidad de las enzimas con el poder analítico de los dispositivos electroquímico y son extremadamente útiles para diagnósticos clínicos o monitoreo ambiental. La atractiva detección de bajo-potencial del peróxido de hidrógeno y del NADH (Nicotidamina Adenina Dinucleótido Hidrogenasa), junto con la pasivación superficial mínima durante la oxidación del NADH, hacen a los NTCs muy atractivos para el desarrollo de electrodos enzimáticos basados en oxidasa y deshidrogenasa.

Existen más de 200 deshidrogenasas y 100 oxidasas. Muchas de estas enzimas catalizan específicamente las reacciones de analitos clínicamente importantes (glucosa, colesterol, aminoácidos, alcohol) para generar los productos electroquímicamente detectables, el NADH y el peróxido de hidrógeno.

2.2.2.2 Monitoreo de glucosa

El diagnóstico y manejo de la diabetes mellitus requiere un monitoreo estricto de los niveles de glucosa en la sangre. Los biosensores electroquímicos de glucosa juegan un papel importante en esta dirección. La dramática disminución en el sobrepotencial del peróxido de hidrógeno así como la transferencia directa de electrones de la glucosa oxidasa (GOx) observada en los electrodos basados en NTCs modificados los hacen un material promisorio para biosensar la glucosa [Fig. 2.13].

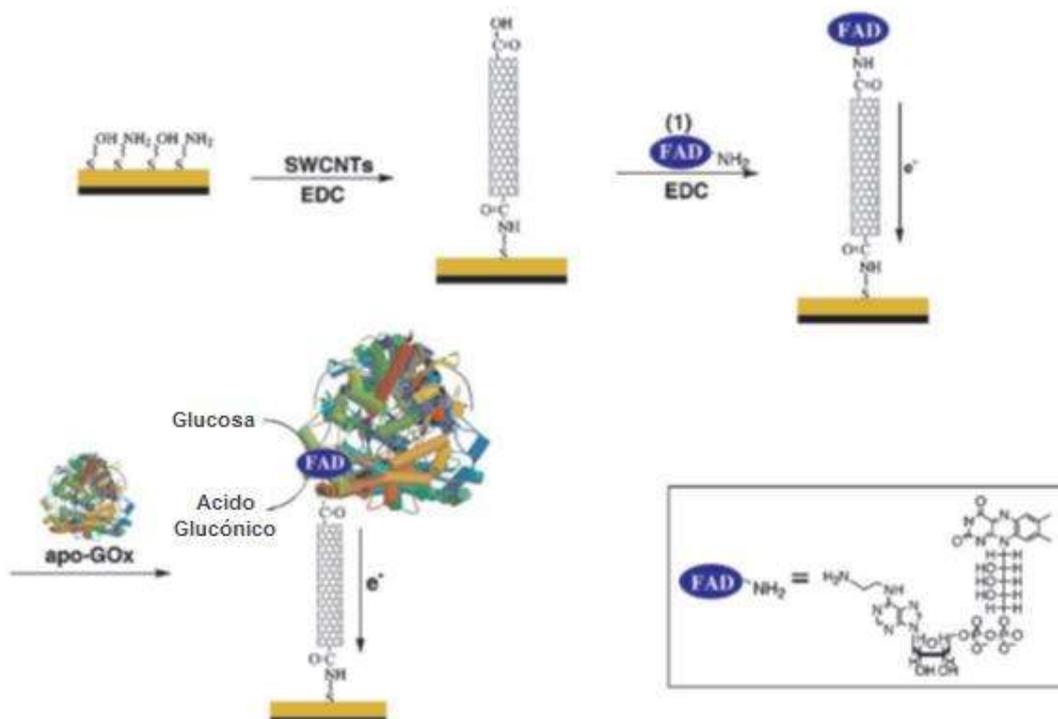


Fig. 2.13. Arreglo de un electrodo de nanotubos de pared simple de glucosa oxidasa.

2.2.2.3 Sensores electroquímicos de ADN

Los biosensores de ADN basados en procesos de reconocimiento de ácidos nucleicos se están desarrollando rápidamente debido que pueden hacerse pruebas más rápidas y baratas de enfermedades genéticas e infecciosas. Los biosensores de hibridación electroquímica se basan en la inmovilización de pruebas de ADN de cadena sencilla (ss-) sobre la superficie del transductor que convierte la formación del dúplex en una señal eléctrica medible [44]. El desempeño de tales dispositivos puede beneficiarse enormemente usando NTCs. Tales mejoras se atribuyen a la detección mejorada de la guanina objetivo o del producto de un marcador enzimático, así como el uso de los NTCs como plataformas de soporte.

Los MWCNTs de superficie confinada han demostrado ser útiles para facilitar la acumulación adsorptiva de la nucleobase de la guanina e incrementa significativamente la señal de oxidación [43]. Esta ventaja de los electrodos de carbón cristalinos con NTCs recubiertos se ha ilustrado en comparación a los NTCs cristalinos no modificados y a los electrodos de grafito. La enorme amplificación de la señal de la guanina se ha combinado con una detección eléctrica de hibridación de ADN libre de marcadores [45,46].

Un arreglo de MWCNTs verticalmente alineados, soportados en SiO₂ ha demostrado ser útil para la detección ultrasensible de hibridación de ADN [47]. Los NTCs juegan un rol de amplificación doble, en los eventos de reconocimiento como de transducción y como portadores de numerosos marcadores enzimáticos [Fig. 2.14].

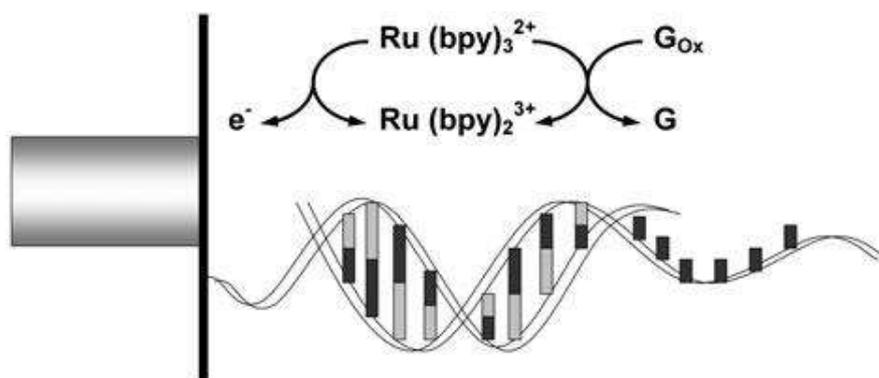


Fig. 2.14. Uso de un arreglo de electrodos de nanotubos de carbono para la detección de hibridación de ADN.

2.2.2.4 Biosensores de cáncer

Dado que la resección radical de un tumor cancerígeno en una etapa temprana es la única forma de curar la enfermedad, el diagnóstico temprano y la detección son de vital importancia. Además, las técnicas clínicas convencionales basadas en imágenes tales como rayos X, tomografía computarizada y resonancia magnética no poseen la resolución espacial suficiente para la detección temprana de la enfermedad.

Como los cambios morfológicos están ausentes en las etapas tempranas de muchos desórdenes neoplásicos, estos pueden pasar desapercibidos por las técnicas tradicionales. Lo cual hace imperativo el desarrollo de nuevas herramientas para el diagnóstico temprano del cáncer.

En los años recientes, los NTCs se han utilizado como agentes de contraste en un número de modalidades de diagnóstico, tales como resonancia magnética, fluorescencia de infrarrojo cercano, espectroscopia Raman y tomografía fotoacústica [48].

Además de esto, las células cancerígenas usualmente sobreexpresan biomarcadores proteínicos característicos, lo cual brinda una oportunidad para un diagnóstico temprano de la enfermedad. Clínicamente, algunos marcadores

tumorales importantes como el antígeno carcinoembrionario, la alfa-fetoproteína, antígeno carbohidrato 19-9, antígeno de carcinoma 125, antígeno específico de próstata (PSA) y la gonadotropina coriónica humana han sido ampliamente aplicados al diagnóstico de cáncer colorrectal, carcinoma hepatocelular, cáncer pancreático, tumores ováricos epiteliales, cánceres de próstata, etc. Sin embargo, la falta de sensibilidad y especificidad usualmente excluye al uso de muchos marcadores tumorales existentes para la detección temprana de malignidades [49].

Debido a las propiedades mecánicas, electrónicas y térmicas de los NTCs, se han propuesto como una herramienta promisoría en la detección de la expresión de moléculas biológicas indicativas de una etapa temprana del cáncer. Con este enfoque novedoso, se ha alcanzado una alta sensibilidad y límites ultrabajos de detección.

Entre los marcadores, el PSA ha sido ampliamente usado en la detección de cáncer. Un límite de detección tan bajo como 4 pg/mL se ha alcanzado a través de sistemas de detección basados en NTCs, sobrepasando los límites de detección de los métodos de inmunoensayo convencionales [50,51].

Por otra parte, el tiempo total del ensayo fue menor al de los test comerciales de ELISA, con un nivel similar de selectividad [52]. Aún más importante, este acercamiento llevará a un dispositivo más compacto y barato para la detección que los inmunoensayos actuales [53].

2.2.3.- Toxicidad

A pesar de sus atractivas características, la toxicidad de los nanotubos es una preocupación central, existen muchos grupos apuntando a su similitud con las fibras de asbesto [54]. La toxicidad de los NTCs tanto in vivo como in vitro se ha atribuido a varios factores, como la longitud, el tipo de

funcionalización, la concentración, el tiempo de exposición, método de exposición, y hasta el dispersante utilizado para solubilizar los nanotubos. Aunque muchos estudios también sugieren que tales atributos a la toxicidad de los nanotubos están infundados.

Se ha puesto atención en los mecanismos de toxicidad en casos donde los NTCs tienen una interacción tóxica con las células [Fig. 2.15]. Los resultados sugieren que los nanotubos de carbono pueden causar daño a las células al activar muchas rutas biológicas simultáneamente, provocando daños al ADN [55].

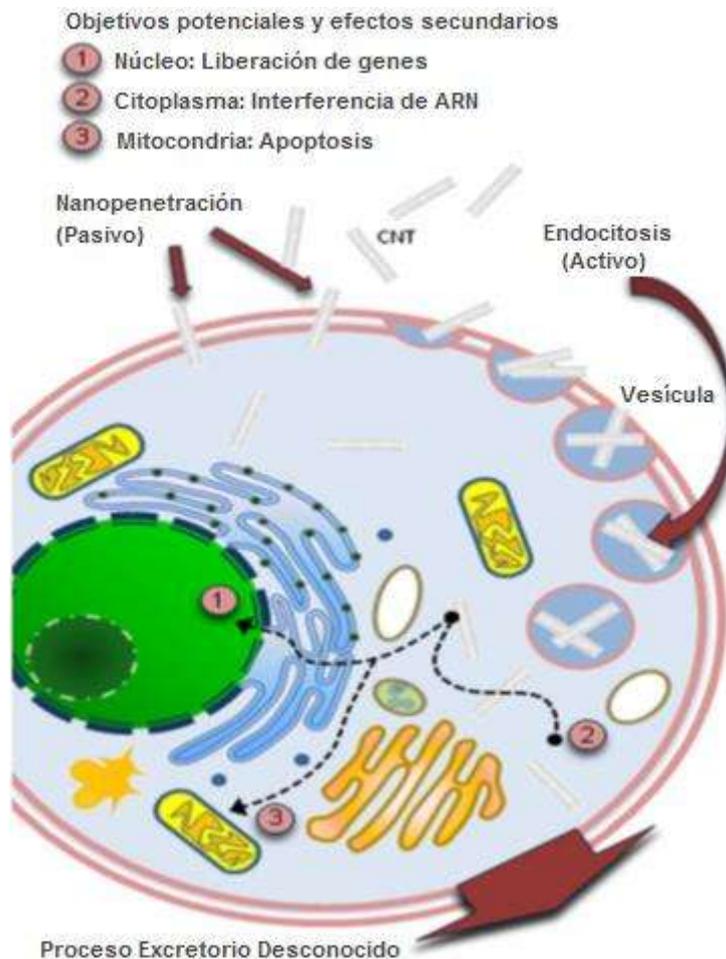


Fig. 2.15. Interacción de los nanotubos de carbono con células.

2.2.4 Métodos de obtención de nanotubos de carbono

Existen varios métodos para la síntesis de SWCNTs y MWCNTs; descarga de arco eléctrico, ablación láser (vaporización láser), deposición química de vapor (CVD), alta presión (HiPCO) y spray-pirólisis [56].

2.2.4.1 Método de descarga de arco

Este método consta de dos electrodos de grafito conectados a una fuente de alimentación, separados unos milímetros, sumergidos en atmósfera de helio o argón a baja presión, de manera que cuando se hace circular una corriente de 100 A, salta una chispa que crea un plasma. El carbono del ánodo se evapora en el plasma, debido a la alta temperatura alcanzada, pero se deposita a su vez en el cátodo [Fig. 2.16].

El material depositado está compuesto por nanotubos y otras nanopartículas de carbono. Los nanotubos obtenidos son de pared simple [57].

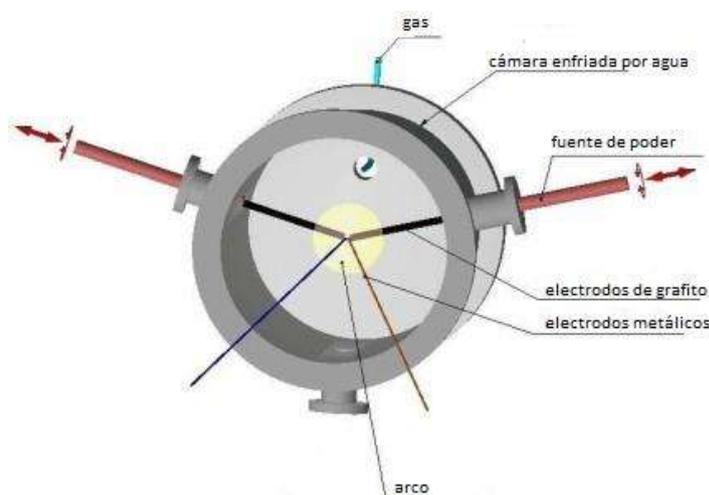


Fig. 2.16. Método de descarga de arco.

2.2.4.2 Método de vaporización láser o ablación láser

Consiste en el bombardeo de una barra de grafito con pulsos intensos de haz láser, en un reactor a alta temperatura y en presencia de un gas inerte

[Fig. 2.17]. Así se genera el gas caliente de carbono a partir del cual se forman los nanotubos al condensarse en las paredes frías del reactor [58].

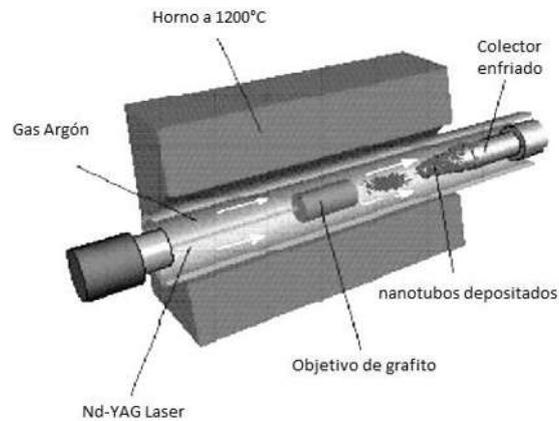


Fig. 2.17. Método de ablación láser.

2.2.4.3 Método de deposición química de vapor (CVD)

Consiste en colocar, en una cámara, un sustrato con una capa de partículas de un metal catalítico (Fe, Co, Ni, y otros), que se calienta hasta aproximadamente 700°C. Posteriormente se introduce en la cámara un gas de hidrocarburo como el metano [59]. Al descomponerse el gas, libera átomos de carbono que se irán depositando sobre las partículas catalíticas del sustrato para dar lugar a los nanotubos [Fig. 2.18].

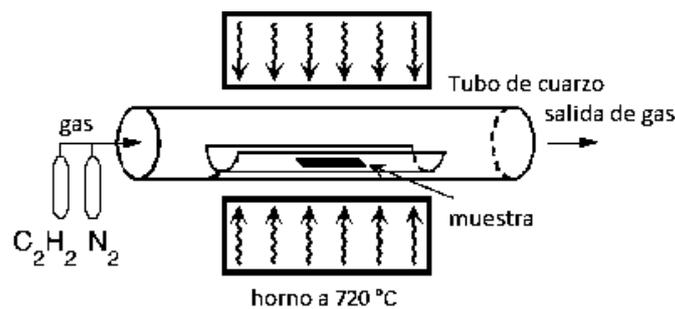


Fig. 2.18. Método de deposición química de vapor (CVD).

2.2.4.4 Método de alta presión (HiPCO)

Se hace pasar monóxido de carbono a alta presión junto a pequeñas cantidades de catalizador a través de un reactor calentado a alta temperatura (800°C – 1200°C).

2.2.4.5 Método de spray-pirólisis

El método de spray-pirólisis consiste en inyectar una mezcla metaloceno/solución de hidrocarburo a través de un vaporizador en un horno de reacción. El metaloceno es un compuesto que tiene la función de formar una capa fina de nanopartículas metálicas que actúan formando núcleos para el crecimiento de nanoestructuras de carbono, en una atmósfera inerte a baja presión y temperaturas elevadas [Fig. 2.19]. Debido a las altas temperaturas, el metaloceno se aglutina en nanopartículas separadas sirven como centros de crecimiento que formarán la base de los nanotubos [60].

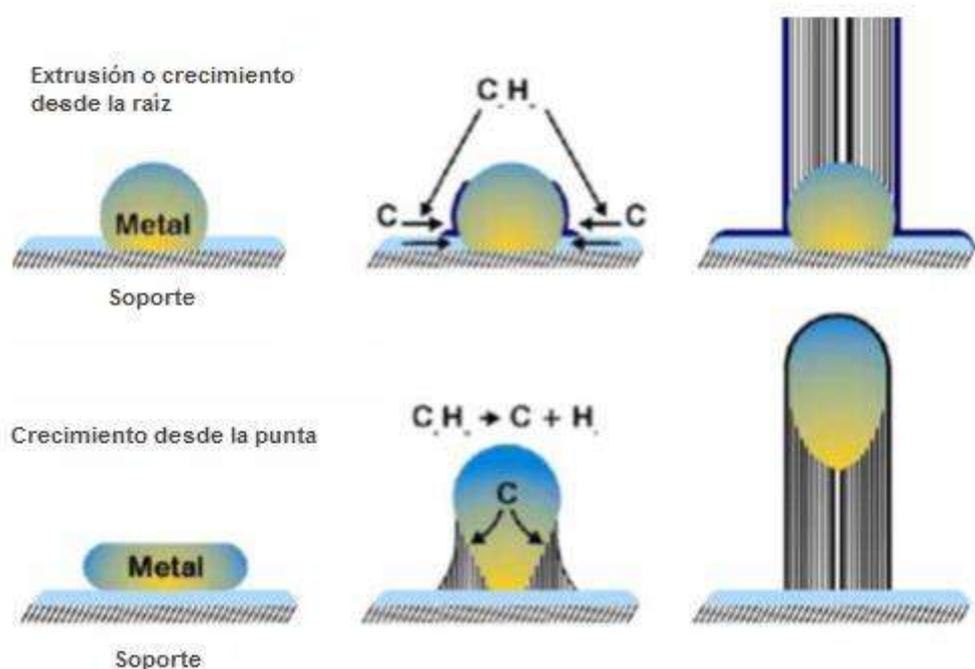


Fig. 2.19. Mecanismos teóricos de crecimiento de los nanotubos de carbono sobre un catalizador metálico.

2.3.- Nanopartículas de oro

Uno de los desarrollos más significativos en años recientes ha sido el desarrollo de nuevos materiales en escala nanométrica llamados nanopartículas (NPs). Se espera que las NPs formen la base de las innovaciones tecnológicas y biológicas de este siglo, exhibiendo ventajas en propiedades físicas, químicas y biológicas. Tienen también el potencial de ayudar a establecer procesos benéficos específicos y lograr selectividad con configuraciones biológicas. A la fecha, un gran número de NPs han sido sintetizadas, especialmente aquellas hechas a partir de metales nobles como el oro.

Las nanopartículas de oro (AuNPs) pueden ser fabricadas en una gran variedad de formas incluyendo nanoesferas, nanorods, nanocinturones, nanoceldas, nanoprismas y nanoestrellas [61]. Las propiedades químicas, ópticas y electromagnéticas de las AuNPs están fuertemente influenciadas por su tamaño y forma. Por ejemplo, en comparación con el oro metálico que es amarillo dorado, las AuNPs esféricas tienen un color rojo vino, mientras que los nanorods de oro son azules o negros en solución [62].

La facilidad de síntesis y las propiedades únicas de las AuNPs las hacen candidatas ideales para la traslación de nivel laboratorio a la arena clínica para su uso en humanos.

2.3.1 La historia del oro.

El uso del oro para propósitos medicinales data desde el 2500 A. C. con los antiguos chinos y egipcios. [63,64]. En la Europa medieval existían numerosas recetas para elixires de oro y en los siglos XVII y XIX el oro fue usado para tratar fiebres y sífilis, respectivamente [65]. El uso del oro en la medicina moderna comenzó en 1890 cuando el bacteriólogo alemán Robert Koch descubrió que el cianuro de oro era bacteriostático al bacilo de la

tuberculosis in vitro. Esto subsecuentemente llevó al tratamiento de la tuberculosis con oro a inicios del siglo XX. Como la artritis reumatoide inicialmente se pensó que era una forma atípica de tuberculosis [66], Laude usó oro para tratar la artritis reumatoide en 1927. Desde entonces el oro ha sido usado como agente terapéutico para tratar una gran variedad de enfermedades reumáticas incluyendo la artritis psoriática [67] y la artritis juvenil [68]. El oro también ha sido usado en otras áreas de la medicina como en prótesis en odontología [69] y oftalmología [70], liberación de genes [71], por nombrar algunas.

2.3.2 La química del oro

El oro es un metal noble que se encuentra en el grupo 1B de la tabla periódica con un número atómico de 197. El oro puede existir en varios estados de oxidación: (-I), (0), (I), (II), (III), (IV), y (V), sin embargo, solo el oro (0), (I) y (III) son estables en solución acuosa. Por lo tanto, in vivo, el oro existe en equilibrio entre su estado metálico basal (0) y sus estados oxidados (I) o (III) [64].

El oro metálico no se oxida o quema en presencia de aire, aun cuando se caliente, y ha demostrado ser inerte a álcalis y ácidos fuertes haciéndolo uno de los metales menos reactivos conocidos por el hombre [67]. En contraste, el oro (I) y (III) son inestables con respecto al oro (0), siendo el oro (III) un agente oxidante fuerte el cual es reducido a oro (I) mediante reductores biológicos como los tioles. Como el oro (I) reacciona preferentemente con donadores -S, más que con donadores -O y -N, puede ser estabilizado mediante ligandos tiolados. Estos compuestos de oro tiol sufren reacciones de intercambio de ligandos biológicos, lo cual aumenta su actividad farmacológica. [63]

2.3.3. Síntesis de nanopartículas de oro

Las AuNPs pueden ser sintetizadas de diferentes tamaños y formas mediante diferentes estrategias [72,73]; sin embargo, el método más común es mediante la reducción química o electroquímica de un precursor de oro (III). El control sobre la forma y tamaño se obtiene a través de condiciones experimentales cuidadosas incluyendo el agente reductor específico, el tiempo de reacción, temperatura, y el uso de algún agente protector, el cual bloquea el crecimiento de las NPs a cierto límite de nanómetros. [74]

El método más común para preparar NPs esféricas es un método de reducción de una sola fase basado en agua usando reducción por citrato como los describen Turkevich [75] y Frens [76].

2.4.- Nanopartículas de oro sobre nanotubos de carbono (AuNPs/NTCs)

Las NPs metálicas han atraído una atención considerable debido a sus propiedades físicas y químicas. Recientemente, las NPs metálicas soportadas tanto sobre NTCs como sobre otros soportes conductores o semiconductores han sido un tema importante debido a sus grandes áreas superficiales y a sus sitios de coordinación superficiales insaturados densamente poblados para aplicaciones catalíticas. El diseño y preparación de las NPs metálicas/NTCs es importante no sólo porque facilitan un tamaño de distribución más concentrado y una alta área superficial, sino porque también los nuevos y superiores compositos serán útiles en aplicaciones particulares. Se ha encontrado que este tipo de nanocompuestos híbridos pueden ser usados en nanoelectrónica, biosensores, etc.

Las AuNPs son las más investigadas debido a que son fáciles de sintetizar y de funcionalizar y pueden ser unidas a muchas moléculas o grupos. Generalmente, hay dos maneras de decorar los NTCs con AuNPs: deposición indirecta o directa.

Para la deposición indirecta, se introduce un vínculo entre el NTC y la AuNP. Pueden usarse dos tipos de enlace, covalente y no covalente. Para el enlace covalente, las AuNPs o los NTCs se funcionalizan con algunos vinculadores, formando enlaces covalentes tanto en los sitios del NTC como en los sitios de las AuNPs. Para los enlaces no covalentes, se utilizan otros tipos de enlaces, tales como el $\pi - \pi$ apilado, el electrostático o la interacción hidrofóbica. Estos tipos de métodos no covalentes son usados comúnmente y se depositan altas densidades de AuNPs sobre los NTCs. Sin embargo, existen dos obstáculos con estos métodos, los cuales son la necesidad de varios pasos en el proceso y el hecho de que la fracción de modificación del nanotubo de carbono algunas veces no es muy alta.

El otro conjunto de métodos es la deposición directa. Esto significa que las AuNPs recubren la pared exterior del nanotubo sin ninguna molécula o grupo que las vincule a éste. La deposición asistida por microondas es uno de estos métodos reportados, en donde los NTCs son expuestos a microondas y se generan grupos carboxilo en las paredes de los nanotubos, seguido por una reducción de los iones de oro sobre la pared.

La radiación por microondas es una nueva y promisoriosa técnica para la preparación de nanoestructuras metálicas de tamaño controlado soportadas sobre diferentes substratos.

Las ventajas de éste método son:

- Una cinética de reacción mejorada, generalmente de uno o dos órdenes de magnitud, lo cual resulta en una distribución de tamaño de partícula más cerrado.
- Un calentamiento uniforme de la solución, lo que resulta en una nucleación más homogénea así como un tiempo de cristalización menor.
- Un período de inducción térmica más corto, fácil control del proceso y alta pureza [77].

Xue y colaboradores han reportado otro método al mezclar el NTC con una solución con la sal de oro y secándola subsecuentemente. Después los iones de oro fueron reducidos por H_2 a alta temperatura, entre 573 y 973 K. Jiang y colaboradores mostraron un proceso para adherir AuNPs sobre un NTC tratando primero al NTC con polietilenamina (PEI) o citrato de sodio, luego, las AuNPs fueron sintetizadas tanto sobre el NTC como por adentro usando una reacción a 80° durante 8 h.

El método de dispersión atómica metálica solvatada (SMAD) es otra forma de fabricar híbridos de AuNPs/NTCs. En el procedimiento SMAD, el oro y el solvente orgánico (acetona) son coevaporados, luego, después de la condensación, se obtienen grupos de oro que pueden hibridarse con MWCNTs. Xiao y colaboradores reportaron un método simple en el cual se utilizó dodecil sulfato de sodio para dispersar el NTC. Aunque estos métodos han sido exitosos y útiles, un aspecto importante es que en algunos casos se requieren métodos más simples, sin la necesidad de altas temperaturas, solventes orgánicos o un tiempo de reacción largo. Además, las soluciones acuosas hacen la colección de los nanocompuestos sintetizados más fácil [78].

2.4.1 Nanopartículas de oro sobre nanotubos de carbono como biosensores

La adición de NPs metálicas a los nanotubos de carbono, lo cual usualmente se denomina proceso de “decoración” [79], puede llevar a la creación de nuevos materiales nano-híbridos con las propiedades integradas de los dos componentes. Además, estos materiales presentan propiedades interesantes que no están disponibles en los componentes individuales. Por lo tanto, los materiales nano-híbridos pueden ofrecer nuevas oportunidades para el desarrollo de sensores y biosensores con un alto desempeño analítico.

Algunos ejemplos de sensores desarrollados en base a estos materiales son:

- Biosensores amperométricos de ácido úrico [80].
- Biosensores de colesterol [81].
- Detectores de compuestos organofosfóricos como el paraoxon [82].
- Biosensores de glucosa [83].
- Biosensores de lisina [84].
- Biosensores de cáncer [85].

2.5. Glutación (GSH) y su uso en biosensores.

El L-Glutación reducido (γ -glu-cys-gly) o GSH es un tripéptido hecho de los aminoácidos ácido gamma-glutámico, cisteína y glicina [Fig. 2.20]. La función biológica primaria del glutación es actuar como un agente reductor no enzimático para ayudar a mantener a las cadenas laterales tioladas de la cisteína en un estado reducido sobre la superficie de las proteínas. El glutación es el mayor antioxidante producido por la célula, protegiéndola de los radicales libres (oxiradicales) [86].

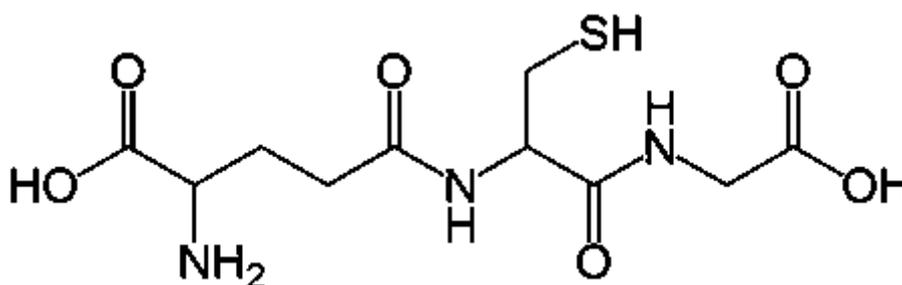


Fig. 2.20. Estructura molecular del L-Glutación reducido.

Además, el GSH es barato, lo cual lo hace un candidato atractivo para la modificación superficial y de electrodos [87,88] y la síntesis de NPs protegidas por monocapas [89].

Las monocapas autoensambladas (Self Assembled Monolayers o SAMs) han sido estudiadas intensivamente en años recientes debido a sus

aplicaciones potenciales en varias ramas de la tecnología superficial, tales como pasivación, lubricación, ingeniería superficial, desarrollo de biosensores [90] y biocompatibilidad.

Una clase importante de SAMs son aquellas compuestas por polipéptidos que contienen cisteína. Estas moléculas contienen otros grupos funcionales además del tiol que también pueden interactuar con la superficie [91] y dan lugar a un aumento en las interacciones intra- e intermoleculares.

Las superficies de oro modificadas con GSH han sido consideradas para el enlace específico de proteínas [92]. Las moléculas adsorbidas también responden a cambios estructurales hacia estímulos ácido-base [93].

El GSH puede ser visto como un tipo de ácido poliprótico debido a que puede perder cuatro protones (dos del grupo ácido carboxílico, uno del grupo amino y uno del grupo tiol) [94]. Por lo tanto, diferentes concentraciones de una solución con GSH darán lugar a diferentes valores de pH, característica que puede ser utilizada para la fabricación de biosensores potenciométricos o colorimétricos.

Un ejemplo de esto es un biosensor colorimétrico para cáncer de próstata basado en el cambio de color inducido por el pH, en donde al agregar a la solución de nanopartículas con GSH diferentes cantidades de PSA en presencia de un indicador de pH como el rojo de metilo, éste cambia su coloración dependiendo de la cantidad de PSA presente en la solución. El GSH funciona como enlace entre la AuNP y el anticuerpo que se enlazará al antígeno del cáncer de próstata (PSA) [95].

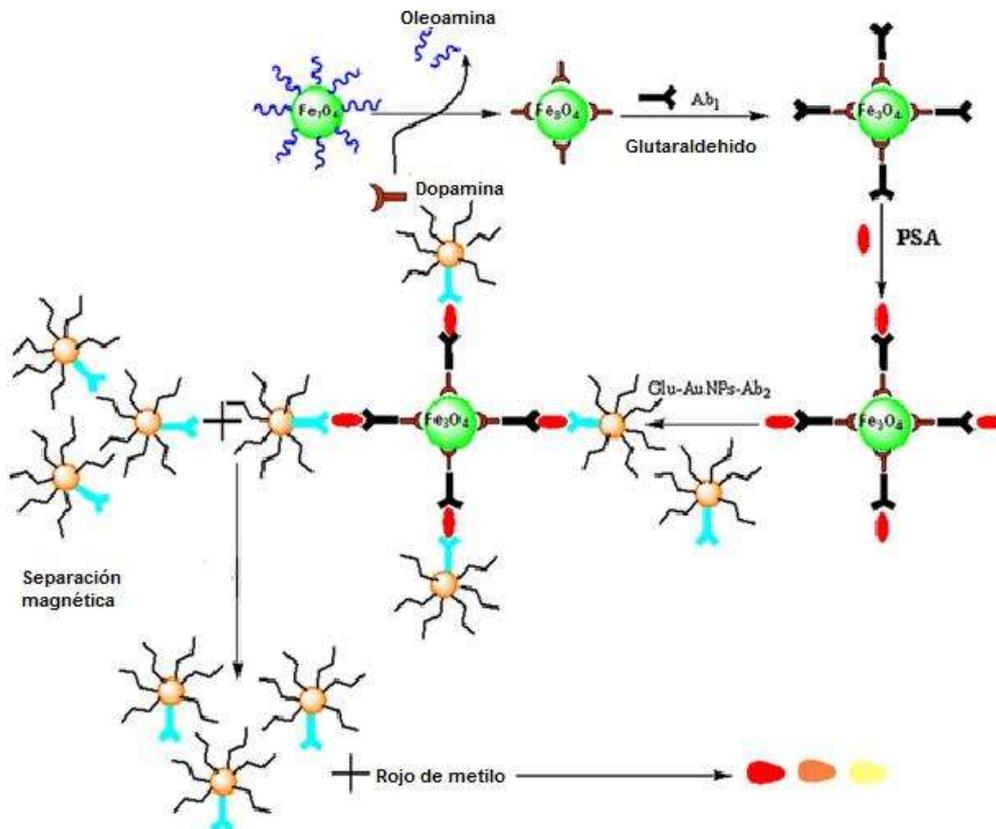


Fig. 2.21. Esquema del inmunoensayo de AuNPs/Ab₂ para detección de PSA por colorimetría.

El método de detección es sencillo y ultrasensible, llegando a detectar hasta una concentración de PSA de 4 ng/mL [Fig. 2.22].

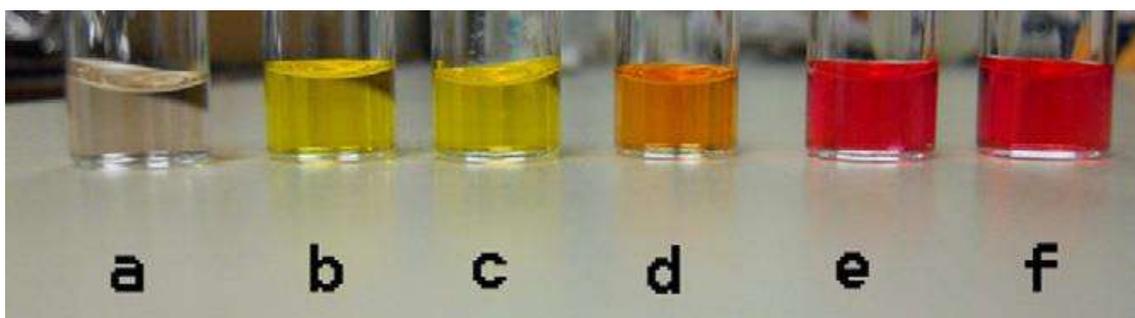


Fig. 2.22. Fotografía de la mezcla Glu-AuNPs-Ab₂/ rojo de metilo para la detección de diferentes concentraciones de PSA. (a) Solución de Glu-AuNPs-Ab pura; (b) 10 ng/mL; (c) 5 ng/mL, (d) 4 ng/mL; (e) 3 ng/mL y (f) 1 ng/mL de PSA.

2.6. Técnicas de Caracterización

Para poder analizar el material sintetizado se utilizaron diferentes técnicas de caracterización, con el fin de describir bien el sistema e interpretar los resultados obtenidos.

2.6.1 Microscopía Electrónica.

Desde su invención, la microscopía electrónica ha sido una herramienta valiosa en el desarrollo de la teoría científica y ha contribuido enormemente a la biología, medicina y ciencia de los materiales. Este amplio uso de los microscopios electrónicos se basa en el hecho de que permiten la observación y caracterización de materiales en una escala de nanómetros a micrómetros.

Los microscopios electrónicos son instrumentos científicos que usa un haz de electrones altamente energéticos para examinar objetos a una escala muy fina. Este examen puede dar información acerca de la topografía (características superficiales de un objeto), morfología (forma y tamaño de las partículas que componen al objeto), composición (elementos y compuestos de los cuales se compone el objeto y cantidades relativas de éstos) e información cristalográfica (cómo están organizados los átomos en el objeto).

Los microscopios electrónicos fueron desarrollados debido a las limitaciones de los microscopios ópticos, los cuales estaban limitados por la física de la luz de una magnificación de 500x o 1000x y una resolución de 0.2 micrómetros. A inicios de los años 1930's se había alcanzado este límite teórico y existía el interés científico de ver detalles más finos en las estructuras internas de las células orgánicas. Esto requería una magnificación de 10,000x lo cual no era posible utilizando microscopios ópticos.

El Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) fue el primer tipo de microscopio electrónico en ser desarrollado y está diseñado igual que un

microscopio óptico, excepto que se utiliza un haz de electrones enfocado en lugar de luz para ver a través del espécimen. Fue desarrollado por Max Knoll y Ernst Ruska en Alemania en 1931.

El Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) debutó en 1942. Su desarrollo tardío se debió a la electrónica involucrada en el barrido del haz de electrones a través de la muestra.

2.6.1.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

En SEM, una fuente de electrones es enfocada en vacío en una pequeña probeta que es movida sobre la superficie del espécimen. El haz de electrones pasa a través de espirales de barrido y lente objetivo que lo desvían horizontalmente y verticalmente para que el haz pueda escanear la superficie de la muestra.

Mientras los electrones penetran en la superficie, un número de interacciones ocurren que pueden resultaren la emisión de electrones o fotones desde o a través de la superficie. Una fracción razonable de los electrones emitidos puede ser colectado por detectores apropiados, y la salida puede ser utilizada para modular el brillo de un tubo de rayos catódicos (CRT) cuyas entradas x- y y- actúan en sincronía con los voltajes x-y del haz de electrones [Fig. 2.23].

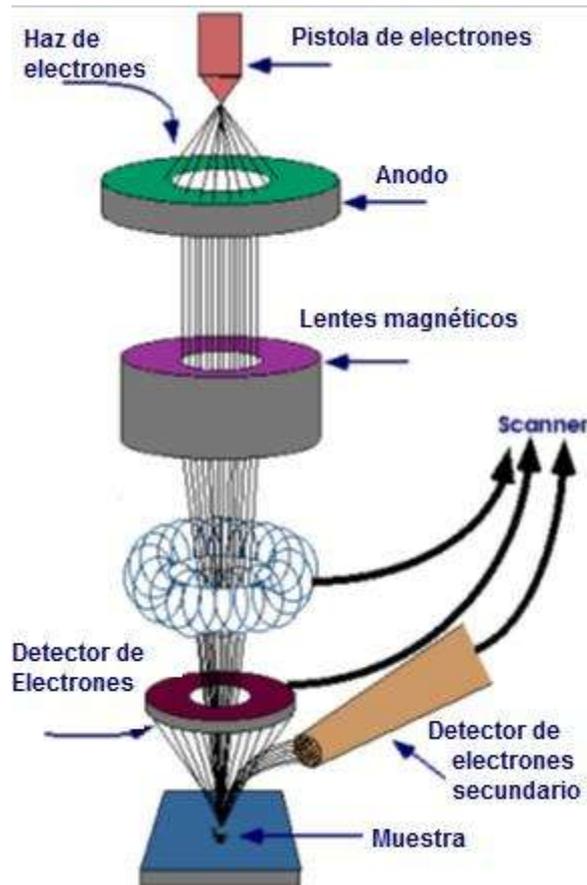


Fig. 2.23. Componentes de un microscopio electrónico de barrido.

Los electrones en la espectroscopia electrónica de barrido penetran dentro de la muestra a muy poca profundidad, por lo que es útil para topología superficial, para cualquier tipo de muestra (metales, cerámicos, vidrio, polvo, minerales, polímeros, etc). También puede ser usada para analizar la composición química de la muestra dado que el brillo de la imagen formada se incrementa con el número atómico de los elementos. Esto significa que las regiones de la muestra que consisten en elementos ligeros aparecen oscuras en la pantalla, y los elementos pesados aparecen como brillantes.

El SEM se utiliza sólo para imágenes superficiales y tanto la resolución como la información cristalográfica son limitadas. Otras desventajas son que las muestras deben ser conductivas, y que los materiales con un número atómico menor al del carbono no se detectan por SEM.

2.6.1.2 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión es una técnica donde un haz de electrones interactúa y pasa a través de una muestra. Los electrones son emitidos por una fuente y son enfocados y magnificados por un sistema de lentes magnéticos [Fig. 2.24].

El haz de electrones es confinado por los dos lentes condensadores los cuales también controlan el brillo del haz, pasa a través de la apertura del condensador y “golpea” la superficie de la muestra. Los electrones que son dispersados elásticamente constituyen los rayos transmitidos, los cuales pasan por el lente objetivo. El lente objetivo forma la imagen y las siguientes aperturas, el objetivo y el área seleccionada de apertura son usadas para elegir los electrones elásticamente dispersados que formarán la imagen en el microscopio.

Finalmente, el haz va al sistema de magnificación que consiste de tres lentes, el primer y segundo lentes intermedios que controlan la magnificación de la imagen y el lente proyector. La imagen se muestra ya sea en una pantalla fluorescente o en un monitor.

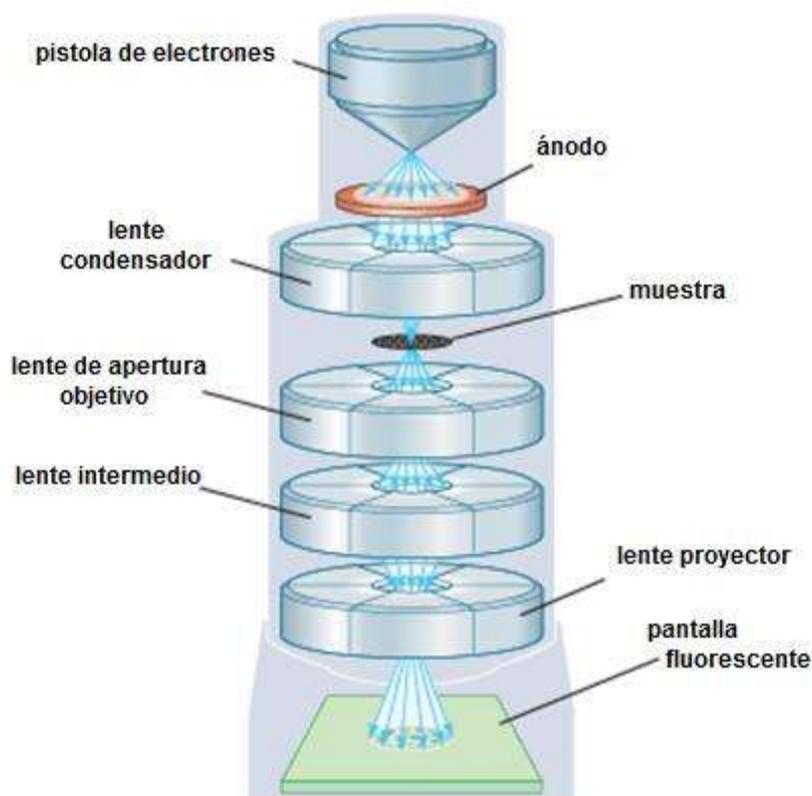


Fig. 2.24. Componentes de un microscopio electrónico de transmisión.

La microscopía de transmisión provee muchos tipos de imágenes. Los patrones de difracción muestran puntos, regiones o círculos que se originan en el área iluminada por el haz de electrones de la muestra dependen de la estructura del material. Los monocristales muestran puntos distinguibles en los patrones de difracción, los materiales policristalinos muestran círculos centrados y los materiales amorfos círculos difusos. Son visibles distorsiones y defectos en las imágenes de campo claro y campo oscuro, pero se necesita experiencia para interpretar si son defectos o artefactos. Debe considerarse el daño por el haz de iones o electrones, dependiendo de la sensibilidad de la muestra [96].

2.6.2 Espectroscopia Raman

Es una técnica espectroscópica basada en la dispersión inelástica de luz monocromática, usualmente proveniente de una fuente láser. La dispersión inelástica significa que la frecuencia de los fotones en la luz monocromática cambia después de interactuar con la muestra. Los fotones de la luz láser son absorbidos por la muestra y después son reemitidos. La frecuencia de los fotones reemitidos es desplazada hacia arriba o abajo en comparación con la frecuencia monocromática original, a lo cual se le denomina efecto Raman. Este desplazamiento provee información acerca de las transiciones vibracionales, rotacionales y de baja frecuencia en las moléculas. Esta técnica puede utilizarse para analizar muestras sólidas, líquidas y gaseosas.

El efecto Raman se basa en deformaciones moleculares en el campo eléctrico E determinadas por la polarizabilidad α . El rayo láser puede ser considerado como una onda electromagnética oscilante con un vector eléctrico E . Después de la interacción con la muestra induce un momento eléctrico dipolar $P = \alpha E$ que deforma a las moléculas. Debido a su deformación periódica, las moléculas comienzan a vibrar con una frecuencia característica ν_m .

A la amplitud de la vibración se le denomina desplazamiento nuclear. En otras palabras, la luz láser monocromática con frecuencia ν_0 excita a las moléculas y las transforma en dipolos oscilantes. Estos dipolos oscilantes emiten luz de tres diferentes frecuencias cuando [Fig. 2.25]:

- Una molécula con modos Raman no activos absorbe un fotón con frecuencia ν_0 . La molécula excitada regresa al mismo estado vibracional básico y emite luz con la misma frecuencia ν_0 de la fuente de excitación. A este tipo de vibración se le llama dispersión Rayleigh elástica.
- Un fotón con frecuencia ν_0 es absorbido por una molécula Raman activa, la cual, al momento de la interacción se encuentra en un estado

vibracional básico. Parte de la energía del fotón se transfiere al modo Raman activo con frecuencia ν_m y la frecuencia resultante de la luz dispersada se reduce a $\nu_0 - \nu_m$. A esta frecuencia Raman se le llama frecuencia Stokes.

- Un fotón con frecuencia ν_0 es absorbido por una molécula Raman activa, la cual al momento de la interacción se encuentra en el estado vibracional excitado. Se libera una energía excesiva del modo Raman activo excitado, la molécula regresa al estado vibracional básico y la frecuencia resultante de la luz dispersada se eleva a $\nu_0 + \nu_m$. A esta frecuencia Raman se le denomina frecuencia Anti-Stokes.

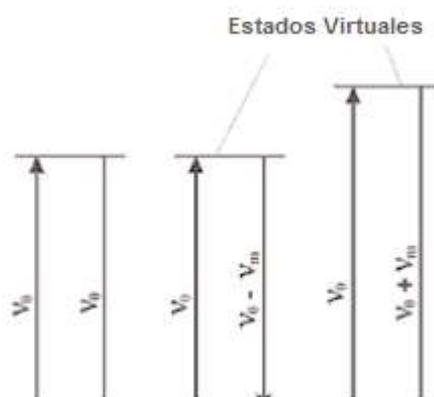


Fig.2.25. Esquemas transicionales Raman.

Alrededor del 99.999% de todos los fotones incidentes en el Raman son sometidos a dispersión elástica Rayleigh. Este tipo de señal es inútil para propósitos prácticos de caracterización molecular, Sólo cerca del 0.001% de la luz incidente produce una señal inelástica Raman con frecuencias $\nu_0 \pm \nu_m$.

La dispersión Raman espontánea es muy débil y deben tomarse medidas especiales para distinguirla de la dispersión Rayleigh predominante. Se utilizan instrumentos como filtros notch, filtros ajustables, aperturas de bloqueo láser, y sistemas espectrométricos dobles y triples para reducir la dispersión Rayleigh y obtener espectros Raman de alta calidad [97].

Un sistema Raman consiste típicamente de cuatro componentes mayores:

1. Fuente de excitación (Láser).
2. Sistema de iluminación de la muestra y lentes de colección de luz.
3. Selector de longitud de onda (Filtro o espectrofotómetro).
4. Detector (Arreglo de fotodiodos, CCD o PMT).

2.6.2.1 Espectroscopia Raman y MWCNTs

A continuación se presentan los espectros Raman de distintos materiales de carbono con hibridación sp^2 , incluidos NTCs (SW y MW) [Fig. 2.26].

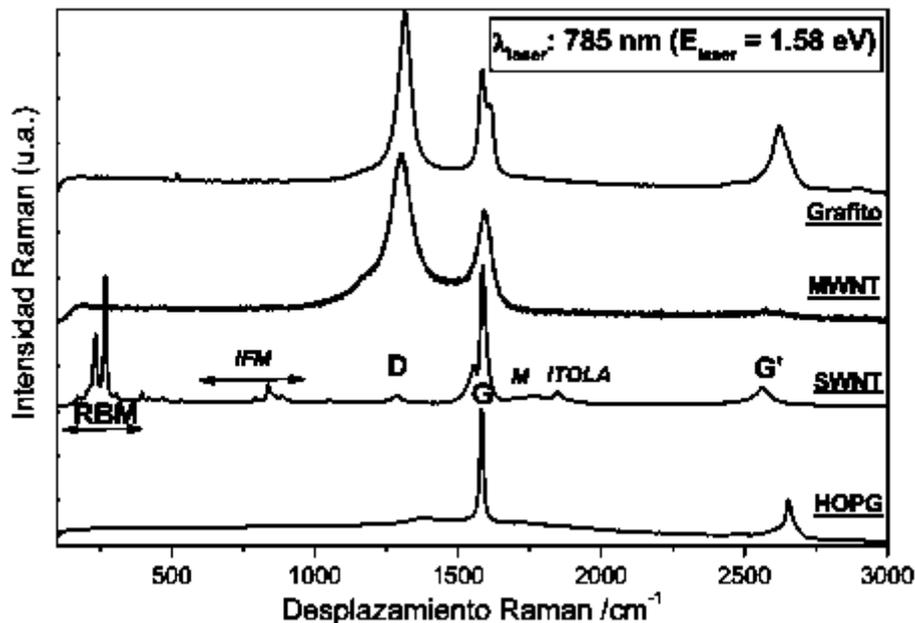


Fig. 2.26. Espectros Raman del grafito, MWCNTs, SWCNTs y HOPG (Grafito Pirofítico Altamente Orientado).

Partiendo del espectro de grafito, que presenta una banda intensa sobre 1600 cm^{-1} , correspondiente a la vibración fundamental (primer orden) de elongación tangencial denominada G y otra banda más débil, sobre 2650 cm^{-1} , denominada G' correspondiente a un sobretono (segundo orden), se observa

además que en el espectro del grafito policristalino se observa una intensa banda en la zona de 1300 cm^{-1} , denominada D (“Desorden inducido”). Esta banda no es permitida en Raman en el caso de una lámina perfecta e infinita de grafito, pero la presencia de vacancias, defectos, tamaño finito de la red, etc., en suma, la pérdida de la simetría traslacional en la red 2D del grafito hace que pueda observarse en el espectro Raman.

Por su parte, el espectro Raman de MWCNT muestra bandas D y G, aunque con anchuras diferentes de las del grafito policristalino, y también la banda G', que en el caso de la figura es muy débil, pero que generalmente tiene intensidad similar a la correspondiente banda G' de otros compuestos de carbono sp^2 . La banda D es indicadora de la presencia de defectos en las paredes, de manera que de la relación de las intensidades entre las bandas D y G puede extraerse información sobre el número de defectos.

De la banda G puede deducirse el carácter semiconductor o metálico de los NTCs resonantes con la energía del láser de excitación, y en los MWCNTs la banda G es similar a la banda D del grafito.

Las bandas D y G' son las otras dos características más importantes de los espectros Raman de los NTCs y corresponden a modos de segundo orden. El mecanismo responsable de estas bandas es una doble resonancia que acopla electrones y fonones.

La frecuencia, intensidad y anchura de las bandas D y G' no solamente aportan información sobre la estructura electrónica y fonónica de los NTCs, sino que, además, tales propiedades espectrales varían dependiendo de las condiciones mecánicas de tensión por estiramiento o compresión, y la temperatura a la que se encuentren sometidos los NTCs. Esta información es especialmente relevante en el caso de materiales compuestos basados en NTCs, que son añadidos al material con objeto de modificar sus propiedades.

En este caso las bandas D y G' de dichos NTCs se convierten en un sensor de alta sensibilidad de las condiciones de tensión por estiramiento o compresión a que se encuentran sometidos los mismos en el nanocompuesto [98].

2.6.3 Espectroscopia Infrarroja (IR)

La espectroscopia infrarroja es una de las técnicas espectroscópicas más comunes utilizadas por químicos orgánicos e inorgánicos. Simplemente es la medida de la absorción de diferentes frecuencias de IR por una muestra posicionada en un haz IR. El objetivo principal del análisis IR es determinar los grupos funcionales en la muestra. Los diferentes grupos funcionales absorben frecuencias características de radiación IR, permitiendo la elucidación estructural e identificación de compuestos.

La radiación infrarroja es una sección del espectro electromagnético que tiene números de onda de 13,000 a 10 cm^{-1} , o longitudes de onda de 0.78 a 1000 μm . Está delimitada por la luz roja de la región visible a altas frecuencias y por la región de microondas a bajas frecuencias [99].

Las energías de los fotones asociados con el infrarrojo no son lo suficientemente grandes para excitar a los electrones, pero pueden inducir excitación vibracional de los átomos y grupos enlazados covalentemente. Los enlaces covalentes en las moléculas no son tubos o bastones rígidos, sino que son más bien como resortes rígidos que pueden estirarse y doblarse.

Además de la rotación sencilla de grupos que contienen enlaces sencillos, las moléculas experimentan una amplia variedad de movimientos vibracionales, característicos de los átomos que las componen. Consecuentemente, todos los compuestos orgánicos absorberán la radiación infrarroja que corresponda energéticamente a estas vibraciones. Los espectrómetros infrarrojos permiten a los químicos obtener el espectro de

absorción de los compuestos, lo que es un reflejo único de su estructura molecular.

Una molécula compuesta por n -átomos tiene $3n$ grados de libertad, seis de los cuales son translaciones y rotaciones de la molécula misma. Esto deja $3n-6$ grados de libertad vibracional ($3n-5$ si la molécula es lineal). Los modos vibracionales tienen nombres descriptivos, como stretching (estiramiento), bending (doblamiento), scissoring (tijera), rocking (balanceo) y twisting (torsión). La frecuencia exacta a la cual una vibración dada ocurre está determinada por la fuerza de los enlaces involucrados y la masa de los átomos componentes:

- Las frecuencias de estiramiento son más altas que las frecuencias correspondientes al doblamiento.
- Los enlaces con hidrógeno tienen frecuencias de estiramiento más altas que aquellos con átomos más pesados.
- Los enlaces triples tienen frecuencias de estiramiento más altas que los correspondientes a enlaces dobles, los cuales a su vez tienen frecuencias más altas que los enlaces sencillos.

Las regiones generales del espectro infrarrojo en las cuales se observan varios tipos de bandas vibracionales se muestran a continuación [Fig.2.27]:

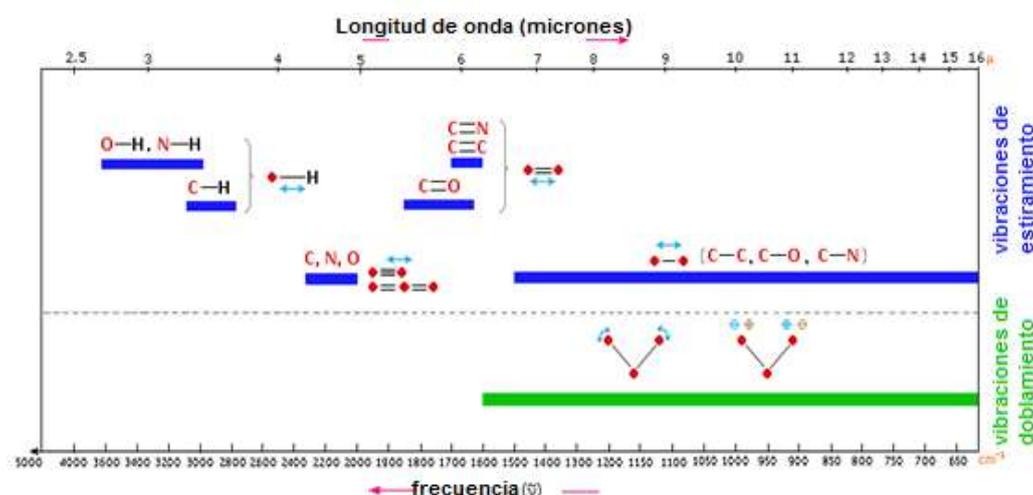


Fig. 2.27. Bandas vibracionales en el espectro infrarrojo.

Nótese que las secciones azules sobre la línea punteada se refieren a vibraciones de estiramiento, y la banda verde debajo de la línea representa vibraciones de doblamiento. La complejidad de espectro infrarrojo en la región de 1450 a 600 cm^{-1} hace difícil asignar todas las bandas de absorción, y debido a los patrones únicos encontrados en esta región se le denomina región de huella digital. Las bandas de absorción de 4000 a 1450 cm^{-1} se deben usualmente a vibraciones de estiramiento de unidades diatómicas, y se denomina región de frecuencia de grupos.

La información detallada de las absorciones infrarrojas observadas para varios átomos y grupos enlazados se representa normalmente de forma tabular. A continuación se muestra una colección de datos de los grupos funcionales más comunes [Tabla 2.1]. Siguiendo el sistema de color de la tabla, las absorciones por estiramiento se enlistan en la sección azul y las absorciones por doblamiento se encuentran en la sección verde. Debido a que muchos compuestos orgánicos tienen enlaces C-H, una regla útil es que la absorción en la región de 2850 a 3000 cm^{-1} se debe a estiramiento de enlaces C-H sp^3 ; mientras que la absorción sobre los 3000 cm^{-1} corresponde a estiramiento C-H sp^2 o a estiramiento C-H sp si se encuentra cerca de los 3300 cm^{-1} [100].

Tabla 2.1. Frecuencias de absorción infrarroja típicas de compuestos y grupos funcionales comunes.

Clase Funcional	Frecuencias de absorción típicas en infrarrojo			Frecuencias de absorción típicas en infrarrojo		
	Vibraciones de estiramiento			Vibraciones de doblamiento		
	Rango (cm^{-1})	Intensidad	Asignación	Rango (cm^{-1})	Intensidad	Asignación
Alcanos	2850-3000	Str	CH ₃ , CH ₂ y CH.	1350-1470	Med	Deformación CH ₂ y CH ₃
			2 o 3 bandas	720-725	Wk	Balanceo CH ₂
Alquenos	3020-3100	Med		880-995	Str	

Alquinos	1630-1680	Var	C=C simétrico	780-850	Med	Doblamiento fuera del plano
	1900-2000	Str	C=C asimétrico	675-730	Med	Cis-RCH=CHR
	3300	Str	C-H	600-700	Str	Deformación C-H
	2100-2250	Var	C=C			
Arenos	3300	Var	C-H	690-900	Str-Med	Doblamiento C-H
	1600 y 1500	Med-Wk	C=C			
Alcoholes y fenoles	3580-3650	Var	O-H libre	1330-1430	Med	Doblamiento O-H en el plano
	3300-3400	Wk	N-H amina secundaria	660-900	Var	Aleteo NH ₂ y N-H
Acidos carboxílicos y derivados	1000-1250	Med	C-N			
	2500-3300 (acidos)	Str	O-H			
	1705-1720 (acidos)	Str	C=O			
	1210-1320 (acidos)	Med-Str	O-C			
	1785-1815	Str	C=O			
	1750-1820	Str	C=O			
	1040-1100 (esteres)	Str	O-C			

2.6.4 Difracción de Rayos X

Los rayos X son ondas electromagnéticas con una longitud de onda en el rango de las distancias interatómicas (0.1-10Å). Este rango de escala los hace aptos para el estudio de materiales cristalinos. Para materiales de una fase se puede obtener directamente la estructura utilizando la difracción de rayos X (XRD). Con la ayuda de bases de datos de estructuras conocidas, la XRD puede utilizarse para identificación de fases. También puede medirse el tamaño del cristal y orientación preferencial de los materiales policristalinos.

Cuando la radiación de rayos X se dirige sobre una muestra, los rayos X son dispersados (difractados) por los electrones presentes en el material. Si los átomos en el material están organizados en una estructura regular, esta dispersión resulta en un máximo y un mínimo en la intensidad difractada. La señal máxima sigue la ley de Bragg $n\lambda = 2d\sin\theta$. Aquí, n es un entero, λ es la longitud de onda de los rayos X, d es la distancia entre los planos cristalinos y θ es el ángulo de difracción [Fig. 2.28].

Durante una XRD se monitorean las mediciones de los ángulos de incidencia y de detección. Cuando al intensidad de los rayos X detectados se grafica como una función del ángulo θ se obtiene un patrón de XRD, el cual es característico para el material de la muestra. La profundidad de la información dada por la XRD va desde pocos micrómetros hasta cientos de ellos, dependiendo de la densidad del material.

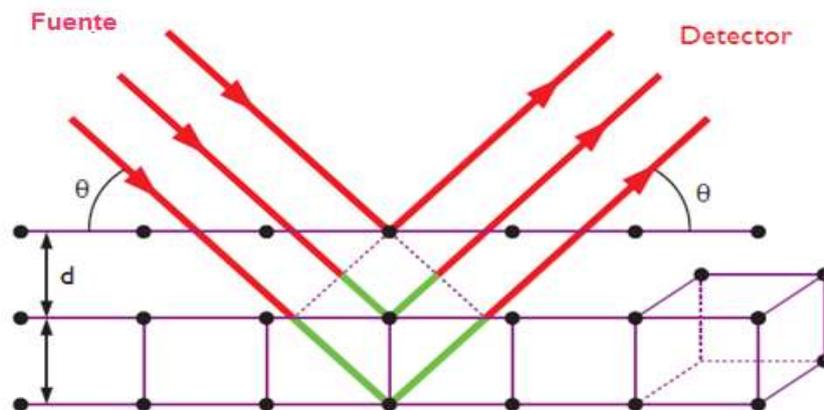


Fig. 2.28. Representación esquemática de la difracción de rayos X en un material cristalino. La ley de Bragg se satisface cuando la diferencia en la longitud recorrida por los rayos X (en verde) es igual a $n\lambda$. El ángulo de difracción θ . Es la mitad del ángulo entre los rayos X incidentes y los difractados.

En un patrón de rayos X la posición e intensidad del máximo son características de la estructura cristalográfica y composición atómica del material. En caso de una composición multifase, el patrón resultante es una

combinación de los patrones de todas las estructuras presentes. La identificación de fases puede hacerse al comparar los patrones de XRD con los patrones de referencia de sustancias puras [101].

2.6.5 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica en la cual la masa de una sustancia es monitoreada como una función de la temperatura o tiempo mientras el espécimen se somete a un programa de temperatura controlada en una atmósfera controlada.

Un TGA consiste de una bandeja para muestra que está soportada sobre una balanza de precisión. Esta bandeja reside en un horno y es calentado o enfriado durante el experimento. La masa de la muestra es monitoreada durante el experimento. Una purga de gas controla el entorno de la muestra.

Los resultados del TGA usualmente se reportan en forma de curvas que relacionan la pérdida de masa de la muestra contra la temperatura. De esta forma la temperatura a la cual ciertos procesos comienzan y se completan son demostrados gráficamente. Un ejemplo de una curva de TGA obtenida de calentar una muestra de sílica gel de 30°C a 1000°C se muestra a continuación [Fig. 2.29]. La curva muestra la pérdida en peso que ocurre a diferentes temperaturas, al tiempo que diferentes tipos de agua se pierden desde la superficie.

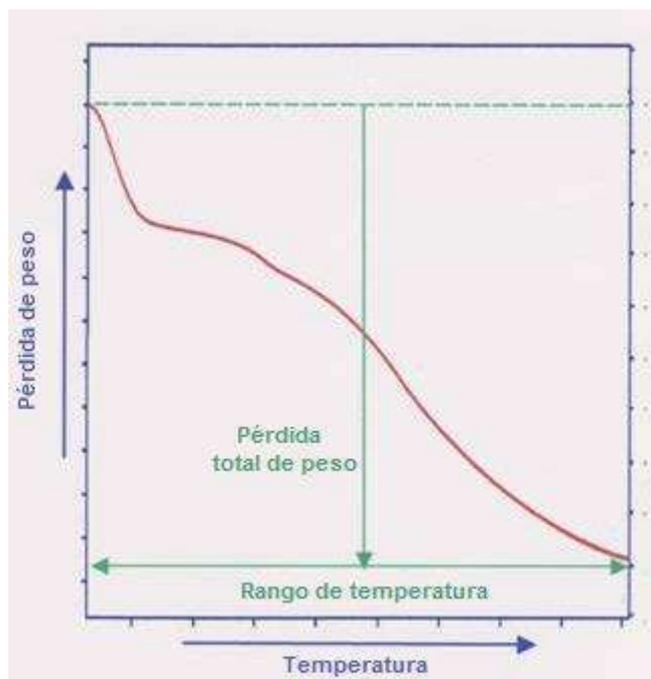


Fig. 2.29. Curva de TGA para la sílica gel.

Los datos del TGA también pueden ser presentados en forma diferencial, aportando mayor información que la curva TGA normal [Fig. 2.30].

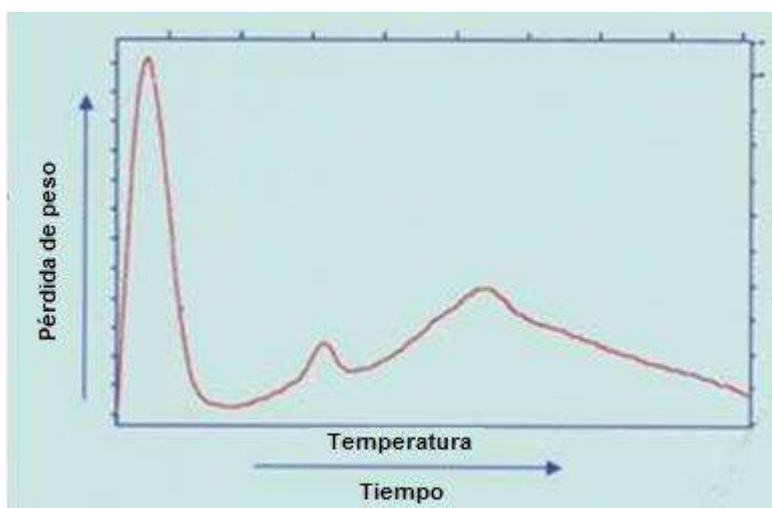


Fig. 2.30. Forma diferencial de la curva TGA para la sílica gel.

Se observa que las curvas demuestran sin ambigüedad la evolución del agua desde tres diferentes fuentes y la temperatura a la cual la mayor pérdida de agua de cada tipo puede ser fácilmente identificada [102].

CAPITULO III. METODOLOGÍA



3.1 Síntesis de nanotubos de carbono por el método de spray-pirólisis.

En el método de spray-pirólisis el crecimiento de los nanotubos se lleva a cabo en un reactor a alta temperatura (800°C) haciendo pasar tanto el catalizador como la fuente de carbono por medio de un nebulizador [Fig. 3.1]. Esta temperatura sirve para dos propósitos; descomponer los gases en sus componentes atómicos y permitir que los átomos del catalizador se difundan sobre la superficie del sustrato para formar las partículas sobre las cuales crecerán los NTCs.

Las variables más importantes de este procedimiento son la superficie del sustrato, la temperatura de crecimiento, la concentración del catalizador, la velocidad de inyección del precursor, la velocidad de flujo del gas acarreador, la relación de los gases reactivos en el reactor. La modificación de estas variables influirá en la cantidad y los tipos de NTCs. La fuente de carbono es el alfa-pineno, el cual es uno de los componentes principales del aguarrás, y el catalizador utilizado es el ferroceno [103,104].

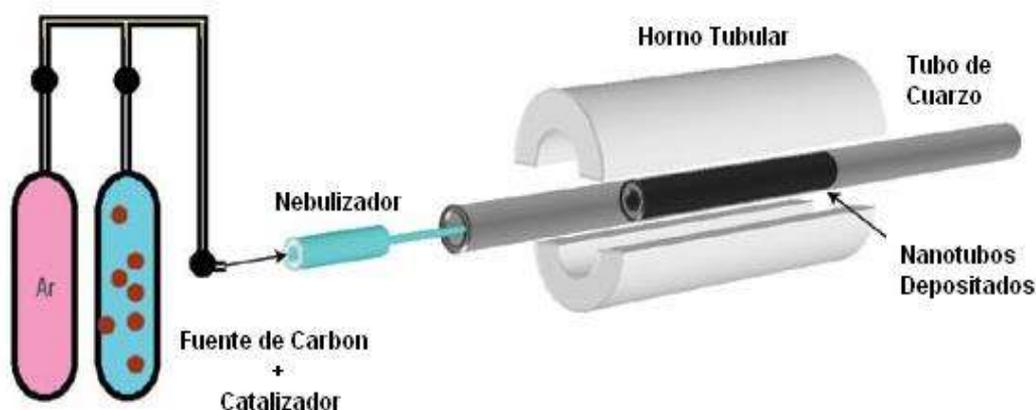


Fig. 3.1. Diagrama del sistema de spray-pirólisis.

Reactivos:

- Ferroceno (98%, Aldrich) como catalizador para el crecimiento de los NTCs
- Alfa-pineno (98%, Aldrich) como fuente de carbono
- Argón (99.997%, Infra) como gas de arrastre

Equipo:

- Horno tubular eléctrico, marca BI Barnsteadl Thermolyne, modelo 21100
- Ultrasonido, marca Fisher Scientific, modelo FS30D
- Micronebulizador pediátrico, marca Hudson RCI
- Bomba peristáltica
- Tubo vycor

Procedimiento:

1. Se pesa un tubo de cuarzo y se aíslan los extremos con teflón para evitar fugas en el reactor.
2. Se realiza una mezcla de 0.93 gr de ferroceno con 25 ml de alfa-pineno y se agita magnéticamente hasta lograr la disolución del ferroceno.
3. Se ensambla el sistema de reacción ya con el nebulizador integrado.
4. Se precalienta el horno a 800°C y una vez alcanzada esta temperatura se inicia el flujo de la mezcla ferroceno/alfa-pineno bajo una atmósfera de argón a una velocidad de 5 L/min para crear una atmósfera inerte que impida la combustión de los nanotubos recién formados y lograr una buena deposición de las partículas de hierro sobre el tubo de cuarzo para lograr un crecimiento adecuado de los nanotubos de carbono.
5. Una vez consumida la mezcla ferroceno/alfa-pineno, se deja enfriar el reactor hasta 600°C y se desinstala el sistema para retirar los NTCs del tubo de cuarzo [104].

3.2 Purificación de los nanotubos de carbono

Debido al método de síntesis de los MWCNTs, éstos inevitablemente presentan tales como varios tipos de carbón y partículas del material catalítico, y la cantidad de estas impurezas normalmente se incrementa con la disminución del diámetro del NTC. Las impurezas de formas de carbono incluyen carbón amorfo, fullerenos y nanopartículas de carbono. Las partículas metálicas son usualmente residuos metales de transición del catalizador. Estas partículas metálicas son encapsuladas por capas de carbono haciéndolas impermeables y difícil de disolverse en ácidos.

Los métodos de purificación de los NTCs pueden ser clasificados básicamente en tres categorías, química, física y una combinación de ambas.

En el método químico se purifican los NTCs basándose en la idea de oxidación selectiva, en donde las impurezas carbonáceas se oxidan a una velocidad mayor que los NTCs y las impurezas metálicas son disueltas en ácido. Este método puede remover efectivamente el carbón amorfo y las partículas metálicas, excepto por aquellas encerradas dentro de partículas gráficas poliédricas. Sin embargo, el método químico tiene influencia sobre la estructura de los NTCs debido a la oxidación involucrada. En el método físico se separan los NTCs de las impurezas basándose en las diferencias en su tamaño, gravedad, propiedades magnéticas, etc.

Este método no requiere oxidación y previene a los NTCs de sufrir algún daño. Sin embargo, este método siempre es complicado, tardado y menos efectivo. Por ser un método sencillo y accesible, se eligió el método químico en fase líquida utilizando HCl, para asegurar la eliminación de la mayor parte de las impurezas metálicas y formas de carbono no deseadas[105].

Por este método se introducen cortes a los NTCs, se abren las puntas de los NTCs, se daña la estructura superficial y se introducen grupos funcionales oxigenados (-OH, -C=O, y -COOH) sobre los NTCs[106].

Reactivos:

- Ácido clorhídrico.(J. T. Baker, 99% pureza)
- Nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs)

Procedimiento:

1. Se mezcla 1 gr de nanotubos de carbono en 100 mL de HCl y la solución se agita por ultrasonido durante 4 horas en estado de reflujo [Fig. 3.2].

2. Una vez terminado este lapso, se procede a lavar y secar los nanotubos de carbono.

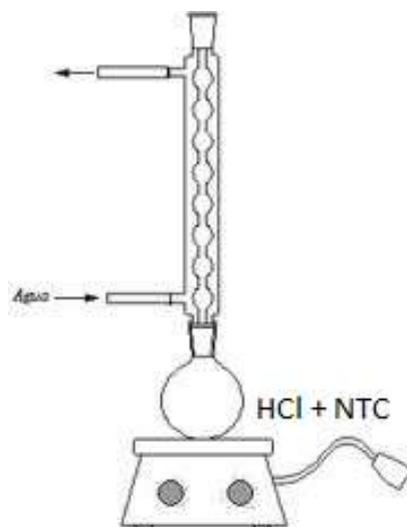


Fig. 3.2. Diagrama del sistema de purificación.

3.3 Funcionalización de los nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono sintetizados no son solubles ni en medios polares como en no polares, por lo que es necesario funcionalizarlos para lograr su dispersión. La oxidación de los nanotubos de carbono es una técnica básica para su modificación química. Los grupos de ácidos carboxílicos creados sobre la superficie de los NTCs por oxidación [107-110] brindan la oportunidad de sintetizar muchos grupos funcionales sobre los NTCs [111]. Químicamente los NTCs modificados son más solubles que los nanotubos cristalinos. Al mismo tiempo la oxidación daña a los nanotubos, resultando en defectos estructurales, acortamiento de los tubos [112], desaparición de los nanotubos de diámetro pequeño [113] y en general pérdida de material.

Para oxidar a los NTCs de manera eficiente y no perder material valioso, deben elegirse las condiciones de oxidación cuidadosamente.

El ácido nítrico ha sido el agente oxidante más utilizado en la funcionalización de nanotubos. Los métodos con HNO_3 pueden dividirse en dos categorías: (1) Tratamiento por ebullición de HNO_3 , y (2) tratamiento con una mezcla de ácido sulfúrico y ácido nítrico concentrados en un baño de ultrasonido durante 3 a 5 horas [114].

Reactivos:

- Nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs)
- Ácido nítrico.(J. T. Baker, 99% pureza)
- Ácido sulfúrico .(J. T. Baker, 99% pureza)

Equipo:

- Ultrasonido Fisher Scientific, modelo FS30D
- Parrilla eléctrica
- Horno (Felisa Mufla)
- Matraz de bola de 1 boca

Se realizó una oxidación por medio de ácidos, haciéndose primero un tratamiento con ácido nítrico mezclando 1 gr de MWCNTS con 100 ml de HNO_3 durante 8 horas, lo cual ayuda a oxidar las puntas y la superficie del nanotubo, generando distintos grupos funcionales [Fig. 3.3].

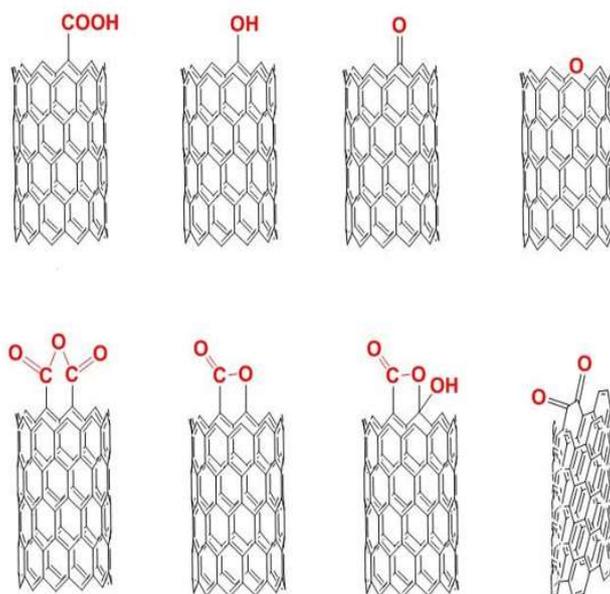


Fig. 3.3. Ejemplos de grupos funcionales en un nanotubo de carbono debido a su oxidación.

Después se realiza otra oxidación pero ahora con una mezcla de 50 ml de HNO_3 y 50 ml de H_2SO_4 durante 4 horas, lo cual ayuda aún más a la funcionalización de los nanotubos y adicionalmente, al ser el ácido sulfúrico un oxidante más agresivo, éste desgasta a las paredes internas de los nanotubos, lo cual los hace un poco más “huecos” los acorta. Una vez hecha la funcionalización, los nanotubos son lavados y secados, y quedan listos para ser dispersados [115].

3.4 Decoración de los MWCNTs con AuNPs.

Un método sencillo para la decoración de los NTCs con nanopartículas metálicas es la reducción de una sal metálica en presencia de un surfactante. Es bien sabido que los NTCs forman dispersiones coloidales en solventes orgánicos o agua por medio de la adsorción de un surfactante sobre sus paredes. En muchos casos el surfactante también tiene el rol de agente reductor de la sal metálica para la formación de las nanopartículas [116].

3.4.1 Dispersión de los MWCNTs en el surfactante

Generalmente, los surfactantes iónicos son preferibles para las soluciones NTC/agua. Los NTCs pueden ser dispersados en agua cuando se recubren por surfactantes adsorbidos, preferentemente con aquellos que tienen un balance hidrófilo-lipófilo (HLB). El conocer la carga superficial de los nanotubos de carbono es esencial para conocer el mecanismo de adsorción con los surfactantes. Se ha demostrado que los MWCNTs están cargados negativamente en el agua [117]. Al parecer el mecanismo de adsorción de los surfactantes iónicos, que es promovido por las interacciones electrostáticas con los MWCNTs está influenciado por los procesos de purificación y funcionalización de las paredes del tubo, lo cual determina la carga del mismo. Los surfactantes iónicos se utilizan para disminuir la tendencia agregativa de los NTCs en el agua [Fig. 3.4].

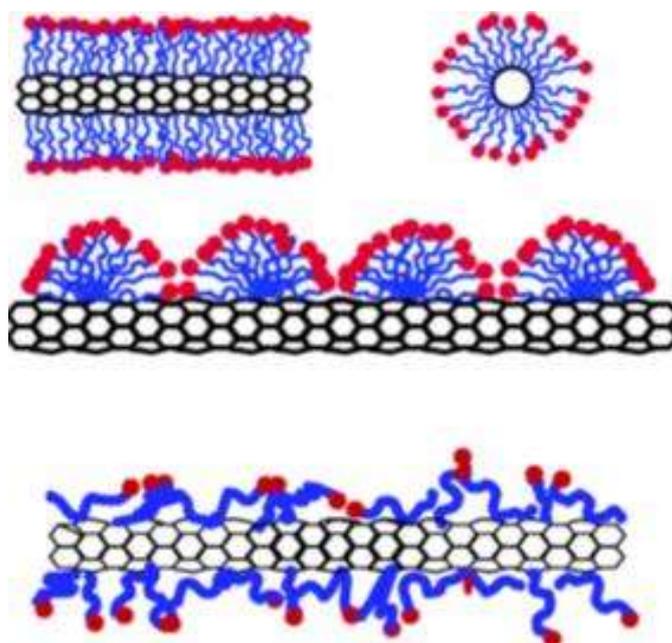


Fig. 3.4. Representaciones del mecanismo por el cual los surfactantes ayudan a dispersar a los MWCNTs.

3.4.2 Reducción del Au^{3+} a Au^0

En este caso de estudio la sal de oro elegida es el HAuCl_4 , en donde los iones Au^{3+} se reducen a Au^0 [Fig. 3.5]. La formación de Au^0 inicia el proceso de formación de semillas esféricas. Mientras más se producen estos átomos de Au^0 , el oro comienza a precipitar en forma de partículas sub-nanométricas las cuales tienden a aglomerarse [118]. Los reductores que se utilizaron fueron el citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) y el borohidruro de sodio (NaBH_4).

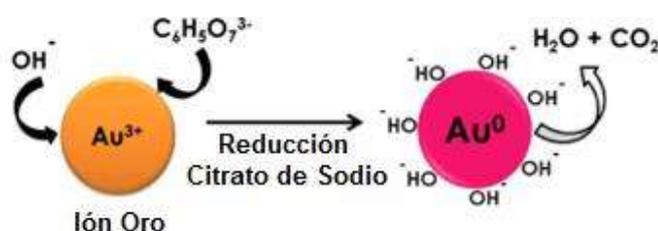


Fig. 3.5. Reducción del Au^{3+} por acción de un reductor.

En los casos donde no se utilizó un surfactante, el oro es reducido directamente sobre los NTCs, mientras que cuando se utiliza un surfactante la AuNP se forma al exterior o interior de la micela dependiendo del tipo de surfactante [Fig. 3.6].

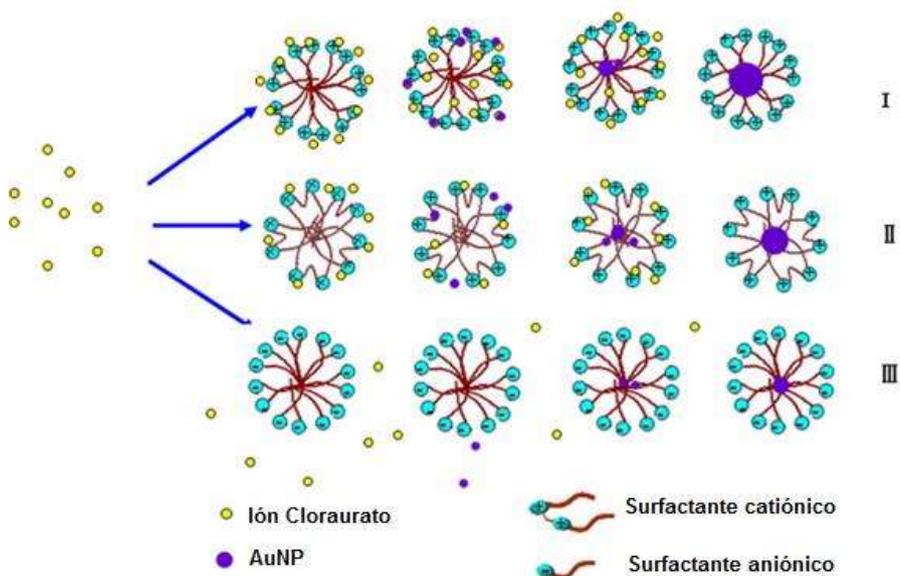


Fig. 3.6. Tipos de surfactantes y su acción en la formación de AuNPs.

En esta síntesis se utilizó el dioctilsulfosuccinato de sodio (AOT) como surfactante, en donde la AuNP se forma en el exterior de la micela y al ser reducida, por el cambio en su número de valencia se introduce, quedando protegida de la aglomeración en el interior de la micela y promoviendo la formación esférica de la nanopartícula, logrando así un mayor control sobre el tamaño y dispersión de las AuNPs sobre los MWCNTs [119].

3.4.3 Síntesis de las AuNPs/MWCNTs por microondas

El crecimiento de los nanomateriales es dependiente de las barreras cinéticas y termodinámicas de reacción definidas por la trayectoria de la reacción y por las vacancias, defectos y eventos de reconstrucción superficial. En su mayoría, los métodos de síntesis utilizan calentamiento convectivo debido a la necesidad de una alta temperatura de nucleación inicial, seguido por una adición controlada del precursor a la reacción. Las técnicas convencionales se basan en la conducción por radiación de cuerpo negro para llevar a cabo la reacción. El recipiente de reacción actúa como un intermediario de la transferencia de energía de la fuente de calor al solvente y finalmente a las moléculas reactantes. Esto puede ocasionar gradientes de temperatura a través de la solución y ocasionar condiciones de reacción no favorables.

El método de reacción por microondas puede solucionar el problema de la falta de homogeneidad en el calentamiento, y se ha demostrado que mejora las velocidades de reacción, selectividad y rendimiento en química orgánica. El calentamiento dieléctrico en comparación con el calentamiento convectivo calienta el volumen total de los reactivos al transferir energía selectivamente a materiales que absorben microondas. Debido a que los precursores e intermediarios a lo largo de la trayectoria de una reacción pueden tener diferentes constantes dieléctricas, las microondas pueden utilizarse para superar altas energías de activación para formación de productos. El calentamiento volumétrico por microondas reduce los gradientes térmicos en la reacción, favoreciendo una formación de productos uniforme.

La reacción por microondas puede dividirse en tres etapas: rampa de temperatura para iniciar la nucleación; régimen de crecimiento manipulado por el tiempo de reacción y temperatura; y un enfriamiento rápido para controlar el final de la reacción.

El proceso de nucleación se obtiene al incrementar rápidamente la temperatura a la potencia máxima del microondas. Durante la fase de crecimiento el poder del microondas se reduce para mantener una etapa controlada. La temperatura se mantiene constante mediante un enfriamiento constante del recipiente de reacción con aire de enfriamiento para permitir un control independiente de la potencia y la temperatura.

Una vez que la reacción se ha completado, se apaga el poder del microondas para terminar la reacción y se enfría el sistema, parando la reacción, lo que minimiza las distribuciones de tamaño coloidal [120].

3.4.4 Procedimiento de síntesis

Primero disuelve el HAuCl_4 y se pone en contacto con el surfactante AOT por medio de ultrasonido, hecho esto, se pone esta solución en contacto con los MWCNTS para que la parte hidrófoba de la micela entre en contacto con los MWCNTs y se agrega el agente reductor. De aquí se lleva a cabo la reacción en el microondas.

Una vez que se ha llevado a cabo la reducción del Au^{3+} , se ha formado la nanopartícula dentro de la micela y posteriormente se ha roto la micela por acción de la temperatura obtenida en el microondas, ocurre una reacción anódica entre el Au^0 y los grupos de ácidos carboxílicos presentes en los MWCNTs, con una adsorción del Au sobre el ácido [121].

El ácido por sí mismo no puede ser oxidado, por lo que la oxidación debe ser de la superficie del oro, con el siguiente mecanismo de reacción propuesto:



Quedando la nanopartícula anclada al MWCNT estabilizada en un estado de oxidación Au(I)[Fig. 3.7].

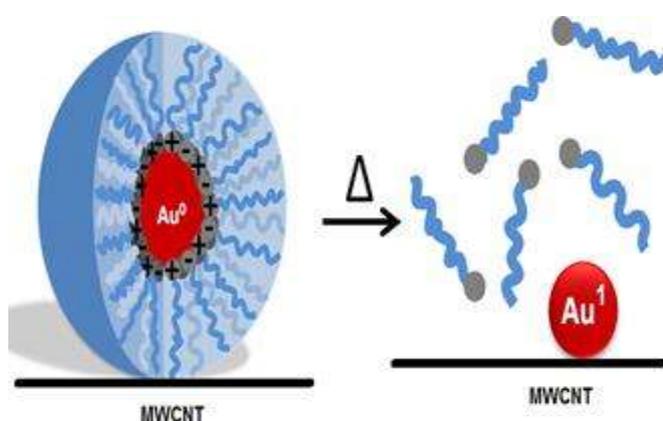


Fig. 3.7. Síntesis de AuNPs/MWCNTs.

3.5 Metodología experimental de síntesis de AuNPs/MWCNTs

Se estudiaron los métodos de microemulsión y microondas para observar aquel que diera mejores resultados, esto es, buena dispersión de los nanotubos, una buena distribución de las AuNPs sobre los MWCNTs y buen control del tamaño de partícula. Se utilizaron como medios de dispersión el agua y el isopropanol, así como el uso de dioctilsulfosuccinato de sodio (AOT) como surfactante para observar su influencia en la síntesis y soporte de las AuNPs. Todas las muestras se hicieron utilizando un 20% en peso de Au con respecto a los MWCNTs.

3.5.1 Método de microemulsión.

Las microemulsiones son dispersiones termodinámicamente estables estabilizadas por un surfactante, y en muchos casos, un cosurfactante [122]. Lo que se hace es reducir las nanopartículas sobre los nanotubos de carbono ya bañados en el surfactante, lo cual genera pequeñas micelas las cuales encapsulan las nanopartículas sobre los nanotubos y evitan la aglomeración de las mismas, lo cual ayuda a controlar el tamaño y distribución de las nanopartículas a lo largo del tubo.

Reactivos:

- MWCNTs funcionalizados
- Agua tridestilada
- Ácido tetracloroaúrico trihidratado, $\text{HAUCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, (Sigma-Aldrich)
- Citrato de sodio dibásico sesquihidratado, $\text{HOC}(\text{COOH})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$, 99% (Sigma-Aldrich)
- Borohidruro de sodio, NaBH_4 , 99% (Sigma-Aldrich)
- Isopropanol, $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$, 99.7% (Sigma-Aldrich)

Equipo:

- Ultrasonido Fisher Scientific, modelo FS30D
- Parrilla eléctrica
- Horno (Felisa Mufla)

3.5.1.1 Síntesis en agua con citrato de sodio.

Procedimiento:

1. Se pesan 0.05g de nanotubos de carbono
2. Se dispersan en 40ml de agua tridestilada y se agitan magnéticamente durante 30 minutos y después se ponen en ultrasonido durante 1 hora.
3. Se pesa el 20% en peso del HAuCl_4 :

$$gr_{\text{HAuCl}_4} = (0.05gr_{\text{NTC}}) \left(\frac{0.2}{1} \right) \left(\frac{\text{PesomolecularHAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}}{\text{PesomolecularAu}} \right)$$

$$gr_{\text{HAuCl}_4} = 0.01999gr$$

4. La sal se diluye en 5ml de agua tridestilada.
5. Se pesa 0.01M de citrato de sodio ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$) y se diluye en 5ml de agua tridestilada y 5ml de isopropanol.
6. Se pesa 0.1M de NaBH_4 y se diluye en 5ml de agua tridestilada.
7. Se mezclan los NTC dispersos con la solución del citrato de sodio y se agitan 10 minutos en ultrasonido.
8. Después se agrega la solución que contiene el HAuCl_4 y lentamente se le va agregando la solución que contiene al NaBH_4 .
9. Se deja en ultrasonido por un período de 4 horas.
10. Se secan los NTC y se depositan en un vial para su caracterización.

3.5.1.2 Síntesis en isopropanol con citrato de sodio

Procedimiento:

1. Se pesan 0.05g de nanotubos de carbono.
2. Se dispersan en 40ml de isopropanol y se agitan magnéticamente durante 30 minutos y después se ponen en ultrasonido durante 1 hora.
3. Se pesa el 20% en peso del HAuCl_4 .
4. Esta sal se diluye en 5ml de isopropanol.
5. Se pesa 0.01M de citrato de sodio ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$) y se diluye en 5ml de agua tridestilada y 5ml de isopropanol.
6. Se pesa 0.1M de NaBH_4 y se diluye en 5ml de isopropanol.
7. Se mezclan los NTC dispersos con la solución del citrato de sodio y se agitan 10 minutos en ultrasonido.
8. Después se agrega la solución que contiene el HAuCl_4 y lentamente se le va agregando la solución que contiene al NaBH_4 .
9. Se deja en ultrasonido por un período de 4 horas.
10. Se secan los NTC y se depositan en un vial para su caracterización.

3.5.2 Método de microondas.

Para este método se utilizaron dos rutas distintas, una es, utilizando el citrato de sodio como surfactante débil y anti aglomerante y otra utilizando AOT como surfactante aniónico para lograr una mayor dispersión y control sobre el tamaño de las partículas.

Reactivos:

- MWCNTs funcionalizados
- Agua tridestilada
- Ácido tetracloroaurico trihidratado, $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, (Sigma-Aldrich)
- Citrato de sodio dibásico sesquihidratado, $\text{HOC}(\text{COOH})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$, 99% (Sigma-Aldrich)
- Borohidruro de sodio, NaBH_4 , 99% (Sigma-Aldrich)

- Isopropanol, $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$, 99.7% (Sigma-Aldrich)
- Dioctilsulfosuccinato de sodio, $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{NaS}$, 98% (Sigma-Aldrich)

Equipo:

- Ultrasonido Fisher Scientific, modelo FS30D
- Parrilla eléctrica
- Horno (Felisa Mufla)
- Microondas, Synthos 3000 Microwave

3.5.2.1 Síntesis en agua con citrato de sodio.

Procedimiento:

1. Se pesan 0.05g de nanotubos de carbono.
2. Se dispersan en 40ml de agua tridestilada y se agitan magnéticamente durante 30 minutos y después se ponen en ultrasonido durante 1 hora.
3. Se pesa el 20% en peso del HAuCl_4 .
4. Esta sal se diluye en 5ml de agua tridestilada.
5. Se pesa 0.01M de citrato de sodio ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$) y se diluye en 5ml de agua tridestilada y 5ml de isopropanol.
6. Se pesan 0.12gr de NaBH_4 y se diluye en 5ml de agua tridestilada.
7. Se mezclan los NTC dispersos con la solución del citrato de sodio y se agitan 10 minutos en ultrasonido.
8. Después se agrega la solución que contiene el HAuCl_4 y lentamente se le va agregando la solución que contiene al NaBH_4 .
9. Se deja en ultrasonido por un período de 40 minutos.
10. Se lleva la mezcla al microondas, donde se lleva a cabo la reacción de soporte durante 10 minutos a 120°C .
11. Se secan los NTC y se depositan en un vial para su caracterización.

3.5.2.2 Síntesis en isopropanol con citrato de sodio

Procedimiento:

1. Se pesan 0.05g de nanotubos de carbono.
2. Se dispersan en 40ml de isopropanol y se agitan magnéticamente durante 30 minutos y después se ponen en ultrasonido durante 1 hora.
3. Se pesa el 20% en peso del HAuCl_4
4. Esta sal se diluye en 5ml de isopropanol.
5. Se pesa 0.01M de citrato de sodio ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$) y se diluye en 5ml de agua tridestilada y 5ml de isopropanol.
6. Se pesan 0.12 gr de NaBH_4 y se diluye en 5ml de isopropanol.
7. Se mezclan los NTC dispersos con la solución del citrato de sodio y se agitan 10 minutos en ultrasonido.
8. Después se agrega la solución que contiene el HAuCl_4 y lentamente se le va agregando la solución que contiene al NaBH_4 .
9. Se deja en ultrasonido por un período de 40 minutos.
10. Se lleva la mezcla al microondas, donde se lleva a cabo la reacción de soporte durante 10 minutos a 120°C .
11. Se secan los NTC y se depositan en un vial para su caracterización.

3.5.2.3 Síntesis en agua con AOT

Procedimiento:

1. Se pesan 0.05g de nanotubos de carbono.
2. Se dispersan en 40ml de agua tridestilada y se agitan magnéticamente durante 30 minutos y después se ponen en ultrasonido durante 1 hora.
3. Se pesa el 20% en peso del HAuCl_4 .
4. Esta sal se diluye en 5ml de agua tridestilada.
5. Se pesan 0.75gr de AOT y se diluyen en 5ml de agua tridestilada y 5ml de isopropanol.
6. Se pesan 0.12gr de NaBH_4 y se diluye en 5ml de agua tridestilada.

7. Se mezclan los NTC dispersos con la solución del AOT y se agitan 10 minutos en ultrasonido.
8. Después se agrega la solución que contiene el HAuCl_4 y lentamente se le va agregando la solución que contiene al NaBH_4 .
9. Se deja en ultrasonido por un período de 40 minutos.
10. Se lleva la mezcla al microondas, donde se lleva a cabo la reacción de soporte durante 10 minutos a 120°C .
11. Se secan los NTC y se depositan en un vial para su caracterización.

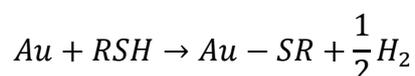
3.5.2.4 Síntesis en isopropanol con AOT

Procedimiento:

1. Se pesan 0.05g de nanotubos de carbono.
2. Se dispersan en 40ml de isopropanol y se agitan magnéticamente durante 30 minutos y después se ponen en ultrasonido durante 1 hora.
3. Se pesa el 20% en peso del HAuCl_4
4. Esta sal se diluye en 5ml de isopropanol.
5. Se pesan 0.75gr de AOT y se diluyen en 5ml de agua tridestilada y 5ml de isopropanol.
6. Se pesan 0.12 gr de NaBH_4 y se diluye en 5ml de isopropanol.
7. Se mezclan los NTC dispersos con la solución del AOT y se agitan 10 minutos en ultrasonido.
8. Después se agrega la solución que contiene el HAuCl_4 y lentamente se le va agregando la solución que contiene al NaBH_4 .
9. Se deja en ultrasonido por un período de 40 minutos.
10. Se lleva la mezcla al microondas, donde se lleva a cabo la reacción de soporte durante 10 minutos a 120°C .
11. Se secan los NTC y se depositan en un vial para su caracterización.

3.6 Síntesis de las AuNPs/MWCNTs con Glutación (GSH)

La decoración de las AuNPs/MWCNTs se hizo en una mezcla de metanol y ácido acético en una proporción de 6:1. La unión del GSH a las AuNPs se da por la formación de enlaces covalentes Au-S según la reacción:



La fuerza del enlace viene determinada por la alta afinidad química del grupo tiol por los átomos de oro.

Reactivos:

- AuNPs/MWCNTs
- Metanol anhidro, CH₃OH, 99.8% (Sigma-Aldrich)
- Ácido acético glacial, CH₃CO₂H, 99.85% (Sigma-Aldrich)
- L-Glutación reducido (GSH), C₁₀H₁₇N₃O₆S, 98% (Sigma-Aldrich)

Procedimiento:

1. Se pesan 0.01 g de AuNPs/MWCNTs.
2. Se pesan 0.007 g de GSH
3. En un vaso de precipitados se mezclan 0.5 ml de ácido acético y 3 ml de metanol.
4. A esta mezcla se le adicionan las AuNPs/MWCNTs y se mezclan en ultrasonido durante 5 minutos.
5. Se añade el GSH y se ultrasonifica la mezcla por 5 minutos más.
6. La solución se deja volatilizar, se seca la muestra y se guarda para su caracterización [Fig. 3.8].

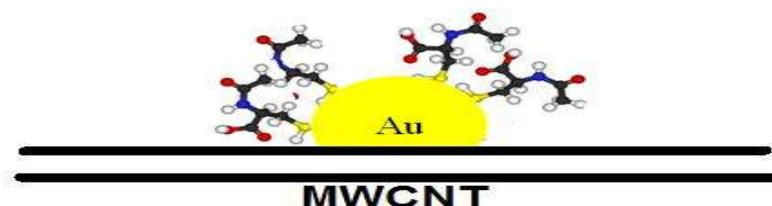


Fig. 3.8. Representación de las GSH/AuNPs/MWCNTs.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En éste capítulo se analizarán los resultados obtenidos de las síntesis y caracterizaciones de los NTC, su purificación y funcionalización a fin de lograr su dispersión en agua, la síntesis de nanopartículas de oro soportadas sobre los NTC y la incorporación del I-glutatiión sobre el sistema AuNP-NTC.

4.1 Caracterización de los NTCs sintetizados.

Los NTCs se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM) para determinar sus características morfológicas generales tales como longitud, diámetros internos y externos y número de paredes. Los análisis termogravimétricos permiten determinar su estabilidad térmica y el contenido de catalizador residual. La espectroscopia Raman y la difracción por rayos X permiten determinar las características cristalinas de los NTCs.

La Fig. 4.1 (a) muestra una imagen de la sección transversal del tubo de cuarzo con los NTCs de pared múltiple sintetizados siguiendo la metodología correspondiente descrita en el capítulo 3. En la imagen se observa la película de NTCs directamente adheridos al sustrato de cuarzo utilizado como reactor. La longitud estimada de los NTCs es de $\sim 800 \mu\text{m}$ ($\sim 0.8 \text{ mm}$). En la imagen se observa que los NTCs crecen verticalmente alineados perpendiculares al sustrato de cuarzo.

La Fig. 4.1 (b) es una imagen ampliada de la película de NTCs formados en las que se muestra que las fibras de carbono están alineadas y son largas y de diámetro homogéneo.

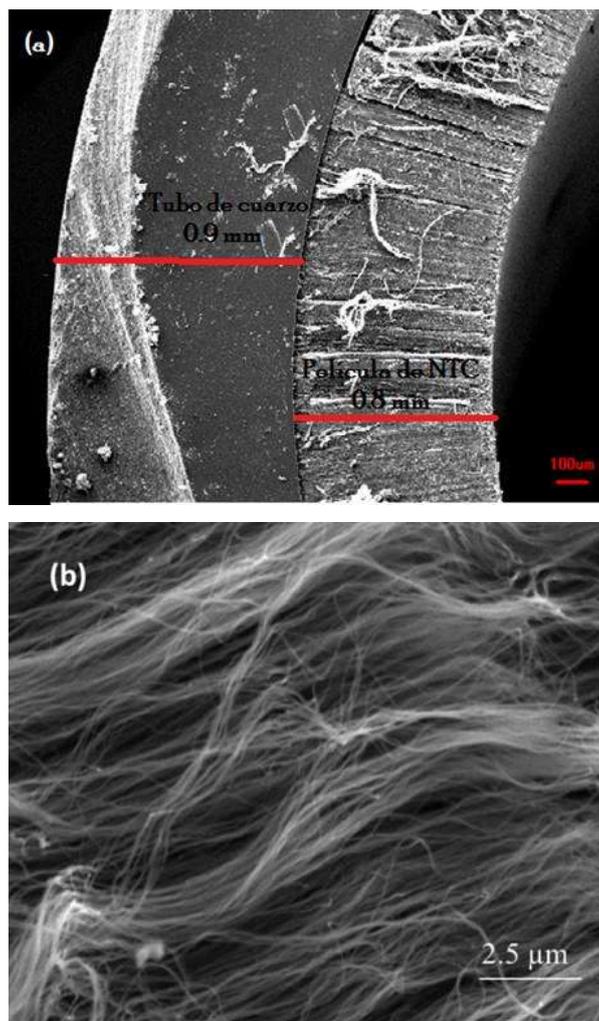


Fig. 4.1. Imágenes SEM de a) la sección transversal de los NTCs multicapa con los NTCs adheridos al sustrato de cuarzo y b) ampliación de la película de NTCs formada.

El análisis por microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM) se realizó en un microscopio electrónico marca Philips modelo CM-200. Mediante este análisis es posible conocer más a detalle la morfología de los NTC sintetizados.

La Fig. 4.2 (a) corresponde a una imagen de una muestra de NTCs purificados obtenida en modo campo oscuro y en la que las secciones de mayor brillo corresponden a la presencia de hierro que proviene del catalizador. En la Fig. 4.2 (b) se distinguen dos zonas en las cuales se observa la presencia

de hierro: en el interior de los NTCs y en su superficie. Las partículas de hierro en el interior de los NTCs son alargadas y localizadas a lo largo de los NTCs. Las partículas localizadas en el exterior son esféricas con un diámetro aproximado de ~ 7 nm. Lara-Romero y colaboradores reportaron que las partículas de metal observadas en el interior de los NTCs corresponden a carburo de hierro, Fe_3C , y que las partículas colocadas en el exterior de los nanotubos es hierro metálico.

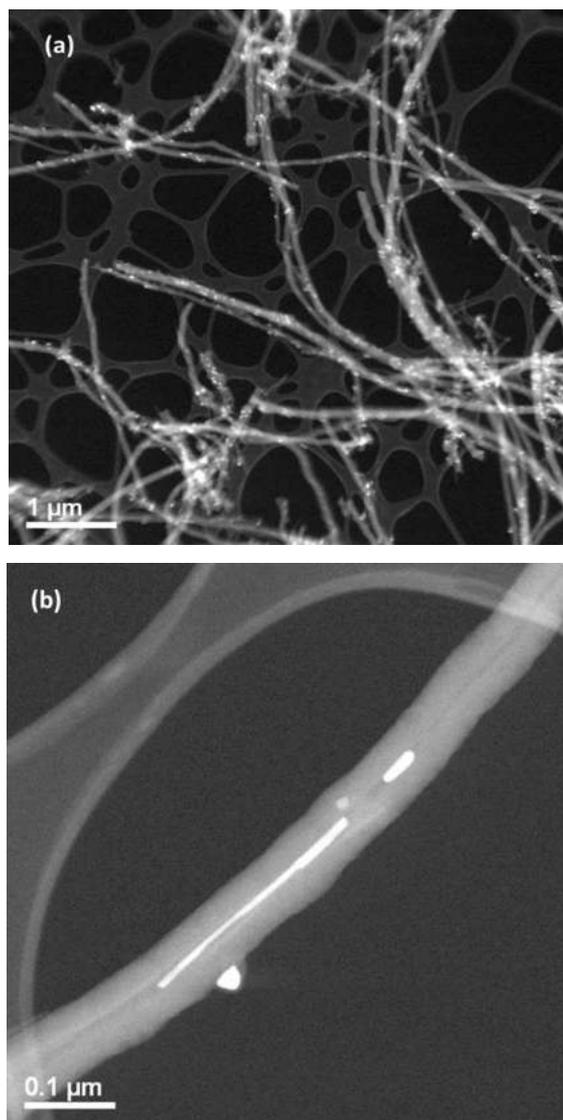


Fig. 4.2. Imágenes HR-TEM de los NTCs sintetizados: (a) imagen de campo oscuro donde se muestra la presencia de hierro y, (b) imagen ampliada de los NTC.

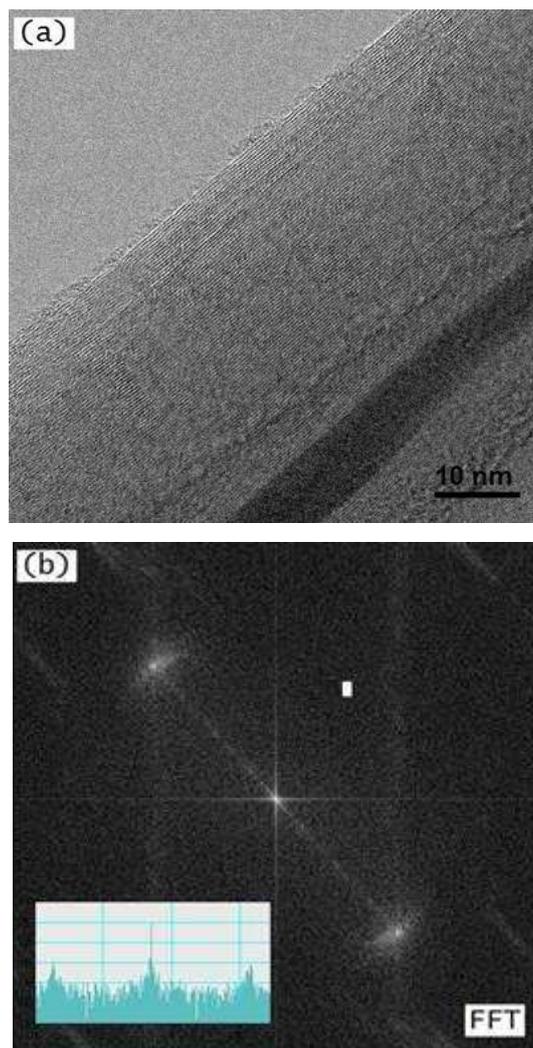


Fig. 4.3. a) Imagen ampliada de los NTC sintetizados, b) Análisis FFT.

La imagen de alta resolución mostrada en la Fig. 4.3a muestra que los NTC formados poseen una alta cristalinidad evidenciada por la continuidad y linealidad mostrada por las paredes de los NTC. En el análisis FFT (por las palabras en inglés Fast Fourier Transform) de la Fig. 4.3b se observan dos puntos brillantes equidistantes respecto al punto de mayor brillo del centro de la imagen. Las intensidades de estos tres puntos se muestran en el gráfico insertado. El hecho de que los puntos equidistantes sean brillantes e intensos confirma que los NTC sintetizando son altamente cristalinos. En la medida que los NTC sean menos cristalinos, se observarían puntos más difusos y de menor intensidad. La distancia entre los puntos equidistantes indica la distancia interplanar de las paredes de grafito que conforman los NTC, siendo esta de

0.344 nm y que corresponde al espaciamiento entre planos esperado para una muestra de grafito altamente cristalina (0.335nm).

La caracterización por termogravimetría, TGA, permite determinar la estabilidad térmica de los NTC así como el contenido de metales. El equipo empleado en ésta técnica es un Perkin Elmer modelo Pyris 1 TGA. Se utilizó una rampa de calentamiento de 15°C/ minuto con un flujo de aire de 75 cm³/minuto desde temperatura ambiente hasta 800°C.

La Fig. 4.4 muestra los resultados del análisis termogravimétrico realizado a los NTC sintetizados donde se puede observar que la temperatura a la cual empiezan a descomponerse a 540°C y termina en 770°C. De acuerdo a la literatura, mientras más alta es la temperatura del inicio de la descomposición, más cristalinos son los NTC siendo estos más estables térmicamente [48]. El residuo metálico obtenido una vez concluida la combustión de los NTC es de 5.6%. Suponiendo que la el óxido de hierro (III) es el más estable y que el carburo de hierro también se oxida en estas condiciones, podemos determinar que el contenido total de hierro en los NTC es de 3.92%. Este resultado permite establecer que la pureza de los NTC sintetizados por este método y a estas condiciones de reacción es del 96.08%.

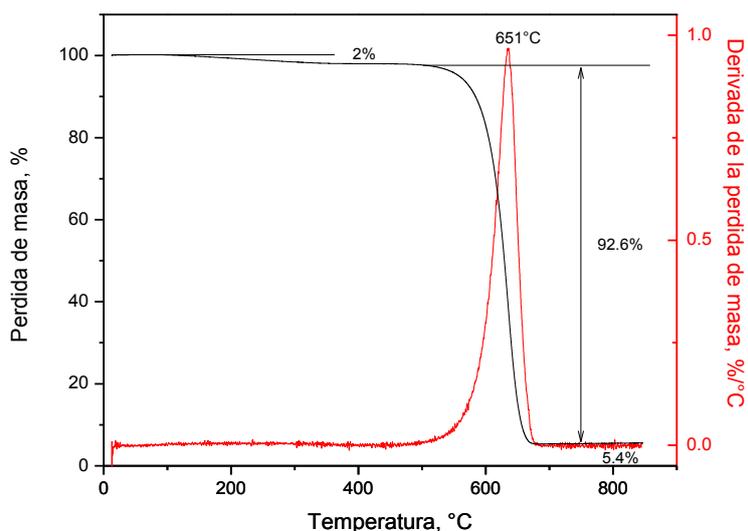


Fig. 4.4. Análisis termogravimétrico de los NTC sintetizados.

Mediante espectroscopia Raman es posible determinar el grado de cristalinidad de los NTC sintetizados determinado por la relación de las bandas D/G (entre menor es este valor, menos defectos estructurales tienen los NTC) y G'/G (entre mayor es este valor, mayor alineación de las capas de carbono tienen los NTC) [48, 94]. Se empleó un equipo Dilor micro-Raman modelo Labarm equipado con un láser argón de 20 mW, con longitud de onda de 514 nm (línea verde).

La Fig. 4.5 muestra el análisis micro-Raman de los NTC sintetizados. Se observa la presencia de los picos 1350 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} y 2750 cm^{-1} que corresponden a las bandas D, G y G' respectivamente. Los valores calculados de las relaciones de bandas son $I_{D/G} = 0.43$ y $I_{G'/G} = 1.05$. Se han reportados valores para la relación $I_{D/G}$ desde 0.20 hasta 2.7, determinando que el valor más bajo corresponde a NTC de mayor ordenamiento estructural [48, 94-99,].

Claramente, los NTC sintetizados en este trabajo corresponden a NTC de alta cristalinidad. De manera similar, los valores reportados para la relación $I_{G'/G}$ van desde 0.17 hasta 1.47 y donde se indica que mientras más grande sea esta relación de intensidades, existe un mayor alineamiento de las paredes de los NTC [48, 94-98]. En este contexto, los NTC sintetizados en este proyecto son de alta calidad, es decir, poseen pocos defectos estructurales y un alto grado de alineación de sus paredes.

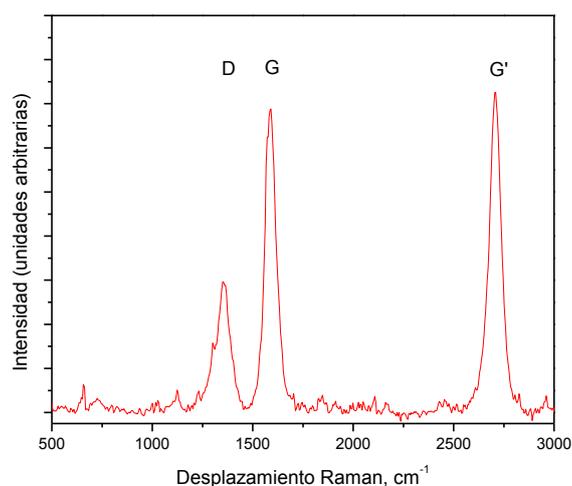


Fig. 4.5. Espectro Raman de los NTC donde se muestran las posiciones de las bandas D, G y G'.

4.2 Caracterización de los NTCs purificados y funcionalizados

En la Fig. 4.6 se presenta el análisis Raman de los NTC antes y después de ser sometidos al tratamiento con ácidos descrito en la metodología. En la Tabla 1 se proporcionan los valores $I_{D/G}$ y $I_{G'/G}$ para cada etapa de purificación y funcionalización. Podemos observar que no existe cambio significativo en el índice $I_{D/G}$, por lo que el tratamiento no genera defectos estructurales en los NTC. La relación $I_{G'/G}$ cambia de 1.07 a 1.17. Aun cuando el cambio es pequeño, es una indicación de que el tratamiento logra retirar cierta cantidad de partículas de hierro colocadas en la superficie de los NTC lo cual propicia el aumento de intensidad de la banda G'.

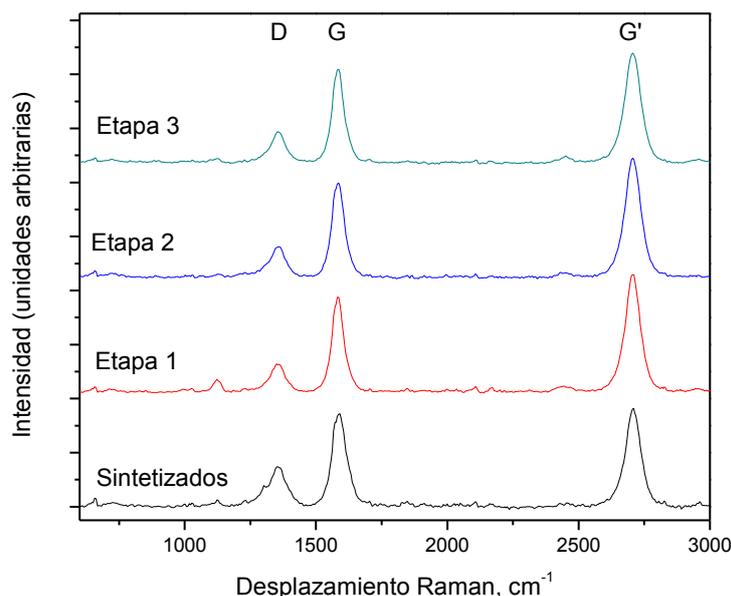


Figura 4.6. Análisis Raman de los NTC antes y después de purificarlos y funcionalizarlos.

Tabla 4.1. Valores de las relaciones de intensidades de las bandas D/G y G'/G

	$I_{D/G}$	$I_{G'/G}$
NTC sintetizados	0.43	1.05
Etapa 1	0.31	1.24
Etapa 2	0.32	1.27
Etapa 3	0.32	1.20

En la Fig. 4.7a y 4.7b se muestra el análisis por espectroscopia infrarroja de los NTC sintetizados, purificados y funcionalizados. Para realizar un mejor análisis, el espectro fue dividido en dos secciones, la primera entre 1000 y 2000 cm^{-1} y la segunda entre 2800 y 3800 cm^{-1} . En las dos secciones podemos ver claramente que para los NTC sintetizados y purificados no se identifica ningún grupo funcional en la superficie de los NTC. En la primera sección, en el espectro de los NTC funcionalizados se pueden detectar señales en 1240, 1330, 1402, y 1628 cm^{-1} que corresponden a la presencia de dímeros

carboxílicos que interactúan entre sí por puente de hidrógeno. En la segunda sección se detectan dos señales localizadas en 3220 y 3345 cm^{-1} y que corresponden al estiramiento de grupos O-H asociados a los grupos carboxílicos interactuando por puentes de hidrógeno y a grupos O-H enlazados por puentes de hidrógeno, respectivamente. La asignación puntual de cada señal detectada se resume en la Tabla 4.2. La presencia de estos grupos funcionales en la superficie sobre los NTC permite lograr una alta dispersión de estos en agua, lo cual es esencial para la colocación de las nanopartículas metálicas de oro.

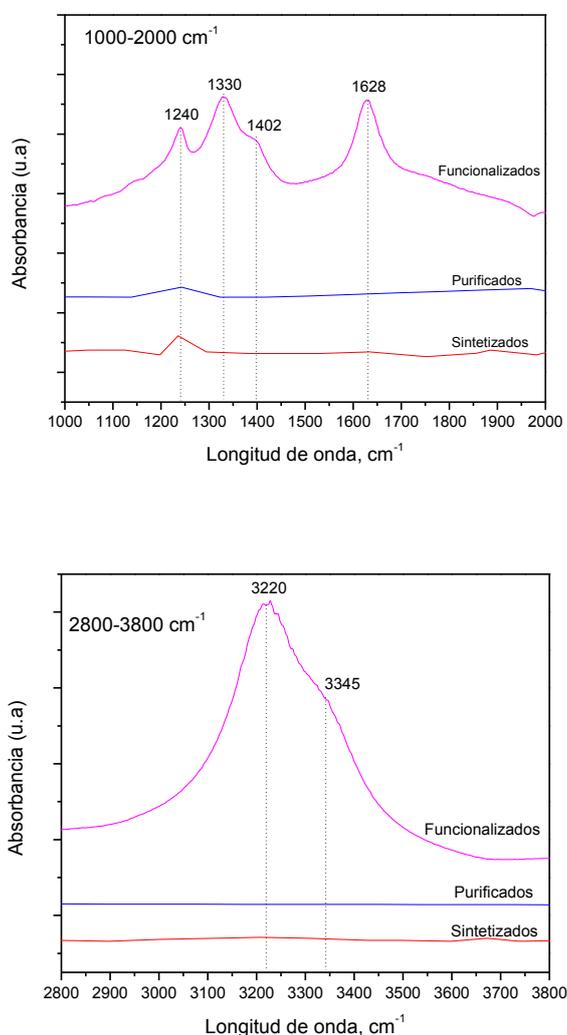


Fig. 4.7. Análisis de Infrarrojo de los NTC antes y después de purificarlos y funcionalizarlos, a) región $1000\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, b) región $2800\text{-}3800\text{ cm}^{-1}$.

Tabla 4.2. Asignación de las frecuencias de vibración IR de los NTC sintetizados, purificados y funcionalizados.

Grupos funcionales	Regiones, cm^{-1}	Posición en el espectro
O-H enlazados por puentes de hidrógeno	3550-3230	3345
-OH asociados a ácidos carboxílicos (estiramiento)	3300-2500	3220
Estiramiento C=O en ácidos carboxílicos intermolecularmente unidos por puentes de hidrógeno	1680-1640	1628
Banda combinada debido al estiramiento C-O y la deformación O-H en ácidos carboxílicos	1440-1395	1402
Estiramiento C-O en ácidos carboxílicos	1330-1210	1330, 1240

4.3 Síntesis y caracterización de AuNPs/MWCNTs

La colocación de las AuNPs/MWCNTs se realizó mediante el método de microemulsión y microondas asistido con el surfactante AOT en agua e isopropanol como medios de dispersión y evaluando al NaBH_4 y el citrato de sodio como agente reductor. Todas las muestras se realizaron con un 20% en peso de Au. Los materiales obtenidos fueron caracterizados por espectroscopia Raman con la finalidad de detectar posibles cambios estructurales y superficies de los MWCNTs que puedan dar información indirecta de la presencia de las AuNPs sobre los MWCNTs y por HR-TEM para determinar el tamaño y distribución de las nanopartículas sobre la superficie de los MWCNTs.

4.3.1 Síntesis por microemulsión en agua con citrato de sodio

En la Fig. 4.8 se observan las imágenes de TEM obtenidas, en la cual se observa que no hubo soporte de las AuNPs/MWCNTs. Los puntos brillantes que aparecen son partículas de hierro atrapadas dentro de las paredes de los MWCNTs.

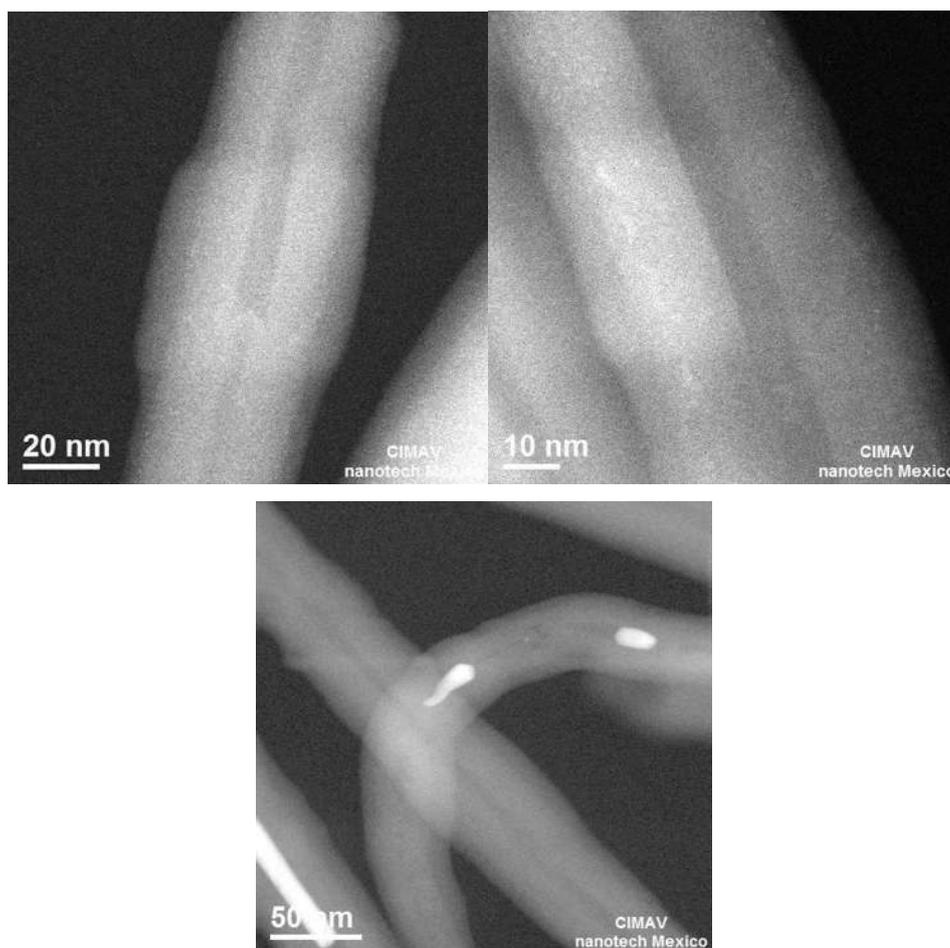
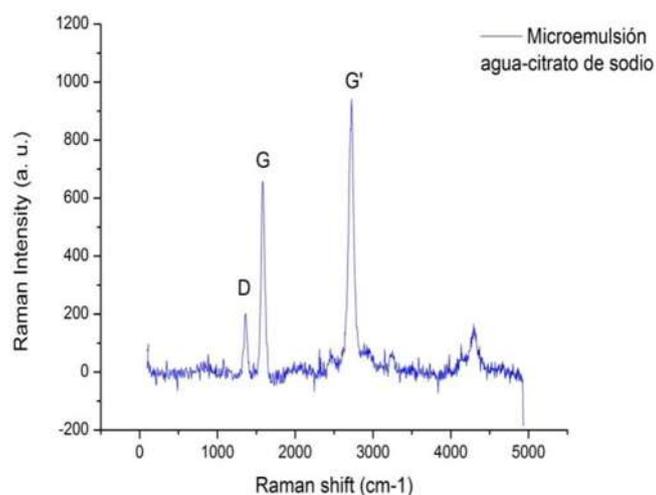


Fig. 4.8. TEM microemulsión en agua con citrato de sodio.

En la Fig. 4.9 se muestra la espectroscopia Raman de este sistema y la relación de intensidad de las banas D/G de la cual se deduce que no se produjeron cambios estructurales o defectos en la superficie, lo que coincide con el hecho de que no se hayan adsorbido las AuNPs, y la relación G'/G lo confirma, ya que denota una mayor cristalinidad del material.



	ID/IG	IG'/IG
Purificados	0.31	1.24
Microemulsión	0.29	1.43

Fig. 4.9. Espectroscopia Raman del sistema de microemulsión en agua-citrato de sodio.

4.3.2 Síntesis por microemulsión en isopropanol con citrato de sodio

En la Fig. 4.10 se muestran los resultados del TEM obtenidos para este sistema, de donde puede observarse que efectivamente hubo una adsorción de Au sobre los MWCNTs, pero el tamaño de las nanopartículas es muy grande y no están bien dispersas.

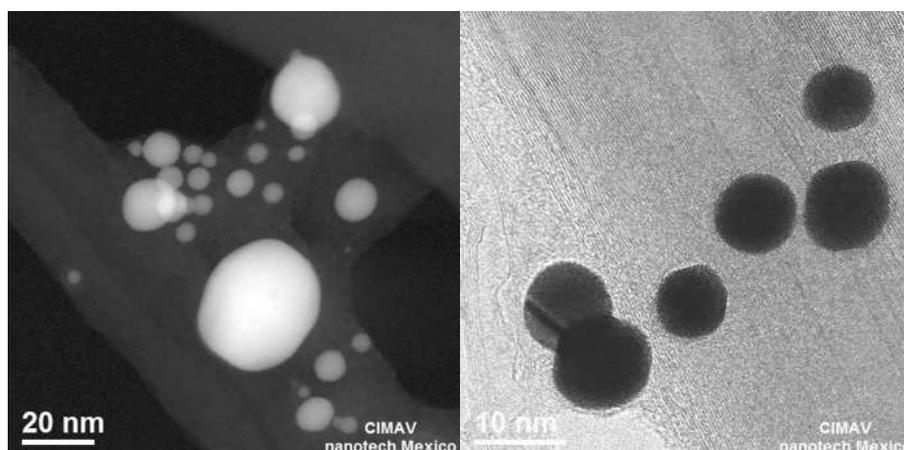
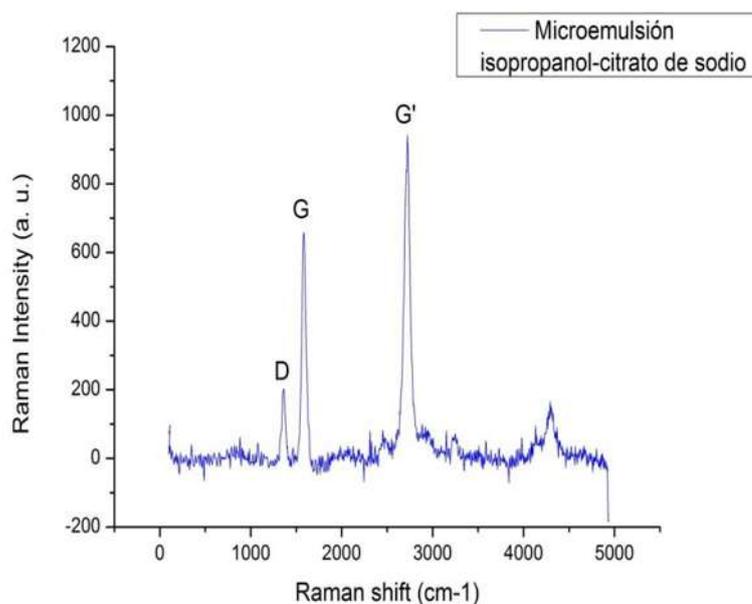


Fig. 4.10. TEM microemulsión en isopropanol con citrato de sodio.

La Fig. 4.11 muestra el análisis Raman de este sistema y la relación entre las bandas, donde la relación D/G una vez más indica que no hay presencia de defectos superficiales importantes y la G'/G nos vuelve a indicar la alta cristalinidad de los MWCNTs.



	ID/IG	IG'/IG
Purificados	0.31	1.24
Microemulsión	0.30	1.44

Fig.4.11. Espectroscopia Raman del sistema de microemulsión en isopropanol-citrato de sodio.

4.3.3 Síntesis por microondas en agua con citrato de sodio.

La Fig. 4.12 muestra el análisis TEM de este sistema, en donde puede observarse que no hay soporte de las AuNPs sobre los MWCNTs. Los puntos brillantes de las imágenes pueden atribuirse a impurezas de hierro residual del catalizador atrapadas en las paredes de los nanotubos.

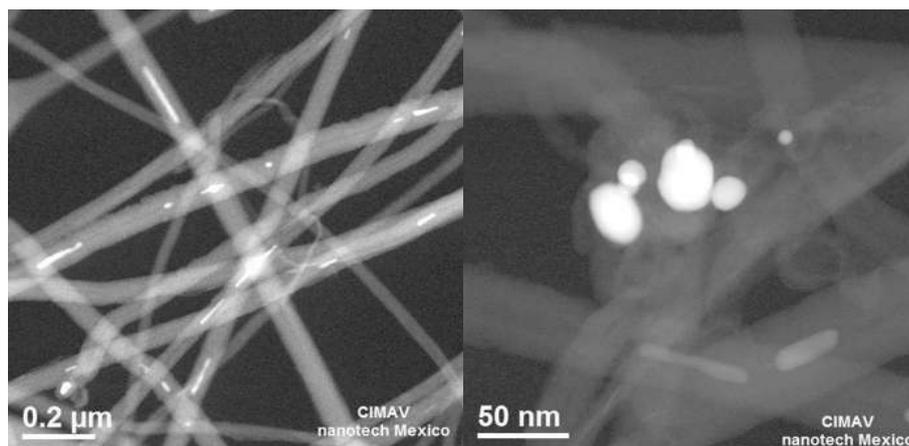
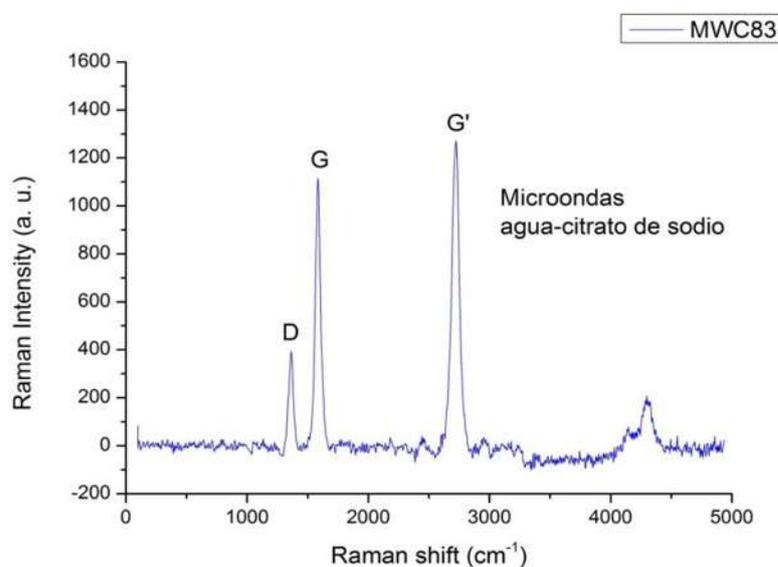


Fig. 4.12. TEM microondas agua - citrato de sodio.

En el análisis Raman de este sistema [Fig. 4.13] se observa que la relación D/G muestra que existen algunos defectos superficiales, la relación G'/G también cambió, lo que indica que los MWCNTs perdieron cristalinidad, aunque esto pudo ser ocasionado por el efecto del microondas sobre el sistema.



	ID/IG	IG'/IG
Purificados	0.31	1.24
Microondas	0.34	1.13

Fig. 4.13. Análisis Raman del sistema agua-citrato de sodio por microondas.

4.3.4 Síntesis por microondas en isopropanol con citrato de sodio.

La Fig. 4.14 muestra el análisis TEM de este sistema, en donde ya es visible claramente la adsorción de material en las paredes de los MWCNTs, aunque estas nanopartículas se encuentran aglomeradas en ramilletes muy localizados.

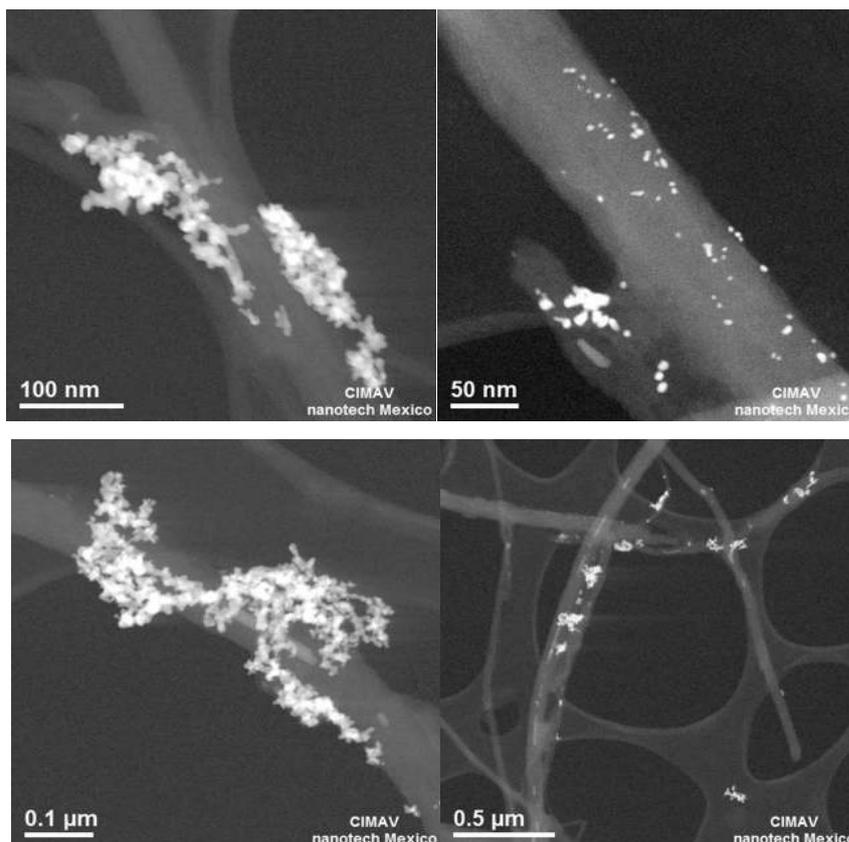


Fig. 4.14. TEM sistema isopropanol-citrato de sodio por microondas.

En el análisis Raman de este sistema [Fig. 4.15] la relación D/G vuelve a mostrar que no hay defectos superficiales importantes, lo que concuerda con la concentración de los cúmulos de nanopartículas en ciertas partes muy localizadas del sistema. Una vez más la relación G²/G verifica esta afirmación.

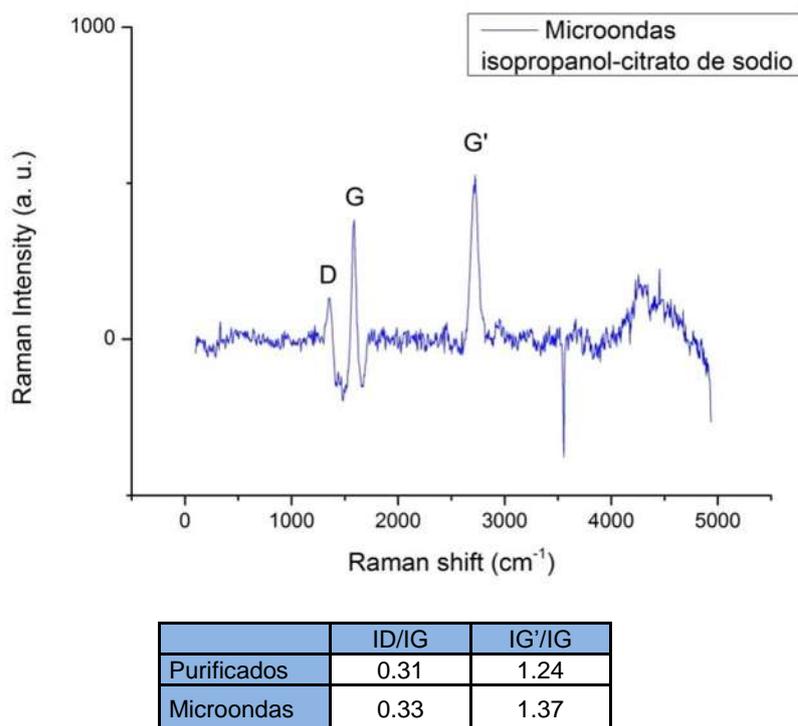


Fig. 4.15. Análisis Raman del sistema isopropanol-citrato de sodio por microondas.

A este sistema se le realizó una difracción de rayos X para determinar su composición elemental [Fig. 4.16], en el cual puede confirmarse que las partículas observadas en el TEM son partículas de oro. El Cu presente corresponde al soporte donde se colocó la muestra.

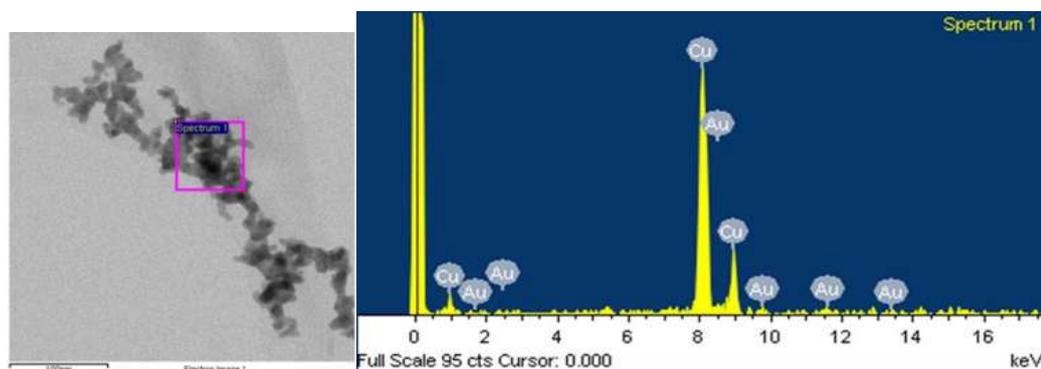


Fig. 4.16. EDX sistema isopropanol-citrato de sodio por microondas.

4.3.5 Síntesis por microondas en isopropanol con AOT.

En la Fig. 4.17 se muestra el análisis TEM de este sistema, aquí puede observarse una mayor adsorción de las AuNPs, aunque siguen estando aglomeradas y mal distribuidas.

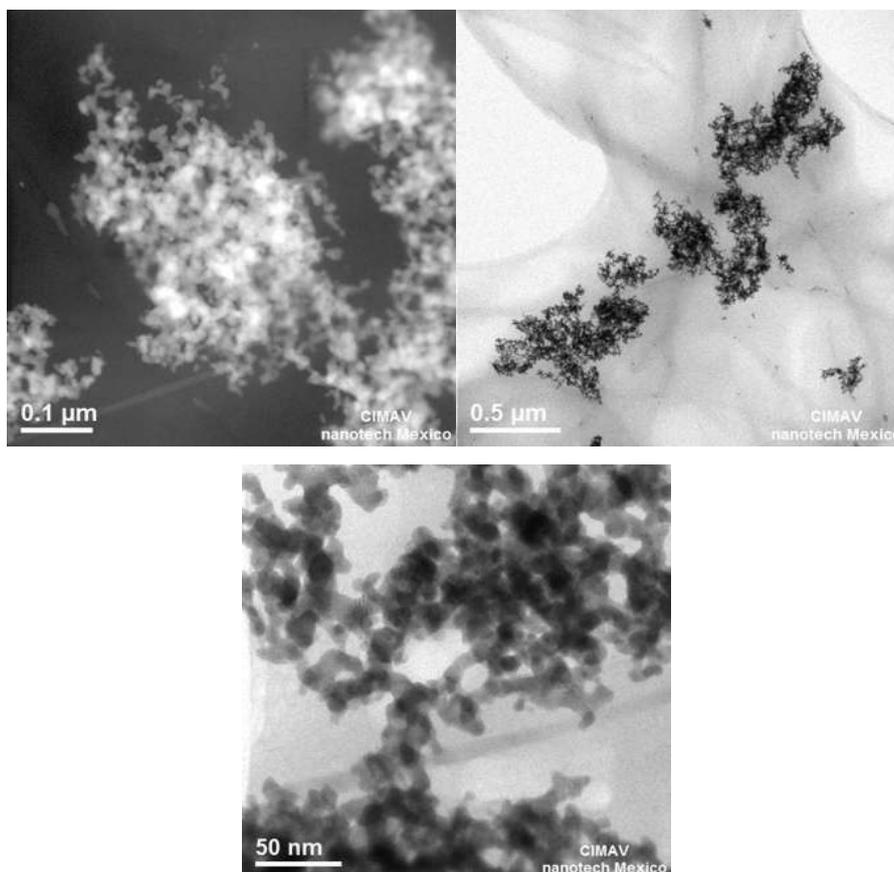
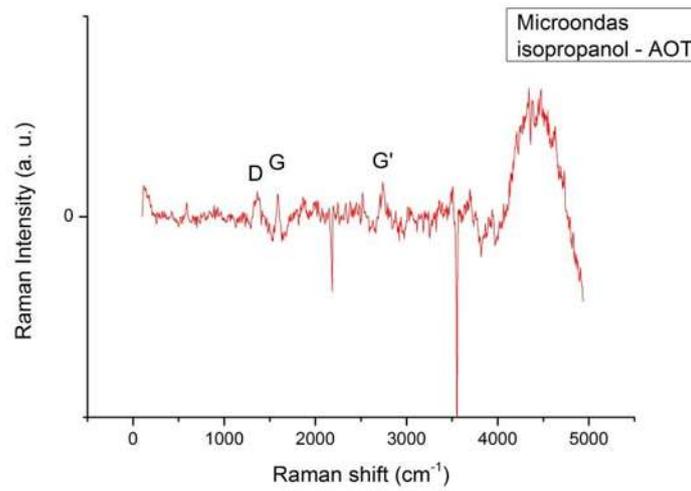


Fig. 4.17. TEM sistema isopropanol – AOT por microondas.

En el análisis Raman [Fig. 4.18] las relaciones de las bandas D/G y G'/G nos indican que no hay una buena deposición de las AuNPs atribuibles a la acción del surfactante, el cual sirve como anclaje de las nanopartículas, aunque el medio de dispersión influya en la síntesis y no permita una buena dispersión y tamaño de partícula controlado, por lo que aunque se detectan defectos superficiales no se ve alterada la cristalinidad de la muestra.



	ID/IG	IG'/IG
Purificados	0.31	1.24
Microondas	1.13	1.59

Fig. 4.18. Análisis Raman del sistema isopropanol-AOT por microondas.

Se realizó un EDX para saber la composición elemental de la muestra [Fig. 4.19].

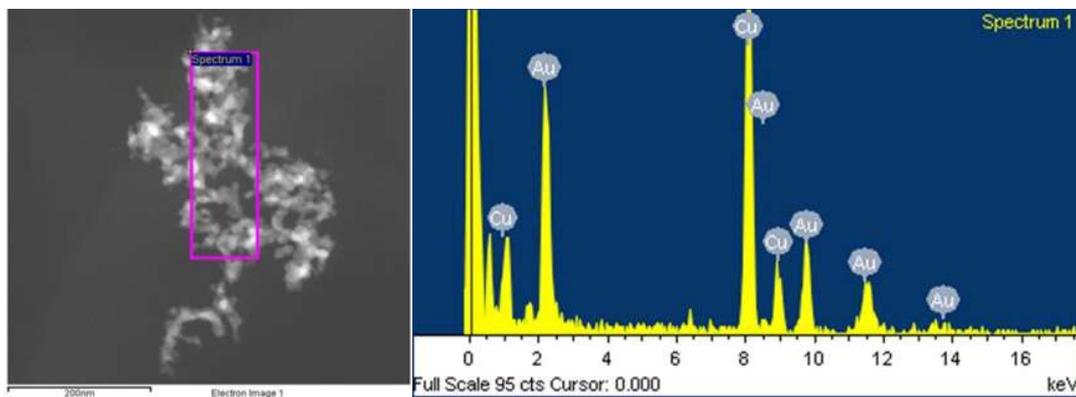


Fig. 4.19. EDX del sistema isopropanol-AOT por microondas.

4.3.6 Síntesis por microondas en agua con AOT.

En este sistema las nanopartículas están bien dispersas sobre los nanotubos de carbono [Fig. 4.20] y tienen un tamaño ideal para ser utilizadas en sistemas biológicos, además de que no hay mucha aglomeración entre ellas. Esto es gracias al surfactante, que actúa como capa protectora de las nanopartículas de oro reducidas, evitando su aglomeración al dejarlas ancladas sobre los nanotubos de carbono, asegurando tanto un buen control de tamaño de partícula como una buena dispersión a lo largo del nanotubo.

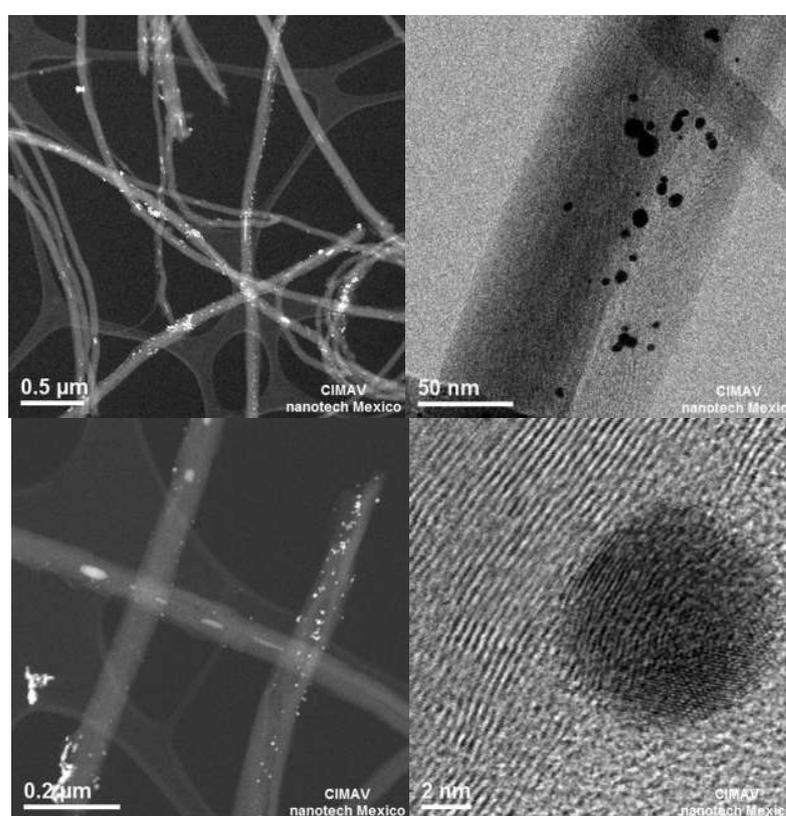


Fig. 4.20. TEM del sistema agua-AOT por microondas.

La relación de las bandas D/G de la espectroscopia Raman de este sistema [Fig. 4.21] revelan la presencia de defectos superficiales, lo cual es un indicativo de una adsorción importante de AuNPs/MWCNTs, y en este análisis la relación G'/G lo confirma al mostrar una disminución con respecto a los MWCNTs purificados, lo que se interpreta como una disminución de la cristalinidad atribuida a la presencia de nanopartículas soportadas.

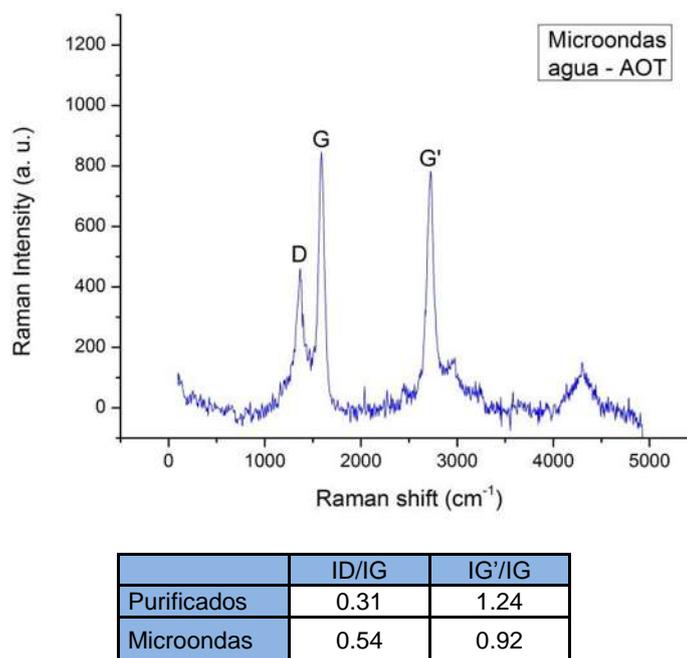


Fig. 4.21. Análisis Raman del sistema agua-AOT por microondas.

Se realizó un EDX de este sistema para determinar su composición elemental [Fig. 4.22].

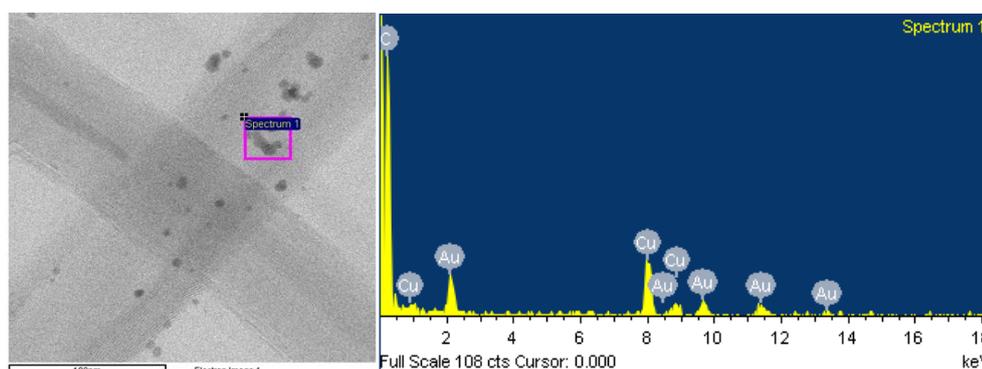


Fig. 4.22. EDX sistema agua-AOT por microondas.

Utilizando el programa Gatan Digital Micrograph se hizo una medición de las nanopartículas presentes en esta muestra, lo cual da como resultado un tamaño de partícula promedio de 6.24 nm, y se puede observar que hay una buena distribución de tamaño [Fig. 2.23].

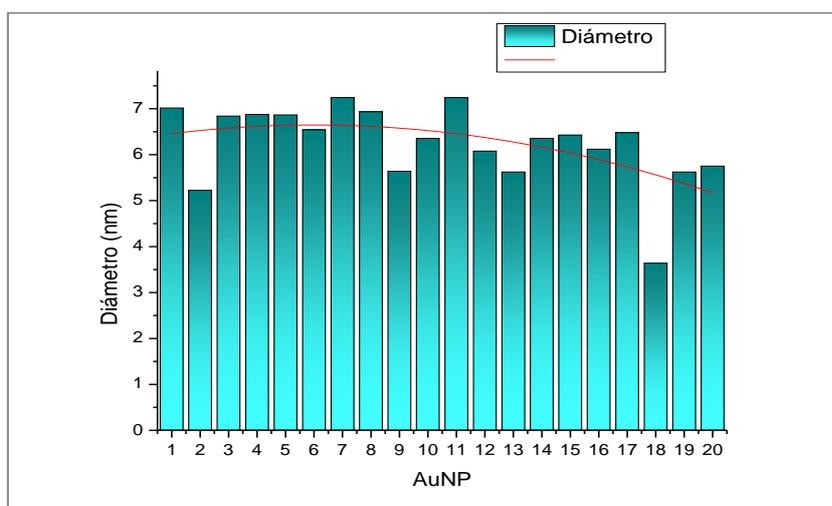
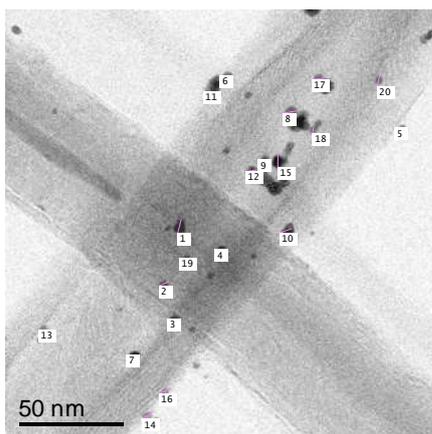


Fig. 4.23 Histograma de distribución de tamaño de las AuNPs/MWCNTs

4.4 Síntesis del sistema GSH-Au/NTCs

Los grupos funcionales del GSH que pueden ser detectados por IR son los siguientes:

- Vibraciones del enlace S-H (estiramiento y deformación) en $-\text{CH}_2\text{SH}$.
- Vibraciones de CH_2 (estiramiento asimétrico, simétrico, de deformación, wagging y rocking) en $-\text{CH}_2-\text{SH}$.
- Vibraciones del enlace C-S (estiramiento) en $-\text{CH}_2-\text{SH}$.
- Vibraciones del enlace N-H (estiramientos simétricos y asimétricos, tijereteo, rocking y twisting, wagging, doblez fuera del plano) en $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}-$ y amidas I y II.

- Vibraciones de los enlaces C–N–C (estiramiento) en CH–NH–CH.
- Vibraciones N–C=O (deformación) en amidas I y II.
- Vibraciones C=O (estiramiento) en grupos carboxílicos y amidas I y II.
- Vibraciones O–H (estiramiento) en grupos carboxílicos.

A continuación se muestran los espectros IR de los NTC funcionalizados, las nanopartículas de oro soportadas sobre los NTC (Au/NTC) y el GSH adicionado al sistema Au/NTC. Para realizar un mejor análisis, los espectros fueron divididos en tres secciones, de 500 a 1000 cm^{-1} [Fig. 2.24], de 1000 a 2000 cm^{-1} [Fig. 2.25] y de 2000 a 3800 cm^{-1} [Fig. 2.26]. Las bandas que coinciden en posición del espectro del GSH y el sistema GSH-Au/NTC se indican en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3 Aparición de bandas en los diferentes sistemas.

Grupos funcionales	Regiones cm^{-1}	GSH	Au/NTC	GSH/Au/NTC
N–C=O vibración de deformación	600-550	547,		
Estiramiento C–S	720-630	685		695
N–H wagging en –NH–	760-700	758		753
N–H doblez fuera del plano en –NH ₂	895-650	868		871
N–H estiramiento del NH ₂ en amida II		1532		1540
N–H deformación en –NH ₂		1650		1650
S–H estiramiento		2525		

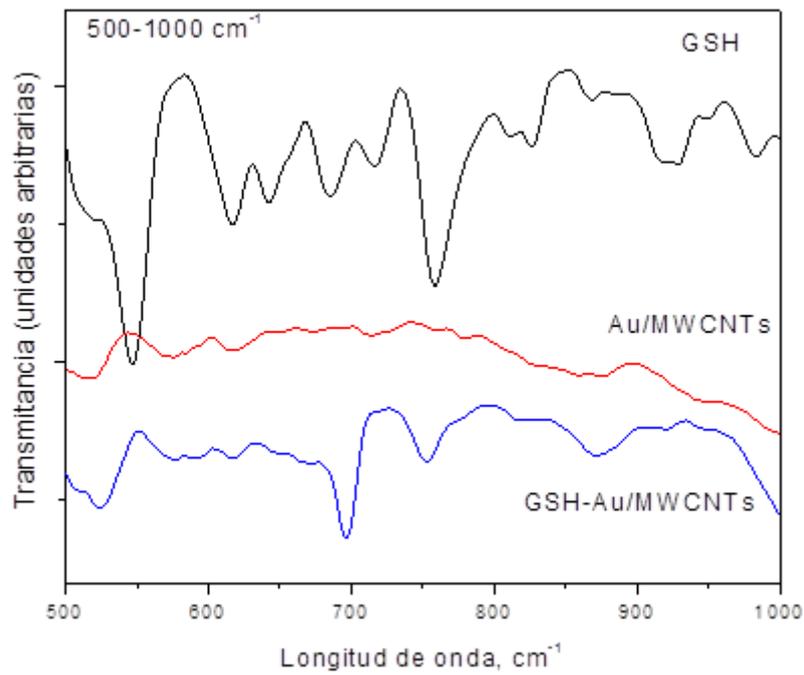


Fig. 4.24. IR de los sistemas GSH, Au/MWCNTs y GSH/Au/MWCNTs en el rango de 500 a 1000 cm^{-1} .

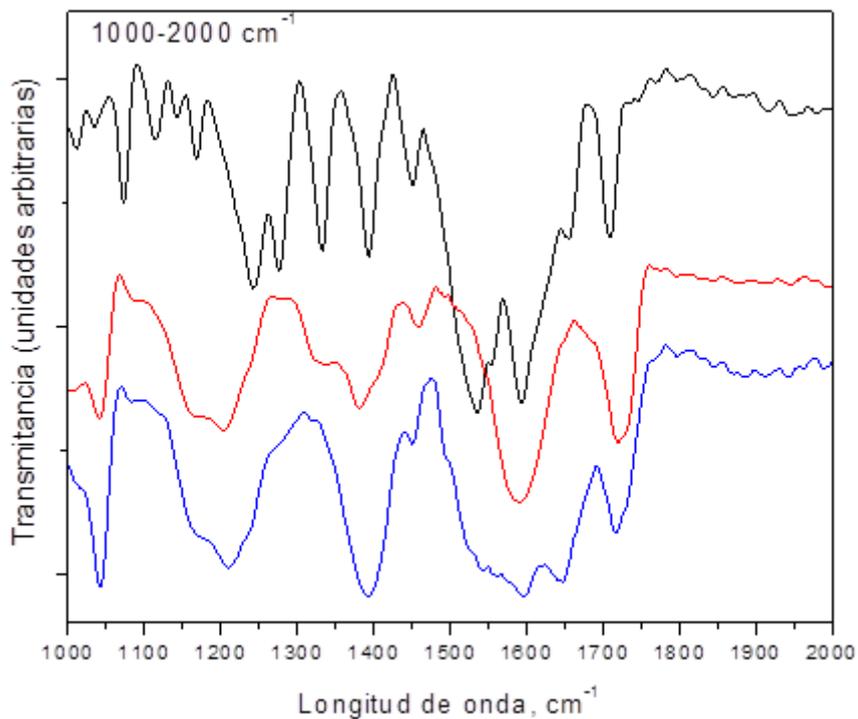


Fig. 4.25. IR de los sistemas GSH, Au/MWCNTs y GSH/Au/MWCNTs en el rango de 1000 a 2000 cm^{-1} .

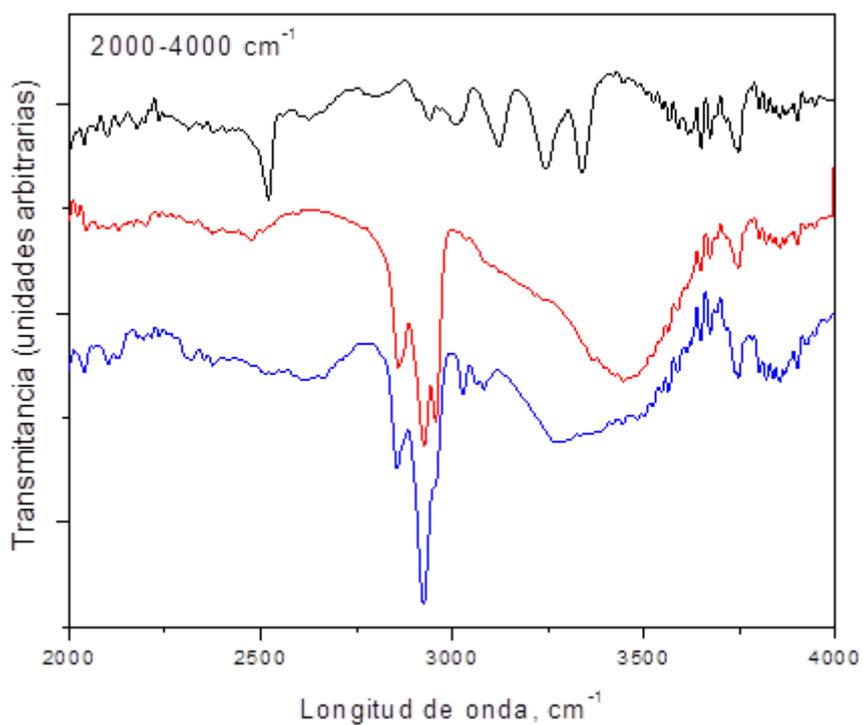


Fig. 4.26. IR de los sistemas GSH, Au/MWCNTs y GSH/Au/MWCNTs en el rango de 2000 a 4000 cm⁻¹.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

Conclusiones

1. Los nanotubos de carbono fueron sintetizados por el método de rocío pirolítico utilizando alfa-pineno como fuente de carbono y ferroceno como catalizador a 800°C y un flujo de argón de 5 lpm. Los NTC sintetizados fueron de pared múltiple, altamente cristalinos, de diámetro interno de 7-8 nm y diámetro externo de 69 nm, con una longitud de 0.8 mm y con una pureza del 96.08%.
2. La funcionalización de los NTC por lixiviación con ácidos nítrico y sulfúrico logra colocar grupos carboxilos en la superficies de los NTC con lo que se logran una alta dispersión de estos en agua.
3. El método de microondas utilizando AOT como surfactante y borohidruro de sodio como agente reductor en medio de dispersión acuoso permitió la colocación de un mayor número de AuNPs con una distribución de tamaño de 6.24nm en promedio y una dispersión adecuada, esto debido a que el surfactante sirvió para evitar la aglomeración de las nanopartículas y debido al tamaño de la micela también permitió un control adecuado sobre el tamaño de las mismas. La influencia del surfactante puede observarse en las muestras donde solamente se adicionó el reductor, ya que las partículas son de tamaño mayor y se encuentran localizadas sólo en ciertas zonas de los MWCNTs.
4. Por medio de una solución en ácido acético y metanol en ultrasonido se logró depositar el GSH sobre las AuNPs, comprobándolo mediante la comparación de los espectros infrarrojos del GSH, del sistema AuNPs/MWCNTs y del GSH-AuNPs/MWCNTs.

Recomendaciones

1. Evaluación de surfactantes catiónicos y no iónicos, esto con el fin de obtener diferentes formas y tamaños de AuNPs.
2. La dispersión puede controlarse variando la concentración del surfactante, así como del HAuCl_4
3. Analizar la biocompatibilidad de este sistema con diversos agentes, tales como anticuerpos, ADN, proteínas, etc., para evaluar su sensibilidad y selectividad.
4. Evaluar su uso como biosensor en diferentes plataformas, ya sea como biosensor potenciométrico aprovechando el cambio de pH, o soportarlo sobre una matriz polimérica y desarrollar un sensor electroquímico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Nicole H. Levi-Polyachenko, David L. Carroll, John H. Stewart. **Applications of carbon-based nanomaterials for drug delivery in oncology.** *Medical Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes.* 2008.
- [2] L. Zhang, F. X.Gu, J. M. Chan, A. Z.Wang, R. S. Langer, O. C. Farokhzad. **Nanoparticles in Medicine: therapeutic applications and developments.** *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* 2008. Vol. 8. 5:761.
- [3] Taton T. A. Nanostructures as tailored biological probes. *Trends Biotechnol.* 2002. 20:277-279.
- [4] Whitesides G. M. **The 'right' size in Nanobiotechnology.** *Nature Biotechnology.* 2003. 21:1161-1165.
- [5] Bruchez M., Moronne M., Gin P., Weiss S., Alivisatos A. P. **Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels.** *Science.* 1998. 281:2013-2016.
- [6] Chan W. C., Sie N. M. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotropic detection. *Science.* 1998. 281:2016-2018.
- [7] Wang S., Mamedova N., Kotov N. A., Chen W., Studer J. **Antigen/antibody immunocomplex from CdTe nanoparticle bioconjugates.** *Nano Letters.* 2002. 2:817-822.
- [8] Mah C., Zolotukhin I., Fraites T. J., Dobson J., Batich C., Byrne B. J. **Microsphere-mediated delivery of recombinant AAV vectors in vitro and in vivo.** *Mol. Therapy.* 2000. 1:S239.
- [9] Panatarotto D., Prtidos C. D., Hoebeke J., Brown F., Kramer E., Briand J. P., Muller S., Prato M., Bianco A. **Immunization with peptide-functionalized carbon nanotubes enhances virus-specific neutralizing antibody responses.** *Chemistry and Biology.* 2003. 10:961-966.
- [10] Edelstein R. L., Tamanaha C. R., Sheehan P. E., Miller M. M., Baselt D. R., Whitman L. J., Colton R. J. **The BARC biosensor applied to the detection of biological warfare agents.** *Biosensors Bioelectron.* 2000. 14: 805-813.
- [11] Nam J. M., Thaxton C. C., Mirkin C. A. Nanoparticles-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins. *Science.* 2003. 301:1884-1886.
- [12] Mahtab R., Roger J. P., Murphy C. J. Protein-sized quantum dot luminescence can distinguish between 'straight', 'bent, and 'kinked' oligonucleotides.*J. Am. Chem. Soc.* 1995. 117:9099-9100.
- [13] Ma J., Wong H., Kong L. B., Peng K. W. Biomimetic processing of nanocrystallite bioactive apatite coating on titanium. *Nanotechnology.* 2003. 14:619-623.

- [14] De la Isla A., Brostow W., Bujard B., Estevez M., Rodriguez J. R., Vargas S., Castano V. M. **Nanohybrid scratch resistant coating for teeth and bone viscoelasticity manifested in tribology.** *Mat. Resr. Innovat.* 2003. **7**:110-114.
- [15] Yoshida J., Kobayashi T. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes. *J. Magn. Magn. Mater.* 1999. 194:176-184.
- [16] Molday R. S., MacKenzie D. Immunospecific ferromagnetic iron dextran reagents for the labeling and magnetic separation of cells. *J. Immunol. Methods.* 1982. 52:353-367.
- [17] Weissleder R., Elizondo G., Wittenburg J., Rabito C. A., Bengele H. H. Josephson L. **Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: characterization of a new class of contrast agents for MR imaging.** *Radiology.* 1990. **175**:489-493.
- [18] Parak W. J., Boudreau R., Gros M. L., Gerion D., Zanchet D., Micheel D. M., Williams S. C., Alivisatos A. P., Larabell C. A. **Cell motility and metastatic potential studies based on quantum dot imaging of phagokinetic tracks.** *Adv. Mater.* 2002. **14**:882-885.
- [19] Sinani V. A., Koktysh D. S., Yun B. G., Matts R. L., Pappas T. C., Motamedi M., Thomas S. N., Kotov V. A. **Collagen coating promotes biocompatibility of semiconductor nanoparticles instratified LBL films.** *Nano Letters.* 2003. **3**:1177-1182.
- [20] Zhang Y., Kohler N., Zhang M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. *Biomaterials.* 2002. 23:1553-1561.
- [21] Salata O. V. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *Journal of Nanobiotechnology.* 2004. 2:3.
- [22] Peter T. Kissinger. **Biosensors – a perspective.** *Biosensors & Bioelectronics.* (2004). **20**:2512-2516.
- [23] Terry L. A., White S. F., Tgwell L. J. **The application of biosensors to fresh produce and the wider food industry.** *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* (2005). **53**:1309-1316.
- [24] Thavarangkul P., Suppapitnam P., Karatharana P., Mattiasson B. Batch injection analysis for the determination of sucrose in sugar cane juice using immobilized invertase and thermometric detection. *Biosensor & Bioelectronic.* (1999). 4:19-25.
- [25] Mohammed I., Mullett W. M Lai E. P. C., Yeung G. M. **Is biosensor a viable method for food allergen detection?** *Analytic Chimica Acta.*(2003). **444**:97-102.
- [26] <http://www.realtechsupport.org/UB/MRII/dos/sensing/Acoustic%20Sensors.pdf>
- [27] Rana J. S., Jyoti Jindal, VikasBeniwal, VinodChhokkar. **Utility biosensors for applications in agriculture – a review.** *Journal of American Science.* (2010). **6**:353-375.
- [28] Gustavo A. Rivas, María D. Rubianes, Marcela C. Rodríguez, Nancy F. Ferreyra, Guillermina L. Luque, María L. Pedano, Silvia A. Miscoria, Concepción Parrado. **Carbon nanotubes for electrochemical biosensing.** *Talanta.* (2007). **74**:291:307.

- [29] Raghavan Baby Rakhi, Kanikrishnan Sethupathi, Sundara Ramapradu. A glucose biosensors based on deposition of glucose oxidase onto crystalline gold nanoparticle modified carbon nanotube electrode. *Journal of Physical Chemistry*. (2009). 113:3190-3194.
- [30] María J. Rivas, José Román Ganzer, María Luisa Cosme Huertas. **Aplicaciones actuales y futuras de los nanotubos de carbono**. *Informe de Vigilancia Tecnológica*.(2007).
- [31] www.Physics.umd.edu/mfuhrrer/ntresearch.html
- [32] Michael F. L. de Volder, Sameh H. Tawfick, Ray H. Baughman, A. John Hart. **Carbon nanotubes: Present and future commercial applications**. *Science*.(2013). **339**:535-539
- [33] Wang L., Liu H., Konik R. M., Misewich J. A., Wong S. S. **Carbon nanotube-based heterostructure for solar energy applications**. *Chemical Society Reviews*. (2013).
- [34] Dmitry Kazachkin. Investigation of chemical and adsorption properties of carbon nanotubes: Building a bridge for technological applications of carbon nanotubes. *Doctoral Dissertation, University of Pittsburgh*. (2009).
- [35] Zongwen Liu, Rongkun Zheng, Kyle R. Ratnac, Simon P. ringer. **The behavior of Gallium confined in carbon nanotubes during heating and cooling**. *Functional Materials Letters*. (2008). **1**:55.
- [36] Jun Yang, Jun Ma. **Carbon nanotubes as catalyst support**. *Hyperion Catalysis International, Inc*.
- [37] Abdelvary M. A. Elhissi, Waqar Ahmed, IsrarUl Hassan, Vinod R. Dhanak, Anthony D'Emanuele. **Carbon nanotubes in cancer therapy and drug delivery**. *Journal of Drug Delivery*. (2012).
- [38] Kaveh Pour Akbar Saffar, NimaJamil Pour, Ghdamreza Rouhi. **Carbon nanotubes in bone tissue engineering**. *Biomedical Engineering*. (2009).
- [39] Q. Zhao, Z. Gan, Q. Zhuang. **Electrochemical sensors based on carbon nanotubes**. *Electroanalysis*. (2002). **14**:1609.
- [40] M. Musameh, J. Wang, A. Merkoci, Y. Lin. Low potential stable NADH detection at carbon-nanotube modified glassy carbon electrodes. *Electrochemistry communications*. (2002). 4:743.
- [41] J. J. Gooding, R. Wibowo, J. Q. Liu, W. Yang, D. Losic, S. Orbons, F. J. Mearns, J. G. Shapter, D. B. Hibbert. **Protein electrochemistry using aligned carbon nanotubes array**. *Journal of the American Chemical Society*. (2003). **125**:9006-9007.
- [42] X. Yu, D. Chattopadhyay, I. Galeska, F. Papadimitrakopoulos, J. F. Rusling. **Peroxidase activity of enzymes bound to the ends of single Wall carbon nanotube forest**. *Electrochemistry Communications*. (2003). **5**:408-411.
- [43] J. Wang, A. Kawde, M. Mustafa. A reagentless alcohol biosensor based on carbon nanotube/Teflon composite electrode. *Analyst*. (2003). 128:912.

- [44] J. J. Gooding. Electrochemical DNA hybridization biosensors. *Electroanalysis*. (2002). 14:1149.
- [45] M. Pedano, G. A. Rivas. Adsorption and electrooxidation of nucleic acids at carbon nanotubes paste electrodes. *Electrochemistry Communications*. (2004). 6:10.
- [46] J. Wang, M. Li, Z. Shi, N. Li, Z. Gu. **Electrochemistry of DNA art single-wall carbon nanotubes**. *Electroanalysis*. (2004). **16**:140-144.
- [47] J. Li. H. T. Ng, A. Cassell, W. Fan, H. Chen, Q. Ye, J. Kochne, M. Meyyappan. **Surface characterization and functionalization of carbon nanofibers**. *Nano Letters*. (2003). **3**:597.
- [48] H. Hong, T. Gao, W. B. Cai. Molecular imaging with single-walled carbon nanotubes. *Nano Today*. (2009). 4:256-261.
- [49] M. J. Duffy. Role of tumor markers in patients with solid cancers: a critical review. *European journal of Internal Medicine*. (2007). 18:175-184.
- [50] X. Yu. B. Munge, V. Patel. Carbon nanotubes amplification strategies for highly sensitive immunodetection of cancer biomarkers. *Journal of the American Chemical Society*. (2006). 128:11199-11205.
- [51] J. F. Rushing, G. Sotzing, F. Papadimitrakopoulos. Designing nanomaterial-enhanced electrochemical immunosensor cancer biomarker proteins. *Bioelectrochemistry*. (2009). 76: 189-194.
- [52] N. V. Panini, G. A. Messina, E. Salinas. Integrated microfluidic systems with an immunosensor modified with carbon nanotubes for detection of prostate specific antigen (PSA) in human serum samples. *Biosensors & Bioelectronics*. (2008). 23:1145-1151.
- [53] J. A. Hu, Y. C. Lin, L. S. Wang. Carbon nanoparticle-enhanced immunoelectrochemical detection for protein tumor marker with cadmium sulfide biotracers. *Analytical Chemistry*. (2009). 81:1340-1346.
- [54] Poland C. A. Dufin R., Kinloch I., Maynard A., Wallace W. A., Seaton A. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice shows asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nature Nanotechnology*. (2008). 3:423-428.
- [55] Pacurari M. Yin X. J., Zhao J., Ding M., Leonard S., Schwegler-Berry D. Raw single-wall carbon nanotubes induce oxidative stress and activate MAPKS, AP-1, NF-kB and Akt in normal and malignant human mesothelial cells. *Environmental Health Perspective*. (2008). 116:1211-1217.
- [56] Jan Prasek, Jana Drbohlavova, Jana Chomoucka, Jaromir Hubalek, Ondrej Jasek, Vojtech Adam, Rene Kizek. **Methods for carbon nanotubes synthesis**. *Journal of Materials Chemistry*. (2010). **21**:15872-15884.
- [57] S. Ijiima. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*. (1991). 354:56-58.
- [58] T. Guo, P. Nikolaev, A. Thess, D. T. Colbert, R. E. Smalley. **Fullerene nanotubes inelectric-fields**. *Chemical Physics Letters*. (1995). **243**:49-54.

-
- [59] Y. J. Zhu, T. J. Lin, Q. X. Liu, Y. L. Chen, G. F. Zhang, H. F. Xiong, H. Y. Zhang. **The effect of nickel content of composite catalysts synthesized by hydrothermal method of carbon nanotubes.** *Materials Science and Engineering: B.* (2006). **127**:198-202.
- [60] Y. C. Liu, N. N. Zheng, J. D. Huang, B. M. Sun. **Advanced Polymer Science and Engineering.** *Trans Tech Publications Ltd. Stafa Zurich.* (2011). 99-103.
- [61] Yang. D. P., Cui. D. X. **Advances and prospects of gold nanorods.** *Asian Journal of Chemistry.* (2008). **3**:2010-2022.
- [62] Burda C., Chen X., Narayann R., El-Sayed M. A. **Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes.** *Chemical Reviews.* (2005). **105**:1025-1102.
- [63] Antonovych T. T. **Gold nephropathy.** *Annals of Clinical and Laboratory Science.* (1981). **11**:386-391.
- [64] Lewis A. J., Walz D. T. **Immunopharmacology of gold.** *Progress in Medicinal Chemistry.* (1982). **19**:1-58.
- [65] Fricker S. P. Recent advances in the chemistry of gold (I). *Gold Bulletin.* (1996). 29:53.
- [66] Merchant B. Gold, the noble metal and the paradoxes of its toxicology. *Biologicals.* (1998). 26:49-59.
- [67] Ujfalussy I., Koo E., Sestak M., Gergely P. Z. **Treatment advances in psoriatic arthritis.** *Reumathology.* (2003). **62**:255-160.
- [68] Champion G. D., Graham G. G., Ziegler J. B. **The gold complexes.** *Baillieres Clinical Reumathology.* (1990). **4**:491-534.
- [69] Belies R. P. **Patty's Industrial Hygiene and Toxicology 4th ed.** *John Wiley and Sons Inc., New York.* (1994). 2021-2032.
- [70] Bair R. L., Harris G. J., Lyon D. B., Komorowski R. A. **Noninfectious inflammatory response to gold weight eyelid implants.** *Ophtalmic Plastic and Reconstructive Surgery.* (1995). **11**:209-214.
- [71] Pertmer T. M., Eisenbraun M. D., McCabe D., Prayaga S. K., Fuller D. H., Haynes J. R. **Characterization of a messenger RNA polynucleotide vaccine vector.** *Vaccine.* (1995). **13**:1427-1430.
- [72] Grzelezak M., Pérez-Juste J., Mulvaney P. Liz-Marzan L. M. **Size and shape control in gold nanoparticle synthesis.** *Chemical Society Reviews.* (2008). **37**:1783-1791.
- [73] Murphy C. J., Sau T. K., Gole A. M., Orendorff C. J., Gao J., Gou L., Hunyadi S. E., Li T. **Anisotropic metal nanoparticles: synthesis, assembly, and optical applications.** *Journal of Physical Chemistry.* (2005). **109**:13857-13870.
- [74] Baptista P., Pereira E., Eaton P., Doria G., Miranda A., Gomez I., Quaresma P., Franco R. **Gold nanoparticles for the development of clinical diagnosis methods.** *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* (2008). **391**:943-950.
- [75] Turkevich J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society.* (1951). 55.
-

- [76] Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in nanodisperse gold suspensions. *Nature Physical Science*. (1973). 241:20-22.
- [77] He Xu, Liping Zheng, Sujie Xing, Gvovue Shi, Yuezhang Xian, Litong Jin. Microwave-radiated synthesis of gold nanoparticles/carbon nanotubes composites and its application to voltammetric detection of trace mercury (II). *Electrochemistry Communications*. (2008). 158:48-52.
- [78] Renyung Zhang, Magnus Hummlegard, Hakan Olin. Simple and efficient gold nanoparticles deposition on carbon nanotubes with controllable particle sizes. *Materials Science and Engineering B*. (2009). 158:48-52.
- [79] Y. Lin, K. A. Watson, S. Ghose, J. G. Smith, T. V. Williams, R. E. Crooks, W. Cao, J. W. Connell. **Direct mechanochemical formation of metal nanoparticles on carbon nanotubes**. *Journal of Physical Chemistry*. (2009). **113**:14858-14862.
- [80] Nidhi Chauhan, Chandra Shekhar Pundir. An amperometric uric acid biosensor based on multiwalled carbon nanotube-gold nanoparticle composite. *Analytical Biochemistry*. (2011). 413:97-103.
- [81] Sasidharan Sasikala Jyothirmayee Aravind, TessyTheres Baby, Thevasahayam Arochiadoss, Raghavan Baby Rakhi, Sundara Ramaprubhu. **A cholesterol biosensor based on gold nanoparticles decorated functionalized grapheme nanoplatelets**. *Thin Solid Films*. (2011). **519**:5667-5672.
- [82] NeetyJha, Sundara Ramaprubhu. Development of Au nanoparticles dispersed carbon nanotubes based biosensor or the detection of paraoxon. *Nanoscale*. (2010). 2:806-810.
- [83] Raghavan Baby Rakhi, Kanikrishnan Sethupathi, Sundara Ramaprubhu. A glucose biosensor based on deposition of glucose oxidase onto crystalline gold nanoparticle modified carbon nanotube electrode. *Journal of Physical chemistry*. (2009). 113:3190-3194.
- [84] Chauhan N., Singh A., Naranq J., Dahiya S., Pundir C. S. Development of amperometric lysine biosensors based on Au nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes/polymers modified Au electrodes. *Analyst*. (2012). 137:5113-22.
- [85] Ke-Jing Huang, De-Jun Niu, Wan-Zhen Xie, Wei Wong. A disposable electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based nano-Au/multi-walled carbon nanotubes-chitosan nanoparticle film modified glassy carbon electrode. *Analytical Chimica Acta*. (2010). 659:102-108.
- [86] <http://orthomolecular.org/nutrients/glutathione.html>
- [87] M. Hepel, E. Tewksbury. **Environmental aspects of GSH redox regulation and oxidative stress**. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. (2003). **552**:291.
- [88] S. C. Street, A. J. Gellman. Quantitative adsorbate orientation from vibrational spectra: ethoxides on Cu (III). *Journal of Chemical Physics*. (1996). 105:7158.

- [89] M. Osawa, K. I. Ataka, K. Yoshii, T. Yotsuyanagi. **Surface-enhanced infrared ATR spectroscopy for in situ studies of electrode/electrolyte interfaces.** *Journal of Electronic Spectroscopy Related Phenomena.* (1993). **64/65**:371.
- [90] R. Jelinek, S. Kolusheva. **Carbohydrate biosensors.** *Chemical Reviews.* (2004). **104**:5987.
- [91] E. M. Marti, C. Methivier, C. M. Pradier. (S)-cysteine chemisorption on Cu (110), from the gas or liquid phase: an FT-RAIRS and XPS study. *Langmuir.* (2004). 20:10223.
- [92] S. Kanagaraja, S. Alaeddine, C. Eriksson, J. Lausmaa, P. Tengvall, A. Wennerberg, H. Nygren. Surface characterization, protein adsorption, and initial cell-surface reactions on glutathione and 3-mercapto-1,2-propanediol immobilized on gold. *Journal of Biomedical Materials Research.* (1999). 46:582.
- [93] M. Bieri, T. Bürgi. L-glutathione chemisorption on gold and acid/base structural changes: a PM-IRRAS and time-resolved in situ ATR-IR spectroscopy study. *Langmuir.* (2005). 21:1354.
- [94] N. W. Pirie, K. G. Pinhey. **The titration curve of glutathione.** *Journal of Biological Chemistry.* (1929). 321-333.
- [95] Binyang Chu, Tingting Qi, Jinfeng Liao, Jingrong Peng, Wenting Li, Shaozhi Fu, Feng Luo, Zhiyong Qian. **Colorimetric detection of cancer biomarker based on pH induced color change.** *Sensors and Actuators B: Chemical.* (2012). **166/167**:56-60.
- [96] Bettina Voutou, Eleni Chryshanthi Stefanaki. **Electron microscopy: The basics.** *Physics of Advanced Materials School.* (2008). 1-11.
- [97] Princeton Instruments. Raman spectroscopy basics. 1-5.
- [98] Concepción Domingo, Gonzalo Santoro. **Raman spectroscopy of carbon nanotubes.** *Óptica pura y aplicada.* (2007). **40**:175-186.
- [99] C. P. Sherman Hsu. Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry. *Prentice Hall.* (1997). 15:247-283.
- [100] <http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/InfraRed/infrared.htm>
- [101] Peter Graat. **X-Ray Diffraction.** *Koninklijke Phillips Electronics N. V.* (2008).1-4.
- [102] http://physicalchemistryresources.com/Book5_sections/TA_Applications%20Thermogravimetric%20AnalysisHTML_1.htm
- [103] Robert Welch. **Carbon nanotube growth via spray pyrolysis.** *Undergraduate Honors Theses.* (2010). 72.
- [104] López T. Julián. **Síntesis de nanotubos de carbono por pirólisis de alfa-pineno.** *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.* (2009).
- [105] Peng-Xiang Hou, Chang Liu, Hui-Ming Cheng. **Purification of carbon nanotubes.** *Carbon.* (2008). **46**:2003-2025.
- [106] Banerjee S. Hemraj-Benny T., Wong S. S. **Covalent surface chemistry of single-walled carbon nanotube.** *Advanced Materials.* (2005). **17(1)**:17-29.

- [107] Chen J., Rao A. M., Lyuksyutov S., Itkis M. E., Hamon M. A., Hu H., Cohn R. W., Elkund P. C., Colbert D. T., Smalley R. E., Haddon R. C. **Dissolution of full-length single-walled carbon nanotubes.** *Journal of Physical Chemistry B.* (2001). **105**:2525.
- [108] Lui J., Rinzler A. G., Dai H., Hafner J. H., Bradley R. K., Boul P. J., Lu A., Iverson T., Shelimov K., Huffman C. B., Rodríguez-Macías F., Shon Y. S., Lee T. R., Colbert D. T., Smalley R. E. **Fullerene pipes.** *Science.* (1998). **280**:1253.
- [109] Martínez M. T., Callejas M. A., Benito A. M., Cochet M., Seegev T., Anson A., Schreibert J., Gordon C., Marhic C., Chauvet O., Fierro J. L. G., Maser W. K. **Hydrogen adsorption studies on single wall carbon nanotubes.** *Carbon.* (2003). **280**:1253.
- [110] Zhang J., Zou H., Qing Q., Yang Y., Li Q., Liu Z., Guo X., Du Z. **Effect of chemical oxidation on the structure of single-walled carbon nanotubes.** *Journal of Physical Chemistry B.* (2003). **107**:3712.
- [111] Hamon M. A., Chen J., Hu H., Chen Y., Itkis M. E., Rao A. M., Elkund P. C., Haddon R. C. **Dissolution of single-walled carbon nanotubes.** *Advanced Materials.* (1999). **11**:834.
- [112] Rinzler A. G., Liu J., Dai H., Nikolaev P., Huffman C. B., Rodríguez-Macías F. J., Boul P. J., Lu A. H., Heymann D., Colbert D. T., Lee R. S., Fischer J. E., Rao A. M., Elkund P. C., Smalley R. E. **Large scale purification of single-wall carbon nanotubes: process, product, and characterization.** *Applied Physics.* (1998). **67**:29.
- [113] Hu H., Zhao B., Itkis M. E., Haddon R. C. **Nitric acid purification of single-walled carbon nanotubes.** *Journal of Physical Chemistry B.* (2003). **107**:13838.
- [114] Zhao B., Hu H., Haddon R. C. Synthesis and properties of water-soluble single-walled carbon nanotube-poly(m-aminobenzene sulfonic acid) Graft copolymer. *Advanced Functional Materials.* (2004). **14**:71.
- [115] Maxim N. Tchoul, Warren T. Ford, Giulio Lolli, Daniel E. Rasasco, Sivaram Arepalli. **Effect of mild nitric acid oxidation on dispersability, size, and structure of single walled carbon nanotubes.** *Chemical Materials.* (2007). **19**:5765-5772.
- [116] Tzitzios V., Georgakilas V., Oikonomou E., Karakassides M., Petridis D. Synthesis and characterization of carbon nanotube/metal nanoparticle composites well dispersed in organic media. *Carbon.* (2006). **44**:848-853.
- [117] Linda Vaisman, H. Daniel Wagner, Gad Marom. **The role of surfactants in dispersion of carbon nanotubes.** *Advances in Colloid and Surface Science.* (2006). **128/130**:37-46.
- [118] Akshaya K. Samal, Theruvakkattil S. Sreeprasad, Thalappil Pradeep. **Investigation of the role of NaBH₄ in the chemical synthesis of gold nanorods.** *Journal of Nanoparticle Research.* (2010). **12**:1777-1786.
- [119] Yazhuo Shang, Chengzhi Min, Jun Hu, Tianmiao Wang, Honglai Liu, Ying Hu. **Synthesis of gold nanoparticles by reduction of HAuCl₄ under UV radiation.** *Solid State Sciences.* (2013). **15**:15791-15800.

- [120] Jeffrey A. Gerbec, Donny Magana, Aaron Washington, Geoffrey F. Satrouse. **Microwave-enhanced reaction rates for nanoparticle synthesis.** *Journal of American Chemical Society.* (2005). **127**:15791-15800.
- [121] Woon-kie Paik, Subong Han, Woon-sup Shin, Yousung Kim. **Adsorption of carboxylic acids on gold by anodic reaction.** *Langmuir.* (2003). **19**:4211-4216.
- [122] R. Nagarajan, E. Ruckenstein. **Molecular theory of microemulsions.** *Langmuir.* (2010). **16**:6400-6415.

TABLAS Y FIGURAS

- Fig. 1.1 EmerLahiff, Carol Lynam, Niamh Gilmartin, Richard O' Kennedy, Dermot Diamond. **The increasing importance of carbon nanotubes and nanostructured conducting polymers in biosensors.** *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. **398**:1575-1589.
- Fig. 1.2 Salata O. V. **Applications of nanoparticles in biology and medicine.** *Journal of Nanobiotechnology.* 2004. **2**:3.
- Fig. 2.1 <http://www.esonn.fr/0oldweb/Esonn07/cours%202007/D.Altschuh.pdf>
- Fig. 2.2 <http://www.esonn.fr/0oldweb/Esonn07/cours%202007/D.Altschuh.pdf>
- Fig. 2.3 http://www.dropsens.com/screen_printed_electrodes_pag.html
- Fig. 2.4 <http://www.rci.rutgers.edu/~longhu/Biacore/>
- Fig. 2.5 http://www.wikid.eu/index.php/Acoustic_sensor
- Fig. 2.6 <http://www.etseq.urv.es/BBG/technology/immuno/bac2.html>
- Fig. 2.7 <http://virag.elte.hu/kurti/science.html>
- Fig. 2.8 <http://www.emeraldinsight.com/journals.htm/journals.htm?issn=1726-0531&volume=8&issue=3&articleid=1891323&show=html>
- Fig. 2.9 <http://www.nano-enhanced-wholesale-technologies.com/faq/carbon-forms.htm>
- Fig. 2.10 <http://www.nature.com/am/journal/2011/201103/full/am201172a.html>
- Fig. 2.11 <http://cben.rice.edu/ShowInterior.aspx?id=380>
- Fig. 2.12 <http://www.voyle.net/Nano%20Medicine%202005/Medicine%202005-0007.htm>
- Fig. 2.13 Gustavo A. Rivas, María D. Rubianes, Marcela C. Rodríguez, Nancy F. Ferreyra, Guillermina L. Luque, María L. Pedano, Silvia A. Miscoria, Concepción Parrado. **Carbon nanotubes for electrochemical biosensing.** *Talanta.*(2007). **74**:291:307.
- Fig. 2.14 M. Musameh, J. Wang, A. Merkoci, Y. Lin. Low potential stable NADH detection at carbon-nanotube modified glassy carbon electrodes. *Electrochemistry communications.* (2002). **4**:743.
- Fig. 2.15 Constantine P. Firme III, Prabhakar R. Bandaru. **Toxicity issues in the application of carbon nanotubes in biological systems.** *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* (2010). **6**:245-256.

-
- Fig. 2.16 <http://www.ifw-dresden.de/institutes/iff/research/Carbon/fullerenes/production-and-separation/>
- Fig. 2.17 <http://ipn2.epfl.ch/CHBU/NTproduction1.htm>
- Fig. 2.18 <http://ipn2.epfl.ch/CHBU/NTproduction1.htm>
- Fig. 2.19 <http://students.chem.tue.nl/ifp03/synthesis.html>
- Fig. 2.20 www.chinaglutathoine.com
- Fig. 2.21 Binyang Chu, Tingting Qi, Jinfeng Liao, Jingrong Peng, Wenting Li, Shaozhi Fu, Feng Luo, Zhiyong Qian. **Colorimetric detection of cancer biomarker based on pH induced color change.** *Sensors and Actuators B: Chemical.* (2012). **166/167**:56-60.
- Fig. 2.22 Binyang Chu, Tingting Qi, Jinfeng Liao, Jingrong Peng, Wenting Li, Shaozhi Fu, Feng Luo, Zhiyong Qian. **Colorimetric detection of cancer biomarker based on pH induced color change.** *Sensors and Actuators B: Chemical.* (2012). **166/167**:56-60.
- Fig. 2.23 Bettina Voutou, Eleni Chryshanthi Stefanaki. **Electron microscopy: The basics.** *Physics of Advanced Materials School.* (2008). 1-11.
- Fig. 2.24 <http://apocketmerlin.tumblr.com/post/14864414040/analysis-of-cell-components-magnification>
- Fig. 2.25 Priceton Instruments. Raman spectroscopy basics. 1-5.
- Fig. 2.26 Concepción Domingo, Gonzalo Santoro. **Ramanspectroscopy of carbón nanotubes.** *Óptica pura y aplicada.* (2007). **40**:175-186.
- Fig. 2.27 <http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/InfraRed/infrared.htm>
- Fig. 2.28 Peter Graat. **X-Ray Diffraction.** *Koninklijke Phillips Electronics N. V.* (2008).1-4.
- Fig. 2.29 http://physicalchemistryresources.com/Book5_sections/TA_Applications%20Thermogravimetric%20AnalysisHTML_1.htm
- Fig. 2.30 http://physicalchemistryresources.com/Book5_sections/TA_Applications%20Thermogravimetric%20AnalysisHTML_1.htm
- Fig. 3.1 López T. Julián. **Síntesis de nanotubos de carbono por pirólisis de alfa-pineno.** *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.* (2009).
- Fig. 3.2 <http://labquimica.wordpress.com/category/laboratorio/page/2>
- Fig. 3.3 Vinod Gupta, TawfikSaleh. Synthesis of carbon nanotube-metal oxides composites; adsorption and photo-degradation. *Carbon Nanotubes: From Research to Applications.* (2011).
- Fig. 3.4 Linda Vaisman, H. Daniel Wagner, Gad Marom. **The role of surfactants in dispersion of carbon nanotubes.** *Advances in Colloid and Surface Science.* (2006). **128/130**:37-46.
-

- Fig. 3.6 Yazhuo Shang, Chengzhi Min, Jun Hu, Tianmiao Wang, Honglai Liu, Ying Hu. **Synthesis of gold nanoparticles by reduction of H_{AuCl}₄ under UV radiation.** *Solid State Sciences*. (2013). **15**:15791-15800.
- Fig. 3.7 Charles Liotta, Charles A. Eckert. **Sustainable synthesis of nanoparticles.** *Georgia Institute of Technology, Poster*. (2009).
- Fig. 3.8 Web2.clarkson.edu/programs/goia_group/research.php
- Tabla 2.1 <http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/InfraRed/infrared.htm>