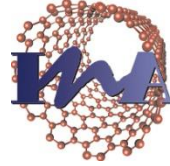




Universidad
Zaragoza



Instituto Universitario de Investigación
en Nanociencia de Aragón
Universidad Zaragoza

NANOESTRUCTURAS PLASMÓNICAS CORE-SHELL BASADAS EN NANOCILINDROS DE Au RECUBIERTOS DE SÍLICE MESOPOROSA

Micaela Bea Lázaro

Director: María Pilar Pina Iritia

**Departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del
Medio Ambiente**

**Instituto Universitario de Investigación en Nanociencia
de Aragón**

Zaragoza, Junio 2020



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza

INDICE

RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	4
LISTA DE ACRÓNIMOS.....	5
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. OBJETIVO.....	9
3. PROCESO EXPERIMENTAL.....	10
3.1 ESTRATEGIA DE SÍNTESIS.....	10
3.2 SÍNTESIS DE NANOCILINDROS DE ORO.....	12
3.2.1 Síntesis A.....	12
3.2.2 Síntesis B.....	14
3.3 SÍNTESIS DEL RECUBRIMIENTO DE SÍLICE: AuNR@mSiO ₂	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
4.1 TRABAJO CON LA SÍNTESIS A.....	16
4.2 TRABAJO CON LA SÍNTESIS B.....	21
4.3 ESTUDIO DE LOS RESULTADOS.....	23
4.4 SÍNTESIS DEL RECUBRIMIENTO DE SÍLICE: AuNR@mSiO ₂	25
5. ESTUDIO DEL RECUBRIMIENTO DE NANOCILINDROS DE ORO CON SÍLICE MESOPOROSA.....	25
6. CONCLUSIONES.....	29
7. BIBLIOGRAFÍA.....	29
ANEXO 1.....	32

RESUMEN

En este Trabajo Fin de Grado se ha llevado a cabo un estudio experimental y un estudio bibliográfico sobre síntesis de nanoestructuras plasmónicas con un núcleo de oro y recubiertas de una capa de sílice mesoporosa, para su aplicación en espectroscopía Raman-SERS (espectroscopía Raman amplificada en superficie).

En primer lugar, se han realizado dos síntesis diferentes de nanocilindros de oro para estudiar su incidencia sobre la estabilidad y reproducibilidad de las nanoestructuras obtenidas. La principal diferencia entre ellas reside en la etapa de reducción de Au (III) a Au (I). En una de ellas se lleva a cabo una etapa de pre-reducción mediante ácido 5-bromosalicílico (9,1 mM); mientras que en la otra se utiliza ácido clorhídrico (18,36 mM) que provoca la reducción del oro de manera inmediata. La morfología (relación de aspecto) y dimensiones de los nanocilindros obtenidos se han caracterizado mediante espectroscopia de absorción UV-Vis y microscopía electrónica de transmisión (TEM).

En segundo lugar, se han propuesto las condiciones de síntesis de la cubierta de sílice alrededor de los nanocilindros metálicos con un espesor determinado a partir de resultados publicados en la literatura. El parámetro a controlar propuesto es la relación molar Si/Au del medio de reacción en que se añade la disolución de nanocilindros de oro y TEOS (ortosilicato de tetraetilo) como precursor de sílice. Además, se presentan y discuten los resultados experimentales obtenidos en el primer intento de síntesis de nanoestructuras plasmónicas core-shell.

En tercer y último lugar, se ha realizado un estudio bibliográfico sobre la eliminación del surfactante para la liberación de la estructura porosa de la sílice mediante extracción con solventes. Esta etapa es crucial en la síntesis de las nanoestructuras plasmónicas core-shell basadas en nanocilindros de oro recubiertas de sílice mesoporosa. En particular, se ha de evitar la alteración del núcleo metálico, sinterización del nanocilindro por elevadas temperaturas o disolución del mismo en medio ácido; y además conseguir la mayor porosidad posible para mejorar las propiedades de adsorción de los nanocilindros de oro y por tanto su respuesta en detección mediante Raman-SERS.

ABSTRACT

In this Undergraduate Dissertation, an experimental study and a bibliographic study on the synthesis of plasmonic nanostructures with a gold core and coated with a layer of mesoporous silica have been carried out, for its application in Raman-SERS spectroscopy (Raman surface amplified spectroscopy).

Firstly, two different syntheses of gold nanorods have been carried out to study their impact on the stability and reproducibility of the nanostructures obtained. The main difference between them lies in the stage of reduction from Au (III) to Au (I). In one of them, a pre-reduction stage is carried out using 5-bromosalicylic acid (9.1 mM); while in the other, hydrochloric acid (18.36 mM) is used, which causes the reduction of gold immediately. The morphology (aspect ratio) and dimensions of the nanorods obtained have been characterized by UV-Vis absorption spectroscopy and transmission electron microscopy (TEM).

Secondly, the conditions of synthesis of the silica coating around metallic nanorods with a certain thickness have been proposed from results published in the literature. The proposed control parameter is the molar Si/Au ratio of the reaction medium in which the gold nanorods solution and TEOS (tetraethyl orthosilicate) are added as silica precursor. In addition, the experimental results obtained in the first attempt of synthesis of plasmonic core-shell nanostructures are presented and discussed.

Thirdly and finally, a literature study on the removal of surfactant for the release of the porous structure of silica by solvent extraction has been carried out. This stage is crucial in the synthesis of the plasmonic core-shell nanostructures based on gold nanorods coated with mesoporous silica. In particular, alteration of the metal core, sintering of the nanorods by high temperatures or dissolution of the nanorods in an acidic medium must be avoided. In addition, the highest possible porosity must be achieved in order to improve the adsorption properties of the gold nanorods and therefore their response in detection using Raman-SERS.

LISTA DE ACRÓNIMOS

5-BrSA: ácido 5-bromosalicílico

CTBA: bromuro de hexadeciltrimetilamonio

TEOS: ortosilicato de tetraetilo

SPR: Surface Plasmon Resonance

SERS: Surface Enhancement Raman Spectroscopy

EF: factor de mejora

TEM: microscopía electrónica de transmisión

UV-Vis: ultravioleta visible

AuNR: nanocilindro de oro

1. INTRODUCCIÓN

La síntesis de nanomateriales es una de las ramas en las que más se está trabajando en estos últimos años dentro de la nanociencia. Principalmente, se debe a que dichos materiales cuentan con un gran potencial para el desarrollo de aplicaciones, ya que su área superficial por unidad de volumen es muy elevada si la comparamos con los mismos materiales pero con dimensiones macroscópicas. Al trabajar a nanoescala aparecen efectos cuánticos, debido al cambio en el tamaño o en la forma de estos materiales, que afectan a las propiedades ópticas, eléctricas y magnéticas^{1,2}.

Gracias a las nuevas propiedades que surgen al trabajar en la nanoescala, los nanomateriales se están investigando en una gran variedad de estudios científicos y aplicaciones tecnológicas. Por ejemplo, en la detección de biomoléculas, en la terapia fototérmica o en estudios fuera del ámbito biológico como por ejemplo, en catálisis, aplicación en sensores o como componentes en dispositivos LEDs y células solares.

Este trabajo se fundamenta en las propiedades ópticas que presentan las nanopartículas metálicas y que derivan de la resonancia de su plasmón de superficie (SPR del inglés Surface Plasmon Resonance). Durante varios años, se ha estudiado que el efecto SPR ocurre en las nanopartículas y nanoestructuras metálicas debido a que los electrones deslocalizados de la banda de conducción del metal oscilan de forma colectiva cuando incide sobre la superficie metálica radiación electromagnética de una longitud determinada, tal y como se muestra en la figura 1a. Dicho de otra manera, el efecto SPR sucede cuando la frecuencia de oscilación de la nube de electrones, que depende de cuatro factores principalmente: la densidad de los electrones, la masa efectiva de los electrones, la forma y el tamaño de la distribución de carga, coincide con la frecuencia característica de la onda electromagnética incidente. Para que esto ocurra, el tamaño de la nanopartícula tiene que ser mucho menor que la longitud de onda electromagnética incidente^{3,4}. Sin embargo, para nanopartículas con geometría cilíndrica, la oscilación de los electrones se localiza a lo largo del eje longitudinal y del eje transversal de la nanopartícula, respectivamente. Este fenómeno lleva a la observación de dos bandas en el espectro de absorbancia UV-Vis⁵. Por un lado, está la banda plasmónica transversal que es la banda más débil y que tiene lugar cuando el vector del campo eléctrico es perpendicular al eje geométrico. Y por otro lado, está la banda plasmónica longitudinal que tiene lugar cuando el vector del campo eléctrico es paralelo al eje geométrico⁶ (figura 1b).

El fenómeno de resonancia del plasmón superficial de las nanopartículas metálicas y en particular, la intensidad y posición espectral del pico de absorbancia del plasmón de superficie, es importante en nuestro trabajo cuya aplicación final es en espectroscopia Raman SERS (del inglés *Surface Enhanced Raman Spectroscopy*). La resonancia del plasmón superficial provoca una amplificación localizada del campo electromagnético en las proximidades de la superficie metálica, en los denominados *hot-spot* (figura 2). El término *hot-spot* hace referencia al espacio entre las nanopartículas metálicas donde se produce la intensificación del campo electromagnético y, eventualmente la amplificación de la señal Raman de las moléculas confinadas en ese entorno^{7,8}.

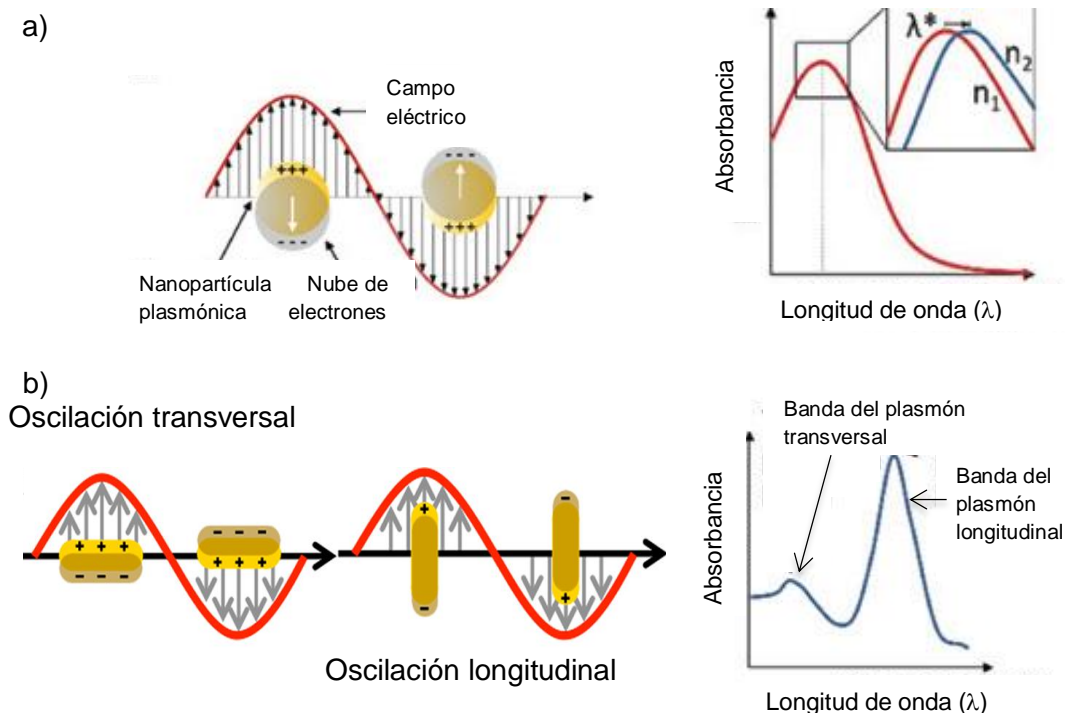


Figura 1. Representación de la resonancia del plasmón de superficie (SPR): a) Nanopartícula esférica; b) Nanocilindro. Adaptado desde^{9,10}.

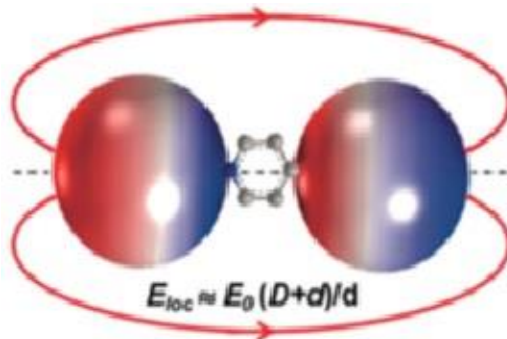


Figura 2. Representación simplificada de la amplificación del campo electromagnético en el *hot spot* de dos nanopartículas esféricas¹¹.

La espectroscopía Raman se basa en el principio de excitación y dispersión inelástica de luz monocromática, que generalmente procede de un láser, de las moléculas presentes en una muestra cuyas características moleculares se desean determinar. Se produce cuando un fotón incide sobre una molécula e interacciona con la nube de electrones de los enlaces de esa molécula. Como se muestra en la figura 3, en el efecto Raman la molécula es excitada desde el estado fundamental a un estado de energía virtual y se relaja a un estado vibracional excitado, generando lo que se llama dispersión Raman Stokes. Pero si la molécula parte de un estado excitado, la dispersión se denomina dispersión Raman anti-Stokes¹².

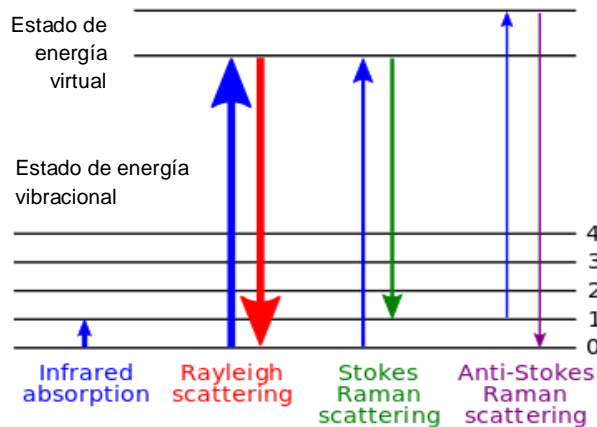


Figura 3. Diagrama de niveles de energía que muestra los procesos involucrados en la espectroscopia Raman.

La técnica de espectroscopia Raman es ópticamente deficiente porque 1 de cada 10^6 fotones son dispersados de manera inelástica. De ahí la necesidad de utilizar una técnica de Raman denominada en inglés *Surface Enhanced Raman Spectroscopy* (SERS). Este efecto se basa en la amplificación y mejora de la intensidad de la señal Raman de determinadas moléculas sobre la superficie de una nanoestructura metálica aprovechando la resonancia del plasmón superficial. La causa de esta mejora hoy en día aún se está estudiando, aunque la mayoría de los trabajos de investigación la atribuyen a dos mecanismos fundamentalmente: el mecanismo electromagnético (EM) y el mecanismo químico o de transferencia de carga (TC)^{11,13}. La alta sensibilidad de esta técnica SERS junto con la especificidad molecular de la espectroscopia Raman hace que hoy en día sea una de las técnicas más prometedoras en diferentes aplicaciones de la química, incluyendo la ciencia de polímeros y materiales, la bioquímica y biodetección, la catálisis y la electroquímica.

Para cuantificar en una molécula la mejora de la señal Raman-SERS con respecto a la señal Raman sin el efecto SERS, se usa un parámetro denominado el Factor de Mejora (del inglés *enhancement factor*, EF). El EF además de depender de parámetros como la composición, la topología o el entorno dieléctrico de la superficie metálica, también depende de la forma y el tamaño, porque tener una mayor relación de aspecto (longitud/anchura) supone un aumento en la intensidad del SPR y por tanto en el EF. No menos importante es la influencia de la morfología de la nanopartícula en la posición espectral de las bandas SPR. Para una morfología de tipo nanocilindro, la banda plasmónica debido al SPR longitudinal se desplaza hacia longitudes de onda de la zona infrarroja del espectro, que está comprendida entre los 760-780 nm hasta los 10.000 nm. Sin embargo, la banda plasmónica de nanopartículas con morfología esférica se encuentra alrededor de los 500 nm como se muestra en la figura 4. En este trabajo, se ha buscado sintetizar de manera reproducible nanopartículas de oro con una morfología de tipo nanocilindros o nanorods con una relación de aspecto controlada¹⁴ para su posterior aplicación en espectroscopia Raman-SERS utilizando 785 nm como línea laser.

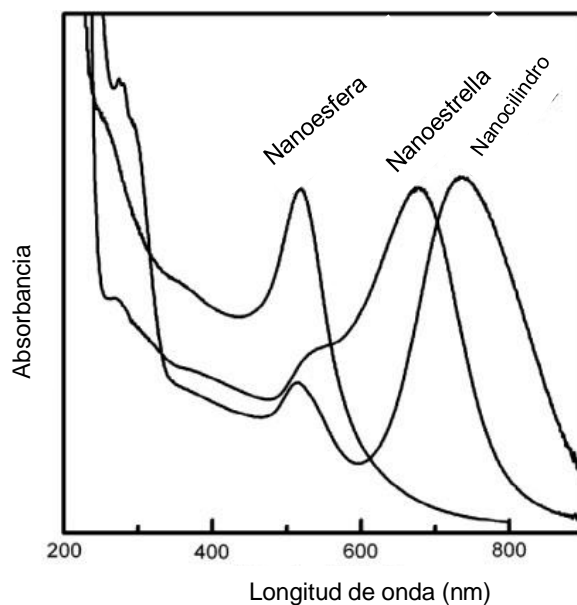


Figura 4. Espectro de absorción en función de la morfología de las nanopartículas¹⁵.

La síntesis de nanocilindros de oro (AuRN) que mayormente se ha estudiado está basada en cinco etapas principalmente. La primera etapa es una pre-reducción, en la cual se produce la reducción de Au (III) a Au (I). En la segunda etapa se produce la síntesis y crecimiento de semillas de oro. En la tercera etapa los iones plata interactúan con el CTBA. En la cuarta etapa se produce el crecimiento de los nanocilindros y en la quinta y última etapa, se produce la terminación del crecimiento (tal y como se describe en el apartado 3.1).

Posteriormente, los nanocilindros de oro se recubren de sílice mesoporosa para mejorar su estabilidad y sus propiedades superficiales. Permitiendo desarrollar aplicaciones como la biocompatibilidad, la química superficial o la adsorción de moléculas para la detección SERS.

2. OBJETIVO

El principal objetivo de este trabajo es la síntesis reproducible de nanocilindros de oro estables con una relación de aspecto (longitud/anchura) controlada. El estudio también abarca el posterior recubrimiento de las nanoestructuras metálicas con una capa de sílice mesoporosa de espesor controlado y la posterior eliminación del agente surfactante de la manera menos agresiva posible, protegiendo su núcleo metálico y asegurándonos un nivel alto de porosidad. El punto de partida de este trabajo ha sido el trabajo fin de master de E. Bernad¹⁶: *Development of Au Nanorods coated with mesoporous SiO₂ as SERS substrates for Gas Phase Detection*. Master in Nanostructured Materials for Nanotechnological Applications. Zaragoza, 2018-2019.

Para lograr los objetivos descritos anteriormente, se han realizado las siguientes tareas:

- Comparación de diferentes protocolos de síntesis de nanocilindros de oro.
- Síntesis y caracterización de nanocilindros de Au con una relación de aspecto controlado.
- Propuesta de síntesis de nanocilindros de oro recubiertos de sílice mesoporosa de espesor controlado y de las condiciones para la eliminación del agente estructurante a partir de la revisión del estado del arte en síntesis de nanocilindros de oro recubiertos de sílice mesoporosa.
-

3. PROCESO EXPERIMENTAL

3.1 ESTRATEGIA DE SÍNTESIS

La síntesis de nanocilindros de oro (AuNR) se basa en la reducción química controlada de Au (III) a Au (I) y posteriormente a Au (0), para lo cual se usan agentes reductores y estabilizadores de los coloides metálicos formados.

El mecanismo de síntesis mayoritariamente aceptado se basa en las etapas representadas en la figura 5. En la primera etapa se produce la pre-reducción, el AuCl_4^- se reduce a Au (I) y se une a las micelas del surfactante CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamonio), formando las micelas $[\text{AuCl}_2^- - \text{CTAB}]$. La velocidad de reacción de esta etapa puede ser monitorizada por la pérdida de absorbancia a 400 nm del medio de reacción. En la segunda etapa, se produce el crecimiento de nanopartículas de oro por la colisión de las micelas de $[\text{Au (I)-CTAB}]$ y las semillas de oro catiónicas sintetizadas. Posteriormente, en la tercera etapa, los iones plata interactúan con los aniones del CTAB, para reducir la densidad de carga de estos aniones y mejorar la interacción del oro y el tensoactivo (CTBA) en las caras expuestas (100) favoreciendo el crecimiento a nanocilindros en estas caras, a pesar de que el potencial de superficie de los iones plata es mayor que el de un sustrato metálico, como puede ser el oro, lo que sugiere una mayor rapidez de la disposición de la plata en las caras de la varilla (110). Este mecanismo apoya la observación experimental de que cambiar la concentración de plata, puede cambiar las dimensiones de los nanocilindros y la relación de aspecto resultante. Una mayor concentración de plata debería conducir a una mayor relación de aspecto de los nanocilindros sintetizados. En la cuarta etapa, se produce el crecimiento y el alargamiento de la estructura de los AuNR, con la formación de nuevas caras (100) que están protegidas por el surfactante que se encuentra en exceso, por lo que el crecimiento longitudinal está más favorecido frente al crecimiento transversal. En la quinta etapa de la síntesis se produce la terminación del crecimiento de los nanocilindros de oro.

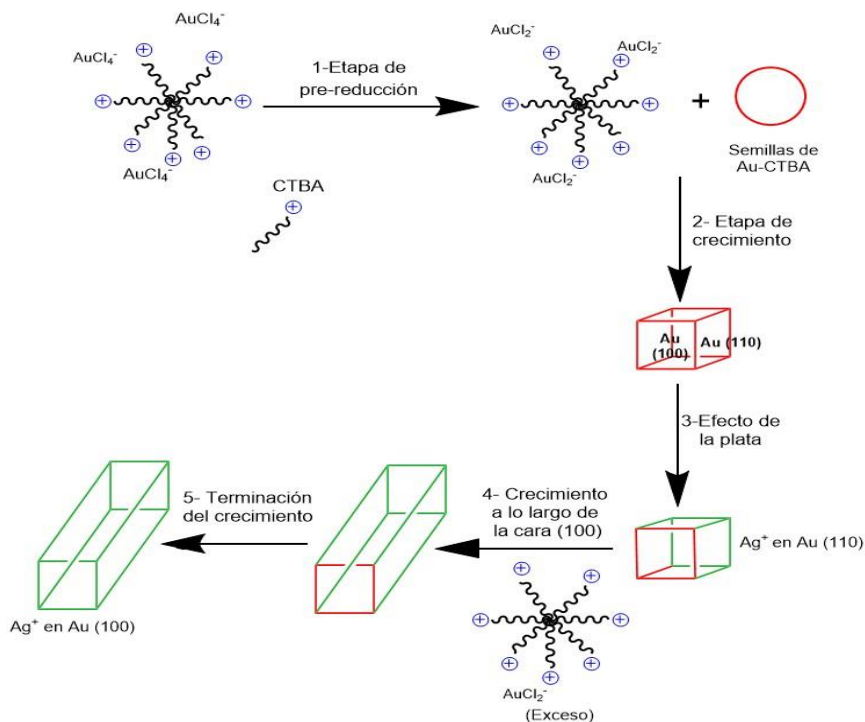


Figura 5. Representación esquemática del mecanismo de crecimiento de los nanocilindros de oro. Adaptado desde¹⁷.

Por lo tanto, la síntesis de los AuNR surge de la disposición preferencial de los iones plata en la superficie de las caras específicas (figura 6) durante el crecimiento de las nanopartículas de oro, lo cual es importante para estudiar la versatilidad y estabilidad de los nanocilindros de oro en sus diferentes aplicaciones.

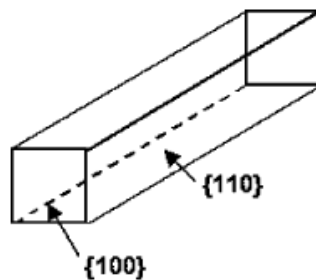


Figura 6. Representación tridimensional de la morfología idealizada de los AuNR¹⁷.

Para poder estabilizar los nanocilindros de oro, se recubren de polímeros u otros materiales. En este trabajo nos hemos centrado en un recubrimiento de sílice mesoporosa para mejorar sus propiedades superficiales de adsorción ya que la aplicación final es la detección de analitos en concentraciones traza mediante espectroscopía Raman- SERS. Para su síntesis se han seguido las publicaciones del Prof. Liz Marzán, donde las nanopartículas de sílice se forman mediante un proceso sol-gel en medio básico, a través de una primera etapa de hidrólisis controlada por el TEOS (ortosilicato de tetraetilo) y una segunda etapa de polimerización por condensación, que se abordan con más detalle en el apartado 5.

Como se muestra en la figura 7, el último paso de la síntesis de la sílice mesoporosa es la eliminación del surfactante para obtener poros huecos. Pero hay que tener en cuenta que es el paso más crítico en toda la síntesis, porque además de que hay pocos trabajos donde se elimine, dependiendo del tratamiento que se utilice, puede afectar a la nanoestructura de oro¹⁸. Entre los tratamientos de eliminación comúnmente utilizados en la literatura destacan la calcinación, los tratamientos con ozono y la extracción con solventes líquidos.

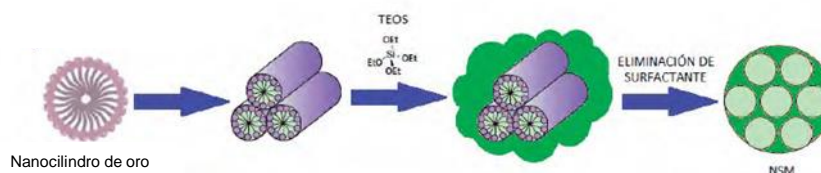


Figura 7. Esquema de la formación de nanoestructuras core-shell recubiertas de sílice mesoporosa. Adaptado desde¹⁹.

3.2 SÍNTESIS DE NANOCILINDROS DE ORO

Se han realizado dos síntesis diferentes de AuNRs, denominadas Síntesis A y Síntesis B, respectivamente; para establecer cual de ellas presenta mayor reproducibilidad y conduce a nanoestructuras más estables. La principal diferencia entre ambas es el uso de 5-BrSA (ácido 5-bromosalicílico) como agente reductor frente a HCl que disminuye el pH del medio y modifica sustancialmente el potencial de reducción de Au^{III}/Au^I .

3.2.1 Síntesis A

Esta síntesis está basada en el trabajo publicado por Scarabelli²⁰, si bien nos hemos centrado en el control de la temperatura a 28°C para todas las etapas, mediante el uso de un termómetro y un baño de agua en el que se introduce el matraz con la disolución de nanocilindros de oro; y en el control de la agitación de las distintas disoluciones.

La síntesis se divide principalmente en tres etapas:

Etapas de pre-reducción:

En esta etapa se produce la reducción de Au (III) a Au (I), la cual es controlada por espectroscopia UV-Vis.

En un matraz de 100 mL se añaden 25 mL de una disolución de CTAB (0,1M) (Aldrich). Cuando se observa transparente, lo cual es importante debido a la gran cantidad adicionada y el tiempo que le cuesta en disolverse, se adicionan 100 mg del reductor 5-BrSA (Aldrich). Una vez bien disuelto se añaden 480 µL de una disolución de $AgNO_3$ (0,01M) (Aldrich) y se agita a 200 rpm durante 15 minutos. Después se añaden 25 mL de una disolución de $HAuCl_4$ (0,001M) (Aldrich) observando una disolución de color anaranjado (figura 8a). Posteriormente, se agita a 200 rpm durante 40 minutos, tiempo finalmente establecido para la etapa de pre-reducción a Au (I), observando un cambio de color en la disolución a amarillo (figura 8b).

El tiempo que dura la etapa de pre-reducción ha sido acortado a lo largo de nuestro trabajo al observar experimentalmente que aumentando la cantidad del reductor 5-

BrSA, podíamos conseguir una disminución en consonancia del tiempo de pre-reducción. Por ello se decidió añadir 100 mg de 5-BrSA y no la cantidad de 50 mg utilizada en el trabajo de Scarabelli.

Finalmente, la reacción se detiene con la adición agitada de 130 μL de una disolución fría de ácido ascórbico (0,1M) (Aldrich), observando que la disolución se vuelve transparente. Es importante la preparación de esta disolución con agua fría y justo antes de su utilización para evitar que el ácido ascórbico se descomponga en ácido dehidroascórbico.

Etapas de formación y crecimiento de las semillas:

Para esta etapa se usa un vial de 7 mL donde se añaden 4,7 mL de una disolución de CTAB (0,1M). Cuando se observa transparente se añaden 25 μL de HAuCl_4 (0,05M) y en la disolución se observa un color amarillo. A continuación, se añaden 300 μL de una disolución de NaBH_4 (0,01M) (Aldrich), que se prepara usando agua fría para evitar que reaccione con el agua y se libere H_2 , lo cual se observa por la aparición de burbujas en la disolución. Al añadir NaBH_4 a la disolución se observa un cambio de color amarillo a anaranjado, lo cual indica el comienzo de nucleación del oro metálico y por lo tanto la formación de las semillas.

Esta disolución se agita durante dos minutos de manera vigorosa y después se deja durante 30 minutos a 28°C sin agitación antes de ser usada.

Etapas de crecimiento de los nanocilindros:

Se añaden 80 μL de la disolución de las semillas a la disolución de pre-reducción y se observa que la disolución, transcurrido un tiempo de 10 minutos cambia a un color "morado" (figura 8c), lo cual nos indica el crecimiento de los nanocilindros de oro. La evolución de este crecimiento se ha estudiado mediante el seguimiento de la absorbancia en el UV-VIs de los dos picos de resonancia del plasmón superficial de los AuNRs usando un espectrofotómetro Jasco V-670. En este trabajo, el tiempo de síntesis establecido ha sido de 55 minutos.

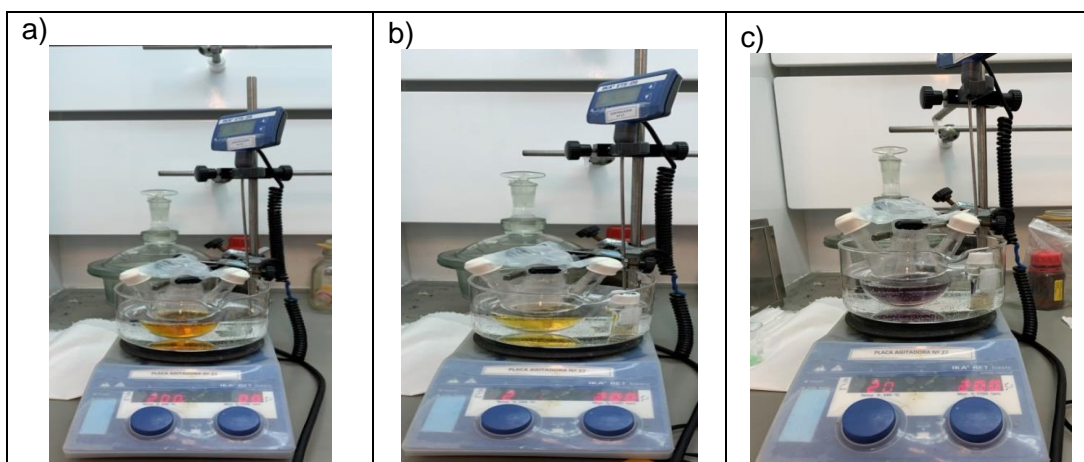


Figura 8. Detalle del sistema experimental: a) Color de la disolución tras la adición del HAuCl_4 ; b) Color de la disolución tras 40 min de pre-reducción; c) Color de la disolución resultante de los nanocilindros de oro.

Finalmente, la dispersión se centrifuga 2 veces durante 25 minutos a 11000 rpm a 14°C para eliminar todos los reactivos en exceso. El sedimento recuperado se resuspende en un volumen final 5 mL de agua destilada.

3.2.2 Síntesis B

Para esta síntesis se siguieron los pasos descritos en el trabajo publicado por Zhang²¹, haciendo especial énfasis en el control de la etapa de formación y crecimiento de las semillas porque es la más controvertida debido a la mayor temperatura de operación (37°C).

Esta síntesis se divide en dos etapas principalmente:

Etapa de formación y crecimiento de las semillas:

En un vial de unos 15 mL se añaden 9,75 mL de una disolución de CTAB (0,1M) (Aldrich), a continuación se adicionan 250 μ L de HAuCl_4 (0,01M) (Aldrich) y se observa en la disolución un color amarillo que cambia a un color cobre-anaranjado (figura 9b), cuando se añaden 600 μ L de una disolución fría del reductor NaBH_4 (0,01M) (Aldrich), lo cual indica el comienzo de la formación de las semillas.

Es importante fijarnos en el color del vial que contiene la disolución de semillas porque si es amarilla significa que el NaBH_4 no ha llegado a reducir totalmente el oro (III) a oro metálico. Por otra parte, si el color permanece amarillo tenue o transparente es debido a que el Au (III) se ha reducido a Au (I) (figura 9a).

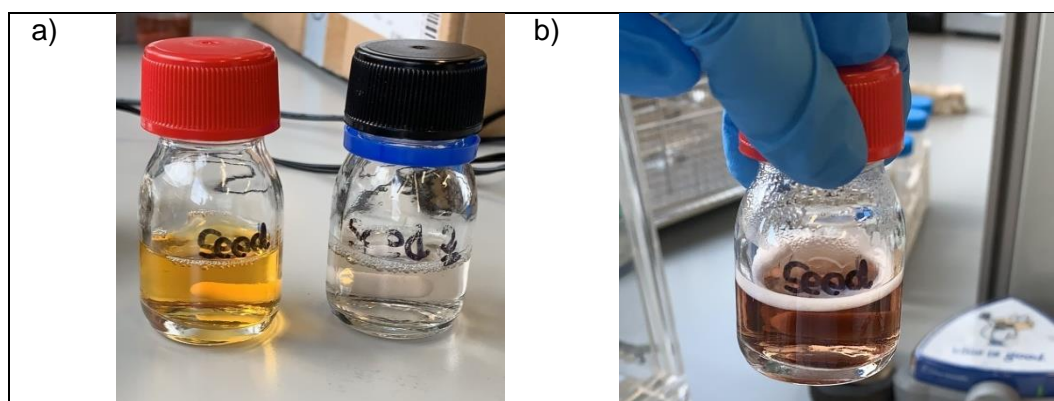


Figura 9. Diferentes colores de la disolución de preparación de semillas. a) En ambos viales no se ha producido la reducción del Au (III) a Au metálico; b) Vial con la disolución de color “cobre” característico de la formación de semillas de Au^0 .

Esta disolución se deja sin agitación en una cabina transparente, donde se controla la temperatura a 37° durante 2 horas, antes de ser añadida a la disolución de crecimiento de los AuNRs.

Etapa de crecimiento de los nanocilindros:

En esta síntesis se usa un vial de unos 50 mL, donde primero se añaden 40 mL de una disolución transparente de CTAB (0,1M), a continuación se produce la etapa de pre-reducción, donde se reduce el Au (III) a Au (I) de manera instantánea porque se

adicionan de manera secuencial: 2 mL de una disolución de HAuCl_4 (0,01M), 400 μL de una disolución de AgNO_3 (0,01M) (Aldrich) y 300 μL de HCl (1M) (Aldrich). Posteriormente se adicionan 320 μL de una disolución de ácido ascórbico (0,1M) preparada con agua fría y 40 μL de la disolución de crecimiento de las semillas preparada anteriormente.

Esta disolución se deja sin agitación durante 24 horas. En esta etapa no se controla la temperatura, sin embargo en el momento que se ha realizado esta etapa se ha medido la temperatura del laboratorio, 23°C.

A modo de resumen, se presentan las condiciones de síntesis de forma comparativa para los dos procedimientos en la Tabla 1 y Tabla 2 respectivamente. Hemos trabajado con ellas, para poder estudiar si el cambio de reactivos y de cantidades; y el cambio de temperatura y de tiempos de cada etapa pueden afectar a las distintas síntesis y por lo tanto a la estabilidad y reproducibilidad de los AuNRs obtenidos.

Tabla 1. Resumen de la preparación de la disolución de semillas en síntesis A y B.

SÍNTESIS A (30 minutos, 28°C)				SÍNTESIS B (2 horas, 37°C)			
REACTIVOS	MOLARIDAD	VOLUMEN	MOLES	REACTIVOS	MOLARIDAD	VOLUMEN	MOLES
CTBA	0,1 M	4,74 ml	$4,7 \times 10^{-4}$	CTBA	0,1 M	9,75 ml	$9,75 \times 10^{-4}$
HAuCl_4	0,05 M	25 μl	$1,25 \times 10^{-6}$	HAuCl_4	0,05 M	50 μl	$2,5 \times 10^{-6}$
NaBH_4	0,01 M	300 μl	3×10^{-6}	NaBH_4	0,01 M	600 μl	6×10^{-6}
Volumen final		5 ml		Volumen final		10,6 ml	
[Au total]	0,25 mM			[Au total]	0,24 mM		

Tabla 2. Resumen de la disolución de crecimiento NRs en síntesis A y B.

SÍNTESIS A (55 min, 28°C)					SÍNTESIS B (24 horas)			
REACTIVOS		MOLARIDAD	VOLUMEN	MOLES	REACTIVOS	MOLARIDAD	VOLUMEN	MOLES
CTBA		0,1 M	25 ml	$2,5 \times 10^{-3}$	CTBA	0,1 M	40 ml	4×10^{-3}
5-BrSA	100 mg			$4,6 \times 10^{-4}$	HCl	1 M	800 μl	8×10^{-4}
AgNO_3		0,01 M	480 μl	$4,8 \times 10^{-6}$	AgNO_3	0,01 M	400 μl	4×10^{-6}
HAuCl_4		1 mM	25 ml	$2,5 \times 10^{-5}$	HAuCl_4	0,01 M	2 ml	2×10^{-5}
Ácido Ascórbico		0,1 M	130 μl	$1,3 \times 10^{-5}$	Ácido Ascórbico	0,1 M	320 μl	$3,2 \times 10^{-5}$
Disolución semillas			80 μl		Disolución semillas		40 μl	
Volumen final			50,69 mL		Volumen final		43,56 mL	
[Au total]		0,5 mM			[Au total]	0,46 mM		

Como se puede observar, aunque se varíen algunos reactivos y algunas cantidades, la concentración de oro, expresada como Au total, en la disolución de AuNRs es similar en ambas síntesis. Sin embargo, si hay una diferencia en los tiempos y temperatura para la reacción de formación de las semillas como para la de crecimiento de AuNRs. Hay que destacar que estos valores se han extraído de las referencias bibliográficas utilizadas y que en muchas ocasiones la temperatura de reacción se especifica como temperatura ambiente o temperatura de laboratorio.

3.3 SÍNTESIS DEL RECUBRIMIENTO DE SÍLICE: AuNR@mSiO₂

Esta síntesis solo se ha llevado a cabo una vez en este trabajo y para ello se han seguido los pasos descritos en el trabajo de Liz Marzan²².

En un matraz de 500 mL, se mezclan 75 mL de EtOH puro (Aldrich) con 10,2 mL de una disolución de CTAB (0,1M) y 159,8 mL de agua desionizada, se agita de manera vigorosa durante 30 minutos a 32°C. A continuación, se añaden 100 µL de una disolución de NH₃ al 25% (Aldrich) para conseguir un pH alrededor de 10. Posteriormente se adicionan 5 mL de la disolución de AuNRs obtenida tras la centrifugación de los 50 mL obtenidos y resuspensión en 5 mL de agua. Después de 5 minutos se añade lentamente 198 µL de una disolución de TEOS (98% en peso) (Aldrich). Se agita la disolución de manera vigorosa durante 1 minuto y se aumenta la temperatura a 60°C. Una vez se estabiliza la reacción se mantienen estas condiciones durante 2 días.

Pasado este tiempo, se recuperan las nanopartículas y se elimina el exceso de reactivos centrifugando la disolución dos veces, una vez a 12000 rpm durante 2 minutos a 14°C y la segunda vez a 11000 rpm durante 30 minutos a 14°C.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 TRABAJO CON LA SÍNTESIS A

Influencia de la etapa de pre-reducción en el aspect ratio de los nanocilindros de oro:

Durante la etapa de pre-reducción, el Au (III) se reduce a Au (I) por la adición del reductor 5-BrSA. Algunos autores^{20,23} consideran que la cantidad de Au (III) que queda en la disolución de crecimiento de los AuNRs, antes de adicionar el ácido ascórbico, influye en su relación de aspecto final de los nanocilindros de oro cuando se mantienen fijas las condiciones de la reacción: temperatura, agitación, cantidad de reactivos, etc.

Durante esta etapa se observa un cambio en la intensidad del color de la disolución que pasa de un color amarillo-anaranjado a amarillo, que se traduce en una disminución de la absorbancia del medio de reacción tal y como se muestra en la figura 10. En esta figura mostramos la evolución de la banda de absorbancia del complejo [Au (III)-CTBA] a 396 nm a lo largo del tiempo de pre-reducción.

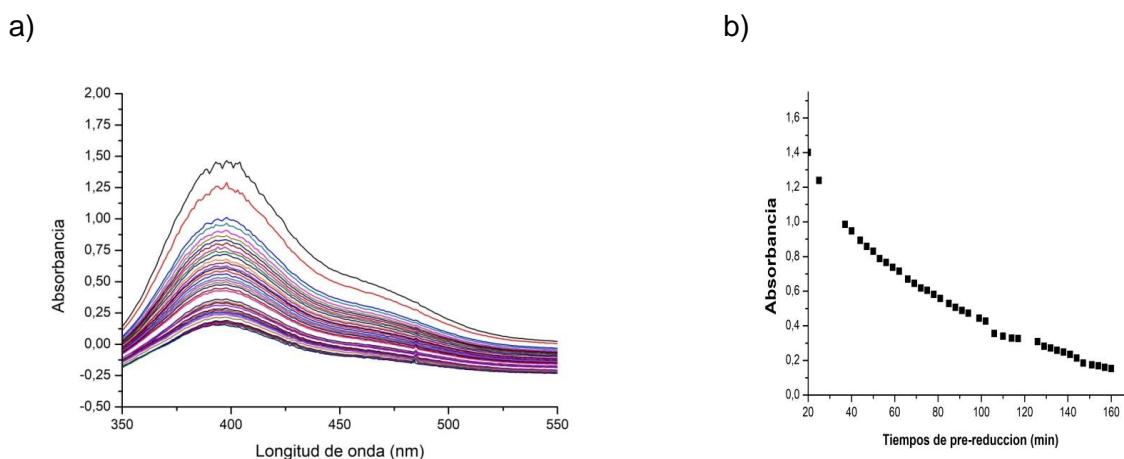


Figura 10. a) Espectro UV-Vis de la disolución de pre-reducción en función del tiempo de pre-reducción. b) Representación de la variación de la intensidad de absorbancia a 396 nm con respecto al tiempo de pre-reducción.

Estos resultados los hemos comparado con los expuestos en el artículo de Scarabelli²⁰ y hemos observado que se asemejan, lo cual refuerza la reproducibilidad del método.

Síntesis de los nanocilindros de oro:

En una primera serie de experimentos se prepararon AuNRs manteniendo el tiempo de pre-reducción de 100 minutos tal y como se había estudiado en el TFM de E. Bernad¹⁶. En esta serie se analizó la influencia del tiempo de la etapa de crecimiento de AuNRs sobre la morfología obtenida. Tal y como se muestra en la figura 11, transcurridos 50 min el tamaño y forma de los AuNRs parece invariante dado que su SPR (medidas de absorbancia UV-vis) no se modifica sustancialmente.

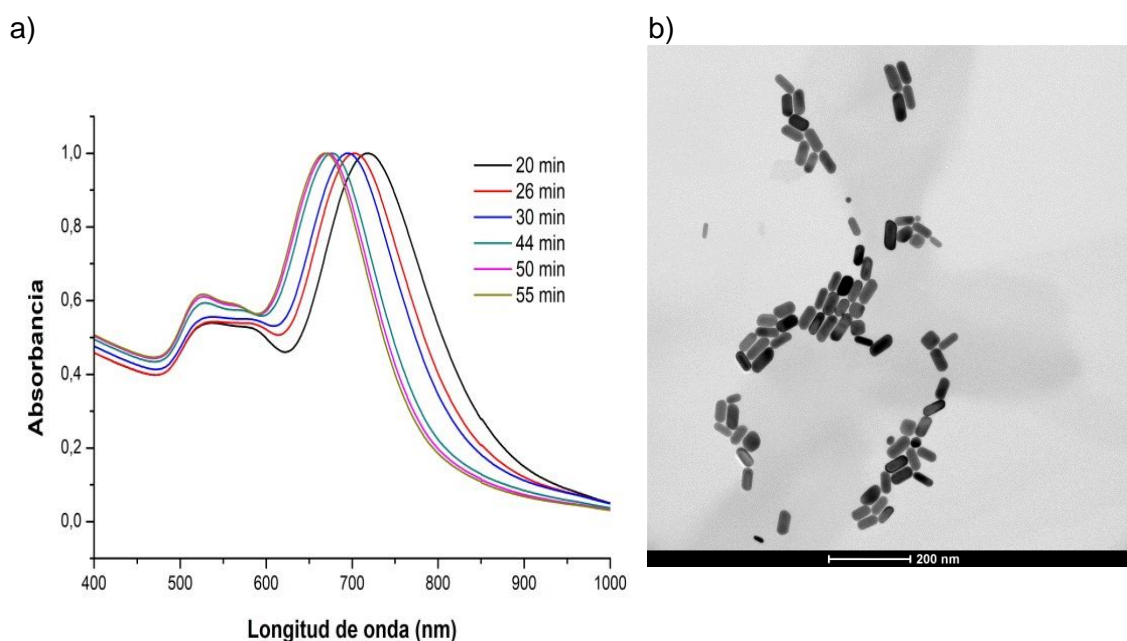


Figura 11. a) Espectro UV-Vis en función del tiempo de crecimiento de los AuNRs tras 100 minutos de pre-reducción. b) Imagen TEM de los AuNR tras 100 minutos de pre-reducción y 55 minutos de crecimiento.

A través de las imágenes de TEM (figura 11.b) de la muestra obtenida a 55 min de crecimiento, **muestra 1**, se observa una población minoritaria de nanopartículas esféricas cuya resonancia de plasmón superficial estaría contribuyendo en la región espectral en torno a 575 nm y solapando con la resonancia del plasmón transversal del AuNR.

En el espectro UV-vis se visualiza, que conforme aumenta el tiempo de la etapa de crecimiento, la banda plasmónica menos intensa correspondiente a la resonancia del plasmón transversal se mantiene constante y centrada en torno a 530 nm. Por el contrario, la banda plasmónica más ancha e intensa correspondiente a la resonancia del plasmón longitudinal, se desplaza hacia menores longitudes de onda conforme el tiempo aumenta hasta que se mantiene aproximadamente constante en torno a 670 nm una vez transcurridos los 50 primeros minutos. Esta observación se atribuye a una disolución parcial de AuNRs para adoptar una morfología pseudo-esférica que sería la responsable del hombro observado en la región espectral de 540 a 570 nm.

Además, se estudió como podía afectar a la estabilidad de los nanocilindros las condiciones de almacenamiento. Para llevar a cabo este estudio se almacenaron parte de los AuNRs de la figura anterior en un armario a la temperatura ambiente del laboratorio (aproximadamente 23°C durante el día) y otra parte del lote en nevera. De la comparación de los espectros UV-Vis (figura 12) se deriva que la morfología de los AuNRs evoluciona solo muy ligeramente durante el almacenamiento, siendo más notorio el cambio cuanto mayor es la temperatura. En cualquier caso, la forma del espectro de absorbancia se mantiene constante, lo que es indicativo de que la población de nanopartículas esféricas se mantiene constante.

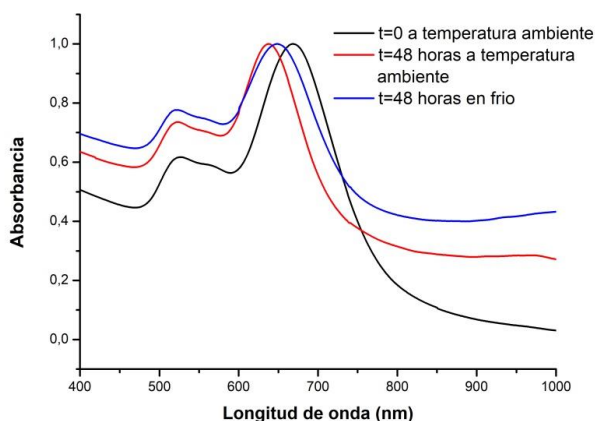
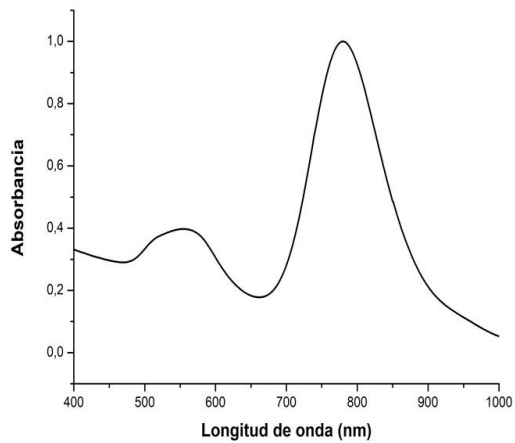


Figura 12. Comparación del espectro UV-Vis de AuNRs sintetizados en el mismo lote en función de las condiciones de almacenamiento.

Al comparar los tiempos de síntesis empleados en ambos métodos, se planteó aumentar la cantidad adicionada del reductor 5-BrSA para acortar la duración de la síntesis. De este modo, se realizó una nueva síntesis tipo A utilizando 100 mg de 5-BrSA y un tiempo de pre-reducción de 40 min. La absorbancia a 396 nm de la disolución de pre-reducción al cabo de 40 min fue de 0,2072. A continuación, se controló la etapa de crecimiento de los AuNRs hasta alcanzar los 55 min mediante el uso del espectrofotómetro UV-vis (figura 13a) y el microscopio electrónico de transmisión (TEM) (figura 13b).

a)



b)

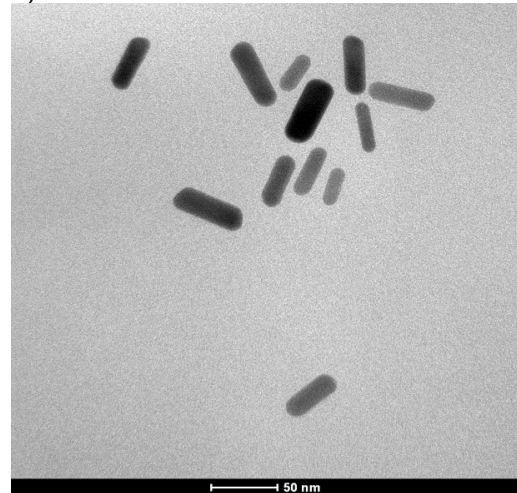
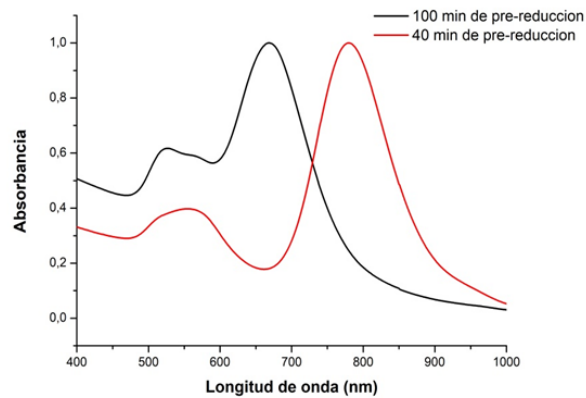


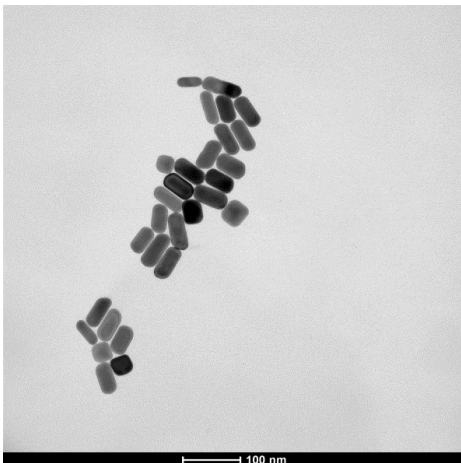
Figura 13. a) Espectro UV-Vis de la síntesis de AuNRs tras un tiempo de pre-reducción de 40 minutos y una etapa de crecimiento de 55 minutos. b) Imagen TEM.

Los cambios que han ocurrido al modificar el tiempo de la etapa de pre-reducción pero manteniendo el tiempo de la etapa de crecimiento en 55 minutos se pueden observar en la figura 14a donde se comparan los dos espectros UV-vis y en las figuras 14b y 14c donde se comparan las imágenes TEM.

a)



b)



c)



Figura 14. a) Comparación de los espectros UV-Vis de los AuNRs con diferentes tiempos de pre-reducción. b) Imagen TEM de los AuNRs obtenidos con pre-reducción de 100 minutos. c) Imagen TEM de los AuNRs obtenidos con pre-reducción de 40 minutos.

Al disminuir el tiempo de la etapa de pre-reducción a 40 minutos, espectro de color rojo, la banda plasmónica longitudinal se desplaza hacia mayores longitudes de onda, un máximo a 780 nm; mientras que la banda de plasmón transversal apenas se modifica. Esta observación se corresponde con una mayor relación de aspecto para los AuNRs preparados a un tiempo de pre-reducción más corto en consonancia con las imágenes mostradas de TEM. Del análisis estadístico de las imágenes TEM se concluye una relación de aspecto promedio de $2,25 \pm 0,41$ (N=300) y de $2,67 \pm 0,45$ (N=146) para la síntesis de AuNRs a 100 min y 40 min de pre-reducción respectivamente (tabla 3).

Estudio de la estabilidad de los nanocilindros de oro:

Este estudio se llevó a cabo con la disolución de AuNR cuya etapa de pre-reducción durante la síntesis duró 40 minutos. Se realizaron tres espectros UV-Vis en diferentes días posteriores al de síntesis y almacenada en condiciones de laboratorio, como se muestra en la figura 15a.

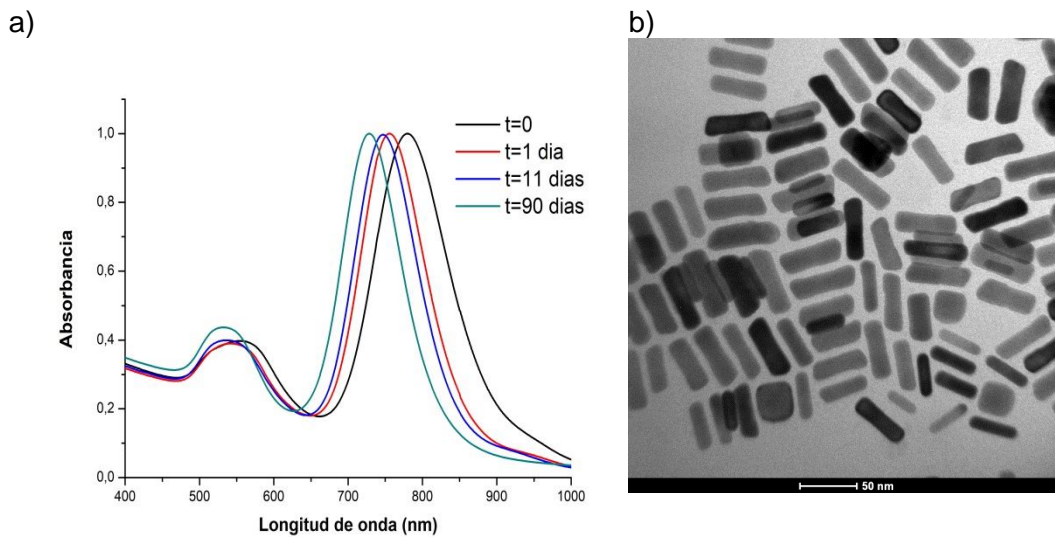


Figura 15. a) Espectro UV-Vis de los AuNRs de diferentes días. b) Imagen TEM de los AuNRs transcurridos tres meses desde la síntesis.

En la figura 15a se puede observar, que al pasar 24 horas desde la realización de la síntesis, la banda plasmónica longitudinal, la banda ancha del espectro, se desplaza hacia menores longitudes de onda del espectro. Esto es similar a lo que sucedía en la síntesis de los nanocilindros de oro con una etapa de pre-reducción de 100 minutos, al almacenarlos en el armario o en frío. Sin embargo, al pasar 11 días las bandas plasmónicas del espectro, tanto la longitudinal como la transversal, no varían con respecto a las registradas anteriormente. Al pasar tres meses desde el día de la síntesis, la banda del plasmón transversal y longitudinal se desplazan hacia longitudes de onda menores del espectro pero la pendiente de cambio es mucho menor conforme la muestra envejece. Del análisis estadístico de las imágenes TEM (figura 15b)

realizadas sobre la muestra tres meses después de su síntesis, donde se midieron 328 nanocilindros de oro, se obtiene una relación de aspecto promedio de $3,22 \pm 0,43$.

Por tanto, podemos decir que cambiar la cantidad de 5-BrSA que se adiciona a la síntesis acorta el tiempo de pre-reducción y aumenta la relación de aspecto de los nanocilindros de oro. Esta modificación de las condiciones de síntesis, **muestra 2**, ha permitido desplazar hacia mayores longitudes de onda la posición de la banda del plasmón longitudinal; mejorando sus prestaciones en Raman-SERS con láser de 785 nm. Por otra parte, conforme la muestra envejece, **muestra 3**, el plasmón longitudinal se desplaza hacia menores longitudes de onda, 728 nm en consonancia con una disolución preferencial de sus extremos. Sin embargo, los valores promedio de largo y ancho no reflejan esta tendencia debido a la relativamente alta dispersión de medidas registradas (claramente superior al 10%).

4.2 TRABAJO CON LA SÍNTESIS B

Síntesis de los nanocilindros de oro:

Se realizó la síntesis de manera simultánea de AuNRs en seis viales de 50 mL para poder estudiar la reproducibilidad a mayor escala de esta síntesis. En la etapa de crecimiento se añadieron 400 μl de AgNO_3 y 100 μL de la disolución de semillas. Para poder seguir el crecimiento de los nanocilindros de oro se usó un espectrofotómetro UV-vis (figura 16).

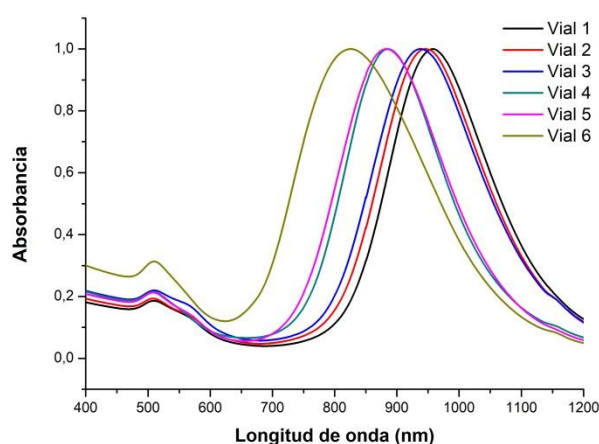


Figura 16. Espectros UV-Vis de seis viales de nanocilindros de oro durante la etapa de crecimiento.

En esta figura se puede observar que las bandas plasmónicas longitudinales se desplazan hacia menores longitudes de onda conforme transcurre el tiempo de adición de los reactivos del primer vial hasta el último. Esto supone que los nanocilindros de oro tienen una menor largura conforme pasa el tiempo y en consecuencia una menor relación de aspecto. Entre los tres primeros viales apenas existe un desplazamiento de la banda, sin embargo si se produce un desplazamiento de la banda entre los primeros tres viales y el cuarto y el quinto, esto es debido a que se tardó más tiempo en añadir los reactivos. Por tanto, para que esta síntesis sea reproducible a mayor escala, la adición de los reactivos debe realizarse de manera rápida, continua y simultáneamente en todos los viales porque la fortaleza del HCl, provoca la reducción instantánea de Au

(III) a Au (I). En estas condiciones, el crecimiento de AuNRs está muy influenciado por el tiempo que transcurre hasta la adición de ácido ascórbico y de la disolución de semillas; y de ahí, la variabilidad observada entre los diferentes viales.

Posteriormente, se hizo un estudio para poder desplazar la banda plasmónica longitudinal hacía menores longitudes de onda con la finalidad de mejorar sus propiedades en aplicaciones Raman-SERS con láser de 785 nm (aunque para nuestra aplicación nos serviría la síntesis del vial 6 siempre y cuando fuéramos capaces de reproducirla). Para llevar a cabo este estudio se realizaron cuatro síntesis diferentes, cambiando algunos parámetros de la síntesis principal basándonos en la literatura²⁴. Las propiedades de plasmón superficial de los AuNRs obtenidos se muestran en la figura 17.

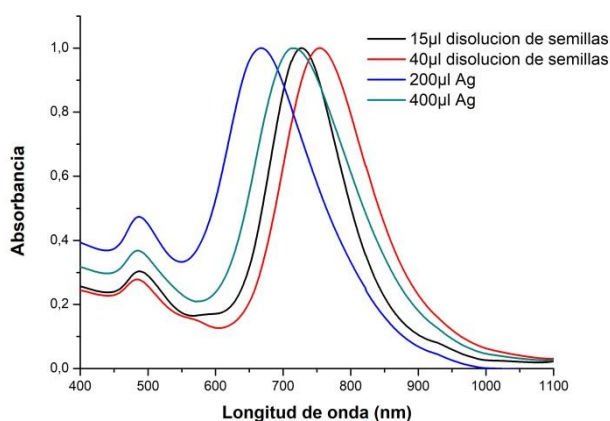


Figura 17. Espectros UV-Vis de la síntesis B de nanocilindros de oro cambiando la cantidad de reactivos adicionados.

Se realizaron dos síntesis diferentes cambiando únicamente la cantidad adicionada de la disolución de AgNO_3 : 400 μl (curva de color verde Figura 17) y 200 μl (curva de color azul). Al disminuir la cantidad de iones plata, hay una ralentización en el crecimiento de los nanocilindros de oro en dirección axial, cara (100), frente a la dirección transversal (cara (110)) tal y como se describe en la Figura 5. Este efecto se traduce en un desplazamiento de la banda del plasmón longitudinal hacía menores longitudes de onda (696 nm) y por consiguiente una menor relación de aspecto de los AuNRs así obtenidos con respecto a sus homólogos de condiciones de referencia (banda plasmónica longitudinal a 740 nm).

También, se realizaron dos síntesis diferentes cambiando la cantidad adicionada de la disolución de semillas, pero sin alterar el resto de variables: 40 μl (curva de color rojo Figura 17) y 15 μl (curva de color negro). Al disminuir la cantidad de semillas de oro, el máximo de la banda plasmónica longitudinal se desplaza desde 783 nm a 756 nm. Esto ocurre porque al adicionar una menor cantidad de la disolución de semillas su actividad catalítica por unidad de volumen es menor, se está adicionando menos Au^0 y por tanto la velocidad de crecimiento es más lenta y los AuNRs son más cortos. Con estos resultados podemos confirmar la existencia de varios grados de libertad para variar la relación de aspecto y por tanto la posición espectral de la banda del plasmón longitudinal.

Al analizar la figura 17, observamos que el espectro UV-vis que nos interesaba era el resultante de la adición de 40 μ l de la disolución de semillas, **muestra 4**, cuya banda plasmónica longitudinal cae alrededor de los 783 nm (Figura 18a). En la figura 18b se muestra la imagen de TEM de la muestra obtenida.

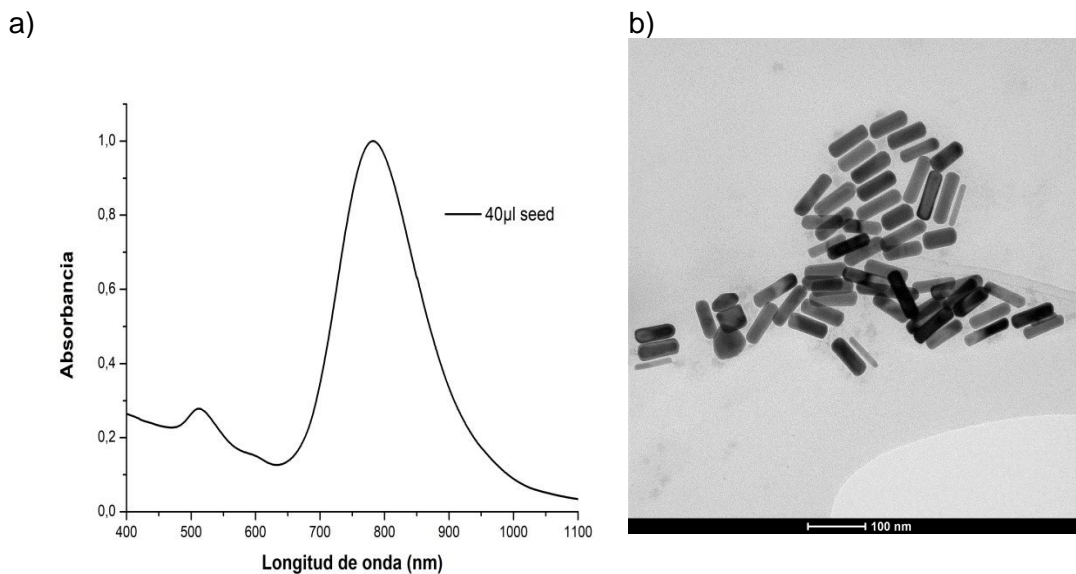


Figura 18. a) Espectro UV-vis de los AuRN al adicionar 40 μ l de la disolución de semillas. b) Imagen TEM de AuRN en relación al espectro UV-vis.

4.3 ESTUDIO DE LOS RESULTADOS

Todas las imágenes TEM adquiridas han sido procesadas con Software comercial ImageJ para obtener el tamaño y relación de aspecto de los AuNRs obtenidos en las 4 muestras principales de este trabajo. Los valores promedio y su desviación estándar se muestran en la Tabla 3.

Observando los siguientes resultados se puede decir que las muestras sintetizadas presentan el máximo de resonancia del plasmón longitudinal en la zona de 669 nm a 783 nm; proporcionando cierta flexibilidad para su uso en Raman-SERS con láseres comerciales de 633 (rojo) o 785 nm (infrarrojo cercano). Exceptuando la muestra 4, el análisis estadístico de las imágenes de TEM de los AuNRs sintetizados revela una alta desviación estándar de los datos, superior al 10%, debido a la coexistencia de una población de nanopartículas con otra geometría (esferas, cubos...) cuya resonancia de plasmón superficial solapa con la resonancia del plasmón transversal del AuNR centrada en la zona de 512 nm a 555 nm.

Tabla 3. Resumen del tamaño de los AuRN de cada síntesis.

Muestra	Síntesis	Condiciones	Nº nanoestructuras medidas	Longitud (nm)	Anchura (nm)	Aspect ratio	Posición del plasmón longitudinal	Posición del plasmón transversal
1	A	100 minutos de pre-reducción 55 minutos de crecimiento	300	$53,76 \pm 8,08$	$23,79 \pm 4,24$	$2,25 \pm 0,41$	669 nm	533 nm
2	A	40 minutos de pre-reducción 55 minutos de crecimiento	146	$43,73 \pm 8,22$	$16,38 \pm 2,93$	$2,67 \pm 0,45$	780 nm	555 nm
3	A	Muestra 2 envejecida 3 meses	328	$48,63 \pm 5,53$	$15,09 \pm 2,29$	$3,22 \pm 0,43$	728 nm	532 nm
4	B	24 horas de crecimiento	302	$74,34 \pm 7,41$	$23,21 \pm 2,71$	$3,25 \pm 0,56$	783 nm	512 nm

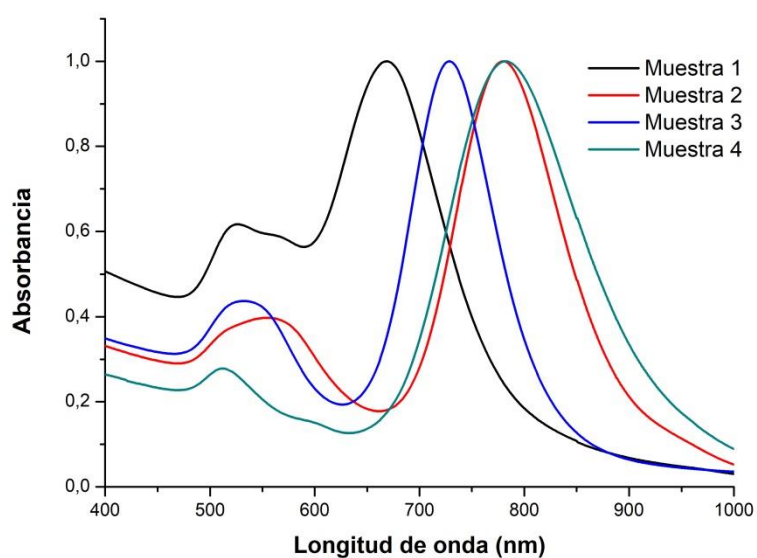


Figura 19. Espectro UV-Vis de las 4 muestras principales de AuNRs preparadas en este trabajo y resumidas en la tabla 3.

4.4 SÍNTESIS DEL RECUBRIMIENTO DE SÍLICE: AuNR@mSiO₂

Esta síntesis se llevó a cabo con la muestra 1, nanocilindros de oro obtenidos con 100 minutos de la etapa de pre-reducción y 55 minutos de crecimiento. Esta síntesis no dio buen resultado y lo atribuimos al pH del medio de reacción ya que la adición de amoníaco no fue suficiente para mantener un pH básico, en torno a 10, y de esta forma favorecer la reacción de hidrólisis y condensación catalizada en medio básico²⁵.

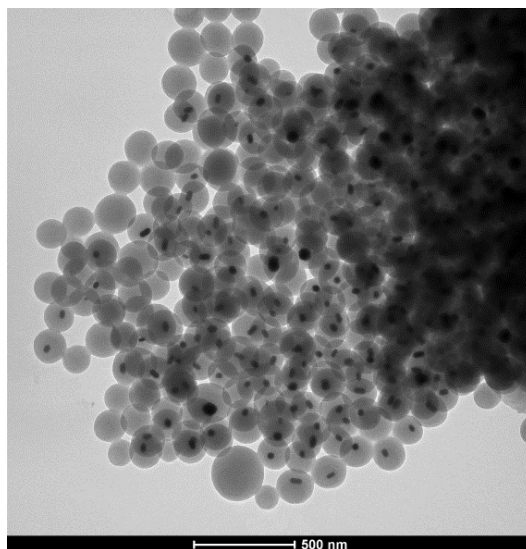


Figura 20. Imagen TEM de la muestra 1 con el recubrimiento de sílice.

Además como se puede observar en la figura hay mucha sílice mesoporosa que no contiene un núcleo de oro, esto puede deberse a que el medio de reacción se mantuvo a reflujo durante dos días, sin embargo según la literatura de Liz Marzán²², se debería haber mantenido durante dos días pero solamente agitando. Al mantener a reflujo se eliminó mucho surfactante, CTBA, de la superficie de AuNRs inhibiendo la hidrólisis y condensación de TEOS en la superficie metálica.

5. ESTUDIO DEL RECUBRIMIENTO DE NANOCILINDROS DE ORO CON SÍLICE MESOPOROSA

Tal y como se describe en el anterior apartado, el recubrimiento de los nanocilindros de oro con sílice mesoporosa solo se ha podido abordar experimentalmente una vez debido al decreto del estado de alarma por COVID-19. Por lo tanto, en esta sección se ha llevado a cabo un estudio más detallado de las publicaciones existentes para realizar una propuesta de una síntesis que permite modular el espesor de sílice en función de un parámetro experimental fácilmente controlable.

En la literatura se pueden encontrar varios procedimientos para el recubrimiento de partículas metálicas coloidales con sílice, pero la selección del método adecuado está determinada principalmente por la afinidad química del material de la superficie a recubrir con la sílice. En la mayoría de los estudios se habla de una capa de sílice densa que cubre toda la nanopartícula metálica, evitando de este modo el contacto

directo de las moléculas adsorbidas en la superficie externa de la sílice con el núcleo metálico. Sin embargo, a partir de una modificación del método de Stöber hoy en día se pueden sintetizar nanopartículas recubiertas de sílice mesoporosa. El proceso de Stöber se empezó a desarrollar en 1968 y es un tipo de proceso sol-gel que se basa en la síntesis de partículas de sílice monodispersada a partir de la hidrólisis y condensación de un precursor molecular, normalmente silicatos de tetraalquilo, en una mezcla de agua y alcohol empleando como catalizador el hidróxido amónico.

La modificación del método de Stöber consiste en añadir un surfactante que interacciona electrostáticamente con la sílice y por lo tanto las nanopartículas de sílice se condensan sobre las micelas del surfactante y se obtiene una estructura ordenada.

En nuestro trabajo se siguió el trabajo publicado por el Prof. Liz Marzán, donde la sílice mesoporosa crece sobre nanopartículas de oro estabilizadas con CTAB, por lo que no se requiere la funcionalización de la superficie metálica para aumentar la afinidad por la sílice. Sino que se sintetiza a partir de la hidrólisis controlada de un precursor alcoxilano, como el TEOS, en medio básico, formando grupos silanol (Si-OH). Estos grupos polimerizan por condensación formando unas estructuras tridimensionales unidas por enlaces siloxano (Si-O-Si). En esta etapa de condensación las nanopartículas de oro sintetizadas actúan como centros de nucleación ya que las micelas de CTAB que envuelven al AuNR actúan de agente director de la estructura para la formación de estructuras porosas ordenadas. La organización de los poros y la calidad de la envolvente de SiO₂ que se obtiene se pueden ver afectados por el disolvente usado (normalmente agua y etanol), la temperatura de la reacción, el pH de la disolución o la velocidad de la agitación^{22,26}.

En este trabajo, se ha estudiado cómo reducir el espesor del recubrimiento de sílice porque la aplicación final de nuestro trabajo es la espectroscopía Raman-SERS para la detección de analitos en fase gas. Se trata de una técnica de corto alcance y por tanto cuanto menor sea el recubrimiento de sílice, más corto será el camino de difusión que han de recorrer las moléculas de analito y por tanto más rápido el acceso de las mismas al núcleo metálico donde la amplificación del campo electromagnético es máxima y la probabilidad de ser detectadas aumenta.

Liz Marzán²² propone que se puede controlar el espesor del recubrimiento de sílice por dos maneras. La primera, cambiando el tiempo de hidrólisis y condensación de TEOS sobre la superficie metálica. Y la segunda manera, la cual hemos estudiado en este trabajo, es mediante la modulación de la relación molar Si/Au; es decir, de TEOS (precursor del SiO₂) y de AuNRs (ver Tabla 4). En particular, propone mantener constante la cantidad de TEOS que adiciona al medio de síntesis y, como se muestra en la tabla 4, variar la cantidad de Au⁰ añadida en la disolución de las AuNRs. En la estimación de esta cantidad de Au⁰ total, los autores consideran tanto el oro adicionado en la síntesis de semillas como en su posterior recrecimiento a AuNRs, independientemente del rendimiento de síntesis obtenido.

Tabla 4. Resumen de las condiciones de recubrimiento de AuNRs con SiO₂ porosa.

Concentración de Au ⁰ en la disolución de AuNRs añadida	Relación molar TEOS/Au	Relación en g TEOS/Au	Espesor del recubrimiento de sílice
2 mM	88,0	93,4	79 nm
5 mM	35,2	37,2	61 nm
10 mM	17,6	18,6	36 nm

Se observa que la relación molar TEOS/Au⁰ es claramente superior a 1. Además, al aumentar la concentración de Au⁰ en el medio de síntesis disminuye el espesor del recubrimiento de sílice medido experimentalmente por los autores.

En nuestro trabajo, tal y como se detalla en el Anexo 1, se ha determinado que no todo el oro añadido al medio de síntesis se transforma a Au⁰. El rendimiento de la síntesis ha sido del 30%. Asumiendo que la concentración de Au⁰ en el medio de síntesis es 0,15 mM, la relación molar TEOS/Au es de 117,3 y por tanto para disminuir el espesor de sílice tendríamos que aumentar la concentración de Au⁰ en consonancia.

Después de la síntesis del recubrimiento de sílice, es necesaria la eliminación del surfactante para poder liberar la estructura mesoporosa, comprendiendo poros con diámetros entre 2 y 50 nm. Esta eliminación se puede llevar a cabo por varios métodos. El principal método es mediante la calcinación a elevadas temperaturas, entre los 450°C-500°C, lo que puede provocar una modificación de las propiedades plasmónicas de los nanocilindros, modificando su relación de aspecto por la alteración de la estructura del núcleo metálico. Por lo tanto, se han estudiado otros métodos alternativos como la extracción con solventes, el cual cambia dependiendo del surfactante empleado en la síntesis^{27,28}.

En el trabajo de Marcilla²⁷ se proponen tres métodos de extracción para eliminar el surfactante, CTBA.

Tabla 5. Resumen del trabajo Marcilla.

	Reactivos	Temperatura	Tiempo	Nº de extracciones	% del surfactante eliminado
1	20 mL HCl (1M) en EtOH	70°C	1 hora	3	93,8
2	10 mL HCl (1M) en EtOH	70°C	15 minutos	5	92,3
3	50 mL H ₂ O ₂ (0,6 M) + HCl (1M) en EtOH	Ambiente	1 hora	5	92,8

En la extracción 1 y 2 añaden 1 g de SiO₂ y sin embargo en la extracción 3 añaden 0,5 g y el HCl suficiente para alcanzar un pH de 3,5.

Tras los tres métodos de extracción, realizan una etapa de calcinación porque sintetizan catalizadores para reducir la toxicidad del tabaco y por tanto necesitan eliminar todo el surfactante, CTBA.

También en la literatura de Hua²⁹ se estudia un proceso de eliminación del surfactante CTBA, usando como solvente en la extracción una mezcla de HCl/etanol, variando las concentraciones y los tiempos de extracción, manteniendo la temperatura constante a 70°C.

Tabla 6. Resumen del trabajo de Hua.

	Reactivos	Tiempo	% del surfactante eliminado
1	HCl (1M) en EtOH	24 horas	No se elimina todo pero no concreta
2	HCl (1M) en EtOH	36 horas	100 %
3	HCl (0,5 M) en EtOH	36 horas	100 %
4	HCl (0,1M) en EtOH	48 horas	100 %

En este caso las extracciones son sobre sustratos de vidrios.

Sarycheva³⁰ estudia un método de eliminar el surfactante, CTBA, para favorecer la adsorción de moléculas diana en un estado gaseoso en el interior de su estructura porosa. Este método se basa en la utilización de 1 g de nanopartículas de sílice mesoporosa que añade a una mezcla de 2,8 mL HCl (1M) y 107 mL de metanol, que calienta a 60°C a reflujo durante 24 horas y posteriormente lava con etanol y seca al aire a 90°C. Aunque hace un estudio termogravimétrico, los autores no cuantifican la cantidad de surfactante eliminado. En este artículo se estudia como nanopartículas recubiertas de sílice mesoporosa se aplican como sensores ópticos que son muy sensibles y que utilizan un análisis SERS semicuantitativo.

En el TFM de E.Bernad¹⁶ se propone un método por el cual se puede eliminar el surfactante sin alterar la forma de los nanocilindros de oro, aunque si se observó daños en el recubrimiento de sílice. Este método se basa en una extracción líquida con etanol a reflujo en medio ligeramente ácido (HCl 0.1M) durante 40 minutos, con el cual es posible eliminar hasta un 87,4% de surfactante según resultados previos del grupo.

La sílice mesoporosa también se ha estudiado para proteger a los nanocilindros de oro que se organizan en estructuras supercristalinas, es decir, supercristales. La sílice se deposita tanto fuera como dentro del supercristal, obteniendo un material compuesto que alterna capas de sílice y nanocilindros de oro organizadas en láminas. Este recubrimiento no solo evita que el supercristal se separe del sustrato en agua lo cual dificulta diversas aplicaciones, sino que también permite que pequeños iones y moléculas orgánicas se difundan por el interior del supercristal. Además permite una mejor accesibilidad a los hot-spots, lo que muestra una mejora en la señal Raman al compararlos con los supercristales sin recubrimiento de sílice. Los supercristales con sílice mesoporosa muestran un gran potencial para su implantación en dispositivos nanoestructurados usados en la ultradetección especialmente de biomarcadores³¹.

6. CONCLUSIONES

En este trabajo Fin de Grado se han establecido dos protocolos distintos para sintetizar nanocilindros de oro. En uno de ellos, síntesis A, se ha observado que la cantidad adicionada del reductor 5-BrSA afecta a la duración de la etapa de pre-reducción de Au (III) a Au (I). Además, se ha podido estudiar la estabilidad de los nanocilindros de oro. En el otro, síntesis B, se ha estudiado la reproducibilidad de la síntesis a gran escala y la importancia de la realización de la síntesis de manera seguida.

También se ha propuesto una síntesis del recubrimiento de los nanocilindros con sílice mesoporosa mediante un proceso sol-gel combinado con la utilización de un surfactante. Se ha estudiado cómo es posible controlar el espesor de la capa de sílice mediante el control de la relación TEOS/Au⁰ que se adiciona a la síntesis. Del estudio de publicaciones relacionadas se deriva que para reducir el espesor es necesario aumentar la concentración de Au⁰ en el medio de síntesis del recubrimiento de sílice, manteniendo constante la cantidad de TEOS adicionada.

Y por último, se han revisado diferentes maneras de llevar a cabo la eliminación del surfactante por extracción con disolventes, con el objetivo de no provocar daños en las propiedades plasmónicas del núcleo metálico. Todos los estudios usan HCl a concentraciones siempre inferiores a 1M, pero en distintas condiciones de temperatura y tiempo.

Como trabajo futuro, hay que comprobar que: i) la ruta de síntesis A proporciona resultados reproducibles; y, ii) la reducción de espesor de la carcasa de sílice de los nanocilindros de oro se consigue aumentando la concentración de Au⁰ en el medio.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. G. A. Ozin and A. C. Arsenault. *Nanochemistry: A Chemical Approach to Nanomaterials* - Geoffrey A. Ozin, André C. Arsenault, Ludovico Cademartiri - Google Libros.
<https://books.google.es/books?id=CdrUwo3HvPwC&pg=PA514&lpg=PA514&dq=nanochemistry+2005&source=bl&ots=zwjbOd1Nn9&sig=ACfU3U1yQ93sB0ejzGDtts1j7nGgyfrG4g&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiN8MuD6-LpAhVKz4UKHcFSDF8Q6AEwAnoECAsQAQ#v=onepage&q&f=false>.
Published 2005. Accessed June 2, 2020.
2. Pitkethly MJ. Nanomaterials - The driving force. *Mater Today*. 2004;7(12 SUPPL.):20-29. doi:10.1016/S1369-7021(04)00627-3
3. Kelly KL, Coronado E, Zhao LL, Schatz GC. The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. *J Phys Chem B*. 2003;107(3):668-677. doi:10.1021/jp026731y
4. Tuersun P. Simulated localized surface plasmon spectra of single gold and silver nanobars. *Optik (Stuttg)*. 2016;127(6):3466-3470. doi:10.1016/j.ijleo.2015.12.074
5. Tréguer-Delapierre M, Majimel J, Mornet S, Duguet E, Ravaine S. Synthesis of non-spherical gold nanoparticles. *Gold Bull*. 2008;41(2):195-207. doi:10.1007/BF03216597

6. Singh P, König TAF, Jaiswal A. NIR-Active Plasmonic Gold Nanocapsules Synthesized Using Thermally Induced Seed Twinning for Surface-Enhanced Raman Scattering Applications. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2018;10(45):39380-39390. doi:10.1021/acsami.8b14445
7. Sharma B, Frontiera RR, Henry AI, Ringe E, Van Duyne RP. SERS: Materials, applications, and the future. *Mater Today*. 2012;15(1-2):16-25. doi:10.1016/S1369-7021(12)70017-2
8. Lafuente M, Almazán F, Bernad E, Urbiztondo MA. SERS DETECTION OF NEUROTOXIC AGENTS IN GAS PHASE USING MICROFLUIDIC CHIPS CONTAINING GOLD-MESOPOROUS SILICA AS PLASMONIC-SORBENT . Institute of Nanoscience of Aragon (INA), University of Zaragoza , Zaragoza , SPAIN Centro Universitario de la Defensa (C. 2019;(June):1313-1316.
9. Xavier J, Vincent S, Meder F, Vollmer F. Advances in optoplasmonic sensors - Combining optical nano/microcavities and photonic crystals with plasmonic nanostructures and nanoparticles. *Nanophotonics*. 2018;7(1):1-38. doi:10.1515/nanoph-2017-0064
10. Burrows ND, Lin W, Hinman JG, et al. Surface Chemistry of Gold Nanorods. *Langmuir*. 2016;32(39):9905-9921. doi:10.1021/acs.langmuir.6b02706
11. Zong C, Xu M, Xu LJ, et al. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Bioanalysis: Reliability and Challenges. *Chem Rev*. 2018;118(10):4946-4980. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00668
12. Yuratich MA. Effects of laser linewidth on coherent anti-Stokes Raman spectroscopy. *Mol Phys*. 1979;38(2):625-655. doi:10.1080/00268977900101941
13. García-Ramos J. Electromagnetic Mechanism of SERS Effect. *Opt pura y Apl*. 2004;37(2):17-22.
14. Nikoobakht B, El-Sayed MA. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chem Mater*. 2003;15(10):1957-1962. doi:10.1021/cm020732l
15. Cornejo Álvarez L. La revolución nanotecnológica en los nuevos materiales. Un reto tecnológico para el siglo XXI. *Univ Jaen*. 2015:0-56. http://www.nuevatecnologiasymateriales.com/wp-content/uploads/edd/2015/06/Revolucion_Nanotecnologica.pdf.
16. Quílez EB. Final Master Project Development of Au Nanorods coated with mesoporous SiO₂ as SERS substrates for Gas. 2019.
17. Orendorff CJ, Murphy CJ. Quantitation of metal content in the silver-assisted growth of gold nanorods. *J Phys Chem B*. 2006;110(9):3990-3994. doi:10.1021/jp0570972
18. Silva CVE. Síntesis de nanopartículas potenciales vehículos. 2015:82.
19. Vallejo SS. Estudio de propiedades y aplicaciones de nanoestructuras de sílice mesoporosa y aluminosilicatos en el calzado. 2017:1-300.
20. Scarabelli L, Grzelczak M, Liz-Marzán LM. Tuning gold nanorod synthesis through prereduction with salicylic acid. *Chem Mater*. 2013;25(21):4232-4238. doi:10.1021/cm402177b
21. Zhang SR, Jiang R Bin, Guo YZ, et al. Plasmon modes induced by anisotropic gap opening in Au@Cu₂O nanorods. *Small*. 2016;12(31):4264-4276. doi:10.1002/smll.201600065
22. Sanz-Ortiz MN, Sentosun K, Bals S, Liz-Marzán LM. Templated Growth of Surface Enhanced Raman Scattering-Active Branched Gold Nanoparticles within Radial Mesoporous Silica Shells. *ACS Nano*. 2015;9(10):10489-10497. doi:10.1021/acs.nano.5b04744
23. Pastoriza-Santos I, Pérez-Juste J, Liz-Marzán LM. Silica-coating and hydrophobation of CTAB-stabilized gold nanorods. *Chem Mater*. 2006;18(10):2465-2467. doi:10.1021/cm060293g
24. Burrows ND, Harvey S, Idesis FA, Murphy CJ. Understanding the Seed-Mediated Growth of Gold Nanorods through a Fractional Factorial Design of

- Experiments. *Langmuir*. 2017;33(8):1891-1907. doi:10.1021/acs.langmuir.6b03606
25. Matsoukas T, Gulari E. Dynamics of growth of silica particles from ammonia-catalyzed hydrolysis of tetra-ethyl-orthosilicate. *J Colloid Interface Sci*. 1988;124(1):252-261. doi:10.1016/0021-9797(88)90346-3
 26. Zou Y, Chen H, Li Y, et al. Synthesis of mesoporous-silica coated multi-branched gold nanoparticles for surface enhanced Raman scattering evaluation of 4-bromomethcathinone. *J Saudi Chem Soc*. 2019;23(3):378-383. doi:10.1016/j.jscs.2018.11.005
 27. Marcilla A, Beltran M, Gómez-Siurana A, Martinez I, Berenguer D. Template removal in MCM-41 type materials by solvent extraction. Influence of the treatment on the textural properties of the material and the effect on its behaviour as catalyst for reducing tobacco smoking toxicity. *Chem Eng Res Des*. 2011;89(11):2330-2343. doi:10.1016/j.cherd.2011.04.015
 28. Lu Y, McLellan J, Xia Y. Synthesis and Crystallization of Hybrid Spherical Colloids Composed of Polystyrene Cores and Silica Shells. *Langmuir*. 2004;20(8):3464-3470. doi:10.1021/la036245h
 29. Hua Z Le, Shi JL, Wang L, Zhang WH. Preparation of mesoporous silica films on a glass slide: Surfactant template removal by solvent extraction. *J Non Cryst Solids*. 2001;292(1-3):177-183. doi:10.1016/S0022-3093(01)00806-7
 30. Sarycheva AS, Semenova AA, Goodilin EA. Vapor phase SERS sensor based on mesoporous silica decorated with silver nanoparticles. *Nanosyst Physics, Chem Math*. 2017;8(5):579-585. doi:10.17586/2220-8054-2017-8-5-579-585
 31. Hamon C, Sanz-Ortiz MN, Modin E, et al. Hierarchical organization and molecular diffusion in gold nanorod/silica supercrystal nanocomposites. *Nanoscale*. 2016;8(15):7914-7922. doi:10.1039/c6nr00712k

ANEXO 1

Para controlar la relación molar de TEOS y nanocilindros de oro adicionados, primero se debe calcular la concentración de Au^0 presente en la disolución de los nanocilindros de oro. Para ello se debe coger el dato de absorbancia a 400 nm de longitud de onda de uno de los espectros, se escoge a 400 nm porque a esa longitud de onda solo son relevantes las transiciones entre bandas y la absorbancia no depende del tamaño y la forma de las nanopartículas. Ese punto de absorbancia se interpola en la recta de calibrado (Figura 21) y se obtiene la concentración de Au^0 en la disolución de nanocilindros de oro.

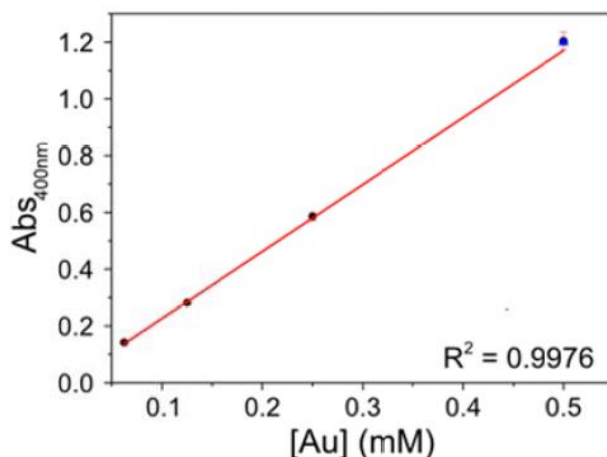


Figura 21. Recta de calibrado que muestra la relación lineal que existe entre la concentración de Au^0 en la disolución de nanocilindros de oro y la absorbancia a 400 nm²⁰.

Esta figura se ha obtenido de la literatura de Scarabelli²⁰. La obtienen realizando cuatro síntesis de nanocilindros de oro descrita en el apartado 3.2.1, en la que cambian la concentración de HAuCl_4 : 0,0625 mM, 0,125 mM, 0,25 mM, 0,5 mM, y midiendo la absorbancia a 400 nm de cada una de las síntesis.

Nuestra absorbancia a 400 nm es de 0,325, resultado de la figura 13 de este trabajo, cuya etapa de pre-reducción es de 40 minutos y la etapa de crecimiento de 55 minutos. Interpolando esta absorbancia en la figura 21 se obtiene una concentración de Au^0 igual a 0,15 mM en 50 mL de disolución, frente a las 0,5 mM de Au añadido; es decir, el rendimiento de síntesis es del 30%.

Sabiendo que se añaden 200 μl de TEOS al 98% en peso:

$$\frac{200 \times 10^{-6} \text{ L} \times 993 \frac{\text{g}}{\text{L}} \times 0,98}{208,33 \text{ g/mol}} \times 1000 = 0,88 \text{ mmol}$$

Por tanto la relación TEOS/ Au^0 es:

$$\frac{0,88 \text{ mmol TEOS}}{7,5 \times 10^{-3} \text{ mmol Au}^0} = 117,3$$

A partir de estas condiciones, el espesor de sílice esperado sería superior a 80 nm, es decir, demasiado alto para la aplicación que se persigue.